

БІОСЕНСОРИ

BIOSENSORS

УДК 643.554, 577.15

DOI: <https://doi.org/10.18524/1815-7459.2025.3.339801>

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНОГО БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ КРЕАТИНІНДЕІМІНАЗИ ДЛЯ НЕІНВАЗІЙНОГО АНАЛІЗУ КРЕАТИНІНУ

Валентина Архипова¹, <https://orcid.org/0000-0002-4009-1539>

Ірина Книр^{1,2}, <https://orcid.org/0009-0008-7353-5918>

Вероніка Бахмат¹, <https://orcid.org/0009-0000-1449-023X>

Олександр Кукла^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0003-0261-982X>

Дар'я Кучеренко¹, <https://orcid.org/0009-0006-7640-5401>

Людмила Шкотова¹, <https://orcid.org/0000-0003-2594-0413>

Андрій Закальський⁴, <https://orcid.org/0000-0002-8853-1097>

Олександр Солдаткін^{1,5}, <https://orcid.org/0000-0003-2362-5487>

Сергій Дзядевич^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-2915-716X>

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна,

³ Інститут фізики напівпровідників імені В. С. Лашкарьова,
просп. Науки, 41, м. Київ, 03028, Україна

⁴ Інститут біології клітини НАН України,
вул. Драгоманова, 14/16, 79005, м. Львів, Україна

⁵ Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
просп. Берестейський, 37, м. Київ, 03056, Україна

e-mail: avalka@yahoo.com; iraknp125@gmail.com; veronikab2406@gmail.com;
kukla@gmail.com; didukh.d@gmail.com; luda_shkotova@yahoo.com;
zakalski53@gmail.com; alex_sold@yahoo.com; dzyad@yahoo.com

Анотація. В роботі досліджено можливості використання потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази для неінвазійного аналізу креатиніну в сечі, поті та слині. Вивчено вплив на сигнал різних речовин, які потенційно можуть впливати на реакцію біосенсора та містяться в сечі здорових людей або пацієнтів із захворюваннями нирок. Показано, що внесок цих компонентів у загальний сигнал є мінімальним і не буде суттєво впливати на точність вимірювань біосенсора. Стабільність при зберіганні біосенсора склала більше 120 днів.

Показано принципову можливість визначати креатинін за допомогою біосенсора на основі креатиніндеїмінази в слині та поті, при цьому найнижча концентрація креатиніну, яку можливо визначити, складала 50 мкМ. Розроблений біосенсор демонструє певні переваги у визначенні концентрації креатиніну у зразках сечі порівняно з традиційним колориметричним методом Яффе, який вимагає дорогого обладнання та ретельного контролю параметрів реакції для зменшення впливу речовин, що заважають, а також складної процедури вимірювання.

Ключові слова: іон-селективний польовий транзистор, біосенсор, креатиніндеїміназа, неінвазивний аналіз креатиніну, сеча, піт, слина

Вступ

Проблема постійного моніторингу клінічно-значимих показників є надзвичайно актуальною за перебігу багатьох патологічних станів. Це, в першу чергу, стосується тих параметрів, котрі можуть нормалізуватись під час проведення певних терапевтичних процедур, особливо у випадку залежності доза-ефект. До таких патологій відноситься виражена ниркова недостатність, де виживаність пацієнтів на термінальній стадії захворювання залежить від ефективності гемодіалізу [1]. Креатинін є кінцевим продуктом розпаду білків в організмі тварин і людей. Він утворюється в м'язах і виділяється в кров. Кількість креатиніну в сироватці крові є важливим показником функції нирок, тому що це легко вимірюваний побічний продукт м'язового метаболізму, який виводиться нирками у незміненому вигляді, головним чином, шляхом клубочкової фільтрації [2]. Підвищена концентрація креатиніну може бути пов'язана з хронічними або гострими нирковими захворюваннями, ускладненнями цукрового діабету (діабетична нефропатія) [3, 4] та ураженням нирок токсичними чинниками, зокрема, медикаментами (рентгеноконтрастні засоби, антибіотики-аміноглікозиди, антибіотики-цефалоспорины, статини, тощо). Підвищення рівня креатиніну в сироватці крові спостерігається також при споживанні великої кількості м'яса (також має місце підвищений вміст креатиніну в сечі). Рівень креатиніну підвищується також при зневодненні організму, ураженні м'язів. Зниження вмісту креатиніну спостерігається при недостатньому споживанні м'яса, вегетаріанському раціоні, голодуванні, а також в I та II триместрах вагітності. Креатинін присутній також в поті, жовчі, киш-

ковику, він долає гематоенцефалічний бар'єр і з'являється в спинномозковій рідині. Креатинін часто розглядається як важливий показник фізіологічного стану спортсменів [5], і є потреба у простих неінвазивних методах аналізу цього метаболіту в різних біологічних рідинах, включаючи сечу, слину та піт.

Для визначення вмісту креатиніну застосовуються різні хімічні та фізико-хімічні методи [2; 6], включаючи добре відому кольорову реакцію Яффе з утворенням комплексу Яновського з пікрат-аніоном [7], проте недоліками останнього методу (а також різних його модифікацій) є низька специфічність та чутливість до позитивної і негативної інтерференції з боку супутніх речовин. Запропоновані фізико-хімічні методи потребують значних затрат часу, тривалої та складної підготовки проб, дорогих реактивів, висококваліфікованого персоналу і, найголовніше, не дають можливості аналізу в режимі реального часу. Для вирішення існуючої проблеми необхідне створення нових експресних, чутливих, селективних та недорогих методів для діагностування ниркової дисфункції. Одним із перспективних підходів є використання біосенсорних приладів, які об'єднують в собі передові досягнення з розвитку біології, фізики, хімії та мікроелектроніки.

На даний час описано низку біосенсорів, які засновані, головним чином, на використанні ферменту креатиніндеїмінази як біокаталітичного елемента біосенсорів [8–10]. Незважаючи на численні переваги розроблених біосенсорів, вони мають ряд недоліків, які пригальмуватимуть взагалі всім біосенсорним системам без прив'язки до конкретного застосування. Потенціометричні біосенсиори на основі іон-селективних польових транзисторів (ІСПТ) [11–13] є дуже перспективними з точки зору

побудови мультисенсорних систем для одночасного визначення різноманітних метаболітів в медичному моніторингу, оскільки вони мають високу чутливість, швидкодію, малі розміри, сумісні зі стандартними мікроелектронними технологіями, придатні для масового виробництва та *on-line* вимірювань.

У цій роботі досліджено можливості використання потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази для неінвазивного аналізу креатиніну в поті, слині та сечі людини.

Матеріали і методи

Матеріали

Для створення біосенсора був використаний мікробний фермент креатиніндеїміназа (КД), отриманий із *Escherichia coli*, що був виділений в Інституті біології клітини НАН України. Креатиніндеїміназу було виділено із клітин *Escherichia coli* BL21 (DE3)/*pET32a-codA*, що несуть плазмиду, що містить (His)₆-мічений ген *codA*, що кодує КД *Corynebacterium glutamicum*. Високоочищену (His)₆-мічену КД зі специфічною ферментативною активністю 20 Од/мг білка було отримано за допомогою металоафінної хроматографії на Ni-NTA Superflow кульках (Qiagen). Вихід КД становив 30 мг/л культури. Одна одиниця (Од) активності визначалася як кількість ферменту, яка перетворює 1 мкмоль креатиніну на креатин за хвилину при 37 °С. При ліофілізації в присутності трегалози КД не втрачав своєї активності протягом 120 днів зберігання при температурі -20 °С [14].

Сироватковий альбумін бика (БСА) та гліцерин був фірми Serva (Німеччина), креатинін фірми Sigma-Aldrich (США), фотополімер полі(вініл)алкоголь, що містить стирилпіридин (PVA/SbQ) фірми Toyo Gosei Kogyo Co.Ltd (Японія). Як робочі буферні розчини використовували KH_2PO_4 -NaOH фірми Merck (Німеччина) та PBS буферний розчин фірми Sigma-Aldrich (США). Для визначення рН-чутливості перетворювачів використовували стандартні рН-титри від фірми Singles (США) та рН-титри вітчизняного виробництва. Усі інші реактиви,

як вітчизняного, так і імпорного виробництва, були кваліфікації «ос.ч» і «х.ч».

Датчики та вимірювальна портативна система

В роботі використовували сенсорні чипи із диференційною парою рН-чутливих польових транзисторів. Розроблена топологія передбачала розміщення двох ідентичних *p*-канальних транзисторів на одному кристалі загальною площею 8x8 мм² (ефективна площа для нанесення чутливих шарів складає біля 12,5 мм²). Кристалічний чип з диференційною рН-ПТ-парою монтувався на спеціальній друкованій платі, його контактні площини з'єднувались з платою тонкими дротами та ізолювались герметичним компаундом (рис. 1).

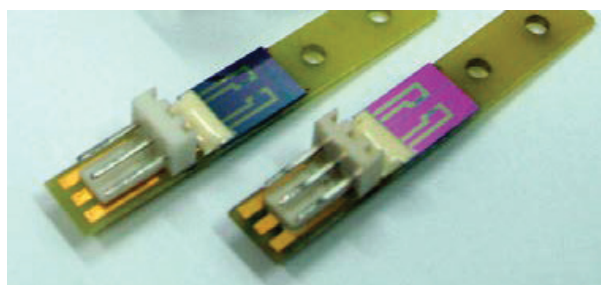


Рис. 1. Загальний вигляд потенціометричних біосенсорів на основі рН-чутливих польових транзисторів.

Вимірювальна система, яку було використано у роботі, складалась з портативного приладу для роботи з потенціометричними біосенсорами [15], електрохімічної комірки об'ємом 2 мл, в яку розміщували Ag/AgCl електрод порівняння і потенціометричні біосенсиори, та персонального комп'ютера (рис.2). Прилад працює за схемою прямого вимірювання струму в каналі польового транзистора з активним навантаженням.

Імобілізація креатиніндеїмінази

Для отримання біоселективних матриць готувались робочі розчини на основі суміші КД:БСА:фотополімер PVA/SbQ (для чутливої біоселективної мембрани) та БСА:фотополімер PVA/SbQ (для референтної мембрани), які по-

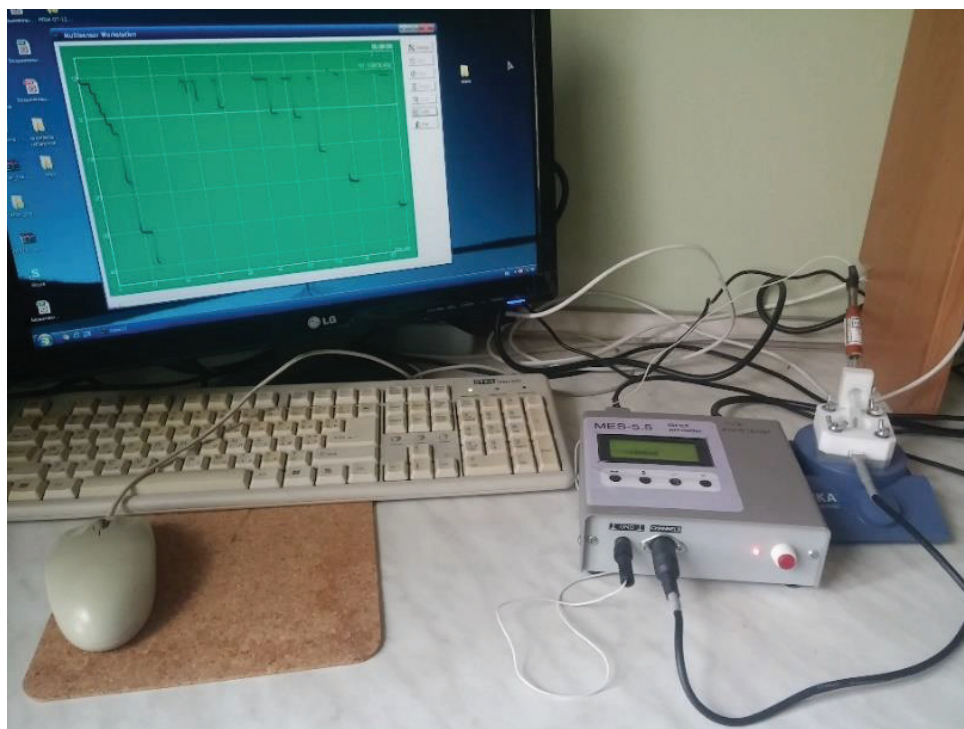


Рис. 2. Загальний вигляд системи для проведення вимірювань з використанням портативного приладу для роботи з потенціометричними біосенсорами.

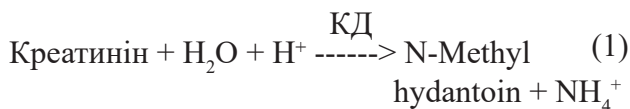
тім наносились на чутливі ділянки потенціометричного датчика [16]. Біологічно активну мембрану на основі креатиніндеїмінази формували шляхом фотополімеризації в PVA/SbQ. Для цього готували 20 % розчин PVA/SbQ в дистильованій воді, який нагрівали до 80 °C з наступною витримкою при 40 °C. Далі змішували розчин креатиніндеїмінази із наважкою БСА 10% по масі – суміш для біоселективної мембрани, і окремо готували 20 % розчин БСА для референтної мембрани. Суміш для біоселективної мембрани і PVA/SbQ у співвідношенні 1:1 по об'єму ретельно перемішували для отримання гомогенного розчину. Суміш для приготування референтної мембрани готували таким же чином, але замість суміші для біоселективної мембрани брали лише БСА. Отримані розчини наносили на робочі поверхні датчика – рН-ПТ, до повного їх покриття. Сенсорний датчик з нанесеними мембранами розміщували в камері опромінювальної системи Bio-Link BLX-365 з дозою 20 Дж/м², тривалість експозиції – 10 хв.

Процедура аналізу креатиніну

Вимірювання креатиніну проводили при денному світлі за кімнатної температури у відкритій комірці об'ємом 2 мл при постійному перемішуванні. Перед використанням біосенсори 20-30 хв витримували в 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,2, для отримання стабільного базового сигналу. Концентрацію креатиніну змінювали, додаючи певні аліквоти його вихідного концентрованого розчину. Після отримання кожного відгуку біосенсори відмивали від продуктів реакції, змінюючи робочий буферний розчин мінімум 3 рази до повернення сигналу на базову лінію. Дослідження проводилися щонайменше у двох – трьох повторях. Неспецифічні зміни вихідного сигналу, пов'язані з коливаннями температури, рН середовища та електричними наводками, були значно зменшені завдяки використанню в роботі диференційного режиму вимірювань.

Результати і обговорення

Принцип роботи потенціометричного біосенсора для визначення креатиніну базується на наступній ферментативній реакції:



В ході реакції гідролізу креатиніну відбувається збільшення рН в ферментній мембрані, що і реєструється рН-чутливим польовим транзистором. Це збільшення рН прямо пропорційне концентрації креатиніну в розчині (рис. 3).

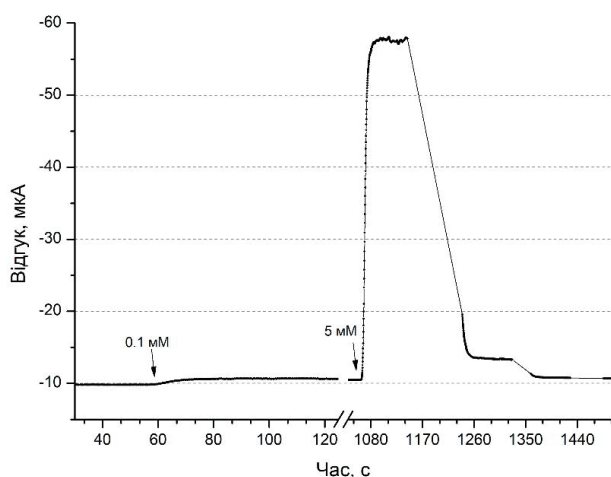


Рис. 3. Експериментальні відгуки потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази на додавання різних концентрацій креатиніну. Вимірювання проводили в 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,2.

Перед початком роботи з реальними зразками необхідно було провести тестування відгуків на креатинін при використанні різних буферних розчинів. На рис.4 наведено типові калібрувальні криві потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази для визначення креатиніну для різних буферних систем. Для подальших досліджень обирався буферний розчин, що забезпечував оптимальні умови для вимірювань різних біологічних зразків, які мають різний склад та зазвичай містять високі концентрації солей.

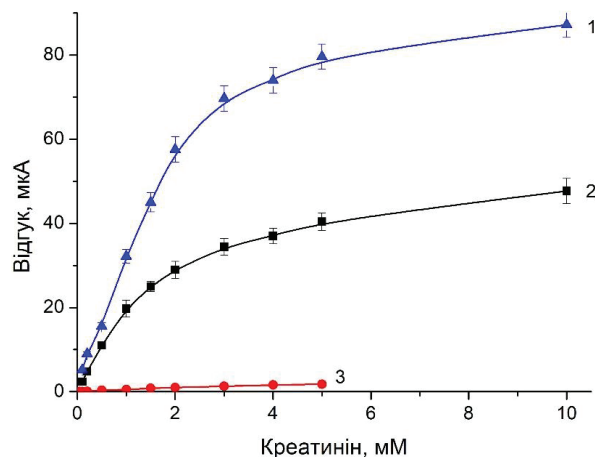


Рис. 4. Калібрувальні криві потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази для різних буферних систем (5 мМ калій-фосфатний буфер, рН 7,2 (1), 10 мМ PBS буфер, рН 7,4 (2), 100 мМ калій-фосфатний буфер, рН 7,2 (3).

Наступним було проведено дослідження для вивчення впливу на сигнал різних речовин, які потенційно можуть впливати на реакцію біосенсора та містяться в сечі здорових людей або пацієнтів із захворюваннями нирок. Ці речовини додавали до робочої комірки в концентраціях, що перевищують їх типові рівні в сечі здорових людей та пацієнтів із захворюваннями. Концентрації були обрані з урахуванням розведення зразка під час вимірювань біосенсора. Відгуки біосенсора на ці речовини порівнювали з його відгуком на концентрацію креатиніну, характерну для сечі здорової людини (рис. 5).

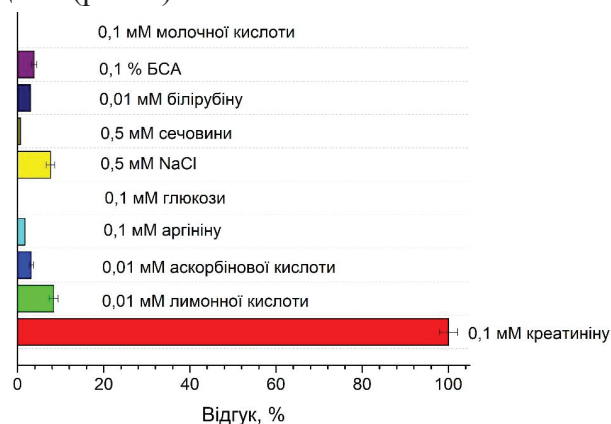


Рис. 5. Дослідження селективності біосенсора для визначення креатиніну. Відгук на 0,1 мМ креатиніну вважається 100%. Вимірювання проводили в 10 мМ PBS буфері, рН 7,2.

Як видно з отриманих результатів, біосенсор демонструє високу селективність до креатиніну порівняно з досліджуваними компонентами сечі. Відгуки на додавання потенційних інтерферуючих речовин, таких як молочна кислота, білірубін, сечовина, глюкоза, аргінін, аскорбінова кислота, лимонна кислота тощо, не перевищують 10% від відгуку на цільову речовину (0,1 мМ креатиніну). Це свідчить про те, що внесок цих компонентів у загальний сигнал є мінімальним і не буде суттєво впливати на точність вимірювань біосенсора.

Важливим аналітичним параметром будь-якого біосенсора є його стабільність при зберіганні (рис. 6). Для біосенсора на основі креатиніндеїмінази відгуки на креатинін залишались стабільними щонайменше протягом 120 днів, що є дуже добрим результатом.

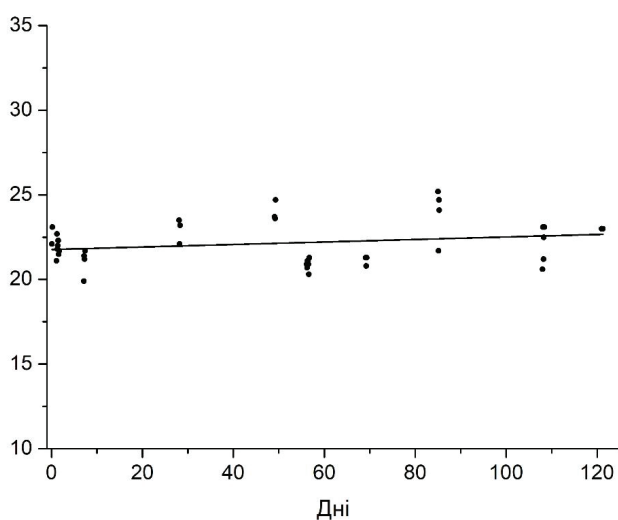


Рис. 6. Стабільність відгуків при зберіганні для біосенсора на основі КД. Сенсори зберігали в 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,2 за температури +4°C. Вимірювання проводили в 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,2 за кімнатної температури.

Креатинін присутній у поті людей, але його кількість незначна у порівнянні з рівнем у крові та сечі. Рівень креатиніну в поті може дещо змінюватися в залежності від потовиділення, але він не є основним показником для оцінки функції нирок або м'язів. Для досліджень був приготовлений штучний розчин поту за стандартом EN 1811:2011 [17]. В скла-

ді цього поту були 0,5% NaCl, 0,1% сечовина, 0,1% лактат, рН 6,5. Перед вимірюванням креатиніну в штучному поті, провели тестове вимірювання реакції біосенсора на додавання аліквоти цього розчину. Подальший алгоритм вимірювань складався з трьох етапів: 1) додавання чистого креатиніну; 2) додавання аліквоти штучного поту, і після виходу на плато, додавання креатиніну; 3) додавання суміші штучного поту з додатково доданим в зразок поту креатиніном (рис. 7).

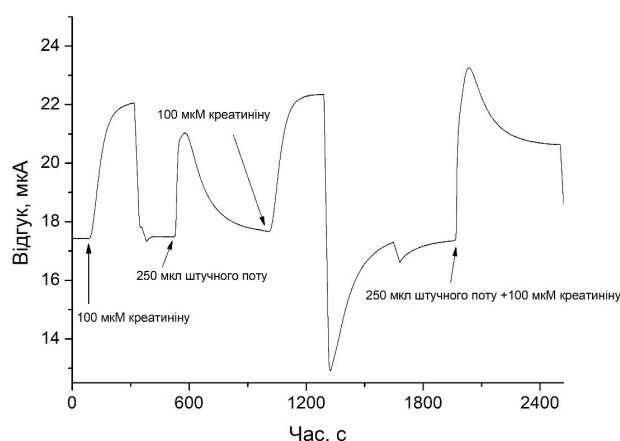


Рис. 7. Експериментальні відгуки потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази на додавання штучного поту та креатиніну. Вимірювання проводили в 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,2.

В результаті проведених досліджень було показано принципову можливість визначати креатинін в розчині поту. При цьому найнижча концентрація креатиніну, яку можливо виявити в поті, складала 50 мкМ.

Креатинін в слині людини не є стандартним об'єктом дослідження, як креатинін в крові чи сечі. В нормі в слині міститься від 3 до 8 мкМ креатиніну. При хронічних захворюваннях нирок концентрація креатиніну в слині становить від 8,5 мкМ і може досягати 400 мкМ на термінальних стадіях. Під час вимірювань зразків слини було виявлено, що доволі значна в'язкість слини може забивати мембрану і заважати проведенню вимірювань. Цю проблему можна вирішити шляхом центрифугування зразків, або перед вимірюванням свіжого зразка слини необхідно чекати

20-30 хв для того аби в'язка частина слини випала в осад на дні.

Вимірювання зразків проводили в 5 мМ калій фосфатному буфері при кімнатній температурі. Алгоритм вимірювань складався з

трьох етапів: 1) додавання чистого креатиніну; 2) додавання зразку слини, і після виходу на плато, додавання креатиніну; 3) додавання суміші слини з штучно доданим креатиніном (рис. 8).

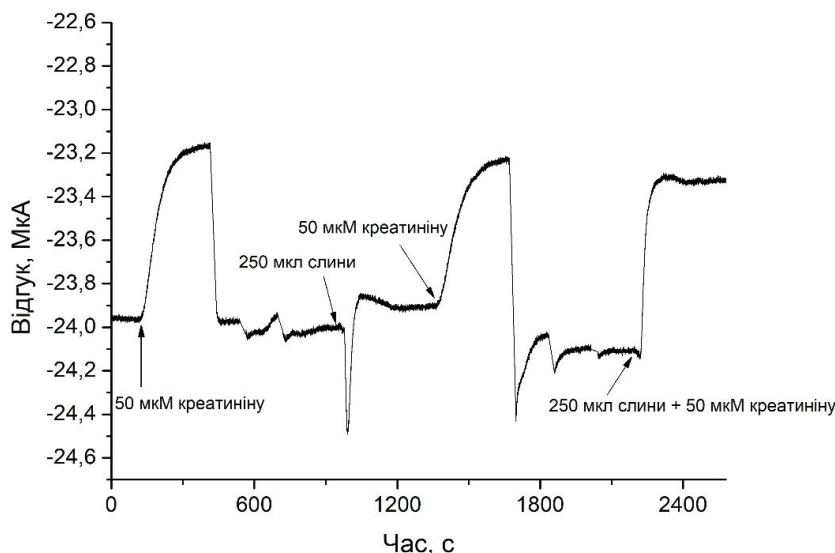


Рис. 8. Експериментальні відгуки потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази на додавання слини та креатиніну. Вимірювання проводили в 5 мМ калій- фосфатному буфері, рН 7,2.

В результаті проведених досліджень було показано принципову можливість визначати креатинін в слині. При цьому найнижча концентрація креатиніну, яку можливо виявити в слині, складала 50 мкМ.

Було підготовлено 13 зразків штучної сечі за стандартним протоколом з концентраціями креатиніну в діапазоні від 0,25 до 10,5 мМ. Для аналізу зразків сечі за допомогою розробленого біосенсора на основі креатиніндеїмінази було використано метод стандартних додавань. Спочатку зразки розводили в 10 разів для досягнення концентрацій креатиніну в межах лінійного робочого діапазону біосенсора у вимірювальній комірці. Далі фіксовану аликвоту (200 мкл) розведеного зразка штучної сечі вводили в робочу комірку при постійному перемішуванні та отримували відповідь біосенсора (рис. 9). Після цього до комірки послідовно додавали три аликвоти (200 мкл) концентрованого стандартного розчину креатиніну (50 мкМ).

На основі отриманих даних побудували калібрувальну криву (рис. 9), де початкова

концентрація креатиніну у зразку відкладалася безпосередньо на осі X. Інші відповіді біосенсора на стандартні додавання відомих концентрацій креатиніну відкладали відносно відповідних доданих концентрацій креатиніну.

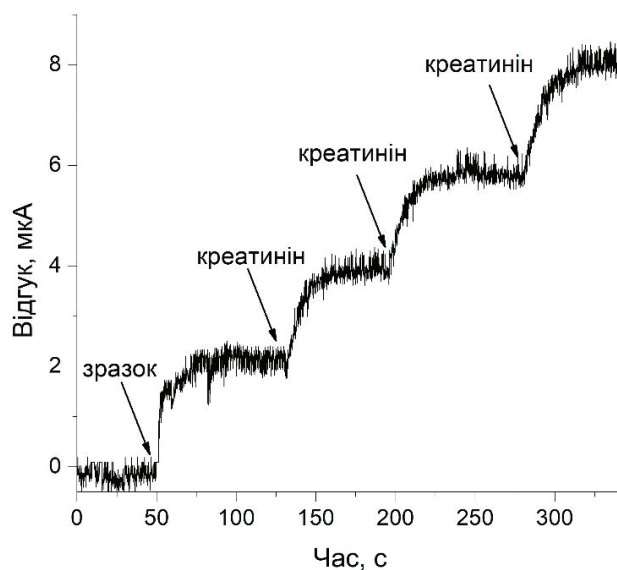


Рис. 9. Процедура вимірювання креатиніну в штучній сечі.

Після лінеаризації отриманої кривої будували пряму лінію. Згідно з методом стандартних додавань, концентрацію креатиніну у зразку визначали екстраполяцією лінеаризованої лінії до точки перетину з віссю X, що відповідало концентрації креатиніну у зразку після розведення (рис. 10). Для розрахунку концентрації креатиніну у вихідному зразку отримане значення множили на коефіцієнт розведення, який використовувався під час біосенсорного аналізу.

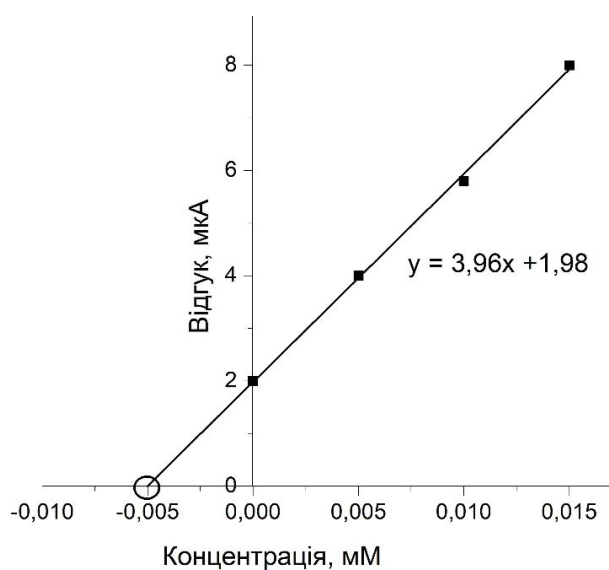


Рис. 10. Розрахунок концентрації креатиніну у вимірювальній комірці методом стандартних додавань.

Метод Яффе, один з найбільш широко використовуваних методів визначення креатиніну, був обраний як референтний метод [18]. Результати аналізу концентрації креатиніну в серії зразків, отриманих за допомогою референтного методу та розробленого біосенсора на основі креатиніндеїмінази, наведено на рис. 11.

Як видно із отриманих результатів, у більшості випадків значення, отримані за допомогою біосенсора на основі креатиніндеїмінази (червоні стовпчики) та методу Яффе (сині стовпчики), близькі до номінального значення (чорні стовпчики), що свідчить про ефективність обох методів у визначенні концентрації креатиніну. Однак спостерігаються деякі відмінності, які можуть бути пов'язані зі специ-

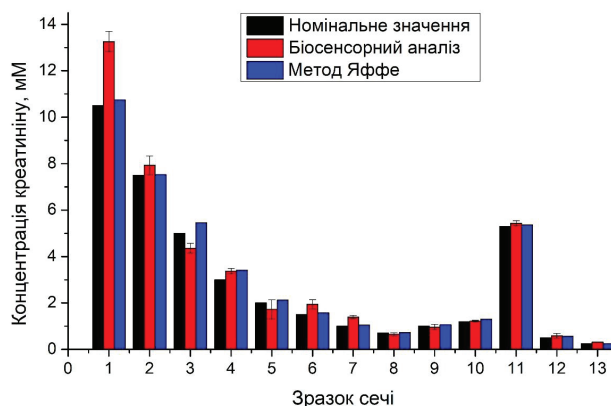


Рис. 11. Порівняння даних визначення креатиніну у зразках штучної сечі, отриманих за допомогою біосенсорного методу та контрольного методу, з номінальною концентрацією креатиніну.

фічними характеристиками кожного методу або впливом матричних компонентів у зразках сечі. Загалом, розроблений біосенсорний метод демонструє певні переваги у визначенні концентрації креатиніну у зразках сечі порівняно з традиційним колориметричним методом Яффе, який вимагає дорогого обладнання та ретельного контролю параметрів реакції для зменшення впливу речовин, що заважають, а також складної процедури вимірювання.

Висновки

В роботі досліджено можливості використання потенціометричного біосенсора на основі креатиніндеїмінази для неінвазійного аналізу креатиніну в сечі, поті та слині. Вивчено вплив на сигнал різних речовин, які потенційно можуть впливати на реакцію біосенсора та містяться в сечі здорових людей або пацієнтів із захворюваннями нирок. Показано, що внесок цих компонентів у загальний сигнал є мінімальним і не буде суттєво впливати на точність вимірювань біосенсора.

Показано принципову можливість визначати креатинін за допомогою біосенсора на основі креатиніндеїмінази в слині та поті. Розроблений біосенсор демонструє певні переваги у визначенні концентрації креатиніну у зразках сечі порівняно з традиційним колориметричним методом Яффе, який вимагає дорогого

обладнання та ретельного контролю параметрів реакції для зменшення впливу речовин, що заважають, а також складної процедури вимірювання.

Подяка

Роботу виконано за підтримки Національного фонду досліджень України в рамках конкурсу проектів НДР «Наука для безпеки і сталого розвитку України» (проект № 2021.01/0010) та НАН України в рамках виконання робіт за напрямком використання бюджетних коштів «Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок» бюджетної програми КПКВК 6541230 (договір 2/9-2025).

Список використаної літератури

- [1]. Koncki R. Analytical aspects of hemodialysis // *Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27(4), p. 304-314.
- [2]. Narayanan S., Appleton H. D. Creatinine: A review // *Clin. Chem.*, 1980, 26(8), p. 1119-1126.
- [3]. Eftekhari A., Vahed S.Z., Kavetsky T., Rameshrad M., Jafari S., Chodari L., Ardalan M. Cell junction proteins: Crossing the glomerular filtration barrier in diabetic nephropathy // *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, 148, p. 475-482.
- [4]. Wong V. M., Swartz S. J., Devaraj S., Poyyapakkam S. Elevated serum creatinine: but is it renal failure // *Pediatrics*, 2020, 146(1), e20192828, <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2828>.
- [5]. Wax B., Kerksick C. M., Jagim A. R., Mayo J. J., Lyons B. C., Kreider R. B. Creatine for exercise and sports performance, with recovery considerations for healthy populations // *Nutrients*, 2021, 13(6), 1915, <https://doi.org/10.3390/nu13061915>.
- [6]. Durán Merás I., Espinosa-Mansilla A., Rodríguez Gómez M. J. Determination of methotrexate, several pteridines, and creatinine in human urine, previous oxidation with potassium permanganate, using HPLC with photometric and fluorimetric serial detection // *Anal. Biochem.*, 2005, 346(2), p. 201-209.
- [7]. Jaffe M. Z. About generates the precipitation which picric acid in normal urine and a new reaction of creatinine // *Physiol. Chem.*, 1886, 10, p. 391-400.
- [8]. Stasyuk N. Ye., Gayda G. Z., Zakalskiy A. E., Fayura L. R., Zakalska O. M., Sibirny A. A., Nisnevitch M., Gonchar M. V. Amperometric biosensors for L-arginine and creatinine assay based on recombinant deiminases and ammonium-sensitive Cu/Zn (Hg)S nanoparticles // *Talanta*, 2022, 238(1), 122996, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122996>.
- [9]. Zinchenko O. A., Marchenko S. V., Sergeeva T. A., Kukla A. L., Pavlyuchenko A. S., Krasnyuk E. K., Soldatkin A. P., El'skaya A. V. Application of creatinine-sensitive biosensor for hemodialysis control // *Biosens. Bioelectron.*, 2012, 35, p. 466-469.
- [10]. Stasyuk N., Zakalskiy A., Nogala W., Gawinkowski S., Ratajczyk T., Bonarowska M., Demkiv O., Zakalska O., Gonchar M. A reagentless amperometric biosensor for creatinine assay based on recombinant creatinine deiminase and N-methylhydantoin-sensitive CoCu nanocomposite // *Sensors Actuators B*, 2023, 393, 134276.
- [11]. Dzyadevych S. V., Soldatkin A. P., El'skaya A. V., Martelet C., Jaffrezic-Renault N. Enzyme biosensors based on ion-selective field-effect transistors // *Anal. Chim. Acta*, 2006, 568, p.248-258.
- [12]. Yuqing M., Jianguo G., Jianrong C. Ion sensitive field effect transducer-based biosensors // *Biotechnology Advances*, 2003, 21, p. 527-534.
- [13]. Arkhypova V., Soldatkin O., Moghylevska L., Konvalyuk I., Kunakh V., Dzyadevych S. Enzyme biosensor based on pH-sensitive field-effect transistors for assessment of total indole alkaloids content in tissue culture of *Rauwolfia serpentina* // *Electrochemical Science Advance*, 2021, 2100152, <https://doi.org/10.1002/elsa.202100152>.
- [14]. Zakalskiy A., Stasyuk N., Zakalska O., Boretsky Y., Gonchar M. Overexpression and one-step renaturation-purification of the tagged

creatinine deiminase of *Corynebacterium glutamicum* in *Escherichia coli* cells // Cell Biol. Int., 2020, 44, p. 1204-1211.

[15]. Kukla O. L., Pavluchenko A. S., Arkhypova V. M., Errachid A., Dzyadevych S. V. Determination of the influence of temperature and UV treatment on the characteristics of differential ISFET electrodes // Sensor Electronics and Microsystem Technologies, 2023, 20 (4), p. 4-18, <https://doi.org/10.18524/1815-7459.2023.4.294628>.

[16]. Arkhypova V. M., Knyr I. S., Bakhmat V. A., Karpenko Y. V., Soldatkin O. O., Dzyadevych S. V. Comparison of creatinine deiminase immobilization methods for design

of potentiometric biosensors for creatinine detection // Sensor Electronics and Microsystem Technologies, 2024, 21(3), p. 4-15, <https://doi.org/10.18524/1815-7459.2024.3.312688>.

[17]. Midander K., Julander A., Jolinde K., Lidén C. Testing in artificial sweat – Is less more? Comparison of metal release in two different artificial sweat solutions // Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2016, 81, p. 381-386.

[18]. V. Chromý, K. Rozkošná, P. Sedlák, Determination of serum creatinine by Jaffe method and how to calibrate to eliminate matrix interference problems, Clin. Chem. Lab. Med., 2008, 46 (8), p. 1127–1133.

Стаття надійшла до редакції 12.08.2025 р.

UDC 643.554, 577.15

DOI: <https://doi.org/10.18524/1815-7459.2025.3.339801>

FEASIBILITY OF APPLICATION OF A POTENTIOMETRIC BIOSENSOR BASED ON CREATININE DEIMINASE FOR NON-INVASIVE CREATININE ANALYSIS

Valentyna Arkhypova¹, Iryna Knyr^{1,2}, Veronika Bakhmat¹, Oleksandr Kukla^{1,3}, Daria Kucherenko¹, Lyudmyla Shkotova¹, Andriy Zakalsky⁴, Oleksandr Soldatkin^{1,5}, Sergiy Dzyadevych^{1,2}

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics of NASU,
150 Akademika Zabolotnoho St, Kyiv, 03143, Ukraine

² Taras Shevchenko National University of Kyiv,
60 Volodymyrska St, Kyiv, 01033, Ukraine

³ V. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics,
41 Nauky Ave, Kyiv, 03028, Ukraine

⁴ Institute of Cell Biology of NASU,
14/16 Drahomanova St, Lviv, 79005, Ukraine

⁵ National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”,
37 Beresteyskyi Ave, Kyiv, 03056, Ukraine

e-mail: avalka@yahoo.com; iraknp125@gmail.com; veronikab2406@gmail.com;
kukla@gmail.com; didukh.d@gmail.com; luda_shkotova@yahoo.com;
zakalski53@gmail.com; alex_sold@yahoo.com; dzyad@yahoo.com

Abstract. The paper investigates the possibility of application of potentiometric biosensor based on creatinine deiminase for non-invasive analysis of creatinine in urine, sweat and saliva. The effect on the signal of various substances that can potentially affect the biosensor response and are contained in the urine of healthy people or patients with kidney diseases has been studied. It was shown that the contribution of these components to the total signal is minimal and will not significantly affect the accuracy of biosensor measurements. The stability during storage of the biosensor was more than 120 days.

The principle possibility of creatinine determination by using a biosensor based on creatinine deiminase in saliva and sweat was shown, while the lowest creatinine concentration that can be determined was 50 μM . The developed biosensor demonstrates certain advantages in determining creatinine concentration in urine samples compared to the traditional colorimetric Jaffe method, which requires expensive equipment and careful control of reaction parameters to reduce the influence of interfering substances, as well as a complex measurement procedure.

Keywords: ion-selective field-effect transistor, biosensor, creatinine deiminase, non-invasive creatinine analysis, urine, sweat, saliva