

**Разработка методик определения ряда биологически активных веществ
методом ПФИА**

Белоглазова Н.В.¹, Ларионова Д.А.

студент V курса

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского,

Химический факультет, г. Саратов, Россия

E-mail: sparrowhy@mail.ru

Для скрининга биологически активных веществ наиболее удобными и перспективными являются иммунохимические безразделительные методы анализа, к которым относится поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА). Данный метод относят к числу простых, точных, экспрессных методов благодаря минимальному числу стадий и высокой скорости реакции связывания (иммунокомплексы образуются в однофазной системе), поэтому он применяется в аналитической практике, прежде всего в различных областях медицины, микробиологической и пищевой промышленности.

Нами были разработаны методики на определения ряда физиологически активных веществ, таких как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), гистамин, имазалил, микотоксины (афлатоксины В1 и М1) и выбраны оптимальные условия.

Стадией, предшествующей определению, была очистка трейсеров методом восходящей тонкослойной хроматографии и выбор пары трейсер - антитело, характеризующейся наилучшим связыванием. Для определения ПАУ оптимальными были трейсеры на основе пирена и бенз[а]пирена в сочетании с поликлональными кроличьими антителами. При работе с имазалилом был выбран трейсер на основе карбоксильного производного имазазила и моноклональные антитела. Для определения гистамина были взяты трейсеры на основе гистамина, L- и D-гистидина и сыворотки, содержащие антитела на гистамин.

Аналитические характеристики определения методом ПФИА

Определяемое вещество	Трейсер	Антитело	Объект	Область линейности, мкг/мл	IC ₅₀ мкг/мл
пирен	1Pur-ButA-EDF	Rab-anti-Py-butAcid-KLH	вода	0.0015-730	0.003
бенз[а]пирен	Var-ButA-EDF	Rab-anti-Py-butAcid-KLH	вода	0.006-0.16	0.032
гистамин	Hist-FITC	Ab-ELISA	стандартные растворы	0.1-10	0.70
	Hist-CF	Au-Ab		0.5-100	2.81
имазалил	IMH-EDF	LIB-IMH51	вода	0.01-10	0.22
микотоксины	AFB1-EDF	MAB AF-78 Won-Bo Shim	стандартные растворы	0.095-0.78	0.3
				0.003-8.2	0.15

Таким образом, нами впервые изучена возможность определения гистамина методом ПФИА, разработаны методики поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа для определения имазазила, ПАУ и были оптимизированы условия для проведения анализа на афлатоксины В1 и М1. ПФИА не требует длительной и трудоемкой пробоподготовки, поэтому может быть рекомендован для быстрого и количественного определения биологически активных веществ в природных объектах.

Работа выполнена при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (грант 2007-3-1.3-28-01-229).

¹Автор выражает благодарность доценту, к.х.н. Горячевой И.Ю., проф., д.х.н. Штыкову С.Н.