

УДК616.36–002

**ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
ГЕПАТИТА Е МЕТОДОМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА****Л.Н. Нестеренко ¹, Г.И. Алаторцева ¹, И.И. Амиантова ¹, Л.Н. Лухверчик ¹, Л.С. Зимарин ¹,
О.И. Лебедев ²**¹ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия² Университет «ENSICAEN-CNRS», Каен, Франция

Разработка методов экспресс-диагностики гепатита Е (ГЕ) является актуальной задачей. Основным методом экспресс-диагностики вирусных инфекций является иммунохроматографический анализ (ИХА), в котором традиционно используются конъюгаты антигенов и/или антител с наночастицами коллоидного золота (НКЗ), от уникальных свойств поверхности которых зависит эффективность тестов. Цель исследований – получение НКЗ для экспресс-диагностики ГЕ методом ИХА.

Синтез НКЗ проводили по методу Френса [1], основанному на восстановлении золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия. Используя разное количество восстановителя, получили два препарата НКЗ (НКЗ1, НКЗ2) с частицами сферической формы с высокой гомогенностью по размеру и отсутствием агрегации. С помощью просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения показано, что средний размер НКЗ1 – 16,4 нм (ожидаемая величина по Френсу – 16,0 нм), НКЗ2 – 25,7 нм (ожидаемая величина – 24,5 нм). На электронных микрофотографиях видна кристаллическая решетка из атомов золота, что подтверждают данные электронной дифракции и энергодисперсионного анализа. Конъюгаты НКЗ с антителами козы против IgM человека (ИМТЕК, Россия) (АТ) или рекомбинантным мозаичным антигеном, содержащим фрагменты белков ORF2 и ORF3 вируса ГЕ 1 и 3 генотипов, (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова) (АГ) получали путем их пассивной иммобилизации. Специфичность конъюгатов исследовали методом иммунодота в непрямом формате с образцами сывороток крови больных ГЕ, содержащими IgM-антитела к вирусу ГЕ, и клинических здоровых людей из лечебно-профилактических учреждений г. Ош, Киргизия. Для тестирования конъюгатов НКЗ1 и НКЗ2 с АГ на поверхности мембран сорбировали АТ в количествах 0,1, 0,05, 0,025 и 0,012 мкг, для анализа конъюгатов НКЗ1 и НКЗ2 с АТ сорбировали АГ в таких же количествах. В качестве отрицательного контроля на мембранах сорбировали 0,1 мкг бычьего сывороточного альбумина. В реакциях специфических антител IgM с иммуносорбентом и конъюгатом происходило окрашивание мембран в области с сорбированными АТ (для конъюгатов НКЗ1 и НКЗ2 с АГ) или АГ (для конъюгатов НКЗ1 и НКЗ2 с АТ) в малиновый цвет. С отрицательными сыворотками конъюгаты не взаимодействовали. Все четыре конъюгата НКЗ были активны в разведениях с оптической плотностью 0,5 о.е. при $\lambda=520$ нм в реакции с АТ и АГ, сорбированными на поверхности нитроцеллюлозных мембран в количестве 0,012 мкг, контрольные пятна на мембранах не окрашивались.

Таким образом, на основе синтезированных НКЗ получены иммунореагенты для применения при разработке тестов для диагностики ГЕ методом ИХА.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (уникальный идентификатор проекта RFMEFI61319X0091).

ЛИТЕРАТУРА

Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. Nat. Phys. Sci. // 1973. V 241(105). P. 20–22.