УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2020, Т. 162, кн. 4 ISSN 2542-064X (Print)
С. 557–572 ISSN 2500-218X (Online)

УДК 57.085.23 doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.557-572

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА МАГНИТНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ КОЛЛОИДНЫХ ЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ КЛЕТОК HeLa

И.Р. Ишмухаметов, Э.В. Рожина, Ф.С. Ахатова, В.Г. Евтюгин, А.О. Рожин, Р.Ф. Фахруллин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Использование методов наноархитектоники расширяет возможности применения наноматериалов, позволяет модифицировать клеточную поверхность и изменять химические и физические свойства клеток. В настоящей работе описано формирование покрытий из диоксида кремния, легированного магнитными наночастицами, на поверхности эукариотических клеток линии HeLa. Последующее разрушение покрытия и позволило получить его фрагменты с заданной геометрией внутренней поверхности. На следующих этапах элементы покрытия были использованы в качестве «коллоидных антител» для связывания с заданными типами клеток. Использование магнитных наночастиц в составе таких структур позволяет манипулировать клетками, связанными с фрагментами оболочек с использованием внешнего магнитного поля. Покрытие клеток HeLa производным кремниевой кислоты и магнитными наночастицами было выполнено с использованием процесса золь-гель. С использованием сканирующей электронной микроскопии установлено образование покрытия на клетках. Фрагменты оболочек, полученные после разрушения покрытий на клетках, культивировались с клетками HeLa и были исследованы посредством микроскопии светлого поля. Дополнительно структура покрытия и фрагментов оболочек визуализирована с помощью атомной силовой микроскопии. Установлено, что фрагменты, полученные после разрушения кремниевых оболочек, способны связываться с клетками. Кроме того, магнитные наночастицы, находящиеся в составе оболочек, позволили манипулировать ориентацией движения клеток.

Ключевые слова: наноархитектоника, магнитные наночастицы, инженерия клеточной поверхности, клеточная линия HeLa, инкапсуляция клеток

Введение

Наноматериалам уделяется большое внимание во многих областях, включая медицину, электронику, косметологию, сельскохозяйственную и пищевую промышленности [1, 2]. Активно исследуется возможность применения наноматериалов в качестве контейнеров для доставки лекарств: за счет малых размеров, они способны проникать сквозь защитные биологические барьеры [3]. Всестороннее изучение наноматериалов и поиск их новых функциональных возможностей позволили лучше понять физические принципы взаимодействия атомов и молекул, что привело к формированию отдельного направления науки – наноархитектоники [4].

Концепция наноархитектоники состоит из трех частей: создание отдельных наноматериалов, производство сложных наноструктур и применение полученных материалов в различных областях. Так, с использованием наночастиц, самоорганизующихся на поверхности клеток, возможно изменить их химические и физические свойства [5, 6]. Создание кремниевой оболочки на клетках млекопитающих, подобной клеточной стенке прокариот, позволило повысить устойчивость клеток к внешним условиям при исследованиях *in vitro* [7]. Кроме того, было показано, что фрагменты кремниевых оболочек, которыми были покрыты бактериальные клетки, обладают формой и размерами, позволяющими им выборочно связываться с клетками того же вида. Фрагменты покрытий, сохраняющие аналогичную геометрию внутренней поверхности с исходными клетками, выступают в качестве «коллоидных антител» и способны селективно связываться с микроорганизмами [8, 9]. Распознавание поверхности бактерий, основанное на морфологии клеток, также было продемонстрировано в биосенсорах на основе «отпечатков» поверхности микроорганизмов [10]. Взаимодействие по типу «ключ – замок» было использовано в небиологических коллоидных системах для программируемой самосборки коллоидных частиц в композитные кластеры [11]. В одной из работ для распознавания клеток было предложено использование биотехнологических импринтов с использованием моносахаридов [12].

На основе описанных работ по созданию фрагментов кремниевых оболочек, способных распознавать клетки микроорганизмов, был разработан метод создания коллоидных клеточных импринтов, селективно распознающих клетки человека [13]. С этой целью использовался диоксид кремния, связанный с нанотрубками галлуазита. Нанотрубки галлуазита – это природный глинистый наноматериал в виде трубок длиной 0.3–2 мкм, внешним диаметром 50–70 нм и диаметром полости 10–20 нм. Трубчатая морфология и особенная химическая структура делают нанотрубки галлуазита идеальным кандидатом в качестве наноконтейнера для веществ, компонента композитных материалов или подложек для тканевой инженерии [14, 15].

Однако, помимо нанотрубок галлуазита, в качестве дополнительного материала возможно использование других наночастиц. В частности, большой интерес представляют магнитные наночастицы. Магнитные наночастицы могут состоять из различных металлов (Fe, Co, Ni) или их оксидов. Однако в биомедицине преимущественно используются магнитные наночастицы оксида железа (МНЧ), обладающие высокой коллоидной стабильностью и суперпарамагнитными свойствами. Высокий уровень биосовместимости и возможность манипуляции ими с помощью внешнего магнитного поля позволяют использовать их в клеточной терапии, тканевой инженерии и в прочих областях [16, 17].

В настоящей работе исследовались свойства фрагментов неорганических оболочек («импринтов») на основе диоксида кремния, легированных магнитными наночастицами оксида железа, в частности их способность к связыванию с клетками с заданной морфологией. Первоначально на поверхности клеток были сформированы покрытия на основе производных кремниевой кислоты и магнитных наночастиц, которые в последующем разрушались ультразвуком. Затем для полного удаления биологического материала фрагменты были химически обработаны. Полученные элементы неорганического покрытия были в дальнейшем исполь-

зованы для селективного распознавания клеток линии карциномы шейки матки HeLa, служивших шаблоном при формировании покрытий.

1. Материалы и методы

1.1. Материалы и реагенты. Тетраэтоксисилан (ТЭС; 99.9%), поли(акриламид-со-диаллилдиметиламмоний хлорид) (П(АА-со-ДАДМАХ)) 10%-ный водный раствор, полиаллиламин гидрохлорид (ПААГ, средняя молекулярная масса 15 кДа), хлорид железа(II) 4-водный ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$) и хлорид железа(III) ($FeCl_3$) получены от Sigma-Aldrich (США). Во всех экспериментах использовалась деионизированная вода (удельное сопротивление 18 МОм·см при 25 °C).

1.2. Культивирование клеток млекопитающих. Для работы использовалась клеточная линия карциномы шейки матки человека HeLa CCL-2, полученная из Американской коллекции типовых культур (ATCC, США). Культивация клеток проводилась в соответствии с протоколом, полученным из ATCC. Клетки культивировались в питательной среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко (ДМЕМ; Панэко, Россия), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Invitrogen, США), 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 4 мМ L-глутамина, при 37 °C в атмосфере с 5% CO_2. Определение размера и концентрации клеток осуществлялось с использованием слайдового цитометра Tali (Invitrogen, США).

1.3. Синтез и характеристика магнитных наночастиц. Магнитные наночастицы синтезировали методом химического осаждения из смешанного раствора солей двух- и трехвалентного железа [18]. В круглодонную колбу объемом 50 мл добавляли 1.2 мл водного раствора $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ и $FeCl_3$ в молярном соотношении 1:2. При постоянном перемешивании при 500 об./мин смесь нагревали до 90 °C. Затем по каплям добавляли 10 мл водного раствора 0.1 М NaOH, в результате чего получался раствор темно-коричневого цвета с осадком в виде оксида железа. Раствор продолжали перемешивать в течение 30 мин при 25 °C. Полученный осадок отделяли с помощью магнита и промывали водой 5 раз. Концентрацию коллоидного раствора магнитных наночастиц определяли гравиметрическим методом, она составила 15.6 мг/мл. Для стабилизации МНЧ использовали поликатион – полиаллиламин гидрохлорид (ПААГ). Для этого 1 мл МНЧ помещали в 10 мл раствора ПААГ (5 мг/мл). Затем отмывали частицы водой (10000 об./мин, 30 мин). Гидродинамический диаметр и дзета-потенциал наночастиц измеряли с помощью ZetaSizer Malvern Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Великобритания). Морфология МНЧ была исследована с использованием просвечивающего электронного микроскопа Hitachi HT7700 Exalens (ПЭМ; Hitachi, Япония). Темнопольные изображения магнитных наночастиц были получены с помощью микроскопа Olympus BX51, с присоединенным к нему конденсором CytoViva® (CytoViva, Inc., США), оснащенного флюоритным 100x объективом и ПЗС-камерой Dage xL (Dage-MTI, США). На базе микроскопа Olympus BX51 и программного обеспечения ENVI 4.8 HSI (Harris Geospatial, США) был также получен спектр отраженного света единичной магнитной частицы.

1.4. Создание неорганических «отпечатков» с использованием клеток HeLa. Для создания неорганических оболочек из оксида кремния на клетках HeLa использовался метод золь-гель [9]. Клетки трипсинизировали и в количестве 10^6 кл./мл смешивали с 1%-ным раствором (П(АА-со-ДАДМАХ)). После 10 мин инкубации клеток с раствором поликатиона клетки дважды промывали фосфатно-солевым буфером (Панэко, Россия). Далее на предварительно покрытых полимером клетках была сформирована тонкая кремниевая пленка. Для получения кремниевой оболочки на клетках был использован тетраэтоксисилан [19]. Рабочий раствор готовили, смешивая 1 часть ТЭС с 0.01 частью 1 мМ HCl и 1 частью H_2O, как описано ранее [20], pH полученного раствора доводили до 7.4 [21]. После перемешивания раствор оставляли на 20 мин при комнатной температуре. Дополнительно к раствору добавляли магнитные наночастицы до конечной концентрации 2.5 мг/мл. Далее производное кремниевой кислоты смешивали с клетками в среде ДМЕМ (без добавления эмбриональной бычьей сыворотки) в соотношении 1:50. После 10 мин перемешивания на ротаторе клетки промывали 5 раз деионизированной водой и осадок высушивали в течение 12 ч при 105 °C. Высушенные клетки, покрытые SiO_2@МНЧ-ПААГ, были собраны при помощи скребка, разведены в воде и раздроблены с использованием ультразвуковой ванны в течение 6–8 мин. С целью удаления остатков клеток с оболочек фрагменты центрифугировали при 4500 об./мин, отбирали надосадок и добавляли к фрагментам 10 мл раствора «пиранья» (HNO_3 и HCl в соотношении 3:1). Спустя 30 мин фрагменты центрифугировали и промывали три раза деионизированной водой.

Дополнительно, с целью определения магнитной восприимчивости клеток, покрытых SiO_2@МНЧ-ПААГ, они были помещены под воздействие постоянного магнитного поля. Характер поведения клеток был проанализирован с использованием светового микроскопа Axio Imager Z2 и цифровой камеры.

1.5. Распознавание клеток. Селективное распознавание клеток HeLa фрагментами оболочек было визуализировано с помощью микроскопии светлого поля (Axio Imager Z2; Carl Zeiss, Германия). Для визуализации распознавания фрагменты оболочек, полученные из одного миллиона клеток, были помещены в 1 мл среды ДМЕМ, содержащей 1 млн клеток HeLa, и инкубировались в течение 30 мин. Специфичность связывания фрагментов с эукариотическими клетками исследована посредством добавления полученных фрагментов в питательную среду, содержащую 1 млн клеток HeLa и клетки *Escherichia coli*. Ядра клеток HeLa были предварительно окрашены красителем 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (ДАФИ) в соответствии со стандартным протоколом.

1.6. Характеристика покрытия клеток. Визуализация образцов клеток, покрытых диоксидом кремния и магнитными наночастицами, выполнена методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа Hitachi SU8000 (Hitachi, Япония). В процессе пробоподготовки образцов для СЭМ клетки, покрытые оболочкой, предварительно фиксировали в 2.5%-ном растворе глутарового альдегида в течение 1 ч и обезвоживали в этиловом спирте

восходящей концентрации (30%, 60%, 70%, 80%, 100%). Далее образцы были покрыты сверхтонкой пленкой золота посредством вакуумного напыления [22].

Дополнительно морфология клеток HeLa, покрытых комплексом SiO_2@МНЧ-ПААГ, морфология фрагментов после их разрушения, а также морфология клеток, связанных с образовавшимися фрагментами, были исследованы с помощью атомной силовой микроскопии (АСМ). Предварительно образцы фиксировались в глутаровом альдегиде (2.5%-ном) в течение 1 ч, отмывались фосфатно-солевым буфером и дистиллированной водой, а затем высушивались при комнатной температуре. АСМ-изображения образцов были получены с помощью микроскопа Dimension Icon (Bruker, США). Сканирование производилось в режиме PeakForce Tapping с использованием зондов ScanAsyst-Air (Bruker) (номинальная длина 115 мкм, наконечник радиусом 2 нм, жесткость пружины 0.4 $Н \cdot м^{-1}$). Для получения качественных изображений топографии и наномеханических характеристик выставлялись оптимальные параметры сканирования, сила сканирования составляла 1–2 нН при скорости сканирования 0.8–0.9 Гц и разрешении 512–1024 линий на скан. Полученные файлы были обработаны в программе Nanoscope Analysis v.1.7 (Bruker).

2. Результаты и их обсуждение

В настоящей работе исследовалась возможность создания фрагментов «отпечатков» клеток на основе диоксида кремния, легированного магнитными наночастицами, способными выборочно связываться с клетками линии HeLa. Методика получения «отпечатков» клеток была разработана в соответствии с положениями наноархитектоники и схематично показана на рис. 1 [23]. Для создания кремниевых оболочек на клетках использован процесс золь-гель с последующим разрушением оболочек ультразвуком. Освобождение частиц оболочек от клеток было осуществлено с помощью раствора «пиранья». Полученные фрагменты, обладающие сродством к клеточной поверхности, были использованы для селективного прикрепления к клеткам HeLa.

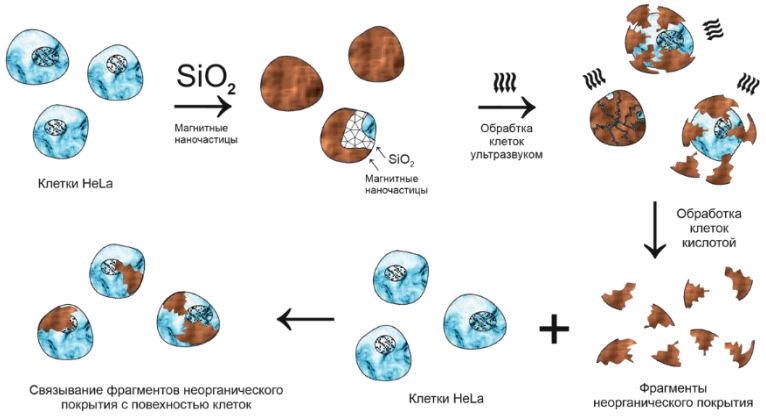

Рис. 1. Схема формирования неорганического покрытия на клетках млекопитающих и последующее получение фрагментов такого покрытия для распознавания клеток исходного типа

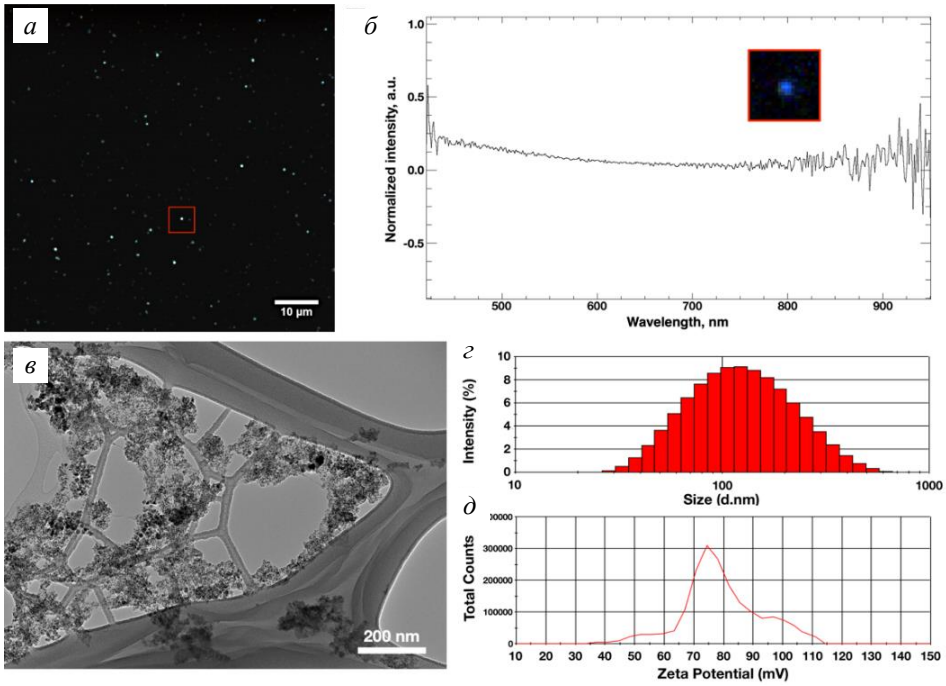

Рис. 2. Темнопольное изображение коллоидных магнитных наночастиц, стабилизированных ПААГ (*а*) и спектральный профиль единичной магнитной частицы (*б*). Микрофотография магнитных наночастиц, стабилизированных ПААГ, полученная на просвечивающем электронном микроскопе (*в*). Гидродинамический размер (*г*) и дзета-потенциал (*д*) магнитных наночастиц, стабилизированных ПААГ

Одной из задач настоящего исследования были синтез и характеристика магнитных наночастиц оксида железа. МНЧ были получены методом химического осаждения солей железа. Применение данного метода обусловлено возможностью быстрого синтеза монодисперсных наночастиц. Далее была проведена стабилизация МНЧ поликатионом ПААГ для изменения заряда частиц и повышения уровня коллоидной стабильности раствора. Визуализация морфологии МНЧ-ПААГ была осуществлена с использованием темнопольной и просвечивающей электронной микроскопии. На основании данных микроскопии темного поля были получены сферические частицы, спектральный профиль которых обладает выраженными пиками интенсивности в инфракрасном диапазоне (рис. 2, *а*, *б*). По результатам просвечивающей электронной микроскопии установлено, что МНЧ-ПААГ имеют диаметр менее 100 нм и квазисферическую морфологию (рис. 2, *в*).

Гидродинамический диаметр и дзета-потенциал частиц до и после стабилизации поликатионом были получены методами динамического светорассеяния и лазерной велосиметрии Доплера. Согласно полученным данным, график гидродинамического диаметра синтезированных магнитных наночастиц имеет симметричное распределение в пределах значений от 30 до 500 нм, причем значения по оси *X* приведены в логарифмическом масштабе для их более удобного считывания (рис. 2, *г*). Симметричное распределение графика обусловливает равенство значений мер центральной тенденции (медианы, моды и среднего арифметического диаметра частиц) и равно 110.1 ± 1.6 нм. Для характеристики гомогенности

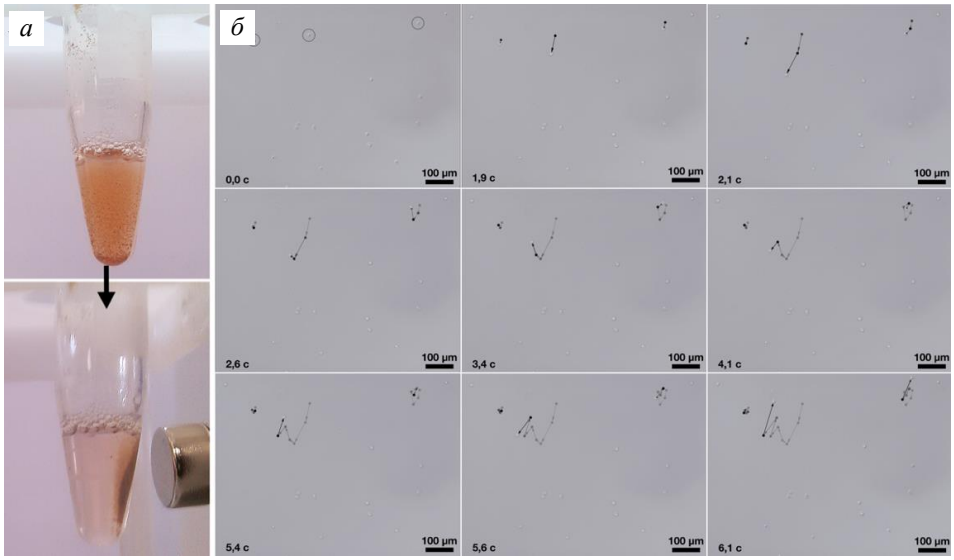

Рис. 3. Воздействие внешнего магнитного поля на смещение клеток HeLa с покрытием на основе SiO_2 и магнитных наночастиц в сторону установленного магнита (*а*) и траектория движения инкапсулированных клеток во внешнем магнитном поле (*б*). Кругом отмечены клетки с отслеживаемой траекторией движения. Стрелками показано смещение позиции клеток в определенный момент времени

коллоидного раствора частиц использовался индекс полидисперсности (PDI). Как правило, PDI ≤ 0.1 указывает на строгую монодисперсность системы, значения PDI, равные 0.1–0.4, характеризуют умеренно дисперсную систему, PDI > 0.4 свидетельствует о высоком уровне полидисперсности раствора [24]. По результатам анализа PDI магнитных наночастиц без покрытия составил 0.206 ± 0.013, в то время как PDI наночастиц с полиэлектролитом равен 0.313 ± 0.029, что является приемлемым показателем для раствора наночастиц, полученных методом химического осаждения [25, 26]. Дзета-потенциал МНЧ-ПААГ составил 79.1 ± 1.2 мВ (рис. 2, *д*). Больший, относительно данных с ПЭМ, размер частиц обусловлен наличием стабилизирующего покрытия в виде ПААГ и гидратационного слоя растворителя, влияющих на результаты измерений. Это подтверждается также и тем, что гидродинамический диаметр и дзета-потенциал МНЧ без стабилизирующего слоя составили ≈ 80 нм и ≈ –50 мВ соответственно.

Для получения фрагментов кремниевых оболочек были использованы раковые клетки линии HeLa. На первых этапах клетки были покрыты поликатионом П(АА-со-ДАДМАХ) для изменения внешнего заряда клеток с отрицательного на положительный. Затем функционализированные поликатионом клетки были помещены в раствор с производными кремниевой кислоты и МНЧ-ПААГ. Помимо этого были сформированы покрытия для клеток, состоящие только из диоксида кремния. Способность клеток, покрытых SiO_2@МНЧ-ПААГ, направленно перемещаться в сторону магнита после трехкратной отмывки фосфатно-солевым буфером клеток, была показана с помощью снимков с цифровой камеры (рис. 3, *а*). В дополнение к этому на серии изображений, полученных с оптического микроскопа, видно, что клетки имеют схожую траекторию движения при воздействии на них внешнего магнитного поля (рис. 3, *б*).

С применением сканирующей электронной микроскопии была визуализирована морфология клеток HeLa, покрытых SiO_2 и SiO_2@МНЧ-ПААГ (рис. 4, *а*, *б*). Как видно на снимках, клетки, обладающие сферической формой, полностью покрыты диоксидом кремния. На образце клеток, покрытых SiO_2@МНЧ-ПААГ видны светлые области, представляющие собой скопления магнитных наночастиц.

Далее была проанализирована способность фрагментов неорганических оболочек связываться с заданным типом клеток, основываясь на внутренней геометрии полученного отпечатка. Для этого с помощью обработки ультразвуком первоначально было произведено разрушение покрытия на клетках. Затем клетки, связанные с фрагментами оболочек, были химически удалены с помощью раствора «пиранья». Полученные фрагменты, после промывания дистиллированной водой и высушивания, были добавлены к суспензии исходных клеток HeLa и помещены на ротатор, где инкубировались в течение 30 мин. С использованием микроскопии светлого поля визуализированы комплексы фрагментов и клеток (рис. 4, *в*, *д*). На обоих образцах идентифицированы клеточные комплексы с фрагментами неорганических оболочек, свидетельствующие об успешном связывании неорганических частиц с клетками.

Анализ фрагментов после разрушения ультразвуком с использованием АСМ показал, что их размеры могут варьировать от 40 до 1000 нм и может осуществляться связывание полученных фрагментов с живыми объектами различного размера. Нами дополнительно исследована специфичность связывания эукариотических клеток с фрагментами оболочек при добавлении в питательную среду бактериальных клеток *E. coli*. С использованием слайдового цитометра был определен средний диаметр клеток HeLa, находящихся в суспензии, который составил 12–15 мкм, что соответствует известным данным о размере единичных клеток [27–29] и превышает средний размер бактериальных клеток в 6 раз. Сильная полидисперсность фрагментов оболочек могла привести к связыванию как с бактериальными, так и с эукариотическими клетками. Однако анализ суспензии показал, что в заданных условиях фрагменты связывались только с клетками HeLa (рис. 4, *д*).

Визуализация образцов при помощи АСМ позволила детально исследовать топографию поверхности клеток HeLa до и после покрытия SiO_2@МНЧ-ПААГ, а также после связывания «отпечатков» с клетками (рис. 5, *а*, *г*, *ж*). Индивидуальная клетка HeLa обладает округлой веретеновидной морфологией с отчетливо выраженными ламеллоподиями и низкой адгезией поверхности (рис. 5, *а*, *б*, *в*). Сопоставление размеров клетки до и после покрытия позволяет судить о том, что были инкапсулированы единичные клетки (рис. 5, *г*). Кроме того, на поверхности данной структуры хорошо просматриваются магнитные наночастицы (рис. 5, *д*, *е*). Было также показано прикрепление «отпечатков» на клетку HeLa (рис. 5, *ж*, *з*). Примечательно, что данные «отпечатки» имеют схожую с интактным покрытием адгезию поверхности (рис. 5, *и*).

Полученные данные указывают на то, что предложенная методология в перспективе может быть использована для сепарации заданной клеточной культуры из гетерогенной популяции клеток, подобно методу иммуномагнитной сепарации, или для терапии онкозаболеваний. Фрагменты кремниевых оболочек, имеющие в своем составе магнитные наночастицы и способные связываться лишь с раковыми клетками, могут использоваться, вероятно, для таргетированной гипертермии.

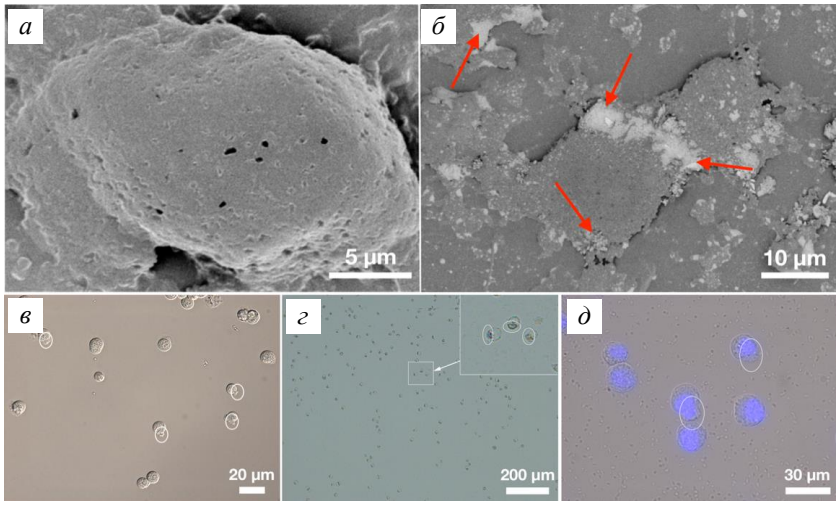

Рис. 4. Микрофотографии эукариотических клеток HeLa с покрытием из SiO_2 (*а*) и с покрытием из SiO_2@МНЧ-ПААГ (*б*), полученные с помощью СЭМ; клетки HeLa, связанные с фрагментами оболочек на основе SiO_2 (*в*) и SiO_2@МНЧ-ПААГ (*г*); селективно связанные с фрагментами клетки HeLa в суспензии с клетками *E. coli* (*д*). Красными стрелками указаны магнитные наночастицы; белыми кругами отмечены фрагменты на клетках. Ядра клеток окрашены ДАФИ

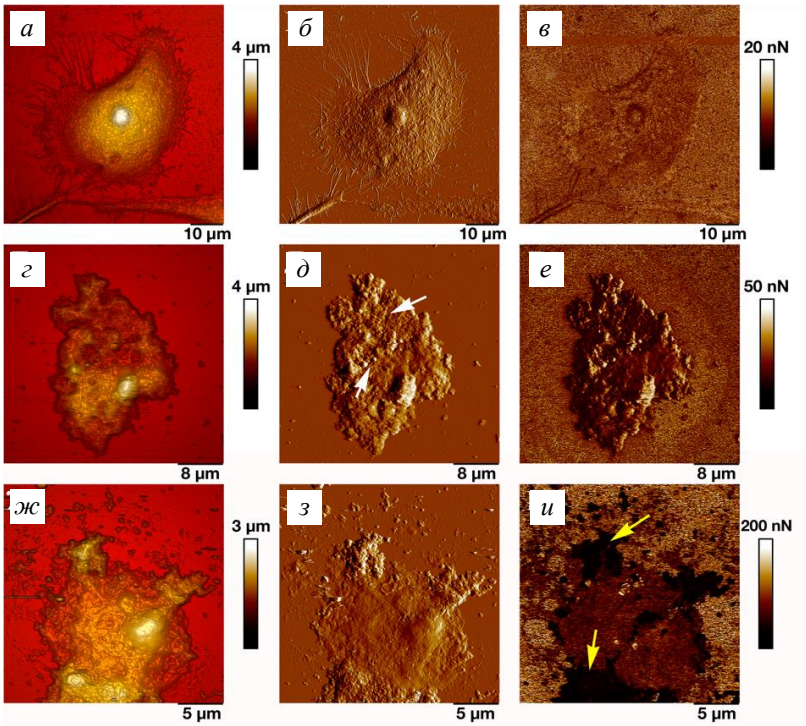

Рис. 5. АСМ-визуализация клеточной линии HeLa: контрольные клетки (*а–в*); клетки, покрытые силикатной оболочкой с добавлением магнитных наночастиц (*г–е*); адгезия фрагментов оболочек на поверхности клеток (*ж–и*). *а, г, ж* – топография поверхности в канале Height Sensor; *б, д, з* – топография поверхности в канале Peak Force Error; *в, е, и* – адгезия поверхности в канале Adhesion. Белыми стрелками показаны магнитные наночастицы; желтыми стрелками показаны прикрепленные фрагменты оболочек

Заключение

Распознавание клеток активно исследуется в области целевой доставки лекарств, и особенно в области онкологии [12]. Клеточное распознавание необходимо также в сортировке клеток и диагностике заболеваний: для сепарации раковых клеток от нераковых, а также для разделения разных видов раковых клеток между собой [30, 31]. Получены нанокомпозитные фрагменты, обладающие способностью связывания с клетками тех же формы и размера для изоляции последних из гетерогенной клеточной популяции. Легирование оболочек из кремния магнитными наночастицами позволило осуществить направленное перемещение клеток, связанных с фрагментами таких оболочек, с применением постоянного магнита.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров, а также при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-44-160001, проекта РФФИ № 18-34-00306 и молодежного гранта РТ № 05-129-ш Г/2020.

Часть микроизображений получена в лаборатории просвечивающей электронной микроскопии МДЦ АМ КФУ. Микроизображения, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии, получены в рамках программы краткосрочных научных и образовательных стажировок в области электронной микроскопии углеродных материалов в Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (оператор И.В. Чистяков).

Литература

1. *Contado C.* Nanomaterials in consumer products: A challenging analytical problem // Front. Chem. – 2015. – V. 3. – Art. 48, P. 1–20. – doi: 10.3389/fchem.2015.00048.
2. *Rozhina E., Batasheva S., Danilushkina A., Kryuchkova M., Gomzikova M., Cherednichenko Y., Nigamatzyanova L., Akhatova F., Fakhrullin R.* Kaolin alleviates the toxicity of graphene oxide for mammalian cells // Med. Chem. Commun. – 2019. – V. 10, No 8. – P. 1457–1464. – doi: 10.1039/c8md00633d.
3. *Torchilin V.P.* Multifunctional nanocarriers // Adv. Drug. Delivery Rev. – 2006. – V. 58, No 14. – P. 1532–1555. – doi: 10.1016/j.addr.2006.09.009.
4. *Ariga K., Ji Q., Nakanishi W., Hill J.P., Aono M.* Nanoarchitectonics: A new materials horizon for nanotechnology // Mater. Horiz. – 2015. – V. 2. – P. 406–413. – doi: 10.1039/C5MH00012B.
5. *Wang Z., Xia J., Yan Y., Tsai A.C., Li Y., Ma T., Guan J.* Facile functionalization and assembly of live cells with microcontact-printed polymeric biomaterials // Acta Biomater. – 2015. – V. 11. – P. 80–87. – doi: 10.1016/j.actbio.2014.10.006.
6. *Guryanov I., Naumenko E., Konnova S., Lagarkova M., Kiselev S., Fakhrullin R.* Spatial manipulation of magnetically-responsive nanoparticle engineered human neuronal progenitor cells // Nanomedicine: NBM. – 2019. – V. 20. – Art. 102038, P. 1–12. – doi: 10.1016/j.nano.2019.102038.

7. *Park J.H., Hong D., Lee J., Choi I.S.* Cell-in-shell hybrids: Chemical nanoencapsulation of individual cells // Acc. Chem. Res. – 2016. – V. 49, No 5. – P. 792–800. – doi: 10.1021/acs.accounts.6b00087.
8. *Borovička J., Metheringham W.J., Madden L.A., Walton C.D., Stoyanov S.D., Paunov V.N.* Photothermal colloid antibodies for shape-selective recognition and killing of microorganisms // J. Am. Chem. Soc. – 2013. – V. 135, No 14. – P. 5282–5285. – doi: 10.1021/ja400781f.
9. *Borovička J., Stoyanov S.D., Paunov V.N.* Shape recognition of microbial cells by colloidal cell imprints // Nanoscale. – 2013. – V. 5, No 18. – P. 8560–8568. – doi: 10.1039/c3nr01893h.
10. *Dickert F.L., Hayden O.* Bioimprinting of polymers and sol−gel phases. Selective detection of yeasts with imprinted polymers // Anal. Chem. – 2002. – V. 74, No 6. – P. 1302–1306. – doi: 10.1021/ac010642k.
11. *Harvey S.D., Mong G.M., Ozanich R.M., McLean J.S., Goodwin S.M., Valentine N.B., Fredrickson J.K.* Preparation and evaluation of spore-specific affinity-augmented bioimprinted beads // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – V. 386, No 2. – P. 211–219. – doi: 10.1007/s00216-006-0622-z.
12. *Wang S., Wen Y., Wang Y., Ma Y., Liu Z.* Pattern recognition of cells via multiplexed imaging with monosaccharide-imprinted quantum dots // Anal. Chem. – 2017. – V. 89, No 10. – P. 5646–5652. – doi: 10.1021/acs.analchem.7b00965.
13. *Rozhina E., Ishmukhametov I., Batasheva S., Akhatova F., Fakhrullin R.* Nanoarchitectonics meets cell surface engineering: Shape recognition of human cells by halloysite-doped silica cell imprints // Beilstein J. Nanotechnol. – 2019. – V. 10. – P. 1818–1825. – doi: 10.3762/bjnano.10.176.
14. *Suner S.S., Demirci S., Yetiskin B., Fakhrullin R., Naumenko E., Okay O., Ayyala R.S., Sahiner N.* Cryogel composites based on hyaluronic acid and halloysite nanotubes as scaffold for tissue engineering // Int. J. Biol. Macromol. – 2019. – V. 130. – P. 627–635. – doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.025.
15. *Yendluri R., Lvov Y., de Villiers M.M., Vinokurov V., Naumenko E., Tarasova E., Fakhrullin R.* Paclitaxel encapsulated in halloysite clay nanotubes for intestinal and intracellular delivery // J. Pharm. Sci. – 2017. – V. 106, No 10. – P. 3131–3139. – doi: 10.1016/j.xphs.2017.05.034.
16. *Akbarzadeh A., Samiei M., Davaran S.* Magnetic nanoparticles: Preparation, physical properties, and applications in biomedicine // Nanoscale Res. Lett. – 2012. – V. 7, No 144. – doi: 10.1186/1556-276X-7-144.
17. *Dzamukova M.R., Naumenko E.A., Rozhina E.V., Trifonov A.A., Fakhrullin R.F.* Cell surface engineering with polyelectrolyte-stabilized magnetic nanoparticles: A facile approach for fabrication of artificial multicellular tissue-mimicking clusters // Nano Res. – 2015. – V. 8, No 8. – P. 2515–2532. – doi: 10.1007/s12274-015-0759-1.
18. *German S.V., Inozemtseva O.A., Markin A.V., Metwalli H., Khomutov G.B., Gorin D.A.* Synthesis of magnetite hydrosols in inert atmosphere // Colloid J. – 2013. – V. 75, No 4. – P. 483–486. – doi: 10.1134/S1061933X13040042.
19. *Park J.H., Choi I.S., Yang S.H.* Peptide-catalyzed, bioinspired silicification for single-cell encapsulation in the imidazole-buffered system // Chem. Commun. – 2015. – V. 51, No 25. – P. 5523–5525. – doi: 10.1039/C4CC08544B.
20. *Ramanathan K., Kamalasanan M., Malhotra B., Pradhan D.R., Chandra S.* Immobilization and characterization of lactate dehydrogenase on TEOS derived sol-gel films // J. Sol-Gel Sci. Technol. – 1997. – V. 10, No 3. – P. 309–316. – doi: 10.1023/A:1018329518938.

21. *Park J.H., Lee J., Yang S.H.* Bioinspired fabrication of silica thin films on histidine-terminated self-assembled monolayers // Bull. Korean Chem. Soc. – 2015. – V. 35, No 11. – P. 3336–3338. – doi: 10.5012/bkcs.2014.35.11.3336.

22. *Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Медведева С.А., Тьков А.В., Феоктистова Л.П., Сапожников А.Н., Вакульская Т.И., Тирский В.В., Семенов А.Л., Мартынович Е.Ф.* Синтез наноразмерных частиц с магнитными свойствами для биомедицинских целей // Физическая мезомеханика. – 2004. – Т. 7, № Спец2. – С. 139–142.

23. *Komiyama M., Mori T., Ariga K.* Molecular imprinting: materials nanoarchitectonics with molecular information // Bull. Chem. Soc. Jpn. – 2018. – V. 91, No 7. – P. 1075–1111. – doi: 10.1246/bcsj.20180084.

24. *Bhattacharjee S.* DLS and zeta potential – What they are and what they are not? // J. Controllled Release. – 2016. – V. 235. – P. 337–351. – doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

25. *Baalousha M., Lead J.R.* Rationalizing nanomaterial sizes measured by atomic force microscopy, flow field-flow fractionation, and dynamic light scattering: Sample preparation, polydispersity, and particle structure // Environ. Sci. Technol. – 2012. – V. 46, No 11. – P. 6134–6142. – doi: 10.1021/es301167x.

26. *Peternele W.S., Fuentes V.M., Fascineli M.L., Silva J.R., Silva R.C., Lucci C.M., Azevedo R.B.* Experimental investigation of the coprecipitation method: An approach to obtain magnetite and maghemite nanoparticles with improved properties // J. Nanomater. – 2014. – V. 2014. – Art. 682985, P. 1–10. – doi: 10.1155/2014/682985.

27. *Вайнер О.Б., Запорожченко И.А., Романов С.И., Миронов С.Г., Пышный Д.В., Пышная И.А., Дмитриенко Е.В., Лактионов П.П.* Использование микроканальных кремниевых матриц для размер-селективной сепарации клеток // Вест. НГУ. Сер. Биология, клин. мед. – 2010. – Т. 8, Вып. 2. – С. 5–12.

28. *Deman J.J., Vakaet L.C., Bruyneel E.A.* Cell size and mutual cell adhesion // J. Membrain Biol. – 1976. – V. 26. – P. 189–204. – doi: 10.1007/BF01868873.

29. *Tsai S., Wang M.* 24 h observation of a single HeLa cell by impedance measurement and numerical modeling // Sens. Actuators, B. – 2016. – V. 229. – P. 225–231. – doi: 10.1016/j.snb.2016.01.107.

30. *Scott A.M., Wolchok J.D., Old L.J.* Antibody therapy of cancer // Nat. Rev. Cancer. – 2012. – V. 12, No 4. – P. 278–287. – doi: 10.1038/nrc3236.

31. *Gao X., Cui Y., Levenson R.M., Chung L.W., Nie S.* In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots // Nat. Biotechnol. – 2004. – V. 22, No 8. – P. 969–976. – doi: 10.1038/nbt994.

Поступила в редакцию
11.03.2020

Ишмухаметов Ильнур Ринатович, студент-магистр кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии, лаборант-исследователь НИЛ OpenLab «Бионанотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *irishmukhametov@gmail.com*

Рожина Эльвира Вячеславовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ OpenLab «Бионанотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *rozhinaelvira@gmail.com*

Ахатова Фарида Сериковна, научный сотрудник НИЛ OpenLab «Бионанотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *akhatovaf@gmail.com*

Евтюгин Владимир Геннадьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и общей биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *hitachiht7700@gmail.com*

Рожин Артём Олегович, лаборант-исследователь НИЛ OpenLab «Бионанотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *rozhinartemkzn@gmail.com*

Фахруллин Равиль Фаридович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник НИЛ OpenLab «Бионанотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *kazanbio@gmail.com*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2020, vol. 162, no. 4, pp. 557–572

doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.557-572

Preparation and Description of Magnetic Modified Colloidal Particles of Silicon Dioxide for Recognition of HeLa Cells

I.R. Ishmukhametov[*], *E.V. Rozhina*[**], *F.S. Akhatova*[***], *V.G. Evtugyn*[****], *A.O. Rozhin*[*****], *R.F. Fakhrullin*[******]

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia
E-mail: [*]*irishmukhametov@gmail.com*, [**]*rozhinaelvira@gmail.com*, [***]*akhatovaf@gmail.com*, [****]*hitachiht7700@gmail.com*, [*****]*rozhinartemkzn@gmail.com*, [******]*kazanbio@gmail.com*

Received February 11, 2020

Abstract

Modification of the cell surface by the methods of nanoarchitectonics allows changing the physical and chemical properties of cells. Thus, it is possible to get imprinted colloid particles based on template cells that are able to recognize and selectively attach to cells. Application of nanomaterials in the inorganic coating composition expands their biomedical potential. For example, doping of cell imprints with magnetic nanoparticles allows manipulating the cells associated with shell fragments by the external magnetic field. In this work, we developed colloidal cell imprints based on silicon dioxide doped with iron oxide magnetic nanoparticles capable of binding to HeLa cells. The method of chemical coprecipitation was used to synthesize iron oxide magnetic nanoparticles. The hydrodynamic size and ζ-potential of nanoparticles were measured by the dynamic light scattering method. The morphology of magnetic nanoparticles was analyzed with the help of transmission electron microscopy and dark-field microscopy. The sol-gel process was used to coat HeLa cells by silicic acid derivatives doped with magnetic nanoparticles. Coating formation on cells was observed with scanning electron microscopy. Colloid cell imprints were obtained after the breakage of the inorganic coating by the ultrasonic treatment. Subsequently, colloid particles were cultivated with the HeLa cell line and observed with bright-field microscopy. Additionally, the morphology of the coating and cell imprints was visualized by the atomic force

microscopy. Spherical magnetic nanoparticles with a diameter of about 110 nm were obtained. Silica coating formation on the HeLa cells was demonstrated. Furthermore, it was established that colloid imprints obtained after the decomposition of the silica-based shell are capable of binding to cells. Therefore, we successfully manipulated the cells coated with the silica-based shell doped with magnetic nanoparticles.

Keywords: nanoarchitectonics, magnetic nanoparticles, cell surface engineering, HeLa cell line, cell encapsulation

Acknowledgments. The work is performed according to the Russian Government Program of Competitive Growth of Kazan Federal University, as well as supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Government of the Republic of Tatarstan (project no. 18-44-160001), by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 18-34-00306), and by the grant for young scientists of the Republic of Tatarstan (project no. 05-129-sh G/2020).

Some microscopic images were obtained using the equipment of the Electron Microscopy Laboratory, Interdisciplinary Center for Analytical Microscopy, Kazan Federal University. Scanning electron microscopic images were obtained as part of the program of short-term scientific and educational internships in electron microscopy of carbon-based materials at N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences (operator: I.V. Chistyakov).

Figure Captions

Fig. 1. Formation of an inorganic coating on the mammalian cells and subsequent fragmentation of this coating to recognize template cells.

Fig. 2. Dark-field image of colloidal magnetic nanoparticles coated with polyallylamine hydrochloride (*a*), spectral profile of the individual magnetic particle (*b*). Scanning electron microscopic image of the magnetic nanoparticles coated with polyallylamine hydrochloride (*c*). Hydrodynamic size (*d*) and ζ-potential (*e*) of the magnetic nanoparticles coated with polyallylamine hydrochloride.

Fig. 3. Effect of the external magnetic field on the shifting of HeLa cells with the SiO_2-based coating and magnetic nanoparticles towards the magnet (*a*) and the movement pattern of the encapsulated cells in the external magnetic field (*b*). Circles – cells with the tracked movement. Arrows – shifting of cells at certain points in time.

Fig. 4. Scanning electron microscopic images of the eukaryotic HeLa cells with the SiO_2 coating (*a*) and with the SiO_2@MNP-PAH coating (*b*); HeLa cells bound with the shell fragments based on SiO_2 (*c*) and SiO_2@MNP-PAH (*d*); HeLa cells selectively bound with the fragments in the suspension of *E. coli* cells (*e*). Red arrows – magnetic nanoparticles, white circles – fragments on the cells. Cell nuclei stained with DAPI.

Fig. 5. AFM visualization of the HeLa cell line: control cells (*a*–*c*); cells with a silica coating doped with magnetic nanoparticles (*d*–*f*); adhesion of the shell fragments on the cell surface (*g*–i). *a*, *d*, *g* – surface topography in the Peak Force Error channel; *c*, *f*, *i* – adhesion of the surface in the Adhesion channel. White arrows – magnetic nanoparticles, yellow arrows – adherent shell fragments.

References

1. Contado C. Nanomaterials in consumer products: A challenging analytical problem. *Front. Chem.*, 2015, vol. 3, art. 48, pp. 1–20. doi: 10.3389/fchem.2015.00048.
2. Rozhina E., Batasheva S., Danilushkina A., Kryuchkova M., Gomzikova M., Cherednichenko Y., Nigamatzyanova L., Akhatova F., Fakhrullin R. Kaolin alleviates the toxicity of graphene oxide for mammalian cells. *Med. Chem. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 8, pp. 1457–1464. doi: 10.1039/c8md00633d.
3. Torchilin V.P. Multifunctional nanocarriers. *Adv. Drug. Delivery Rev.*, 2006, vol. 58, no. 14, pp. 1532–1555. doi: 10.1016/j.addr.2006.09.009.
4. Ariga K., Ji Q., Nakanishi W., Hill J.P., Aono M. Nanoarchitectonics: A new materials horizon for nanotechnology. *Mater. Horiz.*, 2015, vol. 2, pp. 406–413. doi: 10.1039/C5MH00012B.
5. Wang Z., Xia J., Yan Y., Tsai A.C., Li Y., Ma T., Guan J. Facile functionalization and assembly of live cells with microcontact-printed polymeric biomaterials. *Acta Biomater.*, 2015, vol. 11, pp. 80–87. doi: 10.1016/j.actbio.2014.10.006.

6. Guryanov I., Naumenko E., Konnova S., Lagarkova M., Kiselev S., Fakhrullin R. Spatial manipulation of magnetically-responsive nanoparticle engineered human neuronal progenitor cells. *Nanomed.: NBM.*, 2019, vol. 20, art. 102038, pp. 1–12. doi: 10.1016/j.nano.2019.102038.

7. Park J.H., Hong D., Lee J., Choi I.S. Cell-in-shell hybrids: Chemical nanoencapsulation of individual cells. *Acc. Chem. Res.*, 2016, vol. 49, no. 5, pp. 792–800. doi: 10.1021/acs.accounts.6b00087.

8. Borovička J., Metheringham W.J., Madden L.A., Walton C.D., Stoyanov S.D., Paunov V.N. Photothermal colloid antibodies for shape-selective recognition and killing of microorganisms. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, vol. 135, no. 14, pp. 5282–5285. doi: 10.1021/ja400781f.

9. Borovička J., Stoyanov S.D., Paunov V.N. Shape recognition of microbial cells by colloidal cell imprints. *Nanoscale*, 2013, vol. 5, no. 18, pp. 8560–8568. doi: 10.1039/c3nr01893h.

10. Dickert F.L., Hayden O. Bioimprinting of polymers and sol−gel phases. Selective detection of yeasts with imprinted polymers. *Anal. Chem.*, 2002, vol. 74, no. 6, pp. 1302–1306. doi: 10.1021/ac010642k.

11. Harvey S.D., Mong G.M., Ozanich R.M., McLean J.S., Goodwin S.M., Valentine N.B., Fredrickson J.K. Preparation and evaluation of spore-specific affinity-augmented bio-imprinted beads. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, vol. 386, no. 2, pp. 211–219. doi: 10.1007/s00216-006-0622-z.

12. Wang S., Wen Y., Wang Y., Ma Y., Liu Z. Pattern recognition of cells via multiplexed imaging with monosaccharide-imprinted quantum dots. *Anal. Chem.*, 2017, vol. 89, no. 10, pp. 5646–5652. doi: 10.1021/acs.analchem.7b00965.

13. Rozhina E., Ishmukhametov I., Batasheva S., Akhatova F., Fakhrullin R. Nanoarchitectonics meets cell surface engineering: Shape recognition of human cells by halloysite-doped silica cell imprints. *Beilstein J. Nanotechnol.*, 2019, vol. 10, pp. 1818–1825. doi: 10.3762/bjnano.10.176.

14. Suner S.S., Demirci S., Yetiskin B., Fakhrullin R., Naumenko E., Okay O., Ayyala R.S., Sahiner N. Cryogel composites based on hyaluronic acid and halloysite nanotubes as scaffold for tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 130, pp. 627–635. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.025.

15. Yendluri R., Lvov Y., de Villiers M.M., Vinokurov V., Naumenko E., Tarasova E., Fakhrullin R. Paclitaxel encapsulated in halloysite clay nanotubes for intestinal and intracellular delivery. *J. Pharm. Sci.*, 2017, vol. 106, no. 10, pp. 3131–3139. doi: 10.1016/j.xphs.2017.05.034.

16. Akbarzadeh A., Samiei M., Davaran S. Magnetic nanoparticles: Preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Res. Lett.*, 2012, vol. 7, no. 144. doi: 10.1186/1556-276X-7-144.

17. Dzamukova M.R., Naumenko E.A., Rozhina E.V., Trifonov A.A., Fakhrullin R.F. Cell surface engineering with polyelectrolyte-stabilized magnetic nanoparticles: A facile approach for fabrication of artificial multicellular tissue-mimicking clusters. *Nano Res.*, 2015, vol. 8, no. 8, pp. 2515–2532. doi: 10.1007/s12274-015-0759-1.

18. German S.V., Inozemtseva O.A., Markin A.V., Metwalli H., Khomutov G.B., Gorin D.A. Synthesis of magnetite hydrosols in inert atmosphere. *Colloid J.*, 2013, vol. 75, no. 4, pp. 483–486. doi: 10.1134/S1061933X13040042.

19. Park J.H., Choi I.S., Yang S.H. Peptide-catalyzed, bioinspired silicification for single-cell encapsulation in the imidazole-buffered system. *Chem. Commun.*, 2015, vol. 51, no. 25, pp. 5523–5525. doi: 10.1039/C4CC08544B.

20. Ramanathan K., Kamalasanan M., Malhotra B., Pradhan D.R., Chandra S. Immobilization and characterization of lactate dehydrogenase on TEOS derived sol-gel films. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 1997, vol. 10, no. 3, pp. 309–316. doi: 10.1023/A:1018329518938.

21. Park J.H., Lee J., Yang S.H. Bioinspired fabrication of silica thin films on histidine-terminated self-assembled monolayers. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2015, vol. 35, no. 11, pp. 3336–3338. doi: 10.5012/bkcs.2014.35.11.3336.

22. Aleksandrova G.P., Grishchenko L.A., Medvedeva S.A., T'kov A.V., Feoktistova L.P., Sapozhnikov A.N., Vakul'skaya T.I., Tirskii V.V., Semenov A.L., Martinovich E.F. Synthesis of the nanoparticles with magnetic properties for biomedical purposes. *Fiz. Mezomekh.*, 2004, vol. 7, no. 2 (spets.), pp. 139–142. (In Russian)

23. Komiyama M., Mori T., Ariga K. Molecular imprinting: Materials nanoarchitectonics with molecular information. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2018, vol. 91, no. 7, pp. 1075–1111. doi: 10.1246/bcsj.20180084.

24. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *J. Controlled Release*, 2016, vol. 235, pp. 337–351. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

25. Baalousha M., Lead J.R. Rationalizing nanomaterial sizes measured by atomic force microscopy, flow field-flow fractionation, and dynamic light scattering: Sample preparation, polydispersity, and particle structure. *Environ. Sci. Technol*., 2012, vol. 46, no. 11, pp. 6134–6142. doi: 10.1021/es301167x.

26. Peternele W.S., Fuentes V.M., Fascineli M.L., Silva J.R., Silva R.C., Lucci C.M., Azevedo R.B. Experimental investigation of the coprecipitation method: An approach to obtain magnetite and maghemite nanoparticles with improved properties. *J. Nanomater.*, 2014, vol. 2014, art. 682985, pp. 1–10. doi: 10.1155/2014/682985.

27. Vainer O.B., Zaporozhchenko I.A., Romanov S.I., Mironov S.G., Pyshnyi D.V., Pyshnaya I.A., Dmitrienko E.V., Laktionov P.P. Application of silicon microchannel matrices for size-dependent cell separation. *Vest. NGU. Ser.: Biol., Klin. Med.*, 2010, vol. 8, no. 2, pp. 5–12. (In Russian)

28. Deman J.J., Vakaet L.C., Bruyneel E.A. Cell size and mutual cell adhesion. *J. Membr. Biol.*, 1976, vol. 26, pp. 189–204. doi: 10.1007/BF01868873.

29. Tsai S., Wang M. 24 h observation of a single HeLa cell by impedance measurement and numerical modeling. *Sens. Actuators, B*, 2016, vol. 229, pp. 225–231. doi: 10.1016/j.snb.2016.01.107.

30. Scott A.M., Wolchok J.D., Old L.J. Antibody therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 278–287. doi: 10.1038/nrc3236.

31. Gao X., Cui Y., Levenson R.M., Chung L.W., Nie S. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.*, 2004, vol. 22, no. 8, pp. 969–976. doi: 10.1038/nbt994.

***Для цитирования*:** *Ишмухаметов И.Р., Рожина Э.В., Ахатова Ф.С., Евтюгин В.Г., Рожин А.О., Фахруллин Р.Ф.* Получение и характеристика магнитно-модифицированных коллоидных частиц диоксида кремния для распознавания клеток HeLa // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2020. – Т. 162, кн. 4. – С. 557–572. – doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.557-572.

***For citation*:** Ishmukhametov I.R., Rozhina E.V., Akhatova F.S., Evtugyn V.G., Rozhin A.O., Fakhrullin R.F. Preparation and description of magnetic modified colloidal particles of silicon dioxide for recognition of HeLa cells. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2020, vol. 162, no. 4, pp. 557–572. doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.557-572. (In Russian)