

# BIOSENSORS

---

# БІОСЕНСОРИ

---

---

УДК 66.099, 608.1

## СИНТЕТИЧНІ АНТИМЕЛАМІН-РЕЦЕПТОРИ НА БАЗІ МОЛЕКУЛЯРНО ІМПРИНТОВАНИХ ПОЛІМЕРІВ ДЛЯ ФЕРМЕНТНОГО ПСЕВДОІМУНОАНАЛІЗУ

*К. М. Музика, М. М. Рожицький*

Харківський національний університет радіоелектроніки,  
лаб. Аналітичної оптикоелектроніки,  
61166, Україна, м. Харків, пр. Леніна, 14  
E-mail: mkm@kture.kharkov.ua

## СИНТЕТИЧНІ АНТИМЕЛАМІН-РЕЦЕПТОРИ НА БАЗІ МОЛЕКУЛЯРНО ІМПРИНТОВАНИХ ПОЛІМЕРІВ ДЛЯ ФЕРМЕНТНОГО ПСЕВДОІМУНОАНАЛІЗУ

*К. М. Музика, М. М. Рожицький*

**Анотація.** Показана можливість застосування синтетичних рецепторів (отриманих на базі технології твердофазного молекулярного імпринтингу) як дешевої альтернативи антитілам в ході проведення твердофазного імуноферментного визначення меламіну. Попередні квантово-хімічні розрахунки дали можливість обґрунтувати вибір найкращого кандидата-мономера (серед міні-бібліотеки з 13 мономерів) під час створення за технологією молекулярного імпринтингу «штучного рецептора» на меламін, а саме, акриламід-2-метил-1-пропансульфонової кислоти. Межа визначення меламіну конкурентним методом становила 0.0058 нМ (5.8 пМ), лінійний діапазон концентрацій: 0.01 – 1 нМ. Чутливість визначення меламіну даним методом вища (втричі), ніж ELISA-аналіз, що базується на антитілах.

**Ключові слова:** молекулярно імпринтований полімер, наночастинки, твердофазний імуноферментний аналіз, штучний рецептор, меламін, конкурентний аналіз

## SYNTHETIC ANTI-MELAMINE RECEPTOR BASED ON MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS FOR PSEUDO-ELISA

*K. M. Muzyka, M. M. Rozhitskii*

**Abstract.** It is shown the possibility of using synthetic receptors (based on solid-phase molecular imprinting) as a cheaper alternative to antibodies during the ELISA detection of melamine.

Previous quantum-chemical calculations allowed to justify the choice (among a mini-library of 13 monomers) of the best functional monomer, namely, acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid to create "artificial receptor" on the melamine based on molecular imprinting technology. The detection limit for melamine using competitive method was 0.0058 nM (5.8 pM), the linear concentration range: 0.01 – 1 nM. The sensitivity of this method of melamine detection three times above than the ELISA analysis using antibodies.

**Keywords:** molecularly imprinted polymers, nanoparticles, enzyme-linked immunosorbent assay, artificial receptor, melamine, competitive assay.

## СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНТИМЕЛАМИН-РЕЦЕПТОРЫ НА БАЗЕ МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ ДЛЯ ПСЕВДОИМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

*Е. Н. Музыка, Н. Н. Рожницкий*

**Аннотация.** Показана возможность применения синтетических рецепторов (полученных на базе технологии твердофазного молекулярного импринтинга) в качестве дешевой альтернативы антителам при проведении твердофазного иммуноферментного определения меламина. Предыдущие квантово-химические расчеты позволили обосновать выбор наилучшего кандидата-мономера (среди мини-библиотеки из 13 мономеров) при создании с использованием технологии молекулярного импринтинга «искусственного рецептора» меламина, а именно, акриламид-2-метил-1-пропансульфоновой кислоты. Предел обнаружения меламина конкурентным методом составила 0.0058 нМ (5.8 пМ), линейный диапазон концентраций: 0.01 – 1 нМ. Чувствительность определения меламина данным методом выше (в три раза), чем ELISA-анализ, основанный на использовании антител.

**Ключевые слова:** молекулярно импринтированные полимеры, наночастицы, твердо-фазный иммуноферментный анализ, искусственный рецептор, меламина, конкурентный анализ.

### Вступ

Сучасний розвиток біомедичної техніки поставив до першочергових задач створення високоточних первинних чутливих елементів для систем селективного експрес-аналізу рідких і газових середовищ, що поєднують високу специфічність і чутливість визначення з коротким (хвилини) часом детектування, зручністю, простотою і мініатюрністю. Важливе місце серед таких елементів за останні 10

-15 років міцно посів цілий ряд ферментних сенсорів, що базуються на принципах імуноаналізу [1]. *Імуносенсиори* – біотехнологічні пристрої, в яких перетворювач сигналу, що виникає в процесі біохімічного розпізнавання певного агента, знаходиться в безпосередньому контакті з іммобілізованим високоспецифічним рецептором, що являє собою антиген або антитіло в залежності від мети аналізу та його схеми.

До імуносенсорів належать ферментні, флуоресцентні, волоконно-оптичні імуносенсори, імуносенсори на основі польових транзисторів, оптичні системи, п'єзоелектричні системи, мікрохвильові системи, прилади на основі резонансу поверхневих плазмонів і перетворювачі, чутливі до конформації. Такі пристрої широко увійшли до аналітичної практики і використовуються у різноманітних областях медицини, сільського господарства, мікробіологічної та харчової промисловості, в охороні навколишнього середовища [2].

Одним з перспективних напрямків у галузі розвитку сенсорних пристроїв, які об'єднують специфічність дії антитіл і ферментів, є *пошук альтернативи природним антитілам*. Це пов'язано з тим, що антитілам притаманні такі недоліки, як [3]:

- методична складність отримання, оскільки напрацювання антитіл на гаптени включає отримання активованого похідного гаптenu, його кон'югування з білком, тестування кон'югатів, імунізацію і вибір оптимальних препаратів антитіл;
- необхідності роботи з тваринами;
- невисока відтворюваність синтезів, оскільки властивості антитіл істотною мірою залежать від індивідуальних особливостей тварини-донора;

- обмеження для аналізу високотоксичних сполук та імуносупресорів;

- неможливість проведення аналізу в органічних середовищах, агресивних відносно до імуноглобулінів;

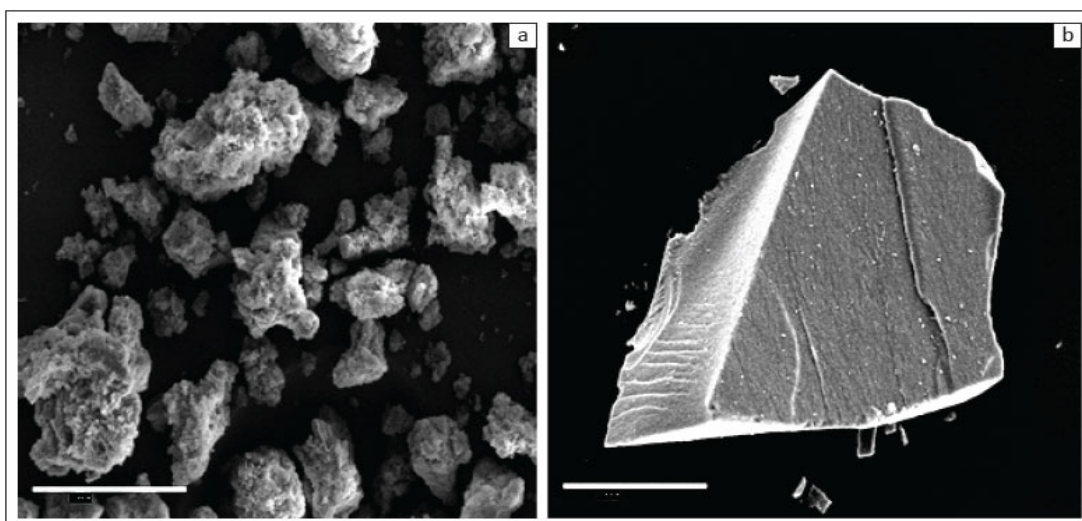
- нестабільність у широкому діапазоні температур і рН.

У свою чергу, сенсори на базі *молекулярно імпринтованих полімерів* (МІПів), дозволили б уникнути вищеперерахованих недоліків. Аналіз на основі МІПів можна назвати псевдоімуноаналізом [4]. Для того щоб на основі МІПів створити «*синтетичні рецептори*», які б витіснили антитіла з технологічної ніші виробництва сенсорів без радикальних змін у методах аналізу, необхідно, щоб МІПи:

- запозичили такі властивості антитіл, як розчинність, розміри, специфічність, афінність, наявність епітопів (антигенних детермінант);

- зберігали свої основні переваги (низька вартість, швидкість виготовлення, висока стабільність).

Раніше було описано декілька прикладів із застосування МІП у твердофазному імуноферментному аналізі (ELISA) [5-7]. Проте, головними недоліками МІПів, які використовувалися в даних роботах, є гетерогенність ділянок зв'язування за афінністю і специфічністю.



Source: Kaye et al.<sup>27</sup>  
FIGURE 4: Scanning electron micrographs of the polymer particles: (a) molecular imprinted polymer II granules; and (b) blank co-polymer granules.

Рис. 1. Фотографія отримана за допомогою скануючого електронного мікроскопа МІП-частинок, отриманих методом полімеризації в масі.

Подолання цих проблем безпосередньо залежить від зміни технології виготовлення «синтетичних рецепторів». Так, дотепер для синтезу МППів найбільш широко використовується метод полімеризації в масі (*bulk polymerization*) [8]. Стандартний протокол отримання МППів цим способом включає декілька стадій: приготування реакційної суміші; реакція полімеризації; механічне розмелювання жорсткого пористого полімерного моноліту з утворення полімерних частинок (вони мають неправильну форму, див. рис. 1) у мікронних розмірів, відмивання полімеру. Основним недоліком даного методу є те, що ділянки молекулярного розпізнавання МППів, отриманих даним методом, знаходяться всередині макропористої структури, їх доступність для молекул шаблону обмежена, що ускладнює використання таких МППів як «синтетичних рецепторів».

Створення «синтетичних рецепторів» стає більш можливим з використанням МППів у вигляді наночастинок правильної форми, оскільки це дозволило знизити гостроту проблеми стеричних ускладнень і підвищити відтворюваність аналізу.

Синтезуючи МПП методом твердофазного синтезу (див. наші попередні роботи

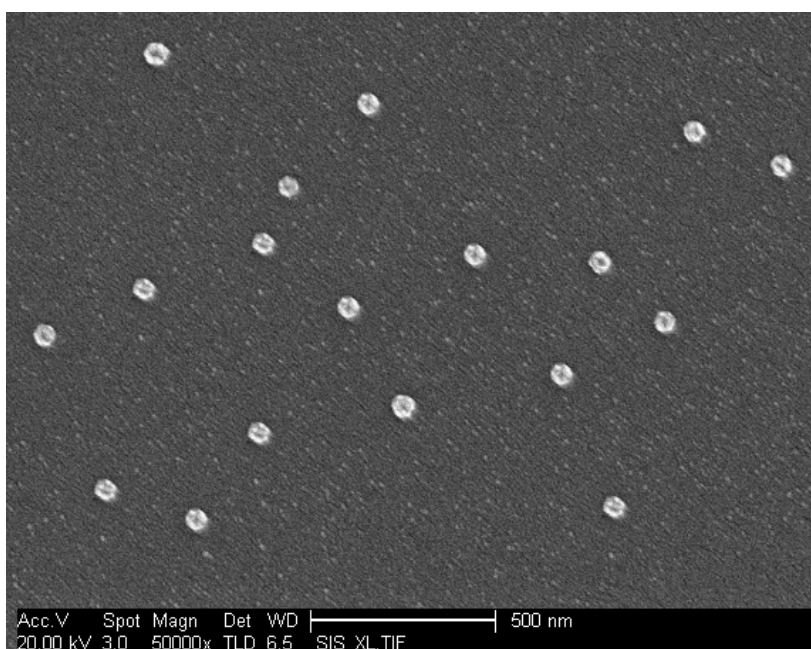
[9-10]), можна отримати МППи нанорозмірів. На рис. 2 показано фото антимеламін-МПП-наночастинок, які були синтезовані нами.

Зауважимо, що у попередній роботі [11] з використанням квантово-хімічного методу нами було показано, що серед 13 розглянутих функціональних мономерів, акриламід-2-метил-1-пропансульфонова кислота (АМПК) утворює найбільш енергетично вигідний комплекс з меламіном, а аліламін – найслабший. Тому у даній роботі як функціональний мономер обрано (АМПК) та аліламін (для порівняння). Вибір меламіну як шаблону зумовлений актуальністю спрямування зусиль на розробку сенсорів для його визначення, наприклад, беручи до уваги сумнозвісний «меламіновий скандал» у Китаї [12, 13].

**Метою даної роботи** є дослідження молекулярної взаємодії «штучний рецептор» - меламін в умовах імуноферментного аналізу для оцінки можливості використання МПП-наночастинок як альтернативи антитілам в ході виготовлення імуносенсорів.

### Матеріали

*Матеріали для підготовки твердої фази:* скляні кульки (75 мкм, Sigma-Aldrich), NaOH,



**Рис. 2.** Фотографія отримана за допомогою скануючого електронного мікроскопа антимеламін-МПП-наночастинок (65 нм), отриманих методом твердофазного синтезу.



толуол, ацетон, глутаровий альдегід, фосфатно-сольовий буфер (рН 7.2), бідистилят, меламін.

*Передполімеризаційна суміш:* акриламід-2-метил-1-пропансульфонова кислота (АМПСК) (Aldrich), акрилонітрил (Aldrich), атразин (Aldrich), етиленгліколь метакрилат фосфат (Aldrich), тримети-лолпропантріметакрилат (Aldrich), моногідрат 2-морфоліноетансульфонової кислоти (Fluka), диметилформамід.

*Матеріали для ІФА:* меламін, фосфатний буфер, 0.1 М MES буфер (2- (N-морфоліно) етансульфонова кислота), пероксидаза хро ну (ПРХ) (peroxidase from horse-radish) (10 мг), 1-етил-3- (3-диметиламінопропіл)-карбодіїмід (ЕДК), N-гідроксисукцінімід (ГС), 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) (Sigma-Aldrich, UK), 96-лунковий полістирольний планшет.

## Методи

### *Твердофазний синтез*

Технологія твердофазного синтезу антимеламін-МПП-наночастинок описана в нашій попередній роботі [10]. Процедура отримання МППів включала основні кроки:

- іммобілізація молекул шаблону (меламіну) на твердій фазі (скляних кульках);
- підготовка передполімеризаційної суміші (функціональний мономер АМПК, зшиваючий мономер, ініціатор полімеризації);
- проведення УФ-полімеризації шаблону, розміщеного на скляних кульках і залитого передполімеризаційною сумішшю;
- промивання полімеризаційної суміші розчинником за низької температури (з метою промивання від мономерів, які не прореагували, та низькоафінних частинок);
- промивання полімеризаційної суміші розчинником за високої температури (з метою отримання розчину з високоафінними МПП-наночастинками).

### *Твердофазний псевдоімуноферментний аналіз (ТПФА)*

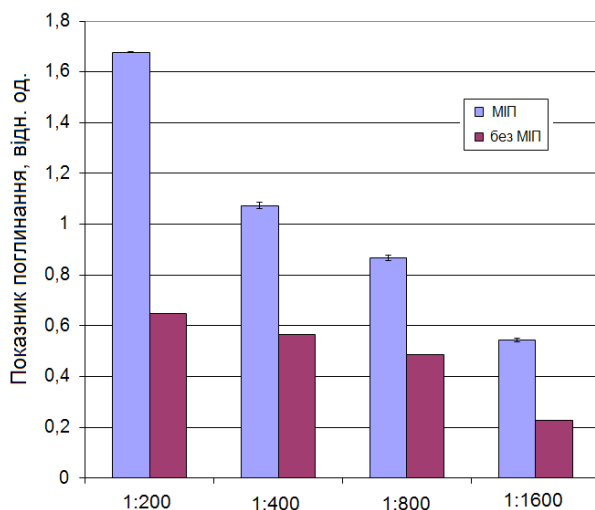
Процес ТПФА проводився у декілька етапів:

*Підготовка кон'югату ПРХ-меламін.*

ПРХ (10 мг) розчиняли в MES-буфері (0.1 М) з рН 6 (1 мл), в який додавали ЕДК (0.4 мг), ГС (0.6 мг). Реакція проходила за кімнатної температури протягом 15 хв. Шляхом центрифугування з використанням спеціального фільтра (Millipore Amicon Ultra centrifugal filter unit (30 kDa MWCO)) буфер видаляли. В отриманий концентрований розчин ПРХ додавали меламін (28 мг), попередньо розчинений у 10 мл фосфатного буфера з рН 7.4, і залишали інкубуватися 2 години. Для блокування СООН-груп ПРХ, які не прореагували з меламіном, у кон'югат додавали розчин етаноламіну (1мМ) і залишали на 15 хв. Далі в розчин інжектували 5 мл фосфатного буфера і переливали у фільтр (Millipore Amicon Ultra centrifugal filter unit (30 kDa MWCO)) для подальшого центрифугування, з метою видалення меламіну, що не прореагував. Процедуру центрифугування повторювали 10 разів, щоразу додаючи 5 мл фосфатного буфера. Після промивання отриманий концентрований кон'югат ПРХ-меламін, розчинили в 2 мл дистильованої води, зрештою зливаючи розчин у мікропробірку типу Eppendorf, яку помістили в морозильну камеру (за -18°C) для подальшого використання і тривалого зберігання кон'югату.

*Іммобілізація анти-меламін МПП-наночастинок на поверхні лунок планшета.*

Синтезовані за протоколом, описаним у нашій попередній роботі [10], антимеламін-МПП-наночастинок (40 мкл, 0.058 мг\*мл<sup>-1</sup>), були інжектвані за допомогою багатоканального дозатора в лунки 96-лункового планшета, який залишили відкритим на 12 годин (на ніч) для випаровування розчинника (води). Після чого на поверхні лунок планшета (4×12 лунок) утворився (завдяки адсорбції) шар антимеламін-МПП-наночастинок. Для запобігання адсорбції ПРХ-меламін кон'югату на стінках лунок планшета, їх промивали фосфатним буфером (2 × 250 мкл), заповнили на 1 годину блокувальним розчином (фосфатний буфер (300 мкл), бичачий альбумін (0.1%) та сурфактант ((Tween 20 (1%)) і (для вимивання блокуючого реагенту) промили фосфатним буфером (3 × 250 мкл).



**Рис. 3.** Гістограма середньоарифметичних значень показника поглинання розчину кон'югату різних концентрацій після ферментативної реакції у лунках з МІП і без МІП-покриття.

*Пошук оптимальної концентрації ПРХ-меламін кон'югату*

З метою пошуку оптимальної концентрації ПРХ-меламін кон'югату його розбавляли водою в різних співвідношеннях (1: 200, 1: 400, 1: 800, 1: 1600). 100 мкл кон'югату кожної з концентрацій вводили у лунки планшета так, щоб кожному ряду відповідала одна з концентрацій. Інкубацію проводили у темряві за кімнатної температури (протягом години), після чого лунки планшета промивали блокувальним розчином ( $3 \times 300$  мкл) і додавали особливий хромоген (ТМБ) (100 мкл). Внаслідок у лунці планшета проходила ферментативна реакція з утворенням пофарбованої у блакитний колір речовини, інтенсивність забарвлення якої залежить від концентрації кон'югату. Після фарбування ферментативна реакція зупинялася додаванням «стоп-реагенту»  $H_2SO_4$  (0.5 М, 100 мкл). Оцінка результату зміни кольору (з блакитного на жовтий) проводилася за оптичною щільністю, яка вимірювалася за допомогою багатоканального спектрофотометра (Дупех, UK) на довжині хвилі 450 нм. За результатами спектрофотометричних досліджень було побудовано гістограму розподілу середньоарифметичних значень показників поглинання для кожної з концентрацій кон'югату (див. рис. 3). Оптимум концентрації кон'югату відповідав місцю на гістограмі з найбільшою різницею у висоті стовпців (по-

казників поглинання) для лунок з МІП і без. Як видно з рис. 3, найбільша різниця в оптичних щільностях лунок з МІП-покриттям і без відповідає розбавленню кон'югата з водою у співвідношенні 1:200.

*Проведення конкурентного (ТПА) аналізу*

Процедура конкурентного ТПА полягала у наступному: до МІП-наночастинок, іммобілізованих на твердій фазі, водночас додали меламін і кон'югат. Для побудови калібрувального графіка було підготовано концентраційний ряд з 12-ти розчинів меламіну ( $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ , 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0,  $10^2$ ,  $10^3$  нМ), які в об'ємі 40 мкл ін'єктувалися в лунки планшета. Концентрація кон'югату була постійною (відповідала розбавленню 1:200). Під час проведення реакції кон'югат і аналіт (меламін) конкурували за активні центри МІП-наночастинок, іммобілізованих на твердій фазі. Для видалення компонентів, що прореагували, після завершення інкубації лунки промивали блокувальним розчином ( $3 \times 300$  мкл). Потім додавали субстрат ТМБ і очікували, поки відбудеться зміна кольору на блакитний у ході ферментативної реакції. Сірчана кислота (100 мкл) слугувала «стоп-реагентом» і змінила колір розчину на жовтий. Забарвлена в жовтий колір форма з максимумом оптичного поглинання за 450 нм реєструвалася фотометрично.

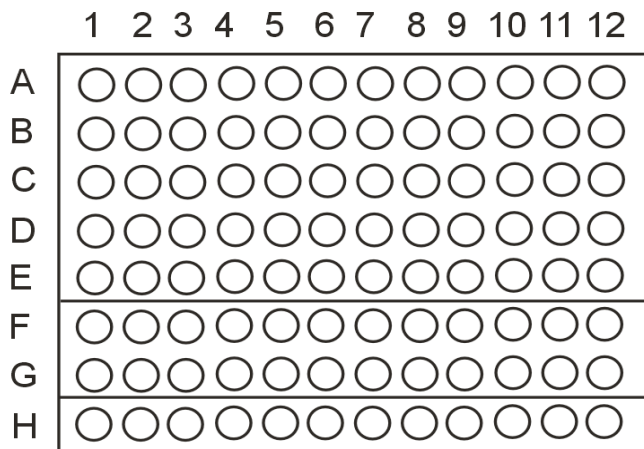


Рис. 4. Схематичне зображення 96-лункового планшету, в якому проводився експеримент.

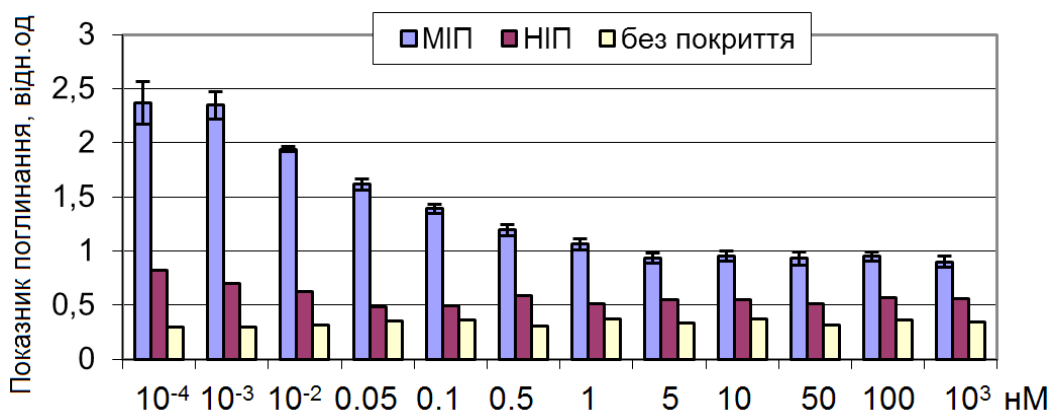


Рис. 5. Гістограма розподілу середньоарифметичних значень показника поглинання у лунках після проведення ферментативної реакції конкурентного аналізу.

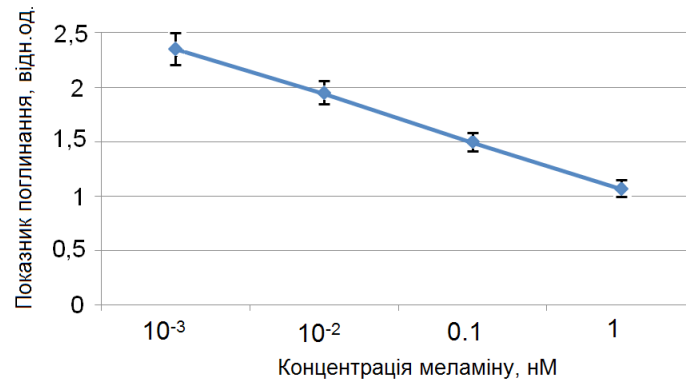
На рис. 4 наведено схематичне зображення 96-ти лункового планшету, в якому проводився експеримент. Кожен стовпець відповідав різним концентраціям меламіну.

Лунки рядка Н не містили МІП-покриття, лунки рядка FG мали так зване НІП-покриття (покриття, в якому використовувався антимеламін-МІП з акрилонітрилу), решта лунок (рядки від А до Е) містили антимеламін-МІП-кокриття з АМПК. Гістограма розподілу середньоарифметичних значень показників поглинання у лунках після проведення ферментативної реакції конкурентного аналізу наведена на рис. 5.

На рис. 6 зображений калібрувальний графік для визначення концентрації меламіну методом конкурентного псевдоімуноаналізу на основі МІП-наночастинок.

### Результати та обговорення

У даній роботі як фермент тест-системи використовувалася пероксидаза хрону (ПРХ), вибір якої обумовлювався її високою питомою каталітичною активністю, доступністю, стабільністю, простотою детекції. Як субстратний реагент ПРХ застосовували ТМБ – неканцерогенний замінник бензидину, продукт окислення якого пероксидом водню за наявності пероксидази дає інтенсивно забарвлену сполуку, яку реєстрували спектрофотометрично з довжиною хвилі 450 нм. Первинним процесом у псевдо-ІФА на основі МІП (як і будь-якого імунохімічного процесу) є стадія «впізнавання» сполуки, що визначається специфічним до нього антитілом (наноМІП). Оскільки процесу утворення псевдоімунохімічних комплексів зумовлені афінністю, концентраціями



**Рис. 6.** Калібрувальний графік для визначення меламіну методом конкурентного псевдоімуноаналізу на основі МПІ-наночастинок. Стандартне відхилення не більше 0.12.

компонентів та умовами реакції, то достатнім для визначення вихідної концентрації аналіту є кількісна оцінка псевдоімуноних комплексів, що утворилися. Як видно з рис. 6, величина сигналу, що детектується (показника поглинання) знаходиться у зворотній залежності від концентрації речовини, яка визначається (меламіну).

Аналіз висоти стовпців на гістограмі (рис. 5) показує, що за концентрації меламіну  $10^{-4}$  нМ він не детектується, оскільки концентрація кон'югату суттєво вища. При збільшенні концентрації меламіну, починаючи з  $10^{-3}$  нМ і до 5 нМ, спостерігається спад величини показника поглинання, що пояснюється втраченою забарвленого кон'югату, який перестає утворювати псевдоімунокомплекс з МПІ-наночастиною і легко вимивається буфером. Тобто в даному діапазоні концентрацій меламіну достатньо, щоб витіснити кон'югат у ході «конкуренції» за порожнину у МПІ-наночастиці, компліментарну за формою меламіну. Аналіз рис. 5 вказує на те, що лінійний діапазон концентрацій знаходиться у межах 0.01 – 1 нМ. У даній роботі межа визначення меламіну становить 0.0058 нМ (5.8 пМ), що втричі менше, ніж ELISA-аналіз, що базується на антитілах [14]. Слід зауважити, що в ході використання МПІв на основі акрилонітрилу, змін у сигналі абсорбції практично непомітно (див. рис. 5 (для НПІ)), що свідчить про низьку афінність таких МПІ-наночастинок до меламіну.

### Висновки

Таким чином, у даній роботі показано можливість використання МПІ-наночастинок, отриманих методом твердофазного синтезу як адекватної і дешевої альтернативи антитілам – чутливим елементам пристроїв імуноферментного аналізу. Зауважимо, що комерційна ціна МПІв знаходиться у діапазоні \$0.1–0.5 за мг, у той час як вартість антитіл \$100–1000 за мг) [15]. Попередні теоретичні дослідження щодо розрахунків енергетичних параметрів комплексів дали можливість показати особливості процесу комплексоутворення в системі меламін-функціональний мономер та і обрати найкращий (серед міні-бібліотеки з 13 сполук) мономер для створення «синтетичного рецептора» на меламін. Проведені експериментальні дослідження (ТПІА) підтвердили, що МПІ-наночастинок на основі АМПК можуть бути альтернативою антитілам (за афінністю) в ході визначення меламіну. В свою чергу, на основі акрилонітрилу, енергія взаємодії якого з меламіном у воді (-3,29 ккал/моль), що вдесятеро менше, ніж АМПК-меламін (-36,18 ккал/моль), було неможливо створити «штучний рецептор» з високою афінністю до меламіну в умовах імуноферментного аналізу. Це підтверджує роль попередніх теоретичних розрахунків у науковому обґрунтуванні технології молекулярного імпринтингу щодо синтезу «синтетичних рецепторів».

### Подяки

Автори висловлюють подяку проф. Пілецькому С. А. (Лестерський університет, Велика Британія) за можливість використання



обладнання та реактивів для проведення експерименту, описаного у даній роботі, а також за плідні поради та обговорення ходу і результатів роботи.

#### Список використаної літератури

- [1]. F. Ricci, G. Volpe, L. Micheli, G. Palleschi. A review on novel developments and applications of immunosensors in food analysis // *Analytica Chimica Acta*, 605, pp. 111–129 (2007).
- [2]. C. Moina, G. Ybarra Chap. 4 Fundamentals and Applications of Immunosensors. in *Advances in Immunoassay Technology* Edited by Norman H. L. Chiu and Theodore K. Christopoulos, pp.65-80.
- [3]. B. Ban, D. A. Blake Chap. 1 Recombinant Antibodies and Non-Antibody Scaffolds for Immunoassays. in *Advances in Immunoassay Technology* Edited by Norman H. L. Chiu and Theodore K. Christopoulos, pp.3-22.
- [4]. M.C. Moreno-Bondi, M.E. Benito-Peña, J.L. Urraca, G. Orellana. Immuno-like assays and biomimetic microchips // *Top Curr Chem.*, 325, pp. 111-164 (2012).
- [5]. Y.W. Tang, G.Z. Fang, S. Wang, J.W. Sun, K.Qian. Rapid Determination of Metolcarb Residues in Foods Using a Biomimetic Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Employing a Novel Molecularly Imprinted Polymer Film as Artificial Antibody // *Journal of AOAC International*, 96 (2),pp. 453-458 (2013).
- [6]. D.Y. Zhao, X.G. Qiao, Z.X. Xu, R. Xu, Z.H. Yan. Development of a biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay method based on a hydrophilic molecularly imprinted polymer film for determination of olaquinox in chick feed samples // *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 34(1), pp.16-29 (2013).
- [7]. S.A. Piletsky, E.V. Piletska, B.N. Chen, K. Karim, D. Weston, G. Barrett, P. Lowe, A.P.F. Turner. Chemical grafting of molecularly imprinted homopolymers to the surface of microplates. Application of artificial adrenergic receptor in enzyme-linked assay for  $\alpha$ -agonists determination // *Analytical Chemistry*, 72 (18), pp. 4381-4385 (2000).
- [8]. C. Alexander, H.S. Andersson, L.I. Andersson, R. J. Ansell, N. Kirsch, I.A. Nicholls, J. Mahony and M. J. Whitcombe. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003. Review // *J of molecular recognition*, 19, pp. 106-180 (2006).
- [9]. K. Muzyka, K. Karim, A. Guerreiro, A. Poma and S. Piletsky. Optimisation of the synthesis of vancomycin-selective molecularly imprinted polymer nanoparticles using automatic photoreator // *Nanoscale Research Letters*, 9 (1), pp. 154-161, 2014.
- [10]. К. Музика «Штучні рецептори» на базі технології молекулярного імпринтингу в умовах поверхневого плазмонного резонансу // *Вісник НТУ «ХП»*, №21(1130), с. 3-8 (2015).
- [11]. К.М. Музика Обчислювальний експеримент в обґрунтуванні вибору функціонального мономеру для «штучного рецептора» на меламін // *Сенсорна електроніка та мікросистемні технології*, Т. 11 (1), с. 33-41 (2014).
- [12]. C.Y. Chu, C.C. Wang. Toxicity of melamine: the public health concern // *Journal of environmental science and health, Part C: Environmental carcinogenesis and ecotoxicology reviews*, 31(4), pp. 342-386 (2013).
- [13]. K. Sharma, M. Paradakar. The melamine adulteration scandal (Review) // *Food Security*, 2(1), pp. 97-107 (2010).
- [14]. J. Lampinen, A. Perälä, and R.-R. Harinen High Sensitivity ELISA Assays for the Detection of Melamine Residuals in Milk // Thermo Fisher Scientific, Application Note: AP-MIB-MSFC03-1108 (2008).
- [15] K. Muzyka, S. Piletsky, M.Rozhitskii Chap. 5 in *Handbook of Molecularly Imprinted Polymers*, Eds. C.Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, pp. 197-228, A Smither Group Company, UK (2013).

Стаття надійшла до редакції 20.05.2015 р.