Сведения об авторах

Иванов Владимир Владимирович — кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ivanovvv1953@gmail.com.

Ратькин Александр Валентинович — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ratkin@ssmu.ru.

Пфаргер Юлия Андреевна — аспирант кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ipfarger@gmail.com.

Кайдаш Ольга Александровна — аспирант кафедры фармакологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101.

Агекенов Сергезы Мынжасарович — доктор химических наук, профессор, Председатель Правления АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», академик НАН РК.

Адрес: Республика Казахстан, г. Караганда, ул. М. Газалиева 40; тел.: 8(7212)433127; e-mail: arglabin@phyto.kz.

Чучалин Владимир Сергеевич — декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

Венгеровский Александр Исаакович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101.

Authors

Ivanov Vladimir Vladimirovich — Cand. Med. Sci., Associate Professor, Head of the Laboratory of Biological Models, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8 (3822) 901101; e-mail: ivanovvv1953@gmail.com.

Rat'kin Alexander Valentinovich — Cand. Pharm. Sci., Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8 (3822) 901101; e-mail: ratkin@ssmu.ru.

Pfarger Yuliya Andreevna — Post-graduate Student, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; e-mail: ipfarger@gmail.com.

Kaidash Olga Alexandrovna — Post-graduate Student, Department of pharmacology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF

Adekenov Sergazy Mynzhasarovich — Dr. Chem. Sci., Academician of NAS RK, Chairman of the board of JSC «International scientific-industrial holding Phytochemistry» (Karaganda, Kazakhstan).

Address: Republic of Kazakhstan, Karaganda, ul. M. Gazalieva, 4; Phone: 8(7212) 433127; e-mail: arglabin@phyto.kz.

Chuchalin Vladimir Sergeevich — Dr. Pharm. Sci., Dean of the Faculty of Pharmacy, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

Vengerovskiy Alexander Isaacovich — Dr. Med. Sci., Head of Department of Pharmacology, Professor, Siberian State Medical University

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

© ЗАМАЙ С. С., ПРОКОПЕНКО В. С., ЗАМАЙ А. С., ДЕНИСЕНКО В. В., КИМ П. Д., ОРЛОВ В. А., ЗАМАЙ Г. С., ИВАНЧЕНКО Т. И., ЗАМАЙ Т. Н.

УДК 577.29

ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ АПТАМЕРАМИ МАГНИТНЫЕ НАНОДИСКИ ДЛЯ НАНОХИРУРГИИ ОПУХОЛЕЙ

С. С. Замай¹, В. С. Прокопенко^{1,3}, А. С. Замай^{1,2}, В. В. Денисенко^{1,4,5},

П. Д. Ким¹, В. А. Орлов^{1,3,4}, Г. С. Замай^{1,2}, Т. И. Иванченко¹, Т. Н. Замай^{2,4}

¹Красноярский научный центр СО РАН, Председатель — академик РАН В. Ф. Шабанов;

лаборатория биоманитных материалов и биосенсоров, руководитель — д. ф.-м. н., проф. П. Д. Ким;

²ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ, ректор — д. м. н., проф. И. П. Артюхов, лаборатория биомолекулярных и медицинских технологий, руководитель — д. б. н. А. С. Замай; ³ГБОУ ВПО Красноярский государственный педагогический университет им. В. П. Астафьева Министерства образования и науки РФ, ректор — д. м. н.

В. А. Ковалевский; ⁴ГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, ректор — академик РАН Е. А. Ваганов;

⁵Институт вычислительного моделирования СО РАН, директор — член-корр. РАН В. В. Шайдуров.

Цель исследования. Определение перспектив использования функционализированных ДНК-аптамерами магнитных никелевых нанодисков с золотым покрытием для адресной клеточной хирургии онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В качестве модели опухоли была использована асцитная карцинома Эрлиха. Теоретически и экспериментально исследованы структуры магнитного поля пермалоевых и кобальтовых дисков Au-Fe(20)Ni(80)-Au и Au-Co-Au.

Результаты. Выполнены оценки механического воздействия нанодисков на клеточную мембрану в переменном магнитном поле. Определены оптимальные состав, геометрия и структура остаточной намагниченности нанодисков. Экспериментально *in vitro* и *in vivo* для асцитной карциномы Эрлиха показана возможность использования функционализированных ДНК-аптамерами трехслойных Au-Ni-Au нанодисков с дипольной структурой остаточной намагниченности для адресного разрушения клеток-мишеней.

Заключение. На основании теоретических расчетов и экспериментальных данных сделано заключение о том, что нанодиски Au-Ni-Au, обладающие магнитными свойствами, могут быть использованы для разработки новых методов и препаратов для малоинвазивной клеточной нанохирургии, которая позволяет адресно и дозированно уничтожать только клетки опухоли, в том числе, и метастазы.

Ключевые слова: нанохирургия, никелевые магнитные нанодиски, аптамеры, асцитная карцинома Эрлиха.

FUNCTIONALIZED BY THE APTAMERS MAGNETIC NANODISCS FOR NANOSURGERY OF THE TUMORS

S. S. Zamay¹, V. S. Prokopenko^{1,3}, A. S. Zamay^{1,2}, V. V. Denisenko^{1,4,5}, P. D. Kim¹,
V. A. Orlov^{1,3,4}, G. S. Zamay^{1,2}, T. I. Ivanchenko¹, T. N. Zamay^{2,4}

¹Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; ²Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetski; ³Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V. P. Astafyev; ⁴Siberian Federal university, ⁵Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

The aim of the research. Determination of the prospects of application the functionalized by DNA-aptamers magnetic nickel nanodiscs with gold coating for targeted cell cancer surgery.

Materials and methods. As tumor model was used Ehrlich ascites carcinoma. Theoretically and experimentally were investigated the structures of the magnetic field of permalloy and cobalt disks Au-Fe (20) Ni (80) -Au and Au-Co-Au.

Results. It were executed the estimation of the mechanical impact of nanodiscs to the cell membrane in an alternating magnetic field. It was determined the optimum composition, geometry and structure of the residual magnetization of nanodiscs. Experimentally in vitro and in vivo for Ehrlich ascites carcinoma was showed the use of functionalized DNA-aptamers three layer Au-Ni-Au nanodiscs with dipole structure of the residual magnetization for address destruction of the target cells.

Conclusion. On the basis of theoretical calculations and experimental data, it was concluded that nanodiscs Au-Ni-Au, with magnetic properties, can be used to develop new methods and products for minimally invasive cellular nanosurgery that allows targeted and dosed destroy only tumor cells, including metastasis.

Key words: nanosurgery, nickel magnetic nanodiscs, aptamers, Ehrlich ascites carcinoma.

Введение

Возможности терапевтического использования магнитных наночастиц, функционализированных аптамерами или моноклональными антителами, способными связываться с белками-биомаркерами, присутствующими на мембране опухолевых клеток, широко и активно исследуются [1,4,5,6,7]. Д.Н. Kim et al. для нужд нанохирургии рассмотрены перспективы применения магнитных нанодисков и способов механического разрушения опухолевых клеток в низкочастотных переменных магнитных полях. Исследования выполнены для покрытых золотом пермалловых магнитных нанодисков с вихревой структурой собственного магнитного поля. Адресный характер воздействия в этой работе обеспечивался моноклональными антителами, иммобилизованными на золотой поверхности нанодиска, а их биологическая функциональность изучалась на клеточных культурах, помещенных в слабое низкочастотное переменное магнитное поле (1-100 Гц, напряженность 100 Эрстед) [3].

К наиболее важным для разработки биомедицинских приложений дисков [5,7] отнесены такие их характеристики, как:

1) вихревой характер намагниченности и малое значение нескомпенсированного магнитного момента, перпендикулярного плоскости диска, снижающие вероятность слипания дисков и агрегирования коллоидных растворов, применяемых в биологических экспериментах;

2) возможность адресного (избирательного) воздействия только на клетки-мишени, которая обеспечивается применением моноклональных антител, чувствительных к белкам-мишеням и способных связываться с клетками глиобластомы;

3) возможность индуцировать некроз и апоптоз опухолевых клеток, возбуждая механические колебания присоединившихся к ним дисков в переменном магнитном поле на частотах 8-10 Гц.

В экспериментах по изучению эффекта клеточной магнитной нанохирургии [5,7] использовались пермалловые плёночные нанодиски немагнострикционного состава 80%Ni20%Fe с двухсторонним золотым покрытием. Это создавало оптимальные условия для формирования замкнутой (вихревой) магнитной структуры нанодиска с очень малыми полями рассеяния, что, в свою очередь, гарантировало отсутствие крайне нежелательного «слипания» дисков при изготовлении из них водной суспензии для нанохирургии. Однако с точки зрения эффективности воздействия на клетку использование наночастиц в виде дисков и обязательно из немагнострикционного пермаллоя является не единственным и, возможно, не самым оптимальным решением. Поэтому с позиций практической реализации и развития идей и решений, предлагаемых Е.А. Rozhkova et al. для нужд клинической хирургии злокачественных новообразований представляют интерес [7]:

Исследование возможности получения и применения иных, помимо пермалловых, магнитных наночастиц и с отличной от диска формой типа квадратных или треугольных пластин с вихревой или небольшой остаточной однородной структурой намагниченности (последнее в случае использования никеля) для повышения механического воздействия нанодисков или нанопластин на мембрану клетки при сохранении низкой вероятности агрегации этих наночастиц. В качестве магнитного материала был выбран никель, а в биомедицинских экспериментах были использованы трехслойные нанодиски Au-Ni-Au диаметром

500 нм толщиной никеля 50 нм и золота 5 нм. Разработку технологии получения этих дисков и изготовление экспериментальных образцов суспензии, необходимых для биомедицинских экспериментов, выполнили в лаборатории физики и технологии трёхмерных наноструктур Института физики полупроводников СО РАН (г. Новосибирск).

Использование вместо дорогих в производстве и крупных (20-30 нм) моноклональных антител, ДНК-аптамеров, обеспечивающих целевое функциональное взаимодействие с белками мембраны клетки-мишени и, в силу малых размеров (1-2 нм), более плотный контакт и более значимое механическое разрушающее воздействие дисков на мембрану. Мы исследовали возможность создания нанодисков для адресной клеточной хирургии онкологических заболеваний, используя технологию иммобилизации аптамеров, снабженных тиоловыми праймерами на золотой поверхности. Для повышения биомедицинской эффективности и создания биологически функционального слоя на золотой поверхности диска были использованы ДНК-аптамеры к асцитной карциноме Эрлиха, отобранные из числа ранее полученных [4].

Использование сетевого электрического тока частотой 50 Гц для технически простого способа получения вращающегося или переменного магнитного поля с напряженностью 100-150 Эрстед, достаточного для разрушения мембраны опухолевых клеток с помощью магнитных нанодисков, функционализированных аптамерами, чувствительными только к белкам мембраны опухолевых клеток-мишеней.

Теоретическое исследование перспектив разработки и применения для разрушения клеток-мишеней трехслойных нанопластин прямоугольной и треугольной геометрии, сделанных из никеля, пермаллоя и кобальта, покрытых золотом и функционализированных аптамерами.

Целью работы стало определение перспектив использования функционализированных ДНК-аптамерами магнитных никелевых нанодисков с золотым покрытием для адресной клеточной хирургии онкологических заболеваний.

Материалы и методы

В опытах использовали мышей-самцов аутбредного стока ICR, полученных из питомника ГНЦ ВБ «БЕКТОР» (п. Кольцово Новосибирской области. В качестве модели опухоли использовали асцитные клетки карциномы Эрлиха, выделенные из брюшной полости мышей линии ICR на 9-е сутки после их внутрибрюшинной трансплантации. Для получения клеток асцитную жидкость центрифугировали при 3000 g в течение 5 мин, после чего надосадок удаляли, а клетки трижды отмывали фосфатным буфером с Ca^{2+} и Mg^{2+} .

В качестве магнитных нанодисков использовали никелевые нанодиски с золотым покрытием, изготовленные Институту физики полупроводников СО РАН (г. Новосибирск). Перед использованием магнитные нанодиски, отделенные от подложки, трижды промывали в фосфатно-солевом буфере в модификации Дульбекко (DPBS) путем центрифугирования в течение 15 мин при 15000g и затем

модифицировали аптамерами. Для этого праймеры с тиоловыми группами инкубировали с ДНК-аптамерами, часть из которых содержала флуоресцентную метку FITC в эквивалентных концентрациях (300 нМ), в течение 18 ч при 4°C для получения гибридов. Далее к раствору добавляли 30 мМ раствор Трис- HClO_4 -буфера (pH 8.6) в соотношении Трис- HClO_4 -буфер : ДНК-гибрид, равном 1 : 3, смешивали с магнитными нанодисками из расчёта 10^6 молекул гибрида на один диск и инкубировали в течение 24 ч при температуре 4°C. После инкубации нанодиски с иммобилизованными на их поверхности аптамерами промывали с помощью DPBS-буфера.

Для связывания клеток с дисками к 20 мкл DPBS-буфера, содержащего 10 тыс. асцитных клеток, добавляли 5 мкл DPBS-буфера, содержащего 50 тыс. модифицированных нанодисков (из расчета 5 дисков на клетку). Через 30 мин инкубации, необходимых для связывания нанодисков с асцитными клетками, пробирки с клетками помещали на 20 мин в переменное магнитное поле. Через 90 мин исследовали функциональное состояние асцитных клеток с помощью флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss (ФРГ).

Для исследования противоопухолевого эффекта магнитных нанодисков в условиях *in vivo* мышам с привитой асцитной карциномой Эрлиха в бедро в 300 мкл DPBS-буфера вводили по 10 млн. нанодисков, модифицированных ДНК-аптамерами. Контрольным мышам вводили по 300 мкл DPBS-буфера. Через 30 мин мышей помещали в установку, генерирующую переменное магнитное поле (50 Гц, 150 Эрстед). Время действия переменного магнитного поля составляло 20 мин. Через 60 мин после воздействия переменного магнитного поля у опытных и контрольных животных удаляли опухоль и готовили из нее гистологические срезы. Исследование гистологических срезов проводили на флуоресцентном микроскопе Carl Zeiss (ФРГ).

Результаты и обсуждение

В работе исследовано влияние никелевых магнитных нанодисков с золотым покрытием на опухолевые клетки *in vitro* и *in vivo* в условиях воздействия переменного низкочастотного магнитного поля.

Результаты влияния магнитных нанодисков на функциональное состояние опухолевых клеток представлено на рисунке 1. Из рисунка видно, что функционализированные ДНК-аптамерами для адресного их связывания с асцитными клетками никелевые магнитные нанодиски в условиях воздействия магнитного поля с частотой 50 Гц и напряженностью магнитного поля 150 Эрстед *in vitro* вызывают агрегацию асцитных клеток (рис. 1, 2А) и их повреждение (рис. 1, 2В). Агрегация связана с тем, что асцитные клетки связывались с противоположными сторонами нанодисков, в результате чего каждый диск связывался с двумя клетками, вследствие чего клетки объединялись в агрегаты из нескольких клеток.

Изучение биологического эффекта никелевых магнитных нанодисков на опухолевые клетки в условиях *in vivo* осуществляли на солидной опухоли, для чего в опухоль

Рис. 1. Влияние магнитных никелевых нанодисков, покрытых золотом, на функциональное состояние асцитных клеток карциномы Эрлиха в условиях воздействия переменного магнитного поля. 1А, 1В – контроль; 2А, 2В – образцы с магнитными нанодисками, выдержанные 20 мин в переменном магнитном поле с частотой 50 Гц и напряженностью магнитного поля 150 Эрстед. 1А, 2А – световая микроскопия; 1В, 2В – флуоресцентная микроскопия. В асцитных клетках, связанных с магнитными нанодисками, находившимися в течение 20 мин в условиях переменного магнитного поля, уже в течение 60 мин развивался апоптоз (флуоресцирующие клетки).

Рис. 2. Гистологические срезы опухоли бедра мыши. 1А, 1В, 1С – опухоль контрольной мыши, которой вводили PBS и помещали в магнитное поле. 2А, 2В, 2С – опухоль мыши, которой ввели функционализированные ДНК-аптамерами магнитные нанодиски и поместили на 20 мин в переменное магнитное поле. Через 60 мин опухоль была взята для приготовления гистологических срезов. Уже через 60 мин после воздействия переменного магнитного поля в опухоли мыши, которой вводили магнитные нанодиски заметно снижение количества опухолевых клеток.

Рис. 3. Полученные по данным зондовой магнитно-силовой микроскопии изображения структуры магнитного поля на высоте 50 нм над поверхностью трёхмикронных пермалловых (а) нанодиска, (b) квадратной и (c) треугольной нанопластин толщиной 50 нм.

вводили магнитные диски, модифицированные ДНК-аптамерами, и через 30 мин после связывания аптамеров с клетками животное помещали на 20 мин в переменное магнитное поле с частотой 50 Гц и напряженностью 150 Эрстед. Гистологические срезы солидной опухоли бедра контрольных и опытных животных представлены на рисунке 2.

Из рисунка 2 видно, что количество клеток в опухоли, в которую были введены функционализированные магнитные нанодиски, в условиях воздействия переменного магнитного поля уже через 60 мин значительно снизилось (2А, 2В, 2С). Есть основания предполагать, что произошедшая в опухоли деструкция опухолевых клеток имела механическую природу: магнитный нанодиск прикреплялся (благодаря аптамеру) к клетке, а внешнее переменное магнитное поле приводило нанодиск в движение, нарушая целостность мембраны.

В однородном магнитном поле движением нанодиска может быть только вращение, в котором величина механического вращающего момента, вызванного полем, зависит от дипольного магнитного момента нанодиска. В случае круглого нанодиска с вихревой магнитной структурой (пермаллой, кобальт) дипольный момент обеспечивается намагниченностью небольшой части диска, его ядра, то есть

центральной части диска с намагниченностью, перпендикулярной плоскости нанодиска – центральная тёмная точка на рисунке 3а.

На рисунке 3 показаны снимки магнитных структур [2], характерных для пермалловых нанопластин круглой (а), квадратной (b) и треугольной (c) формы.

Как и в случае диска, у пластины квадратной и треугольной формы основной магнитный поток также замкнут в пределах пластины, что, как и в случае дисков, препятствует слипанию частиц в суспензии. Но анизотропия формы открывает дополнительную возможность для создания механического вращающего момента со стороны магнитного поля. В случае квадратной нанопластины, в частности, возникает плоскостная двухосная анизотропия. Это создаёт условия для дополнительного движения (плоского вращения) нанопластины во внешнем магнитном поле. При этом, как показывает оценка, момент силы, вызывающий вращение, оказывается существенно больше, чем в случае круглой нанопластины с «кором».

Возможны два случая однородной намагниченности:

- 1) квадратная структура намагничена вдоль ребра;
- 2) квадратная структура намагничена вдоль диагонали.

Вычислим магнитостатическую энергию в каждом случае, так как именно этот вид магнитной энергии обеспечивает

Рис. 4. Возникновения «магнитостатических зарядов» при намагничивании вдоль ребра.

предпочтительное направление намагниченности, а значит и эффективную анизотропию. Намагничивание в плоскости нанопластины обеспечивается в относительно малых полях, в этом случае, сравнительно легко управлять пространственной ориентацией магнетика. Это открывает перспективы простого и эффективного механического воздействия на клетку нанопластины, находящейся во вращающемся магнитном поле. Первый из рассматриваемых случаев оценки сделанный с использованием метода виртуальных «магнитостатических зарядов» изображен на рисунке 4. Метод «магнитостатических зарядов» — это прием решения задачи, а не физическая реальность.

При таком способе исследования намагничивания на узких гранях магнетика возникают «магнитостатические заряды», взаимодействие которых и обеспечивает дополнительную энергию. Для такого расчета заряженные грани разбиваются на мелкие участки, между которыми и вычисляется энергия их парного взаимодействия:

$$E_I = \frac{\mu_0}{4\pi} \int_0^a \int_0^a \frac{M_s h dx M_s h dy}{\sqrt{(x-y)^2 + a^2}} = \frac{\mu_0 M_s^2 V}{2\pi} \frac{h}{a} (\ln(\sqrt{2} + 1) + 1 - \sqrt{2}) \quad (1)$$

Здесь $V=ha^2$ — объем магнетика (h и a — толщина и длина ребра, соответственно), M_s — намагниченность насыщения материала.

Второй случай схематично показан на рисунке 5.

Рис. 5. Возникновение «магнитостатических зарядов» при намагничивании вдоль диагонали.

В этом случае «магнитостатические заряды» возникают на всех четырех боковых гранях. Плотность заряда при этом равна

$$\sigma = M_s \cos(\pi/4) = M_s / \sqrt{2}.$$

Как и в первой части вычислим энергию парного взаимодействия заряженных граней.

$$E_{II} = \frac{\mu_0 M_s^2 V h}{2\pi a} [2 \ln(\sqrt{2} + 1) + 1 - \sqrt{2}] \quad (2)$$

Таким образом, можно сказать, что магнетик обладает эффективной двухосной анизотропией с выигрышем в энергии вдоль легкого направления:

$$\Delta E = E_{II} - E_I = \frac{\mu_0 M_s^2 V}{2\pi} \frac{h}{a} \ln(\sqrt{2} + 1) \quad (3)$$

Тогда поле эффективной анизотропии для нанодиска из пермаллоя с длиной ребра 500 нм и толщиной 50 нм имеет порядок:

$$H_a = \mu_0 M_s h \ln(\sqrt{2} + 1) / 2\pi a \approx 500 \text{ Эрстед.}$$

В общем случае энергию эффективной анизотропии можно представить в виде:

$$E_a = -\frac{\mu_0 M_s^2 V}{2\pi} \frac{h}{a} \ln(\sqrt{2} + 1) \cos^2(2\vartheta). \quad (4)$$

С учетом выражения (4), легко оценить максимальное значение вращающего момента, действующего на магнетик во внешнем магнитном поле, превышающем поле насыщения:

$$M_{\max} = -\frac{\partial E_a}{\partial \vartheta} \Big|_{\vartheta=\frac{\pi}{4}} = \frac{\mu_0 M_s^2 V}{\pi} \frac{h}{a} \ln(\sqrt{2} + 1) \approx 3.2 \times 10^{-16} \text{ Н} \cdot \text{м}. \quad (5)$$

Этот механический вращающий момент значительно превышает момент, действующий на «кор» вихря. Действительно, момент, действующий на «кор», можно оценить так:

$$M_{\max}^{(\text{core})} = -\frac{\partial (\mathbf{H} \mathbf{M}_C)}{\partial \vartheta} \Big|_{\vartheta=\frac{\pi}{2}} = H M_s V_C = H M_s \pi \delta^2 h \approx 0.013 \times 10^{-16} \text{ Н} \cdot \text{м}. \quad (6)$$

Здесь M_C и V_C — магнитный момент «кора» и его объем, соответственно. Из (5) и (6) видно, что отношение вращающих моментов равно:

$$\frac{M_{\max}^{(\text{core})}}{M_{\max}} = \frac{\pi^2 H}{\mu_0 M_s \ln(\sqrt{2} + 1)} \frac{\delta^2}{ah} \approx \frac{1}{250}, \quad (7)$$

что много меньше единицы при значениях магнитного поля, используемого в наших биомедицинских экспериментах. Оценки механического воздействия на клетку со стороны круглых и треугольных нанопластины проводятся аналогично. По порядку величины эти оценки мало отличаются от результатов (5) и (6). Расчеты для круглого нанодиска из никеля дают значения моментов в примерно 10 раз меньше, чем предсказано в (6) для пермаллоя. Тем не менее, этот материал предпочтительнее.

В процессе теоретических оценок и опытов с наноструктурами, различными по форме и составу, было обнаружено отсутствие «слипания» частиц в суспензии из никелевых нанодисков (также с двухсторонним золотым покрытием), при этом оказалось, что никелевые нанодиски являются плоскостными магнитными диполями: вихревая магнитная структура у них не возникает. Хотя механизм формирования однородной намагниченности у никелевых нанодисков пока не ясен, это обстоятельство позволяет рассматривать

именно никелевые нанодиски в качестве наиболее перспективных «инструментов» клеточной нанохирургии.

Когда диски прикреплены к мембранам клеток, они случайным образом направлены по отношению к магнитному полю. Момент силы поворачивает диск, пока упругость мембраны его не уравновесит. При этом диск поворачивается вокруг своей оси, и плоскость диска отклоняется от плоскости мембраны. Соотношение этих вращений зависит от ориентации поверхности клетки в месте прикрепления диска по отношению к магнитному полю.

Оценку упругой силы получим в упрощающем предположении, что растягиваются две полосы мембраны длиной и шириной R прикрепленные к краям диска. Пусть диск целиком приклеен к мембране и повернут на угол β от её плоскости. Момент таких сил возрастает от 0 при $\beta = 0$ до примерно $R^2 \cdot E$ при больших углах β , где $a \approx 5$ нм — толщина мембраны, $E \approx 1$ кПа — модуль Юнга её вещества. Имеем момент упругой силы до $3 \cdot 10^{-19}$ Н·м, то есть в тысячу раз меньше, чем момент силы N , крутящей никелевый диск в магнитном поле, а для квадратной нанопластины со стороной 500 нм, он в сотню раз меньше.

Аналогичные оценки для пермаллоевых дисков были выполнены в [8] с привлечением микромагнитного моделирования. Там рассматривались диски с круговой намагниченностью. Параллельная диску компонента вектора магнитного момента такого диска пропорциональна напряженности внешнего магнитного поля. В соответствии с [8] в поле 100 Э намагниченность составляет около 10% намагниченности насыщения, поэтому магнитный момент такого диска в десять раз меньше, чем у используемых нами дисков. Во столько же раз меньше момент силы, вращающей диск.

В наших экспериментах магнитное поле $\vec{B}_0$ имеет постоянное направление и меняется во времени с частотой 50 Гц. Малость упругих сил означает, что момент силы N периодически поворачивает диск так, что его магнитный момент $\vec{P}$ становится то параллельным, то антипараллельным $\vec{B}_0$, практически не испытывая сопротивления мембраны. Столь сильная деформация мембраны невозможна, и она порвётся, или диск от неё отклеится.

Можно показать, что силы вязкого трения в условиях наших экспериментов на два порядка меньше упругих сил, а инерция ещё на много порядков меньше. Важен способ прикрепления покрытого аптамерами диска к мембране, точнее к белкам-мишеням на мембране, однако информация об этих связях отсутствует. По-видимому, аптамеры при столь сильных механических воздействиях будут отрывать эти белки от мембраны.

Заключение

Теоретические оценки и эксперимент показали, что изготовленные в ИПФ СО РАН (г. Новосибирск) трехслойные нанодиски Au-Ni-Au диаметром 500 нм толщиной никеля 50 нм и золота 5 нм, имеют плоскостную дипольную магнитную структуру, практически не агрегируются в суспензии и могут быть использованы для механического разрушения мембраны опухолевых клеток в переменных магнитных полях.

Нанодиски Au-Ni-Au, на поверхности которых с использованием тиоловых праймеров иммобилизованы ДНК-аптамеры к асцитной карциноме Эрлиха, обеспечивают адресное функциональное взаимодействие с белками мембраны опухолевой клетки-мишени и разрушающее механическое воздействие на мембрану в слабых (100-150 Эрстед) переменном или вращающемся магнитных полях частотой 50 Гц. Технология их получения без потери общности позволяет использовать ДНК-аптамеры к клеткам-мишеням и иных злокачественных новообразований.

Использование сетевого электрического тока частотой 50 Гц служит основой для простого способа получения физиологически безвредного беспрепятственно и глубоко проникающего низкочастотного вращающегося и/или переменного магнитного поля напряженностью 100-150 Эрстед. В совокупности со свойствами нанодисков Au-Ni-Au, указанных в пунктах 1 и 2, это может быть использовано для разработки новых методов, препаратов и технически несложных приборов для малоинвазивной клеточной нанохирургии, которая позволяет адресно и дозировано уничтожать только клетки опухоли, в том числе, и ее метастазы.

Теоретическое и экспериментальное исследование трехслойных, покрытых золотом пермаллоевых нанопластин прямоугольной и треугольной геометрии с ярко выраженной магнитной анизотропией, дает основание для разработки новых, хорошо управляемых магнитным полем, функционализированных аптамерами наноконструкций. Использование плоских наноконструкций различной формы в сочетании с различающимися по магнитным свойствам никелем, пермаллоем и кобальтом позволяет рассчитывать на получение новых и, возможно, более эффективных средств нанохирургии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00805).

Литература

1. Першина А.Г., Сазонов А. Э., Филимонов В. Д. Взаимодействие магнитных наночастиц и молекул ДНК: создание наногибридных структур и их использование // Успехи химии. — 2014. — Т. 83, № 4. — С. 299-322.
2. Kim P.D., Prokopenko V.S., Orlov V.A., Vasilyev B.V., Zjivaev V.P., Rudenko R.Y., Rudenko T.V., Kim T.A. Magnetic structures of permalloy film microspots // Doklady Physics. — 2015. — Т. 60, № 7. — P. 279-282.
3. Kim D.-H., Rozhkova E.A., Ulasov I.V., Bader S.D., Rajh T., Lesniak M.S., Novosad V. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction // Nature Materials. — 2010. — № 9. — P. 165-171.
4. Kolovskaya O.S., Zamay T.N., Zamay A.S., Glazyrin Y.E., Spivak E.A., Zubkova O.A., Kadkina A.V., Erkaev E.N., Zamay G.S., Savitskaya A.G., Trufanova L.V., Petrova L.L., Berezovsky M.V. DNA-aptamer/protein interaction as a cause of apoptosis and arrest of proliferation in Erlich ascites adenocarcinoma cells // Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. — 2014. — Vol. 8, № 1. — P. 60-72.

5. Novosad V., Gusliencko K.Yu, Shima H., Otani Y., Kim S.G., Fukamichi K., Kikuchi N., Kitakami O., Shimada Y. Effect of interdot magnetostatic interaction on magnetization reversal in circular dot arrays // *Phys. Rev.* — 2002. — Vol. B 65. — P. 060402.

6. Pershina A. G., Ogorodova L. M., Magaeva A. A., Itin V. I., Naiden E. P., Izaak T. I., Shchegolevae N. N., Sazonov A. E. Sequence-selective binding of oligonucleotides to superparamagnetic cobalt ferrite nanoparticles: a new way to fabricate functional nanoconjugates // *RSC Adv.* — 2015. — Vol. 5. — P. 26115.

7. Rozhkova E.A., Novosad V., Kim D.-H., Pearson J., Divan R., Rajh T., Bader S., Ferromagnetic microdisks as carriers for biomedical applications // *J. Appl. Phys.* — 2009. — Vol. 105. — P. 07B306.

References

1. Pershina A.G., Sazonov A.E., Filimonov V.D. Magnetic nanoparticles - DNA interaction: design and application of nanobiohybrid systems // *Russian Chemical Reviews.* — 2014. — Vol. 83, № 4. — P. 299-322.

2. Kim P.D., Prokopenko V.S., Orlov V.A., Vasilyev B.V., Zjivaev V.P., Rudenko R.Y., Rudenko T.V., Kim T.A. / Magnetic structures of permalloy film microspots // *Doklady Physics.* — 2015. — Vol. 60, № 7. — P. 279-282.

3. Kim D.-H., Rozhkova E.A., Ulasov I.V., Bader S.D., Rajh T., Lesniak M.S., Novosad V. Biofunctionalized magnetic-vortex microdisks for targeted cancer-cell destruction // *Nature Materials.* — 2010. — № 9. — P. 165-171.

4. Kolovskaya O.S., Zamay T.N., Zamay A.S., Glazyrin Y.E., Spivak E.A., Zubkova O.A., Kadkina A.V., Erkaev E.N., Zamay G.S., Savitskaya A.G., Trufanova L.V., Petrova L.L., Berezovsky M.V. DNA-aptamer/protein interaction as a cause of apoptosis and arrest of proliferation in Erlich ascites adenocarcinoma cells // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* — 2014. — Vol. 8, № 1. — P. 60-72.

5. Novosad V., Gusliencko K.Yu, Shima H., Otani Y., Kim S.G., Fukamichi K., Kikuchi N., Kitakami O., Shimada Y. Effect of interdot magnetostatic interaction on magnetization reversal in circular dot arrays // *Phys. Rev.* — 2002. — Vol. B 65. — P. 060402.

6. Pershina A. G., Ogorodova L. M., Magaeva A. A., Itin V. I., Naiden E. P., Izaak T. I., Shchegolevae N. N., Sazonov A. E. Sequence-selective binding of oligonucleotides to superparamagnetic cobalt ferrite nanoparticles: a new way to fabricate functional nanoconjugates // *RSC Adv.* — 2015. — Vol. 5. — P. 26115.

7. Rozhkova E.A., Novosad V., Kim D.-H., Pearson J., Divan R., Rajh T., Bader S., Ferromagnetic microdisks as carriers for biomedical applications // *J. Appl. Phys.* — 2009. — Vol. 105. — P. 07B306.

Сведения об авторах

Замай Сергей Сергеевич — кандидат физико-математических наук, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50; тел. 8(391)2439633; e-mail: sergey-zamay@yandex.ru.

Прокопенко Владимир Семенович — кандидат педагогических наук, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук, ГБОУ ВПО Красноярский государственный педагогический университет имени В. П. Астафьева.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50; тел. 8(391)2439633; e-mail: plufe@yandex.ru.

Замай Анна Сергеевна — доктор биологических наук, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391)2280876; e-mail: annazamay@yandex.ru.

Денисенко Валерий Васильевич — доктор физико-математических наук, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук, ГБОУ ВПО Сибирский федеральный университет, Институт вычислительного моделирования СО РАН.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50; тел. 8(391)2439633; e-mail: denisen@icm.krasn.ru.

Ким Петр Дементьевич — доктор физико-математических наук, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50; тел. 8(391)2439633; e-mail: bonho@list.ru.

Орлов Виталий Александрович — кандидат физико-математических наук, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук, ГБОУ ВПО Красноярский государственный педагогический университет им. В. П. Астафьева.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50; тел. 8(391)2439633; e-mail: plufe@yandex.ru.

Замай Галина Сергеевна — кандидат биологических наук, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391)2280876; e-mail: galina.zamay@gmail.com.

Иванченко Татьяна Ивановна — Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391)2280876; e-mail: galina.zamay@gmail.com.

Замай Татьяна Николаевна — доктор биологических наук, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого, ГБОУ ВПО Сибирский федеральный университет.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391)2280876; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Authors

Zamay Sergey Sergeevich — Cand.Phys.-Mat.Sc., Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(902)9408844, e-mail: sergey-zamay@yandex.ru.

Prokopenko Vladimir Semenovich — Cand. Ped. Sc., Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V. P. Astafyev.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(391)2363664, e-mail: plufe@yandex.ru.

Zamay Anna Sergeevna — Dr. Biol. Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(903)9238402, e-mail: annazamay@yandex.ru.

Denisenko Valery Vasilievich — Dr.Phys.-Mat.Sc., Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(391)2495741, e-mail: denisen@icm.krasn.ru.

Kim Petr Dementievich — Dr. Phys.-Mat. Sc., Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(391)2907659, e-mail: bonho@list.ru.

Orlov Vitaly Alerksandrovich — Cand. Phys.-Mat. Sc., Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(391)2363664, e-mail: plufe@yandex.ru.

Zamay Galina Sergeevna — Cand. Biol. Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(963)9596351, e-mail: galina.zamay@gmail.com.

Ivanchenko Tatiana Ivanovna — Research Fellow, Krasnoyarsk Scientific Center Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(391)2495741, e-mail: galina.zamay@gmail.com.

Zamay Tatiana Nikolaevna — Dr. Biol.Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022; Phone: 8(963)9596313, e-mail: tzamay@yandex.ru.