

*Teaduspreemia tehnikateaduste alal tööde tsükli „Molekulaarselt jäljendatud polümeerid: kaasaegsed biomimeetilised sensormaterjalid meditsiiniliseks diagnostikaks ja keskkonnanseireks“ eest*

Vitali Sõritski



Foto: Birgit Püve

## MOLEKULAARSELT JÄLJENDATUD POLÜMEERID: KAASAEGSED BIOMIMEETILISED SENSORMATERJALID MEDITSIINILISEKS DIAGNOSTIKAKS JA KESKKONNASEIREKS

### Sissejuhatus

Keemilised sensorid, sealhulgas biosensorid, on tänapäeval omandanud kindla koha kaasaegsete analüüsimeetodite hulgas tänu pidevalt kasvavale nõudlusele kiirete, suure tundlikkuse ja selektiivsusega usaldusväärsete meetodite järele hoogsalt arenevas kliinilises analüüsis, keskkonna seisundi jälgimisel ning paljudes teistes valdkondades.

Enamik nendest sensoritest kasutavad tundliku elemendina bioloogilisi retseptoreid, nagu ensüümid<sup>36</sup> ja antikehad,<sup>37</sup> mille spetsiifiline interaktsioon ehk vastasmõju analüüsitava ainega (analüüdiga<sup>38</sup>) põhineb molekulaarsel äratundmisel. Sellise mehhanismiga interaktsioonid on iseloomulikud eluslooduses toimuvatele protsessidele ning vajalikud bioloogilise informatsiooni vahetamiseks elusorganismis.

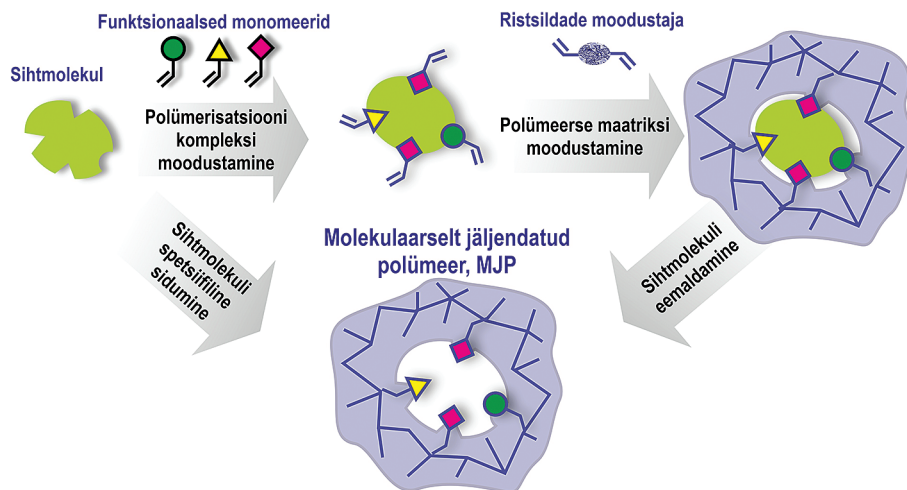
Molekulaarse äratundmise korral on retseptori seondumistasku spetsiaalselt kohandatud kindla molekuli (nn ligandi<sup>39</sup>) seondumiseks, olles sobiva suuruse, geomeetria ja keemilise funktsionaalsusega. Seega on bioloogilised retseptorid analüüdi suhtes väga selektiivsed. Nende peamised puudused on keemiline ja termiline ebastabiilsus, kõrge tootmishind ja halb reprodutseeritavus. Heaks alternatiiviks on kasutada bioloogiliste retseptorite sünteetilisi analooge, mis tunnevad analüüdi ära sarnase printsiibi alusel, kuid on omadustelt stabiilsemad ja odavamad. Selliste biomimeetiliste retseptorite loomise üks võimalusi

<sup>36</sup> Kõrgmolekulaarsed ehk suhteliselt suurtest molekulidest koosnevad bioloogilised katalüsaatorid, valdavalt valgud, mis kiirendavad keemiliste reaktsioonide toimumist – toim.

<sup>37</sup> Ka immunoglobuliinid, immuunkehad või kaitsekehad, väga erineva molekuli suurusega (molekulmassiga) ja funktsioonidega molekulid, mida toodavad selgroogsete loomade (sh inimese) immuunsüsteemid ning mis tunnevad ära ja suudavad endaga siduda organismile võõraid potentsiaalselt ohtlikke aineid – toim.

<sup>38</sup> Keemiliseks või füsiokeemiliseks analüüsiks võetud proovis olev aine või komponent, mille sisaldust või keemilist olemust (struktuuri) soovitakse määrata.

<sup>39</sup> Sõnast *ligare* (ld) – 'siduma, ühendama'. Biokeemias ja farmakoloogias mistahes aine molekul, ioon või aatom, mis seondub kindlalt mingi biomolekuliga ning moodustab koos sellega uue ühendi. Anorgaanilises keemias mõeldakse selle all iooni või molekuli (ka funktsionaalrühma), mis seondub keskse metalliaatomiga, moodustades kompleksühendi.



**Joonis 1.** Molekulaarse jäljendamise põhimõtte skeem.

on molekulaarse jäljendamise tehnoloogia kasutamine. Meetodi tuumaks on oskus tekitada mingis polümeeris meid huvitava analüüdi molekulide (edaspidi sihtmolekulide) jäljendid, nn mälu pesad (Ye jt, 2008). Tehnoloogia abil loodud nutikaid polümeerseid materjale nimetatakse molekulaarselt jäljendatud polümeerideks (MJP). Need püüavad oma mälu pesadesse ainult kindlaid molekule ning seega tuvastavad selektiivselt üht kindlat ainet.

Molekulaarse jäljendamise põhimõte (joonis 1) seisneb polümeeri moodustamises nõnda, et selle pinnal moodustuvad sihtmolekulidele täpselt sobivad pesad.

See saavutatakse siis, kui tuvastamiseks sobivaid funktsionaalseid rühmi omava monomeerist ja ristsildade moodustajast<sup>40</sup> kasvatada polümeeri koos sihtmolekulidega. Kui protsess õnnestub, siis on selle tulemusena tekkinud polümeeri funktsionaalsete rühmade kaudu seotud ka sihtmolekulid. Kui suudame eraldada sellisest polümeerist sihtmolekulid nii, et alles jäävad nii vajalikud funktsionaalsed rühmad kui ka sihtmolekulidega identsed tühemikud, ongi retseptori tuumik valmis. Selline matriits<sup>41</sup> on edaspidi võimeline lahusest uuesti üles leidma ja siduma samu sihtmolekule või nende struktureid analooge. Kuna tegemist on teatava võrkstruktuuriga polümeeriga, siis kasutatakse sageli ka nimetust „(matriitside) maatriks“. Erinevalt looduslikest retseptoritest iseloomustab MJP-sid hea keemiline ja termiline stabiilsus, omaduste reprodutseeritavus,

<sup>40</sup> Nn komonomeer, mis moodustab ristsildu ahelate vahel. Tulemusena tekib võrkstruktuuriga polümeer ehk maatriks.

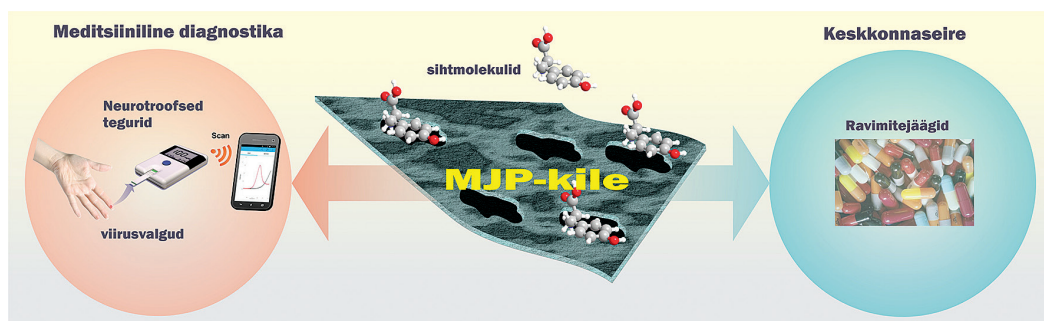
<sup>41</sup> Matriits ehk maater, stantsimisel tarvitav vajutusvorm või ladumismasinat tarvitav valuvorm või trükilaolt pappmassi sisse pressitud jäljend. MJP-tehnoloogia kirjeldamisel kasutatakse sageli ka ingliskeelse sõna *matrix* (täheenduses *a mould in which something, such as a record or printing type, is cast or shaped*) toortõlget „maatriks“ – toim.

valmistamise odavus, korduvkasutuse võimalus ning automatiseeritavus. Tänu sellistele omadustele loetakse MJP-sid väga perspektiivseteks sensormaterjalideks odavate ja töökindlate sensorite valmistamisel (Leibl jt, 2021).

Praktikas on ennekõike vajadus selliste sensormaterjalide ja rakenduste järele, mis võimaldavad kiiranalüüse teha vahetult sündmuskohal, patsiendimanustena või isegi patsiendil endal (PoCT ehk *point-of-care testing*) (Liu jt, 2020). Selliste testide tegemiseks on oluline, et analüüdi sidumise ja signaali muundamise protsess oleks lihtne ja kiire, kuid samal ajal tagaks piisava tundlikkuse. Kui on võimalik selliseid mõõtmisi ühendada nutiseadmetega, saab luua eeldused meditsiiniliseks kaugdiagnostikaks.

Täna kasutatakse PoCT-teste näiteks veresuhkru, kardioloogiliste markerite, narkootikumide, raseduse, hemoglobiini, kolesterooli ja muude ainete analüüsimisel või seisundite testimisel. Patsiendimanused testid sobivad haiguste seireks ja ravi edukuse jooksvaks jälgimiseks. Odavate ja usaldusväärsete PoCT-testide roll on märkimisväärne eri haiguste varajasel avastamisel ja jälgimisel (Murti jt, 2021). Kuigi need ei pruugi olla nii täpsed kui traditsioonilised laboratoorsed testid, annavad need piisavalt usaldusväärset teavet patsiendi seisundi muutustest ja nende suundumustest. Vajadusel saab alati teha täpsemaid analüüse. Praegused PoCT-testid kasutavad põhiliselt bioloogilisi retseptoreid. Need on küll tundlikud erinevate analüütide suhtes, kuid on ebapüsivad, mis tõstab oluliselt testide hinda ja analüüsiks kuluvat aega. Sensorid, mis põhinevad sünteetilistel retseptoritel, nagu MJP, võivad edukalt täita PoCT-testidele esitatavaid nõudeid.

Minu uurimisrühma teadustöö on suunatud MJP sensormaterjalide uurimisele ja nende baasil odavate ning töökindlate sensorite väljatöötamisele eri haiguste tuvastamiseks või keskkonna seisundi jooksvaks hindamiseks (joonis 2).



**Joonis 2.** Valik võimalusi molekulaarselt jäljendatud polümeeride kasutamiseks sensormaterjalidena meditsiinilises diagnostikas ja keskkonnaseires.

Sellised sensorid võimaldavad kliiniliselt oluliste valkude või keskkonna saasteainete kiiret ja usaldusväärset kvantitatiivset määramist uuritavas proovis.

## MJP sensormaterjalid meditsiiniliseks diagnostikaks

Meditsiinilises diagnostikas on selge vajadus kiirete ja usaldusväärsete analüüsi-meetodite järele erinevate haiguste efektiivsemaks avastamiseks ja jälgimiseks. 2020. aasta alguses puhkenud koroonaviiruse pandeemia tekitas tungiva vajaduse kiirete ja odavate viiruse diagnoosimise meetodite järele (Peeling jt, 2022). Eriti oluline on luua võimalused haigustele vastavate biomarkerite tuvastamiseks ja jälgimiseks juba haiguse algstaadiumis.

Haiguse biomarkeriks võivad olla eri tüüpi molekulid, näiteks valk, ensüüm, hormoon või antikeha, mille ebanormaalne kontsentratsioon veres või muus bioloogilises vedelikus on seotud konkreetse haigusega. Näiteks seostatakse selliseid valke nagu neurotroofsed tegurid mitmete neuroloogiliste haigustega, sh depressiooni, Alzheimeri ja Parkinsoni tõvega (Laske jt, 2006; Cattaneo jt, 2016; Lindahl jt, 2017). Seega, hinnates nimetatud valkude kontsentratsiooni või selle muutust bioloogilises proovis, saab haiguse diagnoosida või teha järeldusi haiguse arengu kohta, seda ka haiguse varajases staadiumis.

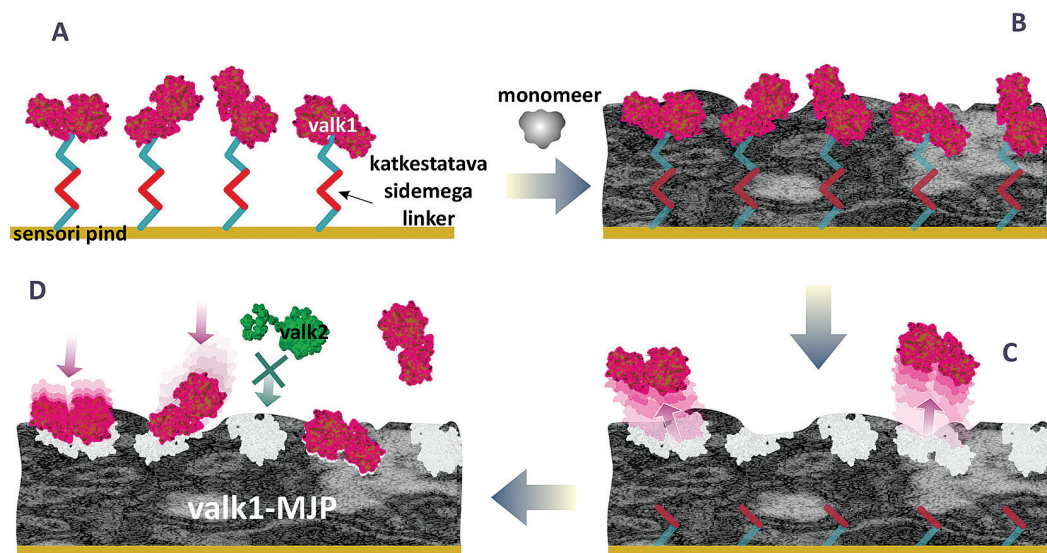
Nii on oluline näiteks C-hepatiidi varajane diagnoosimine, kuna haigus võib kulgeda pikka aega sümptomiteta ning avastatakse sageli juba kaugele arenenud staadiumis (Mohd Hanafiah jt, 2013). Haigus on seotud kõrgeenenud maksavähi riskiga. Varakult avastatud haigus on ravitav ning võib ennetada maksavähi teket. C-hepatiidi varajaseks avastamiseks sobivad kas viiruse RNA või viiruse antigeeni e viirusvalgu määramine vereproovis.

Esmatähtis on ka kiire diagnoosimine kõrge nakatumiskordajaga nakkushaiguste, nt hiljuti pandeemiat põhjustanud koroonaviiruse SARS-CoV-2 korral. Viirusekandjate õigeaegse isoleerimisega saab vähendada nakatumise riski (Peeling jt, 2022). Selle haiguse puhul tuleb lisaks väljakujunenud sümptomitega haigetele pidada kõrgeks ohuallikaks ka pre- ja asümptomaatilisi isikuid (Oran jt, 2020). Seetõttu on eriti oluline teha masstestimist. Tänapäeval kasutatakse selleks SARS-CoV-2 antigeeni külgvoolu kiirteste, mis tuvastavad SARS-CoV-2 viirusvalgu, nt nukleokapsiid- või ogavalgu olemasolu ninaneelu proovis. Praegu kasutatavad viirusnakkuste laboratoorse diagnostika testid on viiruse RNA-d tuvastav PCR-meetod (polümeraasi ahelreaktsioon ehk PCR, ingl *polymerase chain reaction*) ning erinevad viirusvalkude ja nende vastaste antikehade ELISA-testid (immunoensüümmeetod, ingl *enzyme-linked immunosorbent assay*). PCR on väga tundlik, kuid kallis ja töömahukas meetod; ELISA-testid on madalama tundlikkusega, antikehad tekivad vahel alles nädalaid pärast nakatumist ning alati esineb valenegatiivseid tulemusi.

Käesoleva uurimistöö fookuses oli kliiniliselt oluliste valkude (neurotroofsed tegurid, C-hepatiidi viirusvalk ja SARS-CoV-2 viirusvalgud) suhtes selektiivsete MJP sensormaterjalide valmistamine ja nende integreerimine eri (sh

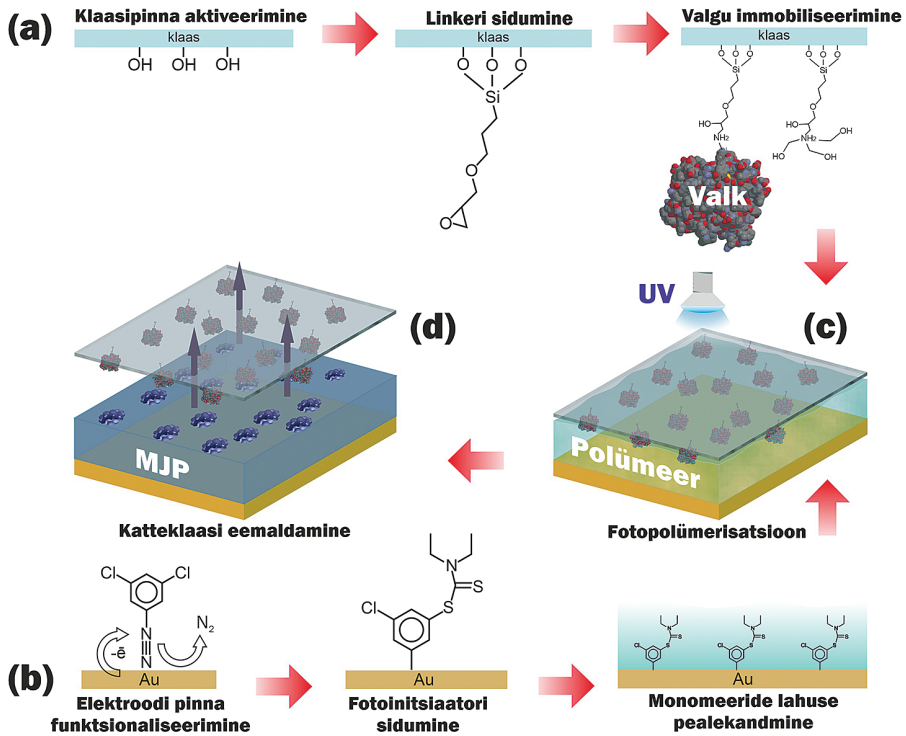
kaasaskantavate) sensorplatvormidega. Valkude molekulaarne jäljendamine on keeruline nende molekulide suurte mõõtmete tõttu. Seetõttu liiguvad nad polümeeri matriitsis aeglaselt ning nende väljapesemine ja taaseostumine on raskendatud. Heaks lahenduseks on nn pindmiste mälupeadega MJP-de valmistamine. Sihtmolekulid pääsevad neile pesadele paremini ligi ning massiülekanne ja sihtmolekulide sidumine on kiirem.

Uurisime valkude molekulaarse jäljendamise võimalusi vahetult sensori pinnal, keskendudes pindpolümerisatsiooni tehnoloogiatele, nagu elektrokeemiline polümerisatsioon ja kontrollitav elav fotopolümerisatsioon. Tulemusena on välja pakutud kaks uut sünteesistrateegiat valguga jäljendatud MJP-kilede valmistamiseks. Üks nendest on elektrokeemilisel polümerisatsioonil põhinev meetod, mis kasutab esimesel etapil valgu immobiliseerimist sensori pinnale katkestatava sidemega aine, nn linkeri abil. Tulemusena moodustub pindmiste mälupeadega õhuke MJP-kile vahetult anduri pinnal (joonis 3).



**Joonis 3.** Elektrokeemiline sünteesimeetod kasutab esimesel etapil valgu immobiliseerimist sensori pinnale katkestatava sidemega linkeri abil (A). Järgmisel etapil sadestatakse valguga modifitseeritud pinnale elektrokeemiliselt õhuke polümeerkile (B). Seejärel eemaldatakse valgu sihtmolekulid disulfiidsideme katkestamise teel ning polümeeri pinnale moodustuvad sihtmolekuli mälupead (C). Selle meetodi korral on oluline kontrollida sadestava polümeeri paksust, et polümeer ei kataks valku üle, mis raskendab selle väljapesemist ja taaseostumist.

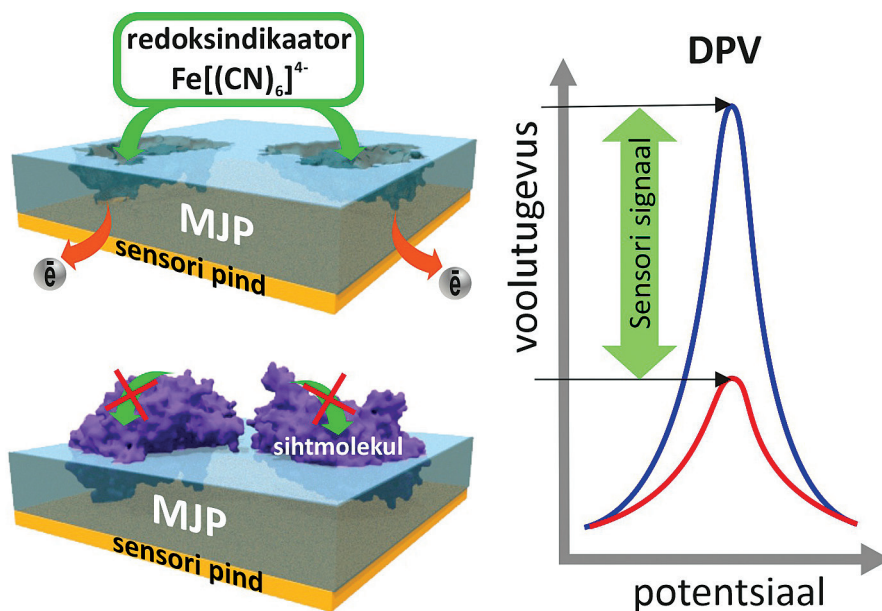
Teine lähenemine ühendab kontrollitava elava fotopolümerisatsiooni ja nn mikrokontaktjäljendamise meetodi. Nii saab luua stabiilsema pindmiste mälupeadega MJP-kile nii elektroodidel kui ka elektrit mittejuhtivatel alustel (joonis 4).



**Joonis 4.** MJP süntees ühendab kontrollitava elava fotopolümeerisatsiooni ja mikrokontaktjäljendamise. Meetod koosneb järgmistest etappidest: (a) valgust kovalentne immobiliseerimine katteklaasile linkeri kaudu; (b) sensori pinna modifitseerimine fotopolümeerisatsiooni initsiaatoriga ja monomeeride lahuse pealekandmine; (c) fotopolümeerisatsioon: katteklaas viiakse kontakti sensori pinnaga ning valgustatakse ultraviolettkiirgusega lainepikkusega 365 nanomeetrit (nm); (d) katteklaasi eemaldamine ja MJP moodustamine. Joonis on kohandatud artiklist (Kidakova jt, 2018).

Mõlemad tehnoloogiaid kasutati neurodegeneratiivsetele haigustele iseloomulike markerite, nagu neurotroofsete tegurite CDNF-i (*cerebral dopamine neurotrophic factor*) ja BDNF-i (*brain-derived neurotrophic factor*) molekulaarseks jäljendamiseks. CDNF-i suhtes selektiivne MJP valmistati elektrokeemiliselt akustilise pinnalaine põhimõttel töötava sensori pinnale (*surface acoustic wave, SAW*) (Kidakova jt, 2020). BDNF-i suhtes selektiivne MJP loodi kontrollitava elava fotopolümeerisatsiooni teel sõeltrükitud elektrokeemilisele sensoriibile (*screen-printed electrode, SPE*) (Kidakova jt, 2019). Mõlemad sensorid näitasid head selektiivsust konkureeriva sidumise meetodil ning olid võimelised tuvastama sihtvalku madala (suurusjärgus mõned nanogrammid milliliitris, ng/ml) avastamispiiriga.

Kuna SPE on odav ja portatiivne sensorplatvorm, siis selle põhjal valmistatud MJP-sensorid omavad suurimat rakenduspotentsiaali just PoCT-seadmete valmistamisel. MJP-retseptoriga modifitseeritud elektrokeemilise sensori töö põhimõte on esitatud joonisel 5.



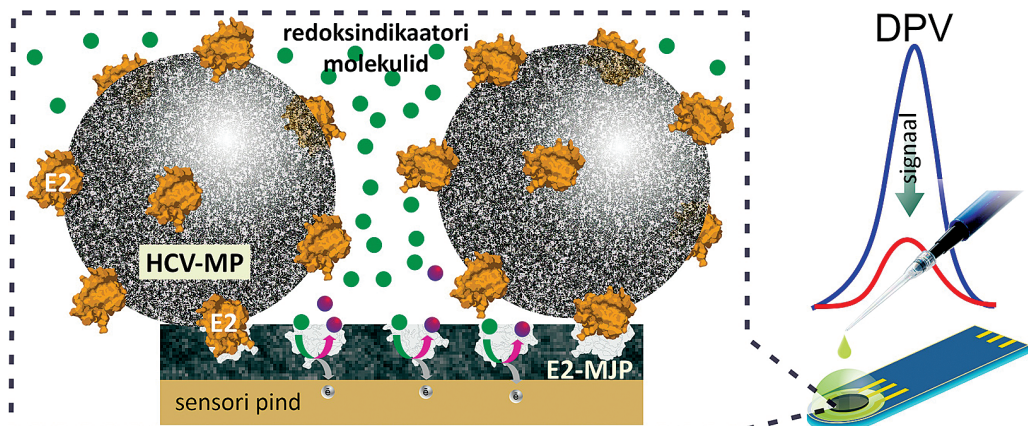
**Joonis 5.** MJP-ga modifitseeritud elektrokeemilise sensori tööpõhimõte. Elektroodile rakendatakse kindla kujuga potentsiaal (nt impulsid) ja mõõdetakse voolutugevust. Mõõtmised tehakse redoksindikaatori, nt heksatsüanoferraati ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ) juuresolekul. Kõigepealt mõõdetakse taustsignaali sihtmolekulivabas lahuses (sinine joon). Seejärel hoitakse sensorit teatud aeg analüüsitavas lahuses ja korratakse elektrokeemilist mõõtmist. Kui sihtmolekulid seostuvad MJP-l, siis voolutugevus kahaneb (punane joon). Joonis on kohandatud artiklist (Raziq jt, 2021).

Mõõtmised tehakse redoksindikaatori – nt heksatsüanoferraati ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ) – juuresolekul, mille redoksreaktsioonist tingitud voolutugevus sõltub sellest, kui hästi toimib elektrilaengu ülekande lahuse ja elektroodi piirpinnal. Elektroodile rakendatakse kindla kujuga potentsiaal. Voolutugevust mõõdetakse impulssvoltage meetria<sup>42</sup> (*differential pulse voltammetry*, DPV) abil. Kõigepealt tehakse nn taustsignaali mõõtmine sihtmolekulivabas lahuses. Seejärel hoitakse sensorit teatud aja jooksul analüüsitavas lahuses ja korratakse elektrokeemilist mõõtmist. Sihtmolekulide seostumist MJP-ga näitab voolutugevuse kahanemine. Muutuse määr sõltub sihtmolekuli kontsentratsioonist: mida rohkem molekule on seostunud, seda enam kahaneb voolutugevus.

Elektrokeemilist MJP sünteesi meetodit on edukalt rakendatud ka C-hepatiidi viiruse E2-pinnaalgu vastase sünteetilise retseptori (E2-MJP) valmistamiseks SPE pinnal eesmärgiga luua diagnostikavahend C-hepatiidi varajaseks tuvastamiseks (Antipchik jt, 2021, 2022) (joonis 6).

<sup>42</sup> Voltammeetria (ingl *voltammetry*) on elektrokeemilise analüüsi meetod – analüüsitavat lahust läbiva voolu mõõtmine varieeruva pinge korral.





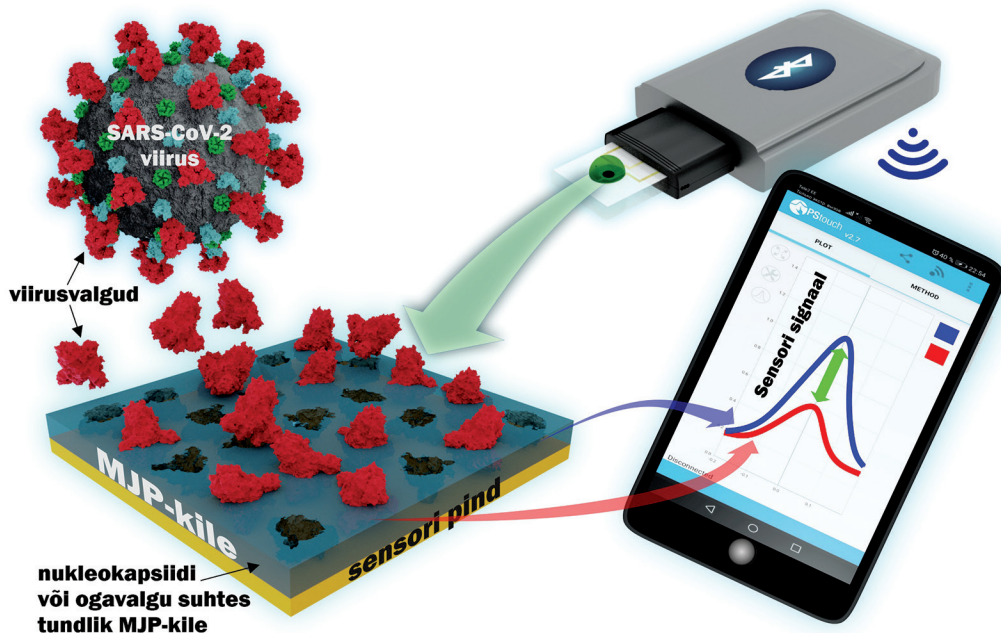
**Joonis 6.** C-hepatiidi viiruse E2-pinnaalgu suhtes selektiivse MJP-retseptoriga (E2-MJP) modifitseeritud sõeltrükitud elektrood (SPE), millele on seondunud mudelviiruse osana loodud E2-pinnaalgu. DPV abil registreeritud sensori signaal enne (sinine joon) ja pärast (punane joon) E2-valguga modifitseeritud HCV-mudelviiruse seondumist. Joonis on kohandatud artiklist (Antipchik jt, 2022).

Näitasime, et E2-MJP sensor võib seonduda nii vaba E2-pinnaalvuga kui ka mudelviiruse osana loodud E2-ga spaigitud<sup>43</sup> inimese vereplasma proovides. Loodud sensor on piisavalt tundlik, et konkureerida olemasolevate meetoditega C-hepatiidi varajases staadiumis diagnoosimisel. Tulemused lõid head eeldused patsiendimanuste testide (PoCT) arendamiseks neurodegeneratiivsete haiguste ja C-hepatiidi varajaseks diagnoosiks ja jälgimiseks.

Meditsiinilise diagnostika suuna üheks silmapaistvamaks väljundiks pean koroonaviiruse kiirtesti, mis põhineb kaasaskantava elektrokeemilise sensorplatvormiga integreeritud MJP-retseptoril ning võimaldab SARS-CoV-2 viirusalgu (antigeeni) otsest tuvastamist uuritava patsiendi proovist. SARS-CoV-2 nukleokapsiid- või ogavalgu suhtes tundlik MJP-retseptor valmistati elektrokeemilisel polümeerisatsioonil põhineva meetodi abil (joonis 7) (Raziq jt, 2021; Ayankojo jt, 2022a).

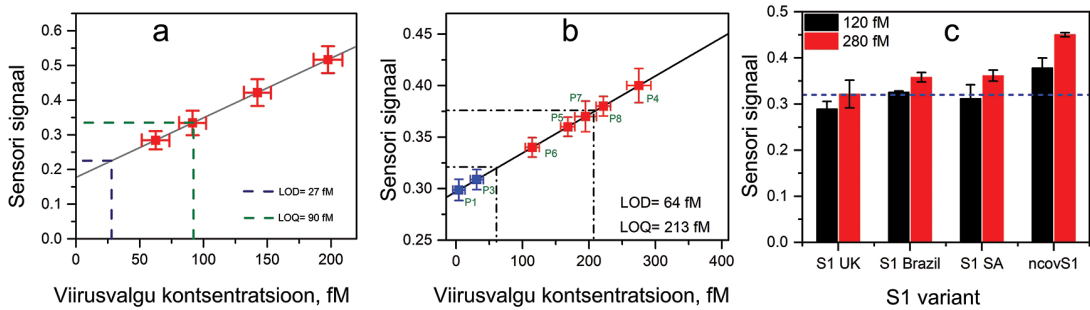
Välja töötatud sensoreid testiti koostöös Synlab Eesti OÜ-ga. Tulemused kinnitasid, et valmistatud sensorid on võimelised patsiendi ninaneeluproovist 15–20 minutiga tuvastama SARS-CoV-2 viirusvalku.

<sup>43</sup> Spaigitud proovis (ingl *spiked sample*) on mingi taseme saavutamiseks vajalik analüüt kunstlikult juurde lisatud.



**Joonis 7.** Koroonaviiruse kiirtest, mis põhineb kaasaskantava elektrokeemilise sensorplatvormiga integreeritud MJP-retseptoril ning võimaldab SARS-CoV-2 viirusvalgu (antigeeni) kvantitatiivset määramist. Joonis on kohandatud artiklist (Ayankojo jt, 2022a).

Valmistatud sensori üks eeliseid võrdluses nii klassikalise PCR-meetodi kui ka praegu laialt kasutatavate koroonaviiruse antigeeni kiirtestidega (külgvoolu-testid) on võimekus määrata ka viirusvalgu kontsentratsiooni proovis (joonised 8a, 8b). Kuna valmistatud sensori tundlik element põhineb SARS-CoV-2 ogavalgu suhtes selektiivsel MJP sünteetilisel retseptoril ja ogavalk on viiruse eri variantidel erinev, on selline sensor potentsiaalselt võimeline eristama SARS-CoV-2 viirustüvesid. Seda kinnitasid ka meie uurimistöö esialgsed tulemused (joonis 8c).



**Joonis 8.** Kalibreerimisgraafikud SARS-CoV-2 nukleokapsiidvalgu (A) ja ogavalgu (*spike subunit S1*) (B) suhtes selektiivsetele MJP-sensoritele. Mõõtmised on tehtud Synlab Eesti diagnostikalaborist saadud ninaneeluproovides, mille COVID-19 staatus oli juba eelnevalt kinnitatud PCR-meetodiga. Punased ruudud vastavad MJP-sensori signaalile COVID-19 positiivsete proovide puhul ja sinised ruudud negatiivsete proovide puhul. Nagu on näha, paiknevad kõik COVID-19 positiivsetes proovides mõõdetud MJP-sensori signaalid graafikul avastamispiirist (*limit of detection, LOD*) kõrgemal. (C) SARS-CoV-2 ogavalgu (*spike subunit S1*) suhtes selektiivne MJP-sensori signaal originaalsele S1 valgule (ncovS1) ja erinevate SARS-COV-2 variantide S1 valkudele S1 UK, S1 Brazil ja S1 SA. Punktiirjoon vastab avastamispiirile. Sensori signaal on mõõdetud kahel erineval valgu kontsentratsioonil: 120 fM (must) ja 280 fM (punane). Joonis on kohandatud artiklitest (Raziq jt, 2021; Ayankojo jt, 2022a).

## MJP sensormaterjalid keskkonnaseireks

Minu töörühma teine uurimissuund on antibiootikumide suhtes selektiivsete MJP sensormaterjalide väljatöötamine ja nende integreerimine kaasaskantava sensorplatvormiga. Eesmärk on välja töötada elektrokeemilised sensorid vesikeskkonna kiiranalüüsideks vahetult sündmuskohal.

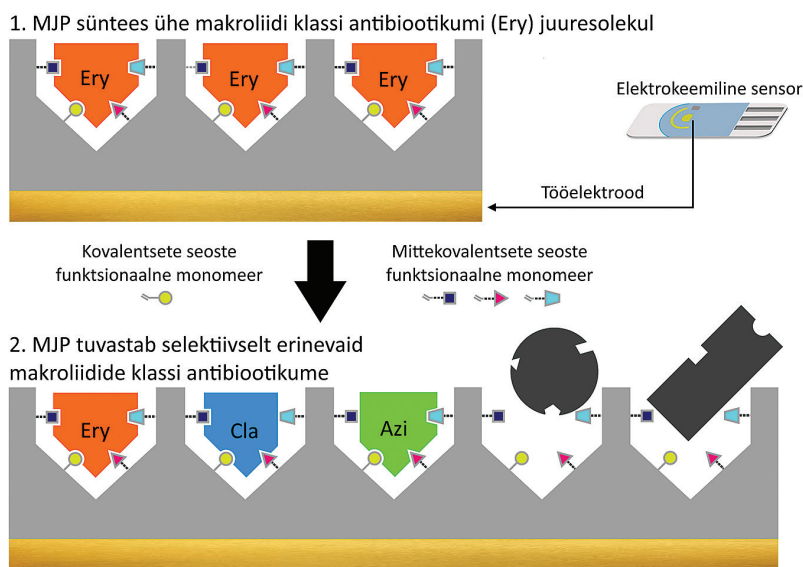
Keskkonnaanalüütikas on üha kasvav probleem ravimijääkide rohkus, eriti vesikeskkonnas. Erinevate antibiootikumide aktiivne kasutamine meditsiinis ja veterinaarias põhjustab nende jääkide laialdase sattumise keskkonda, mis omakorda põhjustab terviseprobleeme (Kraemer jt, 2019). Enamasti ei ole need ained bioloogiliselt lagunevad ja akumulereuvad keskkonnas, kutsudes esile resistentsete patogeenide teket näiteks looduslikes veekogudes ning olles ohtlikud isegi madalatel kontsentratsioonidel (Rodriguez-Mozaz jt, 2020). Nende ainete tuvastamise peamised võtted põhinevad tahkefaasilise ekstraktsiooni ja kromatograafilistel meetoditel, mis on töömahukad, kallid ja aeganõudvad. Seepärast on nüüdisaegsete, odavate ja portatiivsete ravimainete seiremeetodite väljatöötamine väga vajalik.

Meie välja töötatud tehnoloogia põhineb individuaalsete antibiootikumide sulfa-metisooli ja erütromütsiini suhtes selektiivsetel MJP-kiledel, mis on kantud portatiivsele elektrokeemilisele sensorplatvormile (SPE) (Ayankojo jt, 2020a, b).

Näitasime, et valmistatud MJP-sensordid on võimelised piisava tundlikkuse ja selektiivsusega määrama sihtantibiootikumi vesilahuses, sh ka spaigitud kraanivees. Leitud avastamiskiirguse väärtused, 0,9 nanomooli (nM) sulfametisooli korral ja 0,1 nM erütromütsiini korral, võimaldavad nende antibiootikumide määramist ka reaalsetes vesikeskkondades eksisteerivate väga väikeste kontsentratsioonide juures.

Reaalses vesikeskkonnas on samaaegselt olemas eri klassidesse kuuluvad antibiootikumid. Seetõttu oli järgmiseks sammuks universaalsete MJP-retseptorite valmistamine, mis on võimelised tuvastama vesilahustest terve antibiootikumide klassi (nt  $\beta$ -laktaamantibiootikumid või makroliidid). Sellised retseptorid sobivad hästi keskkonnaseireks, sest võimaldavad tuvastada korraga kõiki vastasse klassi kuuluvaid saasteaineid. Kindla aineklassi suhtes selektiivseid MJP-retseptoreid saab valmistada sihtmolekuli ja sellele sobivate funktsionaalsete monomeeride hoolika valiku kaudu. Tuleb ju tekitada mälupesad, mis toimivad terve aineklassi mingi spetsiifilise rühma suhtes.

Selleks oleme välja pakkunud originaalse tehnoloogilise lahenduse, mis põhineb MJP-kile valmistamisel kahe funktsionaalse monomeeri, m-fenüleendiamiini ja aminofenüülboroonhappe segu kopolümeerisatsiooni teel (joonis 9) (Nguyen jt, 2023).



**Joonis 9.** Makroliidide klassi suhtes selektiivse MJP elektrokeemilise sensori arendus. MJP-kile valmistatakse kopolümeerisatsiooni teel kahe funktsionaalse monomeeri segust. Koos võimaldavad need nii kovalentsete kui ka mittekovalentsete seoste moodustamist sihtantibiootikumi erütromütsiini (Ery) ja monomeeride vahel. Tulemusena moodustub MJP-kile, millel on makroliididele spetsiifilise funktsionaalsusega mälupesad ja mis on võimeline seonduma sellesse klassi kuuluvate antibiootikumidega, nagu klaritromütsiin (Cla) ja asitromütsiin (Azi). Joonis on kohandatud artiklist (Nguyen jt, 2023).

Tänu nii kovalentsete kui ka mittekovalentsete seoste moodustamisele sihtantibiootikumide ja monomeeride vahel kujunevad polümeeri matriisis makroliididega seostuvate spetsiifiliste funktsionaalsete rühmadega mälu pesad. Nõnda valmistatud MJP-retseptoriga varustatud elektrokeemiline sensor oli võimeline selektiivselt tuvastama erinevaid makroliidide klassi kuuluvaid antibiootikume.

Kõikidel kõnesoleva tööde tsükli raames valmistatud antibiootikumide suhtes selektiivsetel MJP-sensoritel on mõõtmise aeg lühike, ca 15 min. Neil on ka tunduvalt madalam avastamispiir (0,1–2,0 nM) ehk nad on märksa tundlikumad analoogsete elektrokeemiliste sensoritega võrreldes. Seega avardavad pakutud meetodid MJP-retseptoriga portatiivsete sensorite loomiseks keskkonnaohtlike saasteainete reaajas tuvastamise võimalusi ning loovad eeldused oluliselt odavamate, täpsemate ja kiiremate keskkonnasensorite valmistamiseks molekulaarse jäljendamise tehnoloogia alusel. Tehnoloogia rakendamise võimalusi ja arengusuundi vesikeskkonna saasteainete jälgimiseks on analüüsitud ülevaateartiklis (Ayankojo jt, 2022b).

Kokkuvõtteks on minu uurimisrühma poolt välja töötatud molekulaarse jäljendamise tehnoloogia meetodid, mille kohaselt sünteesitakse biomimeetiliste omadustega polümeermaterjale. Need võimaldavad integreerituna sobivate sensorplatvormidega (nt kaasaskantavate või mitmekanaliliste sensoritega) kvantitatiivselt määrata mitmete haiguste suhtes relevantseid valke või keskkonna saasteaineid kiiresti, odavalt ja piisava tundlikkusega. Arendatud MJP-sensorid ühendatuna mobiilse rakenduse ja tarkvaraga varustatud nutiseadmega loovad eeldused meditsiiniliseks kaugdiagnostikaks, mis muudab oluliselt efektiivsemaks haiguste eeldiagnoosimise ja patsiendi seisundi jooksva hindamise.

MJP-tehnoloogia on kohandatav põhimõtteliselt iga patogeeni tuvastamiseks. Seega aitab selle meetodi arendamine kaasa uute nakkushaiguste kiirtestide väljatöötamisele ja tõstab meie kindlustunnet uute võimalike haiguspuhangute vältimiseks. MJP-sensorid on perspektiivsed ka keskkonnanalüütikas, võimaldades ohtlike saasteainete madalate kontsentratsioonide reaajas tuvastamist ning seega pakkudes alternatiivi kallitele ja töömahukatele kromatograafilistele meetoditele. Järgmiseks sammuks tehnoloogia arengus oleks molekulaarselt jäljendatud sensorplatvormide analüüsivõimekuse tõstmine, suurendades kiibi mõõtekanalite arvu, nn sensorite massiivi (*sensor array*) loomine, mis omakorda võimaldab suurendada samaaegselt analüüsitavaid ainete arvu.

## Tänuavaldused

Minu suurimad tänuavaldused kuuluvad kolleeg Jekaterina Reutile ja nüüdseks meie hulgast juba lahkunud akadeemik Andres Öpikule. Olen väga tänulik tööühme liikmetele: Akinrinade George Ayankojo, Anna Kidakova, Roman Boroznjak, Vu Bau Chau Nguyen, Mariia Antipchik. Suur tänu artiklite kaas-

autoritele ja kolleegidele nii Eestist kui välismaalt suurepärase koostöö eest: prof Mart Saarma (Helsingi ülikool), Jörg Rappich, Karsten Hinrichs, Andreas Furchner (Berliini Helmholtzi uurimiskeskus), prof Mart Ustav (AS Icosagen), Kaspar Ratnik ja Paul Naaber (Synlab Eesti OÜ).

Samuti tänan teadustöö finantseerijat Eesti teadusagentuuri. Suur osa tööst on valminud rühmagrandi PRG307 ja 2020. aasta sihtgrandi COVSG34 raames.

## VIITED

Antipchik, M., Korzhikova-Vlakh, E., Polyakov, D., Tarasenko, I., Reut, J., Öpik, A., Syritski, V. 2021. An electrochemical biosensor for direct detection of hepatitis C virus. *Analytical Biochemistry*, 624, 114196, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2021.114196>

Antipchik, M., Reut, J., Ayankojo, A. G., Öpik, A., Syritski, V. 2022. MIP-based electrochemical sensor for direct detection of hepatitis C virus via E2 envelope protein. *Talanta*, 250, 123737, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123737>

Ayankojo, A. G., Reut, J., Ciocan, V., Öpik, A., Syritski, V. 2020a. Molecularly imprinted polymer-based sensor for electrochemical detection of erythromycin. *Talanta*, 209, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120502>

Ayankojo, A. G., Reut, J., Öpik, A., Syritski, V. 2020b. Sulfamethizole-imprinted polymer on screen-printed electrodes: Towards the design of a portable environmental sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 320, 128600, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128600>

Ayankojo, A. G., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., Syritski, V. 2022a. Molecularly imprinted polymer based electrochemical sensor for quantitative detection of SARS-CoV-2 spike protein. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 353, 131160, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131160>

Ayankojo, A. G., Reut, J., Nguyen, V. B. C., Boroznjak, R., Syritski, V. 2022b. Advances in detection of antibiotic pollutants in aqueous media using molecular imprinting technique – A review. *Biosensors*, 12(7), 441, <https://doi.org/10.3390/bios12070441>

Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V., Pariante, C. M., Riva, M. A. 2016. The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Translational Psychiatry*, 6, e958, <https://doi.org/10.1038/tp.2016.214>

Kidakova, A., Reut, J., Rappich, J., Öpik, A., Syritski, V. 2018. Preparation of a surface-grafted protein-selective polymer film by combined use of controlled/living radical photopolymerization and microcontact imprinting. *Reactive and Functional Polymers*, 125, 47–56, <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.02.004>

- Kidakova, A., Reut, J., Boroznjak, R., Öpik, A., Syritski, V. 2019. Advanced sensing materials based on molecularly imprinted polymers towards developing point-of-care diagnostics devices. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 68(2), 158–167, <https://doi.org/10.3176/proc.2019.2.07>
- Kidakova, A., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., Saarma, M., Syritski, V. 2020. Molecularly imprinted polymer-based SAW sensor for label-free detection of cerebral dopamine neurotrophic factor protein. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 308, 127708, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127708>
- Kraemer, S. A., Ramachandran, A., Perron, G. G. 2019. Antibiotic pollution in the environment: From microbial ecology to public policy. *Microorganisms*, 7(6), 180, <https://doi.org/10.3390/microorganisms7060180>
- Laske, C., Stransky, E., Leyhe, T., Eschweiler, G. W., Wittorf, A., Richartz, E., Bartels, M., Buchkremer, G., Schott, K. 2006. Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 113(9), 1217–1224, <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0397-y>
- Leibl, N., Haupt, K., Gonzato, C., Duma, L. 2021. Molecularly imprinted polymers for chemical sensing: A tutorial review. *Chemosensors*, 9(6), 123, <https://doi.org/10.3390/chemosensors9060123>
- Lindahl, M., Saarma, M., Lindholm, P. 2017. Unconventional neurotrophic factors CDNF and MANF: Structure, physiological functions and therapeutic potential. *Neurobiology of Disease*, 97, 90–102, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.07.009>
- Liu, D., Wang, J., Wu, L., Huang, Y., Zhang, Y., Zhu, M., Wang, Y., Zhu, Z., Yang, C. 2020. Trends in miniaturized biosensors for point-of-care testing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 122, 115701, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115701>
- Mohd Hanafiah, K., Groeger, J., Flaxman, A. D., Wiersma, S. T. 2013. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*, 57(4), 1333–1342, <https://doi.org/10.1002/hep.26141>
- Murti, B. T., Putri, A. D., Huang, Y.-J., Wei, S.-M., Peng, C.-W., Yang, P.-K. 2021. Clinically oriented Alzheimer's biosensors: Expanding the horizons towards point-of-care diagnostics and beyond. *RSC Advances*, 11(33), 20403–20422, <https://doi.org/10.1039/D1RA01553B>
- Nguyen, V. B. C., Ayankojo, A. G., Reut, J., Rappich, J., Furchner, A., Hinrichs, K., Syritski, V. 2023. Molecularly imprinted co-polymer for class-selective electrochemical detection of macrolide antibiotics in aqueous media. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 374, 132768, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132768>
- Oran, D. P., Topol, E. J. 2020. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Annals of Internal Medicine*, 173(5), 362–367, <https://doi.org/10.7326/M20-3012>

Peeling, R. W., Heymann, D. L., Teo, Y-Y., Garcia, P. J. 2022. Diagnostics for COVID-19: Moving from pandemic response to control. *Lancet*, 399(10326), 757–768, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02346-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02346-1)

Raziq, A., Kidakova, A., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., Syritski, V. 2021. Development of a portable MIP-based electrochemical sensor for detection of SARS-CoV-2 antigen. *Biosensors and Bioelectronics*, 178, 113029, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113029>

Rodriguez-Mozaz, S., Vaz-Moreira, I., Varela Della Giustina, S., Llorca, M., Barceló, D., Schubert, S., Berendonk, T. U., Michael-Kordatou, I., Fatta-Kassinos, D., Martinez, J. L., Elpers, C., Henriques, I., Jaeger, T., Schwartz, T., Paulshus, E., O'Sullivan, K., Pärnänen, K. M. M., Virta, M., Do, T. T., Walsh, F., Manaia, C. M. 2020. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment International*, 140, 105733, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105733>

Ye, L., Mosbach, K. 2008. Molecular imprinting: Synthetic materials as substitutes for biological antibodies and receptors. *Chemistry of Materials*, 20(3), 859–868, <https://doi.org/10.1021/cm703190w>

## **Vitali Sõritski**

Sündinud 16. novembril 1971 Tallinnas

1989 Tallinna 5. keskkool

1994 Tallinna tehnikaülikool, pooljuhtmaterjalide tehnoloogia insener

1999 Tallinna tehnikaülikool, tehnikateaduste magister (MSc)

2004 Tallinna tehnikaülikool, loodusteaduste doktor (PhD)

Töötanud alates ülikooli lõpetamisest Tallinna tehnikaülikooli materjaliteaduse instituudis teadurina (1994–2006), vanemteadurina (2006–2016), materjali- ja keskkonnatehnoloogia instituudis vanemteadurina (2017–2021) ja alates septembrist 2021 juhtivteadurina. Täiendanud end Helsingi tehnikaülikoolis, Budapesti tehnikaülikoolis, ja Berliini Helmholtzi uurimiskeskuses. Alates 2017 Tallinna tehnikaülikooli materjali- ja keskkonnatehnoloogia instituudi biofunktsionaalsete materjalide teaduslaboratooriumi juht.

Teadustöös keskendub molekulaarselt jäljendatud polümeeride uurimisele ja nende rakendamisele sensormaterjalidena kaasaegsete keemiliste sensorite loomiseks. Juhendanud 5 kaitstud doktoritööd ja 9 kaitstud magistratööd. Avaldanud 37 andmebaasis Scopus kajastatud artiklit; *h*-indeks on 21.