

## МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАНОАЛМАЗЫ ВЗРЫВНОГО СИНТЕЗА В КОНСТРУИРОВАНИИ СИСТЕМ БИОХИМИЧЕСКОЙ ИНДИКАЦИИ МНОГОРАЗОВОГО ДЕЙСТВИЯ (НА ПРИМЕРЕ СИСТЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ)

Мамаева Е.С.

Научный руководитель - д-р. биол. наук, профессор Бондарь В.С.

*Сибирский федеральный университет*

Развитие нанотехнологии открывает новые возможности более эффективного решения широкого спектра задач, возникающих в различных сферах деятельности человека. Внедрение наноматериалов и нанотехнологий в биологию, биотехнологию, медицину, фармакологию, экологию будет способствовать их выходу на новый качественный уровень. В этом направлении проводятся исследования наночастиц различной физико-химической природы, а список конкретных объектов и решаемых задач чрезвычайно широк.

Для специалистов, работающих в этой области, интерес могут представлять наноалмазы, получаемые методом детонационного синтеза. Производство наноалмазов взрывным синтезом осуществляется в России и ряде зарубежных стран (например, Китае, Украине, Болгарии), однако приоритет разработки этого метода принадлежит российским ученым.

До недавнего времени наноалмазы применяли исключительно для решения технических задач. Между тем, физико-химические свойства этих наночастиц, прежде всего, выраженный химический полиморфизм поверхности позволяют рассматривать их как перспективный материал для применения в биотехнологии.

Нами продемонстрирована возможность применения наноалмазов взрывного синтеза для конструирования системы индикации глюкозы. Ранее было установлено, что ферменты, адсорбированные на поверхности наноалмазов, могут сохранять свою каталитическую функцию - это открывает возможности конструирования новых систем индикации и адресной доставки веществ на основе этих наночастиц.

Исследования выполнены с использованием модифицированных наноалмазов (МНА), обладающих высокой коллоидной устойчивостью в дисперсионных средах и имеющих размеры кластеров 30 - 125 нм. Для экспериментов применяли гидрозоль с концентрацией МНА 10.0 г/л. В работе были использованы глюкозооксидаза и пероксидаза из наборов Glucose LS (ProDia International, Германия), применяемых для определения глюкозы в сыворотке и плазме крови.

Тест-систему индикации глюкозы получали с помощью одновременной ковалентной иммобилизации указанных выше ферментов на поверхности частиц МНА, функционализированных бензохиноном (Рис. 1).

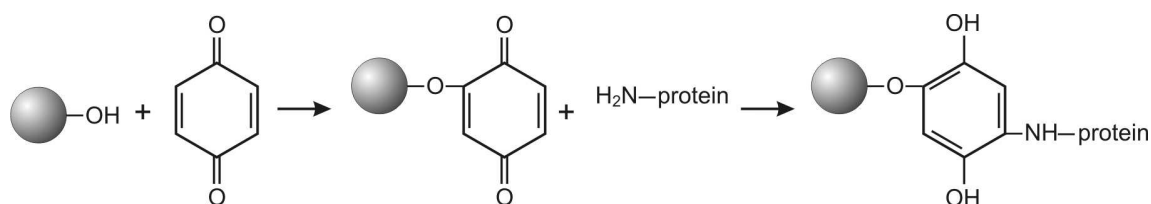


Рисунок 1. Схема ковалентной иммобилизации ферментов на поверхности МНА.

Частицы МНА с ковалентно иммобилизованными ферментами многократно отмывали раствором 0.25 М NaCl для удаления неспецифически адсорбированных белков. Активность полученного комплекса МНА-ферменты оценивали реакцией окислительного азосочетания ( $H_2O_2$  - 4-аминоантипирин - фенол). Реакция катализируется пероксидазой в присутствии  $H_2O_2$  (генерируется при окислении глюкозы глюкозооксидазой) и сопровождается образованием окрашенного продукта реакции (хинонимин) (Рис. 2). Образование окрашенного продукта контролировали спектрофотометрически при длине волны 500 нм.

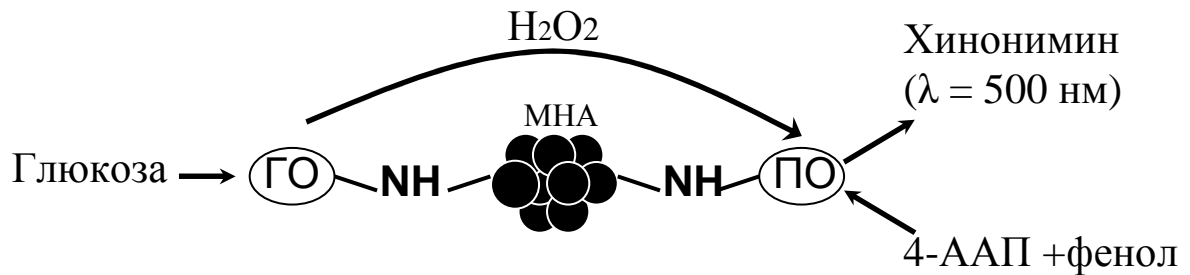


Рисунок 2. Схема реакции окислительного азосочетания.

Установлено, что ферменты, ковалентно иммобилизованные на частицы МНА, сохраняют свою функцию, катализируют цепь последовательных биохимических реакций, приводящих к образованию окрашенного продукта. Полученный комплекс МНА-ферменты может многократно (до 10 и более раз) использоваться для определения глюкозы *in vitro* (Рис. 3).

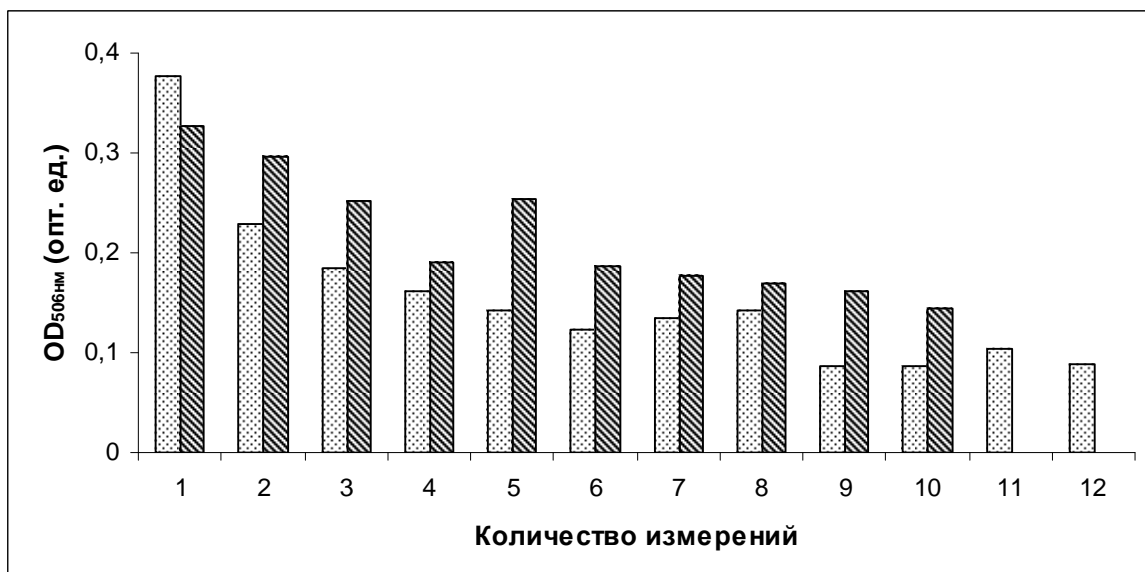


Рисунок 3. Выход продукта реакции при многократном использовании тест-системы определения глюкозы.

Показано, что при концентрациях глюкозы в интервале 0.01 – 1.5 мг/мл, перекрывающем диапазон физиологических значений в крови человека, наблюдается практически линейный выход продукта реакции, катализируемой индикаторной системой. Установлено, что тест-система проявляет свою функциональную активность в течение месяца хранения при  $+4^{\circ}C$ .

Обсуждаются перспективы практического использования полученной тест-системы для индикации глюкозы в биологических жидкостях.