**Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ определения флуниксина с использованием моноклональных антител**

***Арутюнян Д.А.***

*Аспирант, 2 год обучения*

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

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: dmitrii.arutiunian@chemistry.msu.ru*

Метод поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) основан на способности флуорофоров испускать свет, имеющий различные составляющие вдоль двух осей поляризации, использующихся для расчёта степени поляризации Р. Этот метод широко используется как аналитический инструмент, в том числе и при определении низкомолекулярных препаратов, попадающих в окружающую среду и загрязняющих продукты питания. ПФИА характеризуется простотой, высокой чувствительностью и специфичностью анализа, а также возможностью автоматизации, что позволяет применять его для проверки большого числа образцов. Возможность определения низкомолекулярных соединений и стабильность иммунореагентов при соблюдении условий хранения также являются немаловажными характеристиками этого метода.

Одна из главных задач, возникающих при разработке методики ПФИА – получение антител, обладающих достаточно высокими аналитическими характеристиками и позволяющими благодаря этому определять низкие содержания целевого аналита. В данной работе исследовались образцы неочищенных асцитных жидкостей, содержащих моноклональные антитела, полученные против флуниксина (Флу) и проводилось сравнение их характеристик с аналогичными моноклональными антителами, прошедшими очистку и их влияние на аналитические характеристики методики, разработанной для определения нестероидного противовоспалительного препарата флуниксина в продуктах питания.

Для выбора пары иммунореагентов трейсер/антитело важными аналитическими характеристиками являются предел обнаружения, линейный диапазон, IC50 и кроссреактивность. Также важно и проведение апробирования методики, для проверки возможности определения аналита в продуктах питания. В случае флуниксина анализировалось коровье и козье молоко, как продукты, подвергающиеся потенциальному загрязнению со стороны данного препарата.

В настоящей работе были синтезированы и очищены методом тонкослойной хроматографии конъюгаты флуниксина с флуоресцентными метками этилендиаминтиокарбамил флуоресцеина (ЭДФ), карбоксифлуоресцеин (ФАМ), 5-аминоацетамидфлуоресцеин (ГАФ). Изучено их взаимодействие со специфическим моноклональными антителами, подобраны пары иммунореагентов для определения флуниксина. Проведена оптимизация условий проведения анализа, получены калибровочные кривые и определены аналитические характеристики разработанных методик, в результате чего выбрана пара иммунореагентов Флу-ЭДФ/асцит-Флу 1 с пределом обнаружения 20 нг/мл и линейным диапазоном обнаружения от 45 до 900 нг/мл, когда прочие пары иммунореагентов обладали пределом обнаружения от 100 нг/мл и выше.

Таким образом в данной работе показана зависимость аналитических характеристик разработанных методик не только от структуры флуоресцентно меченых конъюгатов, но и от типа используемых моноклональных антител. Показано влияние степени очистки моноклональных антител на качество проводимого иммуноанализа.

*Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова 123032300028-0.*