

Разработка высокочувствительных методов детекции магнитных наночастиц по нелинейному перемагничиванию, а также применений таких методов

Никитин М.П., Ксенович Т.И., Никитин П.И.
лаборатория "Биофотоника" отдела СПЯ ЦЕНИ ИОФ РАН

Работы Никитина М.П., Ксенович Т.И. и Никитина П.И. посвящены исследованиям в области физики по:

- разработке оригинальных высокочувствительных и количественных методов детекции магнитных наночастиц (МЧ) по их нелинейному перемагничиванию,
- созданию соответствующих экспериментальных устройств для высокочувствительной детекции МЧ, не имеющих мировых аналогов по достигнутому порогу чувствительности,
- разработке методик применения указанных выше методов и устройств в качестве исследовательских и метрологических инструментов для различных областей науки и техники.

Основные работы цикла посвящены разработке и оптимизации оригинальных высокочувствительных методов детекции магнитных наночастиц по нелинейному перемагничиванию [1-5]. Методы основаны на воздействии на МЧ переменным магнитным полем, по крайней мере, на двух частотах f_1 и f_2 , и на регистрации индукционного отклика на комбинаторной частоте $f = m \cdot f_1 + n \cdot f_2$, где m и n – целые числа. Значения коэффициентов m и n могут варьироваться для выбора частоты отклика, обладающего наибольшим отношением "сигнал-шум". Проведено исследование оптимального диапазона частот для регистрации магнитных наночастиц применительно к разнообразным задачам как фундаментальных, так и прикладных исследований. Установлено, что для наиболее распространенных наночастиц на основе оксидов железа Fe_3O_4 или $\gamma-Fe_2O_3$ наибольшее отношение "сигнал-шум" достигается при регистрации отклика на частоте $f = f_1 \pm 2 \cdot f_2$, использовании частот высокочастотного поля f_1 в диапазоне 100 кГц - 1 МГц и частот низкочастотного поля f_2 в интервале 100 Гц - 1 кГц. Порог регистрации суммарной массы магнитного материала составил 3 нг в объеме 0,5 см³, а линейный динамический диапазон - почти 5 порядков величины [1-3]. Разработанный метод позволил достичь порога детекции на 3 порядка лучше по общепринятому для анализаторов параметру "анализируемая площадь на одну детектируемую магнитную частицу", чем у третьего поколения сенсорных устройств BARC-III, разработанных в Лаборатории Военно-Морских Сил США основе на эффекта гигантского магнитосопротивления (см. J.C.Rife et al. Sensors and Actuators A 107, 2003, стр. 209-218), которые являлись лидерами до публикаций представленного на конкурс работ [1-5].

Проведенное сравнение разработанного электронного метода с детекцией радиоактивных МЧ на основе изотопов ⁵⁹Fe по сопутствующему γ -излучению показало одинаковую чувствительность обоих методов [2]. Однако разработанный авторами электронный метод намного удобнее в силу своей безопасности, меньшей стоимости, возможности простой калибровки, отсутствия фона, точности измерений динамики МЧ в реальном времени в разнообразных задачах, а также по доступности магнитных наночастиц, которые по химическому составу представляют почти обыкновенную ржавчину, но в наноформе.

Разработан высокочувствительный метод неинвазивной регистрации магнитных наночастиц в живом организме экспериментальных животных, а также создан прототип прибора с выносным индукционным зондом, позволяющим регистрировать по нелинейному перемагничиванию менее 1 мкг МН на глубине до 20 мм в живом организме [4,5]. Показано, что магнитные наночастицы в сочетании с разработанным методом их детекции могут успешно заменить традиционные радиоактивные и флуоресцентные метки в целом ряде направлений биомедицинских исследований.

Разработаны новые физические методы применения магнитных наночастиц в качестве маркеров биомолекул (в частности, антител), и на этой основе разработаны принципиально

новые скоростные и высокочувствительные методы биохимического анализа, названных авторами магнитным иммуноанализом. Показано, что предложенные авторами новые физические подходы при использовании стандартных биохимических реагентов позволяют улучшить порог обнаружения аналита на 1-2 порядка, сократить время анализа до 15 – 25 минут по сравнению с 3-4 часами при традиционных методах, обеспечивают уникальную возможность анализа сложных жидкостей (например, цельной крови) без предварительной трудоемкой подготовки пробы, необходимой для традиционных методов [1,3]. Подчерним, что достижение указанных параметров и характеристик анализа стало возможным не за счет биологических или химических улучшений, а благодаря [1,3]:

- замене стандартных оптических меток ОМ (флуоресцентных, окрашивающих ферментных) магнитными наномаркерами в сочетании с разработанными устройствами количественной детекции МЧ;

- использованию 3D пористых структур и фотонных кристаллов, не совместимых со стандартными ОМ, но которые обладают большой активной поверхностью для проведения анализов и хорошо совместимы с МЧ и разработанными методами детекции;

- реализованному скоростному режиму фильтрации аналита на селективной молекулах на активной 3D структур, и таким образом устранению кинетических ограничений, присущих стандартным реакциям на плоских 2D поверхностях, на которых лишь могут быть считаны традиционные оптические метки;

- отсутствием нелинейных ферромагнитных компонентов в цельной крови и подавляющем большинстве других анализируемых сложных сред, прямой анализа которых невозможен стандартными методами в силу их недостаточной оптической прозрачности.

Кроме того, авторами цикла разработана принципиально новая концепция использования МЧ в качестве управляемых с помощью магнитных полей носителей разнообразных нано- и микрообъектов, одновременно обладающих различными функциональными свойствами в зависимости от цели применения, а также методика получения таких многофункциональных структур [6]. В качестве демонстрации метода были получены трифункциональные магнитные и, одновременно, флуоресцентные частицы, нацеленные миниантителами на опухолевые клетки. Для наглядной демонстрации их функционального действия источник градиентов магнитного поля был сформирован из ферромагнитной фольги в виде букв “MF” (MultiFunctional). При поднесении к фольге постоянного магнита раковые клетки в растворе с такими структурами выстраивались по контуру букв. Фотосъемка через флуоресцентный микроскоп подтвердила наличие в структурах и квантовых точек, формирующих флуоресцентное изображение тех же букв. Разработанная методика сборки многофункциональных структур достаточно универсальна и позволяет получать структуры с заранее программируемым в широком диапазоне набором физических и иных необходимых свойств. Такие многофункциональные структуры на основе МЧ легко регистрируются описанными выше методами детекции [1-5]. Результаты данного цикла работ были опубликованы в ведущих журналах, включая журнал Proceedings of National Academy of Sciences (USA, импакт-фактор - 9.5) [1-6].

Разработанные детекторы МЧ успешно внедрены авторами цикла работ в качестве метрологических инструментов для разнообразных исследований в области медицины, химии и биологии [7-10]. Однако, указанные работы [7-10] авторов цикла не выносятся на конкурс работ по физике, поскольку их основные результаты лежат в смежных областях естественных наук.

Результаты работ докладывались на семинарах ИОФ РАН, представлялись в качестве приглашенных докладов на ряде ведущих физических конференций, включались в отчеты ИОФ качестве предложений в доклад академика-секретаря ОФН РАН, входили в доклады руководства РАН правительству РФ.

Список публикаций авторов выносимых на конкурс работ по физике:

1. P.I. Nikitin, P.M. Vetoshko, T.I. Ksenevich. New Type of Biosensors Based on Magnetic Nanoparticle Detection. *J. Magn. Magn. Mater.* Vol. 311, pp. 445–449, 2007.
2. M.P. Nikitin, M. Torno, H. Chen, A. Rosengart, P.I. Nikitin. Quantitative real-time *in vivo* detection of magnetic nanoparticles by their non-linear magnetization. *Journal of Applied Physics.* Vol. 103, 07A304, 2008.
3. P.I. Nikitin, P.M. Vetoshko, T.I. Ksenevich. Magnetic Immunoassays. *Sensor Letters*, Vol. 5, pp. 296-299, 2007.
4. M.P. Nikitin, P.M. Vetoshko, N.A. Brusentsov, P.I. Nikitin. Highly Sensitive Room Temperature Method of Non-Invasive *in vivo* Detection of Magnetic Nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.*, vol 321. pp. 1658–1661, 2009.
5. M.P. Nikitin, M.V. Yuriev, N.A. Brusentsov, P.M. Vetoshko and P.I. Nikitin. “Non-Invasive In Vivo Mapping and Long-Term Monitoring of Magnetic Nanoparticles in Different Organs of Animals”. American Institute of Physics: Conference Proceedings 1311, p.452-457, 2010.
6. M.P. Nikitin, T.A. Zdobnova, S.V. Lukash, O.A. Stremovskiy, S.M. Deyev. Protein-Assisted Self-Assembly of Multifunctional Nanoparticles. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA.* (PNAS). Vol. 107, pp. 5827-5832, 2010.

Список публикаций авторов цикла по внедрению разработанных физических методов и устройств в качестве метрологических инструментов для разнообразных исследований в области медицины, химии и биологии, не выносимые на данный конкурс.

7. Н.А. Брусенцов и др. Противоопухолевый эффект комбинации магнитогидродинамической термохимиотерапии с магнитно-резонансной томографией. *Химико-фармацевтический журнал.* Т. 44, № 6, стр. 7-11 (2010)
8. В.Р. Черкасов и др. Синтез магнитоуполненных полимерных микросфер для иммуномагнито-метрического анализа. *Высокомолекулярные соединения.* Серия А. т. 48, N 4, с. 572-579, 2006.
9. П.И. Никитин и др. Устройство для твердофазного иммуноанализа и способ твердофазного иммуноанализа. *Патент Российской Федерации на изобретение N 2395093.* Патентообладатель ИОФ РАН. Зарегистрировано в ГРФ 20.07.10, опубликовано в Бюл. Изобр. (20.07.2010) № 20.
10. M.P. Nikitin и др. Magnetic Nanoparticle Degradation *in vivo* Studied by Mössbauer Spectroscopy. American Institute of Physics: Conference Proceedings 1311, p. 401-407, 2010.