

Использование магнитных наночастиц в биомедицине

Першина А.Г., Сазонов А.Э., Мильто И.В.

Application of magnetic nanoparticles in biomedicine

Pershina A.G., Sazonov A.E., Milto I.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Першина А.Г., Сазонов А.Э., Мильто И.В.

Применение наноматериалов открывает широкие перспективы благодаря появлению у вещества в наноразмерном состоянии уникальных свойств. В настоящее время на основе наночастиц разрабатывают высокоспецифичные диагностические системы и эффективные методы терапии. В обзоре рассмотрены основные направления биомедицинского применения магнитных наночастиц: магнитная сепарация, биосенсоры, контрастирование при MRI-диагностике, управляемая локальная гипертермия опухолей, целевая доставка препаратов, генотерапия, а также конструирование тканей.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, биомедицина.

The use of nanomaterials offers many advantages due to their unique properties. They can be used as building blocks for the fabrication of various functional diagnostic systems and agents of therapy. This article focuses on the application of magnetic nanoparticles in biomedicine such as magnetic separation, biosensor, contrast agents for MRI (magnetic resonance imaging), local operated hyperthermic treatment of tumors, drug delivery, gene therapy, tissue engineering.

Key words: magnetic nanoparticles, biomedicine.

УДК 57.089:621.318

Введение

Нанотехнология в последние годы стала одной из наиболее перспективных и динамично развивающихся областей знаний. Развитие нанотехнологий обеспечивается междисциплинарным характером исследований, широким взаимопроникновением идей и разработок, интеграцией материалов, методов и процессов из различных областей знаний. Применение наноматериалов в медицине и фармакологии является приоритетным направлением, позволяющим решать самые актуальные проблемы в данных областях. Такие технологии трансформируют устоявшиеся научные дисциплины и позволяют создавать новые направления исследований. Объединение научных достижений нанотехнологии и биотехнологии привело к созданию новой дисциплины — нанобиотехнологии, развитие которой обещает привести к созданию наноконструкций, способных управлять биосистемами на молекулярном уровне [15].

Магнитные наночастицы

Активный интерес к наноматериалам обусловлен тем, что при переходе в наноразмерное состояние происходит изменение ряда фундаментальных свойств вещества. Одним из

главных факторов, определяющих физические характеристики наноразмерных объектов, выступает развитая поверхность, что определяет преобладание поверхностных явлений. Площадь свободной поверхности материала в ультрасмаллодисперсном состоянии превышает площадь свободной поверхности вещества, сохраняющего высокую степень порядка. В результате в твердом теле возникают новые физические явления и свойства, которых не было ранее и которые невозможно предсказать, исходя из строения и свойств массивного вещества [1—3]. Наночастицы обладают высокоразвитой активной поверхностью и, как следствие, высокой сорбционной емкостью. Благодаря своим размерам (менее 100 нм), сопоставимым с размерами клеток (10—100 мкм), вирусов (20—450 нм), белков (5—50 нм), ДНК (2 нм шириной, 10—100 нм длиной), наночастицы могут приближаться к биообъекту, взаимодействовать и связываться с ним [64].

При переходе вещества в наносостояние существенно меняются его магнитные свойства, в результате чего наночастицы обладают ферро- и суперпарамагнитными свойствами. Суперпарамагнетики магнитны только при наложении поля, ферромагнетики имеют постоянный средний магнитный момент и более сильные магнитные свойства [56].

Наночастицы, обладающие магнитными свойствами, представляют значительный интерес для медицины, что связано с возможностью дистантного управления ими и конструкциями на их основе при наложении внешнего магнитного поля. В настоящее время синтезирован широкий спектр магнитных наночастиц: на основе металлов Co, Fe, Ni, оксидов железа, ферритов $MgFe_2O_4$, $CoFe_2O_4$, $MnFe_2O_4$, $LiFe_5O_8$, а также CoPt, FePt, MnAl, $SmCo_5$, $Fe_{14}Nd_2B$ [21, 76]. Оксидные частицы обладают более слабыми магнитными свойствами, чем наночастицы на основе металлов, однако они более устойчивы к окислению. В настоящее время наиболее широкое применение в биомедицине получили частицы наноразмерного оксида железа, что обусловлено их низкой токсичностью и стабильностью магнитных характеристик [6, 44].

Существует несколько стратегий синтеза наночастиц: механические (диспергирование), физические (применение высокоэнергетических воздействий), химические (синтез или разложение) и физико-химические методы [44]. Используют также наночастицы магнетита биогенного происхождения, формирующиеся бактериями [42].

Для биомедицинского применения наночастиц необходимо выполнить ряд требований: образовать устойчивую коллоидную систему в водных растворах и других биосовместимых растворителях, иметь возможность вариации параметров раствора (концентрации солей, pH и температуры) в интервалах, которые определяются целью исследования в каждом конкретном случае. Однако ввиду высокой реакционной активности для наночастиц практически не существует инертной среды. Одной из особенностей поведения наночастиц в растворе является их склонность к агрегации, поэтому практическое использование растворов наночастиц сопряжено с их стабилизацией (нанесение покрытия на поверхность магнитного «ядра», добавление стабилизаторов, подбор растворителей и т.д.). Применяемые покрытия можно разделить на органические (сурфактанты и полимеры) [6, 50, 58] и неорганические (кремнезем, углерод, благородные металлы) [25, 70]. Наиболее распространенными органическими покрытиями наночастиц являются декстран, полиэтиленгликоль (ПЭГ), крахмал, поливинилэтанол, гепарин, высшие карбоновые кислоты [36, 37, 41, 59, 61, 62].

Помимо защиты от агрегации, окисления, кислотной и щелочной коррозии покрытие может играть роль спейсера для присоединения фармацевтических агентов или биомолекул к магнитному носителю. Благодаря покрытию можно

модифицировать поверхность наночастиц различными функциональными группами — азидо-, amino-, карбоксильными, сульфгидрильными, гидроксильными, имидными и другими, что позволяет ковалентно связывать наночастицы с биомолекулами или лекарственными средствами [8, 74]. Образование ионной связи наночастиц с противоопухолевыми препаратами может быть достигнуто в результате нанесения на наночастицы (уже покрытые полимером с целью стабилизации коллоидного раствора) второго слоя полимеров [6, 8—11], поли-DL-лактид-ко-гликолида (PLGA), полилактида (PLL) или дендримеров [30]. Дополнительной важной функцией покрытия наночастиц является повышение их биосовместимости. Так, показано, что покрытие декстраном препятствует опсонизации магнитных наночастиц клетками ретикулоэндотелиальной системы при введении их в кровотоки [6, 29]. Поверхностная модификация ПЭГ снижает поглощение наночастиц макрофагами и благодаря наличию полярных и неполярных группировок способствует эффективному проникновению через мембрану клетки [80]. Альтернативным вариантом достижения биосовместимости является заключение наночастиц в фосфолипидный бислой, обеспечивающий эффективное связывание с клеточной мембраной, — создание магнитоуправляемых липосом [16, 48]. Потенциальными преимуществами использования липосом в системах целевой доставки являются предотвращение локального разведения лекарств и ограничение их взаимодействий с биологической средой, в которую они введены. Кроме того, липосомы сходны по строению с биологическими мембранами, что определяет их биосовместимость и эффективность в системах целевой доставки. Таким образом, липосомы, нагруженные наночастицами (магнитоллипосомы), позволяют комбинировать диагностику и лечение, инкапсулируя контрастные агенты для магнитно-резонансной томографии (МРТ) вместе с лекарствами. В данном случае наночастицы используются в качестве якоря для притягивания нагруженных липосом к мишени, например к опухоли. Более того, использование липосом также решает проблему растворимости и коллоидной устойчивости наночастиц, которые в противном случае коагулируют и формируют агрегаты в кровеносном русле, что может привести к эмболии. Для специфического нацеливания поверхность липосом может быть конъюгирована с антителами либо химически модифицирована. Так, создание катионоактивных липосом позволило достичь десятикратного повышения их аффинности к клеткам глиомы крысы [29]. В зависимости от требуемых целей можно

модифицировать поверхность наночастиц таким образом, что они будут либо преимущественно подвергаться эндоцитозу клеткой, либо встраиваться в мембрану и выполнять роль клеточного рецептора для конкретного терапевтического агента [13].

Важно отметить, что иммобилизация на поверхности наночастицы приводит к стабилизации биомолекул и служит защитой от деградации их под воздействием различных факторов. Показано, что ДНК, иммобилизованная на поверхности наночастицы, сохраняет свою стереометрию и устойчива к действию нуклеаз [17, 23]. При иммобилизации белков и ферментов на магнитных частицах их стабилизация достигается главным образом за счет стабилизации конформационной структуры и за счет предотвращения ферментативной деградации [26, 43]. Благодаря малым размерам соединение с наночастицей не приводит к денатурации белковых молекул, что очень важно для сохранения функциональной активности и аффинитета к мишени, например при нацеливании посредством антител [38]. Таким образом, в настоящее время достигнуты значительные успехи в использовании магнитных наночастиц в медицине. Существуют следующие основные области биомедицинского приложения магнитных наночастиц:

1. Диагностика и инструменты исследований (биосенсоры, MRI, маркеры биомолекул, биосепарация и пробоподготовка, исследования молекулярного взаимодействия).
2. Адресное терапевтическое воздействие (целевая доставка терапевтических молекул, управляемая локальная гипертермия опухолей).
3. Разработка биологических тканей.

Использование магнитных наночастиц в диагностике

Магнитные наночастицы нашли широкое применение в диагностике *in vitro*. Благодаря своим малым размерам они могут связываться непосредственно с биомолекулой или клеткой, что позволяет значительно увеличить порог чувствительности анализа, выявляя присутствие нескольких молекул или клеток в образце. Наличие магнитных свойств обеспечивает легкость детекции, выделения и концентрирования интересующих биообъектов. Это позволяет использовать наночастицы для высокоспецифичной магнитной сепарации биологических молекул, являющейся значительно менее трудоемкой процедурой, чем фильтрация и центрифугирование.

Магнитные свойства наночастиц лежат в основе создания методов выделения и очистки нуклеиновых кислот и

белков. Так, полиэтиленмодифицированные частицы Fe_3O_4 были успешно использованы для выделения плазмидной ДНК [12]. Высокоэффективное выделение геномной ДНК кукурузы было достигнуто с помощью силанизированного магнетита и композитного материала на основе магнетита, покрытого кремнием [72]. Выделенная ДНК в дальнейшем может быть применена для проведения ПЦР, рестрикции, трансфекции. На основе наночастиц Fe_2O_3 и $\text{SmCo}_{5,2}$, связанных через допамин с функциональной группой молекулы нитрилтриуксусной кислоты (NTA), создан универсальный и простой способ очистки гистидинмеченных белков, демонстрирующий высокую специфичность [21, 78].

На основе магнитных наночастиц разработаны методы пробоподготовки биообъектов для дальнейших высокотехнологических исследований. Покрытые декстраном ферромагнитные частицы, конъюгированные с белком А стафилококка, использовались с целью магнитной сепарации и визуализации эритроцитов для просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии [51]. Применение наночастиц для магнитной сепарации белков и ферментов позволяет сократить время дегидратации образцов для проведения MALDI масс-спектрометрии [31]. Применение MALDI MS-анализа для определения массы биомолекул часто ограничено из-за чрезмерного содержания в образцах солей и других примесей, которые могут вызывать подавление ионизации. На основе наноразмерного оксида железа, модифицированного олеатом, разработана достаточно простая и селективная процедура извлечения и концентрирования анализируемых белков из водного раствора. Адсорбция белков на поверхности частиц достигается за счет гидрофобного и электростатического взаимодействий. Так, при использовании подобной стратегии наименьшая обнаруживаемая концентрация белков (ангиотензина I, инсулина, миоглобина) составила 0,1–10,0 нмоль/мл. Этот метод был успешно применен для концентрирования продуктов разложения цитохрома C трипсином, ферментативная реакция разложения проходила непосредственно на поверхности наночастиц оксида железа [11].

Многообещающая область применения магнитных наночастиц — создание высокочувствительных биосенсоров [71]. Для достижения специфического связывания наночастицы конъюгируют с моно- и поликлональными антителами, олигонуклеотидными последовательностями.

Наномангетики применяются для цитологических исследований. Разработан высокочувствительный метод цитометрического анализа образцов цельной крови, в основе которого лежит маркировка клеток крови ферромагнитными наночастицами [73]. Магнитные наночастицы, сопряженные

с антителами, используются для обнаружения опухолевых клеток в периферической крови, что позволяет оценивать эффективность химиотерапии, а также выделять клетки методом магнитной сепарации [40, 83]. На основе наночастиц разработаны высокочувствительные методы обнаружения патогенных микроорганизмов [52, 69]. Так, использование биофункциональных наночастиц на основе Fe_2O_3 и CoFe_2O_3 , сопряженных с IgG, имеющим сайты связывания с клеточными рецепторами на поверхности бактериальных клеток, позволяет обнаруживать широкий спектр патогенов (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *E. gall*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* и др.) в концентрациях $10\text{--}100\text{ cfu/mL}^{-1}$ [21, 80].

Существует удобный и чрезвычайно чувствительный метод обнаружения и очистки ДНК (РНК) в биологических образцах, основанный на способности нуклеиновых кислот к гибридизации. Закрепление на поверхности магнитных частиц специфической олигонуклеотидной последовательности, которая комплементарна определяемому секвенсу, позволяет использовать их для обнаружения генов, мРНК. На основе наноманетиков разработан подход проведения SNP-анализа, позволяющий детектировать и выделять ДНК (мРНК), отличающиеся по одному нуклеотиду (точечная замена), для диагностики болезней, обусловленных генными мутациями. Данный метод был успешно применен в буферных растворах и образцах лизата опухолевых клеток, содержащих различные белки и случайные последовательности ДНК. Показано, что система, созданная на основе магнитных наночастиц, крайне чувствительна и позволяет обнаружить следовые количества ДНК (РНК) (при концентрациях 10^{-15} моль). Выделенный генетический материал может быть использован для последующей постановки ПЦР в режиме реального времени [82].

Эффект гибридизации применяется и для генодетекции патогенов. Аминомодифицированные магнитные наночастицы, несущие олигонуклеотидную последовательность, комплементарную участку гена *hlyA* *Listeria monocytogenes*, были использованы для детекции и выделения ДНК бактерии из образцов молока с целью последующего проведения ПЦР [5]. кДНК вируса гепатита С ковалентно закрепляли на поверхности аминированных наночастиц, модифицированных гетерофункциональным полимером (альдегид-аспартат-декстраном). Далее была осуществлена прямая детекция вируса при крайне низких концентрациях наносвязанной

кДНК (10^{-18} г/мл) и выделена РНК вируса для последующего проведения ПЦР-ELISA [17].

На основе магнитных наночастиц созданы высокочувствительные биосенсоры, позволяющие исследовать межмолекулярные взаимодействия (белок-белковые, ДНК—ДНК и ферментативные), используя измерения времени магнитной релаксации и магнитный резонанс [60]. Так, на основе данных по измерению времени магнитной релаксации детектировали гибридизацию олигонуклеотида, комплементарного теломеразному повтору и иммобилизованного на поверхности амидированных частиц оксида железа для исследования активности теломеразы [20]. Разработан метод исследования каталитической активности протеаз [81].

Очевидны перспективы использования магнитных наночастиц *in vivo* для диагностики и терапии. Учитывая проницаемость биологических тканей для магнитных полей, представляется возможным локальное накопление магнитных наночастиц и конструкций на их основе в заданном участке тела (органа), а управление поведением частиц под действием переменного внешнего электромагнитного поля. Благодаря наноразмерам суспензии на основе магнитных частиц могут быть введены внутривенно.

Магнитные наночастицы используются для диагностики в качестве контрастирующих агентов MRI [7, 75]. Присутствие наночастиц в органе или ткани позволяет значительно усилить MR-сигнал. Использование магнитного нацеливания и связывания с маркерными молекулами позволяет достигнуть концентрирования частиц в определенном органе. В настоящее время разработано применение магнитных наночастиц для MRI-исследований ЖКТ, лимфоузлов, печени, мозга, миокарда [6]. Для проведения MRI ключевым моментом является соединение частиц с поверхностью клетки и их эндоцитоз. Применение декстранмодифицированных наночастиц, конъюгированных с tat-пептидом ВИЧ-1, позволило провести контрастирование лимфоцитов — клеток, которые не ведут активный эндоцитоз [34]. Благодаря повышению разрешающей способности MRI при использовании магнитных наночастиц были обнаружены мелкие метастазы, не диагностируемые другими методами, в лимфоузлах у пациентов с аденокарциномой простаты [22]. ПЭГ-модифицированные наночастицы, несущие на поверхности моноклональные антитела, были использованы для контрастирования клеток глиомы человека при проведении MRI [67]. В настоящее время наночастицы, покрытые кремнием, для MRI-

обнаружения опухолей различной локализации являются коммерческим продуктом [7].

Наиболее актуальной областью исследований биомедицинского приложения наночастиц является разработка новых подходов к терапии онкологических заболеваний. Было показано, что некоторые виды опухолевых клеток более чувствительны к высоким температурам, чем неперерожденные клетки, в связи с чем был предложен метод повышения эффективности терапии опухолей — локальная управляемая гипертермия [33, 54]. Магнитные наночастицы отвечают резонансом на изменение внешнего магнитного поля с передачей энергии наночастицам, т.е. энергия магнитного поля переходит во внутреннюю энергию наночастиц, что сопровождается их нагреванием. Свойство индуктивного нагрева наночастиц позволило разрабатывать идею их использования для гипертермического разрушения опухолевых клеток [10, 56]. Гипертермия успешно применяется совместно с химио- или радиотерапией для повышения их эффективности [24]. Разрабатываются подходы к гипертермии опухолей на основе наночастиц оксида железа, феррита кобальта [10, 55]. Магнитные липосомы были успешно использованы для гипертермического разрушения Т-9 глиомы крыс, В16 меланомы мыши [49, 68]. Эффективность магнитного нацеливания для гипертермии можно повысить за счет конъюгации наночастиц или поверхности магнитолипосом с высокоспецифичными молекулами. Например, проведены успешные эксперименты гипертермии карциномы *in vitro* и *in vivo* магнитолипосомами, несущими на поверхности Fab-фрагменты антител [29].

Перспективные подходы к терапии на основе магнитных наночастиц

Идея целевой доставки терапевтических агентов (таких как олигонуклеотиды, белки, лекарственные препараты) с использованием магнитного нацеливания была предложена Widder в 1978 г. [77]. Применение данного подхода в химиотерапии опухолей позволяет значительно снизить дозу препарата, побочные эффекты и нивелировать неспецифическое негативное его воздействие на организм [32, 47]. При связывании противоопухолевого препарата с магнитной частицей можно направлять его в опухоль, используя силы внешнего магнитного поля [35]. Проведен ряд исследований возможности доставки доксорубина, закрепленного на поверхности наноразмерных частиц, в экспериментальные опухоли животных [4, 19, 64]. Показано, что наночастицы, нагруженные препаратом, способны преодолевать гематоэнцефалический барьер; так была осуществлена доставка

наночастиц в глиальные опухоли крыс [53]. На основе наноразмерного оксида железа, модифицированного крахмалом, проведено исследование доставки эпилубицина для терапии сарком и карцином человека [45]. В настоящее время проведены первая и вторая стадии клинических испытаний лечения карциномы печени с использованием магнитных наночастиц [46]. Целевая доставка может происходить на уровне целого органа или определенных клеток. Специфичность нацеливания повышают, применяя лектин, антитела и их фрагменты, цитокины, протеины, гормоны, заряженные молекулы низкомолекулярных соединений [66, 73].

Генотерапия является одним из перспективных подходов к лечению разнообразных заболеваний человека: моногенных, мультифакториальных, в том числе онкологических, инфекционных, дегенеративных. Доставка специфических ДНК, РНК, олигонуклеотидов в определенные клетки может подавлять экспрессию гена либо инициировать синтез важных белков. Ключевой проблемой генотерапии является доставка терапевтических нуклеотидов в клетки-мишени. Практическое использование генотерапии развивается в направлении создания высокоспецифичных систем доставки и стабилизации терапевтических нуклеотидов и увеличения эффективности трансфекции [57, 79]. Использование вирусных векторов, несмотря на высокую эффективность, сопряжено с риском патогенности и иммуногенности, в связи с чем применение курьеров на основе наночастиц наиболее перспективно [6, 42, 58]. Так, осуществлена трансфекция плазмидной ДНК, конъюгированной с наночастицами, которая в последующем успешно экспрессировалась, при этом связь с наночастицей защищала ДНК от действия нуклеаз и рестриктаз [63].

Широко разрабатываются подходы к генотерапии онкологических заболеваний. В настоящее время проведены эксперименты по трансфекции генов с использованием суперпарамагнитных частиц на клетках эпителия легкого человека [18]. Осуществлена трансфекция комплексов малых интерферирующих РНК (siRNA), конъюгированных с магнитными частицами, в культуру клеток HeLa и проведен анализ изменения экспрессии гена после трансдукции [65]. Высокий уровень трансфекции антисмысловыми РНК (асРНК), закрепленными на магнитных наночастицах, модифицированных полиамидамином (PAMAM) и дендримерами, показан в культуре опухолевых клеток человека — МКФ рака молочной железы [7], MDA-MB-435 и рака печени HepG2 [55]. Проведены эксперименты успешной доставки асРНК наноманитным носителем *in vivo* на мышах [39]. Одним из возможных подходов к увеличению уровня трансфекции является использование переменного магнитного поля. Это позволяет

в 10 раз увеличить уровень трансфекции генов, закрепленных на поверхности наночастиц магнетита с кремниевым покрытием, по сравнению со статичным магнитом в клетках НЕК293Т и эпителиальные клетки легкого человека H292 [14].

Несмотря на то, что использование магнитного нацеливания посредством наночастиц открывает широкие перспективы, существует ряд проблем, препятствующих их широкому клиническому использованию. К ним относятся риск эмболии сосудов микроциркуляторного русла из-за скопления магнитных частиц в пределах сосудистого региона в области нацеливания; не решены вопросы о возможном токсичном действии наночастиц, механизмов их выведения из организма или биodeградации. Высокая эффективность магнитного нацеливания, показанная в культурах клеток и на лабораторных животных, не всегда может быть достигнута при использовании терапевтических комплексов на основе наночастиц у человека, так как требуется наложение очень сильных магнитных полей, что не всегда возможно. В настоящее время не удалось полностью избежать активации клеток РЭС при введении наноконструкций. В связи с этим продолжается поиск и разработка нанокурьеров.

Конструирование тканей с применением магнитных наночастиц

Конструирование тканей и органов для трансплантологии является актуальным направлением современных исследований [29]. Связывание магнитных частиц с мембраной клетки или ионными механочувствительными каналами мембраны позволяет инициировать биохимический ответ клетки при воздействии переменного магнитного поля, что может стимулировать рост ткани [56]. Так, механическая стимуляция активности остеобластов человека, с мембраной которых были связаны ферромагнитные наночастицы CrO_2 , посредством наложения магнитного поля позволила стимулировать рост костной ткани *in vitro* [9].

Значительные успехи в инженерии тканей достигнуты в связи с применением техники Mag-TE. В клетки кератиноцитов человека вводили наноразмерные частицы магнетита, применяя катионоактивные липосомы, и закрепляли их на подложке, используя постоянное магнитное поле. Кератиноциты формировали 5- и 10-слойные эпидермальные листы, сборка которых была осуществлена без ферментативной обработки [28]. Дальнейшая разработка технологии Mag-TE

позволила инициировать межклеточные взаимодействия, в результате чего были сконструированы 3D-ткани, состоящие из двух типов клеток; так, на слое гепатоцитов были аккумулярованы эндотелиальные клетки выстилки сосудов [27].

В настоящее время нанотехнология признана мировой общественностью приоритетным направлением исследований, интегрирующим передовые научные достижения в области физики, химии и биологии. Эта дисциплина имеет громадный потенциал, реализация которого затрагивает все сферы жизнедеятельности человека. Ключевым аспектом современных исследований в области нанобиотехнологии является разработка подходов к высокоточному управлению живыми системами на субклеточном уровне. Сегодня открываются перспективы для проведения высокочувствительной диагностики (создание микроципов) и высокоспецифичной и эффективной терапии различных заболеваний. Постоянно синтезируется большое число новых наноматериалов и предлагаются новые подходы и области их биомедицинского применения. Наряду с этим важнейшей задачей остается усовершенствование разработанных наноконструкций с целью внедрения их в практическую медицину.

Литература

1. Губин С.П., Кокшаров Ю.А., Хомутов Г.Б. и др. // Успехи химии. 2005. № 74. В. 6. С. 539.
2. Гусев А.И., Ремпель А.А. Нанокристаллические материалы. М.: Физматлит, 2001. 224 с.
3. Суздалев И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. М.: КомКнига, 2006. 592 с.
4. Alexiou C., Arnold W., Klein R.J. et al. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting // Cancer. Res. 2000. V. 60. P. 6641—6648.
5. Amagliani G., Omiccioli E., del Campo A. et al. Development of a magnetic capture hybridization-PCR assay for *Listeria monocytogenes* direct detection in milk Samples // J. of Applied Microbiology 2006. V. 100. P. 375—383.
6. Berry C., Curtis A. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine // J. Phys. D. Appl. Phys. 2003. V. P. 36.
7. Bonnemain B. Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physicochemical characteristics and clinical applications-a review // J. Drug Target. 1998. V. 6. P. 167—174.
8. Bruce I.J., Sen T. Surface Modification of magnetic nanoparticles with alkoxy silanes and their application in magnetic bioseparations // Langmuir. 2005. V. 21. P. 7029—7035.
9. Cartmell S.H., Dobson J., Verschuere S. et al. Mechanical conditioning of bone cells in vitro using magnetic microparticle technology // Eur. Cell. Mater. 2002. V. 4. P. 130—131.
10. Chan D.C.F., Kirpotin D., Bunn P.A. Synthesis and evaluation of colloidal magnetic iron-oxides for the site-specific radiofrequency-induced hyperthermia of cancer // J. Magn. Magn. Mater. 1993. V. 122. P. 374—378.

11. Chang S.Y., Zheng N.-Y., Chen C.-S. *et al.* Analysis of Peptides and Proteins Affinity-Bound to Iron Oxide Nanoparticles by MALDI MS // *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 2007. V. 18. P. 910—918.
12. Chiang C.-L., Sung C.-S., Wu T.-F. *et al.* Application of superparamagnetic nanoparticles in purification of plasmid DNA from bacterial cells // *J. of Chromatography B.* 2005. V. 822. P. 54—60.
13. Curtis A. Biomedical aspects of magnetic nanoparticles // *Europhysics News.* 2003. V. 34. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.europhysicsnews.com/full/24/article2/article2.html>.
14. Dobson J. Gene therapy progress and prospects: magnetic nanoparticle-based gene delivery // *Gene Therapy.* 2006. V. 13. P. 283—287.
15. Ernest H., Shetty R. Impact of nanotechnology on biomedical sciences: Review of current concepts on convergence of nanotechnology with biology // *J. of Nanobiotechnol.* 2005. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.azonano.com/oars.asp>
16. Fortin-Ripoche J.-P., Martina M.-S., Gazeau F. *et al.* Magnetic targeting of magnetoliposomes to solid tumors with MR imaging monitoring in mice: feasibility // *Radiology.* 2006. V. 239. № 2. P. 415—424.
17. Fuentes M., Mateo C., Rodriguez A. *et al.* Detecting minimal traces of DNA using DNA covalently attached to superparamagnetic nanoparticles and direct PCR-ELISA // *Biosensors and Bioelectronics.* 2006. V. 21. P. 1574—1580.
18. Gersting S.W., Schillinger U., Lausier J. *et al.* Gene delivery to respiratory epithelial cells by magnetofection // *J. Gene. Med.* 2004. V. 6. P. 913—922.
19. Goodwin S., Peterson C., Hob C., Bittner C. Targeting and retention of magnetic targeted carriers (MTCs) enhancing intra-arterial chemotherapy // *J. Magn. Magn. Mater.* 1999. V. 194. P. 132—139.
20. Grimm J., Perez J.M., Josephson L., Weissleder R. Novel nanosensors for rapid analysis of telomerase activity // *Cancer Research.* 2004. V. 64. P. 639—643.
21. Gu H., Xu K., Xu C. *et al.* Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection // *J. of the American Chemical Society Chem. Commun.* 2006. P. 941—949.
22. Harisinghani M.G., Barentsz J., Hahn P. F. *et al.* Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer // *N. Engl. J. Med.* 2003. V. 348. P. 2491—2499.
23. He X.X., Wang K., Tan W. *et al.* Bioconjugated nanoparticles for DNA protection from cleavage // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125. P. 7168—7169.
24. Hilger I., Fruhauf K., Andra W. *et al.* Heating potential of iron oxides for therapeutic purposes in interventional radiology // *Acad. Radiol.* 2002. V. 9. P. 198—202.
25. Hong J., Gong P., Xu D. *et al.* Stabilization of chymotrypsin by covalent immobilization on amine-functionalized superparamagnetic nanogel // *J. of Biotechnology.* 2007. V. 128. P. 597—605.
26. Hong J., Gong P., Xu D. *et al.* Stabilization of chymotrypsin by covalent immobilization on amine-functionalized superparamagnetic nanogel // *J. of Biotechnology.* 2007. V. 128. P. 597—605.
27. Ito A., Takizawa Y., Honda H. *et al.* Tissue engineering using magnetite nanoparticles and magnetic force: heterotypic layers of cocultured hepatocytes and endothelial cells // *Tissue Eng.* 2004. V. 10. P. 833—840.
28. Ito A., Hayashida M., Honda H. *et al.* Construction and Harvest of Multilayered Keratinocyte Sheets Using Magnetite Nanoparticles and Magnetic Force // *Tissue Engineering.* 2004. V. 10. P. 873—880.
29. Ito A., Shincai M., Honda H., Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles // *J. of bioscience and bio-engineering.* 2005. V. 100. P. 1—11.
30. Jain T.K., Morales M.A., Sahoo S.K. *et al.* Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents // *Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125 (51). P. 15754—15755.
31. Jeng J., Lin M.-F., Cheng F.-Y. *et al.* Using high-concentration trypsin-immobilized magnetic nanoparticles for rapid in situ protein digestion at elevated temperature // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2007. V. 21. P. 3060—3068.
32. Jordan A., Wust P., Scholz R. *et al.* Scientific and clinical applications of magnetic carriers. New York: Plenum Press, 1997. P. 569.
33. Jordan A., Wust P., Fahling H. *et al.* Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia // *Int. J. Hyperthermia.* 1997. V. 9. P. 51—68.
34. Josephson L., Tung C.-H., Moore A., Weissleder R. High-efficiency intracellular magnetic labeling with novel superparamagnetic-tat peptide conjugates // *Bioconjugate Chem.* 1999. V. 10. P. 186—191.
35. Jurgons R., Seliger C., Hilpert A. *et al.* Drug loaded magnetic nanoparticles for cancer therapy // *J. Phys. Condens. Matter.* 2006. V. 18. P. 2893—2902.
36. Koneracka M., Kopcansky P., Antalík M. *et al.* Immobilization of proteins and enzymes to fine magnetic particles // *J. Magn. Magn. Mater.* 1999. V. 201. P. 427.
37. Koneracka M., Kopcansky P., Timko M. *et al.* Direct binding procedure of proteins and enzymes to fine magnetic particles // *J. Magn. Magn. Mater.* 2002. V. 252. P. 409.
38. Kouassi G.K., Irudayaraj J., McCarty G. Activity of glucose oxidase functionalized onto magnetic nanoparticles // *BioMagnetic Research and Technology* 2005. V. 3 [Электронный ресурс] режим доступа: <http://www.biomagres.com/content/3/1/1>
39. Krofetz F., de Wit C., Sohn H.-Y. *et al.* Magnetofection — a highly efficient tool for antisense oligonucleotide delivery *in vitro* and *in vivo* // *Mol. Ther.* 2003. V. 7. P. 700—710.
40. Kularatne B.Y., Lorigan P., Browne S. *et al.* Monitoring tumour cells in the peripheral blood of small cell lung cancer patients // *Cytometry.* 2002. V. 50. P. 160—167.
41. Lacava L.M. *et al.* Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice // *Biophys. J.* 2001. V. 80. P. 2483—2486.
42. Lang C., Schüler D. Biogenic nanoparticles: production, characterization, and application of bacterial magnetosomes // *J. Phys.: Condens. Matter.* 2006. V. 18. P. 2815—2828.
43. Liao M.-H., Chen D.-H. Immobilization of yeast alcohol dehydrogenase on magnetic nanoparticles for improving its stability // *Biotechnology Letters.* 2001. V. 23. P. 1723—1727.
44. Lu A.-H., Salabas E.L., Schuth F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007. V. 46. P. 1222—1244.
45. Lubbe A.S., Alexiou C., Bergemann C. Clinical applications of magnetic drug targeting // *J. Surg. Res.* 2001. V. 95. P. 200—206.
46. Lubbe A.S., Bergemann C., Brock J., McClure D.G. Physiological aspects in magnetic drug-targeting // *J. of Magnetism and Magnetic Materials.* 1999. V. 194. P. 149—155.
47. Lubbe A.S., Bergemann C., Huhnt W. *et al.* Preclinical experiences with magnetic drug targeting: tolerance and efficacy // *Cancer Res.* 1996. V. 56. P. 4694—4701.
48. Martina M.-S., Fortin J.-P., Mefnager C. *et al.* Generation of superparamagnetic liposomes revealed as highly efficient MRI contrast agents for *in vivo* imaging // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P.

- 10676—10685.
49. Matsuoka F., Shincai M., Honda H. et al. Hyperthermia using magnetite cationic liposomes for hamster osteosarcoma // *Biomagn. Res. Technol.*, 2004. V. 2. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://bmc.ub.uni-potsdam.de/1477-044X-2-3/1477-044X-2-3.pdf>.
50. Molday R.S., MacKenzie D. Immunospecific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells // *J. Immunol. Methods*. 1982. V. 52. P. 353—367.
51. Molday R.S., Mackenzie D. Immunospecific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and separation of cells // *J. of Immunological Methods*. 1982. V. 52. P. 353—367.
52. Morisada S., Miyata N., Iwahori K. Immunomagnetic separation of scum-forming bacteria using polyclonal antibody that recognizes mycolic acids // *J. Microbiol. Methods*. 2002. V. 51. P. 141—148.
53. Mykhaylyk O., Cherchenko A., Ilkin A. et al. Glial brain tumor targeting of magnetite nanoparticles in rats // *J. Magn. Magn. Mater.* 2001. V. 225. P. 241—247.
54. Neilsen O.S., Horsman M., Overgaard J. A future hyperthermia in cancer treatment? // *E. J. Cancer*. 2001. V. 37. P. 1587—1589.
55. Pan B., Cui D., Sheng Y. et al. Dendrimer-modified magnetic nanoparticles enhance efficiency of gene delivery system // *Cancer Res.* 2007. V. 67. P. 8156—8163.
56. Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2003. V. 36. P. 167—181.
57. Pap T., Gay R.E., Muller-Ladner U., Gay S. Ex vivo gene transfer in the years to come // *Arthritis. Res.* 2002. V. 4. P. 10—12.
58. Pardoe H., Chua-Anusorn W., St. Pierre T. G., Dobson J. Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol // *J. Magn. Magn. Mater.* V. 225. P. 41—46.
59. Pedro Tartaj P., Serna C.J. Synthesis of monodisperse superparamagnetic Fe/Silica nanospherical composites // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. № 125 (51). P. 15754—15755.
60. Perez J.M., Josephson L., O'Loughlin T. et al. Magnetic relaxation switches capable of sensing molecular interactions // *Nat. Biotechnol.* 2002. V. 20. P. 816—820.
61. Portet D., Denoit B., Rump E. et al. Nonpolymeric coatings of iron oxide colloids for biological use as magnetic resonance imaging contrast agents // *J. Coll. Inter. Sci.* 2001. V. 238. P. 37—42.
62. Robinson D.B., Persson H.H.J., Zeng H. et al. DNA-Functionalized MFe₂O₄ (M = Fe, Co, or Mn) Nanoparticles and Their Hybridization to DNA-Functionalized Surfaces // *Langmuir* 2005. V. 21. P. 3096—3103.
63. Roy I., Ohulchanskyy T.Y., Bharali D.J. et al. Optical tracking of organically modified silica nanoparticles as DNA carriers: A nonviral, nanomedicine approach for gene delivery // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102 (2). P. 279—284.
64. Salata O.V. Applications of nanoparticles in biology and medicine [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/2/1/3>
65. Schillinger U., Brill T., Rudolph C. et al. Advances in magnetofection — magnetically guided nucleic acid delivery // *J. Magn. Magn. Mater.* 2005. V. 293. P. 501—508.
66. Sudimack J., Lee R.J. Targeted drug delivery via the folate receptor // *Adv. Drug Del. Rev.* 2000. V. 41. P. 147—162.
67. Suzuki M., Honda H., Kobayashi T. et al. Development of a target-directed magnetic resonance-contrast agent using monoclonal antibody-conjugated magnetic particles // *Brain Tumor Pathology*. 1996. V. 13. P. 127—132.
68. Suzuki M., Shincai M., Honda H., Kobayashi T. Anticancer effect and immune induction by hyperthermia of malignant melanoma using magnetite cationic liposomes // *Melanoma Res.* 2003. V. 13. P. 129—135.
69. Tan W., Wang K., He X. et al. Bionanotechnology based on silica nanoparticles // *Medicinal Research Reviews*. 2004. V. 24. № 5. P. 621—638.
70. Tan W., Wang K., He X. et al. Bionanotechnology based on silica nanoparticles // *Medicinal Research Reviews*. 2004. V. 24. № 5. P. 621—638.
71. Tan W., Wang K., He X. et al. Bionanotechnology based on silica nanoparticles // *Medicinal Research Reviews*. 2004. V. 24. № 5. P. 621—638.
72. Taylor J.I., Hurst C.D., Davies M.J. et al. Application of magnetite and silica—magnetite composites to the isolation of genomic DNA // *J. of Chromatography A*. 2000. V. 890. P. 159—166.
73. Tibbe A., de Grooth B., Greve J. et al. Optical tracking and detection of immunomagnetically selected and aligned cells // *Nature Biotechnol.* 1999. V. 17. P. 1210—1213.
74. Tomasovicova N., Koneracka M., Kopcansky P. et al. Infrared study of biocompatible magnetic nanoparticles // *Measurement Science Review*. 2006. V. 6. № 3. P. 32—35.
75. Weissleder R., Bogdanov A., Neuwelt E.A. et al. Long circulating iron oxides for MR imaging // *Adv. Drug. Delivery Rev.* 1995. V. 16. P. 321—334.
76. Weller D., A. Moser A. Thermal effect limits in ultrahigh density magnetic recording // *IEEE Trans. Magn.* 1999. V. 35. P. 4423—4439.
77. Widder K.J., Senyei A.E., Scarpelli D.G. Magnetic microspheres: a model system for site specific drug delivery *in vivo* // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1978. V. 58. P. 141—146.
78. Xu C., Xu K., Gu H. et al. Dopamine as A robust anchor to immobilize functional molecules on the iron oxide shell of magnetic nanoparticles // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126 (32). P. 9938—9939.
79. Xu L., Frederik P. and Pirollo K.F. Self-Assembly of A virus-mimicking nanostructure system for efficient tumour-targeted gene delivery // *Hum. Gene. Ther.* 2002. V. 13. P. 469—481.
80. Zhang Y., Kohler N., Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake // *Biomaterials* 2002. V. 23. P. 1553—1561.
81. Zhao M., Josephson L., Tang Y., Weissleder R. Magnetic sensors for protease assays // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2003. V. 42. P. 1375—1378.
82. Zhao X.X., Tapeç-Dytioco R., Wang K., Tan W. Collection of trace amounts of DNA/mRNA molecules using genomagnetic nanocaptors // *Anal. Chem.* 2003. V. 75 (14). P. 3476—3483.
83. Zigeuner R.E., Riesenberger R., Pöhla H. et al. Isolation of circulating cancer cells from whole blood by immunomagnetic cell enrichment and unenriched immunocytochemistry *in vitro* // *J. Urol.* 2003. V. 169. P. 701—705.

Поступила в редакцию 06.12.2007 г.

Сведения об авторах

А.Г. Першина — мл. науч. сотрудник ЦНИЛ СибГМУ (г. Томск).

А.Э. Сазонов — д-р мед. наук, зам. зав. ЦНИЛ СибГМУ (г. Томск).

Мильто И.В. — студент 2-го курса СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Алексей Эдуардович Сазонов, тел. (3822) 52-97-04 (раб.), e-mail: liotech@ssmu.net.ru