

© Коллектив авторов, 2017
УДК: 616-092.4
doi:

Нанопроводный биосенсор р-типа с иммобилизованными антителами для высокочувствительной регистрации молекул HCVcoreAg — белкового маркера вирусного гепатита С

Мальсагова К.А.¹, Плешакова Т.О.¹, Галиуллин Р.А.¹, Шумов И.Д.¹, Ильницкий М.А.², Глухов А.В.³, Попов В.П.², Асеев А.Л.², Конев В.А.⁴, Учайкин В.Ф.¹, Арчаков А.И.¹, Иванов Ю.Д.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», 119121, Москва, Погодинская ул. 10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 13

³ АО «Новосибирский завод полупроводниковых приборов с особым конструкторским бюро», 630082, Новосибирск, ул. Дачная, 60

⁴ Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего Образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1

Цель исследования: обнаружение маркера гепатита С — ядерного белка HCVcoreAg с помощью нанопроводного детектора на основе структур «кремний-на-изоляторе» (КНИ-НП) с р-типом проводимости, модифицированной антителами. **Методика:** были использованы КНИ-структуры с р-типом проводимости. Толщина отсеченного слоя кремния составляла 32 нм, скрытого окисла (buried oxide, BOX) — 300 нм. В экспериментах ширина сенсоров составляла $w = 3$ мкм, толщина $t = 32$ нм, длина $l = 10$ мкм, число нанопроводов на кристалле 12. Поверхность нанопроводов (НП) модифицировалась в парах аминопропилтриэтоксисилана (APTES). Антитела против HCVcoreAg были ковалентно иммобилизованы на модифицированную НП-поверхность с использованием кросс-линкера дитиобис (сульфосукцинимидил пропионата) (DTSSP). В измерениях была использована жидкостная ювета объемом 500 мкл, дном которой являлся кристалл с НП-структурами. Диаметр чувствительной зоны составлял ~2 мм. Перемешивание раствора в ювете осуществлялось с помощью мешалки при скорости 3000 об./мин. Электрические измерения проводились с помощью пикоамперметра фирмы Keithley (model 6487, Keithley, <http://www.keithley.com>). **Результаты:** для НП-биосенсора с КНИ-НП р-типа с иммобилизованными антителами показана возможность регистрации HCVcoreAg в нейтральном и кислом буферных растворах. Минимальная концентрация HCVcoreAg, при которой был обнаружен белок, составила 10^{-15} М. **Заключение:** Показано, что с помощью биосенсора на базе нанопроводов р-типа с иммобилизованными антителами может быть обнаружен в растворе биомаркер вирусного гепатита С без использования меток, в режиме реального времени. Концентрационная чувствительность анализа составила порядка 10^{-15} М.

Ключевые слова: КНИ-НП, биосенсор, HCVcoreAg, гепатит С, антитела, нанопровод.

Для цитирования: Мальсагова К.А., Плешакова Т.О., Галиуллин Р.А., Шумов И.Д., Ильницкий М.А., Глухов А.В., Попов В.П., Асеев А.Л., Конев В.А., Учайкин В.Ф., Арчаков А.И., Иванов Ю.Д. Нанопроводный биосенсор р-типа с иммобилизованными антителами для высокочувствительной регистрации молекул HCVcoreAg — белкового маркера вирусного гепатита С. Патогенез. 2017; 15(3): 79–83.

Для корреспонденции: Иванов Юрий Дмитриевич, доктор биол. наук, профессор, зав. лабораторией. E-mail: yurii.ivanov@rambler.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы. (проект СП-4280.2016.4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.03.2017

Nanowire biosensor p-type with immobilized antibodies for highly sensitive registration of the molecules of HCVcoreAg, a protein marker of viral hepatitis C

Malsagova K.A.¹, Pleshakova T.O.¹, Galiullin R.A.¹, Shumov I.D.¹, Ilnitsky M. A.², Glukhov A.V.³, Popov V.P.², Aseev A.L.², Konev V.A.⁴, Uchaikin V.F.¹, Archakov A.I.¹, Ivanov Yu.D.¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Biomedical Chemistry», 10, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russia

² Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Semiconductor Physics named after A.V.Rzhanov», Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 13, pr. Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russia

³ JSC «Novosibirsk Plant of Semiconductor Devices with OKB», ul. Dachnaya, 60, Novosibirsk, 630082, Russia

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, 1, ul. Ostrovitianova, Moscow, 117997, Russia

Aim. To detect HCVcoreAg using a nanowire detector based on silicon-on-insulator structures (SOI-NW) with p-type conductivity with immobilized antibodies. **Methods.** Silicon-on-insulator (SOI) structures with p-type conductivity were used. The cut-off layer thickness was 32 nm; the buried oxide (BOX) layer thickness was 300 nm. In the experiments, the sensor width was $w = 3 \mu\text{m}$, the thickness was $t = 32 \text{ nm}$, the length was $l = 10 \mu\text{m}$, and the number of nanowires (NWs) on the crystal was 12. The surface of NWs was modified in aminopropyltriethoxysilane (APTES) vapor. Antibodies against HCVcoreAg were covalently immobilized onto the modified NW surface using a dithiobis (sulfosuccinimidyl propionate) (DTSSP) crosslinker. Throughout the measurements, a measuring cell (500 μL volume), whose bottom was a crystal with NW structures, was used. The diameter of sensor area was $\sim 2 \text{ mm}$. The solution in the cell was stirred at 3000 rpm. Electrical measurements were conducted using a Keithley picoammeter. **Results.** The study demonstrated that the NW biosensor with p-type SOI-NWs with immobilized antibodies was capable for detecting HCVcoreAg in buffer solutions with neutral and acidic pH. The lowest HCVcoreAg concentration, at which the protein was detectable, was 10^{-15} M . **Conclusion.** The viral hepatitis C biomarker can be detected in solutions in real time using a biosensor based on p-type NWs with immobilized antibodies, without using labels. The concentration sensitivity of the analysis was of the order of 10^{-15} M .

Keywords: SOI-NW, biosensor, HCVcoreAg, antibody, nanowire.

For citation: Malsagova K.A., Pleshakova T.O., Galiullin R.A., Shumov I.D., Il'nitsky M.A., Glukhov A.V., Popov V.P., Aseev A.L., Konev V.A., Uchaikin V.F., Archakov A.I., Ivanov Yu.D. Nanowire biosensor p-type with immobilized antibodies for highly sensitive registration of the molecules of HCVcoreAg, a protein marker of viral hepatitis C. *Pathogenesis*. 2017; 15(3): 79–83 (In Russian).

For correspondence: Yuri D. Ivanov, doctor of biological sciences, head of laboratory. E-mail: yurii.ivanov@rambler.ru

Funding. The work was performed in the framework of the Program for Basic Research of State Academies of Sciences for 2013–2020. Shumov I.D. is granted with Russian Federation President scholarship for young scientists for 2016–2018 (project identifier SP-4280.2016.4).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 13.03.2017

Введение

Гепатит С — распространенное заболевание печени вызываемое вирусом гепатита С. Так, по данным ВОЗ, этим заболеванием в хронической форме страдает около 150 млн чел., причем хроническая форма этого заболевания приводит к циррозу и раку печени. Отмечается рост заболеваний гепатитом С — до 500 тыс. чел. каждый год становятся инфицированными вирусом гепатитом С. Важно отметить, что проведение антивирусной терапии на ранней стадии гепатита С эффективна в 95% случаев. Поэтому его выявление на начальной стадии является актуальной задачей современной медицинской диагностики. В настоящее время молекулярную диагностику гепатита С проводят с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Несмотря на высокую чувствительность, эти методы имеют ряд недостатков: длительность выполнения анализа, высокая стоимость анализаторов и реактивов, чувствительность к контаминации и необходимость использования меток для повышения чувствительности, что приводит к получению ложноположительных результатов. Чувствительность метода ИФА достигает $\sim 10^{-11} \text{ M}$ [1]. В настоящей работе в качестве перспективного маркерного белка ранней диагностики гепатита С предполагается использовать ядерный белок HCVcoreAg. Так, его первичная последовательность наиболее консервативна из всех белков ВГС, что позволяет рассматривать его как наиболее универсальный белковый маркер [2]. Также он появляется на 10–15-й день после инфицирования, что на 3–5 дней позже РНК вируса гепатита С, т.е. является потенциальным маркером для ранней диагностики. В ряде исследований показано, что существует достоверная корреляция между уровнем РНК и HCVcoreAg, ко-

эффициент корреляции составляет 0,73–0,98 в зависимости от вирусной нагрузки пациента [3, 4]. В настоящее время HCVcoreAg сложно определять в крови пациентов методом ИФА на ранней стадии, так как его концентрация в крови зачастую меньше, чем 10^{-13} M [5]. Поэтому актуальной проблемой в диагностике гепатита С является создание новых диагностических устройств с чувствительностью на уровне 10^{-13} M и выше. Причем эти системы должны обладать высоким быстродействием, а также быть простыми, т.е., например, не требовать использования дополнительных меток, амплификации детектируемых молекул и т.д. К таким системам относятся нанопроводные биосенсоры — чувствительным элементом которого является нанопровод [6–8]. Нанопроводный детектор может быть адаптирован для обнаружения многих белковых маркеров, связанных с различными заболеваниями. Для биоспецифической детекции этих маркеров необходима модификация нанопровода биосенсора с помощью зондов, в качестве которых обычно используются антитела. Ранее нами было показано, что нанопроводный биосенсор может быть использован для выявления маркеров гепатита В, онкозаболеваний при использовании антител и аптамеров в качестве биоспецифических молекулярных зондов [8–10]. Однако в указанных работах был использован КНИ-НП биосенсор n-типа. В представленной работе изучали возможность адаптации нанопроводного биосенсора для выявления белкового маркера гепатита С на примере детекции HCVcoreAg. Для этого мы использовали в качестве зондов антитела для биоспецифической детекции HCVcoreAg и НП-детектор p-типа проводимости.

Методика

Реактивы. 3,3'-дитиобис(сульфосукцинимидил пропionate) (кросс-линкер DTSSP) приобретен у фирмы «Piegs», диметилсульфоксид (DMSO) и аминопропилтриэтоксисилан (APTES) приобретен в Sigma Aldrich (USA). 1 мМ, 50 мМ калий-фосфатный буфер (рН 7,4, КФБ) и 1 мМ калий-фталатный буфер (рН 5,1) приготовлены из соответствующих солей (Реахим, Россия). Все буферы были приготовлены на основе деионизованной воды, полученной на установке Milli-Q (Millipore, USA).

Белки. Моноклональные мышинные антитела против HCVcoreAg (клон 1E5, специфичность — участок 1-80 а.о. кор-белка ВГС), (Virogen, США); рекомбинантный белок капсида вируса гепатита С (HCVcoreAg) (22 кДа) модифицированный β -галактозидазой (114 кДа) с N-терминального конца, сток-раствор 10^{-7} М в фосфатно-солевом буфере (Virogen, США).

Изготовление НП-сенсоров. Конструкция и характеристики КНИ-НП транзисторов, которые были использованы в качестве сенсорных элементов подробно описаны в [8, 11, 12]. Коротко: использованы КНИ-структуры с р-типом проводимости. Толщина отсеченного слоя кремний составляла 32 нм, скрытого окисла (buried oxide, BOX) — 300 нм. В экспериментах ширина сенсоров составляла $w = 3$ мкм, толщина $t = 32$ нм, длина $l = 10$ мкм, число нанопроводов на кристалле 12. Схема НП-биосенсора описана в [8, 13]. В этой схеме использована жидкостная кювета объемом 500 мкл, дном которой являлся кристалл с НП-структурами. Диаметр чувствительной зоны составлял ~ 2 мм. Перемешивание раствора в кювете осуществлялось с помощью мешалки при скорости 3000 об./мин.

Модификация поверхности сенсора. Поверхность НП-чипа была обработана по процедуре, аналогичной [13] растворами H_2O_2 в воде и HF в CH_3OH для удаления органических загрязнений. Далее поверхность НП-чипа обрабатывалась в озонаторе для формирования гидроксильных групп на поверхности нанопроводов [13] и силанизировалась в парах APTES по протоколу аналогичному [8, 13].

Ковалентная иммобилизация молекулярных зондов. Антитела против HCVcoreAg были ковалентно иммобилизованы на модифицированную НП-поверхность с использованием кросс-линкера DTTSP [14]. Для этой цели растворы ($V = 3$ нл), содержащие антитела против целевого белка (10^{-8} М) в КФБ (50 мМ, рН 7,4) были прецизионно нанесены на активированную с помощью DTTSP поверхность отдельных нанопроводов. Нанесение растворов осуществлялось с помощью бесконтактной роботизированной системы «Piezotray» (PerkinElmer, Inc., США). Растворы инкубировались на поверхности НП в течение 30 мин при $T = 15^\circ\text{C}$ и 80% влажности. После этого поверхность НП-чипа была промыта в деионизованной воде в течение 30 мин.

Приготовление растворов HCVcoreAg в буфере. Растворы HCVcoreAg с концентрациями в диапазоне от 10^{-13} М до 10^{-15} М были приготовлены из исходного раствора белка (0,1 мкМ в 50 мМ КФБ, рН 7,4) с помощью последовательного десятикратного разбавления в рабочих буферах двух типов: для измерений в нейтральном (1 мМ КФБ, рН 7,4) и кислом (1 мМ калий-фталатный буфер, рН 5,1) растворах. На каждом этапе разбавления раствор выдерживался на шейкере в течение 30 мин при 10°C . Растворы белка готовились непосредственно перед измерениями.

Электрические измерения. Электрические измерения проводились с помощью пикоамперметра фирмы Keithley (model 6487, Keithley, <http://www.keithley.com>). Во время измерений подложка структур КНИ была использована в качестве управляющего электрода (затвора транзистора). Зависимость тока стока-истока от напряжения на затворе $I_{ds}(V_g)$, для КНИ-НП р-типа была получена при $V_g = 0 \div (-70)$ В и $V_{ds} = -0,2$ В. Для регистрации белка с помощью НП-биосенсора, раствор белка HCVcoreAg (150 мкл в 1 мМ КФБ, рН 7,4 или в 1 мМ калий-фталатном буфере, рН 5,1) добавлялся в измерительную кювету, содержащую 300 мкл буферного раствора. Временные зависимости тока $I_{ds}(t)$ при $V_g = (-45)$ В и $V_{ds} = (-0,2)$ В. В целях повышения временной стабильности работы НП-биосенсора использовался дополнительный Pt-электрод, погруженный в раствор измерительной ячейки, аналогично [8, 13, 15].

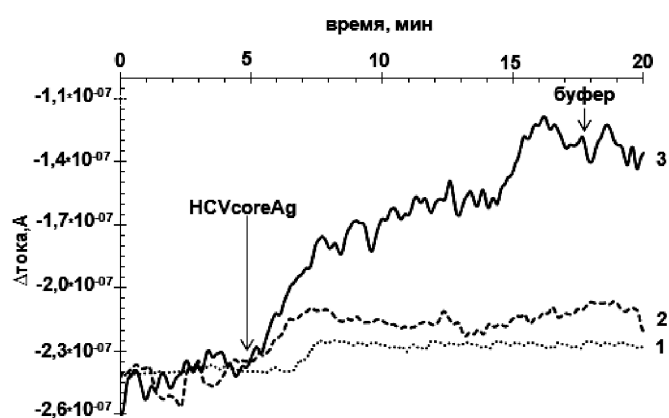


Рис. 1. Результаты обнаружения HCVcoreAg в буферном растворе при рН 5,1. $\Delta I_{ds}(t)$ зависимости для НП-чипов с ковалентно иммобилизованными антителами. Концентрация HCVcoreAg: $C = 10^{-15}$ М(1), 10^{-14} М(2), 10^{-13} М(3). Условия эксперимента: 1 мМ фталатный буфер; рН = 5,1; V_g -45В; $V_{ds} = -0,2$ В; $V = 300$ мкл. Стрелки указывают добавление раствора HCVcoreAg и отмывочного буфера. По оси ординат — изменение проводимости НП-биосенсора под действием белка HCVcoreAg.

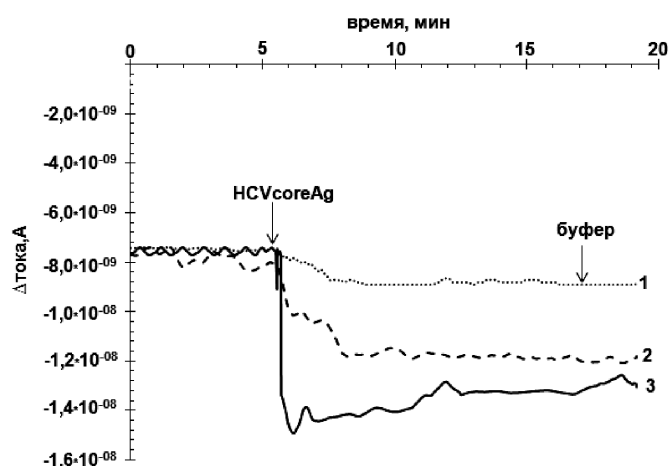


Рис. 2. Результаты обнаружения HCVcoreAg в буферном растворе при рН 7,4. $\Delta I_{ds}(t)$ зависимости для НП-чипов с ковалентно иммобилизованными антителами. Концентрация HCVcoreAg: $C = 10^{-15}$ М(1), 10^{-14} М(2), 10^{-13} М(3). Условия эксперимента: 1 мМ калий-фосфатный буфер рН = 7,4; V_g -45В; $V_{ds} = -0,2$ В; $V = 300$ мкл. Стрелки указывают добавление раствора HCVcoreAg и отмывочного буфера. По оси ординат — изменение проводимости НП-биосенсора под действием белка HCVcoreAg.

Результаты и обсуждение

Биоспецифическая детекция HCVcoreAg была проведена в двух типах буферных растворов — нейтральном (1 мМ, КФБ, рН = 7,4) и кислом (1 мМ калий-фталатом, рН 5,1) с помощью нанопроводного биосенсора. Сенсорные элементы были ковалентно сенсибилизированы антителами против целевого белка.

Регистрация HCVcoreAg в кислом буферном растворе. На рис. 1 приведены характерные зависимости отклика ($\Delta I_{ds}(t)$) НП-биосенсора при добавлении раствора HCVcoreAg в измерительную кювету. Видно, что при добавлении HCVcoreAg белка в кислом буфере наблюдается уменьшение проводимости, обусловленное адсорбцией молекул на поверхность нанопровода. Наблюдается также уменьшение величины сигнала биосенсора при уменьшении концентрации добавляемого белка в диапазоне концентраций от 10^{-13} до 10^{-15} М. Минимальная концентрация HCVcoreAg, при которой был обнаружен белок, составила 10^{-15} М.

Регистрация HCVcoreAg в нейтральном буферном растворе. На рис. 2 приведены характерные зависимости отклика ($\Delta I_{ds}(t)$) НП-биосенсора при добавлении раствора HCVcoreAg в измерительную кювету. Видно, что при добавлении HCVcoreAg наблюдается увеличение проводимости, обусловленное адсорбцией молекул на поверхность нанопровода. Наблюдается также уменьшение величины сигнала биосенсора при уменьшении концентрации добавляемого белка от 10^{-13} до 10^{-15} М. Минимальная концентрация HCVcoreAg, при которой был обнаружен белок, составила 10^{-15} М.

Было получено, что НП-транзисторы на основе структур КНИ с иммобилизованными антителами против HCVcoreAg могут быть использованы для обнаружения белкового маркера гепатита С. Минимальная концентрация HCVcoreAg, при которой обнаружен белок, составила 10^{-15} М, что сравнимо с уровнем чувствительности достигаемого на мировом уровне другими исследовательскими группами в области нанопроводной детекции белков, например [15]. Отметим при этом что ширина нанопровода достигала значительной величины ~3 мкм в отличие от ~50 нм в [15].

Полученные результаты показали, что характер отклика НП-биосенсора зависит от кислотности буфера. Так при добавлении анализируемого раствора, для используемых в данной работе нанопроводов р-типа, в нейтральной среде наблюдается увеличение проводимости (рис. 2), а в кислой среде — уменьшение проводимости (рис. 1). Можно предположить, что биомолекула HCVcoreAg взаимодействует с НП-сенсором как многодоменный диполь, а не как заряженная частица. По данным производителя рекомбинантный HCVcoreAg является структурой, содержащей фрагменты антигена HCVcoreAg и β -галактозидазы. Следовательно, детектируемая биомолекула в растворе может являться протяженной структурой, и полученный результат можно объяснить следующим образом. В случае использования КНИ-НП р-типа проводимости на затвор чипа подается отрицательное напряжение, ориентирующее сложную молекулу, определенным образом. Зарегистрированное связывание молекулы HCVcoreAg с иммобилизованными антителами в нейтральной среде (рис. 2) свидетельствует о взаимодействии антитела с отрицательной частью диполя HCVcoreAg, что вызывает

открытие сенсора (т.е. увеличивается отрицательный заряд у поверхности и увеличивается проводимость нанопровода).

Противоположный характер отклика НП-сенсора наблюдается при переходе от нейтральной среды к кислой — при добавлении анализируемого раствора проводимость НП-сенсоров уменьшается. Можно предположить, что в кислой среде часть отрицательного домена диполя HCVcoreAg приобретает положительный заряд, например за счет протонирования. В этом случае происходит взаимодействие заряженного положительно домена биомолекулы с иммобилизованной антителами, что и вызывает отклик НП-сенсора р-типа.

Таким образом, показано, что с помощью НП-биосенсора биомаркер вирусного гепатита С может быть обнаружен в растворе без использования меток, в режиме реального времени. Концентрационная чувствительность анализа составила порядка 10^{-15} М при использовании КНИ-НП р-типа с иммобилизованными антителами в качестве молекул-зондов.

Список литературы

1. Archakov A.I. and Ivanov Y.D. Analytical nanobiotechnology for medicine diagnostics. *Molecular Biosystems*. 2007; 3; 336-342.
2. Hadziyannis E., Minopetrou M., Georgiou A., Spanou F., Koskinas J. Is HCV core antigen a reliable marker of viral load? An evaluation of HCV core antigen automated immunoassay. *Greece Annals of Gastroenterology*. 2013; 26; 146-149.
3. Soliman H.A., Hozayen W.G., Mahmoud A.M., Abo-Seif M.A., Fayed N.A. Significance of the hepatitis C virus core antigen testing as an alternative marker for hepatitis C diagnosis in Egyptian patients. *Egypt European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015; 19; 2240-2245.
4. Buket C. A., Ayse A., Selcuk K., Suleyman O., Emel S.C. Comparison of HCV core antigen and anti-HCV with HCV RNA results. *African Health Sciences*. 2014;14(4); 816-820.
5. Кайшева А.Л., Иванов Ю.Д., Згода В.Г., Французов П.А., Плешакова Т.О., Крохин Н.В., Зиборов В.С., Арчаков А.И. Визуализация и идентификация вирусных частиц гепатита С при помощи атомно-силовой микроскопии, сопряженной с МС/МС анализом. *Биомедицинская химия*. 2010; 56(1); 26-39.
6. Kaysheva A.L., Ivanov Yu.D., Zgoda V.G., Frantsuzov P.A., Pleshakova T.O., Krohin N.V., Ziborov V.S., Archakov A.I. Visualization and identification of hepatitis C viral particles by atomic force microscopy combined with MS/MS analysis. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2010; 56(1); 26-39. (In Russian)
7. Gao X.P., Zheng G. and Lieber C.M., Subthreshold regime has the optimal sensitivity for nanowire FET biosensors. *Nano Letters*. 2010; 10; 547-552.
8. Stern E., Klemic J.F., Routenberg D.A., Wyrembak P.N., Turner-Evans D.B., Hamilton A.D., LaVan D.A., Fahmy T.M. and Reed M.A. Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires. *Nature*. 2007; 445; 519-522.
9. Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kozlov A. F., Malsagova K.A., Krohin N.V., Shumyantseva V. V., Shumov I.D., Popov V.P., Naumova O.V., Fomin B.I., Nasimov D.A., Aseev A.L. and Archakov A.I. SOI nanowire for the high-sensitive detection of HBsAg and α -fetoprotein. *Lab on a Chip*. 2012; 12; 5104-5111.
10. Ivanov Yu.D., Pleshakova T.O., Kozlov A.F., Malsagova K.A., Krokhin N.V., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Archakov A.I., Popov V.P., Naumova O. V., Fomin B.I., Nasimov D.A., Aseev A.L. SOI nanowire transistor for detection of D-NFATc1 molecules. *Optoelectronics, Instrumentation and Data Processing*. 2013; 49; 520-525.
11. Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Kozlov A.F., Archakov A.I., Popov V.P., Fomin B.I. and A.V. Latyshev. A SOI-nanowire biosensor for the multiple detection of D-NFATc1 protein in the serum. *Analytical Methods*. 2015; 7; 8078-8085.
12. Naumova O.V., Fomin B.I., Nasimov D.A., Dudchenko N.V., Devyatova S.F., Zhanaev E.D., Popov V.P., Latyshev A.V.,

Aseev A.L., Ivanov Yu.D. and Archakov A.I. SOI nanowires as sensors for charge detection. *Semiconductor Science and Technology*. 2010; 25; 055004.

12. Popov V.P., Antonova A.I., Frantsuzov A.A., Safronov L.N., Feofanov G.N., Naumova O.V., Kilanov D.V. Properties of silicon-on-insulator structures and devices. *Semiconductors*. 2001; 35, 1030-1037.

13. Мальсагова К.А., Иванов Ю.Д., Плешакова Т.О., Козлов А.Ф., Крохин Н.В., Кайшева А.Л., Шумов И.Д., Попов В.П., Наумова О.В., Фомин Б.И., Насимов Д.А. КНИ-нанопроводный биосенсор для детекции белка D-NFAT 1. *Биомедицинская химия*. 2015; 61; 462-467.

Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T. O., Kozlov A.F., Krohin N.V., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Popov V.P., Naumova O.V., Fomin B.I., Nasimov D.A. SOI-nanowire biosensor

for the detection of D-NFAT 1 protein. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2015; 61; 462-467. (in Russian)

14. Иванов Ю.Д., Даничев В.В., Плешакова Т.О., Шумов И.Д., Зиборов В.С., Крохин Н.В., Загуменный М.Н., Устинов В.С., Смирнов Л.П., Широин А.В., Арчаков А.И. Химический необратимый фишинг низкокопийных белков. *Биомедицинская химия*. 2014; 60(1); 28-50.

Ivanov Y.D., Danichev V.V., Pleshakova T.O., Shumov I.D., Ziborov V.S., Krokhin N.V., Zagumenniy M.N., Ustinov V.S., Smirnov L.P., Archakov A.I. Irreversible chemical AFM-based-fishing for detection of low-copied proteins. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2014; 60(1); 28-50. (in Russian)

15. Tian R., Regonda S., Gao J., Liu Y., Hu W.. Ultrasensitive protein detection using lithographically defined Si multi-nanowire field effect transistors. *Lab on a Chip*. 2011; 11; 1952-1961.

Сведения об авторах:

Мальсагова Кристина Ахмедовна, аспирант

Плешакова Татьяна Олеговна, канд. хим. наук, ст. научн. сотр.

Галиуллин Рафаэль Анварович, ведущий программист

Шумов Иван Дмитриевич, канд. биол. наук, мл. науч. сотр.

Ильницкий Михаил Александрович, мл. научн. сотр.

Глухов Александр Викторович, канд. техн. наук, зам. генерального директора по научной работе, начальник ОКБ

Попов Владимир Павлович, доктор физ.-мат. наук, зав. лабораторией

Асеев Александр Леонидович, академик РАН, доктор физ.-мат. наук, профессор, руководитель отдела

Конев Владимир Александрович, канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией

Учайкин Василий Федорович, академик РАН, доктор биол. наук, профессор, ведущий специалист

Арчаков Александр Иванович, академик РАН, доктор биол. наук, профессор, научный руководитель Научно-исследовательского института биомедицинской химии

Иванов Юрий Дмитриевич, доктор биол. наук, профессор, зав. лабораторией