

УДК 616.006.02.009.097

# Взаимодействие флуоресцентных полупроводниковых наночастиц с опухолевыми клетками

Т.И. Терпинская<sup>1</sup>, Г.К. Жавнерко<sup>2</sup>, К.Д. Яшин<sup>3</sup>, В.С. Осипович<sup>3</sup>, Е.А. Петрова<sup>1</sup>, М.В. Артемьев<sup>4</sup>, В.С. Улащик<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, 220013, Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 28<sup>2</sup>Институт химии новых материалов НАН Беларуси, 220141, Республика Беларусь, Минск, ул. Ф. Скорины, 36<sup>3</sup>Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, 220013, Республика Беларусь, Минск, ул. Петруся Бровки, 6<sup>4</sup>Белорусский государственный университет, 220030, Республика Беларусь, Минск, ул. Ленинградская, 14  
E-mail: seth22@yandex.ru

Поступила в редакцию: 09.10.2013

Принята в печать: 18.12.2014

В работе исследованы биологические свойства водного раствора наночастиц CdSe/ZnS, стабилизированных цистеином. Показано, что наночастицы поглощаются клетками карциномы Эрлиха в условиях *in vitro*, не оказывая цитотоксического эффекта. Наночастицы адсорбируются на клеточной мембране, постепенно проникая внутрь клеток, и наблюдаются в виде крупных гранул или скоплений в течение 30 мин. Через 60 мин регистрируется более равномерное распределение флуоресцентных частиц в клетках. Мягкая трипсинизация клеток изменяет свойства клеточной мембраны, увеличивая ее адгезивность, оцененную методом атомно-силовой микроскопии, и способствуя интернализации наночастиц.

## INTERACTION OF FLUORESCENT SEMICONDUCTOR NANOPARTICLES TO TUMOR CELLS

Biological properties of nanoparticle CdSe/ZnS, stabilized cysteine, were investigated. The nanoparticles are taken up by Ehrlich carcinoma cells *in vitro*, without cytotoxic effect. Particles are concentrated on the cell membrane in the form of clusters, and in 5 min are visualized inside the cell nearby membrane boundary. After 20 and 30 minutes the particles are present inside the cells as large bright fluorescent granules, and after 60 minutes are distributed in the cytoplasm as more uniform fine grains. Nanoparticles enter into the dead cells very well, causing them to glow brighter. Ten-minute treatment of cells with trypsin prior to nanoparticle stain solution enhances the fluorescence, probably due to the deposition of nanoparticles on the cell membrane. Cells, subjected to a 20 minute treatment with trypsin, take up nanoparticles more intensive and fluoresce brighter than trypsinized 10 min or not treated with enzyme. By atomic force microscopy is shown surface properties and morphology of the cells modification after trypsinization.

### ВВЕДЕНИЕ

Флуоресцентные полупроводниковые наночастицы, получившие в научной литературе также название квантовых точек, обладают существенными преимуществами над применяющимися в биологических и медицинских исследованиях традиционными органическими красителями, в частности, по интенсивности и длительности флуоресценции [1–4]. Наночастицы могут быть использованы в качестве флуоресцентного зонда для мечения клеток при изучении путей клеточной миграции и межклеточных взаимодействий, визуализации тканей, исследовании динамики поглощения и выведения наноразмерных объектов [5, 6]. Однако закономерности взаимодействия наночастиц с биологическими объектами исследованы недостаточно, поэтому методы маркировки клеток с использованием флуоресцентных наночастиц не получили еще широкого распространения и находятся на стадии разработки и изучения. Возможность проникновения наночастиц в клетки, механизмы и динамика этого процесса и внутриклеточное распределение наночастиц значительно отличаются от модели к модели. Наиболее изученным параметром является размер частицы: отмечается лучшее проникновение в клетки более мелких частиц, а частиц диаметром до 2 нм – в ядра клеток [1–8]. Одним из параметров, также влияющих на взаимодействие наночастицы с клеткой, является внешняя оболочка частицы, хотя полученные различными авторами данные о роли поверхностных групп противоречивы и не систематичны. В ряде работ отмечается лучшее поглощение клетками отрицательно заряженных карбоксил(СООН)-функционализированных наночастиц [9–11]. В некоторых случаях поглощению частиц,

наоборот, способствовали положительно заряженные группы на оболочке [12–14] или наблюдалось поглощение клетками наночастиц с разным размером ядра и различными по заряду группами на поверхности [15, 16]. Нами в работе использованы частицы, покрытые цистеином, являющимся цвиттер-ионом. Полученные разными авторами результаты исследования поглощения клетками цистеин-покрытых наночастиц не позволяют сделать однозначных выводов об их проникновении в клетки. Частицы диаметром 5–6 нм не проникали в клетки *HeLa* в течение 1 ч инкубирования и даже не сорбировались на мембране [17], в то же время покрытые цистеином частицы гораздо большего диаметра, 30 нм, проникали в цитозоль клеток *HeLa*, хотя тут необходимо отметить, что время инкубирования в последнем случае составляло 3 ч [18]. До сих пор трудно с уверенностью прогнозировать результат взаимодействия наночастиц с клетками. Поэтому при разработке методик флуоресцентной маркировки клеток необходимо исследование определенных типов частиц на конкретной клеточной модели, что позволит определить возможность их использования в качестве флуоресцентного клеточного маркера.

Актуальным предметом исследования остается выяснение механизмов эндоцитоза нанообъектов клетками. Ферментативное расщепление молекулярных структур, участвующих в связывании и переносе через мембрану различных соединений, может оказывать существенное влияние на поглощение. Чувствительность к обработке трипсином указывает на участие белков, имеющих доступные для гидролиза этим ферментом пептидные связи, образованные гидроксильными группами лизина и аргинина. Так, трип-

син-чувствительные сайты клеточной мембраны и экстрацеллюлярного матрикса ответственны за связывание клеток со столбнячным токсином [19], коллагеном и фибронектином [20], аполипопротеином А-1 [21], липофорином [22], полифенолами [23]. Трипсин ингибирует эти процессы, разрушая задействованные в них рецепторы. Что касается поглощения наноструктур, этот вопрос исследован мало. *Arima* и соавт. продемонстрировано снижение поглощения катионных липосом клетками линии RAW264.7 после их обработки трипсином и показана дозозависимость эффекта [24].

В представленной работе исследовано взаимодействие флуоресцентных наночастиц CdSe/ZnS, покрытых функционализирующей оболочкой из цистеина, с клетками перевиваемой мышшиной опухоли асцитной карциномы Эрлиха в условиях *in vitro*. Работа направлена на поиск стабильного нетоксичного флуоресцентного маркера для опухолевых клеток. Использование в качестве клеточной модели перевиваемой экспериментальной опухоли обусловлено тем, что она будет применяться авторами в дальнейшем в качестве модели клеток, способных расти в организме животного. Стабильный нетоксичный флуоресцентный маркер расширит возможности изучения межклеточных взаимодействий как *in vitro*, так и *in vivo*.

Охарактеризована динамика проникновения наночастиц в клетки, исследовано влияние обработки клеток протеолитическим ферментом трипсином на свойства клеточной мембраны и поглощение наночастиц.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Наночастицы.** Для исследований использовали водную суспензию полупроводниковых наночастиц селенида кадмия с эпитаксиальной пленкой из сульфида цинка толщиной 2–4 монослоя, синтезированных согласно [25]. Кристаллическая структура CdSe/ZnS была покрыта функциональной оболочкой из плотноупакованных молекул цистеина. Для приготовления гидрофильных наночастиц исходили из CdSe/ZnS частиц, покрытых гидрофобной оболочкой из триоктилфосфина (ТОФО). Максимум флуоресценции таких наночастиц приходился на 583 нм. Замену ТОФО на лигандную оболочку из цистеина проводили в толуоле, содержащем L-цистеин (10 мМ), с последующим осаждением наночастиц из раствора изопропанолом и редиспергированием в воде. Через тиольную группу цистеин прочно связывался с полупроводниковым нанокристаллом. В этом случае на оболочке наночастицы присутствуют как отрицательно заряженные карбоксильные группы, так и положительно заряженные аминогруппы. Использование указанной методики позволяет получать квантовые точки с небольшим, до 5 нм, диаметром CdSe/ZnS частиц, оцененным методом просвечивающей микроскопии, и гидродинамическим диаметром цистеин-покрытых частиц до 10 нм [26]. Непосредственно перед использованием исходную суспензию наночастиц с концентрацией 1.5 мг/мл разводили в 4 раза дистиллированной водой, а затем в 2 раза 1.8%-ным хлоридом натрия, что позволяло избежать агрегации наночастиц (или снизить агрегацию) при их добавлении в физиологические растворы [27].

**Биологический материал.** Использовали мышей линии Af разводки вивария Института физиологии НАН Беларуси и асцитную карциному Эрлиха (АКЭ). Для получения суспензий опухолевых клеток АКЭ прививали мышам внутривентриально в дозе 6 млн клеток на мышью, через 8–10 дней получали асцитическую жидкость со взвесью клеток. Клетки перевиваемой АКЭ не являются пригодным для длительного культивирования *in vitro* адгезивным субштаммом, однако при краткосрочном (2–2.5 ч) инкубировании сохраняют

высокий процент жизнеспособности, которая снижается за этот период лишь на 0.8–6 % [27, 28]. Поэтому в работе использовали свежeweделенные клетки, контролируя их жизнеспособность.

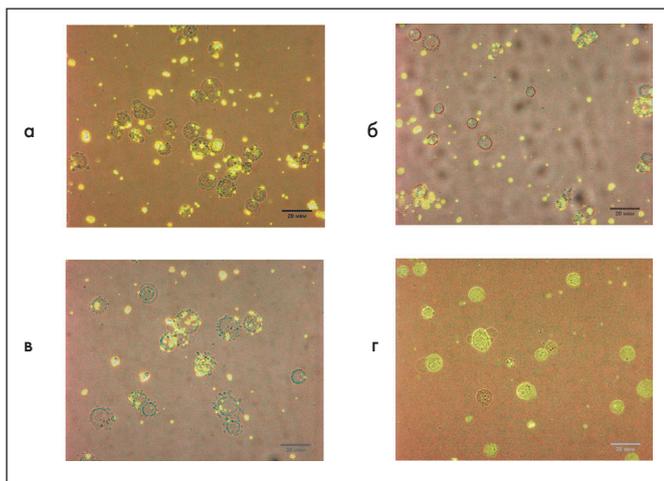
**Исследование динамики проникновения наночастиц в клетки.** В пластиковые пробирки типа «Эппендорф» (1.5 мл, «Минимед», РФ) вносили по 50 мкл суспензии свежeweделенных клеток АКЭ, однократно отмытых физиологическим раствором Хенкса («ПанЭко», РФ) и ресуспензированных в этом же растворе. Добавляли 50 мкл суспензии наночастиц и помещали пробирки в термостат при 37 °С (конечная концентрация наночастиц в смеси – 0.094 мг/мл). Через 5, 20, 30 и 60 мин к клеточной суспензии доливали по 0.9 мл физиологического раствора Хенкса, центрифугировали 5 мин при 1.5–2 тыс. об/мин, супернатант сливали, аналогичным образом отмывали клетки еще раз, ресуспендировали в 100 мкл среды RPMI 1640 (Sigma, США), помещали на лед, проводили анализ препаратов. Так как RPMI 1640 имеет сложный состав, то, для того чтобы избежать возможного взаимодействия наночастиц и клеток с компонентами среды, использовали более простой по составу раствор Хенкса. Последний содержит неорганические соли и глюкозу и позволяет поддерживать жизнеспособность клеток при краткосрочном инкубировании. О расположении наночастиц судили по флуоресценции, сравнивая морфологическую картину в обычном и люминесцентном объективе. Для визуализации ядер использовали краситель Hoechst 33342 (Sigma, США), который вносили в культуры перед микрокопированием в концентрации  $10^{-5}$  М на 15 мин, после чего среду с красителем удаляли и заливали клетки свежей средой.

**Исследование влияния трипсинизации клеток на свойства клеточной мембраны.** Клетки АКЭ адсорбировали на поверхности кремния, модифицированной отрицательно заряженным полиэлектролитом (полистиролсульфонатом натриевой соли). Исследования методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) проводили с помощью микроскопа Nanoscope IIIa (Digital Instruments, США), оборудованного <D-сканером>, в контактном режиме (contact mode). Были использованы контактные 100- и 200-мкм кантилеверы Nanoprobe из  $Si_3N_4$  с константой упругости 0.12 и 0.36 N/m. Сила воздействия иглы на образец в контактном режиме составляла единицы нН. Частоту строчной развертки при получении изображения варьировали от 1 до 5 Hz.

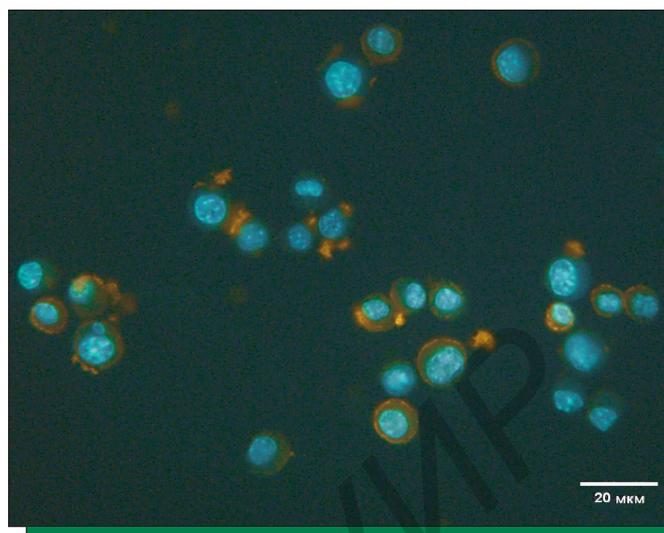
**Оценку жизнеспособности клеток** проводили пробой с трипановым синим (Sigma, США). В контрольных сериях клеточную суспензию подвергали всем манипуляциям, которым подвергались опытные серии (отмывка, ресуспензирование), вместо суспензии наночастиц или трипсина в пробирки с клетками вносили аналогичный объем изотонического раствора хлорида натрия.

**Анализ препаратов.** Для просмотра клеточных суспензий готовили прижизненные препараты типа «давленная капля» и анализировали их на флуоресцентном микроскопе Leitz MPV-2 с объективами 16×, 25×. Для наблюдения и регистрации флуоресценции служила система PLOEMORAK с широкополосными фильтрами возбуждения и эмиссии 370–490 и 520–700 нм соответственно. Для возбуждения флуоресценции использовали ртутную лампу. Снимки делали цифровой камерой Leica DC300 F под управлением программного комплекса Leica IM1000.

**Исследование влияния трипсинизации клеток на поглощение ими наночастиц.** Клетки осаждали центрифугированием 5 мин при 1500 об/мин, ресуспендировали в физиологическом растворе Хенкса, обрабатывали препаратом 0.025 % трипсин–ЭДТА (1 : 3) (Sigma, США) в течение 10 или 20 мин



**РИСУНОК 1** | Клетки АКЭ, различное время окрашивания наночастицами CdSe/ZnS/цистеин: а – 5 мин; б – 20 мин; в – 30 мин; г – 60 мин; изображения получены наложением снимков поля зрения в люминесцентном и обычном объективе



**РИСУНОК 2** | Клетки АКЭ, окрашивание наночастицами CdSe/ZnS/цистеин и Hoechst 33342

при комнатной температуре 20 °С, добавляя препарат к клеткам в объемном соотношении 9 : 1, затем вносили мышиную сыворотку (10 мкл сыворотки на 1 мл суспензии с трипсином), центрифугировали, отмывали физиологическим раствором Хенкса. После этого окрашивали клетки флуоресцентными наночастицами 2 ч при 20 °С.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ препаратов показывает, что уже через 5 мин после начала инкубации клеточной суспензии с наночастицами последние концентрировались вблизи клеток, постепенно оседая на их поверхности (рис. 1а). Через 20 мин наночастицы были хорошо видны в виде ярко флуоресцирующих крупных глобулярных конгломератов округлой формы (рис. 1б); в течение последующих 10 мин значительных изменений морфологической картины не наблюдалось (рис. 1в). Через 60 мин инкубации флуоресценция внутри клеток становилась более равномерной, видна мелкая ярко флуоресцирующая зернистость (рис. 1г). Различная интенсивность флуоресценции в разных клетках свидетельствует о том, что их способность поглощать наночастицы не одинакова: на препаратах встречались клетки как с очень яркой флуоресценцией по всему объему, так и с очень слабо светящейся областью вблизи мембраны, а также промежуточные формы. Так как в течение 30 мин окрашивания наночастицы концентрировались на клетках в виде гранул или скоплений, можно предположить, что их адсорбция и поглощение происходит в определенных участках клеточной мембраны. Затем, проникнув в клетку, наночастицы распределяются в цитоплазме более равномерно (рис. 1г). Манипуляции с клетками (отмывки, перенос в инкубационную среду) сопровождалась клеточным стрессом, признаком чего являлся мембранный блеббинг, однако при инкубировании с наночастицами большинство клеток сохраняли целостность и округлую форму ядра, не фрагментируясь на апоптотические тельца, рис. 2.

Процесс поглощения наночастиц разделяют на три основные стадии: эндоцитоз, распределение в ранних эндосомах и транслокация в поздние эндосомы и лизосомы [9, 10]. Вероятно, что скорость и интенсивность первой стадии в значительной степени должны зависеть от способности наночастиц сорбироваться на клеточной мембране. Наблюдаемая нами морфологическая картина свидетельствует о тропности наночастиц, покрытых цистеином, к мембране клеток.

Возможно, сорбции способствует наличие заряженных групп на оболочке использованных наночастиц, что благоприятствует электростатическому взаимодействию с противоположно заряженными группами на клеточной мембране. Можно предположить, что основной вклад во взаимодействие с отрицательно заряженной клеточной мембраной вносят положительно заряженные аминокислотные группы цистеина. Действительно, в экспериментах Harush-Frenkel с соавт. поглощение наночастиц зарегистрировано через 5 мин инкубации, причем положительно заряженные частицы поглощались клетками *HeLa* более интенсивно [12]. Однако наличие положительно заряженных групп не всегда ведет к инициации механизмов клеточного поглощения. В исследовании Zhang и соавт. CdTe/CdS наночастицы диаметром ~ 6 нм, стабилизированные L-цистеином, в течение 1 ч не входили в клетки *HeLa* (люминесцентная микроскопия в этом случае не выявила также абсорбции наночастиц на мембране клеток), если не были конъюгированы с антителами к CD67 [17]. В нашей работе образующиеся крупные гранулы достаточно быстро (в течение 1 ч) разрушались до более мелкой зернистости. Один из механизмов мелкодисперсного распределения в цитоплазме предложен Duan и Nie [29], которые показали, что несущие положительные заряды наночастицы могут выходить из лизосом и равномерно распределяться в цитозоле. Эти авторы предложили конструкцию наночастиц с покрытием из ПЭГ-связанного полиэтиленimina, равномерно распределяющихся в цитоплазме. В данном случае высокий положительный заряд аминных групп на оболочке наночастицы обеспечивает «эффект протонной губки», который ведет к абсорбции протонов в кислых органеллах, возрастанию осмотического давления в лизосомах, их набуханию, разрушению и выходу содержимого в цитозоль [29].

Исследовали влияние обработки клеток трипсином на жизнеспособность клеток, поглощение ими наночастиц и свойства клеточной мембраны. Жизнеспособность клеток оценивали после их обработки трипсином и инкубации с наночастицами. Результаты, представленные в таблице, показывают, что 10-минутная обработка трипсином не повлияла на жизнеспособность клеток, в то время как при 20-минутной обработке выявлялся цитотоксический эффект трипсина: жизнеспособность снизилась по сравнению с контролем на 15,0 %, составив  $75.6 \pm 1.6$  %. Инкубация с наночастицами не внесла дополнительного вклада в снижение жизнеспособности.

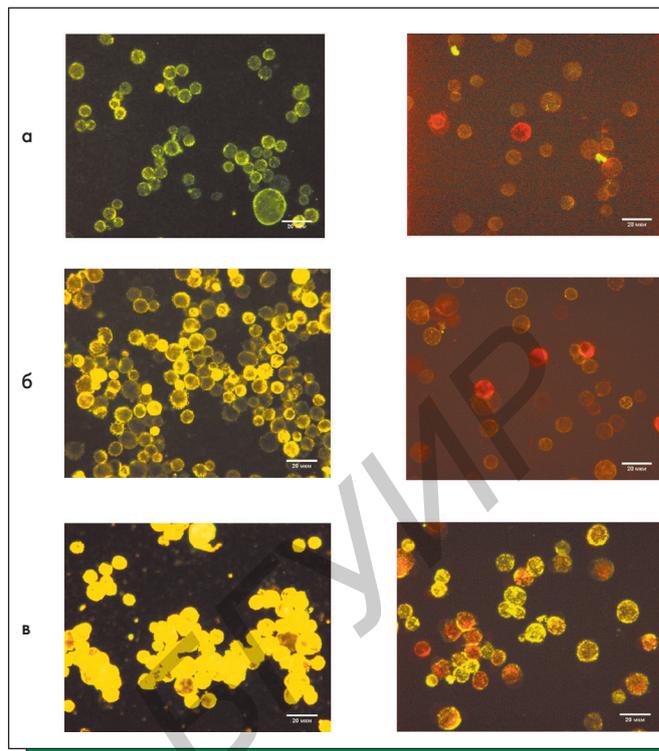
**ТАБЛИЦА** | Влияние обработки трипсином и инкубации с наночастицами на жизнеспособность опухолевых клеток

№	Серия опыта	n	Жизнеспособность клеток, %	P
1.	Контроль (без трипсинизации, без наночастиц)	8	88.9 ± 2.1	1 – 4, 6, 7 < 0.05
2.	Наночастицы 2 ч	8	88.9 ± 1.9	2 – 4, 6, 7 < 0.05
3.	Трипсин 10 мин	8	87.3 ± 1.1	3 – 4, 6, 7 < 0.05
4.	Трипсин 20 мин	8	75.6 ± 1.6	4 – 5, 7 < 0.05
5.	Трипсин 10 мин + наночастицы 2 ч	8	86.3 ± 1.7	5 – 6, 7 < 0.05
6.	Трипсин 20 мин + наночастицы 2 ч	8	73.4 ± 2.2	6 – 7 < 0.05
7.	Исходная клеточная суспензия	8	94.7 ± 1.4	В остальных случаях p > 0.05

Рис. 3 иллюстрирует эффект обработки трипсином на поглощение клетками наночастиц CdSe/ZnS/цистеин. В клетках наблюдалось слабое свечение цитоплазмы и более яркая флуоресценция мембраны (рис. 3а). После 10-минутной трипсинизации флуоресценция была несколько ярче, при этом встречались клетки с очень ярким свечением по всему объему (рис. 3б). После 20-минутной обработки клеток трипсином поглощение ими наночастиц заметно усиливалось, их флуоресценция после инкубации с суспензией квантовых точек была значительно интенсивнее, чем в клетках, не обработанных трипсином или обработанных этим препаратом в течение 10 мин (рис. 3в). Для того чтобы дифференцировать живые клетки от погибших и проанализировать поглощение наночастиц живыми клетками, клетки в суспензиях были окрашены трипановым синим. При такой обработке наблюдается заметное снижение яркости свечения клеток, что, вероятно, объясняется тушением внеклеточной флуоресценции наночастиц (в том числе наночастиц, адсорбированных на мембране, но не вошедших в клетки) и флуоресценции погибших клеток, в которые проникает трипановый синий. Клетки, окрасившиеся трипановым синим, начинают светиться в красной области, что обусловлено флуоресценцией комплекса этого красителя, проникшего в клетки, с цитоплазматическими белками [30, 31]. В целом, рис. 3 демонстрирует, что более яркая флуоресценция трипсинизированных клеток по сравнению с не обработанными трипсином сохраняется и после окраски трипановым синим. Это свидетельствует, что живые клетки после трипсинизации более интенсивно поглощают наночастицы, а следовательно, флуоресцируют ярче.

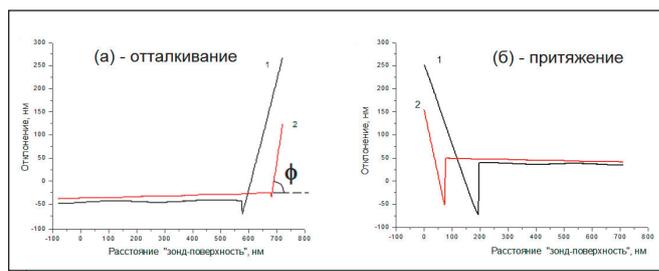
Анализ методами АСМ контрольных и обработанных в течение 10 мин трипсином образцов показал различия в свойствах клеточной мембраны. Из-за сферической формы клеточных структур шероховатость была оценена на различных участках клеточной мембраны размером ~1–1.5 мкм<sup>2</sup> и усреднена. Оказалось, что шероховатость поверхности увеличилась в 4–5 раз и составила 6–8 нм и 36–40 нм на контрольном и обработанном трипсином образцах соответственно.

Атомно-силовая микроскопия позволяет оценить жесткость клеточной мембраны и величину адгезии между иглой



**РИСУНОК 3** | Клетки АКЭ, окрашивание наночастицами CdSe/ZnS/цистеин после трипсинизации, люминесцентная микроскопия: а – без обработки трипсином; б – трипсинизация 10 мин; в – трипсинизация 20 мин. Справа – обработка трипановым синим после окрашивания наночастицами, слева – без обработки трипановым синим

атомно-силового микроскопа и изучаемым объектом (клеткой) [32, 33]. Как правило, «зубец» на кривой подвода иглы к образцу (рис. 4а) обусловлен резким притяжением зонда к поверхности и зависит от свойств иглы и анализируемой поверхности (капиллярными силами, электростатическим взаимодействием и т.д.). При прочих равных условиях (постоянная влажность, одна и та же игла микроскопа) оказалось, что высота зубца больше в случае обработанной трипсином культуре. Вероятно, заряд на клеточной мембране после обработки трипсином был больше по сравнению с контрольным образцом. При этом следует отметить, что и угол наклона φ (рис. 4а) на силовой кривой различен для обработанного и необработанного клеточных образцов и приблизительно равен 61.5 и 72 градусам для зависимостей 1 и 2 соответственно. Чем этот угол меньше, тем «мягче» образец. Следовательно, данные рис. 4а свидетельствуют, что поверхность клеток, обработанных трипсином менее жесткая, чем исходного образца клеток. Аналогично, при отводе иглы



**РИСУНОК 4** | Кривые подвода (а) и отвода (б) иглы АСМ к поверхности клеток: 1 – обработанной трипсином, 2 – необработанный контрольный образец

от поверхности, более пологая кривая (углы 60 и 71 градусов для зависимостей 1 и 2) соответствует образцу с большей адгезией (рис. 4б). В анализируемых образцах большей адгезией к игле АСМ обладают клетки, обработанные трипсином.

Таким образом, после обработки трипсином изменяются свойства поверхности опухолевых клеток, уменьшается их жесткость и увеличивается адгезия клеточной мембраны к объекту зондирования поверхности.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что трипсин-чувствительные сайты на мембранах участвуют в регуляции процесса поглощения. Так как нарушение их структуры протеолитической обработкой ведет к усилению адсорбции и поглощения наночастиц, вероятно, эти структуры ограничивают проникновение наноразмерных объектов в клетку, играя барьерную роль и оказывая влияние на связывание наночастиц с мембраной. Один из предполагаемых механизмов может быть следующим. Первым шагом процесса интернализации является адсорбция частиц на мембране. При изучении процессов адсорбции высокомолекулярных белков плазмы крови на мембранах эритроцитов показано, что обработка этих клеток трипсином приводит к увеличению показателя адсорбции. Полагают, что под воздействием трипсина

происходит протеолиз наружных фрагментов мембранных белков и образование на поверхности мембраны заряженных группировок, на которых может осуществляться адсорбция [34]. Возможно, что подобное увеличение заряда поверхности клеток, обработанных трипсином, является причиной более интенсивного поглощения наночастиц. В пользу этого предположения свидетельствуют и полученные нами с помощью АСМ данные об увеличении адгезивности клеточной мембраны. Кроме того, протеолитическое расщепление также может обуславливать активацию структур, участвующих в рецепции и трансмембранном переносе, например, трипсин способствует активации эпителиальных натриевых каналов [35, 36]. Однако не ясно, может ли подобный процесс иметь значение для усиления адсорбции и поглощения наночастиц.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наночастицы с покрытием из цистеина могут быть использованы в качестве стабильного нетоксичного флуоресцентного маркера для клеток карциномы Эрлиха, способных расти в организме животного. Это позволит расширить возможности изучения межклеточных взаимодействий в процессе онкогенеза при исследованиях *in vivo*.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hild W.A., Breunig M., Goeferich A. // *European J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008. V. 68. № 2. P. 153–168.
- Jamieson T., Bakhshi R., Petrova D., Pockock R., Imani M., Seifalian A.M. // *Biomaterials*. 2007. V. 28. P. 4717–4732.
- Michalet X., Pinaud F.F., Bentolila L.A., Tsay J.M., Doose S., Li J.J., Sundaresan G., Wu A.M., Gambhir S.S., Weiss S. // *Science*. 2005. V. 307. № 5709. P. 538–544.
- Resch-Genger U., Grabolle M., Cavaliere-Jaricot S., Nitschke R., Nann T. // *Nature Methods*. 2008. № 9. V. 5. P. 763–775.
- Sukhanova A., Devy J., Venteo L., Kaplan H., Artemyev A., Oleinikov V., Klinov D., Pluot M., Cohen J.H.M., Nabiev I. // *Anal. Biochem*. 2004. V. 324. P. 60–67.
- Nabiev I., Sukhanova A., Artemyev M., Oleinikov V. *Colloidal Nanoparticles in Biotechnology*, John Wiley, 2008. P. 133–168.
- Thurn K.T., Brown E.M. B., Wu A., Vogt S., Lai B., Maser J., Paunesku T., Woloschak G. // *Nanoscale Res Lett*. 2007. V. 2. P. 430–441.
- Sahay G., Alakhova D.Y., Kabanov A.V. // *J. Controlled Release*. 2010. № 145. P. 182–195.
- Zhang L.W., Monteiro-Riviere N.A. // *Toxicological Sciences*. 2009. V. 110. № 1. P. 138–155.
- Xiao Y., Forry S.P., Gao X., Holbrook R.D., Telford W.G., Tona A. // *J. Nanobiotechnology*. 2010. V. 8. № 13. P. 8–13.
- Clift M.J., Rothen-Rutishauser B., Brown D.M., Duffin R., Donaldson K., Proudfoot L., Guy K., Stone V. // *Toxicol Appl. Pharmacol*. 2008. V. 232. № 3. P. 418–427.
- Harush-Frenkel O., Debotton N., Benita S., Altschuler Y. // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2007. V. 353. № 1. P. 26–32.
- Chung T.H., Wu S.H., Yao M., Lu C. W., Lin Y.S., Hung Y., Mou C.Y., Chen Y.C., Huang D.M. // *Biomaterials*. 2007. V. 19. P. 2959–2966.
- Payne C.K., Jones S.A., Chen C., Zhuang X. // *Traffic*. 2007. V. 4. P. 389–401.
- Foged C., Brodin B., Frokjaer S., Sundblad A. // *Int. J. Pharm*. 2005. V. 298. № 2. P. 315–322.
- Ryman-Rasmussen J.P., Riviere J.E., Monteiro-Riviere N.A. // *J. Investigative Dermatology*. 2007. V. 127. P. 143–153.
- Zhang H., Sun P., Liu C., Gao H., Xu L., Fang J., Wang M., Liu J., Xu S. // *Luminescence*. 2011. V. 26. P.
- Wei Z., Sun L., Liu J., Zhang J. Z., Yang H., Yang Y. // *Biomaterials*. 2014. V. 35. P. 387–392.
- Yawn E., Nathan A. Tetanus toxin receptors on nerve cells contain a trypsin-sensitive component // *Eur. J. Biochem*. 1986. V. 154. P. 403–407.
- Lorca G., Torino M.I., Font de Valdez G., Ljungh A. A. // *FEMS Microbiol Lett*. 2002. V. 206. № 1. P. 31–37.
- Burgess J.W., Kiss R.S., Zheng H., Zachariah S., Marcel Y.L. // *J. Biol. Chem*. 2002. V. 277. № 35. P. 31318–31326.
- Grillo L.A., Pontes E.G., Gondim K.C. // *Insect. Biochem. Mol. Biol*. 2003. V. 33. № 4. P. 429–438.
- Han Y.S., Bastianetto S., Dumont Y., Quirion R.J. // *Pharmacol. Exp. Ther*. 2006. V. 18. № 1. P. 238–345.
- Arima H., Aramaki Y., Tsuchiyax S. // *J. Pharmaceutical Sciences*. 1997. V. 86. № 7. P. 786–790.
- Murray C.B., Norris D.J., Bawendi M.G. // *J. Am. Chem. Soc*. 1993. V. 115. P. 8706–8709.
- Choi H.S., Liu W., Misra P., Tanaka E., Zimmer J.P., Ipe B.I., Bawendi M.G., Frangioni J.V. // *Nat. Biotech*. 2007. V. 25. P. 1165–1170.
- Терпинская Т.И. // *Новости медико-биологических наук*. 2011. № 1. С. 24–30.
- Терпинская Т.И., Кашевский Б.Э., Кульчицкий В.А. // *Новости медико-биологических наук*. 2008. № 1–2. С. 83–87.
- Duan H.W., Nie S.M. // *J. Am. Chem*. 2007. V. 129. P. 3333–3338.
- Busetto S., Trevisan E., Patriarca P., Menegazzi R. // *Cytometry*. 2004. P. A. V. 58A. P. 201–206.
- Avelar-Freitas B.A., Almeida V.G., Pinto M.C.X., Moura F.A.G., Massensini A.R., Martins-Filho O.A., Rocha-Vieira E., Brito-Melo G.E.A. // *Brazilian J. Medical and Biological Research*. 2014. V. 47. № 4. P. 307–315.
- Сафенкова И.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. // *Успехи биологической химии*. 2012. Т. 52. С. 281–314.
- Israelashvili J.N. *Intermolecular and Surface Forces*. Acad. Press, 1992.
- Чирикова О.А. Факторы, определяющие процесс адсорбции высокомолекулярных белков плазмы крови на мембранах эритроцитов при мышечных нагрузках. Авт. дис. канд. биол. наук 03.00.13 – физиология. Ярославль, 2006. 22 с.
- Bengrine A., Li J., Hamm L.L., Awayda M.S. // *J. Biol. Chem*. 2007. V. 282. № 37. P. 26884–26896.
- Gondzik V.L., Weber W.M., Awayda M.S. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2012. V. 303. № 9. P. 936–946.