



Получено: 28.10.2024 г. | Принято: 31.10.2024 г. | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.418.425>

Научная статья

СКАНИРУЮЩАЯ КАПИЛЛЯРНАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК СРЕДСТВО НАНОКАПИЛЛЯРНОЙ ПЕЧАТИ

А.И.Ахметова^{1, 2}, к.ф.-м.н., науч. сотр., ORCID: 0000-0002-5115-8030

Т.О.Советников^{1, 2}, асп., вед. инж., ORCID: 0000-0001-6541-8932

А.Д.Терентьев^{1, 2}, асп., прогр., ORCID: 0009-0009-1528-5284

И.В.Яминский^{1, 2}, д.ф.-м.н., проф., ген. дир., ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Аннотация. Контролируемое манипулирование культивируемыми клетками и локальная доставка макромолекул и веществ являются до сих пор нерешенными задачами экспериментальной биологии. Внутриклеточное введение различных терапевтических средств, включая биологические препараты и супрамолекулярные агенты, сложно реализуема из-за естественных биологических барьеров, необходимых для защиты клетки. Эффективная доставка нуклеиновых кислот, белков, пептидов и наночастиц имеет решающее значение для клинического внедрения новых технологий, которые могут принести пользу лечению заболеваний с помощью генной и клеточной терапии. Используя капилляр, можно локально нанести на клетку требующееся вещество или даже ввести его внутрь клетки, а в дальнейшем оценить его влияние на морфологию с помощью инструментов сканирующей капиллярной микроскопии (СКМ). Эти возможности делают метод капиллярной микроскопии перспективным для целей биомедицины.

Ключевые слова: сканирующая капиллярная микроскопия, живые системы, микродозирование, локальная доставка вещества, наночастицы

Для цитирования: А.И. Ахметова, Т.О. Советников, А.Д. Терентьев, И.В. Яминский. Сканирующая капиллярная микроскопия как средство нанокapиллярной печати. НАНОИНДУСТРИЯ. 2024. Т. 17. № 7–8. С. 418–425. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.418.425>.

Received: 28.10.2024 | Accepted: 31.10.2024 | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.418.425>

Original paper

SCANNING CAPILLARY MICROSCOPY AS A TOOL FOR NANOCAPILLARY PRINTING

A.I.Akhmetova^{1, 2}, Cand. of Sci. (Physics and Mathematics), Researcher, ORCID: 0000-0002-5115-8030

T.O.Sovetnikov^{1, 2}, Postgraduate, Engineer, Leading Engineer, ORCID: 0000-0001-6541-8932

A.D.Terentev^{1, 2}, Postgraduate, Programmer, ORCID: 0009-0009-1528-5284

I.V.Yaminsky¹, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof., Director General, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Abstract. Controlled manipulation of cultured cells and local delivery of macromolecules and substances are still unsolved problems in experimental biology. Intracellular injection of various therapeutic agents, including biologics and supramolecular agents, is difficult due to natural biological barriers required to protect the cell. Efficient delivery of nucleic acids, proteins, peptides and nanoparticles is critical for clinical implementation of new technologies that can benefit the treatment of diseases using gene and cell therapy. Using a capillary, it is

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical Department, Moscow, Russia

² ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia



possible to locally apply a desired substance to a cell or even introduce it into the cell, and then evaluate its effect on morphology using scanning capillary microscopy (SCM) tools. These capabilities make the capillary microscopy method promising for biomedical purposes.

Keywords: scanning capillary microscopy, living systems, microdosing, local substance delivery, nanoparticles

For citation: A.I. Akhmetova, T.O. Sovetnikov, A.D. Terentev, I.V. Yaminsky. Scanning capillary microscopy as a tool for nanocapillary printing. NANOINDUSTRY. 2024. Vol. 17. No. 7–8. PP. 418–425. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.418.425>.

ВВЕДЕНИЕ

Клетка наделена динамичным механизмом, доступ к которому строго регулируется внутриклеточными процессами. Клетки передают информацию друг другу через молекулы, ДНК кодирует РНК и белки, белки передают сигналы и действуют как строительные блоки клеточной структуры, липиды образуют мембрану и хранят энергию. Традиционные методы доставки веществ могут нарушать функции клеток, что ограничивает их применимость. Введение молекул и веществ в клетку является важным экспериментальным шагом в понимании ее функции, в управлении клеткой и перепрограммировании ее поведения.

Существуют разные способы доставки веществ в клетки млекопитающих: с помощью липидных везикул и вирусоподобных частиц, путем химической трансфекции, электропорации и микро- и наноинъекций.

Наноинъекция – это процесс внутриклеточной доставки с использованием наноигл [1–3]. Наноиглы, как правило, не вредны для клеток, в том числе для нейронов, кардиомиоцитов и иммунных клеток [4–6]. Наноинъекция повышает эффективность трансфекции плазмидной ДНК (пДНК) в труднотрансфицируемых клетках [7].

Для инъекций можно использовать не только наноиглы, но и стеклянные капилляры с диаметром выходного отверстия микронного размера для механического проникновения через плазматическую мембрану, что также позволяет доставлять молекулы. Однако большой размер кончика капилляра (обычно от 0,5 до 75 мкм по внешнему диаметру) относительно размера клетки может деформировать мембрану во время инъекции, нарушая актиновый цитоскелет и изменяя морфологию клетки.

С помощью пуллера (например, P2000, Sutter Instruments) можно изготовить капилляры с минимальным радиусом выходного отверстия – до 10 нм. С помощью электрода, помещенного в капилляр, можно контролировать транспорт молекул приложением подходящего напряжения и измерением ионного тока. Полярность и величина напряжения зависят от заряда доставляемой молекулы, причем

INTRODUCTION

The cell is endowed with a dynamic mechanism, and access to it is strictly regulated by intracellular processes. Cells transmit information to each other through molecules, DNA encodes RNA and proteins, proteins transmit signals and act as building blocks of cellular structure, lipids form the membrane and store energy. Traditional methods of substance delivery can interfere with cellular function, limiting their applicability. Introducing molecules and substances into cells is an important experimental step in understanding its function, in controlling the cell and reprogramming its behaviour.

There are different ways to deliver substances into mammalian cells: by lipid vesicles and virus-like particles, by chemical transfection, electroporation and micro- and nano-injections.

Nano-injection is an intracellular delivery process using nano-needles [1–3]. Nano-needles are generally not harmful to cells, including neurons, cardiomyocytes and immune cells [4–6]. Nano-injection increases efficiency of plasmid DNA (pDNA) transfection in hard-to-transfect cells [7].

Not only nano-needles can be used for injection, but also glass capillaries with micron-sized exit hole diameters can be used to mechanically penetrate the plasma membrane, which also allows delivery of molecules. However, the large size of the capillary tip (typically 0.5 to 75 μm in outer diameter) relative to the cell size can deform the membrane during injection, disrupting the actin cytoskeleton and altering the cell morphology.

Using a puller (e.g., P2000, Sutter Instruments), capillaries with a minimum exit hole radius of up to 10 nm can be fabricated. Using an electrode placed in the capillary, the transport of molecules can be monitored by applying a suitable voltage and measuring the ionic current. The polarity and voltage value depend on the charge of the delivered molecule, and the voltage value should not exceed ± 1 V [8, 9]. Moreover, the small size of the capillary tip relative to the cell allows not to deform the cell



величина напряжения не должна превышать ± 1 В [8, 9]. Более того, малый размер кончика капилляра относительно клетки позволяет не деформировать клеточную мембрану. Транслокация одной макромолекулы через кончик капилляра приводит к обнаруживаемому изменению измеряемого ионного тока, который можно использовать для характеристики и количественной оценки числа молекул, проходящих через капилляр [10, 11].

В работе [12] описывается платформа, которая использует капилляры для доставки определенного количества макромолекул в культивируемые клеточные линии и первичные клетки с разрешением на уровне одной молекулы. Капилляр используется и как зонд сканирующего капиллярного микроскопа, и как игла для инъекции. С помощью СКМ осуществляется позиционирование над поверхностью клетки перед тем, как капилляр будет введен на заданную глубину в определенное место клетки. С помощью этой установки показана количественная доставка ДНК, глобулярных белков и белковых фибрилл в клетки с разрешением на уровне одной молекулы. А также продемонстрировано, что доставка приводит к изменению фенотипа клетки.

Также известны результаты по применению сканирующей капиллярной микроскопии для локальной доставки наночастиц [13, 14]. В этой связи встает вопрос подсчета их числа, прошедшего через отверстия нанокapилляра. Такой подход позволит проводить не только локальную, но и высокоточную доставку наночастиц к поверхности клеток.

В рамках разработки нанокapиллярной печати нашей группой выработана методика подсчета числа осаждаемых частиц. Метод состоит в подборе отверстия капилляра, соразмерного доставляемым (осаждаемым) частицам, при этом выход наночастицы из капилляра (под действием приложенной разности потенциалов) будет сопровождаться созданием своего рода преграды для прохождения ионов, значение ионного тока будет уменьшаться.

Известные результаты [15–17] по описанию поведения тока через апертуру нанокapилляра показывают, что в широком диапазоне размера концевого отверстия ток через него можно описать законом Ома. Величина ионного тока, протекающего через отверстие в капилляре, определяется выражением:

$$I_{DC}(z) = I_{sat} / \left(1 + \frac{A}{z}\right), \quad (1)$$

где I_{sat} – ток насыщения (на удалении от поверхности образца), z – расстояние до поверхности

мембраны. Транслокация одной макромолекулы через кончик капилляра приводит к обнаруживаемому изменению измеряемого ионного тока, который можно использовать для характеристики и количественной оценки числа молекул, проходящих через капилляр [10, 11].

В [12], платформа описана, которая использует капилляры для доставки конкретных количеств макромолекул в культивируемые клеточные линии и первичные клетки с разрешением на уровне одной молекулы. Капилляр используется и как зонд сканирующего капиллярного микроскопа, и как игла для инъекции. SCM используется для перемещения над поверхностью клетки перед тем, как капилляр будет введен на заданную глубину в определенное место клетки. С помощью этой установки показана количественная доставка ДНК, глобулярных белков и белковых фибрилл в клетки с разрешением на уровне одной молекулы. Также продемонстрировано, что доставка приводит к изменению фенотипа клетки.

Результаты по применению сканирующей капиллярной микроскопии для локальной доставки наночастиц также известны [13, 14]. В этом отношении, вопрос подсчета их числа, прошедшего через отверстия нанокapилляра, является проблемой. Этот подход позволит не только локально, но и с высокой точностью доставлять наночастицы к поверхности клетки.

EXPERIMENTAL RESEARCH

В целях разработки нанокapиллярной печати нашей группой разработана методика подсчета числа осаждаемых частиц. Метод заключается в подборе отверстия капилляра, соразмерного доставляемым (осаждаемым) частицам, при этом выход наночастицы из капилляра (под действием приложенной разности потенциалов) будет сопровождаться созданием своего рода преграды для прохождения ионов, значение ионного тока будет уменьшаться.

Известные результаты [15–17] по описанию поведения тока через апертуру нанокapилляра показывают, что в широком диапазоне размера концевого отверстия ток через него можно описать законом Ома. Величина ионного тока, протекающего через отверстие в капилляре, определяется выражением:

$$I_{DC}(z) = I_{sat} / \left(1 + \frac{A}{z}\right), \quad (1)$$

где I_{sat} – ток насыщения (на удалении от поверхности образца), z – расстояние до поверхности мембраны, A – коэффициент, учитывающий геометрию капилляра, определенную соотношением [17]:

образца, A – коэффициент, учитывающий геометрию капилляра, определяемый через соотношение [17]:

$$A \cong \ln\left(\frac{d_0}{d_i}\right) d_i d_0 / L, \quad (2)$$

где d_0 – внешний диаметр апертуры, d_i – внутренний диаметр апертуры, L – расстояние от торца капилляра до электрода, расположенного внутри капилляра. Ток насыщения, протекающий через нанокapилляр на большом расстоянии от образца, определяется в основном через сопротивление капилляра R_p через закон Ома:

$$I_{\text{sat}} = U / R_p, \quad (3)$$

где U – напряжение между электродами.

Для сопротивления нанокapилляра справедливо соотношение:

$$R_p = (\pi \sigma r_i \tan \alpha)^{-1}, \quad (4)$$

где σ – электропроводность электролита среды, r_i – внутренний радиус капилляра, α – угол при вершине капилляра (в среднем составляет от 3° до 5°).

Воспользовавшись также выражениями для определения размера и сопротивления капилляра (3, 4) и тока вблизи поверхности (1) и пренебрегая постоянными составляющими, несложно прийти к соотношению для токов в присутствии частицы и без нее:

$$\frac{I_{\text{при}}}{I_{\text{без}}} \cong \frac{R_{\text{без}}}{R_{\text{при}}} \cong \frac{r_{i \text{ при}}}{r_{i \text{ без}}} \approx \frac{r_i - r_{\text{частицы}}}{r_i}. \quad (5)$$

Проиллюстрируем методику на примере капилляра с радиусом отверстия 100 нм (рис.1). При расчете для частицы с $r_{\text{частицы}} \cong 50$ нм получаем $R_{\text{при}}/R_{\text{без}} \approx 2$ рост сопротивления в два раза, что влечет за собой падение величины тока на 50%!

В процессе нанокapиллярной печати, когда капилляр находится вблизи поверхности образца, а прыжковый режим его перемещения выключен, это падение будет без труда зафиксировано системой обратной связи, что позволит точно проводить подсчет в процессе локального осаждения наночастиц.

Данная схема имплементирована в управляющее ПО сканирующего капиллярного микроскопа "ФемтоСкан X Ion" [18], регистрирующее соответствующие изменения в сигнале с усилителя ионного тока, протекающего через апертуру капилляра ионного тока.

Сканирующий капиллярный микроскоп может использоваться и для локального нанесения

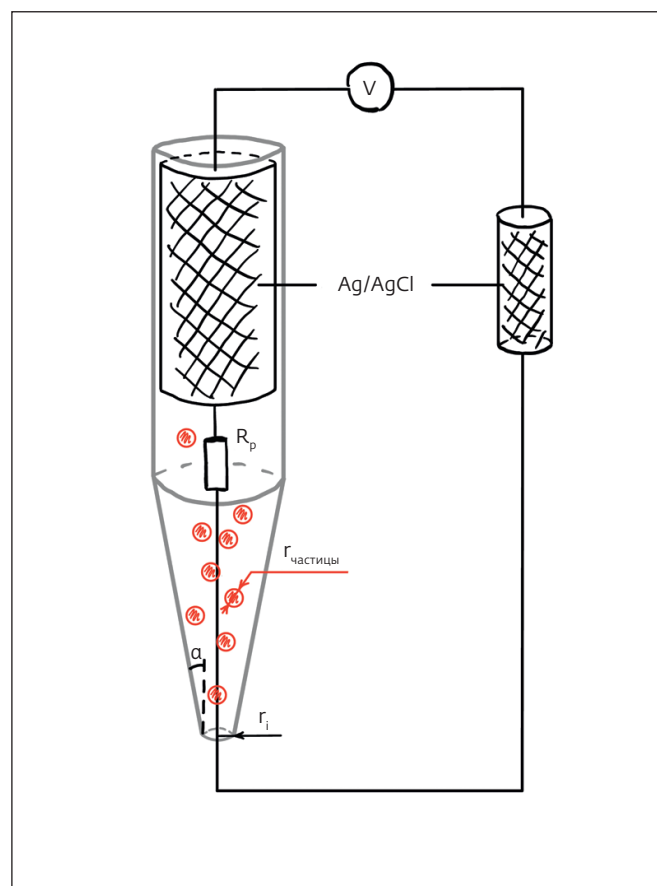


Рис.1. Эквивалентная принципиальная схема для объяснения падения величины регистрируемого ионного тока между Ag/AgCl электродами в капилляре и в среде при прохождении наночастицы через отверстия капилляра. R_p отражает сопротивление среды капилляра, r_i – внутренний радиус капилляра, $r_{\text{частицы}}$ – радиус частицы, α – угол при вершине капилляра

Fig.1. Equivalent circuit diagram to explain the drop in the magnitude of the recorded ionic current between Ag/AgCl electrodes in the capillary and in the medium as the nanoparticle passes through the capillary openings. R_p reflects the resistance of the capillary medium, r_i – inner radius of the capillary, $r_{\text{частицы}}$ – radius of the particle, α – capillary apex angle

$$A \cong \ln\left(\frac{d_0}{d_i}\right) d_i d_0 / L. \quad (2)$$

where d_0 – aperture outer diameter, d_i – aperture inner diameter, L – distance from the capillary end to the electrode inside the capillary. The saturation current flowing through the nanocapillary at a large distance from the sample is mainly determined through the capillary resistance R_p via Ohm's law:

$$I_{\text{sat}} = U / R_p, \quad (3)$$

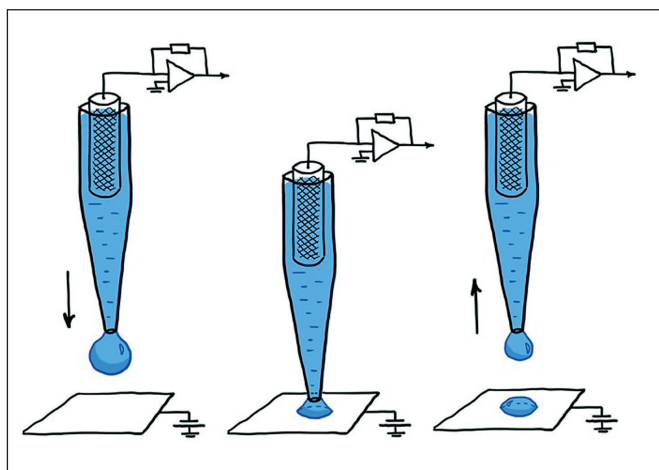


Рис. 2. Принципиальная схема процесса нанесения капель электролита на смачиваемую подложку

Fig. 2. Schematic diagram of the electrolyte droplet deposition process on a wetted substrate

на подложку или в область образца мельчайших капель жидкости [19]. Механизм работы проиллюстрирован на рис. 2. Вследствие капиллярного эффекта (закон Лапласа) на кончике заполненного электролитом капилляра образуется микрокапля, которая при подведении капилляра к проводящей подложке соприкасается с ней и между электродом в среде капилляра и электродом подложки начинает протекать ток. Появление тока регистрируется системой обратной связи, что позволяет остановить сближение и отвести капилляр, при этом капля вследствие смачивания остается на поверхности.

Данная техника была реализована и на платформе сканирующего капиллярного микроскопа "ФемтоСкан X Ion" [20]. Использование СКМ в данном случае обусловлено вышеописанным механизмом и необходимостью локального и дозированного нанесения капель с микрометровым периодом на горизонтальной поверхности образца (подложки). В этом отлично помогает пьезоманипулятор, обеспечивающий прецизионное перемещение подложки.

В качестве наносимой жидкости взят физраствор (0,9 М NaCl), проводящей подложкой служил контакт MicroSD/SD адаптера, покрытый золотым напылением. Подтверждена способность системы обратной связи регистрировать ток при соприкосновении капли с подложкой и останавливать подвод без поломки капилляра.

В работе использовался капилляр с размером отверстия около 1,5 мкм, при этом линейные размеры образующейся на его кончике капли имеют аналогичный порядок величины (рис. 3), что позволяет наносить капли объемом порядка

where U – electrode voltage.

For resistance of the nanocapillary the following relation is valid:

$$R_p = (\pi \sigma r_i \tan \alpha)^{-1}, \quad (4)$$

where σ – conductivity of electrolyte medium, r_i – inner radius of a capillary, α – capillary apex angle (on average from 3° to 5°).

Using also the expressions for determining the size and resistance of the capillary (3, 4) and the current near the surface (1), and neglecting the constant components, it is not difficult to arrive at a relation for the currents in then presence of the particle and without it:

$$\frac{I_{\text{при}}}{I_{\text{без}}} \approx \frac{R_{\text{без}}}{R_{\text{при}}} \approx \frac{r_i^{\text{при}}}{r_i^{\text{без}}} \approx \frac{r_i - r_{\text{частицы}}}{r_i}. \quad (5)$$

Let us illustrate the technique on the example of a capillary with the radius of the hole 100 nm (Fig. 1). When calculating for a particle with $r_{\text{частицы}} \approx 50$ nm, we obtain $R_{\text{при}}/R_{\text{без}} \approx 2$, the resistance value doubles, which entails a 50% drop in the current value!

In the nanocapillary printing process, when the capillary is close to the sample surface and the hopping mode of its movement is switched off, this drop will be easily detected by the feedback system, allowing accurate counting during localised nanoparticle deposition.

This registration is implemented in the of the FemtoScan X Ion scanning capillary microscope control software [18], which registers corresponding signal changes from the amplifier flowing through the aperture of the ion current capillary.

The scanning capillary microscope can also be used for local application of tiny liquid droplets on the substrate or in the sample area [19]. The mechanism of operation is illustrated in Fig. 2. Due to the capillary effect (Laplace's law), a microdrop is formed at the tip of the capillary filled with electrolyte, which, when the capillary is brought to a conducting substrate, contacts it and a current starts to flow between the electrode in the capillary medium and the substrate electrode. The appearance of current is detected by feedback system, which allows to stop convergence and withdraw the capillary, while the droplet remains on the surface due to wetting.

This technique was also implemented on the FemtoScan X Ion scanning capillary microscope platform [20]. The use of SCM in this case is due to the above-described mechanism and the need for local and metered application of micrometre-period droplets on the horizontal surface of the



фемтолитров ($\mu\text{m}^3 = 10^{-18} \text{ m}^3 = 10^{-15} \text{ л}$). Величина тока при контакте с подложкой составляла 6,5 нА.

Контролировать объем наносимой капли можно различными способами. Первым из них может быть выбор капилляра с определенным размером выходного отверстия. Другой способ предполагает использование внешнего давления, подаваемого с помощью компрессорной системы через верхнее свободное отверстие капилляра. Варьировать доставку вещества удастся также с помощью электрофореза – направленного переноса заряженных частиц под действием электрического поля.

ВЫВОДЫ

Внутриклеточная доставка является ключевым шагом в современных биологических исследованиях и открывает путь для многочисленных биомедицинских открытий. Сейчас доставка веществ в клетки становится все более важной в промышленных и медицинских приложениях, начиная от биопроизводства и заканчивая клеточной терапией.

Поэтому сканирующая капиллярная микроскопия приобретает особый интерес как метод исследования морфологии, измерения локальных биотоков и как метод адресной доставки веществ, что позволяет изучать реакцию клетки на внешнее воздействие и, как следствие, получать качественно новую и более значимую информацию о процессе их жизнедеятельности.

Уникальность доставки молекул, белков и ДНК с помощью капилляра заключается в ее доступности, применимости к разным типам клеток с минимальным повреждением клеточной мембраны и относительной скорости. Этот метод можно использовать для эффективной доставки передовых терапевтических средств (наноинъекция) и для неразрушающего отбора проб (нанобиопсия), при этом можно сразу же получить информацию об изменении фенотипа клеток вследствие проведенных манипуляций.

Однако успешное внедрение этой технологии требует знания нескольких научных областей, а также широкого распространения сканирующей капиллярной микроскопии для всех, кто интересуется внутриклеточной доставкой: для биологов, исследующих клеточную механику и морфологию; химиков, разрабатывающих новые вещества; клеточных физиологов и биотехнологов, изучающих механизмы доставки веществ в клетку.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена по госзаданию при финансовой поддержке физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова (Регистрационная

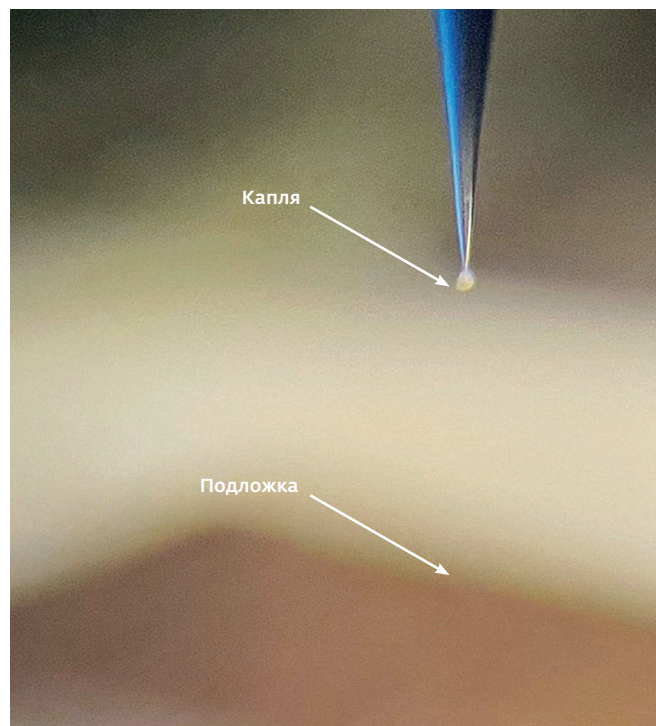


Рис.3. Капля на кончике капилляра. Диаметр капли около 10 мкм

Fig.3. A drop at the tip of a capillary. The diameter of the drop is about 10 μm

sample (substrate). The piezo manipulator, which provides precision movement of the substrate, is an excellent help.

Saline solution (0.9 M NaCl) was taken as applied liquid, the gold plated MicroSD/SD adapter contact served as the conductive substrate. The feedback system ability to register current at contact of a drop with the substrate and stop the supply without breaking the capillary was noted.

A capillary with an orifice size of about 1.5 μm was used in this work, and the linear dimensions of the drop formed at its tip are of a similar order of magnitude (Fig.3), which makes it possible to apply drops with a volume of the order of femtolitres ($\mu\text{m}^3 = 10^{-18} \text{ m}^3 = 10^{-15} \text{ litres}$). The current value at the contact with the substrate was 6.5 nA.

There are various ways to control the applied drop volume. The first is to select a capillary with a specific outlet size. Another method involves the use of external pressure applied by a compressor system through the upper free opening of the capillary. Electrophoresis, directed transfer of charged particles under the electric field influence can also be used to vary delivery of the substance.



тема 122091200048-7). ПО "ФемтоСкан Онлайн" предоставлено ООО НПП "Центр перспективных технологий". www.nanoscopy.ru. Отдельная благодарность за поддержку Советникова Т.О. фонду "Базис" (договор № 24-2-10-9-1)

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Elnathan R. et al.** Engineering vertically aligned semiconductor nanowire arrays for applications in the life sciences. *Nano Today* 9. 2014. PP. 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.04.001>
2. **Tay A.** The benefits of going small: nanostructures for mammalian cell transfection. *ACS Nano*. 2020. Vol. 14. PP. 7714–7721. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c04624>
3. **He G. et al.** Nanoneedle platforms: the many ways to pierce the cell membrane. *Adv. Funct. Mater.* 2020. Vol. 30. P. 1909890. <https://doi.org/10.1002/adfm.201909890>
4. **Liu R. et al.** High density individually addressable nanowire arrays record intracellular activity from primary rodent and human stem cell derived neurons. *Nano Lett.* 2017. Vol. 17. PP. 2757–2764. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.6b04752>
5. **Abbott J. et al.** Optimizing nanoelectrode arrays for scalable intracellular electrophysiology. *Acc. Chem. Res.* 51. 2018. PP. 600–608. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00519>
6. **Chen Y. et al.** Emerging roles of 1D vertical nanostructures in orchestrating immune cell functions. *Adv. Mater.* 32. 2020. P. e2001668. <https://doi.org/10.1002/adma.202001668>
7. **Wang Z. et al.** Interrogation of cellular innate immunity by diamond-nanoneedle-assisted intracellular molecular fishing. *Nano Lett.* 2015. Vol. 15. PP. 7058–7063. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b03126>
8. **Leitao S.M. et al.** Spatially multiplexed single-molecule translocations through a nanopore at controlled speeds. *Nat. Nanotechnol.* 2023. Vol. 18. PP. 1078–1084. <https://doi.org/10.1038/s41565-023-01412-4>
9. **Varongchayakul N. et al.** Single-molecule protein sensing in a nanopore: a tutorial. *Chem.*

CONCLUSIONS

Intracellular delivery is a key step in modern biological research and paves the way for numerous biomedical discoveries. Nowadays, delivery of substances into cells is becoming increasingly important in industrial and medical applications ranging from biomanufacturing to cell therapy.

Therefore, scanning capillary microscopy acquires special interest as a method of morphology research, measurement of local biocurrents and as a method of targeted delivery of substances, which allows us to study reaction of cells to external influence and, as a consequence, to obtain qualitatively new and more significant information about their vital activity process.

The uniqueness of capillary-assisted delivery of molecules, proteins and DNA lies in its accessibility, applicability to different cell types with minimal damage to the cell membrane and relative rapidity. This method can be used for efficient delivery of advanced therapeutics (nanoinjection) and for non-destructive sampling (nanobiopsy), with immediate information on changes in cell phenotype due to manipulation.

However, successful implementation of this technology requires knowledge of several scientific fields, as well as wide dissemination of scanning capillary microscopy to anyone interested in intracellular delivery: biologists studying cell mechanics and morphology, chemists developing new substances, cellular physiologists and biotechnologists studying the delivery mechanisms of substances into the cell.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was performed under the state order with the financial support of the Physical Department of Lomonosov Moscow State University (Registration subject 122091200048-7). FemtoScan Online software is provided by "Advanced Technologies Center", www.nanoscopy.ru. Special thanks to T.O. Sovetnikov for support the Basis Foundation (Contract No, 24-2-10-9-1).

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



- Soc. Rev. 47. 2018. PP. 8512–8524. <https://doi.org/10.1039/c8cs00106e>
10. **Chau C.C. et al.** Macromolecular crowding enhances the detection of DNA and proteins by a solid-state nanopore. *Nano Lett.* 20. 2020. PP. 5553–5561. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c02246>
 11. **Confederat S. et al.** Next-generation nanopore sensors based on conductive pulse sensing for enhanced detection of nanoparticles. *Small.* 2023. <https://doi.org/10.1002/smll.202305186>
 12. **Chau C.C. et al.** Single molecule delivery into living cells. *Nat Commun.* 2024. Vol. 15. No. 1. P. 4403. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48608-3>
 13. **O'Connell M.A. et al.** Positionable vertical microfluidic cell based on electromigration in a theta pipet. *Langmuir.* 2014. Vol. 30. PP. 10011–10018. <https://doi.org/10.1021/la5020412>
 14. **McKelvey K. et al.** Meniscus confined fabrication of multidimensional conducting polymer nanostructures with scanning electrochemical cell microscopy (SECCM). *Chem. Comm.* 2013. Vol. 49. PP. 2986–2988. <https://doi.org/10.1039/c3cc00104k>
 15. **Pastre D. et al.** Characterization of AC mode scanning ion-conductance microscopy. *Ultramicroscopy.* 2001. Vol. 90. PP. 13–19. [https://doi.org/10.1016/s0304-3991\(01\)00096-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3991(01)00096-1)
 16. **Rheinlander J., Schaffer T.E.** An accurate model for the ion current-distance behavior in scanning ion conductance microscopy allows for calibration of pipet tip geometry and tip-sample distance. *Anal. Chem.* 2017. Vol. 89. No. 21. PP. 11875–11880. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b03871>
 17. **Lukashenko S.Y. et al.** Behavioral features of the approach curve of a scanning ion-conductance microscope. *J. Surf. Investig.* 2023. Vol. 17. PP. 585–591. <https://doi.org/10.1134/S1027451023030096>
 18. **Sovetnikov T.O. et al.** Characteristics of the use of scanning capillary microscopy in biomedical research. *Bio-Medical Engineering* 57. 2023. Vol. 4. PP. 250–253. <https://doi.org/10.1007/s10527-023-10309-4>
 19. **Rodolfa K.T. et al.** Two-Component Graded Deposition of Biomolecules with a Double-Barreled Nanopipette. *Angewandte Chemie International Edition.* 2005. Vol. 44. No. 42. PP. 6854–6859. <https://doi.org/10.1002/anie.200502338>
 20. **Akhmetova A.I. et al.** Scanning capillary microscopy for biological applications. *NANOINDUSTRY.* 2024. Vol. 17. No. 6. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.6.364.370>



ИЗДАТЕЛЬСТВО «ТЕХНОСФЕРА» ПРЕДСТАВЛЯЕТ КНИГУ:



Цена 1090 руб.

Юрген Бёккер СПЕКТРОСКОПИЯ

Москва: ТЕХНОСФЕРА, 2024. – 528 с., ISBN 978-5-94836-220-5

Спектроскопия как средство описания атомов, ионов и молекул с помощью типовых длин волн, измеряемых при возбуждении, принадлежит сегодня к важнейшим и самым распространенным методам инструментальной аналитики. Специальные измерительные устройства, в том числе абсорбционные и эмиссионные спектрометры, обеспечивают точное определение количественного и качественного состава газообразных, жидких и твердых веществ.

В книге дается обзор разных методов атомной и молекулярной спектрометрии и рассматриваются многие аналитические проблемы, решаемые в лабораториях промышленных предприятий, в естественнонаучных и технических учреждениях, а также проблемы изучения и защиты объектов окружающей среды. В книге представлена широкая гамма существующих методов исследования, а также перечень приборов с руководством по их применению.

125319, Москва, а/я 91; тел.: +7 495 234-0110; факс: +7 495 956-3346; e-mail: knigi@technosphere.ru; sales@technosphere.ru