

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-124

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ КАТАЛИЗАТОРОВ РАСКРЫТИЯ
ОКСИРАНОВОГО ЦИКЛА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ «ПОЛИМЕРНЫХ ЩЕТОК»
ИЗ ГЛИЦИДИЛМЕТАКРИЛАТА В ТЕХНОЛОГИИ БЕЛКОВЫХ БИОЧИПОВ***

**THE USE OF AMINO-CONTAINING CATALYST FOR OPENING THE OXIRANE RING IN “POLYMER
BRUSHES” MADE FROM GLYCIDYL METHACRYLATE IN PROTEIN BIOCHIP TECHNOLOGY**

Г. Ф. Штылев, Д. А. Качуляк, О. А. Заседателева, А. В. Чудинов

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

G. F. Shtylev, D. A. Kachulyak, O. A. Zasedateleva, A. V. Chudinov

Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow

✉ gosha100799@mail.ru

Аннотация

По иммобилизации флуоресцентного красителя осуществлен подбор катализаторов на основе аминов для раскрытия оксиранового цикла в полимерных щетках из глицидилметакрилата, прикрепленных к поверхности полибутилентерефталата. Выполнена иммобилизация белка, маркированного флуоресцентным красителем Су3, для проверки полимерных щеток на реальной модели для применения чипа в иммунохимическом анализе антител.

Abstract

According to the immobilization of the fluorescent dye, amine-based catalysts were selected to open the oxirane cycle in polymer brushes made of glycidyl methacrylate attached to the surface of polybutylene terephthalate. Immobilization of a protein labeled with fluorescent dye Су3 was performed to test polymer brushes on a real model for the use of the chip in immunochemical analysis of antibodies.

Разработка и применение биологических микрочипов стали важным достижением в современной биологии, биотехнологии и медицине. Одним из ключевых преимуществ микрочипов является возможность проводить многопараметрический параллельный анализ. Применение «полимерных щеток» является перспективным способом модификации поверхности для анализа молекулярных зондов. Многообещающими являются «полимерные щетки» с активными функциональными группами, например эпоксидными. Так, мономер глицидилметакрилат в составе полимерных щеток имеет оксирановый цикл, раскрытие которого происходит после реакции с нуклеофильными реагентами. Иммобилизация белков, содержащих amino- и тиогруппы, может проходить без дополнительной стадии активации, что сокращает стоимость и время анализа. Однако надо принимать во внимание, что нуклеофильность аминогрупп, которых в белках обычно значительно больше, чем тиогрупп, недостаточная и раскрытие эпоксидного цикла без катализатора занимает длительное время. Поэтому оптимизация условий иммобилизации белковых зондов на полимерные щетки с оксирановыми группами является актуальной задачей.

Подложку из полибутилентерефталата покрыли фотоактивным полимером, в состав которого входили поливинилацетат и бензофенон. На этой стадии применялся метод центрифугирования. С помощью фотолитографии получили полимерные щетки, состоящие из мономеров глицидилметакрилата, гидроксиэтилметакрилата и 2-(метакрилоилокси)этил]диметил-(3-сульфопропил) аммония. В качестве катализаторов для раскрытия эпоксидного цикла использовали триэтиламин (TEA), диизопропилэтиламин (DIPEA) и диметиламинопиридин (DMAP). Результаты иммобилизации флуоресцентного красителя с гексаметилендиаминовым линкером при использовании различных катализаторов на основе аминов приведены в таблице.

Применение триэтиламина в качестве катализатора показало наилучшую эффективность при иммобилизации флуоресцентного красителя. Однако известно, что триэтиламин обладает также хаотропными свойствами, которые могут пагубно сказаться на конформационной структуре белков. В щеточные ячейки биочипа иммобилизовали стрептавидин, маркированный Су3. Соотношение сигнал/фон на канале Су3 составило 34. Затем использовали проявляющие биотинилированные козьи антитела, меченые Су5. Соотношение сигнал/фон на канале Су5 составило 44.

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ (№ 20-14-00287-П).

© Г. Ф. Штылев, Д. А. Качуляк, О. А. Заседателева, А. В. Чудинов, 2024

**Оценка эффективности аминов в качестве катализаторов для раскрытия
эпоксидного цикла при помощи иммобилизации флуоресцентного красителя Cy5**

	TEA	DIPEA	DMAP
$I_{\text{сигнала}}$	30000	6900	2000
$I_{\text{фона}}$	140	400	50
$I_{\text{сигнала}}/I_{\text{фона}}$	214	17	40

Таким образом, использование триэтиламина как катализатора для нуклеофильного раскрытия эпоксидного цикла не влияет на конформационную структуру белков и позволяет сократить время проведения иммунохимического анализа.