

СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ АКАДЕМИИ НАУК РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ
ИНСТИТУТ АВТОМАТИКИ И ЭЛЕКТРОМЕТРИИ СО РАН
(ИАиЭ СО РАН)
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ
ИНСТИТУТ ГЕОЛОГИИ И МИНЕРАЛОГИИ
(ИГМ СО РАН)

УДК 661.682+535.36+576.08+615.45
№ гос.рег.01201261278

УТВЕРЖДАЮ



Научный координатор проекта
Директор ИАиЭ СО РАН

академик Шалагин А.М. Шалагин

« 28 » ноября 2012 г.

ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ
ПО ИНТЕГРАЦИОННОМУ ПРОЕКТУ СО РАН №1
«Синтез и исследование биоминеральных наночастиц (гетерочастиц) для
решения медицинских и биотехнологических задач»
(промежуточный)

Ответственный исполнитель НИР (по ИГМ),
в.н.с., д.г.-м.н., профессор

Калинин
подпись, дата

Д.В. Калинин

Ответственный исполнитель НИР (по ИАиЭ),
Зав. лабораторией, д.ф.-м.н.

Плеханов
подпись, дата

А.И. Плеханов

Новосибирск 2012

ВВЕДЕНИЕ

За последние несколько десятилетий достигнуты внушительные научно-исследовательские достижения в области создания фармацевтических препаратов для лечения различных заболеваний, значительно продвинулись знания физико-химических свойств лекарственных молекул, а также механизмов клеточных процессов их поглощения, ведущих к многочисленным эффективным терапевтическим стратегиями. Тем не менее, во многих случаях, возникают проблемы доставки лекарственных веществ в клетки. В этой связи в последнее время значительно возрос интерес к применению наноразмерных частиц для транспортировки лекарственных веществ и, в частности, использование наночастиц диоксида кремния как эффективного носителя.

Цель данных проблемно – ориентированных интеграционных исследований заключается в решении комплекса взаимосвязанных научных и методических задач по синтезу и исследованию нанозолей частиц кремнезема и биоминеральных наночастиц, предназначенных для медицинских и биотехнологических применений. Работа включает в себя исследования по получению нанозолей кремнезема с различными размерами частиц: диаметром 6-7 нм (соответствующим рибосомам митохондрий); 15-20 нм (соответствующим рибосомам цитоплазмы клетки), 20-30 нм, а также изучение формирования гетерочастиц с различным биологическим компонентом (нуклеотиды, различные пептиды и биологически активные молекулы). Оптические и физико-химические исследования структурных изменений белков цитоплазмы при их взаимодействии с наночастицами кремнезема направлены на выявление перспектив использования наночастиц кремнезема и биоминеральных гетерочастиц в биотехнологии и медицинской практике.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Получение нанозолей аморфного кремнезема с размером частиц 7-8 нм в водной среде, физиологически совместимые с человеческим организмом, включая растворы биоминеральных гетерочастиц с нуклеотидной и пептидной составляющей

В соответствии с планом интеграционного проекта № 1 на 2012г., на основе ранее созданного задела и патента № 2426692, в ИГМ проводились исследования по следующим направлениям:

1. Исследование взаимодействия полученных в ИГМ наночастиц кремнезема (НЧК) с аминокислотами впервые выявило способность молекул аминокислот в присутствии НЧК к полимеризации в короткие пептидные цепочки. О возникновении пептидной связи может также свидетельствовать исчезновение линий карбоксильных групп в спектрах комбинационного рассеяния в растворе аминокислоты с НЧК (ИАиЭ, А.И. Плеханов, устное сообщение). Кинетика процесса достаточно медленная, исчисляемая сутками. Результатом является возникновение комочков прозрачной слизи на стенках сосудов. Значительная часть НЧК оказывается связанной с пептидами водородными связями. Общее научное значение этого факта состоит в том, что первоначальное возникновение основы белковых структур может происходить на минеральной основе (как матрице) НЧК и не требует фермента синтетазы, которая появляется позднее в процессе эволюции жизни. Прикладное значение связано с важной ролью коротких пептидов в медицине и возможностью синтеза полипептидных препаратов с заданными свойствами.

Взаимодействие НЧК с нуклеотидами также ведет к медленно протекающей их полимеризации, но в отличие от аминокислот в более длинные цепи, которые собираются вместе. В результате продукт полимеризации в растворе внешне выглядит как комочек ваты. НЧК связаны с полимерами нуклеотидов в меньшей степени, и большая их часть остается в растворе. Этот процесс также зафиксирован нами впервые. Подробное электронно-микроскопическое и иное исследование аминокислотных и нуклеотидных полимеров выполняется в НПО «Вектор» (лаборатория ретровирусов, Н.М. Гашникова).

2. Исследование взаимодействия НЧК с недифференцированными клетками выявило резкое замедление деления эмбриональных клеток и значительную гибель

злокачественных (до 70 %) клеток (последнее исследование выполнено в ИЦиГ, С. С. Богачевым).

Дальнейшее изучение в ИГМ механизма воздействия НЧК на злокачественные клетки показало, что он связан с усилением энергетических функций митохондрий в клетках, последовательной активацией ряда ферментов и, как следствие, с включением апоптоза клеток, как в случае злокачественных клеток, так и в случае других дефектных клеток.

Этот результат привел к постановке масштабных экспериментальных исследований противоракового действия НЧК на мышах (проводятся в настоящее время) в НПО «Вектор». Данное направление значимо в плане разработки, дополнительно к существующим, методик борьбы с онкологическими заболеваниями.

3. С целью оценки перспектив использования НЧК в качестве носителя биологически активных молекул и их доставки в клетки (поскольку плазматическая мембрана клеток свободно пропускает НЧК внутрь клетки) выполняется большой объем экспериментальных исследований по синтезу гетерочастиц, которые также представляют непосредственный интерес для биологов (в основном с позиций внутриклеточной генной терапии).

2. Структурные исследования гетерочастиц и определение оптимальных концентраций биологических компонентов с позиции использования гетерочастиц как транспортеров биологического материала в клетки

4. Методом лазерной корреляционной спектроскопии установлено, что полученные в ИГМ СО РАН кремнеземные нанозоли состоят из наночастиц диаметром 2-3 нм. Добавление глицина (0,2%) – простейшей алифатической аминокислоты с амфотерными свойствами в водный раствор кремнеземных нанозолей приводит к образованию агрегатов наночастиц с бимодальным распределением по размерам 90 нм и 3400 нм (рис.1).

5. Сравнительный анализ инфракрасных спектров поглощения и спектров комбинационно рассеяния света кремнеземных нанозолей и тех же нанозолей с добавлением глицина не выявил выразительных спектральных особенностей, которые свидетельствовали бы о химической связи глицина с поверхностью кремнеземных наночастиц (Табл.1, рис.2.). Уменьшение (тушение) люминесценции глицина в желто-зеленой области спектра в водном растворе с наночастицами кремнезема по

сравнению с водным раствором аминокислоты той же концентрации свидетельствует о её физической сорбции на поверхности образовавшихся агрегатов кремнезема.

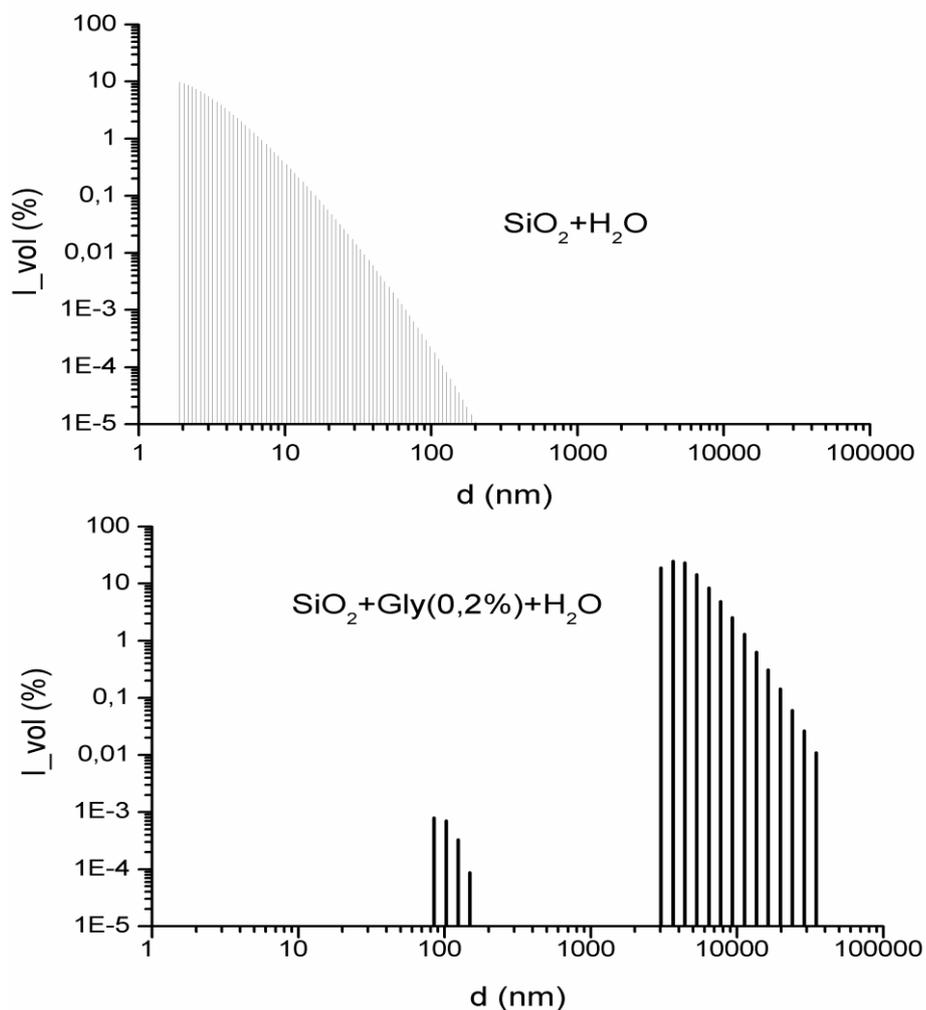


Рис. 1. Объемные доли наночастиц кремнезема в воде и после добавления 0,2% водного раствора глицина.

Таблица №1. Линии комбинационного рассеяния света в см^{-1} в исследованных растворах.

№	$\text{H}_2\text{O} + \text{Gly} (0.2\%)$	$\text{H}_2\text{O} + \text{SiO}_2$	$\text{H}_2\text{O} + \text{SiO}_2 + \text{Gly} (0.2\%)$
1		1278	1278
2	1331		1331
3			1357
4		1386	1387
5	1413		1415
6	1445	1456	1456
7		1485	1483
8	1634	1636	1633

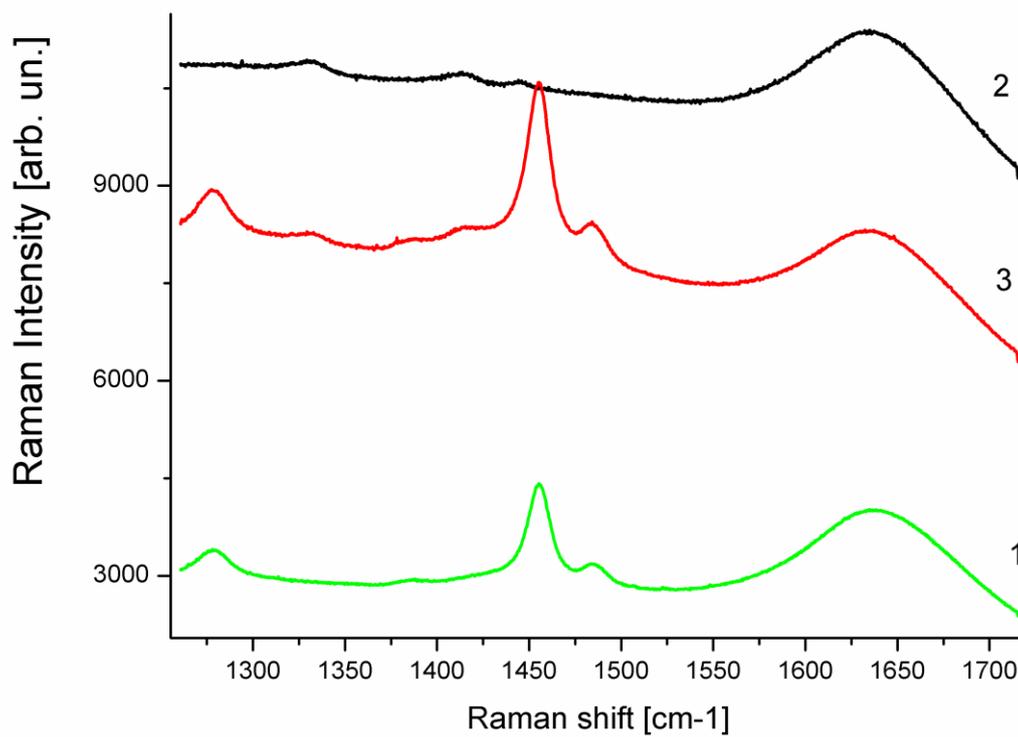


Рис. 2. Спектры комбинационного рассеяния света (1) в водной суспензии наночастиц кремнезема, (2) в 0,2% водном растворе глицина, (3) в смеси водной суспензии наночастиц кремнезема и глицина с концентрацией 0,2%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на данном этапе исследований установлено, присутствие НЧК приводит к полимеризации аминокислот в короткие пептидные цепочки, что открывает возможность синтеза полипептидных препаратов с заданными свойствами и не требует фермента синтетазы.

Взаимодействие НЧК с нуклеотидами также ведет к медленно протекающей их полимеризации, но в отличие от аминокислот в более длинные цепи.

Взаимодействие НЧК с недифференцированными клетками выявило резкое замедление деления эмбриональных клеток и значительную гибель злокачественных (до 70 %) клеток.

Установлено, что полученные в ИГМ СО РАН кремнеземные нанозоли состоят из наночастиц диаметром 2-3 нм, а добавление глицина в водный раствор кремнеземных нанозолей приводит к образованию агрегатов наночастиц с бимодальным распределением по размерам 90 нм и 3400 нм.

Сравнительный анализ инфракрасных спектров поглощения и спектров комбинационно рассеяния света кремнеземных нанозолей и тех же нанозолей с добавлением глицина не выявил выразительных спектральных особенностей, которые свидетельствовали бы о химической связи глицина с поверхностью кремнеземных наночастиц.

Тушение люминесценции глицина в желто-зеленой области спектра в водном растворе с наночастицами кремнезема по сравнению с водным раствором аминокислоты той же концентрации свидетельствует о её физической сорбции на поверхности образовавшихся агрегатов кремнезема.