

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 557.152.3, 538.975, 621.382.3

©Коллектив авторов

КНИ-НАНОПРОВОЛОЧНЫЙ БИОСЕНСОР ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БЕЛКА D-NFAT 1

*К.А. Мальсагова¹, Ю.Д. Иванов¹, Т.О. Плешакова¹, А.Ф. Козлов¹,
Н.В. Крохин¹, А.Л. Кайшева¹, И.Д. Шумов^{1*}, В.П. Попов², О.В. Наумова²,
Б.И. Фомин², Д.А. Насимов²*

¹Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121, г. Москва, ул. Погодинская, 10; тел.: (7)(499)2463761; факс: (7)(499)2450857;
эл. почта: shum230988@mail.ru

²Институт физики полупроводников им.А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской
академии наук, 630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 13

Одним из быстродействующих и высокочувствительных методов, позволяющих выявлять потенциально важные белковые молекулы, является метод нанопроволочной (НП) детекции. Нанопроволочный биосенсор на основе структур кремний на изоляторе (КНИ), был использован для биоспецифической детекции NFAT 1 (D-NFAT 1)-онкомаркера в реальном времени без меток. Для этого КНИ-нанопроволоки были модифицированы аптамерами к NFAT 1, используемыми в качестве макромолекулярных зондов. Показано, что такой биосенсор позволяет достигать чувствительность порядка 10^{-15} М. Эта чувствительность сопоставима с чувствительностью, полученной на нанопроволочном биосенсоре с иммобилизованными антителами, используемыми в качестве макромолекулярных зондов. Результаты демонстрируют перспективность использованных в работе подходов формирования сенсорных элементов для высокочувствительной диагностики заболеваний.

Ключевые слова: аптамер, биосенсор, D-NFAT 1, кремний на изоляторе, нанопроволоки.

DOI: 10.18097/PBMC20156104462

ВВЕДЕНИЕ

Для ранней диагностики заболеваний необходимо регистрировать белковые биомаркеры с очень низким уровнем концентрации в биологической жидкости пациента, порядка 10^{-13} М и ниже. Для этой цели в последнее время разрабатываются новые типы биосенсоров на основе нанотехнологий, в частности, сенсор на основе АСМ [1-4], оптические нанобиосенсоры [5-8], нанопроволочные биосенсоры [9, 10]. Наибольший интерес для диагностики представляют нанопроволочные биосенсоры (НП-биосенсоры) в связи с тем, что они относятся к классу так называемых безметковых ("label-free") детекторов и позволяют проводить регистрацию макромолекул в режиме реального времени.

Принцип действия НП-биосенсоров основан на регистрации модуляции тока, протекающего через НП при адсорбции на его поверхность молекул аналита. Адсорбированные молекулы выступают в таких биосенсорах в виде виртуального затвора, а сам НП с омическими контактами на концах – в виде полевого нанотранзистора [11]. Высокая чувствительность НП-сенсорного элемента определяется большим аспектным соотношением поверхность/объем [12]. Как обсуждается в работе [13], теоретический предел детекции нанопроволочного биосенсора может достигать уровня единичной молекулы на сенсорный элемент. К настоящему времени, такая концентрационная чувствительность для НП-биосенсоров была достигнута для вирусов [11].

Принятые сокращения: AFP – альфа-фетопротеин; Anti-GST - антитела против глутатион S-трансферазы; Anti-NFAT 1 Ab - антитела против Anti-NFAT 1; apta – олигонуклеотид, специфически связывающийся с D-NFAT 1; APTES – 3-аминопропилтриэтоксисилан; DL – предел детектирования (предел обнаружения); DMSO – диметилсульфоксид; D-NFAT 1 – ядерный фактор активированных Т-клеток (Nuclear Factor of Activated T Cells, cytoplasmic 1); DSP – дитиобис(сукцинимидил пропионат); GST – глутатион S-трансфераза; КР – калий-фосфатный буферный раствор; Анти-AFP – антитело против альфа-фетопротеина; КНИ – кремний на изоляторе; НП – нанопроволока (нанопровод); НП-биосенсор – нанопроволочный биосенсор.

* - адресат для переписки

Для белков экспериментально достигнутый предел детектирования (DL) составляет фемтомолярный уровень как, например, показано для пары антитело/лептин [14], для пары авидин/биотин [15] или для пары анти-AFP/AFP (AFP – альфа-фетопротейн) [10]. Такая чувствительность была достигнута при использовании антител, иммобилизованных на поверхности нанопроволочного биосенсора в качестве молекул-зондов. В то же время, использование антител ограничивает количество белковых маркеров, которые могут быть использованы в диагностических целях. Это связано с высокой стоимостью производства антител, невысокой стабильностью и, зачастую, недостаточно высокой аффинностью. В последнее время появился новый класс синтетических молекул – аптамеры, которые могут быть использованы в качестве биоспецифических молекул-зондов к таким мишеням, как белки, аминокислоты, лекарства и другие молекулы. Аптамеры – олигонуклеотиды с высоким сродством к заданным молекулярным мишеням, представляющие собой фрагменты однонитевой ДНК или РНК, обычно размером от 30 до 80 нуклеотидов, образующие трёхмерные структуры в результате взаимодействия комплементарных участков цепи [16]. Аптамеры имеют такие преимущества перед антителами, как лучшая константа аффинности, высокая стабильность при комнатной температуре, возможность химической модификации концевых групп, небольшой период их разработки, а также низкая стоимость. Благодаря этим преимуществам, аптамеры начинают находить применение в протеомике, диагностике и терапии [17-19]. Естественно, представляет интерес использование аптамеров в качестве молекул-зондов в нанопроволочных биосенсорах. Такие биосенсоры получили название аптасенсоры. Нанопроволочные аптасенсоры были изготовлены на основе нанотрубок [20] и полианилиновых проволок [21]. Достигнутая чувствительность биосенсоров на основе нанотрубок составляет $\sim 10^{-12}$ М. В случае полианилиновых биосенсоров, был достигнут предел 10^{-15} М. В то же время, наиболее привлекательной в плане производства нанопроволочных детекторов является стандартная кремниевая технология, которая развивается уже на протяжении нескольких десятков лет. Так, для регистрации тромбина в работе [22] использовался Si-НП биосенсор с иммобилизованным антитромбиновым аптамером. Однако чувствительность детекции была невысока, на уровне 300 пМ. Кремниевые НП были созданы на основе технологии с использованием Au в качестве катализатора при эпитаксиальном росте проволок из паровой фазы (Au-catalyst-assisted chemical vapor process). Ранее на примере белков AFP и поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) [10] мы показали, что использование альтернативного метода производства монокристаллических Si нанопроволок с помощью электронно-лучевой литографии и плазменного травления позволяет более технологично

проводить наноструктурирование слоёв КНИ (с использованием электронной литографии и газо-плазменным травлением) и достигать чувствительность детекции на уровне 10^{-14} - 10^{-15} М. В настоящей работе использован этот же метод формирования КНИ-НП для изготовления биосенсора, модифицированного аптамерами к белку NFAT 1 (ядерным фактором активированных Т-клеток, кодируемому геном в составе 18 хромосомы), и сравнения чувствительности полученного аптасенсора с биосенсором, в котором в качестве зондов – молекул используются антитела. Было показано, что такой КНИ-НП биосенсор позволяет достигать концентрационную чувствительность на уровне 10^{-15} М, как для аптамеров, так и для антител, используемых в качестве зондов – молекул.

Выбор NFAT 1 был обусловлен его диагностическим значением. Недавно было показано, что NFAT 1 – это транскрипционный фактор, экспрессия которого повышается в раковых клетках [23]. В настоящей работе показано, что использование КНИ-нанопроволочного аптасенсора с шириной НП 90 нм, позволяет достичь чувствительности регистрации D-NFAT 1 на уровне $2,5 \times 10^{-15}$ М в режиме реального времени. Совместимость технологии формирования КНИ-НП со стандартной Si технологией, возможность масштабирования КНИ-НП (создание массива сенсорных элементов) позволит в дальнейшем использовать их для высокочувствительной диагностики.

МЕТОДИКА

Реактивы

Дитиобис(сукцинимидил пропионат) (DSP) был получен от “Pierce” (США). Фосфат калия, диметилсульфоксид (DMSO) и 3-аминопропил-триэтоксисилан (APTES) были получены от “Sigma-Aldrich” (США). Деионизованная вода была получена при использовании системы очистки Millipore Simplicity UV (“Millipore”, Франция).

Белки и аптамер. ДНК-связывающий фрагмент ядерного фактора активированных Т-клеток NFATc1, моноклональные антитела против NFATc1 и олигонуклеотид были любезно предоставлены к.х.н. А.Ю. Рубиной, руководителем Группы белковых биочипов ИМБ им. В.А. Эндельгардта РАН. В работе использован олигонуклеотид со следующей последовательностью [24]: AAATGGAAAATA-CACCTTTTGTGTATTTTCATTTTTTTTTTTTTT-NH₂.

Последовательность контрольного олигонуклеотида (олиг 1): NH₂-TTTTTTTTTTTTTAGTCGACCAGTT-TACCAGAACATCTGC.

Использованы моноклональные антитела анти-GST производства “Abnova” (США) (GST monoclonal antibody, clone S-tag-05 # MAB3651).

Изготовление сенсоров

В качестве сенсоров использовали КНИ-НП транзисторы, изготовленные при помощи

электронной литографии и плазмо-химического травления. Изготовление транзисторов описано в [25, 26]. Структуры КНИ имели n-тип проводимости с концентрацией носителей заряда $\sim 6 \times 10^{16} \text{ см}^{-3}$. Толщина отсечённого слоя Si составляла 32 нм, скрытого оксида (buried oxide, BOX) – 300 нм. Ширина КНИ-НП составляла $W=90 \text{ нм}$, толщина $T=32 \text{ нм}$, длина $L=10 \text{ мкм}$, число нанопроволок на кристалле – 12. Области стока-истока были созданы методом нанесения 250 нм слоёв поли-Si с последующим легированием фосфором. Сформированные таким образом p⁺-омические контакты определяли режим обогащения n-КНИ НП транзисторов в процессе измерений. КНИ НП были попарно сгруппированы. Для измерений в электролитических растворах на поверхность кристалла с набором КНИ-НП транзисторов был нанесён защитный слой окисленного тетраэтилортосиликата. Схема биосенсора описана в [10]. Микрожидкостная кювета биосенсора имела объём 500 мкл, дном которой был наночип с диаметром чувствительной зоны 2 мм. Кювета была снабжена мешалкой. Скорость перемешивания раствора составляла 3000 об/мин.

Модификация поверхности сенсора

Нанопроволочный чип был вначале промыт в растворе $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}=1:4$ для удаления с поверхности нанопроводов органических загрязнений, а затем обработан в растворе, содержащем HF и CH_3OH (1:50) в течение 30 с для удаления естественного оксида и стабилизации поверхности. После этого поверхность НП-чипа обрабатывали в озонаторе для формирования гидроксильных групп на поверхности нанопроводов [27]. Слой APTES на поверхности НП формировался при экспонировании чипа в парах APTES в течение 20 ч при комнатной температуре по процедуре, аналогичной [28]. Согласно [28], сформированный таким образом слой APTES должен иметь определённую толщину 0,9-1,2 нм.

Олигонуклеотиды и антитела против NFAT 1 были ковалентно иммобилизованы на аminosилановую поверхность разных НП с помощью DSP, аналогично процедуре, описанной в работе [29]. Для этой цели растворы ($V=3 \text{ нл}$), содержащие аптамеры, контрольные олигонуклеотиды (0,8 мкМ) или антитела (1 мкМ) в калий-фосфатном (КР) буферном растворе (50 мМ, pH 7,4) были нанесены на активированную с помощью DSP поверхность отдельных нанопроводов. Прецизионное нанесение растворов осуществлялось с помощью распылительной системы Piezotray (“PerkinElmer”, Inc., США). Инкубационные растворы выдерживали на 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. Схема модификации поверхности с помощью APTES и функционализации поверхности с помощью антител и аптамеров и детекции белков приведена на рисунке 1.

Электрические измерения

Электрические измерения проводили с помощью пикоамперметра фирмы “Keithley” (США) (модель 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 в экспериментах в калий-фосфатном (КР) буферном растворе, pH 7,4 были получены при $V_g=0 \div 100 \text{ В}$ и $V_{ds}=0,15 \text{ В}$. Для регистрации белка с помощью нанопроволочного биосенсора, белковый раствор объёмом 50 мкл (D-NFAT 1 в 1 мМ КР, pH 7,4) добавляли в измерительную кювету, содержащую 100 мкл буферного раствора. Временные зависимости тока $I_{ds}(t)$ измеряли при $V_g=+90 \text{ В}$ и $V_{ds}=0,2 \text{ В}$. В целях повышения временной стабильности работы нанопроволочного биосенсора использовался дополнительный Pt-электрод, погруженный в раствор измерительной ячейки на расстоянии от поверхности НП 5 мм. Напряжение, подаваемое на Pt-электрод, составляло +4 В.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для селективной биоспецифической детекции D-NFAT 1, КНИ-НП были функционализированы аптамерами и антителами против NFAT 1. Для этого, соответствующая пара нанопроволок была модифицирована посредством ковалентной иммобилизации этих зондов на поверхности нанопроволок через стандартную процедуру с использованием DSP (см. раздел “Методика”). Для учёта неспецифической сорбции D-NFAT 1, другая пара нанопроволок, расположенная на том же чипе, была функционализирована контрольным олигонуклеотидом (олиг-1) и anti-GST, не имеющими специфического взаимодействия с D-NFAT 1.

Детекция D-NFAT 1 была проведена в кювете нанопроволочного биосенсора. Мониторинг временных зависимостей тока $I_{ds}(t)$ для КНИ-НП транзистора, модифицированного антителами к NFAT 1, осуществляли при фиксированном напряжении (V_g) на затворе (подложке структур КНИ) и при подаче положительного напряжения на дополнительный Pt-электрод, погруженный в раствор измерительной ячейки, то есть в режиме реального времени, в котором обычно проводится детекция белков в целях диагностики. Для того чтобы избежать проблемы с Дебаевским экранированием, была выбрана низкая концентрация инкубационного буферного раствора (1 мМ КР, pH 7,4). При такой концентрации буферных растворов радиус Дебая (λ_D) составляет порядка 5 нм, что достаточно, чтобы регистрировать образование белковых комплексов на поверхности наночипа.

На рисунке 2 представлены временные зависимости тока, полученные до и после добавления в кювету НП-биосенсора анализируемых растворов D-NFAT 1 с концентрацией белка от 10^{-13} до 10^{-16} М .

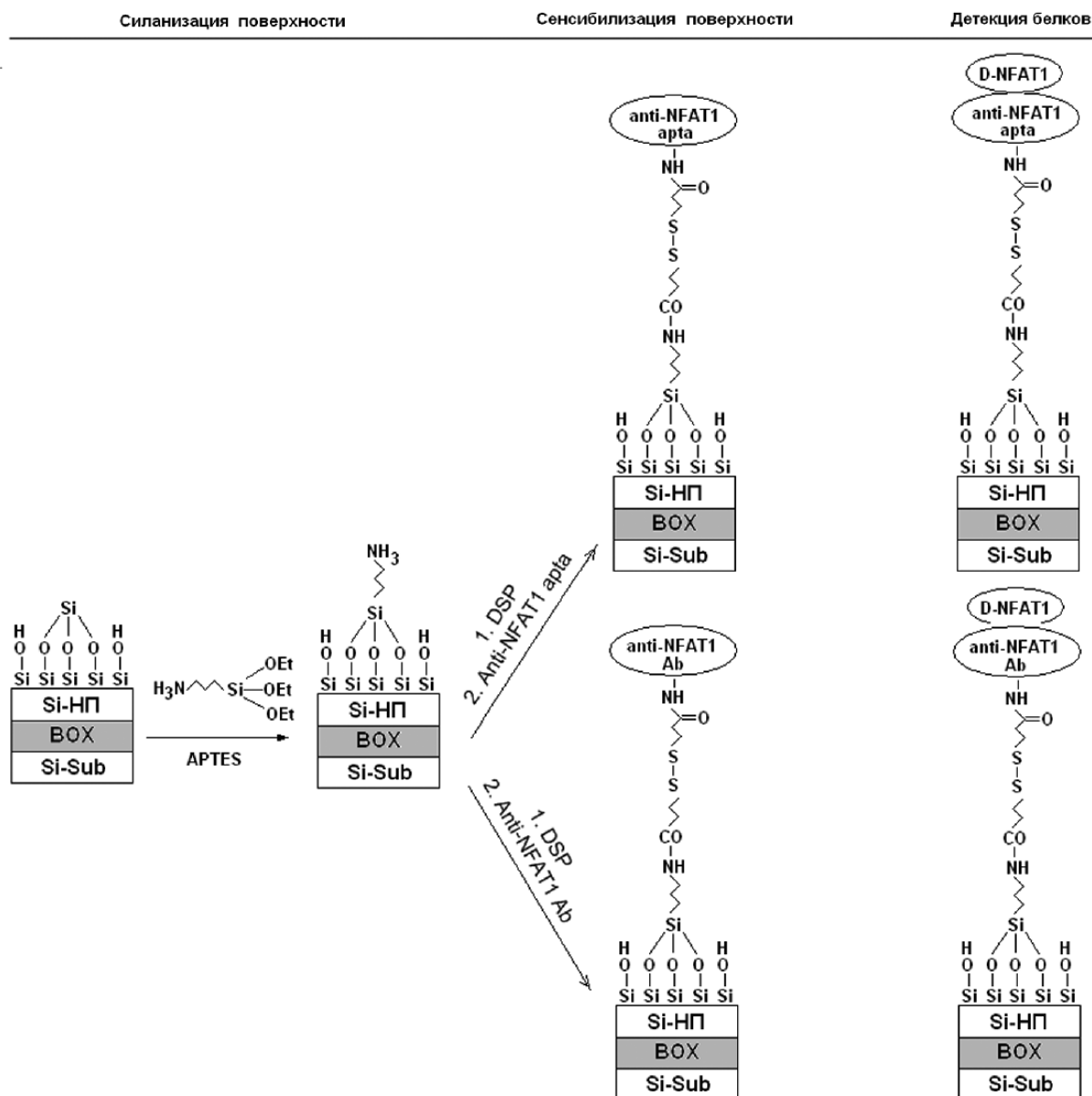


Рисунок 1. Схема химической модификации и функционализации нанопроволок антителами (анти-NFAT 1-Ab) и аптамерами (анти-NFAT 1-apta).

Представленные зависимости являются разностными сигналами, рассчитанными аналогично [10]. Для расчёта разностного сигнала в случае НП, функционализированного anti-NFAT Ab, учитывали данные контрольного НП, с иммобилизованным anti-GST. В другом случае, для расчёта разностного сигнала при использовании НП, с иммобилизованным аптамером против NFAT 1, учитывались данные, зарегистрированные для контрольного НП, с иммобилизованным олигонуклеотидом “олиг-1” (см. раздел “Методика”).

В работе был использован D-NFAT 1 – домен глобулярного белка NFAT 1 (молекулярный вес 24 кДа) с расчётной изоэлектрической точкой $pI=4,7$ (ExPASy: SIB Bioinformatics Resource Portal). В условиях эксперимента этот белок имеет эффективный отрицательный заряд. Адсорбция

отрицательно заряженных молекул на поверхности Si-НП n-типа проводимости должна приводить к уменьшению его проводимости. Из рисунка 2 видно, что при добавлении раствора D-NFAT 1 наблюдается такое уменьшение проводимости НП, обусловленное адсорбцией отрицательно заряженных молекул на её поверхности. Также из рисунка 2 видно, что наблюдается уменьшение величины сигнала биосенсора при уменьшении концентрации добавляемого белка от 10^{-13} до 10^{-15} М. При детекции раствора с концентрацией белка $2,5 \times 10^{-16}$ М изменения сигнала НП-биосенсора не наблюдалось.

Таким образом, минимальная детектируемая концентрация молекул D-NFAT 1, составила $2,5 \times 10^{-15}$ М как в случае использования НП с иммобилизованными антителами, так и в случае

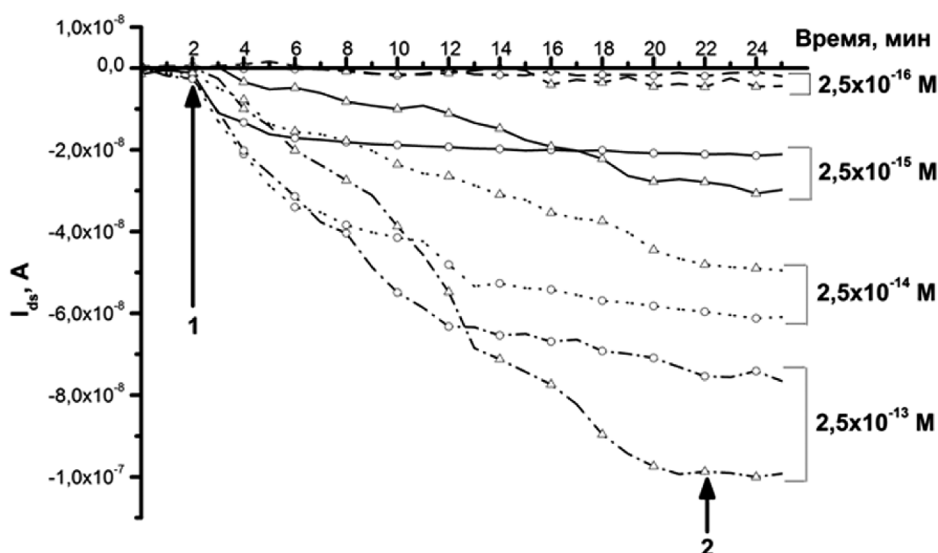


Рисунок 2. Зависимость $\Delta I_{ds}(t)$ при биоспецифической детекции D-NFAT 1с помощью НП, с иммобилизованными антителами или аптамерами, соответственно, маркеры (O) или (Δ). Концентрация D-NFAT1 в анализируемом растворе, М: (— · — · — · —) $2,5 \times 10^{-13}$; (·····) $2,5 \times 10^{-14}$; (—) $2,5 \times 10^{-15}$; (— — —) $2,5 \times 10^{-16}$. Стрелками указано: (1) добавление раствора белка и (2) добавление отмывочного буфера.

использования НП с иммобилизованными аптамерами. После замены раствора D-NFAT 1 на КР буферный раствор, также не наблюдалось существенного изменения уровня сигнала. Это означает, что диссоциация комплексов антитело/белок и аптамер/белок очень медленная.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показали, что используемые в данной работе КНИ НП аптасенсор позволяет проводить детекцию D-NFAT 1 в реальном времени без меток. Предел концентрационной чувствительности для 90 нм КНИ-НП с иммобилизованными аптамерами составил $2,5 \times 10^{-15}$ М – такой же порядок, как и для нанопроводов с иммобилизованными антителами. Учитывая, что аптамеры имеют перед антителами существенное преимущество по их стабильности и стоимости производства, то аптасенсоры могут заменить биосенсоры на основе антител для быстрого белкового скрининга и экспресс-диагностики заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта ФЦНТП № 14.512.11.0018.

ЛИТЕРАТУРА

- Ivanov Y.D., Bukharina N.S., Frantsuzov P.A., Pleshakova T.O., Kanashenko S.L., Medvedeva N.V., Argentova V.V., Zgoda V.G., Munro A.W., Archakov A.I. (2012) *Soft Matter*, **8**, 4602-4608.
- Ivanov Yu.D., Frantsuzov P.A., Zollner A., Medvedeva N.V., Archakov A.I., Reinle W., Bernhardt R. (2011) *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 54-67.
- Ivanov Yu.D., Frantsuzov P.A., Bykov V.A., Besedin S.P., Hui Bon Hoa G., Archakov A.I. (2010) *Anal. Methods*, **2**, 688-693.
- Ivanov Y.D., Archakov A.I. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, **1814**, 102-110.
- Archakov A.I., Ivanov Y.D. (2002) *Meth. Enzymol.*, **357**, 94-103.
- Armani A.M., Kulkarni R.P., Fraser S.E., Flagan R.C., Vahala K.J. (2007) *Science*, **317**, 783-787.
- Sim H.R., Wark A.W., Lee H.J. (2010) *Analyst*, **135**, 2528-2532.
- Rodriguez-Lorenzo L., de la Rica R., Álvarez-Puebla R.A., Liz-Marzán L.M., Stevens M.M. (2012) *Nature Mater.*, **11**, 604-607.
- Zheng G., Patolsky F., Cui Y., Wang W.U., Lieber C.M. (2005) *Nature Biotech.*, **23**, 1294-1301.
- Ivanov Yu.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., Archakov A.I. (2012) *Lab. Chip*, **12**, 5104-5111.
- Patolsky F., Zheng G.F., Hayden O., Lakadamyali M., Zhuang X., Lieber C.M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 14017-14022.
- Elfstrom N., Juhasz R., Sychugov I., Engfeldt T., Eriksson-Karlström A., Linnros J. (2007) *Nano Lett.*, **7**, 2608-2612.
- Hahn J., Lieber C.M. (2004) *Nano Lett.*, **4**, 51-54.
- Pui T.-S., Agarwal A., Ye F., Tou Z.-Q., Huang Y., Chen P. (2009) *Nanoscale*, **1**, 159-163.
- Carrara S., Sacchetto D., Doucey M.A., Baj-Rossi C., De Miceli G., Leblebici Y. (2012) *Sens. Actuat. B*, **171-172**, 449-457.
- Радько С.П., Рахметова С.Ю., Бодоев Н.Б., Арчаков А.И. (2007) *Биомед. химия*, **53**, 5-24.
- Brody E.N., Gold L. (1999) *Mol. Diagn.*, **4**, 381-388.
- Lai R.Y., Plaxco K.W., Heeger A.J. (2007) *Anal. Chem.*, **79**, 229-233.
- Ng E.W., Shima D.T., Calais P., Cunningham E.T. Jr., Guyer D.R., Adamis A.P. (2006) *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 123-132.
- An T.C., Kim K.S., Hahn S.K., Lim G.B. (2010) *Lab. Chip*, **10**, 2052-2056.

21. Luo X., Lee I., Huang J., Cui X.T. (2011) Chem. Commun., **47**, 6368-6370.
22. Kim K.S., Lee H.-S., Yang L.-A., Jo M.-H., Hahn S.K. (2009) Nanotechnology, **20**, 23550.
23. Yiu G.K., Kaunisto A., Chin Y.R., Toker A. (2001) Biochem. J., **440**, 157-166.
24. Jolma A., Kivioja T., Toivonen J., Cheng L., Wei G., Enge M., Taipale M., Vaquerizas J.M., Yan J., Sillanpää M.J., Bonke M., Palin K., Talukder S., Hughes T.R., Luscombe N.M., Ukkonen E., Taipale J. (2010) Genome Res., **20**, 861-873.
25. 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., Archakov A.I. (2010) Semicond. Sci. Technol., **25**, 055004.
26. Наумова О.В., Фомин Б.И., Сафронов Л.Н., Насимов Д.А., Ильницкий М.А., Дудченко Н.В., Десяткова С.Ф., Жанаев Э.Д., Попов В.П., Латышев А.В., Асеев А.Л. (2009) Автометрия, **45**(4), 6-11.
27. Lee M.-H., Lee D.-H., Jung S.-W., Lee K.N., Park Y.S., Seong W.K. (2010) Nanomedicine, **6**, 78-83.
28. Yamada K., Yoshii S., Kumagai S., Fujiwara I., Nishio K., Okuda M., Matsukawa N., Yamashita I. (2006) Jpn. J. Appl. Phys., **45**, 4259-4264.
29. 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., Широкин А.В., Арчаков А.И. (2014) Биомед. химия, **60**, 28-50.

Поступила: 13. 08. 2013.

SOI-NANOWIRE BIOSENSOR FOR THE DETECTION OF D-NFAT 1 PROTEIN

K.A. Malsagova¹, Yu.D. Ivanov¹, T.O. Pleshakova¹, A.F. Kozlov¹, N.V. Krohin¹, A.L. Kaysheva¹, I.D. Shumov¹, V.P. Popov², O.V. Naumova², B.I. Fomin², D.A. Nasimov²

¹Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; tel.: (7)(499)2463761; fax: (7)(499)2450857;
e-mail: shum230988@mail.ru;

²Rzhanov Institute of Semiconductor Physics, 13 Lavrentieva av., Novosibirsk, 630090 Russia

The nanowire (NW) detection is one of fast-acting and high-sensitive methods allowing to reveal potentially relevant protein molecules. A NW biosensor based on the silicon-on-insulator (SOI)-structures was used for biospecific label-free detection of NFAT 1 (D-NFAT 1) oncomarker in real time. For this purpose, SOI-nanowires (NWs) were modified with aptamers against NFAT 1 used as molecular probes. It was shown that using this biosensor it is possible to reach the sensitivity of $\sim 10^{-15}$ M. This sensitivity was comparable with that of the NW biosensor with immobilized antibodies used as macromolecular probes. The results demonstrate promising approaches used to form the sensor elements for high-sensitive disease diagnostics.

Key words: aptamer, biosensor, D-NFAT 1, silicon-on-insulator, nanowires.