

Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия для анализа сыворотки крови человека

Л.А. Братченко¹, В.А. Белова¹, Д.Ю. Коновалова², П.А. Лебедев², Е.Н. Тупикова¹, И.А. Братченко¹

¹Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Московское шоссе 34а, Самара, Россия, 443086

²Самарский государственный медицинский университет, Ташкентская 159, Самара, Россия, 443095

Аннотация

В работе проведено исследование спектральных характеристик сыворотки крови пациентов с почечной недостаточностью с помощью поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии. Применение поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии позволяет повысить информативность анализа компонентного состава сыворотки с целью обнаружения патолого-ассоциированных изменений.

Ключевые слова

Рамановская спектроскопия, SERS, сыворотка крови, почечная недостаточность

1. Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, 10% населения планеты страдает хроническими заболеваниями почек. Почечная недостаточность приводит к нарушению водного, азотистого, электролитного балансов и другим нарушениям обмена веществ в организме человека. В настоящее время метод рамановской спектроскопии получил распространение в клинических экспериментальных исследованиях для определения особенностей компонентного состава жидкостей организма. Сыворотка крови имеет сложный химический состав, и в спектрах сыворотки крови существуют скрытые связи между различными полосами из-за того, что в эти полосы вносят вклад одни и те же химические связи. Улучшение качества рамановского сигнала и более подробный анализ компонентного состава сыворотки крови возможны за счет применения поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии (SERS) [1]. В данной работе выполнено *in vitro* исследование спектральных характеристик сыворотки крови пациентов с почечной недостаточностью с помощью рамановской спектроскопии и SERS в ближней инфракрасной области.

2. Материалы и методы

Золь желто-зеленого цвета с концентрацией серебра 0,05-0,1 г/л получен восстановлением из водного раствора нитрата серебра цитратом натрия при температуре 95°C в течение 10 минут. Был проведен стандартизированный отбор проб сыворотки крови у пациентов с почечной недостаточностью. Отобранные пробы помещались в стерильные пробирки. Между отбором проб и непосредственной регистрацией спектральных характеристик образцы хранились при температуре -14 °C. Для исследования методом SERS в образец сыворотки вводится коллоид серебра в соотношении 1/1. Исходные образцы сыворотки и образцы растворов сыворотки с золем серебра в объеме 6 мкл наносятся на алюминиевую фольгу и сохнут в течение 60 минут при комнатной температуре.

Для исследования спектральных характеристик сыворотки с помощью рамановской спектроскопии и SERS использован экспериментальный стенд, включающий спектрометрическую систему EnSpectr R785 и микроскоп ADF U300. Возбуждение регистрируемых спектров производилось лазерным излучением с центральной длиной волны 785 нм.

3. Результаты и обсуждение

Для анализа особенностей спектральных характеристик рамановского рассеяния и поверхностно-усиленного рамановского рассеяния сыворотки крови человека на Рисунке 1 представлены рамановские спектры.

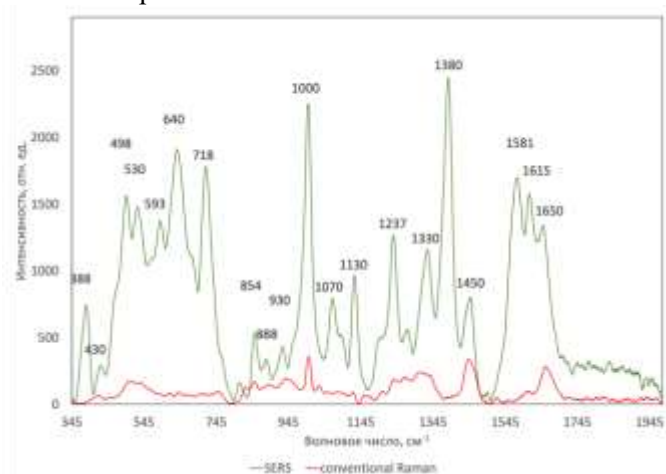


Рисунок 1: Спектральные характеристики сыворотки крови человека

Основные полосы в спектрах обусловлены следующими связями: 495-500 cm^{-1} L-валин, L-аргинин, L-триптофан, 1128-1132 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{N})$ в D-Маннозе, 525-535 cm^{-1} L-триптофан, 1235-1238 cm^{-1} $d(\text{CmH})$, Гуанин, L-аланин, 590-595 cm^{-1} Цитозин, 1328-1335 cm^{-1} Полинуклеотидная цепь (пуриновые основания ДНК), 635-645 cm^{-1} C-C скручивание L-тирозина и лактозы, 1370-1380 cm^{-1} δCH_3 в липидах, 715-725 cm^{-1} $\delta(\text{C}-\text{H})$ в аденине, коферменте А, ДНК/РНК, 1445-1450 cm^{-1} $\delta(\text{CH}_2)$ в коллагене, фосфолипидах, 885-890 cm^{-1} $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ или изгиб кольца в триптофани, глутатионе, D- (C) –галактозаминах, 1613-1620 cm^{-1} $n(\text{Ca}=\text{Cb})$, L-валин, L-триптофан, Амид I в белках, 925-935 cm^{-1} C-C растяжение кольца пролина / глюкозы / молочной кислоты, C-C, пралиновое кольцо (коллаген), белки, 1645-1650 cm^{-1} Амид I в белках [2-3].

Анализ полученных результатов демонстрирует, что применение технологии поверхностного усиления позволило достичь увеличения интенсивности отдельных рамановских полос сыворотки крови в 20 - 700 раз.

4. Заключение

Проведенное сравнительное исследование экспериментальных данных рамановского рассеяния и поверхностно-усиленного рамановского рассеяния сыворотки крови человека продемонстрировало, что применение SERS имеет потенциальную возможность повысить информативность анализа компонентного состава сыворотки крови человека с целью обнаружения патолого-ассоциированных изменений, в частности почечной недостаточности.

5. Литература

- [1] Feng, S. Nasopharyngeal cancer detection based on blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis / S. Feng, R. Chen, J. Lin, J. Pan, G. Chen, Y. Li, M. Cheng, Z. Huang, J. Chen, H. Zeng // *Biosens. Bioelectron.* – 2010. – Vol. 25(11). – P. 2414-2419. DOI: 10.1016/j.bios.2010.03.033.
- [2] Cao, X. Label-Free Detection of Human Serum Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Based on Highly Branched Gold Nanoparticle Substrates for Discrimination of Non-Small Cell Lung Cancer / X. Cao, Z. Wang, L. Bi, J. Zheng // *Journal of Chemistry.* – 2018. – Vol. 2018. – P. 1-3. DOI: 10.1155/2018/9012645.

- [3] Zhang, K. Label-free and stable serum analysis based on Ag-NPs/PSi surface-enhanced Raman scattering for noninvasive lung cancer detection / K. Zhang, X. Liu, B. Man, C. Yang, C. Zhang, M. Liu, Y. Zhang, L. Liu, C. Chen // Biomed Opt Express. – 2018. – Vol. 9(9). – P. 4345-4358.