

УДК 57.086

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОМОДИФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК МИКРОМИЦЕТОВ

А.И. Замалева, Ф.К. Алимова, Д.Г. Ишмухаметова, Р.Ф. Фахруллин

Аннотация

Микроскопия является одним из основных инструментов, применяемых для изучения взаимодействия наночастиц и живых клеток. В настоящей работе приведена сравнительная характеристика различных микроскопических методов на примере клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и конидий микромицетов *Trichoderma asperellum*, наномодифицированных полиэлектролитными пленками и металлическими наночастицами. Рассмотрены техники оптической микроскопии в проходящем и отраженном свете, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии.

Ключевые слова: наномодифицированные клетки микромицетов, оптическая микроскопия, электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия.

Введение

В последнее время функциональные наноструктуры привлекают все больший интерес ученых всего мира благодаря их уникальным свойствам и возможности широкого применения в различных областях: электронике [1, 2], оптике [3] и сенсорах [4, 5]. Применение наноматериалов в сочетании с биологическими макромолекулами позволяет создавать новые методы диагностики заболеваний [6, 7] и разрабатывать новые биологически совместимые материалы с необычными свойствами [8–10]. Вместе с тем возникает ряд вопросов относительно безопасности наноматериалов и оценки их потенциальной генотоксичности и цитотоксичности [11, 12]. Очевидно, что изучение взаимодействия живых клеток с наноматериалами представляет огромный интерес, и обусловлено это тем, что оценка взаимодействия наноматериалов с живыми клетками может быть использована для выявления токсичных свойств наноматериалов, направленного изменения свойств клеток, визуализации клеточных органелл, высокоточной идентификации микроорганизмов и применения клеток в качестве трехмерных темплатов.

Микроскопия является одним из важнейших инструментов в биологических исследованиях. Так, оптическая микроскопия во всех ее многочисленных модификациях, совмещенная с цифровыми системами получения и сохранения изображений, дает возможность наблюдения за ходом эксперимента в реальном времени, позволяет визуализировать живые клетки, их взаимодействие, передвижение и активность ферментативных систем [13]. К сожалению, пределы разрешающей способности оптических микроскопов не позволяют получать изображения наноразмерных объектов. В связи с этим для изучения размеров

наноструктур, плотности и характера их распределения используются методы электронной и зондовой микроскопии. Техника сканирующей (или растровой) электронной микроскопии позволяет изучить поверхность клетки с высоким разрешением и визуализировать наноструктуры, взаимодействующие с поверхностными структурами клеток [14, 15]. Использование просвечивающей электронной микроскопии позволяет изучить тонкие срезы тканей и клеток, что дает исследователям возможность охарактеризовать распределение наночастиц не только на поверхности клеточных стенок и мембран, но и в цитоплазме. Более того, разрешающая способность просвечивающего электронного микроскопа позволяет определить точные размеры наночастиц [16, 17], а применение техник элементного анализа, основанного на рентгеновской дисперсионной спектроскопии [18, 19], обеспечивает получение информации о химическом составе наноструктур. Атомно-силовая микроскопия активно используется для исследования микроорганизмов, поскольку она совмещает высокое разрешение и несложную пробоподготовку [20]. В эксперименте с использованием атомно-силового микроскопа образцы клеток могут быть сканированы в щадящих, по сравнению с электронной микроскопией, условиях, что позволяет избежать исследования образца в вакууме, длительной фиксации или предварительного покрытия электронно-плотным материалом [21]. Атомно-силовая микроскопия позволяет наблюдать незначительные изменения на поверхности клеток, что особенно важно при изучении взаимодействия микроорганизмов и наноматериалов [22]. Наконец, это высокоинформативный метод, с помощью которого можно количественно охарактеризовать топографию поверхности исследуемого образца [23].

Инкапсуляция клеток в полимерные оболочки и микрокапсулы является актуальным направлением в современной биокolloидной химии и биотехнологии [24–26]. Применение микрокапсул позволяет обеспечить защиту клеток от агрессивной внешней среды, а сами микрокапсулы рассматриваются как прототипы микрореакторов и искусственных гибридных систем, содержащих клеточную основу-темплат и полимерную оболочку [27]. Ранее нами был разработан метод инкапсуляции живых клеток микроорганизмов в полимерные микрокапсулы, содержащие наночастицы благородных металлов [28]. Данный метод был успешно применен для спектроскопического изучения микромицетов методом поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии.

Изучение ультраструктуры клеток и характера распределения наночастиц на поверхности клеточных стенок является важным этапом при инкапсуляции микроорганизмов, и именно микроскопические методы позволяют подробно и всесторонне описать наномодифицированные клетки. В настоящей работе на примере наномодифицированных клеток дрожжей и конидий микромицетов *Trichoderma* мы даем сравнительную характеристику различных микроскопических методов, применяемых для изучения взаимодействия наночастиц и живых клеток. Нами были рассмотрены техники оптической микроскопии в проходящем и отраженном свете, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии.

1. Материалы и методы

1.1. Метод модификации клеток. Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и конидий *Trichoderma asperellum* были инкапсулированы в многослойные полимерные пленки, содержащие наночастицы, по методике, описанной в работе [28]. Суть метода заключается в том, что клетки были покрыты противоположно заряженными полиэлектролитами (поли(аллиламин) гидрохлоридом (ПАН) и поли(стирен) сульфонатом (PSS)) путем послойного нанесения, затем были обработаны металлическими (золотыми (nanoAu) или серебряными (nanoAg)) наночастицами, стабилизированными цитратом натрия. На последнем этапе на поверхность клеток наносили бислойную пленку ПАН/PSS для закрепления наночастиц и уменьшения агрегации клеток. Схема метода изображена на рис. 1. В результате была получена следующая архитектура покрытий клеток микромицетов: ПАН/PSS/ПАН/nanoAu (nanoAg)/ПАН/PSS.

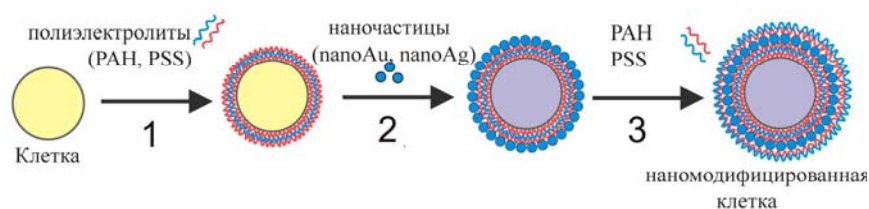


Рис. 1. Схема модификации клеточной стенки микромицетов. Этапы: 1 – обработка клеток полимерными полиэлектролитами; 2 – нанесение наночастиц; 3 – повторная обработка клеток полимерными полиэлектролитами.

1.2. Оптическая микроскопия. Образцы клеток, покрытые пленками полиэлектролитов и металлическими наночастицами, визуализировали при помощи оптического микроскопа Leica DM 1000 (Германия). Для микроскопии в проходящем свете 10–20 мкл суспензии клеток помещали на предметное стекло и покрывали покровным стеклом. Затем предметное стекло помещали на предметный столик микроскопа и получали изображение, используя объектив с увеличением $\times 100$, числовая апертура – 1.25. При работе с данным объективом использовалось иммерсионное масло.

При работе в режиме отраженного света 20 мкл суспензии модифицированных клеток наносили на поверхность подложек, изготовленных из фторида кальция, и высушивали на воздухе. Затем подложку помещали на предметный столик микроскопа и получали изображение, используя объектив с увеличением $\times 50$, числовая апертура – 0.6.

Типичные изображения клеток фиксировали при помощи цифровой видеокамеры Leica DFC 290 и программного обеспечения Leica.

1.3. Сканирующая электронная микроскопия. Для получения изображений модифицированных клеток с высоким разрешением использовали сканирующий электронный микроскоп Carl Zeiss Evo-40 (Германия). Образцы помещали в камеру электронного микроскопа и получали изображение при ускоряющем

напряжении электронного луча 10 кV. Таким образом были получены типичные изображения клеток при увеличении 20000–25000 раз.

Подготовка образцов заключалась в следующем: 5 мкл суспензии клеток наносили на обезжиренную поверхность покровного стекла и высушивали в термостате при 37 °С в течение ночи. Затем покровные стекла помещали в прибор для напыления (Baltec SCD 005) и на их поверхность наносили тонкий слой золота (~10 нм).

1.4. Просвечивающая электронная микроскопия. Изображения были получены на микроскопе Jeol 1200 EX (Япония) при ускоряющем напряжении электронного луча 80 кV.

Образцы готовили следующим образом: первоначально клетки фиксировали 2.5%-ным глутаровым альдегидом 1.5%-ным параформальдегидом в фосфатном буфере (0.1 М, рН 7.4) в течение 2 ч при комнатной температуре, а затем обрабатывали 1%-ным OsO₄ в течение 1 ч. После дегидратации образцы помещали в смолу Epon (PELCO Eponate 12 Kit, Prod. No. 18010). Затем с помощью ультрамикротомы Ultracut III (LKB, Швеция) получали ультратонкие срезы и устанавливали их на медную решетку, покрытую формваром. После этого срезы окрашивали 2%-ным водным раствором ацетата урана и цитрата свинца при комнатной температуре.

1.5. Атомно-силовая микроскопия. Эксперименты выполнялись на Зондовой НаноЛаборатории ИНТЕГРА Прима (NT-MDT, Россия), сканер 50 мкм с емкостными датчиками. Использовались кремниевые кантилеверы NSG03 и NSG20 с радиусом кривизны острия 10 нм. Сканирование проводилось в полу-контактном режиме.

Для подготовки образцов 10 мкл суспензии клеток наносили на обезжиренную поверхность покровного стекла и высушивали в термостате при 37 °С в течение 12 ч.

2. Результаты и их обсуждение

После модификации клеток пленками и наночастицами невооруженным глазом можно видеть изменение окраски обработанных наночастицами клеток дрожжей *S. cerevisiae* (рис. 2), что свидетельствует о включении наночастиц в полимерные пленки. Суспензия клеток, обработанных золотыми наночастицами, приобретает бледно-синюю окраску (рис. 2, б), а клетки, имеющие в своем составе серебряные наночастицы, имеют грязно-коричневый цвет (рис. 2, в). Конидии *T. asperellum* первоначально окрашены в темно-зеленый цвет, поэтому судить об изменении окраски до и после обработки наночастицами невозможно.

На оптических микрофотографиях просматриваются агрегаты металлических наночастиц в виде темных пятен на модифицированных клетках дрожжей и конидий (рис. 3). Особенно четко проявляется различие на оптических фотографиях конидий. Клетки, модифицированные пленками и наночастицами, приобретают темную окраску из-за большого количества агрегатов наночастиц (рис. 3, д, рис. 3, е). Таким образом, несмотря на то что отдельные наночастицы на поверхности клеток не могут быть визуализированы в результате использо-

вания оптической микроскопии проходящего света, можно сделать определенные выводы об их наличии по характеру изменения окраски клеток и формирования агрегатов на их поверхности.

Известно, что наночастицы благородных металлов обладают свойством эффективно рассеивать и отражать свет [29]. При высушивании на поверхности клеток образуются агрегаты наночастиц, которые способны отражать видимый свет. Благодаря этой способности, высушенные клетки микромицетов, покрытые пленками и наночастицами, приобретают металлический блеск (рис. 4) и могут быть эффективно визуализированы под объективом микроскопа отраженного света. Данное свойство может быть использовано при изучении клеток методом инфракрасной и рамановской микроскопии, представляющим собой комбинацию светового микроскопа отраженного света и соответствующего спектрометра [30]. Характерный металлический блеск модифицированных клеток позволяет эффективно локализовать и изучить как отдельные клетки, так и клеточные агрегаты.

Плотность и распределение металлических наночастиц на поверхности клеточной стенки микромицетов было изучено при помощи сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии. На рис. 5 представлены микрофотографии интактных и модифицированных пленками и наночастицами клеток микромицетов, полученных методом сканирующей электронной микроскопии. На поверхности модифицированных клеток четко видны агрегаты наночастиц, плотность которых меняется от клетки к клетке. Возможно, такое неравномерное распределение вызвано наличием специфических участков связывания металлических наночастиц на клеточной стенке грибов.

Для дальнейшего исследования распределения наночастиц на поверхности модифицированных клеток была использована просвечивающая электронная микроскопия, которая также показала адсорбцию как единичных наночастиц, так и их агрегатов на клеточной стенке инкапсулированных клеток (рис. 6). Как видно из изображений тонких срезов инкапсулированных клеток, наночастицы иммобилизованы на поверхности клеточной стенки, при этом не наблюдается проникновения наночастиц в цитоплазму. Мы предполагаем, что полиэлектролитные пленки предотвращают проникновение наночастиц и способствуют сохранению жизнеспособности клеток микромицетов в присутствии цитотоксичных металлических наночастиц.

Для детальной и количественной характеристики модифицированных клеток был применен метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). На рис. 7 показаны изображения поверхностей клеточных стенок, полученные при помощи АСМ. Для детального анализа наномодифицированных клеток также использовали трехмерные изображения микромицетов, профиль среза и топографию поверхности необработанных и инкапсулированных клеток дрожжей *S. cerevisiae* и конидий *T. asperellum*. На рисунках показано, что профиль интактных клеток относительно гладкий, поверхность ровная и однородная. После модификации клеток на поверхности четко видны наночастицы и их агрегаты. Независимо от типа используемых наночастиц профиль клеток меняется, приобретает зигзагообразный вид. Поверхность же становится неоднородной, более шероховатой.

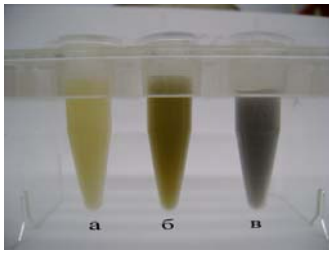


Рис. 2. Фотография суспензии клеток дрожжей: (а) интактных, (б) покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAg/PAH/PSS, (в) покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAu/PAH/PSS

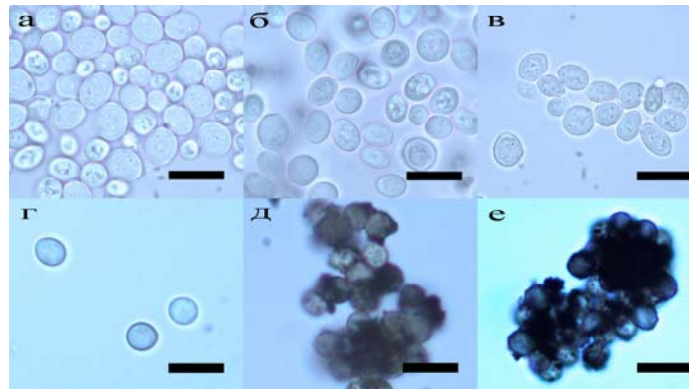


Рис. 3. Типичные оптические микрофотографии клеток микромицетов: интактных дрожжей (а) и конидий *T. asperellum* (г); дрожжей (б) и конидий *T. asperellum* (д), покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAu/PAH/PSS; дрожжей (в) и конидий *T. asperellum* (е), покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAg/PAH/PSS. Шкала размера – 10 мкм

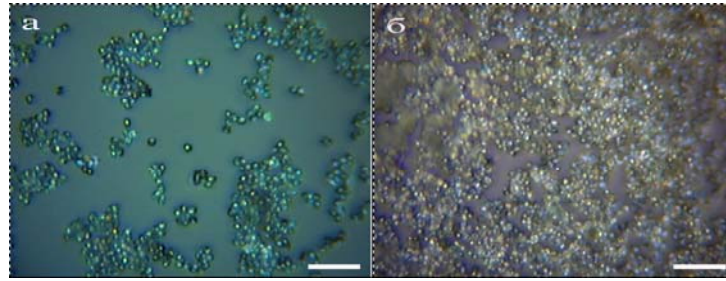


Рис. 4. Типичные микрофотографии микроскопии отраженного света клеток конидий *T. asperellum*, покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAu/PAH/PSS (а) и PAH/PSS/PAH/nanoAg/PAH/PSS (б). Шкала размера – 20 мкм

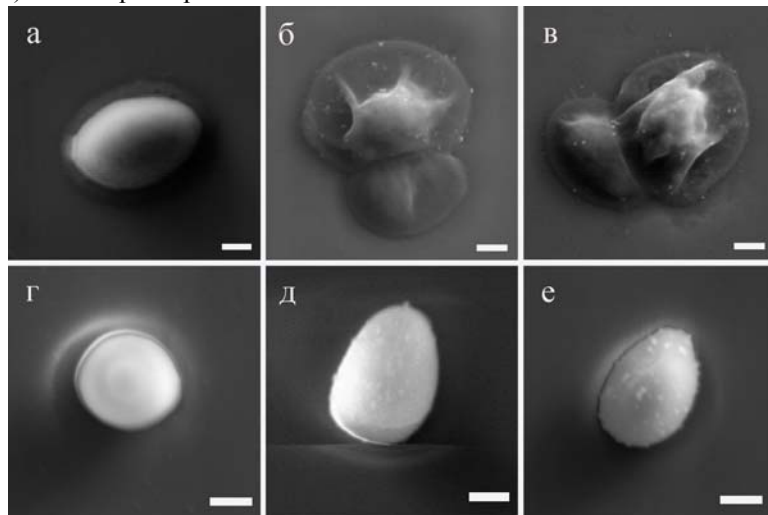


Рис. 5. Типичные изображения клеток микромицетов, полученных при помощи сканирующей электронной микроскопии: интактных дрожжей (а) и конидий *T. asperellum* (г); дрожжей (б) и конидий *T. asperellum* (д), покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAu/PAH/PSS; дрожжей (в) и конидий *T. asperellum* (е), покрытых PAH/PSS/PAH/nanoAg/PAH/PSS. Шкала размера – 1 мкм

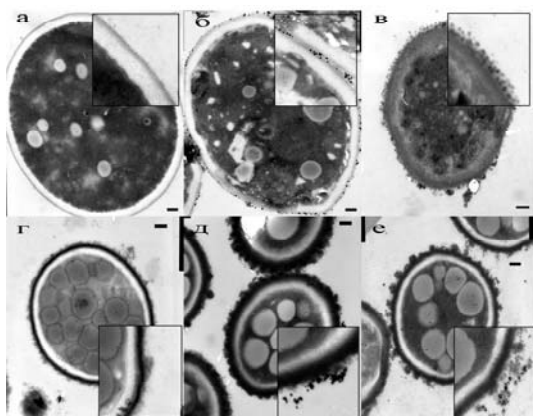


Рис. 6. Типичные изображения клеток микромицетов, полученных при помощи просвечивающей электронной микроскопии: intactных дрожжей (а) и конидий *T. asperellum* (в); дрожжей (б) и конидий *T. asperellum* (д), покрытых PAN/PSS/PAN/nanoAu/PAN/PSS; дрожжей (е) и конидий *T. asperellum* (е), покрытых PAN/PSS/PAN/nanoAg/PAN/PSS. Шкала размера – 20 нм

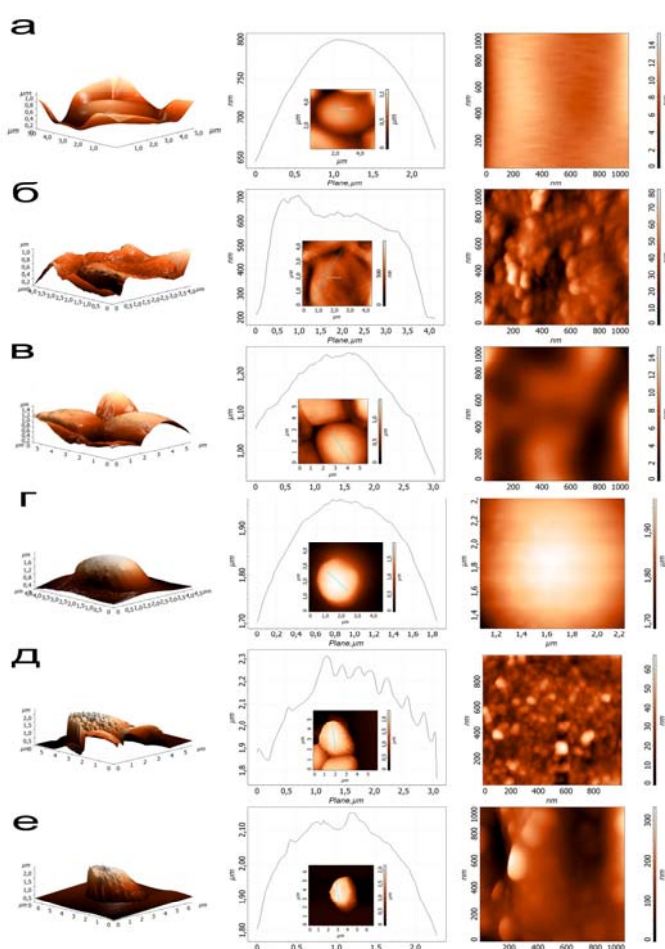


Рис. 7. Типичные АСМ-изображения клеток микромицетов: intactных дрожжей (а) и конидий *T. asperellum* (в); дрожжей (б) и конидий *T. asperellum* (д), покрытых PAN/PSS/PAN/nanoAu/PAN/PSS; дрожжей (е) и конидий *T. asperellum* (е), покрытых PAN/PSS/PAN/nanoAg/PAN/PSS. Слева направо: 3D-изображение, профиль клетки с изображением продольного сечения клетки для получения профиля, топография поверхности

Табл. 1

Значения параметра среднеквадратичной шероховатости поверхности клеток в зависимости от состава пленочных покрытий

Клетка	Значения параметра шероховатости (S_q) поверхности клеток, нм		
	интактная	ПАН/PSS/Au	ПАН/PSS/Ag
<i>S. cerevisiae</i>	1.6 ± 0.1	11.5 ± 0.3	2.3 ± 0.1
<i>T. asperellum</i>	3.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2	20.7 ± 0.3

В качестве количественной характеристики изменения топографии поверхности, обусловленного нанесением нанопленок и наночастиц, был использован параметр среднеквадратичной шероховатости поверхности клеток. Данные приведены в табл. 1.

После модификации поверхности клеток пленками и металлическими наночастицами ее шероховатость увеличивается во всех случаях. Было установлено, что для конидий *T. asperellum* шероховатость увеличивается в большей степени по сравнению с клетками дрожжей. Это может быть связано с изначально более неровной поверхностью конидий.

Таким образом, каждый из примененных методов позволяет определить наличие наночастиц на поверхности клеток, однако полная картина эффективности инкапсуляции, поверхностной структуры модифицированных клеток и характера распределения наночастиц может быть получена в результате применения комбинации методов оптической, электронной и зондовой микроскопии.

Заключение

Методы оптической микроскопии в проходящем и отраженном свете, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии были применены для характеристики клеток дрожжей *S. cerevisiae* и конидий *T. asperellum*, модифицированных полиэлектролитными пленками с включенными в их структуру металлическими наночастицами. Было показано, что золотые и серебряные наночастицы иммобилизованы на поверхности клеточной стенке клеток микромицетов, изменяя площадь и топографию поверхности.

Авторы выражают благодарность М.В. Морозову, А.Х. Гильмутдинову, Д.И. Тазетдиновой, В.В. Сальникову, А.П. Киясову и Kamelya Tatlidil (Камелия Татлидил) за помощь в работе.

Summary

A.I. Zamaleeva, F.K. Alimova, D.G. Ishmukhametova, R.F. Fakhrullin. Microscopic Methods for Characterizing the Nanomodified Fungi Cells.

Microscopy is the one of the main techniques to study the interaction of living cells with nanoparticles. This study demonstrates and evaluates the application of various microscopic methods to investigate the nanomodification of fungi cells *Saccharomyces cerevisiae* and *Trichoderma asperellum* with consecutive polyelectrolyte films and metal nanoparticles incorporated between these films. Transmitted and reflected light microscopy, transmission and

scanning electron microscopy and atomic-force microscopy were used and the results obtained are reported in this paper.

Key words: nanomodified fungi cells, optical microscopy, electron microscopy, atomic-force microscopy.

Литература

1. *Murray C.B., Kagan C.R., Bawendi M.G.* Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies // *Ann. Rev. Mat. Sci.* – 2000. – V. 30. – P. 545–610.
2. *Lee M.-J., Han S., Jeon S.H., et al.* Electrical manipulation of nanofilaments in transition-metal oxides for resistance-based memory // *Nano Lett.* – 2009. – V. 9, No 4. – P. 1476–1481.
3. *Schmid G., Chi L.F.* Metal clusters and colloids // *Adv. Mater.* – 1998. – V. 10. – P. 515–526.
4. *Mani V., Chikkaveeraiah B.V., Patel V., Gutkind J.S., Rusling J.F.* Ultrasensitive immunosensor for cancer biomarker proteins using goldnanoparticle film electrodes and multi-enzyme-particle amplification // *ACS Nano.* – 2009. – V. 3, No 3. – P. 585–594.
5. *Bottomley L.A., Poggi M.A., Shen S.* Impact of nano- and mesoscale particles on the performance of microcantilever-based sensors // *Anal. Chem.* – 2004. – V. 76, No 19. – P. 5685–5689.
6. *Gao X.H., Cui Y.Y., Levenson R.M., Chung L.W.K., Nie S.M.* In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots // *Nature Biotech.* – 2004. – V. 22. – P. 969–976.
7. *Park J.-H., Gu L., von Maltzahn G., Ruoslahti E., Bhatia S.N., Sailor M.J.* Biodegradable luminescent porous silicon nanoparticles for in vivo applications // *Nature Materials.* – 2009. – V. 8, No 4. – P. 331–336.
8. *Krol S., Nolte M., Diaspro A., Mazza D., Magrassi R., Gliozzi A., Fery A.* Encapsulated living cells on microstructured surfaces // *Langmuir.* – 2005. – V. 21. – P. 705–709.
9. *Berry V., Rangaswamy S., Saraf R.F.* Highly selective, electrically conductive monolayer of nanoparticles on live bacteria // *Nano Lett.* – 2004. – V. 4, No 5. – P. 939–942.
10. *Safarik I., Teixeira Rego L.F., Borovska M., Mosiniwicz-Szablewska E., Weyda F., Safarikova M.* New magnetically responsive yeast-based biosorbent for the efficient removal of water-soluble dyes // *Enzyme Microbial Technol.* – 2007. – V. 40. – P. 1551–1556.
11. *Aruoja V., Dubourguiera H.-C., Kasemetsa K., Kahru A.* Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* // *Sci. Total Envir.* – 2009. – V. 407, No 4. – P. 1461–1468.
12. *Asharani P.V., Kah Mun G.L., Hande M.P., Valiyaveetil S.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells // *ACS Nano.* – 2009. – V. 3, No 2. – P. 279–290.
13. *Davidson M.W., Abramowitz M.* Optical microscopy. – 1999. – URL <http://microscopy.fsu.edu>, свободный.
14. *Naja G., Hrapovic S., Male K., Bouvrette P., Luong J.H.T.* Rapid detection of microorganisms with nanoparticles and electron microscopy // *Micr. Res. Tech.* – 2008. – V. 71. – P. 742–748.
15. *Park J.S., Park K., Moon H.T., Woo D.G., Yang H.N., Park K.-H.* Electrical pulsed stimulation of surfaces homogeneously coated with gold nanoparticles to induce neurite outgrowth of PC12 cells // *Langmuir.* – 2009. – V. 25, No 1. – P. 451–457.

16. *Khlebtsov B.N., Khanadeev V.A., Khlebtsov N.G.* Determination of the size, concentration, and refractive index of silica nanoparticles from turbidity spectra // *Langmuir*. – 2008. – V. 24. – P. 8964–8970.
17. *Alloyeau D., Ricolleau C., Oikawa T., Langlois C., Le Bouar Y., Loiseau A.* Comparing electron tomography and HRTEM slicing methods as tools to measure the thickness of nanoparticles // *Ultramicroscopy*. – 2009. – V. 109, No 7. – P. 788–796.
18. *George P.P., Gedanken A.* Ta₂O₅ nanobars and their composites: synthesis and characterization // *J. Nanosci. Nanotech.* – V. 8, No 1. – P. 5801–5806.
19. *Kim J.-H., Bryan W.W., Lee T.R.* Preparation, characterization, and optical properties of gold, silver, and gold#silver alloy nanoshells having silica cores // *Langmuir*. – 2008. – V. 24, No 19. – P. 11147–11152.
20. *Bolshakova A.V., Kiselyova O.I., Filonova A.S., Frolova O.Yu., Lyubchenko Y.L., Yaminsky I.V.* Comparative studies of bacteria with an atomic force microscopy operating in different modes // *Ultramicroscopy*. – 2001. – V.86. – P. 121–128.
21. *Wang J., ShiYing H., LiNa X., Ning G.* Transmission electron microscopy and atomic force characterization of nickel deposition on bacterial cells // *Chinese Sci. Bull.* – 2007. – V. 52, No 21. – P. 2919–2924.
22. *Eaton P., Fernandes J.C., Pereira E., Pintado M.E., Malcata F.X.* Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* // *Ultramicroscopy*. – 2008. – V. 108. – P. 1128–1134.
23. *Zhao L.M., Schaefer D., Marten M.R.* Assessment of elasticity and topography of *Aspergillus nidulans* spores via atomic force microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71, No 2. – P. 955.
24. *Diaspro A., Silvano D., Krol S., Cavalleri O., Gliozzi A.* Single living cell encapsulation in nano-organized polyelectrolyte shells // *Langmuir*. – 2002. – V.18. – P.5047–5050.
25. *Krol S., Cavalleri O., Ramoio P., Gliozzi A., Diaspro A.* Encapsulated yeast cells inside *Paramecium primaurelia*: a model system for protection capability of polyelectrolyte shells // *J. Microscopy*. – 2003. – V. 212. – P. 239–243.
26. *Germain M., Balaguer P., Nicolas J.C., Lopez F., Esteve J.P., Sukhorukov G.B., Winterhalter M., Richard-Foy H., Fournier D.* Protection of mammalian cell used in biosensors by coating with a polyelectrolyte shell // *Biosens. Bioelectron.* – 2006. – V. 21. – P. 1566–1573.
27. *Moya S., Dähne L., Voigt A., Leporatti S., Donath E., Möhwald H.* Polyelectrolyte multilayer capsules templated on biological cells: core oxidation influences layer chemistry // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.* – 2001. – V. 183–185. – P. 27–40.
28. *Fakhrullin R.F., Zamaleeva A.I., Morozov M.V., Tazetdinova D.I., Alimova F.K., Hilmutdinov A.K., Zhdanov R.I., Kahraman M., Culha M.* Living fungi cells encapsulated in polyelectrolyte shells doped with metal nanoparticles // *Langmuir*. – 2009. – V. 25, No 8. – P. 4628–4634.
29. *El-Sayed I.H., Huang X., El-Sayed M.A.* Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer // *Nano Lett.* – 2005. – V. 5, No 5. – P. 829–834.
30. *Kahraman M., Yazıcı M., Süahin F., Culha M.* Convective assembly of bacteria for surface-enhanced raman scattering // *Langmuir*. – 2008. – V. 24. – P. 894–901.

Поступила в редакцию
11.05.09

Замалеева Алсу Ильгизовна – аспирант кафедры биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: *alsu130ksu@mail.ru*

Алимова Фарида Кашифовна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: *farida_alimova@hotmail.com*

Ишмухаметова Диляра Галимовна – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: *dilgal@yandex.ru*

Фахруллин Равиль Фаридович – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биохимии Казанского государственного университета

E-mail: *biosensor@bk.ru*