

Конструирование биолюминесцентного ферментативного сенсора для анализа загрязнения сложных сред

Научный руководитель – Есимбекова Елена Николаевна

Калябина Валерия Павловна

Аспирант

Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия

E-mail: valeriyakalyabina@mail.ru

Попадая в организм через различные пути перемещения, токсические соединения способны нарушать молекулярные процессы и запускать каскад негативных эффектов [1]. Присутствие потенциально токсичных соединений в сложных средах, таких как почва или плодоовощная продукция, требует разработки простых и эффективных методов и устройств для детекции загрязнения. Биолюминесцентные методы анализа на основе ферментативных систем могут быть использованы в качестве основы для интегрального метода анализа сложных сред, загрязненных смесью токсических веществ [2]. Целью исследования являлась разработка схемы конструирования нового биолюминесцентного ферментативного сенсора на основе биферментной системы светящихся бактерий NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза+люцифераза (P+Л), пригодного для оценки безопасности экологических матриц сложного состава.

На первом этапе конструирования ферментативного сенсора была установлена чувствительность ферментов к ряду тяжелых металлов и пестицидов на уровне их предельно допустимого содержания в пище. На следующем этапе оценивали влияние образцов плодоовощной продукции на активность биферментной системы P+Л в отсутствие загрязняющих веществ. При необходимости модифицировали процедуру пробоподготовки, чтобы уменьшить влияние контрольных (незагрязненных) сложных сред на ферменты. На третьем этапе были проведены модельные эксперименты по оценке чувствительности биферментной системы P+Л к смеси супернатантов образцов плодоовощной продукции и исследуемых токсикантов. Для создания биолюминесцентного сенсора на четвертом этапе был разработан элемент биораспознавания, состоящий из ферментов P+Л и их субстратов - NADH и алифатического альдегида, совместно иммобилизованных в крахмальном геле. Для обеспечения высокой чувствительности распознающего элемента варьировали соотношение его компонентов и условия их иммобилизации в микрофлюидных чипах. В качестве завершающего шага разработки необходимо подобрать подходящий датчик, обеспечивающий детектирование сигнала биосенсора.

Предложенные принципы конструирования биолюминесцентного ферментативного теста могут быть применены для разработки любого ферментативного биосенсора для интегральной экспрессной оценки безопасности сложных сред. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта №. 20-44-242001.

Источники и литература

- 1) Amjad S., Sharma A. K., Serajuddin M. Toxicity assessment of cypermethrin nanoparticles in *Channa punctatus*: Behavioural response, micronuclei induction and enzyme alteration // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2018. V. 100. P. 127-133.

- 2) Kalyabina V. P., Esimbekova E. N., Torgashina I. G. et al. Principles for construction of bioluminescent enzyme biotests for analysis of complex media // Dokl. Biochem. Biophys. 2019. V. 485. N 1. P. 107-110.