

УДК 541.64:547.96

ПОВЕРХНОСТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ МИКРОСФЕР ПОЛИСТИРОЛА СИНТЕТИЧЕСКИМИ АНТИГЕННЫМИ ДЕТЕРМИНАНТАМИ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА¹

© 2007 г. А. Ю. Меньшикова*, Ю. О. Скуркис*, Т. Г. Евсеева*,
М. Ю. Дорош*, С. В. Буров*, С. С. Иванчев**

*Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

**Санкт-Петербургский филиал Института катализа им. Г.К. Борескова
Сибирского отделения Российской академии наук
197198 Санкт-Петербург, пр. Добролюбова, 14

Поступила в редакцию 01.08.2006 г.

Принята в печать 21.11.2006 г.

Проведено исследование хемосорбции синтетических антигенных детерминант вируса иммунодефицита человека на поверхности микросфер полистирола с поверхностным слоем, содержащим привитые сополимеры полистирол–поливинилпирролидон и карбоксильные группы. Изучены электроповерхностные свойства частиц-носителей до и после модификации пептидами, а также агглютинация модифицированных пептидами латексов гипериммунными крольчими антисыворотками. Показано, что стабилизация структуры гидрофильного поверхностного слоя путем увеличения длины цепей полистирола в привитых сополимерах повышает эффективность экспонирования антигенных детерминант на границе раздела фаз и чувствительность латексных иммунореагентов на их основе.

Монодисперсные полимерные микросфера применяют в качестве носителей иммунореагентов с целью визуализации иммунохимических реакций, которые проявляются в этом случае как агрегация частиц латекса [1, 2]. Чтобы избежать работы с особо опасным инфекционным материалом при создании тест-систем для определения антител к вирусу иммунодефицита человека (**ВИЧ**), целесообразно использовать в качестве антигена не инактивированный вирус [3], а рекомбинантные белки [4] или синтетические пептиды – антигенные детерминанты белков ВИЧ [5, 6]. На специфичность и чувствительность таких систем существенное влияние оказывает конформация биолигандов в поверхностном слое частиц [2, 7, 8]. Биологически активная конформация гидрофобных пептидов может быть

искажена при их физической адсорбции на поверхности носителя.

В связи с этим актуальной задачей является поиск методов связывания с носителем диагностически значимых гидрофильных пептидов, а также купирование гидрофобных взаимодействий между пептидами и полимерной подложкой. Повышение адсорбционной способности гидрофильных пептидов путем конъюгирования их со спейсерами дифильной природы или с бычьим сывороточным альбумином (**БСА**), как предлагается в работах [9–12], также может привести к понижению специфической активности полученного конъюгата. Более перспективна модификация самих полимерных частиц-носителей гидрофильными спейсерами, способными к ковалентному связыванию биолигандов. Модифицированные таким образом частицы ПС были получены нами методом дисперсионной полимеризации, инициированной карбоксилсодержащим азоинициатором в присутствии поливинилпирролидона (**ПВП**) как гидрофильного стерического стабилизатора [13, 14]. Поверхностный слой частиц ПС обогащался в процессе их формирования

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 04-03-33080) и Научной программы Отделения химии и наук о материалах РАН “Создание и изучение макромолекул и макромолекулярных структур новых поколений” на 2003–2005 гг.

E-mail: asya@hq.macro.ru (Меньшикова Анастасия Юрьевна).

Таблица 1. Характеристики латексов

Образец	Среднее число		$D, \text{ мкм}$	$\sigma, \text \%$	$S_{\text{уд}} \cdot \text{м}^2/\Gamma$	$C_{\text{COOH}} \cdot \text{мкмоль}/\text{м}^2$
	точек прививки в сополимерах ПС–ПВП	звеньев в привитых цепях ПС				
А	9.9	35	1.2	3.4	4.8	1.6
Б	2.3	96	1.9	5.9	3.0	1.4

* Среднеквадратичная дисперсия диаметров частиц.

Таблица 2. Характеристики пептидов

Синтетические пептиды	ММ	Последовательность аминокислот	Число остатков аминокислот	Соотношение групп $-\text{NH}_2/-\text{COOH}$	Расчетное значение ИЭТ	Посадочная площадка на частицах латекса Б, $\text{nm}^2/\text{день}$
“gp41-sp-12”	1275	LGLWGCSGKLIC этиламид	12	2/0	10.1	0.9
“gp41-sp-35”	3900	RILAVERYLKDQQLLGIGWCSGKLICTTAVPWNAS амид	35	5/2	10.1	2.7
“p24-sp-15”	1544	ALGPAATLEEXXTAC (X = Nle)	15	1/3	3.1	1.1

привитыми сополимерами ПС–ПВП и карбоксильными группами, локализованными на концах полимерных цепей. Изучение хемосорбции БСА как модельного белка на таких частицах показало, что этот спайсерный слой позволяет проводить ковалентное связывание биолигандов белковой природы по карбоксильным группам [14, 15]. Данный подход целесообразно применить и для модификации поверхности носителя низкомолекулярными лигандами пептидной природы, поскольку он может способствовать не только повышению сорбционной емкости, но и сохранению биологической активности указанных лигандов в поверхностном слое полимерных частиц. Таким образом, перед нами стояла задача установить взаимосвязь между структурой поверхности частиц-носителей на основе ПС, их способностью к связыванию синтетических антигенных детерминант ВИЧ, эффективностью экспонирования этих пептидов на границе раздела фаз и интенсивностью их взаимодействия с комплементарными антителами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Монодисперсные микросфераe ПС с усложненной структурой поверхностного слоя, содержащего как привитые сополимеры ПС–ПВП дифильной природы, так и карбоксильные группы инициатора 4,4'-азо-бис-4-(цианизовалиериановой

кислоты) получали методом дисперсионной полимеризации в спиртовой среде [13]. Латексы А и Б (табл. 1) отбирали, чтобы проследить влияние двух различных поверхностных структур на связывание диагностически значимых пептидов ВИЧ со сравнительно небольшой ММ. Образец А был получен в условиях, когда в поверхностном слое частиц образуются сополимеры с короткими привитыми цепями ПС, что обуславливает лабильность структуры поверхностного слоя. Частицы Б с малым количеством длинных привитых цепей ПС в сополимерах обладают более стабильной поверхностной структурой. Дисперсии частиц А и Б в бидистиллированной воде (концентрация 10 мас. %) хранили в холодильнике при 4–6°C. Поверхностную концентрацию карбоксильных групп на частицах ПС определяли методом кондуктометрического титрования после трехкратной отмычки латексов от водорастворимых примесей последовательным центрифугированием и редиспергированием. Чтобы впоследствии избежать вымывания слабо зажкоренных в поверхностном слое привитых сополимеров ПС–ПВП и связывания их с пептидами в растворе в процессе хемосорбции, проводили экстракцию таких сополимеров в спирто-щелочную среду [14, 15].

Синтетические антигенные детерминанты поверхности белка (gp 41) “gp41-sp-12”, “gp41-sp-35” и белка ядра (p24) ВИЧ “p24-sp-15” (табл. 2)

Таблица 3. Исследование гипериммунных кроличьих сывороток в иммуноферментном анализе (ИФА)

Кроличьи сыворотки	Титр в ИФА	D_{490} пептидов при сорбции на планшетах		
		“gp41-sp-12”	“gp41-sp-35”	“p24-sp-15”
Анти “gp41-sp-12”	10240	3.283	0.613	0.037
Анти “gp41-sp-35”	2560	2.674	2.731	0.517
Контроль	—	0.042	0.050	0.032

получали методом твердофазного пептидного синтеза [16]. Все изученные пептиды являются диагностически значимыми для определения антител к ВИЧ и используются с этой целью в иммуноферментных тест-системах [5].

Присутствие на поверхности частиц ПС карбоксильных групп дает возможность проводить не только адсорбцию, но и ковалентное связывание биолигандов с применением метода активированных эфиров. В процессе хемосорбции использовали водорастворимый карбодиимид (“Sigma”) и N-гидроксибензотриазол (“Sigma”) в эквимольном отношении к поверхностным карбоксильным группам согласно методике [14]. Стадию активации карбоксильных групп осуществляли при 0°C в растворе морфолиноэтансульфоновой кислоты (МЭС) 10^{-2} моль/л (“Reanal”) с pH 5.5 в течение 15 мин. Затем реагенты удаляли центрифугированием. Частицы ПС редиспергировали в растворе МЭС, добавляли растворы пептидов с концентрацией 0.05–1.50 мг/мл в этом же буфере и выдерживали сутки при 20°C. После центрифугирования и отбора проб для определения концентрации свободного биолиганда в супернатанте осадок редиспергировали в фосфатно-солевом буфере с добавкой 0.01% азота натрия. Раздельное проведение стадий активации карбоксильных групп поверхности частиц и ковалентного связывания пептида позволяет избежать активации его карбоксильных групп и образования внутренних спивок с нарушением биологически активной конформации [14].

Концентрацию антигенных детерминант в растворах до и после сорбции определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на колонке Zorbax Extend-C 18 150 × 4.6 мм, хроматограф фирмы “Beckman”, скорость элюирования 1.0 мл/мин. Для создания градиента использовали буферные растворы: 0.1%-ный водный раствор H_3PO_4 и тот же раствор с добавлением 50 об. % ацетонитрила.

Электрофоретическую подвижность частиц ПС до и после модификации их биолигандами изучали стандартным методом микроэлектрофореза в растворах NaCl (10^{-3} моль/л) в диапазоне pH 2.1–11.4. Перед исследованием частицы приводили в равновесие с раствором фонового электролита данной концентрации и pH в течение суток. На основе полученных данных по электрофоретической подвижности рассчитывали ζ -потенциалы частиц по уравнению Смолуховского [17].

Реакцию агглютинации латекса проводили в фосфатно-солевом буфере с pH 7.2. Гипериммунные кроличьи сыворотки были получены при иммунизации кроликов детерминантами “gp41-sp-12” и “gp41-sp-35” (табл. 2). Исследование их методом твердофазного иммуноферментного анализа показало, что сыворотка Анти “gp41-sp-12” реагирует с пептидами “gp41-sp-12” и “gp41-sp-35”, поскольку в их составе есть гомологичные участки аминокислотной последовательности. Сыворотка Анти “gp41-sp-35” интенсивно реагировала не только с этими пептидами, но также и с пептидом “p24-sp-15” за счет перекрестных реакций (табл. 3). Полученные сыворотки были использованы в качестве положительного контроля латексных тест-систем в реакции агглютинации латекса. Отрицательным контролем служила нормальная кроличья сыворотка. Учет реакции проводили визуально по интенсивности образования агглютинатов, которую оценивали стандартным четырехкрестным методом [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении хемосорбции пептидов “gp41-sp-12”, “gp41-sp-35” и “p24-sp-15” поверхностью частиц ПС обнаружено, что ее предельные значения близки и составляют 2.40–2.65 мг/м² независимо от типа частиц и молекулярной массы пептида (рис. 1). Это указывает на то, что предельная емкость хемосорбции достигается при достаточ-

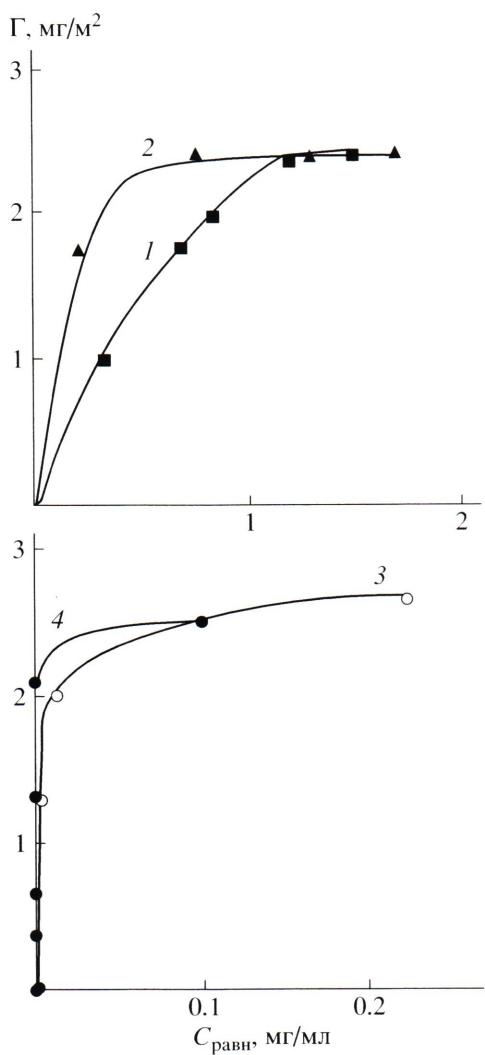


Рис. 1. Изотермы ковалентного связывания пептидов “gp41-sp-12” (1) и “p24-sp-15” (2) частицами латекса А, а также пептида “gp41-sp-35” частицами латексов А (3) и Б (4).

но плотной укладке пептидных цепей в поверхностном слое. Однако для достижения предельной емкости хемосорбции пептида “gp41-sp-35” требуется в несколько раз меньше по сравнению с пептидами “p24-sp-15” и “gp41-sp-12”, цепи которых почти в 3 раза короче. Наличие в аминокислотной последовательности “gp41-sp-35” гидрофобных остатков тирозина и триптофана повышает поверхностную активность пептида и способствует концентрированию его на границе раздела полимер–водный раствор.

Следует отметить, что при малых концентрациях “gp41-sp-35” в растворе его хемосорбция частицами латекса А протекает интенсивнее, чем

частицами латекса Б. Это может быть обусловлено тем, что концентрация карбоксильных групп на поверхности частиц образца А несколько выше (табл. 1). Исходя из предельной емкости хемосорбции пептида “gp41-sp-35”, был проведен расчет его посадочной площадки на частицах А и Б: 3.0 и 2.7 nm^2 на одну пептидную цепь соответственно. Данные значения на порядок превышают величины поперечных сечений молекул ПАВ с алифатической и(или) ароматической цепью (0.21 и 0.32 nm^2) [18]. Это свидетельствует о том, что даже при плотной укладке пептидных цепей в поверхностном слое они не разворачиваются, но могут сохранить свойственную им энергетически выгодную конформацию.

Результаты расчета такой конформации, выполненного с помощью компьютерной программы ALCHEMY III, представлены на рис. 2. Рассматривая пространство, занимаемое одной цепью пептидов “gp41-sp-12”, “p24-sp-15” и “gp41-sp-35”, как эллипсоид вращения, можно определить диаметр их продольного и поперечного сечений: 2.31×1.48 , 3.25×1.56 и $6.45 \times 2.50 \text{ нм}$ соответственно. Площадь сечений составляет, таким образом, 2.7 и 1.7; 4.0 и 1.9; 5.1 и 2.0 nm^2 . Сопоставление этих значений с величинами посадочных площадок пептидов “gp41-sp-12” и “p24-sp-15”, полученных из данных по адсорбции на частицах образца Б (табл. 2), показало, что их молекулы занимают в поверхностном слое заметно меньше места, чем можно было ожидать из их расчетных размеров. Следовательно, в поверхностном слое цепи коротких пептидов “gp41-sp-12” и “p24-sp-15” либо частично разворачиваются, ориентируясь при этом вертикально к поверхности, либо распределены в некотором объемном поверхностном слое, т.е. не все пептидные цепи экспонированы на границе раздела фаз. Оба варианта локализации ведут к снижению биологической активности пептидов на полимерных частицах; первый – в результате конформационных изменений в пептидной цепи, второй – из-за снижения эффективной концентрации пептида на внешней границе поверхностного слоя. Только для самой большой пептидной цепи “gp41-sp-35” значения посадочных площадок на частицах образцов А и Б (3.0 и 2.7 nm^2) соизмеримы с расчетными размерами пептида. Это указывает на сохранение его вторичной структуры после кова-

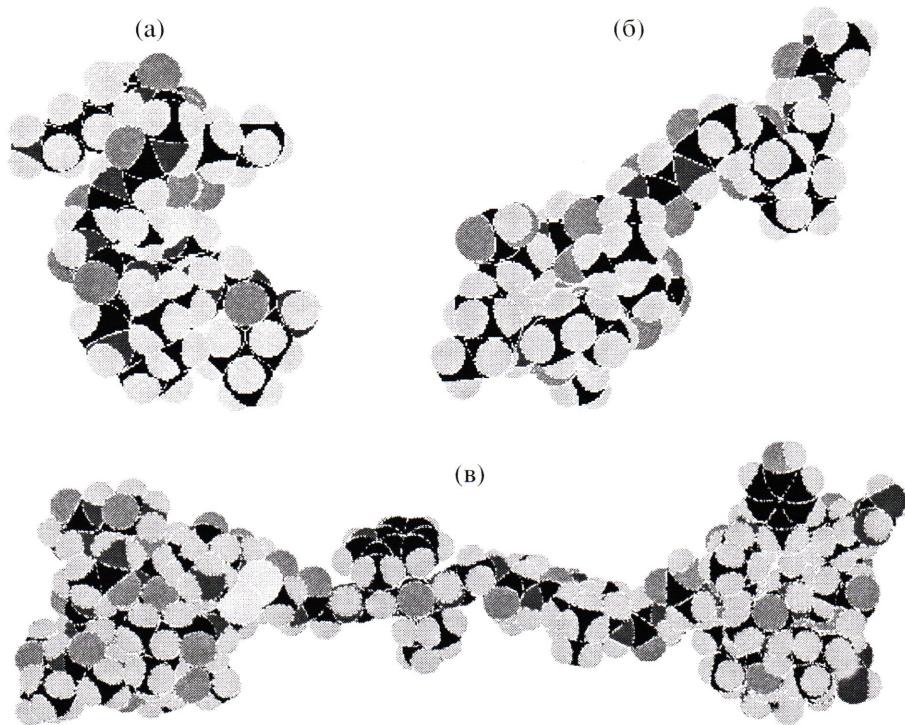


Рис. 2. Энергетически выгодная конформация пептидов “gp41-sp-12” (а), “p24-sp-15” (б) и “gp41-sp-35” (в).

лентного связывания с поверхностью частицносителей.

Таким образом, несмотря на гидрофилизацию поверхности частиц, связывание коротких пептидов в поверхностном слое может приводить к изменению их конформации, лабильность которой обусловлена малым числом внутримолекулярных связей. Напротив, конформация более крупного пептида “gp41-sp-35” стабилизована наличием в ней сульфидного цикла (табл. 2). Расчет его вторичной структуры методом Чоу–Фасмана с помощью компьютерной программы [19] выявил также наличие α -спиральных (2–17 и 25–33) и β -складчатых (2–31) участков. В результате внутримолекулярных взаимодействий пептид “gp41-sp-35” имеет самую стабильную конформацию из ряда исследованных антигенных детерминант, а большие размеры его молекул не позволяют им внедряться вглубь поверхностного слоя частиц под цепи привитых сополимеров ПС–ПВП. Следовало ожидать, что этот пептид будет лучше экспонирован на границе раздела фаз и сохранит свою биологически активную конформацию.

С целью оценки эффективности экспонирования пептидов на поверхности частиц исследовали

их электроповерхностные свойства до и после хемосорбции, уделяя особое внимание смещению изоэлектрических точек (ИЭТ) при встраивании пептидов в поверхностный слой частиц. Так, по мере заполнения поверхности пептидами “gp41-sp-35” и “gp41-sp-12” значения ее ИЭТ смешались от 2.0 в щелочную область pH, но только для образца Б достигали ИЭТ пептида 10.1 (рис. 3б, табл. 2). Таким образом, частицы латекса Б обладали поверхностной структурой, способной эффективно экспонировать пептид “gp41-sp-35” на границе раздела фаз, обеспечивая тем самым его доступность для дальнейших иммунохимических реакций. Для образца А при предельных величинах хемосорбции данного пептида значение ИЭТ достигало 8.3 (рис. 3в). Для образца Б, модифицированного пептидом “gp41-sp-12”, данная величина составила всего лишь 6.6 (рис. 3а). Таким образом, структура поверхности частиц образца А, а также меньший размер цепи пептида “gp41-sp-12” способствуют формированию мозаичной структуры поверхности. При этом положение ИЭТ определяется присутствием на границе раздела фаз как пептидов, так и фрагментов привитых сополимеров. При предельном заполнении поверхностного слоя частиц латекса Б пептидом “p24-sp-15” ИЭТ поверхности также смешалась к вели-

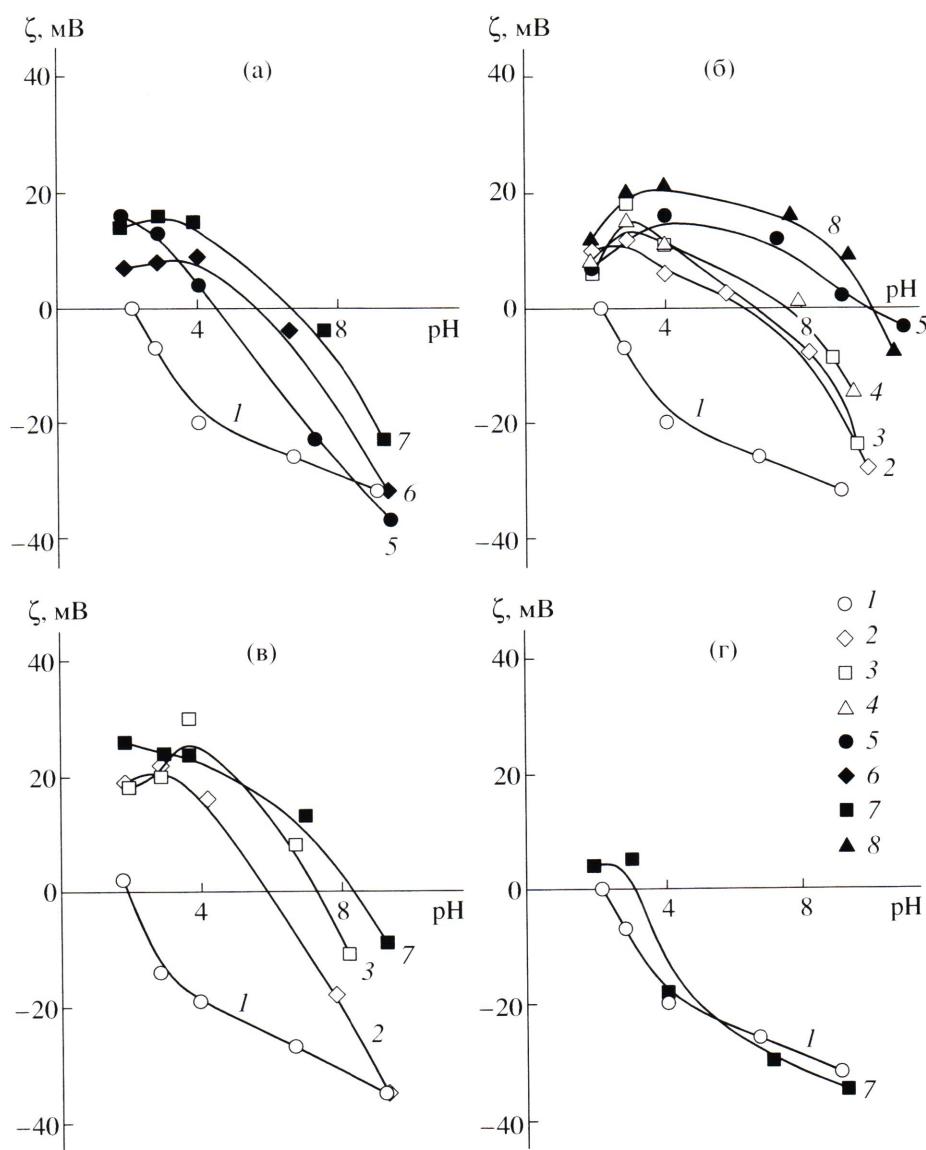


Рис. 3. Влияние pH на ζ -потенциал частиц латексов Б (а, б, г) и А (в) до и после модификации их поверхности пептидами “gp41-sp-12” (а), “gp41-sp-35” (б, в) и “p24-sp-15” (г). Величина хемосорбции пептида: 0 (1), 0.4 (2), 0.7 (3), 1.3 (4), 2.0 (5), 2.4 (6), 2.5 (7) и 2.6 мг/м² (8).

чине ИЭТ пептида, равной 3.1 (рис. 3г). Однако значения ИЭТ исходных частиц и пептида столь близки, что невозможно однозначно подтвердить полное экранирование поверхности носителя пептидом “p24-sp-15”. Тем не менее, это весьма вероятно, поскольку большое содержание карбоксильных групп в аминокислотной последовательности и, значит, больший отрицательный заряд могли способствовать электростатическому отталкиванию молекул пептида “p24-sp-15” от карбоксилированной поверхности частиц и выдвижению их к границе скольжения фаз.

Оценку биологической активности антигенных детерминант ВИЧ на поверхности частиц-носителей осуществляли методом реакции агглютинации латекса. Следует отметить, что для эффективного протекания реакции агглютинации латекса плотная укладка биолигандов в поверхностном слое носителя невыгодна, поскольку не все сайты, отвечающие за специфическое взаимодействие, оказываются стерически доступны для определяемых антител. Антитела могут также реализовать обе свои связи на поверхности одной микросферы, не приводя к перекрестному связыванию частиц.

Таблица 4. Реакция агглютинации латексов, модифицированных пептидом "gp41-sp-35"

Латекс	Величина хемосорбции, мг/м ²	Разведение сывороток				Время, мин
		1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	
А	0.1	2+	2+	2+	2+	20
	0.4	2+	2+	2+	2+	10
	0.7	2+	3+	3+	3+	10
	1.3	2+	2+	2+	2+	10
	2.0	2+	2+	2+	2+	10
Б	0.1	2+	2+	2+	2+	10
	0.4	2+	3+	3+	2+	5
	0.7	2+	3+	3+	3+	5
	1.3	2+	3+	3+	2+	5
	2.1	2+	2+	2+	2+	10

Следовательно, не только при очень низкой, но и при слишком высокой поверхностной концентрации антигенных детерминант интенсивность реакции агглютинации латекса понижается. Это подтвердилось при исследовании активности пептидов, связанных с поверхностью латексных частиц, в реакции с гипериммунными кроличьими сыворотками. Наибольшую активность в реакции агглютинации латекса показали латексные иммунореагенты на основе частиц образца А с величиной хемосорбции пептида "gp41-sp-35" 0.70 мг/м² а также частиц образца Б с величиной хемосорбции этого пептида 0.40, 0.70 и 1.30 мг/м². Таким образом, эффективный интервал поверхностной концентрации пептида для образца Б оказался шире, а результат реакции агглютинации латекса можно было регистрировать уже через 5 мин, тогда как в случае образца А об разование видимых агглютинатов происходило через 10 мин (табл. 4). Значит, более стабильный гидрофильный поверхностный слой образца Б лучше выполняет спейсерную функцию, эффективно экспонируя пептиды для участия в иммунохимических реакциях. В случае частиц латекса А, несущих на поверхности сополимеры с короткими привитыми цепями ПС, их лабильный поверхностный слой способен частично поглощать даже сравнительно большой пептид "gp41-sp-35", понижая реакционную способность латексного иммунореагента. Напротив, на поверхности частиц латекса Б даже самый короткий из исследованных пептидов "gp41-sp-12" проявлял специфическую активность. Однако из-за экранирования его цепями привитых сополимеров лишь при ве-

личине хемосорбции 2.0 мг/м² на границе раздела фаз достигалась концентрация, достаточная для визуального наблюдения результата реакции агглютинации латекса, который проявлялся через 15–20 мин. Следует также отметить, что все латекс-тесты были чувствительны в реакции агглютинации латекса с антисыворотками в разведении до 1 : 1600. Исследованные нами ранее иммунореагенты на основе тех же пептидов, связанных с частицами сополимера стирола с акролеином, были активны лишь при разведении антисывороток 1 : 40 [6].

Таким образом, экспонирование антигенных детерминант на поверхности полимерных микросфер путем их ковалентного связывания через гидрофильный спейсерный слой привитых сополимеров ПС–ПВП способствует повышению чувствительности латексных тестов, увеличивая доступность этих биолигандов для участия в биоспецифических реакциях. Наилучшие результаты достигаются для частиц-носителей, структура поверхностного слоя которых стабилизована длинными цепями ПС (до 100 мономерных звеньев) в составе привитых сополимеров. Данные, полученные по ИЭТ частиц после связывания пептидов, хорошо согласуются с результатами испытания биологической активности латексных иммунореагентов. Это свидетельствует о том, что при выборе частиц-носителей следует принимать во внимание не только их диаметр, концентрацию функциональных групп и степень гидрофобности, но учитывать и особенности структуры их поверхностного слоя. В случае использования низкомолекулярных биоспецифических лиган-

дов, и в частности синтетических пептидов, такой подход является необходимым для создания условий, позволяющих сохранить их биологическую активность на поверхности носителя. При этом исследование электроповерхностных свойств, и прежде всего определение значений ИЭТ частиц после связывания биолиганда, оказывается очень информативным для оценки пригодности того или иного носителя для создания латексных диагностикумов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Чайка Н.А. Иммунологическая диагностика вирусных инфекций / Под ред. Перадзе Т.В., Халонена П. М.: Медицина, 1985. С. 121.
- Прокопов Н.И., Грицкова И.А., Черкасов В.Р., Чалых А.Е. // Успехи химии. 1996. Т. 65. № 2. С. 178.
- Sing E.H., Tan B.B., Chik H.L. // Genitourin. Med. 1988. V. 64. P. 266.
- Wu J.-Y., Riggin C.H., Seals J.R., Murphy C.I., Newman M.J. // J. Immunol. Methods. 1991. V. 143. P. 1.
- Пат. 5260189. США. 1993.
- Меньшикова А.Ю., Шабельс Б.М., Скуркис Ю.О., Дорош М.Ю., Тенникова Т.Б., Буров С.В. // Структура и динамика молекулярных систем. Казань: Изд-во Казанского гос. ун-та, 2004. Вып. 11. Т. 1. С. 296.
- Kondo A., Kawano T., Itoh F., Higashitani K. // J. Immunol. Methods. 1990. V. 135. № 1–2. P. 111.
- Ortega-Vinuesa J.I., Galvez-Ruiz M.J., Hidalgo-Alvarez R. // Langmuir. 1996. V. 12. № 13. P. 3211.
- Меньшикова А.Ю., Шабельс Б.М., Евсеева Т.Г., Красникова Е.Н., Власов Г.П. // Структура и динамика молекулярных систем. Казань: Изд-во Казанского гос. ун-та, 2003. Вып. 10. Т. 3. С. 73.
- Kondo A., Furukawa S., Taira M., Higashitani K. // J. Ferment. Bioeng. 1991. V. 72. № 6. P. 409.
- Molina-Bolivar J.A., Galisteo-Gonzalez F., Quesada-Perez M., Hidalgo-Alvarez R. // Colloid Polym. Sci. 1998. V. 276. P. 1117.
- Eur. pat. 0445650. 1991.
- Меньшикова А.Ю., Евсеева Т.Г., Скуркис Ю.О., Шабельс Б.М., Власова Е.Н., Иванчев С.С. // Высокомолек. соед. А. 2004. V. 46. № 9. С. 1479.
- Menshikova A.Yu., Evseeva T.G., Skurkis Y.O., Tennikova T.B., Ivanchev S.S. // Polymer. 2005. V. 46. № 4. P. 1417.
- Меньшикова А.Ю., Скуркис Ю.О., Евсеева Т.Г., Шкарубская З.П., Тенникова Т.Б., Иванчев С.С. // Журн. прикл. химии. 2004. Т. 77. № 12. С. 2036.
- The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology/Ed. by Udenfriend S., Meienhofer J. London: Acad. Press, 1987. V. 9.
- Фридрихсберг Д.А. Курс коллоидной химии. Л.: Химия, 1974.
- Нейман Р.Э. Очерки коллоидной химии синтетических латексов. Воронеж: Изд-во Воронежского гос. ун-та, 1980.
- <http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta/chofas.htm>

Surface Modification of Polystyrene Microspheres with Synthetic Antigenic Determinants of Human Immunodeficiency Virus

A. Yu. Men'shikova^a, Yu. O. Skurkis^a, T. G. Evseeva^a, M. Yu. Dorosh^a,
S. V. Burov^a, and S. S. Ivanchev^b

^a Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences,
Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 119004 Russia

^b Boreskov Institute of Catalysis (St. Petersburg Branch), Siberian Division, Russian Academy of Sciences,
pr. Dobrolyubova 14, St. Petersburg, 197198 Russia

e-mail: asya@hq.macro.ru

Abstract—The chemisorption of synthetic antigenic determinants of the human immunodeficiency virus on the surface of polystyrene microspheres with surface layers containing polystyrene–poly(vinylpyrrolidone) graft copolymers and carboxyl groups has been studied. The electrosurface properties of carrier particles before and after modification with peptides and agglutination of peptide-modified latexes with hyperimmune rabbit antisera have been investigated. It has been demonstrated that the stabilization of the structure of the hydrophilic surface layer in the graft copolymers via lengthening of polystyrene chains in the graft copolymers leads to an increase in the efficiency of exposure of antigenic determinants at the interface and improves the sensitivity of latex immunoassays produced on their basis.