

УДК 573.6.086.83:57.083.3

П. В. Храмцов<sup>a,b</sup>, М. С. Бочкова<sup>a</sup>, В. П. Тимганова<sup>a</sup>, М. Д. Кропанева<sup>b</sup>,  
С. А. Заморина<sup>a,b</sup>, М. Б. Раев<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

<sup>b</sup> Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

## НОВЫЙ МЕТОД ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ УГЛЕРОДОМ

Описан метод биологической функционализации магнитных железоуглеродных наночастиц. Суть метода заключается в ковалентной пришивке белков или других веществ, содержащих аминогруппы, к молекулам бычьего сывороточного альбумина, нековалентно сорбированного на углеродной поверхности наночастиц. В настоящей работе в качестве модельного белка был использован стрептавидин. Предлагаемый метод прост в реализации, все реакции проводятся в «мягких» физико-химических условиях. Синтезированные конъюгаты магнитных наночастиц с биомолекулами могут быть использованы в различных областях биомедицины.

**Ключевые слова:** магнитные наночастицы; углеродная капсула; функционализация.

P. V. Khramtsov<sup>a,b</sup>, M. S. Bochkova<sup>a</sup>, V. P. Timganova<sup>a</sup>, M. D. Kropaneva<sup>b</sup>,  
S. A. Zamorina<sup>a,b</sup>, M. B. Rayev<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Perm State University, Perm, Russian Federation

## NOVEL METHOD OF FUNCTIONALIZATION OF CARBON-ENCAPSULATED MAGNETIC NANOPARTICLES

Novel method of functionalization of metal-carbon nanoparticles is described. The main principle is covalent binding of amine group-containing molecules, i.e. proteins, to bovine serum albumin adsorbed on the carbon shell of nanoparticles. Streptavidin was used as model protein. Proposed method is simple; all steps are carried out in mild conditions. Obtained conjugates of magnetic nanoparticles with biomolecules can be used in different fields of biomedicine.

**Key words:** magnetic nanoparticles; carbon shell; functionalization.

### Введение

Магнитные наночастицы являются перспективной платформой для терапии и диагностики. Области их применения включают в себя медицинскую визуализацию, адресную доставку лекарственных средств, вакцинопрофилактику [Shah et al., 2014; Kang et al., 2017; Assa et al., 2017; Shen et al., 2017]. Одним из распространенных подходов к повышению стабильности и биосовместимости магнитных наночастиц является их инкапсулирование слоем углерода [Herrmann et al., 2009; Galakhov et al., 2010]. Спектр применений магнитных наночастиц, покрытых углеродной оболочкой (Mag@C) в биомедицине весьма широк. В частности, разработана технология удаления из крови токсинов и возбудителей заболеваний *ex vivo* [Herrmann et al., 2016]. Продемонстрирован потенциал применения Mag@C для адресной доставки противоопухолевых препаратов [Kowalczyk et al.,

2016], в фото- [Yu et al., 2014; Lee et al., 2015] и магнитотермальной терапии опухолей [Li et al., 2014; Sadhasivam et al., 2016], в качестве контрастного реагента при магниторезонансной томографии [Yu et al., 2014, Li et al., 2014]. Показана возможность контроля и усиления иммунного ответа на модельный антиген при помощи железоуглеродных наночастиц, конъюгированных с антигеном [Schreiber et al., 2010].

Разработка методов практического использования Mag@C сопряжена и с функционализацией их поверхности различными биомолекулами, полимерами и лекарственными средствами, которые придают наночастицам желаемые свойства: терапевтическую активность, повышенную стабильность, меньшую токсичность, возможность адресного взаимодействия с целевыми молекулами, например клеточными рецепторами.

Одним из распространённых способов функционализации Mag@C является модификация уг-

леродного слоя химическими группами с последующей ковалентной иммобилизацией целевых молекул. Относительно простым методом формирования гидроксильных и карбоксильных групп на поверхности углеродного слоя является обработка наночастиц кислотами [Taylor et al., 2010; Kowalczyk et al., 2016]. Karmakar с соавт. железные наночастицы, покрытые углеродом (Fe@C), инкубировали в концентрированной соляной кислоте, после чего ковалентно конъюгировали их с эпидермальным фактором роста и использовали в радиотермальной терапии опухолей [Karmakar et al., 2011]. Аналогичный подход использовали для иммобилизации ДНК-зондов на золотых наночастицах, покрытых графеном [Li et al., 2016]. В опыте [Matysiak-Brynda et al., 2017], Fe@C наночастицы, несущие гидроксильные группы, были конъюгированы с антителами к трансферрину при помощи карбодиимида в ходе разработки сенсора, детектирующего концентрацию трансферрина. В эксперименте [Mattila, 2014] обработка наночастиц УФ-излучением была использована для формирования поверхностных гидроксильных групп с последующей пришивкой к ним (3-аминопропил)триэтоксисилана, что приводило к образованию слоя кремния, несущего аминогруппы, поверх углеродной оболочки. В дальнейшем наличие поверхностных аминогрупп позволяет проводить ковалентную конъюгацию биомолекул при помощи реакций с производными карбодиимида, диальдегидов и т.д.

Функциональные группы на углеродной поверхности наночастиц могут быть введены при помощи реакций с солями диазония [Zlateski et al., 2014]. Этот метод был использован для иммобилизации ферментов  $\beta$ -глюкозидазы,  $\alpha$ -химотрипсина и липазы В на частицах Co@C. Ковалентная иммобилизация обеспечила более высокую стабильность иммобилизованных ферментов в сравнении с нековалентной сорбцией. В работе [Herrmann et al., 2016] тиол-модифицированные наночастицы Fe<sub>3</sub>C@C были ковалентно покрыты слоем ПЭГ, несущим концевую малеимидную группу, которую в дальнейшем использовали для пришивки IgG. В недавно опубликованной статье [Kasprzak et al., 2017] был предложен экологически чистый, быстрый метод ковалентной функционализации Fe@C, основанный на механохимической реакции, позволяющий вводить в структуру поверхности наночастиц углеводы, а также гидроксильные и карбоксильные группы.

Другой подход состоит в формировании на поверхности наночастиц полимерного слоя, содержащего множество функциональных групп, например, аминогрупп, к которым ковалентно пришивается целевая молекула при помощи кросс-линкера. Подобный метод использован в работе [Fuhner et al., 2011]: на кобальтовые наночастицы, покрытые углеродом, сорбировали полиэтиленмин, к аминогруппам которого пришивали бета-

циклодекстрин при помощи гексаметил диизоционата. Yu с соавт. продемонстрировали способ иммобилизации терапевтического средства доксорубина на частицах Fe<sub>5</sub>C<sub>2</sub>@C при помощи последовательной сорбции на их поверхности слоев молекул с противоположным зарядом: 1-й слой – положительно заряженный дофамин, 2-й слой – негативно заряженный бычий сывороточный альбумин, 3-й слой – положительно заряженный доксорубин [Yu et al., 2016].

В этой статье описан подход к функционализации железных наночастиц, покрытых слоем углерода, основанный на ковалентной пришивке целевой биомолекулы (стрептавидина) к молекулам БСА, сорбированным на поверхности наночастиц.

## Материалы и методы

### Материалы

Наночастицы Fe@C были любезно предоставлены сотрудниками лаборатории прикладного магнетизма Института физики металлов имени М.Н. Михеева (зав. лаб. М.А. Уймин). Процедура синтеза наночастиц описана в работе [Galakhov et al., 2010]. Химические реактивы, использованные в работе: нитроцеллюлозная мембрана с размером пор 0,45 мкм (Bio-Rad, США), БСА (Sigma-Aldrich, США), глицерин, глутаровый альдегид, натрий фосфорнокислый одно- и двухзамещенный (Panreac, Испания), Sepharose 6B-CL (GE Healthcare, США), стрептавидин (ProspecBio, Израиль). БСА был модифицирован биотином по методике, описанной в статье [Goding, 1980].

Приборы: спектрофотометр Shimadzu UV-VIS UVmini 1240 (Япония), ультразвуковой дезинтегратор MSE Soniprep 150 (Великобритания), анализатор частиц Malvern ZetaSizer NanoZS (Великобритания).

Буферные растворы: 0.15M раствор NaCl, забуференный 0.015M Na-фосфатами, содержащий 0.1% азида натрия pH 7.25 (ФБ), ФБ+0,1% Tween-20 (ФБТ), ФБТ+1% БСА (ФБТБ).

### Методы

Конъюгирование железоуглеродных наночастиц осуществляли следующим образом. В 2%-ный раствор БСА в ФБ вносили 500 мг Fe@C, массовая доля наночастиц в суспензии составляла 5%. Суспензию перемешивали на ротационном встряхивателе при комнатной температуре (КТ) в течение 72 ч., а затем обрабатывали ультразвуком в течение 30 мин. без перерывов и помещали на хранение при 4°C. В день эксперимента 5%-ную суспензию перемешивали встряхиванием, и из нее готовили 1%-ную суспензию наночастиц в 2% БСА. 5 мл полученной суспензии озвучивали в течение получаса на холоде, неразрушенные агрегаты удаляли коротким центрифугированием на 1600 g. К 4 мл 1%-ной суспензии добавляли 4 мл 25%-ного рас-

твора глутарового альдегида в 0.15M NaCl, забуференного натрий-фосфатами до pH 7.25. Смесь перемешивали на роторном смесителе в течение 40 мин., после чего наночастицы отмывали от избытка глутаральдегида ФБ при помощи 4 циклов центрифугирования (20000g, 15 мин.) и декантации. К осадку добавляли 4 мл ФБ, затем смесь озвучивали 30 мин. на холоде, неразрушенные агрегаты удаляли коротким центрифугированием на 1600 g. К суспензии добавляли 500 мкл раствора стрептавидина с концентрацией 2 мг/мл в ФБ. После 16-часовой инкубации при 4°C наночастицы отмывали от избытка стрептавидина описанным методом до конечной концентрации свободного стрептавидина менее 5 нг/мл. К осадку наночастиц добавляли 2.5 мл ФБ, смесь озвучивали в течение 5 мин. на холоде, неразрушенные агрегаты удаляли коротким центрифугированием на 1600 g, после чего к суспензии добавляли БСА и глицерин до конечных концентраций 1 и 20% соответственно.

Концентрацию наночастиц в суспензии оценивали спектрофотометрически по изменению поглощения при длине волны 450 нм. Для регистрации потерь наночастиц в ходе синтеза и расчёта выхода конъюгата использовали показатель суммарной оптической плотности (СОП) образца, который рассчитывали следующим образом:  $СОП = ОП_{450\text{ нм}} \times V_{\text{образца}}$ .

Размеры наночастиц оценивали при помощи измерения обратного динамического светорассеяния. Для этого суспензию разводили в ФБ до оптической плотности 0.4–0.5 ОЕ. Распределение час-

тиц по размерам оценивали по показателям интенсивности светорассеяния (средний диаметр [z-average], средние пики интенсивности светорассеяния) и количества частиц (приведены средние значения для пиков распределения).

Функциональную активность наночастиц оценивали по взаимодействию с биотинилированным БСА (БСА-Bi) в формате прямого дот-анализа на нитроцеллюлозной мембране. На полоски из нитроцеллюлозной мембраны размером 6×80 мм сорбировали по 5 мкл 10-кратных разведений БСА-Bi и БСА в ФБ, начиная с концентрации 100 мкг/мл. Полоски высушивали, помещали в пластиковые ванночки, блокировали 60 мин. в 2 мл ФБТБ, промывали трехкратно ФБТ, после чего в ванночки вносили конъюгат Fe@C-Str, разведенный в ФБТБ 1/15. Тест-полоски инкубировали в растворе конъюгата 15 мин. при температуре +37°C (все остальные процедуры проводили при комнатной температуре), затем промывали ФБТ и высушивали. Наличие реакции оценивали визуально по наличию окрашивания точек на тест-полосках.

### Результаты

Синтезированы конъюгаты железных наночастиц, покрытых углеродом, со стрептавидином. Принцип конъюгирования заключается в ковалентной пришивке стрептавидина к молекулам БСА, нековалентно сорбированным на поверхности наночастиц. Схема синтеза изображена на рис. 1.

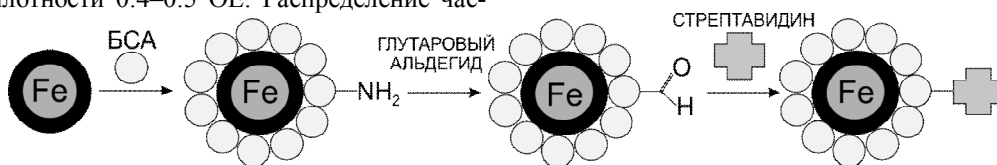


Рис. 1. Схема конъюгирования железноуглеродных наночастиц, инкапсулированных углеродом, со стрептавидином

Размеры Fe@C оценивали на трех стадиях их функционализации:

1. Озвученные частицы Fe@C-БСА.
2. Частицы Fe@C-БСА, активированные глутаральдегидом и обработанные ультразвуком.

3. Частицы Fe@C-Str.

Результаты оценки размеров частиц суммированы в таблице.

#### Динамика изменения размеров наночастиц в процессе конъюгирования со стрептавидином

Стадия	Индекс полидисперсности	Интенсивность светорассеяния				Количество частиц		
		Средний диаметр, нм	Средний размер, 1-й пик, нм	Средний размер, 2-й пик, нм	Средний размер, 3-й пик, нм	Средний размер, 1-й пик, нм	Средний размер, 2-й пик, нм	Средний размер, 3-й пик, нм
1	0.512	382	736 (80.4%)*	128 (17.2%)	4988 (2.4%)	83 (95.4%)	396 (4.6%)	–
2	0.275	225	314 (98.9%)	4815 (1.1%)	–	91 (100%)	–	–
3	0.391	196	315 (93.3%)	3757 (6.7%)	–	79 (100%)	–	–

\*Процент интенсивности светорассеяния/количества частиц пика от суммарной интенсивности/количества частиц пробы.

Анализ данных светорассеяния говорит о снижении средней интенсивности светорассеяния на-

ночастиц, при том, что большая часть частиц имела размеры в районе 100 нм на всех стадиях синте-

за (рис. 2).

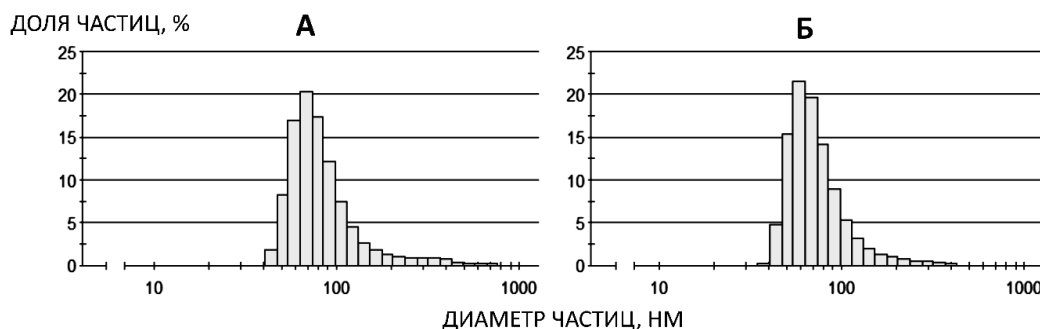


Рис. 2. Распределение наночастиц по размеру: Fe@C-BCA (А) и Fe@C-Str (Б)

Выход синтеза оценивали по изменению суммарной оптической плотности суспензии наночастиц. Исходная СОП для 4 мл раствора Fe@C-BCA составила 728, конечная СОП для 3.3 мл раствора Fe@C-Str – 719, таким образом, выход синтеза составил 98%.

Визуально конъюгат Fe@C-Str представлял собой оптически плотную, однородную суспензию наночастиц, спустя сутки хранения при +4°C на дне флакона образовался осадок агрегировавших наночастиц, при этом даже спустя неделю хранения в осадок выпали не все частицы, не было отмечено видимого изменения плотности надосадочной жидкости в сравнении с исходной суспензией.

Способность Fe@C-Str связываться с биотинилированными молекулами была подтверждена при помощи дот-анализа на нитроцеллюлозной бумаге. Конъюгированные со стрептавидином наночастицы взаимодействовали с БСА-Bi в концентрации 10 мкг/мл и более, при этом взаимодействия с БСА не было выявлено (рис. 3).

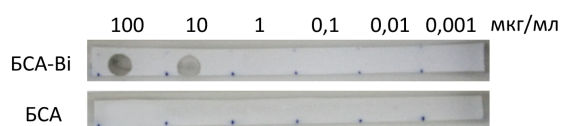


Рис. 3. Оценка функциональной активности Fe@C-Str методом дот-анализа на нитроцеллюлозных полосках.

В верхней части рисунка указаны концентрации сорбированных на мембрану белков в соответствии с участками их сорбции на тест-полосках

Разработанный метод позволяет функционализировать магнитные наночастицы, покрытые углеродом, белками, а также другими соединениями, содержащими химические группы, способные формировать стабильные ковалентные связи с альдегидными группами глутаральдегида. Стоит отметить, что данный метод может быть модифицирован путем применения других бифункциональных сшивающих агентов, что позволит расширить спектр молекул, доступных для конъюгирования.

Предлагаемая методика функционализации магнитных наночастиц достаточно оперативна, не требует жестких физико-химических условий и сложного, дорогостоящего оборудования, все реакции проводятся в водной среде. Задача, которую необходимо решить в будущем, – это повышение устойчивости суспензии наночастиц к агрегации.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-15-01116).

### Библиографический список

- Assa F. et al.* Chitosan magnetic nanoparticles for drug delivery systems // *Critical Reviews in Biotechnology*. 2017. Vol. 7 (4). P. 492–509.
- Fuhrer R. et al.* Immobilized  $\beta$ -cyclodextrin on surface-modified carbon-coated cobalt nanomagnets: Reversible organic contaminant adsorption and enrichment from water // *Langmuir*. 2011. Vol. 27 (5). P. 1924–1929.
- Galakhov V.R. et al.* Characterization of carbon-encapsulated nickel and iron nanoparticles by means of X-ray absorption and photoelectron spectroscopy // *Journal of Physical Chemistry C*. 2010. Vol. 114 (51). P. 22413–22416.
- Goding J.W.* Antibody production by hybridomas // *Journal of Immunological Methods*. 1980. Vol. 39 (4). P. 285–308.
- Herrmann I.K. et al.* High-strength metal nanomagnets for diagnostics and medicine: Carbon shells allow long-term stability and reliable linker chemistry // *Nanomedicine*. 2009. Vol. 4 (7). P. 787–798.
- Herrmann I.K. et al.* In vivo risk evaluation of carbon-coated iron carbide nanoparticles based on short- and long-term exposure scenarios // *Nanomedicine*. 2016. Vol. 11 (7). P. 783–796.
- Kang T. et al.* Surface design of magnetic nanoparticles for stimuli-responsive cancer imaging and therapy // *Biomaterials*. 2017. Vol. 136. P. 98–114.

- Karmakar A.* et al. Radio-frequency induced in vitro thermal ablation of cancer cells by EGF functionalized carbon-coated magnetic nanoparticles // *Journal of Materials Chemistry*. 2011. Vol. 21 (34). P. 12761–12769.
- Kasprzak A.* et al. Grinding-induced functionalization of carbon-encapsulated iron nanoparticles // *Green Chemistry*. 2017. Vol. 19 (15). P. 3510–3514.
- Kowalczyk A.* et al. Conformational control of human transferrin covalently anchored to carbon-coated iron nanoparticles in presence of a magnetic field // *Acta Biomaterialia*. 2016. Vol. 45 P. 367–374.
- Lee H.-J.* et al. Photothermal cancer therapy using graphitic carbon-coated magnetic particles prepared by one-pot synthesis // *International Journal of Nanomedicine*. 2015. Vol. 10. P. 271–282.
- Li X.* et al. One-pot synthesis and functionalisation of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@C-NH<sub>2</sub> nanoparticles for imaging and therapy // *IET Nanobiotechnology*. 2014. Vol. 8 (2). P. 93–101.
- Li Y.* et al. Functionalization of multilayer carbon shell-encapsulated gold nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering sensing and DNA immobilization // *Carbon*. 2016. Vol. 100. P. 165–177.
- Mattila P.* et al. Scalable synthesis and functionalization of cobalt nanoparticles for versatile magnetic separation and metal adsorption // *Journal of Nanoparticle Research*. 2014. Vol. 16 (9). art. no. 2606.
- Matysiak-Brynda E.* et al. Novel ultrasensitive immunosensor based on magnetic particles for direct detection of transferrin in blood // *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 2017. Vol. 249. P. 105–113.
- Sadhasivam S.* et al. Carbon encapsulated iron oxide nanoparticles surface engineered with polyethylene glycol-folic acid to induce selective hyperthermia in folate over expressed cancer cells // *International Journal of Pharmaceutics*. 2015. Vol. 480 (1-2). P. 8–14.
- Schreiber H.A.* et al. Using carbon magnetic nanoparticles to target, track, and manipulate dendritic cells // *Journal of Immunological Methods*. 2010. Vol. 356 (1-2). P. 47–59.
- Shah M.A.A.* et al. Nanoparticles for DNA vaccine delivery // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 2014. Vol. 10 (9). P. 2332–2349.
- Shen Z.* et al. Iron oxide nanoparticle based contrast agents for magnetic resonance imaging // *Molecular Pharmaceutics*. 2017. Vol. 14 (5) P. 1352–1364.
- Taylor A.* et al. Functionalization of carbon encapsulated iron nanoparticles // *Journal of Nanoparticle Research*. 2010. Vol. 12 (2). P. 513–519.
- Yu J.* et al. Multifunctional Fe<sub>5</sub>C<sub>2</sub> nanoparticles: a targeted theranostic platform for magnetic resonance imaging and photoacoustic tomography-guided photothermal therapy // *Advanced Materials*. 2014. Vol. 26 (24). P. 4114–4120.
- Yu J.* et al. Multistimuli-regulated photochemothermal cancer therapy remotely controlled via Fe<sub>5</sub>C<sub>2</sub> nanoparticles // *ACS Nano*. 2016. Vol. 10 (1). P. 159–169.
- Zlateski V.* et al. Efficient magnetic recycling of covalently attached enzymes on carbon-coated metallic nanomagnets // *Bioconjugate Chemistry*. 2014. Vol. 25 (4). P. 677–684.

## References

- Assa F.* et al. Chitosan magnetic nanoparticles for drug delivery systems. *Critical Reviews in Biotechnology*, V. 7 (4) (2017): pp. 492-509.
- Fuhrer R.* et al. Immobilized  $\beta$ -cyclodextrin on surface-modified carbon-coated cobalt nanomagnets: Reversible organic contaminant adsorption and enrichment from water. *Langmuir*, V. 27 (5) (2011): pp. 1924–1929.
- Galakhov V.R.* et al. Characterization of carbon-encapsulated nickel and iron nanoparticles by means of X-ray absorption and photoelectron spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry C*, V. 114 (51) (2010): pp. 22413–22416.
- Goding J.W.* Antibody production by hybridomas. *Journal of Immunological Methods*, V. 39 (4) (1980): pp. 285–308.
- Herrmann I.K.* et al. High-strength metal nanomagnets for diagnostics and medicine: Carbon shells allow long-term stability and reliable linker chemistry. *Nanomedicine*, V. 4 (7) (2009): pp. 787–798.
- Herrmann I.K.* et al. In vivo risk evaluation of carbon-coated iron carbide nanoparticles based on short- and long-term exposure scenarios. *Nanomedicine*, V. 11 (7) (2016): pp. 783–796.
- Jacobson M.* et al. Uptake of ferromagnetic carbon-encapsulated metal nanoparticles in endothelial cells: Influence of shear stress and endothelial activation. *Nanomedicine*, V. 10 (24) (2015): pp. 3537–3546.
- Kang T.* et al. Surface design of magnetic nanoparticles for stimuli-responsive cancer imaging and therapy. *Biomaterials*, V. 136 (2017): pp. 98-114.
- Karmakar A.* et al. Radio-frequency induced in vitro thermal ablation of cancer cells by EGF functionalized carbon-coated magnetic nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, V. 21 (34) (2011): pp. 12761–12769.
- Kasprzak A.* et al. Grinding-induced functionalization of carbon-encapsulated iron nanoparticles. *Green Chemistry*, V. 19 (15) (2017): pp. 3510–3514.
- Kowalczyk A.* et al. Conformational control of human transferrin covalently anchored to carbon-coated

- iron nanoparticles in presence of a magnetic field. *Acta Biomaterialia*, V. 45 (2016): pp. 367–374.
- Lee H.-J. et al. Photothermal cancer therapy using graphitic carbon-coated magnetic particles prepared by one-pot synthesis. *International Journal of Nanomedicine*, V. 10 (2015): pp. 271–282.
- Li X. et al. One-pot synthesis and functionalisation of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@C-NH<sub>2</sub> nanoparticles for imaging and therapy. *IET Nanobiotechnology*, V. 8 (2) (2014): pp. 93–101.
- Li Y. et al. Functionalization of multilayer carbon shell-encapsulated gold nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering sensing and DNA immobilization. *Carbon*, V. 100 (2016): pp. 165–177.
- Pipsa M. et al. Scalable synthesis and functionalization of cobalt nanoparticles for versatile magnetic separation and metal adsorption. *Journal of Nanoparticle Research*, V. 16 (9) (2014): pp. 1–11, art. no, 2606.
- Matysiak-Brynda E. et al. Novel ultrasensitive immunosensor based on magnetic particles for direct detection of transferrin in blood. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, V. 249 (2017): pp. 105–113.
- Sadhasivam S. et al. Carbon encapsulated iron oxide nanoparticles surface engineered with polyethylene glycol-folic acid to induce selective hyperthermia in folate over expressed cancer cells. *International Journal of Pharmaceutics*, V. 480 (1–2) (2015): pp. 8–14.
- Schreiber H.A. et al. Using carbon magnetic nanoparticles to target, track, and manipulate dendritic cells. *Journal of Immunological Methods*, V. 356 (1–2) (2010): pp. 47–59.
- Shah M.A. et al. Nanoparticles for DNA vaccine delivery. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, V. 10 (9) (2014): pp. 2332–2349.
- Shen Z. et al. Iron oxide nanoparticle based contrast agents for magnetic resonance imaging. *Molecular Pharmaceutics*, V. 14 (5) (2017): pp. 1352–1364.
- Taylor A. et al. Functionalization of carbon encapsulated iron nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, V. 12 (2) (2010): pp. 513–519.
- Yu J. et al. Multifunctional Fe<sub>5</sub>C<sub>2</sub> nanoparticles: a targeted theranostic platform for magnetic resonance imaging and photoacoustic tomography-guided photothermal therapy. *Advanced Materials*, V. 26 (24) (2014): pp. 4114–4120.
- Yu J. et al. Multistimuli-regulated photochemothermal cancer therapy remotely controlled via Fe<sub>5</sub>C<sub>2</sub> nanoparticles. *ACS Nano*, V. 10 (1) (2016): pp. 159–169.
- Zlateski V. et al. Efficient magnetic recycling of covalently attached enzymes on carbon-coated metallic nanomagnets. *Bioconjugate Chemistry*, V. 25 (4) (2014): pp. 677–684.

Поступила в редакцию 21.09.2017

#### Об авторах

Храмцов Павел Викторович, кандидат биологических наук, инженер лаборатории экологической иммунологии ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-1707-4423  
614081, Пермь, ул. Голева, 13;  
khramtsovpavel@yandex.ru; 8(342)2807794  
ассистент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
614990, Пермь, ул. Букирева, 15

Бочкова Мария Станиславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0001-5784-6224  
614081, Пермь, ул. Голева, 13;  
krasnykh-m@mail.ru; 8(342)2807794

#### About the authors

Khramtsov Pavel Victorovich, candidate of biology, engineer of laboratory of ecological immunology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0002-1707-4423  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
khramtsovpavel@yandex.ru; 8(342)2807794  
assistant lecturer of the Department of microbiology and immunology  
Perm State University.  
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990

Bochkova Maria Stnislavovna, candidate of biology, researcher of laboratory of ecological immunology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0001-5784-6224  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
krasnykh-m@mail.ru; 8(342)2807794

Тимганова Валерия Павловна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии  
ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0003-4581-1969  
614081, Пермь, ул. Голева, 13;  
timganovavp@gmail.com; 8(342)2807794

Кропанева Мария Дмитриевна, студент биологического факультета  
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
**ORCID:** 0000-0001-7068-2789  
614099, Пермь, ул. Букирева, 15;  
kropanevamasha@gmail.com

Заморина Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии  
ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-6474-1487  
614081, Пермь, ул. Голева, 13; mantissa7@mail.ru; 8(342)2807794

доцент кафедры микробиологии и иммунологии  
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
614990, Пермь, ул. Букирева, 15

Раев Михаил Борисович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии  
ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0001-6882-4928  
614081, Пермь, ул. Голева, 13; mraev@iegm.ru; 8(342)2807794

профессор кафедры микробиологии и иммунологии  
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
614990, Пермь, ул. Букирева, 15

Timganova Valeria Pavlovna, candidate of biology, junior researcher of laboratory of ecological immunology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.

**ORCID:** 0000-0003-4581-1969  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
timganovavp@gmail.com; 8(342)2807794

Kropaneva Maria Dmitrievna, student of the biological faculty  
Perm State University.

**ORCID:** 0000-0001-7068-2789  
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;  
kropanevamasha@gmail.com

Zamorina Svetlana Anatolyevna, doctor of biology, leading researcher of laboratory of ecological immunology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.

**ORCID:** 0000-0002-6474-1487  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
mantissa7@mail.ru; 8(342)2807794

associate professor of the Department of microbiology and immunology  
Perm State University.  
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990

Rayev Mikhail Borisovich, doctor of biology, leading researcher of laboratory of ecological immunology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.

**ORCID:** 0000-0001-6882-4928  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
mraev@iegm.ru; 8(342)2807794

professor of the Department of microbiology and immunology  
Perm State University.  
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990





