

МАТЕРИАЛЫ XV МЕЖДУНАРОДНОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ “МЕССБАУЭРОВСКАЯ
СПЕКТРОСКОПИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ”

УДК 548.55

СИНТЕЗ И *IN VITRO*-ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ
К БИОРАЗЛОЖЕНИЮ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ,
ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЯЗКОЭЛАСТИЧНЫХ
СВОЙСТВ ЦИТОПЛАЗМЫ

© 2020 г. А. Ю. Юреня^{1,3,*}, Р. Р. Габбасов¹, А. А. Никитин^{2,3}, В. М. Черепанов¹,
М. А. Поликарпов¹, М. А. Чуев⁴, М. А. Абакумов², А. Г. Мажуга⁵, В. Я. Панченко^{1,3}

¹Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

²Национальный исследовательский технологический университет “МИСиС”, Москва, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Физико-технологический институт им. К.А. Валиева РАН, Москва, Россия

⁵Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

*E-mail: antonyurenya@gmail.com

Поступила в редакцию 20.05.2019 г.

После доработки 20.09.2019 г.

Принята к публикации 15.10.2019 г.

Разработан подход к изучению внутриклеточного движения с наносекундным временным разрешением, основанный на мессбауэровском исследовании частиц, внедренных в клетки. Изучена возможность применения магнитных наночастиц в качестве зондов для исследований свойств цитоплазмы *in vitro*. Синтезированы два типа водных коллоидов наночастиц, обогащенных изотопом ⁵⁷Fe, исследована их цитотоксичность и устойчивость к биодеградации в условиях живых клеток на примере клеточной линии рака молочной железы. Установлено, что частицы за 120 ч инкубации внутри клеток практически не претерпевают характерных для процессов биодеградации изменений, хотя отмечается внутриклеточное окисление двухвалентного железа в составе частиц. Данный результат свидетельствует о возможности использования полученных частиц в мессбауэровских исследованиях *in vitro*.

DOI: 10.31857/S0023476120030364

ВВЕДЕНИЕ

Исследование и моделирование многих внутриклеточных процессов, таких как процессы транспорта, диффузия макромолекул и т.п., затруднены в связи с недостатком экспериментальных данных о свойствах внутриклеточной жидкости живых клеток. Более ста лет назад работы Эйнштейна продемонстрировали, что движение субмикронных наночастиц (НЧ) в простых растворах определяется принципами броуновского движения [1]. Данная парадигма оказалась непригодной в попытках описания движения макромолекул в комплексных биологических средах [2, 3]. Биологические жидкости, которыми наполнены все клетки, а также полости их органелл, представляют собой водные растворы, содержащие высокие концентрации биомолекул. Белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты могут занимать от 5 до 40% объема, что приводит к явлению “макромолекулярного краудинга” (МК)

[4, 5]. Ряд исследований последних лет продемонстрировал наличие ряда аномальных явлений, связанных с движением макромолекул в клетках [2, 6–9]. На сегодняшний день существует несколько упрощенных моделей, описывающих МК. Такие модели основаны на результатах исследования модельных растворов [10, 11]. Создание достоверной модели, описывающей динамику в условиях МК биологических сред, невозможно ввиду отсутствия соответствующих экспериментальных данных [12].

В последние годы был успешно реализован ряд исследований, направленных на изучение вязкоэластичных свойств цитоплазмы *in vitro* [13]. Методом корреляционной спектроскопии изображений (ICS), способным исследовать перемещение молекул во внутриклеточном пространстве по трем измерениям, исследована подвижность отдельных белков [14]. Путем наблюдения за движением наночастицы-зонда, введенной в клетку, были исследованы вязкоэластичные свойства

биологических сред [15–17]. Таким образом, все существующие подходы основаны на оптических измерениях, существенным недостатком которых является ограниченная разрешающая способность. Наиболее точные результаты исследования броуновского движения макромолекул и НЧ в реальных биологических средах были получены с пространственным и временным разрешением порядка 100 нм и 1 мкс соответственно [13].

Разрабатывается новый подход к изучению свойств цитоплазмы клеток, который заключается в исследовании внедренных в клетку НЧ оксидов железа методами мессбауэровской спектроскопии. В основе данного подхода лежит анализ броуновского движения НЧ различного размера в жидких средах посредством мессбауэровской спектроскопии [18]. Ранее была разработана методика анализа сверхтонкой структуры мессбауэровских спектров, учитывающая разделение вкладов магнитной релаксации и диффузионного движения НЧ в жидких средах [19]. Также была продемонстрирована возможность получения достоверных мессбауэровских спектров НЧ на основе оксидов железа, диспергированных в вязкой модельной среде, имитирующей клеточную цитоплазму [20]. Таким образом, представляется возможным исследование динамических свойств биологических жидкостей, основанное на анализе методом ядерной гамма-резонансной спектроскопии броуновского движения железосодержащих НЧ, доставленных в живые клетки. Основным преимуществом разрабатываемого подхода должно стать беспрецедентное временное разрешение менее 100 нс, определяемое временем жизни возбужденного состояния ядра ^{57}Fe .

Для успешной реализации разрабатываемого подхода применительно к *in vitro*-исследованиям необходимо создание нанозондов на основе железа. Исследование НЧ в вязких средах сопряжено со значительным снижением вероятности эффекта резонансного поглощения, что затрудняет получение спектров удовлетворительного качества. Использование при изготовлении наночастиц-зондов-прекурсоров, обогащенных изотопом ^{57}Fe , позволит скомпенсировать низкое содержание НЧ в последующих *in vitro*-исследованиях.

В отличие от модельных жидкостей, в которых изменение формы спектральных линий частиц определяется магнитной релаксацией и диффузией, при исследовании биологических объектов необходимо учитывать изменения в мессбауэровских спектрах частиц-зондов, обусловленные их взаимодействием с клетками. Известно, что практически все типы НЧ подвергаются активной биодеградации после попадания в живой организм [21]. В результате взаимодействия с биологической средой в той или иной степени происходит разрушение как органического стабилизирующего по-

крытия частиц, так и их неорганического “ядра”. Так, в условиях, сходных с условиями внутриклеточных лизосом, в которых локализуется основная масса частиц, может происходить интенсивное разложение “ядра” НЧ на основе оксидов железа вплоть до полного растворения [22]. Процессы, связанные со взаимодействием частиц с биологическими средами, приводят к изменению формы мессбауэровских спектров частиц в составе биологических образцов в сравнении с контрольными спектрами исходных частиц. Такие изменения наблюдались в ряде работ по исследованию биодеградации магнитных НЧ в организме млекопитающих [23, 24].

В настоящей работе синтезированы два типа наночастиц-зондов на основе оксида железа из прекурсоров, обогащенных по изотопу ^{57}Fe . В ходе работы исследована биосовместимость полученных частиц и методами мессбауэровской спектроскопии проанализирована устойчивость к биодеградации обоих типов частиц при их инкубации в клеточных культурах в течение нескольких дней.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Синтез магнитных наночастиц-зондов (МНЗ). Синтезированы и исследованы два типа МНЗ: меньшего размера (МНЗ-1), полученные методом совместного осаждения солей железа Fe^{3+} и Fe^{2+} , и крупного размера (МНЗ-2), полученные методом термического разложения олеатного комплекса железа(III).

Получение водного коллоида МНЗ-1. Смесь 0.0356 г FeCl_2 и 0.0975 г $^{57}\text{FeCl}_3$ растворяли в 2 мл деионизированной воды и перемешивали на магнитной мешалке в течение 10 мин, барботируя аргоном. Далее раствор нагревали до 95°C , при непрерывном перемешивании в него вводили 500 мкл 28%-ного раствора NH_4OH . Полученную смесь интенсивно перемешивали в течение часа при температуре 95°C , далее 0.041 г лимонной кислоты в 500 мкл деионизированной воды добавляли в реакционную смесь и полученный раствор выдерживали при 95°C еще 2 ч с последующим охлаждением до комнатной температуры. Далее смесь центрифугировали ($7000 \text{ об./мин}^{-1}$, 10 мин), полученный осадок диспергировали в 20 мл раствора лимонной кислоты ($20 \text{ мг}\cdot\text{мл}^{-1}$) при помощи УЗ-гомогенизатора в течение 20 мин. Процедуру с этапа центрифугирования повторили дважды. Для отделения крупных НЧ полученный раствор центрифугировали в течение 10 мин при $7000 \text{ об./мин}^{-1}$, надосадочный раствор собирали и доводили его значение рН до 7.4, добавляя 1 М раствор NaOH . Полученный раствор подвергали диализу в течение 48 ч в диализном мешке с

размером пор 12–14 кДа. Расчетное содержание изотопа ^{57}Fe в МНЗ-1 составило не менее 65%.

Получение водного коллоида МНЗ-2. Для получения олеатного комплекса $^{57}\text{Fe}(\text{III})$ 1.294 ммоль олеата натрия растворяли в смеси 10 мл деионизированной воды, 10 мл этанола и 20 мл гексана. Затем 0.432 ммоль $^{57}\text{FeCl}_3$ добавили к раствору. Полученную реакционную смесь нагревали до кипения и удерживали при данной температуре при интенсивном перемешивании в течение 4 ч. Далее раствор охлаждали, нижний слой отделяли с помощью делительной воронки и трижды промывали деионизированной водой (50 мл). Остатки растворителя удаляли на роторном испарителе.

Для получения НЧ оксида железа смесь 0.432 ммоль комплекса олеата $^{57}\text{Fe}(\text{III})$, 0.05 г олеиновой кислоты, 0.05 г олеата натрия и 5 мл 1-октадецена помещали в трехгорлую колбу 50 мл, снабженную термометром, подводом инертного газа (аргона) и обратным холодильником. Смесь нагревали до 140°C в токе аргона при непрерывном перемешивании ($4000 \text{ об./мин}^{-1}$) на магнитной мешалке и удерживали при данной температуре в течение 1 ч. Далее реакционную смесь нагревали до температуры кипения со скоростью 4°C/мин^{-1} и удерживали при данной температуре в течение 30 мин. К полученному раствору после охлаждения до комнатной температуры добавляли 20 мл изопропанола, после чего НЧ отделяли от раствора при помощи ультрацентрифугирования ($14000 \text{ об./мин}^{-1}$) и диспергировали в гексане. Для получения стабильного водного коллоида частиц их поверхность модифицировали сополимером Pluronic F-127. 1 мл раствора НЧ в гексане с концентрацией по железу $[\text{}^{57}\text{Fe}] = 4.0 \text{ мг мл}^{-1}$ смешивали с 4 мл водного раствора Pluronic F-127 (4 мг мл^{-1}) и обрабатывали ультразвуком 30 мин. Частицы, покрытые Pluronic F-127, выделяли из образовавшейся эмульсии при помощи ультрацентрифугирования ($14000 \text{ об./мин}^{-1}$ в течение 20 мин) и ресуспендировали в деионизированной воде. Описанную процедуру повторяли трижды для полной очистки НЧ. Расчетное содержание изотопа ^{57}Fe в МНЗ-2 составило не менее 96%.

Характеризация МНЗ. Морфология и размер неорганического “ядра” полученных частиц устанавливали с использованием метода просвечивающей электронной микроскопии. Исследования проводили на микроскопе JEOL JEM-1400. Средний размер НЧ устанавливали с использованием программного обеспечения ImageJ. После стабилизации синтезированных образцов МНЗ измеряли их гидродинамический размер методом динамического светорассеяния с использованием прибора Malvern Zetasizer Nano ZS. Цитотоксичность синтезированных МНЗ в форме коллоидов

проанализировали на клеточной линии рака молочной железы мыши.

Исследование биodeградации. Исследования проводили на клеточной линии 4T1, на которой ранее была проведена оценка цитотоксичности полученных МНЗ. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% FBS и 2 ммоль L-глутамина при 37°C во влажной камере при 5%-ной CO_2 -атмосфере. Клеточные образцы с МНЗ-1 и МНЗ-2 были подготовлены в ходе аналогичной процедуры, описанной далее. Клетки высевали в T74 культуральные матрасы в концентрации 60 000 клеток/мл и культивировали 48 ч. После этого культуральную среду сливали из матрасов и заменяли новой порцией, содержащей обогащенные по изотопу ^{57}Fe частицы в концентрации 60 мкг/мл. Затем клетки инкубировали в течение 72 ч при 37°C и 5%-ной CO_2 -атмосфере с наложением слабого магнитного поля под матрасом (0.2 кЭ) с целью повышения эффективности поглощения частиц клетками в результате клеточного захвата [27]. После инкубации клетки прикрепляли с применением TрупLE, тщательно промывали PBS 4–5 раз, каждый раз центрифугируя с целью удаления частиц-зондов, не попавших в клетки. После этого клетки собирали, высушивали с помощью вакуумного роторного испарителя и размещали в ампулы для дальнейших исследований на спектрометре. В качестве контрольных образцов были подготовлены ампулы с порошком высушенных на испарителе МНЗ обоих типов. Полученные клеточные образцы с частицами-зондами и контрольные образцы частиц исследовали методами мессбауэровской спектроскопии.

Мессбауэровская спектроскопия. Мессбауэровские спектры всех образцов измеряли при комнатной температуре и температуре жидкого азота в геометрии движущегося поглотителя на спектрометре MC-1104Em. Среднее время набора спектров составляло около суток. Для проверки стабильности измерений на другом канале регистрации измеряли эталонный поглотитель $\alpha\text{-Fe}$. В качестве источника гамма-квантов использовали $^{57}\text{Co}(\text{Rh})$ активностью 2 мКи. Изомерные сдвиги определяли относительно линии поглощения $\alpha\text{-Fe}$. Анализ всех мессбауэровских спектров проводили в рамках многоуровневой модели релаксации, разработанной для случая двух подрешеток с обменным взаимодействием ферромагнитного типа, каждой из которых соответствует свой парциальный спектр, а также с учетом комбинированного магнитного дипольного и электрического квадрупольного сверхтонкого взаимодействия [19, 25, 26].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из полученных микрофотографий был сделан вывод, что синтезированные МНЗ-2 в значительной степени обладают стержневидной формой, что говорит о высокой полидисперсности образца, в то время как образец МНЗ-1 обладает узким распределением по размеру. Средний размер “ядра” частиц составил для МНЗ-1 и МНЗ-2 порядка 12 ± 1.5 и 21 ± 10 нм соответственно. Значение среднего гидродинамического размера составило для МНЗ-1 порядка 50 нм. Средний гидродинамический размер НЧ в водном растворе после покрытия сополимером Pluronic F-127 составил 140 нм. Такое высокое значение гидродинамического размера обусловлено тем, что данный сополимер относится к мицеллообразующим. По результатам цитотоксического исследования установлены следующие допустимые концентрации нанозондов: 180 мкг/мл для МНЗ-1 и не менее 70 мкг/мл для более крупных МНЗ-2.

Основная часть работы связана с изучением возможной биodeградации МНЗ в *in vitro*-исследовании. Для полученных МНЗ-1 и МНЗ-2 были исследованы изменения формы их мессбауэровских спектральных линий в результате пребывания частиц внутри живых клеток в течение 5 дней. На рис. 1 представлены результаты исследования частиц-зондов, стабилизированных цитрат-ионами. Сверху представлены порошковые спектры частиц, измеренные при температуре жидкого азота и при комнатной температуре. Ниже представлены спектры образца лиофилизированных 4Т1 клеток, которые 120 ч инкубировались с данным типом частиц. Спектры измерены в аналогичных условиях. Форма линий спектров качественно отражает стандартное поведение ансамбля НЧ оксида железа с магнитной анизотропией. Анализ спектров показывает, что длительное (120 ч) пребывание частиц внутри клеточной культуры практически не повлияло на форму спектральных линий МНЗ-1 (табл. 1). Схожая картина наблюдается в случае МНЗ-2, спектры которого представлены на рис. 2, однако с некоторыми отличиями — появление ярко выраженного синглета в образце частиц, прошедших этап инкубации в клетках. Данный синглет фигурирует как в низкотемпературном спектре, так и в спектре при комнатной температуре. Характерный химический сдвиг порядка -0.1 мм/с при комнатной температуре и характер синглета, не свойственный биологическим формам железа, дают основание полагать, что в клеточный образец с МНЗ-2 могла попасть посторонняя примесь, например стружка нержавеющей стали, имеющая схожие мессбауэровские параметры с наблюдаемым синглетом. Окончательная природа данного синглета не установлена. Тем не менее как в случае МНЗ-1, так и в случае МНЗ-2 не на-

блюдается трансформаций спектра, характерных для изменений, связанных с процессами биodeградации НЧ в организме. Так, ранее наблюдались заметные изменения в спектрах частиц, стабилизированных декстраном, уже через час после их введения в организм млекопитающих [23, 28]. По всей видимости, столь быстрые изменения свойств ансамбля частиц связаны с изменением характера межчастичного взаимодействия вследствие разрушения полимерного стабилизирующего покрытия частиц, поскольку в случае НЧ, покрытых декстраном, они локально связаны дипольным взаимодействием. В процессе биodeградации покрытие разрушается, что приводит к высвобождению отдельных частиц и повышению частоты релаксации вектора намагниченности. В результате в спектрах, измеренных при комнатной температуре, наблюдается характерная трансформация секстета в дублет [27]. При этом в силу своей суперпарамагнитной природы, при достаточно низких температурах компонента спектра отдельных НЧ восстанавливает свою сверхтонкую структуру. Другой механизм трансформации сверхтонкой структуры спектральных линий НЧ в живых организмах связан с непосредственной биodeградацией неорганического ядра и образованием в результате парамагнитных форм эндогенного железа, преимущественно железосодержащих белков [21, 24]. Для данного процесса также характерна трансформация в спектре частиц секстета в дублет, который сохраняет свою форму при температурах 300 и 78 К. В случае биodeградации частиц в организмах млекопитающих интенсивность дублета нарастает со временем и становится значительной уже после нескольких дней их пребывания в организме.

Таким образом, в случае обоих образцов полученных частиц в клеточных спектрах не наблюдается значительных изменений, в том числе характерных для процессов биodeградации. Несмотря на то что МНЗ-2, стабилизированные Pluronic F-127, образуют мицеллярные структуры и поэтому должны быть связаны дипольным взаимодействием, их длительное пребывание в клетках не привело к характерной релаксационной трансформации спектра. Это может объясняться как крупным размером ядра данного типа частиц, так и устойчивостью к *in vitro*-биodeградации покрытия Pluronic F-127. В спектрах обоих типов частиц также отсутствует дублет, характерный для парамагнитных форм эндогенного железа. Следовательно, на уровне отдельных клеток процессы биodeградации магнитных частиц практически не протекают, либо протекают в значительно более низком темпе, чем в организме млекопитающего.

Тем не менее отметим заметный признак взаимодействия МНЗ-2 с клеточной культурой (табл. 2). Мессбауэровские спектры клеток после введения

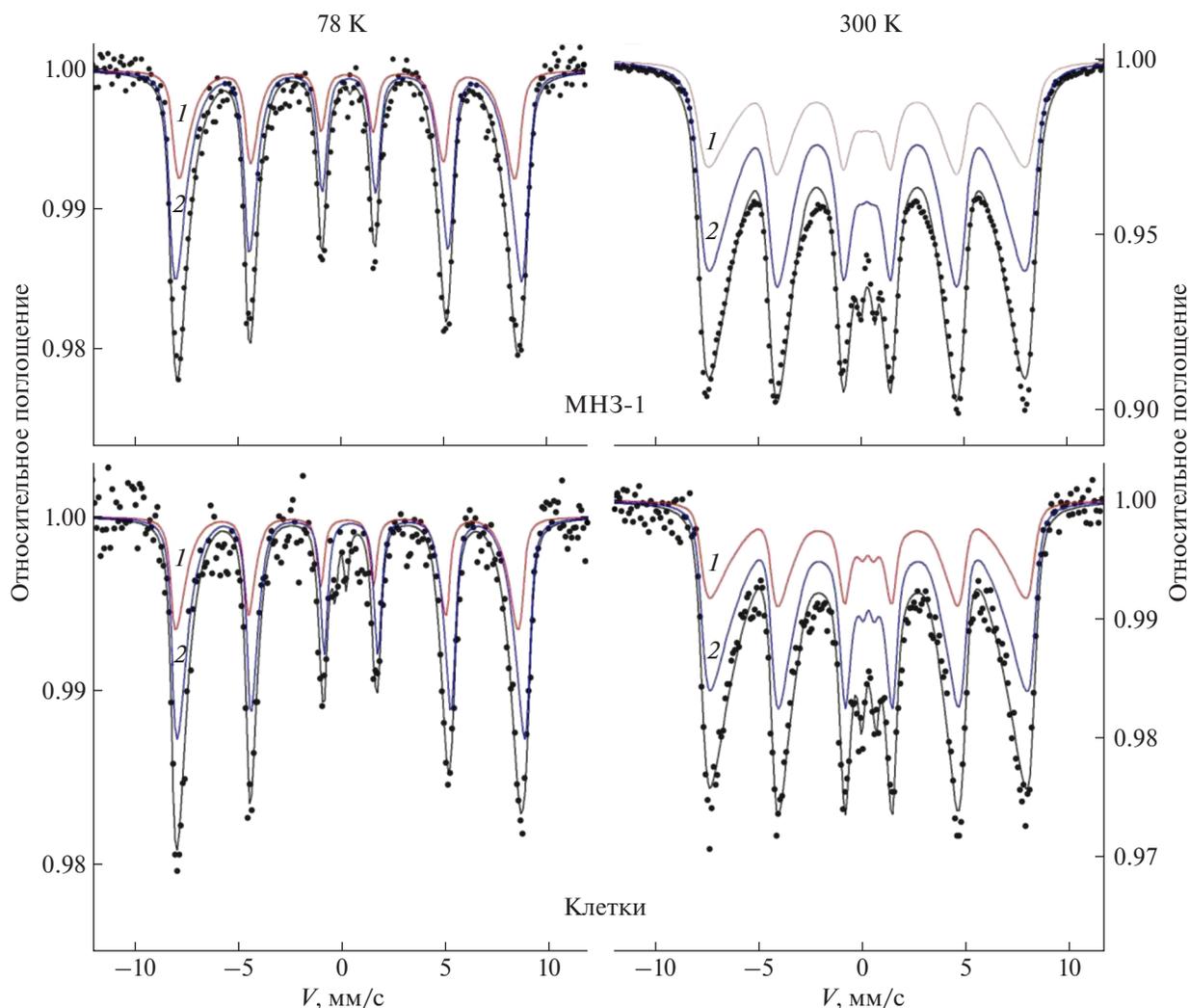


Рис. 1. ^{57}Fe -мессбауэровские спектры МНЗ-1 на основе оксида железа, стабилизированных цитрат-ионами. Представлены спектры исходных частиц и частиц после их 5-дневной *in vitro*-инкубации в клетках линии 4Т1; 1, 2 – парциальные секстеты от магнитных подрешеток А и В.

МНЗ-2 демонстрируют незначительное содержание двухвалентного железа, что выражается в малом химическом сдвиге компоненты В-подрешетки и форме линий спектра, близкой к симметричной (не считая синглета). Такой эффект может быть объяснен активным окислением

сетки и форме линий спектра, близкой к симметричной (не считая синглета). Такой эффект может быть объяснен активным окислением

Таблица 1. Параметры сверхтонкого взаимодействия исходных образцов МНЗ-1 и образцов МНЗ-1 после их пятидневной инкубации в клеточной культуре

Образец	Температура	Т, К	МНЗ-1		Клетки	
			296	78	296	78
Секстет 1 (подрешетка А)		δ_1 , мм/с	0.66 ± 0.02	0.72 ± 0.01	0.5 ± 0.1	0.58 ± 0.06
		q_1 , мм/с	0.16 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.08
		H_{hf1} , Т	49.2 ± 0.1	53.2 ± 0.2	51.6 ± 0.9	54.2 ± 0.9
Секстет 2 (подрешетка В)		δ_2 , мм/с	0.291 ± 0.006	0.366 ± 0.006	0.24 ± 0.04	0.39 ± 0.03
		H_{hf2} , Т	50.98 ± 0.06	53.2 ± 0.1	51.7 ± 0.5	54.3 ± 0.7
		KV , К	598 ± 3	560 ± 2	540 ± 20	670 ± 20

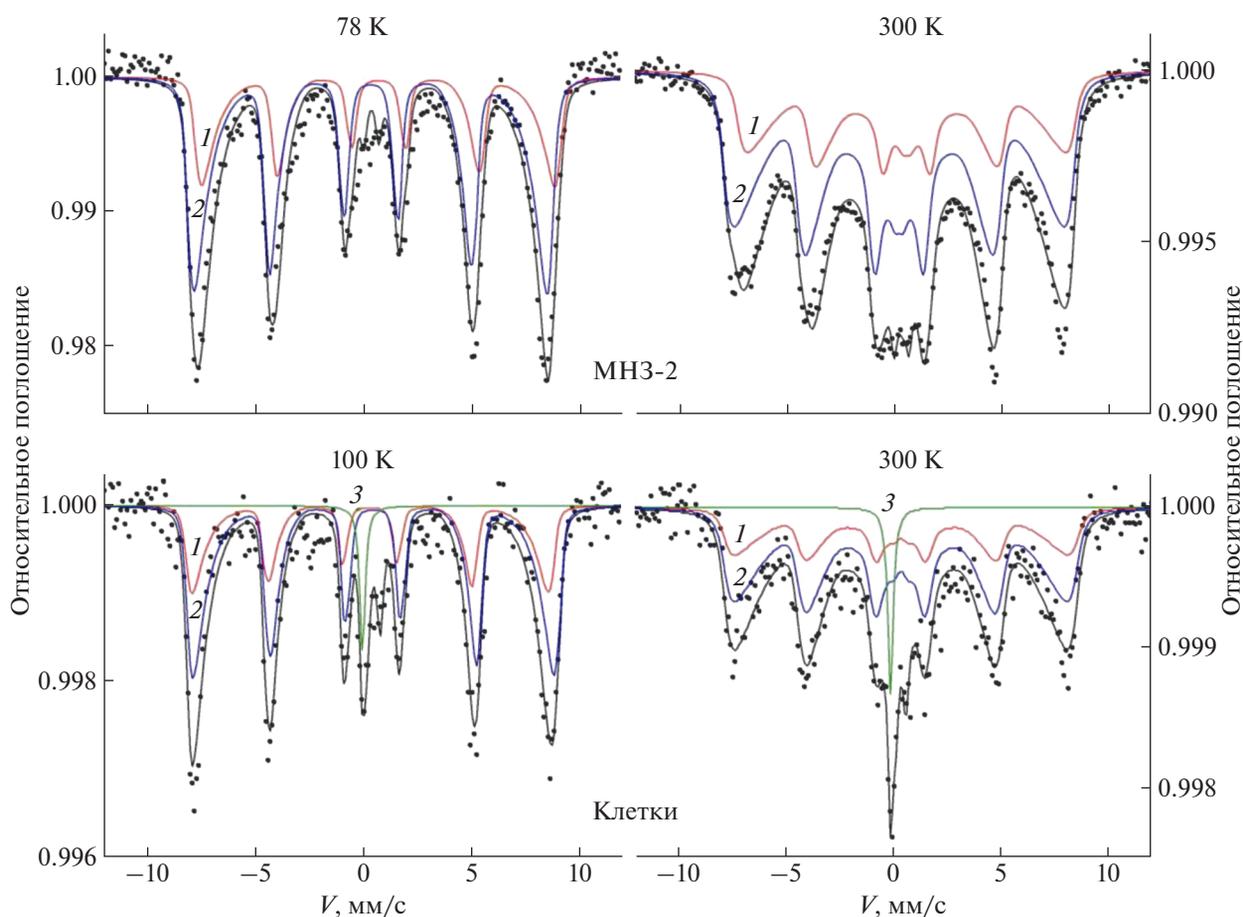


Рис. 2. ^{57}Fe -мессбауэровские спектры МНЗ-2. Представлены спектры исходных частиц и частиц после их 5-дневной *in vitro*-инкубации в клетках линии 4Т1; 1, 2 – парциальные вклады от ферритмагнитных подрешеток А и В, 3 – синглет неустановленной природы.

двухвалентного железа в составе частиц магнетита внутри клеток в результате реакции Фентона [29].

Также отметим, что вероятность эффекта резонансного поглощения на клеточном образце с более мелкими МНЗ-1 превосходит вероятность эффекта на образце клеток с МНЗ-2, имеющими гидродинамический размер порядка 140 нм, при

том, что на этапе инкубации частиц в клетках они были добавлены в одинаковой исходной концентрации. По всей видимости, это связано с тем, что крупные частицы с меньшим успехом способны попадать внутрь клеток в ходе эндоцитоза, в результате чего в клетки с образцом МНЗ-2 проникло меньшее количество экзогенного изотопа ^{57}Fe .

Таблица 2. Параметры сверхтонкого взаимодействия исходных образцов МНЗ-2 и образцов МНЗ-2 после их пятидневной инкубации в клеточной культуре

Образец	Температура	Т, К	МНЗ-2		Клетки	
			296	78	296	100
Секстет 1 (подрешетка А)	δ_1 , мм/с		0.34 ± 0.01	0.28 ± 0.008	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.04
	q_1 , мм/с		0.19 ± 0.01	0.14 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.1 ± 0.08
	H_{H1} , Т		51.25 ± 0.05	53.54 ± 0.03	50.5 ± 0.9	53.3 ± 0.9
Секстет 2 (подрешетка В)	δ_2 , мм/с		0.35 ± 0.05	0.526 ± 0.004	0.34 ± 0.09	0.5 ± 0.02
	H_{H2} , Т		51.17 ± 0.04	54.13 ± 0.05	50.5 ± 0.5	54.3 ± 0.7
	KV , К		793 ± 3	694 ± 8	710 ± 6	824 ± 8

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированы два типа магнитных НЧ различного размера с измененным изотопным составом по ^{57}Fe . Данные частицы были проанализированы *in vitro* на предмет биосовместимости и устойчивости к биодеградации в клеточной культуре. Установлено, что оба типа частиц в условиях инкубации с клетками за 120 ч практически не претерпевают характерных для процессов биодеградации изменений, что позволяет говорить об устойчивости полученных частиц к разложению в *in vitro*. Таким образом, оба типа частиц являются пригодными для использования в качестве зондов для мессбаэровских исследований живых организмов. В ходе исследования на примере МНЗ-2 было установлено, что НЧ магнетита, даже покрытые полимерным стабилизирующим покрытием, активно окисляются в клетках.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-32-20166, 19-02-00966) в части синтеза; в рамках Государственного задания ФТИАН им. К.А. Валиева РАН Минобрнауки РФ по теме №0066-2019-0004.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Einstein A.* // *Annalen der physik.* 1905. V. 322. № 8. P. 549.
2. *Höfling F., Franosch T.* // *Reports on Prog. Phys.* 2013. V. 76. № 4. P. 046602.
3. *Dix J.A., Verkman A.S.* // *Annu. Rev. Biophys.* 2008. V. 37. P. 247.
4. *Fulton A.B.* // *Cell.* 1982. V. 30. № 2. P. 345.
5. *Ellis R.J., Minton A.P.* // *Nature.* 2003. V. 425. № 6953. P. 27.
6. *Saxton M.J.* // *J. Chem. Phys.* 2002. V. 116. № 1. P. 203.
7. *Weiss M.* // *Phys. Rev. E.* 2003. V. 68. № 3. P. 036213.
8. *Weiss M., Nilsson T.* // *Trends Cell Biology.* 2004. V. 14. № 5. P. 267.
9. *Schnell S., Turner T.E. et al.* // *Progress Biophys. Mol. Biol.* 2004. V. 85(2-3). P. 235.
10. *Ando T., Skolnick J.* // *Proc. Nat. Ac. Sci.* 2010. V. 107. № 43. P. 18457.
11. *Novak I.L., Kraikivski P., Slepchenko B.M. et al.* // *Biophys. J.* 2009. V. 97. № 3. P. 758.
12. *Minton A.P.* // *J. Cell Sci.* 2006. V. 119. № 14. P. 2863.
13. *Norregaard K., Metzler R., Ritter C. M. et al.* // *Chem. Rev.* 2017. V. 117. № 5. P. 4342.
14. *Di Rienzo C., Piazza V., Gratton E. et al.* // *Nature Commun.* 2014. V. 5. P. 5891.
15. *Yamada S., Wirtz D., Kuo S. C. et al.* // *Biophys. J.* 2000. V. 78. № 4. P. 1736.
16. *Tseng Y., Lee J.S., Kole T.P. et al.* // *J. Cell Sci* 2004. V. 117. № 10. P. 2159.
17. *Guigas G., Kalla C., Weiss M. et al.* // *Biophys. J.* 2007. V. 93. № 1. P. 316.
18. *Landers J., Salamon S., Remmer H. et al.* // *Nano Lett.* 2016. V. 16. № 2. P. 1150.
19. *Чуев М.А., Черепанов В.М., Поликарпов М.А. и др.* // *Письма в ЖЭТФ.* 2018. Т. 108. С. 57.
20. *Dziedzic-Kocurek K., Fornal P., Stanek J.* // *Nukleonika.* 2015. V. 60. P. 19.
21. *Feliu N., Docter D., Heine M. et al.* // *Chem. Soc. Rev.* 2016. V. 45. № 9. P. 2440.
22. *Lévy M., Lagarde, Maraloiu V.A. et al.* // *Nanotechnology.* 2010. V. 21. № 39. P. 395103.
23. *Polikarpov D., Cherepanov V., Chuev M. et al.* // *Hyp. Int.* 2014. V. 226(1–3) P. 421.
24. *Polikarpov D., Gabbasov R., Cherepanov V. et al.* // *J. Magn. Magn. Mater.* 2015. V. 380. P. 78.
25. *Jones D.H., Srivastava K.K.P.* // *Phys. Rev. B.* 1986. V. 34. P. 7542.
26. *Chuev M.A.* // *JETP.* 2012. V. 114. № 4. P. 609.
27. *Mykhaylyk O., Antequera Y.S., Vlaskou D., Plank C.* // *Nature Protocols.* 2007. V. 2. № 10. P. 2391.
28. *Mischenko I.N., Chuev M.A., Cherepanov V.M. et al.* // *Hyp. Int.* 2012. V. 206 (1–3). P. 105.
29. *Gabbasov R.R., Polikarpov M.A. Cherepanov V.M. et al.* // *Hyp. Int.* 2012. V. 206. P. 71.
30. *Klein S., Sommer A., Distel L. et al.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. V. 425. № 2. P. 393.