

УДК 543.555+577.15+543.06+544.6:57

## **РОЗРОБКА КОНДУКТОМЕТРИЧНОГО МОНОФЕРМЕНТНОГО БІОСЕНСОРА ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АРГІНІНУ НА ОСНОВІ АРГІНІНДЕМІНАЗИ**

**Беркета К.О.<sup>1</sup>, Саяпіна О.Я.<sup>1</sup>, Фаюра Л.Р.<sup>2</sup>, Сибірний А.В.<sup>2,3</sup>,  
Дзядевич С.В.<sup>1</sup>, Солдаткін О.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,  
[ksenya.berketa.10@gmail.com](mailto:ksenya.berketa.10@gmail.com)

<sup>2</sup> Інститут біології клітини НАН України

<sup>3</sup> Жешувський університет

Амінокислота L-аргінін є умовно незамінною, а також найбільш основною серед протеїногенних амінокислот. Вона включена в ряд важливих фізіологічних процесів: поділ клітин, синтез білків, імунні реакції тощо. Опосередковано аргінін може приймати участь в судинному гомеостазі. Тому коли кількість аргініну та його похідних в метаболічних шляхах знижується можуть виникнути серйозні проблеми з функціонуванням організму людини.

L-аргінін є маркером низки захворювань: серцево-судинних захворювань, захворювань периферичних судин, еректильної дисфункції, атеросклерозу, стенокардії, мігрені.

Наразі існує широкий спектр методів кількісного визначення аргініну: спектрофотометричний, флуориметричний та хемілюмінесцентний аналіз, хроматографія, капілярний електрофорез, мас-спектрометрія та ферментні аналізи. Незважаючи на те, що всі методи є ефективними у використанні, вони мають ряд недоліків: висока вартість, тривала попередня обробка зразків, складність аналізу та використання дороговартісного і громіздкого обладнання. Для розв'язання даних проблем ми вирішили створити моноферментний кондуктометричний біосенсор на основі аргініндемінази для селективного визначення аргініну в фармацевтичних зразках.

Роботу по розробці моноферментного біосенсора для визначення аргініну почали з вибору оптимальної методики іммобілізації та підбору основних параметрів цієї іммобілізації (склад ферментного розчину, активність ферменту в гелі, методика нанесення біомембрани, тривалість іммобілізації, тощо).

Визначали оптимальні параметри робочого буферного розчину для найкращого функціонування розробленого кондуктометричного біосенсора. Таким чином, для роботи біосенсора було обрано 5 мМ фосфатний буферний розчин, рН 6,2.

Аналізуючи стабільність розробленого біосенсора було експериментально визначено, що аргінін-чутливий біосенсор характеризується високою відтворюваністю результатів впродовж одного дня активної роботи (RSD = 6,1 %), а також характеризується гарною операційною стабільністю протягом двох тижнів. Також було визначено найкращі умови для довгострокового зберігання біосенсора – в сухому стані за температури -18 °С.

При дослідженні селективності розробленого кондуктометричного біосенсора на основі аргініндеїмінази відносно протеїногенних амінокислот та інших електроактивних речовин встановлено, що запропонований біосенсор, характеризується деякою чутливістю (на рівні 20 % від відгуку на цільову речовину) до глютамінової та аспарагінової кислот, а також сильною чутливістю до лимонної та аскорбінової кислот (на рівні чутливості до цільової речовини). Відгуки на інші можливі інтерференти були мінімальними та майже не впливали на селективність біосенсора.

Було проаналізовано аналітичні характеристики розробленого в роботі біосенсора. Виявилось, що мінімальна границя визначення аргініну для запропонованого біосенсора становила 2 мкМ. Лінійний діапазон роботи біосенсора знаходиться в межах від 20 до 750 мкМ L-аргініну, а динамічний – від 0 до 2000 мкМ. Чутливість до L-аргініну для даного біосенсора становила 1927 мкСм/мМ. Шум та дрейф базової лінії для даного вимірювання становили 1,6 мкСм/хв та 0,72 мкСм/хв відповідно.

Таким чином, було доведено, що основні характеристики біосенсора, є достатніми для його коректної роботи з реальними фармацевтичними зразками. Далі ми приступили до апробування біосенсора при вимірюванні концентрації цільової сполуки – L-аргініну в фармацевтичних зразках. Для перевірки коректності біосенсорного аналізу було відібрано три різні фармацевтичні препарати. При біосенсорному аналізі концентрацій аргініну було застосовано метод стандартних додавань. Цей метод стандартних додавань полягає у тому, що спочатку додавали досліджуваній зразок з невідомою концентрацією аргініну (аліквота фармацевтичного препарату) у вимірювальну комірку. Далі додавали три аліквоти стандартного концентрованого розчину аргініну. По отриманим відгукам будувалась пряма, за рівнянням якої і вираховували концентрацію аргініну в досліджуваному зразку.

За результатами біосенсорного аналізу по 3-м фармацевтичним препаратам побудовано таблицю 1, в якій отримані концентрації аргініну в препаратах порівняно з концентраціями, зазначеними фармацевтичними підприємствами. Вимірювання кожного препарату робили в 6-и повторностях.

Таблиця 1 – Результати біосенсорного аналізу концентрації аргініну в фармацевтичних зразках

Зразок	Біосенсорний аналіз, мМ	Заявлена виробником концентрація, мМ
№1	143,9±10,9	149,7
№2	146,3±25,6	143,8
№3	114,3±17,4	100,0

Отримані в рамках розробки та тестування нового аргінін-чутливого моноферментного біосенсора результати свідчать про перспективність подальшого застосування даного біосенсора для аналізу концентрації аргініну в фармацевтичних зразках.