

## Biosensing: ultrasensitive detection of organic molecules

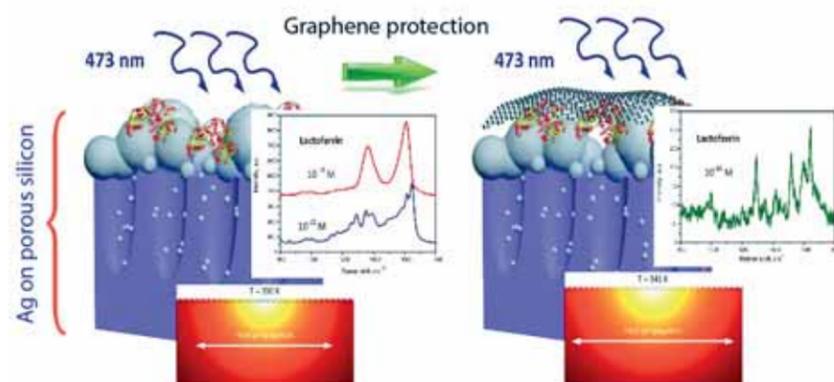
The development of biosensing techniques to overcome the problem of reliable detection of diverse bioorganic molecules at ultralow concentrations is an urgent objective of specialists. Discovery of surface-enhanced Raman scattering (SERS) has paved a way to detection of essential organic molecules from solutions at concentrations attributed to single molecule ones, i.e. below  $10^{-15}$  M. A special interest of SERS-spectroscopy has been paid to the detection and study of bioorganic macromolecules, in particular, to proteins that possess antiseptic properties, as they are prospective in the development of nanomaterials for the prevention and therapy of bacteria/virus-induced diseases. The success-

ful combination of a highly sensitive Raman microspectrometer "CARS" at FLNP with SERS-active substrates developed at BSUIR (Belarus), made it possible to register SERS spectra of bioorganic molecules adsorbed on a silvered porous silicon (por-Si) from  $10^{-6}$ – $10^{-18}$  M solutions.

Lactoferrin is a non-heme mammalian iron-binding glycoprotein, belonging to the transferrin family. In addition to the iron transport, lactoferrin modulates immune responses, has antioxidant activity and anti-inflammatory properties, and participates in the regulation of cell growth and differentiation. Recently, it was reported that exogenous lactoferrin can affect the rate of tumor cells growth.

Fig. 1  
Sketch of the analyte molecules graphene protection.

Рис. 1  
Эскиз защитного действия графеном молекул аналита.



## Биосенсорика: ультрачувствительное обнаружение молекул

Разработка методов биосенсорика для надежного обнаружения различных биоорганических молекул в сверхнизких концентрациях является актуальной задачей исследователей. Открытие гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) проложило путь к обнаружению жизненно важных органических молекул из растворов в концентрациях, соотносящихся с единичными молекулами, т.е. ниже  $10^{-15}$  M. Особый интерес в ГКР-спектроскопии уделяется обнаружению и изучению биоорганических макромолекул, в частности, белков, обладающих антисептическими свойствами, поскольку они перспективны при разработке наноматериалов для профилактики и терапии заболеваний, вызванных бактериями/вирусами. Успешное сочетание высокочувствительного рамановского микроспектро-

метра «КАРС» в ЛНФ с ГКР-активными подложками, разработанными в БГУИР (Беларусь), позволило регистрировать ГКР-спектры биоорганических молекул, адсорбированных на посеребренном пористом кремнии (por-Si) из растворов с концентрациями  $10^{-6}$ – $10^{-18}$  M.

Лактоферрин представляет собой негемовый железосвязывающий гликопротеин молока, принадлежащий к семейству трансферринов. Помимо транспорта железа, лактоферрин модулирует иммунные ответы, обладает антиоксидантной активностью и противовоспалительными свойствами, а также участвует в регуляции роста и дифференцировки клеток. В последнее время было выявлено, что экзогенный лактоферрин может влиять на скорость роста опухолевых клеток. Таким образом, мони-

Monitoring the changes of the amount of this protein at submolar level in liquids is thus of great interest to research areas related to biomedicine, as well as to the life sciences in general. The ultrahigh sensitivity in the registration of the SERS spectra of lactoferrin at very low concentrations of  $10^{-18}$  M was indeed achieved using the beneficial cooperative effect from the SERS-active substrates based on a silvered por-Si and the protection of the analyte molecules with graphene (Fig.1) [1].

Further, Raman-imaging of the single TNB molecule was demonstrated with the SERS-active silver dendrites kept in the attomolar DTNB solution, which is a vital compound for chemical and biomedical analysis. 3D dendritic substrates exhibit an extremely developed morphology that possesses much more hot spots compared to the 2D NPs. A

great number of the hot spots is extremely important for a practical implementation of the SERS-active substrates because this will provide the SERS-activity even in case of relatively low laser power including portable instrumentation. In contrast to generally accepted belief about adsorption of only uniform monomolecular TNB layer on surface of silver nanostructures, it was shown the coating constituted of TNB layer and DTNB nanoclusters on the dendrites' surface at  $10^{-6}$ – $10^{-12}$  M concentrations [2]. DTNB concentrations below  $10^{-14}$  M resulted in adsorption of TNB molecules in separated spots on the surface of silver nanostructures. Fig.2 shows SERS maps of analyte molecules at concentrations of  $10^{-12}$  –  $10^{-18}$  M.

Fig. 2. SERS maps of the (a) DTNB/TNB and (b–d) TNB adsorbed on the silver dendrites from DTNB solutions of (a)  $10^{-12}$  M, (b)  $10^{-14}$  M, (c)  $10^{-16}$  M and (d)  $10^{-18}$  M concentrations.

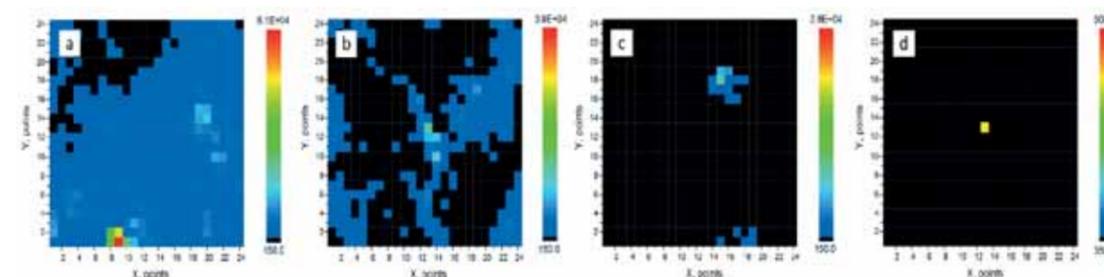


Рис. 2. ГКР-карты: (a) DTNB/TNB и (b–d) TNB адсорбированных на дендритах серебра из растворов DTNB с концентрациями (a)  $10^{-12}$  M, (b)  $10^{-14}$  M, (c)  $10^{-16}$  M and (d)  $10^{-18}$  M.

торинг изменений количества этого белка на субмолярном уровне в жидкостях представляет большой интерес для областей исследований, связанных с биомедициной, а также для наук о жизни в целом. Сверхвысокая чувствительность регистрации ГКР-спектров лактоферрина при очень низких концентрациях  $10^{-18}$  M была достигнута за счет совместного эффекта от ГКР-активных подложек на основе посеребренного пористого кремния и защиты молекул анализируемого вещества графеном (рис.1) [1].

Кроме того, была продемонстрирована рамановская визуализация единичной молекулы тионитробензойной кислоты (TNB) с помощью ГКР-активных подложек на основе дендритов серебра, содержащихся в аттомолярном растворе DTNB, которая является жизненно важным соединением для химического и биомедицинского анализа. Трехмерные дендритные субстраты де-

монстрируют чрезвычайно развитую морфологию, в которой гораздо больше «горячих точек» по сравнению с двумерными наночастицами. Большое количество «горячих точек» чрезвычайно важно для практического применения ГКР-активных подложек поскольку это обеспечит ГКР-активность даже в случае относительно низкой мощности лазера, включая портативные приборы. В отличие от общепринятого понимания процесса адсорбции только однородного мономолекулярного слоя TNB на поверхности серебряных наноструктур, показано покрытие состоящее из слоя TNB и нанокластеров DTNB на поверхности дендритов при концентрациях DTNB  $10^{-6}$ – $10^{-12}$  M [2]. Концентрации DTNB ниже  $10^{-14}$  M приводили к адсорбции молекул TNB в отдельных пятнах на поверхности серебряных наноструктур. На рис. 2 представлены ГКР-карты молекул аналита при концентрациях  $10^{-12}$  –  $10^{-18}$  M.