

УДК 612.017.2

©Коллектив авторов

РАЗРАБОТКА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ОДНОМЕРНЫХ НАНОСТРУКТУР ДЛЯ АНАЛИЗА БИОАФФИННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

В.В. Шумянцева*, Т.В. Булко, Е.В. Супрун, А.И. Арчаков

Учреждение Российской академии медицинских наук
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича РАМН, ул. Погодинская, д. 10, 119121 Москва;
тел.: 7 (499) 246-58-20; факс 7 (499) 245-08-57;
эл.почта: viktorina.shumyantseva@ibmc.msk.ru

Модификация печатных графитовых электродов с помощью нанопроводов на основе свинца с адсорбированными наночастицами золота (PbНП/AuНЧ) улучшает такие аналитические характеристики сенсора, как возрастание электроактивной площади поверхности электрода, усиление электрокаталитических свойств и кинетики переноса электронов. Это улучшение аналитических характеристик сенсора связано с синергичным действием золотых наночастиц и одномерных наноструктур на основе свинца. Ансамбли нанопроводов на электроде (PbНП/AuНЧ) были исследованы для детекции кардиомиоглобина в плазме крови, цитохрома P450 2B4 и цитохрома *c*. Комбинация наночастиц с различной пространственной протяженностью, “мерностью” (трехмерные наночастицы золота 3D и одномерные нанопровода 1D) создает платформу для электрохимического анализа белков с низкой концентрацией.

Ключевые слова: нанопровода на основе свинца (PbНП), одномерные наноструктуры, золотые наночастицы, синергизм, ансамбли нанопроводов на электроде.

ВВЕДЕНИЕ. Проблема регистрации маркеров различных заболеваний в биологических жидкостях представляет интерес как с теоретической, так и с практической стороны. Сложность этой проблемы связана с низкими концентрациями биомаркеров, что затрудняет проведение рутинного анализа быстро и количественно [1]. Электрохимические биосенсоры используются для определения уровня глюкозы и холестерина в крови, как пероксидазные датчики, геносенсоры, иммуносенсоры [2, 3]. “Прорыв” в разработке электрохимических биосенсоров связан с использованием нанокомпозитных материалов для модификации электродов и переходу к чипам или ансамблям наночастиц различной “мерности” на поверхности электрода [4]. Нанометровый размер структур приводит к изменению электронных состояний. Переход от массивного (объемного) материала к наноматериалу

* - адресат для переписки

происходит с разделением электронных зон на подзоны и отдельные электронные уровни, а переход от отдельных атомов и молекул сопровождается расширением отдельных уровней до зон, хотя эти переходы не носят резко выраженного характера [5].

Одномерные наноструктуры (1D) относятся к пространственно-упорядоченным наноструктурам и обладают рядом уникальных оптических, магнитных, электрохимических свойств, вытекающих из их пространственной анизотропии. К 1D- структурам относят материалы, имеющие размеры по двум направлениям не превышающие 100 нм. В этой категории наноматериалов проводят условное деление на нанопроволоки (nanorods) с соотношением длины к диаметру менее чем 10, нанопровода (nanowires) с соотношением большим, чем 10, и нанотрубки (nanotubes) с внутренним пространством [6]. На электронную проводимость, вследствие пространственной анизотропии одномерных наноструктур, сильно влияют малейшие модификации, такие как абсорбция или иммобилизация макромолекул. Эти свойства делают 1D материалы перспективными для создания высокочувствительных сенсоров и измерения аналитов в реальном времени [7].

Описано несколько подходов для получения пространственно-упорядоченных одномерных наноструктур. Матричный (template) способ основан на использовании электрохимического осаждения металлов или полупроводниковых материалов в пористых матрицах (анодисках, поликарбонатных мембранах, мезопористом кремнии, а также на выступах или в бороздках твёрдых поверхностей). Ограничивая рост новой фазы в определенных направлениях, матрицы влияют на форму и взаимное расположение наночастиц [8, 9]. Однако матричный синтез имеет ряд недостатков, в частности, необходимость удаления матрицы, сложность масштабирования получения нанопроводов для последующего коммерческого использования [6]. В связи с этим активно развиваются химические методы синтеза одномерных наноструктур на основе металлов и их производных [10, 11]. Одномерные наноструктуры на поверхности электродов получают, используя адсорбцию наночастиц на поверхности одномерных структур [12, 13]. Такая адсорбция часто приводит к эффекту синергизма за счёт проявления электрокаталитических свойств наночастиц и одномерных наноструктур, таких как нанопровода или углеродные нанотрубки. Получение ансамблей одномерных наноэлектродов на поверхности стационарных электродов исследовалось при разработке глюкозных биосенсоров (иммобилизация глюкозооксидазы [10, 14]), сенсоров для определения холестерина (иммобилизация холестериноксидазы [15]) по образующемуся в ходе ферментативной реакции пероксиду водорода. Исследования электрохимических свойств гемопротеинов с использованием нанопроводов не проводилось.

Цель данной работы – исследовать электроаналитические характеристики и электрокатализ гемопротеинов с использованием свинцовых нанопроводов в сочетании с наночастицами золота.

МЕТОДИКА.

Оборудование. Электрохимические измерения проводили с помощью потенциостата PGSTAT12 Autolab (“Eco Chemie” Нидерланды), снабжённого программным обеспечением GPES. Все измерения проводили при комнатной температуре в 0,1 М калий-фосфатном буфере, содержащем 0,05 М NaCl, pH 7,4. Цикловольтамперограммы (CV) регистрировали при скорости развёртки от 10 до 100 мВ/с. Параметры, используемые при исследовании квадратно-

волновой вольтамперометрии (КВВА, восстановление, аэробные условия), включали начальный потенциал 100 мВ, конечный потенциал –600 мВ, шаг потенциала 5 мВ, амплитуда 20 мВ, частота от 10 до 100 Гц. Параметры, используемые при дифференциальной импульсной вольтамперометрии (DPV): амплитуда импульса 25 мВ, начальный потенциал 100 мВ, конечный потенциал –600 мВ, шаг потенциала 1 мВ, продолжительность импульса 50 мс. В работе использовали трёхконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати ООО НПП “ЭЛКОМ”, (Россия, <http://www.elcom-moscow.ru>) (графитовая паста для печати Achison), с графитовыми рабочим и вспомогательным электродами, и хлорсеребряным внутренним электродом сравнения. Диаметр рабочего электрода 2 мм. Все потенциалы даны относительно хлорсеребряного электрода сравнения.

Реагенты. В работе использовали следующие реактивы: дидодецилдиметиламмоний бромид (ДДАБ), $\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, боргидрид натрия, L-цистеин – фирмы “Sigma-Aldrich” (США), кардиомиоглобин человека (8,1 мг/мл, № M9800-18), моноклональные антитела к миоглобину сердца человека (anti-human myoglobin, cardiac (anti-HMb, 1.05 мг/мл, M9800-16A) фирмы “USBiological” (США), цитохром c из сердца быка фирмы “Merck” (Германия).

Коллоидный раствор золота, стабилизированный ДДАБ в хлороформе, был охарактеризован спектрально: $\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ нм}$ [16].

Синтез нанопроводов на основе свинца (РbНП) проводили по методике [17].

33 мг нитрата свинца и 12 мг L-цистеина растворяли в 30 мл деионизованной воды при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке. Затем прибавляли 0,2 мл этаноламина и перемешивали 20 мин. Белый осадок отделяли центрифугированием, промывали 3 раза водой, а затем этанолом.

Приготовление электродов. На поверхность рабочего графитового электрода наносили послойно 1 мкл суспензии РbНП (спирт), 1 мкл 5 мМ коллоидного раствора золота в 0,1 М ДДАБ в хлороформе, 1 мкл суспензии РbНП после испарения хлороформа (10 мин) наносили 1 мкл исследуемого гемопротейна, антител к кардиомиоглобину (1 мкл 105 нг/мкл anti-HMb).

Электроды оставляли на 12 часов при +4°C во влажной камере, предотвращающей полное высыхание электродов.

Абсорбционные спектры поглощения на полихлорвиниловых пластинах регистрировали как описано в [16] после нанесения на прозрачные полихлорвиниловые пластины размером 4×2,5 мм 5 мкл 0,1 М ДДАБ/РbНП/АuНЧ в хлороформе, а затем, после испарения хлороформа, гемопротейн. Пластины помещали в стандартные спектральные полистирольные кюветы объёмом 1,5 мл. В качестве контроля использовали пластины с ДДАБ/РbНП/АuНЧ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В связи с уникальными свойствами одномерных наноструктур были исследованы сенсорные системы на основе графитовых печатных электродов (ПГЭ), модифицированных нанопроводами на основе свинца (РbНП) и нанопроводами на основе свинца (РbНП) с адсорбированными золотыми наночастицами (АuНЧ). Свинцовые нанопровода были получены при взаимодействии нитрата свинца с L-цистеином в присутствии этаноламина как основания ($\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COO-Pb-OH}$). РbНП были охарактеризованы с помощью сканирующего электронного микроскопа (рис. 1). Диаметр нанопроводов составлял 50 нм, а длина – более 10 мкм.

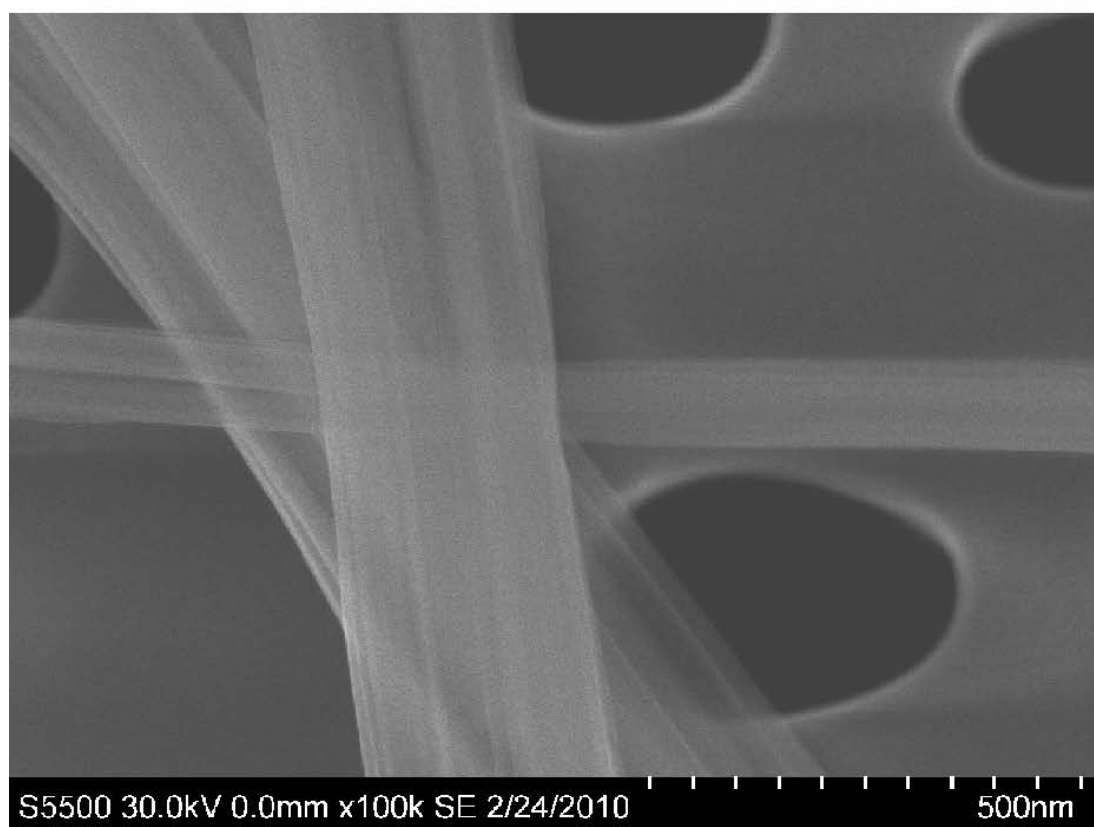
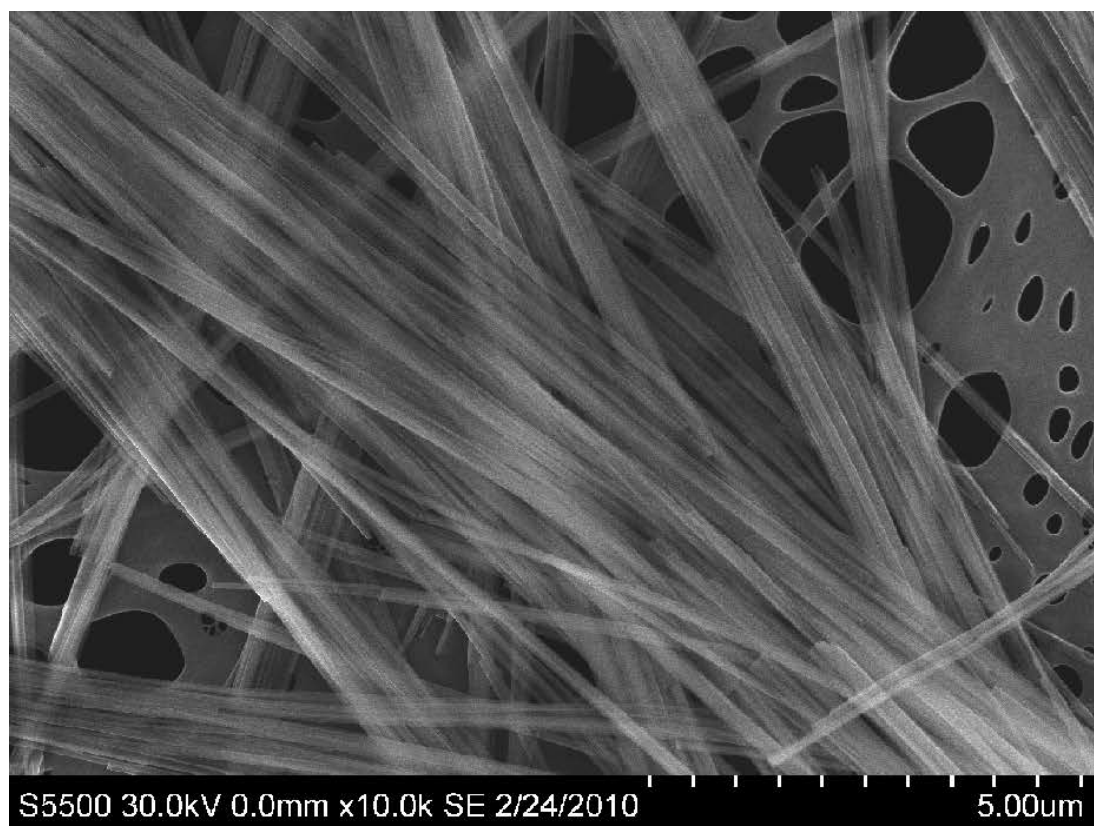


Рисунок 1.

Сканирующие электронные фотографии нанопроводов на основе свинца PbНП, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi S 5500).

Анализ электроактивной поверхности ПГЭ/РbНП и ПГЭ/РbНП/AuНЧ был проведён в присутствии внешнего электроактивного вещества 5 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$ феррицианида калия, при скорости сканирования 50 мВ/с. Как следует из рисунка 2, наибольшая электроактивность наблюдается для электродов, модифицированных свинцовыми нанопроводами с адсорбированными наночастицами золота. Электроактивная площадь поверхности для ПГЭ/РbНП/AuНЧ в 2,4 раза больше, чем аналогичный параметр ПГЭ/AuНЧ ($3,37 \cdot 10^{-2} \text{ см}^2$) [18].

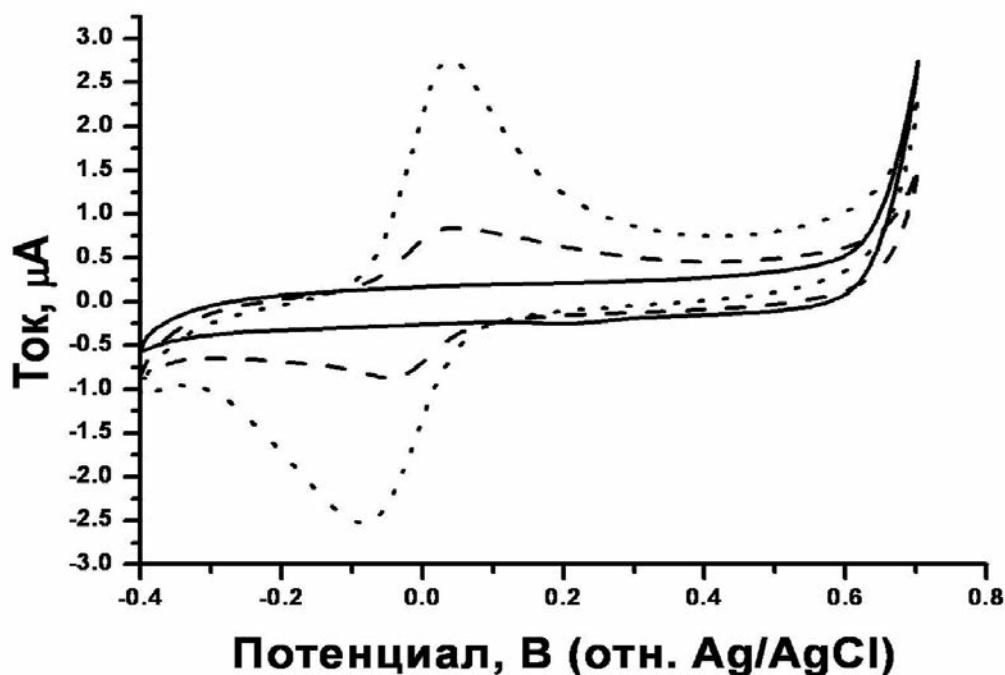


Рисунок 2.

Циклические вольтамперограммы электродов:

ПГЭ/AuНЧ/ДДАБ (—); ПГЭ/РbНП/AuНЧ/ДДАБ (···); ПГЭ/РbНП/ДДАБ (---)

в 5 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$; скорость сканирования 50 мВ/с. Фон - 1М KCl+0,1М KH_2PO_4 , pH=7,4.

Для иммобилизации гемопротеинов или антител на рабочем графитовом электроде, модифицированном нанопроводами или нанопроводами с адсорбированными наночастицами золота, был использован дидодецилдиметиламмоний бромид (ДДАБ) в качестве мембраны для удержания и фиксации белков. ДДАБ хорошо зарекомендовал себя в электрохимии гемопротеинов, т.к. является биосовместимым материалом. ДДАБ был использован также и для синтеза наночастиц золота в качестве стабилизирующего агента по отношению к коллоидным растворам золота [16, 19].

Цитохром *c* является классическим объектом исследования в биоэлектрохимии. При иммобилизации цитохрома *c* на рабочем электроде ПГЭ/РbНWs и ПГЭ/РbНП/AuНЧ наблюдаются чёткие пики окисления и восстановления, соответствующие процессу $Fe^{3+} + 1e^- \leftrightarrow Fe^{2+}$ и имеющие окислительно-восстановительный потенциал $E_{1/2} = 0 \text{ мВ}$ (рис. 3). Наибольшую электроактивность проявляли электроды ПГЭ/РbНП/AuНЧ и ПГЭ/AuНЧ с иммобилизованным цитохромом *c*: электроактивны 10% цитохрома *c* для электродов, наноструктурированных золотыми наночастицами (ПГЭ/AuНЧ)

и 30% для ПГЭ/РbНП/AuНЧ. Таким образом, наблюдается эффект синергизма при использовании одномерных нанопроводных структур на основе свинца и золотых наночастиц, являющихся электрокатализаторами переноса электронов от электрода к железу гема. Мембранные плёнки на основе ДДАБ/РbНП/AuНЧ являются биосовместимым материалом, так как спектры поглощения цитохрома *c* на пластинах с нанокompозитным материалом соответствуют спектрам гемопroteина в растворе.

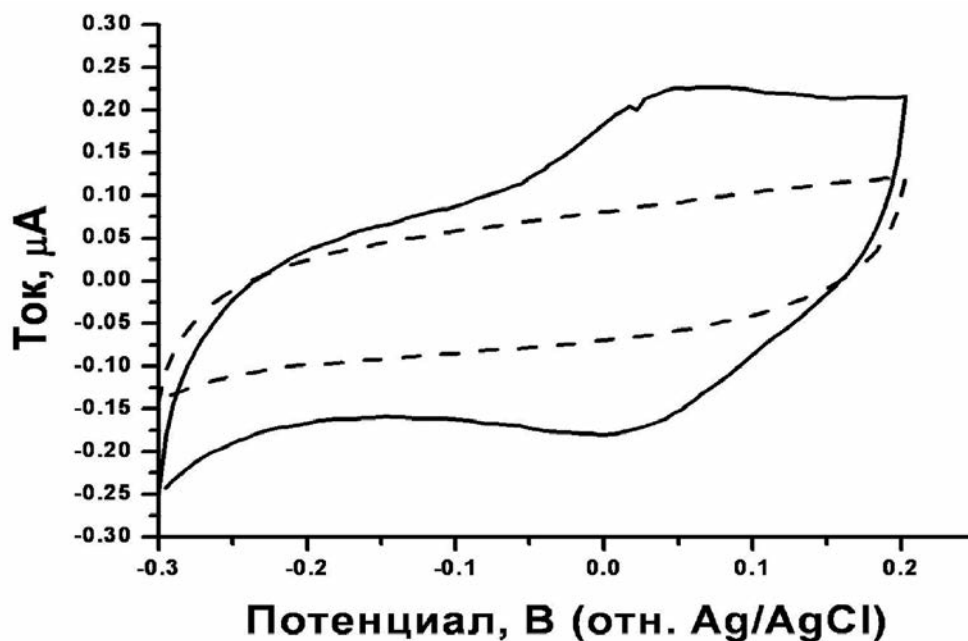


Рисунок 3.

Циклические вольтамперограммы электродов:
ПГЭ/AuНЧ/ДДАБ/cyt *c* (---); ПГЭ/РbНП/AuНЧ/ДДАБ/cyt *c* (—)
в 0,1М калий-фосфатном буфере, содержащем 0,05 М NaCl, pH=7,4.

Ранее было показано, что цитохром P450 2B4 проявляет электрохимическую активность при иммобилизации на электродах, наноструктурированных наночастицами золота [16, 20]. Как следует из рисунка 4, при модификации электрода нанопроводами свинца и наночастицами золота также возрастает электроактивность наноструктурированных электродов. При иммобилизации на рабочую поверхность 10^{-10} моль цитохрома P450 2B4 электроактивность для ПГЭ/РbНП/AuНЧ по сравнению с ПГЭ/AuНЧ существенно возрастает, что позволяет электрохимически детектировать с помощью цикловольтамперометрии до 10^{-12} моль/электрод. Использование вольтамперического анализа (квадратно-волновой вольтамперометрии, КВВА) позволяет снизить определяемый предел детекции цитохрома P450 до 10^{-15} моль/электрод. Электроды, модифицированные только одномерными структурами на основе свинца, проявляли меньшую электроактивность по сравнению с электродами ПГЭ/РbНП/AuНЧ и ПГЭ/AuНЧ. Такой эффект синергизма может быть связан с переходом золотых наночастиц в “режим одномерности” за счёт выстраивания на одномерных нанопроводах на основе свинца. ПГЭ/РbНП/AuНЧ/P450 2B4 электроды проявляли высокую электрокаталитическую активность: при прибавлении бензфетамина (Bz) –

субстрата цитохрома P450 2B4 – каталитический ток существенно возрастает. Соотношение токов для ПГЭ/PbНП/AuНЧ/P450 2B4 электрода $I(Bz)/I(O_2) = 5,2$, а для ПГЭ/AuНЧ/P450 2B4 электрода $I(Bz)/I(O_2) = 2,9$ [16].

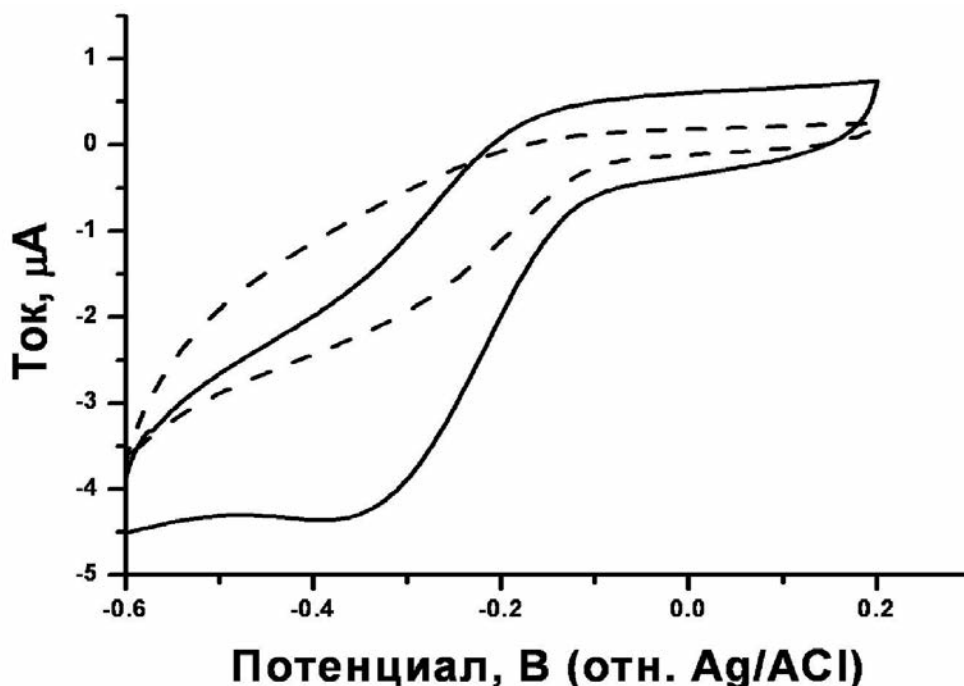


Рисунок 4.

Циклические вольтамперограммы электродов:
ПГЭ/AuНЧ/ДДАБ/P450 2B4 (---); ПГЭ/PbНП/AuНЧ/ДДАБ/P450 2B4 (—)
в 0,1M калий-фосфатном буфере содержащем 0,05 M NaCl, pH=7,4.

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются причиной почти половины всех смертей в мире [21]. Разработка методов детекции маркеров заболеваний в плазме крови пациентов является актуальной задачей в связи с развитием профилактической, диагностической и персонифицированной медицины. Многокомпонентный состав плазмы крови делает её достаточно сложным объектом, особенно, для электрохимического анализа [6]. Пороговые концентрации кардиомиоглобина, превышение которых свидетельствует об остром инфаркте миокарда (ОИМ), варьируют в достаточно широких пределах (от 70-100 мкг/л (3,93 нМ – 5,62 нМ) до 100-200 мкг/л (5,62 – 11,24 нМ) [22, 23] и, по всей видимости, зависят от индивидуальных особенностей организма.

Ранее нами были разработаны методы определения кардиомиоглобина в плазме крови пациентов с ОИМ [24, 25] с использованием электродов, модифицированных наночастицами золота (ПГЭ/AuНЧ). Электрохимический метод определения миоглобина основан на усилении сигнала гемопротеина при использовании электродов, модифицированных коллоидным золотом и на возникновении каталитического тока при взаимодействии миоглобина с кислородом.

Для исследования аналитических характеристик использовали вольтамперные отклики датчика, регистрируемые с помощью квадратно-волновой вольтамперометрии, (КВВА) имеющей большую чувствительность и лучшее соотношение шум – сигнал по сравнению с циклической вольтамперометрией.

Специфичность анализа определяется иммобилизацией антител к миоглобину. Механизм иммобилизации заключается во встраивании антител в матрицу ДДАБ и взаимодействия антител с золотыми наночастицами (возможно за счёт SH-групп). Коллоидные частицы золота имеют большую площадь поверхности и хорошую биосовместимость [26]. Использование ансамбля нанопроводов на электроде позволяет поднять чувствительность системы. Плазма крови пациента с ОИМ (120 нг/мл кардиомиоглобина, 7 нМ) была проанализирована с помощью электродов ПГЭ/РbНП/АuНЧ и ПГЭ/АuНЧ. На рисунке 5 приведены КВВА восстановительного пика кардиомиоглобина плазмы крови на электродах ПГЭ/РbНП/АuНЧ с иммобилизованными антителами к кардиомиоглобину. Была проанализирована плазма крови пациента с ОИМ, кардиомиоглобин в плазме был определен с помощью анализатора RAMP [24, 25]. Синергизм действия золотых наночастиц и одномерных структур на основе свинца проявляется и при анализе кардиомиоглобина: интенсивность сигнала возрастает примерно в 10 раз (рис. 5, врезка).

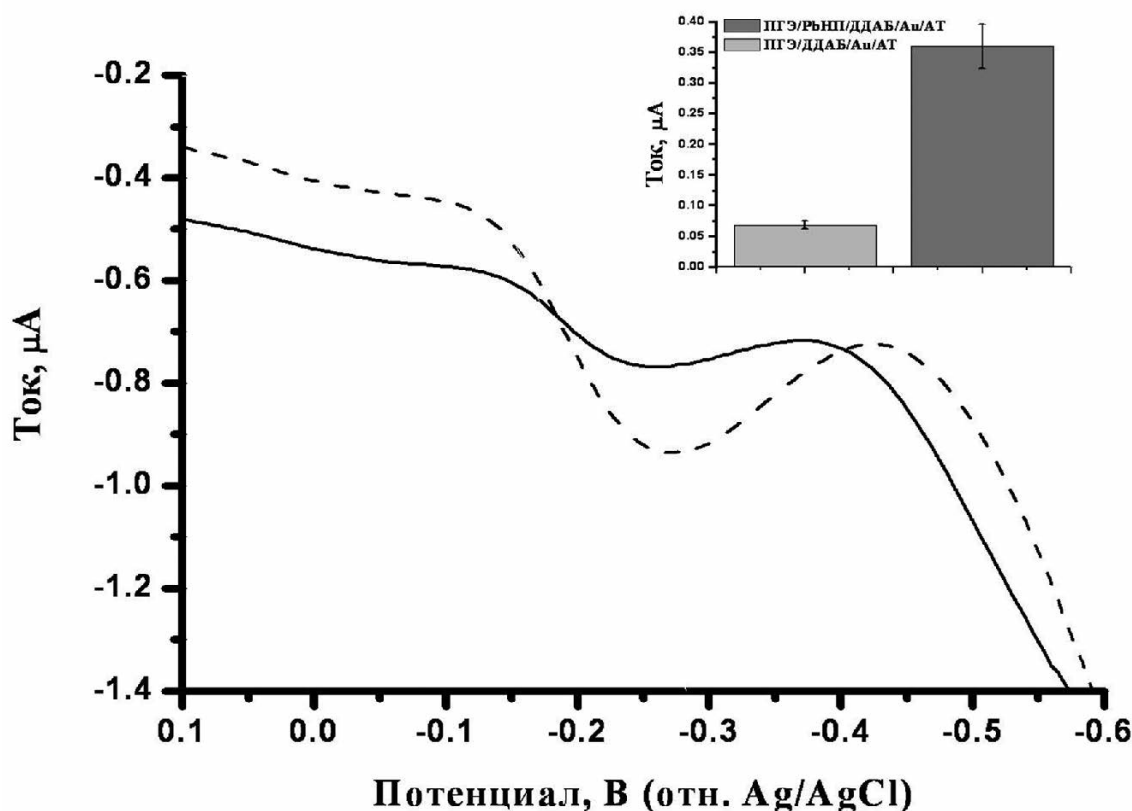


Рисунок 5.

Квадратно-волновые вольтамперограммы электродов:
 ПГЭ/АuНЧ-ДДАБ/АТ (---); ПГЭ/РbНП/АuНЧ-ДДАБ/АТ (—)
 с образцом плазмы крови (ID: ОИМ-0001, 120 нг/мл кардиомиоглобина, 7 нМ).
 Врезка. Максимальные амплитуды токов квадратно-волновых вольтамперограмм
 ПГЭ/АuНЧ/ДДАБ/АТ (серый фон); ПГЭ/РbНП/АuНЧ/ДДАБ/АТ (чёрный фон)
 с образцом плазмы крови (ID: ОИМ-0001, 120 нг/мл кардиомиоглобина, 7 нМ).
 На поверхность сенсоров наносили 2 мкл плазмы, 15 мин инкубировали при 37°C,
 затем выдерживали 15 мин в фосфатном буфере, pH=6,5 и измеряли сигнал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. На основании полученных результатов можно сделать вывод об эффективности использования нанопроводных ансамблей на поверхности графитовых печатных электродов. При модификации 1D структур золотыми наночастицами проявляется эффект синергизма за счёт перехода золотых наночастиц, обладающих высокой электрокаталитической активностью, в режим одномерности сопровождающийся переходом к пространственно-упорядоченным наноструктурам, обладающим пространственной анизотропией. Проблемой при работе с нанопроводами является получение “выровненных”, то есть ориентированных строго в одном направлении, наноструктур [27]. Решением этой проблемы может быть включение магнитных сегментов, ковалентное связывание одномерных наноструктур с поверхностью сенсора, закрепление нанопроводов в каналах определённой матрицы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального Агентства по науке и инновациям Министерства образования и науки РФ, (№ 02.740.11.0306), а также Межведомственной Программы “Протеомика в медицине и биотехнологии”.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ivanov Yu.D., Govorun V.M., Bykov V.A., Archakov A.I.* (2006) *Proteomics*, **6**, 1399-1414.
2. *Pumera M., Sanchez S., Ichinose I., Tang J.* (2007) *Sensor and Actuators B*, **123**, 1195-1205.
3. *Shumyantseva V.V., Suprun E.V., Bulko T.V., Dobrinina O.V., Archakov A.I.* (2010) *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **4**, 25-36.
4. *Wang M.C.P., Gates B.D.* (2009) *Materials Today*, **12**, 34-43.
5. *Суздальев И.П.* (2006) *Нанотехнология. Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов*, КомКнига, М.
6. *Chen J., Wiley B.J., Xia Y.* (2007) *Langmuir*, **23**, 4120-4129.
7. *Wang J.* (2005) *The Analyst*, **130**(4), 421-426.
8. *Lai M., Riley J.* (2008) *J. Colloid Interface Science*, **33**, 203-212.
9. *Wu X., Zhu F., Mu C., Liang Y., Xu L., Chen Q., Chen R., Xu D.* (2010) *Coord. Chem. Rev.*, **254**, 1135-1150.
10. *Hernandez-Velez M.* (2006) *Thin Solid Films*, **495**, 51-63.
11. *Zhao N., Sun N., Chen Q., Bai J., Zhou L., Qin Y., Li M., Qi L.* (2008) *Langmuir*, **24**, 991-998.
12. *Liu J., Guo C., Li C., Li Y., Chi Q., Huang X., Liao L., Yu T.* (2009) *Electrochem. Commun.*, **11**, 202-205.
13. *Wang H., Wang X., Zhang X., Qin X., Zhao Z., Miao Z.* (2009) *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 142-146.
14. *Liu Y., Zhu Y., Zeng Y., Xu F.* (2009) *Nanoscale Res. Lett.*, **4**, 210-215.
15. *Aravamudham S., Ramgir N., Bhansali S.* (2007) *Sensors and Actuators B*, **127**, 29-33.
16. *Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Rudakov Yu.O., Kuznetsova G.P., Samenkova N.F., Lisitsa A.V., Karuzina I.I., Archakov A.I.* (2007) *J. Inorg. Biochem.*, **101**, 859-865.
17. *Tong H., Zhu Y.-J., Yang L.X., Zhang L.* (2006) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 7739-7742.

18. Lu Y., Yang M., Qu F., Shen G., Yu R. (2007) *Bioelectrochemistry*, **71**, 211-216.
19. Han X., Cheng W., Zhang Z., Dong S., Wang E. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1556**, 273-277.
20. Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Rudakov Yu.O., Kuznetsova G.P., Samenkova N.F., Lisitsa A.V., Karuzina I.I., Archakov A.I. (2007) *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **1**, 327-333.
21. Altmeyer S., Scharbotough P., Peto V., Rayner M., Lean J., Luengo-Fernandez R. (2008) *European cardiovascular disease statistics, 2008 edition*, London: British Heart Foundation.
22. Matveeva E.G., Gryczynski Z., Lakowicz J.R. (2005) *J. Immunol. Methods*, **302**, 26-35.
23. McDonnell B., Hearty S., Leonard P., O'Kennedy R. (2009) *Clin. Biochem.*, **42**, 549-561.
24. Suprun E., Bulko T., Lisitsa A., Gnedenko O., Ivanov A., Shumyantseva V., Archakov A. (2010) *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 1694-1698.
25. Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Vagin M.Yu., Suprun E.V., Archakov A.I. (2010) *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **4**, 237-242.
26. Wang M., Wang L., Wang G., Ji X., Bai Y., Li T., Gong S., Li J. (2004) *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 575-582.
27. Compton R., Wildgoose G., Rees N., Streeter I., Baron R. (2009) *Chem. Phys. Letters*, **439**, 1-17.

Поступила: 30.06. 2010.

ELECTROCHEMICAL SENSOR SYSTEMS BASED ON ONE DIMENSIONAL (1D) NANOSTRUCTURES FOR ANALYSIS OF BIOAFFINITY INTERACTIONS

V.V. Shumyantseva, T.V. Bulko, E.V. Suprun, A.I. Archakov

Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia; e-mail: viktorina.shumyantseva@ibmc.msk.ru

It was shown that modification of screen printed graphite electrodes with gold nanoparticles (AuNPs) decorated Pb nanowires (PbNWs) demonstrates the enhancement of sensor's analytical characteristics such as effective surface area, electro catalytic properties and heterogeneous electron transfer kinetics. The reason for such improvement may be the synergistic effect of AuNPs and PbNWs. Nanowires ensembles on electrode surface were employed for the detection of hemeproteins cytochrome P450 2B4, cytochrome *c*, and cardiac myoglobin in human plasma. Composite materials based on nanoparticles with different dimensions (3D three dimensional gold nanoparticles and 1D one dimensional Pb nanowires) make it possible to construct biosensors with low detection limit of proteins.

Key words: Pb nanowires, gold nanoparticles, synergism nanowires ensembles on electrode.