

5. Біосенсорна система на основі рН-чутливих польових транзисторів та іммобілізованих ферментів для одночасного визначення сечовини та креатиніну

Алла Герешко

Національний університет харчових технологій

Світлана Марченко

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

Вступ: Термінальна стадія хронічної хвороби нирок є однією з основних медико-соціальних проблем у всьому світу. Особливої актуальності ця проблема набуває з погляду на стабільне (до 7 % щорічно) збільшення кількості хворих, що потребують лікування методами замісної ниркової терапії, до яких, в першу чергу, відноситься гемодіаліз. Для діагностики захворювання нирок та оцінки ефективності гемодіалізу існують загальноприйняті діагностичні показники, а саме рівень метаболітів азотистого обміну – сечовини та креатиніну [1].

У сучасній лабораторній діагностиці моніторинг сечовини і креатиніну здійснюється, в основному, за допомогою колориметричних методів детекції. Слід зазначити, що чутливість і відтворюваність цих методів сильно залежить від стабільності забарвленого комплексу, рН, температури, тривалості пробопідготовки. В результаті, ці методи є складними, довготривалими в часі, потребують висококваліфікованого персоналу, крім того до сьогодні не існує аналітичної системи, яка б дозволяла проводити одночасний аналіз креатиніну та сечовини в одній пробі. Тому такі недоліки традиційних методів роблять їх непридатними для діагностики ниркових розладів безпосередньо біля ліжка хворого. Для вирішення цієї проблеми потрібні швидкі, чутливі, прості, селективні та недорогі методи діагностики. Такими на сьогоднішній день є біосенсиори [2].

Мета даної роботи була спрямована на створення біосенсорної системи для одночасного визначення сечовини і креатиніну в сироватці крові пацієнтів з нирковою недостатністю та оцінки ефективності гемодіалізу.

Матеріали і методи: У ході дослідження використовували біоселективні елементи, що були розроблені на основі рН-чутливих польових транзисторів та іммобілізованих креатиніндеїмінази і рекомбінантної уреазы.

Використовували в роботі сенсорні чипи з диференційною парою рН-чутливих польових транзисторів, виготовлені в Інституті фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова, а також такі реактиви як: креатиніндеїміназа мікробіального походження, рекомбінантна уреазы (R. уреазы) з E. coli, сечовина, креатинін, альбумін сироватки бика (БСА) (фракція V), фотополімер полі(вініл)алкоголь, що містить стирилпіридин (PVA/SbQ).

Як робочий буфер використовували фосфатний розчин ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$). Іммобілізацію проводили в фотополімері PVA/SbQ.

Результати: Створено біоселективні елементи біосенсорів на основі креатиніндеїмінази та рекомбінантної уреазы. Всебічно досліджено основні аналітичні характеристики біосенсорів та підібрано оптимальні умови їх роботи як в модельних розчинах та і з реальними зразками.

Показано, що використання в роботі біоселективного елемента на основі рекомбінантної уреазы призводить до розширення лінійного діапазону визначення сечовини, що дозволяє значно зменшити ступінь розведення біологічних зразків, а відповідно - похибку аналізу, а також створює підходи до одночасного визначення сечовини та креатиніну.

В результаті експериментальних досліджень було встановлено лінійні діапазони вимірювань концентрацій креатиніну і сечовини, які складали 0,02 - 2 мМ і 0,5 - 15мМ, відповідно та мінімальні межі, виявленні в обох випадках, співпали з нижніми межами лінійних діапазонів. Створені потенціометричні біосенсори були використані для кількісного визначення сечовини і креатиніну в реальних зразках (сироватка/діалізат крові), вони демонстрували високий ступінь кореляції з результатами, отриманими класичними методами.

Висновки: Отже, нами була розроблена біосенсорна система для одночасного вимірювання сечовини і креатиніну на основі рН-чутливих польових транзисторів та іммобілізованих ферментів для одночасного визначення концентрацій сечовини та креатиніну у сироватці крові хворих на ниркову недостатність, а також для оцінки ефективності процедури гемодіалізу.

Література

1. Premanode B., Toumazou C., A novel, low power biosensor for real time monitoring of creatinine and urea in peritoneal dialysis // *Sensor and Actuators B.* - 2007. - № 120. - P. 732-735.
2. Koncki R., Recent development in Potentiometric biosensors for biomedical analysis // *Analytica Chimica Acta.* - 2007. - №599. - P. 7-15.