

УДК 615.47:616-074; 681.7

© Ф. В. Верещагин, В. М. Гусев, О. Н. Компанец, М. А. Павлов,  
Д. П. Чулков, Ю. М. Евдокимов, С. Г. Скуридин

## КОМПАКТНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ БИОСЕНСОРНАЯ АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Создан экспериментальный образец компактной высокочувствительной биосенсорной аналитической системы для экспрессного обнаружения в условиях клиники наличия и концентрации используемых в онкологической практике антибиотиков (дауномицина и его аналогов). Проведена оптимизация режимов работы дихрометра и элементов программного обеспечения биосенсора, проведена калибровка биосенсорной системы на примере регистрации оптического сигнала кругового дихроизма содержащих дауномицин лабораторных растворов.

Кл. сл.: биосенсор, круговой дихроизм, биодатчик на основе ДНК, дихрометр, дауномицин

### ВВЕДЕНИЕ

Цель работы — разработка компактной аналитической системы экспрессного определения наличия и концентрации дауномицина (ДАУ) как в модельных лабораторных растворах, так и в крови пациентов, терапия которых связана с использованием этого антибиотика. Это вызвано практическими потребностями лечения онкологических больных указанным антибиотиком, интерес к применению которого в клиниках РФ и за рубежом остается по-прежнему очень высоким в связи с его эффективностью.

Биосенсорный метод определения дауномицина в жидкости основан на использовании в качестве чувствительных элементов (биодатчиков) "жидких" частиц ДНК, самопроизвольно возникающих при фазовом исключении (конденсации) молекул ДНК из водно-солевых растворов полимеров [1, 2]. В результате фазового исключения жесткие, двухцепочечные молекулы ДНК низкой молекулярной массы упорядочиваются и образуют частицы (размером  $\sim 0.5$  мкм) холестерической жидкокристаллической дисперсии (ХЖКД) ДНК, для которых характерна аномальная оптическая активность в полосе поглощения азотистых оснований ДНК ( $\lambda \sim 270$  нм). Жидкокристаллическое упорядочение не нарушает реакционной способности молекул ДНК, и окрашенные противоопухолевые антибиотики, включая дауномицин (ДАУ), из биологической жидкости могут легко проникать внутрь таких частиц и встраиваться (интеркалировать) между парами азотистых оснований ДНК без нарушения характера упорядочения этих молекул. В результате этого процесса

в области поглощения хромофоров ДАУ в спектре кругового дихроизма (КД) ХЖКД комплексов [ДНК+ДАУ] на длине волны 512 нм возникает аномальная оптическая активность, при определенных условиях пропорциональная концентрации дауномицина в жидкости, которая регистрируется при помощи портативного дихрометра [3, 4].



Рис. 1. Экспериментальный образец автоматизированного компактного дихрометра (СКД-4МУФ) биосенсорной аналитической системы

### ОПИСАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ДИХРОМЕТРА

Созданный экспериментальный образец (рис. 1) автоматизированного компактного дихрометра способен работать с биодатчиком на основе комплекса ХЖКД [ДНК+ДАУ] на длине волны 512 нм и контролировать его качество на длине волны 270 нм. Диапазон работы дихрометра в режиме измерения оптической плотности образцов: минимальная — не более 30 оптических единиц, максимальная — не менее 3000 оптических единиц (о. е.).

В дихрометр встроен микрокомпьютер с расширенными коммуникационными возможностями. Габаритные размеры дихрометра 210×360×380 мм, вес 10 кг. Для распечатки результатов тестов предусмотрена возможность установки встраиваемого термопринтера. Для ввода информации о био-

датчике предусмотрено подключение сканера штрих-кодов, имеется возможность передавать данные по беспроводным каналам Wi-Fi и Bluetooth, в сети Ethernet, а также интегрировать прибор в современные лабораторные информационные системы.

В дихрометре в качестве источников излучения применены светодиоды высокой яркости излучения S12LG2C-B и S12LR2C-B фирмы Prolight Company, излучающие соответственно зеленый свет на длине волны 515 нм (в максимуме аномальной полосы КД ХЖКД комплекса [ДНК+ДАУ]) и красный свет на длине волны 635 нм, вдали от указанной полосы. Для контроля качества используемого биодатчика применен светодиод UVTOP270, излучающий на длине волны 274.4 нм с полушириной спектра 10 нм. Источники включаются поочередно.

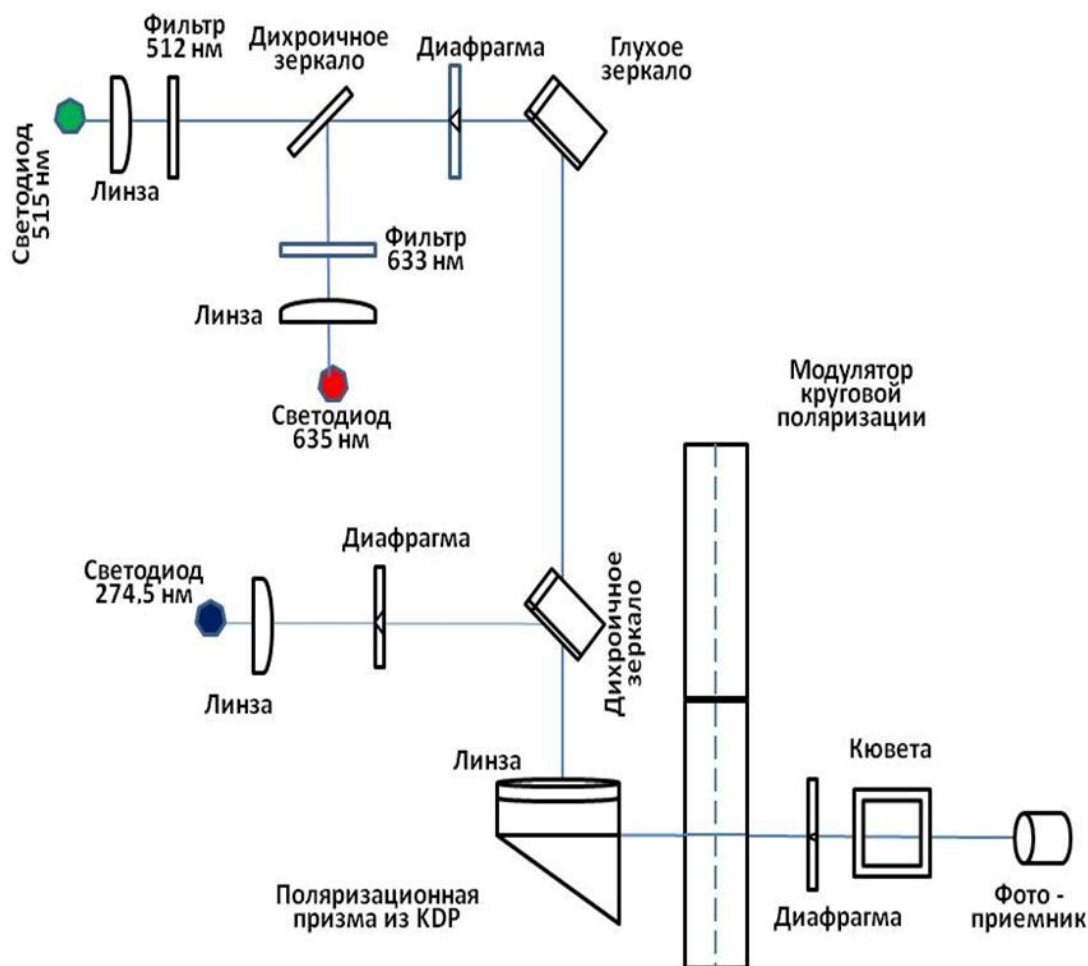


Рис. 2. Оптическая схема автоматизированного компактного дихрометра

Введение контрольного излучателя (на длине волны 635 нм) позволяет учесть вклад фоновых сигналов в измеряемый сигнал КД, соответствующий изменению оптических свойств КД биодатчика только под действием ДАУ из анализируемой жидкости. Для компенсации расходимости излучения светодиодов использованы коллимирующие линзы, а для сужения спектра излучения до 10–12 нм применены интерференционные фильтры, зеленый с максимумом пропускания на 512 нм и красный с максимумом пропускания на 633 нм. Излучение светодиодов с помощью дихроичных зеркал направляется по одному пути на поляризационную призму из KDP, выделяющую излучение с линейной поляризацией под углом 45° (рис. 2).

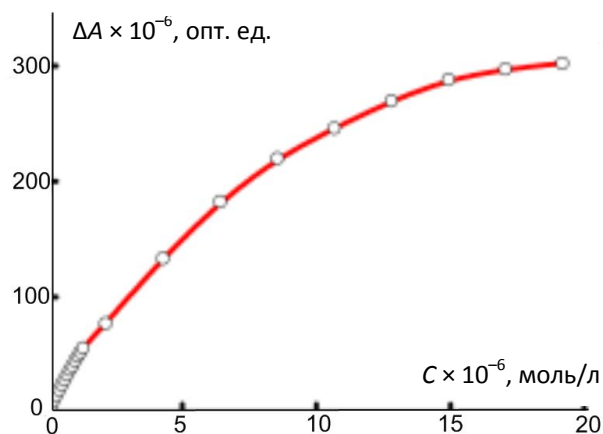
В дихроматре использован модулятор круговой поляризации фотоэластического типа из склейки двух брусков (из кристаллического и плавленого кварца). Узел для размещения образцов биодатчиков представляет собой блок для стандартной кварцевой кюветы с терморегулирующим устройством на основе элементов Пельтье. Диапазон установки температуры 12–80 °С, точность установки  $\pm 0.5$  °С. В качестве фотоприемника использован фотодиод S1337-1010BQ, чувствительный и в УФ-области.

### ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС НА РАЗРАБОТАННОМ ДИХРОМЕТРЕ

Система регистрации является основным элементом прибора, осуществляющим выделение, оцифровку сигнала кругового дихроизма, управление модулятором, термостатом и передачу полученных данных в компьютер для дальнейшей обработки.

Программное обеспечение (ПО) для встроенного в прибор компьютера посредством передачи на встроенную в прибор плату с микроконтроллером управляющих команд осуществляет установку режима работы до, во время и после проведения измерения таких параметров элементов дихроматра, как напряжение на модуляторе, коэффициенты усиления постоянной и переменной составляющих сигнала, токи на светодиодах; поддерживает заданную температуру в кюветном отделении, периодически считывая значение температуры с термодатчика и устанавливая напряжение на элементе Пельтье; передает команду на считывание величины изменений напряжения с фотодиода, после чего вычисляет значение сигнала КД образца. В эту же часть ПО входят некоторые вспомогательные функции, например калибровка модулятора круговой поляризации.

Аналитическая часть ПО, используя элементы управления интерфейса, которые эта часть ПО выводит на экран, управляет операцией биосенсор-



**Рис. 3.** График зависимости величины сигнала КД ХЖКД комплекса [ДНК+ДАУ] от концентрации дауномицина в жидкой пробе

ного измерения концентрации дауномицина в аналитической пробе. В процессе этой операции измеряется исходное значение сигнала КД биодатчика, которое используется как базовый сигнал —  $A_{\text{БАЗ}}$ , затем измеряется значение сигнала КД аликвоты раствора дауномицина —  $A_{\text{ДАУ}}$ . Разность полученных значений  $A_{\text{ДАУ-БАЗ}} = A_{\text{ДАУ}} - A_{\text{БАЗ}}$  подставляется в формулу, описывающую калибровочную кривую (рис. 3)

$$C = \ln(C_2 / (A_{\text{ДАУ-БАЗ}} + C_1)) / C_3,$$

где  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  — калибровочные коэффициенты, определяемые при предварительной калибровке тест-системы по разным концентрациям дауномицина. В результате с учетом коэффициента разбавления вычисляется значение концентрации дауномицина в аналитической пробе.

Аналитическая часть ПО позволяет также ввод информации об организации и операторе (проводящем анализ); ввод рабочих условий проведения анализа (температура, время накопления сигнала, количество повторов) и вывод результатов анализа. В эту же часть ПО входит операция предварительной калибровки биосенсорной тест-системы, при которой по серии измеренных значений сигналов КД образцов с известной концентрацией и с учетом значения базового сигнала КД биодатчика симплекс-методом определяются коэффициенты  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  калибровочной кривой.

Значение сигнала КД при контроле качества биодатчика вычисляется как разность сигналов КД на длине волны 274.5 и 633 нм; при калибровке тест-системы и определении концентрации ДАУ — как разность сигналов на 512 и 633 нм.

В процессе выполнения работы проведена оптимизация режимов дихроматра и элементов программного обеспечения биосенсора, проведена

калибровка биосенсорной системы по оптической плотности по оптическому сигналу КД лабораторных растворов нескольких различных концентраций митоксантрона, интеркалированного в частицы ХЖКД комплекса [ДНК+МХ], проявляющие значимый сигнал КД на всех трех длинах волн, на которых работает дихрометр. Проверка правильности измерений прибором сигналов КД используемых растворов на длинах волн 274.5, 515 и 635 нм осуществлялась с помощью полифункционального дихрометра СКД-2МУФ [5].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основе компактного дихрометра с использованием ДНК-биодатчиков создан экспериментальный образец биосенсорной аналитической системы для определения дауномицина в жидкости и проведено его испытание. Такая биосенсорная аналитическая система сможет в автоматическом режиме за несколько минут определять терапевтические концентрации ДАУ на уровне  $\sim 5.0 \cdot 10^{-6}$  моль/л, что сопоставимо с пределами определения дауномицина при помощи классических методов и аппаратуры с их более длительными процедурами анализа.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Евдокимов Ю.М., Саянов В.И., Семенов С.В., Скуридин С.Г. Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК / Под ред. Ю.М. Евдокимова. М.: Радиотехника, 2008. 294 с.
2. Евдокимов Ю.М., Саянов В.И., Скуридин С.Г. Наноструктуры и наноконструкции на основе ДНК / Под ред. Ю.М. Евдокимова. М.: ССАЙНС-ПРЕСС, 2010. 254 с.
3. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Верецагин Ф.В., Гусев В.М., Компанец О.Н., Чулков Д.П. Наноконструк-

ции на основе двухцепочечных молекул ДНК и их оптические свойства // XXV съезд по спектроскопии: Троицк-Москва, 3–7 октября 2016 г. Сборник тезисов. Москва: МПГУ, 2016 (ISBN 978-5-4263-0368-3). С. 219–220.

4. Верецагин Ф.В., Гусев В.М., Компанец О.Н., Чулков Д.П., Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г. Компактный двухволновый дихрометр для оптической биосенсорной аналитической системы медицинского назначения // XXV съезд по спектроскопии: Троицк-Москва, 3–7 октября 2016 г. Сборник тезисов. Москва: МПГУ, 2016 (ISBN 978-5-4263-0368-3). С. 284–285.
5. Верецагин Ф.В., Гусев В.М., Компанец О.Н., Павлов М.А., Чулков Д.П. Портативный полифункциональный дихрометр новой биосенсорной аналитической системы биомедицинского назначения на основе ДНК-биодатчиков // Биомедицинская радиоэлектроника. 2013. № 3. С. 58–68.

*Институт спектроскопии РАН, Москва, г. Троицк*  
(Верецагин Ф.В., Гусев В.М., Компанец О.Н., Павлов М.А.)

*РМП "Медтехника", Москва (Чулков Д.П.)*

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва (Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г.)*

Контакты: Компанец Олег Николаевич,  
onkomp@isan.troitsk.ru

Материал поступил в редакцию 28.06.2018

## A COMPACT OPTICAL BIOSENSOR ANALYTICAL SYSTEM FOR MEDICINE

F. V. Vereshchagin<sup>1</sup>, V. M. Gusev<sup>1</sup>, O. N. Kompanets<sup>1</sup>, M. A. Pavlov<sup>1</sup>,  
D. P. Chulkov<sup>2</sup>, Yu. M. Yevdokimov<sup>3</sup>, S. G. Skuridin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Spectroscopy of the RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*RMP "Medtehnika", Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Engelhardt Institute of Molecular Biology, RAS, Moscow, Russia*

An experimental sample of a compact highly sensitive biosensor analytic system for the rapid detection of the presence and concentration of antibiotics (daunomycin and its analogues) used in oncology clinics is created. The optimization of the operation modes of the dichrometer and the elements of the biosensor software was carried out, the biosensor system was calibrated for the example of recording the CD optical signal of containing DAU laboratory solutions.

**Keywords:** biosensor, circular dichroism, DNA based biosensing units, dichrometer, daunomycin

### REFERENCES

1. Yevdokimov Yu.M., Salyanov V.I., Semenov S.V., Skuridin S.G., Yu.M. Yevdokimov ed. *Zhidko-kristallicheskie dispersii i nanokonstrukcii DNK* [Liquid crystal dispersions and nanodesigns of DNA]. Moscow, Radiotekhnika Publ., 2008. 294 p. (In Russ.).
2. Yevdokimov Yu.M., Salyanov V.I., Skuridin S.G., Yu.M. Yevdokimov ed. *Nanostruktury i nanokonstrukcii na osnove DNK* [Nanostructures and nanodesigns on the basis of DNA]. Moscow, SSAJNS-PRESS Publ., 2010. 254 p. (In Russ.).
3. Yevdokimov Yu.M., Skuridin S.G., Vereshchagin F.V., Gusev V.M., Kompanets O.N., Chulkov D.P. [Nanodesigns on the basis of two-chained molecules DNA and their optical properties]. *XXV s'ezd po spektroskopii: Troick-Moskva, 3–7 oktyabrya 2016 g. Sbornik tezisov* [The XXV congress on spectroscopy: Troitsk, Moscow, on October 3–7, 2016. Collection of theses]. Moscow, MPGU, 2016 (ISBN 978-5-4263-0368-3), pp. 219–220. (In Russ.).
4. Vereshchagin F.V., Gusev V.M., Kompanets O.N., Chulkov D.P., Yevdokimov Yu.M., Skuridin S.G. [Compact two waves dichrometer for the optical biotouch analytical system of medical appointment]. *XXV s'ezd po spektroskopii: Troick-Moskva, 3–7 oktyabrya 2016 g. Sbornik tezisov* [The XXV congress on spectroscopy: Troitsk, Moscow, on October 3–7, 2016. Collection of theses]. Moscow, MPGU Publ., 2016 (ISBN 978-5-4263-0368-3), pp. 284–285. (In Russ.).
5. Vereshchagin F.V., Gusev V.M., Kompanets O.N., Pavlov M.A., Chulkov D.P. [Portable multifunctional dichrometer the new biotouch analytical system of biomedical appointment on the basis of DNA biosensors]. *Biomedicinskaya radioelektronika* [Biomedical Radioelectronics], 2013, no. 3, pp. 58–68. (In Russ.).

Contacts: *Kompanets Oleg Nikolaevich*,  
onkomp@isan.troitsk.ru

Article received in edition 28.06.2018