

БИОСЕНСОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБРАТИМЫХ ИНГИБИТОРОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ДНК

Давлетшина Р.Р., Иванов А.Н., Евтюгин Г.А.

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, Кремлевская 29/1,
e-mail: davletshinarr@gmail.com*

Многие обратимые ингибиторы ацетилхолинэстеразы (АХЭ) являются лекарственными препаратами и играют важную роль в лечении заболеваний, связанных с нарушением холинергической системы. Поэтому создание чувствительных сенсоров для экспресс-контроля обратимых ингибиторов АХЭ является актуальной задачей в фармакокинетике и при поиске новых лекарственных средств против нейродегенеративных заболеваний.

Разработан новый электрохимический сенсор, в котором обратимое ингибирование АХЭ измеряли в режиме хроноамперометрии по току окисления тиохолина – продукта ферментативного гидролиза ацетилтиохолина. Окисление тиохолина происходило на стеклоуглеродном электроде, модифицированном фталоцианином кобальта и углеродной сажей. Имобилизацию АХЭ на поверхности сенсора осуществляли при помощи электростатических взаимодействий с использованием полиэлектролитных комплексов с включением ДНК.

В качестве модельного обратимого ингибитора АХЭ был использован гуперзин А. Присутствие ингибитора в растворе, контактирующем с сенсором, снижало активность фермента и уменьшало скорость гидролиза ацетилтиохолина, что выражалось в снижении регистрируемого тока окисления тиохолина. Степень ингибирования (I%) АХЭ вычисляли как $I\% = (i_0 - i)/i_0$, где i_0 – ток окисления тиохолина, измеренный в растворе с субстратом в отсутствие ингибитора, а i – ток, измеренный в присутствии субстрата и ингибитора.

Для увеличения чувствительности биосенсора и снижения предела обнаружения гуперзина А были изучены зависимости степени ингибирования от удельной поверхностной концентрации иммобилизованного фермента, концентрации субстрата и времени инкубирования. Концентрационная зависимость степени ингибирования гуперзина в модельном растворе искусственной урины имела сигмоидный вид в полулогарифмических координатах в диапазоне концентраций ингибитора $1 \times 10^{-12} - 3 \times 10^{-5}$ М. Предел обнаружения гуперзина А, соответствующий 15% ингибированию АХЭ, составил 5×10^{-12} М.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 17-03-00381.