

УДК 57.083.3; 577.112; 615.07

ЗОЛОТЫЕ НАНООБОЛОЧКИ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ: СИНТЕЗ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

В.Г. Григоренко^{1*}, И.П. Андреева¹, Г.В. Преснова¹, Д.Е. Преснов^{2,3},
Е.А. Яковлева¹, А.П. Осипов¹

(¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; химический факультет, кафедра химической энзимологии; ² Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; ³ Центр квантовых технологий, физический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; *e-mail: vitaly.grigorenko@gmail.com)

Оптимизирована методика синтеза золотых наноболочек для их применения в качестве высокочувствительной метки в иммунохроматографическом анализе. Разработана иммунохроматографическая тест-система для визуального определения концентрации раннего кардиомакёрра – белка, связывающего жирные кислоты, (с-БСЖК). При визуальной детекции предел обнаружения метода в случае золотых наноболочек оказался более чем в 2 раза ниже по сравнению с наночастицами золота и составил 0,5 нг/мл для с-БСЖК.

Ключевые слова: иммунохроматографический анализ, золотые наноболочки, наночастицы золота, белок, связывающий жирные кислоты.

Иммунохроматографический анализ (ИХА) или латеральный проточный иммуноанализ (ЛПИА) – широко используемый метод для быстрого обнаружения разнообразных аналитов и диагностики многих заболеваний [1]. Данный вид анализа позволяет визуально в течение нескольких минут определить и оценить содержание различных антигенов, антител, гормонов и других диагностически важных веществ в организме.

В большинстве случаев для проведения ИХА в качестве детектирующего агента используют комплекс биомолекул с различными метками: наночастицами золота, магнитными частицами, квантовыми точками, несферическими и неоднородными частицами, люминисцентными и флуоресцентными метками и т.д. [2–4]. Наночастицы золота (НЧЗ) нашли широкое применение в качестве визуальных детектирующих агентов. Это связано с легкостью получения частиц заданного размера, а также хорошей чувствительностью определения [5–7]. Кроме того, они более стабильны и просты в использовании, чем, например, флуоресцентные или ферментативные метки. Однако в ряде случаев НЧЗ не позволяют достичь необходимой чувствительности анализа, в этом случае используют разные способы ее увеличения, например усиление серебром [8]. Увеличение размера частиц золота также приводит к повышению чувствительности анализа [9]. Од-

нако получение стабильных и однородных НЧЗ диаметром более 50 нм представляет собой достаточно трудную задачу [10].

Показано [11, 12], что метками в ИХА могут служить золотые наноболочки на ядрах из диоксида кремния. Наноболочки относятся к нанокомпозитным материалам и представляют собой сферические частицы, в которых частицы одного материала покрыты тонким слоем другого материала. Наноболочки могут быть синтезированы практически из любых материалов: полупроводников, металлов, диэлектриков. Диоксид кремния широко используется в качестве ядра в наноболочке благодаря высокой устойчивости к коагуляции и химической инертности [11].

Основное преимущество наноболочек перед обычными частицами коллоидного золота заключается в их уникальных оптических свойствах, а также высокой стабильности частиц. В зависимости от размера ядра и толщины оболочки можно изменять полосу плазмонного резонанса поглощения и светорассеяния в нужный спектральный диапазон от видимого до инфракрасного [13].

Использование золотых наноболочек, состоящих из силикатного ядра, покрытого слоем НЧЗ, впервые продемонстрировано в дот-анализе [14], при этом минимально определяемое количество аналитической пробы составляет 0,25–1,00 нг (в зависимости от размера частиц) по сравнению с

15 нг для НЧЗ (15 нм). В иммунохроматографии успешно использован другой тип нанооболочек – силикатные нанопровода, покрытые слоем золота. Предел обнаружения при анализе молекул IgG в 50 раз меньше по сравнению с НЧЗ [15], и в 6 раз меньше при определении микроРНК [16]. В работе [17] был разработан ИХА для определения альфа-фетопротейна, где в качестве метки использованы нанооболочки, в которых ядро из НЧЗ покрыто оболочкой из диоксида кремния. Предел обнаружения уменьшался с 10 нг/мл до 300 пг/мл.

Настоящая работа посвящена оптимизации методики синтеза золотых нанооболочек с ядром на основе диоксида кремния в целях их использования в качестве высокочувствительной метки в ИХА на примере анализа белка, связывающего жирные кислоты (с-БСЖК) – раннего маркера инфаркта миокарда [18].

Экспериментальная часть

В работе использованы золотохлористоводородная кислота (ЗХВК), Твин 20 («Fluka», Швейцария), бычий сывороточный альбумин (БСА), цитрат натрия, боргидрид натрия («Sigma», США), тетраэтилортосиликат (ТЭОС), 3-аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС), тетракис-(гидроксиметил) фосфоний хлорид (ТГФХ) («Aldrich», Германия), 29%-й водный аммиак («Acros Organics», США), реактивы общелабораторного назначения («Химмед», Россия), моноклональные антитела к с-БСЖК F9 и F10 («Биалекса», Россия).

Использованы следующие мембраны фирмы «MDI» (Индия): аналитическая нитроцеллюлозная мембрана 150-CNPH-N (для конъюгата использовали мембрану РТ-5) и абсорбирующая мембрана AP045. Для нанесения образца использовали мембрану MAPDS-0300 («Arista Biologicals», США).

В работе применяли следующие буферные растворы: 0,01 М К-фосфатный, pH 7,0 (ФБ); 0,01 М К-фосфатный + 0,15 М NaCl, pH 7,2–7,4 (ФБС); 0,01 М К-фосфатный + 0,15 М NaCl + 0,1%-й твин 20, pH 7,4 (ФБСТ).

Получение золотых нанооболочек на сферах из диоксида кремния

Получение наночастиц диоксида кремния по методу Штобера [19]. К 10 мл этилового спирта добавляли от 0,35 до 0,62 мл 29%-го водного раствора аммиака. Раствор перемешивали 15 мин при комнатной температуре. К полученному раствору по каплям добавляли 0,3 мл ТЭОС и интен-

сивно перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре. В результате были получены молочные-белые суспензии.

Аминирование наночастиц диоксида кремния. К 10 мл спиртовой суспензии наночастиц диоксида кремния добавляли 25 мкл АПТЭС. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре, затем кипятили 2 ч с обратным холодильником. В результате происходило разделение продуктов реакции и ассоциаты аминированных наночастиц оседали на дно колбы. Полученную суспензию центрифугировали 3 мин при 2000 g, супернатант удаляли, осадок растворяли в 10 мл этилового спирта. Процедуру повторяли 2 раза.

Получение силикатных частиц, покрытых «золотыми зародышами». Для получения «зародышей» к 100 мл дистиллированной воды добавляли 1,1 мл 1 М раствора гидроксида натрия и 30 мкл ТГФХ. Раствор интенсивно перемешивали 5 мин. К полученной смеси быстро при перемешивании добавляли 4,4 мл 1%-го раствора ЗХВК. Полученный раствор НЧЗ выдерживали не менее трех недель при +4 °С. Образовавшиеся НЧЗ имели, согласно электронно-микроскопическим данным, диаметр порядка 2–3 нм.

К 10 мл раствора «золотых зародышей» добавляли 1 мл аминированных силикатных частиц и перемешивали 2 ч при комнатной температуре. По окончании реакции раствор центрифугировали 3 мин при 2000 g, супернатант удаляли, осадок перерастворяли в 10 мл воды и помещали в ультразвуковую баню «VBS-3» («Вилитек», Россия) на 5 мин. Процедуру повторяли 2 раза.

Наращивание золотых нанооболочек. Для приготовления ростового раствора к 100 мл воды добавляли 60 мг карбоната калия и 1,5 мл 1%-го раствора ЗХВК. Раствор выдерживали в темном месте не менее 12 ч при комнатной температуре.

К 10 мл ростового раствора добавляли при перемешивании раствор силикатных частиц, покрытых золотыми зародышами в соотношении 5:1, 10:1, 20:1 и 1 мл 6,6 мМ свежеприготовленного раствора боргидрида натрия. Полученные растворы перемешивали 5 мин и добавляли по 0,5 мл 10 мМ раствора цитрата натрия. Далее измеряли спектр поглощения растворов в диапазоне длины волны 400–900 нм на спектрометре «UV-1202» («Shimadzu», Япония).

Полученные растворы нанооболочек центрифугировали (700 g, 12 мин) при комнатной температуре. Супернатант удаляли, осадок растворяли в 10 мл воды и помещали в ультразвуковую баню на 5 мин. Процедуру повторяли 3 раза.

Сканирующая электронная микроскопия

Размер НЧЗ и золотых наноболочек определяли на растровом автоэмиссионном электронном микроскопе «SUPRA 40» производства «Carl Zeiss» (Германия). Перед анализом образцы НЧЗ и золотых наноболочек наносились из водного раствора на гладкую поверхность кремния в виде небольшой капли, которой давали полностью высохнуть при комнатной температуре и атмосферном давлении в течение 1 ч. Для удобства использовали кусочки стандартных кремниевых пластин размером $\sim 5 \times 5$ мм².

Для достижения предельного разрешения вакуумную камеру, в которую помещали образцы, откачивали до давления $> 2 \cdot 10^{-6}$ мБар. Образец находился на минимальной рабочей дистанции $\sim 1,0$ – $1,4$ мм от объективной линзы микроскопа, что позволяло максимально использовать возможности встроенного в колонну детектора вторичных электронов «InLens» и достигать предельного разрешения прибора (1,7 нм). Ускоряющие напряжения и ток луча подбирали таким образом, чтобы получить наилучшее качество изображения с максимальным разрешением и контрастом, сохраняя при этом минимальное воздействие на образец. Оптимальное значение ускоряющего напряжения составило 10 кВ. Ток луча определяли с помощью используемой диафрагмы, значение этого показателя достигало ~ 150 пА при использовании 30 мкм апертуры.

Получение конъюгата золотых наноболочек с антителами. Конъюгат золотых наноболочек с моноклональными антителами F9 получали, как описано в [20], с небольшими модификациями. Золотые наноболочки объемом 10 мл центрифугировали (700 g, 12 мин) при комнатной температуре. Супернатант удаляли, осадок растворяли в 10 мл ФБ и помещали в ультразвуковую баню на 5 мин. По каплям при перемешивании добавляли 1 мл раствора антител F9 (0,2 мг/мл) и перемешивали в течение 30 мин. Затем добавляли раствор БСА, доводили концентрацию до 0,2% и инкубировали в течение 30 мин, концентрацию сахарозы доводили до 10%, а раствора азида натрия до 0,01%. Для удаления несвязавшихся антител раствор центрифугировали (10 мин, 10 000 g) при комнатной температуре. Супернатант удаляли, осадок растворяли в требуемом объеме ФБ, содержащем 0,1% БСА, 10% сахарозы и 0,01% азида натрия, и помещали в ультразвуковую баню на 5 мин.

Получение иммунохроматографической тест-полоски. На аналитическую нитроцеллюлозную мембрану наносили раствор моно-

клональных антител F10 (0,5 мг/мл в ФБС) с помощью диспенсера «BioDot XYZ 3050» («BioJet Quanti 3000», «BioDot», США) для формирования аналитической зоны. На расстоянии 5 мм от аналитической зоны (контрольная зона) наносили раствор аффинно очищенных антивидовых антител овцы против мыши (1 мг/мл в ФБС). Параметры насоса «BioJet Quanti 3000»: размер капли 30 нл, шаг 0,3 мм, скорость 50 мм/с. Полоски высушивали при температуре 37 °С (относительная влажность 25–30%) в течение 24 ч и хранили при комнатной температуре в герметично закрытой упаковке. Раствор конъюгата антител с наноболочками наносили на полоску стекловолоконной мембраны РТ-Р5 и высушивали при комнатной температуре. Собирали тест-полоски, как описано в статье [20].

Проведение иммунохроматографического анализа. Готовые тест-полоски вертикально помещали в лунки полистиролового планшета («Greiner», Австрия) со 180 мкл стандартных растворов с-БСЖК в ФБСТ. Через 15 мин тест-полоски помещали на горизонтальную поверхность, оценивали визуально результат и высушивали. Предел обнаружения метода (нг/мл) определяли как минимальную концентрацию с-БСЖК, которую можно зарегистрировать визуально.

Результаты и обсуждение

Получение и характеристика золотых наноболочек. Синтез золотых наноболочек состоит из нескольких этапов (рис. 1). За основу взяты методики, описанные в статьях [21, 22]. Силикатные частицы, используемые в качестве ядра наноболочки, были получены по методу Штобера [19], в основе которого лежит гидролиз и конденсация тетраэтилортосиликата (ТЭОС) в присутствии гидроксида аммония в спирте. Варьируя соотношение ТЭОС и гидроксида аммония, можно синтезировать частицы с разным диаметром (от 50 нм до 1 мкм) [11]. В настоящей работе получены частицы с диаметром силикатного ядра 120, 150, 200 и 250 нм при добавлении 0,35; 0,43; 0,52 и 0,62 мл аммиака к 10 мл этанола соответственно. Полученные наночастицы обладали почти идеальной сферической формой и высокой степенью однородности (рис. 2, А).

В процессе аминирования полученных наночастиц диоксида кремния молекула 3-аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС), имеющая активные этокси- и аминогруппы, ковалентно связывается с диоксидом кремния, что обеспечивает в дальнейшем присоединение металлической

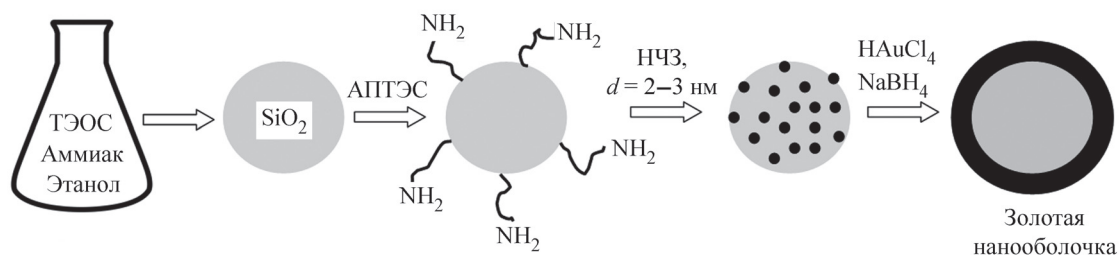
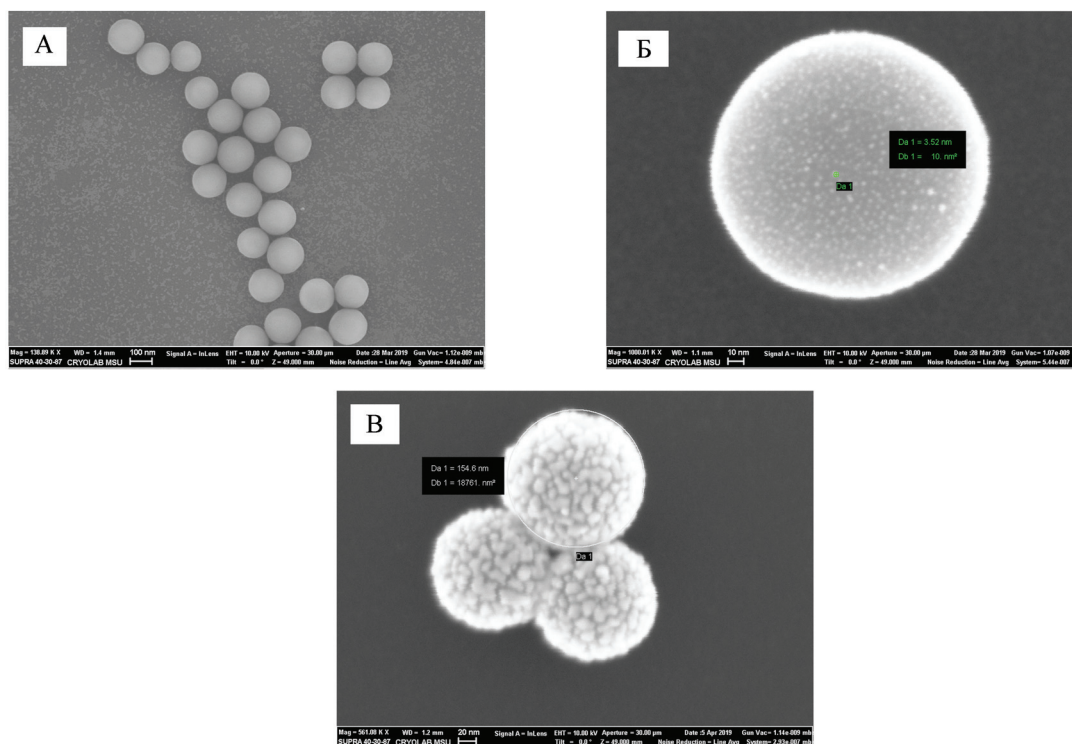


Рис. 1. Схема синтеза золотых наноболочек

Рис. 2. Фотография СЭМ: А – наночастицы SiO_2 (120 нм), Б – силикатные частицы, покрытые золотыми зародышами ($d = 2-3 \text{ нм}$), В – золотые наносферы (диаметр силикатного ядра 120 нм, толщина золотой оболочки 15 нм)

оболочки к ядру. По окончании реакции ассоциаты аминированных наночастиц оседают на дно колбы.

Процесс формирования золотой металлической оболочки на поверхности силикатных частиц происходит в два этапа. На начальном этапе проводится функционализация поверхности аминированных частиц HCH_3 малого диаметра (порядка 2–3 нм), так называемыми «зародышами». Аминогруппы на поверхности диоксида кремния в щелочной среде ($\text{pH} < 10$) имеют положительный заряд, и золотые наночастицы за счет электростатического взаимодействия адсорбируются на поверхности аминированного диоксида кремния (рис. 2, Б). Модификацию поверхности силикатных частиц «зародышами»

проводили при $\text{pH} 8,0-8,5$, поскольку, согласно литературным данным [21], при меньших значениях ($\text{pH} 4-6$) наблюдается неравномерное покрытие поверхности ядра.

Дальнейшее формирование золотой металлической оболочки до заданной толщины происходит в результате дополнительного восстановления ЗХВК. Предварительно был приготовлен ростовой раствор, в котором в результате щелочного гидролиза ЗХВК образуется гидроксид золота, что сопровождается обесцвечиванием раствора. При добавлении к ростовому раствору силикатных частиц, покрытых золотыми зародышами, и восстановителя происходит восстановление ионов гидроксида золота $[\text{Au}(\text{OH})_4]^-$. Цвет раствора при этом меняется от бесцветного до лазурно-си-

него. Использование формальдегида в качестве восстановителя приводит к преимущественному осаждению золота в растворе, а не на силикатных ядрах. В случае боргидрида натрия конденсация золота происходит в основном на поверхности силикатного ядра с образованием однородной золотой оболочки (рис. 2, В). Остановку реакции восстановления и стабилизацию системы осуществляли путем добавлением цитрата натрия.

Для контролируемого процесса формирования золотых нанооболочек использовали ростовые растворы с разным содержанием ЗХВК. Спектр поглощения силикатных ядер, покрытых «зародышами» не имеет характерного для НЧЗ пика плазмонного резонанса (рис. 3, кривая 1). В процессе восстановления гидроксида золота происходит увеличение «зародышей» в размере, сопровождающееся появлением в спектре пика в области 520 нм (рис. 3, кривая 2). При увеличении концентрации ЗХВК в ростовом растворе наблюдается смещение пика плазмонного резонанса в длинноволновую область с одновременным увеличением оптического поглощения. При этом наблюдается изменение цвета растворов от розоватого до насыщенно синего для полностью сформированной золотой нанооболочки (рис. 3, кривая 6).

Изучено влияние объема ростового раствора (5:1, 10:1, 20:1), добавляемого к модифицированным силикатным ядрам, на образование золотой оболочки. При увеличении объема ростового раствора наблюдалось более полное покрытие частиц золотой оболочкой (рис. 4), что сопровождалось сдвигом пика поглощения в более длинноволновую область (рис. 5). Однако избыток ростового раствора приводит к преимущественной коагуляции золотых частиц в растворе, а не на силикатных ядрах. Для получения конъюгатов золотых нанооболочек были выбраны частицы, полученные при смешении ростового раствора и силикатных частиц, покрытых золотыми «зародышами», в соотношении 10:1. Эти частицы имели наиболее полное и равномерное золотое покрытие. Золотые нанооболочки очищали от избытка продуктов реакции многократным центрифугированием и перерастворением в дистиллированной воде.

Использование нанооболочек в качестве метки в иммунохроматографическом анализе. Основная цель настоящей работы состояла в изучении возможности использования золотых нанооболочек в ИХА в качестве визуальной метки. Для проведения анализа была выбрана разработанная ранее иммунохроматографическая

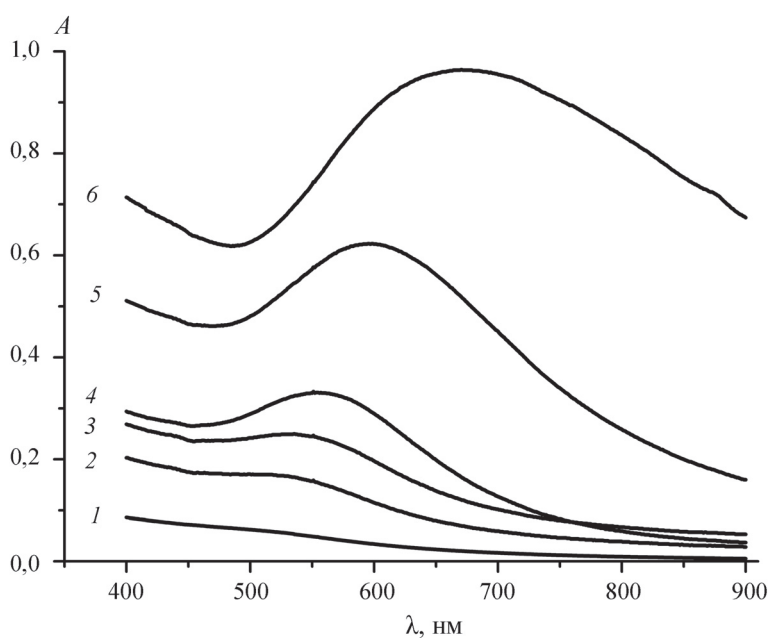


Рис. 3. Последовательное формирование золотых оболочек (соотношении ростового раствора к силикатным частицам, покрытым золотыми «зародышами» 10:1): 1 – спектр поглощения золотых зародышей; 2–5 – последовательное восстановление золота на адсорбируемых зародышах (концентрации ЗХВК в ростовом растворе: 0,0009; 0,0018; 0,00375 и 0,0075% соответственно); 6 – полностью сформированная золотая оболочка (концентрация ЗХВК 0,015%)

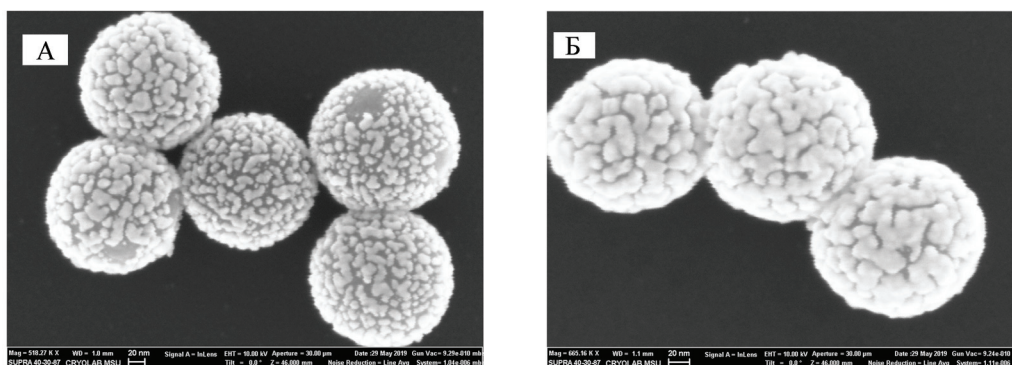


Рис. 4. Фотографии СЭМ полученных наноболочек при разном соотношении ростового раствора и частиц, покрытых золотыми «зародышами»: А – 5:1 (диаметр силикатного ядра 120 нм, толщина золотой оболочки 15 нм), Б – 10:1 (диаметр силикатного ядра 120 нм, толщина золотой оболочки 10 нм)

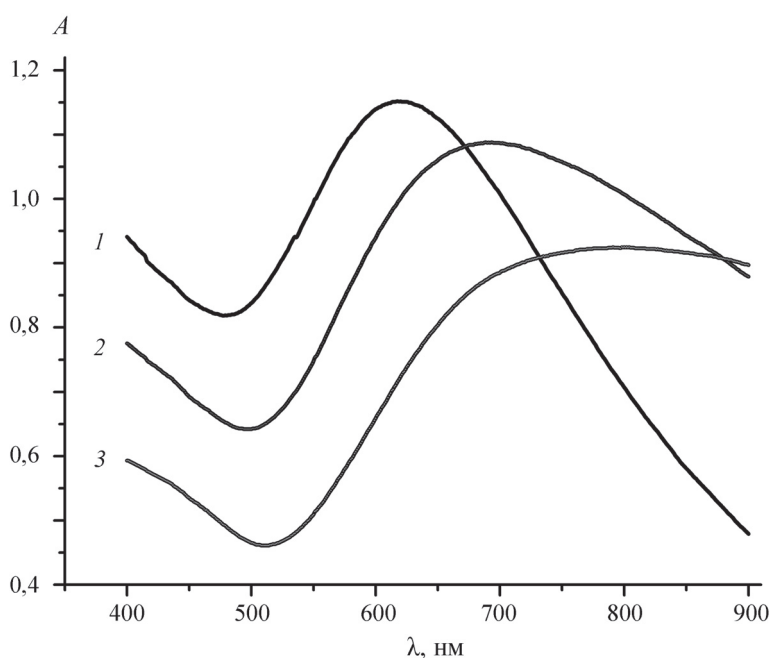


Рис. 5. Спектры поглощения золотых наноболочек, полученных при различном соотношении ростового раствора к силикатным частицам (120 нм), покрытых золотыми «зародышами»: 1 – 5:1, 2 – 10:1, 3 – 20:1

тест-система для определения с-БСЖК [20], где в качестве метки использовали наночастицы золота (20 нм). Конъюгаты антител с золотыми наноболочками получены по методу, аналогичному тому, что использовался для НЧЗ [20]. Полученные конъюгаты хорошо оседали при центрифугировании, поэтому требовались меньшая скорость и время центрифугирования. Для проведения анализа были выбраны наноболочки с диаметром силикатного ядра 120 нм и толщиной золотой оболочки 15 нм. Использование частиц более крупного диаметра приводило к снижению аналитического сигнала. Возможно, это

связано с тем, что крупные частицы агрегируют и задерживаются у начала мембраны и тестовой зоны достигает только малая доля частиц. Следует отметить, что перед проведением анализа необходимо было тщательно очистить конъюгат золотых наноболочек с антителами многократным промыванием, чтобы избежать появления неспецифических взаимодействий в виде фонового сигнала.

На рис. 6 представлены результаты сравнительного определения концентраций с-БСЖК с использованием НЧЗ (20 нм) и наноболочек (120/15 нм) в качестве меток. Условия проведе-

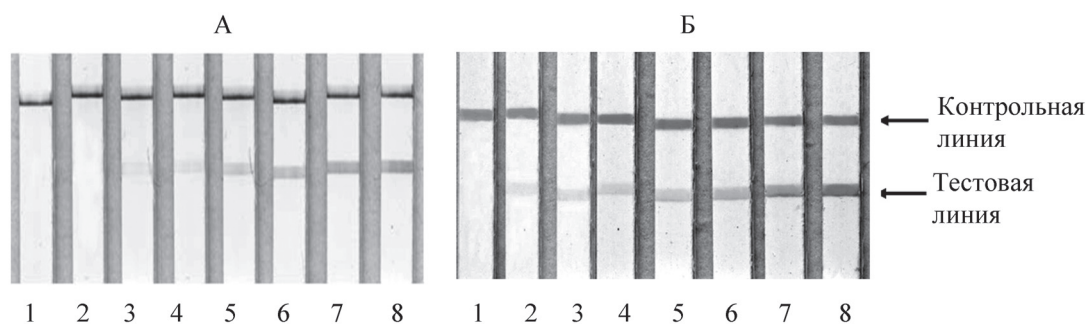


Рис. 6. Результаты определения стандартных растворов с-БСЖК в ФБСТ с использованием в качестве метки: А – НЧЗ (20 нм); Б – золотых наноболочек (нг/мл): 1 – 0; 2 – 0,5; 3 – 1,5; 4 – 3; 5 – 10; 6 – 20; 7 – 50; 8 – 100

ния иммунохроматографического анализа (используемые мембраны, концентрации реагентов) в обоих случаях были одинаковы. При визуальной детекции предел обнаружения метода для золотых наноболочек составил не более 0,5 нг/мл с-БСЖК, что в 2 раза ниже, чем для НЧЗ. Стоит отметить, что сине-черный цвет полосы при использовании наноболочек более контрастен по сравнению с розовым цветом в случае НЧЗ.

Таким образом, в работе была оптимизирована методика синтеза золотых наноболочек для использования в ИХА. Впервые была показана возможность применения золотых наноболочек в ИХА в качестве высокочувствительной метки на примере анализа раннего кардиомаккера с-БСЖК.

В работе использовали оборудование Учебно-методического центра литографии и микроскопии МГУ имени М.В. Ломоносова.

Работа выполнена в рамках государственных бюджетных тем «Исследование процессов в наноструктурах и устройствах на их основе», № 01201255519; «Исследования фундаментальных физических свойств объектов нанoeлектроники», № 01200309222; «Молекулярный дизайн, структурно-функциональный анализ и регуляция ферментных систем, клеточных конструкций, бионаноматериалов: фундаментальные основы и приложения в технологии, медицине, охране окружающей среды», № АААА-А16-116052010081-5.

Конфликта интересов нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Posthuma-Trumpie G., Korf J., van Amerongen A. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. Vol. 393. P. 569.
2. Хлебцов Н.Г., Богатырев В.А., Дыкман Л.Г., Хлебцов Б.Н. // *Российские нанотехнологии. Нанообзоры.* 2007. Т. 2. № 3–4. С. 69.
3. Huang X., Aguilar Z.P., Xu H., Lai W., Xiong Y. // *Biosens. Bioelectron.* 2016. Vol. 75. P. 166.
4. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. // *Biochemistry (Moscow).* 2016. Vol. 81. P. 1771 (DOI: 10.1134/S0006297916130125)
5. Wilson R. // *Chem. Soc. Rev.* 2008. Vol. 37. P. 2028.
6. Dykman L., Khlebtsov N. // *Chem. Soc. Rev.* 2012. Vol. 41. P. 2256 (DOI: 10.1039/c1cs15166e).
7. Presnova G., Presnov D., Krupenin V., Grigorenko V., Trifonov A., Andreeva I., Ignatenko O., Egorov A., Rubtsova M. // *Biosens. Bioelectron.* 2017. Vol. 88. P. 283 (DOI: 10.1016/j.bios.2016.08.054).
8. Drygin, Y.F., Blintsov A.N., Osipov A.P., Grigorenko V.G., Andreeva I.P. et al. // *Biochemistry (Moscow).* 2009. Vol. 74. P. 986.
9. Liu X., Atwater M., Wang J., Huo Q. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2007. Vol. 58. P. 3.
10. Frens G. // *Nature Phys. Sci.* 1973. Vol. 241. P. 20.
11. Kalele S., Gosavi S.W., Urban J., Kulkarni S.K. // *Current Science.* 2006. Vol. 91. P. 1038.
12. Jankiewicz B.J., Jamiola D., Choma J., Jaroniec M. // *Adv. in Colloid and Interface Science.* 2012. Vol. 170. P. 28.
13. Oldenburg S.L., Averitt R.D., Westcott S.L., Halas N.J. // *Chem. Phys. Letters.* 1998. Vol. 288. P. 243.
14. Khlebtsov B., Khlebtsov N. // *Nanotechnology.* 2008. Vol. 19. P. 1.
15. Xu H., Chen J., Birrenkott J., Zhao J.X., Takalkar S., Baryeh K., Liu G. // *Anal. Chem.* 2014, Vol. 86. P. 7351.
16. Takalkar S., Xu H., Chen J., Baryeh K., Qiu W., Zhao J.X., Liu G. // *Anal. Sciences.* 2016. Vol. 32. P. 617.
17. Lu X., Mei T., Guo Q., Zhou W., Li X., Chen J., Zhou X., Sun N., Fang Z. // *Microchimica Acta.* 2018. Vol. 186. P. 1.
18. Lescuyer P., Allard L., Hochstrasser D.F., Sanchez J-C. // *Mol. Diagn.* 2005. Vol. 9. P. 1.
19. Stober W., Fink A., Bohn E. // *J. Colloid. Interface Sci.* 1968. Vol. 26. P. 62.
20. Yakovleva E.A., Andreeva I.P., Grigorenko V.G., Osipov A.P. // *Moscow University Chemistry Bulletin.* 2011. Vol. 66. P. 356.
21. Kah J.C.Y., Phonthammachai N., Wan R.C.Y., Song J., White T. et al. // *Gold Bulletin.* 2008. Vol. 41. P. 23.
22. Pham T., Jackson J.B., Halas N.J., Lee T.R. // *Langmuir.* 2002. Vol. 18. P. 4915.

Поступила в редакцию 10.02.2020

Получена после доработки 12.02.2020

Принята к публикации 20.02.2020

SILICA-BASED GOLD NANOSHELLS: SYNTHESIS AND APPLICATION IN IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ASSAY

V.G. Grigorenko^{1*}, I.P. Andreeva¹, G.V. Presnova¹, D.E. Presnov^{2,3}, E.A. Yakovleva¹, A.P. Osipov¹

¹Enzymology Division, Chemistry Department, M.V. Lomonosov Moscow State University;

²D.V. Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University;

³Quantum Technology Centre, Faculty of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University; *e-mail: vitaly.grigorenko@gmail.com

The method for gold nanoshells synthesis was optimized for their use as a highly sensitive label in immunochromatographic assay. An immunochromatographic test system based on gold nanoshells as a visual marker was developed for early cardiomarker fatty acid binding protein (H-FABP) detection. The detection limit of the method in the case of gold nanoshells was more than 2 times lower than that of gold nanoparticles and amounted to 0.5 ng / ml for H-FABP.

Key words: immunochromatographic assay; gold nanoshells; gold nanoparticles; human heart fatty acid binding protein.

Сведения об авторах: Григоренко Виталий Георгиевич – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (vitaly.grigorenko@gmail.com); Андреева Ирина Петровна – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (imtek@newmail.ru); Преснова Галина Васильевна – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (gpresnova@gmail.com); Преснов Денис Евгеньевич – ст. науч. сотр. лаборатории «Криоэлектроника», Научно-исследовательский институт ядерной физики МГУ, Центр квантовых технологий, физический факультет МГУ, канд. физ.-матем. наук (denis.presnov@physics.msu.ru); Яковлева Елена Алексеевна – аспирант кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (yakovlevahelena@gmail.com); Осипов Александр Павлович – доцент кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (apospov@mail.ru).