

PACS numbers: 07.07. – a, 87.64. – t, 87.85.fk
DOI: 10.3367/UFNr.0179.200903o.0329

Оптические биосенсоры генотоксикантов на основе наноконструкций ДНК и портативных дихрометров

О.Н. Компанец, Ю.М. Евдокимов

1. Введение

В докладе даётся краткий обзор результатов, полученных за последние пять лет в области разработки и практического использования биосенсорных методов и устройств экспрессного определения в жидкости генотоксикантов. Особое внимание уделено нанобиотехнологическому подходу, развиваемому в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта (ИМБ) РАН при инструментальной поддержке Института спектроскопии РАН (ИСАН), предлагающему использование в качестве интегральных биодатчиков иммобилизованных в оптически прозрачных, изотропных гидрогелях наноконструкций из двухцепочечных молекул ДНК, обладающих свойством аномальной оптической активности, и портативных дихрометров в качестве регистраторов и преобразователей оптического сигнала кругового дихроизма.

Возрастающее с каждым годом антропогенное загрязнение окружающей среды диктует необходимость разработки методов и приборов медицинской и экологической диагностики, а также методов контроля качества продуктов питания и лекарственных препаратов для высоко-чувствительного и экспрессного определения наличия в них опасных для здоровья и жизни человека токсикантов, "мишенью" которых является генетический материал клетки. К таким токсикантам относятся антибиотики и другие лекарственные препараты, тяжёлые металлы, пестициды, диоксины, белки и другие биологически активные соединения (БАС), в том или ином количестве присутствующие в физиологических жидкостях (кровь, плазма крови, моча, вода и т.п.).

Для определения практически любых биологически активных и токсичных соединений могут использоваться такие традиционные аналитические технологии, как химический анализ, а также методы с применением биохимических анализаторов, жидкостных и газовых хроматографов, масс-спектрометров и другой аналитической аппаратуры. Альтернативой традиционным методам являются так называемые биосенсорные методы анализа, использующие специфические по отношению к определяемым соединениям чувствительные элементы (биодатчики) в комбинации с различного рода преобразователями. Биосенсорные технологии не обязательно лучше, чем небiosенсорные методы, но тесная комбинация продуцирования сигнала и его детекции, возможность миниатюризации оборудования открывают новые области измерений. В медицине это может быть мониторинг непосредственно около больного, в фармакологии и пищевой промышленности — быстрый (онлайн) контроль качества фармацевтических препаратов и продуктов питания, в биотехнологической промышленности — контроль и оптимизация технологических процессов, в

экологическом мониторинге — обнаружение токсичных веществ немедленно, без доставки проб в лабораторию.

Перспективным направлением решения этих важных для охраны жизни и здоровья человека задач является развиваемый последние годы нанобиотехнологический подход, предлагающий использование "структурированных" биоматериалов, устройств и систем с такими свойствами, которые связаны с геометрическими размерами или специфическими физико-химическими особенностями наноструктур, в том числе молекулярных конструкций ДНК [1]. Наноконструирование на основе двухцепочечных (дц) молекул ДНК — это целенаправленное создание пространственных конструкций (наноструктур, наноконструкций (НаК), нанобиоматериалов), "строительными блоками" которых являются дц-молекулы ДНК или их комплексы [2]. Важнейшая задача такого наноконструирования — создание трёхмерных конструкций с управляемыми свойствами, содержащих встроенные молекулы разных соединений ("гостей"), которые могут быть "мишенями" для БАС, т.е. создание на основе НаК биодатчиков для определения БАС, узнающих молекулы "гостей" [3–5].

В литературе описано несколько подходов к созданию биодатчиков на основе НаК из нуклеиновых кислот. Эти подходы можно условно разделить на две группы. Следуя одной стратегии — стратегии последовательного конструирования [6], наноструктуры формируют последовательно, используя в качестве строительных блоков единичные дц-молекулы ДНК, что сопряжено с большими экономическими затратами, обусловленными необходимостью получения фрагментов ДНК с заданными последовательностями азотистых оснований и целого арсенала ферментов для расщепления и "сшивания" фрагментов ДНК, выделения специфических структур из реакционной смеси и использования современных методов контроля (таких как атомно-силовая микроскопия) на всех стадиях наноконструирования. По этой причине вопрос о практическом применении НаК на основе единичных молекул дц-ДНК остается в значительной степени открытым.

Другая, принципиально иная, стратегия наноконструирования, разработанная в ИМБ РАН [7], основана на использовании не единичных дц-молекул ДНК (или комплексов дц-ДНК), а структур, самопроизвольно возникающих при фазовом исключении (конденсации) этих молекул из водно-солевых растворов полимеров. В результате фазового исключения жёсткие дц-молекулы ДНК с низкой молекулярной массой ($< 10^6$ Да) упорядочиваются и образуют частицы размером $\sim 0,5$ мкм, для которых характерна жидкокристаллическая упаковка соседних молекул ДНК в слой с примерно параллельной ориентацией молекул в каждом из них и изменением (закруткой) этой ориентации по отношению к другим слоям [8].

Переход в упорядоченное холестерическое жидкокристаллическое состояние сопровождается появлением аномальной полосы в спектре кругового дихроизма (КД), расположенной в области поглощения азотистых оснований ДНК ($\lambda \sim 270$ нм). Жидкокристаллическое состояние не нарушает реакционной способности молекул, т.е. способности к молекулярному "узнаванию" и специфической адресовке химических веществ и БАС. Например, взаимодействие окрашенных противоопухолевых антибиотиков с молекулами ДНК, образующими

частицы холестерической жидkokристаллической дисперсии (ХЖКД) ДНК, сопровождается появлением в спектре КД дополнительной аномальной полосы в области поглощения этих соединений. Аномальный сигнал КД позволяет следить за малейшими изменениями свойств дц-молекул ДНК, т.е. частицы ХЖКД ДНК действуют как миниатюрные оптические биодатчики, меняющие свои характеристики в ответ на действие БАС из исследуемой жидкости. Спектральные особенности этого сигнала (знак, величина и положение максимума), регистрируемого портативным спектрометром КД (дихрометром), используются в качестве аналитического критерия, позволяющего не только определять наличие и концентрацию БАС в анализируемой пробе, но и устанавливать способ его взаимодействия с дц-молекулами ДНК. Исследуемую жидкую пробу ("пробирочной" формы) получают, производя смешивание раствора анализируемой биологической жидкости в полимере с раствором дц-ДНК в полимере, т.е. с ХЖКД дц-ДНК (биодатчиком).

2. Биосенсорная аналитическая система

Практическая задача по определению БАС с использованием биодатчиков на основе ХЖКД ДНК была решена совместно с Институтом спектроскопии РАН (ИСАН), разработавшим модель портативного полифункционального дихрометра СКД-2 и изготовившим первые образцы анализаторов для рабочего диапазона 250–750 нм [9]. В 2004 г. Экспериментальный завод научного приборостроения (ЭЗНП) РАН (г. Черноголовка, Московская обл.) по документации ИСАН изготовил малую партию из 10 дихрометров СКД-2 (№ 26900-04 в Государственном реестре средств измерений). Несмотря на то, что габариты дихрометра были в три раза меньше габаритов коммерческих дихрометров известных фирм, а вес меньше в 5–7 раз, детектирующая способность портативного дихрометра ($\sim 10^{-6} \Delta A/A$, где A — поглощение в образце) оказалась лучше в 2–3 раза. Биосенсорная аналитическая система на основе ДНК-биодатчиков и дихрометра СКД-2 не имеет аналогов по принципу действия, отличается высокой чувствительностью ($10^{-7} - 10^{-14}$ М л $^{-1}$), низкими эксплуатационными затратами (1,5 доллара в час), малой себестоимостью пробоопределения (0,5 доллара), возможностью проведения прямого экспресс-анализа содержащих БАС жидкостей и по всем этим характеристикам значительно превосходит зарубежные аналитические системы аналогичного назначения. Новизна разработки подтверждена патентами РФ, США, ЕС, Германии, Японии, золотыми медалями международной инновационной выставки "Eureka-Brussels-2001" и Президиума РАН (2002 г.), Гран-при и дипломом Второго конкурса российских инноваций (2003 г.).

В 2005–2007 гг. дихрометр СКД-2 был модернизирован с целью расширения рабочего диапазона длин волн до 200 нм и повышения надежности работы в целом. В усовершенствованной версии СКД-2М (рис. 1) реализован температурный режим осветителя практически без образования озона и с увеличением выхода ультрафиолетового (УФ) излучения вблизи $\lambda = 200$ нм в два раза; обеспечена более высокая устойчивость к внешним воздействиям модулятора круговой поляризации; снижена величина остаточного сигнала КД, обусловленного

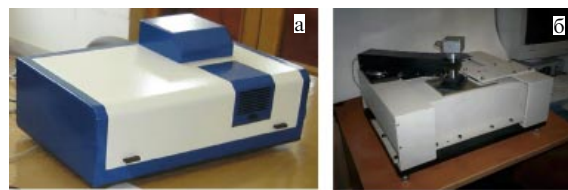


Рис. 1. Полифункциональные портативные дихрометры СКД-2М (а) и СКД-3 (б).

напряжениями в окнах кюветы; повышена точность установки температуры пробы; уменьшены габариты прибора; в электронных узлах и функциональных модулях использована современная элементная база; предусмотрена возможность подключения как внешнего, так и встроенного компьютера через интерфейс USB.

В тот же период в ИМБ РАН с помощью разработанной биоаналитической системы была продемонстрирована возможность детекции в физиологических жидкостях большого (> 50) числа соединений, входящих в состав противоопухолевых соединений, ряда полиаминокислот, полипептидов и протеинов, клеточных метаболитов, фосфор-органических соединений, а также аскорбиновой кислоты и ряда генотоксикантов растительного происхождения.

3. Биодатчики на основе наноконструкций ДНК

Значительное расстояние между молекулами ДНК (от 2,5 до 5,0 нм), "жидкостной" характер упаковки этих молекул и их высокая концентрация (~ 400 мг мл $^{-1}$) в квазинематических слоях частиц их ХЖКД обеспечивают условия для быстрой диффузии молекул многих соединений как между молекулами ДНК в одном слое, так и между молекулами ДНК в соседних слоях таких частиц. В силу сохранения реакционной способности молекул ДНК в структуре частиц ХЖКД генотоксиканты из физиологической жидкости, легко проникая внутрь таких частиц, могут модифицировать вторичную структуру дц-ДНК или интеркалировать между парами оснований дц-ДНК без нарушения характера упорядочения молекул. Кроме того, новые химические группы на поверхности молекул ДНК открывают возможность для образования "мостиков" между соседними молекулами ДНК.

Для образования мостиков необходимо, чтобы на поверхности молекул ДНК существовали места их "начала" и "окончания" (такими местами могут быть как ион металла, связанный с азотистым основанием, так и молекула дополнительно вводимого в систему лиганда). Учитывая стерическое расположение реакционноспособных групп (в частности, атомов азота N-7 пуринов) в пространственной структуре молекул ДНК, соединение двух соседних молекул ДНК возможно только в том случае, когда пространственная ориентация этих молекул согласована, т.е. обеспечена своеобразная "фазировка" положения соседних молекул ДНК. Это означает, что образование наномостиков — деликатный процесс, который реализуется при соблюдении целого ряда условий. Поставленная задача решена созданием наномостиков [7] из чередующихся молекул антрациклинового антибиотика и ионов меди, которые соединяют

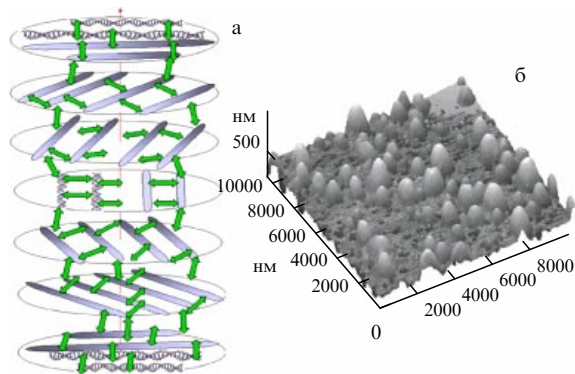


Рис. 2. (а) Гипотетическая схема трёхмерной жёсткой наноконструкции на основе дц-молекул ДНК, фиксированных в пространственной структуре частицы ХЖКД и "сшитых" наномостиками. Молекулы ДНК в соседних слоях изображены в виде палочек, каждый последующий слой повернут на определённый угол по отношению к предыдущему слою, стрелками показаны наномостики. (б) Трёхмерное изображение НаК, иммобилизованных на поверхности ядерного мембранного фильтра.

соседние молекулы ДНК в каждом из квазинематических слоёв и молекулы ДНК соседних слоёв частиц ХЖКД. Это привело к возникновению жёсткой трёхмерной пространственной структуры таких частиц (рис. 2а), получивших название "наноконструкций" (НаК), и к драматическим изменениям их свойств.

Основным фактором стабилизации НаК является уже не осмотическое давление водно-полимерного раствора, как для исходных частиц ХЖКД, а число и "прочность" наномостиков. Жидкокристаллический характер упаковки соседних молекул ДНК в НаК и диффузионная подвижность молекул ДНК исчезают, и частица приобретает свойства твёрдого материала (рис. 2б). В составе НаК сохраняется не только высокая локальная концентрация молекул ДНК, но и появляется высокая концентрация противоопухолевого антибиотика — дауномицина (ДАУ).

Для НаК ДНК характерна не только аномальная оптическая активность, проявляющаяся в виде интенсивной полосы в спектре КД в области поглощения ДНК (~ 270 нм), но и дополнительная аномальная оптическая активность в области поглощения хромофоров антибиотика (~ 520 нм). Аномальная оптическая активность позволяет теперь контролировать как изменение вторичной структуры исходных молекул ДНК, так и появление в структуре НаК молекул, образующих наномостики, а также целостность самих наномостиков. Уменьшение активности (вплоть до её полного исчезновения), сопровождающее разрушение наномостиков под действием генотоксикантов (БАС), в определённых условиях может быть прямо связано с концентрацией агента, разрушающего наномостик, что даёт возможность использовать НаК ДНК в качестве оптического биодатчика для детекции в пробах биологического происхождения наличия и уровня БАС, "мишенью" которых являются наномостики, представляющие собой, по существу, наносенсоры. Оптический сигнал, генерируемый такими биодатчиками, легко регистрируется с помощью портативного дихрометра.

На примере определения модельных соединений, в частности аскорбиновой кислоты [10] и БСА [11], соот-

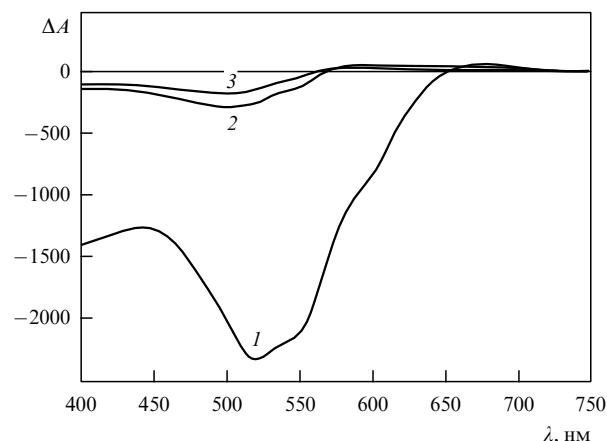


Рис. 3. Спектры КД наноконструкций ДНК до обработки гипопорином (ГП), $c_{\text{ГП}} = 0$ (кривая 1), и после обработки гипопорином, $c_{\text{ГП}} = 3,953$ мкг мл $^{-1}$ (кривая 2), при $c_{\text{ДНК}} \sim 5,6$ мкг мл $^{-1}$. Кривая 3 — спектр КД ХЖКД комплекса (ДНК–ДАУ), $\Delta A = (A_L - A_R) \times 10^{-6}$ оптических единиц. A_L и A_R — поглощение в образце света соответственно с левой и правой круговой поляризацией.

ветственно меняющих валентное состояние ионов Cu^{2+} или "экстрагирующих" их из состава наномостика, были достигнуты пределы обнаружения аналитов на уровне $\sim 10^{-7} - 10^{-8}$ М, сопоставимые с пределами их определения с помощью классических химических (биохимических) методов.

Данный тип биодатчиков был использован также для выявления и отбора фармацевтических субстанций растительного происхождения, обладающих выраженными комплексообразующими свойствами по отношению к ионам Cu^{2+} . При обработке биодатчика гипопорином (противовирусный и противомикробный препарат Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН) разрушение наномостиков и соответственно уменьшение аномальной оптической активности (рис. 3) обусловлено также "экстракцией" ионов Cu^{2+} из наномостика и формированием в результате вторичного комплексообразования более устойчивого комплекса между гипопорином и ионами Cu^{2+} . Также было показано, что при фиксированном времени обработки НаК гипопорином (10 мин) между амплитудой полосы в спектре КД НаК ДНК и концентрацией фитопрепарата (в интервале до 4 мкг мл $^{-1}$) наблюдается прямо пропорциональная зависимость, используемая в качестве калибровочной прямой при определении низкой ($\sim 0,5$ мкг мл $^{-1}$) концентрации гипопорина в анализируемой пробе. Аналогичные данные получены для донелвина, хаменерина, ханерола и эвкалимина [12].

Таким образом, получение интегральных биодатчиков на основе НаК с достаточной долговременной стабильностью оптических свойств, не зависящих от осмотического давления водно-полимерного раствора, значительно увеличило число БАС, детектируемых в жидкости с помощью предложенной биосенсорной технологии.

С разработкой технологии получения наноконструкций ДНК, которые могут включать в себя большую долю молекул-гостей, создан, по сути, новый тип биоматериала, свойствами которого можно управлять. Технология ещё не имеет завершённого характера и может совершенствоваться за счёт подбора других компонен-

тов наномостиков или самих молекул ДНК, включая их комплексы с полимерами.

4. Стабилизация физико-химических свойств биодатчиков на основе наноконструкций ДНК

Существенный недостаток биодатчиков на основе НК ДНК, с точки зрения их практического применения, — это нестабильность оптических свойств, обусловленная постепенной седиментацией частиц НК ДНК при использовании их пробирочной формы. Этот недостаток, сравнительно легко устранимый (встряхиванием пробирки), допустим при проведении биохимических исследований и анализов по мере их необходимости и в небольших масштабах, но совершенно не приемлем при осуществлении массовых анализов, децентрализованных измерений, "персонифицированной" медицины, технологического онлайн-контроля. Для устранения этого недостатка потребовался новый подход к созданию стабилизированных форм биодатчиков на основе НК ДНК и соответственно конструкции дихрометра.

Задача стабилизации физико-химических свойств биодатчиков решена путём создания гидрогеля, содержащего частицы НК. Наряду с устранением седиментации частиц НК ДНК, гидрогель позволяет сохранить аномальные оптические свойства биодатчика даже при своём набухании. В этом случае биодатчик представляет собой синтетический полимерный матрикс (СПМ), содержащий разнесённые в пространстве единичные частицы НК ДНК (рис. 4), и по принципу функционирования аналогичен индикаторам плёночного типа [13].

По разработанной в ИМБ РАН технологии созданы эластичные полимерные гидрогели с низкой токсичностью и биodeградируемостью, оптически изотропные, с высокой прозрачностью в интервале длин волн 230–750 нм, химически и биологически инертные по отношению к дц-молекулам ДНК, а также другим БАС. Параметры трёхмерной организации гидрогеля и его физико-механические характеристики обеспечивают фиксацию частиц НК ДНК без нарушения их пространственного строения и реакционной способности "строительных" блоков этих структур, а также условия для диффузии БАС в реальном масштабе времени (от 30 мин до 3 ч, в зависимости от молекулярной массы аналита). Содержащие частицы НК ДНК гелевые

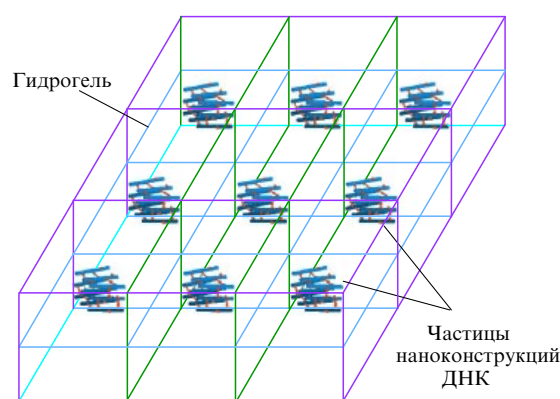


Рис. 4. Схематическое изображение гидрогеля, содержащего разнесённые в пространстве частицы наноконструкций ДНК.

биодатчики сохраняют аномальную оптическую активность в течение длительного времени (более года).

Иммобилизация частиц НК ДНК в гидрогеле существенно не влияет на форму и амплитуду генерируемых ими аномальных полос, максимумы которых расположены соответственно в ультрафиолетовой (~ 270 нм) и видимой (~ 520 нм) областях спектра КД. При концентрации ДНК ~ 20 мкг мл⁻¹ амплитуда полосы в видимой области спектра, генерируемая гелевым биодатчиком толщиной ~ 3 мм, составляет не менее 1200×10^{-6} оптических единиц.

В эксперименте в качестве примера аналита, способного диффундировать в гидрогель и разрушать содержащиеся в нём частицы НК ДНК, был использован гомоцистеин (ГЦ). Гомоцистеин образуется в организме человека в процессе метаболизма метионина и при нарушении процесса обратного превращения в метионин начинает поступать в кровяное русло, что приводит к возникновению гипергомоцистеинемии [14] и сопутствующих ей болезней (тромбовазкулярной болезни, атеросклероза, патологий беременности и др.). Определение ГЦ в плазме крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии — многочасовой дорогой процесс, требующий применения дорогостоящего оборудования и привлечения высококвалифицированного персонала. Это означает, что разработка недорогой, высокоточной и простой в исполнении методики определения ГЦ является актуальной задачей современной биомедицины.

На рисунке 5 приведены зарегистрированные через разные промежутки времени спектры КД гидрогеля, помещённого в раствор, содержащий ГЦ, который, диффундируя в гидрогель, вызывает уменьшение аномальной полосы КД вплоть до её полного исчезновения. Это означает, что, проникнув в гидрогель, ГЦ "экстрагирует" ионы Cu^{2+} из наномостиков и вызывает разрушение НК ДНК. Полученный результат ясно показывает, что иммобилизованные в гидрогеле НК ДНК легко "отзываются" на присутствие ГЦ в растворе.

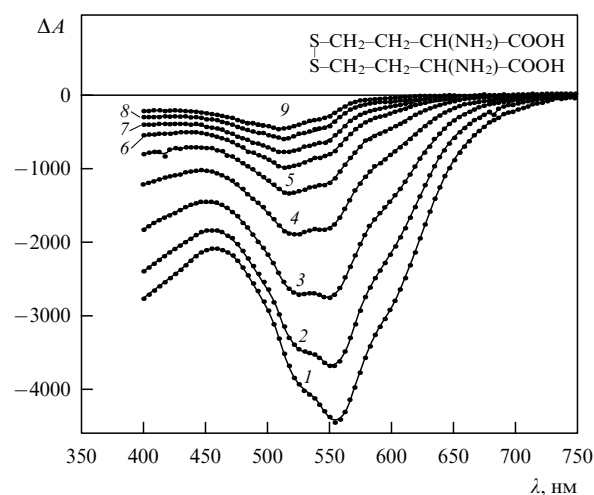


Рис. 5. Спектры (1–9) КД НК ДНК в составе гидрогеля, помещённого в содержащий гомоцистеин водно-солевой раствор полиэтиленгликоля (ПЭГ), зарегистрированные соответственно через промежутки времени: 0, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 85 и 115 мин. $c_{\text{ДНК}} = 19,92$ мкг мл⁻¹; $c_{\text{ПЭГ}} = 120$ мг мл⁻¹; $c_{\text{ГЦ}} = 39,22$ мкг мл⁻¹.

Полученный нанобиоматериал, содержащий частицы NaK ДНК, был использован также в качестве биодатчиков для контроля качества фитопрепаратов (alpisarinum, hiporhamin, chamaenerin, chanaerol) в Центре биомедицинских технологий ВИЛАР.

Гелевый характер ДНК биодатчиков и такие их особенности, как диффузионная проницаемость для аналитов, рассеяние света в биоматериале, малая длина взаимодействия света с образцом, потребовали разработки нового полифункционального дихрометра СКД-3 (рис. 16) со схемой вертикального формирования оптического луча и освещения гелевого образца на небольшой площадке ($0,6 \times 0,6$ мм). Гелевые образцы биодатчиков могут размещаться в ячейках УФ-микроплаты (планшета), где они взаимодействуют с анализируемой жидкой пробой. С целью расширения диапазона работы прибора в ультрафиолетовую область спектра (до 190 нм) в дихрометре предусмотрена герметизация оптического блока и наполнение его газообразным азотом для исключения потерь УФ-излучения из-за поглощения озоном [15].

5. Оптические биосенсоры на основе наноконструкций ДНК и одноволнового дихрометра

Как было показано в разделе 4, биодатчики на основе иммобилизованных в гидрогеле, разнесенных в пространстве NaK ДНК сохраняют присущую им аномальную оптическую активность в полосе поглощения ДНК (~ 270 нм), а также проявляют новую оптическую активность в полосе поглощения (~ 520 нм) компонентов наномостиков NaK ДНК.

Поскольку величина аномальной оптической активности биодатчиков на основе NaK ДНК в полосе $\lambda \sim 520$ нм остается неизменной в течение длительного времени и может уменьшаться (вплоть до полного исчезновения) под действием БАС, "мишенью" которых являются структурные элементы наномостиков, это обстоятельство определило направление разработки новых, ещё более компактных и дешёвых биосенсорных устройств. Такое устройство, в отличие от широкодиапазонных систем типа СКД-2М и СКД-3, не нуждается в габаритном широкополосном (в том числе ультрафиолетовом) ламповом источнике излучения с высоковольтным источником питания и монохроматоре с устройством перестройки длины волны, которые заменяются миниатюрным диодным излучателем, работающим только в одной указанной выше полосе в видимом диапазоне спектра. Одновременно такое устройство может быть использовано и для измерения скорости диффузии различных жидкостей в гелевом или плёночном нанобиоматериале.

На рубеже 2007–2008 гг. простейший макет новой биосенсорной системы с использованием гелевых ДНК-биодатчиков, диодного источника излучения и некоторых узлов дихрометра СКД-2 был успешно опробован в ИСАН [16]. Сейчас ведётся разработка базовой модели компактного специализированного одноволнового дихрометра и аналитической системы на его основе. Такая система может найти широкое применение в медицинских учреждениях, в которых проводится прямое определение в жидкости конкретных БАС или других значимых химических соединений.

6. Конкурентная позиция оптических биосенсоров

Предполагается, что биодатчики на основе NaK ДНК и дихрометры нового типа с методиками их применения должны составить базис разрабатываемой биосенсорной технологии и биосенсорных устройств для прямого определения в жидкости БАС, опасных для здоровья и жизни человека или несущих лечебную функцию, с высокой чувствительностью, экспрессностью и низкой себестоимостью анализа. Области применения портативных биосенсорных аналитических комплексов (оптических биосенсоров) — медицинская клиническая диагностика, биохимический анализ, фармакология, биотехнологическая и пищевая промышленность, экологический контроль, научные исследования.

Возможность коммерциализации биодатчиков нового типа и устройств с их использованием подкрепляется наличием как приоритета российских учёных в данной области, так и прав интеллектуальной собственности в отношении созданных нанобиоматериалов, технологий и устройств. Как показывает анализ рынка биосенсорных систем, разработки учёными РАН биосенсорных аналитических устройств с использованием ДНК-биодатчиков по основным конкурентным показателям (стоимость оборудования, цена теста и степень универсальности оборудования в смысле его применимости) находятся в весьма выгодной позиции на мировом рынке биотестов. Полнофункциональных аналогов этих разработок нет и, судя по публикациям, в ближайшие несколько лет не предвидится. При стоимости конкурирующего оборудования от 70–250 долларов США (устройства индивидуального применения фирм "Bayer", "LifeScan", "Roche/Boehringer", "Medisense") до 130 тыс. долларов (биосенсоры фирмы "Affymetrix"), цене одного измерения на нём до ≈ 250 долларов и степени универсальности оборудования, предлагаемого на рынке, оптические биосенсоры занимают позицию, вполне доступную пользователям по стоимости (25 тыс. долларов) и чрезвычайно выгодную по цене одного измерения (0,5 доллара) и пригодную для определения большинства БАС. Заметим, что на аналитическом комплексе отечественной разработки обычный клинический лаборант сможет научиться работать за 3–5 дней, тогда как для работы на зарубежных полифункциональных аналогах требуется более длительное обучение. Приведённые оценки ещё в большей степени справедливы для последних разработок, главными достоинствами которых являются долговременная стабильность гелевых (плёночных) ДНК-биодатчиков, низкая цена и компактность одноволнового дихрометра и возможность проведения прямых экспресс-анализов жидкостей.

Перечисленные особенности оптических биосенсоров делают их потенциально привлекательными для многих групп потребителей, но в первую очередь они нужны там, где измерения традиционными способами либо не производятся (новые задачи), либо оказываются чрезмерно дорогими и/или длительными (область массовых биохимических анализов, децентрализованных измерений, "персонифицированной" медицины, в том числе в новых областях, технологического онлайн-контроля и т.п.).

Разработанные биосенсорные аналитические системы уже используются в десяти учреждениях биомеди-

цинского профиля для проведения научных и прикладных исследований, в том числе в ИМБ РАН, для разработки новых типов нанобиодатчиков на основе дц-молекул ДНК и аналитических методик с их использованием, для определения противоопухолевых препаратов в тканях пациентов (в коллаборации с Московским научно-исследовательским онкологическим Институтом им. П.А. Герцена), для контроля качества нового типа носителей гадолиния для нейтрон-захватывающей терапии злокачественных опухолей (совместно с Институтом ядерных исследований РАН), для обнаружения фитогенотоксикантов и контроля качества фитопрепаратов (в Центре биомедицинских технологий ВИЛАР РАМН), а также в Институте лазерных и информационных технологий РАН, Институте химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

Представленные результаты получены при финансовой поддержке Президиума РАН (в рамках программы фундаментальных исследований "Фундаментальные науки — медицине") и Федерального агентства по науке и инновациям (государственные контракты № 02.512.11.2006 и № 02.512.11.2217).

Список литературы

1. Евдокимов Ю М, Сычев В В *Усп. химии* **77** 194 (2008) [Yevdokimov Yu M, Sytchev V V *Russ. Chem. Rev.* **77** 193 (2008)]
2. Yevdokimov Yu M et al. *Int. J. Biol. Macromol.* **36** 103 (2005)
3. Star A et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103** 921 (2006)
4. Hahn J, Lieber C M *Nano Lett.* **4** 51 (2004)
5. Tang X et al. *Nano Lett.* **6** 1632 (2006)
6. Seeman N C *Sci. Am.* **290** (6) 64 (2004)
7. Евдокимов Ю М и др. *Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК* (Под ред. Ю М Евдокимова) (М.: Радиотехника, 2008)
8. Goldar A, Thomson H, Seddon J M *J. Phys. Condens. Matter.* **20** 035102 (2008)
9. Компанец О Н *УФН* **174** 686 (2004) [Kompanets O N *Phys. Usp.* **47** 630 (2004)]
10. Евдокимов Ю М и др. *Мол. биология* **37** 340 (2003) [Yevdokimov Yu M et al. *Mol. Biol.* **37** 293 (2003)]
11. Евдокимов Ю М и др. *Сенсорн. системы* **13** 82 (1999) [*Sensory Syst.* **13** 81 (1999)]
12. Скуридин С Г и др. *Технол. живых систем* (3) 3 (2006)
13. Turner A P F, Karube I, Wilson G S (Eds) *Biosensors: Fundamentals and Applications* (Oxford: Oxford Univ. Press, 1987) [*Биосенсоры: основы и приложения* (Под ред. Э Тёрнера, И Карубе, Дж Уилсона) (М.: Мир, 1992)]
14. Fonseca V, Guba S C, Fink L M *Endocrine Rev.* **20** 738 (1999)
15. Гусев В М и др. *Альманах клинической медицины* **XVII** (2) 308 (2008)
16. Гусев В М и др. *Альманах клинической медицины* **XVII** (2) 311 (2008)