

# ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ НАУКИ

Известия ТСХА, выпуск 1, 2010 год

УДК 573.6 - 022.532

Нанобиотехнологии. Основные направления развития

В.И. ГЛАЗКО, Т.М. МИНИНА, Т.Т. ГЛАЗКО

(Центр нанобиотехнологии, кафедра генетики и разведения животных)

**Представлено обсуждение современных направлений развития нанобиотехнологий. Особое внимание уделено вкладу нанобиотехнологий в формирование геномики. Обсуждаются методы и результаты исследований в структурной и функциональной геномике. На основании собственных и литературных данных обсуждаются связи между микро- и наноуровнями организации и функциональной активности генетического материала на примере некоторых видов.**

**Ключевые слова:** нанобиотехнологии, наночипы, ДНК-микроматрицы, структурная и функциональная геномика.

В современном мире темпы развития научных исследований стирают временные сроки между открытием новых фундаментальных явлений и их практическим использованием. Считается, что нанотехнология — это начало Третьей Мировой научно-технической революции (НТР-3) — появления новой реальности, которая меняет облик мира в XXI веке. Мир наноструктур (наномир) подразумевает мир объектов или связанных структур, имеющих характерные размеры от долей нанометра до сотен нанометров. «Нано-» означает десять в минус девятой степени, т.е. миллиардные доли метра — размеры нанообъектов. Нижняя граница определяется классическим радиусом атома порядка 0,1 нанометра ( $0,1 \text{ нм} = 1 \text{ \AA}$ , т.е. одного Ангстрема, — единицы длины порядка размера одного атома), верхняя — размерами до 0,1 микрометра ( $100 \text{ нм}$ ;  $0,1 \text{ мкм} = 10^{-7} \text{ м}$ ), т.е. размером биомолекул, при которых утрачивается специфика поведения и свойств наночастиц [1]. Термин нанотехнология впервые был использован японским учёным

Н. Танигучи в 1974 г. на конференции Японского общества точного машиностроения [1]. Широко термин Nanotechnology — нанотехнология ввёл Эрик Дрекслер, напечатав в 1986 г. книгу «Машины созидания. Грядущая эра нанотехнологии» [2]. Ранее принципиальное значение малоразмерных объектов показано в 1959 г. лауреатом Нобелевской премии физиком-теоретиком Ричардом Фейнманом при обсуждении проблем миниатюризации в лекции «Внизу полным-полно места: приглашение в новый мир». В ней он подчёркнул актуальность работ в этой области, отмечая при этом, что законы физики не запрещают конструирование на атомно-молекулярном уровне. Теперь ясно и показано, что переход от макро- к наноразмерам приводит к появлению качественных изменений физико-химических свойств различных соединений и получению на их основе наносистем. Нанотехнология обещает проникнуть во все сферы деятельности человека, кардинально изменить производство, экономику и жизнь в целом, подобно тому, как

это случилось в результате информационной и компьютерной революции в конце XX века. Однако по всем признакам и прогнозам последствия нанотехнологической революции будут еще обширнее и глубже. Современные темпы развития научных исследований практически стирают грани и сроки между открытием новых явлений и их практическим использованием. Фундаментальные исследования в области нанотехнологии направлены на решение определённых практических задач. Ясно и другое, что конкретные прикладные применения нанобиотехнологий невозможны без фундаментальных научных исследований. Возникновение и развитие наноинженерии отвечает современному развитию естествознания.

Основные приоритеты развития нанобиотехники и наномедицины определяют по следующим направлениям работ [1, 3~8, 14-17]: биологические наночипы для диагностики соматических и инфекционных заболеваний, в т.ч. для видовой идентификации возбудителей особо опасных инфекций и токсинов; медицинские нанороботы, способные устранять дефекты в больном организме путем управляемых нанохирургических вмешательств; молекулярные детекторы для секвенирования генома на основе неорганических нанопор; саморазмножающиеся геномы, применимые в области биотехнологии и медицины с целью производства лекарств, проведения фармакологического скрининга и моделирования патологических процессов; биосовместимые наноматериалы широкого спектра применения (в т.ч. для создания искусственных органов, принципиально новых типов перевязочных материалов с антимикробной, противовирусной и противовоспалительной активностью).

Важнейшей задачей нанобиотехнологии является создание средств доставки терапевтических препаратов в определённые виды клеток. Это на-

частицы как лекарственные препараты нового поколения, а также как контейнеры для адресной доставки лекарств в клетки-мишени. В частности, необходимо создание методов введения в клетки ДНК и РНК для развития быстро развивающейся генотерапии. Разработаны новые подходы к доставке РНК и ДНК, основанные на биотехнологических подходах. Для стимуляции связывания нуклеиновых кислот с клетками предложено формировать из них комплексы, представляющие собой наноразмерные частицы. Такие частицы формируются за счёт нековалентных взаимодействий нуклеиновых кислот между собой и катионными полимерами. Частицы эффективно связываются с клеточной поверхностью, что способствует их успешному поглощению клеткой. Эти исследования открывают возможность создания действенных методов генотерапии.

Нанобиотехнологии — прогрессирующая область научных интересов создания новых методов познания биологических систем на основе конструирования структур в нанометровом диапазоне. Переход от макро- к наноразмерам приводит к появлению качественных изменений физико-химических свойств различных соединений и получению на их основе наносистем. Нанобиотехнологии можно применять не только для создания новых материалов. На основе биомолекул возможно создание «биомашин», различных устройств и сенсоров. В области разработки молекулярных машин активно ведутся исследовательские работы. Доказано, что можно сделать движущиеся наноструктуры, «шагающие роботы», выполненные из молекул ДНК. Они способны двигаться в определённом направлении по молекуле ДНК при подведении к ним энергии. Достижения нанобиотехнологии особенно важны для разработки новых методов биодиагностики, основанной на применении наноча-

стиц для специфической детекции в биоаналитических и клинических направлениях. Получены материалы с наночастицами серебра, обладающие антибактериальными свойствами. Применимы в медицине для борьбы со стафилококками и другими бактериями в виде красок, бесхлорных средств дезинфекции, перевязочных материалов, лака для покрытия катетеров и т.д. Белье из такого материала может носиться в течение длительного времени без стирки. Такие материалы используют в сельском хозяйстве, например в доильных аппаратах, решают проблему загрязнения фильтров любых кондиционеров. Разрабатываются материалы для клеточных технологий; создаются биосовместимые полимеры, синтетические, например, полиэтилентерефталат (лавсан), политетрафторэтилен (тефлон) или биodeградируемые — природные (хитозаны, ацетилцеллюлоза и др.) и бактериального (полиоксиалканоаты) происхождения. Например, если тефлон подвергнуть ионно-плазменной обработке ионами  $CF_4$  и на его поверхности создать рельеф с заданной шероховатостью, то этот полимер после обработки приобретает абсолютно новые, уникальные свойства. Так, если среднеквадратическое отклонение высоты полученных в результате обработки микронеровностей свыше 10 нанометров, соблюдаются определенные соотношения между высотой и радиусом основания выступов, а также полярным и дисперсионным компонентами поверхностной энергии, то эта полимерная структура приобретает антибактериальную активность. Это значит, что можно обеспечить уменьшение в воздухе и различных средах концентрации патогенных бактерий (кишечной палочки, синегнойной палочки и др.) и патогенных грибов при контакте с пленкой, обработанной таким образом. Зависимость антибактериальной активности от геометрических и энер-

гетических параметров поверхности имеет пороговый характер. В России уже есть научно-практический задел по направлению использования наноматериалов для восстановления механических свойств зубной эмали [6]. Ведутся исследования и в области разработки технологии обработки поверхностей методом нанонапыления с целью придания им антибактериальных свойств.

Другое направление связано с созданием полифункциональных композитных материалов на базе интеграции синтетических и природных наноструктурированных полимеров, например, хитозана, и наноматериала в виде фуллерена  $C_{60}$ . Хитозан — полимер, обладает свойством биodeградировать, или растворяться в биологических средах. Фуллерены — это наноматериалы, представляющие собой аллотропную форму углерода. Фуллерен  $C_{60}$  обладает рядом уникальных свойств. Кроме хорошо известных электрофизических, оптических, адсорбционных и других полезных технических свойств фуллерена особое место занимает возможность его применения в биологической и медицинской химии. Разнообразие технологий производства фуллеренов и их производных позволяет планировать в рамках программы существенное расширение спектра применения наночастиц как лекарств. Создание математических моделей для прогнозирования биологической активности, формулирование требований к производственным технологиям и в итоге получение наночастиц с заданными лекарственными свойствами.

Интеграция двух нанобиоматериалов позволяет существенно расширить их области применения путем создания средств адресной доставки лекарственных препаратов. Например, к молекулам фуллерена  $C_{60}$  с помощью химической реакции присоединяют порфирин, используемый

в фотодинамической химиотерапии, наносят диадку фуллерен-порфирин на наноструктурированный полимер, например, хитозан, и с применением лапароскопической техники проведения операций вносят непосредственно в область опухоли. После облучения лазером порфирин разлагается с образованием радикала, уничтожающего раковые клетки, а хитозан постепенно растворяется в средах организма. Помимо противоопухолевого действия этот нанокompозитный биоматериал обладает антибактериальными и иммуномодулирующими свойствами.

Другое направление исследований связано с созданием биокерамического матрикса из смеси хитозана с керамикой. Работы ведутся в направлении определения параметров поверхности для оптимизации скорости роста клеток на поверхности матрикса, а также связаны с исследованием параметров поверхности полимерной пленки хитозана, полученной с использованием ионно-плазменной обработки. Новые фармацевтические препараты, основанные на достижениях нанохимии и биотехнологии позволят создавать новое поколение нейростимуляторов и высокоэффективных аэрозольных спецсредств различного назначения.

Создаются молекулярные детекторы на основе нанопор. Данная категория молекулярных детекторов выделена в отдельную группу в связи с ее значимостью для решения задачи прочтения индивидуальных геномов. Регистрация прохождения молекулы через нанопору достигается за счет изменения электрических характеристик между поверхностями пенетрируемой поверхности (более грубый вариант детекции) либо между подведенными к нанопоре нанoeлектродами. При последнем способе регистрации чувствительности детектирования достаточно для того, чтобы различать разные типы нуклеотидов в составе

цепочки ДНК. При этом чтение последовательности нуклеотидов происходит со скоростью в сотни тысяч раз быстрее, чем при использовании стандартных методов секвенирования ДНК.

Интенсивно ведутся работы в области наносенсоров (НК-зависимых переключателей, молекулярных сенсоров, сенсоров на основе гибридных конструкций, которые состоят из нуклеиновых кислот и белка). Считается, что они найдут широкое применение в молекулярной диагностике. Создано множество диагностических систем для медицины, основанных на олигонуклеотидах, самособирающихся в комплекс на анализируемой ДНК, получены патенты на такие системы и ДНК-чипы.

Разработаны наноразмерные неорганические структуры — «квантовые капли», которые за счёт квантовых эффектов окрашены в различный цвет и используются как спектральные метки для диагностических систем.

Фосфолипидные наносистемы применяются для введения лекарственных соединений и вакцин. Одним из способов создания лекарственных средств нового поколения стало снабжение их системами доставки, обеспечивающими пролонгированное поступление лекарственных веществ в определенные органы и клетки-мишени. Разработана и сертифицирована фосфолипидная наносистема с диаметром наночастиц от 25 до 50 нм (фосфоглив для внутривенных инъекций). Направленный транспорт лекарств в очаг развития патологического процесса позволяет добиться повышения эффективности уже существующей лекарственной терапии. Мировой объем продаж лекарств с модифицированной системой доставки в настоящее время составляет 20% от общего объема рынка фармпрепаратов.

Реализуется мечта Ричарда Ф. Фейнмана, предсказавшего, что че-

ловечество сможет конструировать материальный мир вокруг себя по собственному усмотрению, разъединя и соединяя атомы, как болты и гайки, как давно реализуются в автотехнологии, авиастроении, медицине [9]. С помощью таких технологий создаются особо прочные и особо тонкие материалы, которые трудно или невозможно создать в обычных условиях. Но только в 1982 г. появился патент на сканирующий туннельный микроскоп (СТМ), позволивший не только увидеть атомы, но и манипулировать ими.

В настоящее время наиболее развитые разделы нанобиотехнологии — это расшифровка геномов различных организмов, в т.ч. и человека; геновая инженерия, т.е. изменение генетических свойств путем замены отдельных генов и нуклеотидов в молекуле ДНК; использование органических молекул в чипах для электроники; внутриклеточные манипуляции и многое другое.

Наиболее безопасные, практически важные направления, которые развиваются в области нанобиотехнологий в последнее время, относятся к разработкам методов секвенирования и выявления полиморфизма геномов [4]. Это позволяет вести поиск белкомаркеров патологических состояний, разрабатывать новые технологии повышения концентрационной чувствительности и производительности молекулярной диагностики. Нанобиотехнологии вносят существенный вклад в развитие методов оценки биобезопасности генно-модифицированных продуктов, в создание новых поколений лекарств, а также оптимизации методов геномной терапии.

Одним из развитых направлений нанотехнологий являются биочиповые технологии или ДНК-микроматрицы, без которых современная биология и медицина уже не могут существовать. Это имеет большое значение для секвенирования и изучения полиморфизма геномов. ДНК-чипы (биочипо-

вая технология) — современная нанотехнология анализа генетического материала, позволяющая проводить скрининг сложных смесей нуклеиновых кислот. Это индустрия высоких технологий, базирующаяся на современных достижениях химии, биологии, физики, микроэлектроники, информатики и других отраслей знаний. Биочип представляет собой пластинку, несущую на своей поверхности множество различных зондов — фрагментов нуклеиновых кислот или олигонуклеотидов, размещённых в определённом порядке. С помощью такого чипа можно наблюдать за структурой (геномикой) и функционированием (функциональная геномика) всех генов в организме человека — всё это уже делается в лабораториях. Практически для медицинских целей необходимы упрощённые варианты чипов: для обнаружения разных вирусов и патогенных микроорганизмов.

Микроматрицы ДНК — техническое достижение в цепочке методов нанобиотехнологий, использующих принципиальное свойство дуплекса ДНК — комплементарность последовательностей двух цепочек. Одним из разработчиков методов создания и использования микроматриц является А.Д. Мирзабеков [10].

Микроматрицы (микрочипы), содержащие тысячи иммобилизованных фрагментов нуклеиновых кислот, доступных для исследований, являются основой развития новой области молекулярной генетики — геномики, науки о геноме. Очевидно, что фундамент этой новой науки составляют: определение первичных последовательностей ДНК, их физическая упорядоченность в геномах, размах и закономерности их полиморфизма, скорость эволюции.

Развитие методов использования микроматриц позволяет создавать ДНК диагностикумы для выявления мутаций в структурных генах, которые ассоциированы с различными

заболеваниями, а также интегрированного в геном различных видов животных генетического материала патогенных агентов. В недавно проведенном исследовании участка генома человека длиной в  $2,3 \times 10^6$  п.н. были обнаружены 2 тыс. сайтов полиморфизма на уровне нуклеотидных замен (single-nucleotide polymorphism, SNP), что позволяет представить масштабы генетической изменчивости в популяциях человека. В 2006 г. была создана карта хромосом человека, на которой представлены районы полиморфизма по дупликациям участков ДНК [1, 11]. Оказалось, что такие районы занимают почти 12% всего генома. Они содержат сотни генов, регуляторных последовательностей и других генетических элементов. Выявлено большое количество (~5%) протяженных блоков ДНК, имеющих в различных областях генома почти идентичные копии. Такие блоки названы сегментными дупликациями (СД) или дубликонами, хотя число их копий в геноме часто превышает 2.

Технология микрочипов ДНК позволяет осуществлять мониторинг экспрессии большого количества генов и изучать профили генной экспрессии различных клеточных популяций, на разных стадиях развития, цитодифференцировки и органогенеза (expression profiling). С этой целью для генов с известными последовательностями нуклеотидов создается микроматрица сегментов кДНК длиной 0,5-1,0 т.п.о. Из анализируемых образцов (например, опухоли и здоровой ткани) выделяют суммарную мРНК, которую с помощью обратной транскрипции превращают в кДНК, метят флуоресцентными красителями и используют для последующей конкурентной гибридизации с фрагментами известных генов, нанесенными на микроматрицу. Интенсивность флуоресценции отдельных элементов микроматрицы после образования гибридов позволяет качест-

венно характеризовать различия в уровнях экспрессии конкретных генов в анализируемых образцах. Например, отсутствие конкуренции за образование гибридов со стороны кДНК нормальной ткани может говорить о транскрипции в опухоли новых генов, не экспрессирующихся в нормальных клетках.

Использование технологии ДНК-микроматриц позволяет одновременно осуществлять мониторинг нуклеотидных последовательностей большого количества генов, оценивать активность их транскрипции (профили генной экспрессии). Особую важность эти методы имеют для поиска генов, транскрипция которых вносит определяющий вклад в формирование желательных хозяйственно ценных признаков, а также патологических фенотипов при ряде заболеваний у с.-х. видов животных.

Исследования профилей генной экспрессии в различных органах (транскриптомный фенотип органа) позволяет выявлять гены и контролируемые ими метаболические пути, изменение в работе которых может быть тесно связано с формированием различных фенотипических характеристик. Для того, чтобы иметь возможность надежно типировать работу таких «критических» генов для разных фенотипов необходимо создание базы данных о межорганных особенностях профилей генной экспрессии у животных, которых условно можно отнести к физиологической норме. Такая база может в дальнейшем служить в качестве исходного контроля, по отношению к которому будут рассматриваться взаимосвязи между изменениями экспрессии «критических» генов транскриптомного фенотипа органов и фенотипической изменчивостью различных морфофизиологических характеристик животных.

В этой связи нами выполнен сравнительный анализ у свиней профилей

генной экспрессии двух органов, печени и почек, имеющих определенную близость ранних этапов гистогенеза и вносящих определяющий вклад в контроль биохимического гомеостаза многоклеточных организмов.

Важно подчеркнуть, что, несмотря на широкую распространенность использования ДНК-микроматриц для анализа профилей генной экспрессии, метод имеет ряд недостатков, которые могут приводить к ошибочным результатам. Источники таких ошибок остаются недостаточно исследованными до сих пор. Один из таких источников, который широко обсуждается в литературе, — проблема перекрестной гибридизации. В наших исследованиях [16] с использованием ДНК-микроматриц выполнен сравнительный анализ экспрессии ряда генов в печени и почках свиней. Показано, что отличия в профилях генной экспрессии между клетками почек и печени свиней соответствуют межорганным функциональным и гистологическим различиям.

Суммарный сравнительный анализ различий в интенсивности экспрессии генов в печени и почках, отличавшихся по уровню экспрессии более чем на 20000 условных единиц свечения, позволил выявить 40 генов, экспрессия которых была существенно выше в клетках почек, чем печени. Больше половины из них являются генами, продукты которых относятся к белкам-рецепторам или транспортерам, включенным в плазматическую или митохондриальную мембраны, представляющим сигнальную систему клетки и непосредственно участвующим в ионном обмене между внеклеточным пространством и цитоплазмой, а также между цитоплазмой и внутренним матриксом митохондрий.

Продукты 10 генов относятся к факторам регуляции транскрипции и убиквитин-зависимого каскада, 3 гена кодируют белки рибосом и 1 ген — субъединицу динактинового комплек-

са, непосредственно участвующего в контроле цитокинеза. В общем, основные отличия в профилях генной экспрессии между клетками почек и печени оказались связанными с генами, контролирующими меж- и внутриклеточный ионный обмен, а также механизмы клеточного деления. Это хорошо согласуется с доминирующим участием почек в поддержании ионного баланса в крови млекопитающих по сравнению с печенью, а также с известными отличиями морфологии митохондрий в клетках печени и почек, сниженной активностью цитокинеза в печени (полиплоидизацией гепатоцитов). Таким образом, выявленные отличия в профилях генной экспрессии клеток почек и печени соответствуют функциональным и гистологическим особенностям этих органов.

Полученные данные наглядно демонстрируют возможности использования ДНК-микроматриц для глубоких исследований закономерностей формирования клеточного и органного фенотипов. Такие исследования позволяют выявлять генетико-биохимические молекулярные основы формирования органоспецифических фенотипов, выявлять гены, вносящие в их специфику определяющий вклад и, соответственно, разрабатывать экспериментальные подходы к его контролю и управлению клеточными, органными фенотипами. Важно, по нашему мнению, также учитывать возможные источники ошибок при оценке экспрессии генов, принадлежащих к генным суперсемействам, обусловленные «перекрестной» гибридизацией одной пробы с разными кДНК транскриптов, с перекрывающимися последовательностями внутри транскрипта, одного транскрипта с разными пробами [16].

Изучение изменений профилей генной экспрессии широко используется для выявления генных ансамблей, транскрипция которых меняется в ответ на различные регуляторные воз-

действия, в частности, при индукции клеточного деления и прохождении различных стадий клеточного цикла, на регуляторы клеточной дифференцировки, индукторы запрограммированной клеточной гибели. Помимо известных генов в мониторинг иногда включают и случайные клоны кДНК, что позволяет идентифицировать новые гены, экспрессия которых ассоциирована с патологическими состояниями органов и тканей. С использованием микроматриц кДНК в современный анализ могут быть одновременно включены до 10 тыс. экспрессирующихся генов.

Другими авторами выполнены сравнения экспрессии 20 тыс. генов в опухоли простаты и нормальном эпителии. Выявлены 40 генов (0,2%), экспрессия которых существенно отличалась от нормы, причем обнаружено, что среди этих генов присутствуют и уже известные по своему участию в канцерогенезе и в других опухолях [10]. Очевидно, что лишь немногие заболевания возникают в результате повреждения отдельных конкретных генов. В большинстве случаев приходится говорить о предрасположенности к заболеванию в связи с наличием в геноме конкретной мутации. Сопоставление генетической информации, получаемой при использовании микроматриц ДНК, с результатами статистического анализа возникновения, протекания и исхода заболеваний, может дать ключ к правильной интерпретации результатов генетического скрининга геномов. Возможность одновременного наблюдения за изменением экспрессии очень большого числа генов в строго контролируемых условиях открывает новые перспективы функционального исследования генома как единого целого. Таким образом, несмотря на большие методические трудности и дороговизну, микроматрицы ДНК находят свое применение как в фундаментальных исследованиях, так и в решении прикладных задач [10].

Основные проблемы при использовании этих методов в ограничении по чувствительности обнаружения гибридационных сигналов и по специфичности гибридизации, трудности в количественной оценке сигналов и обработке большого количества получаемых данных с целью их интерпретации, а также высокая стоимость микрочипов ДНК.

Создание генетических деталей (BioBricks) уже поставлено на поток. Ведущим центром по изготовлению структур из ДНК является лаборатория Э. Уинфри [12]. «В каждой детали — копии одного из сегментов ДНК, которые или сами выполняют какую-либо функцию, или могут использоваться клеткой для синтеза белка. Очень важно, чтобы каждая деталь была тщательно подогнана таким образом, чтобы взаимодействовать с другими на двух уровнях». Первый уровень — чисто механический. BioBricks можно создавать и хранить по отдельности до поры до времени, а потом соединять друг с другом и получать крупные сегменты ДНК. Второй уровень — функциональный, каждый элемент способен посылать и принимать биохимические сигналы от своих партнеров. Все это позволяет изменять поведение конструкции, просто заменяя те или иные детали. Взаимозаменяемые компоненты устройств широко применяются при обычном конструировании.

В наших исследованиях выполнен сравнительный анализ спектров продуктов амплификации участков геномной ДНК, фланкированных инвертированными повторами нуклеотидных последовательностей (AG)<sub>9</sub>C и (GA)<sub>9</sub>C, у представителей *Vovinae* (крупный рогатый скот, зубр, бизон) и *Sarginae* (породы домашней овцы, снежный баран) [15]. Получены данные о присутствии в геномах исследованных видов участков ДНК, высококонсервативных по своей длине не только в пределах видов одного подсемейства, но и между предста-

вителями Bovinae и Caprinae. Это свидетельствует о неслучайном позиционировании инвертированных повторов коротких динуклеотидных пуринов в геномах рассмотренных видов. Нами выполнен также сравнительный анализ полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных терминальными участками ретротранспозон подобных элементов семейства R173 у ряда сортов риса и пшениц. Выявлены отличия по распределению и полиморфизму таких участков, свидетельствующие об особенностях их взаимного позиционирования [14]. Полученные данные свидетельствуют о кластеризации ретротранспозон подобных элементов, причем такая кластеризация более стабильна у сортов риса по гомологичным элементам по сравнению с отличающимися в геномах пшениц. Результаты выполненного анализа свидетельствуют об отсутствии равновероятного распределения разных ретротранспозон подобных элементов, принадлежащих к семейству R173, по длине геномов. Полиморфные полилокусные спектры, удобные для решения ряда прикладных задач в генофондных исследованиях культурных растений, могут быть получены с использованием маркеров, основанных на оценке полиморфизма участков ДНК, связанных с кластерами разных ретротранспозон подобных элементов. Наблюдаемая кластеризация ретротранспозон подобных элементов согласуется с наблюдениями Лима де Фария о неслучайности чередования гетерохроматиновых блоков по длине хромосом у ряда видов растений, позволившая ему сформулировать гипотезу о «хромосомных полях», благодаря которым нуклеотидные последовательности и скопление различных семейств повторов, включая центромерные и теломерные, непосредственно связаны с морфологией хромосом, «хромосомным фенотипом».

В последние годы накоплено много данных, подтверждающих эту

гипотезу о тесной связи между молекулярной структурой материала наследственности и морфологией хромосом. К таким данным относятся факты неслучайного распределения ретротранспозонов по длине хромосом *Arabidopsis*, а также ряда видов грибов; неслучайная локализация семейств ретротранспозонов в центромерных районах некоторых видов растений, в частности, кукурузы, локализация ретротранспозонов в теломерных районах хромосом. С представлением о взаимной детерминированности микро- и наноуровневой организации генетического материала хорошо согласуются данные об участии механизмов ретровирусной экспансии в возникновении самой линейной хромосомы эукариот, ее теломерных и центромерных структур. В связи с этим очевидно, что оценка геномных полиморфизмов должна выполняться с учетом принадлежности молекулярно-генетических маркеров к семействам различных геномных элементов, имеющих неслучайное распределение по длине хромосом, структурно-функциональную организацию, а также закономерности консервативности/полиморфизма и эволюции. Использование для генофондных исследований только определенных типов молекулярно-генетических маркеров может приводить к существенному искажению результатов генофондных сравнений при экстраполяции получаемых данных на геномную изменчивость. Подчеркивается необходимость при генофондных исследованиях учитывать принадлежность молекулярно-генетических маркеров к различным семействам геномных элементов, отличающихся своей локализацией, структурно-функциональной организацией, консервативностью/полиморфизмом и эволюцией [14].

Предполагается, что объем рынка нанотехнологий через 10—12 лет сравняется с рынком информационных технологий, а потом и обгонит

его. Нанотехнологии признаны основной движущей силой науки и техники XXI века. К 2015 г. мировой рынок продукции нанотехнологий составит, по оценкам экспертов, триллион долларов, а потребность в специалистах — два миллиона человек. Реальная цифра может оказаться больше или меньше, но объективные тенденции свидетельствуют, что доля рынка любого назначения будет неуклонно возрастать. Важно отметить ещё одну особенность, связанную с развитием нанонауки, — её междисциплинарность. Здесь тесно переплетаются интересы, подходы и методы исследований физики, химии, биологии и материаловедения. Успешное развитие различных направлений нанонауки в условиях подобной многоплановости предполагает организацию сотрудничества учёных разных специальностей в рамках единой общей задачи или программы. Междисциплинарность нанонауки требует изменения и совершенствования обучения и подготовки специалистов для работы в новом направлении, которое будет определять развитие естествознания в XXI веке. Примером служит созданная база данных о 160 проектах использования нанотехнологий в сельском хозяйстве, под эгидой организации ФАО, которых она финансировала и разрабатывала [13]. Большинство из них связано с пищевой промышленностью, с использованием наноматериалов для упаковки пищи или определения и, в отдельных случаях, нейтрализации опасных токсинов, аллергенов или патогенов. Развиваются проекты по созданию и улучшению пищевых добавок. Например, получение растительного масла с нанодобавками, которые вызывают кластеризацию жирных кислот и препятствуют поступлению холестерина в кровь млекопитающих. Или добавки, которые делают шоколад более мелкодисперсным. Другая группа про-

ектов направлена на развитие более эффективных и средосберегающих агротехнологий. Например, использование наноматериалов для очистки воды в агроэкосистемах. Или их применение для конвертирования отходов растениеводства в этанол. Проводится разработка проектов с использованием наноматериалов для более точной и безопасной доставки пестицидов и удобрений к биологическим мишеням. В животноводстве разрабатывают методы использования нанодобавок в целях уменьшения доз ростовых факторов и гормонов, нейтрализации патогенов на ранних стадиях их контакта с животными.

В этих проектах используется ряд следующих технологий. Транспортные процессы — наноматериалы как агенты транспорта химических соединений, молекул и т.д. Биоселектирующие поверхности — наноматериалы с увеличенной или сниженной способностью связываться со специфическими молекулами или организмами. Биоразделение — наноматериалы или нанопроцессы, которые способствуют разделению молекул, биомолекул, или организмов. Микропотоки — потоки в наномасштабе, которые используются для разделения, контроля или анализа состава, состояния свойств исследуемых объектов. Микроэлектромеханические системы входят в эту категорию. Они позволяют исследовать каналы и поверхности, потоки вещества через них. Нанобиопроцессинг — использование нанотехнологий или биотехнологических процессов для создания веществ с желательными свойствами. Биоинженерия нуклеиновых кислот — использование ДНК как блоков для формирования наночастиц или использования наночастиц для генной инженерии. Адресовка веществ — использование наноматериалов для доставки веществ к клеткам-мишеням у животных. Моделирование — использование нанотехнологий

для построения моделей наноматериалов и их применения в сложных системах.

По направлению исследований выделяются следующие проекты:

- Биосенсоры — использование нанотехнологий для контроля биологических процессов или биомолекул, или для определения биомолекул, биохимических процессов, или организмов.

- Защита окружающей среды («зеленая» инженерия) — использование нанотехнологий для изучения состояния окружающей среды, удаления загрязнителей, ремедиации или уменьшения отходов. Включает также изучение средовых эффектов наноматериалов.

- Устойчивое сельское хозяйство — использование нанотехнологий для уменьшения его разрушающего действия на окружающую среду, питьевую воду (например, пестициды) для получения конечной продукции менее энергоемким путем.

- Определение патогенов — использование нанотехнологий для определения патогенов в окружающей среде, в организмах животных, растений, кормах, конечной с.-х. продукции.

- Растениеводство/животноводство — использование нанотехнологий для улучшения воспроизводства и селекционной работы с культурными растениями и животными, включая методы трансгеноза или клонирования; для повышения устойчивости растений к сорнякам и вредителям, гербицидам и инсектицидам, температурам, засухе и другим неблагоприятным факторам окружающей среды, а также для использования растений в целях получения биотоплива (рапс, кукуруза, подсолнечник, сахарный тростник).

- Низкотемпературная досушка с обеззараживанием зерна и плодов.

- Ветеринарная медицина — использование нанотехнологий для улучшения здоровья животных, без-

опасности пищевой животноводческой продукции, формирования микроклимата, озонирования.

- Пищевые биопереработки — использование нанотехнологий для повышения питательной ценности, улучшения технологий переработки пищи и улучшения ее качества, обеспечения потребностей диетического питания, а также для методов ультрафильтрации, позволяющих управлять цветом, ароматом и другими свойствами конечной продукции.

- Нано-биопромышленные продукты — использование нанотехнологий для получения продуктов, необходимых для промышленности (например, энергоисточники) из с.-х. видов, их продуктов или отходов их разведения.

- Сельскохозяйственная техника — нанопорошковые материалы, повышающие ресурсы машин (увеличение стойкости к температуре, влаге, износу и т.д.); упрочнение режущих элементов; нанодобавки к шинам, маслам; уменьшение вредных выбросов.

- Наноэлектробиотехники — использование наночастиц для модификации биологических и физиологических процессов на уровне клетки за счет воздействия электронов, протонов, ионов, фотонов; оптическое излучение (УФ) на с.-х. объекты.

- Наномембраны и пленки — светотрансформирующие пленки, мембраны для очистки воздуха, воды, опреснения морской воды; пленки с наночастицами серебра для бактерицидных фильтров, в т.ч. для молочной промышленности, а также как элемент упаковочного материала; использование силатранов, кремнийорганических биостимуляторов — биологически активных соединений, созданных на основе кремния; разработка самоочищающихся кремниевых мембран.

Из анализа работ ясно, что фундаментальные исследования должны быть направлены на решение опреде-

лённых практических задач. Одновременно совершенно ясно и другое: конкретные прикладные применения невозможны без серьёзных и глубоких, чисто научных исследований. Возникновение и развитие нанонауки требование времени и отвечает современному развитию естествознания.

Объём современных ежегодных инвестиций в реализацию Третьей Научно-технической революции можно оценить в 20~50 млрд долл. Ожидается, что именно реализация ее достижений и будет лежать в осно-

ве устойчивого развития, декларированного на Всемирной встрече на высшем уровне, проведённой под эгидой ООН в Иоганнесбурге (ЮАР) 26 августа - 4 сентября 2002 г. Принятая на этом саммите Декларация глав государств заканчивается словами: «Мы торжественно обязуемся перед народами мира и перед поколениями, которые неизбежно унаследуют нашу Землю, решительно действовать для обеспечения того, чтобы наша общая надежда на устойчивое развитие сбылась» [7].

### Библиографический список

1. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику, биоинформатика, ДНК-технология, генная терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболика. Киев: КВИЦ, 2003.
2. Глазко В.И., Белопухов С.Л. Нанотехнологии и наноматериалы в сельском хозяйстве. Под ред. В.М. Баутина. М.: Издательство РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева. М., 2008.
3. Глазко Т.Т., Глазко В.И. Перспективы и ограничения использования нанотехнологий в геномных исследованиях / Материалы международной конференции «Нанобиотехнологии в сельском хозяйстве», М: ФГОУ ВПО РГАУ - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2008. С. 17-19.
4. Глазко В.И., Цветков И.Л., Созинова Л.Ф., Глазко Т.Т. Молекулярно-генетические маркеры полиморфизма ДНК и их геномное позиционирование // Докл. РАСХН, 2009. №3. С. 3-6.
5. Глазко В.И. Геномное распределение ISSR-маркеров (AG)<sub>n</sub>C и (GA)<sub>n</sub>C у видов Bovinae и Caprinae / Сельскохозяйственная биология, 2009. № 4. С. 31-35.
6. Мирзабеков А.Д. Биочипы в биологии и медицине XXI века// Вестник российской академии наук, 2003. Т. 73. № 5. С. 412-422.
7. Путилов А.В. О развитии работ в России в области наноматериалов и нанотехнологий. Журнал «Микросистемная техника», <http://www.microsystems.ru/files/publ/607.htm>
8. Фейнман Р., Лейтон Р., Сэндс М. Фейнмановские лекции по физике. М.: Мир, 1977.. <http://e-drexler.com/>
9. Drexler K.Er. Engines of creation. The Coming Era of Nanotechnology, pp.299, Anchor Books Double-day, New York, 1986., русский перевод см. <http://mikeai.nm.ru/russian/eoc/eoc.html>
10. Crucial physical and informational technologies, <http://e-drexler.com>
11. Glazko T.T., N.S. Khlopova, Fahrenkrug S. Gene expression profiles in liver and kidney of pig // Izvestia of Timiryazev-academy. Moscow, 2009. Special Issue. P. 55-60.
12. Kuzma J., VerHage P. Nanotechnology in agriculture and food production: anticipated applications — Project on Emerging Nanotechnologies supported by THE PEW CHARITABLE TRUSTS — Washington, One Woodrow Wilson Plaza, 2006. 44 p., web-address [www.wilsoncenter.org/nano](http://www.wilsoncenter.org/nano); [www.nanotechproject.org](http://www.nanotechproject.org).
13. Redon R., Ishikawa S., Fitch K. et al. Global variation in copy number in the human genome//Nature, 2006. Vol 444, N. 05329. P. 444-454.

14. *Roco M.C.* Government Nanotechnology Funding: An International Outlook, <http://www.nano.gov/html/res/IntlFundingRoco.htm>
15. *Zhirnov V.V.,Kavin R.K., Hutchby J.A.,Bourianoff G.I.* Limits to Binary Logic Switch Scaling-A Gedanken Model. Proc. of the IEEE, vol.91, No.11, Nov.2003, pp. 1934-1939.
16. [http://www.un.org/russian/conferen/wssd/docs/decl\\_wssd.pdf](http://www.un.org/russian/conferen/wssd/docs/decl_wssd.pdf)
17. <http://www.dna.caltech.edu/>

*Рецензент* — к. с.-х. н. М.С. Раскин

#### SUMMARY

Review of modern directions in nanobiotechnology development was presented. Special consideration is given to the contribution of nanobiotechnologies in genomics formation. Methods and results of researches in structural and functional genomics have been analyzed. On the basis of both own and literary data the links between micro- and nanolevels in the organization and functional activity of genetic materials on the example of some species were discussed.

**Key words:** nanobiotechnologies, nanochips, DNA microarrays, structural and functional genomics.

**Глазко Валерий Иванович** — д. с.-х. н., РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.  
Эл. почта: [vglazko@yahoo.com](mailto:vglazko@yahoo.com)

**Минина Татьяна Михайловна** — Центр нанобиотехнологий РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.

**Глазко Татьяна Теодоровна** — д. с.-х. н., РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел. 976-34-34.