

САМОСБОРКА ПРИРОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАНОСТРУКТУР И ПРИМЕНЕНИЕ СБОРОК ИЗ БИОМОЛЕКУЛ В НАНОТЕХНОЛОГИЯХ

Эта лекция посвящена вопросам разработки новых биологических материалов, а также материалов, построенных по их образцу (bio-inspired materials). Наноструктуры, созданные с использованием такого подхода, обладают огромным потенциалом для применения как в бионанотехнологии, так и в нанобиотехнологии.

Как биологи Вам известно, что процесс самосборки имеет ключевое значение для любых биологических систем. Все живые клетки состоят из сложных сетей, молекулярных машин и клеточных структур, которые спонтанно, путем самосборки образуются из простых строительных блоков. Это верно для любого организма, от самой примитивной бактерии, которая строит свои наномшины всего лишь из нескольких сотен белковых «блоков», до млекопитающих, в «молекулярном арсенале» которых - десятки тысяч разнообразных белков. Сложные молекулярные машины, такие как рибосомы, состоят из десятков молекул белков и РНК, образующих высокоупорядоченные структуры с четким планом строения. Это один из важнейших примеров иерархической самосборки наномашин из простых строительных блоков.

Как мы поняли из вышесказанного, в отличие от механизмов, созданных человеком, сложные трехмерные системы в живых организмах образуются путем спонтанной сборки простых строительных блоков. Таким образом, принцип «от малого к большому», который является основным принципом нанотехнологии будущего, стал естественным выбором всех живых организмов. Альтернативный же подход «от большого к малому» удобен для традиционных микротехнологий. В большинстве случаев сборка сложных биосистем идет не по готовым «чертежам», как в технике, а направляется процессами молекулярного узнавания и самосборки. В ходе этих процессов «плавающие» в растворе относительно простые строительные блоки узнают друг друга, связываются между собой и с другими молекулами, образуя высокоупорядоченную трехмерную структуру, способную выполнять определенные функции.

1. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ S-СЛОИ И БАКТЕРИИ В НАНОТЕХНОЛОГИЯХ ОРГАНИЗАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ S-СЛОЕВ.

Одно из фундаментальных свойств неорганических наноматериалов - самоорганизация в высокоупорядоченную кристаллическую или близкую к ней одно-, двух- или трехмерную структуру. Подобные свойства можно

наблюдать и у бактериальных S-слоев и у самих бактерий. Первым структуру, организацию и технологическое применение таких сборок исследовал У. Слейтер с коллегами. S-слои это поверхностные структуры бактериальной клетки, обнаруженные у сотен видов бактерий, обладающих клеточной стенкой, и у всех архебактерий. Как Вам известно, что архебактерии - это уникальная группа прокариот, включающая экстремальных термофилов и галлофилов. Они обладают некоторыми чертами сходства с эукариотами, особенно в отношении механизмов транскрипции и трансляции. Многие архебактерии - экстремофилы (т.е. организмы, существующие только в экстремальных условиях среды). Они способны жить даже при температуре свыше 100 °С. Механизмы адаптации архебактерий и других бактерий можно было бы использовать для создания стабильных наноустройств, способных работать долгое время.

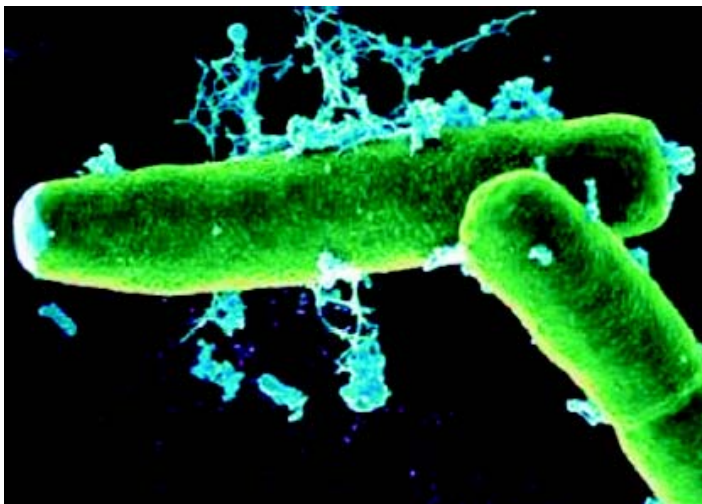
За миллиарды лет эволюции сборка S-слоев стала столь совершенной, что не имеет себе равных по упорядоченности и эффективности самосборки среди биологических систем. Эти плоские слои образуются из одного вида белков или гликобелков, молекулы которых собираются в единый слой, покрывающий поверхность клетки. Слой имеет симметричную ячеистую структуру с расстоянием между узлами от 3 до 30 нм. Толщина S-слоев варьирует от 5 до 15 нм, слои пронизаны порами диаметром 2-6 нм.

Применение S-слоев в нанолитографии. Установлено, что S-слои - замечательные наноструктуры, образующиеся в результате самосборки, - очень удобны для применения в литографии. *In vitro* (в растворе) очищенные строительные блоки S-слоев спонтанно образуют высокоупорядоченные двумерные кристаллы. Используя это свойство, У. Слейтер с коллегами показали возможность перекристаллизации субъединиц S-слоев на различных нанотехнологических субстратах, таких как чипы из кремния или оксида кремния. Другие исследователи обнаружили, что эти слои могут формироваться на липидных мембранах и на поверхности раздела воздушной и водной сред. Использовались S-слои и как матрицы для связывания и образования наночастиц, таких как полупроводниковые и металлические точки, и для создания биомолекул - ферментов и антител. Такой тип самосборки и взаимодействия молекул позволяет применять кристаллические матрицы для нанесения рисунка в нанолитографии. Также было установлено, что УФ лучи можно использовать для нанесения рисунка на S-слои. На сформированный на поверхности кремниевого чипа S-слой накладывается фотомаска, после чего он подвергается УФ облучению. Литографию, основанную на применении таких слоев вместе с биомолекулами и неорганическими соединениями, можно применять для производства так называемых лабораторий на чипе. S-слои также используются для создания ультрафильтрующих мембран, пропускающих

соединения определенной молекулярной массы, а также для иммобилизации молекул на слое с четко определенной геометрией.

Использование бактерий в нанотехнологиях. Кроме этого сами бактерии тоже можно использовать в нанотехнологиях. Исследованиями ученых показано, что бактерии, обладающие естественной способностью проникать в живые клетки, являются идеальными транспортными средствами для направленной доставки лекарств внутрь клетки определенного органа. Особенно ценным это представляется для генной терапии, где необходимо доставлять фрагменты ДНК по назначению, не повреждая при этом здоровую клетку. После того как гены попадают в клеточное ядро, оно начинает вырабатывать специфические белки, корректируя, таким образом, генетическое заболевание.

С этой целью на поверхность бактерии с помощью специальных молекул-линкеров помещают наночастицы размером от 40 до 200 нм, предварительно связанные с отрезками ДНК. Было установлено, что на одной бактерии можно разместить до нескольких сотен наночастиц, расширив, таким образом, количество и «типы» доставляемых грузов. Так, например, если совместить диагностический груз с лечебным, то в процессе терапии у врача появится возможность для детального наблюдения за участком органа, в который доставлено лекарство.



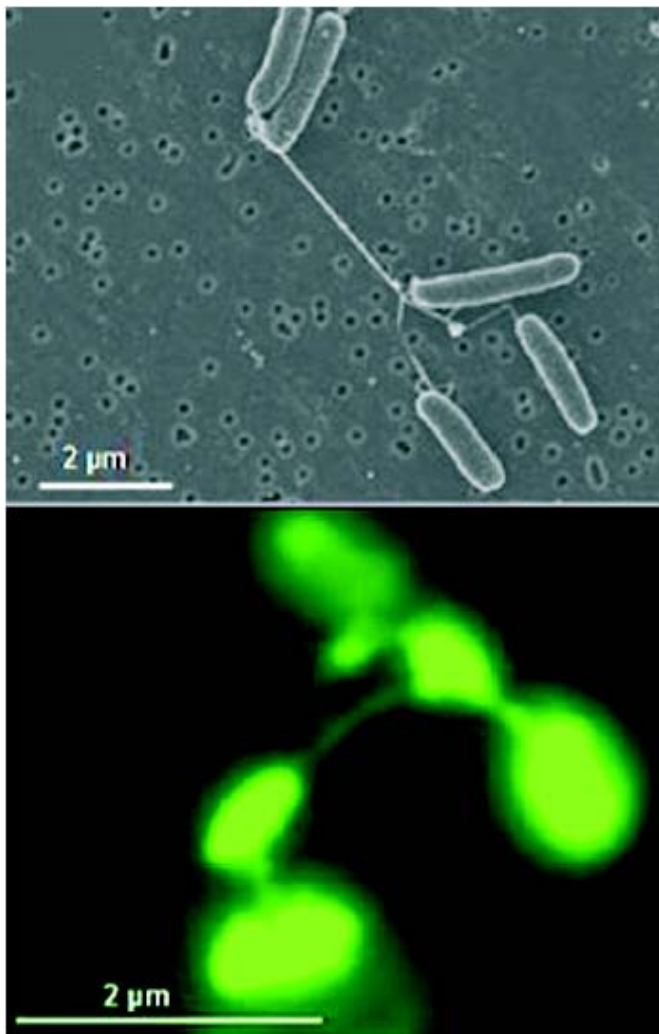
Бактерии, на поверхности которых с помощью наночастиц закреплен «полезный» груз

Доставка груза по назначению происходит в тот момент, когда бактерия проникает внутрь клетки в специальной капсуле-везикуле, образованной клеточной мембраной. Через некоторое время бактерия растворяет мембранную стенку везикулы, и наночастицы с ДНК или лекарством оказываются в цитоплазме клетки.

Эффективность метода ученые продемонстрировали на экспериментах, поместив бактерии в культуру раковых клеток человека. К поверхности бактерий предварительно были прикреплены фрагменты ДНК, кодирующие флуоресцентный белок. Проникновение этих фрагментов в ядра раковых

клеток вызывало свечение последних зеленым светом, вследствие чего их можно было видеть под микроскопом. В дальнейшем ученые планируют создание более сложных наноструктур на основе бактерий, например, наносенсоров и других биологических детекторов.

Перспектива использования бактерий как источника энергии. В исследованиях некоторых ученых было установлено, что у бактерий *Shewanella*, перерабатывающих токсичные растворы в безобидные вещества, в процессе жизнедеятельности могла развиваться ситуация дисбаланса, сопровождающаяся недостатком кислорода и возникновением лишних электронов. Снижая в среде концентрацию необходимых веществ, ученые заставили микроорганизмы «работать» в тяжелых условиях.



Бактерии *Shewanella* собираются в электрическую цепь. Вверху приведено фото, сделанное посредством сканирующего электронного микроскопа. Внизу – снимок, выполненный с помощью флуоресцентного микроскопа.

При этом на поверхности бактерий появлялись шипы, позволяющие дотянуться если не до кислорода, то до ближайшей бактерии, имеющей доступ к кислороду. При крайнем недостатке питательных веществ шипы превращались в тонкие длинные жгуты, которые должны были обеспечить больше возможностей для устранения возникшего дисбаланса. Эти неожиданно возникающие органы исследователи оправданно назвали нанонитями. Их толщина составляла от 10 до 150 нанометров, а длина

достигала порой десятков микрометров в зависимости от вида бактерий. Особый интерес вызвал тот факт, что, получая нужное «питание», бактерии могли освобождаться от лишних электронов, способных перемещаться по этим «нанопроводам». Если конец нанонити дотягивался до положительного иона, то появлялась разность потенциалов, обуславливающая движение электронов к ионам. Таким образом, возникал электрический ток. Чем более «трудными» были условия для бактерий, тем длиннее становились жгутики и большее количество бактерий объединялось в своеобразное электрическое сообщество. Члены такого сообщества обменивались ресурсами по живой и очень разветвленной электрической сети. Предполагают, что подобные бактерии могут в будущем использоваться в качестве источника энергии.