



## ГЛАВА 5

# НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ И ПРИМЕНЕНИЕ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ

### Живое наноожерелье<sup>1</sup>

Междисциплинарное открытие в области нанобиотехнологии сделали исследователи из Университета Калифорнии (США). Команда физиков и биологов разработала новый метод, с помощью которого можно будет производить наноматериалы для различных областей применения. Дальнейшее развитие этого открытия может повлиять на способы доставки лекарств, энзимов и генного материала к органам и отдельным клеткам. Открытие также может служить основой биосенсоров, проводящих нанострун и оптических наноразмерных материалов. О своем исследовании ученые доложили в выпуске вестника Национальной академии наук от 16 ноября 2004 г.

Открытие произошло благодаря сотрудничеству ученых Цируса Сафиньи, профессора в области материаловедения и физики, и Лесли Уильсона, профессора биохимии.

В своих экспериментах исследователи работали с микротрубками из тканей мозга коровы для того, чтобы понять, какие механизмы заставляют их формировать различные трехмерные образования. Микротрубки – полые цилиндры нанометровых размеров, входящие в состав цитоскелета клетки. В живой клетке микротрубки выполняют ряд полезных функций: от транспорта веществ внутри клетки до участия в ее делении. В нейронах микротрубки осуществляют транспорт нейротрансмиттеров. Нейротрансмиттеры – это молекулы, которые либо возбуждают, либо тормозят передачу нервных импульсов по нервной системе. Механизм сборки микротрубок в различные формации внутри клетки пока непонятен.

В представленной исследователями статье было описано открытие нового механизма самоорганизации микротрубок. Положительно заряженные линейные молекулы микротрубок формировали плотные гексагональные группы. При этом исследователи заранее знали, какие структуры будут формировать микротрубки. Но неожиданно оказалось, что в присутствии двухвалентных катионов микротрубки собирались в структуру, напоминающую ожерелье (рис. 5.1).

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 2.

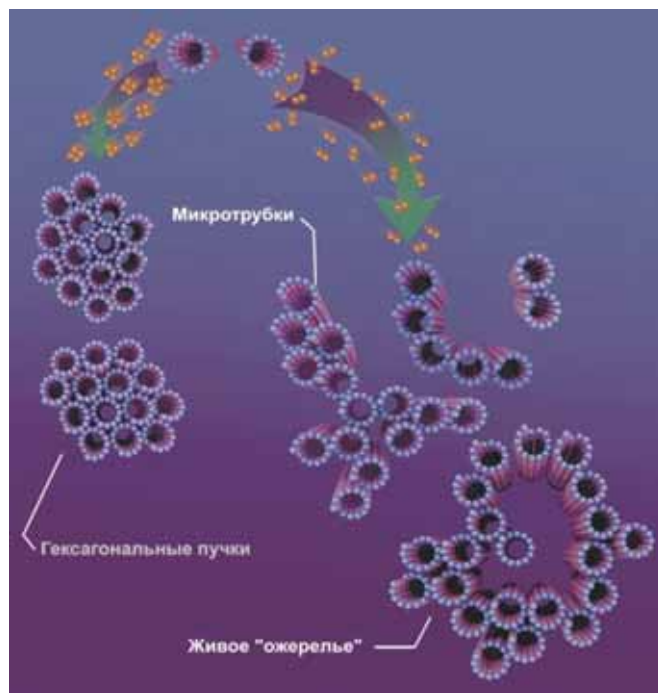


Рис. 5.1. Схематическое изображение самосборки микротрубок нанометрового размера

Сафинья и Уильсон пояснили, что полученное «живое ожерелье» — новый экспериментальный тип мембраны, в которой длинные микротрубки ориентированы в одном направлении и могут проникнуть через клеточную мембрану обыкновенной животной клетки. Ученые также отметили, что «ожерелье» очень динамично изменяет свою форму при повышении температуры. Поэтому его и назвали живым.

Исследователи видят возможности применения как для гексагонального пучка микротрубок, так и для живого «ожерелья». Металлизируя гексагональные структуры, например, можно получить материалы с изменяемыми оптическими параметрами.

Более интересное применение ожидает «ожерелье». Заключенный в двуслойную липидную мембрану набор микротрубок может нести внутри лекарство. А так как микротрубки являются одним из компонентов живой клетки, то доставка лекарств внутрь отдельных клеток будет наиболее быстрой.

Ученые смогли провести это исследование благодаря новой рентгеновской технологии, совмещенной с электронно-лучевой и оптической микроскопией.



## ДНК-нанопроволока для будущей микроэлектроники<sup>1</sup>

Исследователи из Университета Пэрдю (США) сумели покрыть молекулу ДНК магнитными наночастицами и затем разрезали полученную «ДНК-проволоку» на несколько частей. Как утверждают исследователи, подобный подход может привести к созданию дешевых электронных устройств (в том числе и компьютеров), которые можно будет получать методами самосборки.

Детали открытия были описаны в февральском выпуске журнала Американского химического общества. Молекула ДНК имеет большой отрицательный потенциал, что можно использовать в процессах самосборки для построения из нее различных структур. Если молекулу поместить в раствор, содержащий магнитные наночастицы с положительным зарядом, то они автоматически присоединятся к поверхности ДНК.

На рис. 5.2а показано нанесение на молекулу ДНК магнитных наночастиц оксида железа и выравнивание полученной металлизированной ДНК с помощью технологии, называемой молекулярной гребенчатой фильтрацией. На рис. 5.2б приведена фотография металлизированной молекулы ДНК, полученная с помощью атомно-силового микроскопа. Рисунок принадлежит Purdue University, Weldon School of Biomedical Engineering.

«Ранее исследователи “металлизировали” молекулы ДНК, покрывая их медью, золотом и платиной. Но после подобной “металлизации” им не удалось разрезать полученную “проволоку” на меньшие фрагменты, используя фермент рестрик-тазу», — говорит один из исследователей, Йозеф Кинселла.

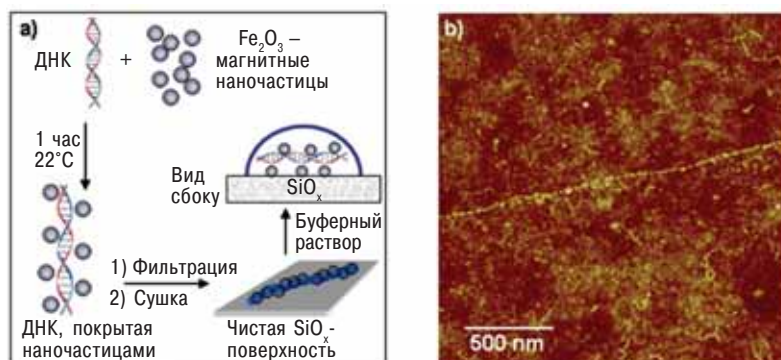


Рис. 5.2. Нанесение на молекулу ДНК магнитных наночастиц оксида железа (а) и фотография металлизированной молекулы ДНК (б)

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 6.



Так как магнитные компоненты важны в современных технологиях компьютерной памяти, то это открытие позволит «молекулярной электронике» и «ДНК-электронике» выйти на первый план в устройствах хранения данных. А процесс самосборки значительно уменьшит время, затрачиваемое на производство электронных устройств.

Ранее исследователи из университета Пэрдью разработали технологию, благодаря которой можно размещать цепи ДНК на поверхности кремниевого чипа. А работа по металлизации ДНК — следующий шаг в построении нанoeлектронных кремниевых устройств.

Наночастицы, которые применил Кинселла в своей работе, представляют собой керамический оксид железа. Диаметр наночастиц — около 4 нм.

После обработки ДНК наночастицами исследователи разрезали полученную «проволоку» энзимом-рестриктазой BamH. Он разрезает ДНК в последовательности нуклеотидов ГГАТЦЦ. Это, конечно, результат, полученный с применением только одного типа энзима-рестриктазы. Если обрабатывать нанопроволоку большим числом рестриктаз, то можно добиться получения проводящих отрезков различной длины.

Сначала исследователи не были уверены, что энзим-рестриктаза правильно воспримет нанопроволоку в первую очередь как ДНК. Но, как оказалось, наночастицы не повлияли на процесс рестрикции.

«Полученная цепь ДНК была сперва растянута на подложке из оксида кремния. Длина этой “заготовки” составила 35 мкм, а ширина — всего 2 нм, — говорит Кинселла. — Затем мы покрыли ее наночастицами и разрезали энзимом на части. Это было похоже на обычный производственный процесс, который имеет место в микроэлектронной промышленности, только мы брали за основу молекулу ДНК».

В своих будущих работах исследователи надеются изучить электрические характеристики полученной нанопроволоки.

### Микроорганизмы синтезируют проводящие нанонити<sup>1</sup>

Команда исследователей из Массачусетского университета в Амхерсте открыла электропроводящие органические структуры. Это достижение позволит разработать методы очистки сточных вод микроорганизмами и попутно вырабатывать электроэнергию.

Исследователи-микробиологи открыли нитчатую структуру, названную ими «микробный нанопроводник», которую формируют микроорганизмы *Geobacter*. Нанопроводники имеют гладкую структуру и толщину всего 3–5 нм. Длина же их может составлять около 30–50 мкм (рис. 5.3).

<sup>1</sup> Nanotech-Now: Researchers discover microbes produce miniature electrical wires.

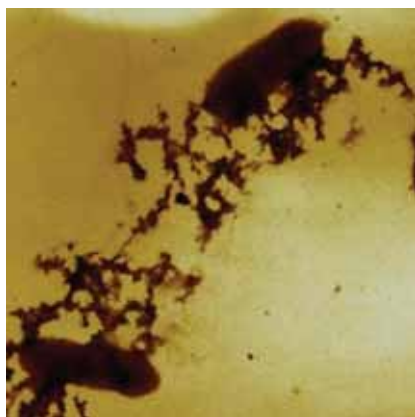


Рис. 5.3. Бактерии формируют проводящую наносеть

«Такие длинные проводящие биологические структуры в биологических системах ранее не встречались, — говорит один из исследователей, доктор Лавли. — Это открытие заставляет нас пересмотреть процессы переноса электронов в микроорганизмах. Может быть, нанопроводники, сформированные с помощью микроорганизмов, станут основой многих сверхмалых микроэлектронных устройств».

«Микромир все еще не перестает удивлять нас», — говорит доктор Аристид Патрино из Департамента энергетики США. Эта организация финансирует все исследования, проводимые в области использования микроорганизмов *Geobacter* для очистки сточных вод и производства электроэнергии.

«Эти удивительные биологические наноструктуры можно заставить работать на пользу человечеству. Представьте себе мини-реакторы, очищающие сточные воды и попутно вырабатывающие электроэнергию. Их также можно использовать в роли сенсоров, определяющих, заражена ли окружающая среда теми или иными опасными веществами», — продолжил Патрино.

Доктор Лавли был первооткрывателем микроорганизма *Geobacter* в 1987 г. С тех пор прошло много времени, сформировалась нанотехнология как наука и течение в технологии. Стали возможны взаимосвязи между кремниевой электроникой и органической. Поэтому доктор уверен, что недавнее открытие нанонитей, сформированных бактериями, позволит сделать эту взаимосвязь еще прочнее.

Микроорганизм *Geobacter* неслучайно выбрали на роль живой батарейки. Это один из немногих типов бактерий, которые могут разлагать продукты жизнедеятельности человека, перерабатывать токсичные металлы и нефть, вырабатывая электричество. Однако для того чтобы передавать электроэнергию, бактерии необходимы электроды, связывающие биохимию клетки с внешним потребителем элек-



троэнергии. Для этого, как установили ранее Лавли и его коллеги, бактерия производит с одной стороны мембраны тонкие нанопроводники, названные пилиями. Это открытие было подтверждено другой группой ученых во главе с микробиологом Гемма Ругера и физиком Марком Туомином: они произвели контактные исследования пилий с помощью атомно-силового микроскопа и установили, что бактерии проводят электроэнергию. Более того, генетически измененные микроорганизмы *Geobacter*, которые не могут производить пилии, не смогли соответственно проводить электроэнергию и очищать сточные воды.

«Результаты этих исследований показали, что производство электроэнергии и переработка отходов бактериями тесно связаны между собой», — говорит доктор Лавли.

Проводящие пилии и есть те «нанопроводники», которые ученые планируют использовать в нанoeлектронике. Для того чтобы бактерии смогли выпускать длинную нанопроволоку, Лавли предлагает использовать генную инженерию.

Другой интересный факт, открытый учеными, — передача электроэнергии от бактерии к бактерии через сеть, сформированную пилиями.

О своих открытиях доктор Лавли и его коллеги сообщили в журнале *Nature* в статье «Extracellular Electron Transfer Via Microbial Nanowires».

### Нанoeлектронный прибор на основе одной органической молекулы<sup>1</sup>

В Аризонском государственном университете создали электронный прибор, состоящий из единственной органической молекулы, сообщает *Science Daily*. По мнению исследователей, их результат указывает на возможность привлечения биофизических исследований к проблемам нанoeлектроники.

Анилиновые гепто-олигомеры принадлежат как раз к таким соединениям, которые могут проводить электричество и работать как электронные ключи. Однако до сих пор это не было проверено экспериментально.

Цепочка из семи анилиновых фрагментов (рис. 5.4) ведет себя как резистор с отрицательным дифференциальным сопротивлением, т.е. в некотором диапазоне напряжений уменьшению силы тока отвечает рост разности потенциалов. Таким свойством обладают некоторые полупроводниковые диоды, употребляемые в «макроскопических» приборах с середины 1960-х годов.

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 6.

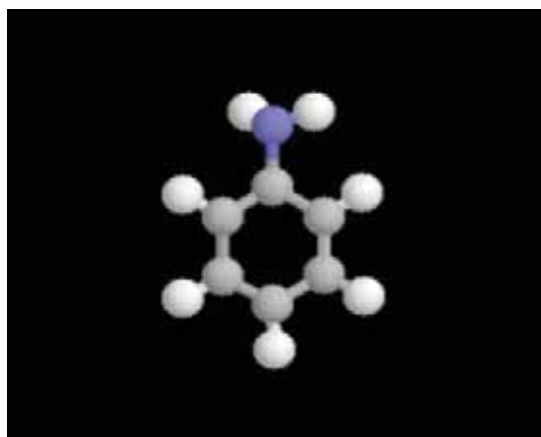


Рис. 5.4. Молекула анилина

Биофизик Стюарт Линдсей воспользовался известной способностью многих ароматических соединений к переносу заряда. Поставленный им эксперимент включал измерение электропроводности раствора, содержащего исследуемое вещество, и косвенную оценку собственного сопротивления молекулы. О результатах своей работы исследователи доложили 18 февраля 2005 г. на Вашингтонской сессии «Биологические материалы и наносистемы». Линдсей считает, что осуществленная им и соавторами работа – удачный пример молекулярного дизайна, когда синтезируемая впервые молекула обладает заранее предсказанными физическими характеристиками.

### Хламидомонада в качестве «грузовика»<sup>1</sup>

Американские ученые из Гарварда «запрягли» зеленые водоросли и заставили их переносить «полезный груз» вверх и вниз по крошечным микроканалам. Зачем это нужно? Как говорят ученые, в будущем клетки водорослей и другие микроорганизмы будут обучены таким образом, чтобы выполнять простейшую механическую работу по перемещению микро- и наноконтейнеров.

В своих экспериментах исследователи использовали одноклеточные зеленые водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* длиной около 10 мкм. Для передвижения они применяют пару жгутиков и плывут подобным брассу стилем. Молекулярный мотор этой водоросли достаточно изучен для того, чтобы знать, как он устроен, но недостаточно для того, чтобы создать его искусственный аналог. Поэтому ученые решили использовать творения природы, а не делать искусственный наномотор.

<sup>1</sup> BBC: Cells made to haul tiny cargoes.



Рис. 5.5. Хламидомонада «везет» бусину полистирола

Посредством химической связи ученые дали водорослям груз — «бусинки» полистирола, а затем, используя свет различной интенсивности, заставили клетки перемещаться по микроканалам тестовых камер (рис. 5.5). Любопытно, что груз никак не повлиял на скорость движения клеток. Чтобы разгрузить водоросли, исследователи подвергали их ультрафиолетовому излучению. Команда исследователей даже придумала новый термин, обозначающий «грузовой» микроорганизм: *microoxen*, т.е. микробык.

«Мы в основном уже разработали систему перемещения объектов микроорганизмами, — сообщил доктор Дуглас Вейбель. — Теперь мы используем их двигатели для выполнения нетрадиционных задач». По словам ученого, технология найдет применение в молекулярной медицине. Например, груз водоросли представляет собой наноконтейнер, чувствительный к определенным белковым маркерам раковых клеток, или токсинам. И затем клетки помещают в контейнер с тестовой тканью. После путешествия хламидомонад в ткани ученые узнают, содержатся ли те или иные токсины в образце по их грузовым отсекам.

### **Химики создали «крабовые клешни», захватывающие атомы мышьяка<sup>1</sup>**

Химики из Орегонского университета создали молекулярные «клешни», которые захватывают отдельные атомы мышьяка. О своем открытии исследователи сообщили в ноябрьском выпуске журнала *Angewandte Chemie International Edition* 2004 г.

Даррен Джонсон, специалист в области супрамолекулярной химии, и его коллеги разработали молекулу, способную захватывать и связы-

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 2.



*Химики создали «крабовые клешни», захватывающие атомы мышьяка*

121

вать атомы мышьяка. Эти молекулы называются хелаторами (хелатор с греческого – «крабовые клешни»). Молекула хелатора имеет специальную структуру, напоминающую клешни краба. Благодаря такой особой конфигурации и структуре присоединительных мест на поверхности молекулы несколько молекул способны захватывать и удерживать длительное время атом металла. Три молекулы, содержащие в качестве основного элемента серу, связываются с атомами мышьяка, образуя пирамидальную структуру. Ранее мы писали о планируемых молекулярных рецепторах, которые могут захватывать отдельные молекулы. Работа Джонсона и его коллег как нельзя лучше вписывается в развитие будущих нанорецепторов.

«Если усовершенствовать разработанный нами метод, то он пригодится для обнаружения и удаления токсичных металлов из организма человека или окружающей среды», – сказал Джонсон.

Пока что исследователи продемонстрировали, как хелаторы связывают атомы мышьяка в лабораторных условиях. Для того чтобы использовать хелаторы в клинической практике, необходимо разработать эффективный и надежный метод их последующего выведения из организма.

«Сейчас мы стараемся доказать, что наши “крабовые ловушки” первыми нейтрализуют мышьяк, опережая отравление человеческого организма этим металлом», – говорит Джонсон.

Математическое моделирование хелаторов выявило некоторые особенности комплекса, содержащего мышьяк. Исследователи использовали математические методы *ab initio* для того, чтобы построить оптимальную модель хелатора.

«Сейчас мы работаем над разработкой более стабильных систем по захвату атомов мышьяка. Большинство наших расчетов мы ведем с помощью математического моделирования, что значительно сокращает время, необходимое для нахождения правильного решения», – комментирует работу ученых Джонсон.

Процесс самосборки предполагает соединение нескольких молекул в большую структуру благодаря геометрическим или физико-химическим особенностям собирающихся молекул. В результате этого процесса должно получиться соединение гораздо более стабильное, чем исходные «строительные блоки».

В основе построения модели молекулы хелатора и готового комплекса, содержащего атомы мышьяка, лежали два фундаментальных метода: магниторезонансная спектроскопия и рентгенография. Для определения структуры комплекса в первом приближении использовали магниторезонансное отображение (MRI), которое часто применяется в медицинской диагностике. А для исследования атомарной структуры комплексов пришлось воспользоваться техникой рентгеноструктурного анализа.

Эта первичная фаза работы исследователей финансировалась грантом Орегонского университета.



### Наноустройства ловят вирусы<sup>1</sup>

За вирусами охотятся давно. Гарольд Крэйгхед и его коллеги из Корнеллского университета построили в этом году микроскопический кантилевер для того, чтобы взвесить отдельный вирус. В этом месяце Чарльз Либер и его команда из Гарвардского университета создали биочип, который определяет присутствие вируса гриппа. Новый биочип можно использовать как в гражданских целях (использование в медицине), так и в военных (при выявлении следов бактериологического оружия).

Крэйгхед пошел по «механическому пути»: его команда построила наноэлектромеханическое устройство – кантилевер, который может взвешивать объекты массой около 10–18 грамм. Весы состоят из вибрирующего кремниевого кантилевера длиной около 4 мкм и шириной 500 нм (рис. 5.6). Как только частица с малой массой попадает на кантилевер (он-то и представляет собой чашу весов), это изменяет частоту его колебаний. Изменения вибрации измеряются лучом лазера, который направлен на кантилевер. Измерив вибрацию «чаши весов» с «грузом», исследователи могут установить его массу.

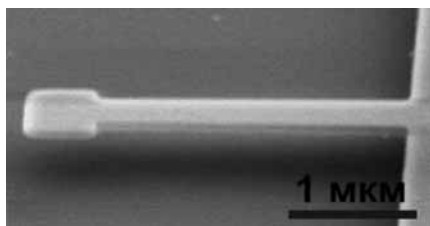
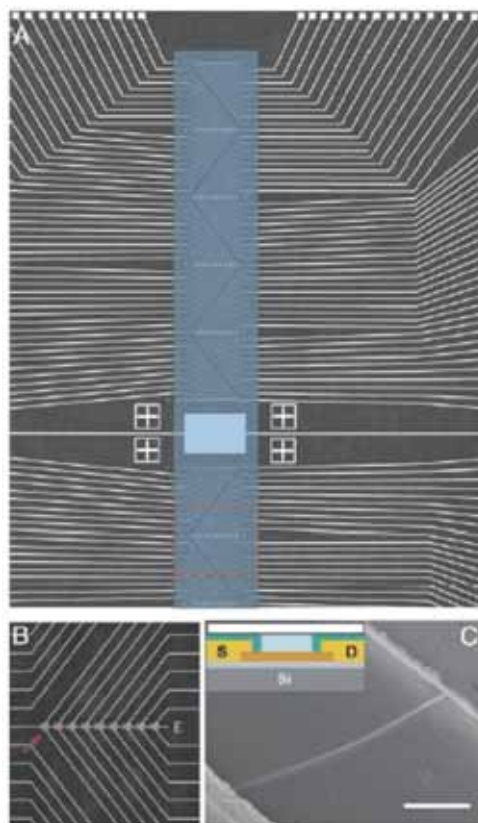


Рис. 5.6. Кремниевые «весы» – НЭМС-кантилевер

Для того чтобы на кантилевер попадали только вирусы, Крэйгхед покрыл его слоем антител, чувствительных к определенному виду вирусов. И когда «весы» поместили в жидкость, содержащую различные вирусы, то один из них прилип к кантилеверу. Так исследователи смогли поймать вирус и взвесить его (Appl. Phys. Lett. 85 2604). «Чувствительность НЭМС достаточно высокая, – сказал Крэйгхед, – можно взвесить очень быстро даже один вирус».

Но это было в начале 2004 г. В конце сентября 2004 г. Либер и его команда на основе матрицы полевых транзисторов, состоящих из нанострун, сконструировали детектор вирусов, покрыв поверхность транзисторов антителами (Proc. Nat. Acad. Sci. 101 14017). Конструкция биочипа такова, что вирусы могут попасть к детекторному блоку через сеть микрожидкостных каналов. Микрожидкостные каналы дальше разветвляются и расположены таким образом, что пересекаются с нанотранзисторами (рис. 5.7).

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 2.



**Рис. 5.7.** Структура матрицы полевых транзисторов на нанострунах:  
 А – геометрия расположения нанотранзисторов;  
 В – участок нанотранзисторов (на А выделен красным прямоугольником);  
 С – структура отдельной наноструны-транзистора

Наноструны покрыты специальными антителами, которые соединяют определенный вид вируса. Так как в матрице много отдельных нанострун, то детектор может выявлять до 100 различных типов вирусов.

Биочип работает следующим образом: как только вирус попадает на соответствующее ему антитело, то проводимость отдельной наноструны изменяется и, следовательно, изменяется состояние транзистора (рис. 5.8). Это изменение определяют дальнейшие логические цепи, которые в зависимости от номера нанотранзистора (1, 2 или другой) сигнализируют о наличии определенного вируса. Как мы говорили ранее, схема может определять до 100 различных вирусных частиц.

«Высокий коэффициент усиления нанотранзисторов и их чувствительность к присоединению вирусных частиц позволяют делать вывод, что биочип сможет детектировать отдельные органические молекулы», – говорит Либер.



124 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

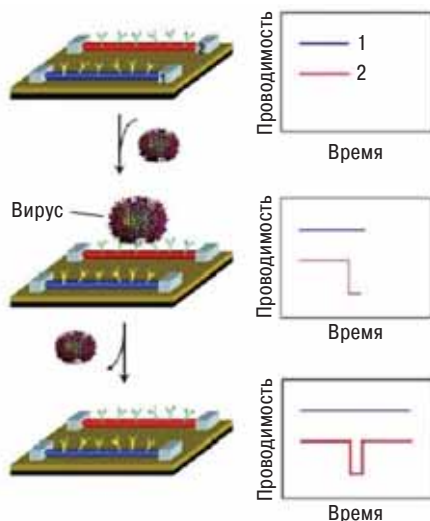


Рис. 5.8. Схема работы биочипа

Исследователи из Гарварда продолжают эксперименты с биочипом для того, чтобы добиться определения нескольких типов вирусов или биомолекул одновременно. Как ни странно, ученые из Корнелла во главе с Крэйгхедом занимаются тем же – строят похожие биочипы.

### «Живые» роботы двигаются с помощью мышц<sup>1</sup>

Крошечные роботы, приводимые в движение живыми мышцами, были созданы учеными Калифорнийского университета (Лос-Анджелес). Устройства были сформированы посредством «растущих» клеток крысы на микроскопическом кремниевом кристалле, сообщили исследователи в журнале *Nature Materials* (рис. 5.9).

Крохотный робот меньше миллиметра длиной может двигаться самостоятельно при добавлении в окружающую среду раствора глюкозы. Эта работа – впечатляющий пример тесного союза биотехнологий и мира нанотехнологий. Исследователи в области нанотехнологий часто обращаются к живой природе для вдохновения. Но профессор Карло Монтеманьо из Калифорнийского университета (Лос-Анджелес) обратился к природе не за идеями, а за реальными исходными материалами. Ранее он создал роторный наномотор из генетически модифицированного белка. Теперь он вырастил мышечную ткань на крохотных «скелетах» роботов.

<sup>1</sup> Cornell: How Cornell scientists uncover and remake molecules of life;  
BetterHumans: Miniscule Musclebots Powered by Rat Cells;  
SPIE: First self-assembled micro-robots powered by muscle;  
New Scientist: First self-assembled micro-robots powered by muscle.

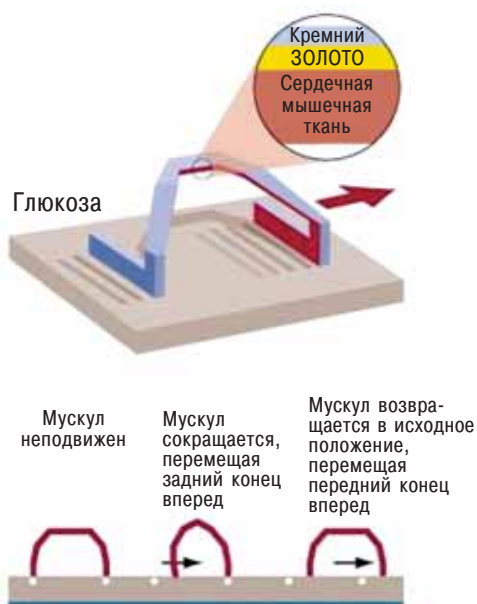


Рис. 5.9. «Живые» машины

Команда Карло Монтеманьо использовала кардиомиоциты (клетки сердца) крысы для создания мельчайших машин, способных двигаться самостоятельно за счет сокращения клеток. Два устройства выглядят как крохотная пара лягушачьих лапок.

«Кости, которые мы используем, на пластмассовой или кремниевой основе, – говорит профессор Монтеманьо. – Итак, мы сделали эту действительно прекрасную конструкцию, способную двигаться и гнуться. Теперь мы имеем устройства из “скелета” и мышц, которые позволяют им двигаться».

Под микроскопом мы можем увидеть крохотных двуногих «биоботов», ползающих по кругу. Профессор Монтеманьо сообщил, что такие мышцы могли бы быть использованы в микроскопических машинах в качестве актюаторов или даже управлять миниатюрными электрическими генераторами, обеспечивая энергией микросхемы.

Но когда живые клетки соединятся с кремнием – будут ли они живыми? «Они абсолютно живые, – заявляет профессор Монтеманьо ВВС News. – Я имею в виду, что клетки действительно растут, размножаются. Так что эти устройства живые».

Эта идея, вероятно, должна заинтересовать многих, кто уже имеет отношение к нанотехнологиям. Но для Монтеманьо, профессора инженерии, это лишь повод сравнить свои решения с теми, которые уже нашла природа, пройдя миллионы лет эволюции до современных сложных задач в технологии.



### ДНК-наномашина производит полимер<sup>1</sup>

Нэд Симэн опять нашел новое применение молекуле ДНК. Теперь с ее помощью ученый создал «фабрику» по производству одного-единственного полимера, повторяющего структуру самой фабрики. Но в будущем подобные наномшины будут производить различные материалы и преобразовывать информацию, изменяя структуру наносистем, состоящих из молекул ДНК. Вполне возможно, что это «счетная» основа будущих ДНК-компьютеров.

«Это первая система-транслятор, основанная на наномеханическом устройстве, — говорит Нэд Симэн. — Она преобразует один тип информации в другой. А возможность управлять структурой материи на атомарном уровне и есть отличительная черта нанотехнологий». Нэд Симэн — исследователь из Нью-Йоркского университета, создающий из молекул ДНК различные структуры, обладающие удивительными свойствами. Он использует эту универсальную молекулу для того, чтобы поставить на поток производство полимеров с заданной структурой.

Размеры нового ДНК-устройства, изготовленного Симэном, составляют всего 110×30×2 нм. Оно состоит из двух ДНК-машин, называемых исследователем PX-JX<sub>2</sub> (рис. 5.10). Эти наномшины Симэн изобрел несколько лет назад, скомбинировав определенным образом цепи молекул ДНК.

Симэн и его коллега Шайпинь Ляо добавили цепочки ДНК к каждой стабильной PX-JX<sub>2</sub>-наномашине. Затем они добавили фрагменты ДНК, связывающие противоположные концы PX-JX<sub>2</sub>-наномшины. Схему и микрофотографию этого полимера можно видеть на рис. 5.11.

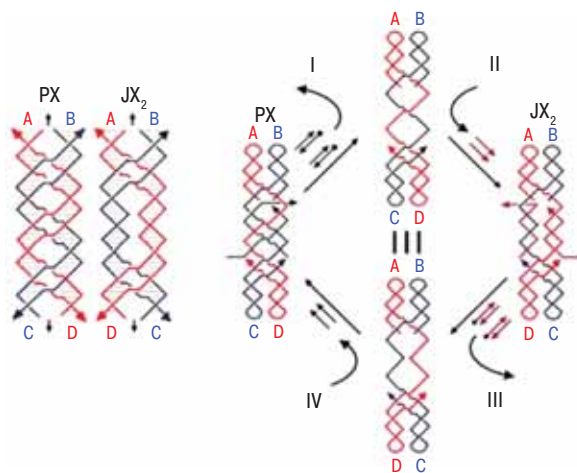


Рис. 5.10. Структура PX-JX<sub>2</sub>-наномшины

<sup>1</sup> Nanotechweb.org: DNA nanomachine helps build polymers.

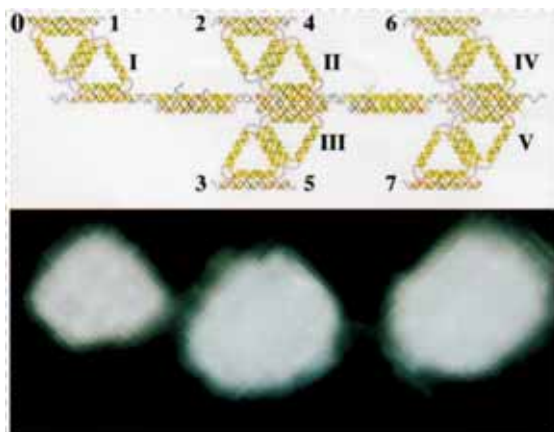


Рис. 5.11. Схема и АСМ-микрофотография синтезированного полимера

Далее Симэн и Ляо заставили эту наномашину работать, добавив в раствор, содержащий ее, фрагменты все той же ДНК. Машина начала собирать из них полимер, повторяющий структуру первоначальной «фабрики». Как утверждает Симэн, с помощью этой системы можно производить различные полимеры, а не только тот, который был получен в эксперименте.

ДНК-наномашина работает подобно информационной РНК, которая управляет синтезом определенной полипептидной цепи в организме. Но в функциях этих наносистем есть и существенные отличия. Устройство Симэна неспособно к транслокации, т.е. конечный продукт будет такой же структуры, что и само устройство. На рис. 5.11 видно, что структура полученного полимера повторяется. Но ученые верят, что им удастся создать ДНК-машину, работающую подобно рибосоме. «Главное применение будущей искусственной рибосомы будет в синтезе новых материалов по заданной последовательности, закодированной в ДНК, — говорит Симэн. — В конце концов мы научимся делать полимеры и новые материалы в больших количествах и за малый промежуток времени благодаря ДНК-машинам».

### Приручение таинственных биологических наноконтейнеров<sup>1</sup>

Нанокapsулы, названные наноконтейнерами, часто встречаются в живых клетках. Хотя их открыли двадцать лет назад, до сих пор ученые не смогли понять их назначения, так как не была установлена их роль в клетке. Они не перемещали никаких молекул и не выполняли других функций.

<sup>1</sup> NSF: Vaults: From Biological Mystery to Nanotech Workhorse? ([http://www.nsf.gov/discoveries/disc\\_summ.jsp?cntn\\_id=104106&org=NSF&from=news](http://www.nsf.gov/discoveries/disc_summ.jsp?cntn_id=104106&org=NSF&from=news)).



128 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

Исследователи настолько заинтересовались этим феноменом, что генетически модифицировали одну из мышей таким образом, что в ее клетках не содержалось наноконтейнеров. Но лабораторная мышь вела себя точно так же, как и другие, и никаких отклонений в ее развитии и состоянии не обнаружилось. Поэтому ученые удивились: если бы нанокапсулы не были нужны для функционирования клеток, то с течением эволюции они бы атрофировались. А из результатов исследований получается, что они в клетке не выполняют никаких функций. Исследования, проводимые над наноконтейнерами, натолкнули ученых на другую мысль: а что, если использовать эти природные нанокапсулы в нанотехнологиях? Ведь они представляют собой идеальные контейнеры для доставки лекарств, молекул ДНК, РНК; их также можно применять в наноэлектронике — в электронных ключах и микросхемах (рис. 5.12).

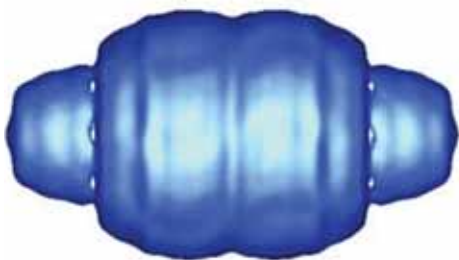


Рис. 5.12. Модель наноконтейнера

Наноконтейнеры представляют собой веретенообразные капсулы из белковых молекул. Они внутри полые и не структурированы. Фактически наноконтейнеры — это пустая оболочка, которая должна что-то содержать.

Биохимик Леонард Ром из Калифорнийского университета, под чьим руководством были открыты в 1986 г. наноконтейнеры, в настоящее время составил модель, которая хорошо описывает структуру наноконтейнера. Также биохимик и его команда открыли, как эти нанокапсулы производятся в клетке: для этого необходима определенная цепочка РНК и набор белковых молекул. Также, как утверждает Ром, «теперь, когда мы можем создавать наноконтейнеры, мы будем управлять их свойствами, т.е. можем создать готовую нанокапсулу с грузом и специфическими маркерами на ее поверхности». Если исследователям удастся это сделать, то неминуем прорыв в области точной доставки лекарств.

Наноконтейнеры — отличный кандидат для перевозок медикаментов и фрагментов ДНК, так как они без препятствий проникают через клеточную мембрану и их не атакует иммунная система человека, воспринимающая их как «своих». Как выразился Ром, нанокапсулы — «это троянские кони в медицине. Организм считает их своими, в то время как внутри они содержат грузы, которые мы захотим доставить внутрь него».

Первый шаг в приручении наноконтейнеров ученые уже сделали. Они открыли последовательность из 100 аминокислот, которая, как ключом, открывает внешнюю оболочку нанокапсулы, образуя в ней «погрузочное отверстие» (рис. 5.13). Затем исследователи попытались таким образом поместить внутрь наноконтейнера две флуоресцентные метки. Они присоединили их к «ключу» и добавили в раствор с наночастицами. Как и ожидалось, наночастицы «облепили» раковые клетки.

«Это очень и очень хорошее доказательство того, что можно использовать наноконтейнеры в роли “шаттлов” для доставки лекарств непосредственно в живые клетки, — говорит Ром. — Однако нам осталось проверить механизм разгрузки “шаттлов” на живой клетке, а это пока не решенный нами вопрос».

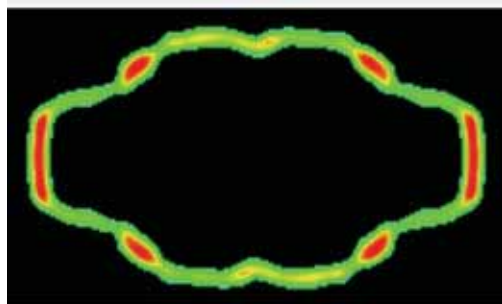


Рис. 5.13. Поперечное сечение наноконтейнера

Но работа исследователей продолжается. Проведя ряд контрольных экспериментов с живыми клетками, Ром и его коллеги добились интересных результатов. Они добавили наношаттлы с флуоресцентными частицами в культуру с живыми клетками, и те тоже начали светиться — груз попал в цель (рис. 5.14).

В дальнейшем ученые попробуют синтезировать наношаттлы со специфичными белковыми маркерами на их поверхности. Это позволит лекарству проникать непосредственно в больные клетки.

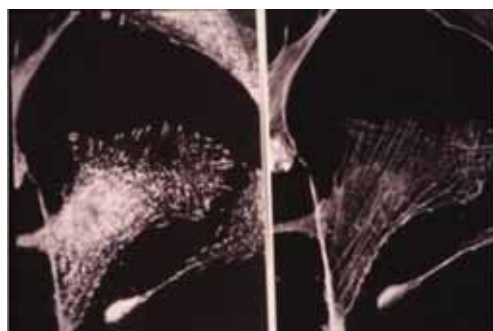


Рис. 5.14. Наношаттлы доставили флуоресцентные метки внутрь клетки



Как утверждает Ром, он видит несколько возможных перспектив применения этих нанощаттлов в будущем, вот они:

- терапевтическая доставка лекарств, онкология, химиотерапия;
- доставка или замещение энзимов и ферментов, которые вызывают нарушения обмена веществ;
- доставка молекул ДНК для исправления генетических мутаций;
- стабилизация протеинов для увеличения их времени жизни;
- создание биосенсоров, способных отображать состояние отдельной клетки;
- детоксикация клеток и удаление из них вредных веществ;
- очистка окружающей среды от токсичных металлов и опасных биологических объектов;
- наноэлектроника: нанопереклюатели, ключи на основе металлов и полупроводников, заключенных в наноконтейнере.

### **Дендромерные ДНК-наночастицы помогут бороться с раком и другими заболеваниями<sup>1</sup>**

Исследователи из Мичиганского университета разработали быстрый и эффективный метод производства лекарств с использованием наночастиц и молекул ДНК.

Ученые взяли за основу молекулы дендромеров — крошечных разветвленных полимеров, концы которых могут присоединять различные молекулы. Таким образом, молекулы дендромеров образуют различные конструкции, которые могут служить «емкостями» для лекарств.

В ходе экспериментов с соединениями из дендромеров ученые установили, что они хорошо соединяются с молекулами ДНК. При этом молекулы ДНК выступают в качестве «скелета» сложной молекулы, доставляющей лекарство.

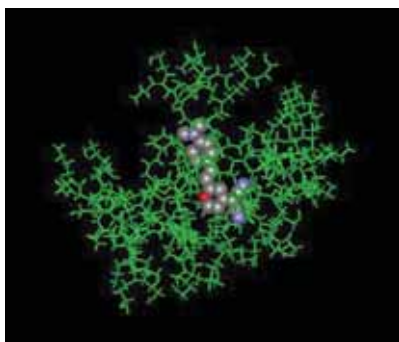


Рис. 5.15. Дендромеры-полимеры, способные связывать другие молекулы

<sup>1</sup> Новости нанотехнологий. Журнал НМСТ. 2005. № 5.



Главные активные компоненты этой наносистемы – дендромеры – могут нести на себе различные молекулы: от лекарства и белковых маркеров до флуоресцентных агентов. В принципе, можно создать дендромер, который бы нес одновременно и маркер, и лекарство, но процесс синтеза такой молекулы очень трудоемок (рис. 5.15).

«Благодаря дендромерам мы можем доставить практически любое лекарство или диагностическое средство в любую клетку», – сказал Джеймс Бэйкер, профессор нанотехнологий и директор Центра бионанотехнологий, образованного при Мичиганском университете.

Наночастицы – идеальное средство для доставки лекарств внутрь клетки. Но до сих пор ученые не могли разместить на них маркеры, позволяющие доставить лечебный груз наночастицы точно в цель – внутрь больной клетки. Да и само производство наночастиц дорого стоит и занимает много времени. Благодаря новой технологии наночастицы смогут стать одним из самых распространенных препаратов для лечения различных заболеваний (рис. 5.16).



Рис. 5.16. Дендромерная наночастица присоединяется к поверхности раковой клетки

В статье, опубликованной 21 января 2005 г. в институтском журнале «Химия и биология», студент Янгсон Чой описал, как ему удалось синтезировать наночастицу-кластер, состоящую из двух разных дендромеров. Причем одна молекула дендромера предназначалась для поиска больных клеток, а другая содержала лекарство для них. Обе молекулы были связаны цепочкой ДНК, которая играла роль «скелета».

Как утверждают коллеги Чой и Джеймс Бэйкер, полученные наночастицы могут успешно использоваться как при диагностике раковых заболеваний, так и при их последующем лечении. Простой синтез наночастиц и их универсальность позволят сделать этот вид лекарства эффективным и доступным.



## 132 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

В статье Чой рассказал, как он получил наночастицу-кластер. В растворе с двумя различными типами дендромеров он добавил цепочку ДНК длиной 34–66 нуклеотидов. Оказалось, что дендромеры имеют участки, комплементарные нуклеотидам ДНК. Через некоторое время в растворе «собрались» структуры из двух дендромеров, связанных между собой цепочкой ДНК. Один тип молекул дендромеров был флуоресцентный, а другой содержал комплекс маркеров раковых клеток. Полученный раствор кластерных наночастиц представлял собой средство для диагностики раковых опухолей. ДНК-наночастицы прилипали маркерным концом к больной клетке, а по флуоресцирующему концу эти клетки можно было увидеть.

С помощью самых современных средств цитологического анализа исследователи проверили, действительно ли дендромеры прикрепляются маркерным концом к раковым клеткам. Для проверки использовали 3D-микроскопы. Результат оказался положительным – большинство наночастиц достигло цели.

«Этот эксперимент подтверждает правильность наших исследований, – сказал Чой. – Сейчас мы работаем над созданием других наночастиц, другой конец которых будет содержать лекарство, а не флуоресцентный агент». А группа Бэйкера составляет библиотеку дендромеров, которые можно будет синтезировать и скомпоновать с молекулой ДНК, используя новую технологию. «Мы сейчас готовим склад кирпичиков ЛЕГО, из которых потом будем составлять лекарства от различных заболеваний», – сказал Бэйкер.

Бэйкер предвидит создание нанокластеров, состоящих из трех цепочек ДНК. Эти «базовые блоки», помещенные в раствор с дендромерами, вызовут самосборку наночастиц, состоящих уже из четырех дендромеров, которые будут выполнять различные функции. Один комплекс наночастицы может нести диагностический агент, другой – маркерный, а третий – лечащий. Такие терапевтические дендромеры могли бы избирательно поставлять пять отдельных лекарств пяти видам клеток. При этом синтез такой супермолекулы по методике Чоя занимает 10 шагов вместо 25, которые необходимо было проделать при использовании прежних технологий.

### Углеродные нанотрубки в мозговых имплантатах<sup>1</sup>

Исследователям из Италии удалось вырастить культуру нервных клеток из гиппокампального отдела головного мозга человека на субстрате из сети углеродных нанотрубок. Также учеными было установлено, что сеть из нанотрубок улучшает передачу нервных импульсов

<sup>1</sup> Nanotechweb.org: Carbo nanotubes head for brain repair (<http://www.nanotechweb.org/articles/news/4/5/14/1/>).



между клетками. Ранее ученым удавалось получить разветвленные сети на основе углеродных нанотрубок. На основании моделей разветвлений нанотрубок ученые надеялись когда-то создать сложные нейросети, которые будут изменять свою структуру и будут пригодны для вычислительной техники или помогут при создании искусственного интеллекта.

Но даже самые смелые ученые не могли предположить, что можно создать подобный гибрид из «нейросетевых нанотрубок» и живых нервных клеток (рис. 5.17). Попытки соединить неживое с живым уже увенчались успехом: интерфейсы кремний – нервная клетка работают в лабораторных условиях и могут передавать сигналы.

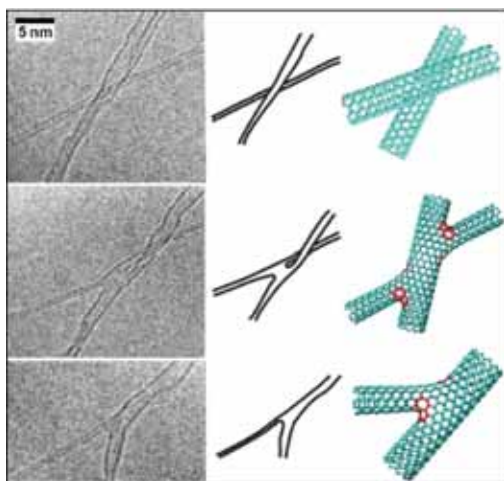


Рис. 5.17. Нейросеть из нанотрубок (модель)

«Идея совместить нанотрубки и нейроны пришла нам почти сразу, как только мы увидели сходство в их морфологии, — говорит Лаура Баллерини, одна из исследователей нейросетей. — Отростки нейронов тоже цилиндричны и напоминают по структуре нанотрубки. Известно, что нанотрубки могут быть и проводниками и полупроводниками электричества, поэтому с их помощью можно соединять отдельные нейроны между собой».

Для того чтобы создать нужный субстрат, по морфологии напоминающий нейросеть, ученые взяли многослойные нанотрубки с функциональными пиролидиновыми группами. Эти химические соединения облегчают растворение нанотрубок в органическом растворителе диметилформамиде. Затем они расположили нанотрубки в случайном порядке на стеклянной поверхности и добавили растворитель. Через некоторое время у исследователей была точная аналогия нейросети, только составленная из углеродных нанотрубок.



## 134 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

Как только искусственная нейросеть из нанотрубок была получена в достаточном количестве, ученые расположили на ней нейроны гиппокампальной области головного мозга, причем для проверки нейроны выращивали отдельно на чистой стеклянной поверхности. Команда наблюдала за ростом нейронов в течение десяти дней. По прошествии этого времени оказалось, что на обоих подложках сформировались почти одинаковые культуры клеток.

За успешным выращиванием нервной ткани последовал период тестов гибрида. Оба образца показали схожие электрофизиологические характеристики: мембранный потенциал, входное сопротивление и емкость. Однако когда дело дошло до измерения постсинаптического тока, то в образце, выросшем на нейросетевых нанотрубках, он распространялся с частотой, в 6 раз большей, чем у культуры, выращенной на простом стекле.

«Нашими исследованиями мы продемонстрировали увеличение скорости распространения нейросигнала благодаря проводящим свойствам субстрата из углеродных нанотрубок, — сказала Баллерини. — В дальнейшем мы будем исследовать новые стратегии тканевой инженерии на основе различных наносистем и наноматериалов. Одна из наших будущих задач — создать такие нейросетевые имплантаты, которые позволят соединять поврежденные нейроны между собой для улучшения передачи сигналов между ними».

Как сказали исследователи, суммируя все то, что им удалось узнать, с помощью новой технологии можно будет получить уже скоро долговременные импланты головного мозга, улучшающие передачу сигналов. Они будут эффективны при лечении заболеваний спинного мозга, хронических заболеваний головного мозга. Также ученые предлагают вводить микроэлектроды в нейросетевую субстрат нанотрубок для мио-стимуляции поврежденных участков.

Нанотехнологии приносят богатые плоды даже с одного дерева. По сути дела, углеродные нанотрубки — только одна из миллиардов возможных наноструктур, и мы уже сейчас можем видеть, насколько широко используются их возможности: это и нанотранзисторы, и NED-телевизоры, и космический лифт. Теперь к обширному списку применения нанотрубок прибавились имплантаты мозга.

### «Умные» нанотрубки в доставке лекарств<sup>1</sup>

Нанотрубки — практически универсальная наносистема. Мы уже видели, как их используют в микро- и наноэлектронике, различных имплантах и протезах, нередко они выступают в роли сенсоров, а отдельные ученые даже собирают из них каркасы для будущих наномашин.

<sup>1</sup> EurekAlert: «Smart» Bio-nanotubes Developed; May Help in Drug Delivery.



Но до сих пор никому не приходило в голову использовать их в доставке лекарств. Обычно для этих целей применяют наночастицы, так как они могут легко проникать через поры в клеточных мембранах и капиллярах.

Правда, это не обычные, уже знакомые нам углеродные нанотрубки, а один из компонентов живых клеток. Это протеиновые нанотрубки-филаменты, входящие в состав более крупных микротрубок, которые клетка использует для транспортировки веществ внутри себя.

Новая терапевтическая система, разработанная учеными из Калифорнийского университета совместно с несколькими цитологическими лабораториями, использует нанотрубки в качестве активных перевозчиков медикаментов. При этом врачи могут контролировать открытие концов нанотрубок таким образом, чтобы они высвобождали целебные грузы в нужном месте. Поэтому ученые назвали протеиново-липидные бионанотрубки «умными».

Кроме медикаментов, нанотрубки могут доставлять в клетки цепочки ДНК, кодирующие определенные гены. Такая адресная генная терапия может помочь в лечении многих генетических заболеваний и рака.

Подобные протеиновые нанотрубки – довольно пластичные наноструктуры, так как двухслойные липидные мембраны могут принимать различную пространственную форму в зависимости от соотношения липид – протеин. Так, нанотрубка может «переключаться» между состояниями «полностью закрыта», «открыт один конец», «открыты оба конца». Внешне нанотрубка может быть и продолговатой, и в виде капсулы.

Организаторы междисциплинарных исследовательских работ, благодаря которым ученые смогли получить уникальные «умные» нанотрубки, – профессор биохимии Калифорнийского университета Лесли Уильсон и профессор материаловедения и физики из того же университета Цирус Сафинья (рис. 5.18).

Микротрубки, сформированные из филаментов-нанотрубок, – одна из основных составляющих цитоскелета клетки. Для того чтобы получить протеиновые нанотрубки, ученые воспользовались тканью головного мозга коровы. В нервных клетках микротрубки также выполняют роль нейротрансммиттера, т.е. передатчика нервных сигналов между клетками.

«Одна из важнейших частей нашего открытия – самосборка протеиновых нанотрубок в смешанном растворе под воздействием электрических зарядов», – комментирует свою работу Сафинья.

Как далее поясняет Уильсон, ученые добились взаимодействия между отрицательно заряженными микротрубками и положительно заряженными липидными мембранами. В растворе, содержащем смесь этих наноструктур, и происходит самосборка «умных» нанотрубок.

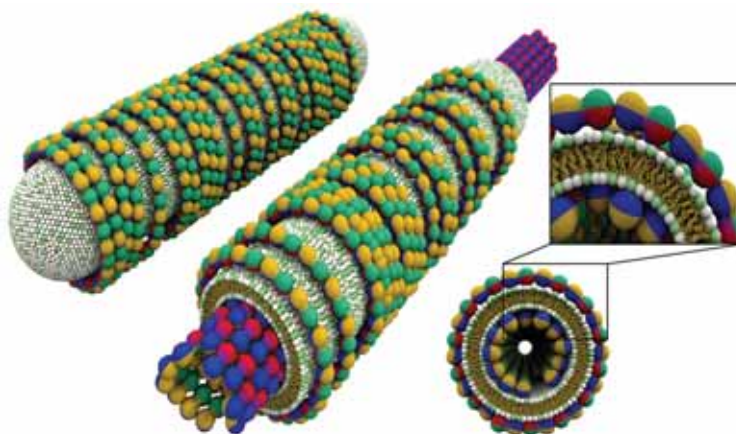


Рис. 5.18. Структура «умных» нанотрубок.

Нанотрубки состоят из белка тубулина (красно-голубо-желто-зеленые объекты), который формирует спирали. Снаружи нанотрубки покрыты двухслойной мембраной (желто-зеленая двухслойная структура). В центре и слева показаны два состояния нанотрубки, зависящие от соотношения липиды – протеин. У центральной нанотрубки оба конца открыты, а у той, что слева, – закрыты

Полученная нанотрубка состоит из трех слоев, и ее общий диаметр составляет около 40 нм, а внутренний диаметр капсулы – 16 нм. Поскольку в растворе, содержащем собранные нанотрубки, со временем формируется равновесие электрических потенциалов, то и капсулы для доставки лекарств будут иметь одну форму. Но если воздействовать на раствор дополнительным электрическим потенциалом, то нанотрубки изменят конфигурацию – откроются или закроются в зависимости от полярности потенциала.

Ученые надеются, что такая пластичная капсула доставки лекарств сможет переносить не только лекарства, но и фрагменты ДНК. В своих опытах Уильсон и его коллеги добились того, что нанотрубки инкапсулировали лекарство «Таксол» и затем по электрическому сигналу освобождали груз.

Одно из преимуществ использования нанотрубок состоит в том, что это естественные образования, находящиеся в каждой клетке, и поэтому они не могут вызвать побочных эффектов или интоксикации.

Структура нанотрубок была изучена с помощью новой технологии рассеивания рентгеновских лучей, совмещенной с электронно-лучевой микроскопией. Исследования финансировались рядом организаций: Национальным институтом здоровья США, Национальным научным обществом и Департаментом энергетики.



*Золотые наночастицы могут упростить диагностику раковых опухолей*

137

## **Золотые наночастицы могут упростить диагностику раковых опухолей<sup>1</sup>**

Американские исследователи из Технологического института Джорджии и Университета Калифорнии разработали новый метод простой и надежной диагностики онкологических заболеваний с помощью золотых наночастиц. Принцип диагностики основан на связывании наночастиц золота со специфическими антителами на поверхности раковых клеток. При этом наночастицы избегают здоровых клеток, таким образом можно «картографировать» опухоль с точностью до нескольких клеток. О своем исследовании ученые сообщили в журнале *Nano Letters*.

«Наночастицы золота хорошо рассеивают и поглощают свет, — говорит профессор Мустафа Эль-Сэйд. — Мы хотели посмотреть, можно ли присоединить наночастицы к живым клеткам, чтобы облегчить выявление рака. И проделав ряд экспериментов, мы получили многообещающие результаты».

У большинства раковых клеток на всей их поверхности есть белок, известный как рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), тогда как здоровые клетки обычно не экспрессируют этот белок настолько сильно.

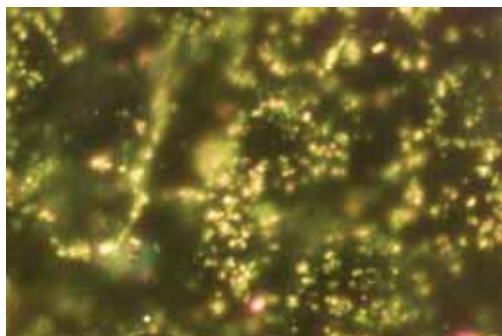
Конъюгация (или связывание) наночастиц золота с антителами против EGFR, обычно называемыми анти-EGFR, позволила исследователям обеспечить связывание наночастиц с самими раковыми клетками. «Если вы добавите раствор этих конъюгированных наночастиц к здоровым и раковым клеткам и посмотрите на изображение, то с помощью простого микроскопа сможете увидеть, как раковые клетки засияют целиком, — сообщил Эль-Сэйд. — Здоровые клетки не особенно связываются с наночастицами, поэтому вы их и не увидите. При такой технике если вам хорошо видна оболочка клетки, то это — рак» (рис. 5.19, 5.20).

Исследователи обнаружили, что наночастицы золота имеют на 600% большее сродство (т.е. связывание) с раковыми, чем со здоровыми клетками. Лучше всего работали частицы размером 35 нм.

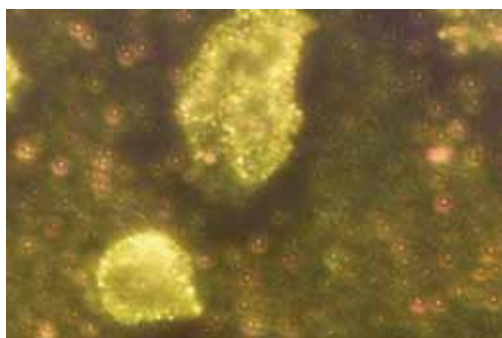
Привлекательность новой методики в том, что она не требует дорогих мощных микроскопов или лазеров. Все, что нужно для того, чтобы увидеть результат, — это обычный оптический микроскоп и белая лампа.

Другое преимущество — в скорости получения результатов. «Если вы возьмете клетки ткани, пораженной раком, и обработаете их антителами с золотыми наночастицами, то результаты можно увидеть

<sup>1</sup> Georgia Institute of Technology. Gold Nanoparticles May Simplify Cancer Detection (<http://www.gatech.edu/news-room/release.php?id=561>).



**Рис. 5.19.** Наночастицы прикрепляются к раковым клеткам и сияют, отражая направленный на них свет, облегчая диагностику



**Рис. 5.20.** А к здоровым клеткам наночастицы не пристают

немедленно. Рассеяние настолько сильное, что можно разглядеть каждую частицу», — рассказал Эль-Сэйд. Если можно разглядеть каждую частицу, то, соответственно, можно идентифицировать и каждую раковую клетку. Это открывает поистине удивительные возможности диагностики метастазов и опухолей, которые только начинают развиваться.

Наконец, эта методика нетоксична для человеческих клеток. Сходная методика на квантовых точках, которая использует микроскопические полупроводниковые кристаллы для маркировки клеток опухоли, опасна для человека, так как эти полупроводники токсичны.

### **Новый тип РНК-нанокапсул излечит от рака<sup>1</sup>**

Ученые из Университета Пэрдью (США) сконструировали новый тип наночастиц для доставки лекарств, с помощью которых была проведена успешная терапия онкологических заболеваний в лабораторных условиях.

<sup>1</sup> Purdue News: Purdue scientists treat cancer with RNA nanotechnology.

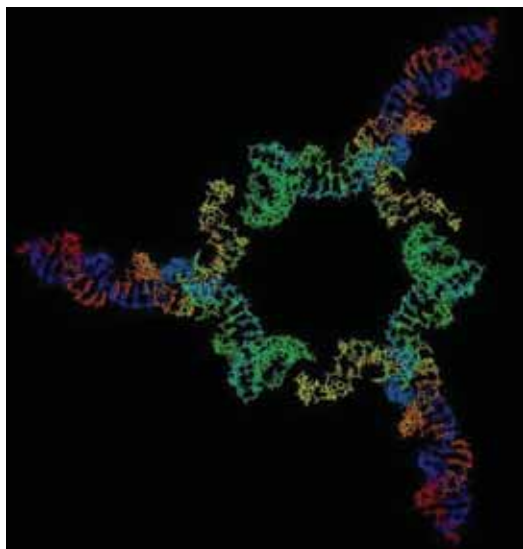


Рис. 5.21. Нанокапсула, состоящая из трех РНК-структур

Новые нанокапсулы, доставляющие лекарства внутрь клетки, состоят из трех цепей РНК (рис. 5.21), соединенных друг с другом в структуру, напоминающую по форме треугольник. РНК-нанокапсулы имеют такой размер, чтобы проникать внутрь клетки, а их строение позволяет поместить внутрь них цепочки РНК, отвечающие за остановку роста раковой клетки. Команда ученых, разработавших новое лекарство против роста раковых опухолей, недавно провела тесты РНК-наночастиц на мышах и культуре клеток человека. Результаты тестов показали, что лекарство способно бороться с онкологическими заболеваниями.

«Молекулярные структуры на основе РНК — идеальное решение для создания лекарства от рака. Вообще некоторые молекулы РНК способны эффективно бороться с онкологическими заболеваниями, но до сих пор было невозможно доставить их точно в раковую клетку, — говорит исследователь Пейхуан Гу, профессор молекулярной вирусологии из Университета Пэрдью (Гу проводил исследования по созданию РНК-нанокапсул совместно с Центром исследования онкологических заболеваний в Пэрдью, школой ветеринарной медицины и биомедицинской инженерии). — В последнее время большинство медиков надеется на то, что нанотехнологии помогут доставлять противораковые агенты в клетку. И с помощью РНК-нанокапсул это более чем возможно».

Ранее доктор Гу уже создавал различные наноструктуры на основе РНК. При изучении вирального мотора вируса phi 29 он узнал, что РНК формирует наноблоки, способные соединяться в различные наноструктуры. Так, из этих наноструктур создан сам наномотор вируса, доставляющий свою ДНК в клетку.



## 140 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

«С помощью наночастиц доктор Гу смог доставить в опухолевые клетки три различных типа противораковых агентов, — говорит Джим Чин, ученый из Национального института медицины США. — Это уникальное достижение. Ранее удавалось доставить только один тип агента».

Группа исследователей построила из молекул РНК несколько различных «матриц» размерами от сотен нанометров до нескольких микрометров. При этом их структура может быть задана, что существенно упрощает конструирование будущих наномашин. Самосборка шла в нанометровом масштабе, но конечные «продукты» в ряде опытов достигали и микрометровых размеров.

«Наша работа показала, что мы можем управлять структурой трехмерных матриц, полученных с помощью самосборки молекул РНК. При этом мы можем делать матрицы различных размеров, — объясняет Гу. — В дальнейшем после проведения дополнительных исследований с помощью молекул РНК можно будет конструировать сложные наномшины».

Пока исследователи собрали из молекул РНК «кольца», «треугольники» и «стержни». Исследователи говорят, что эти структуры можно интегрировать с нанотранзисторами, нанопроводниками, нанотрубками, биосенсорами и другими уже существующими наноструктурами, чтобы получить сложные НЭМС, возможно, даже наноробототехнику.

Практическое применение в доставке лекарств пока нашли только треугольники из РНК. Для борьбы с опухолями ученые начали поиск таких форм РНК, которые могут убивать раковые клетки. В процессе исследований были найдены три формы РНК. Например, siRNA деактивирует отдельные гены в раковых клетках, другие фрагменты РНК присоединяются к белковым маркерам, характерным только для раковых клеток.

«С помощью технологии синтеза РНК-наноструктур, которую мы разработали еще при исследовании вируса phi 29, была создана наноструктура-треугольник, состоящая из трех фрагментов различных РНК, размером от 25 до 40 нм», — объясняет далее Гу.

Частицы, размер которых около 100 нм, достаточно большие для того, чтобы проникнуть через клеточную мембрану. Вот почему треугольники идеально подходят для доставки лекарств внутрь клеток.

«Одна из особенностей раковых клеток — это то, что они не перестают делиться. А молекула siRNA останавливает процесс деления клеток. Затем мы попробовали наноструктуру в деле. И оказалось, что наночастицы справились с опухолью рака груди за несколько дней», — говорит Гу.

Но и это еще не все. Команда исследователей добилась полной остановки ракообразования у подопытной мыши. Говоря простым языком, мышь вылечили от рака.



«Результаты очень обнадеживающие, однако следует провести еще несколько дополнительных исследований, прежде чем мы станем использовать наночастицы в клинических тестах на людях», — отмечает Гу. Ученым необходимо исследовать все возможные подобные эффекты от использования наночастиц. Одна из таких исследовательских задач — присоединение наночастиц непосредственно к раковым клеткам, оставляя здоровые неповрежденными. Однако ученые надеются, что наночастицы в будущем радикально изменят терапию онкологических заболеваний и помогут миллионам людей.

### Наночастицы и дендромеры помогают космонавтам<sup>1</sup>

Вскоре наши глаза смогут служить в качестве многофункционального диагностического монитора. Исследователи из Мичиганского университета разработали методику, с помощью которой можно «на лету» установить дозу радиоактивного облучения, полученного человеком. Первыми испытуемыми этого метода на себе будут космонавты, которым необходимо все время контролировать степень облучения.

Исследования по разработке простого, эффективного, а главное, быстрого мониторинга состояния тела космонавта финансирует в первую очередь NASA. Команда из Мичиганского университета получила грант в размере 3 млн долл. на проведение соответствующих исследований. Работы по мониторингу состояния космонавтов велись разными командами давно.

В 2000 г. различные команды ученых разработали ряд наночастиц, содержащих флуоресцентные вещества, активирующиеся в том случае, если степень облучения организма была велика. Расскажем подробнее о прошлых достижениях мониторинга, чтобы было понятно, что придумали в Мичиганском университете.

«Назначение наночастиц — представить новый тип терапии, которая состоит в проникновении в отдельные клетки для их восстановления или избавления от них, если они слишком повреждены», — пояснил Джеймс Лири из медицинской ветви Техасского университета. Ученые Джеймс Лири и Стивен Ллойд возглавляют исследования в области наномедицины с использованием наночастиц. Вместе с ними работают Массуд Мотамеди (Техасский университет), Николай Котов (Университет Оклахомы) и Юрий Львов (Университет Луизианы).

Их проект фокусируется на проблеме, близкой к проблемам онкологических заболеваний. Большие дозы радиации получают астронавты, работая в космосе (особенно если будут пилотируемые полеты на

<sup>1</sup> University of Michigan: Molecular Biophysics and Bioengineering Nanotechnology-Now: Astronaut's eyes may become windows on the bloodstream (10 декабря 2004 г.).



142 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

Луну или Марс), так как они лишаются естественного защитного «зонтика» — магнитного поля Земли. Даже специально разработанные материалы не могут полностью изолировать космонавтов от высокоэнергетической космической радиации. Частицы с высокой энергией проникают в тела астронавтов и, как микроскопические пули, повреждают все молекулы на своем пути. Когда ДНК клетки повреждена таким образом, клетка работает с нарушениями, часто приводящими к образованию раковых опухолей (рис. 5.22).

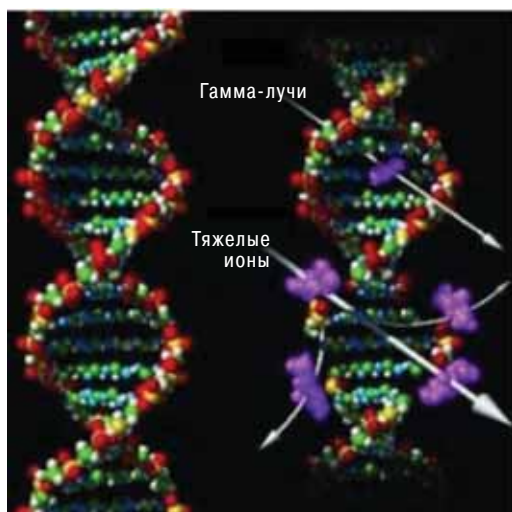


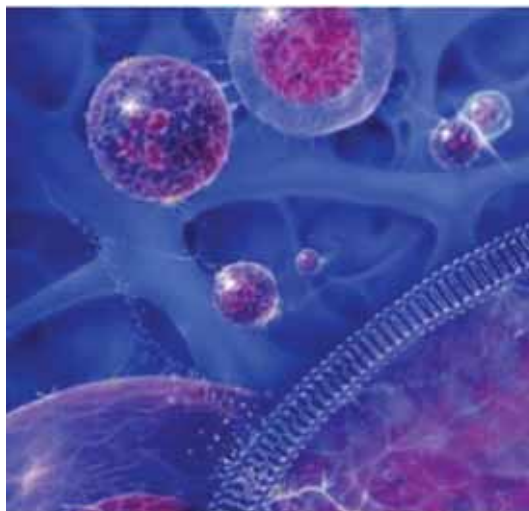
Рис. 5.22. Высокоэнергетическая космическая радиация может травмировать ДНК и способствовать ракообразованию на клеточном уровне

«Это очень важная проблема, — говорит Лири. — Если люди собираются долговременно жить в космосе, мы должны знать, как можно их защитить от космической радиации». Ученые решили, что организм астронавтов должен сам сопротивляться гамма-излучению, потому что разработка внешних экранирующих устройств не принесла ожидаемого эффекта.

Одно из решений этой проблемы — использование наночастиц в качестве посредников между больными клетками и устройствами мониторинга. Эти капсулы для доставки лекарств очень малы, размерами всего несколько сотен нанометров.

Простая подкожная инъекция может доставить тысячи или миллионы этих частиц в кровеносную систему пациента. Триллионы клеток в человеческом теле идентифицируют друг друга и передают сообщения с помощью сложных молекул, находящихся в их мембранах. Эти молекулы действуют как химические «флаги» для связи с другими клетками или как химические «ворота», контролирующие поступление в клетку молекул из кровотока (например, гормонов).





**Рис. 5.23.** Двухслойная мембрана (справа) отделяет содержимое клетки от внешнего окружения. Сложные молекулы во внешнем слое мембраны контролируют взаимодействия с другими клетками

Когда клетка повреждается гамма-излучением, она производит маркер – определенный класс белков, названный «CD-95», и помещает их на внешней поверхности мембраны (рис. 5.23). «Это похоже на то, что клетка говорит другой – я повреждена», – сказал Лири.

Если поместить на внешнюю поверхность наночастиц молекулы, способные присоединяться к белковым маркерам «CD-95», то ученые смогут «программировать» наночастицы для поиска клеток, поврежденных радиацией, и, возможно, использовать наночастицы для доставки специальных восстанавливающих ферментов к отдельным клеткам.

Человеческий организм и другие организмы имеют естественные ферменты, способствующие восстановлению (репарации) ДНК, правда, некоторые из них работают лучше, некоторые – хуже. «Существуют организмы, которые могут выдерживать большие дозы радиации, чувствуя себя при этом удовлетворительно», – говорит Лири. Изучая эти естественные механизмы восстановления, ученые получают возможность сконструировать такие ферменты, которые могут быть доставлены с помощью нанокапсул.

Команда Лири изучает также способы присоединения флуоресцентных молекул к поверхности наночастиц (рис. 5.24). Они могут быть использованы для отображения определенных ступеней процесса заражения и восстановления. Для разных ступеней можно будет применять разные цвета. Эти флуоресцентные метки смогут обеспечить мониторинг наночастиц внутри тела.



144 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

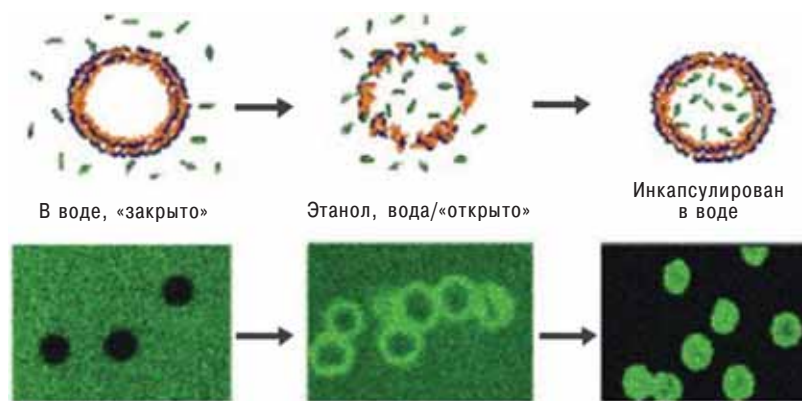


Рис. 5.24. Стенки нанокapsулы растворяются, вбирая внутрь флуоресцентное вещество. Подобные наночастицы могут быть сделаны из ряда «самособираемых» полимеров, таких, как теллурид кадмия

Все элементы этой идеи представлены порознь: ДНК-репарационные энзимы, наночастицы, флуоресцентные метки. Задача в том, как объединить это в одно работающее устройство.

«Это очень трудная проблема, и мы неспособны разрешить ее даже за три года — срок финансирования проекта. Мы пока пытаемся открыть новые области этой науки, а это само по себе большой прогресс, — говорит Лири, — но над многим еще придется поработать».

Через четыре года после изысканий Джеймса Лири команда Мичиганского университета поставила себе более тривиальную задачу: маркирование лейкоцитов, пострадавших от гамма-излучения, простыми флуоресцентными наночастицами. Суть технологии проста: пациенту вводят раствор наночастиц, которые соединяются с лейкоцитами, пострадавшими от воздействия радиации. Далее, облучая сетчатку глаза высокочастотным лазерным лучом, на цитометре можно будет подсчитать количество лейкоцитов, содержащих метки-наночастицы, и по их количеству установить, насколько серьезную дозу облучения получил космонавт.

Наночастицы, предложенные доктором Джеймсом Баркером, представляют собой дендромеры, к которым исследователи прикрепили молекулы с высокой степенью адгезии к больным лейкоцитам и флуоресцентные молекулы красителя (рис. 5.25).

Теперь космонавту не нужно будет даже сдавать кровь на анализ — степень облучения можно узнать с помощью лазерного сканера, который, сканируя сосуды сетчатки, считает количество флуоресцентных меток в протекаемой через сосуды сетчатки крови.

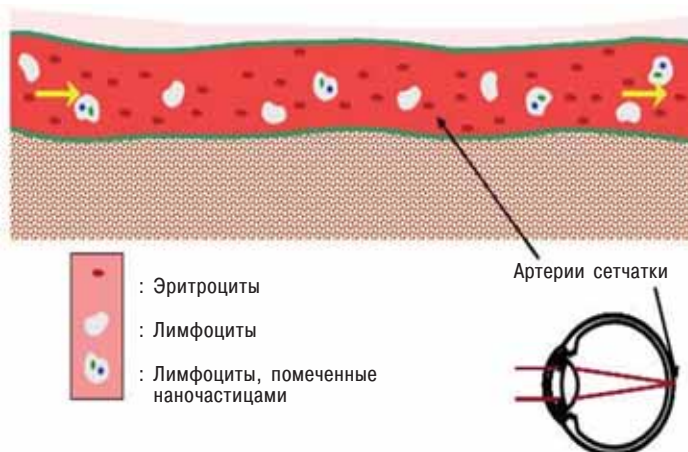


Рис. 5.25. Принцип действия нового метода, использующего дендромеры

Новый цитометр, способный считать количество вспышек от флуоресцентных частиц «на лету», был построен профессором Теодором Норрисом из команды исследователей.

В предполагаемом путешествии пилотируемого корабля к Марсу люди проведут около двух лет, постоянно получая дозы радиации. «В NASA сказали, что большинство из команды корабля получит билет в один конец, — подчеркнул Норрис. — Поэтому если команда не будет пользоваться методами ранней диагностики лучевой болезни, на Землю может никто не вернуться».

Исследователями уже проведены эксперименты на мышах, в ходе которых была продемонстрирована эффективность дендромерного мониторинга. Как говорят ученые, им необходимо еще два года, чтобы сделать работоспособную методику диагностики для человека.

### FDA взяла нано под учет<sup>1</sup>

Американская администрация пищевых продуктов и лекарств (FDA) занимается лицензированием широкого спектра товаров (пищевые продукты, косметика, лекарства, аппаратура и ветеринария), а теперь занялась и наноматериалами.

FDA определила нанотехнологии как отрасль разработок и исследований, регулируемую по следующим причинам:

- существующие материалы имеют атомный, молекулярный и макромолекулярный уровни, которые размером и функцией лекарств/устройств укладываются в шкалу от 1 до 100 нм;

<sup>1</sup> National Nanotechnology Initiative: FDA regulation of Nanotechnology Products.



## 146 Глава 5. Нанобиотехнологии и применение нанотехнологий в медицине

- изобретения и используемые устройства, аппараты и системы обладают новыми свойствами ввиду их малых размеров;
- наносистемы и наноматериалы имеют способность контролировать материю и манипулировать ею на атомарном уровне.

С улучшением терапевтических средств с помощью нанотехнологии станет возможной, например, доставка лекарственных средств к отдельным клеткам организма. В этой ситуации ответственность за надзор над такими продуктами берет на себя Office of Combination Products. Содействовать регуляции продуктов нанотехнологии будет агентство, сформированное из NanoTechnology Interest Group (NTIG). Ежеквартальные конференции NTIG станут эффективным средством общения между центрами.

Большинство центров также имеют рабочие группы, которые укрепляют связи между различными подразделениями. Они расширяют круг продукции, связанной с нанотехнологиями, которые регулируют федеральные агентства. Широту спектра данной продукции, которую собирается регулировать FDA, покажет будущее.

Для того чтобы понять, как FDA собирается регулировать рынок нанопродуктов, прочтите этот документ: FDA regulation of Nanotechnology Products.

### «Печатный станок» и экспресс-анализ ДНК<sup>1</sup>

Как в свое время печатный пресс положил начало эры книгопечатания, так и в наше время разработанная исследователями из Массачусетского технологического института (MIT) технология нанопечати («nanoprinting») позволит начать массовое производство наноустройств и биочипов на ДНК-основе.

Один из первых кандидатов на роль будущего массового печатного продукта — ДНК-матрицы для экспресс-диагностики различных заболеваний. Так, например, болезнь Альцгеймера или СПИД в анализе пациента можно будет определить с помощью ДНК-биочипа за несколько минут. Эти экспресс-анализаторы могут вскоре появиться в больницах благодаря дешевому производству этих анализаторов с помощью технологии «печатного пресса».

Необходимость в технологии дешевого массового производства наноустройств появилась с открытием первого ДНК-анализатора на основе микрожидкостных систем. К сожалению, все без исключения методы производства на сегодняшний день не могут гарантировать нужную точность изготовления при производстве НЭМС в больших количествах, а если точность соблюдается, то стоимость производства существенно возрастает.

<sup>1</sup> Nanotech-Now: New technique may speed DNA analysis ([http://www.nanotech-now.com/news.cgi?story\\_id=09664](http://www.nanotech-now.com/news.cgi?story_id=09664)).



Ученые из MIT не стали выдумывать ничего нового, а взяли за основу своего «печатного пресса» уже существующую в природе технологию копирования ДНК и РНК. Как сказал профессор Стеллаччи, руководитель исследований, «природа придумала самый эффективный метод печатания наноструктур на примере дубликации молекул ДНК». Новый метод исследователи назвали супрамолекулярным нанопечтанием (Supramolecular NanoStamping – SuNS). Он состоит в том, что цепи ДНК, нанесенные специальным образом на подложку, формируют такую же матрицу из комплементарных им цепей на другой матрице (рис. 5.26). Процесс прост, и его можно повторить неограниченное число раз. При этом полученная структура имеет ту же геометрию, что и ДНК-оригинал.

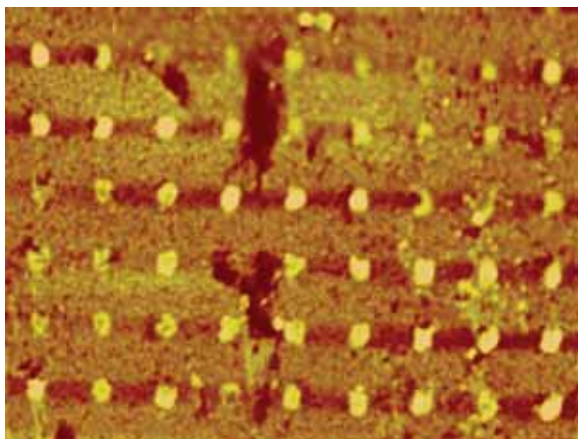


Рис. 5.26. Матрица ДНК-точек, изготовленная по SuNS-технологии (каждая диаметром около 200 нм)

Одно из таких устройств – ДНК-матрицы, уже используемые для анализа ДНК человека. На маленькой стеклянной подложке расположены около 500 000 «точек», содержащих молекулы ДНК. Однако стоимость такой матрицы довольно высока – около 500 долл., и для ее создания необходимо проделать 400 операций по нанесению ДНК-точек. Естественно, что такая ДНК-анализирующая система не пользуется спросом на рынке медицинской экспресс-диагностики «на каждый день».

Поэтому заявления ученых из MIT вселяют оптимизм: они утверждают, что могут создавать такой же массив всего за три производственных операции. И стоит готовый продукт будет менее 50 долл. «Наша технология может полностью изменить систему диагностики заболеваний и экспресс-анализирования ДНК, – говорит Стеллаччи. – Быстрая



диагностика таких заболеваний, как СПИД, гепатит и болезнь Альцгеймера, станет обычной рутинной задачей».

Другое преимущество этой технологии состоит в том, что кроме диагностики заболевания врач-диагност сможет получить о нем самую детальную информацию. «Чем больше мы будем делать ДНК-матриц и чем больше будем анализировать заболеваний, тем больше мы о них узнаем», – говорит Стеллаччи.

Технология SuNS может быть полезна не только в диагностике болезней. На ее основе можно производить наноструктуры из металлов или полупроводников практически любой двумерной геометрии. Также на ее основе можно дешево производить в большом количестве наножидкостные системы, одноэлектронные транзисторы, оптические биосенсоры и нанопроводники.

### Мозг на нанопроводниках<sup>1</sup>

Представьте себе, что через ваши артерии врачи проводят тонкие нанопроводники, которые достигают головного мозга, устанавливая мониторинговую связь с ним. Зачем это нужно? Для лечения и диагностики различных заболеваний, например болезни Паркинсона или Альцгеймера, говорят исследователи из Массачусетского технологического института (США).

Ученый в области нейронаук Рудольфе Ллинас и его коллеги предвидят, что с помощью подобной процедуры можно будет получать информацию в реальном времени о различных отделах мозга пациента. Теоретически можно будет «подобраться» к отдельным нервным узлам и даже клеткам по тонким кровеносным сосудам.

В июльском выпуске «Журнала исследования наночастиц» 2005 г. ученые поясняют, как будет проходить процедура имплантации нанострун. В одну из крупнейших артерий больного вводится катетер, через который пучок нанострун проникнет в кровеносную систему (рис. 5.27). Так как их диаметр исчисляется несколькими нанометрами, в то время как диаметр самых тонких капилляров составляет несколько микрометров, то наноструны не смогут помешать естественной «нанобукет» проводится непосредственно в мозг, где отдельные наноструны распределяются на передачу информации от различных участков головного мозга.

Для подтверждения нового метода диагностики ученые поставили ряд экспериментов с живыми образцами ткани. Им удалось ввести платиновый нанопровод по кровеносному сосуду и с его помощью получать сигналы от нервных клеток, лежащих около капилляра.

<sup>1</sup> Nanotech-Now: Wiring the Brain at the Nanoscale.

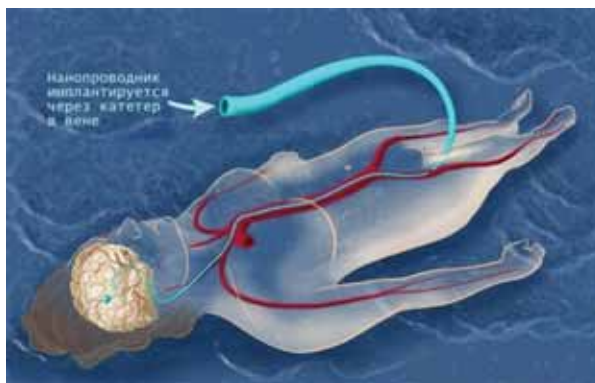


Рис. 5.27. Процесс имплантации нанозонда

Как говорит Рудольфе Ллинас, современные методы диагностики мозга (томография и магниторезонансная диагностика) не дают полной информации о тех электрических процессах, которые происходят в головном мозге. И естественно, они не могут выделить из общей картины сигналы от нервного узла, не говоря уже об отдельных клетках. «Поэтому мы решили предложить метод, позволяющий изучать мозг на уровне отдельных взаимодействий “нейрон – нейрон”. При этом внедрение нанопроводников будет нетравматичным», – говорит Майкл Роко, председатель Национальной инициативы США в области нанотехнологии. Как оказалось, Роко тоже заинтересован этой проблемой и наблюдает за достижениями ученых.

С помощью нанопроводников также можно будет посылать в мозг электрические сигналы, что дает надежду на излечение таких заболеваний, как болезнь Паркинсона. Только вот как заставить нанопроводник проникнуть в строго определенные отделы головного мозга? Для этого ученые предлагают использовать полимерный нанопроводник, который изгибается в зависимости от поданного на него напряжения. Так, следя за имплантом с помощью традиционных методов диагностики, врач сможет направить нанопровод-зонд через капилляры в интересные его места головного мозга. Нанопроводники-полимеры в 20 раз тоньше платиновых, а это значит, что с их помощью врач сможет добраться до отдельных нервных клеток.

«Этот новый класс наноматериалов характеризуется большой степенью свободы (при активации полимера электричеством). И создание управляемого гибкого импланта стало возможным только благодаря нанотехнологиям, – говорит один из исследователей Массачусетского технологического института. – Так что не исключено, что в скором времени у врачей появится новый нейроинструмент, который будет диагностировать и лечить заболевания головного мозга».