**Применение полимерных мембран для ГКР-определения вируса гриппа А.**

***Тихонова Д.С.1, Кукушкин В.И.2, Нечаев А.Н.3, Завьялова Е.Г.1***

*Студент, 6 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Институт физики твердого тела РАН, Черноголовка, Россия*

*3Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Россия*

*E-mail:* *daria.tikhonova@chemistry.msu.ru*

Метод гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) представляет собой разновидность спектроскопии комбинационного рассеяния и является одним из наиболее перспективных оптических методов, используемых в биосенсорах. Ключевой особенностью этого метода является необходимость сорбции аналита на наноструктурированной металлической поверхности для получения интенсивных характеристических ГКР-спектров, т.н. «отпечатков пальцев». Однако, поскольку ГКР-спектр таких сложных объектов, как вирусы, сложно однозначно расшифровать, с целью повышения специфичности и точности определения активно разрабатываются подходы с использованием модификации ГКР-поверхности узнающими элементами, имеющими уникальный спектр. В качестве таких элементов могут выступать аптамеры – одноцепочечные синтетические нуклеиновые кислоты, способные высокоспецифично и высокоаффинно связывать вирусы, взаимодействуя с их поверхностными белками.

Полимерные мембраны находят широкое применение в биосенсорах, благодаря своим свойствам гибкости, полупроницаемости, способности к фильтрации и концентрированию аналита. Эти свойства мы использовали при реализации ГКР-аптасенсора для определения вируса гриппа А. Для создания ГКР-субстрата биосенсора была использована шероховатая трековая мембрана из полиэтилентерефталата (ПЭТФ) с магнетронным напылением серебра. Именно сложная структура шипиков на поверхности мембраны обеспечивала значительное усиление ГКР-сигнала. Дизайн биосенсора был основан на конформационном изменении меченного резонансным красителем Сy3 аптамера SH-RHA0385-Сy3 при связывании с целевым вирусом и регистрации ГКР-сигнала метки. При этом, было показано, что данная конструкция аптасенсора позволяет определять разные штаммы вируса гриппа А: человеческий H1N1 и птичий H5N1, с пределами обнаружения 120 вир.частиц/мл и 1000 вир.частиц/мл, соответственно. Также ключевым достижением в данном подходе стало сохранение напыленного слоя серебра после взаимодействия с биологической жидкостью, что обеспечило воспроизводимость определения.

Одним из популярных применений полимерных мембран являются хроматографические тест-полоски. За счет возможностей функционализации поверхности ПЭТФ мембраны в таких подходах также активно применяются аптамеры, в качестве узнающих элементов. Основным недостатком данного метода диагностики считается низкая чувствительность и сложность проведения количественного определения аналита. Поэтому мы предложили заменить классические наночастицы золота на двуслойные наночастицы SiO2@Au с инкапсулированной внутри резонансной краской. Таким образом, была предложена классическая сэндвич-система хроматографической аптамерной тест-полоски для определения вируса гриппа А, где регистрация ГКР-сигнала опытной зоны позволяла количественно определять мишень. Были синтезированы двуслойные наночастицы SiO2@Au c APTES на поверхности для химической иммобилизации аптамера. Полученные конъюгаты обладали высокой стабильностью, интенсивным ГКР-сигналом инкапсулированной метки и продемонстрировали способность связывать вирус гриппа А.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 24-65-00015, https://rscf.ru/project/24-65-00015/).*