

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 542.6.063

**ОПТИМИЗАЦИЯ КОВАЛЕНТНОЙ ИММОБИЛИЗАЦИИ ДНК
ДЛЯ МЕТОДА КОНТАКТНОЙ ПЕЧАТИ**

**Алексей Александрович Титов¹, Александр Евгеньевич Кузнецов²,
Наталья Владимировна Комарова¹**

¹ Научно-производственный комплекс «Технологический центр»,
г. Зеленоград, Москва, Россия

² Институт нанотехнологий микроэлектроники Российской академии наук,
Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Наталья Владимировна Комарова,
nat.v.kom@gmail.com

Аннотация. Метод контактной печати широко используется для создания микрочипов и разработки высокочувствительных биосенсоров. В основе этого метода лежат методики иммобилизации биомолекул. В настоящей работе две эффективные методики ковалентной иммобилизации олигонуклеотидов, основанные на реакциях формирования дисульфидной связи и азид-алкинового циклоприсоединения, были оптимизированы для метода контактной печати. При обоих вариантах иммобилизации олигонуклеотиды сохраняют способность к гибридизации с комплементарной ДНК, что создает основу для их практического использования в биоаналитических приложениях.

Ключевые слова: иммобилизация, ДНК, микрочипы, контактная печать

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-2-153-162

Финансирование. Исследование выполнено за счет Российского научного фонда (проект № 21-79-10175, <https://rscf.ru/project/21-79-10175/>).

Для цитирования: Титов А.А., Кузнецов А.Е., Комарова Н.В. Оптимизация ковалентной иммобилизации ДНК для метода контактной печати // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2025. Т. 66. № 2. С. 153–162.

ORIGINAL ARTICLE

**OPTIMIZATION OF COVALENT DNA IMMOBILIZATION FOR CONTACT
PRINTING METHOD**

Alexey A. Titov¹, Alexander E. Kuznetsov², Natalia V. Komarova¹

¹ Scientific-Manufacturing Complex Technological Centre, Zelenograd,
Moscow, Russia

² Institute of Nanotechnology of Microelectronics of the Russian Academy of
Sciences, Moscow, Russia

Corresponding author: Komarova Natalia Vladimirovna, nat.v.kom@gmail.com

Abstract. The contact printing method is widely used to create microchips and develop highly sensitive biosensors. This method is based on techniques for

immobilizing biomolecules. In this work, two effective methods for covalent immobilization of oligonucleotides, based on the reactions of disulfide bond formation and azide-alkyne cycloaddition, were optimized for the contact printing method. With both immobilization strategies, oligonucleotides retain the ability to hybridize with complementary DNA, which provides the basis for their practical use in bioanalytical applications.

Keywords: immobilization, DNA, microchips, contact printing

Financial Support. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 21-79-10175 (<https://rscf.ru/en/project/21-79-10175/>).

For citation: Titov A.A., Kuznetsov A.E., Komarova N.V. Optimization of covalent immobilization of DNA for the contact printing method // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2025. T. 66. № 2. S. 153–162.

Создание различного рода массивов, паттернов и рисунков ДНК на поверхности с помощью направленной точечной иммобилизации является основой технологии ДНК-микрочипов. Метод ДНК-микрочипов используется для обнаружения полиморфизмов, изучения экспрессии генов, секвенирования ДНК и медицинской диагностики [1–4]. Точечная иммобилизация олигонуклеотидов используется также для ДНК-опосредованной иммобилизации белков при создании белковых микрочипов [5]. Направленная иммобилизация востребована и в области разработки биосенсоров. Возможность направленно иммобилизовать олигонуклеотиды, в первую очередь, позволяет следовать современной тенденции миниатюризации, мультиплексирования и параллелизации биоанализа [6]. Кроме того, точечная иммобилизация биорецепторов на чувствительной поверхности сенсора позволяет снизить предел обнаружения при проведении анализа [7].

Одним из популярных материалов для нанесения массивов ДНК является оксид кремния [8], востребована также иммобилизация на оксидах алюминия, цинка, гафния и тантала [9–12]. Существуют два основных подхода для создания ДНК-массивов на поверхности оксидов: прямой фосфорамидитный синтез *in situ* в сочетании с литографическими методами и автоматизированное осаждение уже готовых олигонуклеотидов на химически активированные носители с помощью специализированных печатных устройств [4]. Последний вариант получил большее распространение ввиду его сравнительной доступности. При осаждении олигонуклеотидов на поверхность ковалентное связывание является предпочтительным вариантом, поскольку позволяет на-

правленно ориентировать молекулы ДНК за счет терминальных функциональных меток, а формируемая связь, как правило, отличается высокой стабильностью [2]. Методы ковалентной иммобилизации позволяют также контролировать плотность посадки олигонуклеотидов, что напрямую влияет на их способность к гибридизации [11]. К перспективным материалам для разработки оптических и полевых биосенсоров с повышенной чувствительностью относится Ta₂O₅ благодаря своим оптическим и электрическим свойствам, таким как высокий показатель преломления, низкое затухание и высокая диэлектрическая проницаемость, сопровождающаяся высокой химической стабильностью [13–15]. Выполненное нами ранее систематическое сравнение популярных методов ковалентной иммобилизации ДНК на поверхности Ta₂O₅ [16] показало, что использование реакций формирования дисульфидной связи и азид-алкинового циклоприсоединения позволяет добиться большей плотности посадки олигонуклеотидов с сохранением способности к гибридизации. В настоящей работе эти методики были адаптированы для точечной иммобилизации олигонуклеотидов на поверхности Ta₂O₅ с помощью технологии микроконтактной печати.

Материалы и методы

Материалы. Для проведения эксперимента использовали реагенты производства «Sigma Aldrich» (США): (3-аминопропил) триэтоксисилан (APTES, «х.ч.»), (3-меркаптопропил)триметоксисилан (MPTES, «х.ч.»), диметилсульфоксид (ДМСО, «х.ч.»), нитрат серебра («х.ч.»), аскорбиновая кислота («ос.ч.»), *трис*(гидроксиметил)аминометан («ос.ч.»),

трис(гидрокси метил)аминометан гидрохлорид («ос.ч.»).

Кроме того, были использованы реактивы азидомасляной кислоты *N*-гидроксисукцинимидиловый эфир («х.ч.», «Люмипроб», Россия), 1,5-кратный медьсодержащий буферный раствор для клик-химии («Люмипроб», Россия), глицерин («х.ч.», «Хеликон», Россия), краситель SYBR Gold (Invitrogen, США), интеркалирующий краситель dsGreen («Люмипроб», Россия), метанол («х.ч.», Россия), этанол («х.ч.», Россия), пентакис(диметиламино)тантал (V) (PDMAT, «х.ч.», ДАЛХИМ, Россия).

Олигонуклеотиды 1 (5'-GGCCAGAGTAGA GTAGATTAGAATGGTTCCGTCCCAACGG-3'), 2 (5'-CCAGACTGCAGAATAGATTAGGATAG GGCAACGCAGTAGG-3') и 3 (5'-CGTGCAGT ACGCCAACSTTTCTCATGCGCTGCCCTCT TA-3') были синтезированы с 5'-Тг-SH и 5'-алкин модификациями («Синтол», Россия). Олигонуклеотид 2с (5'-ССТАСТGCGTTGCCСТАТ ССТААТСТАТТСТ-3'), комплементарный олигонуклеотиду 2, был синтезирован компанией «Люмипроб» (Россия).

Подготовка поверхности Ta₂O₅. Для оптимизации условий точечной иммобилизации образцы поверхности Ta₂O₅ были изготовлены методом атомно-слоевого осаждения (АСО) слоя на пластину кремния *p*-типа («Телеком-СТВ», Россия). АСО выполняли с использованием термического процесса при 250 °С, применяя PDMAT и деионизированную воду в качестве реагентов. Толщина слоя Ta₂O₅, измеренная методом эллипсометрии, составила 291 ± 2 Å. Пластины разрезали на фрагменты размером 4 × 4 мм с помощью алмазной дисковой пилы («Disco Corporation», Япония).

Иммобилизация через образование дисульфидной связи

Пластины с поверхностью Ta₂O₅ обрабатывали озоном в течение 10 мин для удаления органических загрязнений в озонаторе UV/Ozone ProCleaner (BioForce Nanosciences, США) и инкубировали в 200 мкл 3 об.% раствора MPTS в метаноле в течение 30 мин. Затем промывали этанолом и деионизированной водой. Тритильную защиту SH-метки олигонуклеотида снимали инкубацией с 1,25 эквивалентом (12,5 мкМ) AgNO₃ в воде в течение 1 ч. После снятия защиты готовили раствор олигонуклеотида с заданной концентрацией (2–20 мкМ) в смеси глицерина и воды. Содержание глицерина в смеси варьировали от 10 до 40%. Микрокапли раство-

ра олигонуклеотида наносили на поверхность Ta₂O₅, обработанную MPTS, с помощью системы молекулярной печати Nano eNabler (Bioforce Nanosciences, США) и выдерживали в течение заданного времени (1 или 2 ч) при поддержании влажности 67%. Затем пластины промывали водой и высушивали на воздухе.

Иммобилизация через азид-алкиновое циклоприсоединение

Пластины с поверхностью Ta₂O₅ обрабатывали озоном в течение 10 мин для удаления органических загрязнений в озонаторе UV/Ozone ProCleaner (BioForce Nanosciences, США) и инкубировали в 200 мкл 3 об.% раствора APTEs в метаноле в течение 30 мин. Обработанные APTEs пластины промывали метанолом и этанолом и помещали в 150 мкл 3 мМ раствора NHS-эфира азидомасляной кислоты в 0,1 М *трис*-HCl (pH 8,65). Для предварительного растворения NHS-эфира азидомасляной кислоты использовали ДМСО из расчета 10 мкл на каждые 0,1 мг навески. После инкубации не менее 5 ч пластинки тщательно промывали водой. Раствор олигонуклеотида с алкиновой меткой при заданной концентрации (5–20 мкМ) готовили в коммерческом буферном растворе для клик-химии с добавлением 1 мМ аскорбиновой кислоты и 10%-го глицерина. Микрокапли раствора олигонуклеотида наносили на поверхность Ta₂O₅, обработанную APTEs, с помощью системы молекулярной печати Nano eNabler (Bioforce Nanosciences, США) и выдерживали в течение 1 ч при поддержании влажности 67%. Затем пластины промывали водой и высушивали на воздухе.

Гибридизация комплементарной ДНК

Пластины с иммобилизованными олигонуклеотидами погружали в 100 мкл 1 мкМ раствора комплементарной ДНК в фосфатно-солевом буфере и инкубировали в течение 1 ч, а затем промывали водой.

Визуализация результатов

Иммобилизованную ДНК окрашивали красителем SYBR Gold, специфичным к одноцепочечной ДНК. Дуплекс иммобилизованной и гибридизованной ДНК окрашивали интеркалирующим красителем dsGreen. Для этого пластины целиком погружали в 1× раствор SYBR Gold или dsGreen в буфере TE и инкубировали в течение 20 мин. Затем пластины промывали водой и высушивали на воздухе.

Флуоресцентный сигнал SYBR Gold и dsGreen детектировали с помощью оптического микроскопа ZEISS Axio Imager.m2M (Carl Zeiss, Германия) с модулем возбуждения флуоресценции и использованием соответствующего светофильтра.

Расчет интенсивности флуоресценции проводили с помощью программного обеспечения ImageJ.

Результаты и их обсуждение

Схемы реакции

Ковалентную иммобилизацию олигонуклеотидов проводили с использованием двух методов. Первый вариант иммобилизации основан на формировании дисульфидной связи при взаимодействии SH-активированной поверхности с олигонуклеотидами, содержащими терминальную SH-метку (рис. 1, а). Второй способ иммобилизации был основан на реакции азид-алкинового циклоприсоединения, катализируемого одновалентной медью (Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC), которая относится к группе клик-реакций [17, 18]. В этом случае реакция осуществлялась между поверхностью Ta_2O_5 , активированной азидными функциональными группами, и олигонуклеотидами, модифицированными терминальным алкином (рис. 1, б).

Для активации поверхности использовали органосиланы, которые способны образовывать самособирающиеся монослои (SAM) на поверхности SiO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 и других подобных материалов. MPTS использовали для создания слоя SH-групп. Функционализацию поверхности азидными группами выполняли в две стадии: сначала формировали NH_2 -активированный слой с использованием APTES, а затем проводили реакцию аминогрупп с NHS-активированным эфиром азидоуксусной кислоты.

Поверхность пластин активировали целиком, полностью погружая их в растворы соответствующих реагентов. Непосредственно для осуществления иммобилизации растворы олигонуклеотидов наносили на активированные поверхности с помощью устройства молекулярной печати, которое позволяет воспроизводимо наносить на подложку капли объемом от нескольких фемтолитров [19]. При этом малый объем реагентов создает ряд ограничений для осуществления химических реакций. Основные проблемы заключаются в быстром испарении жидкости и малом содержании реагентов в капле. Основная задача настоящей работы состояла в адаптации протоколов иммобилизации для молекулярной печати и подборе оптимальных условий реакций иммобилизации олигонуклеотидов.

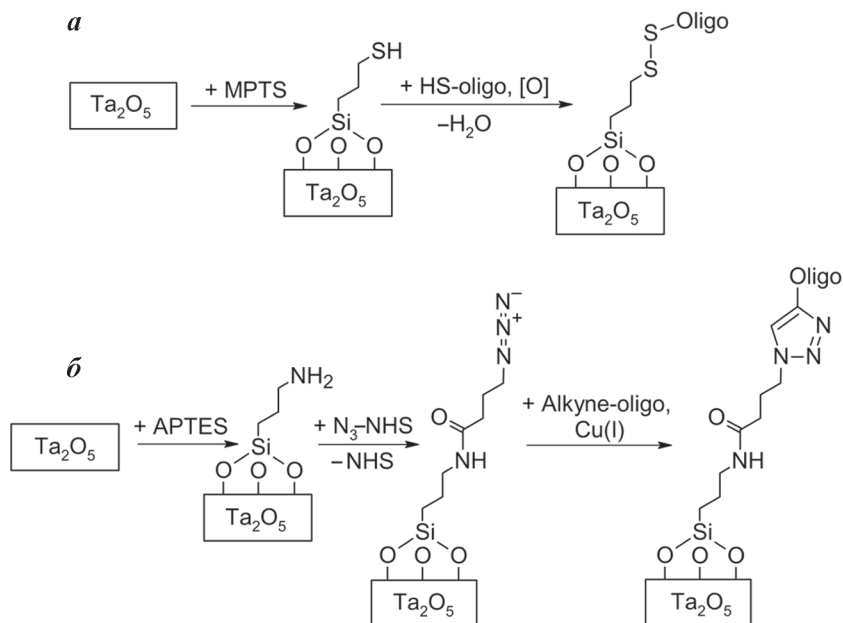


Рис. 1. Схемы ковалентной иммобилизации, основанной на реакциях формирования дисульфидной связи (а) и азид-алкинового циклоприсоединения, катализируемого медью (б)

Оптимизация условий иммобилизации для реакции образования дисульфидной связи

Влияние концентрации глицерина. При проведении иммобилизации с использованием реакции образования дисульфидной связи реакционная смесь, взаимодействующая с заранее активированной поверхностью носителя, представляет собой раствор олигонуклеотида в воде. Для уменьшения скорости испарения в растворе, наносимые на поверхность с помощью микроконтактной печати, добавляют глицерин [20–22]. При проведении точечной ковалентной иммобилизации олигонуклеотидов через дисульфидную связь было изучено влияние содержания глицерина в реакционной смеси на морфологию наносимой капли и эффективность иммобилизации – 10%-е содержание глицерина оказалось достаточным для сохранения стабильности капель в течение 1 ч при условии поддержания 67% влажности в реакционной камере. Средний размер капель после инкубации менялся в зависимости от содержания глицерина. Диаметр капли для 10, 20, 30 и 40% глицерина составил 43 ± 5 , 48 ± 3 , 55 ± 2 и

54 ± 4 мкм соответственно, что соответствует объему капли порядка 30–35 нл. Форма капель воспроизводилась лучше всего при добавлении 30% глицерина в реакционную смесь (рис. 2, а). При этом эффективность иммобилизации, которую оценивали по интенсивности флуоресценции олигонуклеотидов на поверхности после тщательного смывания реакционной смеси и окрашивания красителем, не зависела существенно образом от содержания глицерина в изученном диапазоне (рис. 2, б). Таким образом, добавление 30% глицерина было признано оптимальным для осуществления микроконтактной печати.

Влияние концентрации олигонуклеотида. Влияние концентрации олигонуклеотида в реакционной смеси при иммобилизации через дисульфидную связь было изучено в диапазоне 2–20 мкМ. Содержание глицерина при этом было фиксировано и составляло 30%. Результаты визуализации флуоресцентного сигнала иммобилизованного олигонуклеотида приведены на рис. 3, а. Количественный анализ интенсивности флуоресценции показал, что концентрация олигонуклеотида 10 мкМ является достаточной для

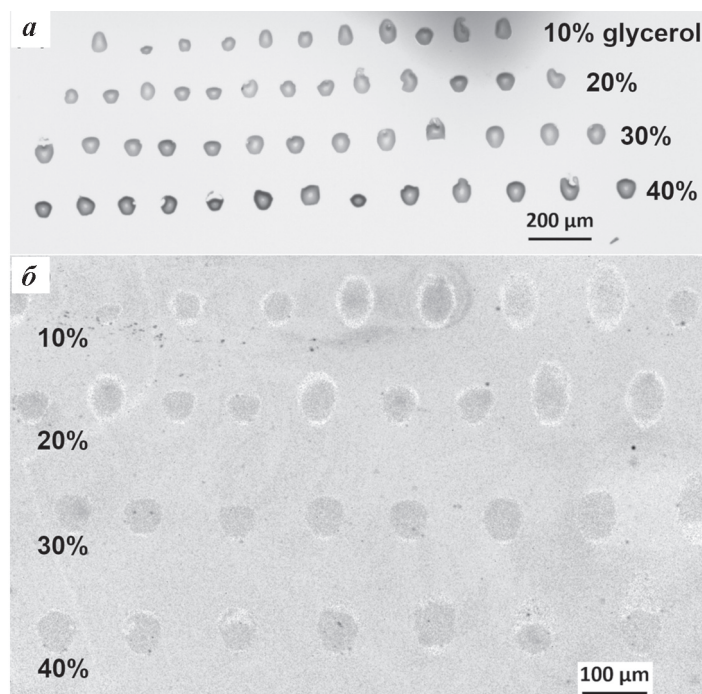


Рис. 2. Микрофотография капель 10 мкМ раствора олигонуклеотида в воде с разным содержанием глицерина при проведении точечной иммобилизации ДНК через дисульфидную связь (а) и флуоресцентный сигнал иммобилизованных олигонуклеотидов при использовании разной концентрации глицерина (б)

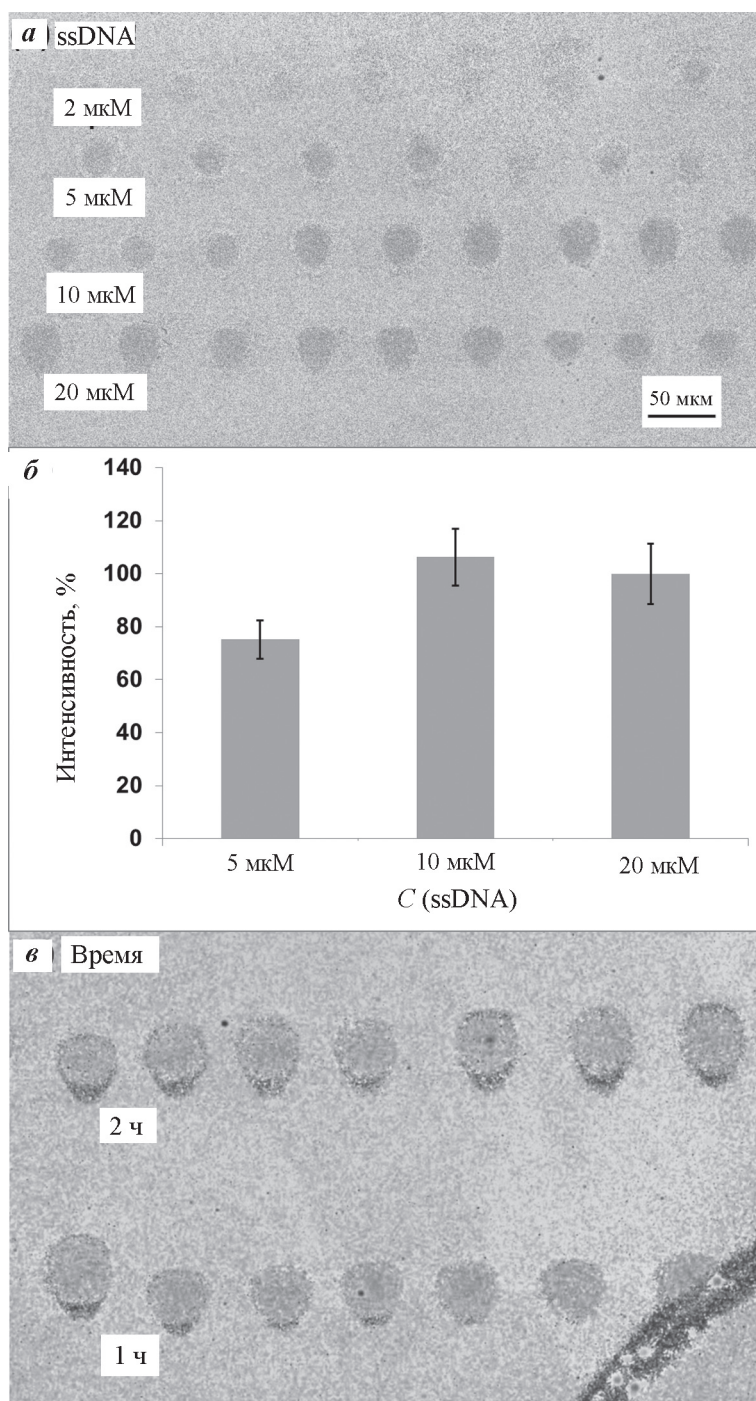


Рис. 3. Флуоресцентный сигнал иммобилизованной ДНК для реакции образования дисульфидной связи при разных концентрациях олигонуклеотида (а), зависимость интенсивности флуоресценции иммобилизованной ДНК от концентрации (б), флуоресцентный сигнал ммобилизованной ДНК для реакции образования дисульфидной связи при разном времени протекания реакции (в)

достижения максимальной плотности посадки ДНК (рис. 3, б).

Время протекания реакции. При проведении ковалентной иммобилизации олигонуклеотидов на поверхности Ta₂O₅ в пробирке оптимальное время реакции формирования дисульфидной связи составляет 2 ч [16]. При иммобилизации мето-

дом микроконтактной печати сокращение времени протекания реакции до 1 ч не привело к снижению эффективности иммобилизации (рис. 3, в).

Таким образом, для метода ковалентной иммобилизации, основанной на реакции образования дисульфидной связи между SH-активированной поверхностью и SH-меченым олигонуклеоти-

дом, были установлены следующие оптимальные условия: содержание глицерина в реакционной смеси 30%, концентрация олигонуклеотида 10 мкМ, время протекания реакции 1 ч.

Оптимизация условий иммобилизации для реакции азид-алкинового циклоприсоединения

При проведении иммобилизации олигонуклеотидов на поверхности Ta_2O_5 с использованием реакции азид-алкинового циклоприсоединения в реакционную смесь, которая взаимодействует с поверхностью активированного носителя, добавляли глицерин в концентрации 10%. Этого количества глицерина было достаточно для поддержания стабильности микрокапель в течение 1 ч. Капля при этом имела вытянутую форму с линейными размерами около 35×80 мкм, объем капли составлял 50–70 нл. Дальнейшее увеличение содержания глицерина было нецелесообразным, поскольку могло осуществляться только в ущерб концентрации других компонентов реакционной смеси.

Влияние концентрации олигонуклеотида на эффективность иммобилизации с использованием реакции азид-алкинового циклоприсоединения изучали в диапазоне 5–20 мкМ. Эффективность иммобилизации оценивали

по интенсивности флуоресценции олигонуклеотидов на поверхности после тщательного смывания реакционной смеси и окрашивания красителем. Максимальная интенсивность флуоресцентного сигнала наблюдалась при концентрации олигонуклеотида 20 мкМ (рис. 4).

Установлено, что повышение концентрации аскорбиновой кислоты в реакционной смеси до 3 мМ позволяет добиться улучшения воспроизводимости результатов иммобилизации с помощью азид-алкинового циклоприсоединения. Функция аскорбиновой кислоты заключается в восстановлении меди(II) до каталитически активной меди(I). Медь(I) нестабильна и быстро вновь окисляется. Вероятно, в микрокаплях за счет увеличенного соотношения площади поверхности к объему реакционной смеси окисление меди происходит быстрее, а увеличение содержания аскорбиновой кислоты этому препятствует. Таким образом, для метода ковалентной иммобилизации, основанной на реакции азид-алкинового циклоприсоединения между азид-активированной поверхностью и алкин-функционализированным олигонуклеотидом, были установлены следующие оптимальные параметры: содержание глицерина в реакционной смеси 10%, минимально необходимая концентрация олигонуклеотида 20 мкМ, концентрация аскорбиновой кислоты 3 мМ.

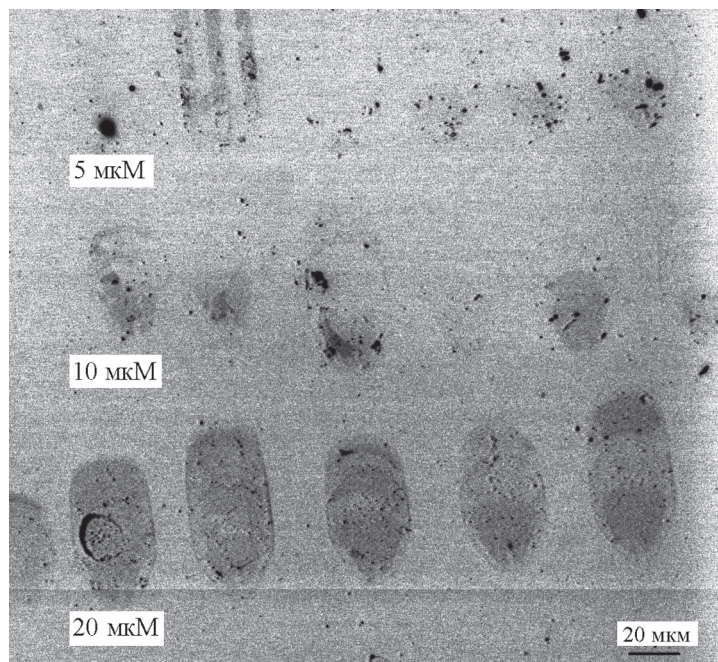


Рис. 4. Флуоресцентный сигнал иммобилизованной ДНК для реакции азид-алкинового циклоприсоединения при различных концентрациях олигонуклеотида

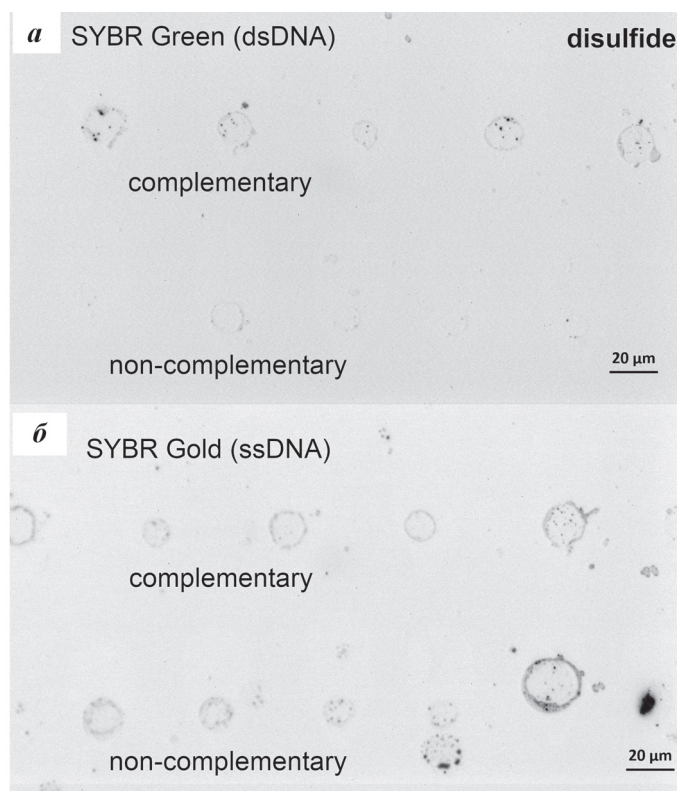


Рис. 5. Флуоресцентный сигнал дуплекса олигонуклеотидов после окрашивания пластины dsGreen (а) и всей ДНК на поверхности пластины после окрашивания SYBR Gold (б) для метода иммобилизации через формирование дисульфидной связи

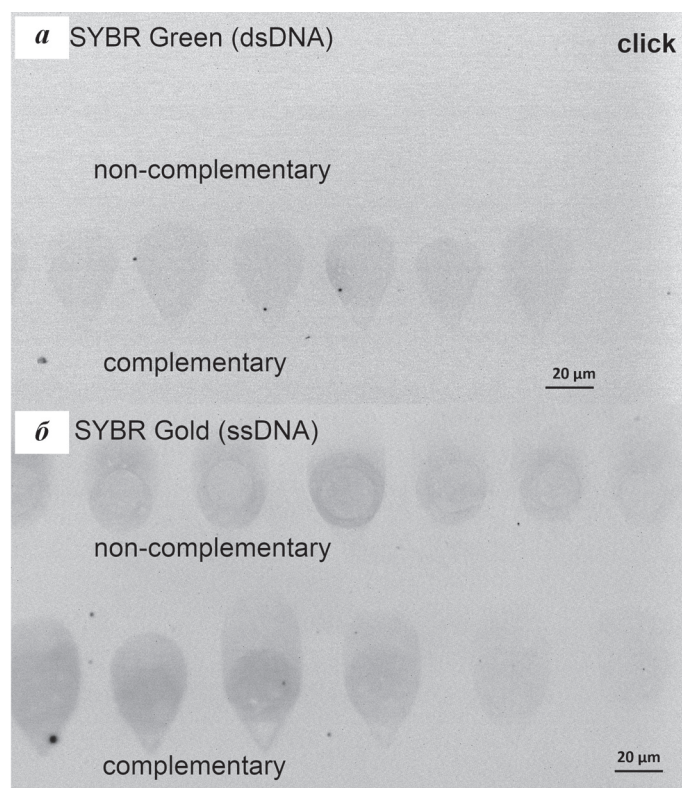


Рис. 6. Флуоресцентный сигнал дуплекса олигонуклеотидов после окрашивания пластины dsGreen (а) и всей ДНК на поверхности пластины после окрашивания SYBR Gold (б) для метода иммобилизации через реакцию азид-алкинового циклоприсоединения

Гибридизация комплементарной ДНК

Сохранение способности иммобилизованной ДНК формировать дуплекс с комплементарной цепью имеет ключевое значение для последующего применения в технологии ДНК-микрочипов и биосенсорах. Для проверки функциональности иммобилизованной ДНК проводили одновременную иммобилизацию двух олигонуклеотидов (1 и 2) с различающимися последовательностями на одной и той же пластине, а затем пластину целиком инкубировали в растворе олигонуклеотида, комплементарного одному из иммобилизованных (2 с). Образующийся дуплекс визуализировали с помощью интеркалирующего красителя dsGreen. Затем эту же пластину окрашивали красителем SYBR Gold, связывающимся с одноцепочечной ДНК.

Для ДНК, иммобилизованной через реакцию образования дисульфидной связи, наблюдалось уменьшение размера светящегося пятна после гибридизации, что может быть связано с частичной потерей иммобилизованных молекул в результате реакции дисульфидного обмена, протекающей параллельно процессу гибридизации. Тем не менее оставшийся на поверхности олигонуклеотид был способен специфически формировать дуплекс с комплементарной цепью. После окрашивания пластины дуплекс-специфичным красителем dsGreen наблюдалось свечение только одного ряда пятен иммобилизованного олигонуклеотида (рис. 5, а). После инкубирования с красителем SYBR Gold, окрашивающего одноцепочечную ДНК, наблюдалось свечение обоих рядов олигонуклеотидов (рис. 5, б).

Аналогичным образом для олигонуклеотидов, иммобилизованных через реакцию азид-алкинового циклоприсоединения, при окрашивании dsGreen визуализировался только один ряд пятен (рис. 6, а), а после дополнительного окрашивания SYBR Gold проявлялся второй (рис. 6, б). При этом визуальная интенсивность флуоресцентного сигнала для иммобилизации через реакцию азид-алкинового присоединения была выше, чем для иммобилизации через образование дисульфидной связи. Таким образом, обе разработанные методики позволяют проводить иммобилизацию ДНК, способной к распознаванию комплементарной цепи.

Выводы

Методики ковалентной иммобилизации ДНК, основанные на реакциях формирования дисульфидной связи и азид-алкинового циклоприсоединения, адаптированы для метода микроконтактной печати на поверхности оксида тантала. Добавление глицерина в реакционную смесь, необходимое для предотвращения испарения микрокапель, в обоих случаях не препятствует протеканию иммобилизации. При иммобилизации, основанной на реакции формирования дисульфидной связи, добавление 30% глицерина позволяет добиться максимальной воспроизводимости формы капель. Концентрация олигонуклеотида существенно влияет на эффективность иммобилизации. При объеме капли 30–25 нл оптимальная концентрация оцДНК для иммобилизации через дисульфидную связь составляет 10 мкМ. Для реакции азид-алкинового циклоприсоединения требуется использовать олигонуклеотид в концентрации не ниже 20 мкМ для капель объемом 50–70 нл. Время протекания реакций при использовании метода микроконтактной печати для обеих методик иммобилизации может быть сокращено в сравнении с макропротоколами и составляет 1 ч для формирования дисульфидной связи и 40 мин для азид-алкинового циклоприсоединения. Катализируемое медью(I) азид-алкиновое циклоприсоединение также чувствительно к концентрации аскорбиновой кислоты, и для метода микроконтактной печати может быть рекомендовано ее повышение до 3 мМ. Оптимизированные методики позволяют направленно иммобилизовать терминально функционализированные олигонуклеотиды на поверхности оксида тантала, в том числе создавать точечные массивы иммобилизованной ДНК с разрешением порядка 10 мкм. Помимо оксида тантала, в качестве носителя могут быть использованы и другие материалы, на поверхности которых возможно формирование пленок органосиланов (оксид кремния, нитрид кремния, оксид гафния и т.п.). Иммобилизованные олигонуклеотиды способны специфически связывать комплементарную ДНК, что создает основу для их применения в разработке протоколов иммобилизации для создания микрочипов и разработке биосенсоров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ramsay G. // *Nat. Biotechnol.* 1998. Vol. 16. N 1. P. 40.
2. Nimse S., Song K., Sonawane M., Sayyed D., Kim T. // *Sensors.* 2014. Vol. 14. N 12. P. 22208.
3. Bally M., Halter M., Vörös J., Grandin H.M. // *Surf. Interface Anal.* 2006. Vol. 38. N 11. P. 1442.
4. Du Q., Larsson O., Swerdlow H., Liang Z. // *Immobilisation of DNA on Chips II. Topics in Current Chemistry.* Berlin, 2005. Vol. 261. P. 45.
5. Meyer R., Giselbrecht S., Rapp B.E., Hirtz M., Niemeier C.M. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2014. Vol. 18. P. 8.
6. Ranjan Srivastava V., Kumari R., Chandra P. // *Electroanalysis.* 2023. Vol. 35. N 8. P. e202200355.
7. Ingebrandt S., Han Y., Nakamura F., Poghossian A., Schöning M.J., Offenhäuser A. // *Biosens. Bioelectron.* 2007. Vol. 22. N 12. P. 2834.
8. Pirrung M.C., Davis J.D., Odenbaugh A.L. // *Langmuir.* 2000. Vol. 16. N 5. P. 2185.
9. Balamurugan S., Obubuafu, A., Soper, S.A., Spivak, D. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. Vol. 390. P. 1009.
10. Städler, B., Bally, M., Grieshaber, D., Vörös, J., Brisson, A., Grandin, H.M. // *Biointerphases.* 2006. Vol. 1. № 4. P. 142.
11. Kataoka-Hamai, C., Miyahara // *IEEE Sensors Journal.* 2011. Vol. 11. № 12. P. 3153.
12. Fahrenkopf, N.M., Jindal, V., Tripathi, N., Oktyabrsky, S., Shahedipour-Sandvik, F., Tokranova, N., Bergkvist, M., Cady, N.C. // *MRS Proc.* 2009. Vol. 1236. P. 05.
13. Schmitt, K., Oehse, K., Sulz, G., Hoffmann, C. // *Sensors.* 2008. Vol. 8. № 2. P. 711.
14. Kant, R., Tabassum, R., Gupta, B.D. // *Sensors Actuators B Chem.* 2017. Vol. 242. № 242. P. 810–817.
15. Gasparyan, L.F., Mazo, I.A., Simonyan, V. V., Gasparyan, F. V. // *J. Contemp. Phys.* 2020. Vol. 55. № 1. P. 101.
16. Komarova N., Panova O., Titov A., Kuznetsov A. // *ChemistrySelect.* 2023. Vol. 8. N 42. P. e202303470.
17. Meldal M., Diness F. // *Trends Chem.* 2020. Vol. 2. N 6. P. 569.
18. Liang L., Astruc D. // *Coord. Chem. Rev.* 2011. Vol. 255. N 23–24. P. 2933.
19. Henderson E. // *Nanomedicine.* 2007. Vol. 2. P. 391.
20. Hynes W.F., Gracias A., Fahrenkopf N.M., Raof N.A., Raja W.K., Lee K., Xie Y., Bergkvist M., Cady N.C. // *MRS Proc.* 2009. Vol. 1235. P. 1.
21. Xu X., Jindal V., Shahedipour-Sandvik F., Bergkvist M., Cady N.C. // *Appl. Surf. Sci.* 2009. Vol. 255. N 11. P. 5905.
22. Salerno M., Dante S., Patra N., Diaspro A. // *Microsc. Res. Tech.* 2010. Vol. 73. N 10. P. 982.

Информация об авторах

Алексей Александрович Титов – вед. инженер научно-исследовательской лаборатории интегральных биохимических наносенсоров научно-производственного комплекса «Технологический центр», канд. биол. наук (alextitov2187@mail.com);

Александр Евгеньевич Кузнецов – нач. отдела микро- и наноэлектроники и биосенсорики Института нанотехнологий микроэлектроники Российской академии наук, докт. тех. наук (kuznetsov.a@inme-ras.ru);

Наталья Владимировна Комарова – ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории интегральных биохимических наносенсоров научно-производственного комплекса «Технологический центр», канд. хим. наук (nat.v.kom@gmail.com).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 10.03.2024;
одобрена после рецензирования 16.03.2024;
принята к публикации 25.03.2024.