

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАГНИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ КЛЕТОК**

**АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ**

Студента 2 курса 242 группы

Направления 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Абалымова Анатолия Анатольевича

Научный руководитель:

доцент кафедры микробиологии

и физиологии растений, к.б.н.

Е. В. Глинская

(подпись, дата)

Заведующий кафедрой:

д.б.н., профессор

С. А. Степанов

(подпись, дата)

Саратов 2017

## Введение

**Актуальность темы.** В регенеративной медицине тканевая инженерия является одним из направлений, занимающихся созданием биологических заменителей тканей и органов. Мы считаем, что магнитные микрокапсулы имеют большой потенциал в качестве универсальных платформ для точной целевой доставки конкретных клеток. Это может быть перенос остеогенных клеток для восстановления костной ткани, клеток эпителия для восстановления поврежденных сосудов или создание сложных 3D структур методом послойного наложения пластов клеток. Благодаря связыванию магнитных частиц с ионными механочувствительными каналами мембраны инициируется биохимический ответ клетки при воздействии переменного магнитного поля, что может стимулировать рост ткани. К данным частицам предъявляется ряд требований: нетоксичность, биodeградируемость, заряд, размер, опсонизация, фагоцитируемость и способность клеток к пролиферации [1].

Возможность манипулирования и направленного транспорта магнитных наночастиц, в градиенте внешнего магнитного поля, лежит в основе адресной доставки лекарственных препаратов, генов и клеток. Благодаря данной методике можно проводить терапию, манипулируя клетками в диапазоне десятков микрометров, что дает несомненное преимущество в использовании данной методики для терапии локальных повреждений сердечно-сосудистой и нервной систем. После примагничивания клеток в органе или ткани, на которые направленно терапевтическое воздействие, идет их закрепление за счет образования десмосом, и происходящее после ряда делений высвобождение капсул из клеток. Для клеточной терапии удобно использовать магнитные микрокапсулы, модифицированные ПЭГ, чтобы избежать адсорбции белков на поверхности капсулы. Размер капсул должен быть рассчитан исходя из упрощения выведения микрокапсул из организма и во избежание закупорки капилляров [2].

**Цель и задачи исследования.** Целью данных исследований является разработка методики адресной доставки клеток с магнитными микрокапсулами внутри посредством их перемещения в магнитном поле.

Задачи исследования:

- 1) оценка токсичности микрокапсул
- 2) визуализация прохождения микрокапсул сквозь клеточную мембрану;
- 3) определение оптимального количества эндоцитированных микрокапсул для перемещения клеток;
- 4) перемещение клеток линии MA-104 в капилляре под действием магнитного поля;
- 5) транспортировка отдельных клеточных пластов в магнитном поле.

#### **Материал и методы исследования.**

Объектом исследований являлась культуры животных клеток MA-104, NHDF, MSC, HeLa, Hep-2. MA-104 – это культура клеток выделенная из эпителия почки зеленой мартышки, HeLa – клеточная линия рака шейки матки, Hep-2 – линия клеток рака гортани, MSC – мезенхимальные стволовые клетки, а NHDF – первичная культура клеток фибробластов человека. Культуры клеток были предоставлены Санкт-Петербургским институтом цитологии российской академии наук. Первичная культура фибробластов предоставлена Саратовским центром термических поражений. Структуру и морфологию полученных образцов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (MIRA II LMU device (Tescan, Czech Republic)). Клеточные линии использовали в пассажах 2-6. Все клетки помещали отдельно в культуральные матрасы для клеточной культуры и культивировали в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла (DMEM, SigmaAldrich) дополненной 1% противогрибкового коктейля из пенициллина-стрептомицина (Sigma-Aldrich), 2 mM L-глутамин (Sigma-Aldrich) и содержащую 10% фетальной

бычьей сыворотки (FBS, Hyclone) в увлажненном инкубаторе (Innova CO-170, New Brunswick Scientific). Среду заменяли каждые 3 дня, клетки выращивались в увлажненном инкубаторе при 37°C с 5% CO<sub>2</sub>. Культуры клеток собирали с использованием 0,25% трипсина и подсчитывали с помощью гемоцитометра. Микрокапсулы стерилизуют 70%-ным этанолом в течение 30 минут и трижды промывают PBS. Клетки высевали в 24 или 96-луночные планшеты при плотности, описанной в отдельных экспериментах. На следующий день микрокапсулы добавляли при соотношениях от 5 до 100 капсул на клетку в тройном повторении. Свежую среду добавляли к каждой из 96-луночных планшетов. Затем клетки инкубировали (Innova CO-170, New Brunswick Scientific) при 37°C в течение 24 часов вместе с добавленными материалами. На последнем этапе к каждой лунке добавляли 10 мкл флуоресцентного красителя (AlamarBlue, Sigma-Aldrich) и интенсивность измеряли спектрофотометром (Gemini XPS Microplate Reader, Molecular Devices). Для окрашивания мембран и органел клетки мы использовали флуоресцентные красители calcein, DAPI и Alexa Fluor (Sigma-Aldrich) по стандартной методике.

**Структура и объём работы.** Работа изложена на 49 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 16 рисунками. Список использованных источников включает 61 наименование.

**Научная новизна.** Данное исследование направлено на создание новой методики перемещения клеток в магнитном поле с магнитными РАН/PSS капсулами внутри. Методика включает в себя как перемещение отдельных клеток, так и целых монослоев.

**Практическая значимость.** На основе полученных в ходе экспериментов данных возможно создание 3-D клеточных монослоев, которые могут являться прототипом верхних слоев эпителия и быть задействованы для ускоренной регенерации поврежденных покровов эпителия. Разработана методика изоляции клеток из потока среды в

стеклянном капилляре, который является симуляцией кровеносного сосуда. Данная методика может быть использована для регенерации сосудов.

**Апробация.** Устный доклад на IX региональной научной конференции «Исследования молодых ученых в биологии и экологии», посвященной 80-летию образования Саратовской области.

Постерный доклад на конференции Saratov Fall Meeting 2016 – симпозиум международных научных конференций «Оптика и биофотоника IV».

Устный доклад на всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Практическая биомеханика» 2015 г.

Постерный доклад на всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Практическая биомеханика» 2016 г.

#### **Публикации.**

1. Timothy E.L. Douglas, Suman Kumari, Kinga Dziadek, Michal Dziadek, Anatoly Abalymov, Pieter Cools, Gilles Brackman, Tom Coenye, Rino Morent, M.K. Mohan, Andre G. Skirtach. Titanium surface functionalization with coatings of chitosan and polyphenol-rich plant extracts // *Materials Letters*. Volume 196, 1 June 2017, Pages 213–216
2. Savelyeva M. S., Abalymov A. A., Lyubun G. P., Vidyasheva I. V., Yashchenok A. M., Douglas T. E., Gorin D. A., Parakhonskiy B. V. Vaterite coatings on electrospun polymeric fibers for biomedical applications // *J Biomed Mater Res A*. 2017 Jan. Volume 105. С. 94-103.
3. Ekaterina Lengert, Mariia Saveleva, Anatolii Abalymov, Vsevolod Atkin, Pieter C. Wuytens, Roman Kamyshinsky, Alexander L. Vasiliev, Dmitry A. Gorin, Gleb B. Sukhorukov, Andre G. Skirtach, Bogdan Parakhonskiy. Silver Alginate Hydrogel Micro- and Nanocontainers for Theranostics: Synthesis, Encapsulation, Remote Release, and Detection // *ACS Appl. Mater. Interfaces*, Article ASAP. June 12, 2017
4. I.V. Vidyasheva, A.A. Abalymov, O.A. Mayorova, D.A. Gorin TARGETED SMART CELL DELIVERY BY USING NANOCOMPOSITE MICROCAPSULES CONTAINING MAGNETITE NANOPARTICLES.

Saratov. Saratov Fall Meeting – SFM'16. International symposium. Optic and biophotonics – IV. C. 27

5. Maria Savelyeva, Anatoly A. Abalymov, German P. Lyubun, Ekaterina Prikhozhenko, Dmitry A. Gorin, Bogdan V. Parakhonskiy, BIOMEDICAL POTENTIAL OF COMPOSITE MATERIALS BASED ON POLYMERIC FIBERS COATED WITH POROUS CALCIUM CARBONATE. Saratov. Saratov. Saratov Fall Meeting – SFM'16. International symposium. Optic and biophotonics – IV. C. 32
6. Ekaterina Lengert, Alexey Yashchenok, Anatoly Abalymov, Dmitry Gorin, Gleb Sukhorukov, Bogdan Parakhonskiy, THERANOSTIC SYSTEM BASED ON HOLLOW SILVER ALGINATE CONTAINERS: SYNTHESIS, ENCAPSULATION, REMOTE RELEASE AND INTRACELLULAR SENSOR APPLICATION. Saratov. Saratov. Saratov Fall Meeting – SFM'16. International symposium. Optic and biophotonics – IV. C. 31

**Положения выносимые на защиту:**

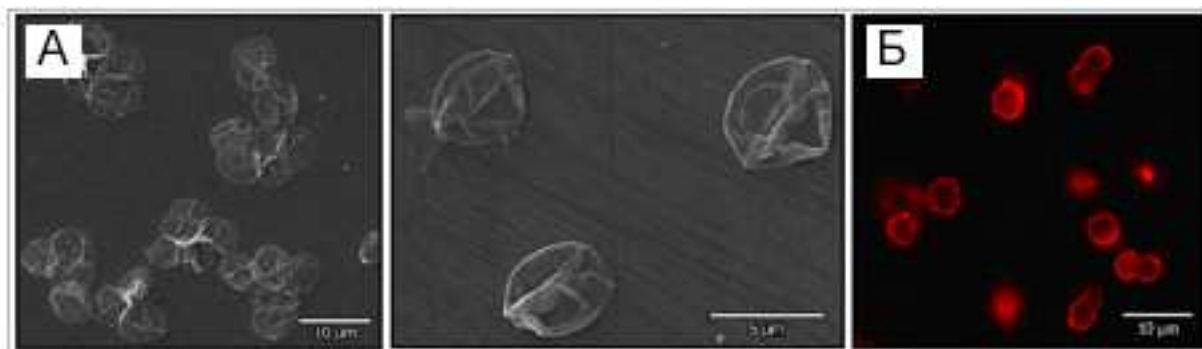
1. (PAH/PSS)<sub>2</sub>(PAH/FeNP)(PAH/PSS)<sub>2</sub>(PAHTRIC/PSS)<sub>2</sub> микрокапсулы не токсичны для клеточных культур;
2. оптимальным количеством микрокапсул для перенесения клетки – 3-5 капсул/клетка;
3. возможно изолировать клетки из потока среды в капилляре используя магнит переменного магнитного поля (0.5 Т), адсорбировать их на поверхности стенки капилляра и проследить их морфологию и пролиферацию;
4. разработана методика перемещения отдельных клеточных монослоев под действием постоянного магнитного поля (0.34 Т).

## Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о возможности использования магнитных наночастиц и микрокапсул в биомедицинских целях, доставке клеток и тканеинженерных конструкциях.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о выживаемости клеток и токсическом воздействии капсул на клетки, определении оптимального количества капсул для манипулирования клеткой в магнитном поле, возможности изолировать отдельные клетки из потока среды в капилляре и перенесение целых клеточных пластов для создания мультислойных культур.

Магнитные микрокапсулы изучались с помощью просвечивающей электронной микроскопии (рисунок 6).



А – электронная микроскопия, Б – конфокальная микоскопия

Рисунок 6 — Изображения микрокапсул

Размер их оценивался на основе изображений СЭМ, составляющих ~ 3-4 мкм, в то время как ядро измеряется ~3 мкм. Толщина одного полимерного PAA/PSS бислоя составляет 10 нм. Из-за низкого  $\zeta$ -потенциала (-25 mV) капсулы не образуют конгломератов и не образуют связи с белками, тем самым давая возможность использовать их *in vivo* без риска закупорки малых капилляров. В дальнейших экспериментах с линиями клеток MA-104, NHDF, HeLa, Hep-2, MSC мы показали отсутствие токсичности микрокапсул, используя качественные (пролиферация, адгезия и морфология клеточной линии) и количественные (анализ с Alamar blue) методы оценки выживаемости.

Клетки с магнитными капсулами после 24, 48 и 72 часов культивирования имели хорошо распределенную морфологию, типичную для прикрепленных клеток, с морфологией, типичной для всех используемых клеточных линий. Они прикреплены к культуральному пластику и демонстрировали достаточную клеточную адгезию и гомогенное распределение.

Определен процент выживших клеток (рисунок 7). Концентрация от 10 до 25 капсул на клетку не оказывала существенного влияния на жизнеспособность клеточных линий. Концентрация 50 и 100 капсул на клетку приводила к снижению жизнеспособности клеток, однако для некоторых культур данное отклонение было статистически незначительным. В ходе эксперимента было выяснено, что наиболее стабильными клеточными линиями являлись МА-104 и Нер-2, которые демонстрировали повышенный уровень живых клеток с концентрацией магнитных микрокапсул от 5 до 100 капсул на клетку, поэтому можно сделать вывод о том, что клетки обладают достаточной активностью и способностью к делению с магнитными микрокапсулами. На клетки линии NHDF и MSC высокие концентрации капсул оказывают более цитотоксичное воздействие, и при концентрации 50 капсул/клетка видно нарушение в процессе пролифериации, а при 100 капсул/клетка наблюдается шелушение мембраны и вакуолизация. Интересно отметить, что даже клетки с морфологическими нарушениями оставались прикрепленными в течении всего эксперимента (48 часов). Однако даже низкая концентрация капсул (10 капсул/клетка) оказывает более высокий цитотоксический эффект по сравнению с NHDF: NHDF – 89% при 10 капсул/клетка, MSC – 74% при той же концентрации. Клеточная культура рака шейки матки (HeLa) не продемонстрировала низких или высоких показателей выживаемости в данном эксперименте.



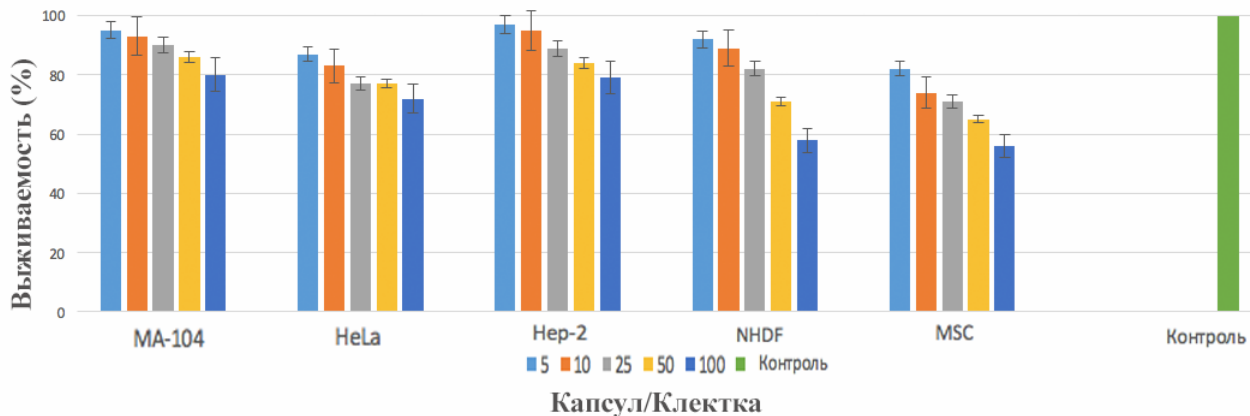


Рисунок 7 – Результат теста на цитотоксичность для магнитных микрокапсул с культурой MA-104

Нами было изучено проникновение магнитных капсул в клетку. Метод трехмерной реконструкции использовали для оценки проникновения капсул в клетки. Клетки окрашивали кальцеином (calcein) в соответствии с протоколом производителя, магнитные микрокапсулы были окрашены при синтезе красителем тетраметилгидродаминоном (TRITC). Затем клетки высаженные на культуральные чашки Петри наблюдали под конфокальным микроскопом. Была произведена оценка скорости поглощения клеткой капсул. На рисунке 6 отчетливо видно, как конгломерат из 4-х капсул в течение получаса после начала эксперимента поглощался клеткой. Для того, чтобы убедиться, что капсулы не опсонизировались на поверхности клетки, а именно поглотились ей мы прибегли к методу 3-D конфокальной реконструкции. В микроскопических изображениях красная флуоресценция внутри периферии клетки указывает на то, что капсулы проникли в клеточную мембрану (рисунок 7).

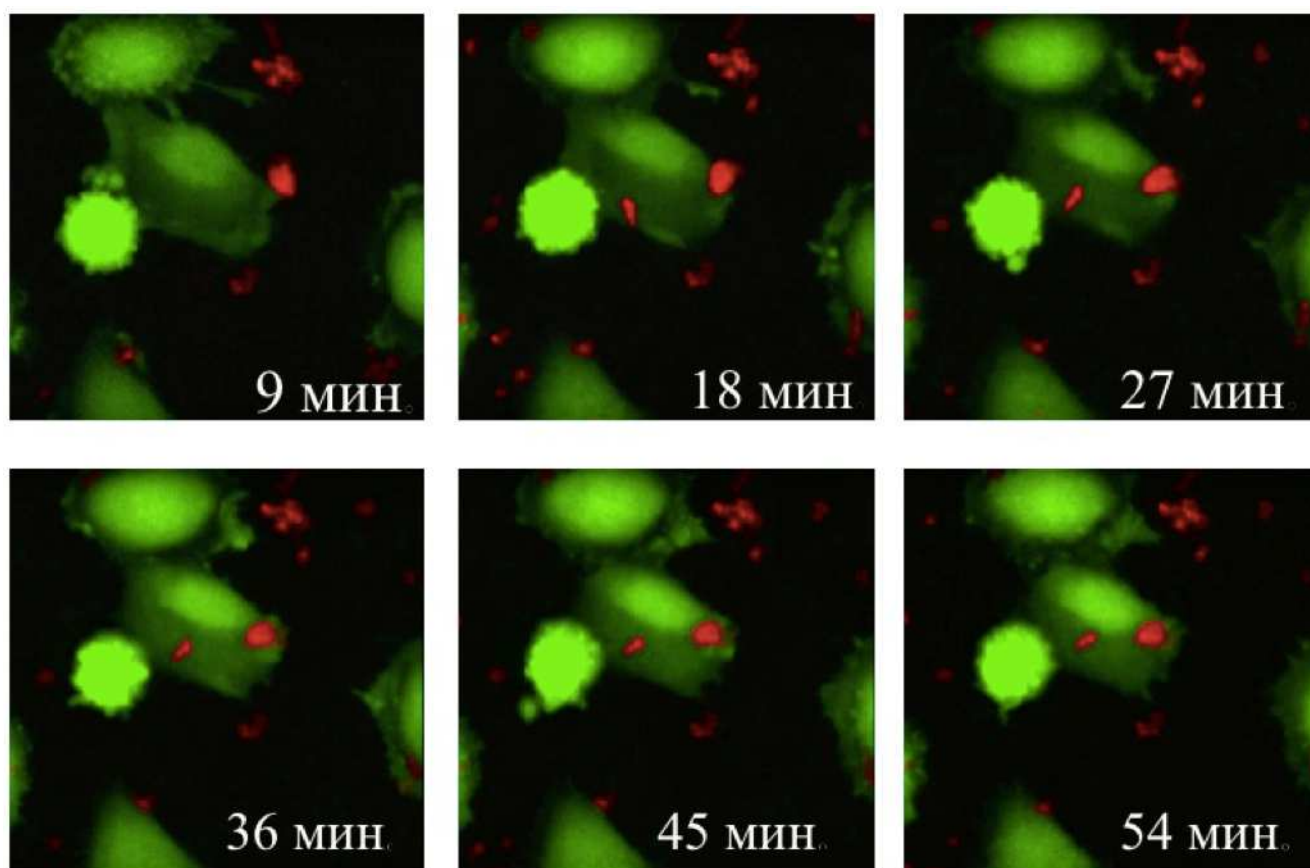


Рисунок 6 – Визуализация прохождения микрокапсул (краситель TRIC) через клеточную мембрану МА-104 (краситель calcein) в зависимости от времени

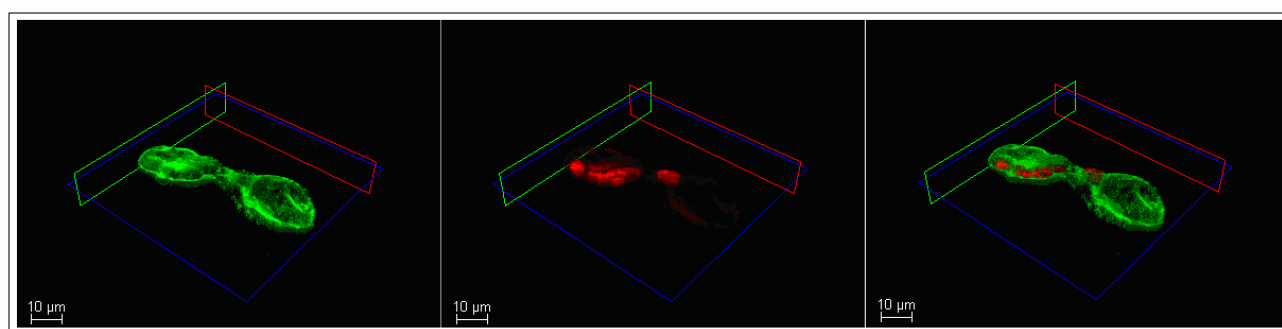
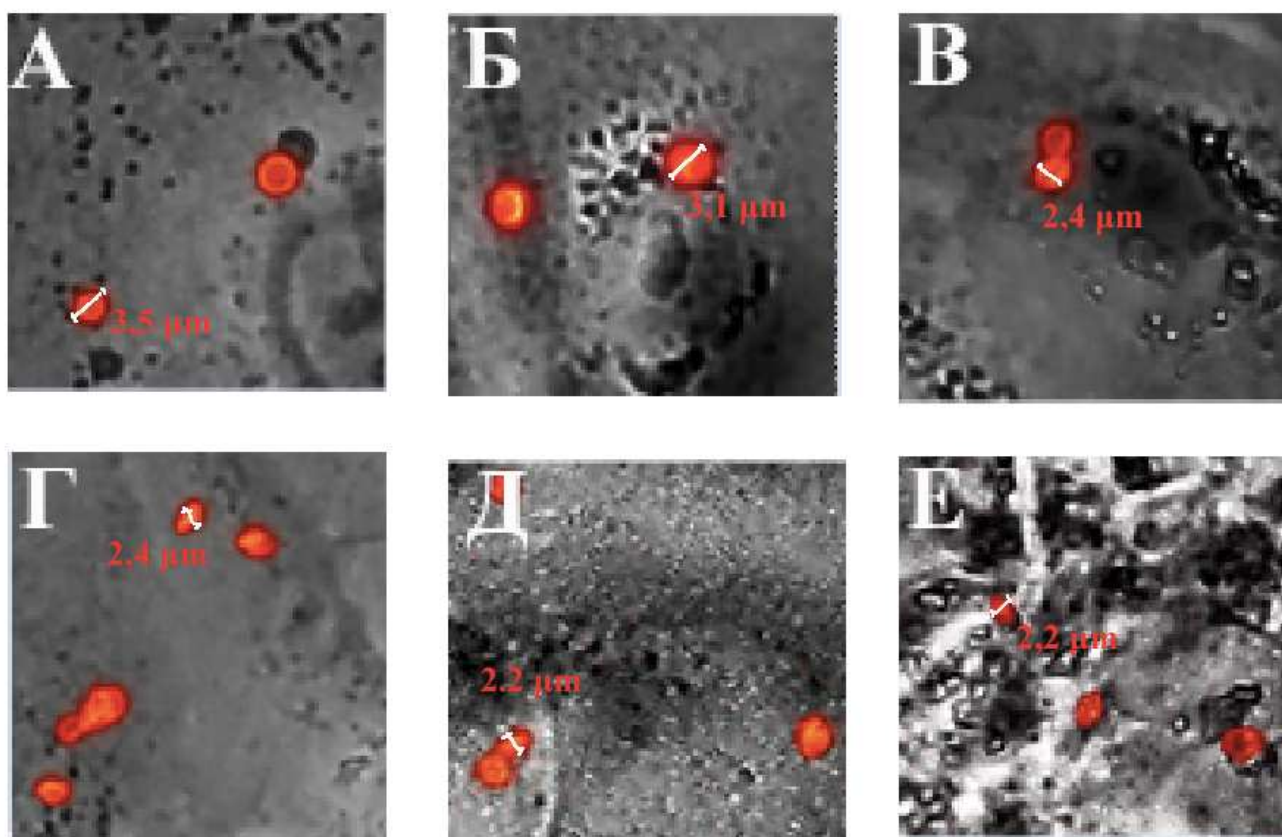


Рисунок 7 – 3-D конфокальная реконструкция клеток МА-104 с магнитными микрокапсулами внутри

При процессе эндоцитоза клетка механически воздействует на капсулу благодаря актиновым волокнам, которые являются частью вновь

образованных псевдоподий. В связи с этим, форма капсул и их размер изменялся в зависимости от времени их пребывания внутри клетки (рисунок 8)



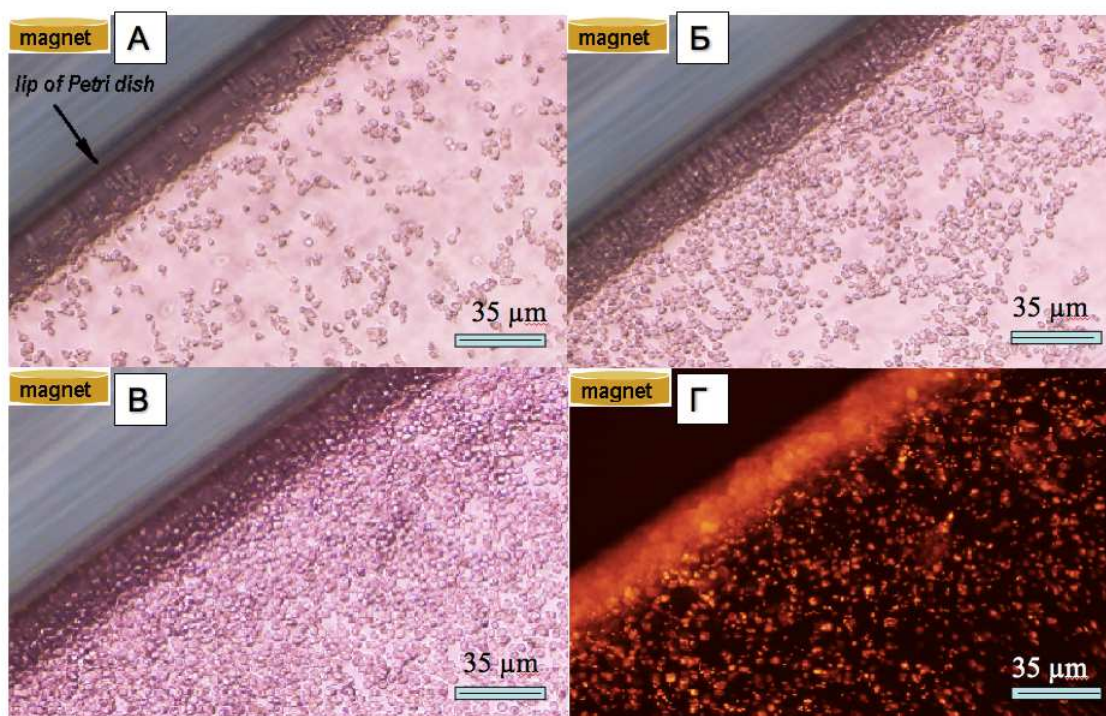
А – без поглощения, Б – 12 часов, В – 24 часа, Г – 48 часов, Д – 72 часа, Е – 96 часов

Рисунок 8 – Изменение размера капсул в зависимости от времени их нахождения в клетке

В последующих экспериментах мы доказали, что клетки с магнитными микрокапсулами внутри способны двигаться под действием магнитного поля. Для этого эксперимента мы использовали только клеточную линию МА-104, так как она была изначально иммортализована и не являлась канцерной культурой.

Магнитное поле использовалось для перемещения клеток-мишеней. Клетки МА-104 заседали при плотности клеток  $1 \times 10^6$  в маленькую чашку Петри. Для проверки возможности перемещать клетки под воздействием

магнитного поля *in vitro* в культуральную среду добавляли микрокапсулы в концентрации 10 микрокапсул на клетку, затем клетки инкубировали в течение ночи. После обработки трипсином мы приложили к чашке Петри магнитное поле (0,34 Т) и наблюдали движение клеток в микроскопе (рисунок 9).



А – до включения магнитного поля, В – через 30 секунд после включения магнитного поля, С – через 75 секунд после включения магнитного поля, D – флуоресцентная микроскопия через 75 секунд после включения магнитного поля

Рисунок 9 – Клетки культуры МА-104 с магнитными микрокапсулами меченные красителем TRITC

В ходе исследований мы сделали вывод, что для передвижения клеток наилучшая концентрация 10 капсул/клетка. Это связано с тем, что скорость передвижения клеток не становилась больше (рисунок 10), а токсичность оставалась на минимальном уровне. Расчет кумулятивной вероятности показывал, что при добавлении 10-ти капсул/клетка к первоначальному



монослою, через день, одной клеткой поглощается 3-4 капсулы. Это связано с тем, что, несмотря на уже образовавшийся монослой, клетки еще продолжали делиться (примерно одно деление в 24 часа). Так же нужно учитывать биомеханические свойства поглощения капсул, так как при синтезе остается небольшой процент поврежденных или капсул видоизмененным покрытием, которые клеткам захватить сложно.  $\mu$

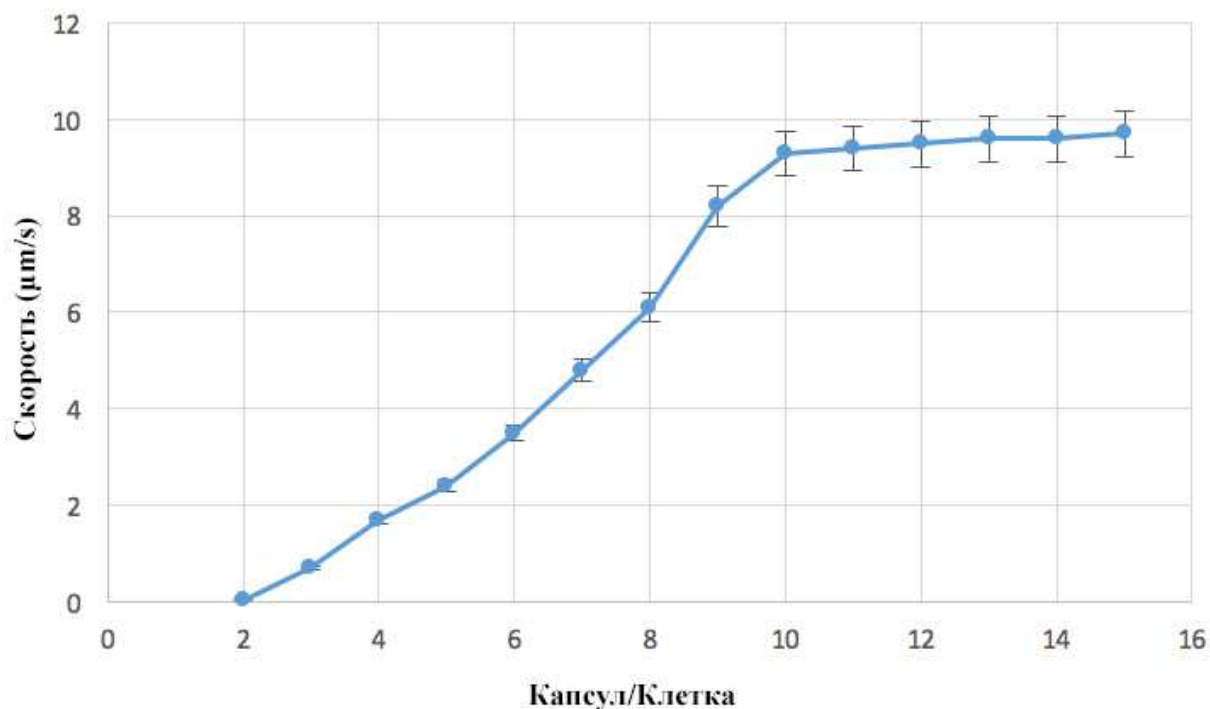


Рисунок 10 – Зависимость скорости движения клеток от количества капсул

Дальнейшие исследования были проведены для определения любых комбинаторных воздействий микрокапсул и электромагнитного поля на жизнеспособность клеток.

Нами показаны результаты анализа Alamar Blue, как мера метаболической компетентности клетки с магнитными микрокапсулами после перемещения под воздействием магнитного поля (рисунок 11).

Различие в цитотоксичности при 24, 48 и 72 ч инкубации. Результаты показывают, что микрокапсулы обладают низкой токсичностью по отношению к клеточной линии MA-104 и после перемещения их в магнитном

поле.

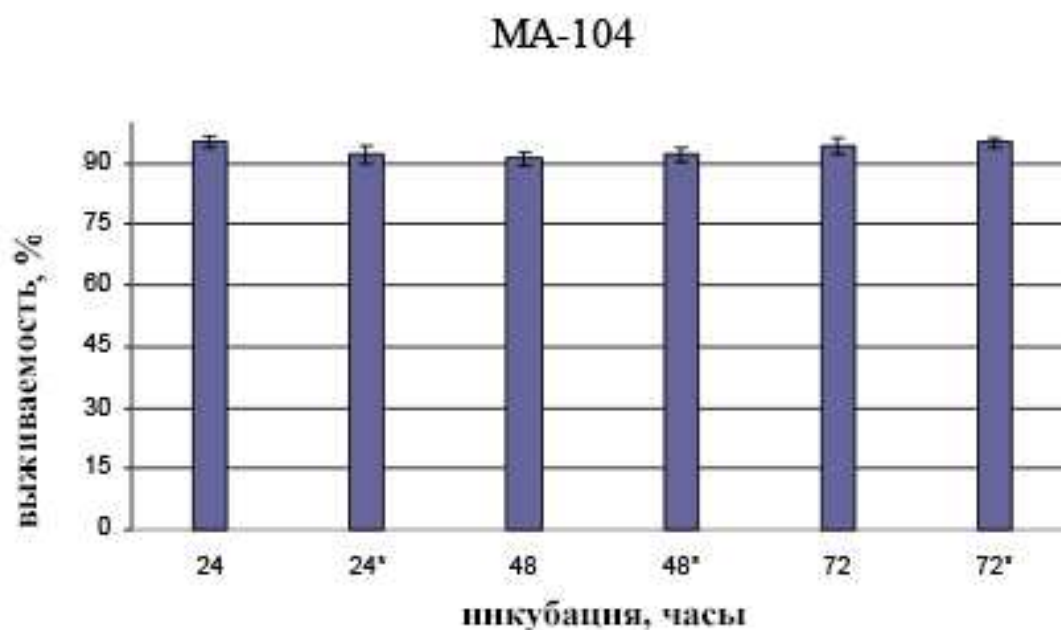
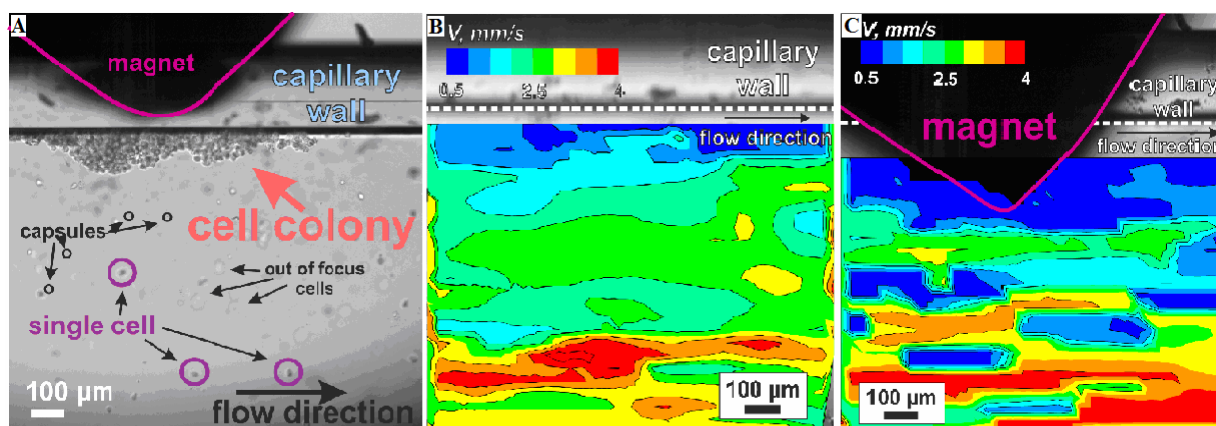


Рисунок 11 – Результаты цитотоксических тестов магнитных микрокапсул на клеточной линии МА-104 с концентрацией 10 капсул/клетка после перемещения под влиянием магнитного поля и без перемещения (\*)

Клетки в потоке капиллярной жидкости распределялись по градиенту скорости течения, который максимален в центре сосуда. Именно поэтому скорость клеток в центре потока выше. После активации магнитного поля число клеток в области стенки уменьшилось и, следовательно, уменьшилось количество трассеров (клеток). В результате на карте абсолютных скоростей наблюдаются пустоты и зазоры в отсутствие трассирующих клеток в ИК-диапазоне.

Эта колония клеток была сформирована в стеклянном капиллярном флюсе с максимальной скоростью потока 4 мм/с за 1 минуту. Этот расход соответствует выходным/входящим кровотокам венул и артериол, что открывает перспективы в реализации данной методики на живом организме для реализации целенаправленной интеллектуальной системы доставки лекарств и клеток. Отследив скорость движения объектов в потоке, мы смогли сделать карту скоростей внутри капилляра, которая варьировала от

0,5 мм/с около стенок и до 4 мм/с в центре капилляра (рисунок 12).



А) поле зрения, Б) скорость потока в капилляре,

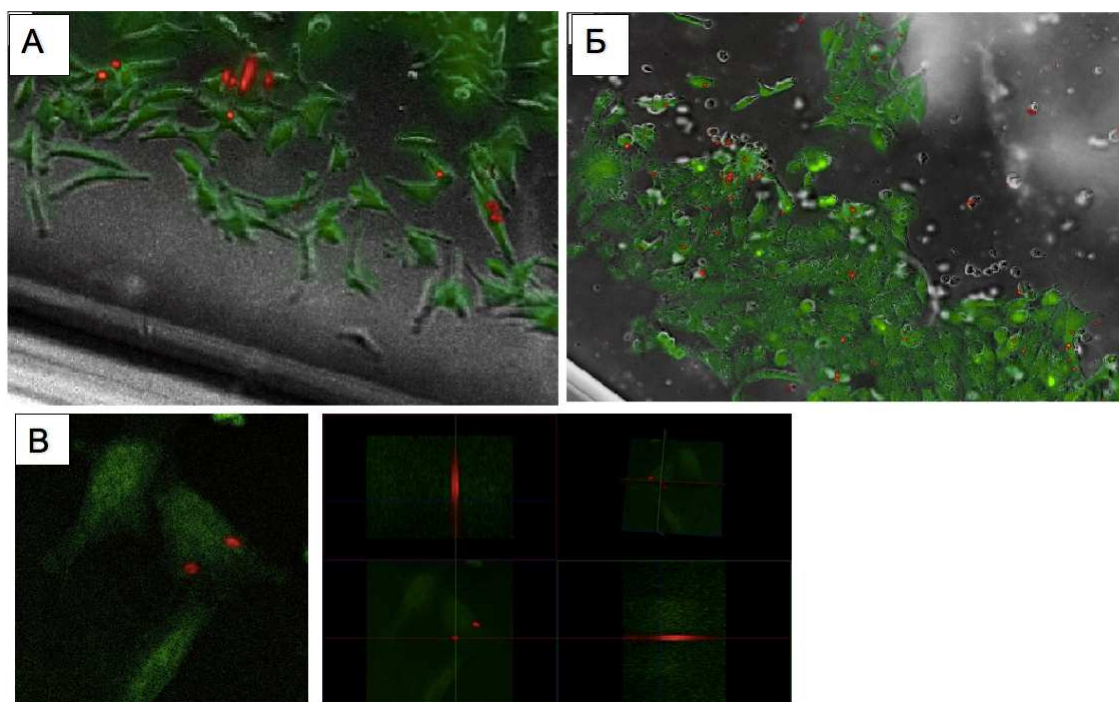
В) изменение скорости потока после включения магнитного поля

Рисунок 12 – Изменение скорости потока в капилляре

Была определена динамика примагничивания клеток в течении одной минуты после включения магнитного поля. Всего за одну минуту было примагничено 138 клеток, за первые десять секунд примагнитилось 38 клеток, во вторые десять секунд 31 клетка, а в последние десять секунд 12 клеток. Наличие данной динамики может быть объяснено распределением магнитного поля относительно стенки капилляра. С притягиванием новых клеток к уже образовавшейся колонии наблюдается уменьшение индукции магнитного поля от 0,62 тесла до 0,36 в связи отдалением новых клеток от концентраторов электронного магнита. Существует предположение, что при использовании данной методики для реставрации поврежденных сосудов можно будет добиться большего эффекта за счет наличия неровностей и локунов в месте повреждения, что создаст возможность легче закрепиться клеткам в месте примагничивания.

После образования колонии клеток на стенке, капилляр был перенесен в инкубатор для дальнейшего отслеживания их состояния. Фотографии представленные на рисунке 13, показывают состояние клеток через 1 сутки после эксперимента и через 4 суток после эксперимента. Через 1 сутки клеточная культура образовала хорошее соединение со стенками капилляра

путем образования псевдоподий, клетки демонстрируют достаточную клеточную адгезию и гомогенное распределение. На четвертый день после эксперимента клетки образовали плотный, не имеющий разрывов монослой (рисунок 13).



А – одни сутки инкубации после перемещения, Б – четверо суток инкубации после перемещения, В – конфокальная 3-D реконструкция клеток в капилляре

Рисунок 13 – Клетки культуры МА-104 (calcein) с магнитными микрокапсулами TRITC внутри капилляра

После этого клетки были сняты с помощью трипсина со стенок капилляра, и исследованы на выживаемость с помощью гемоцитометра. Статистически значимого снижения жизнеспособности клеток не наблюдалось (рисунок 14).



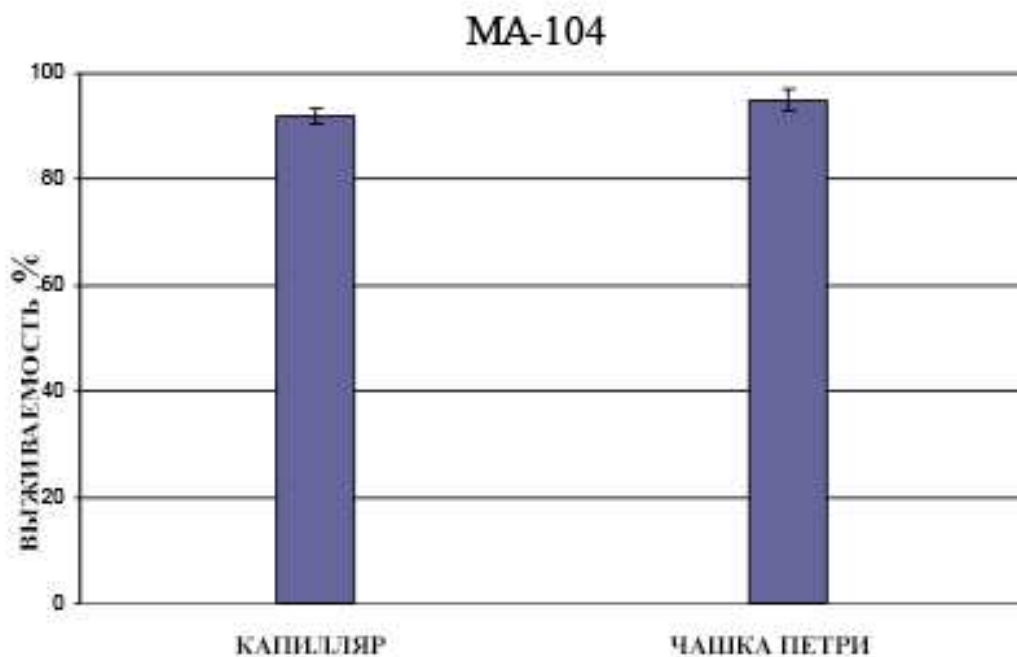


Рисунок 14 – Результаты цитотоксических тестов клеточной линии МА-104 после прикрепления в капилляре

Основной целью нашего эксперимента является изоляция клеточных монослоев. Мы пытались разработать методологию с использованием магнитных микрокапсул и слабой ферментативной обработки для создания мультислоев, содержащих несколько клеточных монослоев. Ниже представлена схема этого эксперимента.

Клеточная линия МА-104 была высажена на двухсекционную чашку Петри в обе секции для образования монослоя. После того, как культура клеток образовала монослой, в одну из секций были добавлены магнитные микрокапсулы в соотношении 10 капсул/клетка, далее последовала инкубация клеток в течении суток для того, чтобы клетки успели эндоцитировать капсулы. Для мягкого отделения клеточного монослоя использовался фермент диспаза-1 (2%), который разрушает соединение клеток с чашкой Петри, но не трогает межклеточные соединения. Клетки отрываются от культурального пластика с помощью приложенного постоянного магнитного поля с индукцией 0,34 Т (рисунок 15).

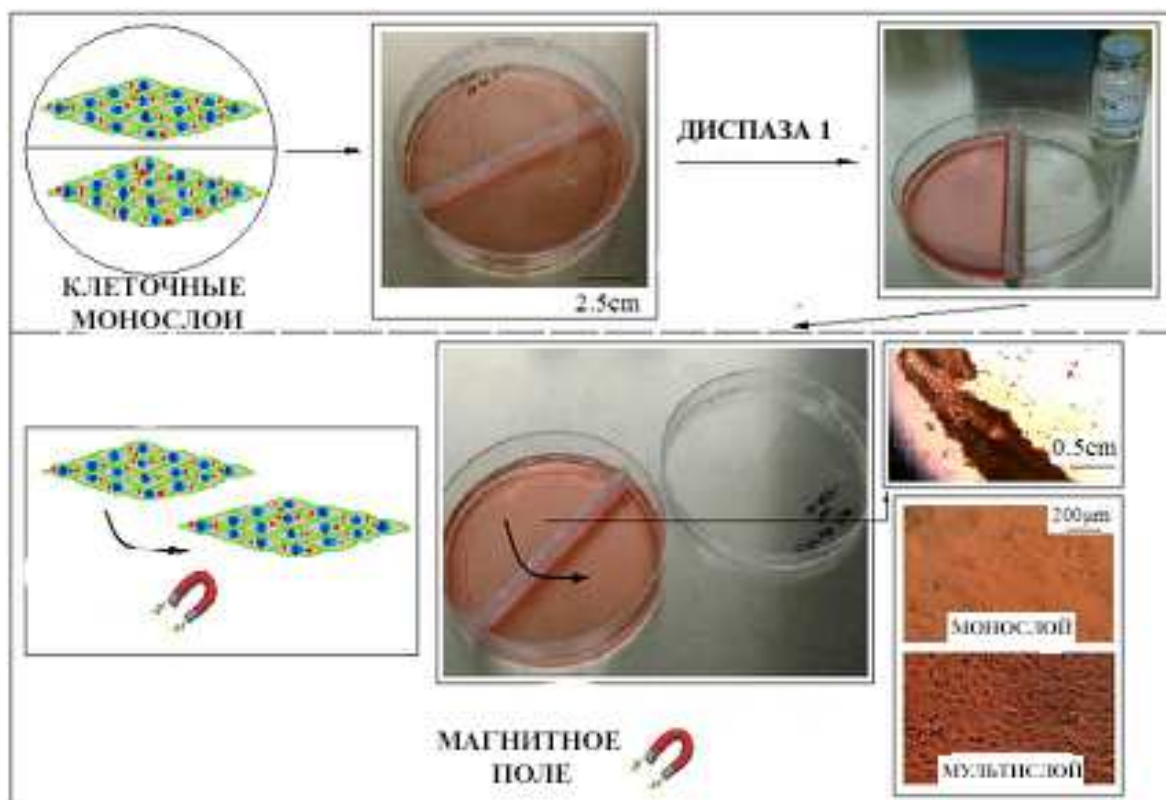


Рисунок 15 – Схематическое изображение метода создания многослойных клеточных конструкций

После некоторого времени (6-7 часов) культура образует стабильную многослойную ткань за счет образования десмосом и прочих межклеточных соединений. На рисунке 15 показаны многослойная и однослойная культура МА-104 внутри двухсекционной чашки с использованием оптического микроскопа. Из данного рисунка можно увидеть разницу в концентрации плотности клеток для монослоя и мультислоя. Размер перенесенного участка клеточного пласта составляет  $0,5 \text{ см} \times 0,5 \text{ см}$ , который состоит, примерно из  $10 \times 10^3$  клеток.

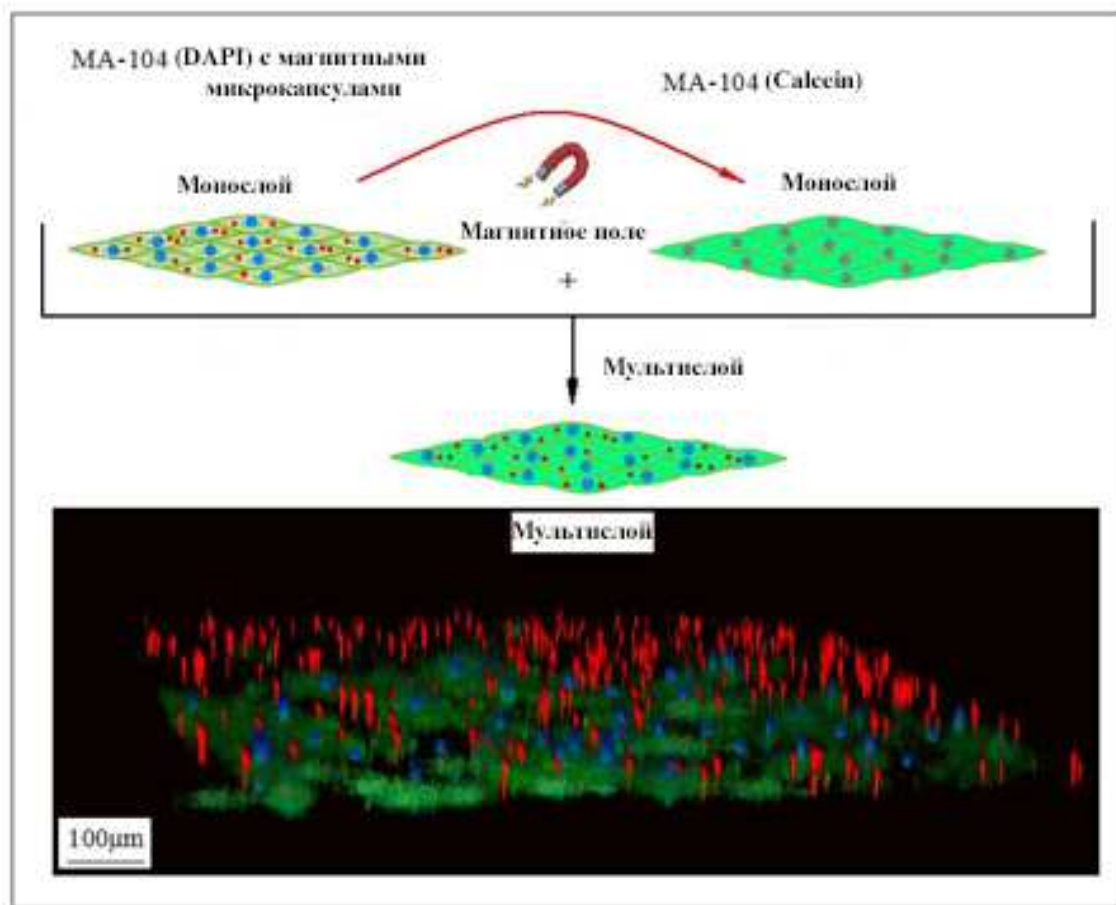


Рисунок 16 – Послойное наложение клеточных пластов MA-104. Нижний слой клеток окрашен calcein, верхний слой клеток содержит микрокапсулы и окрашен DAPI

Чтобы доказать, что мы можем использовать магнитные микрокапсулы для создания многослойных клеточных материалов мы использовали флуорисцентные красители DAPI, для верхнего слоя и calcein, для нижнего (рисунок 16).

Следует отметить, что способ слияния клеточных монослоев является общим и может быть введен во многие клеточные линии, что включает в себя сборку различных клеточных линий.

## **Выводы**

1. Клетки с магнитными микрокапсулами после 24, 48 и 72 часов культивирования имели нормальную морфологию, типичную для прикрепленных клеток линии МА-104. Клетки были прикреплены к культуральному пластику и демонстрировали достаточную клеточную адгезию и гомогенное распределение. Концентрация от 10 до 25 капсул на клетку не оказывала существенного влияния на жизнеспособность клеточной линии.

2. Проведен ряд экспериментов по визуализации прохождения микрокапсул сквозь клеточную мембрану в ходе которого доказано, что капсулы попадают в клетку путем эндоцитоза.

3. Оптимальное количество эндоцитированных микрокапсул для перемещения клеток составляет от 3-х до 5-ти капсул/клетку.

4. Удалось изолировать клетки из потока среды в капилляре используя магнит переменного магнитного поля (0.5 Т), адсорбировать их на поверхности стенки капилляра и проследить их морфологию и пролиферацию.

5. Разработана методика перемещения отдельных клеточных монослоев под действием постоянного магнитного поля (0.34 Т). В результате экспериментов удалось сделать наслоение клеточных пластов размером 0,5×0,5 см.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Sukhorukov, G. B. Trends Biotechnol / G. B. Sukhorukov, H. Moehwald  
// Trends Biotechnol. 2007. №25. С. 93–98.
2. Peyratout, C. Tailor-made polyelectrolyte microcapsules: from multilayers to smart containers / C. Peyratout, L. Dahne // Angew Chem. 2004. №43. С. 3762–3783.
3. Васюкова, Г. Ю. Поверхностно модифицированные частицы для медико-биологического применения. / Г. Ю. Васюков, И. В. Митрофанова, В. В. Иванова, В. Д. Прокопьева // Бюллетень сибирской медицины. 2014. Т. 13, №6. С. 33–40.
4. Grigorev, D. Polyelectrolyte/magnetite Nanoparticle Multilayers: Preparation and Structure Characterization / D. Grigorev, J. B. Haun, T. J. Yoon, H. Lee, R. Weissleder // Langmuir. 2007. Т. 23. С. 12388–12396.
5. Andreeva, D. V. Novel Type of Self-Assembled Polyamide and Polyimide Nanoengineered Shells – Fabrication of Microcontainers with Shielding Properties/ D. V. Andreeva, D. A. Gorin, H. Moehwald, G. B. Sukhorukov // Langmuir. 2007. Т. 23. С. 9031–9036.
6. Stykov, S. Properties of Monomolecular Layers and LBF on the basis of beta-Cyclodextrins with Various Numbers of Alkyl Chains / S. Stykov, B. Klimov, D. Gorin, K. Pankin, M. Getsman // RJ of Phys. Chem. 2004. Т. 78, №10. С. 1632–1636.