

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
**УЛЬЯНОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
Медицинский факультет им. Т.З. Биктимирова  
Кафедра анатомии человека

**УТВЕРЖДЕНО**  
решением Ученого совета Института  
Медицины, Экологии и Физической Культуры УлГУ  
от « 19 » июня 2019 г., протокол № 10/210  
Председатель \_\_\_\_\_ В.И. Мидленко  
*подпись, расшифровка подписи*  
« 19 » июня 2019 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ  
ПО ДИСЦИПЛИНЕ  
«НАНОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ»**

специалитета 31.05.01- Лечебное дело  
специалитета 31.05.02 - Педиатрия  
форма обучения: очная

Разработчик: Т.А. ИНДИРЯКОВА

Ульяновск, 2019

УДК  
ББК  
К

*Печатается по решению Ученого совета ИМЭиФК  
Ульяновского государственного университета*

**Рецензент – кандидат биологических наук, доцент О.А. Индирякова**

**Методические указания для студентов по дисциплине «Нанотехнологии в медицине»/** Сост.: Индирякова Т.А. - Ульяновск, УлГУ, 2019. – 16 с.

Методические указания подготовлены в соответствии с рабочей программой дисциплины «Нанотехнологии в медицине». В структуру методических указаний входят методические рекомендации для студентов по каждой изучаемой теме согласно плану аудиторных работ. Методические указания предназначены для студентов медицинского факультета, обучающихся по специальностям: 31.05.01 – Лечебное дело, 31.05.02 – Педиатрия.

© Индирякова Т.А. 2019

© Ульяновский государственный университет, 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

1. Цели и задачи освоения дисциплины.....	4
2. Требования к результатам освоения дисциплины.....	4
3. Список рекомендуемой литературы .....	5
4. Темы практических занятий.....	6
5. Перечень вопросов к зачету .....	14

## 1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

**Цель освоения дисциплины** – сформировать у студентов знания о сущности нанотехнологий с учетом медицинской направленности обучаемых, со спецификой нанобио- и бионанотехнологий.

### **Задачи освоения дисциплины:**

1. сформировать у студентов знания об основных направлениях нанотехнологий в медицине, основных объектах нанотехнологических разработок;
2. знать нанобиотехнологические процессы и их внедрение в разнообразные отрасли науки, медицины и фармакологии;
3. изучить классификацию и свойства наноструктурных материалов; особенности влияния наноматериалов на живые организмы.

## 2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Процесс изучения дисциплины «Нанотехнологии в медицине» направлен на формирование следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО:

- готовность решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, ... медико-биологической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности (ОПК-1);
- способность и готовность к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья и включающих в себя ... раннюю диагностику, ... направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания (ПК-1).

В результате изучения дисциплины студент должен:

### **знать:**

- основные направления нанотехнологий в медицине;
- методы получения наноструктур;
- свойства наноструктурных материалов;
- способы направленного транспорта лекарственных средств;
- принципы использования биочипов в биомедицинских исследованиях;
- основные достижения нанотехнологий в геномной, клеточной и тканевой инженерии;
- особенности влияния наноматериалов на живые организмы;

### **уметь:**

- уверенно ориентироваться в информационном потоке (использовать справочные данные и библиографию по проблеме);
- прогнозировать результаты биологических процессов, протекающих в живых системах, опираясь на теоретические положения;
- решать ситуационные задачи, опираясь на теоретические знания, законы, и закономерности биологических и генетических процессов, происходящих в живых организмах;

### **владеть:**

- научной, учебной и справочной литературой для поиска необходимой информации;
- основными понятиями нанотехнологий;
- системным и историческим подходами к изучению живых систем на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях их организации.

### 3. СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

#### а) Список рекомендуемой литературы

##### основная литература:

1. Нанотехнологии в медицине : учеб. пособие для вузов / под ред. В. И. Горбунова. - Ульяновск : УлГУ, 2010. - Загл. с экрана: Имеется печ. аналог. - Электрон. текстовые дан. (1 файл : 21,5 Мб ) Текст : электронный. - <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Download/MObject/6780>
2. Науменко В.Ю. Нанотехнологии в медицине [Электронный ресурс]: учебное пособие / В.Ю. Науменко, Т.А. Алексеев, А.С. Дмитриев. – М.: Издательский дом МЭИ, 2012. – 200 с. – ISBN 978-5-383-00731-0 – ЭБС «Консультант студента». Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785383007310.html>

##### дополнительная литература:

1. Биомедицинское материаловедение. Часть 1. Общие свойства материалов и их совместимость с биологическими средами [Электронный ресурс]: учебное пособие / С. П. Вихров, Т. А. Холомина, П.И. Бегун, П.Н. Афонин. – 2-е изд. – Электрон. текстовые данные. – Саратов: Вузовское образование, 2019. – 194 с. – 978-5-4487-0366-9. – IPRbooks [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система. Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/79749.html>
2. Биомедицинское материаловедение. Часть 2. Материалы для эндопротезирования и влияние полей на биосистемы [Электронный ресурс]: учебное пособие / С.П. Вихров, Т.А. Холомина, П.И. Бегун, П.Н. Афонин. – 2-е изд. – Электрон. текстовые данные. – Саратов: Вузовское образование, 2019. – 235 с. – 978-5-4487-0367-6. – IPRbooks [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система. Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/79750.html>
3. Гусев, А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. / Гусев А. И. - 2-е изд., испр. , - Москва : ФИЗМАТЛИТ, 2009. - 416с. - ISBN 978-5-9221-0582-8. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. – URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785922105828.html>
4. Валянский, С. И. Современные методы исследования наноструктур : метод оптической поверхностно-плазмонной микроскопии : учеб. пособие / С. И. Валянский, Е. К. Наими, под ред. Д. Е. Капуткина. - Москва : МИСиС, 2011. - 173 с. - ISBN 978-5-87623-460-5. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785876234605.html>
5. Атомно-силовая микроскопия в биомедицинских исследованиях : учеб. пособие / Н.И. Потатуркина-Нестерова, Е.С. Махмутова, Б.Б. Костишко, И.С.Немова ; УлГУ, - Ульяновск :УлГУ, 2017. - Загл. с экрана. - Электрон. текстовые дан. (1 файл : 4,42 МБ). –Текст : электронный.- <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Download/MObject/916>

#### б) Профессиональные базы данных, информационно-справочные системы:

##### 1. Электронно-библиотечные системы:

- 1.1. **IPRbooks** [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система / группа компаний Ай Пи Эр Медиа . - Электрон. дан. - Саратов , [2019]. - Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru>.
- 1.2. **ЮРАЙТ** [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система / ООО Электронное издательство ЮРАЙТ. - Электрон. дан. – Москва , [2019]. - Режим доступа: <https://www.biblio-online.ru>.
- 1.3. **Консультант студента** [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система / ООО Политехресурс. - Электрон. дан. – Москва, [2019]. - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/pages/catalogue.html>.

- 1.4. **Лань** [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система / ООО ЭБС Лань. - Электрон. дан. – С.-Петербург, [2019]. - Режим доступа: <https://e.lanbook.com>.
- 1.5. **Znanium.com** [Электронный ресурс]: электронно-библиотечная система / ООО Знаниум. - Электрон. дан. – Москва, [2019]. - Режим доступа: <http://znanium.com>.
2. **КонсультантПлюс** [Электронный ресурс]: справочная правовая система. /Компания «Консультант Плюс» - Электрон. дан. - Москва : КонсультантПлюс, [2019].
3. **База данных периодических изданий** [Электронный ресурс] : электронные журналы / ООО ИВИС. - Электрон. дан. - Москва, [2019]. - Режим доступа: <https://dlib.eastview.com/browse/udb/12>.
4. **Национальная электронная библиотека** [Электронный ресурс]: электронная библиотека. - Электрон. дан. – Москва, [2019]. - Режим доступа: <https://нэб.рф>.
5. **Электронная библиотека диссертаций РГБ** [Электронный ресурс]: электронная библиотека / ФГБУ РГБ. - Электрон. дан. – Москва, [2019]. - Режим доступа: <https://dvs.rsl.ru>.
6. **Федеральные информационно-образовательные порталы:**
  - 6.1. Информационная система [Единое окно доступа к образовательным ресурсам](http://window.edu.ru). Режим доступа: <http://window.edu.ru>
  - 6.2. Федеральный портал [Российское образование](http://www.edu.ru). Режим доступа: <http://www.edu.ru>
7. **Образовательные ресурсы УлГУ:**
  - 7.1. Электронная библиотека УлГУ. Режим доступа : <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Web>
  - 7.2. Образовательный портал УлГУ. Режим доступа : <http://edu.ulsu.ru>

#### 4. ТЕМЫ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

##### **ЗАНЯТИЕ 1. Исследование наноструктур методами сканирующей зондовой микроскопии.**

##### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Освоить методы работы сканирующих зондовых микроскопов, рассмотреть биообъекты – наночастицы, познакомиться с масштабом наномира.

##### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Инструменты нанотехнологий: электронный микроскоп, сканирующий зондовый микроскоп. Оптический пинцет.
2. Общие принципы работы сканирующих зондовых микроскопов.
3. Основные режимы работы атомно-силового микроскопа: контактный, бесконтактный и полуконтактный.
4. Биомедицинские приложения сканирующей зондовой микроскопии: наноскопия, нанодиагностика и нанотехнология.

##### **План занятия:**

1. Знакомство студентов с организацией учебного процесса и конечной целью изучения дисциплины, методикой работы на занятиях и самоподготовки во внеурочное время.
2. Объяснение материала по теме занятия.
3. Распределение индивидуальных заданий студентам на семестр.
4. Подведение итогов занятия.
5. Задание студентам на дом материала для самостоятельной подготовки и для повторения.

На занятии кратко рассматривается история развития сканирующей зондовой микроскопии. Рассказывается устройство, принцип действия и ограничения сканирующего туннельного микроскопа. Далее рассматриваются устройство и принцип действия сканирующего атомно-силового микроскопа. Затем рассматриваются основные типы сканеров, кантилеверов, применяемых в сканирующем зондовом микроскопе в контактном и бесконтактном режимах атомно-силовой микроскопии, другие параметры,

влияющие на качество получаемых изображений. Далее рассматривается применение сканирующего зондового микроскопа в исследованиях механических, магнитных свойств материалов. Обсуждается принцип работы, проблема топографических артефактов, качество получаемых изображений, требования к зондам. Рассматривается применение сканирующего зондового микроскопа в исследованиях электрических свойств материалов; в исследованиях оптических свойств материалов с помощью сканирующей зондовой микроскопии. На занятии рассматривается принцип действия и реализации сканирующей лазерной конфокальной микроскопии, сравнение с обычной оптической микроскопией, а также сканирующая оптическая микроскопия ближнего поля: преодоление оптического дифракционного предела, принцип действия, используемые типы зондов, основные режимы работы.

На занятии студенты должны освоить методы работы сканирующих зондовых микроскопов, рассмотреть биообъекты – наночастицы, познакомиться на практике с масштабом наномира. Одним из основных методов анализа наночастиц и наноматериалов, наравне со сканирующей зондовой микроскопией, является электронная микроскопия. Следует отметить, что методы получения контраста и физические основы электронной микроскопии принципиально отличаются от сканирующей зондовой микроскопии, что позволяет существенно расширить круг анализируемых параметров. После рассмотрения основных компонент электронного микроскопа следует основное внимание обратить на различие просвечивающего и сканирующего электронных микроскопов. Понимания темы на данном уровне достаточно для того, чтобы в дальнейшем при необходимости ориентироваться в огромном количестве методик, которые разработаны на базе электронных микроскопов.

Далее отмечаются основные отличия:

- Электронный просвечивающий микроскоп – работает в основном на просвет, соответственно анализируются исходные электроны, прошедшие через образец.
- Изображение объекта, как правило строится непосредственным проецированием прошедшего пучка на экран. Кроме того, в просвечивающем микроскопе достаточно часто применяются дифракционные методы структурных исследований.
- Сканирующий зондовый микроскоп построен на принципе сканирования сфокусированным электронным пучком по образцу и построения растрового изображения, показывающего распределение того, или иного сигнала, поступающего с установленного детектора. Прошедшие насквозь электроны в анализе не участвуют.

Существует достаточно большое количество методик детекции различных сигналов, например: интенсивность вторичных электронов, интенсивность обратнорассеянных электронов, Оже электронов и характеристического рентгеновского излучения.

Следует изучить вопрос о разрешении различных типов электронных микроскопов для того, чтобы иметь ясное представление о возможностях, которые они предоставляют, в частности, в сравнении с другими типами микроскопов.

На занятии внимание студентов обращается на основные требования к методам и средствам практической диагностики нанообъектов: высокое (атомное) разрешение; взаимодополнение; комплексная информация об основных физических, физико-химических и геометрических параметрах наноструктур и протекающих в них процессах; возможность регистрации электронных, оптических, магнитных, механических и иных свойств нанообъектов на наноскопическом уровне; неразрушающий характер; диагностика структур *in situ* (т.е. диагностика, встроенная в технологию).

Для диагностики нанообъектов применяются следующие методы: электронная микроскопия высокого разрешения, сканирующая зондовая микроскопия; различные методы спектроскопии; наноиндентирование и т.д. Основную роль в исследовании наномира играют методы сканирующей зондовой микроскопии – СЗМ (SPM, Scanning Probe Microscopy), создание которых послужило важнейшим стимулом для развития

нанотехнологий. Общим у методов зондовой сканирующей микроскопии является наличие зонда (заостренной иглы - алмазной, металлической, кремниевой, на основе углеродных нанотрубок - с радиусом при вершине ~10 нм) и сканирующего механизма – манипулятора, способного перемещать зонд над поверхностью образца в трех измерениях с высокой точностью – по нормали к поверхности образца до тысячных долей нанометра, в плоскости образца – на уровне сотых долей нанометра. В основе работы зондовых микроскопов лежат различные виды взаимодействия зонда с поверхностью. Важнейшим преимуществом СЗМ является их многофункциональность и возможность выполнять активные функции – конструирование наноструктур с заранее заданными свойствами путем реализации поатомной сборки. Таким образом, зондовые методы позволяют воплотить новую технологическую парадигму «снизу-вверх» и реализовать технологический цикл исследование → создание → контроль структуры на наноуровне.

## **ЗАНЯТИЕ 2. Наноматериалы: классификация и свойства.**

### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Изучить классификации и свойства наноматериалов, обратив особое внимание на наноматериалы, применяемые в медицине.

#### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Классификация наноматериалов на основе их формы, химического состава, способа получения.
2. Размерные эффекты.
3. Углеродные наноструктуры: фуллерены, графен, одно- и многостенные нанотрубки, нановолокна.
4. Области применения наноматериалов. Наноматериалы в медицине.
5. Биологическая активность наноматериалов.
6. Ранозаживляющая активность, регенерирующие и бактерицидные свойства наночастиц металлов (серебра, золота, магния, меди).
7. Магнитные наночастицы в биологических объектах.

На занятии вначале обсуждаются вопросы подходов к классификации наноматериалов: по геометрическим параметрам их структуры; по составу, распределению и форме структурных составляющих; по физическому принципу; по происхождению и топологии и т.д. Преподаватель обращает внимание студентов на существенные изменения свойств наноматериалов по сравнению с традиционными аналогами, которые связаны, в первую очередь, с особенностями их структурного состояния. Студенты должны уяснить, что при переходе от макрообъемов к нанообъектам происходит изменение соотношения поверхностных и объемных атомов материала, в связи с чем в наноматериалах (по сравнению с обычными материалами) изменяются многие фундаментальные характеристики, проявляется «аномалия» различных свойств – физических, химических, механических и т.д.

На занятии рассматриваются пять основных областей применения нанотехнологий в медицине: доставка активных лекарственных веществ, новые методы и средства лечения на нанометровом уровне, диагностика *in vivo*, диагностика *in vitro*, медицинские имплантаты.

Далее отмечается, что особая роль среди различных групп наноматериалов, имеющих медицинское назначение, принадлежит углеродным многоатомным кластерным образованиям – фуллеренам, нанотрубкам.

Следующая часть темы посвящается краткому ознакомлению с основными физико-химическими свойствами углерода, особенностями углеродной связи и гибридизацией электронных орбиталей. Рассматриваются основные классические аллотропные формы углерода: графит и алмаз. Данные знания необходимы для понимания дальнейшего материала, посвященного изучению углеродных наноструктур. Далее рассматривается



история открытия фуллеренов в контексте астрофизических исследований, послуживших толчком к этому открытию. Подробно разбирается структура фуллеренов, как с точки зрения геометрии, так и с позиций особенностей углеродных связей. При рассмотрении основных физико-химических свойств фуллеренов необходимо принять к сведению особенности термической стабильности и окисления фуллеренов. Данная информация важна для изучения следующей темы, посвященной углеродным нанотрубкам. При изучении примеров фуллероидных соединений на основе C<sub>60</sub> необходимо уяснить функциональное назначение соответствующих химических модификаций элементами H, F, Cl и OH. Заключительная часть вопроса посвящена рассмотрению свойств кристаллических модификаций фуллеренов – фуллеритам и фуллеридам, а также эндодральным структурам на основе фуллеренов. Студент должен четко различать между собой эти классы структур. В заключении рассматриваются основные потенциальные применения фуллеренов.

Рассмотрение структуры углеродных нанотрубок разделено на две части, посвященные одностенным и многослойным нанотрубкам соответственно. В обоих случаях необходимо проследить связь между строением нанотрубок и структурой графита, сравнить соответствующие межатомные расстояния внутри одного слоя и между слоями, на основе чего можно сделать первичные предположения о методах получения нанотрубок. При изучении структуры одностенных нанотрубок следует тщательно разобрать понятие хиральности и уметь свободно ориентироваться в индексах хиральности, характеризующих геометрию и, как следствие, основные физические свойства нанотрубок. Обучающийся должен легко отличать хиральные нанотрубки от нанотрубок типа гофр и зигзаг. Рассмотрение структуры многослойных нанотрубок включает в себя изучение структур типа свиток, коаксиально вложенных нанотрубок и канатов из нанотрубок. Особое внимание следует уделить структуре дефектов на поверхности нанотрубок и их влиянию на форму и физические свойства нанотрубок. Далее следует кратко рассмотреть основные методы синтеза нанотрубок: методы дугового разряда, лазерного испарения и осаждения из газовой фазы. Далее изучаются основные механические, электрические и магнитные свойства нанотрубок. В каждом случае обращается внимание на особенности структуры нанотрубок, обуславливающие обсуждаемые свойства. Подробно разбираются области применения нанотрубок, рассматриваемые в рамках темы: нанотрубки-контейнеры, полупроводниковые электронные элементы на основе нанотрубок, наноэлектромеханические элементы и др. В заключении темы приводятся краткие сведения о других углеродных наноструктурах, таких как углеродные нанолуковицы, а также о нанотрубках других материалов: дисульфиде вольфрама и хризотиле.

Рассмотрение вопроса нанокристаллических материалов начинается с классификации твердых тел по их агрегатному состоянию. В этом контексте нанокристаллическое состояние рассмотрено как переход от аморфного состояния к поликристаллическому. При изучении этой темы особое внимание следует уделить особенностям структуры зерен и межзеренного вещества в нанокристаллическом состоянии, определяющих уникальные свойства этих материалов. Кратко рассматриваются основные методы получения нанокристаллических материалов: осаждение из газовой и жидкой фазы, быстрое отвердевание из расплава, интенсивные пластические деформации, рекристаллизация из аморфного состояния. В результате изучения этой темы обучающийся должен иметь представление о преимуществах и недостатках различных методик. При изучении основных физических свойств нанокристаллических материалов и связанных с ними повышенной механической прочности и пластичности, особыми диффузионными свойствами следует выделять те особенности структуры этих материалов, которые ответственны за соответствующее поведение. Далее рассматриваются основные направления применения нанокристаллических материалов.

Далее на занятии рассматриваются свойства различных нанокомпозитов, нанопористых материалов и магнитных наночастиц. В начале темы рассматривается технология изготовления цветных витражей, как пример нанотехнологического процесса, известного с древних времен. Приводится краткая сводка других, актуальных в настоящее время, примеров использования нанокомпозитов, иллюстрирующих особое поведение, обусловленное малостью частиц, составляющих эти материалы. Далее кратко рассматриваются методы синтеза молекулярных сит (субнанопористых и нанопористых материалов) на основе цеолитов. Эти материалы играют чрезвычайно важную роль в современной химической промышленности и, в частности, в процессах переработки нефтепродуктов. В качестве альтернативного примера рассматриваются методы изготовления и свойства пористого кремния, обладающего замечательными оптическими свойствами.

Особое внимание в теме уделяется магнитным наноматериалам. Рассматривается явление суперпарамагнетизма, подменяющее собой ферромагнитные свойства частиц нанометровых размеров. Обучающийся должен уяснить суть парамагнетизма. В рамках темы рассматриваются также свойства ферромагнитной жидкости, представляющей собой коллоидный раствор из магнитных наночастиц. Кратко рассматриваются вопросы, связанные с магнитными нанокомпозитами, проявляющими эффект гигантского магнитосопротивления.

### **ЗАНЯТИЕ 3. Направленный транспорт лекарственных средств.**

#### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Изучить основные методы получения, свойства и перспективы применения липосом, дендримеров в медицине; знать липосомные формы лекарственных средств и их характеристики.

#### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Липосомы. Принципы организации липидного бислоя.
2. Формирование мицелл. Обратные мицеллы.
3. Преимущества и перспективы применения липосомных форм лекарственных средств.
4. Капсулы на основе полимерных материалов.
5. Дендримеры. Строение и размеры макромолекул дендримеров.
6. Свойства и применение дендримеров в биологии и медицине: направленный транспорт лекарственных средств, молекулярные сита, контрастные вещества.
7. Получение дендримеров с регулируемой внутренней полостью для проведения каталитических реакций.

Рассмотрение темы начинается с вопросов направленного транспорта лекарственных средств, при этом внимание акцентируется на важности данной проблемы для практической медицины.

Подробно рассматриваются липосомы, как наиболее перспективные наноматериалы медицинского предназначения. Анализируется определение «липосом», как «наноразмерные коллоидные сферы из липидного слоя, окружающего активное лекарственное вещество». Студенты должны четко знать состав и строение мембраны липосом, т.к. данные знания лежат в основе понимания свойства биосовместимости липосом. Далее отмечается полиморфизм липосом (формы и размеры образующихся в воде липосом зависят от множества факторов: кислотности среды, присутствия солей и т.д.: глобулярные, тубулярные или дискомы (уплощенные дискообразные структуры). Общим для всех типов липосом является наличие внутренней полости, заполненной водной средой, так называемое гидрофильное ядро, что обуславливает способность липосом включать в себя различные вещества, практически без каких-либо ограничений в отношении их химической природы, размеров молекул и свойств. Эта способность дает уникальный инструмент для решения многих медицинских проблем. Спектр веществ,

которые могут быть включены в состав липосомальных форм, весьма широк – от неорганических ионов и низкомолекулярных органических соединений до крупных белков и нуклеиновых кислот. Липосомы могут быть заполнены антибиотиками, гормонами, ферментами, иммуномодуляторами, цитостатиками, противовирусными и противогрибковыми препаратами, витаминами, вакцинами, веществами метаболического действия и даже генетическим материалом. Далее подробно обсуждается эволюционное продолжение концепции доставки лекарственных веществ с помощью липосом – модификация липосомальной мембраны, т.е. присоединение к поверхности липосом определенных лигандов с целью повышения специфичности действия и направленной доставки к тканям-мишеням. Для обеспечения направленного транспорта липосом к клеткам-мишеням было предложено модифицировать поверхность липосом лигандами, специфически связывающимися с антигенами на поверхности клетки. Такая структура получила название иммунолипосомы. Иммунолипосомы обеспечивают т.н. «активный» или лиганд-опосредованный транспорт лекарственных препаратов, что лежит в основе одной из стратегий повышения терапевтической эффективности, например, противоопухолевых препаратов. Подробно разбирается процесс направленной доставки препарата с помощью иммунолипосом, в котором можно выделить 2 фазы: транспортную, во время которой липосомы от места введения перемещаются к клеткам-мишеням, и эффекторную, во время которой происходит специфическое связывание иммунолипосом с клетками-мишенями и последующая внутриклеточная доставка препарата, загруженного в липосомы. Далее на занятии обсуждаются и другие методы, позволяющие использовать антитела, их фрагменты, гликопротеины, углеводы и факторы роста для таргетной доставки липосом к опухолевым клеткам.

Рассмотрение вопроса о применении дендримеров начинается с исторической справки открытия данного класса соединения. Дается определение понятия «дендримеры» как нового типа полимеров, имеющих не линейное, а ветвящееся строение. Далее подробно рассматривается строение и свойства дендримеров и акцентируется внимание студентов на наномедицинском применении дендримеров, что связано с предсказуемой и контролируемой высокоточной воспроизводимостью макромолекул; наличием в макромолекулах каналов и пор, имеющих хорошо воспроизводимые формы и размеры; способностью к высокоизбирательной инкапсуляции и иммобилизации низкомолекулярных веществ с образованием супрамолекулярных комплексов «гость-хозяин». Студентам объясняется, что дендримеры являются уникальным классом полимеров, и, кроме использования в качестве нанопереносчиков, находят все более широкое применение в изготовлении противоопухолевых и противовирусных вакцин. Так, на основе их использования сделаны серьезные шаги по созданию персонализированной вакцины для стимуляции противоопухолевой и противовирусной реакции организма пациента; получены обнадеживающие результаты применения высокоспецифичных вакцин против колоректального рака в Медицинском центре Дартмут-Хичкок (Dartmouth-Hitchcock Medical Center, ДНМС), против меланомы в Университете Вэйна (Wayne State University), против ВИЧ, малярии и рака в Массачусетском технологическом институте (Massachusetts Institute of Technology, MIT), против оспы и желтой лихорадки в университете Эмори (Emory University).

#### **ЗАНЯТИЕ 4. Нанотехнологии в диагностике и лечении раковых заболеваний.**

##### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Изучить новые подходы с применением наноматериалов и нанотехнологий к лечению раковых заболеваний.

##### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Новые подходы клеточной и молекулярной биологии к решению проблем онкологии.
2. Иммунотерапия, интерференция РНК, эпигенетическая регуляция генов.
3. Ингибирование ангиогенеза в опухолях наночастицами золота.

4. Фототермическая терапия злокачественных новообразований.
5. Пассивное нацеливание.
6. Функциялизация наночастиц опухоль-специфическими антителами.

Для неинвазивной диагностической визуализации опухолей *in vivo* в качестве наноносителей контрастных агентов наиболее перспективны липосомы и мицеллы. В липосомы можно инкорпорировать контрастные агенты как во внутренний водный компартмент, так и в мембрану, и использовать в гамма- и магнитно-резонансной визуализации. Использовались наноносители, нагруженные гадолинием, что позволило выявить опухолевые метастазы в лимфатических узлах. С той же целью применяют покрытые декстраном суперпарамагнитные наночастицы оксида железа у больных раком простаты. Этим методом идентифицированы микрометастазы размером менее 2 мм. С помощью меченных индием-111 длительно циркулирующих липосом диагностируют рак лёгких, рак головы и шеи, ассоциированную со СПИДом саркому Капоши, рак кожи, глиобластомы и метастатические опухоли головного мозга, а также саркому мягких тканей. Молекулы визуализирующих агентов и опухолеспецифические лиганды можно встраивать в одну и ту же наночастицу. Мультивалентные магнитные нанокристаллы, связанные с опухолеспецифическими антителами Herceptin, успешно используются для диагностики рака с помощью магнитного резонанса.

В диагностических системах предпочтительно использовать квантовые точки. Квантовые точки находят применение и в иммуногистохимическом анализе биопсийного материала.

Нанокристаллы могут стать основой сверхчувствительных неинвазивных методов визуализации рецепторных молекул и маркёров заболеваний различной этиологии. Молекулярная визуализация *in vivo* позволяет не только локализовать патологический процесс, но и зарегистрировать уровень экспрессии и активность специфических молекул, а также оценить биологические процессы (апоптоз, ангиогенез и т.д.), которые влияют на развитие патологии, и ответ на терапевтическое воздействие.

## **ЗАНЯТИЕ 5. Биочипы в биомедицинских исследованиях.**

### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Изучить устройство и характеристики биочипов, применяемых в биомедицинских исследованиях.

#### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Перспективы использования биологических микрочипов.
2. Олигонуклеотидные ДНК-биочипы.
3. Определение нуклеотидных последовательностей (секвенирование) ДНК.
4. Картирование генетической информации ДНК и РНК, определение мутаций и уровня экспрессии генетического материала.
5. Биочипы на основе ферментов.
6. Клеточные биосенсоры: создание, характеристика, применение.

Изучение темы начинается с исторической справки разработки биочипов. Студенты должны уяснить, что технология биочипов была впервые разработана в Лаборатории молекулярных биочипов Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН СССР (ИМБ РАН) под руководством академика А.Д. Мирзабекова. Далее подробно рассматривается строение биочипов. Поясняется, что главным элементом биочипов является матрица ячеек (размером от 10 до 100 микрон), каждая из которых содержит молекулярные зонды, специфичные к одной из множества биологических молекул или их фрагментам (например, последовательностям ДНК или РНК, белкам). В качестве зондов могут применяться олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, рецепторы антител и др. В матричных молекулярных биочипах ячейки с

иммобилизованными зондами расположены рядами, причем в каждой отдельной ячейке иммобилизованы зонды с определенной специфичностью. Студенты должны четко знать, что характерные размеры ячеек современных микрочипов лежат в пределах наномасштаба, т.е. 10-100 мкм, а значения характерных концентраций анализируемых макромолекул находятся обычно в пределах 1 пМ – 10 нМ. Таким образом, общее число ячеек на чипе составляет  $10^3$ - $10^5$ , а линейные размеры чипа ~1 см. Далее подробно рассматривается принцип работы всех молекулярных биочипов с иммобилизованными зондами, в основе которого лежит способность биологических макромолекул к молекулярному узнаванию.

## **ЗАНЯТИЕ 6. Нанотехнологии в генной, клеточной и тканевой инженерии. Нанотехнологии на основе нуклеиновых кислот**

### **Цель занятия и ее мотивационная характеристика**

Изучить основные технологии получения и переноса генов; знать понятия «генная терапия» и «генный таргетинг». Изучить основные методы получения, свойства и перспективы применения наноконструкций на основе ДНК.

### **Вопросы для контроля знаний на занятии:**

1. Получение генов для трансплантации.
2. Технологии переноса генов в клетку.
3. Достижения и перспективы генетической инженерии.
4. Генная терапия и генный таргетинг.
5. ДНК – универсальный компонент для создания наноструктурных устройств. Разветвленная ДНК. «Липкие концы».
6. Перспективы создания и применения наноконструкций на основе двуцепочечных молекул ДНК.
7. Двумерные наноразмерные решетки ДНК – основа создания новых типов катализаторов, молекулярных сит, биочипов.

В начале изучения темы при активном участии студентов обсуждается определение «генетическая инженерия» как «конструирование *in vitro* функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК), т.е. создание искусственных генетических программ» (Баев А.А.). По Э.С.Пирузян генетическая инженерия – система экспериментальных приемов, позволяющих конструировать лабораторным путем (в пробирке) искусственные генетические структуры в виде так называемых рекомбинантных или гибридных молекул ДНК. В результате изучения этой темы обучающийся должен иметь представление о направленном, по заранее заданной программе конструировании молекулярных генетических систем вне организма с последующим введением их в живой организм. При этом рекомбинантные ДНК становятся составной частью генетического аппарата реципиентного организма и сообщают ему новые уникальные генетические, биохимические, а затем и физиологические свойства. Студенты должны знать, что цель прикладной генетической инженерии заключается в конструировании таких рекомбинантных молекул ДНК, которые при внедрении в генетический аппарат придавали бы организму свойства, полезные для человека. Далее кратко рассматриваются методы технологии рекомбинантных ДНК: специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами, ускоряющее выделение и манипуляции с отдельными генами; быстрое секвенирование всех нуклеотидов в очищенном фрагменте ДНК, что позволяет определить границы гена и аминокислотную последовательность, кодируемую им; конструирование рекомбинантной ДНК; гибридизация нуклеиновых кислот, позволяющая выявлять специфические последовательности РНК или ДНК с большей точностью и чувствительностью, основанную на их способности связывать комплементарные последовательности нуклеиновых кислот; клонирование ДНК: амплификация *in vitro* с помощью цепной

полимеразной реакции или введение фрагмента ДНК в бактериальную клетку, которая после такой трансформации воспроизводит этот фрагмент в миллионах копий; введение рекомбинантной ДНК в клетки или организмы. Данные знания необходимы для понимания дальнейшего материала, посвященного изучению генотерапии.

При изучении этой темы особое внимание следует уделить генотерапии, как лечению заболеваний с помощью генов. Обращается внимание на актуальность исследований, так в мире насчитывается порядка 400 проектов, посвященных лечению с помощью генотерапии. Студентам объясняется предшествующий разработке программы генной терапии тщательный анализ тканеспецифической экспрессии соответствующего гена, идентификация первичного биохимического дефекта, исследование структуры, функции и внутриклеточного распределения его белкового продукта, а также биохимический анализ патологического процесса. Все эти данные учитываются при составлении соответствующего медицинского протокола. Далее рассматриваются два типа генотерапии: заместительная и корректирующая. Заместительная генотерапия заключается во вводе в клетку неповрежденного гена. Внесенная копия заменит по функциям сохранившийся в геноме больного дефектный ген. Все проводимые сегодня клинические испытания используют внесение в клетку дополнительных количеств ДНК. При корректирующей терапии предполагается замена дефектного гена нормальным в результате рекомбинации. Метод на стадии лабораторных испытаний, так как эффективность его еще очень низка.

Изучение темы «Нанотехнологии на основе нуклеиновых кислот» начинается с обсуждения структуры ДНК. Вспоминаются и анализируются основные принципы строения двойной спирали ДНК. Обучающийся должен свободно владеть этой информацией, т.к. эти знания лежат в основе понимания и изучения образования пространственных наноконструкций ДНК с регулируемыми параметрами. Подробно обсуждаются вопросы самосборки биспиралей ДНК, принципы репликации, транскрипции, процессинга, трансляции, как примеры молекулярных наномашин. Особое внимание в теме уделяется методам создания наноконструкций на основе двухцепочечных нуклеиновых кислот, позволяющих контролировать структуру получаемых материалов с молекулярной точностью: конструирование «шаг за шагом», конструирование по типу «все сразу». Обучающийся должен уяснить суть создания наноконструкций. В рамках темы рассматриваются возможности практического применения наноконструкций при комбинации свойств нуклеиновых кислот и антибиотика. Наноконструкции, концентрация ДНК в которых превышает 200 мг/мл, могут быть использованы в качестве носителей генетического материала или введенных в их состав биологически активных соединений. Наноструктуры на основе нуклеиновых кислот могут служить чувствительными элементами оптических сенсорных устройств, реагирующих на присутствие биологически активных соединений. Для этого в наномостик встраивают соединение, которое разрушается при контакте с анализируемым веществом. Наномостик и вся наноконструкция разрушаются, падает аномальная оптическая активность. Существует возможность введения наноструктур с управляемыми физико-химическими свойствами в состав полимерной пленки без нарушения их аномальных оптических свойств. Это открывает возможность для применения таких полимерных матриц в фотонике в качестве оптических фильтров с регулируемыми оптическими параметрами.

## **5. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ К ЗАЧЕТУ)**

1. Определение понятий «нанотехнологии», «нанобиотехнологии», «наномедицина».
2. Применение технических методов в биологических наносистемах и использование биологических стратегий в технических наносистемах.
3. Междисциплинарность нанотехнологий.
4. Перспективы развития нанотехнологий в России.
5. Основные подходы к созданию нанообъектов.

6. Инструменты нанотехнологий: электронный микроскоп, сканирующий зондовый микроскоп, оптический пинцет.
7. Методы получения наноструктур.
8. Методы стабилизации наночастиц: матричная изоляция, функционализация поверхности наночастиц, локализация наночастиц на поверхности носителей различной природы.
9. Живые организмы как биореакторы наночастиц.
10. Классификация наноматериалов на основе их формы, химического состава, способа получения.
11. Свойства объемных и наноструктурных материалов. Размерные эффекты.
12. Углеродные наноструктуры: фуллерены, графен, одно- и многостенные нанотрубки, нановолокна.
13. Нанопористые вещества, наноструктурированные пленки.
14. Области применения наноматериалов. Наноматериалы в медицине.
15. Ранозаживляющая активность, регенерирующие и бактерицидные свойства наночастиц металлов (серебра, золота, магния, меди).
16. Магнитные наночастицы в биологических объектах.
17. Определение понятий «самосборка», «самоорганизация».
18. Использование принципов самоорганизации в нанотехнологиях.
19. Работа «молекулярных моторов»: АТФ-синтетаза, актинмиозиновый комплекс, кинезин.
20. Нанотехнологии в медицине сегодня. Лекарственные нанопрепараты в онкологии, неврологии, иммунологии.
21. Регенеративная медицина.
22. Липосомы. Преимущества и перспективы применения липосомных форм лекарственных средств.
23. Принципы организации липидного бислоя. Строение фосфатидилхолина.
24. Формирование мицелл. Обратные мицеллы.
25. Физико-химические и динамические свойства липидов. Фазовые переходы липидов.
26. Дендримеры. Строение и размеры макромолекул дендримеров.
27. Свойства и применение дендримеров в биологии и медицине: направленный транспорт лекарственных средств, молекулярные сита, контрастные вещества.
28. Самособирающиеся липидные нанотрубки как инструмент доставки нуклеиновых кислот в клетки.
29. Использование бактерий для внутриклеточной доставки лекарств.
30. Фототермическая терапия злокачественных новообразований.
31. Наночастицы с диэлектрическим ядром, окруженным ультратонкой металлической оболочкой.
32. Пассивное нацеливание.
33. Функционализация наночастиц опухоль-специфическими антителами.
34. Механизм действия общей и локальной гипертермии.
35. Перспективы использования биологических микрочипов.
36. Олигонуклеотидные ДНК-овые и белковые биочипы.
37. Определение нуклеотидных последовательностей (секвенирование) ДНК.
38. Гибридизация нуклеиновых кислот.
39. Амплификация ДНК. Полимеразная цепная реакция: новые возможности.
40. Биочипы на основе ферментов.
41. Клеточные биосенсоры: создание, характеристика, применение. Свойства иммобилизованных клеток.
42. Технология получения рекомбинантных ДНК.
43. Достижения и перспективы генетической инженерии.
44. Генная терапия и генный таргетинг.

45. Методы создания и применение искусственных нановолокон в биологии и медицине.
46. Использование нанотехнологий для повышения биосовместимости трансплантатов.
47. Наноматериалы, имитирующие естественную костную ткань.
48. ДНК-универсальный компонент для создания наноструктурных устройств. Разветвленная ДНК. «Липкие концы».
49. Стратегии конструирования: «шаг за шагом» (Н. Симан), «все сразу» (Ю.М. Евдокимов).
50. Перспективы создания и применения наноконструкций на основе двуцепочечных молекул ДНК.
51. Медицинские нанороботы Р. Фрайтса: респироциты, клоттоциты, макрофагоциты.
52. Проблемы конструирования нанороботов.
53. Методические подходы к оценке безопасности наноматериалов.
54. Проблема определения «дозы» и зависимости «доза-эффект» для наночастиц.
55. Влияние углеродных наноматериалов на органы дыхания.
56. Зависимость степени токсичности от протяженности наноструктур.
57. Нейро-, кардио- и гепатотоксичность наноматериалов.
58. Влияние фуллеренов, одно- и многослойных углеродных нанотрубок на систему свертывания крови.
59. Физико-химические основы биологического действия нанообъектов.
60. Основные пути поступления наночастиц в организм человека.
61. Распределение и накопление наночастиц в различных органах и тканях.
62. Проникновение наночастиц через гематоэнцефалический барьер.
63. Основные компоненты системы оценки риска наноматериалов.
64. Использование методов нанотехнологий в области экологии и энергетики.
65. Наноматериалы и очистка сточных вод. Композиционные наночастицы.