

УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ МАГНЕТИТА ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ

^{1,2}Шут В.Н., ¹Мозжаров С.Е., ²Янченко В.В.

¹Институт технической акустики НАН Беларуси, г. Витебск, Беларусь

²Витебский государственный технологический университет, г. Витебск, Беларусь

²ОДО «Научно-исследовательское предприятие Ресан»,

²Витебский государственный медицинский университет

г. Витебск, Беларусь, E-mail: shut@vitebsk.by

Для задач биологии и медицины широкое применение нашли магнитные ультрадисперсные частицы, которые при связывании с биологически активными компонентами или клеточными структурами делают образовавшиеся конъюгаты магнитоуправляемыми [1]. Это позволяет высокоэффективно использовать их для выделения пептидов, белков, поликлональных антител при проведении клеточной сепарации, удаления из кровотока одиночных злокачественных клеток, подготовке клеточного материала перед его трансплантацией онкологическим больным. Все большее распространение получает идея адресной доставки лекарственных средств в зоны патологии с помощью внешнего магнитного поля. Магнитные частицы довольно широко применяют при проведении локальной гипертермии раковых опухолей, когда они могут удерживаться с помощью внешнего магнитного поля в органе-мишени. В качестве магнитных ультрадисперсных частиц используются редкоземельные элементы: неодим (Nd), самарий (Sm), европий (Eu), гадолиний (Gd), тербий (Tb), диспрозий (Dy), гольмий (Ho), тулий (Tm) Применяются также магнитные коллоидные жидкости, содержащие железо, кобальт и никель [2].

Наиболее распространенными являются жидкости на основе частиц магнетита (Fe_3O_4), поскольку кобальт и никель проявляют токсические свойства и подвержены окислению [3,4]. Ядро частицы магнетита представляет собой оксид трехвалентного железа, покрытое слоем оксида двухвалентного железа [5]. Одним из возможных методов получения ультрадисперсных частиц магнетита является сонохимический [6], который и был использован в настоящей работе.

На рисунке 1 приведена фотография лабораторной установки для проведения сонохимических реакций.

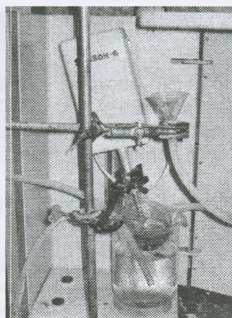
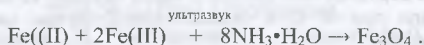


Рисунок 1 – Фотография лабораторной установки для проведения сонохимических реакций

Использовался ультразвуковой генератор УЗДН-А с пьезоэлектрическим преобразователем. Концентратор изготовлен из титана. Реакционный сосуд погружался в емкость, подключенную к прокачному термостату У1.

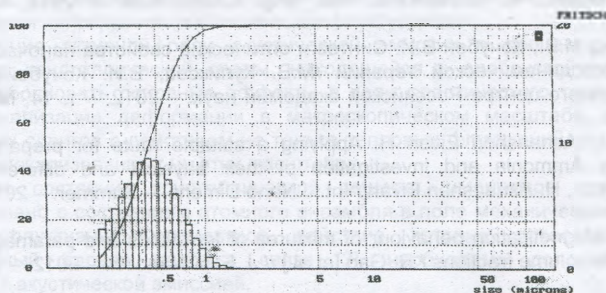
При использовании сонохимического метода, сложный оксид железа (Fe_3O_4) – магнетит образуется под действием ультразвука, при добавлении раствора аммиака в

водный раствор солей двухвалентного и трехвалентного железа. Реакцию образования магнетита можно записать так:

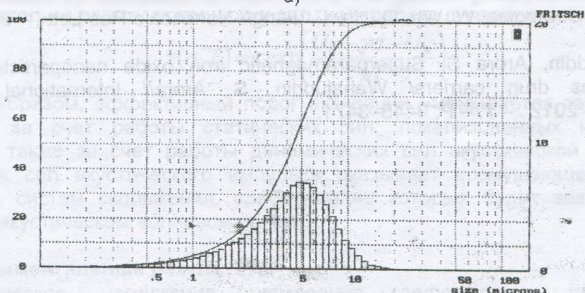


Полученный на лабораторной установке порошок Fe_3O_4 был промыт в дистиллированной воде с использованием ультразвука и осажден в магнитном поле.

На рисунке 2а показаны результаты гранулометрического анализа магнетита, полученного при воздействии ультразвука. Анализ проводился с помощью прибора ANALYSETTE 22 MicroTec plus фирмы «FRITSCH». Среднеарифметический диаметр частиц полученного магнетита составлял 490 нм. Для сравнения, на рисунке 2б приведены результаты гранулометрического анализа магнетита, полученного без ультразвука; среднеарифметический диаметр – 4,7 мкм.



а)



б)

Рисунок 2 – Графики Fritsch-анализа порошка магнетита, полученного при воздействии ультразвука – а); без ультразвука – б)

Для того чтобы к частицам оксида железа присоединились биологически активные компоненты необходимо их обработать определенным образом, например, лакировать поливиниловым спиртом [7]. Для этого порошок диспергировался ультразвуком в водном растворе ПВС. После промывки полученный порошок использовался для конъюгация моноклональными антителами. Использовали моноклональные антитела CD4, клон S3.5, изотип mSgG_{2a}, Mouse Anti-Human.

Активации частиц магнетита лакированных поливиниловым спиртом проводили глутаровым альдегидом. Реакция активации частиц предварительно проводилась в 25%-ном растворе глутарового альдегида при 4° С в течение суток. Затем, после магнитной сепарации и промывки частиц в дистиллированной воде активация продолжалась в 25%-ном водном растворе глутарового альдегида в течение одного часа при 40°С и pH=2. Активированные частицы отмывались в воде. К 10% суспензии

частиц добавляли раствор моноклональных антител CD4 с pH=7,2 в концентрации 0,3 г/л перемешивали на вортексе IKA Genius 3 через каждые 15 минут в течение первых 3 часов и инкубировали при 4° С в течение суток. Затем частицы снова отмывали дистиллированной водой.

Готовые ферромагнитные частицы с моноклональными антителами использовали для магнитной сепарации из цельной крови CD4 лейкоцитов. Степень очистки лейкоцитов составила 87–92%.

Список литературы:

1. Colombo M. Biological applications of magnetic nanoparticles / M. Colombo [et al.] // Chem. Soc. Rev. – 2012. – Vol. 41, № 11. – P. 4306–4334.
2. Dupont D., Luyten J., Bloemen M., Verbiest T., Binnemans K. Acid-Stable Magnetic Core-Shell Nanoparticles for the Separation of Rare Earths/ D. Dupont, J. Luyten, M. Bloemen, T. Verbiest, K. Binnemans// Ind. Eng. Chem. Res. – 2014. – 53. – P. 15222–15229.
3. Куликова М.В., Кочубей В.И. Синтез и оптические свойства наночастиц оксида железа для фотодинамической терапии /М.В. Куликова, В.И. Кочубей// Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – т. 14, №4. –С.206–209.
4. Arabi H., Asnaashari Eivari H. Applying a suitable route for preparation Fe₃O₄ nanoparticles by Ammonia and investigation of their physical and different magnetic properties/ H. Arabi , H. Asnaashari Eivari// Int. J.Nano Dimens. – Summer. – 2014. – 5(3). – P. 297–303.
5. Gao R. Magnetisation behaviour of mixtures of ferrofluids and paramagnetic fluids with same particle volume fractions / R. Gao [et al.] // J. Exp. Nanosci. – 2012. – Vol. 7, Is. 3. – P. 282–297.
6. Wu W., He Q., Jiang C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies/ W. Wu, Q. He, C. Jiang// Nanoscale Res Lett . – 2008. – №3. – P. 397–415.
7. Wahajuddin, Arora S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers/ Wahajuddin, S. Arora// International Journal of Nanomedicine . – 2012. – 7. – P. 3445–3471.