

## MAGNETOFERITÍN A JEHO POTENCIÁLNE BIOAPLIKÁCIE

LUCIA MELNIKOVA<sup>a</sup>, IVO ŠAFAŘÍK<sup>b,c</sup>,  
KRISTÝNA POSPÍŠKOVÁ<sup>c</sup>, MARCELI  
KORALEWSKI<sup>d</sup>, ZUZANA MITRÓOVÁ<sup>a</sup>  
a PETER KOPČANSKÝ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav experimentálnej fyziky, SAV, Watsonova 47, 040 01 Košice, Slovensko, <sup>b</sup> Oddělení nanobiotechnologie, Ústav nanobiologie a strukturální biologie CVGZ AV ČR, Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice, <sup>c</sup> Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů, Univerzita Palackého, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc, Česká republika, <sup>d</sup> Fakulta fyziky, Univerzita Adama Mickiewicza, Umultowska 85, 61-614 Poznań, Polsko  
melnikova@saske.sk

Došlo 4.4.14, prepracované 14.5.14, prijaté 2.6.14.

Kľúčové slová: magnetoferitín, apoferitín, magnetit, magneto-optické vlastnosti, peroxidázová aktivita, bioaplikácie

### Obsah

1. Úvod
2. Magnetoferitín
3. Fyzikálno-chemické vlastnosti magnetoferitínu
4. Potenciálne bioaplikácie magnetoferitínu
5. Záver

### 1. Úvod

Železo je esenciálnym prvkom živých systémov, pretože jeho nedostatok spôsobuje bunkovú smrť. Prebytok železa, najmä v podobe Fe<sup>2+</sup> iónov, je pre organizmus toxický, preto je uskladnený v jadre zásobného proteínu, feritínu, kde sa železo ukladá vo forme hydratovaného železitého komplexného fosfátu [FeO(OH)]<sub>8</sub>[FeO(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)] s kryštalografickou štruktúrou podobnou minerálu ferihydrit<sup>1–3</sup>.

Narušenie rovnováhy metabolizmu a uskladňovania železa vo feritíne úzko súvisí s rôznymi ochoreniami, akými sú rakovinové alebo neurodegeneratívne ochorenia<sup>4–7</sup>. Patologické zmeny sú sprevádzané prítomnosťou magnetitu vo feritíne<sup>8–14</sup>. Vzniknutá polykryštalická štruktúra feritínu môže hrať významnú úlohu v biochemických procesoch, spojených s rôznymi chorobami. Doteraz nie je dostatočne preskúmané, či je vytvorenie biogénneho magnetitu v mozgovom feritíne u ľudí s neurodegeneratívnymi ochoreniami príčinou alebo dôsledkom ich vzniku<sup>15–17</sup>. Z týchto dôvodov je nevyhnutné rozlišovať a detekovať

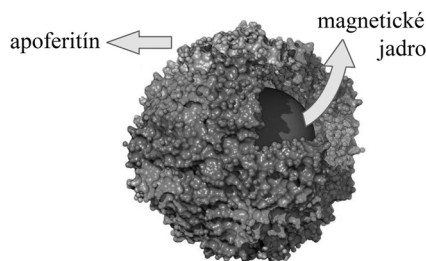
rôzne štrukturálne formy železa vo feritíne a charakterizovať ich fyzikálno-chemické vlastnosti, najmä pre porozumenie ich úlohy pri vývoji rôznych ochorení. Ukázalo sa, že synteticky pripravená biomakromolekula, magnetoferitín, je vhodným modelovým systémom na *in vitro* štúdiá týchto vlastností ako aj na preskúmanie potenciálnych bioaplikácií.

### 2. Magnetoferitín

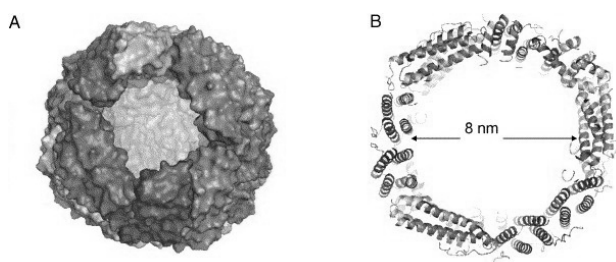
Magnetoferitín je proteínová biomakromolekula globulárneho tvaru s priemerom ~ 12 nm, obsahujúca vo svojom jadre magnetické nanočastice oxidov železa (magnetit: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ maghemit: γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), ktoré vznikajú vhodným chemickým procesom v proteínovom obale, apoferitíne (obr. 1), izolovaného z baktérií alebo zo živočíšnych orgánov (napr. zo sleziny, mozgu)<sup>18</sup>.

Apoferitín (obr. 2) predstavuje reakčné prostredie na *in vitro* chemickú syntézu oxidov železa. Jedná sa o globulárny vo vode rozpustný proteín, v prípade cicavčieho proteínu je zložený z 24 podjednotiek dvojakeho typu (L-light, ľahká a H-heavy, ťažká podjednotka, podľa ich molekulovej hmotnosti; ich pomer sa líši v závislosti od druhu organizmu a orgánu), ktoré vytvárajú dutú štruktúru s vonkajším 10–12 nm a vnútorným priemerom 8–10 nm (cit.<sup>20</sup>).

Na povrchu apoferitínu sú rozmiestnené proteínové kanáliky o priemere ~ 0,4 nm na príjem a výdaj iónov železa (8×3-násobné hydrofilné, polárne) a na prenos elektrónov (6×4-násobné hydrofóbne, nepolárne)<sup>20</sup>. Fyziologický apoferitín dokáže vo svojom vnútri uskladniť až 4500 atómov železa usporiadaných v kryštalovej mriežke podľa špecifických potrieb organizmu<sup>22</sup>. Táto stabilná, flexibilná a dynamická proteínová štruktúra<sup>23</sup> je schopná svojou prirodzenou autokatalytickou aktivitou<sup>24</sup> regulovať nielen tok iónov železa, ale aj iných kovov (napr. Co<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>), molekúl, chelátov a malých ligandov, pričom vznikajú nové deriváty feritínu, akým je aj magnetoferitín<sup>25–27</sup>.



Obr. 1. Magnetoferitín zložený z magnetického jadra a apoferitínu<sup>19</sup>

Obr. 2. Apoferitín<sup>21</sup>

### 3. Fyzikálno-chemické vlastnosti magnetoforitínu

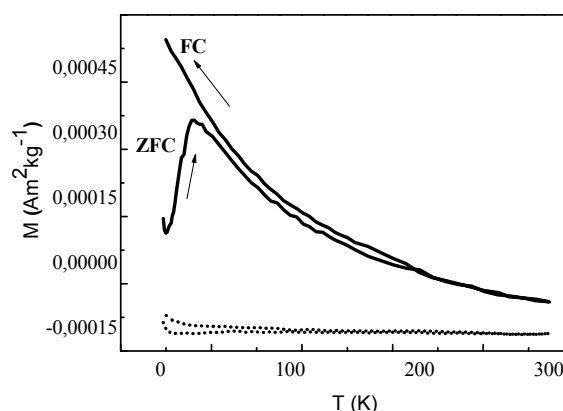
V roku 1992 Meldrum, Heyword a Mann prvýkrát popísali kontrolovanú chemickú syntézu magnetoforitínu, ktorá vychádzala zo všeobecných znalostí prípravy nanočastíc magnetitu precipitáciou  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  solí pri zvýšenej teplote 60–80 °C v zásaditom prostredí<sup>28</sup>. Vďaka vysokej teplotnej stabilite proteínového obalu, apoferitínu<sup>29</sup>, mohli byť fyzikálno-chemické podmienky na *in vitro* syntézu magnetoforitínu prispôbené na vytvorenie magnetitu v jeho jadre<sup>30</sup>. Transmisná elektrónová mikroskopia a elektrónová difrakcia potvrdila prítomnosť nanočastíc oxidov železa o veľkosti 6 nm (cit.<sup>28</sup>).

O dva roky neskôr Bulte a spol. študovali magnetické vlastnosti magnetoforitínu SQUID magnetometrom (superconducting quantum interference device, supravodivé kvantové interferenčné zariadenie). Vzniknuté nanočastice oxidov železa ukázali superparamagnetické správanie bez presnejšieho určenia ich chemického zloženia<sup>31</sup>. Vzhľadom na to, že magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) a jeho oxidačný produkt maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) sú ferimagnetické oxidy železa<sup>32</sup> s podobnou hodnotou magnetizácie nasýtenia pri izbovej teplote ( $M_s(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 90 \text{ A m}^2 \text{ kg}^{-1}$  a  $M_s(\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3) = 83,5 \text{ A m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ), nie je možné rozlíšiť ich žiadnou priamou metódou magnetometrie<sup>33</sup>. Hlavným rozdielom na odlišenie magnetitu od maghemitu je charakteristický fázový prechod prvého druhu, známy ako Verweyov prechod pri teplote  $T_v \sim 120 \text{ K}$ . Pod touto teplotou dochádza k zmene kryštálovej symetrie magnetitu a k rapidnému poklesu jeho elektrickej vodivosti. Verweyov prechod je možné detekovať rôznymi metódami, ako napríklad difrakciou elektrónov, neutrónov a fotónov na určenie periodického usporiadania kryštálu magnetitu alebo na stanovenie rôznych izotopov železa aj použitím nukleárnej magnetickej rezonancie a Mössbauerovej spektroskopie<sup>34</sup>. Pomocou Mössbauerovej spektroskopie bola v ďalších prácach zistená prítomnosť magnetitu a maghemitu v magnetoferitíne. Pri aplikovanom magnetickom poli o intenzite 9 T a nízkej teplote 4,2 K bol zistený vyšší podiel maghemitu<sup>35,36</sup>.

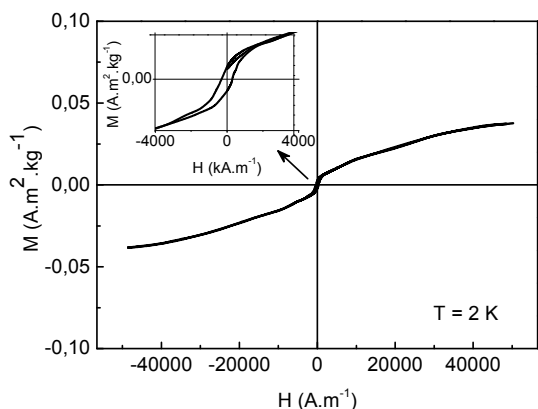
Výsledky výskumu Wonga a spol. z roku 1998 potvrdili prítomnosť nanočastíc  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  v magnetoferitíne, ktorý bol pripravený novým modifikovaným postupom za pomoci kontrolovaného množstva roztoku oxidov

vadla trimetylaminu N-oxidu v anaeróbných podmienkach pri teplote 65 °C a pH 8,6. Navrhnutá, precíznejšia metóda chemickej syntézy umožnila získať magnetoferitín s rôznym počtom atómov železa na jednu biomakromolekulu apoferitínu (loading factor: LF, stupeň naloženia)<sup>37</sup>. Mechanizmus syntézy magnetoferitínu bol podobný vytváraniu anorganického jadra vo fyziologickom feritíne a pozostával zo štyroch základných krokov: vstup  $\text{Fe}^{2+}$  iónov v smere elektrostatického gradientu pozdĺž hydrofilnej dráhy cez záporne nabitú 3-násobnú proteínové kanáliky do molekuly apoferitínu, oxidácie  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$ , nukleácie a rastu anorganického jadra, limitovaného maximálnym vnútorným priemerom proteínového obalu (apoferitínu), t.j.  $\sim 8\text{--}10 \text{ nm}$  (cit.<sup>38,39</sup>). Magnetoferitín s  $\text{LF} > 1000$  mal tendenciu zhlukovať sa, čo potvrdili zobrazenia z transmisnej elektrónovej mikroskopie. Ukázalo sa, že so zväčšujúcim sa LF sa zväčšuje aj priemer nanočastíc magnetoferitínu<sup>37–40</sup>. Z magnetických meraní pomocou SQUID magnetometrie bola tiež stanovená lineárna závislosť superparamagnetickej blokovacej teploty so zväčšujúcim sa LF. Pri štúdiách závislosti magnetizácie na intenzite aplikovaného magnetického poľa pri teplote 300 K nebola pozorovaná hysterezia. Naopak magnetické merania pri teplote pod 100 K ukázali charakteristické superparamagnetické vlastnosti systému<sup>37</sup>. Tieto výsledky boli v dobrej zhode s ďalšími magnetickými analýzami pomocou SQUID magnetometra<sup>39</sup>. Krivky závislosti magnetizácie od teploty po ochladení vzorky magnetoferitínu v nulovom magnetickom poli (ZFC – zero field cooling) a v aplikovanom magnetickom poli (FC – field cooling) s indukciou magnetického poľa 10 mT ukázali superparamagnetické správanie s blokovacou teplotou  $T_B = 26 \text{ K}$  (obr. 3). Magnetizačné krivky vykazovali hystereziu pod blokovacou teplotou pri 2 K v magnetickom poli 23,48 kA m<sup>-1</sup> (obr. 4). Magnetizácia pri 4000 kA m<sup>-1</sup> a 2 K bola 0,037 A m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup> (cit.<sup>39,40</sup>).

V roku 2007 bol preskúmaný efekt dipolárnych interakcií na tepelnú relaxáciu magnetoferitínu. Výsledky boli v dobrej zhode s teoretickými modelmi<sup>41</sup>. Kasyutich



Obr. 3. Grafická závislosť magnetizácie od teploty magnetoferitínu s LF 1250 (plná čiara) v porovnaní s apoferitínom (prerušovaná čiara)



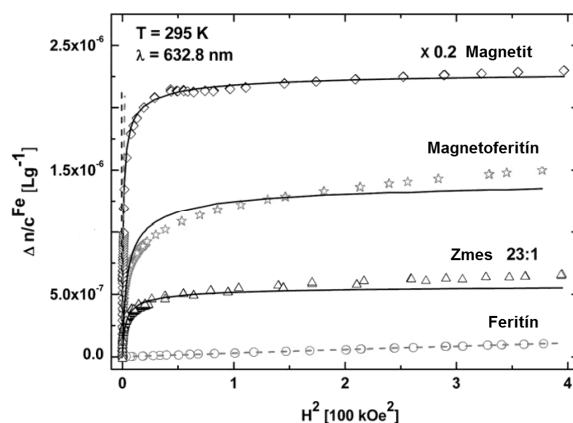
Obr. 4. Grafická závislosť magnetizácie od intenzity magnetického poľa pre magnetoferritín s LF 1250

a spol. v roku 2008 použitím proteínovej kryštalizačnej techniky pripravili trojrozmerné usporiadané kryštály magnetoferritínu o veľkosti niekoľko desiatok až stoviek mikrometrov, ktoré charakterizovali Ramanovou spektroskopiou a SQUID magnetometriou<sup>42</sup>. Neskôr bol magnetoferritín v tomto kryštalickom 3D usporiadaní porovnaný s amorfným materiálom pomocou techník malouhlového rozptylu fotónov/neutrónov a SQUID magnetometrom. Magnetické správanie ukázalo rozdiely v koercivite magnetického poľa a magnetickej remanencii, ktoré rapídne poklesli v prípade kryštalického usporiadania v plošne centrovanej kubickej mriežke. Tieto zmeny boli pripísané efektu rozdielnej štruktúre nanočastíc v oboch usporiadaniach a kolektívne správaniu v prípade kryštalického usporiadania<sup>43</sup>.

Detailné experimentálne štúdium v závislosti od veľkosti nanočastíc v magnetoferritíne pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie, röntgenovej difrakcie a atómovej silovej mikroskopie v roztoku bolo popísané Martínez-Pérezom<sup>44</sup>. Vonkajší priemer proteínu sa zväčšoval s LF. Príčina tohto javu bola pripísaná konformačným zmenám proteínu (apoferritínu) v dôsledku väzby oxidov železa. Magnetické merania pomocou SQUID magnetometra v kombinácii s Mössbauerovou spektroskopiou potvrdili prítomnosť superparamagnetických nanočastíc maghemitu ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) v magnetoferritíne<sup>44</sup>.

Nedávne štúdiá magneticky indukovaného optického lineárneho dvojlomu ( $\Delta n$ ) pre koloidnú disperziu magnetoferritínu v porovnaní s  $\Delta n$  komerčného feritínu (obr. 5) ukázali viditeľné rozdiely v ich magneto-optickom správaní<sup>45,46</sup>.

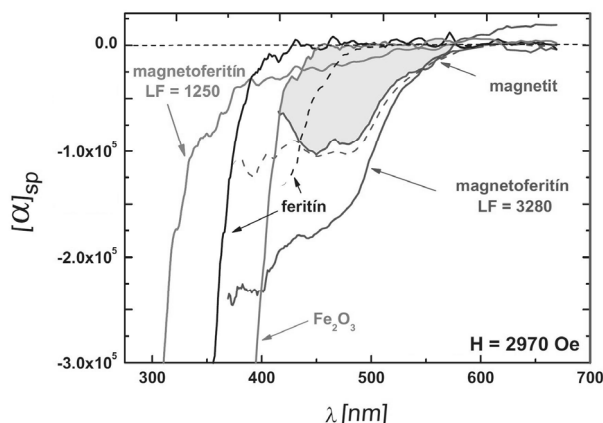
Neskôr bola študovaná magneto-optická Faradayova rotácia pri izbovej teplote v aplikovanom magnetickom poli s intenzitou  $H = 2970$  Oe (t.j.  $236,4 \text{ kA m}^{-1}$ ) v spektrálnom rozsahu použitého svetla s vlnovou dĺžkou od 300 do 680 nm (obr. 6). Rozdielne spektrálne závislosti Faradayovej rotácie od vlnovej dĺžky svetla umožnili rozlíšiť feritín a magnetoferritín vďaka rôznym typom ich jadier<sup>47</sup>.



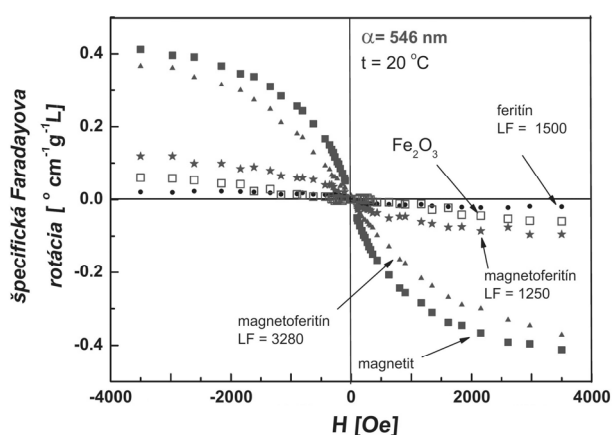
Obr. 5. Graf závislosti redukovaného magnetického dvojlomu (t.j.  $\Delta n$ , predelený známou koncentráciou železa,  $\Delta n/c\text{Fe}$ ) od druhej mocniny intenzity aplikovaného magnetického poľa,  $H^2$  pre:  $\diamond$  magnetit,  $\star$  magnetoferritín,  $\Delta$  zmes 23:1 a  $\circ$  feritín<sup>46</sup>

Závislosť Faradayovej rotácie magnetoferritínu od intenzity aplikovaného magnetického poľa, charakteristická pre superparamagnetický systém (obr. 7), bola popísaná Langevinovou funkciou s log-normálnou distribúciou veľkosti častíc, ktorá umožnila získať okrem iných parametrov aj priemer jadra magnetoferritínu<sup>47</sup>.

Vo všeobecnosti tvoria vo vodnom prostredí pri neutrálnom a zásaditom pH záporne nabité biomakromolekuly magnetoferritínu stabilnú homogénnu koloidnú disperziu s hydrodynamickým priemerom zväčšujúcom sa s LF. Objavená peroxidázová aktivita magnetoferritínu bola tiež výraznejšia v prípade vyšších LF. Výsledky ukázali, že magnetoferritín bol schopný rozkladať peroxid vodíka v prítomnosti substrátu, *N,N*-dietyl-*p*-fenyléndiamín sulfátu, ktorý po reakcii zmenil farbu<sup>48</sup>.



Obr. 6. Graf závislosti Faradayovej rotácie od použitej vlnovej dĺžky svetla<sup>47</sup>



Obr. 7. Porovnanie špecifickej Faradayovej rotácie ako funkcie aplikovaného magnetického poľa pre: ● feritín LF = 1500, □  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , ★ magnetoferitín LF = 1250, ▲ magnetoferitín LF = 3280 a ■ magnetit<sup>47</sup>

#### 4. Potenciálne bioaplikácie

Rozsiahle dlhoročné štúdiá magnetoferitínu od prvej syntézy v roku 1992 ukázali, že jeho biokompatibilný charakter, dobre definovaný priemer nanočastíc, koloidná stabilita a superparamagnetické správanie poskytujú magnetoferitínu významný aplikačný potenciál v nanotechnológii, priemysle, ale hlavne v biomedicínskych vedách a bunkovej biológii<sup>49</sup>. Rôznymi chemickými modifikáciami vonkajšieho alebo vnútorného proteínového povrchu môže byť magnetoferitín použitý napríklad aj na zobrazovanie tkanív pomocou magnetickej rezonancie, v nanokatalytickej chémii alebo pri cielelom transporte liečiv. Po naviazaní liečiva do štruktúry magnetoferitínu je možné vizualizovať alebo cielene transportovať tento potenciálny magnetofarmaceutický nanomateriál priamo len na poškodené miesto organizmu bez vedľajších účinkov liečiva na zdravé tkanivá a orgány<sup>50</sup>.

Magnetoferitín bol experimentálne využitý ako kontrastné činidlo pre zobrazovanie magneticou rezonanciou. Pri *in vivo* aplikácii bol rýchlo zachytený pečenoú a slezinou<sup>51,52</sup>. Rekombinantný ľudský magnetoferitín (HMF), zložený z H podjednotiek, bol použitý ako kontrastné činidlo pre označenie makrofágov. Tento materiál vykazoval obdobné vlastnosti ako známe kontrastné činidlo na báze nanočastíc oxidov železa<sup>53</sup>.

Rekombinantný magnetoferitín, zložený len z podjednotiek H bol tiež využitý na väzbu peptidu RGD-4C, ktorý sa špecificky viaže na  $\alpha_v\beta_3$  integríny nádorových buniek. *In vitro* bola zistená väzba na melanomové bunky C32 (cit.<sup>54</sup>). HMF bol použitý na detekciu a vizualizáciu nádorových buniek exprimujúcich transferínový receptor 1 (TfR1). Nanočastice oxidov železa v magnetoferitíne v prítomnosti peroxidu vodíka katalyzujú oxidáciu substrátu enzýmu peroxidázy za vzniku fareb-

ného produktu, ktorý vizualizuje detekovaný nádor. Bolo zistené, že uvedeným spôsobom je možné rozlíšiť nádorové a normálne bunky s vysokou citlivosťou a špecificitou<sup>50</sup>. Katalytickú (peroxidázovú) aktivitu magnetoferitínu je tiež možné využiť na stanovenie množstva peroxidu vodíka v koncentračnom rozsahu 5,8 až 88,2 mM (cit.<sup>48</sup>).

Magnetoferitín bol použitý aj na konštrukciu fúzných magnetických protilátok, kde časť protilátky viažúca antigén bola spojená s H podjednotkou feritínu. Po expresii v *E. coli* sa vytvoril fúzny proteín tvorený globulárnym feritínom a povrchovo viazanými fragmentmi protilátky. Konverziou feritínu na magnetoferitín bol vytvorený magnetický derivát študovanej protilátky<sup>55</sup>.

Derivát magnetoferitínu bol použitý na značenie ľudských lymfocytov. Magnetoferitín aj príslušná špecifická protilátka boli biotinylované a následne spojené prostredníctvom avidínového mostíka. Pohyb magneticky značených buniek bol študovaný na ferografe. Bolo zistené, že magnetický moment magnetoferitínu umožňuje imunomagnetickú separáciu lymfocytov od sprievodných buniek<sup>56</sup>. Magnetoferitín je tiež možné modifikovať celým radom zaujímavých molekúl, napr. derivátmi calixaren-crown-6, ktoré umožňujú efektívny záchyt iónov rádioaktívneho cézia z vodných roztokov<sup>57</sup>.

Významné je i možné využitie vybraných fyzikálnych meraní v medicínskych aplikáciách. Priame pozorovanie nasýtenia pri meraní magnetickej indukovaného lineárneho dvojlomu umožnilo identifikáciu magnetického jadra neznámej vzorky feritínu a jeho biogénnych alebo syntetických derivátov. Táto citlivá magneto-optická metóda môže byť v budúcnosti použitá v biomedicíne na identifikáciu a objasnenie heterogénnej štruktúry jadra feritínu v mozgu u pacientov s rôznymi ochoreniami<sup>45,46</sup>.

Spektrálne závislosti Faradayovej rotácie od vlnovej dĺžky svetla umožnili rozlíšiť feritín a magnetoferitín, čo môže byť po ďalšej štandardizácii veľmi užitočná neinvazívna metóda na detekciu magnetitu, najmä v biomedicíne na diagnostiku rôznych ochorení, ktorých sprievodným javom je vznik magnetitu *in vivo* v patologických tkanivách organizmu<sup>47</sup>.

#### 5. Záver

V tejto práci boli zhrnuté fyzikálno-chemické vlastnosti a potenciálne bioaplikácie magnetoferitínu, pripraveného *in vitro* chemickým postupom. Úspešnosť tejto syntézy bola potvrdená rôznymi fyzikálnymi metódami. Analýza magnetických vlastností ukázala superparamagnetický charakter nanočastíc. Stredný priemer jadra magnetoferitínu, získaný z transmisnej elektrónovej mikroskopie a magneto-optických meraní, bol menší, ako je vnútorný priemer proteínového obalu apoferitínu. Biomakromolekuly magnetoferitínu tvorili vo vodnom roztoku stabilnú homogénnu koloidnú disperziu vykazujúcu peroxidázovú aktivitu. Magneto-optické vlastnosti umožnili rozlišovať prítomnosť rôznych oxidov železa v pripravenom magnetoferitíne. Presná štruktúra a kompozícia jadra magnetoferitínu je

stále otvorenou témou a vyžaduje si ďalšie systematické štúdie magnetoferitínu s rôznym LF, čo môže byť v budúcnosti predmetom ďalšieho skúmania nielen pomocou magneto-optických experimentov, ale aj s využitím malouhlových rozptylových metód z dôvodu širšieho preskúmania aplikačných možností magnetoferitínu.

*Táto práca bola podporovaná Slovenskou vedeckou grantovou agentúrou VEGA 0045 a M-ERA.NET MACOSYS.*

#### LITERATÚRA

- Andrews S. C., Harrison P. M., Yewdall S. J.: *J. Inorg. Biochem.* **47**, 161 (1992).
- Crichton R. R., Ward R. J.: *Met. Ions Biol. Syst.* **35**, 633 (1998).
- Chasteen N. D., Harrison P. M.: *J. Struct. Biol.* **126**, 182 (1999).
- Kobayashi A. K., Yamamoto N., Kirschvink J. L.: *J. Jpn. Soc. Powder Powder Metall.* **44**, 294 (1997).
- Torti F. B., Torti S. V.: *Blood* **99**, 3505 (2002).
- Friedman A., Arosio P., Finazzi D., Kozirowski D., Galazka-Friedman J.: *Parkinsonism Relat. Disord.* **17**, 423 (2011).
- Ayton S., Lei P., Bush A. I.: *Free Radical Biol. Med.* **62**, 76 (2013).
- Kirschvink J. L., Kobayashi-Kirschvink A., Woodford B. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **89**, 7683 (1992).
- Dunn J. R., Fuller M., Zoeger J., Dobson J., Heller F., Hammann J., Caine E., Moskowitz B. M.: *Brain Res. Bull.* **36**, 149 (1995).
- Dobson J., Grassi P.: *Brain Res. Bull.* **39**, 255 (1996).
- Schultheiss-Grassi P. P., Dobson J.: *BioMetals* **12**, 67 (1999).
- Schultheiss-Grassi P. P., Wessiken R., Dobson J.: *Biochim. Biophys. Acta* **1426**, 212 (1999).
- Quintana C., Cowley J. M., Marhic C.: *J. Struct. Biol.* **147**, 166 (2004).
- Brem F., Hirt A. M., Winklhofer M., Frei K., Yonekawa Y., Wieser H. G., Dobson J.: *J. R. Soc., Interface* **3**, 833 (2006).
- Dobson J.: *FEBS Lett.* **496**, 1 (2001).
- Galazka-Friedman J.: *Hyperfine Interact.* **182**, 31 (2008).
- Galazka-Friedman J., Friedman A., Bauminger E. R.: *Hyperfine Interact.* **189**, 31 (2009).
- Mitróová Z., Melníková L., Kováč J., Vávra I., Timko M., Kopčanský P.: *3rd International Conference NANOCON 2011, Brno, Czech Republic. 21.- 23. Sept. 2011*, str. 582 (poster).
- Kostiainen M. A., Hiekkataipale P., Laiho A., Lemieux V., Seitsonen J., Ruokolainen J., Ceci P.: *Nat. Nanotechnol.* **8**, 52 (2013).
- Testa U. M. D.: *Proteins of iron metabolism*, 1. vyd., Informa Healthcare, USA 2001.
- Lee L. A., Wang Q.: *Nanomedicine: NBM* **2**, 137 (2006).
- Banyard S. H., Stammers D. K., Harrison P. M.: *Nature* **271**, 282 (1978).
- Liu X., Theil E.: *Acc. Chem. Res.* **38**, 167 (2005).
- Macara I. G., Hoy T. G., Harrison P. M.: *Biochem. J.* **135**, 343 (1973).
- Meldrum F. C., Douglas T., Levi S., Arosio P., Mann S.: *J. Inorg. Biochem.* **58**, 59 (1995).
- Douglas T., Stark V. T.: *Inorg. Chem.* **39**, 1828 (2000).
- Gálvez N., Fernandez B., Valero E., Sánchez P., Cuesta R., Domínguez-Vera J. M.: *C. R. Chim.* **11**, 1207 (2008).
- Meldrum F. C., Heywood B. R., Mann S.: *Science* **257**, 522 (1992).
- Stefanini S., Cavallo S., Wang C. Q., Tataseo P., Vecchini P., Giartosio A.: *Arch. Biochem. Biophys.* **325**, 58 (1996).
- Melníková L.: *Bakalárska práca*. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice 2009.
- Bulte J. W. M., Douglas T., Mann S., Frankel R. B., Moskowitz B. M., Brooks R. A., Baumgarner C. D., Vymazal J., Frank J. A.: *Invest. Radiol.* **29**, 214 (1994).
- Cornell R. M., Schwertmann U.: *The Iron Oxides. Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*. Wiley, New York 2003.
- Cullity B. D., Graham C. D.: *Introduction to Magnetic Materials*. Wiley, New York 2009.
- García J., Subías G.: *J. Phys.: Condens. Matter* **16**, R145-R178 (2004).
- Dickson D. P. E., Walton S. A.: *Nanostruct. Mater.* **9**, 595 (1997).
- Pankhurst Q. A., Betteridge S., Dickson D. P. E.: *Hyperfine Interact.* **91**, 847 (1994).
- Wong K. K. W., Douglas T., Gider S., Awschalom D. D., Mann S.: *Chem. Mater.* **10**, 279 (1998).
- Melníková L.: *Diplomová práca*. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice 2011.
- Mitróová Z., Melníková L., Kováč J., Timko M., Kopčanský P.: *Acta Phys. Pol., A* **121**, 1318 (2012).
- Melníková L.: *Rigorózná práca*. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice 2013.
- Southern P., Robinson A. P., Kasyutich O. I., Warne B., Bewick A., Schwarzacher W.: *J. Phys.: Condens. Matter* **19**, 1 (2007).
- Kasyutich O., Sarua A., Schwarzacher W.: *J. Phys. D: Appl. Phys.* **41**, 134022 (2008).
- Kasyutich O., Tatchev D., Hoell A., Ogrin F., Dewhurst C., Schwarzacher W.: *J. Appl. Phys.* **105**, 07B528 (2009).
- Martínez-Pérez M. J., de Miguel R., Carbonera C., Martínez-Júlvez M., Lostao A., Piquer C., Gómez-Moreno C., Bartolomé J., Luis F.: *Nanotechnology* **21**, 465707 (2010).
- Koralewski M., Pochylski M., Mitróová Z., Melníková L., Kováč J., Timko M., Kopčanský P.: *Acta Phys. Pol., A* **121**, 1237 (2012).
- Koralewski M., Pochylski M., Mitróová Z., Timko

- M., Kopčanský P., Melníková L.: *J. Magn. Magn. Mater.* **323**, 2413 (2011).
47. Koralewski M., Klos J. W., Baranowski M., Mitróová Z., Kopčanský P., Melníková L., Okuda M., Schwarzhacher W.: *Nanotechnology* **23**, 355704 (2012).
48. Melníková L., Pospiskova K., Mitroova Z., Kopcansky P., Safarik I.: *Microchim. Acta* **181**, 295 (2014).
49. Theil E. C., Behera R. K., Tosha T.: *Coord. Chem. Rev.* **257**, 579 (2013).
50. Fan K., Cao C., Pan Y., Lu D., Yang D., Feng J., Song L., Liang M., Yan X.: *Nat. Nanotechnol.* **7**, 459 (2012).
51. Jordan V. C., Caplan M. R., Bennett K. M.: *Magn. Reson. Med.* **64**, 1260 (2010).
52. Bulte J. W. M., Brooks R. A., v: *Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers* (U. Hafeli, W. Schutt, J. Teller, M. Zborowski, ed.), str. 527. Plenum Press, New York 1997.
53. Uchida M., Terashima M., Cunningham C. H., Suzuki Y., Willits D. A., Willis A. F., Yang P. C., Tsao P. S., McConnell M. V., Young M. J., Douglas T.: *Magn. Reson. Med.* **60**, 1073 (2008).
54. Uchida M., Flenniken M. L., Allen M., Willits D. A., Crowley B. E., Brumfield S., Willis A. F., Jackiw L., Jutila M., Young M. J., Douglas T.: *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 16626 (2006).
55. Dehal P. K., Livingston C. F., Dunn C. G., Buick R., Luxton R., Pritchard D. J.: *Biotechnol. J.* **5**, 596 (2010).
56. Zborowski M., Fuh C. B., Green R., Baldwin N. J., Reddy S., Douglas T., Mann S., Chalmers J. J.: *Cytometry* **24**, 251 (1996).
57. Urban I., Ratcliffe N. M., Duffield J. R., Elder G. R., Patton D.: *Chem. Commun.* **46**, 4583 (2010).

**L. Melnikova<sup>a</sup>, I. Šafařík<sup>b,c</sup>, K. Pospíšková<sup>c</sup>, M. Koralewski<sup>d</sup>, Z. Mitróová<sup>a</sup>, and P. Kopčanský<sup>a</sup>**  
 (<sup>a</sup>*Institute of Experimental Physics, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovakia*, <sup>b</sup>*Department of Nanobiotechnology, Institute of Nanobiology and Structural Biology of Global Change Research Centre, České Budějovice, Czech Republic*, <sup>c</sup>*Regional Centre of Advanced Technologies and Materials, Palacký University, Olomouc, Czech Republic*, <sup>d</sup>*Faculty of Physics, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland*): **Magnetoferritin and Its Potential Bioapplications**

Magnetoferritin is a metalloprotein composed of a protein coat (apoferritin) surrounding the magnetic iron oxide nanoparticles. Physicochemical characterization of magnetic, structural and morphological properties, size distribution and stability of magnetoferritin have been extensively investigated. Magneto-optical properties of magnetic nanoparticles in magnetoferritin can be applied in *in vivo* diagnosis of various diseases associated with the formation of magnetite in pathological processes in tissues. In addition, the confirmed peroxidase activity enables magnetoferritin to be used in important bioapplications.