**Применение наночастиц ферритов цинка и марганца для визуализации биомолекул в клетке**

***Иванова Е.Е.,1 Иванова А.В.,1,2* *Абакумов М.А.1,2***

*Студент, 1 курс магистратуры*

*1Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»,  
лаборатория «Биомедицинские наноматериалы», Москва, Россия*

*2* *Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, отдел медицинских нанобиотехнологий, Москва, Россия*

*E-mail: m1803014@edu.misis.ru*

Иммуномечение с использованием наночастиц золота (ЗНЧ) является широко используемым методом окрашивания в электронной микроскопии. Данный метод является эквивалентом метода непрямого иммунофлуоресцентного анализа. Иммуномечение с использованием системы «Immunogold», представляющей собой золотые наночастицы конъюгированные чаще всего с вторичными антителами, позволило локализовать различные внутриклеточные структуры при помощи просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Существенным недостатком использования ЗНЧ в качестве высокоспецифичных зондов является невозможность их применения для более чем двух сайтов связывания одновременно ввиду того, что единственным отличием будет размерный фактор. В нашей работе мы предлагаем заменить ЗНЧ в составе высокоспецифичных зондов на наночастицы сложных оксидов железа. Таким образом, использование ПЭМ в совокупности с энергодисперсионным рентгеновским анализом облегчит задачу распознавания сайтов связывания и позволит единовременно детектировать несколько мишеней путем составления карты распределения элементов. Благодаря полученной карте можно будет сделать вывод о распределении высокоспецифичных зондов на различных сайтах связывания.

Наночастицы (НЧ) ферритов цинка и марганца были получены методом термического разложения в дибензиловом эфире. Методом ПЭМ определен размер магнитного ядра, равный 7.2 ± 2.0 нм и 8.1 ± 2.2 нм для MnFe2O4 и ZnFe2O4 соответственно. Размеры единичных кристаллитов, рассчитанные методом рентгеноструктурного анализа, для MnFe2O4 (6.2 ± 0.2 нм) и ZnFe2O4 (6.4 ± 0.2 нм) сопоставимы с размерами магнитных ядер, полученными методом ПЭМ, что говорит об одноименности синтезированных НЧ. Была произведена ковалентная модификация поверхности наночастиц молекулами 3,4-дигидроксофенилуксусной кислоты (ДОПАК) и дальнейшая функционализация поверхности молекулами поли(этилен гликоль)2-аминоэтиловым эфиром уксусной кислоты (ПЭГ). Получены ИК-спектры НЧ на каждой стадии синтеза, таким образом было подтверждено успешное связывание молекул ДОПАК и ПЭГ между собой и с поверхностью НЧ. Было проведено исследование временной стабильности НЧ-ДОПАК-ПЭГ в трех водно-солевых буферах, по результатам которого было принято решение о дальнейшем проведении экспериментов в натрий-фосфатном буфере (PBS). На следующем этапе была проведена конъюгация НЧ с флуоресцентно мечеными моноклональными антителами (МАТ) по карбодиимидному методу. Наличие антител в конъюгате определяли методом непрямого иммуноцитохимического анализа. В качестве первичных МАТ использовались антитела к белку микротрубочек α-тубулина. В качестве вторичных видоспецифичных антител были выбраны антитела с флуоресцентным красителем Alexa488, входящие в состав нашего высокоспецифичного зонда на основе НЧ. Показано успешное связывание полученных нанозондов с белком микротрубочек (α-тубулин) методом конфокальной микроскопии. Показана высокая временная стабильность полученных высокоспецифичных зондов в PBS.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 21-13-00438.*