

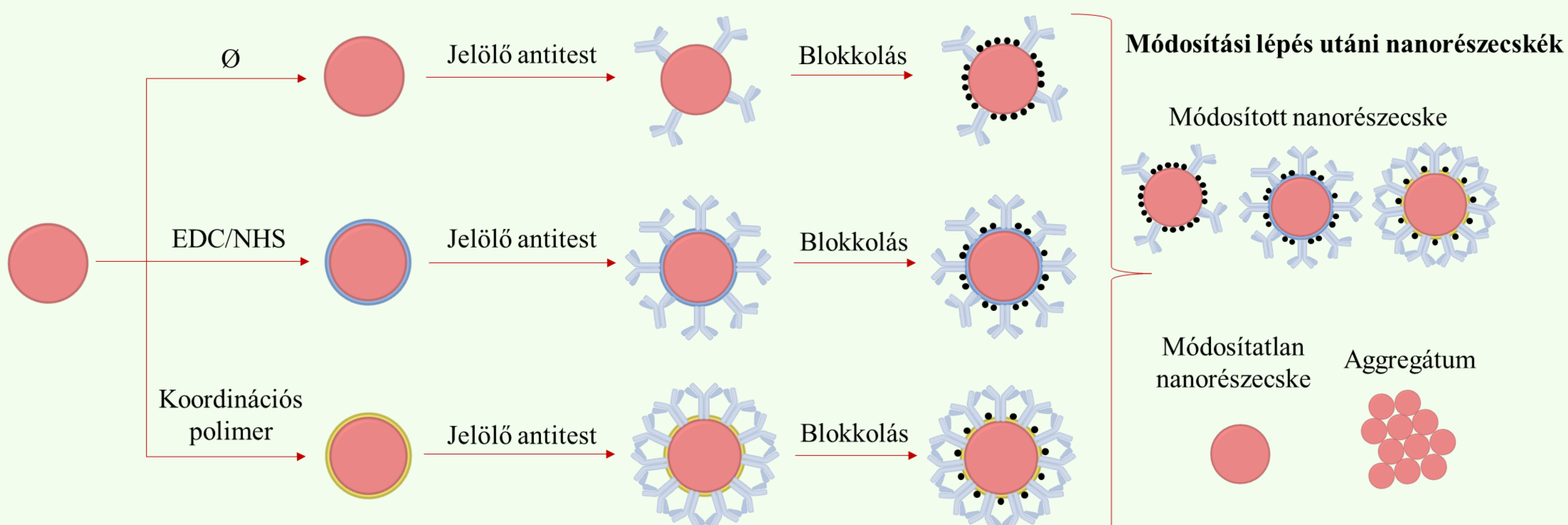
Fluoreszcens nanorészecskék kontrollált felületi módosítása antitestekkel

KOVÁCS Norbert, BOGNÁR Zsófia, GYURCSÁNYI E. Róbert PhD

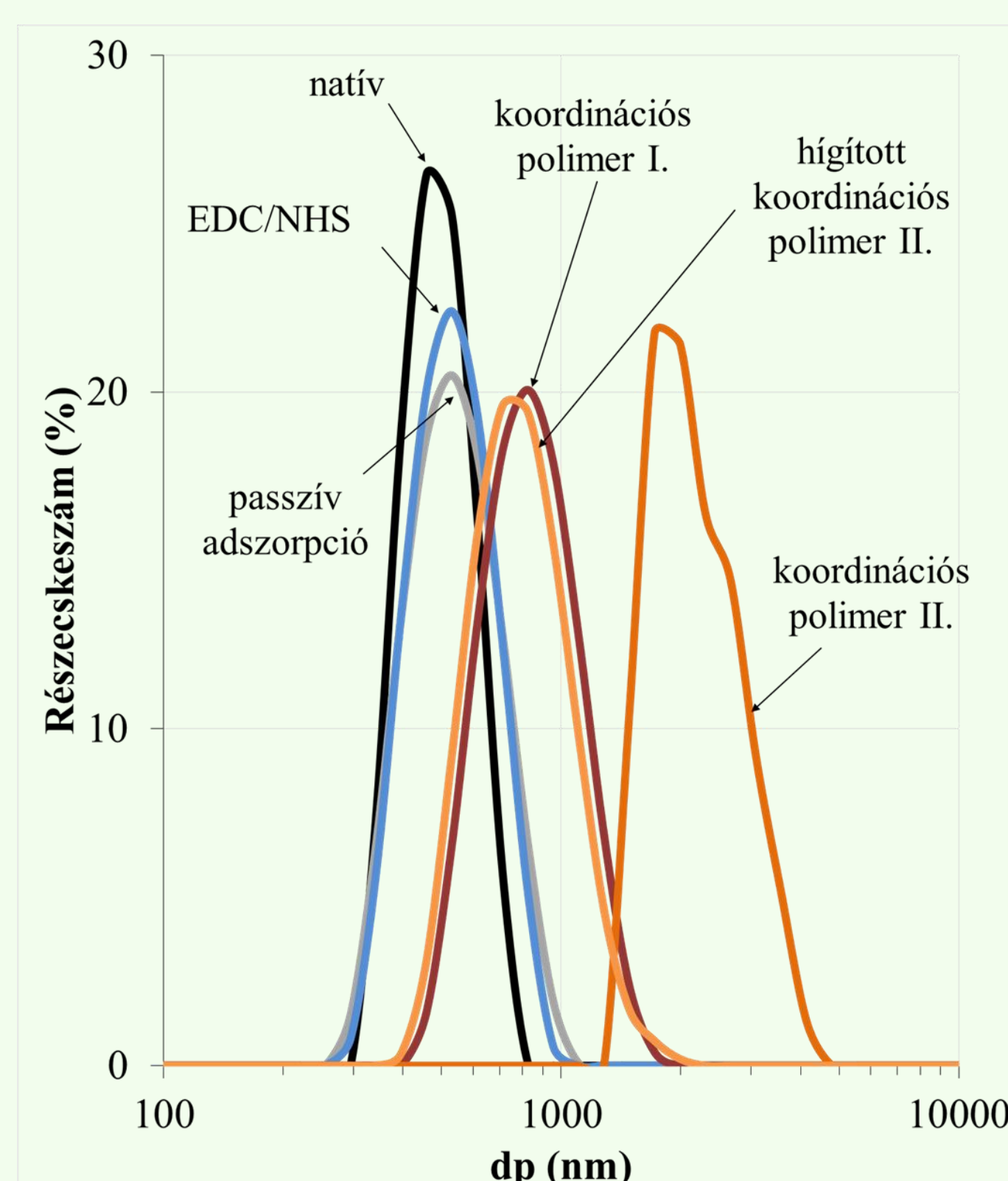
BME „Lendület” Kémiai Nanoérzékelők Kutatócsoport, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Magyarország, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.
e-mail: kovacs.norbert@edu.bme.hu, honlap: www.biochemsens.bme.hu

Bevezetés: A fluoreszcencia alkalmazása meghatározóvá vált a bioanalitika több területén is köszönhetően elsődlegesen a rendkívüli érzékenységének [1]. Diagnosztikai tesztekben is egyre elterjedtebben alkalmaznak fluoreszcens jelölést, amelynek talán legérzékenyebb formáját képezik a fluoreszcenciás nanorészecskék [2], tekintettel az általuk elérhető jelerősítésre, amely a kimutatási határ nagymértékű csökkenését is eredményezi. A jelerősítés a nanorészecskékben található fluoreszcens jelző molekula nagy koncentrációjának köszönhető. Ezáltal a klasszikus immunkromatográfiás tesztekben nagyobb érzékenység érhető el, mint a rutinszerűen alkalmazott arany nanorészecske konjugátumokkal. Kutatásom során célul tűztem ki egy Nílus vörös festéket ($\lambda_{ex} = 554 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 638 \text{ nm}$) tartalmazó latex nanorészecske hatékony és aggregációt minimalizáló módosítását antitestekkel. Ennek érdekében eljárást dolgoztam ki az antitestek felületi koncentrációjának kontrolljára és a nanorészecskék megfelelő kitermelésére.

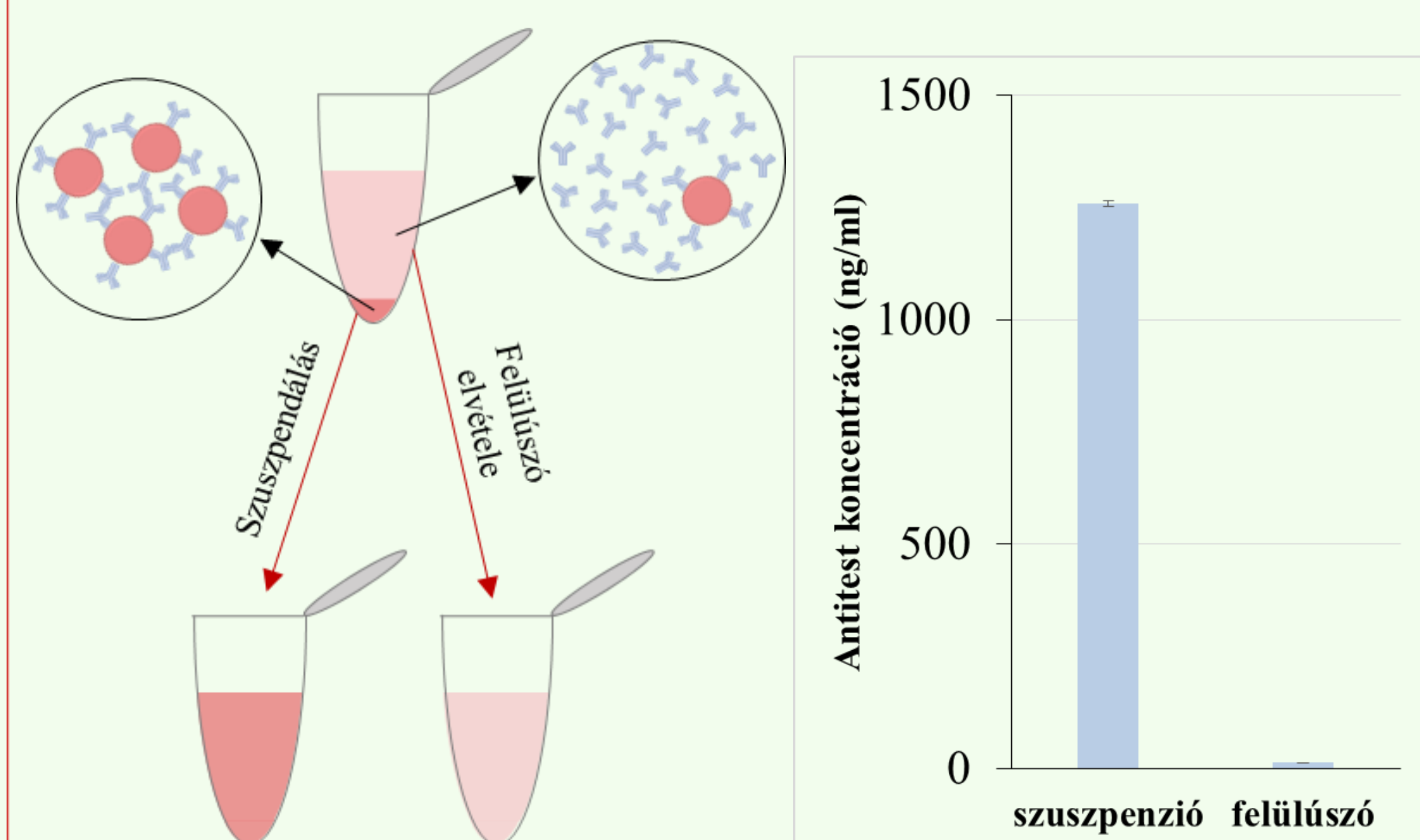
Részecske módosítása különböző felületaktíválási módszerekkel



Részecskeméret meghatározása



Nem kötött antitestek eltávolítása



Részecskemódosítás eredménye

	Passzív adszorpció		EDC/NHS		Koord. polimer I.		Koord. polimer II.		50x hígított koord. polimer II.
	BSA/PBS		BSA/PBS		BSA/MES		BSA/MES		BSA/MES
BSA konc. pufferben	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	5%
Termelés	++	+++	+++	+++	++	++	-	-	+
A/R	-	-	+	+	++	++	++	++	+++
dp	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-	+++
PdI	+++	++	+++	++	+	+	-	-	++

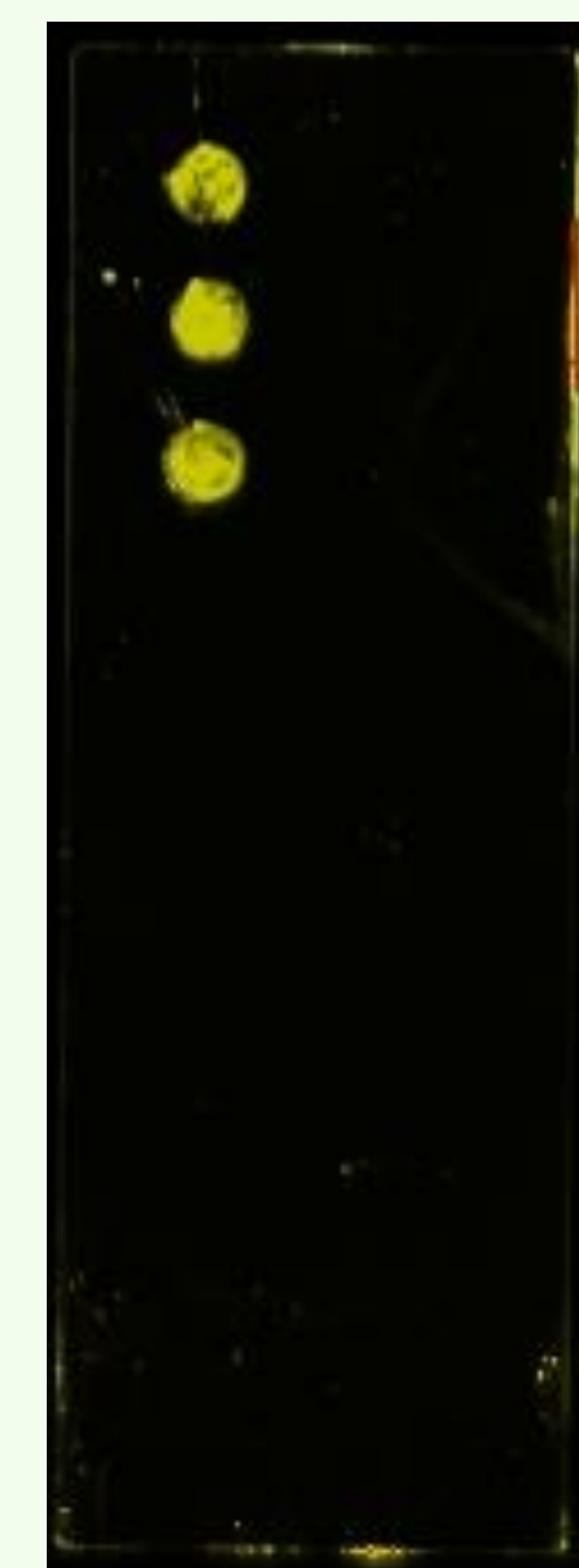
Alkalmazott mérési módszerek

- A termelést **fluoreszcencia intenzitás** méréssel határoztam meg.
- Az antitest koncentrációt HRP (tormaperoxidáz) TMB **enzimatis oxidáció kinetikájából abszorbancia** méréssel határoztam meg.
- A részecskeméret-eloszlás mérése **dinamikus fényszórással** (DLS) történt.
- A módosított részecskék assay-ben történő alkalmazhatóságát **fluoreszcens képpalkotó rendszerrel** vizsgáltam.

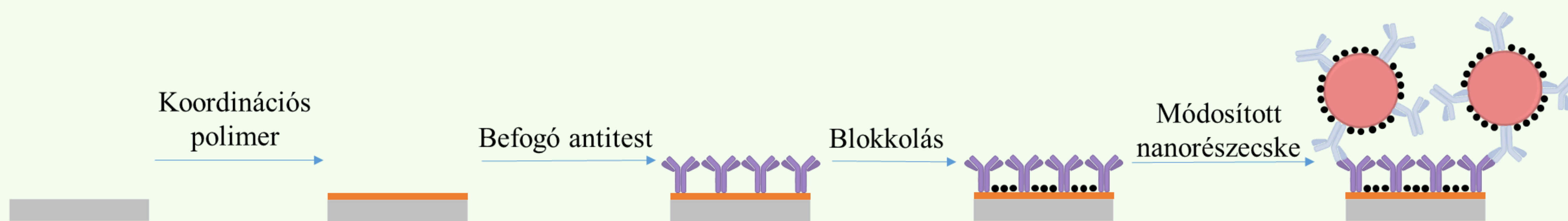
Jelmagyarázat:

A/R: antitest/részecske arány
dp: részecskeméret
PdI: polidiszperzítási index

	-	+	++	+++
Termelés (%)	40-50	51-60	61-70	71-100
A/R (-)	0-200	201-400	401-2500	2501-5000
dp (nm)	1000+	761-1000	541-760	490-540
PdI (-)	0.35+	0.2-0.35	0.1-0.2	0.0-0.1



Affinitási assay-ben való alkalmazás vizsgálata



Konklúzió: Passzív adszorpció esetén a nanorészecske felületének módosítása jól kontrollálható, azonban a felületi antitest koncentráció alacsony ($A/R = 105 \pm 19$). A koordinációs polimer esetén a felületi antitest koncentráció kiemelkedően magas ($A/R = 3114 \pm 1095$), de a módosítást nehéz reprodukálni ebben a tekintetben. A kovalens immobilizálás alkalmazásával megfelelően kontrollált a felület módosítása és a passzív adszorpciónál jobb felületi borítottság érhető el ($A/R = 308 \pm 8$).

Hivatkozások:

[1] Wolfbeis, O. S. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 4743-4768.

[2] Baptista, P. V., Doria, G., Quaresma, P., Cavadas, M., Neves, C. S., Gomes, I., Eaton, P., Pereira, E., Franco, R. *Nanoparticles Translational Science and Medicine*, **2011** 427-488.