

Электрохимическое определение редокс-неактивных белков при помощи границы раздела несмешивающихся жидкостей.

Трашин Станислав Александрович, Вагин Михаил Юрьевич
аспирант

МГУ им М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва
E-mail: satra@enzyme.chem.msu.ru

В настоящее время обнаружено множество небольших по размеру редокс-неактивных белков, появление которых в крови человека предшествует развитию серьезных заболеваний, например, инфаркта миокарда [1]. Определение таких белков основано на методе иммуноферментного анализа. Однако существует потребность в развитии более дешевых безреагентных методов. При этом наиболее перспективным подходом с точки зрения простоты и цены оборудования является электрохимический анализ. Тем не менее, его применение в таких системах в настоящий момент ограничено в основном из-за низкой чувствительности, что требует их дальнейшего развития.

В нашей работе мы предложили оригинальный способ обнаружения редокс-неактивных белков с использованием границы раздела несмешивающихся жидкостей. Для этого поверхность гидрофобного графитового электрода была модифицирована путем нанесения тонкого слоя жидкой органической фазы, содержащей поверхностно-активное вещество (бис(2-этилгексил)сульфосукцинат натрия) и нерастворимый в воде электроактивный полимер фенотиазина. При контакте такой системы с раствором белка происходит образование в органическом слое обращенных мицелл с белком. Это приводит к значительным электрохимическим откликам на циклических вольтамперограммах, что выражено в драматическом росте электроактивности, в некоторых случаях превышающем более чем на два порядка токи электроактивности электрода, не контактировавшего с раствором белка. Отсутствие электроактивности в случае удаления из системы ПАВ, а также замены органического растворителя на более полярный доказывает, что наблюдаемый эффект вызван образованием обращенных мицелл белка в органической фазе. Варьирование концентрации и природы белка показало высокую чувствительность в диапазонах концентраций 5-500 мкМ, а также зависимость чувствительности и максимальной амплитуды отклика от природы белка, а именно от его заряда и молекулярной массы [2]. Также при варьировании концентрации белка наблюдается значительное изменение электрохимического импеданса системы, что позволяет существенно уменьшить время анализа вплоть до нескольких секунд или осуществлять регистрацию в потоке.

Данная система может быть востребована в качестве дешевого неспецифического детектора на белок, совмещенного с блоком разделения типа хроматографической колонки. Кроме того, возможно её применение в качестве селективного датчика при использовании специфических к белку ПАВ, применяющихся для аффинной экстракции белков и хроматографии [3].

Таким образом, впервые была предложена весьма перспективная в области аналитической биохимии система с графитовым электродом, покрытым тонким слоем органической фазы.

Работа осуществлена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ОХНМ РАН №4.

Список литературы:

- [1] Клиническая Биохимия под ред. В.А. Ткачука. М.:2002.
- [2] M.Yu.Vagin, S.A.Trashin, S.Zh.Ozkan, G.P.Karpachova, A.A.Karyakin. J.Electroanal.Chem (2005) 584, 110.
- [3] Y.Sun,S.Ichikawa, S.Sugiura, S.Furusaki. Biotechnology and bioengineering(1998) 58(1), 58.