

Резюме проекта, выполняемого в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»
<по этапу № 3 >

Номер Соглашения о предоставлении субсидии: 14.607.21.0104

Тема: «Разработка биоманнитных наноустройств и приборов ранней диагностики и управляемой электромагнитными полями таргетной терапии»

Приоритетное направление: Индустрия наносистем

Критическая технология: Нано-, био-, информационные, когнитивные технологии

Период выполнения: 28.11.2014 – 31.12.2016

Плановое финансирование проекта: 24,6 млн. руб.

Бюджетные средства: 14,5 млн. руб.,

Внебюджетные средства: 10,1 млн. руб.

Получатель субсидии: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской академии наук (ИФ СО РАН)

Индустриальный партнер: Открытое акционерное общество «КБ «Искра»»

Ключевые слова: ферромагнитные наночастицы, наночастицы благородных металлов, органические магнетики, ДНК-аптамеры, биосенсоры, магнитный круговой дихроизм, естественный круговой дихроизм, диагностика, канцерогенез, тераностика.

1. Цель проекта

1.1 Проект направлен на решение медицинской проблемы отсутствия эффективных средств лечения, сочетающих возможности ранней диагностики, адресной терапии и управляемой нанохирургии, действующих на клеточном уровне.

1.2 Целью проекта является разработка фундаментальных и инженерно-физических основ и технологии получения и применения в медицинских целях гибридных биологически функциональных наноустройств на основе ДНК-аптамеров и наночастиц металлов, магнитные, химические и физические свойства которых делают их пригодными для ранней диагностики и управляемой электромагнитными полями терапии (тераностики) онкологических заболеваний.

2. Основные результаты проекта

В ходе выполнения проекта проведен анализ научно-технической литературы, нормативно-технической документации и других материалов, относящихся к разрабатываемой теме. Представлен обзор современных методик численного моделирования и экспериментального исследования транспорта и нагрева магнитных наночастиц в биологических жидкостях и тканях под воздействием внешних электромагнитных полей. Приведено описание экспериментального стенда и

рекомендации по его использованию для изучения транспорта и нагрева магнитных наночастиц в миканалах и пористых средах под воздействием внешних электромагнитных полей.

Проведены патентные исследования по ГОСТ Р 15.011-96, которые показали, что на настоящий момент в мире запатентованы биосенсоры, тест-системы и средства терапии онкологических заболеваний на основе магнитных наночастиц, в том числе, с использованием моноклональных антител, но прямого аналога разрабатываемым в рамках проекта биологически функциональным наноустройствам на основе магнитных наночастиц, покрытых золотом с иммобилизованными на них ДНК-

аптамерами к опухолевой ткани, нет. Разрабатываемые биоманнитные наноустройства и инженерно-физические решения приборов, предназначенных для тераностики рака молочной железы, обладают преимуществом перед традиционными методами лечения. Они сочетают в себе возможности ранней диагностики, адресной терапии и управляемой малоинвазивной нанохирургии, действующих только на клетки-мишени опухоли, что делает их востребованными в клинической практике.

Проведен анализ мирового рынка нанотехнологий, устройств и приборов медицинского назначения, в которых применяются наночастицы благородных и ферромагнитных металлов,

магнитных материалов и биологически активных молекул, показавший, что, ежегодный прирост прибылей от продажи нанотехнологической продукции составляет около 12%, а в сфере медицины и биотехнологий – 15%. Продажи за 2014 составили – примерно \$5 млрд. Показано, что разработка и применение наночастиц в качестве медицинских изделий диагностики и лечения социально-значимых заболеваний является крайне перспективным направлением. Подобные продукты в России представлены крайне слабо, и только зарубежными производителями. Производства подобной продукции имеет существенный внутренний рынок, а низкая себестоимость (при условии сопоставимого с моноклональными антителами лечебного эффекта) дает хорошие перспективы экспорта.

Биомагнитных наноустройства на основе аптамеров на рынке медицинских изделий практически отсутствуют, но имеют ряд значительных преимуществ по сравнению с широко используемыми аналогичными по биомедицинским функциям моноклональными антителами. В России объем продаж препаратов на основе моноклональных антител, составляет \$0,5-1,5 млрд в год, объем мирового рынка – \$30 млрд., а к 2018 – \$60 млрд. Аптамеры демонстрируют большую аффинность и селективность по отношению к биомишеням, они неимунногенны, недороги в производстве; неприхотливы в хранении. Они могут существенно потеснить и в некоторых случаях заменить моноклональные антитела, а их малые размеры и физико-химические свойства позволяют создавать принципиально новые биофункциональные наноустройства, что обеспечивает им солидные рыночные перспективы.

На втором этапе ПНИЭР была проведена работка плана исследований, разработаны экспериментальные (физические и биологические) и математические модели для комплексных исследований свойств биомагнитных наноустройств в биологических жидкостях и тканях под влиянием постоянных и переменных электромагнитных полей, получены материалы и компоненты, необходимые для разработки технологии получения гибридных биомагнитных наноустройств, а именно:

- Проведена селекция ДНК-аптамеров к опухолевой ткани молочной железы
- Проведен выбор наиболее аффинного и специфичного пула ДНК-аптамеров к опухолевой ткани молочной железы
- Разработана технология модификации тиоловыми группами ДНК-аптамеров к асцитным клеткам карциномы Эрлиха и разработана для нее стандартная операционная процедура

Получены экспериментальные образцы биомагнитных наноустройств на основе ДНК-аптамеров к асцитной карциноме Эрлиха, пригодные для гипертермии злокачественных новообразований.

Созданы математические модели и численные алгоритмы для описания транспорта и нагрева биомагнитных наноустройств в биологических жидкостях и тканях под воздействием внешних электромагнитных полей.

Создан экспериментальный стенд для изучения транспорта и нагрева магнитных наночастиц в миниканалах и пористых средах под воздействием внешних электромагнитных полей

Разработаны научно-технические предложения по созданию научно-исследовательских установок и разработке методов их применения для исследований биомагнитных наноустройств и способов их использования для тераностики в онкологии.

В физической модели взаимодействия импульсного лазерного излучения с наночастицами золота и их агрегатами, состоящими из произвольного числа металлических наночастиц, учтен фактор полидисперсности частиц, присущий экспериментальным объектам исследования, учтена зависимость константы релаксации свободных электронов металлического ядра частицы от его температуры и агрегатного состояния, зависимость температуры фазового перехода от размера частицы. Эти факторы играют ключевую роль в процессах фотомодификации резонансных доменов многочастичных агрегатов, что делает модель пригодной для описания реальных процессов, происходящих в нанокolloидах.

На ее основе могут быть проведены расчеты взаимодействия лазерного излучения различной длительности, длины волны, поляризации и интенсивности с простейшими резонансными доменами в виде димеров и тримеров, модифицированных аптамерами с мишенью.

Магнитные свойства ферромагнитных тел, размеры которых порядка или меньше характерного размера доменов, не могут быть описаны в рамках макроскопической теории. При микромагнитном моделировании была использована более детальная модель, учитывающая как магнитное, так и обменное взаимодействие между электронами. Поскольку размеры тел остаются большими по сравнению с размерами атомов, проводится пространственное усреднение, приводящее к континуальной модели.

Построенный алгоритм для нахождения потенциала частицы соответствует наилучшим известным методам.

Была проведена селекция ДНК-аптамеров к раку молочной железы из одноцепочечной ДНК-библиотеки олигонуклеотидов N80. В качестве позитивных мишеней использовали послеоперационные материалы ткани рака молочной железы, в качестве негативных – здоровые клетки молочной железы и доброкачественную опухоль молочной железы

Все исследования выполнены в строгом соответствии с документами, регламентирующими этические нормы проведения исследований с использованием биологического материала человеческого происхождения (решение Локального этического комитета КрасГМУ № 37/2012 от 31.01.2012, решение Локального этического комитета КККОД № 8/2011 от 16.03.2011).

Получены экспериментальные образцы биоманитных нанопустройств на основе ДНК-аптамеров к асцитной карциноме Эрлиха. Для исследования транспорта и теплообмена наночастиц в магнитном поле была создана экспериментальная установка и разработана методика математического моделирования движения наночастиц в капиллярах.

В рамках третьего этапа проведено:

Секвенирование наиболее аффинного и специфичного пула ДНК-аптамеров к опухолевой ткани молочной железы.

Синтез ДНК-аптамеров к опухолевой ткани молочной железы.

Выбор наиболее аффинных и специфичных клонов ДНК-аптамеров к опухолевой ткани молочной железы и получению на их основе экспериментальных образцов биоманитных нанопустройств.

Исследование биологической функциональности биоманитных нанопустройств на биологических моделях с асцитной карциномой Эрлиха и на лабораторно-клинических образцах крови и послеоперационных тканей рака молочной железы.

Создание научно-исследовательской установки и проведены комплексные исследования возможностей использования биомагнитных наноустройств для разработки методов, позволяющих:

— различать между собой продукты канцерогенеза в биологических жидкостях и определять их концентрацию;

— осуществлять с помощью электромагнитных полей управление движением и изменением физических свойств биомагнитных наноустройств, находящихся в тканях и биологических жидкостях;

— обеспечивать индикацию и локацию биомагнитных наноустройств на экспериментальных биомедицинских моделях опухолевых тканей и опухолевых клеток в культурах клеток и биологических жидкостях.

Разработка ЛТР получения биомагнитных наноустройств;

Выполнение пробных экспериментов по качественному и количественному анализу продуктов канцерогенеза и сопоставление с результатами теоретического моделирования и данными научной литературы.

Проведение цикла экспериментальных исследований транспорта и нагрева магнитных наночастиц в миканалах и пористых средах под воздействием внешних электромагнитных полей.

Проведение верификации и адаптации математических моделей транспорта и нагрева магнитных наночастиц под воздействием внешних электромагнитных полей на данных эксперимента.

Уточнение технических характеристик аппаратно - программного комплекса и разработке его эскизной конструкторской документации. **3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного исследования и экспериментальной разработки**

Заявка на изобретение №2015116853 от 30.04.2015 "Устройство для калибровки дихрографов кругового дихроизма"

4. Назначение и область применения результатов проекта

Разрабатываемая технология получения гибридных наноустройств на основе магнитных наночастиц и ДНК-аптамеров может активно использоваться в наноиндустрии медицинского назначения и медицинской промышленности, онкологии, таргетной терапии, нанохирургии.

Экспериментальные образцы биомагнитных наноустройств и приборов, предназначенных для доклинических исследований и разработки медицинских изделий управляемой внешними электромагнитными полями тираностики (апробированные на примере рака молочной железы), представляют интерес для научно-медицинской платформы "Онкология" Министерства здравоохранения РФ, востребованы ОАО «КБ «Искра»» для развития нового направления бизнеса в сфере производства инновационных медицинских изделий персонализированной медицины,

Производители средств медицинской диагностики, визуализации и терапии, заинтересованные в повышении конкурентных преимуществ уже выпускаемой медицинской и исследовательской аппаратуры, смогут воспользоваться решениями проекта в виде конъюгатов биофункциональных наноустройств и авторских технологий их модификации и использования.

5. Эффекты от внедрения результатов проекта

Результатом выполнения данного проекта может стать разработка ОКР, ОТР и внедрение при поддержке КП «Развитие биотехнологии» и/или ФЦП «Фарма 2020» технологий производства биомагнитных наноустройств и аппаратно-программных комплексов для управляемой внешними электромагнитными полями тираностики злокачественных новообразований. При поддержке

ГП «Развитие здравоохранения» возможна разработка прорывных медицинских изделий на основе биоманнитных наноустройств и их внедрение в практику лечения онкологических заболеваний.

6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

На данном этапе работы по коммерциализации результатов проекта не проводились.

7. Наличие соисполнителей

Часть работ по проекту была выполнена обществом с ограниченной ответственностью «Территориально-ориентированные информационные системы» (ООО «ТОРИНС») по Договору производственного заказа № 2/12 от «10» декабря 2014 г.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом