

УДК 546.26.043

НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ: ШЛЯХ У НОВИЙ МІКРОСВІТ, СТВОРЕНИЙ СИНТЕЗОМ ХІМІЇ ТА БІОЛОГІЇ

О. П. ДЕМЧЕНКО, В. І. НАЗАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ

E-mail: alexdem@ukr.net

Отримано 19.06.2011

Частинки розміром 1–100 нм та композити з молекул і таких частинок неорганічної, органічної та біологічної природи мають унікальні властивості, що не притаманні іншим матеріалам, тому застосування їх зумовлює революційні зміни в існуючих технологіях і створення нових. В огляді описано будову та властивості таких нанокompозитів, а також їх різноманітне біотехнологічне застосування. Обговорюються нові можливості для досліджень і впровадження в індустриальній ензимології, пов'язані зі включенням ензимів у наноструктури. Новітні технології охоплюють і охорону здоров'я, що сприяло виникненню нанофармакології і наномедицини. Тут уперше з'явилися можливості для контрольованого доставлення і вивільнення ліків у клітинах-мішенях. Розглянуто також проблему патентного захисту нових ідей у цій галузі.

Запропоновано розгорнуту дефініцію нанобіотехнології.

Ключові слова: нанобіотехнологія, наночастинки, самоскладання, нанокompозити, наноматеріали у медицині, наноензимологія.

Останнім часом відбувається створення і становлення нової наукової й технологічної дисципліни на стику фізики, хімії та біології. Унікальні властивості металевих наночастинок і напівпровідникових нанокристалів не залишилися поза увагою фізиків, однак їх застосування було б неможливим без розроблення хіміками методів модифікації їхньої поверхні. Спільними зусиллями фізиків і хіміків було створено так звані кон'юговані полімери — макромолекули, яким притаманна не лише електропровідність, але й здатність до колективних ефектів у поглинанні й випромінюванні світла. Запозичення з молекулярної біології принципу самоскладання надмолекулярних структур уможливило суттєве розширення діапазону гібридних наночастинок, що складаються з компонентів, запропонованих неорганічною та органічною хімією, а також хімією полімерів, молекулярною біологією та біоінженерією. Нанотехнологія на основі цього принципу дає змогу створювати нові молекулярні архітектури з величезною точністю і широким діапазоном застосування.

Створення наноструктур може відбуватися двома шляхами. Один із них — це

шлях «від верху до низу», подрібненням частинок більшого розміру. Другий може бути названий шляхом «від низу до верху» і здійснюється з'єднанням молекулярних компонентів. Цей варіант виявився найбільш перспективним, поєднуючи самоскладання зі зшиванням компонентів у реакціях хімічного синтезу. У багатьох випадках це відбувається на платформі наночастинок неорганічного, органічного чи біологічного походження [1, 2].

Водночас спостерігається розвиток біотехнології як наукової і технологічної дисципліни, що ґрунтується на біологічних дослідженнях з використанням матеріалів біологічного походження. Галузями її застосування є передусім сільське господарство, харчова промисловість, медицина та охорона довкілля. Завдяки запиту на створення нових біотехнологій на основі наноматеріалів відбувається взаємне збагачення і переплетіння нанотехнології і біотехнології, що зумовило створення нового напрямку — нанобіотехнології. Таке взаємопроникнення й поєднання двох світів — біомолекул і штучно створених наночастинок — схематично зображено на рис. 1.

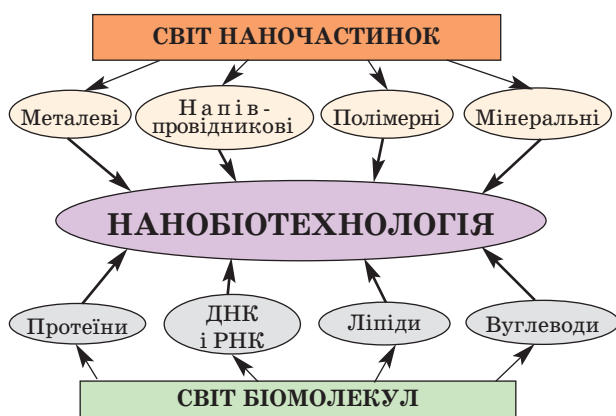


Рис. 1. Взаємодія двох світів — наночастинок і біомолекул — є основою для розвитку нанобіотехнології

Бурхливий розвиток цього напрямку революціонував старі і сприяв створенню нових шляхів для досліджень та розширенню сфер застосування:

- створення нових ліків на основі досліджень взаємодії наночастинок і живих клітин (нанофармакологія);
- доставлення лікарських засобів на рівні цілого організму до клітин-мішеней і їх дозоване вивільнення (нанофармакокінетика);
- використання механізмів прямої дії наночастинок на клітини-мішені (фотодіагностична та гіпотермальна терапія пухлин);
- кількісне визначення речовин, важливих для клінічної діагностики, охорони довкілля та іншого застосування. Аналіз геному і протеому (нанобіосенсорика);
- вивчення взаємодії наночастинок із клітинами. Одержання інформативних зображень живих клітин (наноклітинна біологія);
- візуалізація органів і тканин (нанотомографія);
- ензимні технології на основі наночастинок (наноензимологія);
- концентрація і розділення біосинтетичних молекул (препаративна нанобіотехнологія);
- дослідження негативних впливів наночастинок на живі організми (нанотоксикологія).

У цьому огляді ми намагатимемось висвітлити різні аспекти створення і застосування наночастинок та нанокомпозитів різного походження, будови і призначення.

Будова та властивості наночастинок

Якщо виходити лише з кваліфікації за розміром, наночастинок можуть бути створені з абсолютно різних за складом, походженням і властивостями матеріалів. Проте

лише деякі з них мають перспективу застосування в біотехнологіях. Корові наночастинок (тобто такі, що можуть бути основою для створення функціональних нанокомпозитів) мають, як правило, розмір 1–10 нм. Це відповідає розмірам типових глобулярних протеїнів. Вони значно менші за вірусні частинки (100–200 нм) і, звичайно, за клітини бактерій (~1 μm) та вищих організмів (~10–15 μm). Деякі наноструктури можуть існувати в різних геометричних формах: наносфер, наностержнів, нанопластинок. Наночастинок можна покривати матеріалом іншої природи, що зумовлює різницю властивостей ядра і оболонки. Товщину оболонки, яка може бути багатошаровою, можна контролювати. Таке різноманіття забезпечує широкий вибір для дослідників.

Є повідомлення [3] про створення наноматеріалів на основі діоксиду церію та можливість іммобілізації на поверхні отриманих наночастинок із заданими властивостями біологічно активних молекул. Також розглянуто перспективи використання нанокристалічного діоксиду церію в біології та медицині. Зокрема, завдяки низькій токсичності й високій кисневій нестехіометрії його можна застосовувати для забезпечення антиоксидантного захисту клітин організму шляхом інактивації активних форм кисню.

Водночас експериментально доведено [4] ушкоджувальний вплив порошкових наночастинок аморфного високодисперсного кремнезему на тканини внутрішніх органів, у патогенезі якого суттєва роль належить порушенню прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Таким чином, інгаляційне надходження наночастинок високодисперсного кремнезему (6–7 нм і 54–55 нм) є небезпечним для здоров'я.

Методи хімічної модифікації поверхні багатьох типів наночастинок досить добре розроблено [5]. Це дозволяє створювати нанокомпозити різної форми, розміру і властивостей. При цьому використовують можливості утворення ковалентних зв'язків на поверхні, а також нековалентних взаємодій, що ґрунтуються на гідрофобно-гідрофільному балансі та взаємодії зарядів.

До загальних властивостей наночастинок слід віднести високе співвідношення поверхні та об'єму. Значну кількість атомів і їхніх реактивних груп експоновано на поверхню, що зумовлює підвищену здатність до утворення ковалентних і нековалентних зв'язків. Ефективну поверхню можна додатково збільшити, застосовуючи пористі та сегментарно-мобільні матеріали. Водночас,

жорсткі комплементарні сегменти поверхні можуть забезпечити вибіркове й ефективне самоскладання, потрібне для створення наноконструкцій.

Важливою характеристикою наночастинок є мультивалентність у хімічних модифікаціях. Це дає змогу створювати наноконструкції приєднанням молекул різної будови і в різній кількості [6]. Нижче розглянуто властивості окремих типів наночастинок. Більш детальний їх опис подано в монографії одного з авторів [7].

Напівпровідникові квантові точки

Велику увагу дослідників до цих матеріалів привернули їхні унікальні оптичні властивості, завдяки яким вони можуть бути не лише основою для створення наноконструкцій, але й надавати їм здатності поглинати та випромінювати світло і ставати видимими у флуоресцентному мікроскопі. Квантові точки можуть забарвлювати живі клітини, а створені на їх основі наноконструкції здатні реагувати на певні концентрації аналізованих речовин [8, 9].

Слід зазначити, що унікальні оптичні властивості квантових точок виявляються лише у частинок розміром 1–20 нм і не спостерігаються у частинок більшого розміру. Завдяки ефектам «квантового обмеження» їх електронні переходи відбуваються так само, як і в органічних молекулах між фіксованими енергетичними рівнями. Але, на відміну від органічних барвників, довжина хвилі їх поглинання і випромінювання залежить від їхнього розміру. Зі збільшенням розміру спектри зсуваються у бік великих довжин хвиль [8, 10]. Таким чином, різний колір забарвлення можна одержати з одного й того самого матеріалу, утворюваного різними за розміром фракціями наночастинок.

Багато квантових точок є композитами, сформованими з вузькодисперсних нанокристалів CdSe, покритих шаром у декілька атомів іншого напівпровідникового матеріалу ZnS (рис. 2). Оптичні властивості квантових точок становлять інтерес для різноманітного застосування. Їхній спектр поглинання дуже широкий і дозволяє збуджувати флуоресценцію за будь-якої довжини хвилі, коротшої за положення спектра люмінесценції, а спектр люмінесценції дуже вузький. Саме тому квантові точки мають широкий попит у мікроскопії клітин і в сенсорних технологіях. Вони мають надзвичайно високу яскравість, що визначається добутком молярної абсорбції на квантовий вихід випромінювання.

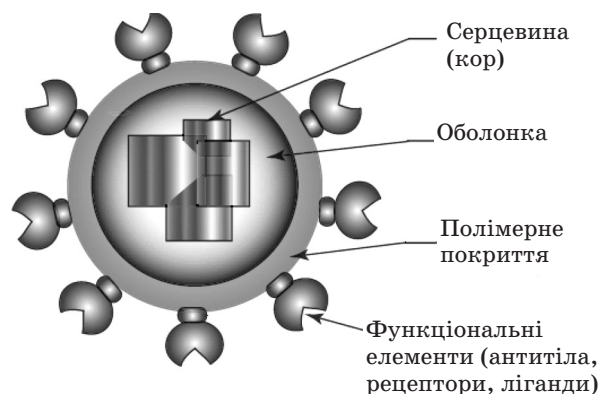


Рис. 2. Типовий наноконструкція з корою квантовою точкою. Схематичне зображення без дотримання масштабу

Цікавим різновидом квантових точок є нанокристали кремнію. Як відомо, кристалічний кремній не здатен до люмінесценції. Проте, в разі зменшення розмірів кристалів до нанометрових, а також у матеріалах з нанометровою пористою поверхнею спостерігається потужна люмінесценція [11]. Такі частинки використовують у мікроскопії клітин.

Зовсім не просто створити функціональні наноконструкції з квантових точок. Маючи гідрофобні поверхні, вони нерозчинні у воді та інших полярних розчинниках, їхню поверхню нелегко модифікувати. Тому значні зусилля дослідників спрямовані на те, щоб зробити їх зручними для хімічних модифікацій [12]. Для цього розроблено декілька методів [13]:

- ковалентні модифікації для утворення на поверхні наночастинок $-NH_2$ -, $-SH$ - та $-COOH$ -груп, які можна застосовувати для приєднання інших молекул;
- створення координатних зв'язків. Зокрема, у випадку ZnS це можуть бути реакції полігістидинів із цинком та тіолів з атомами сірки;
- утворення нековалентних взаємодій, зокрема електростатичної природи, шляхом нанесення шару полімеру на його поверхню. Для цього можуть бути використані й різні амфіфільні молекули, що зв'язуються з наночастинкою гідрофобною поверхнею, експонуючи полярні групи. Це робить її розчинною у воді й доступною для ковалентних модифікацій. Зокрема, із цією метою застосовують каліксарени, модифіковані карбоксильними групами [14].

Спеціально сконструйовані пептиди можуть поєднувати всі три перелічені вище можливості, створивши поверхню для пришивання різних функціонально важливих

молекул. Методи біоінженерії (комбінаторний мутагенез і відбір з бібліотек, утворених спонтанними мутантами) уможливають отримання невеликих пептидів з великою афінністю і селективністю до таких поверхонь [15]. Для клітинних досліджень можуть бути створені поверхні з моношару ліпідів. Для інших завдань розроблено методи покриття квантових точок моношаром оксиду кремнію. Одержаний таким способом наноккомпозит може включати декілька квантових точок різного розміру і відрізнятися від інших композитів своїм багатоконпонентним спектром люмінесценції. Це дає можливість реалізувати дуже специфічне мічення як наносенсорів, так і живих клітин [16].

Наночастинки благородних металів

Існує декілька простих методів одержання наночастинок зі срібла і золота. Такі частинки набули широкого застосування — від мічення молекул і клітин до медичних засобів і платформ для функціональних наносенсорів. Вони інтенсивно поглинають енергію світла, здатні її розсіювати, випромінювати та перетворювати на тепло. Можуть бути ефективними гасіями люмінесценції інших молекул, проте за певних умов здатні її й підсилувати. Природа поглинання ними світла — плазмонна абсорбція, спектри поглинання досить вузькі й лежать у межах ~410 нм для срібла і ~540 нм для золота (у частинок — менше ~10 нм). Ці їхні властивості добре вивчено [17].

Наночастинки золота і срібла одержують відновленням солей у розчинах, для чого застосовують різні методи: хімічні, фотохімічні, електрохімічні та ін. [17–19]. Ці процедури проводять у присутності детергентів. Час реакції та концентрація детергента визначають розмір частинок. Модифікацію їхньої поверхні здійснюють, уводячи в реакційне середовище молекули, що містять SH-групи [20–21]. Моношар, сформований цими реагентами, уможливує проведення їх подальшої ковалентної модифікації з приєднанням функціонально важливих молекул.

Синтетичні полімери і дендримери

Здатність полімерних молекул утворювати наночастинки контрольованого розміру була відома давно. Полістиролові наночастинки (латекси) навіть використовували як стандарти розміру в мікроскопії і методі

розсіяння світла. Зараз техніку одержання наночастинок добре розроблено для різних синтетичних полімерів: полістиролу, поліметилметакрилату, поліакрилової кислоти, полівінілхлориду тощо. Для цього застосовують міні-емульсійну полімеризацію [22]. Міні-емульсії — це спеціально підібрані гетерофазні системи, в яких стабільні нанокраплини однієї фази диспергуються в іншій фазі. Кожна з таких нанокраплинок є по суті нановимірним реактором, де відбувається синтез полімеру. Завдяки такому обмеженню контролюється розмір синтезованих наночастинок. Така техніка дозволяє здійснювати різні реакції полімеризації, зокрема радикальну, аніонну та ензиматичну полімеризацію. Це дає змогу створювати наночастинки довільної композиції, а також включати в них на стадії формування різні органічні чи неорганічні матеріали, наприклад флуоресцентні барвники. Багато можливостей існує для функціоналізації поверхні наночастинок зв'язуванням пептидів, олігонуклеотидів, біотину, що може надавати їм функціональних властивостей.

Нанобіосенсорні технології часто потребують більшого контролю за розміром наночастинок і локалізації доступних для модифікації поверхневих груп, аніж це можуть забезпечити полімерні латекси. У цьому зв'язку увагу дослідників привернули дендримери — унікальні молекули складної симетричної будови із чітко фіксованими масою і розміром. Це розгалужені полімерні структури сферичної форми, що симетрично «розростаються» із центрального гетероциклу в різних напрямках, що й надає їм сферичної форми [23]. Важко повірити, що відносно проста синтетична хімія може створити об'єкти такої складності й краси!

Кожна гілка дендримера може рости шляхом послідовного розгалуження з додаванням нового шару мономерів, створюючи нове «покоління» частинок — макромолекул, де кожна з них має однаковий розмір і однакове число атомів [24] (рис. 3). Найпопулярніші — поліамідоамінодендримери (англ. аббревіатура PAMAM), що є водорозчинними і експонують аміногрупи на своїй поверхні. Внутрішній об'єм дендримерів є сегментарно рухливим, що уможливує створення порожнин, в які включатимуться молекули лікарських засобів і барвників. Враховуючи можливості ефективною і контрольованою модифікацією поверхні, дендримери є придатними для широкого застосування [25].

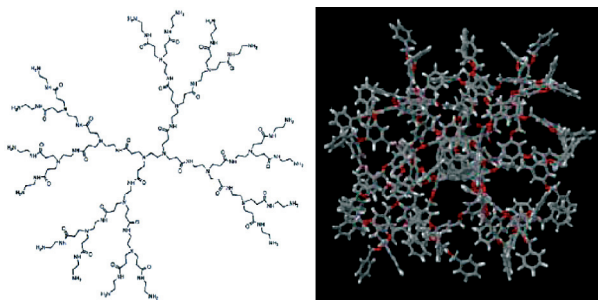


Рис. 3. Дендример поліамідоамін (РАМАМ). Хімічна будова (зліва) і модель структури (справа)

Силікатні наночастинки

Міні-емульсійна полімеризація може бути використана і для синтезу наночастинок неорганічної полімерної природи. Перевага силікатних (SiO_2) наночастинок, так званих «нанопіщинки», перед створеними з органічних полімерів полягає у більшій стабільності їх в органічних розчинниках та за екстремальних значень рН. Вони стійкіші в біологічних середовищах і не руйнуються мікроорганізмами. Перевагою може бути і їхня висока питома маса ($1,96 \text{ г/см}^3$), що дозволяє легко відділяти останні з розчинів шляхом седиментації. Поверхнева модифікація та біокон'югація силікатних наночастинок також не створюють проблем, оскільки реактивні групи можна вводити під час синтезу. У літературі детально описано створення наночастинок з поверхневими аміногрупами [26], що можуть бути використані для кон'югацій. На їх основі можна розробляти різні наноконізати, зокрема з іммобілізованими ензимами.

Негативний заряд поверхні таких частинок може слугувати додатковим фактором стабілізації наноконізатів. Окрім того, в них можна дуже легко вводити органічні барвники [27] і люмінесцентні комплекси металів [28], що робить їх перспективними для оптичного мічення. Багато сенсорних технологій розроблено саме на цій основі [29].

Магнітні наночастинки і наноконізати

Ефективним препаративним прийомом може бути розділення в суспензії наночастинок за допомогою простого магніту. Однак для цього наночастинки мають бути магнітними і містити нанокристали оксидів заліза. Як правило, тут застосовують суперпарамагнітний Fe_3O_4 , що виявляє свої властивості лише за наявності зовнішнього поля [30, 31]. Такі частинки можуть захоплюватись клітинами-мішенями і слугувати для розді-

лення цих клітин. Їх використовують для контрастування локалізації таких клітин, а також судин і новоутворень методом ЯМР-томографії [32]. Проте найдоцільнішим застосуванням є контроль за участю магнітного поля їх руху в живому організмі до тканин-мішеней. Такі технології перебувають на початкових стадіях свого розвитку [33], однак тут очікується суттєвий прогрес.

Створення гібридних наночастинок, що поєднують магнітні та оптичні властивості, становить великий інтерес. Зокрема, вже є повідомлення про синтез гібридних наночастинок, що складються з нанокристалів Fe_3O_4 та CdSe . Вони зберігають як магнітні, так і люмінесцентні властивості [34]. Можливі численні варіанти їх застосування в інших комбінаціях у процесі створення наноконізатів.

У роботі [35] розглянуто основні експериментальні підходи до цілеспрямованого синтезу поверхнево-активних олігопероксидних речовин і їх використання з метою одержання полімерних і гібридних нанорозмірних носіїв, яким притаманна спрямована функціональність та біосумісність. Конструювання нових олігопероксидних сурфактантів, а також їх похідних — координаційних кластерів з катіонами перехідних та рідкоземельних металів є зручним інструментом для синтезу люмінесцентних, магнітних та інших функціональних наноконізатів із регульованим розподілом за розмірами, функціональністю, реактивністю та біосумісністю. Запропоновані методи дозволяють поєднувати стадію формування полімерних, металевих та металооксидних наночастинок зі стадією необоротної модифікації їхньої поверхні функціональними поверхнево-активними олігопероксидами, здатними зв'язувати фізіологічно активні речовини. Функціоналізовані таким чином частинки можуть бути застосовані для біологічних досліджень як поверхневі клітинні маркери, а також для доставлення лікарських препаратів.

Кон'юговані полімери

Відкриття і дослідження цих полімерних молекул було пов'язано з їхніми властивостями як електропровідних полімерів. За результатами досліджень групу дослідників у 1980 році було відзначено Нобелівською премією з хімії. Відкриття унікальних оптичних властивостей цих молекул стало великим стимулом для розроблення надчутливих флуоресцентних сенсорів із широким полем застосування.

Кон'юговані полімери — це полімери з насиченими зв'язками між мономерами, що в їхніх структурах відображено як чергування одинарних і подвійних зв'язків (чи ароматичних груп), унаслідок чого система делокалізованих π -електронів розміщена по всій довжині полімеру [36]. Завдяки такій π -електронній кон'югації між мономерами полімерний ланцюг демонструє колективні ефекти в поглинанні й випромінюванні світла. Хімія цих молекул невпинно розвивається. Для збільшення розчинності у воді в їхню структуру вводять полярні групи, а також групи, що забезпечують міжмолекулярну взаємодію при створенні нанокомпозитів і надання їм векторних та сенсорних функцій. Їх можна використовувати для поверхневої модифікації інших наночастинок [37], а також створювати з них дендримерні структури [38].

Фулерени і вуглецеві нанотрубки

У створенні біонанокомпозитів беруть участь і фулерени. У разі включення в силікатні наноматеріали вони можуть випромінювати інтенсивну флуоресценцію, і це дає можливість застосовувати їх у мікроскопії [39].

Трубочасті структури — це, мабуть, найбільш механічно жорсткі й функціонально багатогранні модулі для побудови нанокомпозитів. Сформовані у вигляді циліндрів, вони мають чітко визначений внутрішній і зовнішній об'єм. Такими є вуглецеві нанотрубки. До гідних уваги властивостей цих структур слід додати здатність до люмінесценції в близькій інфрачервоній ділянці спектра, що може бути використано при конструюванні оптичних сенсорів [40].

Фулеренам притаманні як унікальні фізико-хімічні, так і різноманітні біологічні властивості, а саме: здатність проникати крізь клітинні мембрани та локалізуватись усередині клітини, виявляти антибактеріальні та антивірусні ефекти, впливати на сигнальні системи клітини, на активність окремих ензимів та процеси пероксидного окиснення ліпідів, а також анти- та прооксидантні властивості. Вивчають фізико-хімічні властивості та біодоступність нового класу наносполук — фулеренів C_{60} , способи їх уведення в біологічні системи, токсичність та перспективи використання як біологічно активних сполук [41].

У досліджах на мишах розроблено технологію застосування фулеренів C_{60} у комбінованій терапії з доксорубіцином для лікування злоякісних пухлин і доведено можливість їх використання у протипухлинній терапії [42].

Методи хімічної модифікації вуглецевих нанотрубок для потреб створення нанокомпозитів постійно удосконалюються [43]. У літературі описано створення нанокомпозитів з металевими і напівпровідниковими наночастинами [44].

Вуглецеві нанотрубки взаємодіють з біополімерами. Було виявлено, що одноланцюгова ДНК (ssDNA) взаємодіє з вуглецевими нанотрубками, спонтанно обгортаючи їх під час утворення π -стекингу між нуклеотидними основами і стінками нанотрубок [45]. Уведення в систему комплементарних молекул ДНК розриває цей зв'язок, що може стати підґрунтям для розроблення ДНК-сенсорів [46]. Щодо застосування таких нанотрубок *in vivo*, то існує певна пересторога з огляду на їхню токсичність.

З використанням методу електронного парамагнітного резонансу та спінових уловлювачів встановлено генерацію супероксидних аніон-радикалів опроміненням у видимій і близькій ІЧ-ділянках світла багатостінними вуглецевими нанотрубками, що містились у водній суспензії. Спостерігався ефект самоіндукованої генерації активних форм кисню і після припинення фотоопромінення. Зроблено припущення щодо застосування фотозбуджених багатостінних вуглецевих нанотрубок у фотодинамічній терапії злоякісних пухлин [47].

В одному з останніх оглядів із цієї тематики [48] йдеться про структуру, хімічну функціоналізацію, електронні та механічні властивості вуглецевих нанотрубок і їх практичне використання в нейроінженерії як ефективних субстратів для культивування нейронів, синтезу нейропротекторів та як блокаторів іонних каналів. Дія аміномодифікованих одностінних вуглецевих нанотрубок активує захисні функції нервової тканини щодо ішемічного ушкодження та зменшує ділянки інфаркту міокарда, спричиненого оклюзією середньої мозкової артерії у щурів.

Структури, сформовані пептидами

Здатність пептидного ланцюга формувати тривимірні структури різної складності та функціонального призначення стимулюватиме дослідників ще багато років. Варіації послідовностей, сформованих 20 амінокислотними залишками, дають неосяжну кількість варіантів таких структур. Зокрема, існують пептиди, що здатні самоскладатися, формуючи надмолекулярні трубочасті утворення. Цілком логічним було б використовувати

вати їх як основу наноконструктив [49]. Найбільший інтерес у цьому сенсі становлять циклічні пептиди, сформовані чергуванням L- і D-амінокислот. Такі планарні кільця здатні складатися у стос із внутрішнім вільним об'ємом [50]. Ці структури, прошиті водневими зв'язками, дуже стабільні; їх створення просте і доступне. Нескладним пептидним синтезом і хімічними модифікаціями можна отримувати наноконструкти, де функціональні елементи приєднано в потрібних місцях.

Інший тип наночастинок, сформованих пептидами, створено за принципом амфільності. Послідовне чергування полярних і неполярних амінокислотних залишків призводить до формування структур, подібних до тих, що створюються ліпідами [51]. Є багато можливостей для отримання функціональних молекулярних асоціатів, побудованих за цим принципом.

Третій принцип формування пептидних наночастинок було запозичено з відомих прикладів утворення амілоїдних фібрил при деяких нейродегенеративних хворобах. Такі структури утворюються антипаралельними β -складками. Вони винятково стійкі до змін умов середовища і до розщеплення протеазами [52].

Пептидні структури можуть бути додатково прошиті ковалентними зв'язками. Проте часто в цьому навіть немає потреби, оскільки колективна дія нековалентних взаємодій (електростатичних, гідрофобних і водневих зв'язків) уможливорює створення наноструктур достатньої міцності.

ДНК як матриця для наноконструктив

Попри надзвичайно важливу біологічну роль ДНК і РНК вважаємо за доцільне розглянути оліго- і полінуклеотиди різної довжини як матриці для побудови наноконструктив. Їхня велика перевага полягає у можливості сконструювати композиції зі строго детермінованим розташуванням елементів, що може бути запрограмовано послідовністю основ нуклеїнової кислоти [53]. Прикладом такого підходу може слугувати робота [54], в якій основи дезоксиуридину було модифіковано шляхом приєднання порфіринів. Останні могли включатися специфічно в певні елементи послідовності, дозволяючи приєднання нових її компонентів.

На молекулі ДНК як на наноструктурній матриці відбувається самоскладання наноконструктив складної та навіть ієрархічної

будови, причому може досягатись не лише потрібна послідовність елементів, а й правильна їх просторова орієнтація [55]. Приєднання до довголанцюгової ДНК коротколанцюгових її фрагментів з утворенням сегментів подвійної спіралі дає змогу створити досить складну просторову структуру, а до модифікованих біотином коротких ланцюгів молекул стрептавідину — наноконструкти складної будови. Таким способом фінські дослідники [56] відтворили на супрамолекулярному рівні (розділення ~ 6 нм) національний символ України — тризуб (рис. 4). Оскільки техніку нарощування наноструктур через молекули стрептавідину досить добре розроблено, можливості конструювання таких структур практично необмежені.

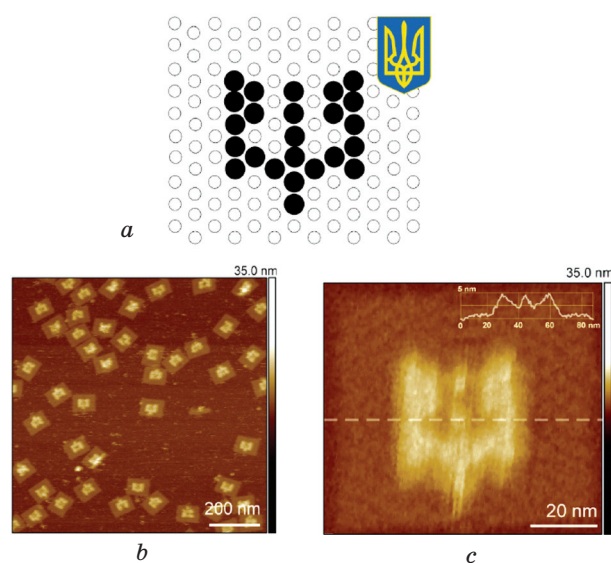


Рис. 4. ДНК із сегментами подвійної спіралі як матриця для контрольованого з'єднання з молекулами стрептавідину:

a — схематичне зображення створюваної структури, що має нагадувати національний символ України — тризуб; *b* — відображення створених структур; *c* — одна зі структур за великого збільшення (показує високу точність складання потрібної структури) [56]

Наночастинки повністю біологічної природи

Використання природних наночастинок на основі спор бактерій, вірусів тощо як основи створення наноконструктив має свої переваги і недоліки. До переваг слід віднести їхню природну однорідність за розміром та можливість чіткого контролю за доступністю поверхневих груп, які можуть бути задіяні для хімічної модифікації і створення структур більшої складності. Компоненти

таких структур можна створювати за допомогою генно-рекомбінантних методів, а їх складання контролювати різними інструментальними засобами. До недоліків слід віднести їхню низьку стабільність до підвищеної температури та дії інших факторів середовища. Їм непритаманні ті надзвичайно корисні властивості металевих чи напівпровідникових наночастинок, що обговорювалися вище. Проте розробки на їх основі тривають. Показано, зокрема, що деякі безпечні для людини віруси можуть специфічно взаємодіяти з раковими клітинами і нести лікарські засоби для їх враження [57]. Різноманітні протеїнові компоненти можуть бути експресовані на поверхні бактеріальних спор [58], що надає їм високої специфічності та розширює можливості застосування.

Створення нанокмполімерів

Хімічний синтез, що є ефективним для малих молекул і лінійних полімерів, має великі обмеження у створенні структур великої складності. Нові рішення потрібні при розробленні гібридних нанокмполімерів з неорганічних, синтезованих органічним синтезом і природних елементів. Тому функціональні наноструктури, як правило, створюють нарощенням і приєднанням готових функціональних блоків.

Самоскладання надмолекулярних систем

Формування наноструктур самоскладанням ґрунтується на принципі комплементарності між партнерами і стабілізації утвореної структури шляхом формування низки нековалентних взаємодій. Завдяки колективному характеру цих взаємодій зв'язок між партнерами може досягати міцності ковалентного зв'язку. Оскільки весь біологічний світ побудований на принципах самоскладання і самоорганізації, цілком логічним є їх використання для створення складних надмолекулярних структур. Електростатичні взаємодії, сольватаційні ефекти (які часто відносять до гідрофобних взаємодій) та водневі зв'язки є основними рушіями в цих процесах. Розглянемо більш детально задіяння водневих зв'язків.

Водневі зв'язки є короткодіючими, односпрямованими і специфічними. З енергією 10–15 кДж/моль ці зв'язки індивідуально дуже слабкі, проте їх колективна дія може сприяти утворенню структур з великою міцністю. Варто нагадати, що саме вони стабілізують α -спіраль у протеїнах і подвійну

спіраль ДНК. Простий димер з утворенням цих зв'язків між донорними (Д) і акцепторними (А) групами типу ААДД вже здатен утворювати досить міцний зв'язок з константою димеризації $5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}$ [59]. Такі модулі можуть бути ефективно використані при самоскладанні. Багато з них описано в літературі й використовується дослідниками [60].

Інший принцип самозбирання — нашарування на наночастинку «шар за шаром» — ґрунтується на електростатичних взаємодіях зарядженої поверхні корої частинки або нижнього шару з полімером, що несе протилежний заряд і нашарується мономолекулярним шаром [61]. Цей принцип може бути також застосовано для створення нанокристалічних композитів [34, 62] та композитів нанокристалічних частинок з кон'югованими полімерами [63].

Серед протеїнових систем, здатність до самоскладання яких використовують у біотехнології, слід назвати S-протеїни. Ці молекули можуть самозбиратись у стабільні двовимірні кристали — S-шари [64]. Кон'югація із цими протеїнами є одним із методів створення нанокмполімерів.

Афінне з'єднання

Багато прикладів реалізації принципу афінного з'єднання дає нам жива природа. Це і взаємодія антиген — антитіло, і утворення волокон фібрину, і взаємодія ензимів з макромолекулярними інгібіторами. Проте в біотехнології найбільш вживаною при створенні міцних міжмолекулярних взаємодій виявилась пара біотин–авідин (або його бактеріальний аналог стрептавідин) [65]. Протеїн авідин було знайдено в білку курячого яйця. Він зв'язує досить малу молекулу біотину (244,31 Da) з унікально високою афінністю (10^{14} – 10^{15} M^{-1}). Це — найвища афінність за нековалентної взаємодії з відомих у хімії та біохімії. Оскільки кожна молекула авідину зв'язує 4 молекули біотину, ця пара має широкі можливості у разі створення надмолекулярних структур. Стрептавідин, що продукується в бактеріях, має підвищену стабільність до коливань рН і температури. Провести афінне з'єднання цієї пари дуже просто. Якщо стрептавідин-мономер з масою 60 kDa є частиною одного з компонентів наноструктури, а біотин зв'язаний з другим, то ці компоненти знаходять один одного в розчині й необоротно зв'язуються.

Той факт, що органічна хімія досі не спромоглася запропонувати заміну авідину

та стрептавідину, виглядає досить дивним, адже в цьому напрямі було багато спроб. Будемо сподіватися, що якась із них виявиться успішною, і біотехнологія одержить продукт, що здатен конкурувати із цими протеїнами за простотою, стабільністю й вартістю.

Покриття наночастинок ліпідним бішаром

Ліпідні бішарові структури, що є основою біомембран, можуть утворюватися спонтанно, формуючи структури із замкненим об'ємом з мінімальним розміром близько 50 нм. Вони дістали назву ліпідних везикул або ліпосом. Запропоновано використовувати їх як носії ліків, проте на заваді цьому постала їхня низька стабільність. Коло їх застосування може бути істотно розширено в разі утворення наноконструктив за принципом ядро-оболонка, де ліпідний бішар відіграє роль оболонки, а ядром можуть слугувати наночастинок різного походження. Приклад утворення такої структури наведено на рис. 5.

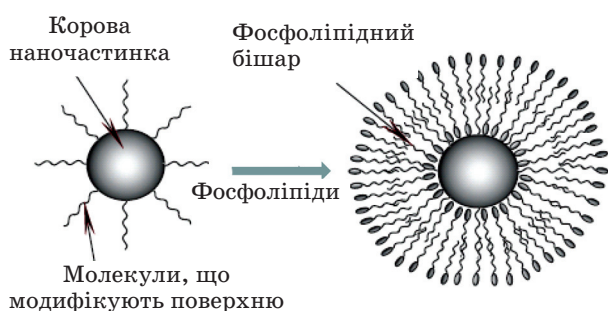


Рис. 5. Схематична ілюстрація самоскладання ліпідного бішару навколо корової наночастинок

Ядро визначає розмір і форму композита і стабілізує цю структуру. Його можна обирати з багатьох варіантів, що зумовлюють його практичне застосування. Так, воно може бути магнітним [66], і це полегшує відокремлення наноконструктив з реакційного чи досліджуваного середовища, або флуоресцентним, що зумовлює їх візуалізацію [67].

Бішарова структура може включати специфічні молекули, що здатні зв'язуватися з певного типу молекулами і клітинами. Наприклад, інтегрований у бішар моносіалогангліозид GM1 здатен специфічно зв'язувати холерний токсин і може бути використаний для його кількісного визначення [68].

Відомі також синтетичні аналоги ліпосом, що дістали назву полімерсом. Їх конструюють із блок-кополімерів з підвищеною

стабільністю [69]. Галуззю їх застосування має бути передусім доставлення лікарських засобів до клітин-мішеней [70].

Пептиди, що специфічно зв'язуються з поверхнею наночастинок

Як відомо, тіолові й сіланові зв'язки домінують як модифікатори поверхні наночастинок із благородних металів і оксидів, відповідно. Проте останнім часом у багатьох роботах пропонують покривати їх протеїнами, пептидами і нуклеїновими кислотами, чим досягається висока афінність з'єднання. Зокрема, для пошуку пептидів, що зв'язуються з наночастинок, здійснюють відбір пептидів з великих бібліотек, створених за допомогою методів генної інженерії [15, 71]. Цікаво, що такі пептиди можуть демонструвати дивовижну вибірковість до певного типу неорганічної поверхні, не зв'язуючись із поверхнями інших типів.

Підсумовуючи викладене в цьому розділі, слід зазначити, що сучасні методи модифікації поверхонь, а також афінного з'єднання і самоскладання супрамолекулярних структур дають дослідникам потужні інструменти для конструювання наноконструктив з потрібними властивостями. Маючи на меті біотехнологічне та біомедичне застосування, дослідник має добре розуміти фізичні й хімічні властивості наноструктур і модифікувати їх відповідно до поставлених завдань.

Біокаталітичні наноконструктиви

Технологічне застосування ензимів має на меті їх використання в умовах, відмінних від тих, у яких вони функціонують у біологічному середовищі. Нанобіотехнологія пропонує нові умови і нові напрями застосування ензимів. Включення ензимів у наноструктури дає змогу не лише підвищити їхню стабільність, але й створити нанореактори з особливими умовами їх функціонування. Адже відомо, що хімічні реакції у нанопросторі відбуваються інакше, ніж у макрооб'ємах [72]. Такі нанопростори можуть бути утворені самоскладанням наноконструктив. На цьому шляху навіть стираються межі між хімічним каталізом і біокаталізом, оскільки реакціями в наноструктурах можна успішно моделювати ензиматичні процеси [73], а спрямований хімічний синтез на наночастинок може створити модель ензиму з бажаною активністю [74].

Імобілізація і коімобілізація ензимів на наночастинках

Імобілізовані ензими вже давно вийшли за межі лабораторних досліджень і міцно увійшли у виробничу практику. Водночас триває пошук носіїв, які б робили імобілізовані ензими максимально ефективними, і наночастинки демонструють тут свої істотні переваги [75]. Окрім великого співвідношення поверхні й об'єму нанорозмірні біокаталітичні системи демонструють й інші гідні уваги властивості: високу рухливість у реакційному середовищі, різноманітні ефекти від наявності нанопор і взаємодій між наночастинками (рис. 6). Також вони забезпечують високу стабільність і оптимізують біокаталіз. Наночастинки на магнітній основі полегшують контроль за перебігом реакцій і спрощують технологічні процеси.

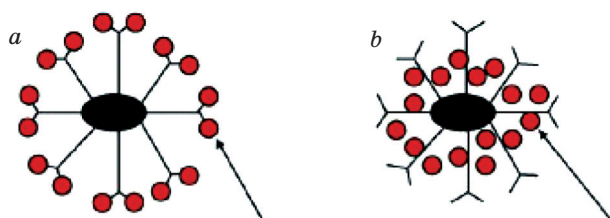


Рис. 6. Два способи включення молекул ліків у дендример: *a* — модифікація поверхні; *b* — нековалентне включення у внутрішній об'єм

До цих переваг можна додати ще одну: імобілізація на наночастинках дає змогу з великою точністю зібрати кластер ензимних молекул, що каталізує каскад біохімічних перетворень. У таких кластерах продукт однієї реакції не дифундує далеко в розчин, а захоплюється іншим ензимом з відповідним перетворенням [76]. Це робить мультиензимні реакції подібними до тих, що відбуваються в живій клітині, і дуже ефективними.

Високої точності самоскладання мультиензимного комплексу можна досягти, використовуючи ДНК як нанорозмірну матрицю. Таку можливість було нещодавно продемонстровано на прикладі імобілізації комплексу з глюкозооксидази і пероксидази з активацією біензимного каскаду реакцій [77].

Обернені міцели як нанореактори

Обернені міцели — це нанометрового розміру молекулярні асоціати з детергентів, що в неполярному розчинникові утворюють полярний внутрішній об'єм, здатний включати ензими разом з їхньою гідратною оболонкою, а також водорозчинні субстрати

і продукти реакцій. У біотехнологічних процесах вони набули широкого застосування для екстракції та розділення протеїнів, а також для проведення реакцій з малорозчинними у воді субстратами, чи таких, де утворюються малорозчинні продукти. Цей напрям і далі активно розвивається [78].

Полімерсоми як наносередовище для біореакцій

Полімерсоми, утворені самоскладанням синтетичних блок-кополімерних молекул, є стабільними наноутвореннями. Завдяки можливості включення в їх внутрішній об'єм сизимів та створення пор для проходження субстратів і продуктів реакцій вони можуть бути ідеальними нанореакторами. Більш того, підбір умов «наносередовища» дозволяє змінити напрямок реакцій — від гідролізу до полімерного синтезу [79].

Технологи вчать у природи не лише компартименталізації каталітичних реакцій, а й створенню умов для перетворення субстратів у каскаді реакцій, де продукт однієї реакції стає субстратом іншої. Як виявилось, міцели і ліпосоми недостатньо стабільні для цього, а полімерсоми підходять ідеально [80].

Прискорення біохімічних реакцій у наноконструкціях

Використання мікрохвиль для прискорення хімічних реакцій має широке коло застосування і навіть зумовило створення спеціальних приладів [81]. Прогрес у біокаталізі скромніший, він обмежений спостереженням зростання активності гіпертермофільних ензимів, що майже неактивні за звичайних умов [82]. Проте останнім часом з'явилися повідомлення, що трипсин, імобілізований на поверхні силікатних мікросфер із включеними магнітними наночастинками, значно підвищує активність за дії мікрохвиль [83]. Утім, відомо, що саме металеві наночастинки здатні, поглинаючи мікрохвильове випромінювання, розігріватися локально, розповсюджуючи нагрів лише на молекулярні відстані й не змінюючи температуру основного середовища. Цим скористалась група дослідників [84], яка домоглася значного прискорення зв'язування аналітів молекулярними сенсорами (зокрема, антитілами), росташованими на поверхні металевих наночастинок. Такий підхід, перенесений на завдання біокаталізу, дасть змогу не лише підсилити дію ензимів, а й управляти нею в широких межах.

Препаративні нанобіотехнології

З розвитком нанобіотехнології такий звичний для кількох поколінь біохіміків метод фракціонування, як колонкова хроматографія, може відійти в минуле. Наноконізати можуть простіше й ефективніше зв'язувати і вилучати певний компонент суміші, а їх регенерація зводиться до простої процедури «у колбі».

Афінна сорбція як метод розділення речовин у суміші невпинно вдосконалюється і використовує як класичні макромолекулярні ліганди, так і нові засоби, зокрема молекулярно-імпринтовані полімери. Це такі полімери, що містять афінні сайти, створені під час їх синтезу в присутності речовини, яку треба виділити або аналізувати. Полімерні ланцюги щільно облягають молекули цієї речовини і створюють максимум взаємодій. Далі речовина видаляється, але ці сайти залишаються. Таку процедуру можна провести з наночастинками таким чином, щоб імпринтований полімер утворився навколо наночастинки [85]. Це може бути магнітна наночастинка [86] чи квантова точка [87]. Важливо, що ця технологія уможливила розроблення сорбентів, здатних до вибіркового зв'язування широкого класу речовин — від малих органічних молекул до вірусів.

Переваги афінних наноконізатів були б неповними, якби вони не забезпечували простіше, швидше й ефективніше виділення потрібних речовин. Тут до класичних методів фільтрації та діалізу додається більш ефективна седиментація і можливість, у разі магнітних частинок, використовувати магнітне поле. Завдяки високій питомій масі багатьох типів наночастинок (наприклад, $1,96 \text{ г/см}^3$ для силікатів і $19,3 \text{ г/см}^3$ для золота) розділення наночастинок із сорбованими на них речовинами на основі седиментації є дуже простим. Ще простішою виглядає процедура для магнітних наночастинок [88]. Після осадження за допомогою гравітаційного чи магнітного поля залишається проста операція видалення адсорбованої речовини і регенерації наноконізатів.

Наноконізати в клітинних дослідженнях

Ця величезна галузь застосування потребує багатопланового системного розгляду. Ми тут зупинимось лише на деяких аспектах. Слід зауважити, що найбільш ефективними в клітинних дослідженнях є методи побудови зображень з оптичною і, зокрема, флуоресцентною відповіддю. Ці методи да-

ють змогу одержати роздільну здатність на рівні сотень нанометрів, тобто того самого порядку або навіть меншого, ніж довжина хвилі світла видимого діапазону (400–750). Специфічні ж електронні властивості наноматеріалів можна спостерігати на шкалі одиниць до десятків нанометрів, і такі наночастинки виглядають у мікроскопі як точкові випромінювачі. Вони на декілька порядків менші, аніж клітини (розмір найменших бактеріальних клітин $\sim 1\,000 \text{ нм}$). Це свідчить про те, що наночастинки і їх конізати цілком придатні для побудови внутрішньоклітинних зображень.

Вище було відзначено унікальні фотофізичні властивості квантових точок і великі переваги їх застосування у складі флуоресцентних наноконізатів. Додатковою перевагою їх у клітинних дослідженнях є досить тривалий час флуоресценції (10–40 нс) — більш ніж на один порядок довший за власну флуоресценцію (свічення клітинних пігментів). Тому таку фонову флуоресценцію відсікти дуже просто в інструментах із часовим виміром [89]. Нова техніка двофотонної мікроскопії [90] також ідеально підходить до квантових точок.

Однак існує ще багато невирішених проблем щодо функціоналізації квантових точок і введення їх у клітину [91]. Ці питання слід вирішувати комплексно, з урахуванням поставлених завдань. Одне із запропонованих рішень полягає у зв'язуванні катіонних пептидів, що проникають у клітину [92].

Контрастні агенти в томографії

Методи візуалізації органів і тканин у клінічних дослідженнях пройшли величезний шлях — від Пулюя і Рентгена до сучасних методів ЯМР-томографії, позитронної емісійної томографії (PET) і комп'ютеризованої рентгенівської томографії. Кожен із цих методів має свої недоліки, і спеціалісти розробляють різні можливі прийоми для їх ефективною комбінації. У такій комбінації наночастинки можуть відігравати вкрай важливу роль, підвищуючи роздільну здатність та інформативність зображень [93]. Особливу надію покладають на наночастинки композиційної структури, які мають задовольнити сучасні вимоги до цих методів з одночасною можливістю їх концентрації в об'єктах дослідження, що досягається шляхом біомодифікацій.

Магнітні наночастинки здатні підсилювати сигнал ЯМР, і їх введення підсилює контраст в ЯМР-томографії [94]. Перше

покоління таких контрастних агентів уже увійшло в клінічну практику [95]. Нанорозмірні частинки можуть включати радіонукліди (зокрема ^{124}I), що потрібно для ПЕТ, і атоми важких металів, які підсилюють контраст в рентгенівській томографії. Вкрай важливими є властивості поверхні таких частинок. Антигіла, лектини чи аптамери на їхній поверхні здатні забезпечити їх зв'язування з певного виду клітинами. Особливого значення ці нові підходи набувають у разі контрастування ракових пухлин.

Як альтернативу поширеним методам томографії можна розглядати флуоресцентну томографію, що має свої недоліки і переваги [96]. До недоліків слід віднести низьку проникність видимого світла в живі тканини, його сильне екранування і розсіяння. Фактично лише вузький діапазон у близькій ІЧ-ділянці спектра (800–1100 нм) доступний для цього методу, що потребує спеціальної апаратури для дослідження. А до потенційних переваг належить висока інформативність методу у відтворенні метаболічних процесів, оскільки введені флуорофори є не контраст-реагентами, а власне генераторами сигналу. Для його реалізації потрібні не лише 3D-сканери з високим просторовим і часовим розділенням та потужні програми обробки даних, а й флуорофори нового покоління. Великі надії тут покладають на квантові точки, оскільки вони мають дуже високу яскравість і здатні до двофотонного поглинання у близькій ІЧ-ділянці з випроміненням у видимому діапазоні, тобто можуть ефективно контрастувати лімфатичні вузли і ракові пухлини. Показано навіть можливість хірургічних операцій під безпосереднім контролем випромінення квантових точок [97].

Підсумовуючи вищенаведене, слід визнати, що жоден із методів томографії не є ідеальним. Для ЯМР-томографії характерні достатнє просторове розділення, але низька чутливість, а для ПЕТ, навпаки, — висока чутливість за низького розділення [98]. Великі проблеми, пов'язані з поглинанням і розсіянням світла, стоять перед флуоресцентною томографією. Тому найбільш перспективною вважають комбінацію з декількох методів, а для цього необхідні багатофункціональні контраст-агенти і репортери [98]. Водночас це потребує створення наноконструкцій складної будови.

Нанофармацевтика та наномедицина

Нанобіотехнологія пропонує методи і продукти, що зумовлюють радикальні зміни в клінічній практиці. Найбільший прог-

рес спостерігається в діагностиці і лікуванні таких хвороб, як рак, інфекційні та нейродегенеративні патології.

Доставлення та контрольоване вивільнення ліків

Переходячи від властивостей наночастинок і наноконструкцій до їх застосування, розглянемо найважливіші з них. Передусім це, безумовно, наноконструкції-транспортери, що дають змогу адресно і дозовано спрямовувати лікарські засоби до клітин живого організму [99]. Як відомо, більшість засобів, використовуваних у сучасній медицині, є малими молекулами з функціями інгібування окремих ензимів, блокування іонних каналів чи модуляції відповіді клітинних рецепторів. До вкрай важливих лікарських засобів належать пептиди і протеїни, зокрема інсулін. І, зрештою, в це коло починає входити ДНК разом з технологіями генної терапії. Їхню ефективність можна поліпшити шляхом просування у двох напрямках: створенням умов для векторного доставлення ліків у клітини ураженої тканини і задіянням механізмів контрольованого вивільнення цих ліків у тканинах-мішенях. Наноконструкції можуть виконувати такі функції і навіть поєднувати їх (рис. 7).

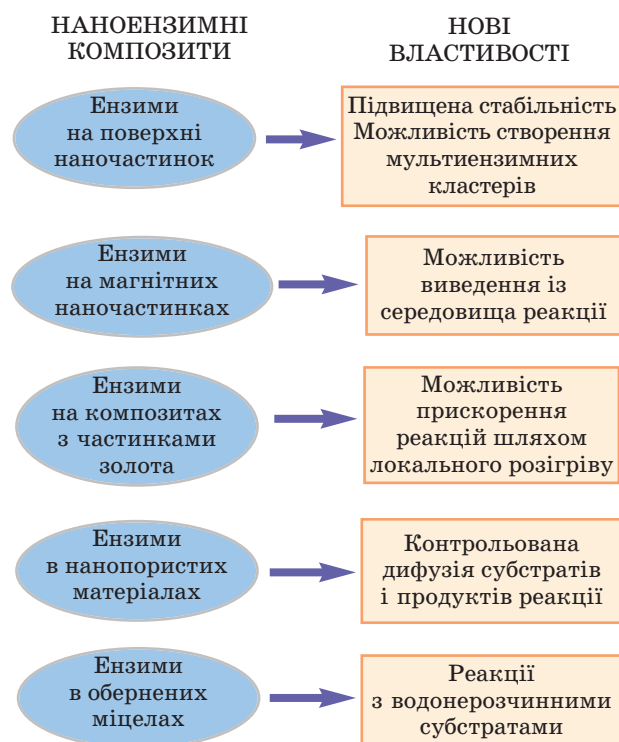


Рис. 7. Ілюстрація нових можливостей в ензимних технологіях

Упродовж багатьох років учені розробляли фармакологічні засоби доставлення ліків на основі ліпосом [100]. Ліпосомні (на основі фосфоліпідів) форми ліків добре засвоюються організмом і дають можливість доставляти до клітин-мішеней молекули різного розміру і полярності, включаючи антитіла. Одержання ліпосомальних лікарських форм досить просте, проте їхня стабільність невисока. Тому багато зусиль було спрямовано на їх стабілізацію, зокрема шляхом нанесення поверхневого шару полімеру (такого, як поліетиленгліколь) і прошивання ковалентними зв'язками [101]. Такі ліпосоми використовують для збільшення ефективності і зниження токсичності водорозчинних антиракових препаратів, і деякі з них вже увійшли в клінічну практику. В ліпосоми легко вбудовуються молекули, споріднені до клітин-мішеней. Успіх і недоліки ліпосомних технологій надихають учених на пошук нових рішень. Для зв'язування, утримування і повільного вивільнення лікарських речовин почали використовувати нанорозмірні частинки полімерних гідрогелів [102] та дендримери [103, 104] (рис. 8).

На зміну ліпосомам приходять полімерсоми — подібні до них структури, сформовані складанням синтетичних полімерів [105]. Хімічний синтез дозволяє контролювати властивості цих блок-кополімерів і їх складання в наноструктури з вільним внут-

рішнім об'ємом для включення ліків та розвиненою поверхнею, що уможливорює проведення різноманітних хімічних модифікацій з метою збільшення ефективності доставлення цих ліків. Розробляються фактори, інтеграція яких в полімерсоми дозволить контролювано вивільняти з них ліки [106].

Великою проблемою під час лікування пухлин мозку, а також нейродегенеративних хвороб є подолання гематоенцефалічного бар'єра, що захищає клітини мозку від чужорідних речовин. Проте, як показує досвід провідних лабораторій, і в цьому разі функціональні наночастинки можуть бути використані як ефективні носії ліків [107].

А чи можна управляти концентруванням ліків у певній тканині організму? Чи можна їх вивільняти з наночастинок імпульсно, у певний час і спосіб? Нанобіотехнологія пропонує оригінальні й ефективні рішення таких складних завдань. Наноконструкт, наповнений ліками, може містити інтегрований центр специфічного зв'язування з клітиною-мішенню, що забезпечить специфіку дії ліків. Додаткові нанокристалічні включення парамагнітних оксидів заліза дозволять концентрувати наноконструкти в певному місці організму за допомогою магнітного поля, а також управляти вивільненням ліків за допомогою локального нагрівання [108]. Термочутливі полімери, у структуру яких включено ліки і які мають температурно-залежний структурний перехід, вивільняють ці ліки у процесі нагрівання [109]. Розробляють також різні варіанти вивільнення лікарських препаратів під дією світла та інших компонентів проникного електромагнітного випромінювання [110]. Іде пошук шляхів до повного управління вивільненням ліків з використанням сигналів зворотного зв'язку від пов'язаних з хворобою змін певних функцій організму, концентрацій метаболітів тощо.

Ці досягнення відкривають нові обрії для клінічної практики. Серед останніх досягнень — таблетки інсуліну, які можна ковтати і які уможливають його поступове вивільнення із шлунково-кишкового тракту в кров'яне русло [111].

Генна терапія передбачає доставлення певних генів у живі клітини, що потребує допоміжних факторів — векторів. Ефективними векторами є віруси; їх широко застосовують у дослідженнях. Проте, існують стійкі упередження щодо використання вірусів у генній терапії, передусім те, що вони токсичні й антигенні. Тому для заміни вірусів активно проводять пошук ліпідних і полімерних



Рис. 8. Поліфункціональні наноконструкти у фармакології та типові носії цих функцій

композицій [112]. У цих спробах синтетичні катіонні ліпіди і водорозчинні нерегулярні катіонні полімери поступаються місцем дендримерам [104]. Маючи високовпорядковану структуру, вони дають змогу здійснювати різноманітні хімічні модифікації, що є перспективним для розпізнавання в генній терапії певного типу клітин. Біфункціоналізовані неорганічні нанокристали також запропоновано для цієї мети [113].

Клітинна терапія

Багато вчених пов'язують майбутній прогрес клінічної медицини з можливостями застосування стовбурових клітин у так званій клітинній терапії хвороб. Насамперед це стосується травматичних станів і дегенеративних патологій [114]. Розвиток цього напрямку неможливий не лише без знання механізмів диференціації цих клітин, а й без інструментів маніпуляції цими клітинами в умовах живого організму. Спрямований рух до потрібних тканин і візуалізація їх місцезнаходження можуть бути здійснені за допомогою включення в них певних наночастинок [115]. Ці проблеми ще далекі від свого розв'язання, проте вважають, що маніпулювання спрямованим рухом може бути здійснено за допомогою інтегрованих у цих клітинах магнітних наночастинок, а їх візуалізація — квантових точок [116].

Кровозамінники

Перші покоління кровозамінників виконували лише одну функцію — запобігти осмотичному шоку за великих втрат крові. Далі з'явилися полімери, що здатні переносити кисень. Розвиток нанобіотехнології дав змогу розробити нові покоління кровозамінників, що здатні не лише переносити кисень і оксид вуглецю, але й бути адекватною заміною еритроцитів. Виконуючи функцію еритроцитів, нанокласти містять під полімерною оболонкою не лише гемоглобін, а й необхідний комплекс еритроцитарних ензимів, зокрема каталазу і супероксид дисмутази, що мають антиоксидантну функцію [117]. Гемоглобін не може бути введений прямо в кров, адже він там легко окиснюється і втрачає гемову групу, а включення в нанокласт разом із комплексом ензимів запобігає цьому процесу. Додаткова перевага таких структур перед донорською кров'ю полягає в тому, що вони не несуть ані антигенів групи крові, ані вірусів [118].

Структуру і властивості таких рукотворних комплексів можна зробити складнішими, включивши додаткові функціональні молекули. Зокрема, існують спроби створення нанокластів, що містять як гемоглобін, так і фібриноген або його пептидний фрагмент [119]. Їх доцільно застосовувати у випадках, коли значна втрата крові вимагає додаткового введення факторів, що забезпечують її зсідання для загоєння ран.

Нанокласти у гіпертермальній і фотодинамічній терапії пухлин

Як відомо, ракові клітини більш чутливі до підвищених температур, ніж нормальні клітини. Було запропоновано різні методи, що використовують цю властивість для терапії раку. Їх розвиток стримувався відсутністю можливостей для локального і дозового нагрівання в місці ураження. Завдяки розвитку нанотехнології з'явилися принципово нові варіанти цих технологій [120]. Зупинимось на двох із них.

Фототермія, що використовує нанокласти з покриттям золотом. Ці класти поглинають світло в близькій інфрачервоній ділянці, там, де м'які тканини організму відносно прозорі. Лазерне випромінювання, сфокусоване на пухлину, спричинює підвищення температури і загибель ракових клітин [121]. Повідомлялося також про успішну термодеструкцію ракових клітин за допомогою включених в ці клітини наночастинок золота за дії випромінювання радіочастотного діапазону [122].

Магнітна гіпертермія з використанням кластів із включенням нанокластів оксидів заліза. Завдяки модифікаціям поверхні вони значно ефективніше захоплюються раковими, ніж нормальними клітинами, а з накладенням магнітного поля розігріваються до температур, що спричинюють їх загибель без руйнації прилеглих нормальних клітин [123]. Більш досконалі нанокласти можуть включати термочутливі полімери, здатні нести хімічні сполуки, такі як лікарські препарати, і вивільнювати їх за термічної дії. Таким чином, на ракову тканину діятиме комплекс деструктивних засобів [124].

Читачі, знайомі з методом фотодинамічної терапії пухлин, можуть легко оцінити переваги цих нових технологій. Фотодинамічна терапія — інший метод фізичної дії на ракові пухлини. В основі його лежить введення в організм певних барвників, що накопичуються в раковій тканині. Під впли-

вом світлового променя в барвникові відбувається фотохімічна реакція, в якій вивільнюється токсичний для клітин синглетний кисень. Підвищенню ефективності цього методу запобігає низька проникність видимого світла в тканини, а зсув поглинання в інфрачервону ділянку знижує енергію електронних переходів у барвнику й унеможлиблює фотохімічний процес. Застосування квантових точок дає змогу радикально змінити технологію фотодинамічної терапії [125]. Завдяки їхній здатності до двофотонного поглинання світла вони можуть збуджуватися в близькій ІЧ-ділянці. Це дозволяє освітлювати тканину в ділянці максимального пропускання світла, а фотодинамічний ефект одержувати у видимій зоні [126]. Додаткова перевага тут також у тому, що двофотонне поглинання світла — це нелінійний процес, що потребує фокусування лазерного променя в дуже малий об'єм, а це суттєво підвищує селективність дії, запобігаючи враженню здорових тканин.

Перспективним вважають використання вуглецевих нанотрубок у протираковій терапії [127]. Оскільки неочищені вуглецеві нанотрубки в суспензії клітин збільшують генерацію активних форм кисню до рівня, що призводить до їх загибелі, а також здатні викликати деструкцію клітин унаслідок гіпертермічного ефекту за дії короткотривалого опромінення у близькому ІЧ- та радіочастотному діапазоні, ці властивості нанотрубок можуть бути застосовані в розробленні методів контрольованого продукування активних форм кисню та фототермії, спрямованих на індукцію окисного стресу та вибірково загибель пухлинних клітин.

Наноматеріали в ортопедичній і стоматологічній практиці

Кісткова тканина є фактично природним нанокомпозитом, що складається з нанокристалів гідроксиапатиту, вбудованих у сформовану з протеїнових фібрил просторову сітку. Тому великі надії покладають на створення нових наноматеріалів, які, маючи аналогічні властивості, могли б слугувати заміниками кісткової тканини або сприяти її утворенню. Сьогоднішні досягнення в цьому напрямі досить скромні, проте вже відомо, що покриття штучними кристалами гідроксиапатиту металевих імплантів запобігає відторгненню і тим самим значно подовжує їх життя [128]. Враховуючи добре розроблену технологію синтезу таких наночастинок [129], можна сподіватися на про-

грес цього застосування. Більш того, вже вдається змоделювати процес біомінералізації і створити нові міцні й біосумісні матеріали [130, 131]. Показано, що вони є не лише біосумісними, але й можуть сприяти регенерації кісткової тканини.

Повідомлялося, що застосування нанокристалічного гідроксиапатиту в стоматологічній практиці сприяє відновленню зубної емалі [132].

Синтетичні вакцини

Традиційно вакцини виготовляють з відповідних патогенів шляхом їх спеціальної обробки (інактивації, фрагментації тощо). Разючі зміни у стратегію створення вакцин внесла нанобіотехнологія. У розробленні синтетичних вакцин використовують наночастинки синтетичних і природних полімерів, що за розміром і формою подібні до вірусів. Широкий набір наночастинок — носіїв антигенів і ад'ювантів може бути використано з метою розроблення вакцин [133, 134]. Епітопи будь-яких патогенів можуть бути легко приєднані до поверхні таких наночастинок, що сприятиме створенню високоспецифічних вакцин. Кон'югація катіонного полімеру з наночастинками золота дає змогу створювати ДНК вакцини [135]. Є повідомлення про створення пептидного нанокомпозита, що нагадує капсид невеликого вірусу. Його експоновані антигенні детермінанти дозволяють одержувати високий титр високоафінних антитіл [136].

Нанотехнології в косметології

Сучасна косметологія потребує створення матеріалів, що здатні проникати в глибокі шари шкіри, несучи біологічно активні компоненти. Як відомо, перше застосування ліпосом було саме в косметичці, і зараз більшість кремів і лосьйонів проти старіння шкіри містять ліпосоми з біологічно активними речовинами. Описані вище методи стабілізації ліпосом не обминули й косметичну індустрію. Для доставлення водонерозчинних інгредієнтів, таких як ретинол і бета-каротин, використовують полімерні нанокапсули [137].

Окремо слід сказати про сонцезахисні креми. Основою багатьох із них є наночастинки оксидів титану (TiO_2) і цинку (ZnO). Вони надійно захищають шкіру від короткохвильового (290–320 нм) ультрафіолетового випромінювання, що викликає запалення і може призвести до раку шкіри.

Цікаво, що у формі наночастинок вони, ефективно розсіюючи світло, не надають шкірі неприємного білого відтінку. Як відомо, такі наночастинок не розчиняються і не деградують у біологічних середовищах. Проте в разі нанесення у вигляді суспензії на шкіру вони не проникають глибоко і не руйнують живі клітини [138].

Застосування нанобіотехнологій у косметичній галузі стає дедалі ширшим. Дослідники не мають права ігнорувати цей величезний ринок, що лише в Європі оцінюється в 10 млрд. євро.

Проблеми захисту інтелектуальної власності

На завершення слід відзначити ще один важливий аспект. Будь-яка галузь, де зароджуються і використовуються нові ідеї, мусить користуватися механізмом захисту цих ідей. Нанобіотехнологія належить до тих галузей, де кожен продукт, що надходить на ринок, має велику наукову складову, і комерційна вартість продукту значною мірою визначається витратами на проведення досліджень. Тому патентний захист інтелектуальної власності має вкрай важливе значення. Патентування і використання патентів є завжди предметом викликів і потрясінь. У нових галузях, таких як нанобіотехнологія, вони загострюються з двох причин: через міждисциплінарний характер розробок і швидкий час їх відмирання під тиском нових технологій. Обговорення цих питань можна знайти в роботах [139, 140], де викладено критерії патентоспроможності нових розробок. Очікують, що впродовж наступних десятиріч нанобіотехнологія і, зокрема, наномедицина пройдуть період «дозрівання», і ліцензійні угоди стануть звичайними явищами, що принеситимуть великі прибутки.

Нанобіотехнологія — це не лише дослідження. Це величезне поле для інвестицій і багатомільярдний фінансовий ринок. Тому для кожного, хто працює в цій галузі, патентна стратегія є необхідною. Інвесторам потрібні не стільки наукові публікації, скільки патенти.

Нанобіотехнологія як галузь науки і технології

У попередніх розділах ми намагалися показати, що нанобіотехнологія, яка виникла на стику двох наукових і практичних дисциплін — нанотехнології та біотехнології,

у свою чергу за своїм предметом, методологією, колом наукових і практичних завдань може бути виділена в окрему галузь. Описуючи властивості наноструктур з біотехнологічним значенням, ми утримувалися від того, аби дати визначення цій новій дисципліні. Однак вважаємо за необхідне зробити це зараз із багатьох причин. По-перше — для стратегічного планування і розвитку програм досліджень. У багатьох країнах схвалені і вже працюють національні наукові програми з нанотехнології, в які нанобіотехнологія входить як окремий розділ. Підтримкою цих досліджень опікуються різні наднаціональні, національні і приватні фонди. Тому важливо знати, підпадають чи не підпадають певні проекти під цю галузь знання. У літературному і патентному пошуку важливо усвідомлювати, в яких класифікаціях такий пошук потрібно здійснювати. І, безумовно, вчені мають розуміти один одного і усвідомлювати свою належність до певної галузі знань.

Визначення нанобіотехнології не може бути зведено до примітивної форми типу «нанобіотехнологія є наукою, яка використовує нанорозмірні частинки», тому що, власне, не розмір, а інші важливі властивості визначають коло пошуку і застосування. З огляду на це вважаємо доречною таку дефініцію: «Нанобіотехнологія — це новонароджена наукова і технологічна дисципліна, що створює нанокompозити за участю матеріалів біологічного походження з новими чи поліпшеними властивостями і використовує їх для вивчення і управління процесами в біологічному середовищі». У цьому синтезі ідей, методів і практичних розробок, що формують нанобіотехнологію, нанотехнологічним аспектом є створення і вивчення властивостей корових наночастинок і їх композитів, а біотехнологічний аспект додається функціоналізацією цих матеріалів під конкретні завдання. Коло застосування нових матеріалів є суто біотехнологічним. Варто наголосити, що саме поліструктурні й багатофункціональні нанокompозити є об'єктами створення, дослідження і застосування, оскільки ані голі наночастинок, ані біологічні макромолекули будь-якої складності не можуть конкурувати з ними. Такі гібридні системи поєднують молекулярно-пізнавальні та каталітичні властивості біомолекул з електронними, оптичними, магнітними і структурно-конденсуючими властивостями наночастинок. Перспективи цього напрямку яскраві й багатообіцяльні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kumart S. A., Khan M. I. Heterofunctional nanomaterials: fabrication, properties and applications in nanobiotechnology // *J. Nan. Nanotechnol.* — 2010. — V. 10, N 7. — P. 4124–4134.
2. Park S., Hamad-Schifferli K. Nanoscale interfaces to biology // *Curr. Opin. Chem. Biol.* — 2010. — V. 14, N 5. — P. 616–622.
3. Щербаків А. Б., Жолобак Н. М., Іванов В. К. Наноматеріали на основі діоксида церія: свойства и перспективи використання в біології и медицині // *Біотехнологія.* — 2011. — Т. 4, № 1. — С. 9–24.
4. Стежка В. А., Леоненко О. Б., Зинченко В. Н. и др. Влияние наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема на систему крови и прооксидантно-антиоксидантное равновесие тканей крыс // Там же. — 2009. — Т. 2, № 2. — С. 86–95.
5. Chi Y. S., Lee J. K., Lee K.-B. et al. Biosurface Organic Chemistry: Interfacial Chemical Reactions for Applications to Nanobiotechnology and Biomedical Sciences // *Bull. Korean Chem. Soc.* — 2005. — V. 26. — P. 361–369.
6. Mulder A., Huskens J., Reinhoudt D. N. Multivalency in supramolecular chemistry and nanofabrication // *Org. Biomol. Chem.* — 2004. — V. 2, N 23. — P. 3409–3424.
7. Demchenko A. P. Introduction to fluorescence sensing. — Amsterdam: Springer Verlag, 2009. — 586 p.
8. Medintz I. L., Uyeda H. T., Goldman E. R., Mattoussi H. Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing // *Nature Materials.* — 2005. — V. 4, N 6. — P. 435–446.
9. Suzuki M., Husimi Y., Komatsu H. et al. Quantum dot FRET biosensors that respond to pH, to proteolytic or nucleolytic cleavage, to DNA synthesis, or to a multiplexing combination // *J. Am. Chem. Soc.* — 2008. — V. 130, N 17. — P. 5720–5725.
10. Medintz I. L., Mattoussi H. Quantum dot-based resonance energy transfer and its growing application in biology // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2009. — V. 11, N 1. — P. 17–45.
11. Veinot J. G. C. Synthesis, surface functionalization, and properties of freestanding silicon nanocrystals // *Chem. Comm.* — 2006. — N 40. — P. 4160–4168.
12. Dubois F., Mahler B., Dubertret B. et al. A versatile strategy for quantum dot ligand exchange // *J. Amer. Chem. Soc.* — 2007. — V. 129, N 3. — P. 482–483.
13. Sapsford K. E., Pons T., Medintz I. L., Mattoussi H. Biosensing with luminescent semiconductor quantum dots // *Sensors.* — 2006. — V. 6, N 8. — P. 925–953.
14. Jin T., Fujii F., Sakata H. et al. Calixarene-coated water-soluble CdSe-ZnS semiconductor quantum dots that are highly fluorescent and stable in aqueous solution // *Chem. Commun.* — 2005. — N 22. — P. 2829–2831.
15. Tamerler C., Sarikaya M. Molecular biomimetics: nanotechnology and bionanotechnology using genetically engineered peptides // *Philos. Transact A Math. Phys. Eng. Sci.* — 2009. — V. 367, N 1894. — P. 1705–1726.
16. Han M. Y., Gao X. H., Su J. Z., Nie S. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules // *Nat. Biotechnol.* — 2001. — V. 19, N 7. — P. 631–635.
17. Burda C., Chen X. B., Narayanan R., El-Sayed M. A. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes // *Chem. Rev.* — 2005. — V. 105, N 4. — P. 1025–1102.
18. Eustis S., El-Sayed M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes // *Chem. Soc. Rev.* — 2006. — V. 35, N 3. — P. 209–217.
19. Демченко О. П., Канюк М. І. Кластери з декількох атомів срібла у флуоресцентних сенсорних технологіях // *Біотехнологія.* — 2011. — Т. 4, № 4. — С. 9–19.
20. Zhang L., Zou B., Dong B. et al. Self-assembled monolayers of new dendron-thiols: manipulation of the patterned surface and wetting properties // *Chem. Commun. (Camb).* — 2001. — N 19. — P. 1906–1907.
21. Hamoudi H., Guo Z., Prato M. et al. On the self assembly of short chain alkanedithiols // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2008. — V. 10, N 45. — P. 6836–6841.
22. Landfester K. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions // *Ann. Rev. Mater. Res.* — 2006. — V. 36. — P. 231–279.
23. Grayson S. M., Frechet J. M. J. Convergent dendrons and dendrimers: from synthesis to applications // *Chem. Rev.* — 2001. — V. 101, N 12. — P. 3819–3867.
24. Gorman C. B., Smith J. C. Structure-property relationships in dendritic encapsulation // *Acc. Chem. Res.* — 2001. — V. 34, N 1. — P. 60–71.
25. Barrett T., Ravizzini G., Choyke P. L., Kobayashi H. Dendrimers in medical nanotechnology // *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* — 2009. — V. 28, N 1. — P. 12–22.
26. Liu S., Zhang H. L., Liu T. C. et al. Optimization of the methods for introduction of amine groups onto the silica nanoparticle surface // *J. Biomed. Mater. Res. A.* — 2007. — V. 80, N 3. — P. 752–757.
27. Liu Y., Lou C., Yang H. et al. Silica nanoparticles as promising drug/gene delivery carriers and fluorescent nano-probes: recent advances // *Curr. Cancer. Drug. Targets.* — 2011. — V. 11, N 2. — P. 156–163.

28. *Lian W., Litherland S. A., Badrane H. et al.* Ultrasensitive detection of biomolecules with fluorescent dye-doped nanoparticles // *Anal. Biochem.* — 2004. — V. 334, N 1. — P. 135–144.
29. *Yao G., Wang L., Wu Y. R. et al.* FloDots: luminescent nanoparticles // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2006. — V. 385, N 3. — P. 518–524.
30. *Frey N. A., Peng S., Cheng K., Sun S.* Magnetic nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in bioimaging and magnetic energy storage // *Chem. Soc. Rev.* — 2009. — V. 38, N 9. — P. 2532–2542.
31. *Gao J., Gu H., Xu B.* Multifunctional magnetic nanoparticles: design, synthesis, and biomedical applications // *Acc. Chem. Res.* — 2009. — V. 42, N 8. — P. 1097–10107.
32. *Xie J., Huang J., Li X. et al.* Iron oxide nanoparticle platform for biomedical applications // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — V. 16, N 10. — P. 1278–1294.
33. *Islam T., Josephson L.* Current state and future applications of active targeting in malignancies using superparamagnetic iron oxide nanoparticles // *Cancer Biomark.* — 2009. — V. 5, N 2. — P. 99–107.
34. *Du G., Liu Z., Wang D. et al.* Characterization of magnetic fluorescence Fe₃O₄/CdSe nanocomposites // *J. Nanosci Nanotechnol.* — 2009. — V. 9, N 2. — P. 1304–1307.
35. *Zaichenko O., Stoika R., Mitina N. et al.* Novel funktional nanoscale composites on the basis of oligoperoxide surfactants: synte-sis and biomedical applications // *Біотехно-логія.* — 2008. — Т. 1, № 1. — С. 86–99.
36. *Hoeben F. J., Jonkheijm P., Meijer E. W., Schenning A. P.* About supramolecular as-semblies of pi-conjugated systems // *Chem. Rev.* — 2005. — V. 105, N 4. — P. 1491–546.
37. *Wosnick J. H., Liao J. H., Swager T. M.* Layer-by-layer poly(phenylene ethynylene) films on silica microspheres for enhanced sen-sory amplification // *Macromol.* — 2005. — V. 38, N 22. — P. 9287–9290.
38. *Zhang L., Feng W.* Dendritic conjugated poly-mers // *Progress in Chemistry.* — 2007. — V. 19, N 2–3. — P. 337–349.
39. *Jeong J., Cho M., Lim Y. T. et al.* Synthesis and characterization of a photoluminescent nanoparticle based on fullerene-silica hybri-dization // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* — 2009. — V. 48, N 29. — P. 5296–5299.
40. *Choi J. H., Strano M. S.* Solvatochromism in single-walled carbon nanotubes // *Appl. Phys. Lett.* — 2007. — V. 90, N 22. — P. 223114.
41. *Матишевська О. П., Прилуцька С. В., Грюн-юк І. І.* Фулерени C₆₀ — біологічно ак-тивні молекули. 1. Фізико-хімічні власти-вості та біодоступність // *Біотехнологія.* — 2010. — Т. 3, № 1. — С. 18–26.
42. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Prylutsky Yu. I. et al.* Comperative stady of antitumor effect of pristine C₆₀ fullerenes and doxorubicin // *Там само.* — 2011. — Т. 4, № 6. — С. 82–87.
43. *Zhang W., Sprafke J. K., Ma M. et al.* Modular functionalization of carbon nanotu-bes and fullerenes // *J. Am. Chem. Soc.* — 2009. — V. 131, N 24. — P. 8446–8454.
44. *Wildgoose G. G., Banks C. E., Compton R. G.* Metal nanoparticles and related materials supported on carbon nanotubes: methods and applications // *Small.* — 2006. — V. 2, N 2. — P. 182–193.
45. *Li Z., Wu Z., Li K.* The high dispersion of DNA-multiwalled carbon nanotubes and their properties // *Anal. Biochem.* — 2009. — V. 387, N 2. — P. 267–270.
46. *Yang R., Jin J., Chen Y. et al.* Carbon Nanotube-Quenched Fluorescent Oligo-nucleotides: Probes that Fluoresce upon Hybridization // *J. Amer. Chem. Soc.* — 2008. — V. 130, N 2. — P. 8351–8358.
47. *Burlaka A. P., Lukin S. M., Prylutska S.V. et al.* Generation of reactive oxygen species by multi-walled carbon nanotubes under light irradiation // *Біотехнологія.* — 2008. — Т. 3, № 4. — С. 62–66.
48. *Ротко Д. М., Прилуцька С. В., Богуцька К. І., Прилуцький Ю. І.* Вуглецеві нанотрубки як новітні матеріали для нейроінженерії // *Там само.* — 2011. — Т. 4, № 5. — С. 9–24.
49. *Gao X. Y., Matsui H.* Peptide-based nano-tubes and their applications in bionanotech-nology // *Adv. Mater.* — 2005. — V. 17, N 17. — P. 2037–2050.
50. *Brea R. J., Vazquez M. E., Mosquera M. et al.* Controlling multiple fluorescent signal out-put in cyclic peptide-based supramolecular systems // *J. Amer. Chem. Soc.* — 2007. — V. 129, N 6. — P. 1653–1657.
51. *Castelletto V., Hamley I. W.* Self assembly of a model amphiphilic phenylalanine peptide/polyethylene glycol block copolymer in aqueous solution // *Biophys. Chem.* — 2009. — V. 141, N 2–3. — P. 169–174.
52. *del Mercato L. L., Pompa P. P., Maruccio G. et al.* Charge transport and intrinsic fluores-cence in amyloid-like fibrils // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 2007. — V. 104, N 46. — P. 18019–18024.
53. *Abu-Salah K. M., Ansari A. A., Alrokayan S. A.* DNA-based applications in nanobiotechnol-ogy // *J. Biomed. Biotechnol.* — 2010. — V. 2010. — P. 715295.
54. *Fendt L. A., Bouamaied I., Thoni S. et al.* DNA as supramolecular scaffold for porphyrin arrays on the nanorner scale // *J. Amer. Chem. Soc.* — 2007. — V. 129, N 49. — P. 15319–15329.
55. *Weizmann Y., Braunschweig A. B., Wilner O. I. et al.* A polycatenated DNA scaffold for the one-step assembly of hierarchical nanostruc-tures // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2008. — V. 105, N 14. — P. 5289–5294.

56. *Kuzyk A., Laitinen K. T., Torma P.* DNA origami as a nanoscale template for protein assembly // *Nanotechnol.* — 2009. — V. 20, N 23. — P. 235305.
57. *Singh P., Destito G., Schneemann A., Manchester M.* Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting // *J. Nanobiotechnol.* — 2006. — V. 4, N2. — Doi: 101186/1477-3155-4-2. — P. 2.
58. *Ricca E., Cutting S. M.* Emerging Applications of Bacterial Spores in Nanobiotechnology // *Ibid.* — 2003. — V. 1, N 1. — P. 6.
59. *Corbin P. S., Lawless L. J., Li Z. T., Ma Y. G. et al.* Discrete and polymeric self-assembled dendrimers: Hydrogen bond-mediated assembly with high stability and high fidelity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — V. 99, N 8. — P. 5099–5104.
60. *Vriezema D. M., Aragones M. C., Elemans J. et al.* Self-assembled nanoreactors // *Chem. Rev.* — 2005. — V. 105, N 4. — P. 1445–1489.
61. *Merrill M. H., Sun C. T.* Fast, simple and efficient assembly of nanolayered materials and devices // *Nanotechnol.* — 2009. — V. 20, N 7. — P. 75606.
62. *Srivastava S., Kotov N. A.* Composite Layer-by-Layer (LBL) assembly with inorganic nanoparticles and nanowires // *Acc. Chem. Res.* — 2008. — V. 41, N 12. — P. 1831–41.
63. *Elbakry A., Zaky A., Liebl R. et al.* Layer-by-layer assembled gold nanoparticles for siRNA delivery // *Nano Lett.* — 2009. — V. 9, N 5. — P. 2059–2064.
64. *Sleytr U. B., Egelseer E. M., Ilk N. et al.* S-Layers as a basic building block in a molecular construction kit // *Febs J.* — 2007. — V. 274, N 2. — P. 323–334.
65. *Wilchek M., Bayer E. A.* The avidin-biotin complex in bioanalytical applications // *Anal. Biochem.* — 1988. — V. 171, N 1. — P. 1–32.
66. *Shinkai M.* Functional magnetic particles for medical application // *J. Bioscience and Bioengineering.* — 2002. — V. 94, N 6. — P. 606–613.
67. *Mornet S., Lambert O., Duguet E., Brisson A.* The formation of supported lipid bilayers on silica nanoparticles revealed by cryoelectron microscopy // *Nano Lett.* — 2005. — V. 5, N 2. — P. 281–285.
68. *Carmona-Ribeiro A. M.* Bilayer vesicles and liposomes as interface agents // *Chem. Soc. Rev.* — 2001. — V. 30, N 4. — P. 241–247.
69. *Discher B. M., Bermudez H., Hammer D. A. et al.* Cross-linked polymersome membranes: Vesicles with broadly adjustable properties // *J. Phys. Chem. B.* — 2002. — V. 106, N 11. — P. 2848–2854.
70. *Mabrouk E., Cuvelier D., Brochard-Wyart F. et al.* Bursting of sensitive polymersomes induced by curling // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2009. — V. 106, N 18. — P. 7294–7298.
71. *Sarikaya M., Tamerler C., Jen A. K. et al.* Molecular biomimetics: nanotechnology through biology // *Nat. Mater.* — 2003. — V. 2, N 9. — P. 577–585.
72. *Koblenz T. S., Wassenaar J., Reek J. N.* Reactivity within a confined self-assembled nanospace // *Chem. Soc. Rev.* — 2008. — V. 37, N 2. — P. 247–262.
73. *Fiedler D., Leung D. H., Bergman R. G., Raymond K. N.* Selective molecular recognition, C-H bond activation, and catalysis in nanoscale reaction vessels // *Acc. Chem. Res.* — 2005. — V. 38, N 4. — P. 349–358.
74. *Huang X., Liu Y., Liang K. et al.* Construction of the active site of glutathione peroxidase on polymer-based nanoparticles // *Biomacromol.* — 2008. — V. 9, N 5. — P. 1467–1473.
75. *Wang P.* Nanoscale biocatalyst systems // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2006. — V. 17, N 6. — P. 574–579.
76. *Wilner O. I., Weizmann Y., Gill R. et al.* Enzyme cascades activated on topologically programmed DNA scaffolds // *Nat. Nanotechnol.* — 2009. — V. 4, N 4. — P. 249–254.
77. *Wilner O. I., Shimron S., Weizmann Y. et al.* Self-assembly of enzymes on DNA scaffolds: en route to biocatalytic cascades and the synthesis of metallic nanowires // *Nano Lett.* — 2009. — V. 9, N 5. — P. 2040–2043.
78. *Tonova K., Lazarova Z.* Reversed micelle solvents as tools of enzyme purification and enzyme-catalyzed conversion // *Biotechnol Adv.* — 2008. — V. 26, N 6. — P. 516–532.
79. *Nallani M., de Hoog H. P., Cornelissen J. J. et al.* Polymersome nanoreactors for enzymatic ring-opening polymerization // *Biomacromol.* — 2007. — V. 8, N 12. — P. 3723–3728.
80. *Vriezema D. M., Garcia P. M., Sancho Oltra N. et al.* Positional assembly of enzymes in polymersome nanoreactors for cascade reactions // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* — 2007. — V. 46, N 39. — P. 7378–7382.
81. *Tokuyama H., Nakamura M.* Acceleration of reaction by microwave irradiation // *J. Synt. Org. Chem. Japan.* — 2005. — V. 63, N 5. — P. 523–538.
82. *Young D. D., Nichols J., Kelly R. M., Deiters A.* Microwave activation of enzymatic catalysis // *J. Am. Chem. Soc.* — 2008. — V. 130, N 31. — P. 10048–10049.
83. *Lin S., Yao G., Qi D. et al.* Fast and efficient proteolysis by microwave-assisted protein digestion using trypsin-immobilized magnetic silica microspheres // *Anal. Chem.* — 2008. — V. 80, N 10. — P. 3655–3665.
84. *Aslan K., Geddes C. D.* New tools for rapid clinical and bioagent diagnostics: microwaves and plasmonic nanostructures // *Analyst.* — 2008. — V. 133, N 11. — P. 1469–1480.
85. *Tokonami S., Shügi H., Nagaoka T.* Review: micro- and nanosized molecularly imprinted polymers for

- high-throughput analytical applications // *Anal. Chim. Acta.* — 2009. — V. 641, N 1–2. — P. 7–13.
86. Wang X., Wang L., He X. et al. A molecularly imprinted polymer-coated nanocomposite of magnetic nanoparticles for estrone recognition // *Talanta.* — 2009. — V. 78, N 2. — P. 327–332.
87. Lin H. Y., Ho M. S., Lee M. H. Instant formation of molecularly imprinted poly(ethylene-co-vinyl alcohol)/quantum dot composite nanoparticles and their use in one-pot urinalysis // *Biosens. Bioelectron.* — 2009. — V. 25, N 3. — P. 579–586.
88. Li L., He X., Chen L., Zhang Y. Preparation of core-shell magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for recognition of bovine hemoglobin // *Chem. Asian. J.* — 2009. — V. 4, N 2. — P. 286–293.
89. Hanley Q. S., Arndt-Jovin D. J., Jovin T. M. Spectrally resolved fluorescence lifetime imaging spectroscopy // *Appl. Spectrosc.* — 2002. — V. 56. — P. 155–156.
90. Quentmeier S., Denicke S., Gericke K. H. Two-Color Two-Photon Fluorescence Laser Scanning Microscopy // *J. Fluoresc.* — 2009. — V. 19, N 6. — P. 1037–1043.
91. Biju V., Itoh T., Ishikawa M. Delivering quantum dots to cells: bioconjugated quantum dots for targeted and nonspecific extracellular and intracellular imaging // *Chem. Soc. Rev.* — 2010. — V. 39, N 8. — P. 3031–3056.
92. Delehanty J. B., Medintz I. L., Pons T. et al. Self-assembled quantum dot-peptide bioconjugates for selective intracellular delivery // *Biocon. Chem.* — 2006. — V. 17, N 4. — P. 920–927.
93. Cheon J., Lee J. H. Synergistically integrated nanoparticles as multimodal probes for nanobiotechnology // *Acc. Chem. Res.* — 2008. — V. 41, N 12. — P. 1630–1640.
94. Sun C., Lee J. S., Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* — 2008. — V. 60, N 11. — P. 1252–1265.
95. Sosnovik D. E., Nahrendorf M., Weissleder R. Magnetic nanoparticles for MR imaging: agents, techniques and cardiovascular applications // *Basic. Res. Cardiol.* — 2008. — V. 103, N 2. — P. 122–130.
96. Bakalova R., Zhelev Z., Gadjeva V. Quantum dots versus organic fluorophores in fluorescent deep-tissue imaging—merits and demerits // *Gen. Physiol. Biophys.* — 2008. — V. 27, N 4. — P. 231–242.
97. Kim S., Lim Y. T., Soltesz E. G. et al. Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping // *Nat. Biotechnol.* — 2004. — V. 22, N 1. — P. 93–97.
98. Jennings L. E., Long N. J. ‘Two is better than one’—probes for dual-modality molecular imaging // *Chem. Commun. (Camb).* — 2009. — N 24. — P. 3511–3524.
99. Lee P. Y., Wong K. K. Nanomedicine: a new frontier in cancer therapeutics // *Curr. Drug. Deliv.* — 2011. — V. 8, N 3. — P. 245–253.
100. Samad A., Sultana Y., Aqil M. Liposomal drug delivery systems: an update review // *Ibid.* — 2007. — V. 4, N 4. — P. 297–305.
101. Sarker D. K. Sculpted amphiphilic liposomal particles for modifiable medicinal applications // *Curr. Drug. Discov. Technol.* — 2009. — V. 6, N 1. — P. 52–58.
102. Hamidi M., Azadi A., Rafiei P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* — 2008. — V. 60, N 15. — P. 1638–1649.
103. Paleos C. M., Tsiourvas D., Sideratou Z. Molecular engineering of dendritic polymers and their application as drug and gene delivery systems // *Mol. Pharm.* — 2007. — V. 4, N 2. — P. 169–188.
104. Paleos C. M., Tziveleka L. A., Sideratou Z., Tsiourvas D. Gene delivery using functional dendritic polymers // *Expert. Opin. Drug. Deliv.* — 2009. — V. 6, N 1. — P. 27–38.
105. Levine D. H., Ghoroghchian P. P., Freudenberg J. et al. Polymersomes: a new multi-functional tool for cancer diagnosis and therapy // *Methods.* — 2008. — V. 46, N 1. — P. 25–32.
106. Christian D. A., Cai S., Bowen D. M. et al. Polymersome carriers: from self-assembly to siRNA and protein therapeutics // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* — 2009. — V. 71, N 3. — P. 463–474.
107. Patel M. M., Goyal B. R., Bhadada S. V. et al. Getting into the brain: approaches to enhance brain drug delivery // *CNS Drugs.* — 2009. — V. 23, N 1. — P. 35–58.
108. Mart R. J., Liem K. P., Webb S. J. Magnetically-controlled release from hydrogel-supported vesicle assemblies // *Chem. Commun. (Camb).* — 2009. — N 17. — P. 2287–2289.
109. Brazel C. S. Magnetothermally-responsive nanomaterials: combining magnetic nanostructures and thermally-sensitive polymers for triggered drug release // *Pharm. Res.* — 2009. — V. 26, N 3. — P. 644–656.
110. Alvarez-Lorenzo C., Bromberg L., Concheiro A. Light-sensitive Intelligent Drug Delivery Systems // *Photochem. Photobiol.* — 2009. — V. 85, N 4. — P. 848–860.
111. Woitiski C. B., Veiga F., Ribeiro A., Neufeld R. Design for optimization of nanoparticles integrating biomaterials for orally dosed insulin // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* — 2009. — V. 73, N 1. — P. 25–33.
112. Mintzer M. A., Simanek E. E. Nonviral vectors for gene delivery // *Chem. Rev.* — 2009. — V. 109, N 2. — P. 259–302.
113. Chowdhury E. H. Self-assembly of DNA and cell-adhesive proteins onto pH-sensitive inorganic crystals for precise and efficient transgene delivery // *Curr. Pharm. Des.* — 2008. — V. 14, N 22. — P. 2212–2228.
114. Engel E., Michiardi A., Navarro M. et al. Nanotechnology in regenerative medicine:

- the materials side // Trends Biotechnol. — 2008. — V. 26, N 1. — P. 39–47.
115. *Solanki A., Kim J. D., Lee K. B.* Nanotechnology for regenerative medicine: nanomaterials for stem cell imaging // Nanomed. — 2008. — V. 3, N 4. — P. 567–578.
116. *Ferreira L., Karp J. M., Nobre L., Langer R.* New opportunities: the use of nanotechnologies to manipulate and track stem cells // Cell. Stem. Cell. — 2008. — V. 3, N 2. — P. 136–146.
117. *Chang T. M.* Blood substitutes based on nanobiotechnology // Trends Biotechnol. — 2006. — V. 24, N 8. — P. 372–377.
118. *Chang T. M.* Blood replacement with nanobiotechnologically engineered hemoglobin and hemoglobin nanocapsules // Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol. — 2010. — V. 2, N 4. — P. 418–430.
119. *Okamura Y., Takeoka S., Eto K. et al.* Development of fibrinogen gamma-chain peptide-coated, adenosine diphosphate-encapsulated liposomes as a synthetic platelet substitute // J. Thromb. Haemost. — 2009. — V. 7, N 3. — P. 470–477.
120. *Jain K. K.* Advances in the field of nanoncology // BMC Med. — 2010. — V. 8. — P. 83.
121. *Terentyuk G. S., Maslyakova G. N., Suleymanova L. V. et al.* Laser-induced tissue hyperthermia mediated by gold nanoparticles: toward cancer phototherapy // J. Biomed. Opt. — 2009. — V. 14, N 2. — P. 021016.
122. *Gannon C. J., Patra C. R., Bhattacharya R. et al.* Intracellular gold nanoparticles enhance non-invasive radiofrequency thermal destruction of human gastrointestinal cancer cells // J. Nanobiotechnol. — 2008. — doi: 10.1186/1477-3155-6-2.
123. *Tseng H. Y., Lee G. B., Lee C. Y. et al.* Localised heating of tumours utilising injectable magnetic nanoparticles for hyperthermia cancer therapy // IET Nanobiotechnol. — 2009. — V. 3, N 2. — P. 46.
124. *Gazeau F., Levy M., Wilhelm C.* Optimizing magnetic nanoparticle design for nanothermotherapy // Nanomed. — 2008. — V. 3, N 6. — P. 831–844.
125. *Juzenas P., Chen W., Sun Y. P. et al.* Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer // Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2008. — V. 60, N 15. — P. 1600–1614.
126. *Dayal S., Burda C.* Semiconductor quantum dots as two-photon sensitizers // J. Am. Chem. Soc. — 2008. — V. 130, N 10. — P. 2890–2891.
127. *Прилуцька С. В., Ременяк О. В., Бурлака А. П., Прилуцький Ю. І.* Перспективи використання вуглецевих нанотрубок у протираковій терапії // Онкологія. — 2010. — Т. 12, № 1, — С. 5–9.
128. *Christenson E. M., Anseth K. S., van den Beucken J. J. et al.* Nanobiomaterial applications in orthopedics // J. Orthop. Res. — 2007. — V. 25, N 1. — P. 11–22.
129. *Gomes P. J., Silva V. M., Quadros P. A. et al.* A highly reproducible continuous process for hydroxyapatite nanoparticles synthesis // J. Nanosci. Nanotechnol. — 2009. — V. 9, N 6. — P. 3387–3395.
130. *Nayar S., Sinha M. K., Basu D., Sinha A.* Synthesis and sintering of biomimetic hydroxyapatite nanoparticles for biomedical applications // J. Mater. Sci. Mater. Med. — 2006. — V. 17, N 11. — P. 1063–1068.
131. *Zhang E., Zou C.* Porous titanium and silicon-substituted hydroxyapatite biomodification prepared by a biomimetic process: characterization and *in vivo* evaluation // Acta Biomater. — 2009. — V. 5, N 5. — P. 1732–1741.
132. *Huang S. B., Gao S. S., Yu H. Y.* Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion *in vitro* // Biomed Mater. — 2009. — V. 4, N 3. — P. 34104.
133. *Peek L. J., Middaugh C. R., Berkland C.* Nanotechnology in vaccine delivery // Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2008. — V. 60, N 8. — P. 915–928.
134. *Shahiwala A., Vyas T. K., Amiji M. M.* Nanocarriers for systemic and mucosal vaccine delivery // Recent. Pat. Drug. Deliv. Formul. — 2007. — V. 1, N 1. — P. 1–9.
135. *Zhou X., Zhang X., Yu X. et al.* The effect of conjugation to gold nanoparticles on the ability of low molecular weight chitosan to transfer DNA vaccine // Biomaterials. — 2008. — V. 29, N 1. — P. 111–117.
136. *Scheerlinck J. P., Greenwood D. L.* Virus-sized vaccine delivery systems // Drug. Discov. Today. — 2008. — V. 13, N 19–20. — P. 882–887.
137. *Choi M. J., Maibach H. I.* Liposomes and niosomes as topical drug delivery systems // Skin. Pharmacol. Physiol. — 2005. — V. 18, N 5. — P. 209–219.
138. *Nohynek G. J., Lademann J., Ribaud C., Roberts M. S.* Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety // Crit. Rev. Toxicol. — 2007. — V. 37, N 3. — P. 251–277.
139. *Bawa R.* Patents and nanomedicine // Nanomed. — 2007. — V. 2, N 3. — P. 351–374.
140. *Bawa R., Bawa S. R., Maebius S. B. et al.* Protecting new ideas and inventions in nanomedicine with patents // Nanomedicine. — 2005. — V. 1, N 2. — P. 150–158.

**НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ:
ПУТЬ В НОВЫЙ МИКРОМИР,
СОЗДАННЫЙ СИНТЕЗОМ ХИМИИ
И БИОЛОГИИ**

*А. П. Демченко
В. И. Назаренко*

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев

E-mail: alexdem@ukr.net

Частицы размером 1–100 нм и композиты из молекул и таких частиц неорганической, органической и биологической природы обладают уникальными свойствами, которые не свойственны другим материалам, поэтому их применение обуславливает революционные изменения в существующих технологиях и создание новых. В обзоре описаны строение и свойства таких нанокompозитов, а также их разнообразное биотехнологическое применение. Обсуждаются новые возможности для исследований и применение в промышленной энзимологии, связанные с включением энзимов в наноструктуры. Новейшие технологии охватывают и сферу здравоохранения, что способствовало возникновению нанофармакологии и наномедицины. Здесь впервые появились возможности для контролируемой доставки и высвобождения лекарств в клетках-мишенях. Рассмотрена также проблема патентной защиты новых идей в этой области.

Предложено развернутое определение новой науки нанобиотехнологии.

Ключевые слова: нанобиотехнология, наночастицы, самосборка, нанокompозиты, наноматериалы в медицине, наноэнзимология.

**NANOBIOTECHNOLOGY:
THE ROUTE TO NEW MICROWORLD
CREATED BY SYNTHESIS OF CHEMISTRY
AND BIOLOGY**

*A. P. Demchenko
V. I. Nazarenko*

Palladian Institute of Biochemistry,
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

E-mail: alexdem@ukr.net

The particles of 1–100 nm in size and the composites of molecules and these particles of inorganic, organic and biological nature possess unique properties that cannot be attributed to other materials. Their application induces revolutionary changes in existing technologies and creation of new technologies. In this review we analyze the properties of such nanocomposites in relation to their structure and also their versatile applications in biotechnology. We discuss different possibilities for research and development in industrial enzymology that appear due to inclusion of enzymes into nanostructures. Revolutionary new technologies came to the healthcare and brought generation of nanopharmacology and nanomedicine. Here, for the first time the possibilities appeared for controlled targeted delivery of drugs and their controlled release in target cells. We also discuss the problem of patent protection of new ideas in this area.

Expanded definition of nanotechnology is proposed.

Key words: nanobiotechnology, nanoparticles, self-assembly, nanocomposites, nanomaterials for medicine, nanoenzymology.