

УДК 620.3;547-3;577.114.4

М. Ю. ТАТУЛЬЧЕНКОВ¹, Б. В. РОНИШЕНКО¹, О. Л. ШАРКО¹,
А. ЗАЯКИНА², В. В. ШМАНАЙ¹**КОНЬЮГАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА С ОЛИГОНУКЛЕОТИДАМИ
ДЛЯ МАГНИТНОЙ ДОСТАВКИ ОНКОЛИТИЧЕСКОЙ РНК**¹*Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: tatulmax@mail.ru*²*Латвийский биомедицинский научно-исследовательский центр, Рига, Латвия*

Описано получение конъюгатов олигонуклеотидов с наночастицами магнетита. Синтезированные конъюгаты использовали для иммобилизации модельной последовательности, соответствующей фрагменту онколитической РНК.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, биоконъюгация, олигонуклеотиды, онколитическая РНК.

M. Yu. TATULCHENKOV¹, B. V. RANISHENKA¹, O. L. SHARKO¹, A. ZAYAKINA², V. V. SHMANAI¹**CONJUGATION OF MAGNETITE NANOPARTICLES WITH OLIGONUCLEOTIDES
FOR MAGNETIC DELIVERY OF ONCOLYTIC RNA**¹*Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: tatulmax@mail.ru*²*Latvian Biomedical Research and Study Centre, Riga, Latvia*

The synthesis of magnetic nanoparticles conjugated with oligonucleotides has been described. The conjugates prepared were used for immobilization of the model oligonucleotide sequence imitating the oncolytic RNA strand fragment.

Keywords: magnetic nanoparticles, bioconjugation, oligonucleotides, oncolytic RNA.

Онколитические вирусы – перспективный инструмент уничтожения раковых клеток [1, 2], однако применение вирусов в терапевтических целях ограничено их широким тропизмом к тканям и иммунным ответом к вирионам, который проявляется во время повторных инъекций вируса. Решением проблемы иммуногенности вируса может быть использование вместо вирионов его очищенной геномной РНК.

Однако, несмотря на высокую терапевтическую эффективность, рекомбинантная онколитическая альфавирусная РНК нуждается в системе доставки в зону опухоли и в системе проникновения в клетку. Существуют различные способы доставки ДНК и РНК в клетки-мишени, среди которых чаще других используются липосомы и катионные полимеры [3, 4].

Магнитоуправляемая доставка позволяет локализовать препарат в зоне опухоли, повышая таким образом поражение раковых клеток и снижая воздействие на здоровые клетки [5–7]. Реализация данного подхода требует иммобилизации нуклеиновых кислот на поверхности магнитных наночастиц. Применяемые для этого методы включают [8]: электростатическую сорбцию, ковалентную иммобилизацию по реакции азид-алкинового циклоприсоединения, образование амидной, дисульфидной, фосфамидной связей, аффинные и комплементарные взаимодействия, а также использование интеркаляторов, связанных с поверхностью МНч.

Цель данной работы – синтез конъюгата олигонуклеотидов с магнитными наночастицами (МНч), предназначенного для последующей иммобилизации онколитической РНК.

Экспериментальная часть

Материалы и оборудование. В работе использовали наночастицы магнетита (ChemiCell, $D_{\text{гидр}} = 50$ нм и 100 нм), несущие на поверхности амино- или карбоксильные группы, диизопропиламин (DIPEA) (Fluka), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (EDC·HCl) (Fluka), сульфо-N-гидроксисукцинимид (sulfo-NHS) (Aldrich), гексаэтиленгликоль (Aldrich), 6-аминогексановая кислота (Fluka), N-гидроксисукцинимид (Fluka), (2S, 4R)-4-гидроксипролин (Aldrich), 4,4'-диметокситритилхлорид (BASF), (N,N-диизопропиламино)-(2-цианоэтокси)хлорфосфин (CEP-Cl) (ОДО «Праймтех»), модифицированное стекло с контролируемым размером пор (CPG) для введения карбоксифлуоресцеиновой (FAM) метки по 3'-положению (ОДО «Праймтех»). Растворители перед работой очищали перегонкой и при необходимости абсолютизировали по стандартным методикам.

Спектры ЯМР регистрировали при 500 МГц (^1H) и 202,4 МГц (^{31}P) на мультаядерном Фурье-ЯМР-спектрометре высокого разрешения Bruker-Biospin AVANCE-500 в CDCl_3 , D_2O , $\text{D}_3\text{C}-\text{CN}$ с калибровкой частот по остаточному сигналу растворителя. УФ-вид. спектры регистрировали на спектрофотометре «Cary Varian 300».

Для колоночной хроматографии использовали силикагель Kieselgel 60 (Merck), размер частиц 40–63 мкм. Синтез олигонуклеотидов осуществляли на приборе ASM-800 (Biosset) по стандартным протоколам изготовителя.

6-(N-(трифторацетил)амино)гексановой кислоты N-гидроксисукцинимидный эфир (2). 50,0 г (0,38 моль) 6-аминогексановой кислоты суспендировали в 800 мл хлористого метилена, добавляли 52,7 г (0,456 моль) N-гидроксисукцинимид, охлаждали до 0 °С, при перемешивании прибавляли 70 мл пиридина. 132,6 мл (0,95 моль) трифторуксусного ангидрида прикапывали в течение 2 ч при перемешивании. Реакционную смесь отогревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин. После завершения реакции реакционную смесь промывали 4×400 мл водой, 1×400 мл $\text{NaHCO}_3(\text{нас})$ и 1×400 мл $\text{NaCl}(\text{нас})$. Органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия и упаривали на роторном испарителе досуха. Получали 95,0 г (77%) белого кристаллического вещества.

^1H ЯМР(CDCl_3): δ 6,68 (br s, 1H), 3,38 (quart, $J = 6,417$ Гц, 2H), 2,84 (s, 4H), 2,62 (t, $J = 6,99$ Гц, 2H), 1,80 (quint, $J = 7,46$ Гц, 2H), 1,63 (quint, $J = 7,25$ Гц, 2H), 1,49 (quint, $J = 7,54$ Гц, 2H).

Гидрохлорид метилового эфира (2S, 4R)-4-гидроксипролина (4). Через суспензию 43,2 г (0,33 моль) (2S, 4R)-4-гидроксипролина в 200 мл метанола пропускали хлороводород до полного растворения реагента. Реакционная смесь при этом разогревается. Раствор охлаждали до 0 °С и продолжали пропускание HCl до насыщения, после чего оставляли на ночь при комнатной температуре. Метанол частично отгоняли на роторном испарителе, при этом наблюдали выделение кристаллов из раствора. Кристаллы отфильтровывали, промывали эфиром и сушили в вакууме. Выход 59 г (98%) вещества в виде бесцветных игольчатых кристаллов.

^1H ЯМР(D_2O): δ 4,65 (s, 3H), 4,57–4,52 (m, 2H), 3,37 (dd, $J_1 = 12,59$ Гц, $J_2 = 2,69$ Гц, 1H), 3,26 (dd, $J_1 = 12,76$ Гц, $J_2 = 0,74$ Гц, 1H), 2,37–2,29 (m, 1H), 2,18–2,10 (m, 1H).

Гидрохлорид (2S, 4R)-4-гидроксипролинола (5). 55 г (0,30 моль) гидрохлорида метилового эфира (2S, 4R)-4-гидроксипролина суспендировали в 600 мл диоксана, прибавляли 57,0 г (1,50 моль) боргидрида натрия, нагревали до кипения и прикапывали метанол (200 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться на ночь при комнатной температуре. Добавляли 200 мл $\text{HCl}(\text{конц})$ и профильтровывали. Фильтрат упаривали на роторном испарителе и добавляли 100 мл изопропанола. Нерастворимый в спирте осадок отфильтровывали, к фильтрату прибавляли 150 мл метанола и 20 мл соляной кислоты. Кипятили 30 мин с обратным холодильником, упаривали на роторном испарителе. Остаток перекристаллизовывали из изопропанола. Получали 44,8 г (96%) продукта в виде белого порошка.

^1H ЯМР(D_2O): δ 4,51–4,47 (m, 1H), 3,89–3,82 (m, 1H), 3,76 (dd, $J_1 = 12,47$ Гц, $J_2 = 3,64$ Гц, 1H), 3,55 (dd, $J_1 = 12,36$ Гц, $J_2 = 6,99$ Гц, 1H), 3,28 (dd, $J_1 = 12,69$ Гц, $J_2 = 3,39$ Гц, 1H), 3,16 (d, $J = 12,64$ Гц, 1H), 1,97 (dd, $J_1 = 14,11$ Гц, $J_2 = 6,55$ Гц, 1H), 1,82–1,74 (m, 1H).

(2S, 4R)-4-гидрокси-2-(гидроксиметил)-1-(6-(N-(трифторацетил)амино)гексаноил)пирролидин (6). 30,7 г (0,20 моль) гидрохлорида (2S, 4R)-4-гидроксипролинола суспендировали

в 600 мл пиридина, при перемешивании прикапывали 55 мл триэтиламина. Прибавляли 71,3 г (0,22 моль) N-гидроксисукцинимидного эфира 6-(N-(трифторацетил)амино)гексановой кислоты и оставляли на ночь при перемешивании. Пиридин упаривали на ротормном испарителе, остаток растворяли в 900 мл этилацетата. Промывали равным объемом $\text{NaCl}_{(\text{нас})}$, сушили над безводным сульфатом натрия. Этилацетат отгоняли. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле. Элюент: 5% этанола в CH_2Cl_2 . Получали 46,6 г (72%) продукта в виде бесцветного масла.

^1H ЯМР($\text{D}_3\text{C-CN}$): δ 7,47 (br s, 1H), 5,34 (d, $J = 8,07$ Гц, 1H), 4,28 (br s, 1H), 4,20–4,13 (m, 1H), 3,57–3,49 (m, 2H), 3,45–3,42 (m, 1H), 3,39 (t, $J = 11,39$ Гц, 2H), 3,22–3,17 (m, 2H), 2,26–2,11 (m, 3H), 1,61–1,50 (m, 3H), 1,47 (quint, $J = 7,22$ Гц, 2H), 1,26 (quint, $J = 7,74$ Гц, 2H).

(2S,4R)-4-гидрокси-2-(((4,4'-диметокситритил)окси)метил)-1-(6-(N-(трифторацетил)амино)гексаноил)пирролидин (7). 32,6 г (0,10 моль) **6** растворяли в 300 мл пиридина, при постоянном перемешивании добавляли 40,6 г (0,12 моль) 4,4'-диметокситритилхлорида и оставляли на ночь при комнатной температуре. Растворитель упаривали на ротормном испарителе, остаток растворяли в 300 мл этилацетата и промывали равным объемом $\text{NaCl}_{(\text{нас})}$. Органическую фазу отделяли и сушили над безводным сульфатом натрия. Этилацетат отгоняли. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле. Элюент: 1% триэтиламина в CH_2Cl_2 . Получали 39,1 г (62%) продукта в виде белого аморфного порошка.

^1H ЯМР(CDCl_3): δ 7,37–7,33 (m, 2H), 7,28–7,22 (m, 6H), 7,21–7,16 (m, 1H), 6,83–6,77 (m, 4H), 4,61 (br s, 1H), 4,38 (br s, 1H), 4,14–4,08 (m, 1H), 3,76 (s, 6H), 3,67 (dd, $J_1 = 10,90$ Гц, $J_2 = 4,92$ Гц, 1H), 3,48 (dd, $J_1 = 10,72$ Гц, $J_2 = 2,26$ Гц, 1H), 3,41 (dd, $J_1 = 9,26$ Гц, $J_2 = 4,51$ Гц, 1H), 3,38–3,33 (m, 1H), 3,31 (quart, $J = 6,42$ Гц, 1H), 3,15–3,11 (m, 1H), 3,08 (quart, $J = 7,31$ Гц, 1H), 2,36–2,29 (m, 1H), 2,27–2,16 (m, 2H), 1,67–1,61 (m, 1H), 1,59 (quint, $J = 7,19$ Гц, 2H), 1,50 (quint, $J = 7,16$ Гц, 1H), 1,42–1,33 (m, 3H).

(2S, 4R)-4-(((N,N-диизопропиламино)-(2-цианоэтокси)фосфинил)окси)-2-(((4,4'-диметокситритил)окси)метил)-1-(6-(N-(трифторацетил)амино)гексаноил)пирролидин (8). К раствору 5,48 г (8,73 ммоль) **7** в 16 мл безводного CH_2Cl_2 прибавляли 1,64 мл (9,60 ммоль) DIPEA. Смесь продували аргоном, охлаждали до 0 °С и при перемешивании быстро прибавляли 2,27 г (9,60 ммоль) (N,N-диизопропиламино)-(2-цианоэтокси)-хлорфосфина. Раствор еще раз продували аргоном и отогревали до комнатной температуры, после чего разбавляли 35 мл хлористого метилена и промывали 1×50 мл $\text{NaHCO}_{3(\text{нас})}$ и 2×50 мл $\text{NaCl}_{(80\% \text{ нас})}$. Органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, упаривали на ротормном испарителе и хроматографировали на силикагеле. Элюент: 1% триэтиламина в CH_2Cl_2 . Получали 6,5 г (90%) вещества в виде белоснежной аморфной пены.

^1H ЯМР($\text{D}_3\text{C-CN}$): 7,57–7,44 (br s, 1H), 7,29–7,21 (m, 2H), 7,20–7,04 (m, 7H), 6,77–6,65 (m, 4H), 4,62–4,39 (m, 1H), 4,12–3,94 (m, 1H), 3,63 (s, 6H), 3,63–3,55 (m, 3H), 3,51–3,41 (m, 2H), 3,39–3,26 (m, 1H), 3,23–3,15 (m, 1H), 3,15–3,07 (m, 2H), 3,05–2,88 (m, 1H), 2,53–2,45 (m, 2H), 2,17–2,05 (m, 2H), 1,98–1,84 (m, 1H), 1,48–1,31 (m, 4H), 1,26–1,18 (m, 2H), 1,12–1,07 (m, 1H), 1,07–1,00 (m, 12H).

^{31}P ЯМР($\text{D}_3\text{C-CN}$): 148,3–147,2 (m).

1,1-бис(4-метоксифенил)-1-фенил-2,5,8,11,14,17-гексаоксанадекано-19 (10). 2,9 г (10,3 моль) гексаэтиленгликоля растворяли в 20 мл пиридина, при постоянном перемешивании добавляли 3,1 г (9,2 моль) 4,4'-диметокситритилхлорида и оставляли на ночь при комнатной температуре. Растворитель упаривали на ротормном испарителе, остаток растворили в 20 мл этилацетата и промывали равным объемом $\text{NaCl}_{(\text{нас})}$. Органическую фазу отделяли и сушили над безводным сульфатом натрия. Этилацетат отгоняли. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле. Элюент: 1% триэтиламина в CH_2Cl_2 . Получали 3,0 г (56%) продукта в виде желтоватой мяслянистой жидкости.

^1H ЯМР(CDCl_3): δ 7,81–7,70 (m, 2H), 7,64–7,47 (m, 7H), 6,88–6,80 (m, 4H), 3,79 (s, 6H), 3,71 (t, $J = 5,0$ Гц, 2H), 3,68–3,62 (m, 20H), 3,53 (t, $J = 5,1$ Гц, 2H), 3,01 (br s, 1H).

19-(((N,N-диизопропиламино)-(2-цианоэтокси)фосфинил)окси)-1,1-бис(4-метоксифенил)-1-фенил-2,5,8,11,14,17-гексаоксанадекано (11). К раствору 2,9 г (4,96 ммоль) **10** в 11 мл безводного CH_2Cl_2 прибавляли 933 мкл (5,46 ммоль) DIPEA. Смесь продували аргоном, охлаждали

до 0 °С и при перемешивании быстро прибавляли 1,40 г (5,96 ммоль) (N,N-диизопропиламино)-(2-цианоэтокси)-хлорфосфина. Раствор еще раз продували аргоном и отогревали до комнатной температуры, после чего разбавляли 40 мл хлористого метилена и промывали 1×50 мл NaHCO₃(нас) и 2×50 мл NaCl_(80% нас). Органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, упаривали на роторном испарителе и хроматографировали на силикагеле. Элюент: 1% триэтиламина в толуоле. Получали 1,83 г (47%) вещества в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР(D₃C-CN): 7,64–7,57 (m, 2H), 7,56–7,43 (m, 7H), 6,81–6,69 (m, 4H), 3,77 (s, 6H), 3,70–3,60 (m, 22H), 3,58 (t, J = 5,0 Гц, 2H), 3,48–3,31 (m, 4H), 2,71–2,75 (m, 2H), 1,19–1,13 (m, 12H).

³¹P ЯМР(D₃C-CN): 148,8–149,4 (m).

Олигонуклеотидный синтез проводили в автоматическом режиме с использованием стандартных амидофосфитов по протоколам изготовителя прибора. Для введения модификаций применяли реагенты **8** и **11**. Отщепление олигонуклеотида от носителя осуществляли концентрированным раствором аммиака (28%, 0,75 мл). Электрофорез модифицированных олигонуклеотидов проводили в 20%-ном денатурирующем (7М мочевины) полиакриламидном геле с последующим обессоливанием. Каждый олигонуклеотид получен в количестве 10 опт. ед. (что приблизительно соответствует 50 нмоль). Олигонуклеотиды хранились в виде 30 pM (6 опт. ед./мл) замороженных растворов.

Нековалентная конъюгация аминокислотных МНч и Capture-олигонуклеотида. К 250 мкл водного раствора МНч (1 мг/мл) медленно, небольшими порциями прибавляли 250 мкл водного раствора, содержащего 1,25 нмоль Capture-олигонуклеотида. Смесь оставляли на ночь на шейкере при комнатной температуре. Наночастицы отделяли центрифугированием, также отделяли супернатант. Осадок промыли бидистиллированной водой, после чего ресуспендировали в 250 мкл воды.

Ковалентная иммобилизация Capture-олигонуклеотида на поверхности карбоксильных МНч. Раствор, содержащий 1,25 нмоль Capture-олигонуклеотида, упаривали досуха на вакуумном концентраторе и прибавляли 250 мкл раствора МНч (1 мг/мл) в физиологическом буферном растворе (PBS, pH 7,4). К смеси прибавляли 250 мкл раствора, содержащего 0,2 М EDC и 10 mM sulfo-NHS в PBS. Смесь оставляли на ночь на шейкере при комнатной температуре. Наночастицы отделяли центрифугированием, супернатант также отделяли. Осадок промывали бидистиллированной водой, после чего ресуспендировали в 250 мкл воды.

Комплементарное связывание Matr-олигонуклеотида с конъюгатами МНч. К 250 мкл водных растворов конъюгатов МНч прибавляли 250 мкл водного раствора, содержащего 1,25 нмоль Matr-олигонуклеотида. Смесь оставляли на ночь на шейкере при комнатной температуре. Наночастицы отделяли центрифугированием, супернатант отделяли. Осадок промывали бидистиллированной водой, после чего ресуспендировали в 250 мкл воды.

Результаты и их обсуждение

Для иммобилизации на поверхности карбоксилсодержащих наночастиц в структуру олигонуклеотидов было необходимо ввести аминогруппу. Для этого был синтезирован амидофосфитный реагент **8** (рис. 1). Также был получен гексаэтиленгликольный амидофосфит **11** (рис. 2), предназначенный для введения в структуру олигонуклеотида гибкого спейсера (HEG). Данный спейсер необходим для предотвращения стерических препятствий при иммобилизации олигонуклеотидов на поверхности МНч.

Полученные реагенты были использованы для синтеза модифицированных олигонуклеотидов, имеющих следующие последовательности:

1) Capture: 5'-[NH₂][HEG]ttttttttctcgatctctatccag[FAM]-3';

2) Matrix: 5'-ggcagcggcctccggaaggtgctgatagagatcgagg-3'.

Matrix-олигонуклеотид – это модельная последовательность, воспроизводящая фрагмент онколитической РНК. Capture-олигонуклеотид – модифицированный олигонуклеотид, содержащий участок, комплементарный к Matrix-олигонуклеотиду, спейсерный фрагмент, 5'-терминальную аминогруппу, предназначенную для связывания с поверхностью МНч, а также флуоресцентную метку в 3'-положении.

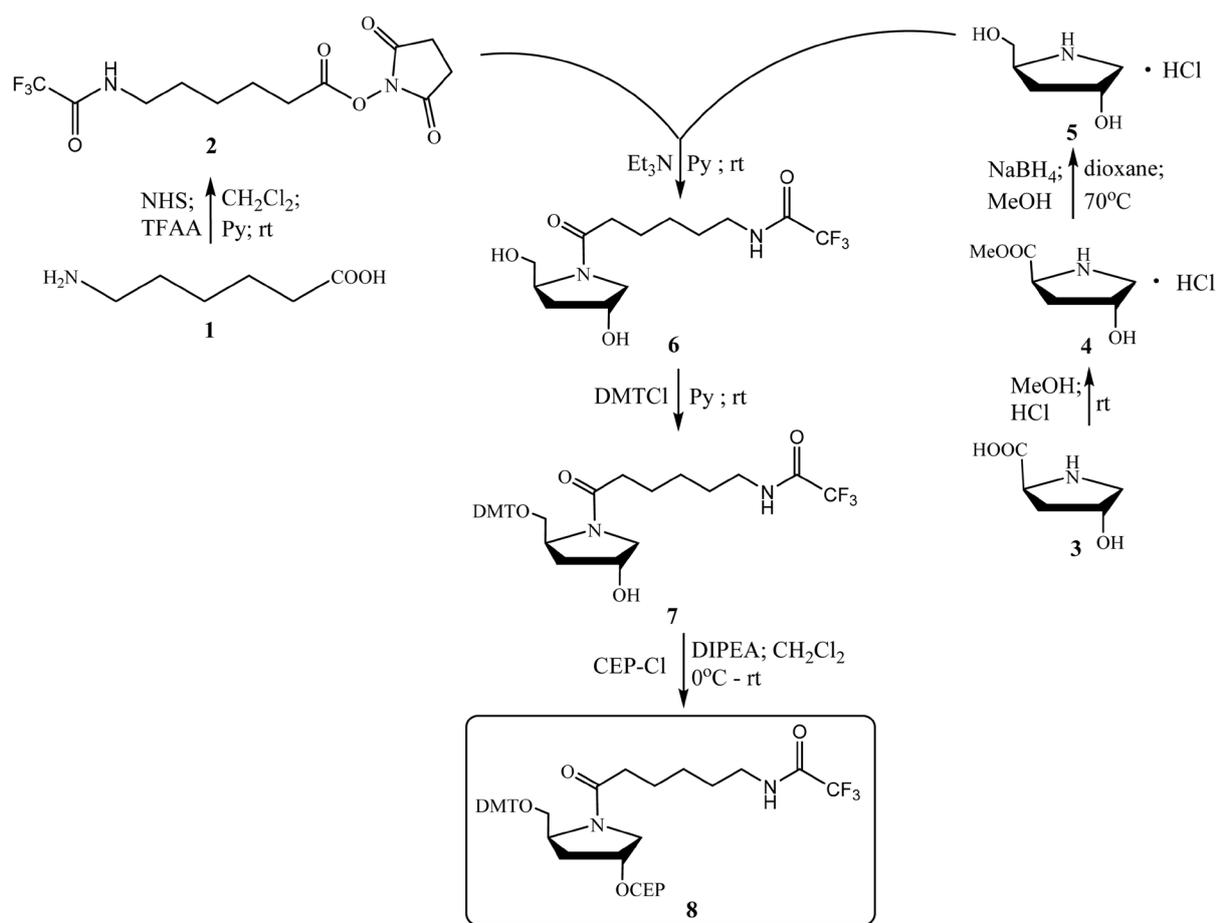


Рис. 1. Схема синтеза аминоклинк-амидофосфита

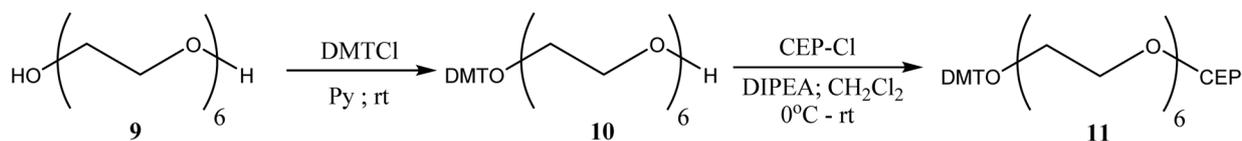


Рис. 2. Синтез гексаэтиленгликольного амидофосфита

Для конъюгации МНч с Capture-олигонуклеотидом применяли две стратегии: нековалентная (электростатическая) иммобилизация и ковалентное связывание посредством карбодиимидной конденсации (рис. 3). Протекание процесса контролировали с помощью оптической спектроскопии поглощения.

Максимум поглощения олигонуклеотидов (260 нм) находится в области зашкаливающего поглощения МНч, что затрудняет анализ спектров поглощения конъюгатов. Поэтому образование конъюгатов детектировали по уменьшению концентрации олигонуклеотида в растворе.

В случае нековалентной иммобилизации Capture-олигонуклеотида на аминопропильных МНч предельное соотношение олигонуклеотид/наночастицы составило 5 нмоль/мг, а в случае ковалентной иммобилизации количественное связывание олигонуклеотида наблюдалось даже при соотношении 20 нмоль/мг. Возможным объяснением является большая (по сравнению с аминопропильными МНч) удельная поверхность карбоксиметилдекстрановых МНч, наличие большей свободы для связывания (так как в этом случае связывание происходит не на твердой поверхности, а в рыхлой углеводной оболочке), а также характер ковалентного связывания, которое обеспечивает более стерически благоприятную ориентацию молекул олигонуклеотида для образования комплементарного дуплекса с Matrix-олигонуклеотидом по сравнению с нековалентной иммобилизацией, при котором олигонуклеотид занимает большую площадь поверхности МНч.

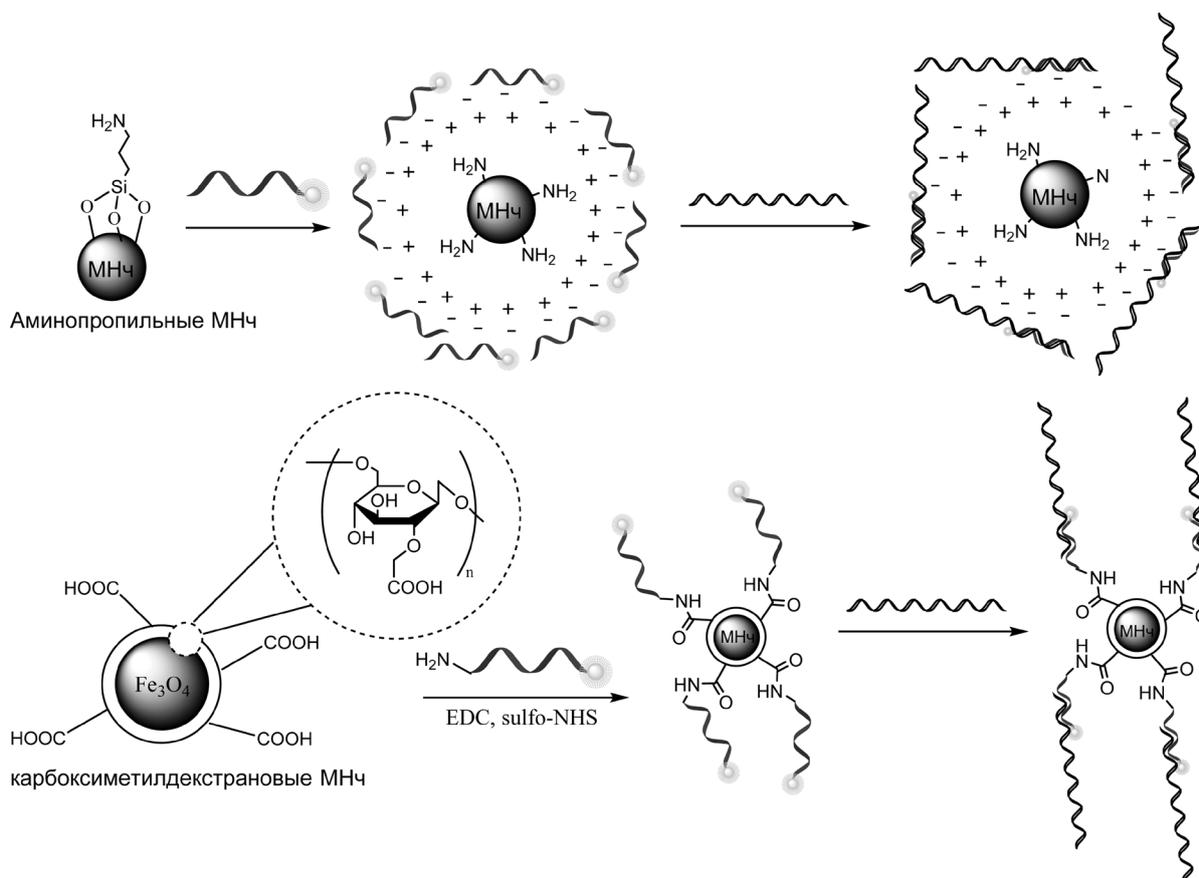


Рис. 3. Схема конъюгации олигонуклеотидов с наночастицами магнетита

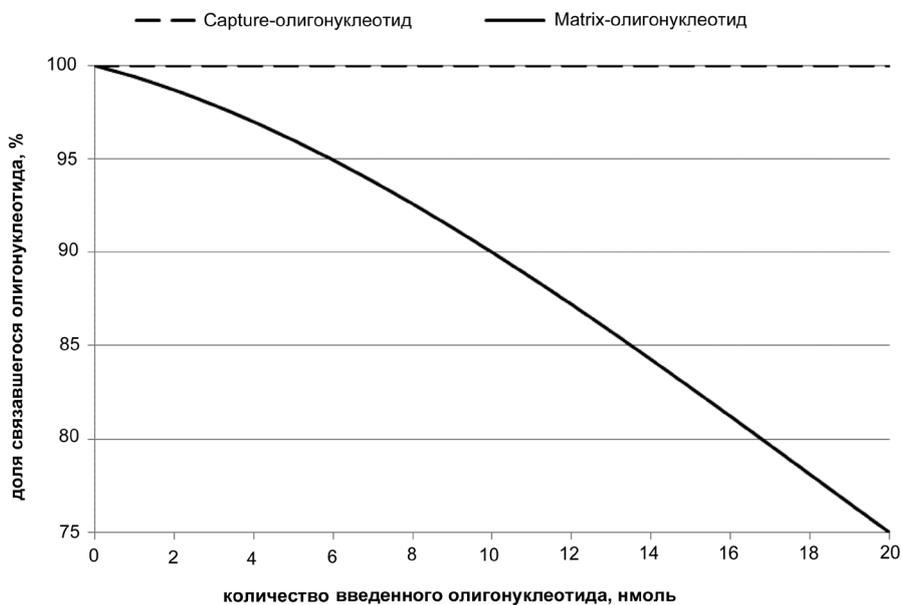


Рис. 4. Связывание Capture- и Matrix-олигонуклеотидов при ковалентном способе иммобилизации

Полученные конъюгаты использовали для гибридизации с Matrix-олигонуклеотидом. Количество вводимого Matrix-олигонуклеотида во всех экспериментах было эквимольно количеству Capture-олигонуклеотида, присутствующему в составе конъюгата. Протекание процесса также контролировали по исчезновению Matrix-олигонуклеотида из раствора.

В случае нековалентного конъюгата наблюдалось вытеснение Capture-олигонуклеотида Matrix-олигонуклеотидом, что приводило к продукту неопределенного состава. По этой причине нековалентная конъюгация представляется неподходящим методом создания магнитоуправляемых систем доставки онколитической РНК. Тем не менее обратимость связывания нуклеиновых кислот также можно рассматривать как достоинство такого способа иммобилизации, поскольку в определенных случаях требуется контролируемое высвобождение иммобилизованного препарата.

Ковалентный конъюгат эффективно гибридизовался с Matrix-олигонуклеотидом при всех исследованных соотношениях олигонуклеотид/МНЧ (рис. 4).

Таким образом, ковалентная конъюгация МНЧ с олигонуклеотидами является перспективным способом связывания онколитической РНК с целью создания средств магнитоуправляемой доставки на их основе.

Список использованной литературы

1. Уразова, Л. Н. Онколитические вирусы в онкологии / Л. Н. Уразова, Т. И. Кузнецова // Сибир. онколог. журн. – 2003. – № 4. – С. 28–35.
2. Kelly, E. History of Oncolytic Viruses: Genesis to Genetic Engineering / E. Kelly, S. J. Russell // Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy. – 2007. – Vol. 15, № 4. – P. 651–659.
3. Segura, T. Materials for non-viral gene delivery / T. Segura, L. D. Shea // Annu. Rev. Mater. Res. – 2001. – Vol. 31. – P. 25–46.
4. Luo, D. Synthetic DNA delivery systems / D. Luo, W. M. Saltzman // Nature biotechnology. – 2000. – Vol. 18. – P. 33–37.
5. Михайлов, Г. А. Технология будущего: использование магнитных наночастиц в онкологии / Г. А. Михайлов, О. С. Васильева // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 3. – С. 18–22.
6. Ito, A. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles / A. Ito [et al.] // J. Biosci. Bioeng. – 2005. – Vol. 100, № 1. – P. 1–11.
7. Motoyama, J. Size dependent heat generation of magnetite nanoparticles under AC magnetic field for cancer therapy / J. Motoyama [et al.] // BioMagnetic Research and Technology. – 2008. – Vol. 6, № 4.
8. Першина, А. Г. Взаимодействие магнитных наночастиц и молекул ДНК: создание наногибридных структур и их использование / А. Г. Першина, А. Э. Сазонов, В. Д. Филимонов // Успехи химии. – 2014. – Т. 83, № 4. – С. 299–322.

Поступила в редакцию 03.11.2015