

КІБЕРНЕТИКА та КОМП'ЮТЕРНІ ТЕХНОЛОГІЇ

Одним з основних напрямків застосування оптичних сенсорів на поверхневому плазмонному резонансі є біохімічний аналіз. Номенклатура ППР пристроїв дуже широка і може включати як вартісні багатоканальні прилади надточного лабораторного аналізу, так і більш прості прилади для експрес-діагностики. В даній роботі розроблений в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України комп'ютеризований прилад «Плазмонтест» було застосовано для експрес-діагностики різних концентрацій сперміну – поліаміну, вміст якого в організмі є маркером розвитку раку передміхурової залози. Запропоновано дві методики детектування сперміну методом ППР за допомогою наночастинок колоїдного золота.

Ключові слова: поверхневий плазмонний резонанс, біосенсор, наночастинок, спермін.

© Т.С. Лебедева, Ю.Д. Мінов,
М.П. Прилуцький, П.Г. Сутковий,
Ю.О. Фролов, П.Б. Шпильовий, 2023

УДК 535016

DOI:10.34229/2707-451X.23.1.5

Т.С. ЛЕБЕДЕВА, Ю.Д. МІНОВ, М.П. ПРИЛУЦЬКИЙ, П.Г. СУТКОВИЙ,
Ю.О. ФРОЛОВ, П.Б. ШПИЛЬОВИЙ

ЗАСТОСУВАННЯ ПРОГРАМНО-АПАРАТНОГО КОМПЛЕКСУ «ПЛАЗМОНТЕСТ» ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СПЕРМІНУ

Вступ. В останні роки кількість робіт, присвячених дослідженням із застосуванням ефекту поверхневого плазмонного резонансу (ППР) та розробці сенсорів на його основі, неухильно зростає. Це пов'язано як з перспективністю застосування даного методу в біології, медицині, ветеринарії, так і з істотним розвитком елементної бази, що дозволяє створювати компактні інтелектуальні прилади, здатні задовольнити запити споживача як на складні наукомісткі дослідження, так і на експрес-тестування у польових умовах. Розроблено ППР-пристрої та біохімічні методики діагностики для вирішення широкого спектру задач: лабораторної діагностики в медицині, ветеринарії, визначення забруднень у навколишньому середовищі, контролю якості харчових продуктів [1–5].

Привабливість ППР-сенсорів заснована на їх здатності до швидкого і точного визначення показника заломлення середовища, або реєстрації зміни оптичних характеристик прилеглого до поверхні ППР сенсора шару досліджуваної речовини, що дозволяє судити про перебіг біохімічних взаємодій. В порівнянні з класичними біохімічними методами, метод ППР дає можливість відслідковувати кінетику біохімічних реакцій у реальному часі. Низька вартість обладнання, помірний час проведення аналізу методом ППР (менше години), невелика кількість реактивів, робить ППР економічно вигідним для проведення клінічних аналізів.

На даний момент розроблені як складні аналітичні ППР сенсори – шведська фірма Viacore, сенсори середнього класу – ППР сенсори серії «Плазмон», так і портативні сенсори невеликих розмірів, аналогічні сенсорам сімейства Spreeta, розробку і випуск яких вперше освоїла фірма Texas Instruments, США.

В Інституті кібернетики НАН України розроблено ППР-пристрій «Плазмонтест», який є програмно-апаратним комплексом, що включає оптичну та схемотехнічну частини, термостабілізовану комірку для досліджень, програмну частину та діалогове вікно для користувача на комп'ютері, яке дає можливість відслідко-

ування ППР-кривих (що важливо при проведенні фізичних досліджень властивостей сенсорних покриттів) та сенсограм кута ППР-мінімуму. «Плазмонтест» в процесі його дослідної експлуатації вже використовувався при рефрактометричних і біохімічних дослідженнях, а також при відпрацюванні технології сенсорних підкладок для ППР сенсорів на основі металів та оксидів.

1. Основи метода ППР

Для реалізації ППР сенсора потрібна наявність джерела *p*-поляризованого світла, пристрою реєстрації світла або його розподілу, плазмоніпідтримуючої плівки металу, як правило – золота, товщиною в десятки нанометрів, та можливість керувати довжиною хвилі світла або кутом падіння світла на плівку металу.

Як правило, при ППР дослідженнях безпосередньо вимірюють кутову залежність відбивання світла від ППР-підкладки в умовах повного внутрішнього відбиття. Про наявність ППР свідчить мінімум коефіцієнта відбивання при деякому резонансному куті падіння світла φ_{mp} , що входить у рівняння

$$\sqrt{\varepsilon_{np}} \sin \varphi_{mp} \approx \sqrt{\frac{\varepsilon'(\omega)\varepsilon_c}{\varepsilon_c + \varepsilon'(\omega)}},$$

де ε' – дійсна частина комплексної діелектричної проникності $\varepsilon(\omega) = \varepsilon'(\omega) + i\varepsilon''(\omega)$ плівки металу, ε_{np} – діелектрична стала матеріалу, на яке нанесено метал, ε_c – діелектрична стала середовища над поверхнею металу.

Форма та кут мінімуму ППР-кривої залежить від: 1) ступеня поляризації, довжини хвилі і кута падіння збуджуючого світла; 2) товщини тонкого шару металу, його комплексної діелектричної проникності і її дисперсії; 3) діелектричної проникності прилеглих до металу шарів.

Коло завдань, які можуть вирішувати ППР-сенсори дуже широке – дослідження тонких металевих та діелектричних плівок, рефрактометрія рідин та газів, реєстрація взаємодії аналіту з поверхнею рецепторного шару, вивчення кінетики біохімічних реакцій у реальному часі. Метод має рекордну чутливість щодо виявлення змін у шарах, прилеглих до металевої плівки, саме там, де відбувається взаємодія молекул-рецепторів, закріплених на її поверхні, і молекул аналіту. Розрахункова кутова чутливість ППР сенсора на золоті для накладеного шару білкових речовин (показник заломлення $n = 1,5$) складає 0,15 град/1 нм.

При кутових дослідженнях ППР експериментально визначається залежність коефіцієнта відбивання від кута падіння світла поблизу мінімуму ППР. Вигляд ППР кривої показано на рис. 1 *ліворуч*, – на ньому показані криві ППР, зняті в різні моменти часу при адсорбції аналіту. Графік розвернутий на 90 градусів, так що вісь кутів розташовується вертикально. Для вивчення біомолекулярних взаємодій будують залежність резонансного кута від часу – сенсограму, яка на цьому ж рисунку *праворуч*.

Розроблений в Інституті кібернетики НАН України прилад «Плазмонтест» – це ППР-пристрій кутового типу (рис. 2). Він базований на розбіжному промені поляризованого випромінювання, скляній призмі з показником заломлення 1,61 і центральним кутом 63 градуси, системі лінз та фотодіодній ПЗС-лінійці з 2048 елементів (пікселів). Прилад обладнаний термостабілізаційною вимірювальною коміркою, що дозволяє регулювати температуру досліджуваних рідин з точністю $\pm 0,1^{\circ}$.

Особливість приладу – можливість його використання зі стаціонарним комп'ютером, ноутбуком, а також в автономному режимі, з відображенням ППР-кривих, сенсограм або результатів діагностики на дисплеї приладу [6].

Прилад пройшов державну метрологічну атестацію як рефрактометр [7].

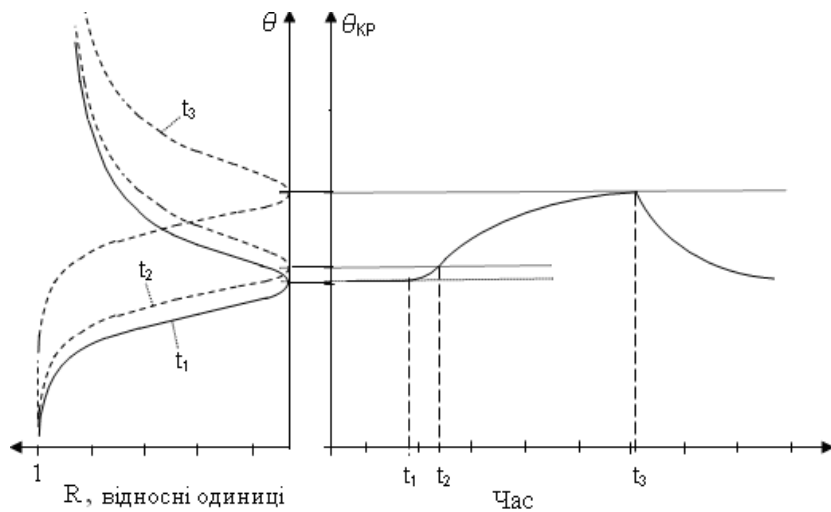


РИС. 1. Принцип побудови сенсограми

Можливість контролю ППР-кривих є важливою при відпрацюванні методик аналізів, оскільки дає можливість контролювати змочування в комірці, а також контролювати вплив сенсорних та досліджуваних шарів на еволюцію форми кривої відбиття.

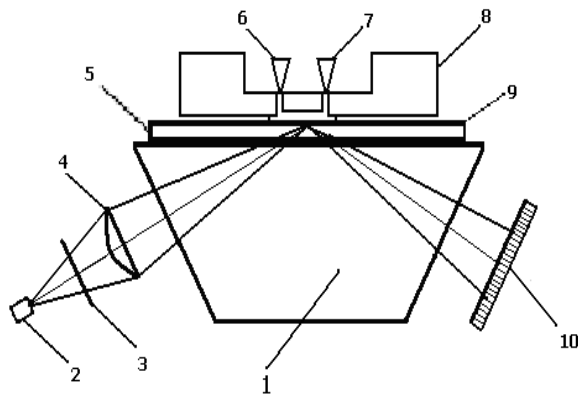
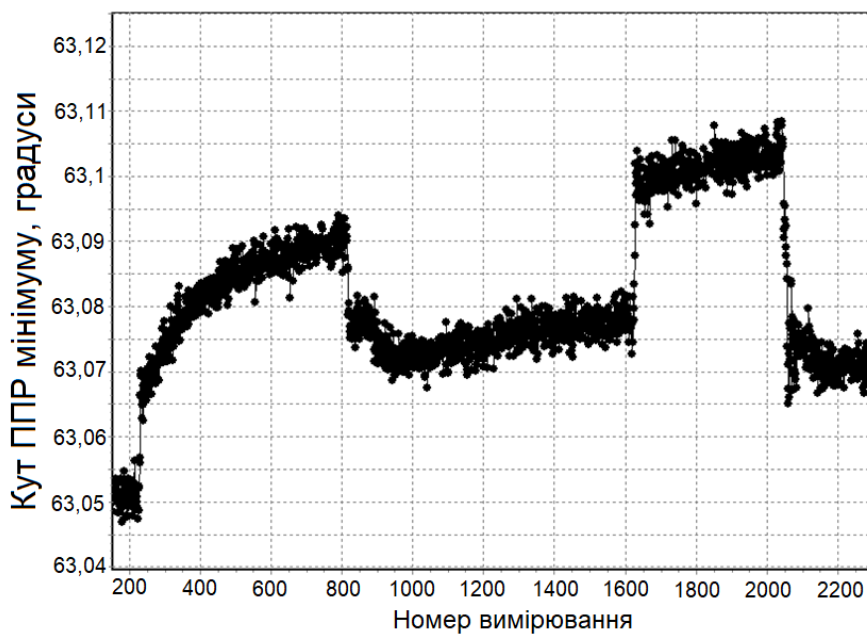
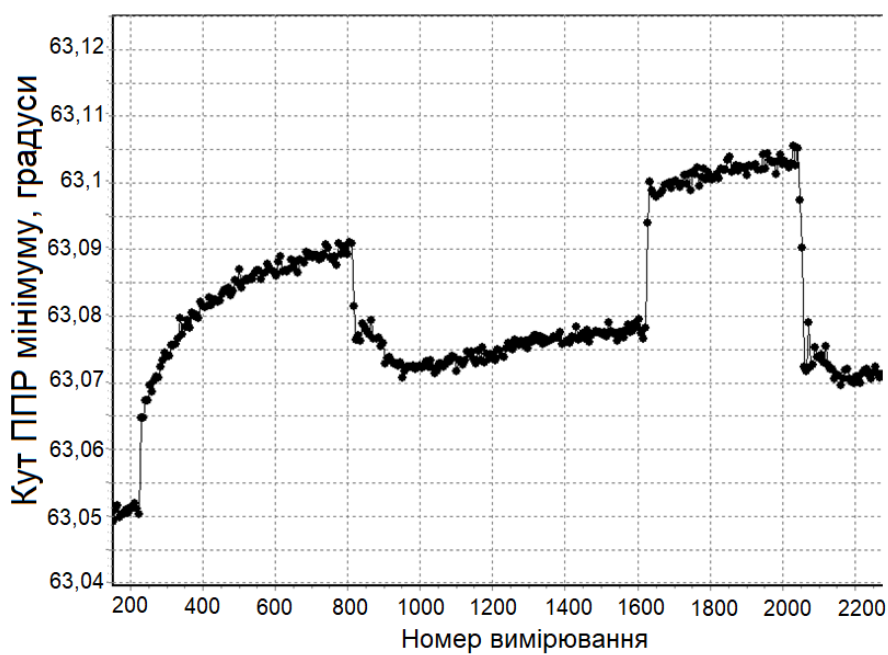


РИС. 2. Схема біосенсору «Плазмонтест» з проточною коміркою: 1 – призма; 2 – світлодіод; 3 – поляризатор; 4 – лінза; 5 – сенсорна підкладка; 6 – отвір для внесення рідини; 7 – отвір для відведення рідини; 8 – проточна комірка; 9 – шар золота; 10 – світлочутлива лінійка

Особливістю приладу «Плазмонтест» є те, що, оскільки при біохімічних дослідженнях необхідна висока точність визначення кута ППР для побудови сенсограми, програмне забезпечення приладу «Плазмонтест» реалізує функцію усереднення значень кута ППР по заданій кількості точок вимірювань. Результат такої обробки показано на рис. 3. На цьому рисунку *a* – сенсограма без усереднення, а *b* – з усередненням по 6 точках. За необхідності, кількість точок усереднення може бути збільшено. Для точного визначення кута ППР-мінімуму, у програмно-апаратному комплексі «Плазмонтест» застосовується математична апроксимація в околі мінімуму кривої відбиття, оскільки масив даних, отримуваний ПЗЗ-матрицею, досить зашумлений навіть після попередньої обробки шляхом усереднення 16 вимірювань. На першому етапі виконується процедура пошуку області мінімуму кривої відбиття. При цьому визначальними є 16 пікселів із найменшими значеннями сигналу, по яких обчислюється середнє значення номера пікселя, що відповідає центру мінімуму.



a



б

РИС. 3. Використання усереднення при побудові сенсограми

Наступний етап – побудова апроксимуючих поліномів та розрахунок точного мінімуму кривої ППР. Для цього використовується поліноміальна апроксимація 3-го порядку для 300 точок, яка враховує асиметрію ППР-кривої та дає найкраще середнє відхилення мінімуму кута [6].

Діалогове вікно приладу «Плазмонтест» надає користувачеві можливість управління частотою опитування, керування температурами ПЗЗ лінійки та вимірювальної комірки, спостереження ППР-кривих, вибору кількості точок апроксимації для визначення кута ППР-мінімуму, побудови сенсограм та результатів їх усереднення.

«Плазмонтест» раніше використовувався для відпрацювання методик ряду біосенсорних аналізів, які мають стати основою для моніторингу сільськогосподарської продукції, продуктів харчування, об'єктів навколишнього середовища та діагностики захворювань у ветеринарії, а також для визначення рівня різних біологічно значущих поліамінів у процесі розробки методик діагностики раку молочної залози.

2. Використання приладу «Плазмонтест» для експериментальних біосенсорних досліджень по визначенню сперміну із застосуванням наночастинок золота

Серед біологічно значущих поліамінів (ПА) – путресцину (Put), спермідину (Spd) та сперміну (Spn) саме Spn можна вважати перспективним біохімічним маркером для диференційної діагностики раку простати людини. Зокрема, його концентрація у сечі хворих на рак простати вірогідно нижча ніж у хворих на доброякісні пухлини передміхурової залози та у здорових чоловіків [8].

Перешкодою для запровадження даного підходу є перехресний вплив інших поліамінів на результати аналітичних вимірів вмісту Spn. Таким чином, проблема полягає у відсутності адаптованого до умов клініки селективного методу визначення Spn в біологічних рідинах, зокрема в сечі, за наявності супутніх поліамінів (Spd). Серед трудомістких і вартісних методів зазначимо імуноферментний або імунофлуоресцентний аналіз, високоефективну рідинну хроматографію, капілярний електрофорез тощо.

Наночастинкам (НЧ) металів у колоїдному розчині властива агрегатна нестійкість. Тому в процесі синтезу НЧ зазвичай використовують стабілізатори у вигляді поверхнево активних речовин (додецилсульфату натрію, цетилтриметиламоній броміду, тетраметиламоній броміду) та полімерів (поліетиленгліколю, полістиренсульфонату, полі-L-глутамінової кислоти тощо) [9], які підвищують стабільність колоїдних систем за рахунок гідрофільно-гідрофобних взаємодій.

Ще одним підходом до стабілізації НЧ є використання речовин, які забезпечують виникнення електричного потенціалу на поверхні частинок металу, що перешкоджає їх взаємодії між собою за рахунок відштовхування однойменних зарядів. Молекули таких речовин зазвичай містять групи, які здатні утворювати донорно-акцепторні зв'язки, зокрема карбоксильна та аміногрупа. Синтез НЧ Au (Au_{нч}) з використанням цитрату натрію (ЦН) це класичний приклад вказаного підходу [10].

Групою працівників Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького [11] було виконано експериментальне дослідження із селективного визначення Spn в біологічних рідинах у присутності Spd або Put за колориметричними показниками колоїдного розчину наночастинок золота. Показано, що такі дослідження можна успішно проводити, якщо вміст Spn і супутніх ПА не перевищує 100 нМ. Це повністю відповідає умовам діагностичного визначення рівню Spn у сечі пацієнтів з групи ризику захворювання на рак простати, оскільки очікувані значення концентрації поліамінів у ній коливаються в межах, нижчих за 100 нМ.

З огляду на необхідність кількісної оцінки вмісту Spn у сечі пацієнтів, нами було виконано серію експериментів по дослідженню реакції Spn із Au_{нч} за допомогою методу ППР. Мета роботи полягала в розробці і обґрунтуванні застосування наночастинок колоїдного золота, стабілізованих цитратом натрію, як чутливого шару для виявлення біогенних поліамінів, як маркерів розвитку раку передміхурової залози.

Сенсорні підкладинки.

Для проведення досліджень використовувалися сенсорні підкладинки з плазмоніопідтримуючим шаром золота товщиною близько 50 нм на скляних пластинках з показником заломлення 1,61, з адгезійним шаром 1-2 нм із ніобію, виготовлені в Інституті кібернетики НАН України.

Золоті наночастинки для формування наноструктурованого сенсорного шару.

Колоїдне золото, синтезоване співробітниками Інституту хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України, було отримане і стабілізоване з використанням цитрату натрію. Концентрація металевого Au у колоїдному розчині становила $3 \cdot 10^{-4}$ М або 60 мг/мл. Розміри наночастинок Au, визначені методом реєстрації дифузного розсіювання світла (ДРС), знаходилися в інтервалі 13 – 25 нм.

Проведення досліджень.

В ході досліджень у відкриту (непроточну) вимірювальну комірку приладу «Плазмонтест» вносилися ряд розчинів і дослідних зразків, і по величині зміни кута відбиття визначалася наявність або відсутність взаємодії колоїдного золота з сперміном на поверхні скляної пластинки, покритої шаром золота. Термостабілізацію комірки задіяно не було.

Методика 1. Спермін – колоїдне золото.

В першому експерименті використовувалась сенсорна підкладка, на яку заздалегідь було нанесено плівку золота товщиною 50 нм, що зберігалася при кімнатних умовах кілька днів, а безпосередньо перед проведенням досліджень було оброблено в установці плазмохімічного травлення у плазмі кисню для очищення поверхні від атмосферного забруднення поверхні.

В комірку послідовно були внесені такі речовини: деіонізована вода, розчин ЦН у воді (концентрація $3 \cdot 10^{-4}$ М), розчин сперміну в цитраті натрію (концентрація $1 \cdot 10^{-6}$ М), цитрат натрію (промивка), колоїдний розчин наночастинок золота (Au НЧ) в цитраті натрію (концентрація $3 \cdot 10^{-4}$ М), розчин цитрату натрію (промивка).

Сенсограма дослідження показана на рис. 4. Проміжок часу між вимірюваннями складав 1 секунду.

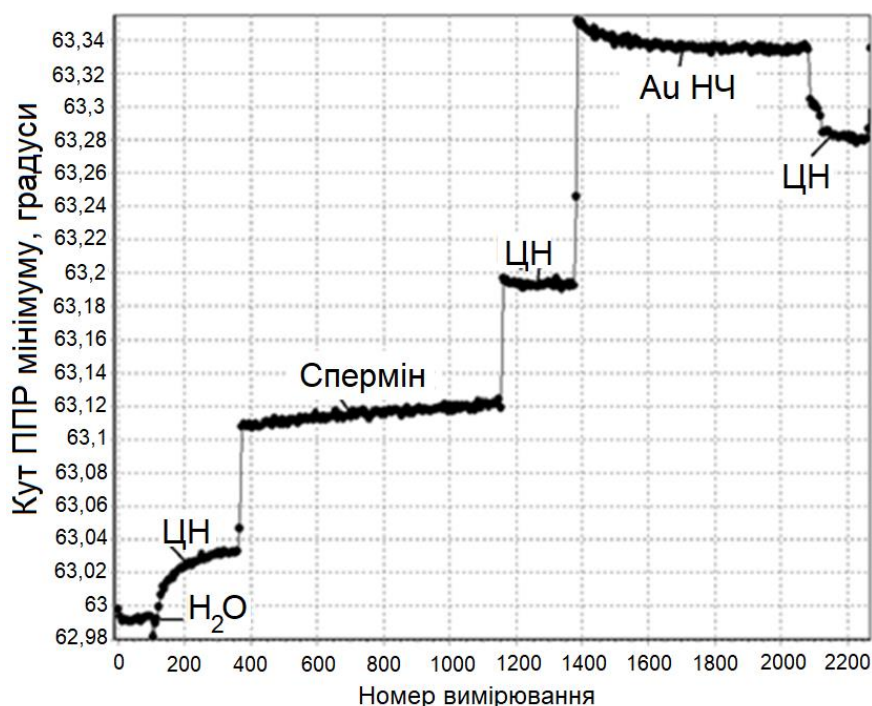


РИС. 4. Сенсограма зміни величини кута ППР при дослідженні

Комірку з сенсорною пластинкою було промито розчином дистильованої води, а потім буферним розчином цитрату натрію. Після промивки буферним розчином, яка тривала в середньому 2-3

хв, наносився розчин поліаміну – сперміну у концентрації 1 μM . Час інкубації для нанесення сперміну складав 20 хв. Після внесення сперміну спостерігалось його поступове осадження на поверхню золотої пластинки, що видно з підвищення кута ППР з 63,03 до 63,12 (різниця 0,09 град). Після осадження сперміну на поверхню плівки золота і промивки наносили розчин колоїдного золота, з експозицією в 20 хв. При цьому спостерігали підвищення кута відбиття з 63,19 до 63,33 (різниця 0,14 град). Після промивки величина кута відбиття складала 63,27 градуси, а різниця величини кута ППР порівняно з кутом після осадження поліамінів, складала 0,07 градуса (рис. 4). Оцінюючи протікання біохімічної реакції за результатами промивки ЦН буфером після нанесення кожного з шарів, можна побачити, що внесення розчину сперміну забезпечило загальний зсув кута ППР у 0,16 градуси. Така досить велика величина зсуву кута є підставою для того, щоб вважати визначення сперміну за допомогою реакції спермін-колоїдне золото на підкладці ППР сенсора перспективним.

Методика 2. Колоїдне золото – спермін.

В наступному дослідженні було вирішено перевірити, чи можливо за допомогою біосенсорного приладу «Плазмонтест» визначити кутовий ППР відгук при різних концентраціях сперміну при зв'язуванні сперміну з наночастинками колоїдного золота на плазмонопідтримуючій плівці золота. Тобто, в дослідженні змінено послідовність нанесення реагентів (спочатку на сенсорну ППР підкладку доставляються наночастинки колоїдного золота, потім спермін у різних концентраціях). Сенсограма цього дослідження показана на рис. 5.

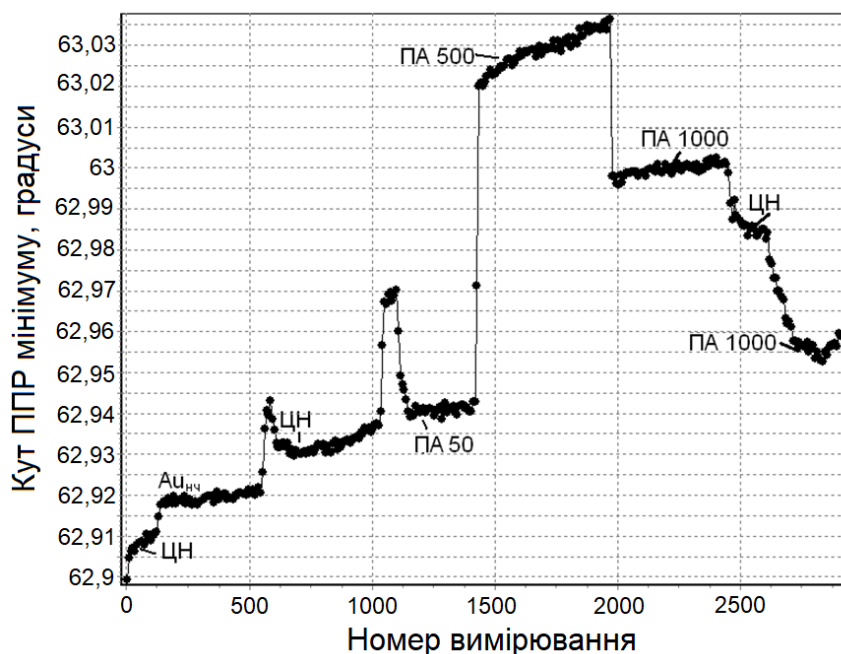


РИС. 5. Сенсограма зміни величини кута ППР при взаємодії колоїдного золота з сперміном на сенсорній підкладці

Спочатку у комірку подавали цитратний буфер, ЦН, потім вносили колоїдне золото в цитраті натрію ($\text{Au}_{\text{нч}}$) та інкубували його в комірці протягом 20 хв. Кут відбиття складав 62,92 градуси, а після промивки цитратним буфером величина кута відбиття складала 62,93 градуси. Різниця в такому випадку становила 0,01 градуси. Після нанесення, інкубації (20 хв) і промивки розчину поліаміну (сперміну) в концентрації 50 нМ (ПА50 на рис. 5), кут становив 62,94 градуси, а кутова різниця порівняно із колоїдним золотом становила 0,01 градуса. Після внесення Spn в концентрації в 500 нМ

(ПА500 на рис. 5), кута ППР зсунувся до 63,04 градусів, різниця з 50 нМ склала 0,01 градуса. Після внесення концентрації сперміну в 1000 нМ (ПА1000) кут ППР поступово зменшився з 63 до 62,96 градусів. Можливо, при такій високій концентрації сперміну виникає агрегація наночастинок, яка змінює оптичні характеристики біосенсорного шару.

Як і в попередньому експерименті, чітко можна спостерігати адсорбцію сперміну на поверхні золотої плівки з наночастинами колоїдного золота, однак відкритими залишаються питання чи формують спермін і наночастинок колоїдного золота агрегати, яким є оптимальний спосіб покриття плазмонопідтримуючої плівки золота наночастинами колоїдного золота, чи відбувається через однаковість заряду наночастинок колоїдного золота і золота на поверхні скляної пластинки відштовхування наночастинок колоїдного золота, а значить, неможливість його адсорбції на поверхні пластинки без застосування лінкерного шару.

Висновок. Таким чином, можна стверджувати, що за допомогою приладу «Плазмонтест» можна спостерігати за перебігом біохімічних реакцій у випадку використання таких реагентів, як розчини сперміну у діапазоні концентрацій 50 нМ – 500 нМ та колоїдне золото у концентрації $3 \cdot 10^{-4}$ М. Зазначимо, що підвищення кута ППР при внесенні сперміну зі зміною концентрації від 50 нМ до 500 нМ – факт, який відкриває перспективу створення біосенсора на спермін за наявності золотих МНЧ на поверхні сенсорної підкладки.

Відкритим залишається питання щодо ступеня адсорбції колоїдного золота і сперміну на поверхні золотої пластинки та оптимальній послідовності внесення реагентів при ППР аналізі. На наш погляд, вивчення впливу плазмохімічної обробки поверхні золота сенсорної підкладки золота перед початком експерименту, та дослідження впливу модифікації поверхні за допомогою поліелектролітів чи специфічних до сперміну лігандів мають бути наступними етапами досліджень з створення ППР біосенсора щодо вмісту сперміну в біологічних рідинах як маркера онкологічних захворювань.

Список літератури

1. Войтович И.Д., Корсунский В.М. Сенсоры на основе плазмонного резонанса: принципы, технологии, применения. Киев. Сталь. 2011. 532 с.
2. Homola J. Present and future of surface Plasmon resonance biosensors. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. 377. P. 528–539.
3. Zenga Y., Hua R., Wang L. Recent advances in surface plasmon resonance imaging: detection speed, sensitivity, and portability. *Nanophotonics.* 2017. 6 (5). P. 1017–1030.
4. Zhao S.S. et. al. Miniature multi-channel SPR instrument for methotrexate monitoring in clinical samples. *Biosensors & Bioelectronics.* 2015. 64. P. 664–670.
5. Liu Y. et. al. Surface Plasmon Resonance Biosensor Based on Smart Phone Platforms. *Sci. Rep.* 2015. 5. 12864. <https://doi.org/10.1038/srep12864>
6. Lebyedyeva T.S., Minov Y.D., Sutkovyi P.G., Frolov Y.O., Shpylovyi P.B., Starodub M.F. Development and Application of Devices Based on Surface Plasmon Resonance. *Cybernetics and Computer Technologies.* 2020. 1. 62–73. <https://doi.org/10.34229/2707-451X.20.1.7>
7. Ходаковський М.І., Будник М.М., Лебедева Т.С., Мерзвинський П.А., Дегтярук В.І., Риженко Т.М., Тимошенко Я.М., Грищенко Л.В., Расчектаева А.І., Тимофеев Є.П., Шпильовий П.Б. Забезпечення єдності вимірювань в біомедичних оптичних приладах. *Метрологія та прилади.* 2017. № 1. С. 25–36.
8. Залеток С.П., Кленов О.О., Гоголь С.В., Бентрад В.В., Стаховський Є.О., Вітрук Ю.В., Гречко В.О. Поліаміни крові і сечі як нові діагностичні маркери раку передміхурової залози. *Онкологія.* 2019. 21 (3). С. 219–224.
9. Чекман І.С., Прискока А.О. Нанозолото та нанопокриття із золота: стан наукових досліджень, перспективи застосування у медицині. *Український медичний часопис.* 2010. 2 (76) III-IV. С. 4194.
10. Kimling J., Maier M., Okenve B., Kotaidis V., Ballot H., Plech A. Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *J. Phys. Chem. B.* 2006. 110 (32). P. 15700–15707. <https://doi.org/10.1021/jp061667w>
11. Yanish Yu.V., Zaletok S.P., Vityuk N.V., Mukha Yu.P. Application of Gold and Silver Nanoparticles for Selective Assay of Spermine in Mixture with Spermidine. *Exp. Oncol.* 2021. 43 (1). P. 77–81.

Одержано 10.04.2023

Лебедсва Тетяна Станіславівна,

кандидат технічних наук, старший науковий співробітник
Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ,
<https://orcid.org/0000-0002-3860-0744>

Мінов Юрій Дмитрович,

кандидат технічних наук, старший науковий співробітник
Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ,

Прилуцький Максим Петрович,

Кандидат біологічних наук, науковий співробітник, Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ,

Сутковий Павло Гнатович,

кандидат технічних наук, старший науковий співробітник
Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ,

Фролов Юрій Олександрович,

старший інженер Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ,

Шпильовий Павло Борисович,

кандидат технічних наук, старший науковий співробітник
Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ.
<https://orcid.org/0000-0003-1006-8263>
shpylovy@gmail.com

УДК 535.016

Т.С. Лебедсва¹, Ю.Д. Мінов¹, М.П. Прилуцький², П.Г. Сутковий¹, Ю.О. Фролов¹, П.Б. Шпильовий^{1*}

Застосування програмно-апаратного комплексу «Плазмонтест» для визначення концентрації сперміну

¹ Інститут кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, Київ

² Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ

* Листування: shpylovy@gmail.com

Вступ. Одним з основних напрямків застосування ППР-сенсорів є біохімічний аналіз. Розроблений в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України прилад «Плазмонтест» було застосовано для експрес-діагностики різних концентрацій онкомаркеру сперміну. У якості чутливого шару для виявлення біогенних поліамінів, як маркерів розвитку раку передміхурової залози, було застосовано наночастинки колоїдного золота, стабілізованих цитратом натрію. Запропоновано дві методики проведення експерименту з детектування сперміну за допомогою наночастинок колоїдного золота.

Мета роботи. Показати можливість детектування онкомаркеру сперміну в різних концентраціях за допомогою приладу «Плазмонтест». Для вирішення цієї задачі провести серію дослідів із застосування розчинів колоїдного золота з різними методиками осадження реагентів.

Результати. За допомогою програмно-технічного комплексу «Плазмонтест» було проведено серію біохімічних експериментів з використання розчинів сперміну у діапазоні концентрацій 50 нМ – 500 нМ та колоїдного золота у концентрації $3 \cdot 10^{-4}$ М. Було запропоновано дві методики нанесення реагентів: спермін – колоїдне золото, та колоїдне золото – спермін. Обидві методики дозволили спостерігати зсув кута ППР, що означає адсорбцію сперміну на поверхні золотої плівки з наночастинками колоїдного золота.

Висновки. Показано, що розроблений програмно-технічний комплекс «Плазмонтест» дозволяє відстежувати перебіг біохімічних реакцій при низьких концентраціях досліджуваних реагентів. Проведені за допомогою методу ППР дослідження можливості детектування сперміну в різних концентраціях у присутності золотих наночастинок, відкривають перспективу створення біосенсора на спермін.

Ключові слова: поверхневий плазмонний резонанс, біосенсор, наночастинки, спермін.

UDC 535.016

Tetyana Lebyedyeva¹, Yuriy Minov¹, Maksym Prylutskyi², Pavlo Sutkovyi¹, Yurii Frolov¹, Pavlo Shpylovyi^{1*}

Application of the "Plazmontest" Software and Hardware Complex for the Determination of Spermine Concentration

¹ V.M. Glushkov Institute of Cybernetics of the NAS of Ukraine, Kyiv

² R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology Sciences NAS of Ukraine, Kyiv

* Correspondence: shpylovy@gmail.com

Introduction. One of the main areas of application of SPR sensors is biochemical analysis. The "Plasmon-test" device, developed at the Institute of Cybernetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, was used for rapid diagnosis of various concentrations of the tumor marker spermine. Colloidal gold nanoparticles stabilized by sodium citrate were used as a sensitive layer for the detection of biogenic polyamines as markers of prostate cancer development. Two methods of conducting an experiment on spermine detection using colloidal gold nanoparticles are proposed.

The purpose of the paper is to show the possibility of detecting the tumor marker spermine in different concentrations using the "Plasmontest" device. To solve this problem it is necessary to provide a series of experiments on the application of colloidal gold solutions with different methods of deposition of reagents.

The results. With the help of the "Plasmontest" software and technical complex, a series of biochemical experiments were carried out using solutions of spermine in the concentration range of 50 nM - 500 nM and colloidal gold in a concentration of $3 \cdot 10^{-4}$ M. Two methods of applying reagents were proposed: spermine – colloidal gold and colloidal gold – spermine. Both techniques made it possible to observe a shift in the SPR angle, which means the adsorption of spermine on the surface of a gold film with colloidal gold nanoparticles.

Conclusions. It is shown that the developed software and technical complex "Plasmontest" allows monitoring the course of biochemical reactions at low concentrations of the investigated reagents. Studies of the possibility of detecting spermine in different concentrations in the presence of gold nanoparticles using the PPR method open the prospect of creating a biosensor for spermine.

Keywords: surface plasmon resonance, biosensor, nanoparticles, spermine.