

**Всероссийский конкурс научно-исследовательских работ студентов вузов в области
нанотехнологий и наноматериалов**

Раздел конкурса

Наноинженерия

ВУЗ Рязанский государственный радиотехнический университет

Факультет электроники

Кафедра биомедицинской и полупроводниковой электроники

Биосовместимые наноматериалы

Выполнил:

Студент Алмазов Д.В.

Научный руководитель ассистент Гудзев В.В.

2009 г.

Аннотация

Новейшие нанотехнологии наряду с компьютерно-информационными технологиями и биотехнологиями являются фундаментом научно-технической революции XXI века, сравнимым и даже превосходящим по своим масштабам с преобразованиями в технике и обществе, вызванными крупнейшими научными открытиями XX века.

Применение новых нанокпозиционных материалов на основе органогили, модифицированных наночастицами серебра (полимерных нанокпозитивов), значительно улучшает антибактерицидные свойства медицинских стерильных салфеток, бинтов, лечебных покрытий (пластырей), материалов для специальной защитной одежды. А добавление полимерных нанокпозитивов в лаки и краски придают им высокую бактерицидную биоактивность.

Биологические и биогенные наночастицы. Биологический мир буквально наполнен наночастицами — это ферменты (белки с каталитической активностью), молекулы ДНК и РНК, рибосомы, клеточные везикулы, вирусы и пр.

Полимерные наночастицы. Полимерные материалы обладают рядом преимуществ, определяющих эффективность их применения в технологиях доставки, — биосовместимость, способность к биодеградации, функциональная совместимость.

Дендримеры. Дендримеры являются уникальным классом полимеров с сильно разветвленной структурой. При этом их размер и форма могут быть очень точно заданы при химическом синтезе. Дендримеры получают из мономеров, проводя последовательные конвергентную и дивергентную полимеризации

Углеродные наночастицы. Нанотрубки и фуллерены являются одними из самых «узнаваемых» наноструктур — практически ни один популярный текст про нанотехнологии не обходится без их изображений.

Неорганические наночастицы. К этому классу обычно относят наноструктуры, полученные на основании оксида кремния, а также различных металлов (золото, серебро, платина). При этом часто такая наночастица имеет кремниевое ядро и внешнюю оболочку, сформированную атомами металла.

Биочипы, в широком смысле, представляют собой воплощение технологического принципа, который состоит в миниатюризации различных биологических материалов и их нанесении на подложки, подобные компьютерным чипам, для автоматизированного и высокопроизводительного анализа. Изготовление биочипов основывается как на традиционных технологиях микролитографии, так и на новых методах создания микрочипов.

Большинство систем, используемых в настоящее время в биомедицинских исследованиях, нельзя классифицировать как нанобиотехнологические приборы: они не только не структурированы на наноуровне, но и не используют нанотехнологию в своих схемах детектирования

Эксперты считают, что основными применениями нанотехнологии в медицинском секторе в ближайшие 10 лет будут диагностические системы и точечная доставка лекарств, в то время как главными направлениями исследований будут биочипы/системы высокопроизводительного скрининга/приборы lab-on-a-chip.

В настоящее время существует острая необходимость в создании быстрых, простых, сравнительно дешевых и более специализированных медицинских приборов, способных к скринингу многочисленных заболеваний и мониторингу патогенных инфекций. Для решения подобной задачи потребуются создание новых сенсоров, обладающих улучшенной биосовместимостью и чувствительностью для контроля *in vivo* за процессами в живой клетке и получения новой информации о процессах внутри нее.

Биосенсоры – это в высокой степени интегрированные устройства, включающие биологический или биомиметический чувствительный элемент (рецептор или систему распознавания), первичный преобразователь сигнала и его усилитель. Интеграция биохимического распознающего элемента и преобразователя – главная особенность, отличающей биосенсоры от других биоаналитических систем.

Благодаря биомолекулярным сенсорам, интегрированным в портативные устройства *lab-on-a-chip*, станут доступными современные инструменты самодиагностики (например, недорогие анализы крови) для более быстрой и специальной клинической диагностики, а применение имплантируемых биосенсоров увеличит знания о строении клетки и процессах, происходящих в ней, для мониторинга и предотвращения заболеваний.

Содержание

Введение.....	5
1. Применение новых нанокomпозиционных материалов в медицине	5
2. Трансдермальная доставка биологически активных молекул с использованием наночастиц	8
3. Биочипы	14
4. Молекулярные биосенсоры	16
Заключение.....	19
Список используемых источников.....	19

Введение.

Новейшие нанотехнологии наряду с компьютерно-информационными технологиями и биотехнологиями являются фундаментом научно-технической революции XXI века, сравнимым и даже превосходящим по своим масштабам с преобразованиями в технике и обществе, вызванными крупнейшими научными открытиями XX века.

В развитых странах осознание ключевой роли, которую уже в недалеком будущем будут играть результаты работ по нанотехнологиям, привело к разработке широкомасштабных программ по их развитию на основе государственной поддержки.

Широкомасштабное и скоординированное развертывание на базе существующего задела работ в области нанотехнологий позволит России восстановить и поддерживать паритет с ведущими государствами в науке, технике и других аспектах современной жизни, а также обеспечить необходимый уровень обороноспособности и безопасности государства.

Нанотехнологии могут стать мощным инструментом интеграции технологического комплекса России в международный рынок высоких технологий, надежного обеспечения конкурентоспособности отечественной продукции.[2]

Актуальность и важность работ в области нанотехнологий определили необходимость эффективного использования интеллектуального и научно-технического потенциала страны в интересах развития различных отраслей науки, а в частности и медицины.

1. Применение новых нанокomпозиционных материалов в медицине.

Применение новых нанокomпозиционных материалов на основе органогилинов, модифицированных наночастицами серебра (полимерных нанокomпозитов), значительно улучшает антибактерицидные свойства медицинских стерильных салфеток, бинтов, лечебных покрытий (пластырей), материалов для специальной защитной одежды. А добавление полимерных нанокomпозитов в лаки и краски придает им высокую бактерицидную биоактивность.

Оздоровляющий эффект ионов серебра известен человеку с незапамятных времен. Установлено, что и наночастицы серебра, полученные разными методами, тоже обладают антибактерицидными свойствами. Наночастицы Ag изучались в нескольких институтах. В Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН исследовались наночастицы Ag, полученные методом радиационно-химического синтеза; в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН – биохимически синтезированные частицы. В Институте электрохимии им. А.П.Фрумкина проводилось исследование свойств красок с наночастицами Ag. Оказалось, что радиационно-синтезированные серебряные наночастицы, нанесенные на углеродную ткань или керамические материалы, убивают бактерии кишечной палочки (сегодня на основе этого открытия уже разработаны элементы фильтров для очистки питьевой воды). Не уступают им и наночастицы Ag, синтезированные биохимически.

Разработаны новые нанокomпозиционные материалы на основе органогилинов, модифицированных ионами серебра. Применение этих материалов в производстве экзопротезов (бактерицидных покрытий) значительно повышают их антибактерицидные свойства и увеличивают возможный срок их использования. Разработка рецептуры и технологии производства модифицированных экзопротезов проводилась совместно с АО "Лакмаимэк" при непосредственном участии Реутовского экспериментального завода. Применение новых нано-

композиционных материалов в производстве лакокрасочных материалов позволило создать краску с повышенной биоактивностью. Работы проводились совместно со специалистами НПО "Фалько" и Института электрохимии.

Бактерицидные покрытия на основе композиционных материалов с наночастицами серебра применяются для лечения хронических воспалений, открытых ран, экзем.[1]

Частицы серебра имеют размеры от 10 до 30 нм в длину. Они убивают до 150 видов бактерий в течение 30 мин. Продолжительность антибактериального действия покрытия – несколько дней. Предполагается, что новое покрытие будет продаваться в аптеках в виде бактерицидных пластырей.

Разработанная технология может быть применена и для изготовления специализированной одежды (защитной и лечебной). Добавление композиционных материалов с наночастицами серебра в вододисперсионную краску повышает ее биоактивность. Например, на поверхностях, окрашенных такой краской, быстро снижается концентрация бактерий кишечной палочки и легионеллы (возбудителя тяжелого заболевания легких) до полной их гибели в течение не более четырех часов. Такие краски дают безграничные возможности для дизайна интерьеров, не капают с кисти, быстро высыхают и предохраняют материалы от биодеструкции – гниения и различной порчи. И вместе с тем это – современные высокотехнологичные материалы. Их уникальность – в комплексной пролангированной биоактивности (фунгицидной, бактерицидной). Рассмотрим технологию получения нанокompозитных полимерных материалов на основе органоглин.

Последние годы появились полимерные материалы, обладающие комплексом улучшенных или новых свойств. К ним относятся функциональные материалы, называемые полимерными нанокompозитами, которые могут использоваться в разных отраслях. Для достижения заданных свойств в полимерные композиты вводят пигменты, ингибиторы, антиоксиданты, пластификаторы, наполнители и другие вещества. В случае нанокompозитов в полимерную матрицу вводят материалы, состоящие из неорганических наночастиц (оксидов, нитридов, карбидов, силикатов и т.д.). Они входят в состав и нанокompозитов на основе различных глин и полимеров. Основная проблема несовместимости этих неорганических и органических компонентов может быть решена путем модификации глины органическим веществом. Модифицированная глина (органоглина) имеет преимущества перед простой: она хорошо диспергируется в полимерной матрице и взаимодействует с цепочкой полимера.

Для создания полимерных нанокompозитов используются органоглины – слоистые природные неорганические структуры, такие как монтмориллонит, гекторит, вермикулит, каолин, сапонит и др. Структуру природного набухающего монтмориллонита и его синтетического аналога – гекторита можно видеть на рисунке.1, а внешний вид под микроскопом – на рисунке.2.[2]

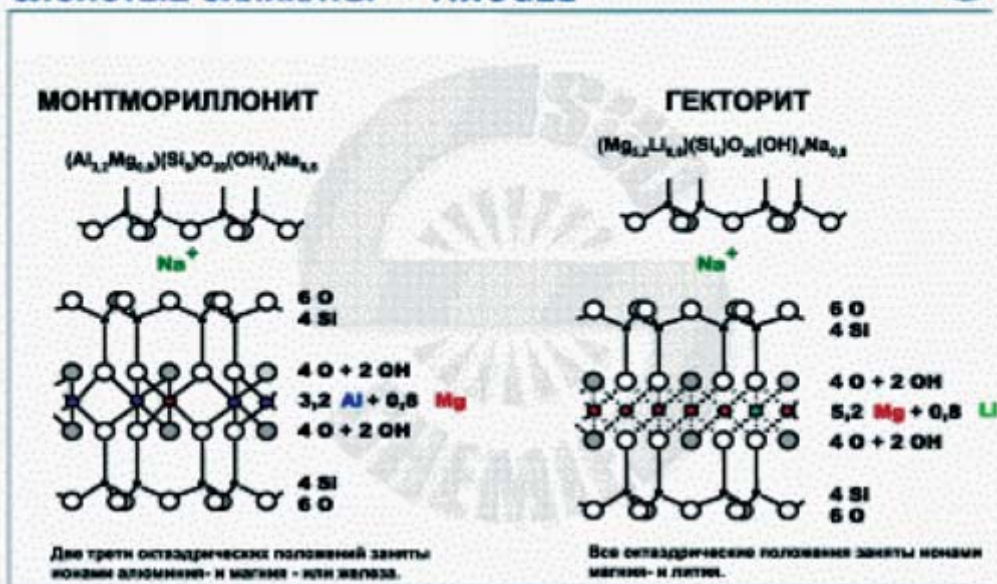


Рис.1. Структура природного монтмориллонита и синтетического аналога – гектори-
та

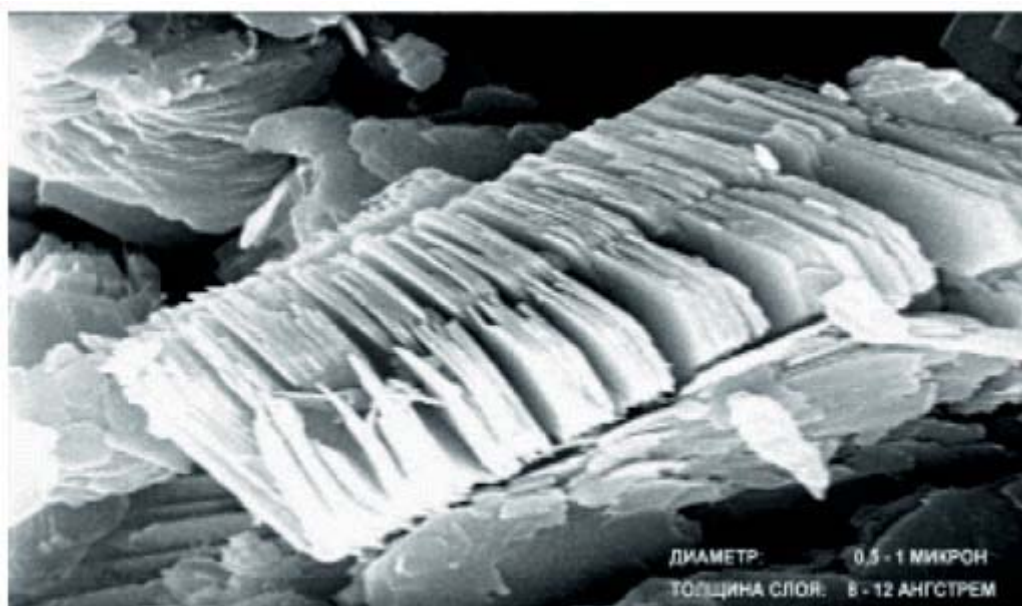


Рис.2. Вид природного монтмориллонита под микроскопом

Размеры слоев в неорганических глинах составляют порядка 200 нм в длину и 1 нм в ширину, т.е. соотношение линейных размеров частиц достаточно велико. Эти слои образуют скопления с зазорами между ними, называемыми прослойками или галереями. Изоморфное замещение внутри слоев (Mg^{2+} замещает Al^{3+} в октаэдрической или Al^{3+} замещает Si^{4+} в тетраэдрической структурах) генерирует отрицательные заряды, которые электростатически уравновешиваются катионами щелочных или щелочноземельных металлов, расположенных в прослойках. Неорганические катионы внутри прослоек могут замещаться другими катионами. Например, замещение катионными поверхностно активными веществами (аммоний- и фосфоний-ионы) увеличивает пространство между слоями, уменьшает поверхностную энергию глины и придает поверхности глины гидрофобный характер. Модифицированные таким

путем глины лучше совмещаются с полимерами и образуют слоисто-полимерные нанокompозиты.

Наряду с ионными органическими модификаторами глины могут использоваться и неионные, которые связываются с поверхностью глины за счет водородных связей. В ряде случаев органоглины, полученные с использованием неионных модификаторов, оказываются более химически стабильными, чем органоглины, полученные с использованием катионных модификаторов. Как правило, наименьшая степень десорбции наблюдается в случае неионного взаимодействия между поверхностью глины и органического модификатора. Способность к десорбции сравнивалась при последовательном промывании органоглин деионизированной водой. Неионные модификаторы относительно устойчивы к десорбции – более 80% модификатора осталось сорбированным после семи промываний. А в случае катионных модификаторов сорбированными осталось только 25% молекул. По всей видимости, водородные связи, образованные между этиленоксидной группой и поверхностью глины, делают эти органоглины химически более стабильными, чем органоглины, полученные по ионному механизму.[5,6]

Посредством введения органоглины в полимерную матрицу удается улучшить термическую стабильность и механические свойства полимеров. Достигается это благодаря объединению свойств органического (легкость, гибкость, пластичность) и неорганического (прочность, теплостойкость, химическая устойчивость) материалов.

Полимерный нанокompозит может быть получен тремя основными методами: в растворе, в расплаве и в процессе синтеза полимера, возможно применение и зольгель-процесса. Но для получения полимерных нанокompозитов на основе органоглин наиболее широко используются методы получения в расплаве и в процессе синтеза. Метод получения полимерных нанокompозитов в расплаве состоит в смешении расплавленного полимера с органоглиной.

При получении полимерного нанокompозита в процессе синтеза самого полимера мономер мигрирует сквозь галереи органоглины, и полимеризация происходит внутри слоев. Реакция полимеризации может быть инициирована нагреванием, излучением или соответствующим инициатором. При получении полимерных нанокompозитов изучались также их свойства в зависимости от содержания и природы органоглины. Особое внимание уделено распределению органоглины в композите, морфологии, термическим и механическим свойствам.

Процесс формирования нанокompозита протекает в несколько стадий. На I стадии происходит образование тактоида – полимер окружает агломераты органоглины, на II – проникновение полимера в межслойное пространство органоглины, в результате чего происходит раздвижение слоев до 253 нм. На III стадии происходит частичное расслоение и дезориентация слоев органоглины. На последней стадии происходит расщелушивание. На самом деле, в получаемых полимерных нанокompозитах могут присутствовать все указанные структуры, что зависит от степени распределения органоглины в полимерной матрице. При избытке органоглины и плохой степени диспергирования возможно присутствие агломератов органоглины в полимерной матрице.[1]

2. Трансдермальная доставка биологически активных молекул с использованием наночастиц.

Для того чтобы преодолеть роговой слой кожи (лат. — *stratum corneum*), являющийся основой барьерной функции покровов тела, на практике используются методы физического и химического воздействия. В тоже время наука не стоит на месте, и в лабораториях по всему миру ученые активно разрабатывают новые и высокоэффективные подходы в трансдермальной доставке, которые настолько обнадеживают, что складывается впечатление, будто в ближайшем будущем практически любое потенциально активное соединение — гидрофильное или гидрофобное, низкомолекулярное или полимерное (в том числе, белки и молекулы нуклеиновых кислот), — не составит труда доставить точно по адресу.[3]

Именно эти достижения и хотелось бы вынести из лабораторных кулуаров на всеобщее обозрение. Итак, речь пойдет о нанотехнологиях и их применении в медицине (наномедицине). В России это слово, в свете последних государственных инициатив, наверняка знакомо даже школьнику, и практически стало именем нарицательным. Поэтому читателям, как мне кажется, будет небезынтересно познакомиться поближе с этой областью в уже упомянутом контексте. Кожа является естественным барьером на пути инородных молекул и частиц, стремящихся попасть в организм. Само ее строение таково, что препятствует проникновению крупных гидрофильных молекул, а также воды — что предотвращает обезвоживание организма, позволяя, тем не менее, коже «дышать». Основной «линией обороны» является самый верхний и тонкий слой кожи — роговой слой (*stratum corneum*).

Роговой слой состоит из корнеоцитов — мертвых клеток, заполненных фибриллярным белком кератином и образующих роговые «чешуйки» толщиной 0.2–0.4 μm и $\approx 40 \mu\text{m}$ в диаметре. Корнеоциты соединены между собой корнеодесмосомами, связывающими клетки в прочную сеть. Непроницаемый роговой слой делает липидный матрикс, в который «погружены» корнеоциты; он состоит в основном из керамидов, холестерина и жирных кислот, образующих систему мультиламеллярных бислоев. Ниже находится слой живых эпидермальных клеток и слой дермы, пронизанной капиллярами, способными «разнести» проникшее через барьер вещество по всему организму.[5,6]

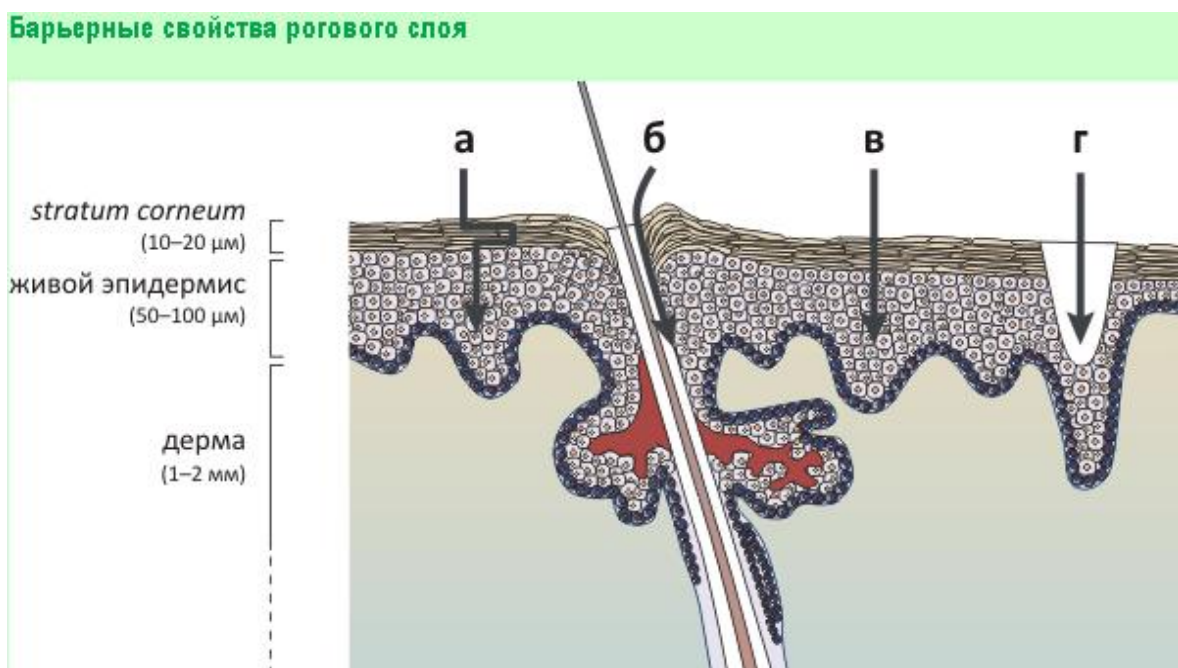


Рисунок 3. Барьерные свойства рогового слоя.

Стрелками на рисунке показаны возможные пути проникновения веществ через кожу — как с помощью пассивного переноса, так и под действием физических и химических

факторов. А. «Извилистый» путь трансдермальной диффузии может быть облегчен с помощью химических энхансеров — веществ, сравнительно легко преодолевающих липидный барьер и «увлекающих» за собой молекулы доставляемого лекарства. Б. Низковольтный ионофорез облегчает проникновение веществ трансфолликулярным путем — через волосяные фолликулы и протоки потовых желез. В. Высоковольтная электропорация временно дестабилизирует липидные бислои, «приоткрывая» дверь доставляемому веществу. Сонофорез (ультразвук) дополнительно может увеличить эффективность путей переноса А и В. Г. Микроиглы и термопорация создают в коже отверстия микронного размера, через которые может осуществляться транспорт. Из-за малости отверстий, эти процедуры безболезненны, а сами отверстия очень быстро затягиваются.

«Нано» (греч. — миллиардная доля) в применении к описываемым объектам подразумевает, что их размеры находятся в пределах 1×1000 нм (10^0 в -9 степени м), что соответствует уровням биологической организации от атомарного до субклеточного. Таким образом, под определение «наночастицы», вообще-то, попадают практически любые супрамолекулярные комплексы. Однако, по уже сложившейся традиции в биологической и медицинской литературе, под наночастицами обычно подразумевают вполне конкретные (и, прежде всего, искусственно созданные) молекулярные конструкции. Их можно условно разделить на несколько классов (рисунок. 4).

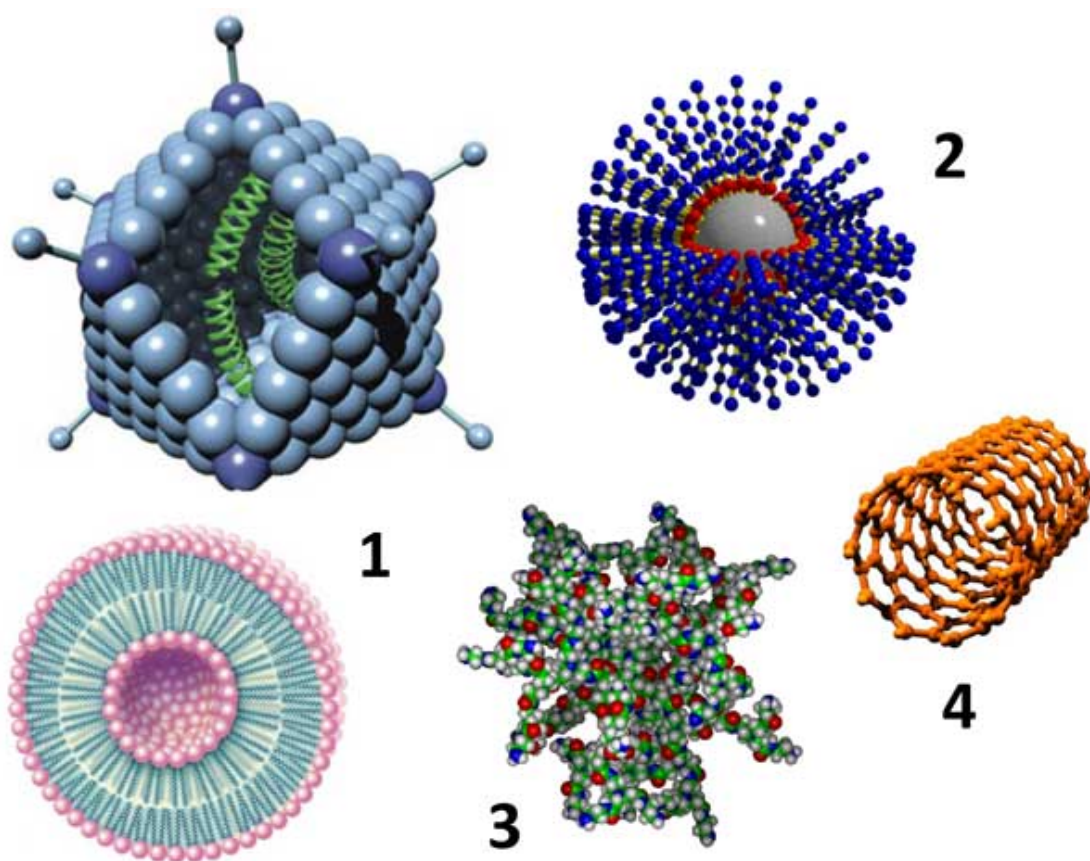


Рисунок 4. Наночастицы, используемые в доставке терапевтических молекул. 1 — липосома и аденовирус; 2 — полимерная наноструктура; 3 — дендример; 4 — углеродная нанотрубка.

Биологические и биогенные наночастицы. Биологический мир буквально наполнен наночастицами — это ферменты (белки с каталитической активностью), молекулы ДНК и РНК, рибосомы, клеточные везикулы, вирусы и пр. Отличительной особенностью таких объектов является их способность к агрегации и самоорганизации. Это свойство активно используется при создании искусственных конструкций, имитирующих реальные биологические структуры. Яркий пример представляют собой различные однокомпонентные и мультикомпонентные липосомы, которые способны при определенных условиях формироваться из раствора смеси липидов. Часто на практике используют и уже существующие в природе биологические наночастицы. Например, различные вирусы активно применяют для генной модификации (трансфекции) клеток. Показано, что аденовирусы с подавленной системой репликации могут быть эффективно использованы и для местной неинвазивной вакцинации через кожу (доставке антигенов к клеткам Лангерганса, присутствующим в коже). К искусственным биогенным наночастицам, предназначенным для направленной доставки, помимо липосом обычно также относят липидные нанотрубки, липидные наночастицы и наноэмульсии, циклические пептиды, хитозаны, наночастицы на основе нуклеиновых кислот.

Полимерные наночастицы. Полимерные материалы обладают рядом преимуществ, определяющих эффективность их применения в технологиях доставки, — биосовместимость, способность к биодegradации, функциональная совместимость. Типичными соединениями, которые представляют основу для создания полимерных наночастиц, являются полимолочная и полигликолевая кислоты, полиэтиленгликоль (ПЭГ), поликапрактон и др., а также их различные сополимеры. ПЭГ часто используют для повышения стабильности различных молекулярных переносчиков. Например, липосомы, покрытые ПЭГ («стелс-липосомы»), по сравнению с обычными, менее подвержены биодegradации, в результате чего обладают заметным пролонгированным действием.

Дендримеры. Дендримеры являются уникальным классом полимеров с сильно разветвленной структурой. При этом их размер и форма могут быть очень точно заданы при химическом синтезе. Дендримеры получают из мономеров, проводя последовательные конвергентную и дивергентную полимеризации (в том числе используя методы пептидного синтеза). Типичными «мономерами», используемыми в синтезе дендримеров, являются полиамидамин (ПАМАМ) и аминокислота лизин. «Целевые» молекулы связываются с дендримерами либо путём образования комплексов с их поверхностью, либо встраиваясь глубоко между их отдельными цепями. Контролируемые размеры и свойства поверхности, а также стабильность дендримеров делают их весьма перспективными для использования в качестве переносчиков. На животных моделях показана эффективность их применения для трансдермальной доставки ряда препаратов.

Углеродные наночастицы. Нанотрубки и фуллерены являются одними из самых «узнаваемых» наноструктур — практически ни один популярный текст про нанотехнологии не обходится без их изображений. За открытие этой новой формы существования углерода Р. Керл, Р. Смолли и Г. Крото в 1996 г. были удостоены Нобелевской премии по химии. Эти структуры, образованные только атомами углерода, могут быть получены при помощи вольтовой дуги, лазерной абляцией (выжиганием), химическим осаждением из газовой фазы, а также в процессе горения. Сегодня в промышленных масштабах фуллерены получают термическим распылением углеродсодержащей сажи в атмосфере инертного газа при пониженном давлении в присутствии катализатора. Нанотрубки обладают повышенным сродством к липидным структурам; при этом они способны образовывать стабильные комплексы с пептидами и ДНК-олигонуклеотидами, и даже инкапсулировать эти молекулы. Это определяет их применение в области создания эффективных систем доставки вакцин и генетического материала.

Неорганические наночастицы. К этому классу обычно относят наноструктуры, полученные на основании оксида кремния, а также различных металлов (золото, серебро, платина). При этом часто такая наночастица имеет кремниевое ядро и внешнюю оболочку, сформированную атомами металла. Использование металлов позволяет создавать переносчики, обладающие рядом уникальных свойств. Так, их активность (и в частности, высвобождение терапевтического агента) может быть модулирована термическим воздействием (инфракрасное излучение), а также изменением магнитного поля. При этом показано, что металлические наночастицы могут эффективно проникать вглубь эпидермиса.

Использование описанных выше наночастиц в медицине позволит не только эффективно доставлять биологически активные молекулы сквозь различные барьеры организма, которые они не способны преодолевать самостоятельно (кожный, гематоэнцефалический), но и существенно изменять характер действия препарата. Например, трансдермальная доставка, по сравнению с доставкой через кровяное русло, позволяет избежать нежелательных побочных эффектов, снизить эффективную дозу препарата за счет существенного повышения его локальной концентрации. Кроме того, было показано, что у терапевтических молекул, доставляемых в организм с помощью наночастиц, меняется фармакокинетика. Если для препаратов, попадающих в организм перорально или в результате инъекции, увеличение концентрации во времени описывается характерной кинетической кривой первого порядка (концентрация экспоненциально увеличивается во времени), то в случае использования наночастиц наблюдается идеальная временная зависимость нулевого порядка (равномерное увеличение концентрации препарата во времени). Это позволяет более точно планировать дозировки препарата и пролонгировать его действие.[1,2,7,8,9,16]

Упомянутые методики доставки на основе наночастиц, а также общий уровень развития современной молекулярной биологии, биотехнологии и фармакологии, существенно модифицируют представления о возможностях кожной терапии. С одной стороны, это обеспечивает заметный прогресс в области медицины (в частности, дерматологии), с другой — позволяет косметическим препаратам выйти на качественно новый уровень. Действительно, от нанокосметики будущего стоит ожидать, что в основе её действия будет лежать не маскировка нежелательных эффектов, как зачастую это происходит на сегодняшний момент, а устранение их биологической причины. Но как же в таком случае разграничить сферы косметики и медицины? Возможно, что такие границы и вовсе исчезнут в будущем, пока же отметим возможные точки их соприкосновения.

Многочисленные прививки от всевозможных заболеваний стали привычными для современного человека. Однако сама методика практически не изменилась за последнее столетие. На смену шприцам с раствором антигенов в ближайшем будущем придут нанопереносчики (размеры до 500 нм), способные доставлять антигены через *stratum corneum* к клеткам Лангерганса. Эффективность таких конструкций показана в лабораторных исследованиях, однако детальные механизмы до сих пор остаются неизвестными. Тем не менее, экспериментально установленные ограничения в размерах эффективных переносчиков позволяют предположить, что проникновение во внутренние слои кожи осуществляется через липидные каналы между корнеоцитами. Также было показано, что использование малых наночастиц (всего 40 нм) позволяет доставлять антигены непосредственно через волосяные фолликулы (рисунок. 5). Использование такого пути доставки является крайне перспективным, поскольку в области фолликулов находится не только скопление дендритных клеток, но также обнаружены и стволовые клетки. Это обеспечивает возможность не только кожной иммунизации, но также и направленной дерматотерапии, включающей стимуляцию клеточной пролиферации.

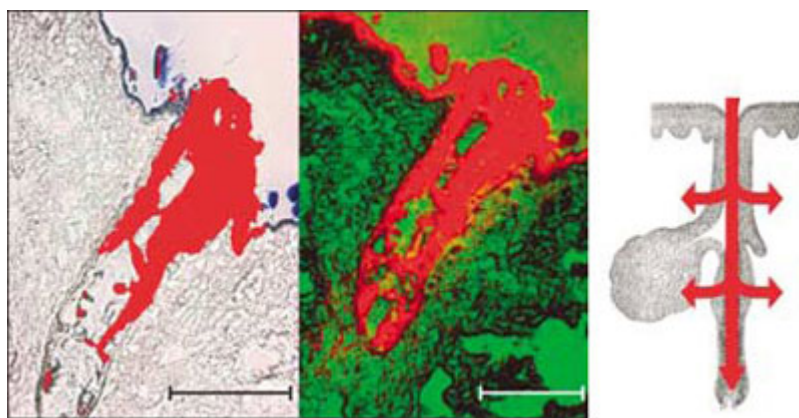


Рисунок 5. Проникновение наночастиц (40 нм) внутрь волосяного фолликула.

На рисунке представлены изображения, полученные с помощью флуоресцентной (чёрно-белое) и лазерной сканирующей (черно-зеленое) микроскопии, а также схематически показан волосяной фолликул. Красный цвет соответствует флуоресцентному сигналу, регистрируемому от наночастиц. В работе использованы препараты человеческой кожи, полученные от пациентов из отделения пластической хирургии.

Способность влиять на генную экспрессию клеток кожи, а также доставлять разные «полезные» гены — весьма заманчивая идея, причем настолько, что современные косметические производители нередко занимаются ее воплощением... правда, пока только на словах. Тем не менее, существуют и реальные подвижки в этой области. Хотя вопрос «что доставлять» остается открытым, и потребуются еще немалое время для его решения, вопрос «как доставлять» уже имеет конкретные ответы. Например, сочетание подходов физического (радиочастотного) воздействия и использования наночастиц позволяет проводить эффективную эпидермальную доставку ДНК-плазмид (кольцевых молекул ДНК, способных вызывать экспрессию, находящихся в них генов в клетках-мишенях). При этом исследователям удалось не только доставить молекулы ДНК, но и наблюдать их экспрессию в клетках кожи (рисунок 6).

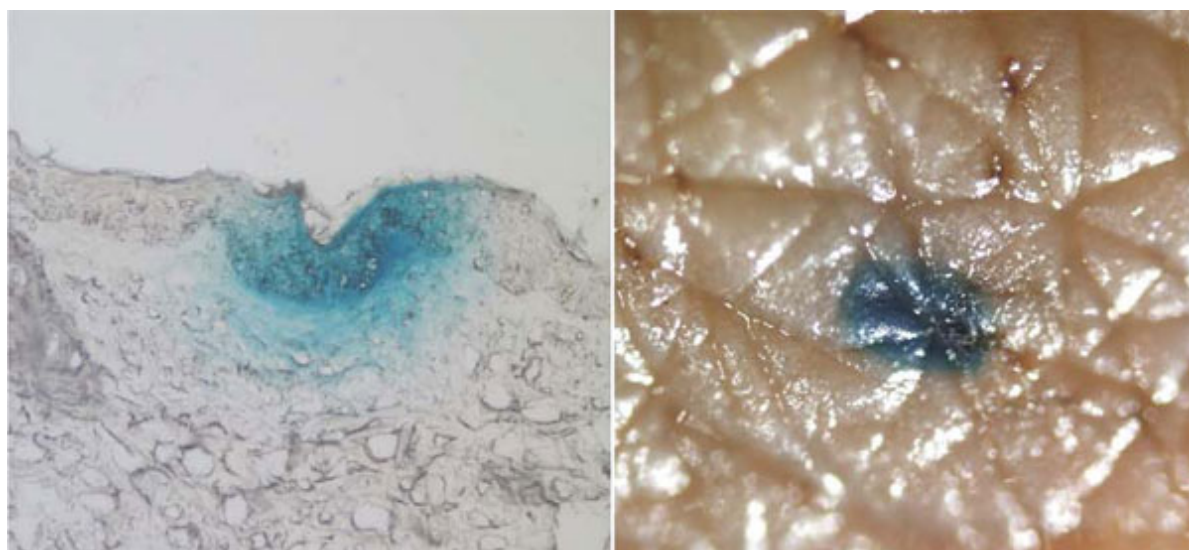


Рисунок 6. Доставка генетического материала (ДНК-плазмид) в клетки кожи.

ДНК-плазмиды содержат ген β -галактозидазы (фермента-репортера, экспрессию которого можно выявить с помощью специфического окрашивания по субстрату). Синий цвет соответствует области, в которой наблюдается экспрессия целевой плазмиды. Показаны микроскопические изображения среза (слева) и поверхности кожи (справа).[2,7,8,15,16]

3. Биочипы.

Биочипы, в широком смысле, представляют собой воплощение технологического принципа, который состоит в миниатюризации различных биологических материалов и их нанесении на подложки, подобные компьютерным чипам, для автоматизированного и высокопроизводительного анализа. Изготовление биочипов основывается как на традиционных технологиях микролитографии, так и на новых методах создания микрочипов.

До настоящего времени технология создания микромассивов была наиболее ценной для базовых исследований. Исследования с использованием микромассивов позволяли расширить понимание процессов заболевания и ускорить получение знаний о фундаментальных биохимических процессах. С накоплением знаний эти технологии станут важным инструментом клинической медицины, используемым для диагностики широкого спектра заболеваний и отличающимся высокой воспроизводимостью результатов, низкой стоимостью и высокой скоростью анализа.

Возможно также, что биочипы откроют новые области для скрининга при разработке лекарств. Применения такого рода уже представлены на рынке и обладают хорошим коммерческим потенциалом.

Нанотехнологии приведут к созданию нового класса биочипов – устройств lab-on-a-chip, обладающих встроенными нанооптическим, механическим и электронным процессорами, которые способны проводить различные реакции, разделение и детектирование объектов на единой платформе.

Кроме того, применение нанотехнологии позволит организовать совершенно новые процессы производства, построенные по принципу интегрального формирования структур «снизу-вверх» с молекулярного уровня, для реализации высокоминиатюрных диагностических систем.[14]

3.1. Свойства и применение.

Большинство систем, используемых в настоящее время в биомедицинских исследованиях, нельзя классифицировать как нанобиотехнологические приборы: они не только не структурированы на наноуровне, но и не используют нанотехнологию в своих схемах детектирования. Однако существует несколько подходов, позволяющих улучшить уже существующие чипы или снабдить их рядом функций с помощью нанотехнологии.

Ожидается, что нанотехнологии сыграют решающую роль в совершенствовании технологии биочипов, открывая новые пути для создания дизайна и архитектуры биочипов, покрытия поверхностей, производства элементной базы для небольших устройств, нанооптических устройств для исследования индивидуальных и коллективных свойств люминесцентных частиц (например, молекул, квантовых объектов). По сравнению с существующими или альтернативными технологиями, нанотехнологии обеспечивают ряд важных преимуществ: более низкую себестоимость, лучшие эксплуатационные качества и надежность, сверхминиатюризацию.

Среди других преимуществ, обеспечиваемых нанотехнологией, можно назвать способность к повышению чувствительности, к улучшению совместимости оборудования, уменьшению потребления энергии и целый набор возможностей, которые не предоставляет ни одна другая технология, – способности осуществления определенных реакций, обнаружения и идентификации нанообъектов.

Новые наноматериалы, среди которых необходимо упомянуть программируемые адаптивные материалы на основе белковых молекул, станут основой для новых типов чувствительных измерений сверхмалых количеств биомолекул.

Тонкие пленки, слои и поверхности, а за ними биополимеры и наночастицы были указаны экспертами в качестве наиболее широко используемых в новых установках, в то время как дендримеры, углеродные нанотрубки, нанокompозиты, нанопористые материалы и наноразмерные электродные структуры используются в гораздо меньшем масштабе.

По мнению большинства экспертов, в рассматриваемом секторе упор в будущем должен быть сделан на имплантируемых биосенсорах и индивидуализации терапевтических методов. Обе эти задачи подразумевают развитие и доводку существующих биочипов, чтобы сделать их биосовместимыми, более точными и надежными.

Медицине будущего придется быть более предсказательной — помимо углубленных знаний о сложных внутриклеточных процессах, речь пойдет об индивидуальном генетическом тестировании для предсказания генетической предрасположенности к заболеваниям. [11,12]

3.2. Временные рамки развития технологии.

Эксперты считают, что основными применениями нанотехнологии в медицинском секторе в ближайшие 10 лет будут диагностические системы и точечная доставка лекарств, в то время как главными направлениями исследований будут биочипы/системы высокопроизводительного скрининга/приборы lab-on-a-chip.

Области, в которых биочипы, улучшенные при помощи нанотехнологий, сыграют важную роль в ближайшие 10 лет, весьма разнообразны. Среди них

- определение последовательностей генов (секвенирование);
- идентификация потенциальных лекарственных препаратов;
- фундаментальные биомедицинские исследования;
- выбор оптимальной методики лечения и доз лекарственных средств в клинической терапии;
- персонализированная диагностика;
- токсикологический скрининг;
- производство и безопасность пищевых продуктов.

Эксперты выделяют три основных приложения, которые могут стать широко распространенными в ближайшее десятилетие:

- сложные портативные приборы lab-on-chip;

- имплантируемые биосенсоры;
- недорогие полногеномные матрицы.

Согласно ожиданиям экспертов, в отличие от скачкообразного развития имплантируемых биосенсоров и полногеномных матриц, прогресс в разработке портативных устройств lab-on-a-chip будет происходить линейно.

Портативные устройства lab-on-a-chip уже к 2010 г. могут стать первым коммерческим приложением, а к 2015 году - продуктом массового потребления. Неинвазивные устройства рассматриваются экспертами как гораздо более привлекательные, чем инвазивные, - их легко обслуживать, и они позволяют обойтись без контакта с внутренними жидкостями организма. В то же время, неинвазивные измерительные устройства требуют наличия высокочувствительных сенсоров, и нанотехнологии могут обеспечить прогресс в этом направлении.

Имплантируемые биосенсоры должны выйти на широкий рынок к 2015 г., а чипы для исследования сложных белков и их комплексов, а также клеточные чипы, вероятно, к этому времени будут отставать на шаг и все еще находиться на стадии первых приложений.[9,10,11]

3.3. Проблемы, барьеры и узкие места.

Производство биочипов на основе нанотехнологии находится все еще на ранней стадии своего развития и сдерживается множеством нерешенных проблем.

Очень важная проблема – себестоимость продукции. Фактически производство биочипов начиналось как высокотехнологичное, а его дорогостоящая продукция предназначалась исключительно для генетических исследований и разработки новых фармацевтических препаратов. В то же время медицинская практика требует более низкой стоимости производства и высокой доходности, необходимой для достижения уровня коммерческих стандартов, а также чипов с более широкой сферой применения.

Стандартизация самой продукции и соответствующего оборудования для ее производства также имеет ключевое значение наряду с их точностью и надежностью. Эта задача особенно важна для генетической диагностики, когда на основе интерпретации показаний чипа принимаются важные клинические решения. Проблемы доставки и подготовки образцов, а также организации взаимодействия наносенсора с макромиром также критически важны.

Для имплантируемых биочипов одной из важнейших проблем является биосовместимость, стабильность биомолекул, связанных сенсорами и, таким образом, время жизни импланта. Решение этих проблем обязательно должно быть найдено для того, чтобы приложение имело будущее. Для чипов на основе клеточных культур важной задачей нанотехнологий является создание совместимых с живой клеткой поверхностей и инструментария для работы с такими чипами.[12]

4. Молекулярные биосенсоры.

В настоящее время существует острая необходимость в создании быстрых, простых, сравнительно дешевых и более специализированных медицинских приборов, способных к скринингу многочисленных заболеваний и мониторингу патогенных инфекций. Для решения

подобной задачи потребуются создание новых сенсоров, обладающих улучшенной биосовместимостью и чувствительностью для контроля *in vivo* за процессами в живой клетке и получения новой информации о процессах внутри нее, что позволило бы осуществлять раннюю медицинскую диагностику заболеваний, индивидуальную терапию и улучшенную терапию.

Биосенсоры все чаще рассматриваются и как желательный метод контроля течения и эффективного лечения ряда хронических заболеваний. Облегчение ощущений пациента, улучшение функциональности и уменьшение стоимости приборов – критические задачи для широкого распространения и успеха биосенсоров. Нанотехнологии, позволяющие управлять материей на уровне атомов и молекул, может внести существенный вклад в дизайн сенсоров и их возможности.

Малый размер таких сенсоров будет означать их малый вес, низкие энергетические требования, лучшую чувствительность и, соответственно, новые диагностические методы на клеточном/молекулярном уровне.[13]

4.1. Свойства и применение.

Биосенсоры – это в высокой степени интегрированные устройства, включающие биологический или биомиметический чувствительный элемент (рецептор или систему распознавания), первичный преобразователь сигнала и его усилитель. Интеграция биохимического распознающего элемента и преобразователя – главная особенность, отличающей биосенсоры от других биоаналитических систем.

Различают два основных типа сенсоров, которые названы в соответствии с типом реакции распознавания: аффинные и каталитические сенсоры. Аффинные сенсоры основаны на свойствах высокоизбирательного связывания некоторых биологических молекул, а изменения электронной плотности, поглощения света, толщины слоя, поверхностного натяжения или показателя преломления могут быть зарегистрированы соответствующими методами. В отличие от аффинных, каталитические биосенсоры основаны на молекулярном распознавании подложек биокатализаторами и их последующем преобразовании в продукты биохимической реакции, которые регистрируются ферментативным электродом.

Биосенсоры должны иметь ряд особенностей, таких как высокая селективность, устойчивость к большому числу факторов и минимальная предварительная обработка зонда. При инвазивном использовании зонд должен быть очень маленьким и биосовместимым, стерилизуемым и не обладать токсичными или антигенными свойствами.

Все эксперты предсказывают, что только нанотехнологии способна наделять биомолекулярные сенсоры свойствами, необходимыми для их более эффективной работы. Они полагают, что, как и для биочипов, наноструктурирование, к примеру, может предложить новые подходы к структурированию и покрытию поверхностей, чтобы наделять их новыми функциями.

Возможность уйти от необходимости внутренней калибровки благодаря увеличенной чувствительности и точности приведет к созданию более быстрых, дешевых и меньших по размерам биомолекулярных сенсоров.

Специалисты отметили, что в таких устройствах наиболее широко используются тонкие пленки и наночастицы, а также биополимеры, углеродные нанотрубки, нанопористые материалы и методы молекулярной визуализации. Дендримеры, нанокompозиты и полимерные наногели используются в меньшей степени. Главное преимущество тонких пленок, по

мнению экспертов, заключается в том, что они могут обладать широким набором полезных свойств (оптических, механических, магнитных, химических, электрических, термодинамических). Это создает множество степеней свободы при их использовании в приложениях. Подобная гибкость обеспечивается и при применении наночастиц. Ожидается, что для диагностики *in vitro* влияние биомолекулярных сенсоров будет заключаться в миниатюризации и в доступности новых высокочувствительных и высокоселективных биосенсорных матриц, которые могут быть интегрированы как сменные компоненты одиночных и простых в обращении устройств, предназначенных для использования как в клинических лабораториях, так и при самодиагностике в домашних условиях (диагностика «у постели больного»). Ожидается также, что биосенсоры будут использоваться также и в пищевой промышленности для улучшения контроля за качеством продукции в процессах ее производства и, соответственно, обеспечения лучшей защиты потребителя.[13]

4.2. Временные рамки развития технологии.

Благодаря биомолекулярным сенсорам, интегрированным в портативные устройства *lab-on-a-chip*, станут доступными современные инструменты самодиагностики (например, недорогие анализы крови) для более быстрой и специальной клинической диагностики, а применение имплантируемых биосенсоров увеличит знания о строении клетки и процессах, происходящих в ней, для мониторинга и предотвращения заболеваний. Устройства *lab-on-a-chip* и имплантируемые биосенсоры с замкнутой системой управления в настоящее время находятся на стадии фундаментальных исследований. К 2010 г. они должны перейти в стадию первых коммерческих приложений, но, по мнению экспертов, только к 2015 г. портативные устройства *lab-on-a-chip* выйдут на рынок товаров массового потребления. Имплантируемые биосенсоры и имплантируемые биосенсоры с замкнутой системой управления будут немного позади. Эта картина частично отличается от предсказаний будущего биочипов, где ожидается, что к 2015 г. сложные портативные системы *lab-on-a-chip* и имплантируемые биосенсоры твердо выйдут на рынок товаров массового потребления.

Такое отличие может быть объяснено как разницей в состоянии дел в различных отраслях нанотехнологий, так и сложностью задачи предсказания хода технологического прогресса.[14]

4.3. Проблемы, барьеры и узкие места.

Существуют как технологические, так и экономические (часто связанные друг с другом) препятствия для развития биочипов, требующие дополнительных исследований для своего преодоления.

Биомолекулярные сенсоры — новейшие продукты с высокой себестоимостью в сочетании с относительно низкими объемами производства и ограниченным выходом на рынок. Уменьшение стоимости производства — обязательное условие для расширения использования таких сенсоров, и нанотехнологии должны сыграть решающую роль в достижении этой цели.

Технологические препятствия относятся к различным аспектам изготовления, использования и особенностей биомолекулярных сенсоров.

Например, стабильность биоконпонентов при многократном использовании до сих пор является проблемой фактически для всех систем, за исключением, пожалуй, сенсоров для мониторинга уровня глюкозы. Самая же главная проблема заключается во взаимодей-

ствии распознающих слоев и биологического окружения на молекулярном уровне. Создание распознающих слоев с минимальной неспецифической адсорбцией биологических молекул является необходимым условием для работы детекторов в живой среде и их приложений в медицинской диагностике. Таким образом, необходима технология для контролируемого изготовления распознающих слоев и дизайна архитектуры сенсоров на наноуровне.

Другие важные барьеры – иммобилизация и компартиментализация различных молекул и ферментов для создания управляемых устройств с мультиплексным детектированием, новым функционализированным интерфейсом с улучшенной селективностью и чувствительностью, с интеграцией систем обработки и телекоммуникации в сенсорах для улучшения диагностики и тераностики.

По мнению экспертов, проблема недостатка подходящих наночастиц и их ограниченная биосовместимость, а также проблема создания однородных тонких пленок со специальными свойствами также требуют дополнительной работы. Важным с точки зрения экспертов является также наличие и доступность аналитических методов, которые обеспечили бы химическую (молекулярную) характеристику и стандартизацию вещества на наноуровне. Также высказываются сомнения в возможностях сбора и неавторизованного использования большого количества данных, что может также стать ограничивающим фактором для распространения биосенсоров в медицинском секторе. В то же время, схемы защиты данных для преодоления этого препятствия уже развиты. [13,14,15]

Заключение.

Проанализировав рассмотренный выше материал можно сделать ряд выводов:

- Во-первых, проблема биосовместимости наноматериалов является одной из важнейших на данный момент.
- Во-вторых, количество направлений для исследования очень велико и разнообразно.

Приведенные выводы и другие факты показывают, что биосовместимость материалов является одной из перспективных областей науки, имеющей большие возможности для исследований. При должном использовании финансовых и научно-технических возможностей страны вполне реально достичь огромного прогресса в лечении, профилактике, протезировании и т.д.

Библиографический список.

1. Треушников В.М. // Одностадийные фотохимические процессы формирования полимерных изделий медицинского назначения. В сб. трудов конференции «Современные полимерные материалы в медицине и медицинской технике. Санкт-Петербург, 2005.
2. Научно-технический журнал «Наноиндустрия».
3. Bramson J., Dayball K., Eveleigh K., Wan Y.H., Page D., Smith A. (2003). Enabling topical immunization via microporation: a novel method for pain-free and needle-free delivery of adenovirus-based vaccines. *Gene Ther.* 10, 251–260.
4. Cans A.-S., Wittenberg N., Karlsson R., Sombers L., Karlsson M., Orwar O. et al. (2003). Artificial cells: unique insights into exocytosis using liposomes and lipid nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 400–404.
5. Djalali R., Samson J., Matsui H. (2004). Doughnut-shaped peptide nanoassemblies and their applications as nanoreactors. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 7935–7939.

6. Niemeyer C.M. (2001). Semi-synthetic nucleic acid-protein conjugates: applications in life sciences and nanobiotechnology. *J. Biotechnol.* 82, 47–66.
7. Moghimi S.M., Szebeni J. (2003). Stealth liposomes and long circulation nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties. *Prog. Lipid. Res.* 42, 463–478.
8. Yang H., Kao W.J. (2006). Dendrimers for pharmaceutical and biomedical applications. *J. Biomater. Sci. Polymer* 17, 3–19.
9. Gupta U., Agashe H.B., Asthana A., Jain N.K. (2006). A review of in vitro–in vivo investigations on dendrimers: the novel nanoscopic drug carriers. *Nanomedicine* 2, 66–73.
10. Shi Kam N.W., Jessop T.C., Wender P.A., Dai H. (2004). Nanotube molecular transporters: internalization of carbon nanotube-protein conjugates into mammalian cells. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 6850–6851.
11. Choi J.H., Nguyen F.T., Barone P.W., Heller D.A., Moll A.E., Patel D., Boppart S.A., Strano M.S. (2007). Multimodal biomedical imaging with asymmetric single-walled carbon nanotube/iron oxide nanoparticle complexes. *Nano Lett.* 7, 861–867.
12. Trzaskowski B., Jalbout A.F, Adamowicz L. (2006). Molecular dynamics studies of protein-fragment models encapsulated into carbon nanotubes. *Chem. Phys. Lett.* 430, 97–100.
13. Cui D., Ozkan C.S., Ravindran S., Kong Y., Gao H. (2004). Encapsulation of pt-labelled DNA molecules inside carbon nanotubes. *Mech. Chem. Biosyst.* 1, 113–121.
14. Hughes G.A. (2005). Nanostructure-mediated drug delivery. *Nanomedicine* 1, 22–30.
15. Baroli B., Ennas M.G., Loffredo F., Isola M., Pinna R., Lypez-Quintela M.A. (2007). Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin. *J. Invest. Dermatol.* 127, 1701–1712.
16. Биомолекула (Эрнандес Е.): «Косметика и генетика: что общего?».