



УДК 57.083.3 : 543.544

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И СИМАЗИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ, МЕЧЕННЫХ КОЛЛОИДНЫМ ЗОЛОТОМ

© 2004 г. И. А. Любавина^{##}, А. А. Зинченко^{*},
И. С. Саломатина^{*}, А. В. Жердев^{**}, Б. Б. Дзантиев^{**}

^{*}Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/110;

^{**}Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

Поступила в редакцию 16.10.2002 г. Принята к печати 29.01.2003 г.

Разработан метод конкурентного иммунохроматографического определения пестицидов 2,4-D (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) (2,4-D) и симазина (2-хлор-4,6-бис(*N*-этиламино)-1,3,5-триазин) (Sm) в водных образцах. Для визуальной оценки результатов определения использовали моноклональные антитела против пестицидов, меченные коллоидным золотом. Чувствительность определения 2,4-D и симазина составила 12 нг/мл, продолжительность анализа 3–7 мин. По чувствительности разработанный метод не отличается от конкурентного ИФА, в котором использовали конъюгаты моноклональных антител против пестицидов с пероксидазой хрена, однако продолжительность ИФА составляет 1.5 ч. Доступность и простота разработанного иммунохроматографического метода обнаружения пестицидов позволяет рекомендовать его для разработки методов анализа любых других низкомолекулярных соединений.

Ключевые слова: иммунохроматография; конкурентный ИФА; комплекс моноклональных антител с коллоидным золотом; 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; симазин.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в связи с загрязнением окружающей среды продуктами хозяйственной деятельности человека актуальной проблемой является разработка экспресс-методов определения таких веществ, в частности пестицидов, в пище, воде, почве и т.д.

Для проведения скринингового контроля по содержанию пестицидов в объектах окружающей среды необходим метод качественного экспресс-анализа, позволяющий одноэтапно с высокой достоверностью обнаруживать пестициды в водных растворах и не требующий никаких специальных приспособлений. Данным требованиям отвечает метод конкурентного иммунохроматографического анализа (конкурентная иммунохроматография), широко применяемый в послед-

нее время для экспресс-обнаружения гаптенов различной природы, таких, например, как стероидные гормоны, наркотики, лекарственные препараты и т.д. [1, 2].

Тестирование с помощью конкурентной иммунохроматографии основано на распределении молекул в двухфазной системе. Поливалентный конъюгат определяемого соединения с овальбумином фиксирован на поверхности нитроцеллюлозной мембраны в тестовой зоне и остается неподвижным в процессе анализа. Подвижная фаза, состоящая из анализируемой пробы и ограниченного количества меченых антител к определяемому соединению, поступает в тестовую зону и перемещается в ней с постоянной скоростью. При связывании меченых антител с определяемым соединением, сорбированным на твердой фазе, происходит образование комплекса, доступного для визуальной оценки. В том случае, если в пробе содержится определяемое соединение, происходит конкуренция за центры связывания антител между свободным и связанным антигенами. Несвязавшиеся реакционные компоненты удаляются из системы. Скорость связывания антигена с антителом при проведении иммунохроматографии по сравнению с традиционным

Сокращения: АТ – моноклональные антитела; сг – дисперсия коллоидного золота; 2-CPA и 4-CPA – 2- и 4-хлорфеноксиуксусные кислоты; 2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; HRP – пероксидаза хрена; OVA – овальбумин; PBS – фосфатно-солевой раствор, pH 7.4; PBST – PBS, содержащий 0.05% Твин-20; PBS/OVA – PBS, содержащий овальбумин (2 мг/мл); PBST/OVA – PBST, содержащий овальбумин (2 мг/мл); Sm – симазин (2-хлор-4,6-бис(*N*-этиламино)-1,3,5-триазин).

[#] Автор для переписки (эл. почта: lia@ibch.ru).

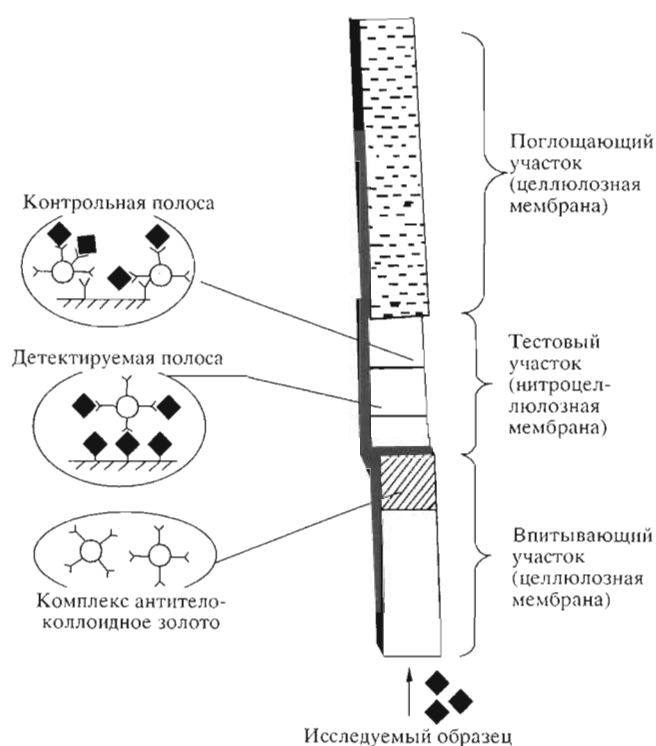


Рис. 1. Схема тест-полоски для проведения одноэтапного качественного определения пестицида в исследуемом образце методом конкурентного иммунохроматографического анализа.

дот-определением увеличивается на порядок, и кинетика процесса близка к кинетике процесса в растворе [3]. Время определения составляет 5–10 мин.

Ранее для неинструментального определения пестицидов – 2,4-D (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, класс арилоксиалкилкарбоновых кислот) и симазина (2-хлор-4,6-бис(*N*-этиламино)-1,3,5-триазин, класс *сим*-триазинов) нами были описаны методы иммунофильтрации [4] и дот-иммуноанализа в формате гребенки [5]. Цель данного исследования – разработка метода определения 2,4-D и симазина с помощью иммунохроматографии [6] при использовании в качестве детектирующей метки моноклональных антител против пестицида, меченных коллоидным золотом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принцип конкурентного иммунохроматографического обнаружения 2,4-D и симазина в водных образцах заключается в следующем: пестицид, находящийся в исследуемом водном образце, конкурирует с пестицидом, иммобилизованным на нитроцеллюлозной мембране тестовой зоны тест-полоски (рис. 1), за центры связывания ограниченного количества меченых антител.

Для проведения одноэтапной качественной иммунохроматографии антитела могут быть по-

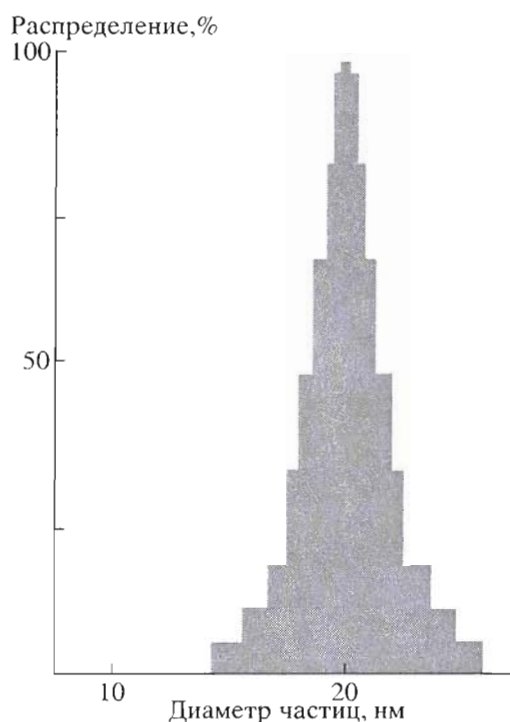


Рис. 2. Распределение частиц коллоидного золота по размерам.

мечены ферментом, а также различными корпускулярными метками, такими, как коллоидное золото [7], латексы [8], коллоидные красители [8] и т.д.

Использование фермента в качестве метки для иммунохроматографии требует дополнительной стадии обнаружения самого фермента с помощью нестабильного субстрата – хроматогена, что значительно усложняет технологию подготовки тест-полоски и процедуру определения.

В большинстве случаев для проведения иммунохроматографии в качестве детектирующего агента используют комплекс антител с коллоидным золотом [7–9]. Преимущество коллоидного золота в качестве метки определяется, во-первых, легкостью получения частиц заданного размера с оптимальным молекулярно-массовым распределением; во-вторых, возможностью высушивать комплекс антитело-коллоидное золото, в-третьих, высокой чувствительностью определения с помощью таких комплексов. В то же время существенным недостатком комплексов с коллоидным золотом является их недостаточная стабильность.

Первоначально по стандартной методике [9] нами был получен золь коллоидного золота, средний диаметр частиц которого составил 20 ± 5 нм (рис. 2). Размер частиц 20 нм, как было установлено нами в ходе предварительных исследований, оптимален для сорбции белка и последующей миграции полученного комплекса через поры мемб-

ран иммунохроматографической тест-полоски. Затем антитела против 2,4-D или Sm сорбировали на поверхность частиц золота [10]. Сравнение визуализирующей способности полученных комплексов проводили методом дот-анализа в модельной системе, определяя поливалентные конъюгаты пестицидов с овальбумином (Sm-OVA, 2,4-D-OVA), раститрованные кратно двум и точно нанесенные на полоски нитроцеллюлозной мембраны. Было установлено, что в диапазоне нагрузки золя по антителам в пределах 0.1–1.6 мг/мл золя оптимальна нагрузка 0.8 мг/мл. Уменьшение нагрузки по антителам ниже 0.8 мг/мл снижало чувствительность обнаружения Sm-OVA и 2,4-D-OVA, увеличение нагрузки по антителам до 1.6 мг/мл не приводило к уменьшению предела обнаружения поливалентных конъюгатов. При нагрузке по антителам выше 1.6 мг/мл возникала флокуляция золя коллоидного золота.

В качестве контроля при проведении дот-определения использовали пероксидазные конъюгаты антител против 2,4-D (anti-2,4-D-AT) и против симазина (anti-Sm-AT), синтезированные стандартным методом [11]. На рис. 3 показано, что предел обнаружения и 2,4-D-OVA, и Sm-OVA с помощью комплексов anti-2,4-D-AT и anti-Sm-AT с коллоидным золотом составляет 12.5 нг/мл. Предел обнаружения пестицидов с помощью пероксидазных конъюгатов 50 нг/мл.

Стабильность полученных комплексов характеризовали, сравнивая чувствительность определения пестицидов с их помощью в модельной системе при хранении в различных условиях. При 4°C чувствительность определения не менялась в течение 12 месяцев, при 22°C чувствительность была неизменной в течение 6 месяцев, а затем уменьшалась.

Для проведения конкурентного иммунохроматографического определения пестицидов в водных образцах мы использовали готовые тест-полоски, предоставленные фирмой "Fisher Scientific" (Великобритания). Схематическое изображение тест-полоски дано на рис. 1. В центральной части полистирольной основы закреплена нитроцеллюлозная мембрана, используемая как тестовый участок. Выше и ниже прикреплены крупнопористые целлюлозные мембраны, которые используются как впитывающий (нижняя) и поглощающий (верхняя) участки.

Предварительно на нитроцеллюлозную мембрану мы наносили в виде линии поливалентный антиген, конъюгат пестицида с овальбумином, с соотношением 1 моль овальбумина на 5–10 моль пестицида, создавая детектируемую полосу в тестовой зоне. Кроме того, для контроля за правильным проведением анализа и качеством работы тест-системы на нитроцеллюлозу выше детектируемой полосы в виде линии наносили антими-

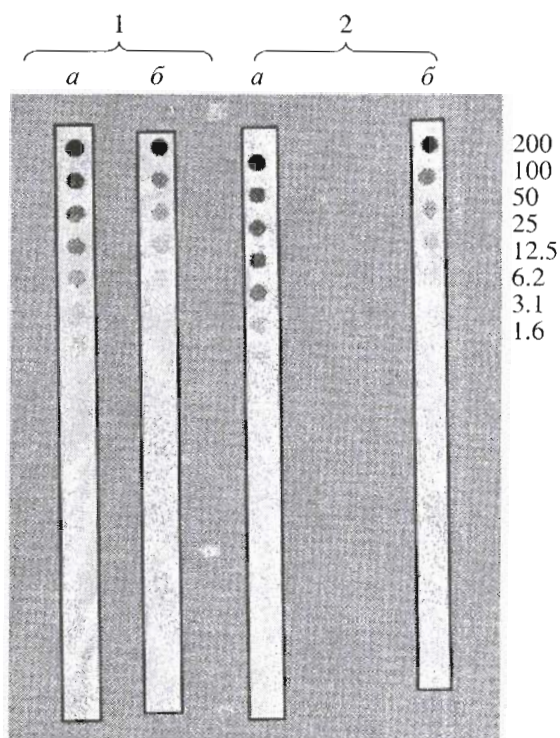


Рис. 3. Определение Sm-OVA (а) и 2,4-D-OVA (б) методом дот-иммуноанализа с использованием: комплекса anti-Sm-AT-cg (1а), комплекса anti-2,4-D-AT-cg (1б), конъюгата anti-Sm-AT-HRP (2а), конъюгата anti-2,4-D-AT-HRP (2б).

шинные антитела, создавая контрольную полосу. На верхнюю часть впитывающего участка тест-полоски предварительно наносили комплексы anti-2,4-D-AT-cg или anti-Sm-AT-cg. После нанесения необходимых компонентов полосу тщательно высушивали.

Для проведения анализа тест-полоску нижним концом опускали в водный раствор образца. Раствор всасывается впитывающим участком полоски и под действием капиллярных сил поднимается по полоске вверх, взаимодействуя с нанесенными выше специфическими моноклональными антителами, мечеными коллоидным золотом. Затем все компоненты реакции перемещаются вверх в тестовую зону полоски. Чем выше содержание пестицида в образце, тем меньше меченых антител свяжется с поливалентным антигеном, сорбированным на твердой фазе. При определенной концентрации пестицида в образце происходит полное ингибирование реакции связывания меченых антител с поливалентным антигеном, в результате чего в тестовой зоне тест-полоски наблюдается только одна, контрольная полоса яркого розового цвета. Если в образце не содержится пестицид или его содержание ниже того количества, которое приводит к полному ингибированию реакции, то в тестовой зоне тест-полоски мы наблюдаем

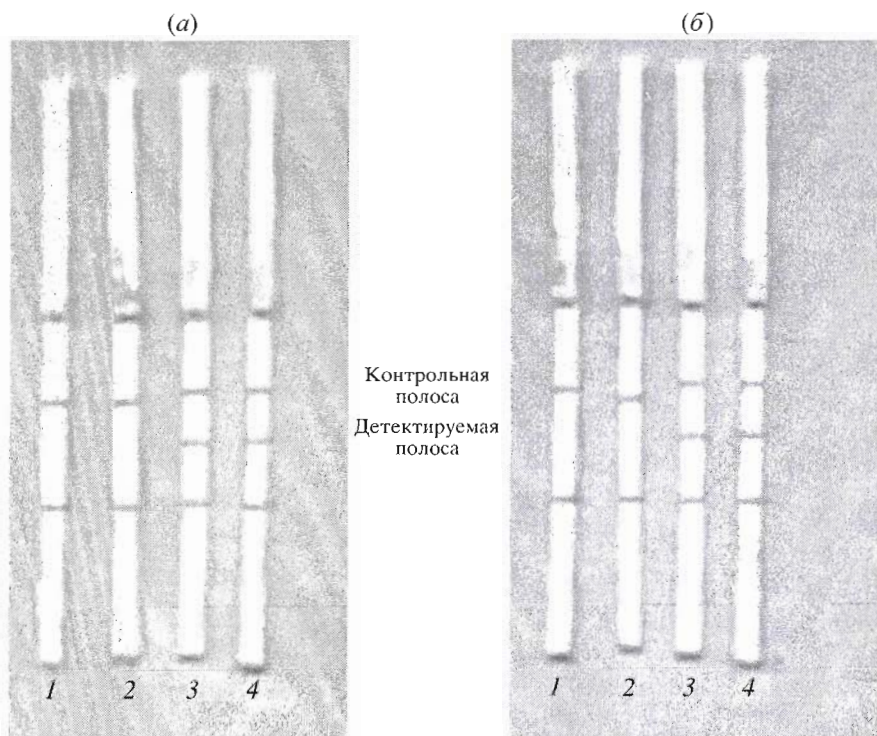


Рис. 4. Определение симазина (а) и 2,4-D (б) методом иммунохроматографии. Концентрации пестицидов в пробах (нг/мл): 1 – 18; 2 – 12; 3 – 9; 4 – 6.

две ярко окрашенные полосы. Через 3–7 мин процесс определения проходит полностью.

На рис. 4 представлены результаты типичного определения 2,4-D и Sm методом конкурентной иммунохроматографии с использованием конъюгатов моноклональных антител против 2,4-D и Sm, меченных коллоидным золотом. При концентрации 2,4-D и Sm в образце, равной 12 нг/мл, происходит полное ингибирование реакции.

Предварительные исследования, проведенные нами, показали, что чувствительность определе-

ния и характер ингибирования реакции (ответ по типу “+/-” (полоска либо есть, либо нет) или по типу “+/-” (яркая полоса, неяркая полоса, полосы нет) зависят от соотношения концентраций поливалентного антигена и антител, меченных коллоидным золотом. Ингибирование реакции по типу “+/-” проходит при концентрации поливалентного антигена 4 мкг/мл и концентрации комплекса антитело–коллоидное золото 1 ОЕ₅₂₀ [12].

Результаты неинструментального анализа мы сопоставили с результатами конкурентного ИФА. Для постановки ИФА также были подобраны оптимальные концентрации реагентов для максимальной чувствительности определения: поливалентный антиген – 1 (для 2,4-D или симазина); конъюгат anti-2,4-D-AT – HRP – 2 мкг/мл; конъюгат anti-Sm-AT–HRP – 2 мкг/мл. Чувствительность ИФА составила 12.5 нг/мл для симазина и 2,4-D (рис. 5).

Для определения специфичности предложенных методов были исследованы перекрестные реакции между симозином, 2,4-D и некоторыми соединениями, структурно родственными 2,4-D. Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о высокой специфичности разработанных методов.

Таким образом, метод качественного одноэтапного определения пестицидов 2,4-D и симазина с помощью конкурентной иммунохроматогра-

Результаты определения симазина, 2,4-D и структурно родственных соединений методом конкурентной иммунохроматографии и методом конкурентного ИФА

Соединение	Чувствительность определения, нг/мл			
	симазина		2,4-D	
	иммунохроматография	ИФА	иммунохроматография	ИФА
Симазин	12	12.5	**	*
2,4-D	**	*	12	12.5
2-CPA	не определяли		2500	5000
4-CPA	не определяли		2500	2500

* Фоновые значения.

** Наблюдается тестовая полоска.

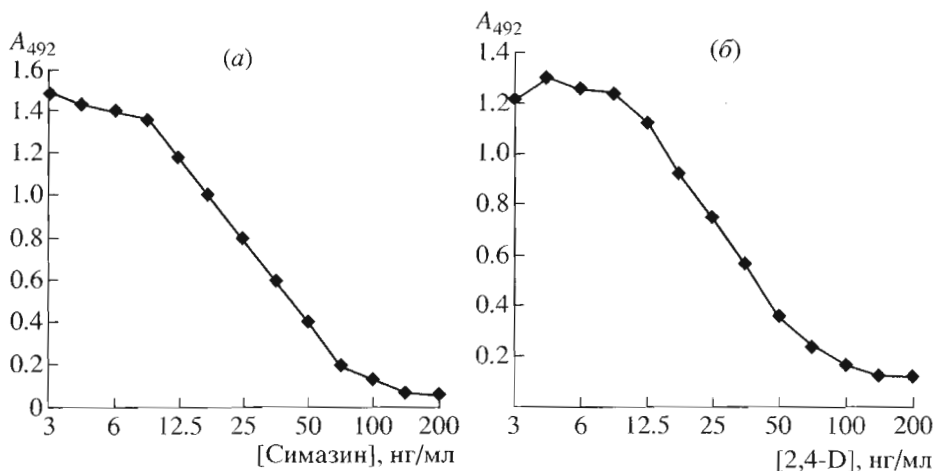


Рис. 5. Зависимость оптического поглощения от концентрации симазина (а) и 2,4-D (б) в конкурентном ИФА.

фии позволяет с высокой специфичностью в течение 3–7 мин определять наличие пестицида в водном образце. По схеме, предложенной нами, возможно определение любого низкомолекулярного соединения в водном растворе при наличии моноклональных антител против него. Процедура определения пестицидов с помощью иммунохроматографии занимает 3–7 мин (для определения пестицидов методом дот-анализа в формате гребенки требуется 45 мин, для проведения иммунофилтрации 5–15 мин). Для проведения иммунохроматографии не требуется никаких специальных приспособлений. Процедура тестирования очень проста; проходит в один этап; позволяет проводить анализ в полевых условиях, используя в качестве проб легко доступные образцы воды; конечный результат оценивается визуально и легко интерпретируется, тест-полоски для иммунохроматографии могут храниться при комнатной температуре в течение длительного времени.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы симазин и 2,4-D (Sigma), пероксидаза хрена (Центр агротехники, Львов, R_c 3.0), хлорид золота (Fluka), цитрат натрия (Sigma), моноклональные антитела против симазина любезно предоставлены сотрудником Технического университета Мюнхена (Германия) Дитмаром Кнорром. Получение биоспецифических реагентов для определения симазина и 2,4-D описано ранее: поливалентных конъюгатов Sm-OVA [13] и 2,4-D-OVA [14], моноклональных антител против 2,4-D [14, 15].

Комплексы антител с коллоидным золотом. К 50 мл 0.02% раствора хлорида золота (HAuCl_4) в бидистиллированной воде при кипении добавляли 1.2 мл 1% раствора цитрата натрия и продолжали кипятить 3 мин [9]. Сразу же после добавле-

ния цитрата натрия бесцветный раствор хлорида золота изменял свой цвет на серый, затем фиолетовый, и, наконец, бордовый. Полученный золь охлаждали и измеряли средний диаметр частиц золя с помощью автоматического анализатора субмикронных частиц Coulter N4-MD (Coultronics, Франция). Содержание основной фракции с размером частиц 20 нм – 95%. Концентрация полученного золя, охарактеризованная с помощью величины максимального поглощения в видимой области (400–600 нм) в абсолютных условных единицах [12], при длине волны максимального поглощения 520 нм и длине пути луча 1 см равна $2.0 \pm 0.05 \text{ OE}_{520}/\text{мл}$.

Для получения комплекса антитела с коллоидным золотом к 1 мл золя золота ($2.0 \text{ OE}_{520}/\text{мл}$, pH 6.5) при перемешивании добавляли антитела против 2,4-D или симазина в PBS до концентрации 100–1600 мкг/мл [10]. Полученную смесь инкубировали 15 мин при комнатной температуре, добавляли в нее раствор овальбумина в PBS до концентрации 0.1%, инкубировали 1 ч при комнатной температуре, а затем отмывали от непрореагировавших компонентов смеси PBS центрифугированием (4°C , 12500g). Комплексы хранили при 4°C . Рабочая концентрация комплекса моноклональные антитела–коллоидное золото – $2 \text{ OE}_{520}/\text{мл}$ для дот-определения, $1 \text{ OE}_{520}/\text{мл}$ для иммунохроматографии.

Конъюгаты антител с пероксидазой хрена были получены по методу [11] с некоторыми модификациями. Пероксидазу хрена (Центр агротехники, Львов, R_c 3.0) растворяли в воде до концентрации 10 мг/мл, добавляли 0.1 объема свежеприготовленного 0.25 М периодата натрия, инкубировали в темноте 20 мин при комнатной температуре и диализовали в течение ночи против 0.1 М карбонат-бикарбонатного буфера, pH 9.0, при 4°C . Добавляли раствор антител против 2,4-D или симазина,

предварительно диализованных против того же буфера, и инкубировали в темноте 3 ч при комнатной температуре. Соотношение пероксидаза-антитела составляло 2 : 1 по весу. Затем добавляли 0.1 объема свежеприготовленного раствора боргидрида натрия (4.0 нг/мл) в 10 мМ NaOH, инкубировали 2 ч при 4°C и диализовали против PBS при 4°C в течение ночи.

Определение чувствительности метода обнаружения пестицидов с помощью комплексов антител к пестицидам с коллоидным золотом. На поверхность полосок нитроцеллюлозы (Schleicher & Schuell, Германия) точно наносили по 2 мкл водного раствора поливалентного антигена 2,4-D-OVA или Sm-OVA в двукратном разведении от 200 до 0.1 мкг/мл, полоски высушивали на воздухе и блокировали PBS/OVA 30 мин при комнатной температуре, вновь высушивали на воздухе и хранили при 4°C в герметично закрытой упаковке. Для проведения анализа полоски помещали в раствор комплекса антител с коллоидным золотом (2 OЕ₅₂₀/мл в PBS/OVA) или в раствор конъюгата антител с пероксидазой хрена (4 мкг/мл в PBS/OVA), инкубировали 30 мин при комнатной температуре при постоянном перемешивании и трижды промывали PBST. При определении 2,4-D-OVA и Sm-OVA с помощью конъюгатов anti-2,4-D-AT-HRP и anti-Sm-AT-HRP для визуальной оценки аналитического сигнала полоски дополнительно инкубировали в 50 мМ имидазольном буфере, pH 7.5, содержащем 2.0 мг/мл 1,4-хлорнафтола и 0.02% H₂O₂ с добавлением 0.2 мг/мл орто-фенилендиамина и 0.1 мг/мл бисульфата натрия [16]. Каждое определение повторяли трижды.

Обнаружение пестицидов методом конкурентной иммунохроматографии. На середину нитроцеллюлозной мембраны готовой тест-полоски для иммунохроматографии (Fisher Scientifics, Великобритания) шириной 3 мм тонкой поперечной линией с помощью гамильтоновского шприца наносили 1 мкл поливалентного антигена 2,4-D-OVA или Sm-OVA (4 мг/мл в PBS). На верхнюю часть впитывающей части тест-полоски наносили 3 мкл комплекса anti-2,4-D-AT-cg или anti-Sm-AT-cg, концентрация 1 OЕ₅₂₀/мл. Полученную хроматографическую полоску высушивали 12 ч при комнатной температуре и хранили при комнатной температуре в герметично закрытой упаковке. Срок хранения иммунохроматографической полоски до 12 месяцев.

В лунках иммунологической или культуральной микропланшеты готовили серию полуразведенных растворов анализируемого образца (2,4-D или симазина) в PBST объемом 50 мкл. Для проведения определения в лунки опускали впитывающую часть иммунохроматографических тест-полосок. За счет сил капиллярного вса-

сывания раствор исследуемого образца поднимался по впитывающему участку тест-полоски и растворял нанесенный комплекс антител с коллоидным золотом. Затем смесь образца и комплекса антител, меченных коллоидным золотом, поднималась в тестовый участок полоски и проходила его со скоростью примерно 1.5 см/мин. Через 3–4 мин результаты анализа определяли визуально по наличию ярко-розовой детектируемой полоски на месте нанесения поливалентного антигена (отрицательный тест на наличие пестицида в пробе) либо отсутствию детектируемой полоски (положительный тест). Работу тест-полоски контролировали по наличию контрольной полосы фиолетового цвета. В качестве отрицательного контроля использовали раствор, не содержащий определяемого соединения. Каждое определение повторяли трижды.

Определение пестицидов методом конкурентного ИФА. В лунки микропланшет для ИФА (Costar) вносили 100 мкл 2,4-D-OVA или Sm-OVA (4 мкг/мл в 0.1 М NaHCO₃, pH 9.2) и инкубировали ночь при 4°C. Планшеты трижды промывали PBST и блокировали PBST/OVA 30 мин при 37°C. Затем в лунках иммунологических планшет готовили серию двукратных разведений анализируемых образцов симазина или 2,4-D (от 0.2 до 0.003 мкг/мл) в PBST/OVA, к которым добавляли равные объемы растворов конъюгата anti-2,4-D-AT-HRP или anti-Sm-AT-HRP, 2 мкл/мл в PBST/OVA и инкубировали 1 ч при 37°C. Планшеты трижды промывали 250 мкл PBST. Для определения связавшегося конъюгата в каждую лунку добавляли по 100 мкл 50 мМ фосфат-цитратного буфера, pH 5.0, содержащего 0.05% H₂O₂ и 0.4 мг/мл орто-фенилендиамина (Serva), инкубировали 5–10 мин в темноте и оставляли ферментативную реакцию добавлением 50 мкл 1.7 н. H₂SO₄. Каждый анализ проводили трижды. Измеряли оптическое поглощение при 492 нм на многоканальном спектрофотометре Multiskan (Titertek).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Principles and Practice of Immunoassay / Ed. C.P. Price, D.J. Newman. London: Macmillian Reference, 1999.
2. Birnbaum S., Uden C. // Anal. Biochem. 1992. V. 206. P. 168–171.
3. Rule G., Montagna R. // Anal. Biochem. 1998. V. 244. P. 260–269.
4. Павлова И.С., Любавина И.А., Жердев А.В., Зинченко А.А. // Биоорганич. химия. 1997. Т. 23. С. 832–838.
5. Любавина И.А., Саломатина И.С., Зинченко А.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. // Биоорганич. химия. 2000. Т. 26. С. 231–237.
6. Гербициды / Ред. В.А. Захаренко. М.: Агропромиздат, 1990.

7. *Immunochemistry* / Ed. R.M. Albrecht. Oxford: Oxford Univ. Press, 1999.
8. Nilsson S., Lager C., Laurell T. // *Anal. Chem.* 1995. V. 67. P. 3051–3056.
9. *Colloidal Gold* / Ed. M.A. Hayat. San Diego: Academic Press, 1989.
10. *Technique in Immunochemistry* / Ed. C.R. Bullock, P. Petrusz. London: Academic Press, 1983.
11. Tijssen P., Kurstak E. // *Anal. Biochem.* 1984. V. 136. P. 451–457.
12. Frens G. // *Nature Phys. Sci.* 1973. V. 241. P. 20–25.
13. Еремин С.А., Лунская И.М., Егоров А.М. // *Биоорганич. химия.* 1993. Т. 19. С. 836–843.
14. Franek M., Kolar V., Granatova M. // *J. Agric. Food Chem.* 1994. V. 42. P. 1369–1374.
15. Дзантиев Б.Б., Жердев А.В., Еремин С.А. // *Прикл. биохимия и микробиология.* 1994. Т. 20. С. 731–739.
16. Kobayashi R., Tachima Y. // *Anal. Biochem.* 1989. V. 183. P. 9–13.

An Immunochromatographic Assay of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Simazine Using Monoclonal Antibodies Labeled with Colloidal Gold

I. A. Lyubavina^{**}, A. A. Zinchenko^{*}, I. S. Salomatina^{*},
A. B. Zherdev^{**}, and B. B. Dzantiev^{**}

[#] E-mail: lia@ibch.ru

^{*}Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP Moscow, 117997 Russia

^{**}Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

A method of the competitive immunochromatographic assay of the pesticides 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) and simazine (2-chloro-4,6-bis(*N*-ethylamino)-1,3,5-triazine) in aqueous samples was developed. Monoclonal antibodies to these pesticides labeled with colloidal gold were used to visualize the results. The sensitivity of the 2,4-D and simazine assay is 12 ng/ml, and the time of analysis is 3–7 min. The method does not differ in sensitivity from the competitive EIA using conjugates of monoclonal antibodies to the pesticides with horseradish peroxidase; however, the time of the EIA is 1.5 h. The immunochromatographic method of the pesticide detection is available and simple and may be recommended for the development of assays of any other low-molecular compounds. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: competitive EIA, complex of monoclonal antibodies with colloidal gold, 1,4-dichlorophenoxyacetic acid, immunochromatography, simazine