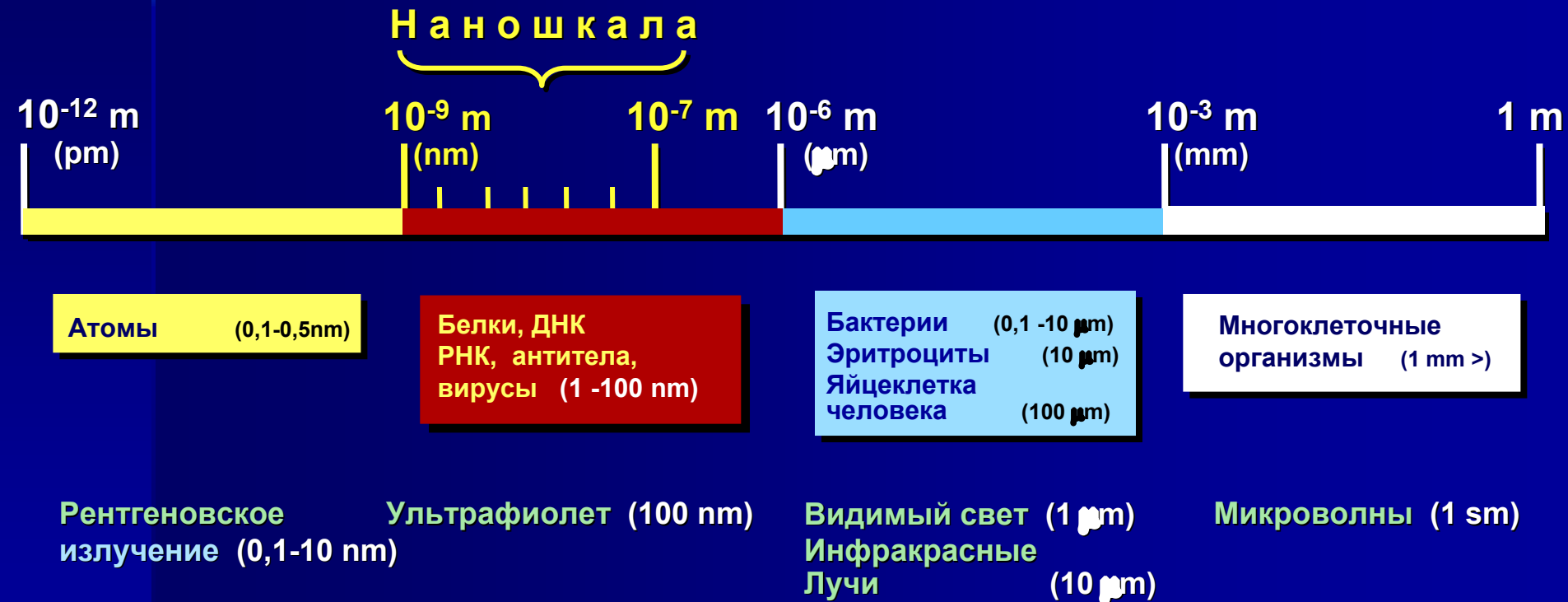


# Наномедицина:

применение макромолекул и наночастиц для диагностики и лечения болезней, а также репарации поврежденных тканей (*National Institutes of Health, USA*)



# Нанотехнологии в медицине

```
graph TD; A[Нанотехнологии в медицине] --> B[Высокочувствительное определение биомаркеров]; A --> C[Создание нанороботов]; A --> D[Визуализация патологических процессов в организме]; A --> E[Разработка систем адресной доставки лекарственных веществ];
```

## Высокочувствительное определение биомаркеров

(ДНК, белки, метаболиты)

в целях диагностики заболеваний и контроля за процессом лечения

## Создание нанороботов

для коррекции клеточных и молекулярных дефектов в организме

## Визуализация патологических процессов в организме

с помощью селективных контрастных агентов на основе наночастиц

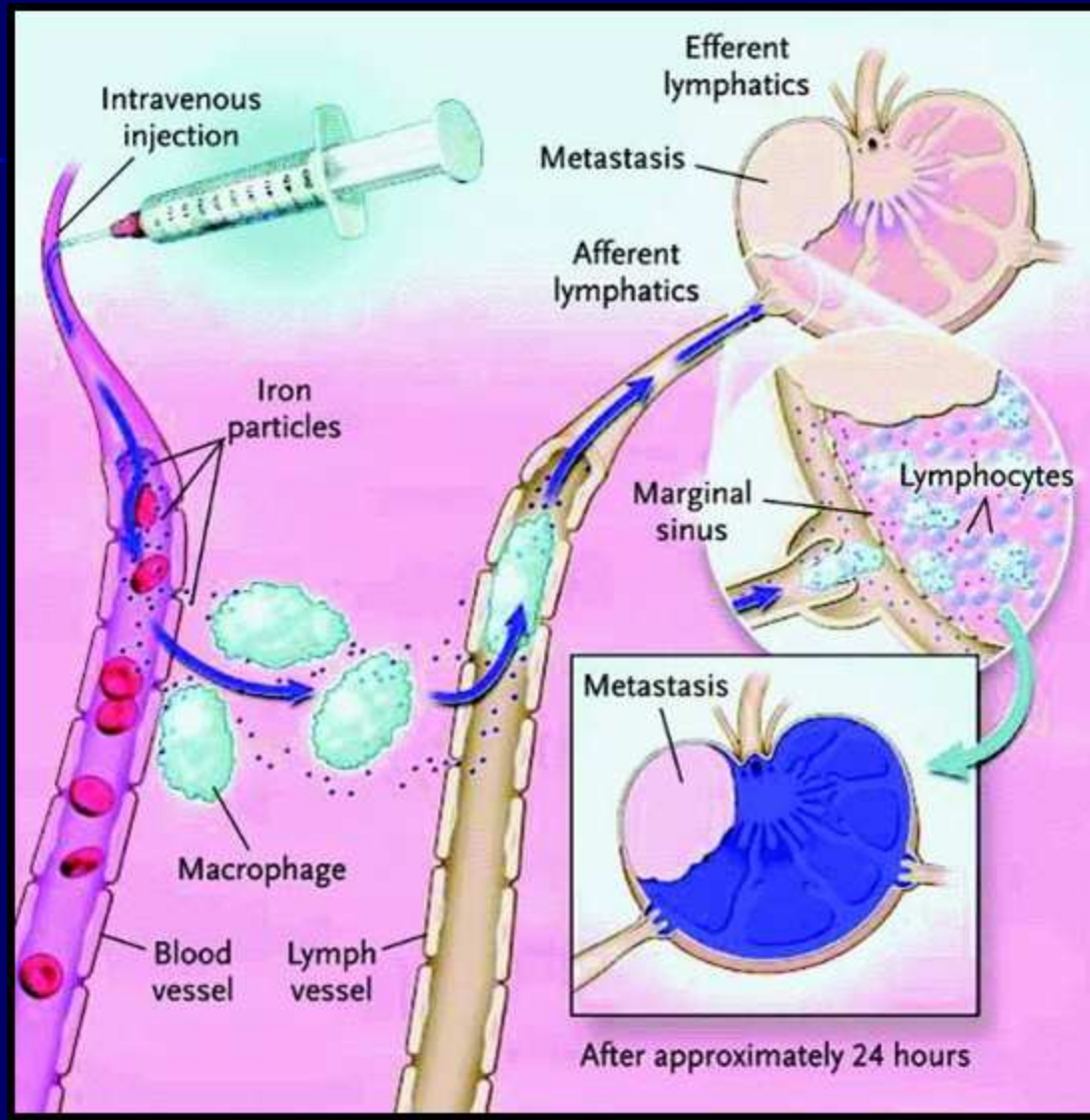
## Разработка систем адресной доставки лекарственных веществ,

генов и белков в клетки и ткани с помощью наночастиц, вирусных частиц, липосом и молекулярных моторов

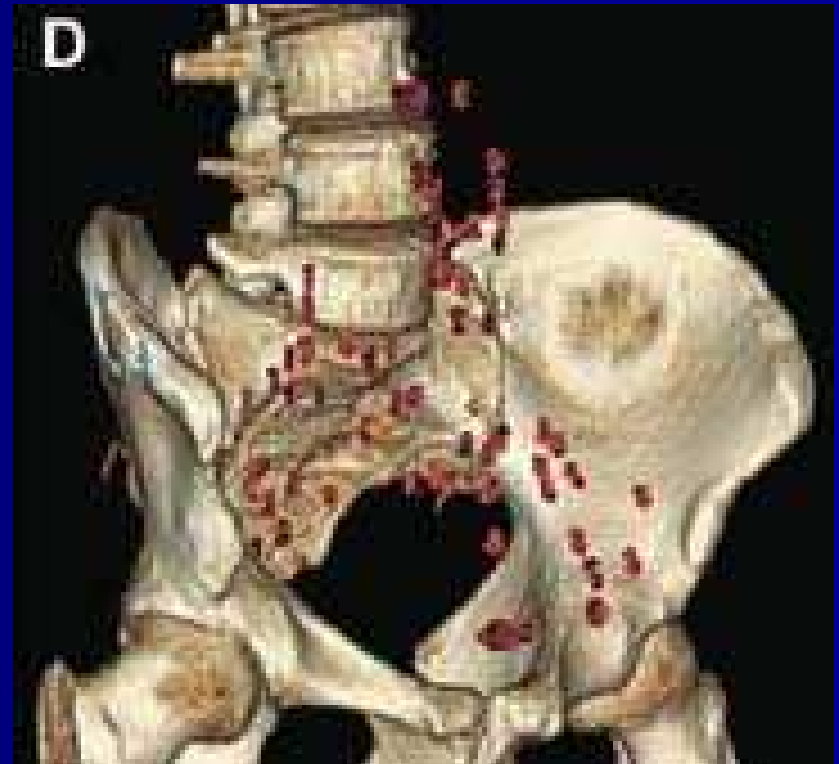
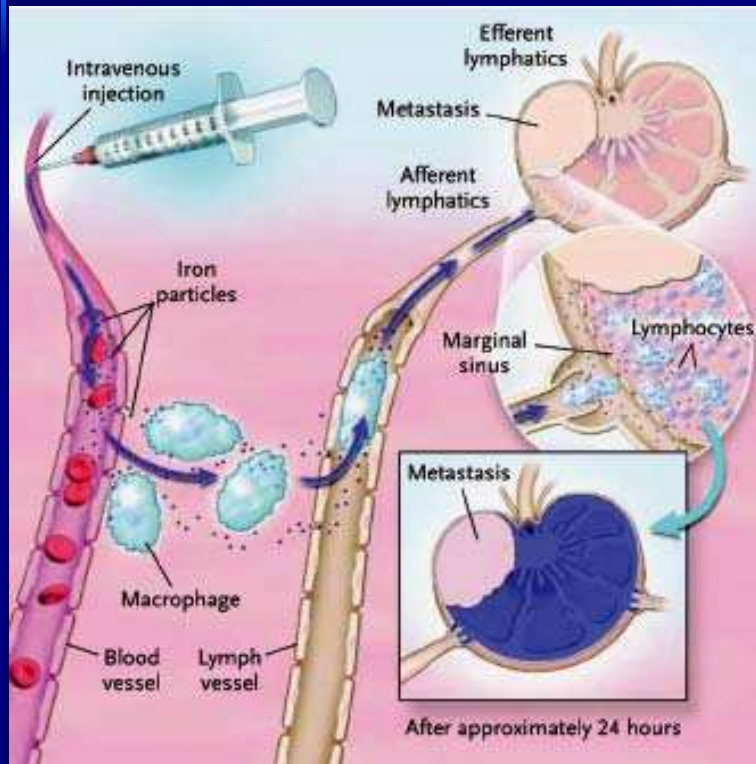
# Применение нанотехнологий для визуализации в медицине

<b>Наночастицы</b>	<b>Область применения</b>	<b>Характеристики</b>
<b>Квантовые точки</b>	<b>Флуоресцентные метки для живых клеток, рецепторов, раковых маркеров</b>	<b>Полупроводниковые нанокристаллы с задаваемым спектром эмиссии</b>
<b>Магнитные наночастицы</b>	<b>Определение ДНК, белков, вирусов, контрастные агенты для МРТ</b>	<b>Содержат суперпарамагнитное кристаллическое ядро из оксида железа</b>
<b>«Перешитые» наночастицы оксида железа</b>	<b>Определение раковых маркеров, визуализация внутричерепных опухолей</b>	<b>«Перешитая» поверхность наночастиц легче модифицируется антителами</b>

# Наночастицы позволяют выявлять метастазы в лимфоузлах

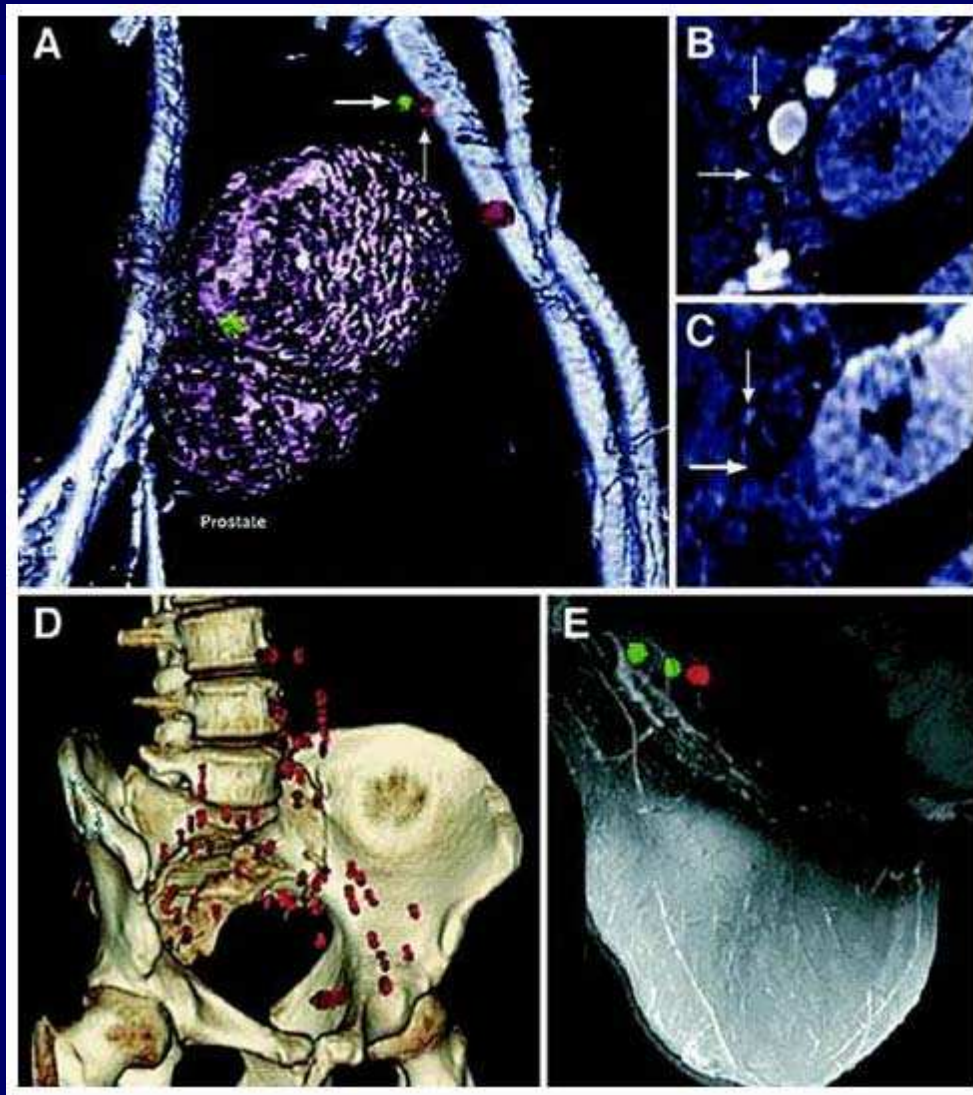


# Металлические наночастицы для выявления метастаз методом ЯМР



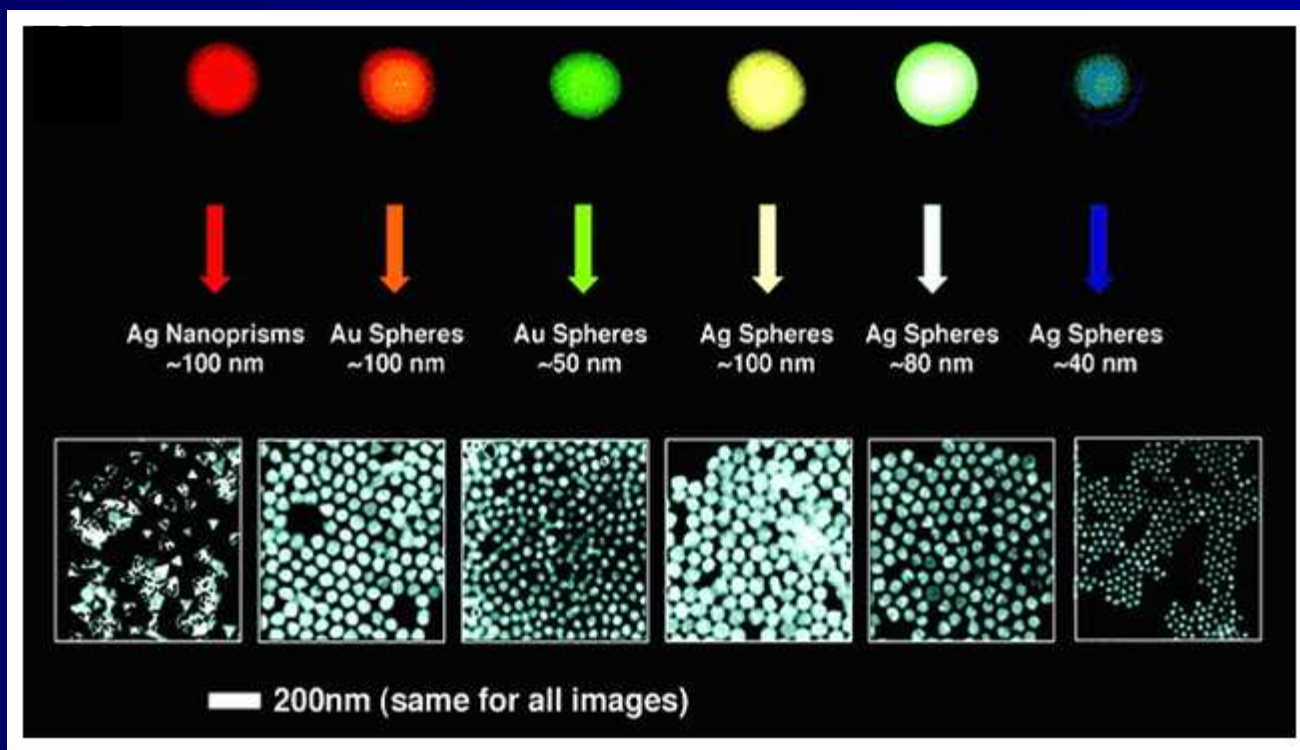


# Визуализация метастазов в лимфоузлах при раке простаты с помощью лимфотропных наночастиц и магнитно-резонансной томографии

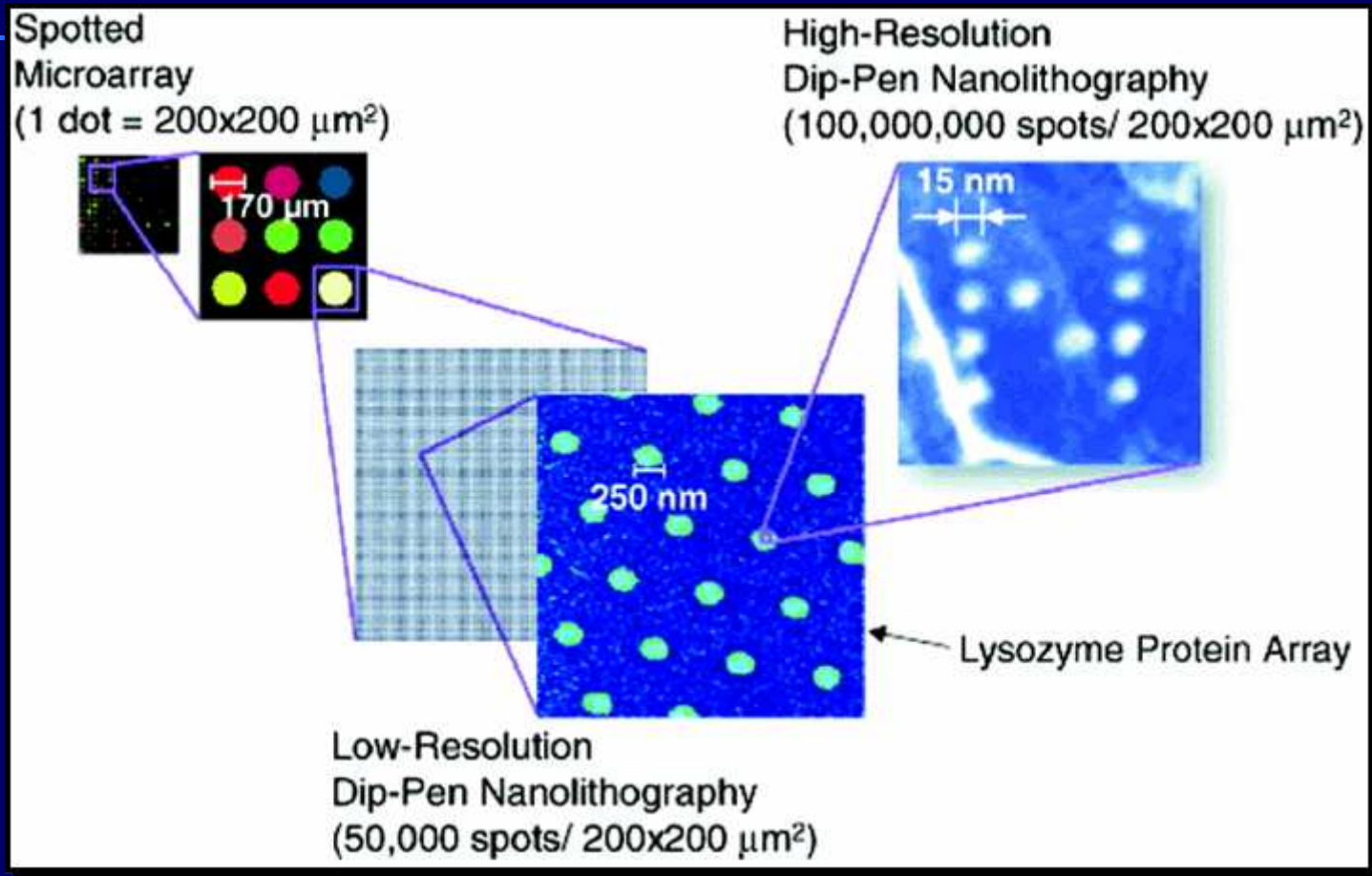


*Jaffer FA , Weissleder R.  
JAMA293:855–862,2005.*

# Применение полупроводниковых нанокристаллов (квантовых точек) и металлических нанокристаллов для создания систем мультиплексного анализа (наночипов)

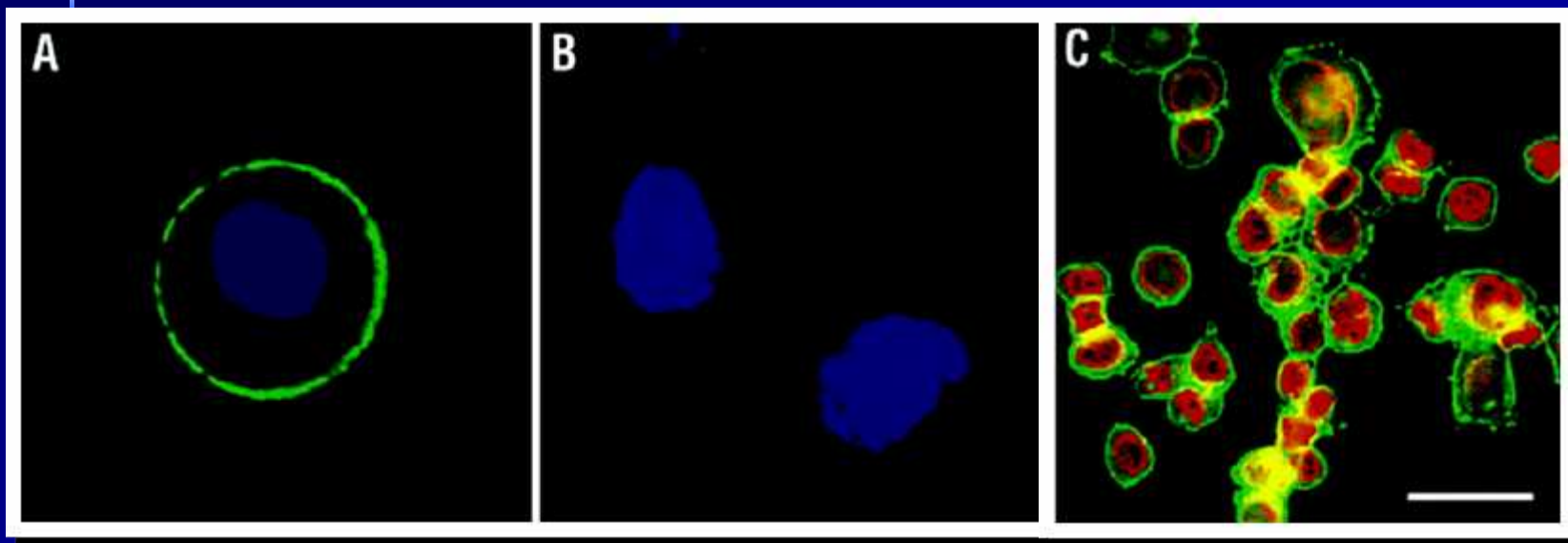


# Наночиповая технология позволяет генерировать 100 миллионов точек на той же площади, которую занимает одна точка в микрочипе

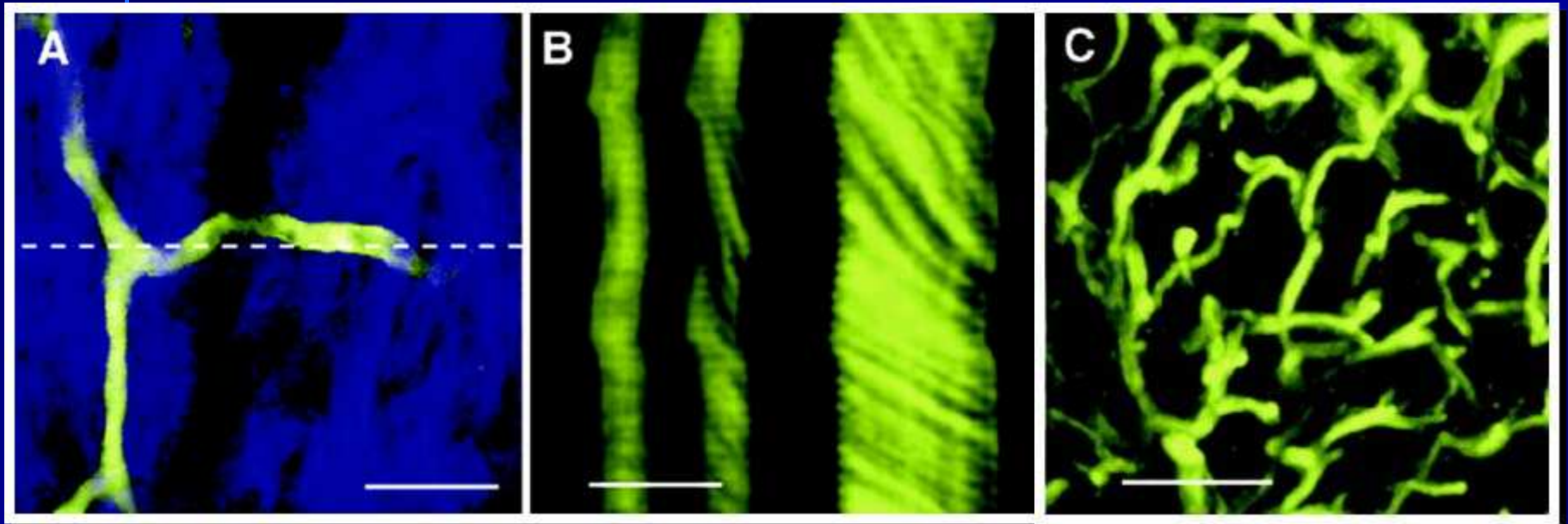




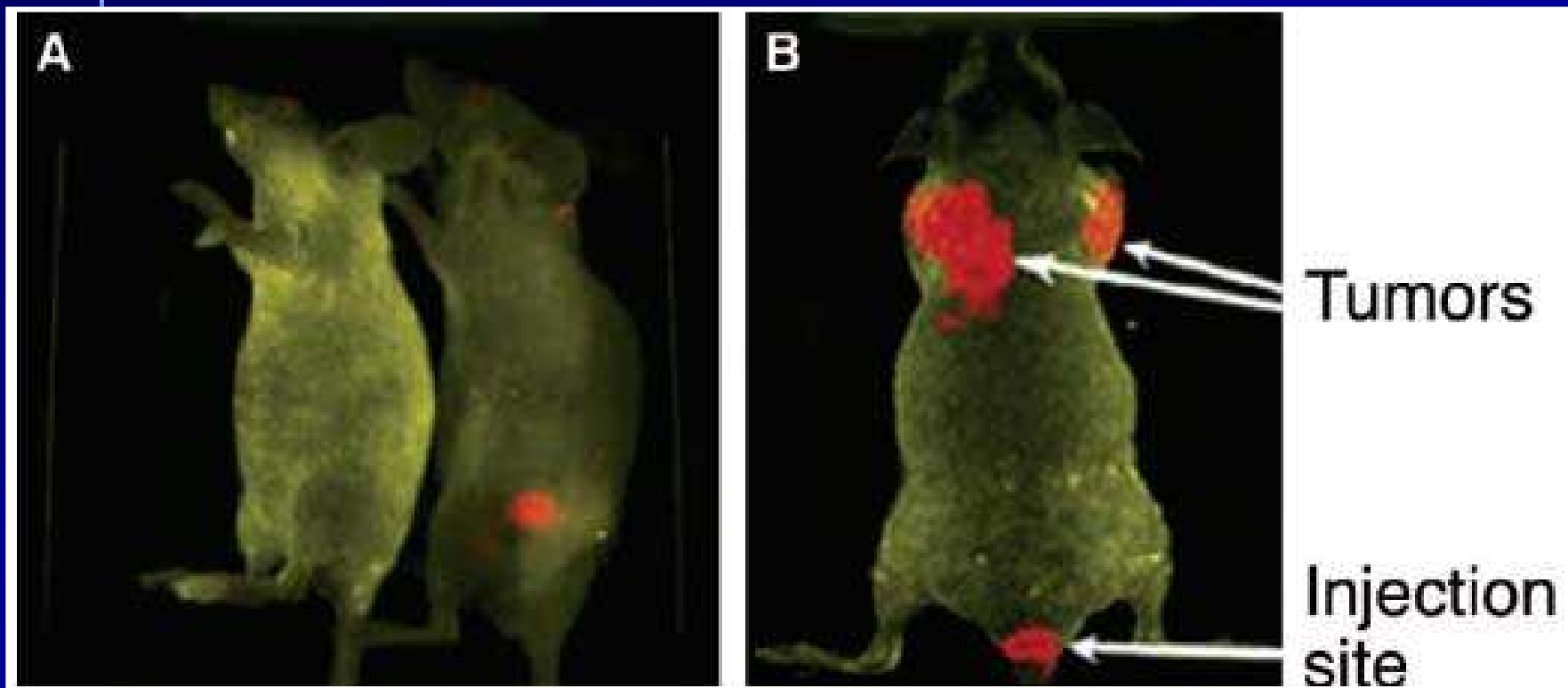
# Выявление раковых маркеров на клетках с помощью квантовых точек



# Визуализация микрососудов с помощью водорастворимых квантовых точек в коже мышы (глубина 100 мкм)



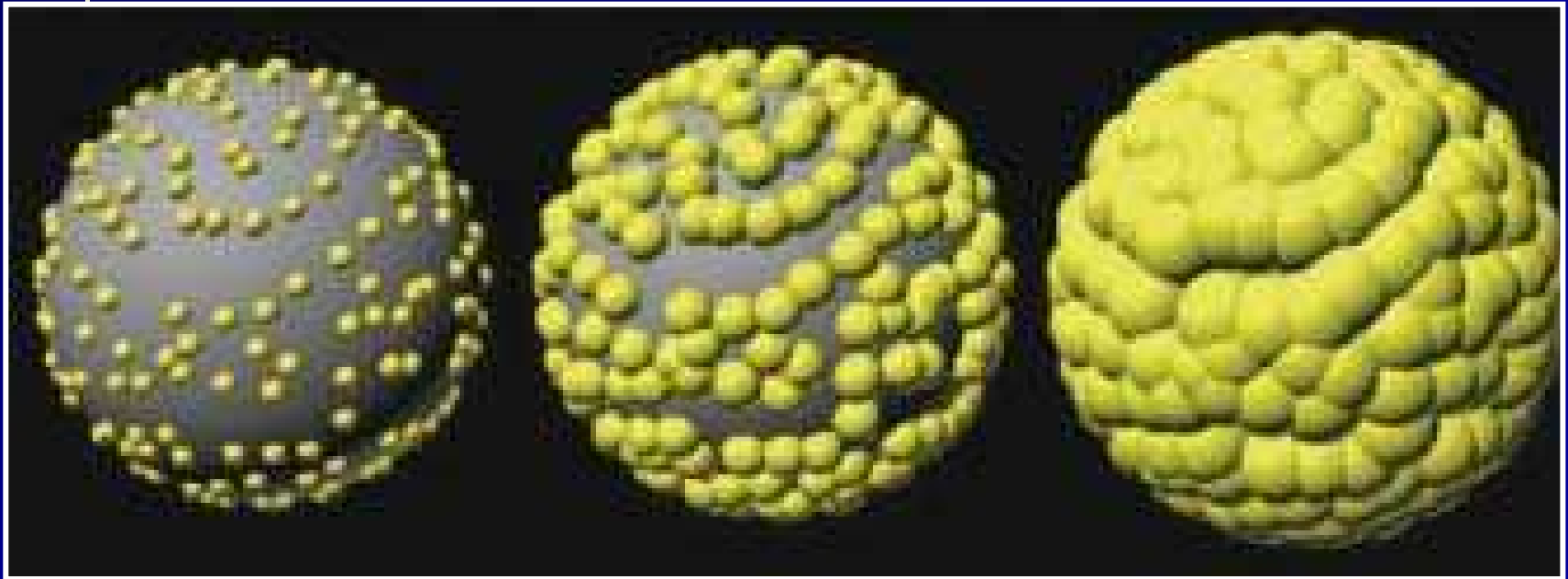
# Наночастицы quantum dots для выявления очагов опухолей



# Применение нанотехнологий для диагностики в медицине

Нанотехнологический продукт	Область применения	Характеристики
Наночастицы золота	Определение ДНК	Быстрый тест с простым оптическим считыванием
Наночастицы кремния	Определение ДНК	Микрочиповый «сендвич»-анализ ДНК
Сканометрический метод с использованием наночастиц золота в качестве зондов	Определение ДНК	<b>100</b> -кратное повышение чувствительности по сравнению со стандартными методами
Био-штрихкодированное усиление сигнала с помощью многофункциональных наночастиц	Определение ДНК и белков	Золотые наночастицы и магнитные микрочастицы обеспечивают очень высокую чувствительность при связывании мишеней
Золотые нанораквины	Определение белков	Антитела конъюгируются с поверхностью нанораквинов
Нанотрубки и нанопровода	Определение ДНК и белков	Нанотрубки и нанопровода покрываются соответствующими антителами
Нанорычаги	Определение генов, РНК, белков, бактерий, вирусов	Высокочувствительные сенсоры массы, могут быть дериватизированы биологическими молекулами
Наноматрицы	Определение ДНК и белков	Огромный потенциал для мультиплексного анализа и создания универсальных биочипов
Нанофлюидика	Определение ДНК, сортировка клеток, генетическое рофиллирование	Разработка чипов-лабораторий

# Наночастицы (nanoshells) как контейнеры для переноса генетического материала



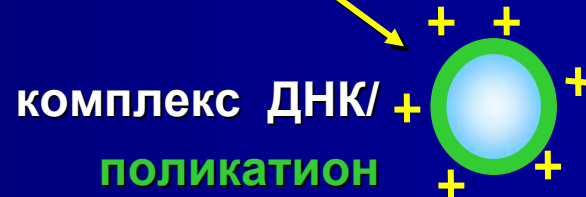
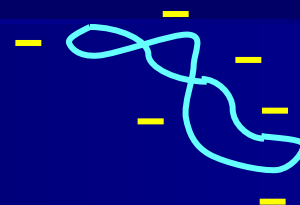
*Halas N: Cancer nanotechNOVAscienceNOW,  
[www.pbs.org/wgbh/nova/sciencenow/3209/03-canc-nf.html](http://www.pbs.org/wgbh/nova/sciencenow/3209/03-canc-nf.html).  
Accessed March 2006.*



# Приготовление комплексов ДНК с наночастицами

плазмидная ДНК

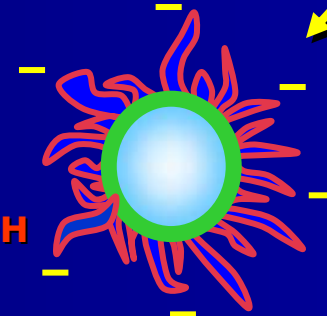
поликатион



полианион



комплекс ДНК/  
поликатион/полианион

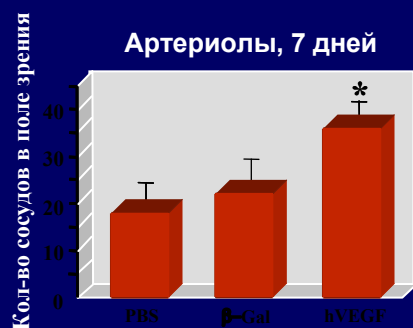
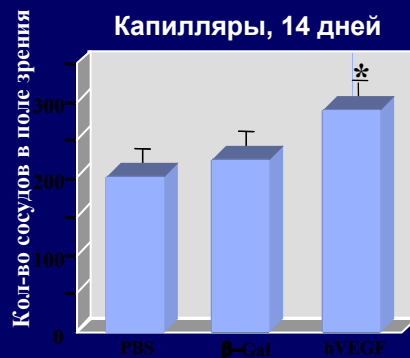
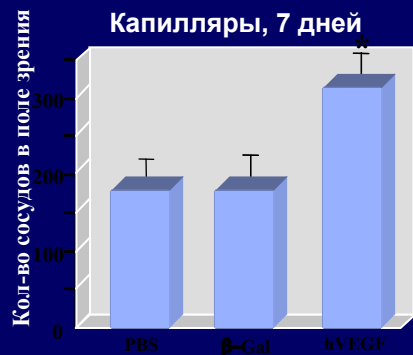


*Pharmaceutical Research, Vol. 21, No. 9, September 2004 (© 2004)*

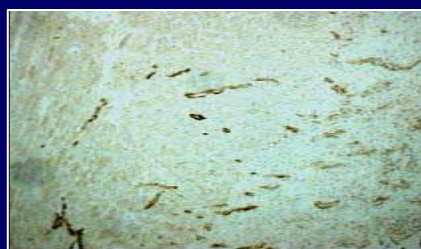
## Polyelectrolyte Nanoparticles Mediate Vascular Gene Delivery

Sergey Zaitsev,<sup>1,2</sup> Régis Cartier,<sup>1</sup> Oleg Vyborov,<sup>3</sup>  
Gleb Sukhorukov,<sup>4</sup> Bernd-Reiner Paulke,<sup>5</sup>  
Annekathrin Haberland,<sup>1,6</sup>  
Yelena Parfyonova,<sup>3</sup> Vsevolod Tkachuk,<sup>3</sup> and  
Michael Böttger<sup>1,7</sup>

# Стимуляция ангио-артериогенеза и уменьшение размера инфаркта при введении плазмиды с кДНК VEGF -165 в периинфарктную зону сердца крысы



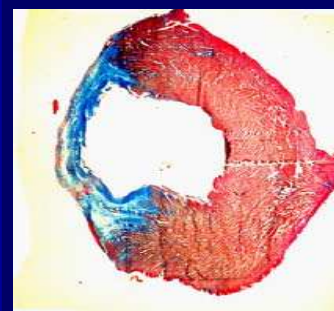
n=8 в каждой группе



Контроль



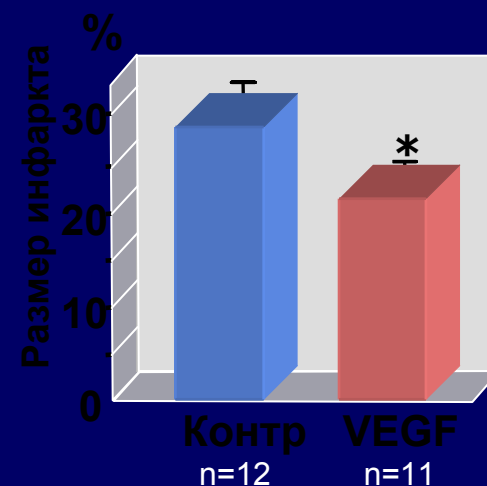
VEGF



контроль

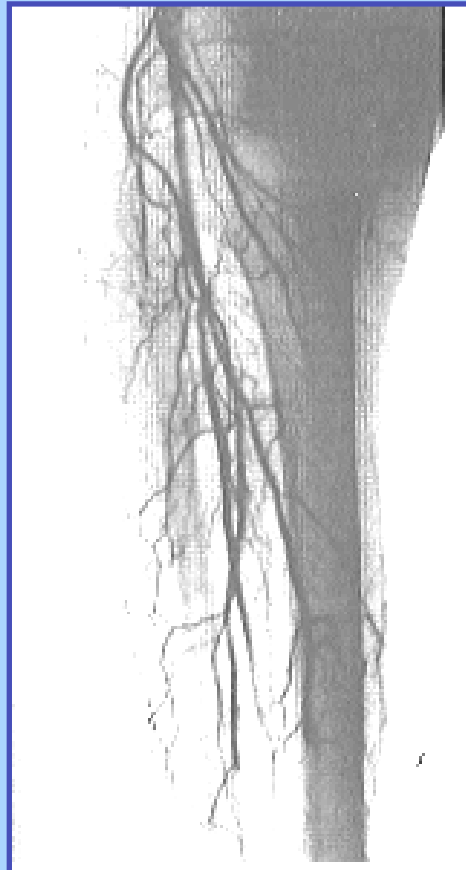


VEGF

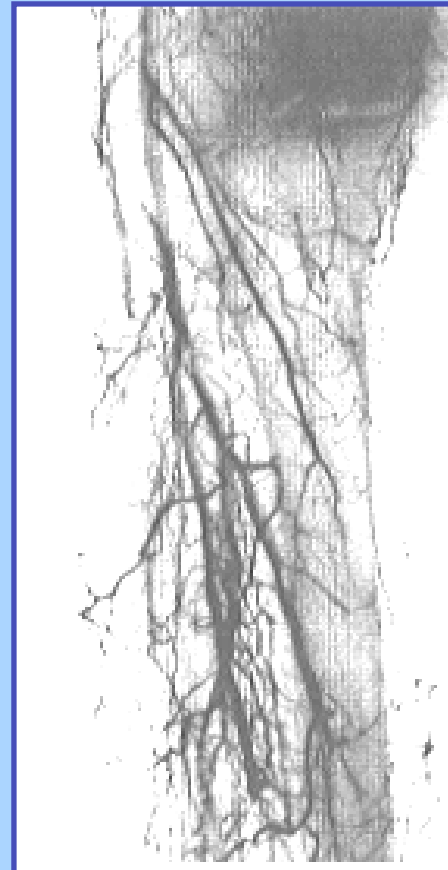


\* - p < 0.05

# Образование новых кровеносных сосудов после инъекции гена $phVEGF_{165}$

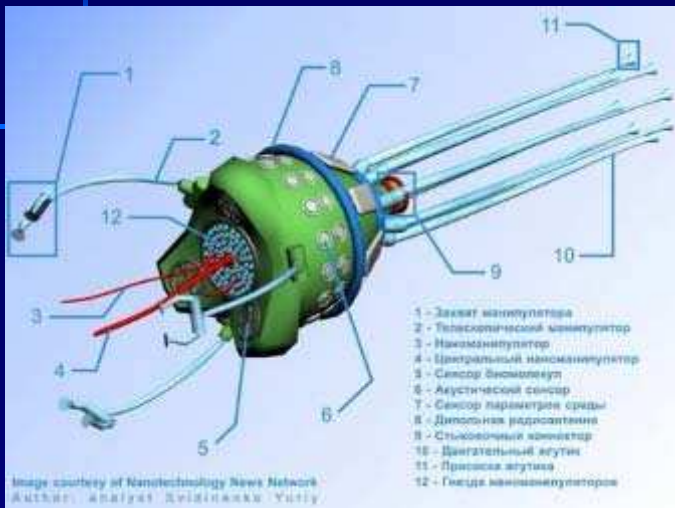


До инъекции

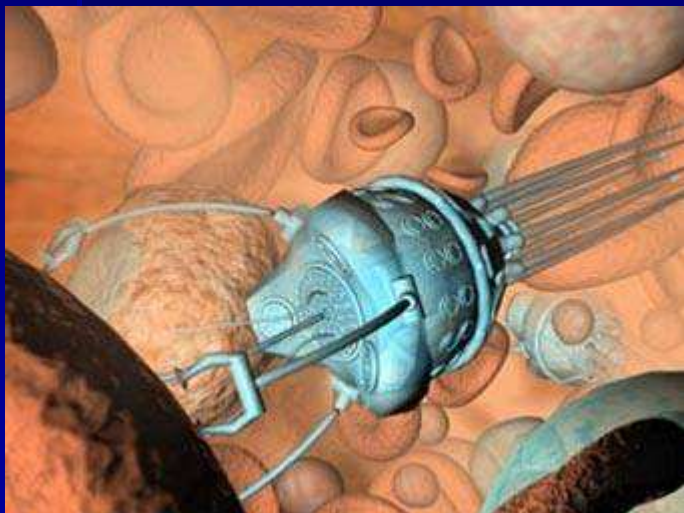


Через 8 недель

# Нанороботы

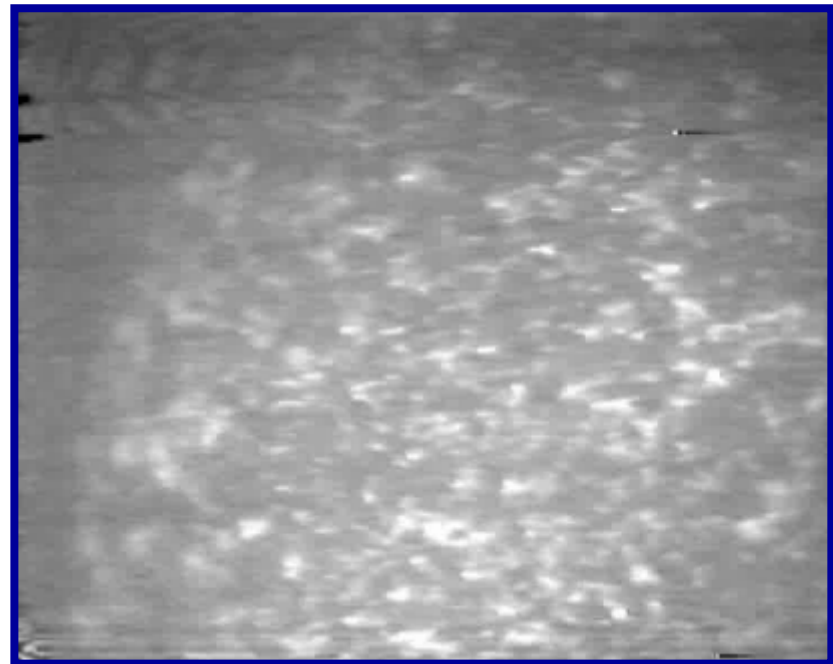
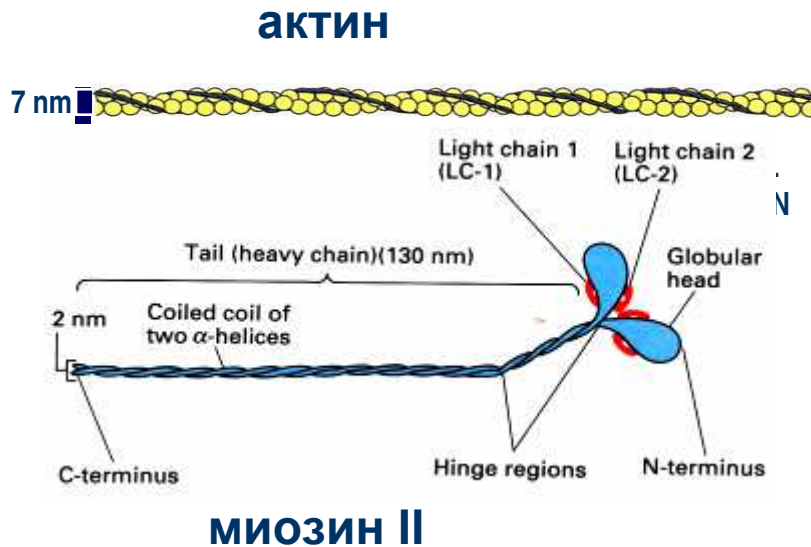


*Julian Baum/Science Photo Library*



# Молекулярные моторы – биосовместимые двигатели для нанороботов

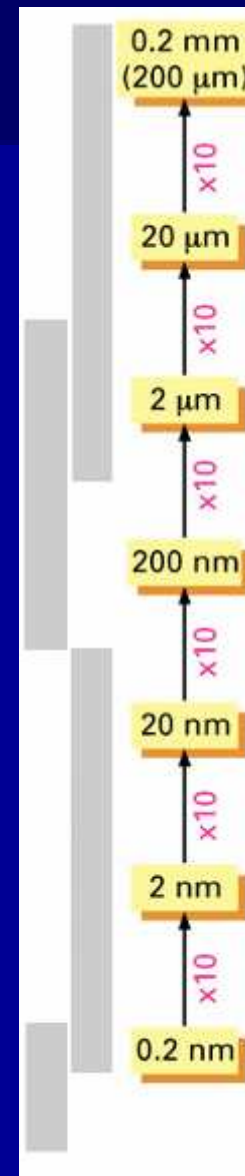
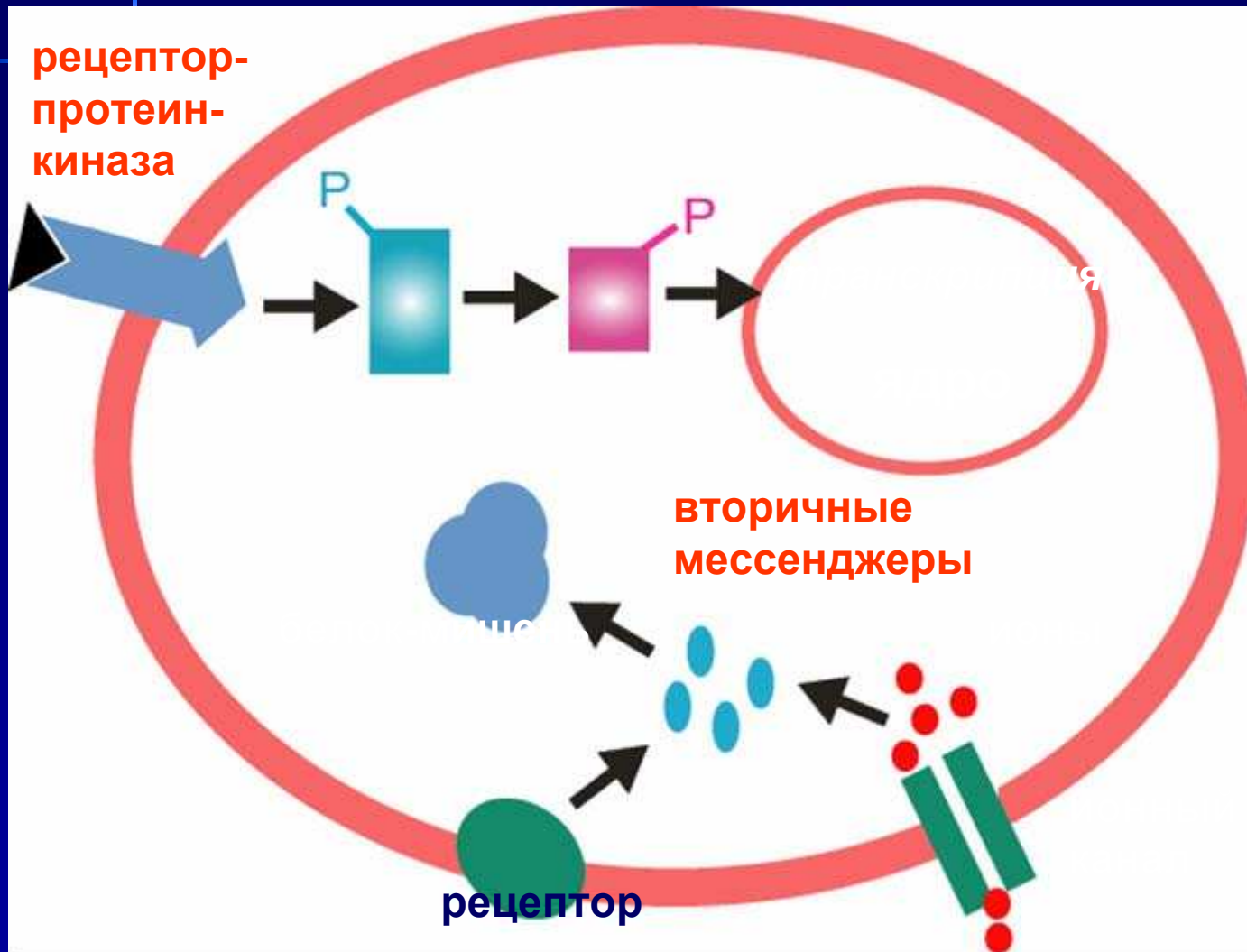
МИОЗИНЫ • КИНЕЗИНЫ • ДИНЕИНЫ



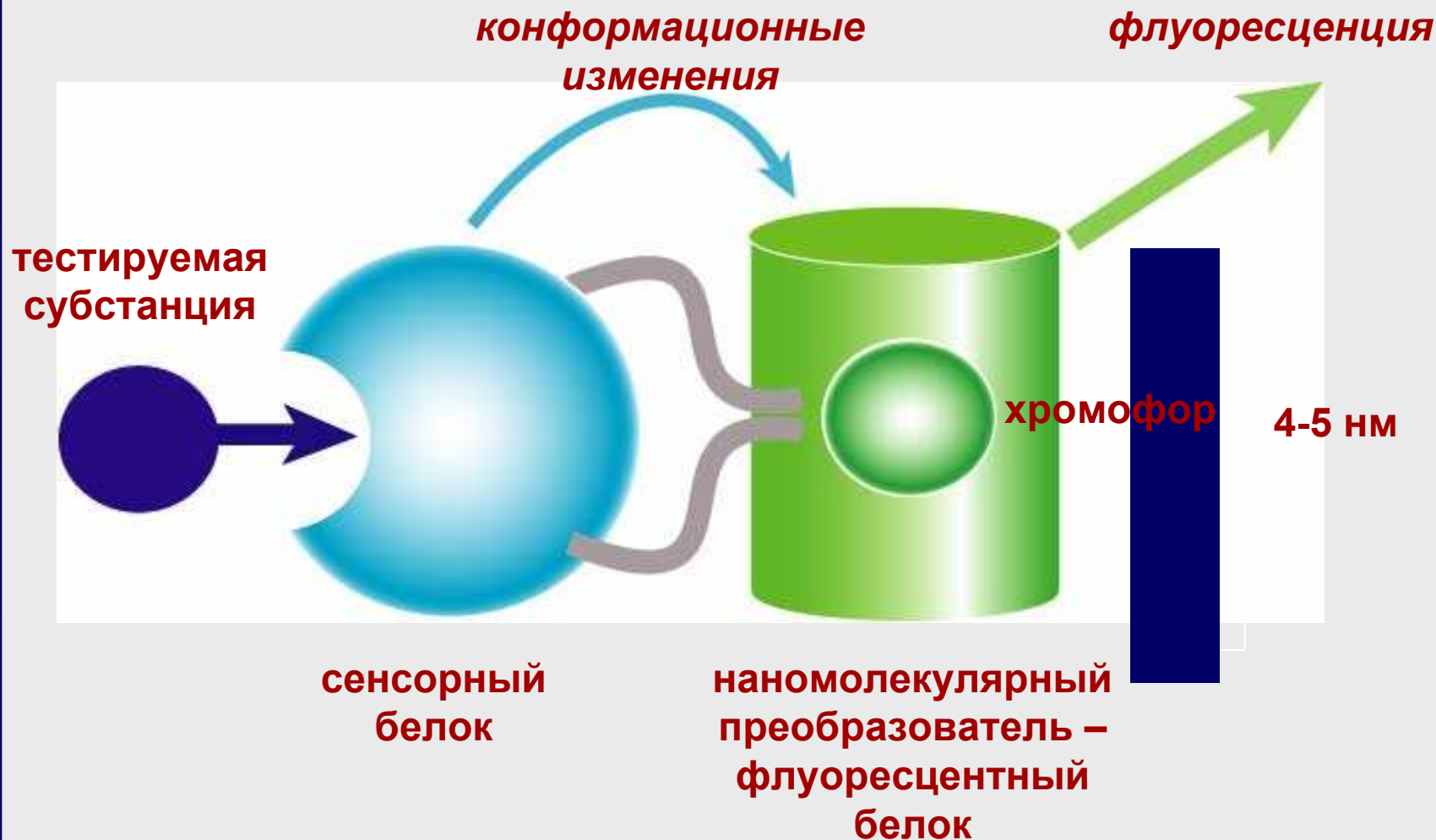
Движение полимеров актина по стеклу, покрытому миозином



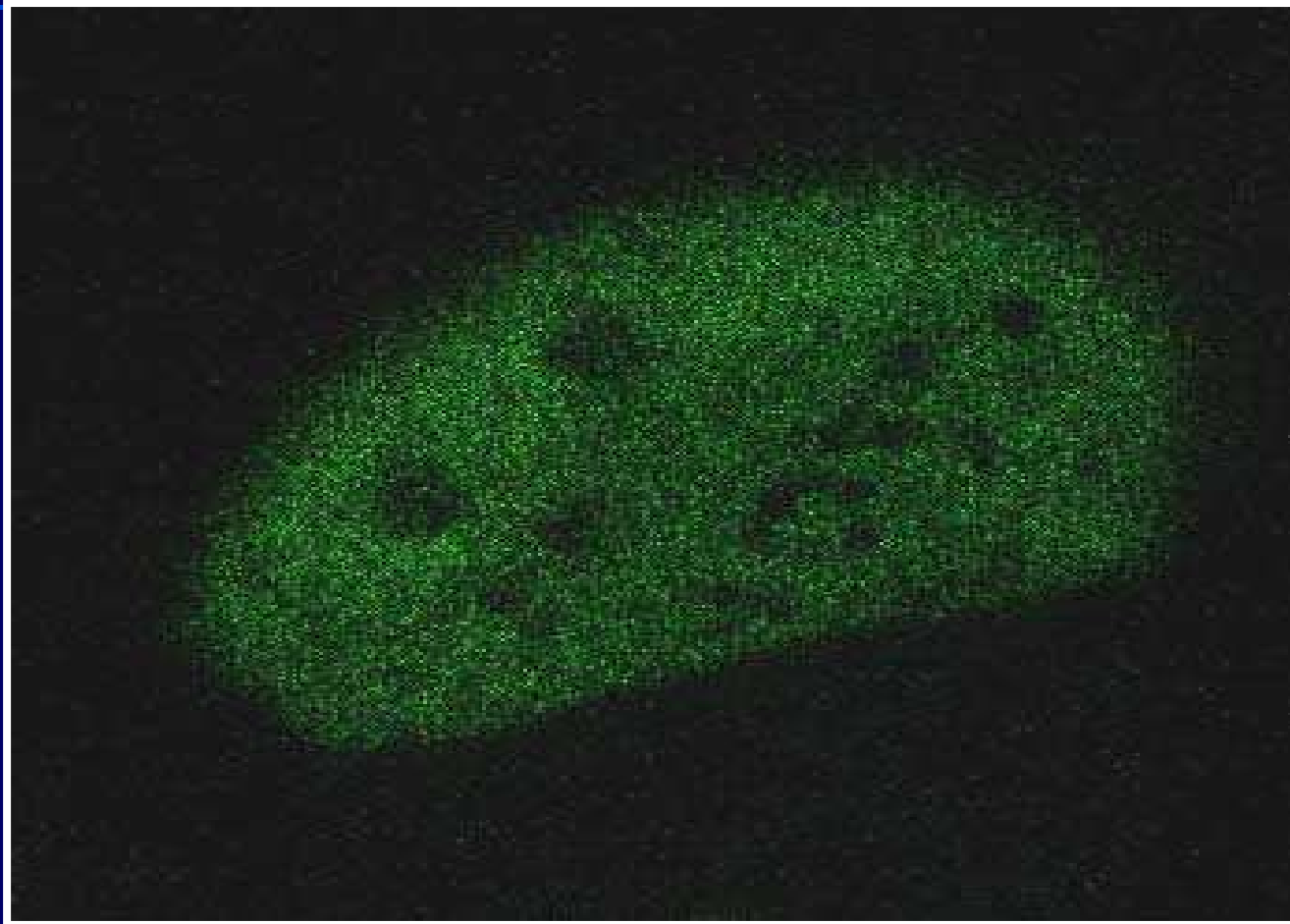
# В передачу внутриклеточных сигналов вовлечены белки и низкомолекулярные сигнальные молекулы



# Наномолекулярные биосенсоры – ключ к исследованию внутриклеточных процессов в живых системах на молекулярном уровне



# Регистрация изменений концентрации пероксида водорода в ходе апоптоза раковой клетки линии HeLa



*Belousov VV et al. Nature Methods. 2006 Apr;3(4):281-6*

# Возможное участие наночастиц в развитии патологий

## Наночастицы

↓  
Проникновение наночастиц в клетки различных тканей

↓  
Накопление наночастиц в ядре и цитоплазме клеток

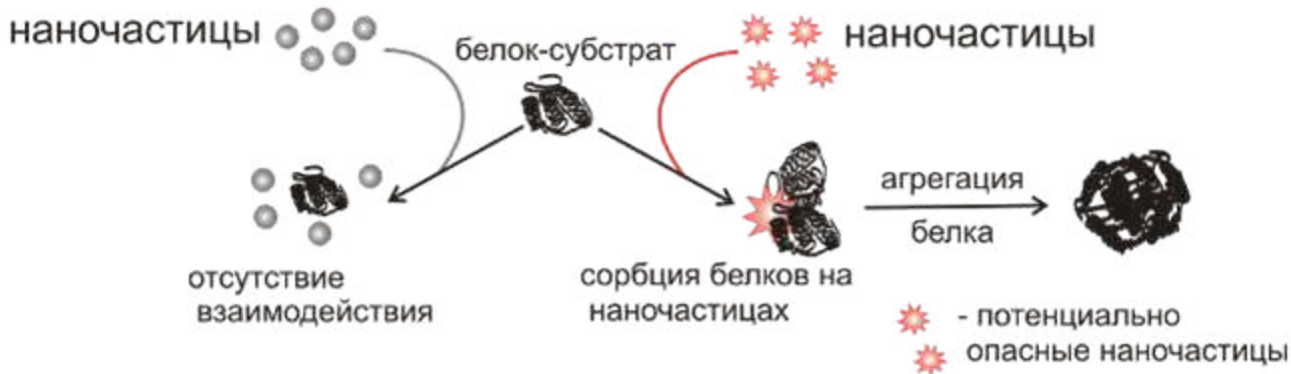
↓  
Инициация аморфной или прионоподобной агрегации белков, нарушение защитных систем клетки (шапероны, убиквитин)

↓  
Накопление в клетке нерастворимых агрегатов белков

↓  
Смерть клеток, развитие патологий, связанных с накоплением агрегатов белков (болезни Паркинсона, Альцгеймера, трансмиссивные нейропатии и др.)

# Методы оценки биобезопасности наночастиц *in vitro*

## 1. Влияние наночастиц на агрегацию модельных белков-субстратов



## 2. Влияние наночастиц на защитные системы клетки на примере малых белков теплового шока (sHSP)



Методы, используемые для оценки взаимодействия наночастиц с белками:

1. Прямое и динамическое лазерное светорассеяние
2. Гельхроматография
3. Флуоресцентная спектроскопия



# Оценка биобезопасности наночастиц на культивируемых клетках человека

- **Морфология клеток**
- **Деление клеток**
- **Движение клеток**
- **Экспрессия специфических маркеров**
- **Апоптоз**

# Нанотехнологии в медицине

**Всеволод Арсеньевич Ткачук**



Факультет Фундаментальной Медицины  
МГУ имени М.В. Ломоносова

# Публикации по теме

1. Lukyanov KA, Chudakov DM, Fradkov AF, Labas YA, Matz MV, Lukyanov S. Discovery and properties of GFP-like proteins from nonbioluminescent anthozoa. **Methods Biochem Anal.** 2006; 47:121-38
2. Bulina ME, Lukyanov KA, Britanova OV, Onichtchouk D, Lukyanov S, Chudakov DM. Chromophore-assisted light inactivation (CALI) using the phototoxic fluorescent protein KillerRed. **Nature Protocols.** 2006;1: 947-953
3. Gurskaya NG, Verkhusha VV, Shcheglov AS, Staroverov DB, Chepurnykh TV, Fradkov AF, Lukyanov S, Lukyanov KA. Engineering of a monomeric green-to-red photoactivatable fluorescent protein induced by blue light. **Nature Biotechnology.** 2006 Apr;24(4):461-5
4. Belousov VV, Fradkov AF, Lukyanov KA, Staroverov DB, Shakhbazov KS, Terskikh AV, Lukyanov S. Genetically encoded fluorescent indicator for intracellular hydrogen peroxide. **Nature Methods.** 2006 Apr;3(4):281-6
5. Bulina ME, Chudakov DM, Britanova OV, Yanushevich YuG, Staroverov DB, Chepurnykh TV, Merzlyak EM, Shkrob MA, Lukyanov S, Lukyanov KA. A genetically encoded photosensitizer. **Nature Biotechnology.** 2006; 24(1):95-9
6. Chudakov DM, Lukyanov S, Lukyanov KA. Fluorescent proteins as a toolkit for in vivo imaging. **Trends Biotechnology.** 2005 Dec;23(12):605-13

# Создание новых нанобиосенсоров

- Создание линейки биосенсоров для регистрации изменений концентрации сигнальных молекул – вторичных мессенджеров в клетке (активные формы кислорода, NO-радикал, цАМФ, цГМФ, Ca<sup>2+</sup>)
- Создание линейки биосенсоров для регистрации активности важнейших протеинкиназ
- Разработка систем скрининга лекарственных препаратов

# Первый наномолекулярный биосенсор для детекции пероксида водорода (HyPer)

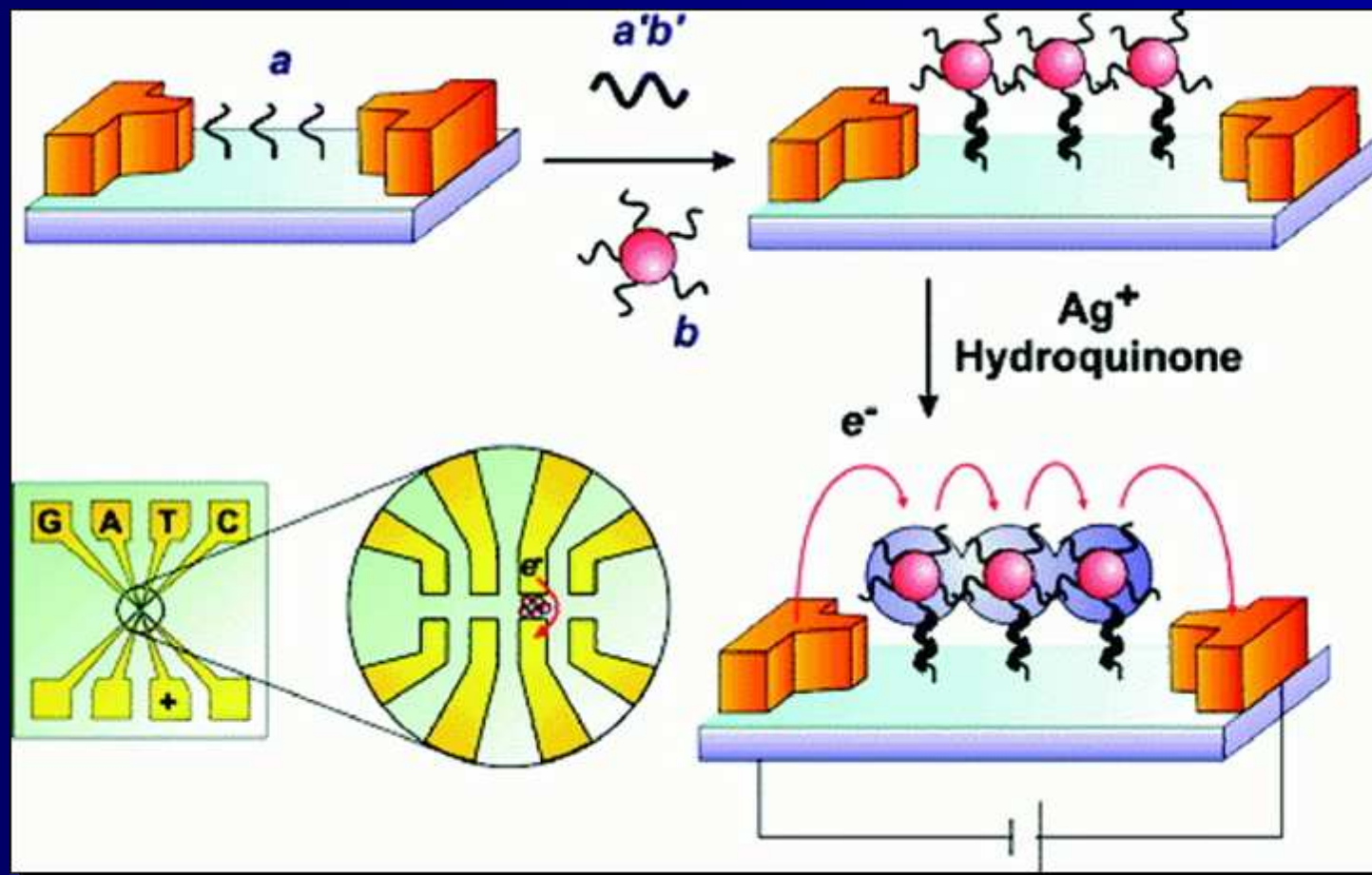
- Разработан в нашем научно-исследовательском коллективе
- Работа опубликована в престижном научном журнале **"Nature Methods"**
- Работа удостоена награды за инновационность на международной конференции **"Society for Free Radicals Research"**



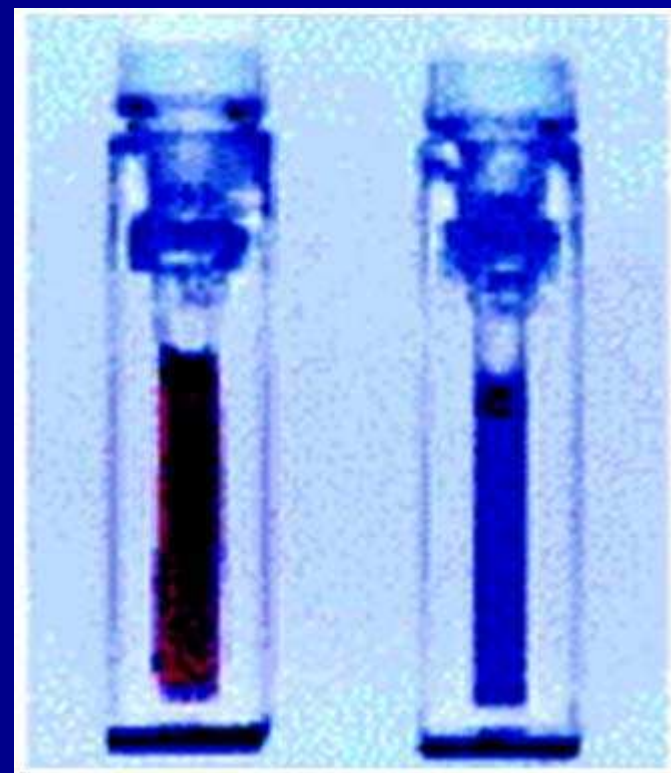
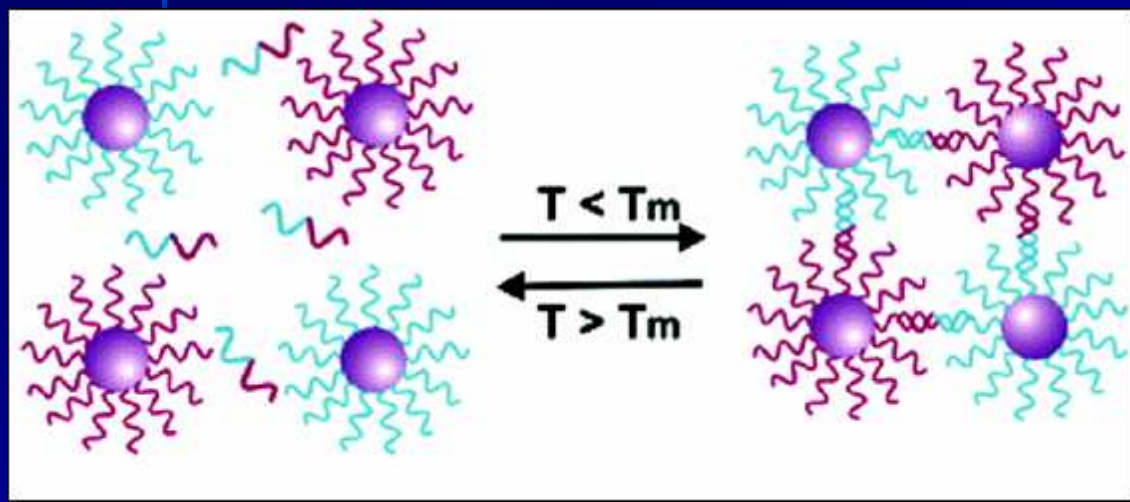
# Актуальность проблемы

- Многоклеточный организм состоит из клеток с разнообразными функциями, координация которых осуществляется путем передачи химических сигналов.
- Клетки распознают внешние сигналы и приводят в действие внутриклеточные пути передачи информации, которые ведут к регуляции клеточных процессов.
- Нарушения в передаче внутриклеточных сигналов – причина многих патологий, в том числе онкологических, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний.

# Электродетекция ДНК с помощью зондов на основе наночастиц на основе наночастиц



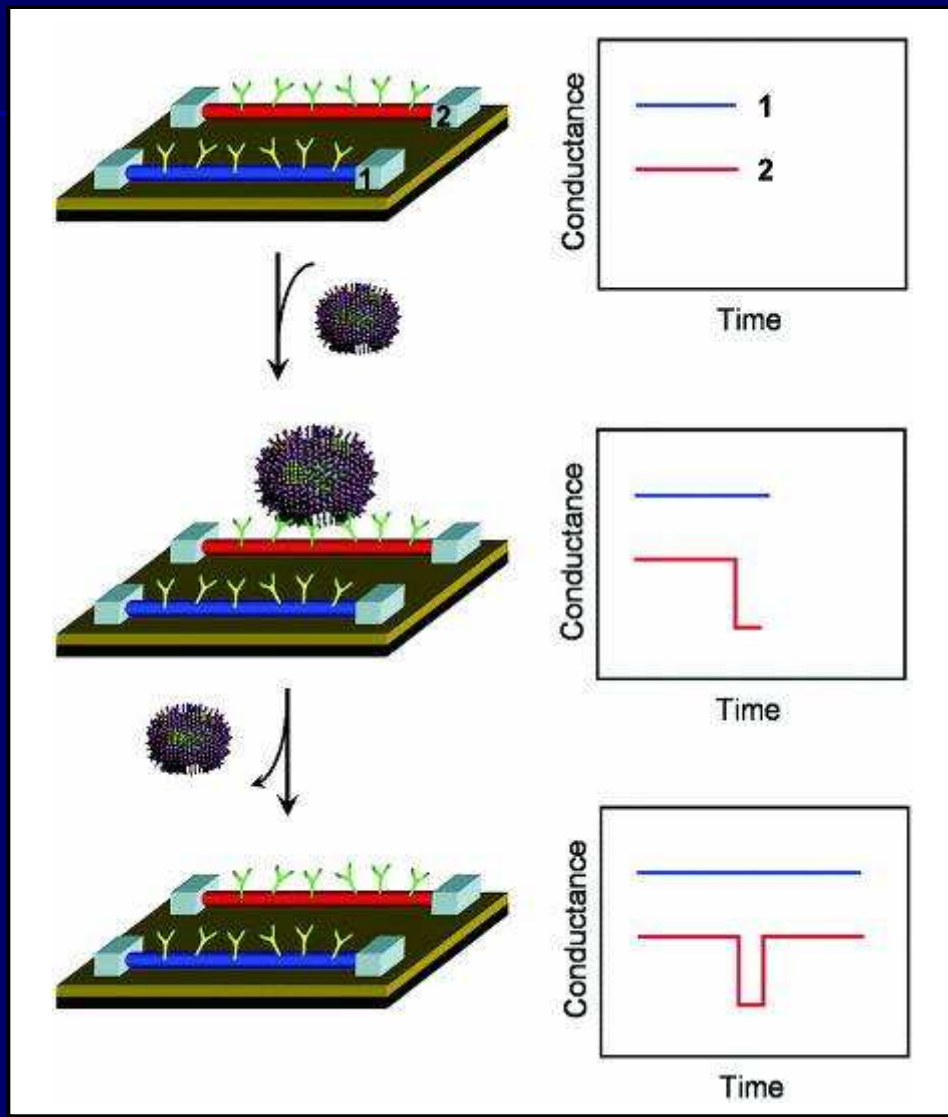
# Определение ДНК по агрегации наночастиц золота, конъюгированных с олигонуклеотидами



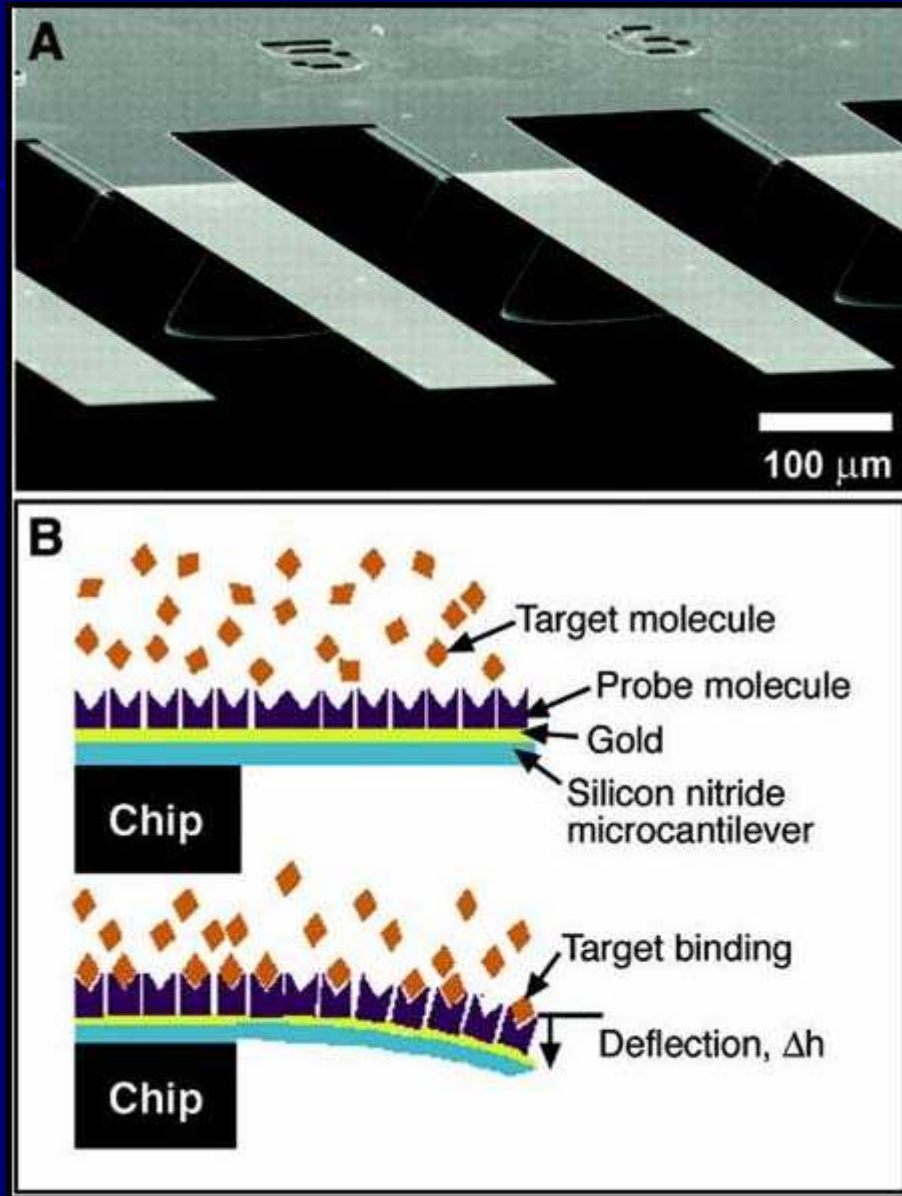
- ДНК

+ ДНК

# Детекция единичных вирусов с помощью нанопроводников

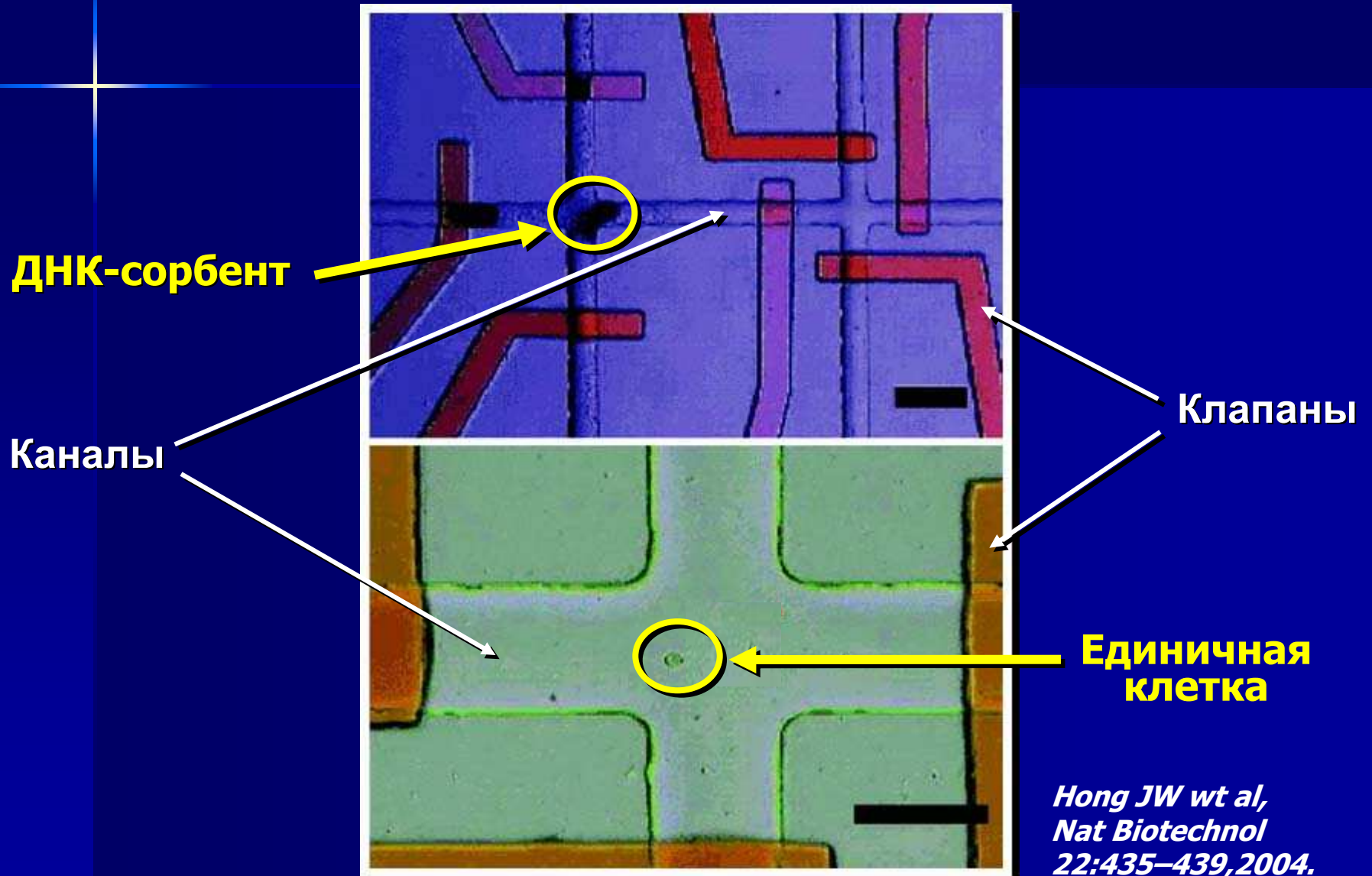


# Детекция биомолекул с помощью нанорычагов



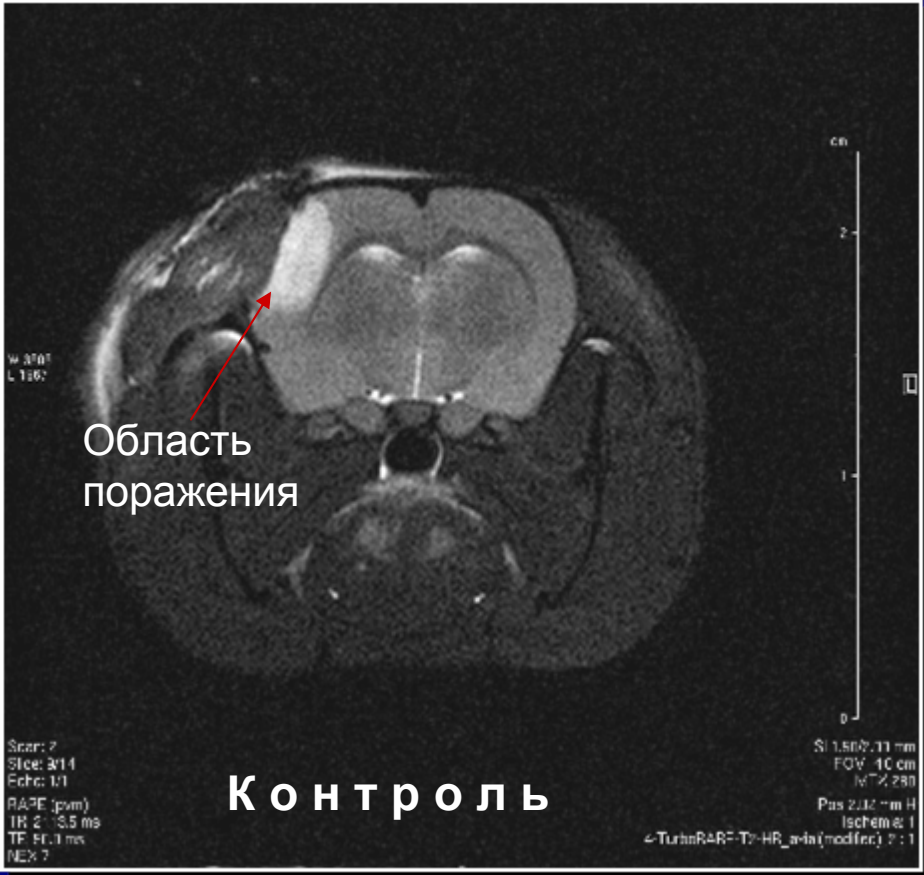
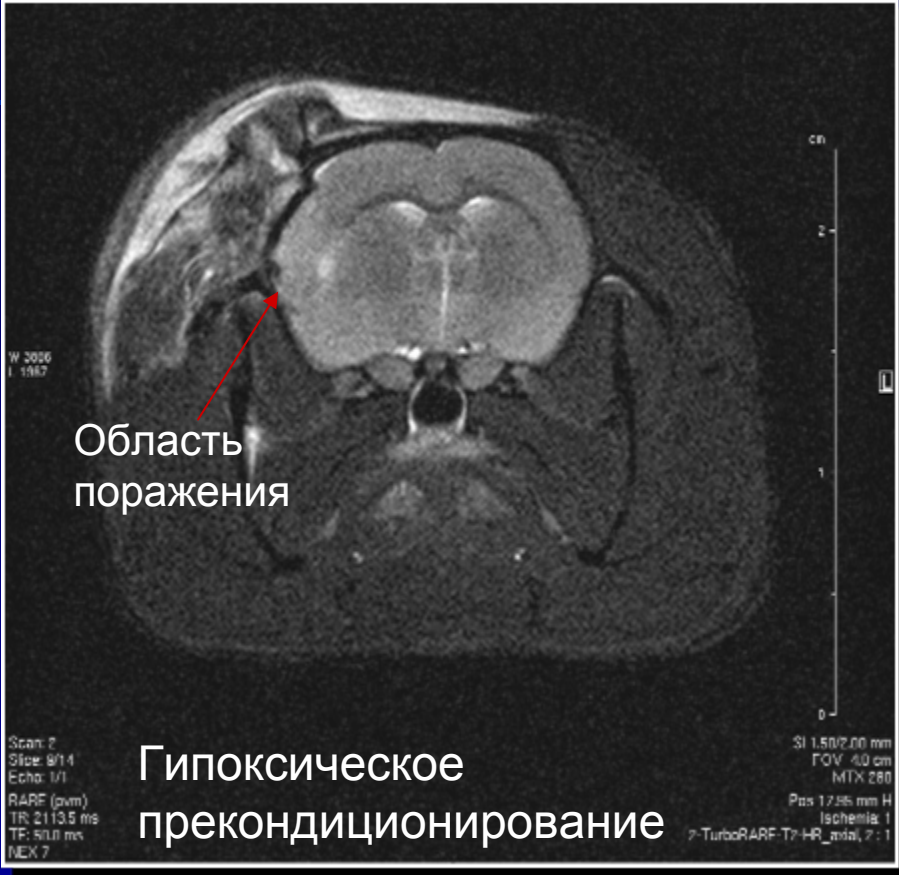


# Создание микролаборатории на чипах для выделения ДНК из единичных клеток, для сортировки клеток и других задач

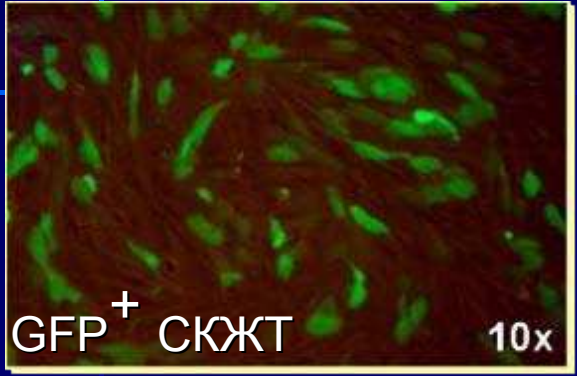




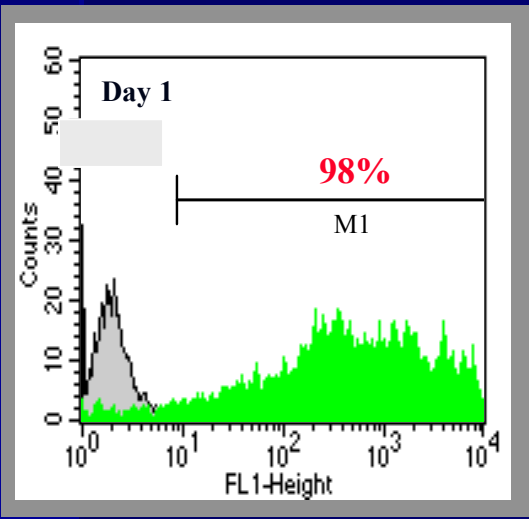
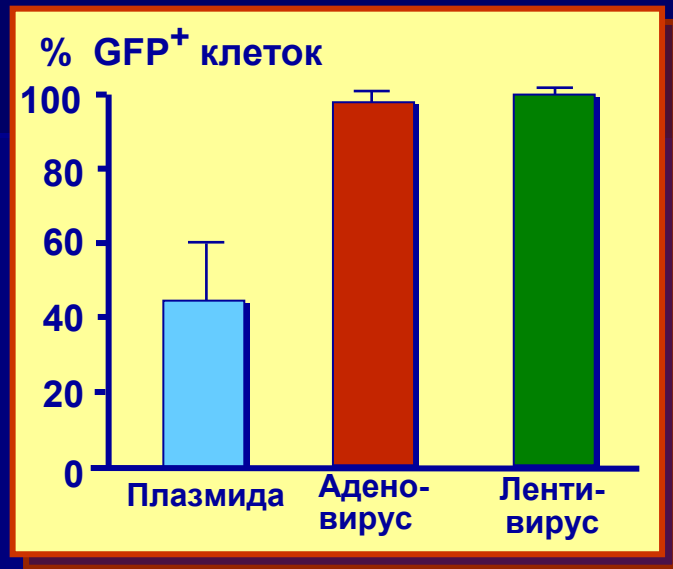
# МРТ-изображение фокального очага поражения головного мозга, вызванного окклюзией средней мозговой артерии



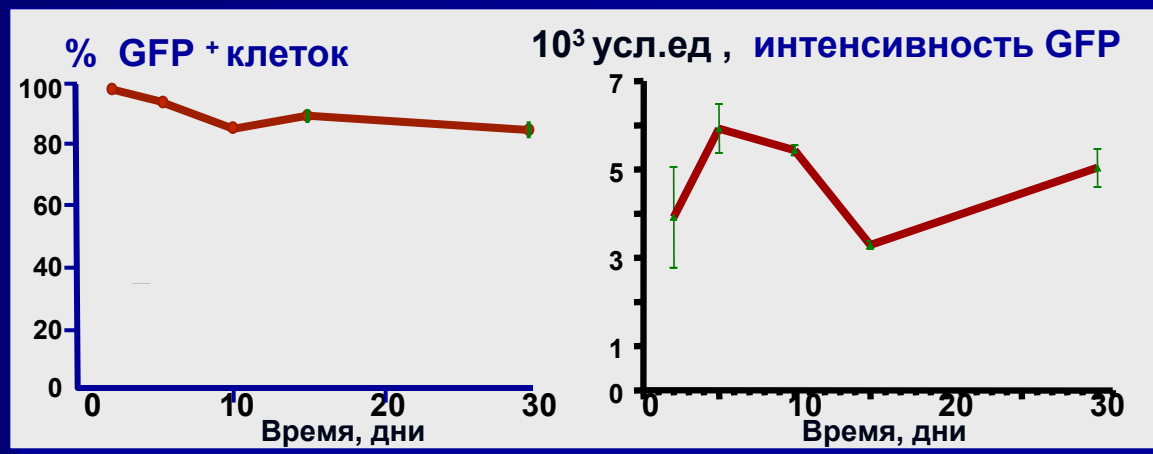
# Эффективность трансфекции чСКЖТ при использовании плазмидного, аденовирусного и лентивирусного методов трансфекции



Трансфекция плазмидой

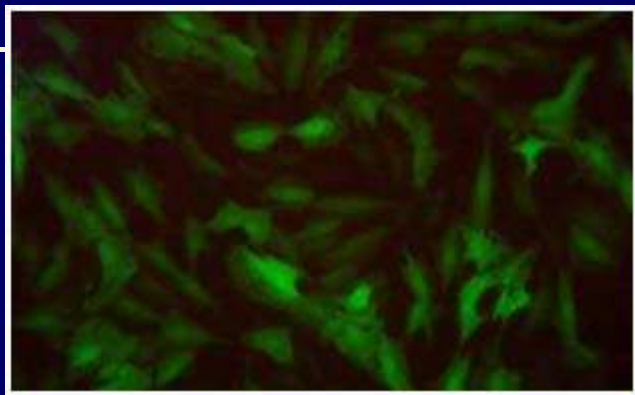


Трансфекция аденовирусом

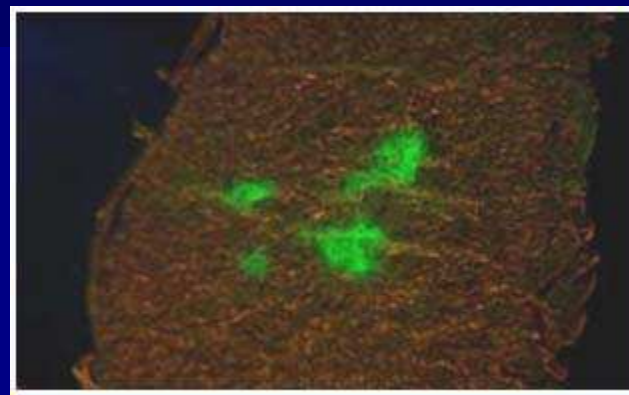


Трансфекция лентивирусом

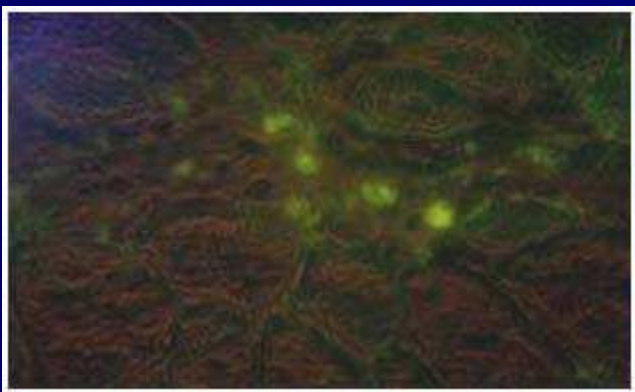
# Детекция меченных СКЖТ после введения в ишемизированные мышцы



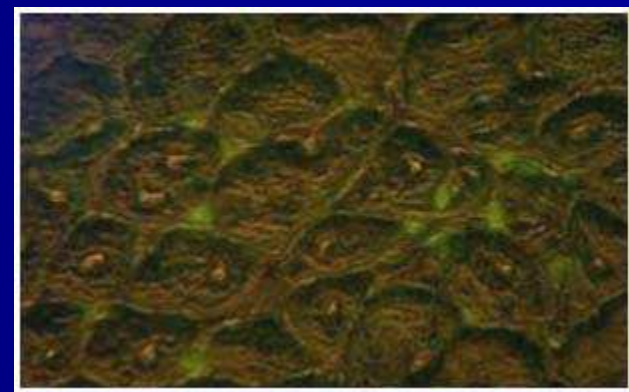
в культуре клеток



через 3 часа  
после введения

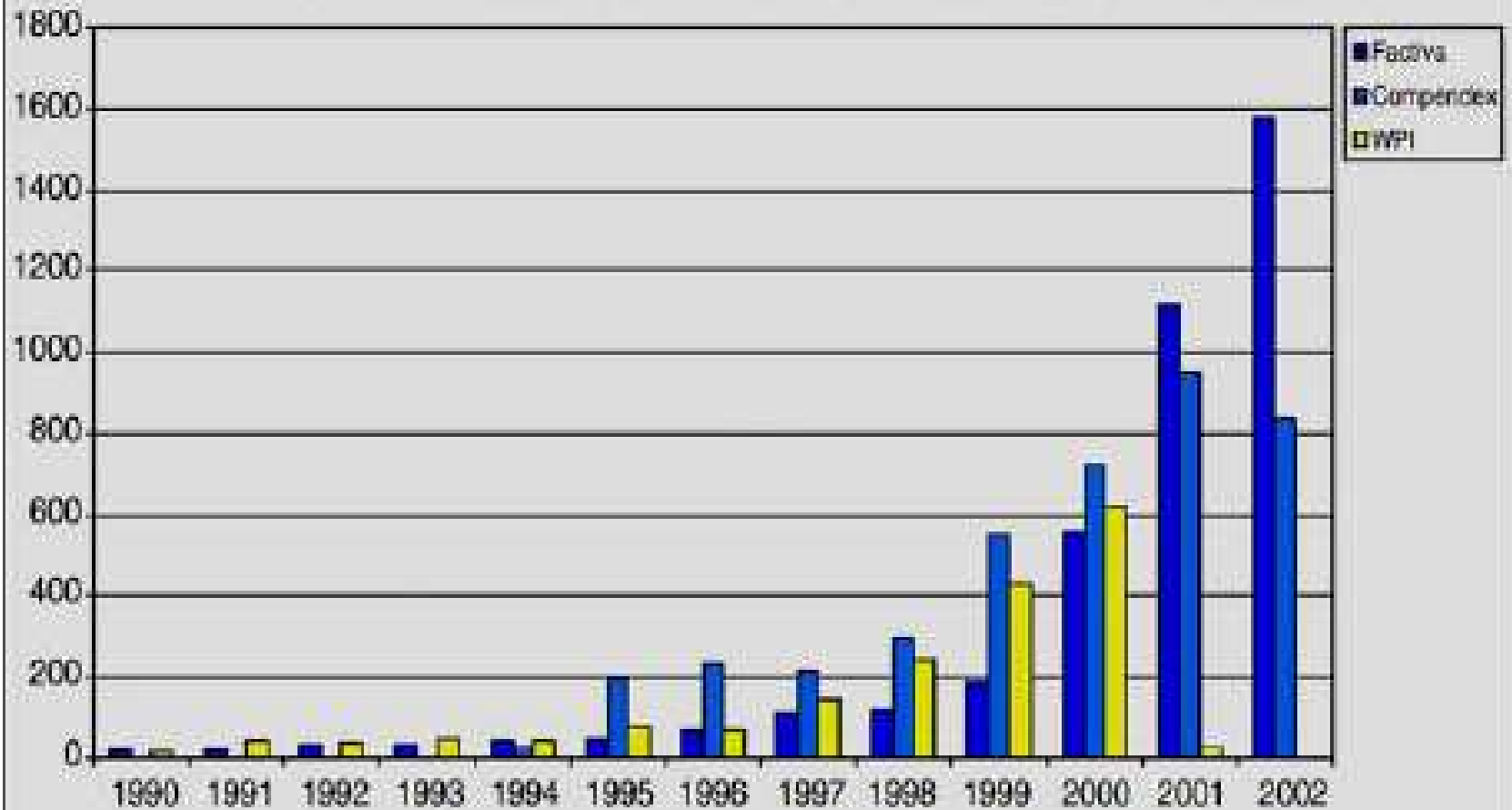


через 3 дня  
после введения

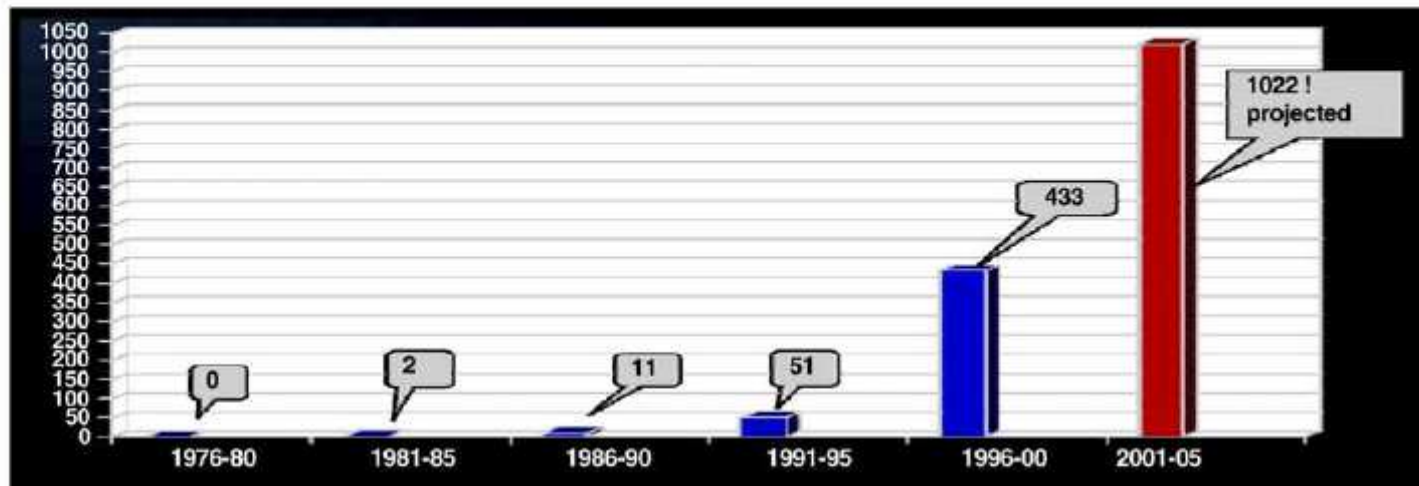


через 7 дней  
после введения

Nanotech Related Articles or Publications - Business / Scientific / Patents

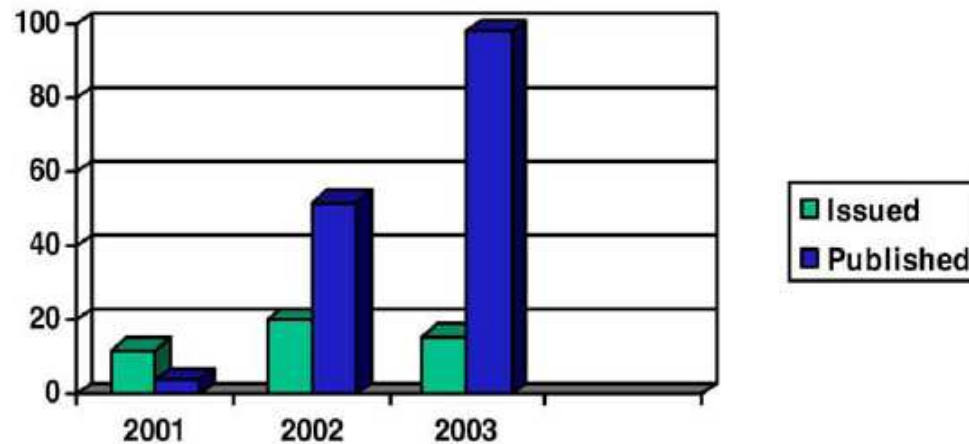


### US Patent Filings on Dendrimers (Courtesy of Dr. Steve Rutt, Foley & Lardner LLP)



Year

### US Patents and Published Applications Containing the Word "nanowire"

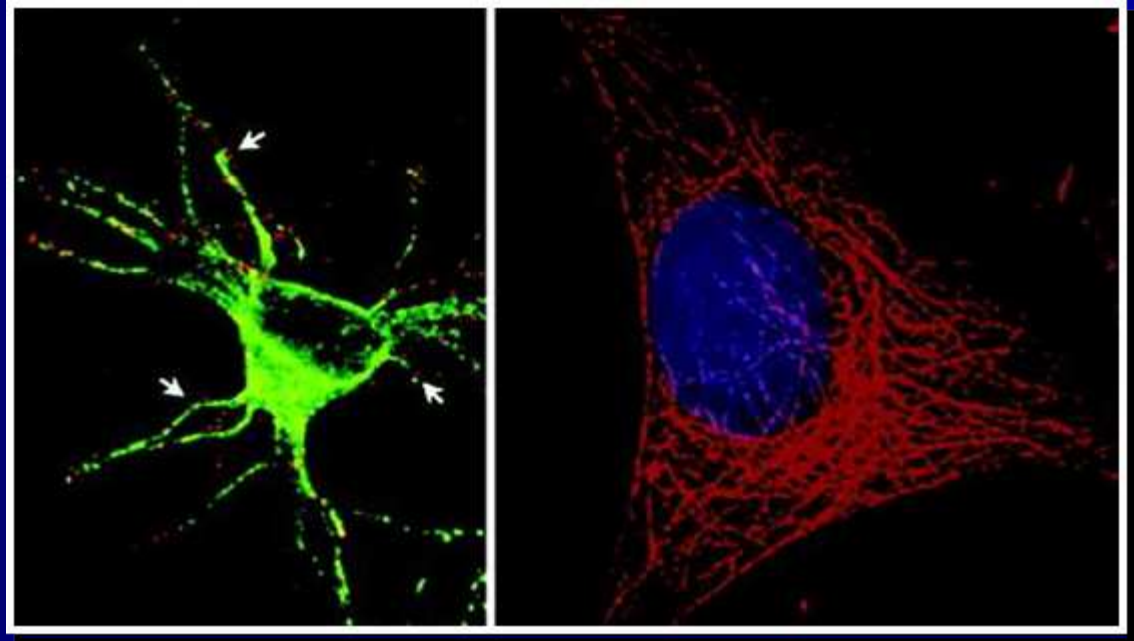
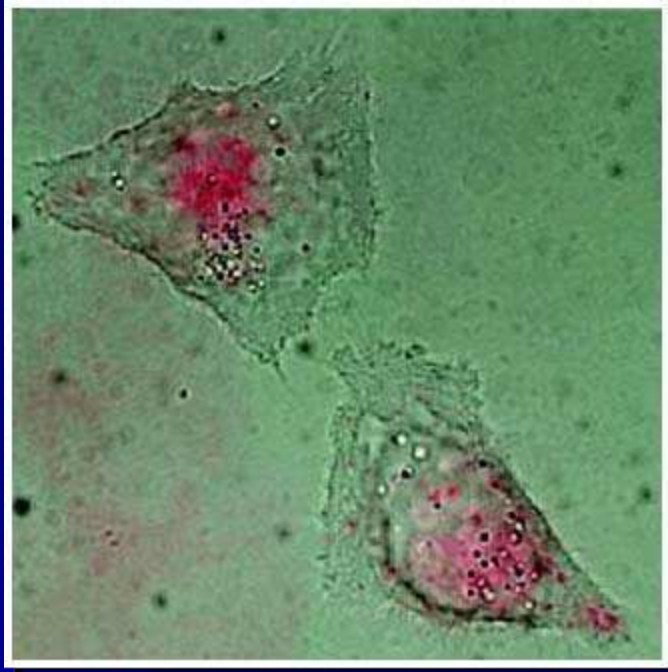


# Преимущества предлагаемых наномолекулярных биосенсоров

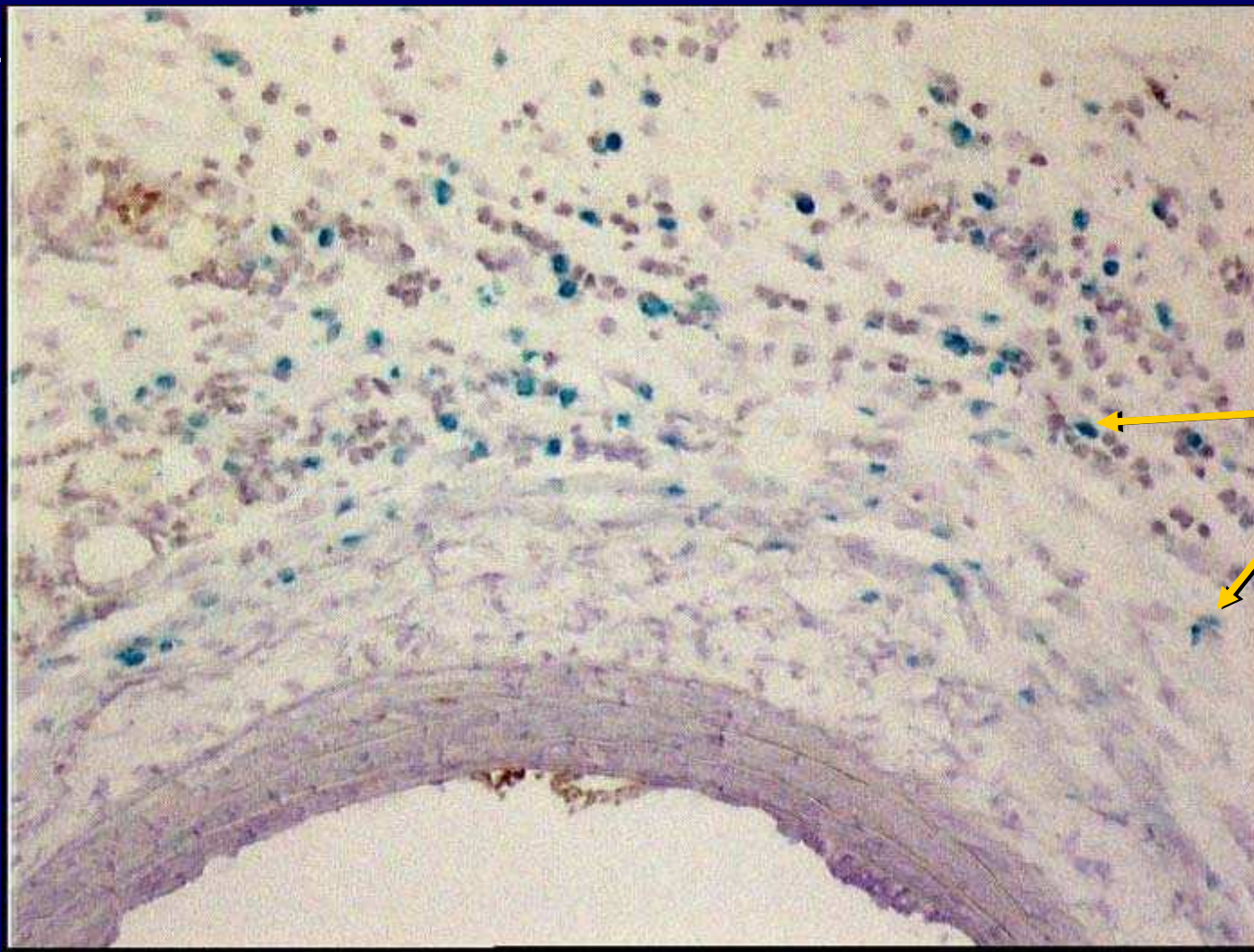
- Генетически кодируются и способны к самосборке внутри живой клетки
- Обладают высокой чувствительностью и специфичностью узнающего элемента – сенсорного белка
- Могут быть направлены в различные компартменты живой клетки (митохондрии, ядро, комплекс Гольджи, плазматическая мембрана и др.)
- Универсальны в использовании: могут быть использованы для проведения анализов *in vitro* или *in vivo*, пригодны для создания трансгенных животных и линий клеток со стабильной экспрессией биосенсора для проведения скрининга потенциальных лекарственных препаратов



# Мечение живых клеток и визуализация внутриклеточных структур с помощью квантовых точек



# Трансфекция стенки сосуда с помощью комплексов плазмидной ДНК $\beta$ -Gal в составе наночастиц

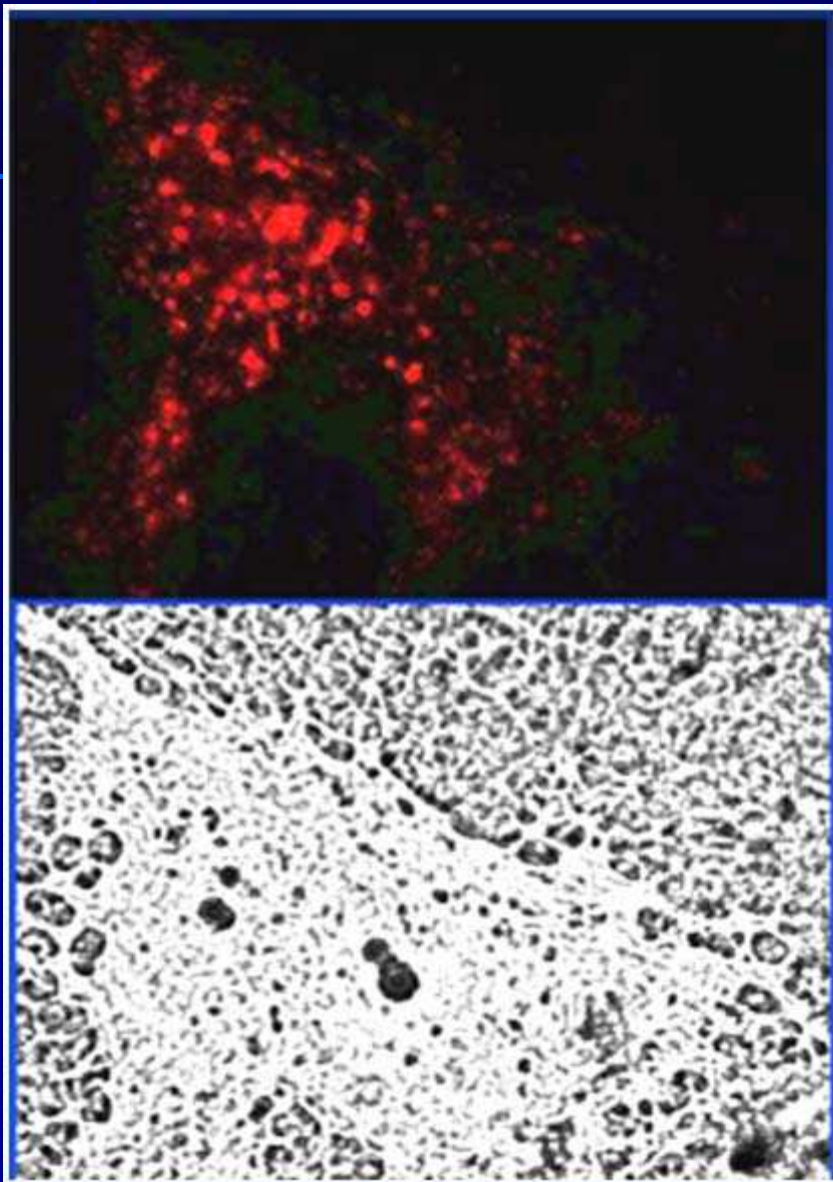


# Регистрация уровня вторичных мессенджеров и активности протеинкиназ

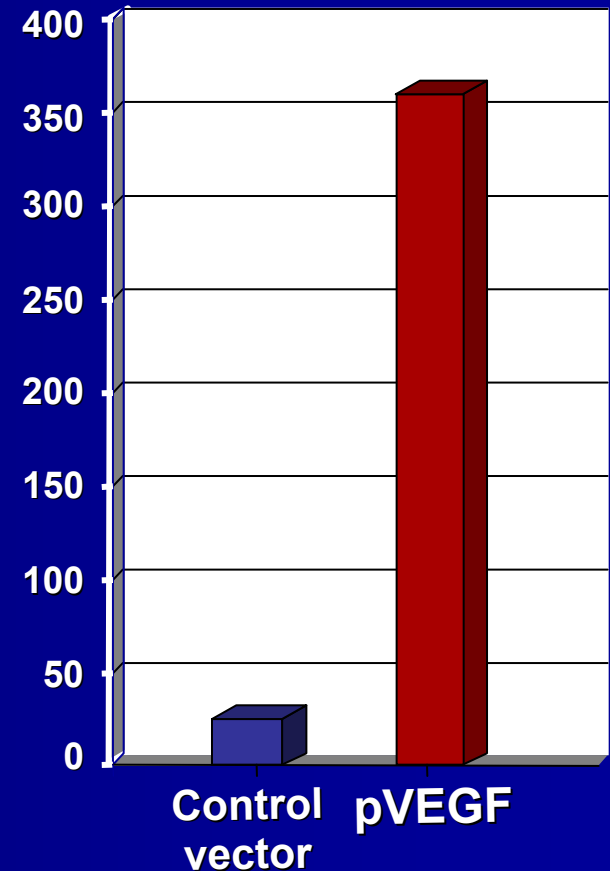
- Для изучения процессов передачи внутриклеточных сигналов и их нарушений
- Для создания систем скрининга лекарственных препаратов
- Для развития новых методов диагностики системных заболеваний человека



# Стволовые клетки концентрируются в перинфарктной зоне миокарда

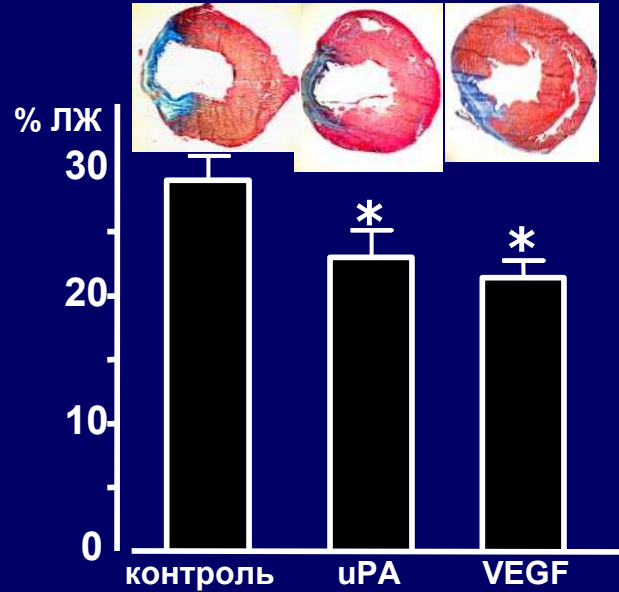


Секреция VEGF  
трансфицированными  
СТВОЛОВЫМИ клетками  
[VEGF], нг/мл

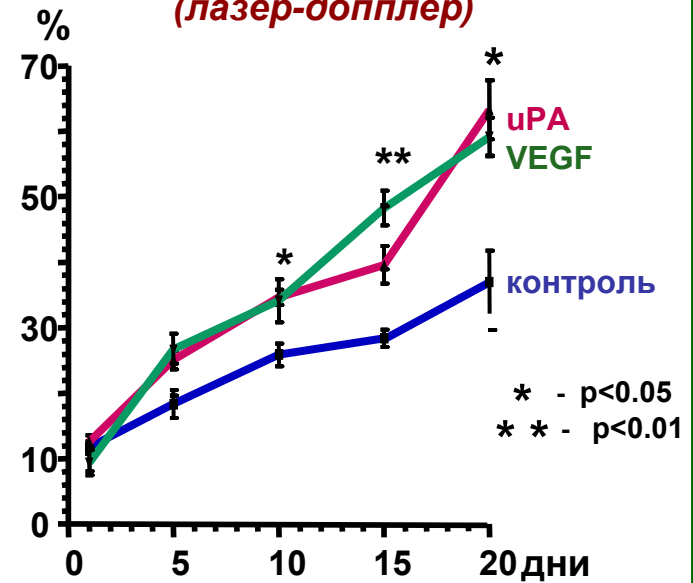


# Введение плазмиды с геном урокиназы стимулирует ангиогенез в ишемизированном сердце и конечности

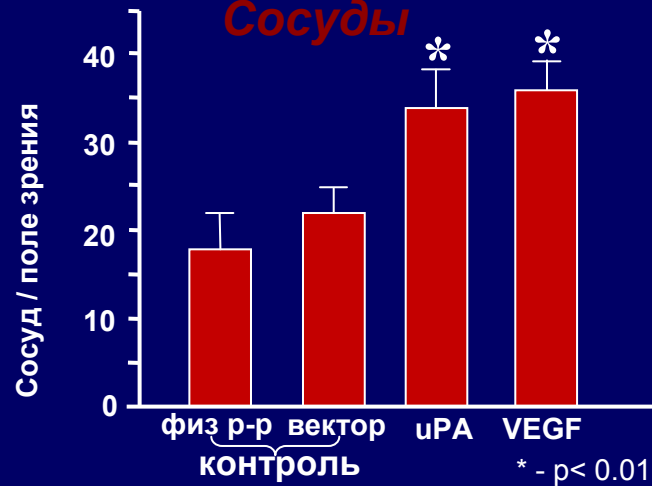
## Размер инфаркта



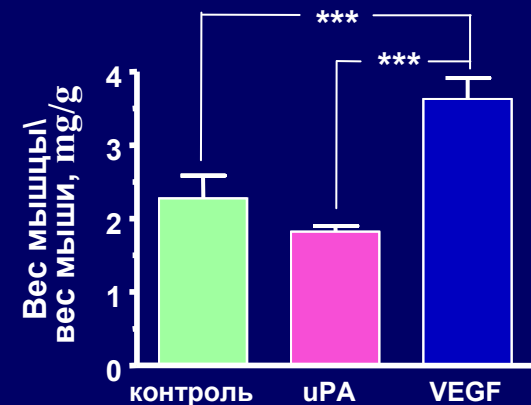
## Перфузия конечности (лазер-доплер)



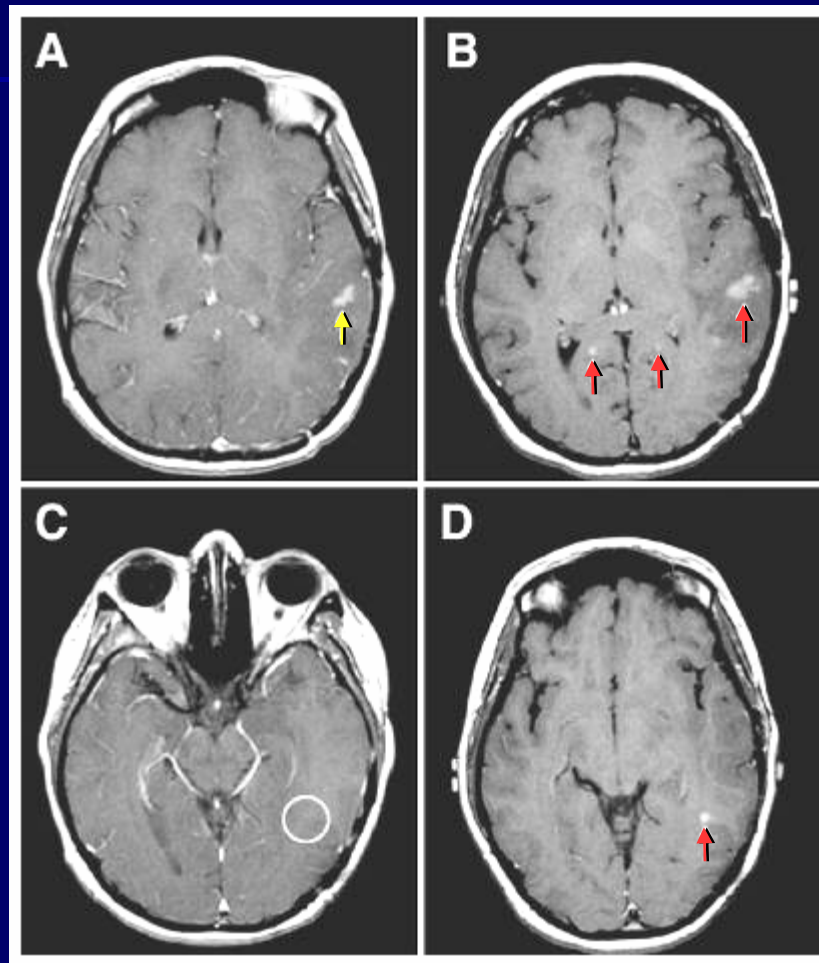
## Сосуды



## Развитие отека



# Повышение чувствительности контрастной магнитно-резонансной томографии с помощью суперпарамагнитных наночастиц оксида железа



Контрастирование  
гадолинием

Контрастирование  
наночастицами

*Neuwelt EA et al,  
Neuropathol Appl Neurobiol  
30:456–471,2004.*