

УДК 537.624.9

СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАГНИТНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2023 г. А. В. Орлов^{1,*}, Ю. А. Малкеров^{1,2}, А. М. Скирда^{1,2}, Д. О. Новичихин^{1,2}, С. Л. Знойко¹, В. А. Брагина¹, П. И. Никитин^{1,**}

Представлено академиком РАН И.А. Щербаковым 18.04.2023 г.

Поступило 19.04.2023 г.

После доработки 19.04.2023 г.

Принято к публикации 27.04.2023 г.

Магнитные частицы на основе суперпарамагнитных нанокристаллов оксидов железа все более широко используются в современных исследованиях по разработке экспрессных технологий высокоточного определения концентрации биомолекул. В настоящей работе на основе оригинальной технологии сверхчувствительной детекции нелинейных магнитных наноматериалов развит универсальный метод применения магнитных частиц в качестве полифункциональных агентов, выполняющих в одном анализе сразу несколько различных функций, для актуальных задач биохимической и медицинской диагностики. Метод был протестирован для реализации экспрессной количественной регистрации кардиомаркеров и SARS-CoV-2-ассоциированных молекулярных маркеров в сложных матриксах. Предложенный метод перспективен для создания тест-систем догоспитального мониторинга, в частности, для экстренной молекулярной диагностики у пациентов с подозрением на острый инфаркт миокарда, а также для быстрого обнаружения коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: суперпарамагнитные нанокристаллы, нелинейное перемагничивание, комбинаторные частоты, магнитные сенсоры, спектрально-корреляционная интерферометрия, гигантское магнитное сопротивление, физические методы регистрации молекулярных маркеров заболеваний, маркеры острого инфаркта миокарда, быстрая диагностика, коронавирусная инфекция

DOI: 10.31857/S2686740023040107, **EDN:** VMFQOY

В настоящее время в мировой практике при разработке инновационных сенсорных подходов широко применяются материалы и структуры на основе разнообразных наночастиц и нанокластеров [1–4]. Одними из наиболее перспективных материалов такого рода, обладающих целым набором уникальных свойств, являются магнитные материалы, в частности частицы, содержащие суперпарамагнитные нанокристаллы [5–7]. Магнитные частицы (МЧ) активно используются в современных исследованиях при решении самых различных задач, например, для разработки новых методов направленной доставки лекарственных препаратов, для создания контрастирующих

агентов для магниторезонансной томографии, для магнитной иммуносепарации клеток, в качестве нанометок в иммуноанализах и т.д. [8–12].

Потенциал применения МЧ в области биосенсорики состоит в их использовании для специфического распознавания детектируемых аналитов, возможности манипулирования с помощью внешнего магнитного поля, а также в применении в качестве детектируемых магнитных меток, которые могут быть зарегистрированы даже в непрозрачных средах. Однако этот потенциал в настоящее время все еще не реализован в полной мере, в частности из-за несовершенства доступных методов регистрации МЧ. Для количественного обнаружения МЧ часто используются методы, основанные на явлении гигантского магнитного сопротивления (ГМС), заключающегося в значительном уменьшении электрического сопротивления материала в присутствии внешнего магнитного поля [13–15]. В основе ГМС лежит проявление квантовомеханических эффектов в тонких пленках, которые состоят из чередующихся ферромагнитных и немагнитных слоев. Одна-

¹ Институт общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук, Москва, Россия

² Национальный исследовательский ядерный
университет “МИФИ”, Москва, Россия

*E-mail: alexey.orlov@kapella.gpi.ru

**E-mail: petr.nikitin@nsc.gpi.ru

ко поскольку ГМС-сенсорами регистрируется искажение внешнего постоянного магнитного поля одиночной МЧ, то пространственный масштаб такого искажения сравним с размером самой частицы. Это накладывает принципиальные ограничения на размер используемых МЧ, размеры и количество сенсорных элементов. Жесткие требования предъявляются и к сверхтонким защитным покрытиям ГМС-структур, которые при этом должны выдерживать присутствие жидких реагентов и клинических сред на поверхности. Кроме того, поскольку намагниченность магнитных наночастиц достаточно мала, сигнал регистрируется с невысоким отношением сигнал/шум – обычно не более 10. Для регистрации МЧ также используются сверхпроводящие квантовые интерферометрические (СКВИД) магнетометры, охлаждаемые жидким гелием, позволяющие измерять время релаксации намагниченности при импульсном возбуждении частиц [16–18]. Известны применения СКВИД-магнетометров в биосенсорных устройствах и различных аналитических системах, позволяющие существенно улучшить чувствительность определения биологически активных соединений [19–21]. Однако необходимость использования специальной дорогостоящей, сложной и громоздкой аппаратуры, а также высокая стоимость обслуживания таких магнетометров существенно сужают их доступность для широкомасштабных исследований.

В значительной степени вышеуказанных недостатков лишена технология регистрации магнитных материалов по их нелинейному перемагничиванию, лежащая в основе данной работы. Она реализуется в компактных и сравнительно недорогих регистрирующих устройствах, позволяющих проводить измерения практически в реальном масштабе времени и при комнатной температуре [1, 5]. Технология основана на нелинейном намагничивании МЧ в магнитных полях на двух частотах (рис. 1). При этом отклик, пропорциональный количеству нелинейного магнитного материала, регистрируется на комбинаторных частотах, представляющих собой алгебраические суммы с целочисленными коэффициентами двух возбуждающих частот. Важно, что на комбинаторных частотах отсутствует вклад линейных пара- или диамагнитных материалов. За счет этого возможно реализовать высокие чувствительность и отношение сигнала к шуму при измерении количества МЧ [10]. В результате такая технология детекции простых наноксидов железа сравнима по чувствительности с регистрацией меток из радиоактивных изотопов ^{59}Fe по сопутствующему гамма-излучению и позволяет детектировать десятки доли нанограмм МЧ в объеме 0.25 мл при времени измерения около 2 с и не имеющем аналогов в линейном динамическом диапазоне 7 порядков.

В настоящей работе на основе указанной технологии развит универсальный метод применения биофункционализированных МЧ в качестве полифункциональных агентов, выполняющих в одном анализе сразу несколько различных функций для актуальных задач биохимической и медицинской диагностики кардио- и инфекционных заболеваний (рис. 2а). Первая функция МЧ заключается в их применении в качестве специфических магнитносепарирующих агентов, управляемых внешним магнитным полем. На этом этапе с помощью МЧ обеспечиваются эффективное концентрирование, обогащение и очистка аналита от окружающего матрикса, что позволяет анализировать среды сложного состава, такие как цельная кровь, клинические образцы большого объема, пищевые продукты и т.д. Те же самые МЧ выполняют функцию носителей образовавшихся иммунных комплексов и обеспечивают их миграцию вдоль различных аналитических зон тест-системы. Следующую функцию МЧ выполняют в качестве нанометок биохимических реакций. Такие метки точно количественно детектируются по всему объему тест-систем, а не только с их поверхности, как практически всегда происходит при регистрации оптических меток. Особенно важно, что используемый принцип магнитной регистрации позволяет анализировать, в том числе, непрозрачные и окрашенные образцы.

Для регистрации полифункциональных магнитных материалов в данной работе была адаптирована и оптимизирована (с целью достижения максимальной чувствительности) упомянутая технология магнитометрических измерений, а также разработана методика изготовления биофункционализированных полифункциональных магнитных материалов, заключающаяся в следующем. На поверхность суперпарамагнитных наночастиц диаметром 200 нм ковалентно иммобилизуются “детектирующие” моноклональные антитела, специфически связывающиеся с определяемым соединением (рис. 2б). Для этого к 8 мкл 10%-го раствора частиц, модифицированных карбоксильными группами (COOH-), добавляется 50 мкл буфера, содержащего 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту (MES) (pH 5.0). Затем после однократной магнитной отмывки в растворе MES к частицам добавляется 50 мкл раствора MES, содержащего 3 мг 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодимида (EDC) и 2 мг N-гидроксисукцинимид. После 15 мин инкубации осуществляется замена буфера на 50 мкл фосфатно-солевого буферного раствора (ФСБР) (pH 7,4), содержащего моноклональные антитела (60 мкг/мл). Затем добавляется 5 мкл 10%-го бычьего сывороточного альбумина (БСА) в фосфатно-солевом буферном растворе и инкубируется 4 ч. Все инкубации осуществляются при комнатной температуре на вертикальном рота-

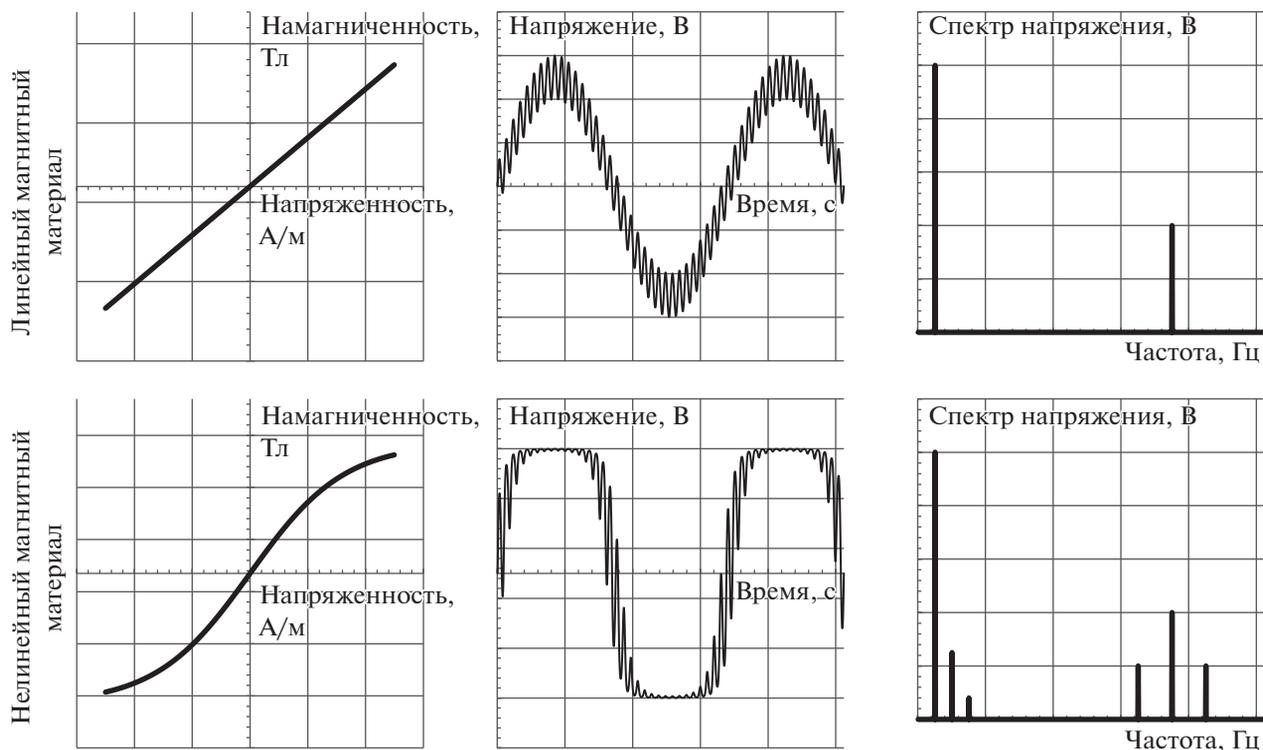


Рис. 1. Схема нелинейного намагничивания в магнитных полях на двух частотах и регистрации отклика на комбинационных частотах.

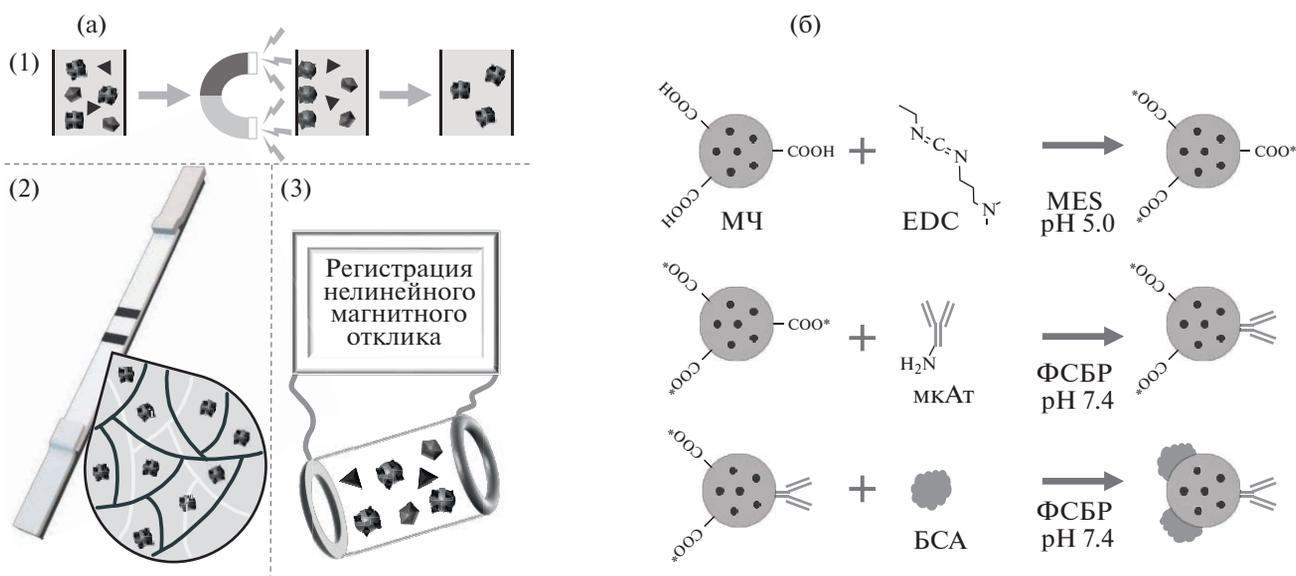


Рис. 2. а – Схема реализации различных функций одних и тех же магнитных частиц. Применение МЧ в качестве: (1) специфических магнитносепазирующих агентов, (2) носителей образовавшихся иммунокомплексов и (3) детектируемых нанотеток; б – схема получения биофункционализированных полифункциональных магнитных материалов.

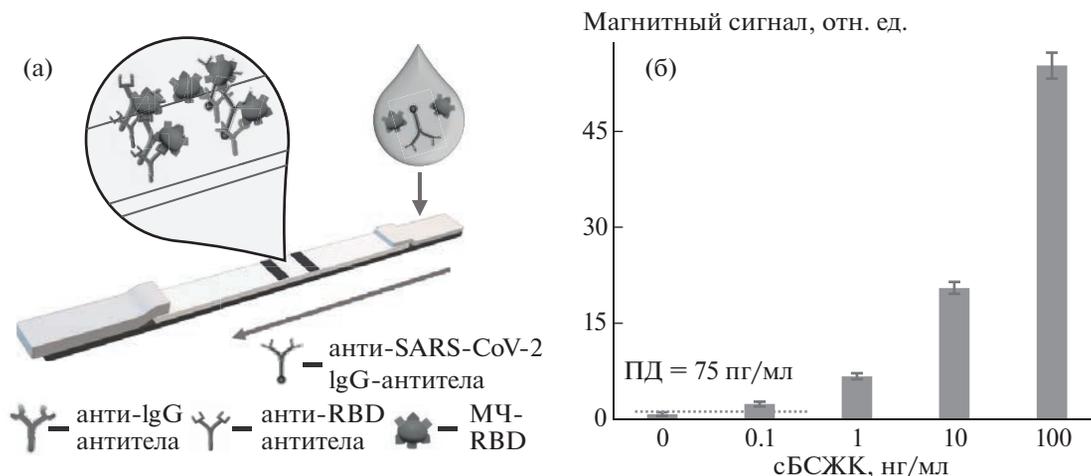


Рис. 3. а – Схема магнитных иммунохроматографических тест-систем для определения иммуноглобулинов класса G к RBD-антигену вируса SARS-CoV-2; б – калибровочная зависимость детектируемых магнитных сигналов от концентрации сердечной формы белка, связывающего жирные кислоты.

торе. Затем МЧ трижды отмываются в деионизованной воде и хранятся при +4°C.

Продемонстрирована возможность получения полифункциональных магнитных материалов, совместимых с технологией регистрации МЧ на комбинаторных частотах с применением методов модификации поверхности МЧ на основе альтернативных типов биораспознающих молекул: аптамеров, пептидов, белковых антигенов или антител. Выбор оптимальных молекул, обеспечивающих быстрое связывание с аналитами и медленную диссоциацию комплексов, осуществлялся с помощью анализаторов на основе низкокогерентной интерферометрии, позволяющих эффективно измерять кинетические константы взаимодействия как с биомолекулами, так и с функционализированными наночастицами [22–25]. С применением таких оптических анализаторов были разработаны методы синтеза конъюгатов магнитных наночастиц, функционализированных белковыми антигенами коронавируса SARS-CoV-2. При этом точная количественная характеристика МЧ с помощью регистрации на комбинаторных частотах позволила эффективно и быстро устанавливать оптимальные условия для иммобилизации распознающих молекул с сохранением их высокой селективной связывающей активности и минимального неспецифического связывания. Также экспериментально установлены параметры для конъюгации, такие как количество биораспознающих молекул и время инкубации с МЧ, которые обеспечивают максимальную чувствительность при минимальной продолжительности анализа. С использованием полученных полифункциональных конъюгатов разработаны способы повышения чувствительности, расширения

динамического диапазона и сокращения продолжительности количественных иммунохроматографических форматов магнитного иммуноанализа (менее 20 мин), что открывает новые возможности для быстрой и высокочувствительной диагностики целого ряда заболеваний.

В частности, применительно к диагностике коронавируса SARS-CoV-2 оптимизированы различные форматы иммуноанализа с использованием полифункциональных МЧ и антител/антигенов, иммобилизованных на тестовой линии нитроцеллюлозных иммунохроматографических мембран. Была протестирована новая иммунохроматографическая аналитическая платформа для быстрого количественного детектирования антител различных классов (IgG, IgM) к антигенам вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека (рис. 3а). Установлено, что достигнутые пределы детекции на один-два порядка превышают чувствительность известных аналитических лабораторных методов, характеризуются широким динамическим диапазоном измерения концентраций (более трех порядков) и позволяют проводить анализ значительно быстрее – в течение 20 мин и даже вне условий специализированных лабораторий. Кроме того, проведены эксперименты по подтверждению специфичности разработанных платформ и отсутствия кросс-реактивности с другими биологически важными соединениями (в частности, низко- и высокомолекулярными потенциально интерферирующими антигенами) в сложных биологических средах.

Отдельная серия экспериментов была посвящена демонстрации универсальности метода и возможности его использования в сочетании с анизотропными магнитными наноматериалами

(АМН), а именно: цилиндрическими структурами, синтезированными в присутствии постоянного магнитного поля. Поверхность таких АМН была модифицирована за счет введения аминогруппы NH_2 - с помощью 3-(2-аминоэтиламино)пропилметилдиметоксисилана и последующего введения карбоксильной группы COOH - с помощью янтарного ангидрида. Подобные АМЧ успешно испытаны в качестве магнитных материалов, реализующих как магнитную сепарацию, так и способных служить биораспознающими носителями и метками иммунохимических реакций. Полученные COOH -модифицированные АМН были охарактеризованы и функционализированы путем ковалентной иммобилизации на их поверхности карбодиимидным методом моноклональных антител к трем различным кардиомаркерам: сердечному тропонину I – сТnI; мозговому натрийуретическому гормону – NT-proBNP; сердечной форме белка, связывающего жирные кислоты – сБСЖК. Получены калибровочные зависимости детектируемых сигналов от концентрации анализируемых кардиомаркеров, по которым установлены аналитические характеристики разработанных тест-систем (рис. 3б). Установлено, что предел детекции для сБСЖК составил 75 пг/мл; динамический диапазон – три порядка величины концентрации; среднее относительное отклонение значений регистрируемых сигналов – не более 7%; время анализа – 25 мин.

Кроме того, разработанные методы были протестированы для экспрессной количественной регистрации кардиомаркеров непосредственно в сложных матриксах с применением трехмерных твердых фаз для иммунохроматографического анализа в сочетании с электронным подсчетом магнитных нанометок во всем объеме пористых структур. Для иммунохроматографического детектирования кардиомаркеров впервые использованы не традиционные тонкие тест-полоски, а трехмерные цилиндрические волоконные структуры. На такие структуры заранее были нанесены все компоненты для анализа и сформированы три зоны. Первая зона содержала магнитные биоконъюгаты, вторая – иммобилизованные моноклональные антитела, а третья обеспечивала миграцию анализируемого раствора под действием капиллярных сил. Продемонстрированный потенциал нового трехмерного формата иммунохроматографического анализа включает не только характерные преимущества стандартной иммунохроматографии (высокая скорость анализа; простота использования, не требующая привлечения высококвалифицированного персонала для работы и интерпретации результатов; возможность проведения измерений в полевых или догоспитальных условиях), но и ряд новых преимуществ, таких как количественные измерения концентраций аналита в широком диапазоне концентраций и

возможность тестирования цельной крови или сыворотки крови человека без продолжительной пробоподготовки.

Таким образом, реализованное сочетание сверхчувствительной регистрации нелинейных магнитных наноматериалов с применением полифункциональных частиц представляется перспективным для высокоточных количественных методов экспрессного определения биологически активных соединений в сложных средах. Такие методы могут использоваться для решения актуальных задач в различных областях, в частности для догоспитальной диагностики заболеваний (например, для экстренного определения кардиомаркеров у пациентов с подозрениями на острый инфаркт миокарда, а также для скоростного обнаружения коронавирусной инфекции), для анализа продуктов питания, экологического и токсикологического мониторинга и т.д.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят И.Л. Никитину за плодотворные дискуссии и помощь при подготовке рукописи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Различные аспекты данного междисциплинарного исследования были частично поддержаны грантами Российского научного фонда: № 19-73-10205 (разработка аналитических систем для определения молекулярных сердечных биомаркеров и трехмерного формата иммунохроматографического анализа) и № 18-74-10098 (разработка биосенсорных платформ для детектирования SARS-CoV-2-ассоциированных молекулярных маркеров).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nikitin P.I., Vetoshko P.M., Ksenevich T.I. Magnetic Immunoassays // *Sensor Letters*. 2007. V. 5. № 1. P. 296–299. <https://doi.org/10.1166/sl.2007.007>
2. Welch E.C. et al. Advances in Biosensors and Diagnostic Technologies Using Nanostructures and Nanomaterials // *Advanced Functional Materials*. 2021. V. 31. № 44. P. 2104126. <https://doi.org/10.1002/adfm.202104126>
3. Drozdov A.S. et al. Fluorescent Magnetic Nanoparticles for Bioimaging through Biomimetic Surface Modification // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. V. 24. № 1. P. 134. <https://doi.org/10.3390/ijms24010134>
4. Yoon J. et al. Highly Sensitive Biosensors Based on Biomolecules and Functional Nanomaterials Depending on the Types of Nanomaterials: A Perspective Review // *Materials*. 2020. V. 13. № 2. P. 299. <https://doi.org/10.3390/ma13020299>

5. *Bragina V.A. et al.* Analytical platform with selectable assay parameters based on three functions of magnetic nanoparticles: demonstration of highly sensitive rapid quantitation of staphylococcal enterotoxin B in Food // *Analytical Chemistry*. 2019. V. 91. № 15. P. 9852–9857. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01519>
6. *Ling W. et al.* Synthesis, surface modification, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles // *Journal of Materials Research*. 2019. V. 34. № 11. P. 1828–1844. <https://doi.org/10.1557/jmr.2019.129>
7. *Gambhir R.P., Rohiwal S.S., Tiwari A.P.* Multifunctional surface functionalized magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A review // *Applied Surface Science Advances*. 2022. V. 11. P. 100303. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2022.100303>
8. *Chandrasekharan P. et al.* Using magnetic particle imaging systems to localize and guide magnetic hyperthermia treatment: tracers, hardware, and future medical applications // *Theranostics*. 2020. V. 10. № 7. P. 2965–2981. <https://doi.org/10.7150/thno.40858>
9. *Wu K. et al.* One-Step, Wash-free, Nanoparticle Clustering-Based Magnetic Particle Spectroscopy Bioassay Method for Detection of SARS-CoV-2 Spike and Nucleocapsid Proteins in the Liquid Phase // *ACS Mater. Interfaces*. 2021. V. 13. № 37. P. 44136–44146. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c14657>
10. *Znoyko S.L. et al.* Nanomagnetic lateral flow assay for high-precision quantification of diagnostically relevant concentrations of serum TSH // *Talanta*. 2020. V. 216. P. 120961. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120961>
11. *Rosenblum D. et al.* Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics // *Nat Commun*. 2018. V. 9. № 1. P. 1410. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03705-y>
12. *Alves M.N. et al.* Trends in analytical separations of magnetic (nano)particles // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2019. V. 114. P. 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.026>
13. *Wu K. et al.* Giant Magnetoresistance Biosensors in Biomedical Applications // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2022. V. 14. № 8. P. 9945–9969. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c20141>
14. *Choi J. et al.* Portable, one-step, and rapid GMR biosensor platform with smartphone interface // *Biosensors and Bioelectronics*. 2016. V. 85. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.04.046>
15. *Ennen I. et al.* Giant Magnetoresistance: Basic Concepts, Microstructure, Magnetic Interactions and Applications // *Sensors*. 2016. V. 16. № 6. P. 904. <https://doi.org/10.3390/s16060904>
16. *Enpuku K. et al.* Biosensing utilizing magnetic markers and superconducting quantum interference devices // *Supercond. Sci. Technol*. 2017. V. 30. № 5. P. 053002. <https://doi.org/10.1088/1361-6668/aa5fce>
17. *Vettoliere A., Silvestrini P., Granata C.* 3 – Superconducting quantum magnetic sensing // *Quantum Materials, Devices, and Applications* / Ed. M. Henini, M.O. Rodrigues Elsevier, 2023. P. 43–85. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820566-2.00001-6>
18. *Storm J.-H. et al.* An ultra-sensitive and wideband magnetometer based on a superconducting quantum interference device // *Appl. Phys. Lett*. 2017. V. 110. № 7. P. 072603. <https://doi.org/10.1063/1.4976823>
19. *Yang S.-Y. et al.* Development of an ultra-high sensitive immunoassay with plasma biomarker for differentiating Parkinson disease dementia from Parkinson disease using antibody functionalized magnetic nanoparticles // *J. Nanobiotechnol*. 2016. V. 14. № 1. P. 41. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0198-5>
20. *Uchida S. et al.* Highly Sensitive Liquid-Phase Detection of Biological Targets With Magnetic Markers and High Tc SQUID // *IEEE Transactions on Applied Superconductivity*. 2014. V. 24. № 4. P. 1–5. <https://doi.org/10.1109/TASC.2014.2311449>
21. *Wissberg S. et al.* Sensitive Readout for Microfluidic High-Throughput Applications using Scanning SQUID Microscopy // *Sci Rep*. 2020. V. 10. № 1. P. 1573. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58307-w>
22. *Орлов А.В., Новичихин Д.О., Пушкарев А.В., Малкеров Ю.А., Знойко С.Л., Гутенева Н.В., Орлова Н.Н., Горшков Б.Г., Никитин П.И.* Регистрация кинетики взаимодействий молекул на основе низкокогерентной интерферометрии для разработки иммуноанализов биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний // *Доклады РАН. Физика, технические науки*. 2022. Т. 505. № 1. С. 39–44. <https://doi.org/10.1134/S1028335822070035>
23. *Красникова Т.Л., Никитин П.И., Ксенович Т.И., Горшков Б.Г., Орлов А.В., Сидорова М.В., Азьмуко А.А., Арефьева Т.И., Мамочкина Е.Н., Ефремов Е.Е., Беспалова Ж.Д.* Влияние пептидного фрагмента (65–76) С-концевого домена моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1) на взаимодействие MCP-1 с гепарином // *ДАН*. 2010. Т. 433. № 4. С. 559–562. <https://doi.org/10.1134/S0012496610040150>
24. *Orlov A.V. et al.* Kinetic Analysis of Prostate-Specific Antigen Interaction with Monoclonal Antibodies for Development of a Magnetic Immunoassay Based on Nontransparent Fiber Structures // *Molecules*. 2022. V. 27. № 22. P. 8077. <https://doi.org/10.3390/molecules27228077>
25. *Orlov A.V. et al.* Multiplex Label-Free Kinetic Characterization of Antibodies for Rapid Sensitive Cardiac Troponin I Detection Based on Functionalized Magnetic Nanotags // *Intern. J. of Molecular Sciences*. 2022. V. 23. № 9. P. 4474. <https://doi.org/10.3390/ijms23094474>

SUPER-SENSITIVE REGISTRATION OF POLYFUNCTIONAL MAGNETIC NANOMATERIALS FOR THE RAPID DETERMINATION OF MOLECULAR MARKERS OF DISEASES

**A. V. Orlov^a, Yu. A. Malkerov^{a,b}, A. M. Skirda^{a,b}, D. O. Novichikhin^{a,b},
S. L. Znoyko^a, V. A. Bragina^a, and P. I. Nikitin^a**

^a *Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b *National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia*

Presented by Academician of the RAS I.A. Scherbakov

Magnetic particles (MPs) based on superparamagnetic iron oxide nanocrystals are increasingly used in modern research for the development of express technologies for high-precision determination of the concentration of biomolecules. In this work, we developed a universal method for using MPs as polyfunctional agents that perform several different functions in one analysis for topical issues of biochemical and medical diagnostics, based on the original technology of ultrasensitive detection of nonlinear magnetic nanomaterials. The method was tested for the rapid quantitative registration of cardiac markers and SARS-CoV-2-associated molecular markers in complex matrices. The proposed method is promising for creating test systems for prehospital monitoring, particularly for emergency molecular diagnostics in patients with suspected acute myocardial infarction, as well as for the rapid detection of coronavirus infection.

Keywords: superparamagnetic nanocrystals, nonlinear re-magnetization, combinatorial frequencies, magnetic sensors, spectral correlation interferometry, giant magnetic resistance, physical methods for determination of molecular markers of diseases, markers of acute myocardial infarction, rapid diagnostics, coronavirus infection