

## ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРОЛАКТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ, ПОКРЫТЫХ КРЕМНИЕВОЙ ОБОЛОЧКОЙ, И РЕГИСТРАЦИЕЙ СПЕКТРОВ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

К. В. Серебренникова, Н. С. Комова, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев\*

*Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация*

*E-mail: dzantiev@inbi.ras.ru*

**Аннотация.** В настоящем исследовании предложен подход к повышению чувствительности иммунохроматографического анализа (ИХА) пролактина с использованием биметаллических золотосеребряных наночастиц, покрытых защитной кремниевой оболочкой, и последующей регистрации спектров гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Дизайн наноструктур включал ядро, состоящее из наночастиц золота, серебряную оболочку и молекулу-репортер комбинационного рассеяния (4-меркаптобензойная кислота), локализованную между серебром и кремниевой оболочкой, что обеспечивало формирование интенсивного и стабильного ГКР-сигнала. Кроме того, кремниевая оболочка выполняла защитную функцию и способствовала повышению воспроизводимости измерений. Разработанная система объединяла традиционное колориметрическое детектирование и последующую регистрацию ГКР-спектров после проведения ИХА. Применение биметаллических золотосеребряных наночастиц, покрытых кремниевой оболочкой, и ГКР-регистрации сигнала позволило повысить чувствительность анализа в 4 раза: предел обнаружения для метода ИХА-ГКР составил 0,1 нг/мл, тогда как для стандартного колориметрического ИХА с инструментальной детекцией — 0,4 нг/мл. Показана пригодность разработанного ИХА-ГКР для определения пролактина в сыворотке крови. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования биметаллических наночастиц, стабилизированных кремниевой оболочкой, и ГКР-детектирования для повышения эффективности иммунохроматографических экспресс-тестов.

**Ключевые слова:** иммунохроматографический анализ, гигантское комбинационное рассеяние, ГКР нанометка, биметаллические золотосеребряные наночастицы, кремниевая оболочка, пролактин.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 24-73-10207).

**Соблюдение этических стандартов.** Настоящая работа выполнена без привлечения людей или животных в качестве объектов исследований.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Ссылка для цитирования:** Серебренникова К. В., Комова Н. С., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Повышение чувствительности иммунохроматографического анализа пролактина с использованием биметаллических наночастиц, покрытых кремниевой оболочкой, и регистрацией спектров гигантского комбинационного рассеяния. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 5. С. 867–874. <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050151>

## INCREASING THE SENSITIVITY OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF PROLACTIN USING BIMETALLIC NANOPARTICLES COATED WITH A SILICA SHELL AND REGISTRATION OF SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING SPECTRA

K. V. Serebrennikova, N.S. Komova, A. V. Zherdev, B. B. Dzantiev \*

*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences,  
Moscow, Russian Federation*

*\*E-mail: dzantiev@inbi.ras.ru*

**Abstract.** This study proposes an approach to increasing the sensitivity of prolactin immunochromatographic assay (ICA) using bimetallic gold-silver nanoparticles coated with a protective silica shell, followed by recording of surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectra. The nanostructure design included a core consisting of gold nanoparticles, a silver shell, and a Raman scattering reporter molecule (4-mercaptobenzoic acid) localized between the silver and silica shell, which ensured the formation of an intense and stable SERS signal. Furthermore, the silica shell served as a protective layer and contributed to improved measurement reproducibility. The developed system combined traditional colorimetric detection and subsequent recording of SERS spectra after ICA. The use of bimetallic gold-silver nanoparticles coated with a silica shell and SERS signal detection increased the sensitivity of the assay by 4 times: the detection limit for the ICA-SERS method was 0.1 ng/ml, while for standard colorimetric ICA with instrumental detection it was 0.4 ng/ml. The suitability of the developed ICA-SERS for the determination of prolactin in blood serum was demonstrated. The obtained results demonstrate the potential of using bimetallic nanoparticles stabilized with a silica shell and SERS detection to improve the efficiency of immunochromatographic rapid tests.

**Keywords:** immunochromatographic analysis, surface-enhanced Raman scattering, SERS nanotag, bimetallic gold-silver nanoparticles, silica shell, prolactin

**Funding.** This work was supported by Russian Science Foundation (project no. 24-73-10207).

**Ethics declarations.** This article does not contain any studies with the use of humans or animals as objects of research.

**Conflict of interest.** The authors state that there is no conflict of interest.

**For citation:** Serebrennikova K.V., Komova N.S., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Increasing the Sensitivity of Immunochromatographic Analysis of Prolactin Using Bimetallic Nanoparticles Coated with a Silica Shell and Registration of Surface-Enhanced Raman Scattering Spectra. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(5):867–874. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050151>

Быстрый и надежный мониторинг уровня женских гормонов в сложных биологических образцах остается актуальной задачей в клинической диагностике для оценки физиологических и патологических состояний [11, 15]. В рутинной практике для определения уровня женских гормонов используют методы иммуноанализа, включая иммуноферментный и хемилюминесцентный, а также хроматографические методы (высокоэффективная жидкостная хроматография и газовая хроматография-масс-спектрометрия) [3, 24]. Несмотря на высокую чувствительность, позволяющую выявлять биомаркеры в клинически значимых диапазонах, ряд аналитических недостатков, связанных с продолжительностью анализа и подготовки образцов, а также необходимостью в дорогостоящем оборудовании, обуславливают интерес к разработке новых методов [6, 10, 16].

Иммунохроматографический анализ (ИХА) широко используется в качестве метода экспресс-диагностики благодаря своей простоте, скорости и экономичности [18, 21, 28]. Однако чувствительность данного метода часто ограничена при использовании исключительно традиционной колориметрической детекции сигнала [4, 7, 19]. Поэтому повышение аналитических характеристик ИХА с сохранением преимуществ экспрессного и простого тестирования является важной задачей.

Одним из перспективных подходов является объединение метода ИХА со спектроскопией гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), что позволяет осуществлять высокочувствительное и специфичное обнаружение целевых биомаркеров благодаря применению ГКР нанометок, в состав которых входят молекулы-репортеры, имеющие высокое сечение комбинационного рассеяния, а также плазмонные наноструктуры и рецепторные молекулы (антитела, аптамеры), обеспечивающие усиление комбинационного рассеяния и специфическое выявление аналита [12, 14, 26]. В качестве плазмонных материалов наиболее часто используют наноструктуры из серебра и золота; при этом наряду с высокой усиливающей способностью материалы из серебра склонны к деградации, тогда как наноструктуры золота характеризуются высокой химической стабильностью [25, 27, 31]. Перспективным решением является создание композитных наноструктур, которые объединяют свойства двух металлов для повышения усиливающих свойств и стабильности материала [1, 13, 20, 23]. В этом контексте разработанные плазмонные материалы на основе биметаллических наночастиц предлагают значительные преимущества благодаря своим регулируемым оптическим свойствам и сильному усилению электромагнитного поля. В частности, наноструктуры типа «ядро-оболочка» из золота и серебра обеспечивают сочетание стабильности и высокой эффективности ГКР, о чем свидетельствует их успешное применение в иммуноанализе

для повышения чувствительности детектирования ГКР сигнала [5, 22, 32, 34]. Включение биметаллических наночастиц в диэлектрическую кремниевую оболочку дополнительно повышает воспроизводимость сигнала и предотвращает агрегацию частиц благодаря отсутствию адсорбции загрязнений на металлической поверхности, что особенно важно при работе в матриксе сложных биологических образцов [2, 9, 17, 29].

Цель работы — получение ГКР нанометок на основе биметаллических золотосеребряных наночастиц с кремниевым покрытием и молекулой-репортером (4-меркаптобензойной кислотой), расположенной между серебром и кремниевой оболочкой, и их применение в иммунохроматографическом анализе пролактина.

## МЕТОДИКА

**Реактивы.** В работе использовали золотохлористоводородную кислоту ( $\text{HAuCl}_4$ ), цитрат натрия, Твин-80, 4-меркаптобензойную кислоту (МБК), аскорбиновую кислоту, нитрат серебра, тетраэтоксисилан, (3-аминопропил)триметоксисилан, глутаровый альдегид, бычий сывороточный альбумин, Трис-основание («Sigma Aldrich», США). Также использовали моноклональные мышиные антитела против пролактина МАТ1 и МАТ2 (ООО «ХайТест», Россия) и тиолированный полиэтиленгликоль (ПЭГ-SH, 5кДа) («Abbexa», США). Кроме того, использовали рекомбинантный человеческий пролактин («FineTest», Китай). В данном исследовании использовалась лиофилизированная контрольная сыворотка «Clin Chem Control 1», приготовленная из сыворотки крови человека («Sentinel», Италия).

Все вспомогательные реагенты (соли, кислоты, щелочи и органические растворители) были аналитической или химической чистоты.

Растворы для получения биметаллических наночастиц и конъюгатов с антителами на их основе готовили на воде, деионизированной с помощью установки Milli-Q («Millipore», США).

**Синтез биметаллических золотосеребряных наночастиц с кремниевым покрытием.** Наночастицы золота сферической формы (Au) со средним диаметром 30 нм получали путем восстановления золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия по методике [33]. Для этого добавляли 1.3 мл 1% цитрата натрия к 100 мл кипящего 0.01% раствора  $\text{HAuCl}_4$ , раствор кипятили еще 15 мин и охлаждали до комнатной температуры. Наночастицы золота хранили при 4–6 °С.

Далее наночастицы золота покрывали серебряной оболочкой согласно модифицированной методике [8]. К 10 мл Au добавляли 200 мкл 1% цитрата натрия и 400 мкл 10мМ аскорбиновой кислоты при постоянном перемешивании. Затем в смесь по каплям вносили 400 мкл 10мМ нитрата серебра

и перемешивали еще 30 мин. После этого, Au-Ag центрифугировали при 8000 g (15 мин) и перерастворили в воде.

На следующем этапе к 10 мл коллоидного раствора добавляли 10 мкл 4-меркаптобензойной кислоты (МБК) и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. После этого Au-Ag<sup>МБК</sup> центрифугировали при 8000 g (15 мин) и перерастворили в смеси вода:этанол (1:3).

Для получения Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> адаптировали методику [30]; к раствору Au-Ag<sup>МБК</sup> добавляли 300 мкл 25% гидроксида аммония и 5 мкл тетраэтоксисилана. Смесь оставляли при постоянном перемешивании в течение 12 ч, затем центрифугировали при 5000 g (20 мин) и перерастворили в 10 мл этанола.

**Получение конъюгата Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> с антителами.** Для получения ГКР нанометки на основе Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> и моноклональных антител к пролактину (мАт1) модифицировали методику [30]. К 10 мл Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> добавляли 60 мкл 1мМ (3-аминопропил)триметоксисилана и инкубировали при перемешивании в течение 12 ч. После этого, наночастицы центрифугировали при 5000 g (20 мин) и ресуспендировали в 10 мл воды. Далее к Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> модифицированных аминогруппами, добавляли 10 мкл 2,5%-ного глutarового альдегида и оставляли при перемешивании на 3-4 ч. После повторного центрифугирования и ресуспендирования наночастиц в 20 мМ Трис-буфере (рН 8,0) добавляли мАт1 до конечной концентрации в растворе 25 мкг/мл и инкубировали в течение 3 ч. Далее в полученную смесь добавляли 20 мкл БСА (5 %), инкубировали еще 30 мин и центрифугировали 3 раза при 5000 g и 4°C в течение 15 мин. Конечный осадок перерастворили в 20 мМ Трис-буфере, содержащем 1% БСА, и хранили при 4°C.

**Характеристика наночастиц.** Исследования размеров Au, Au-Ag и Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> проводили методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Растворы наночастиц наносили на сеточки (300 меш.), покрытые пленкой-подложкой из поливинилформала, растворенного в хлороформе. Микрофотографии получали с помощью электронного микроскопа JEM-100C ("Jeol", Япония). Анализ изображений проводили с использованием программы Image Tool (Научный центр здоровья при Техасском Университете в Сан-Антонио, США). Спектры поглощения наночастиц регистрировали с помощью спектрофотометра UV-2450 (Shimadzu, Япония).

**Изготовление иммунохроматографических тест-полосок.** Тест-полоски собирали с использованием нитроцеллюлозной мембраны CNPC-SS12 с размером пор 15 мкм и впитывающей мембраны AP-045, которые были закреплены на пластиковой подложке L-P25. Тестовую зону на нитроцеллюлозной мембране формировали путем

нанесения мАТ2 в концентрациях 0,25, 0,5, 1 мг/мл в фосфатно-солевом буфере (ФБС) с помощью диспенсера IsoFlow (Image Technology, США). Затем мембрану высушивали в течение 2 часов при 37°C и нарезали на полоски шириной 4 мм с помощью гильотинного резака Index Cutter-1 (A-Point Technologies, США). Готовые тест-полоски хранили в пластиковом пакете с влагопоглотителем при комнатной температуре.

**Иммунохроматографический анализ пролактина с регистрацией спектров ГКР.** В лунки микропланшета вносили по 40 мкл растворов, содержащих пролактин в диапазоне концентраций 0.15 – 1000 нг/мл и приготовленных в 20 мМ Трис-буфере с добавлением 1% NaCl и 1% Тритон-80. Затем в лунки планшета добавляли по 1 мкл ГКР нанометки (Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub>-мАТ1), после чего в раствор погружали тест-полоски. Через 15 мин тест-полоски вынимали из растворов и высушивали. Традиционное колориметрическое детектирование выполняли путем сканирования высушенных тест-полосок с помощью сканера CanoScan LiDE 90 (Canon, Япония). Измерение ГКР спектров проводили в 10 точках тестовой зоны с помощью рамановского спектрометра с микроскопом NS200 (Nanoscope Systems, Южная Корея). Все ГКР спектры получали в идентичных условиях с использованием следующих настроек: возбуждающий лазер – 785 нм, мощность лазера – 20%, время экспозиции – 20 с, объектив – 20× (NA = 0,46).

**Обработка результатов анализа.** Зависимости интенсивности окрашивания (колориметрический сигнал) или интенсивности характеристической полосы МБК при 1097 см<sup>-1</sup> на спектрах ГКР (ГКР сигнал) в тестовой зоне от концентрации антигена в образце аппроксимировались с помощью программы Origin версии 9.0 (OriginLab, США) с использованием 4-параметрической сигмоидной функции. Предел обнаружения рассчитывали как сумму среднего фонового сигнала (в отсутствие пролактина) и трех его стандартных отклонений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Получение и характеристика Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub>.** Биметаллические наночастицы Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> со структурой ядро-оболочка-оболочка получали по схеме, представленной на рис. 1. Наночастицы золота синтезировали путем цитратного восстановления золотохлористоводородной кислоты. По данным ПЭМ (рис. 2а), средний диаметр наночастиц золота составил 28.9±1.6 нм. После осаждения серебра биметаллические наночастицы сохранили сферическую морфологию (рис. 2б), при этом их средний диаметр увеличился до 37.5±1.4 нм, что свидетельствует об успешном формировании серебряной оболочки вокруг ядра. В предложенной наноструктуре в качестве

молекулы-репортера была включена 4-меркапто-бензойная кислота (МБК). Расположение МБК между металлической оболочкой и кремниевым покрытием обеспечивало тесный контакт молекулы-репортера с плазмонной поверхностью для эффективного усиления комбинационного рассеяния. Последующее покрытие наночастиц диоксидом кремния путем реакции гидроли-

за-конденсации тетраэтоксисиланом привело к образованию тонкой внешней оболочки, окружающей металлическую структуру  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}$ . Данные ПЭМ подтверждают успешное инкапсулирование  $\text{Au-Ag}$  и образование квазисферических  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  с однородным слоем диоксида кремния, средний размер наночастиц составил  $45.6 \pm 1.7$  нм (рис. 2в).

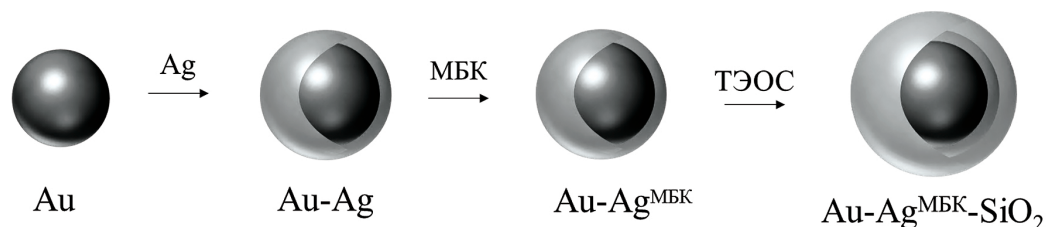


Рис. 1. Схема синтеза ГКР нанометки состава  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$   
Fig. 1. Scheme of the synthesis of SERS nanotag  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$

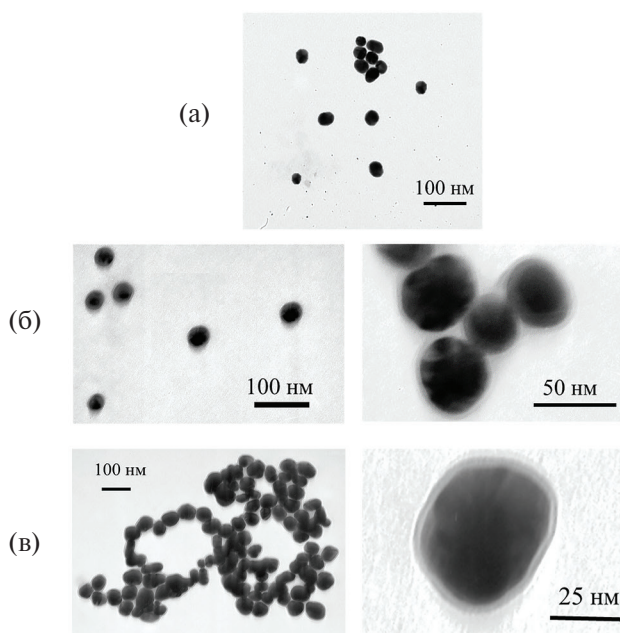


Рис. 2. Электронные микроизображения для препаратов (а)  $\text{Au}$ , (б)  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}$  и (в)  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$   
Fig. 2. Electronic microimages of the  $\text{Au}$  (а),  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}$  (б), and  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  (в) samples

Согласно полученным спектральным данным (рис. 3) исходные наночастицы золота демонстрировали характерную полосу плазмонного резонанса в области 528 нм. После формирования серебряной оболочки наблюдалось изменение спектрального профиля, указывающие на образование биметаллических структур  $\text{Au-Ag}$  с двумя пиками в области 500 и 430 нм (рис. 3б). Отсутствие спектральных изменений после нанесения крем-

ниевого покрытия (рис. 3в) свидетельствовало о стабильности наноструктур  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$ .

На следующем этапе исследовали ГКР активность наноструктур  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  и  $\text{Au}^{\text{МБК}}\text{-Ag}$  путем регистрации спектров комбинационного рассеяния. Обе наноструктуры продемонстрировали наличие характеристических пиков МБК, подтверждая успешное включение молекулы-репортера и сохранение плазмонной активности после покрытия диоксидом кремния (рис. 4).

Наиболее интенсивные полосы КР соответствовали характерным колебательным модам МБК, включая пик при  $1097\text{ см}^{-1}$ , который использовали в качестве аналитического сигнала в системе ИХА-ГКР. Сравнение усредненных спектров  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  и  $\text{Au}^{\text{МБК}}\text{-Ag}$  показало, что покрытие наночастиц диоксидом кремния незначительно снижает интенсивность сигнала ГКР (рис. 4). Наблюдаемое снижение ГКР-активности связано с увеличением расстояния между МБК и окружающей средой и ослаблением локального усиления электромагнитного поля, создаваемого металлической поверхностью.

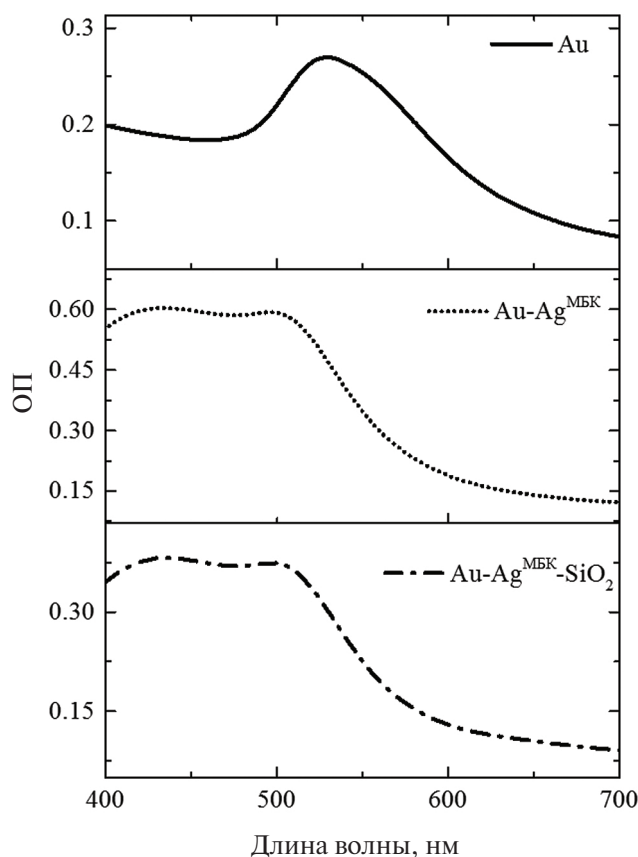


**Рис. 3.** Спектры поглощения препаратов (а) Au, (б)  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}$  и (в)  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$

**Fig. 3.** Absorption spectra of the Au (a),  $\text{Au-Ag}^{\text{MBA}}$  (б), and  $\text{Au-Ag}^{\text{MBA}}\text{-SiO}_2$  (в) samples

Тем не менее, несмотря на умеренное снижение интенсивности сигнала, наночастицы, покрытые диоксидом кремния, сохранили высокую ГКР активность для применения в иммуноанализе. Стоит отметить, что получение наноструктуры  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  обеспечило ряд существенных преимуществ, включающих улучшенную коллоидную стабильность и препятствие процессам окисления серебряного слоя и десорбции молекулы-репортера. Таким образом, незначительное снижение

интенсивности сигнала компенсировала повышенная стабильность наноструктур, необходимая в условиях иммунохроматографического анализа.

**Разработка иммунохроматографического анализа пролактина с регистрацией спектров ГКР.** Иммунохроматографический анализ проводили в формате «сэндвич» с использованием синтезированных наночастиц  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$ , конъюгированных с моноклональными антителами (ГКР нанометка). На рис. 5 представлена схема ИХА, которая включала инкубацию тест-полоски с иммобилизованными в тестовой зоне МАТ2 в анализируемой пробе, содержащей ГКР нанометку.

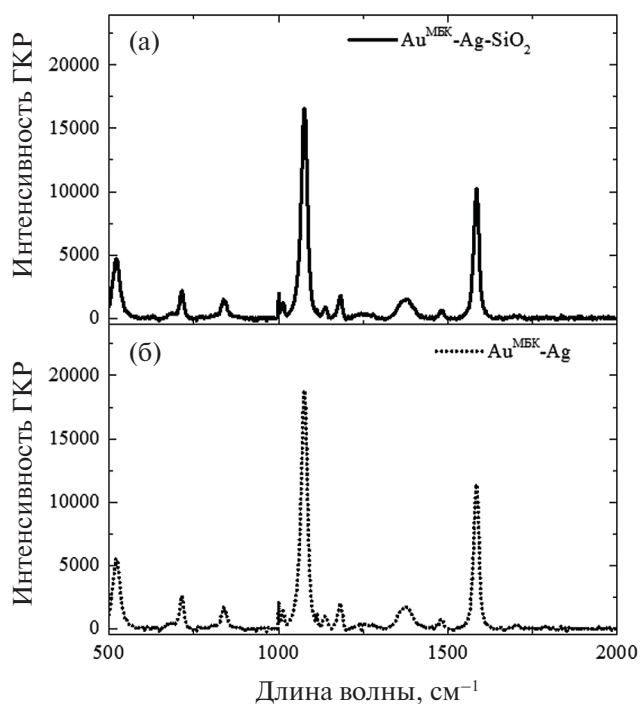


**Рис. 4.** ГКР спектры МБК, полученные с использованием биметаллических наночастиц состава  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}\text{-SiO}_2$  (сплошная линия) и  $\text{Au-Ag}^{\text{МБК}}$  (пунктирная линия)

**Fig. 4.** SERS spectra of MBA when using bimetallic nanoparticles  $\text{Au-Ag}^{\text{MBA}}\text{-SiO}_2$  (a) and  $\text{Au-Ag}^{\text{MBA}}$  (б)

Оптимизация анализа включала подбор концентраций иммунореагентов на рабочей мембране и ГКР нанометки в растворе, а также установление продолжительности анализа. Наибольшее соотношение сигнал/фон в присутствии 10 нг/мл и в отсутствие пролактина обеспечивалось при иммобилизации 1 мг/мл МАТ2 на рабочей мембране, объеме ГКР нанометки 1 мкл с  $\text{ОП}_{500}=10$  и продолжительности анализа 25 мин.

После процедуры стандартного ИХА первоначально проводили колориметрическое определение путем регистрации интенсивности окрашивания тестовой зоны. На рис. 6а представлены калибровочная зависимость и цифровые изображения тест-полосок. Предел обнаружения пролактина составил 0,4 нг/мл с рабочим диапазоном от 11,8 до 421,2 нг/мл. На следующем этапе регистрировали спектры ГКР в тестовой

зоне иммунохроматографических полосок. Для количественного анализа использовали характеристическую полосу МБК при 1097 см<sup>-1</sup>, которая демонстрировала высокую интенсивность и спектральную стабильность (рис. 6б). Предел обнаружения и рабочий диапазон, определенные по калибровочной зависимости ГКР сигнала от концентрации пролактина, составили 0,1 нг/мл и 2,2 – 23,9 нг/мл, соответственно.

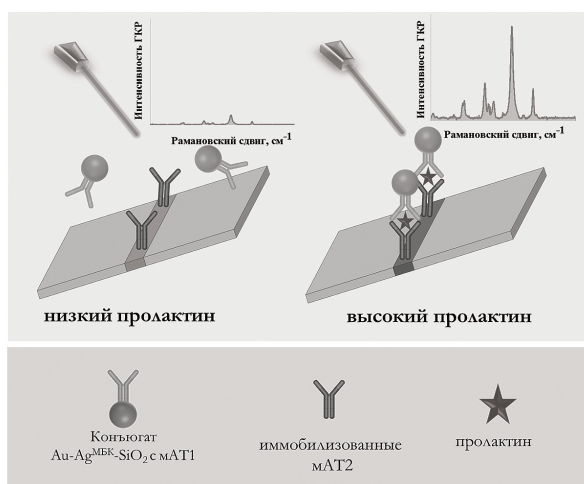


**Рис. 5.** Схема ИХА пролактина с использованием биметаллических наночастиц, покрытых кремниевой оболочкой (Au-Ag<sup>MBC</sup>-SiO<sub>2</sub>) и регистрацией спектров ГКР

**Fig. 5.** Scheme of ICA of prolactin when using bimetallic nanoparticles Au-Ag<sup>MBA</sup>-SiO<sub>2</sub> and registering SERS spectra

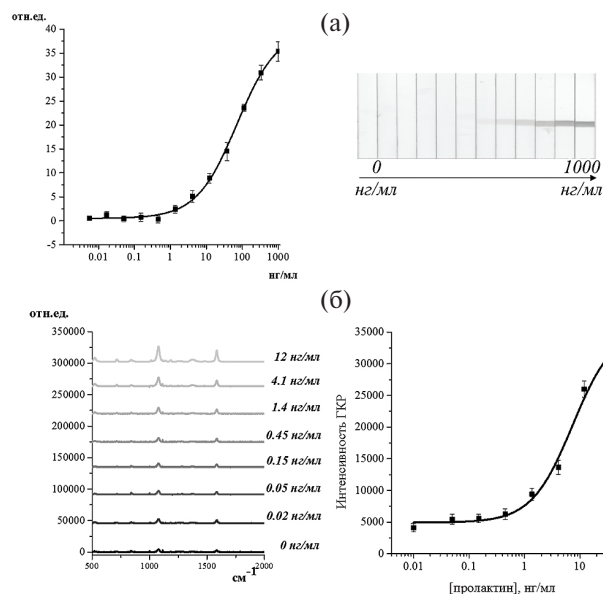


**Рис. 6.** (а) Зависимость интенсивности окрашивания тестовой линии (отн. ед.) от концентрации пролактина в стандартных растворах (n = 3) и соответствующие изображения тест-полосок. (б) Зависимость интенсивности сигнала ГКР при 1097 см<sup>-1</sup> от концентрации пролактина в стандартном растворе, полученная с использованием Au-Ag<sup>MBC</sup>-SiO<sub>2</sub>

**Fig. 6.** Dependence of the intensity of the test line (arbitrary units) on the prolactin concentration in standard solutions (a, n=3) and the corresponding images of the test strips (б); SERS spectra obtained after application standard solutions of prolactin (в) and dependence of the SERS intensity at 1097 cm<sup>-1</sup> on the prolactin concentration (г)

Сравнение стандартного колориметрического ИХА и ИХА-ГКР продемонстрировало 4-кратное повышение чувствительности при режиме детектирования комбинационного рассеяния. Наблюдаемое повышение чувствительности объясняется возможностью метода ГКР регистрировать меньшие количества связанной ГКР нанометки, тогда как чувствительность регистрации колориметрического сигнала зависит от накопления визуально детектируемого количества окрашенного конъюгата.

**Апробация ИХА-ГКР.** Апробацию разработанной тест-системы проводили в сыворотке человека. Сыворотку предварительно разбавляли в пять раз с целью снижения неспецифического взаимодействия и минимизации матричных эффектов. На рис. 7а представлена калибровочная зависимость, полученная после пропускания сыворотки, содержащей пролактин в диапазоне 0,04 – 100 нг/мл. Предел обнаружения пролактина и рабочий диапазон составили 0,6 нг/мл и 3,9 – 43,9 нг/мл. Незначительное изменение аналитических характеристик в матриксе сыворотки объясняется снижением сигнала ГКР в результате связывания присутствующих в сыворотке белков с ГКР нанометкой. Однако наблюдаемое снижение чувствительности ИХА-ГКР в реальном матриксе не повлияло на потенциал разработанной системы для определения пролактина в клинически значимых диапазонах концентраций (нормальные

значения пролактина у женщин варьируют от 4,5 до 30 нг/мл).

Воспроизводимость сигнала является важным параметром, определяющим практическую значимость применения аналитических систем на основе ГКР. Для оценки воспроизводимости сигнала в тестовой зоне регистрировали спектры КР после стандартной процедуры ИХА в сыворотке, содержащей 10 нг/мл пролактина (рис. 7б). Измеренные спектры продемонстрировали стабильную интенсивность пика МБК при 1097 см<sup>-1</sup> в разных точках измерения в пределах тестовой зоны с рассчитанным средним стандартным отклонением 5,4%, что указывает на однородное распределение конъюгатов наночастиц и воспроизводимое усиление ГКР. Полученные результаты подтверждают вклад кремниевой оболочки в стабилизацию структуры наночастиц и предотвращение процессов агрегации или деградации серебряной оболочки во время проведения анализа.

Таким образом, объединение наноструктуры ядро-оболочка-оболочка Au-Ag<sup>МБК</sup>-SiO<sub>2</sub> и регистрации сигнала ГКР является эффективной стратегией для повышения аналитических характеристик диагностических тест-систем и может быть реализована для выявления других клинически значимых биомаркеров.

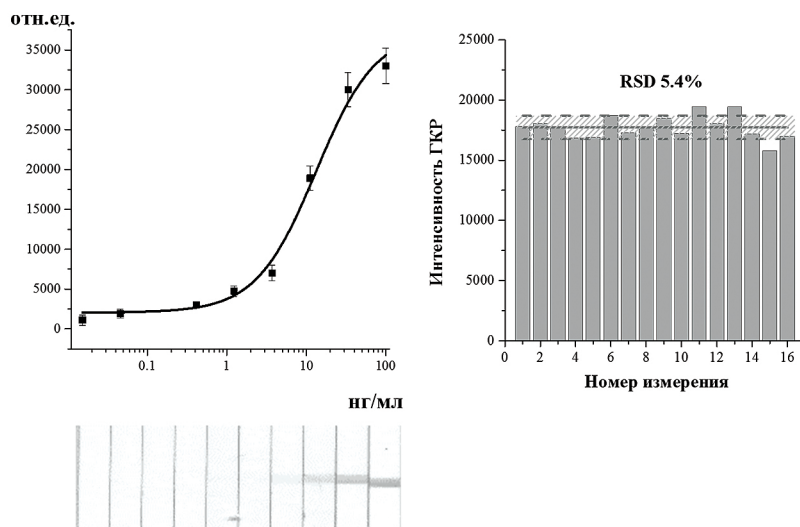


**Рис. 7.** (а) Зависимость интенсивности сигнала ГКР при 1097 см<sup>-1</sup> от концентрации пролактина в 5-кратно разбавленной сыворотке крови и соответствующие изображения тест-полосок. (б) Интенсивность ГКР при 1097 см<sup>-1</sup>, измеренная в 16 различных точках тест-полоски после проведения ИХА в присутствии 10 нг/мл пролактина

**Fig. 7.** Dependence of the SERS intensity at 1097 cm<sup>-1</sup> on the prolactin concentration in 5-fold diluted blood serum (а) and the corresponding images of the test strips (б). The SERS intensity at 1097 cm<sup>-1</sup> measured at 16 different points on the test strip after ICA in the presence of 10 ng/mL of prolactin (в)

## . СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Awiaz G., Lin J., Wu A. Recent advances of Au@ Ag core-shell SERS-based biosensors // Exploration. 2023. V. 3. №. 1. 20220072. <https://doi.org/10.1002/EXP.20220072>
2. Chen R., Wang H., Sun C. et al. Au@ SiO<sub>2</sub> SERS nanotags based lateral flow immunoassay for simultaneous detection of aflatoxin B<sub>1</sub> and ochratoxin A // Talanta. 2023. V. 258. 124401. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124401>
3. Chen Y., Liang D., Yang Y. et al. Accurate monitoring of female reproductive hormones using a dual-enhanced ultrasensitive immunosensor // Biosens. Bioelectron. 2026. 118597. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2026.118597>
4. Fu Y.-f., Zhu J. Current and future opportunities for lateral flow immunoassay strips based on tunable plasmonic properties of gold nanoparticles // Microchimica Acta. 2025. V. 192. 501. <https://doi.org/10.1007/s00604-025-07352-1>
5. Geng J., Che J., Weng Y. et al. An enzyme-assisted SERS immunoassay for detection of biomarkers in lung cancer using AgPb bimetallic core-shell nanoparticles // Alex. Eng. J. 2025. V. 118. P. 306-314. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2025.01.084>
6. Ghoshal K. Recent advances in biosensing technologies for detecting hormones // Advanced Sensor Technology. 2023. P. 261-295. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90222-9.00012-1>
7. Hou F., Sun S., Abdullah S.W. et al. The application of nanoparticles in point-of-care testing (POCT) immunoassays // Analytical Methods. 2023. V. 15. P. 2154-2180. <https://doi.org/10.1039/D3AY00182B>
8. Jayan H., Sun D.-W., Pu H., Wei Q. Mesoporous silica coated core-shell nanoparticles substrate for size-selective SERS detection of chloramphenicol // Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2023. V. 284. 121817. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121817>
9. Jeon J., Lee S.H., Joung Y. et al. Improvement of reproducibility and thermal stability of surface-enhanced Raman scattering-based lateral flow assay strips using silica-encapsulated gold nanoparticles // Sens Actuators B: Chem.. 2020. V. 321. 128521. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128521>
10. Kaya S.I., Cetinkaya A., Ozkan S.A. Advances in molecularly imprinted polymer-based sensors as biorecognition platforms for hormone detection // Discover Chemistry. 2026. V. 3. 148. <https://doi.org/10.1007/s44371-026-00621-9>
11. Khelifa L., Hu Y., Jiang N., Yetisen A. K. Lateral flow assays for hormone detection // Lab on a Chip. 2022. V. 22. P. 2451-2475. <https://doi.org/10.1039/D1LC00960E>
12. Khlebtsov B., Khlebtsov N. Surface-enhanced Raman scattering-based lateral-flow immunoassay // Nanomaterials. 2020. V. 10. 2228. <https://doi.org/10.3390/nano10112228>
13. Li H., Gao R., Hu X. Gao M., Pan M. Noble Metal-Based Nanocomposites for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Detection of Food Contaminants // Foods. 2025. V. 14. 3108. <https://doi.org/10.3390/foods14173108>
14. Liu Z., Jiang H., Lv X., Lian S., Li X. Performance Enhancement of SERS-Based Lateral Flow Assays: Progress and Prospective // Anal. Chem. 2025. V. 97. P. 23701-23720. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5c04694>
15. Meng X., Li Z., Yue W., Zhang L., Xie Z. Toward at-home and wearable monitoring of female hormones: emerging nanotechnologies and clinical prospects // ACS Sensors. 2025. V. 10. P. 54-75. <https://doi.org/10.1021/acssensors.4c02877>
16. Nandi A., Singh K., Sharma K. Advancement in early diagnosis of polycystic ovary syndrome: biomarker-driven innovative diagnostic sensor // Microchimica Acta. 2025. V. 192. 331. <https://doi.org/10.1007/s00604-025-07187-w>
17. Neng J., Li Y., Driscoll A.J., Wilson W. C., Johnson P. A. Detection of multiple pathogens in serum using silica-encapsulated nanotags in a surface-enhanced Raman scattering-based immunoassay // J. Agric. Food Chem. 2018. V. 66. P. 5707-5712. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00026>
18. Panferov V., Safenkova I., Zherdev A., Dzantiev B. B. Methods for increasing sensitivity of immunochromatographic test systems with colorimetric detection // Appl. Biochem. Microbiol. 2021. V. 57. P. 143-151. <https://doi.org/10.1134/S0003683821020113>
19. Panferov V.G., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Post-assay chemical enhancement for highly sensitive lateral flow immunoassays: A critical review // Biosensors. 2023. V. 13. 866. <https://doi.org/10.3390/bios13090866>
20. Peng J., Song Y., Lin Y., Huang Z. Introduction and development of surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates: A review // Nanomaterials. 2024. V. 14. 1648. <https://doi.org/10.3390/nano14201648>
21. Qin Q., Wang K., Yang J. et al. Algorithms for immunochromatographic assay: review and impact on future application // Analyst. 2019. V. 144. P. 5659-5676. <https://doi.org/10.1039/C9AN00964G>
22. Serebrennikova K., Komova N., Zherdev A., Dzantiev B. B. Development of Immunochromatographic Assay of the Anti-Mullerian Hormone by Surface-Enhanced Raman Scattering Using Bimetallic Nanoparticles // Appl. Biochem. Microbiol. 2026. V. 62. P. 180-189. <https://doi.org/10.1134/S0003683825602240>
23. Sharma G., Kumar A., Sharma S. et al. Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A review // Journal of King Saud University-Science. 2019. V. 31. P. 257-269. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.06.012>

24. Sharma H., Kumar P., Shrivastava G., Sharma K., Bhola A. Using Machine Learning for Protecting the Security and Privacy of Internet of Medical Things (IoMT) Systems // in Integrating Cloud, Fog, and Edge Computing in Healthcare: Federated Learning and Blockchain Approaches: Harnessing Distributed Technologies for Enhanced Healthcare Delivery. Springer Nature. Switzerland. 2026. P. 123-138. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-96265-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-031-96265-3_9)
25. Shatar L., Pillai N., Chee H.Y. et al. Enhancement in surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) substrates and the potential for diseases detection // Appl. Spectrosc. Rev. 2026. V. 61. № 5. P. 401-448. <https://doi.org/10.1080/05704928.2025.2530703>
26. Sloan-Dennison S., O'Connor E., Dear J.W., Graham D., Faulds K. Towards quantitative point of care detection using SERS lateral flow immunoassays // Anal. Bioanal. Chem. 2022. V. 414. P. 4541-4549. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-03933-8>
27. Sultangaziyev A., Ilyas A., Dyussupova A., Bukasov R. Trends in application of SERS substrates beyond Ag and Au, and their role in bioanalysis // Biosensors. 2022. V. 12. 967. <https://doi.org/10.3390/bios12110967>
28. Urusov A.E., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Towards lateral flow quantitative assays: detection approaches // Biosensors. 2019. V. 9. 89. <https://doi.org/10.3390/bios9030089>
29. Wang Z., Zong S., Wu L., Zhu D., Cui Y. SERS-activated platforms for immunoassay: probes, encoding methods, and applications // Chemical Reviews. 2017. V. 117. P. 7910-7963. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00027>
30. Wei C., Xu M.-M., Fang C.-W. et al. Improving the sensitivity of immunoassay based on MBA-embedded Au@SiO<sub>2</sub> nanoparticles and surface enhanced Raman spectroscopy // Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2017. V. 175. P. 262-268. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.12.036>
31. Yao L., Chen S., Yang S., Qiu T., Hao Q. Plasmonic Nanoarrays as SERS Substrates: Advances, Challenges, and Perspectives // Acc. Chem. Res. 2026. V. 59. P. 1244-1255. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6c00046>
32. Yu P., Shen C., Yin X. et al. Au-Ag bimetallic nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection of food contaminants: A review // Foods. 2025. V. 14. 2109. <https://doi.org/10.3390/foods14122109>
33. Zhao L., Jiang D., Cai Y. et al. Tuning the size of gold nanoparticles in the citrate reduction by chloride ions // Nanoscale. 2012. V. 4. P. 5071-5076. <https://doi.org/10.1039/C2NR30957B>
34. Zheng H., Zhang H., Wu J., Jiao Z., Chen Y. Self-reporting plasmonic nanoflowers enable magnetically enriched SERS immunoassay for ultrasensitive prostate cancer biomarker detection // Biosens. Bioelectron. 2025. 117849. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2025.117849>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Серебрянникова Ксения Вячеславовна — Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация  
E-mail: ksenijasereb@mail.ru

Комова Надежда Сергеевна — Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация  
E-mail: nad4883@yandex.ru

Жердев Анатолий Витальевич — Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация  
E-mail: zherdev@inbi.ras.ru

Дзантиев Борис Борисович — Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация  
E-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 20.04.2026

После доработки 05.05.2026

Принята к публикации 12.05.2026

## AUTHOR INFORMATION

Serebrennikova, Ksenia V. — A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
E-mail: ksenijasereb@mail.ru

Komova, Nadezhda S. — A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
E-mail: nad4883@yandex.ru

Zherdev, Anatoly V. — A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
E-mail: zherdev@inbi.ras.ru

Dzantiev, Boris B. — A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
E-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

Received April 20, 2026

Revised May 05, 2026

Accepted May 12, 2026