

Ж.М. Полова¹, В.П. Попович¹, П.В. Глуховський²

НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ ЯК СКЛАДОВА НАНОНАУКИ ТА НАНОФАРМАЦІЇ

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ, Україна,

²Національний університет Лос-Анджелесу, Каліфорнія, США

Ключові слова: нанобіотехнологія, наномедицина, наноструктури.

Ключевые слова: нанобиотехнология, наномедицина, наноструктуры.

Key words: nanobiotechnology, nanomedicine, nanostructures.

Висвітлено актуальні питання наномедицини, зокрема використання біотехнологічних підходів до створення нанорозмірних об'єктів, призначених для діагностичного або терапевтичного впливу на організм людини.

Освещены актуальные вопросы наномедицины, а именно использование биотехнологических подходов к созданию наноразмерных объектов, предназначенных для диагностического или терапевтического воздействия на организм человека.

The article is devoted to the actual issues of nanomedicine, including the use of biotechnological approaches to the creation of nanoscale objects intended for diagnostic or therapeutic effects on the human body.

Сучасні досягнення світової медичної науки й потреби практичної охорони здоров'я вимагають використання новітніх наукових технологій у фундаментальних дослідженнях. Саме нанотехнології є системоутворюючою ланкою, що на зразок інформатики у недалекому майбутньому змінить усвідомлення існуючих наук [14].

МЕТА РОБОТИ

Висвітлити актуальні питання наномедицини, зокрема щодо використання біотехнологічних підходів до створення нанорозмірних об'єктів, призначених для діагностичного або терапевтичного впливу на організм людини.

Один із піонерів нанотехнології Ральф Меркле (США) зазначив: «Нанотехнології призведуть до такої ж революції в маніпулюванні матерією, яку спричинили комп'ютери у маніпулюванні інформацією»[23].

Основними продуктами на ринку нанотехнологій будуть наноматеріали, наноелектроніка і нанобіотехнології.

Термін «біотехнологія» вперше використав угорець Карл Ерекє в 1919 році для позначення процесів, у яких продукти отримують за допомогою живих організмів. Європейська федерація біотехнології визначає сучасну біотехнологію як використання наук про природу (біології, хімії, фізики) та інженерних наук (наприклад, електроніки) стосовно біосистем у біоіндустрії, а Європейська комісія (ЄС) доповнює: для того, щоб забезпечити біологічне співтовариство необхідними продуктами і послугами [2].

Отже, біотехнологія – це напрямок сучасної науки і техніки, головним завданням якого є використання біологічних процесів для виробничих цілей.

На початковому етапі біотехнологія спиралась, головним чином, на досягнення мікробіології та ензимології, а в останні 10–20 років отримала потужний імпульс до розвитку з боку галузей біології, що найбільш інтенсивно розвиваються: вірусології, молекулярної і клітинної біології, молекулярної генетики.

Існує кілька напрямків біотехнологічних виробництв:

- Культивування клітин і тканин тварин і людини (інтерферон, інсулін, моноклональні антитіла, гормони росту, вірусні вакцини);
- Культивування клітин і тканин тварин (алкалоїди, оксикоричні кислоти, полісахариди);
- Виробництво препаратів на основі мікробіологічного синтезу (вітаміни, антибіотики, ферменти);
- Ензимологія (ферментна технологія) [2,11,25].

В останнє десятиліття виник новий напрямок у науці і технологіях – нанобіотехнологія, або біомолекулярна нанотехнологія, що являє собою біологічне використання нанотехнологій, тобто сполучна ланка між живою та неживою природою. Нанобіотехнологія – галузь науки на межі біології та нанотехнології, яка охоплює широке коло технологічних підходів, що включають:

- Застосування нанотехнологічних пристроїв і наноматеріалів ц біотехнології;
- Використання біологічних молекул для нанотехнологічних цілей.

Розміри біологічних макромолекул – нуклеїнових кислот (ДНК, РНК) і білків (антигени, антитіла, вірусні капсиди, ферменти тощо) – знаходяться в нанодіапазоні. Нанооб'єкти небіогенної природи (наприклад, наночастинки металів або напівпровідникові квантові точки) можуть бути носіями біомакромолекул, призначених для цільового впливу на певні біологічні мішені [15,16,17]. З іншого боку, біологічні макромолекули можуть бути засобом доставки небіогенних наночасток в орган-мішень для діагностичного або терапевтичного впливу [1,2,10,11,25].

Прикладами використання біологічних макромолекул у нанобіотехнології є так звана ДНК-нанотехнологія, що використовує впорядковану структуру молекул ДНК для розробки наноструктур певної форми, а також розробка наномашин, прототипами яких є молекулярні мотори живих клітин.



Молекулярні мотори, або біологічні наномотори – моторні білки і білкові комплекси, що генерують механічне зусилля для здійснення руху клітин, внутрішньоклітинного транспорту й інших біологічних процесів.

До біологічних моторів належать моторні білки, наприклад, міозини, кінезини і дінеїни, що забезпечують скорочення м'язів, рух нем'язових клітин, поділ клітин, ендоцитоз, екзоцитоз, а також процеси внутрішньоклітинного транспорту органел і макромолекул. Зазначені моторні білки належать до так званих лінійних моторів, що виконують механічну роботу та переміщуються в одному напрямку вздовж компонентів цитоскелета: мікрофіламентів (міозини) або мікротрубочок (кінезини і дінеїни).

У якості палива вони використовують аденозинтрифосфат (АТФ) – універсальний енергетичний субстрат клітини. Зазвичай моторні білки, що здійснюють рух у прямому чи зворотному напрямках, розвивають при цьому різне зусилля. Всі моторні білки регулюються клітинними системами, що здійснюють їх активацію і гальмування [19,20].

У бактерій існує ротаційний мотор, що за будовою нагадує електродвигун, так званий джгутиковий моторний комплекс. Він використовується для обертання джгутиків і переміщення клітин у водному середовищі. Ще один білковий комплекс, що здійснює обертальні рухи, – це так званий АТФ-синтаза, є у всіх живих організмів. У клітинах тварин і рослин цей комплекс вбудований у внутрішню мембрану мітохондрій – енергетичних станцій клітин. Він використовує електрохімічний градієнт протонів на мітохондріальній мембрані для синтезу АТФ. Цей мотор може працювати і в зворотному напрямку, зокрема розщеплювати АТФ і за рахунок отриманої енергії створювати градієнт протонів на мембрані мітохондрій.

Спеціальні моторні білки розвивають значне механічне зусилля і переміщуються при роботі з молекулами ДНК. До них належать ДНК-полімерази і РНК-полімерази, що синтезують нуклеїнові кислоти на матриці ДНК; топоізомерази; білкові та РНК-білкові комплекси для упаковки вірусного геному в капсид.

Біологічні мотори мають нанорозміри і при цьому часто більшу ефективність у порівнянні з макромоторами, створеними людиною. Вони екологічно безпечні й біосумісні. Оскільки біологічні мотори – це білкові молекули, що кодуються відповідними генами, можливе їх конструювання із заданими властивостями за допомогою генної інженерії. Привабливість біомолекулярних моторів для нанотехнологій полягає також у тому, що сьогодні це практично єдині реально існуючі наномотори (розробка штучних наномоторів знаходиться на ранніх стадіях) [4,6,10,13,18,20].

Недоліком біологічних моторів є спеціальні умови роботи: рідке середовище певного сольового складу, температури і рН. Це обмежує область їх застосування. Проте ці вимоги не є лімітуючими для застосування біологічних моторів у наномедицині, наприклад, при створенні діагностичних лабораторій на чипі, систем доставки генів і ліків, біонаноелектромеханічних систем [1,10].

Коло технологічних підходів нанобіотехнології включає

створення біотехнологічних продуктів, властивості яких визначаються розмірними характеристиками (для об'єктів, розмір яких у діапазоні 1–100 нм), і використання біотехнологічних підходів, в основі яких лежить принцип контрольованої самоорганізації наноструктур.

Наноструктура – сукупність нанорозмірних об'єктів штучного або природного походження, властивості яких визначаються не лише розміром структурних елементів, але й їх взаємним розташуванням у просторі.

Морфологія наноструктур – сукупна характеристика нанооб'єктів, що включає розмір, форму і просторову організацію (агрегатну структуру). Морфологія наноструктур може істотно відрізнитись залежно від складу матеріалу, його кристалічної структури і способу отримання. Існуючі методи синтезу дозволяють отримувати наночастинки різних форм (сферичної, стрижневої, трубчастої, голчастої, кубічної, октаедричної) і розмірів. Наприклад, варіювання таких параметрів гідротермального синтезу, як температура, тиск, концентрація реагентів, час обробки та рН, дозволяє суттєво впливати на морфологію, склад і ступінь кристалічності отриманого продукту [6,10,13,16,19,22].

Морфологічна різноманітність нанорозмірних об'єктів, побудованих на основі органічних молекул, практично безмежна. Так, сучасні біотехнології, які використовують подвійні спіралі ДНК, що характеризуються самозбиранням у якості будівельних блоків, дозволяють цілеспрямовано створювати тривимірні структури, розміри яких знаходяться в діапазоні від 10 до 100 нм. За допомогою одного з таких підходів створено нанорозмірні «ДНК-орігамі» – полігональні каркаси, шестерінки, мости, пляшки [5,13,15,16].

Зміна морфології є дієвим способом керування функціональними характеристиками наноматеріалів, а також впливає на їх біосумісність, оскільки є відображенням результату еволюції (трансформації) поверхні (межі розділу середовищ) у процесі отримання матеріалу. Морфологічна різноманітність найважливіша саме для наноматеріалів, оскільки вони характеризуються, як правило, великою часткою поверхневих атомів, що зумовлюють особливості фізико-хімічних властивостей. З іншого боку, більшість наноматеріалів є термодинамічно нерівноважними, тому нерівноважна (відмінна від форми монокристала даної речовини) морфологія є відображенням метастабільності наноматеріалів, тобто знаходження системи в локальному мінімумі вільної енергії.

Самоорганізація наноструктур, або самоскладання (англ. self-organization) – мимовільне утворення впорядкованих просторових або тимчасових структур в умовах безперервних потоків енергії і речовини в сильно нерівноважних відкритих системах.

Під самоорганізацією розуміють будь-який процес, що призводить до виникнення будь-якого впорядкування в системі. У разі інтенсивного припливу енергії ззовні виявляється можливим мимовільне утворення організованих дисипативних структур, що є наслідком еволюції системи в сильно нерівноважних умовах (дисипативна самоорганізація). До дисипативних самоорганізованих структур належить



просторово-періодичні конвективні системи, системи з хаотичною поведінкою, деякі типи динамічних фрактальних структур, періодичні просторово-часові структури (автоколивання і автохвилі). Необхідною умовою прояву процесів самоорганізації є наявність декількох (як мінімум двох) протилежно спрямованих градієнтних полів однієї розмірності, що формують мінімум енергії як функцію відстані або часу. Процеси самоорганізації різноманітні, їх найвідоміші приклади – кільця Лізеганга, ефект Марангоні, реакція Білоусова-Жаботинського, комірки Бенара.

Управління процесами самоорганізації є найважливішим завданням на шляху до формування функціональних наноматеріалів із заданими фізико-хімічними властивостями та розробці нанопристроїв на їх основі [1,6,10].

Вивчення структур і функцій природних наноконструкцій, що існують у живій клітині, – необхідний етап для створення нанобіопристроїв. Завдання нанобіотехнології – зрозуміти принципи функціонування біологічних одиниць для створення за допомогою спеціальних матеріалів та інтерфейсів малих компонентів живого. Нанобіотехнологія сприяє тісній кооперації наук про живе з фізикою, хімією та інженерією [1,2,10,11,25].

У високорозвинених країнах біотехнологія вважається одним із головних напрямків розвитку суспільства. На перше місце вийшла медична біотехнологія, зокрема вироблення лікарських засобів, біорегуляторів і вакцин, генна діагностика та терапія, тканинна інженерія на основі стовбурових клітин [2,5,7,11,12,23,24]. Світовий ринок фармацевтичної продукції, отриманої біотехнологічними методами, становить понад 60% всього біотехнологічного ринку.

Генетична інженерія (грец. genesis – походження) – напрямок науки на межі молекулярної біології, молекулярної генетики, біотехнології тощо, метою якого є створення організмів з новими комбінаціями спадкових ознак, у т.ч. таких, що не трапляються у природі. Це здійснюється шляхом спрямованого перенесення людиною конкретних генів або їх комплексів з одного організму в інший, закріплення цих генів у новому генетичному оточенні та забезпечення їх вираження у даній генетичній системі.

У генетичній інженерії використовують такі способи: злиття соматичних (нестатевих) клітин або протопластів різних клітин одного або різних видів організмів; перенесення з однієї клітини в іншу ядер клітин, хромосом або їх фрагментів; введення в клітини конкретних генів. Останній спосіб застосовує спеціальний напрямок – генну інженерію, основним завданням якої є отримання конкретних генів, що визначають ту чи іншу ознаку клітини або організму. Це завдання вирішується хімічним синтезом гена шляхом поєднання нуклеотидів ДНК у певній послідовності; ферментативним синтезом ДНК на матрицях інформаційної РНК за допомогою зворотної транскриптази; фрагментуванням тотальної ДНК клітини і подальшим вибором фрагментів; отриманням чи створенням векторних молекул – молекул ДНК, здатних приєднувати фрагменти молекул ДНК будь-якого походження, проникати у клітини і розмножуватись у них в автономному чи інтегрованому

стані. Такі векторні молекули створено на базі бактеріофагів і плазмід. Можливі й інші типи векторних молекул [2,5,12,15,16].

Генна інженерія є інструментом біотехнології. У ній використовуються методи молекулярної і клітинної біології, цитології, генетики, мікробіології та вірусології. Генна інженерія застосовується для отримання бажаних якостей змінюваного (генетично модифікованого) організму. На відміну від традиційної селекції, в ході якої організм піддається змінам власного геному за допомогою мутацій, методи генної інженерії дозволяють змінювати геном за допомогою введення в нього бажаних генів, у тому числі абсолютно чужорідних. Прикладами застосування генної інженерії є створення бактерій і грибів, що продукують гормони, антибіотики, вітаміни, ферменти та інші речовини для потреб фармацевтичної і харчової промисловості; створення трансгенних тварин як живих фабрик для виробництва біомедичних препаратів, а також нових порід експериментальних мишей (нокауті) для наукових досліджень функціонування певних генів [2,10,12].

У галузі нанобіотехнологій створення генно-інженерних химерних білків, іонних каналів і біологічних моторів з принципово новими властивостями створює основу сучасних біосенсорів, систем доставки ліків.

Серед практичних досягнень генної інженерії найважливішим є створення продуцентів біологічно активних білків (інсуліну, інтерферону, гормону росту тощо), а також розробка способів активізації ланцюгів обміну речовин, пов'язаних з утворенням низькомолекулярних БАС. Так, отримано продуценти деяких антибіотиків, амінокислот, вітамінів, ефективність яких у багато разів вища порівняно з виведеними за допомогою традиційних методів генетики і селекції.

Генна інженерія розробляє способи отримання суто білкових вакцин проти вірусів гепатиту, грипу, герпесу, ящура. Реалізована ідея використання для вакцинації комбінованого вірусу вісповакцини, в геном якого вбудовано гени, що кодуєть синтез білків інших вірусів (наприклад, вірусів гепатиту або грипу). У результаті вакцинації таким вірусом організм отримує можливість виробити імунітет не тільки проти віспи, але й проти гепатиту, грипу або іншого захворювання, зумовленого вірусом, синтез білка якого кодується вбудованим геном [2,3,12].

Одним із головних досягнень сучасної біотехнології є виробництво рекомбінантних, або генно-інженерних терапевтичних білків людини в промислових масштабах. Нині в різних країнах їх випускається більше 120, з яких 100, пройшовши клінічні випробування, дозволені до використання в Європейському Союзі та США.

За підрахунками фахівців, щорічний обсяг світового ринку лікарських засобів на основі білків, створених генноінженерним шляхом, збільшується на 15% і в 2010 році склав 18 млрд доларів [24].

Біотехнологічні препарати – лікарські препарати, отримані шляхом використання біологічних об'єктів (мікроорганізмів, клітин і тканин людей, рослин, тварин,



клітин комах і ссавців, гібридомних клітин, дріжджів, генноінженерних штамів мікроорганізмів, моноклональних антитіл, ДНК, РНК) і спеціальних технологічних процесів (культивування, ферментації, біотрансформації, екстракції тощо). У свою чергу, біологічні об'єкти отримують методами селекції, клітинної та генної інженерії.

До біотехнологічних препаратів належать антибіотики, вітаміни, гормони, ферменти, ліпіди, полісахариди, органічні кислоти, амінокислоти, алергени, антигени, препарати з крові та плазми людини, а також вакцини, цитокіни, імуномодулятори, імуностимулятори, імунодепресанти, імунні сироватки, імуноглобуліни, пробіотики, інтерферони, інтерлейкіни тощо [8,9].

Використовують біотехнологічні препарати для лікування, профілактики і діагностики різних захворювань, виготовляють у вигляді різних дозованих лікарських форм і недозованих препаратів (в упаковках великої ємності *in bulk*), біологічних агентів або у вигляді стандартних зразків.

Біотехнологічні препарати не можуть бути відтвореними, тобто генериками. При їх реєстрації враховують біологічні властивості (реактогенність, імуногенність, клініко-епідеміологічну ефективність, біологічну та біотехнологічну специфічність, біотехнологічну ефективність, біосумісність, біоспецифічність, генетичнудетермінованість ефективності, відповідність належним практикам виробництва, дистрибуції, лабораторного контролю, клінічного застосування та зберігання), і тому реєстрація не має бути ідентичною процедурі реєстрації лікарських препаратів [9]. Ці вимоги актуальні у випадку нанобіотехнологічних препаратів.

ВИСНОВКИ

Розробка та виробництво вітчизняних інноваційних біотехнологічних лікарських засобів з використанням нанорозмірних частинок, формування науково-дослідних центрів і кластерів з розробки таких препаратів в Україні є необхідними та своєчасними.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Арчаков А.И. Нанотехнологии в диагностике и терапии / Арчаков А.И., Иванов Ю.Д. // Медико-социальные аспекты отечественного здравоохранения. Актуальные вопросы диагностики и лечения в клинике внутренних болезней. – М.: Общероссийский общественный фонд «Здоровье человека», 2007. – С. 10–18.
2. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов: В 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн.1: Проблемы и перспективы. – М.: Высш. школа, 1987. – 159 с.
3. Біологічний словник / За ред. К.М. Ситника і В.О. Топачевського. – К.: Вища школа, 1986. – 679 с.
4. Будевич А. Получение лекарственных белков человека с использованием трансгенеза / Будевич А. // Научно-информационный журнал «Наука и экономика». – 2008. – №12 (70). – С. 54–55.
5. Глик Б. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение / Глик Б., Пастернак Дж. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
6. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии / Гусев А.И. – М.: Физматлит, 2007. – 416 с.
7. Елинов Н.П. Основы биотехнологии / Елинов Н.П. – СПб: ИФ «Наука», 1995. – 600 с.
8. Закон України «Про лікарські засоби» від 04.04.1996 р. № 124/96-ВР (із змінами і доповненнями, внесеними Законами України від 14.02.1997 р. № 70/97-ВР, від 30.06.1999 р. № 783-ХІV, від 19.01.2006 р. № 3370-ІV, від 16.11.2006 р. № 362-V, від 17.05.2007 р. № 1034-V, від 20.05.2009 р. № 1364-VI, від 11.05.2010 р. № 2165-VI).
9. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководство по качеству. Рекомендации PIC/S / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К., 2001.
10. Нестеренко Л.Н. Перспективы использования биогенных наноструктур в медицине (обзор) / Нестеренко Л.Н., Тухтына И.Л., Шмаров М.М. и др. // 150 лет со дня рождения Н.Ф. Гамалеи. Сборник научных трудов. – М., 2009. – С. 67–79.
11. Основы биотехнологии / Под ред. Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М., 2010. – 256 с.
12. Прищеп Т.П. Основы фармацевтической биотехнологии / Прищеп Т.П., Чучалин В.С., Зайков К.Л. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. – 256 с.
13. Пул-мл. Ч. Нанотехнологии / Пул-мл. Ч., Оуэнс Ф. – М.: Техносфера, 2007. – 376 с.
14. Черних В.П. Нанотехнології: Майбутнє починається сьогодні / Черних В.П. // Сьогодні та майбутнє фармації: Тези доповідей Всеукраїнського конгресу (16–19 квітня 2008 р. м. Харків). – Х., 2008.
15. Dietz H. Folding DNA into twisted and curved nanoscale shapes / Dietz H., Douglas S.M., Shih W.M. // Science. – 2009. – V. 325. – P. 725–730.
16. Douglas S.M. Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes / Douglas S.M., Dietz H., Liedl T. et al. // Nature. – 2009. – V. 459. – P. 414–418.
17. Gazit E. Plenty of room for biology at the bottom. An Introduction to Bionanotechnology / Gazit E. – London: Imperial College Press, 2007. – 183 p.
18. Gusev A.I. Nanocrystalline Materials / Gusev A.I., Rempel A.A. – Cambridge: Cambridge International Science Publishing, 2004. – 351 p.
19. Molecular Motors / Ed. by Schliwa, Manfred. – Weinheim: Wiley-VCH, 2002. – 582 p.
20. Molecular Motors: A Theorist's Perspective // Annual Review of Physical Chemistry. – 2007. – V. 58. – P. 675–695
21. P. Poole Charles Introduction to nanotechnology / P. Poole Charles, Frank J. Owens – Weinheim: Wiley-VCH, 2003. – 388 p.
22. Pu Z. Controlled synthesis and growth mechanism of hematite nanorhombhedra, nanorods and nanocubes / Pu Z. et al. // Nanotechnology. – 2006. – Vol. 17. – P. 799–804.
23. Ralph C. Merkle. Biotechnology as a route to nanotechnology / Ralph C. Merkle // Published in Trends in Biotechnology. – 1999. – Vol. 17, №7. – P. 271–274.
24. Washington Biotechnology Institute. What is biotechnology? – Режим доступу: <http://www.biotechinstitute.org>

Відомості про авторів:

Полова Ж.М., к. фарм. н., асистент каф. аптечної та промислової технології ліків НМУ ім. О.О. Богомольця.

Попович В. П., к. фарм. н., доцент каф. аптечної та промислової технології ліків НМУ ім. О.О. Богомольця.

Глуховський П.В., професор каф. математики і природознавчих наук Національного університету Лос-Анджелесу.

Поступила в редакцію 10.07.2012 г.