

ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

А.С. Барыбин, Н.Н. Александрова, И.А. Мальчиков, М.Б. Матевосян
ФГУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург

Нанотехнологии в виде полупроводниковых квантовых частиц находят все большее применение в биологии и медицине в целях диагностики и терапии инфекционных, в том числе и вирусных заболеваний. Полупроводниковые нанокристаллы неорганических соединений из атомов элементов II-VI и III-V групп периодической таблицы Менделеева – **квантовые точки - КТ** (*искусственные атомы с управляемыми свойствами*), главным качеством которых являются флуоресценция.

КТ обладают узким и симметричным пиком флуоресценции. Размер и состав КТ определяет цвет флуоресценции в УФ, видимой и ИК-области спектра. Отличительной особенностью КТ является непрерывный спектр поглощения (возбуждение флуоресценции) в широком диапазоне волн, который зависит от размера КТ. Это дает возможность возбуждать КТ одной длиной волны с высокой яркостью и увеличенной фотостабильностью в сравнении с традиционными флуорофорами.

В многочисленных исследованиях показана принципиальная возможность использования КТ в вирусологии (PubMed for quantum dots & viruses).

Показана возможность образования биоконъюгатов между КТ и биообъектами (вирусами) посредством ковалентных связей amino, карбокси, тиол и др. функциональных групп. Более прочное и специфическое взаимодействие в системе КТ-вирус было при обработке их поверхностей белками иммунной системы (иммуноглобулины, антигены, антитела и др.).

Образованный комплекс КТ-вирус не влиял на его инфекционность, но делал возможным его визуализацию для изучения механизма взаимодействия с мембраной клетки, развития инфекционного процесса и проведения мониторинга распределения вирусных частиц в инфицированных клетках.

Материалы и методы

В наших исследованиях были использованы нанокристаллы селенида кадмия - CdSe, покрытые оболочкой из сульфида цинка (Центр высоких технологий, НИИ прикладной акустики, г. Дубна), а также квантовые точки сульфида кадмия - CdS (Институт химии твердого тела УрОРАН).

КТ исследовали на нескольких перевиваемых клеточных культурах: Vero (клетки почки обезьяны), ФЛЭЧ (фибробласты легких эмбрионов человека), а также на клетках эпителия слизистой оболочки носа. Клетки культивировали на покровных стеклах во флаконах в питательной среде Игла MEM, содержащей 10% сыворотки крупного рогатого скота. В работу брали 3-х суточную культуру.

Клеточную культуру культивировали в течение 30-60 минут с эталонным вирусом простого герпеса (ВПГ-1) с инфекционным титром $4,5 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$

Квантовые точки вносили в концентрации 10 мкг/мл. Инкубация составляла 30 минут при 37°C . Через 30 минут покровные стекла извлекали, высуши-

вали на воздухе. Регистрация флуоресценции приготовленных образцов проводилась с помощью оптического флуоресцентного микроскопа Leica 2500M DM. Источником возбуждения служила ртутная лампа HB0100/W2, ультрафиолетовый фильтр позволял производить возбуждение флуоресценции в диапазоне длин волн от 335 до 425 нм. Получение микрофотографий проводилось с помощью цифровой камеры Leica DFC 320.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов проведенных исследований показал, что культивируемые клетки можно визуализировать с помощью КТ благодаря выраженному квантовому эффекту наночастиц (КТ высвечивают структуру цитоплазмы и ядра).



Рис. 1. Культура клеток Vero – CdS. (контроль: видна структура цитоплазмы и ядра).

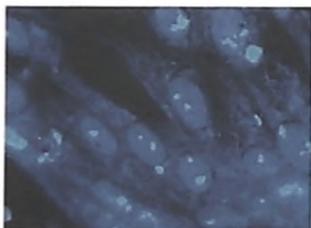


Рис. 2. Культура клеток Vero с КТ CdS (контроль: видна оболочка, ядро и цитоплазма клеток).

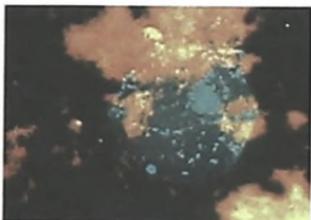


Рис. 3. Клетка эпителия слизистой оболочки полости носа. Видны КТ CdS голубого цвета в структуре клетки и конгломераты КТ оранжевого цвета на поверхности.

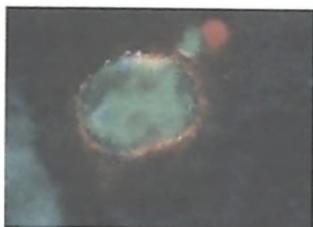


Рис. 4 Клетка эпителия слизистой оболочки полости носа. Видны КТ CdS оранжевого цвета на поверхности. Четко видна клеточная мембрана, ядро и цитоплазма.



Рис. 5 Культура клеток Vero CdS на 3-и сутки заражения ВПГ-1 (видна деструкция клеток)



Рис. 6 Клетка эпителия слизистой оболочки полости носа, скопления КТ CdSe красного цвета по периметру клетки.

Таким образом, квантовые точки полупроводниковых наночастиц солей кадмия (CdS и CdSe) могут быть использованы для визуализации структуры клеток в норме и при патологических процессах, вызываемых вирусами. Применение КТ как экспресс-диагностического метода даст дополнительную информацию о характере цитопатического действия вируса на клетки.

ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА В ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Л.Г. Боронина, С.М. Блинова, Е.В. Лавриненко

Уральская государственная медицинская академия,

Областная детская клиническая больница №1, г. Екатеринбург

Иммуноферментный анализ (ИФА) является одним из высокочувствительных методов лабораторной диагностики. В то же время он остается достаточно сложным методом и предъявляет высокие требования к технике постановки, оборудованию, оснащению лаборатории. Это привело к необходимости создания системы внутреннего и внешнего контроля качества.

Регулярно проводимая внешняя оценка качества и повседневно проводимый внутрилабораторный контроль дополняют, но не заменяют друг друга. Внешняя оценка качества направлена, прежде всего, на выявление систематических ошибок лабораторных методов и обеспечение единства измерений на всей территории страны, а внутрилабораторный контроль качества (ВЛК) предназначен для поддержания стабильности аналитической системы, выявления и устранения случайных и систематических погрешностей. Внешний контроль качества - это сравнение результатов, полученных в нескольких лабораториях на одном контрольном материа-