**Разработка иммунохроматографической тест-системы для одновременного обнаружения поверхностных антигенов и специфических ДНК патогенных бактерий**

***Лапшинов Н.Э.1,2, Сафенкова И.В.2*, *Жердев А.В 2, Дзантиев Б.Б 2***

*Студент, 1 курс магистратуры*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,   
химический факультет, Москва, Россия*

*2ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт биохимии имени А.Н. Баха, Москва, Россия*

*E-mail: nikita\_lapshinov@mail.ru*

Основные направления в современной диагностике – выявление специфических антигенов патогенных микроорганизмов и уникальных участков их нуклеиновых кислот. Однако во многих случаях востребован контроль, объединяющий высокоселективную молекулярно-генетическую идентификацию возбудителя и иммунохимическую оценку степени поражения. Иммунохроматографические тест-системы (ИХТС) позволяют проводить простую и быструю детекцию как антигенов, так и ДНК, но посредством существенно отличающихся процедур. Задача настоящей работы – создание ИХТС для одновременного обнаружения поверхностных антигенов и амплифицированных ДНК на примере карантинного фитопатогена *Erwinia amylovora*, вызывающего бактериальный ожог плодовых культур.

Предложенная схема анализа предусматривает формирование двух видов «сэндвич» комплексов в различных тестовых зонах ИХТС: 1) иммобилизованные антитела к клеткам фитопатогена – антиген в пробе – антитела к клеткам фитопатогена, конъюгированные с иммунохроматографическим маркером, и 2) иммобилизованный стрептавидин – ДНК-продукт амплификации с биотиновой и флуоресцеиновой метками на противоположных концах – антитела к флуоресцеину с иммунохроматографическим маркером. Для формирования контрольной зоны используется стафилококковый иммуноглобулинсвязывающий белок А.

В качестве маркера для высокочувствительного выявления специфических комплексов выбран золото-платиновый нанозим Au@Pt. Синтез нанозима включал цитратное восстановление золотохлористоводородной кислоты с получением наночастиц золота и последующее аскорбатное восстановление гексахлороплатината на их поверхности. Полученные наночастицы имели игольчатую поверхность (по данным просвечивающей электронной микроскопии) и формировали стабильный коллоидный раствор со средним гидродинамическим диаметром частиц 42 ± 14 нм (по данным динамического лазерного светорассеяния). Показана эффективная трансформация нанозимом хромогенного субстрата – 3,3',5,5'-тетраметилбензидина. Получены адсорбционные конъюгаты нанозима с антителами к *E. amylovora* и к флуоресцеину. Сопоставлены по стабильности и каталитической активности конъюгаты, синтезированные при различных рН – от 8,0 до 10,0 – и концентрациях антител от 10 до 20 мкг/мл (ОD400 нанозима – 0,335).

Изучено применение конъюгатов нанозим-антитело в ИХТС с каталитическим усилением. При выявлении ДНК-олигонуклеотида, содержащего биотин и флуоресцеин, минимальный предел обнаружения составил 1 пМ. Клетки *E. amylovora* детектировались в концентрации до 1000 кл./мл при использовании конъюгата, синтезированного при рН 9,5. Полученные результаты подтверждают перспективность развития предложенного подхода для тестирования проб, содержащих как продукты изотермической амплификации, так и клетки *E. amylovora*.