



#### СТОЙКА

**Ростислав Стефанович** — член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу регуляції проліферації клітин та апоптозу Інституту біології клітини НАН України  
<https://orcid.org/0000-0001-5719-2187>

## ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НАНОНОСІЇВ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ В КЛІТИНИ

За матеріалами наукової доповіді на засіданні Президії НАН України 31 січня 2018 року

*У доповіді наведено найвагоміші результати багаторічних експериментальних досліджень, проведених науковцями Інституту біології клітини НАН України у співпраці з іншими академічними установами, з розроблення та вивчення нанорозмірних носіїв для ефективною доставки нуклеїнових кислот у клітини живих організмів. Отримані результати є важливими для подальшого розвитку генної інженерії та генної терапії і дають змогу розширити сферу застосування їх досягнень у біотехнології та медичній практиці. Наголошено на необхідності подальшого розроблення і глибшого вивчення нових нанорозмірних матеріалів для скерованою доставки як ліків, так і генетичних матеріалів до клітин-мішеней в органах і тканинах.*

**Ключові слова:** доставка нуклеїнових кислот у клітини, наноносії, багатофункціональні полімери.

Якщо проаналізувати, які матеріали найбільш актуальні зараз на світовому фармацевтичному ринку, то виявиться, що перші дві позиції впевнено посідають засоби для доставки ліків, насамперед адресної доставки, та засоби для генної терапії, зокрема для доставки ДНК і РНК в клітини. Інші передові позиції займають біосумісні і біодеградабельні матеріали для утворення водорозчинних форм ліків, оскільки багато лікарських субстанцій нерозчинні у воді, а також матеріали, придатні для візуалізації доставки і дії ліків та їх виведення з організму. Зазвичай матеріали, які використовують для зазначених цілей, є так званими *істинними наноматеріалами*, які внаслідок своєї нанорозмірності набувають нових властивостей (щодо дефініції терміна «наноматеріал» див. Рекомендації Європейської комісії)\*.

\* [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm)

Станом на 26.02.2018 в міжнародній інформаційній базі даних PubMed за ключовими словами *drug delivery systems* (системи для доставки ліків) налічувалося 132 862 статті, *gene delivery systems* (системи для доставки генів) — 194 817 статей, а *nanocarrier & gene delivery* (наноносій для доставки генів) — 451 стаття (першу статтю на цю тему було опубліковано у 2006 р.).

Цікавим є фінансовий прогноз щодо розвитку світового ринку нанофармацевтичних продуктів. У 2025 р. порівняно з 2012 р. передбачається двократне зростання продажу біомедичних продуктів, створених на основі білків, — до  $28 \pm 14$  млрд дол. США, на основі нуклеїнових кислот — до  $14 \pm 7$  млрд дол. США і на основі молекул малих розмірів — до  $6 \pm 3$  млрд дол. США.

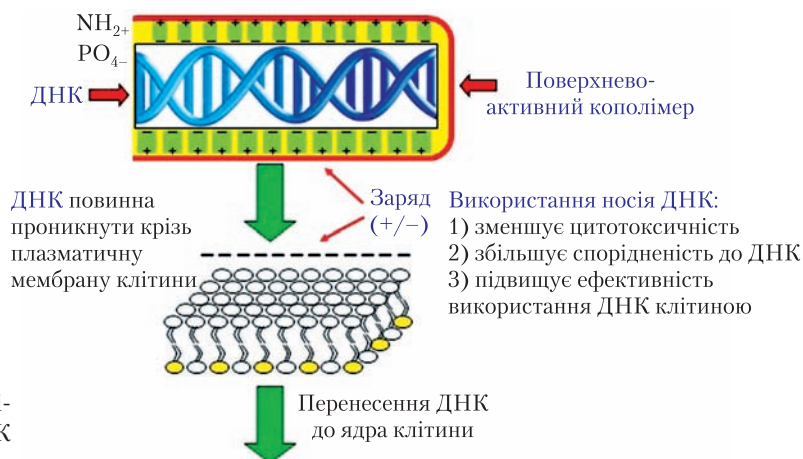
Закономірно постає запитання: для чого потрібні системи доставки генетичних матеріалів у клітини? Основними споживачами таких систем є біотехнологія і медицина, зокрема генна терапія. Метою біотехнології є створення нових продуктів і збільшення обсягів виробництва відомих продуктів, на які у світі є дефіцит і/чи виникає додатковий попит. На першому місці серед таких продуцентів перебувають мікроорганізми, за допомогою яких активно нарощується виробництво біологічно активних і технологічно важливих продуктів. Друге місце серед продуцентів посідають рослини, які також часто застосовуються, хоча з ними є певні проблеми, пов'язані з використанням вірусних конструкцій для доставки чужорідних генетичних матеріалів під час створення нових біопродуцентів. У разі використання тварин як продуцентів спостерігається поступове зростання виробництва, але воно також не позбавлене згаданих вище проблем.

Що стосується генної терапії, яку без сумніву можна назвати медициною майбутнього, адже інші ефективні методи лікування пацієнтів зі спадковими та онкологічними захворюваннями поки що невідомі, то її практично не можна уявити без доставки генетичних матеріалів у клітини людини. Патологічний стан таких пацієнтів пов'язаний із дефіцитом чи ушкодженням специфічних генів, унаслідок

чого продукт відповідного гена або відсутній, або проявляється в біологічно неактивній формі чи з невідповідними функціями.

Перспективним напрямом, який також ґрунтується на доставці чужорідних генів у клітини, є збереження генофонду організмів, що зникають, і відтворення генофонду вимерлих організмів. Ще у 2008 р. дослідники ізолювали гени з решток вимерлого тасманійського тигра, ввели їх в ембріон миші і спостерігали за їхніми біологічними функціями під час розвитку хрящової тканини, зокрема в передній кінцівці ембріона [1].

Слід зазначити, що в Україні склалася вкрай незадовільна ситуація з виробництвом систем доставки генетичного матеріалу в клітини. Основні зусилля дослідників зараз зосереджено на системах доставки ліків, тоді як питанням доставки генів уваги приділяється недостатньо. З огляду на малу кількість легко перелічити науково-дослідні установи та університети, які займаються створенням вітчизняних систем доставки генетичних матеріалів та їх практичним застосуванням для потреб біології, біотехнології чи медицини. Так, у Національному університеті «Львівська політехніка» під керівництвом доктора хімічних наук О.С. Заїченка здійснюють дизайн і синтез полімерних наноносіїв для іммобілізації і транспортування нуклеїнових кислот. В Інституті біології клітини НАН України під керівництвом члена-кореспондента НАН України Р.С. Стойки проводять біомедичне і біотехнологічне випробування цих наноматеріалів (детальніше про ці дослідження можна прочитати в нещодавно виданій монографії [2]). Кілька років тому такі полімерні наноносії почали використовувати також в Інституті харчової біотехнології та геноміки НАН України (керівники робіт — академік НАН України Я.Б. Блюм і член-кореспондент НАН України А.І. Ємець) для доставки генетичного матеріалу в клітини рослин. З цією ж метою в названому Інституті застосовують і фулерени. Частково до робіт з генетичної трансформації рослинних клітин із застосуванням згаданих вище полімерних наноносіїв залучені вчені з Інституту еколо-



**Рис. 1.** Структура і принцип дії полімерного наноносія для доставки ДНК в клітини

гії Карпат НАН України (керівник роботи — кандидат біологічних наук О.В. Лобачевська). В Інституті молекулярної біології і генетики НАН України широко використовують методи генетичної трансформації, і перші кроки із застосування нових вітчизняних полімерних наноносіїв ДНК вже зроблено (керівник роботи — доктор біологічних наук В.В. Філоненко). Проте більшість учених цього Інституту продовжують закуповувати системи для доставки генетичних матеріалів у іноземних фірм.

У відділі регуляції проліферації клітин та апоптозу Інституту біології клітини НАН України (завідувач відділу — член-кореспондент НАН України Р.С. Стойка) проблемами транспортування ліків і генетичних матеріалів у клітини *in vitro* та *in vivo* активно займаються вже понад 10 років, хоча найбільших успіхів було досягнуто за останні 5 років. Зі 110 статей співробітників відділу, опублікованих у високо-рейтингових міжнародних журналах, третина припадає на роботи, присвячені використанню саме нових вітчизняних наноматеріалів. Однак імпаکت-фактор цих статей становить майже 55%, що свідчить про їх актуальність і високу оцінку результатів досліджень зі створення і використання нових наносистем для доставки ліків і генетичних матеріалів (нуклеїнових кислот) з боку міжнародної фахової спільноти.

У чому ж полягає головна проблема доставки нуклеїнових кислот у клітини? Справа в тому, що завдяки залишкам фосфорної

кислоти у складі нуклеотидів нуклеїнові кислоти мають негативний електричний заряд. Водночас плазматична мембрана, яка оточує клітини, завдяки глікоєпітопам, що входять до складу компонентів мембрани, також має негативний заряд, і це перешкоджає проникненню молекул нуклеїнових кислот усередину клітин (рис. 1). Крім того, всі клітини оточені подвійним шаром ліпідів, який має гідрофобні властивості, тоді як нуклеїнові кислоти мають виражені гідрофільні властивості. Отже, нуклеїновим кислотам необхідно подолати ці бар'єри, створені природою саме для того, щоб перешкодити проникненню чужорідного генетичного матеріалу в клітини.

Як же тоді можна забезпечити проникнення чужої ДНК в клітини? Розроблено кілька підходів, покликаних сприяти проникненню різних біомолекул через поверхню клітини (далі йтиметься лише про транспортування нуклеїнових кислот усередину клітини).

Відомо, що віруси можуть з високою ефективністю вводити свої нуклеїнові кислоти в клітини, інфікуючи їх. Тому **біологічний метод** доставки нуклеїнових кислот у клітини за допомогою *вірусних конструкцій*, які, однак, не повинні викликати вірусну інфекцію, вважають найбільш ефективним підходом. Разом з тим, зберігається хоч і мінімальна, але все ж теоретично можлива небезпека включення в клітину генетичних елементів вірусу як носія нуклеїнової кислоти, яку необхідно доставити

всередину клітини. Отже, незважаючи на певні переваги вірусної доставки генетичних матеріалів, насамперед високу ефективність, можливість реалізації доставки навіть у клітини, які їй важко піддаються, цей метод має серйозні недоліки. Зокрема, вони пов'язані не лише з біобезпекою, а й з технічною складністю виконання, що потребує спеціально навченого персоналу та ізольованих лабораторних приміщень, а також зі значними затратами часу для проведення таких робіт.

*Трансфекція* — це процес введення нуклеїнової кислоти в клітини еукаріотичних організмів за допомогою невірусних методів [3]. У прокариотичних організмів (бактерій) цей процес називають *трансформацією*. Трансфекція буває транзійтною (тимчасовою) або стабільною (постійною). У першому випадку ДНК функціонує в клітині лише протягом певного часу. Така ДНК не включається до складу геному ядра клітини, не здатна до реплікації і швидко втрачається з розмноженням клітин. У другому випадку, коли необхідно, щоб уведений ген закріпився в потомстві трансфікованих клітин, він має бути включений в ядерний геном. Для виявлення клітин зі стабільною трансфекцією разом із цільовим геном у клітину вводять ще один ген, покликаний полегшити селекцію трансфікованих клітин. Таким маркером для селекції клітин часто слугує ген резистентності їх до певного антибіотика.

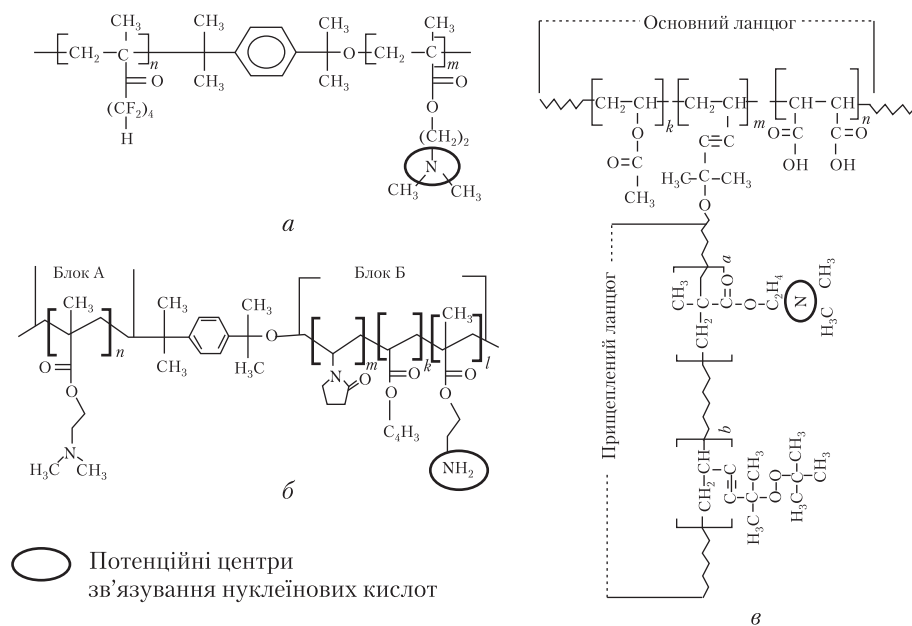
**Фізичні методи** доставки нуклеїнових кислот у клітини часто називають ще інструментальними, оскільки вони потребують використання спеціального обладнання, інколи дуже дорогого, що вважають найбільшим їх недоліком. Інший недолік фізичних методів — імовірність травмування клітин-мішеней, що призводить до їх загибелі, а отже, знижує ефективність трансфекції. Найпоширенішим серед фізичних методів трансфекції є *електропорація*. Суть цього методу полягає в розміщенні клітин, які підлягають генетичній трансформації, у спеціальній камері (кюветі) з алюмінієвими електродами. У камері під дією сильного електричного поля у двошаровій ліпідній мембрані клітин на дуже короткий час виникають пори

і в цей момент макромолекули, присутні в середовищі (наприклад, ДНК чи РНК), можуть потрапити в клітини бактерій, дріжджів, рослин чи ссавців. Електропорацію часто використовують для клітин, стійких до трансфекції. Незважаючи на необхідність використання спеціального приладу для електропорації, цей метод є відносно простим і швидким у виконанні. Серед його недоліків — спеціальне обладнання, необхідність відпрацювання (оптимізації) параметрів досліду з трансфекції клітин певного типу і, головне, небезпека незворотного пошкодження клітинної мембрани, аж до руйнування клітини.

Переваги доставки ДНК за допомогою *біолістичних частинок*, які «вистрілюють» із так званої «генної гармати», полягають у простоті виконання та можливості швидкої тимчасової трансфекції клітин. Серед головних недоліків — дороге обладнання, насамперед сама «генна гармата», високий рівень загибелі клітин-мішеней і часто невисока ефективність їх трансфекції.

На думку багатьох дослідників, оптимальними (за співвідношенням ціна/якість) є **хімічні методи** трансфекції. Розглянемо деякі з них. Серед переваг доставки ДНК за допомогою *кальцію фосфату чи ДЕАЕ-декстрану* слід відзначити дешевість реагентів та універсальність застосування для різних типів клітин, серед недоліків — недостатню стабільність реагентів, часто низьку ефективність методу, недостатню відтворюваність результатів трансфекції, а також у деяких випадках — токсичність для клітин-мішеней. ДЕАЕ-декстран придатний лише для тимчасової (транзійтної) трансфекції, а кальцію фосфат не годиться для трансфекції *in vivo*.

Використання *катіонітних ліпідів* дає певні переваги в досягненні відтворюваності результатів трансфекції. Ці носії ДНК придатні для різних ліній клітин, вони забезпечують досить високу ефективність трансфекції, зручні у використанні і дозволяють швидко проводити трансфекцію. До недоліків можна віднести необхідність оптимізації умов трансфекції, а також стійкість до трансфекції клітин деяких ліній. Крім того, ефективність трансфекції



**Рис. 2.** Кополімери, використані для доставки ДНК (РНК) (вибір кополімерів зумовлений можливостями їх додаткової функціоналізації): *a* — DM-1/DM-2 (лінійний кополімер з різним співвідношенням  $m/n$ ); *b* — 83/5C (інший лінійний кополімер); *v* — гребенеподібний кополімер BG-2CPH (основний ланцюг — аніонний, бічні — катіонні)

може суттєво різнитися для різних типів клітин, а деякі з таких полімерів є токсичними для окремих типів клітин-мішеней.

Виходячи з аналізу переваг і недоліків різних методів доставки генетичних матеріалів у клітини-мішені, а також враховуючи результати попередніх досліджень, проведених ученими Інституту біології клітини НАН України у співпраці з дослідниками з Національного університету «Львівська політехніка», ми зупинилися на невірусних методах генетичної трансформації клітин різного таксономічного походження — бактерій, дріжджів, рослин, тварин і людини — з використанням синтетичних катіонних нанорозмірних полімерів. Як уже зазначалося, подібні носії для доставки ДНК в клітини є безпечнішими за вірусні носії. Крім того, полімерним носіям властива більша гнучкість під час вибору розмірів гена, який необхідно транспортувати, і вони викликають меншу імунно-алергенну реакцію в організмі.

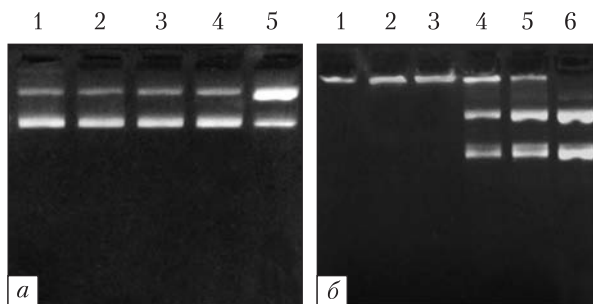
Найбільш перспективними невірусними системами доставки генетичного матеріалу в клітини ссавців є *поліплекси*, тобто комплекси ДНК з катіонними полімерами.

У нашій роботі для трансфекції клітин бактерій, дріжджів і ссавців використовувалися

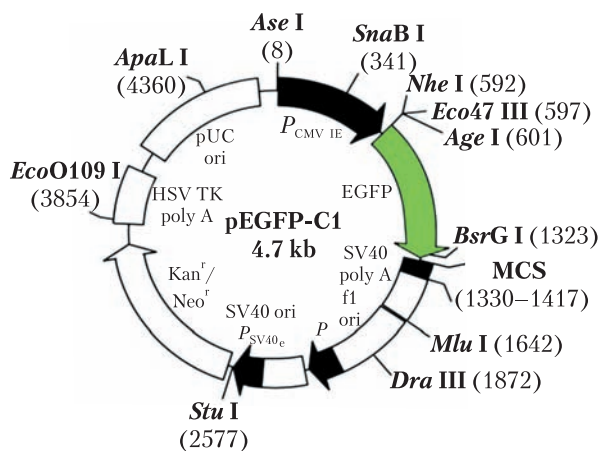
нові синтетичні гребенеподібні поліамфолітні кополімерні носії типу БГ-2 (рис. 2*v*), тоді як для трансфекції рослинних клітин — лінійні кополімери типу DM-1/DM-2 чи 83/5C (рис. 2*a, б*).

Показники поверхневого натягу водних розчинів цих носіїв та їх комплексів з ДНК свідчать про більшу поверхневу активність комплексів порівняно з поверхневою активністю вихідного розчину ДНК, що сприяє їх кращій взаємодії з поверхнею клітин-мішеней. Проведено також порівняльне дослідження структури (сканувальна електронна мікроскопія), колоїдно-хімічних (електрофорез) та спектральних (турбідиметрія, спектроскопія, динамічне світлорозсіювання) характеристик нових поліамфолітних носіїв типу БГ-2, синтезованих на основі полідиметиламіноетилметакрилату (полі-ДМАЕМ) [4]. За його результатами встановлено, що ці носії ефективно зв'язують плазмідну ДНК, утворюючи з нею поліплекси й екрануючи поверхневий негативний заряд плазмідної ДНК. Визначення дзета-потенціалу і розмірів частинок плазмідної ДНК, поліамфолітних полімерних наноносіїв і комплексів цих носіїв з ДНК показало, що їхній дзета-потенціал становить відповідно





**Рис. 3.** Порівняння ДНК-зв'язувальної здатності різних нанополімерів БГ-типу: *a* – БГ-4, який не зв'язує ДНК; *b* – БГ-2, який добре зв'язує ДНК вже в концентрації 0,01% і тому гальмує її рух під час електрофору; концентрації полімеру: 1 – 0,1%, 2 – 0,03%, 3 – 0,01%, 4 – 0,003%, 5 – 0,001%, 6 – ДНК плазміди



**Рис. 4.** Структура плазміди, яку доставляли в клітини лінії MCF-7 аденокарциноми молочної залози людини та інші клітини-мішені (у тому числі бактерій і дріжджів) за допомогою синтетичного полімерного носія БГ-2. EGFP – ген зеленого флуоресцентного білка; SV40 ori – елементи вірусного промотора, Kan<sup>r</sup> і Neo<sup>r</sup> – гени резистентності до антибіотиків (для здійснення селекції трансформованих штамів клітин); жирним шрифтом з нумерацією в дужках позначено локуси розщеплення нуклеазами (рестриктазами)

2,98; 30,6 і 35,4 мВ, а розміри частинок – 390,2; 19,16 і 95,6 нм [5]. Отже, в комплексі із синтезованим носієм (БГ-2) ДНК не лише повністю втрачає свій негативний заряд, а й набуває значно компактнішої форми. Обидві ці зміни властивостей ДНК сприяють її кращому поглинанню клітинами-мішенями.

Комплекси носій/ДНК найкраще утворюються в культуральному середовищі без сироватки крові. Для визначення ефективності утворення таких комплексів ми застосували зручний метод електрофоретичного дослідження збільшення розмірів плазмідної ДНК, коли вона утворює комплекс із полімерним носієм [6] (рис. 3). Формування таких комплексів за участю створених поліамфолітних гребенеподібних носіїв і плазмідної ДНК, а також ефективне функціонування ДНК в клітинах-мішенях свідчить про перспективність цих носіїв як векторів для доставки генів у реципієнтні клітини. Клітини лінії НЕК293Т нирки ембріона людини виявилися найбільш сприйнятливими для плазмідної ДНК, доставленої за допомогою поліамфолітних носіїв.

Іншим цікавим підходом для перевірки створених полімерних наноносіїв на їх здатність доставляти ДНК в клітини є використання плазміди (pEGFP-c1), що містить ген, який кодує структуру *зеленого флуоресцентного білка* (GFP) під контролем промотора цитомегаловірусу (рис. 4). Саме вона була застосована в наших дослідженнях, результати яких демонструють ефективну трансфекцію клітин лінії MCF-7 аденокарциноми молочної залози людини чужорідною ДНК, доставленою в клітини за допомогою створеного в Україні полімерного наноносія типу БГ-2. Завдяки цьому методу ефективність засвоєння клітинами плазмідної ДНК зручно оцінювати, порівнюючи кількість клітин, що містять GFP і тому демонструють зелену флуоресценцію, із загальною кількістю клітин у культурі (в тканині, органі, організмі).

Відкриття зеленого флуоресцентного білка надало вирішального імпульсу роботам з генної інженерії і біотехнології. Це відкриття дало можливість побачити під флуоресцентним мікроскопом клітини чи візуалізувати за допомогою мінітомографа тканини й органи лабораторних тварин, у яких функціонує чужорідний ген, завдяки злитому з ним гену GFP. За відкриття GFP і його гена, а також за розвиток нового методу візуалізації місць експресії досліджуваних генів Мартіну Чалфі (Martin Chalfie), Сімомурі Осаму (Osamu

Shimomura) і Роджеру Цяню (Roger Yonchien Tsien) у 2008 р. було присуджено Нобелівську премію з хімії [7].

На рис. 5–8 і в табл. 1 наведено результати трансфекції клітин організмів різного таксономічного походження – бактерій [8], дріжджів [9, 10], рослин [11, 12], людини [5], здійсненої з використанням вітчизняних синтетичних полімерних наноносіїв, порівняно з результатами трансфекції, виконаної за допомогою інших відомих методів – хімічного (поліетиленімін, поліетиленгліколь, літію ацетат) і фізичного (електропорація).

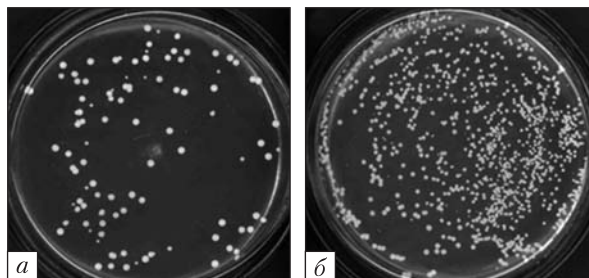
З результатів, наведених на рис. 9, видно, що в клітинах людини може ефективно функціонувати не лише ген зеленого флуоресцентного білка, доставлений синтетичним полімерним носієм, а й гени інших білків, наприклад інгібітора росту клітин – білка р21 чи антионкогенного білка р53 [2, розділ 3.2].

У табл. 2 порівнюється ефективність трансфекції різних ліній клітин людини за допомогою традиційного реагенту поліетиленіміну (ПЕІ) і синтетичного нанополімеру БГ-2. Полімерний носій БГ-2 і поліетиленімін малотоксичні в дозах, які використовують для доставки ДНК у складі відповідних наноконструкцій (рис. 10). Вони є токсичними для клітин людини лише у високих концентраціях, які в дослідженнях не застосовують.

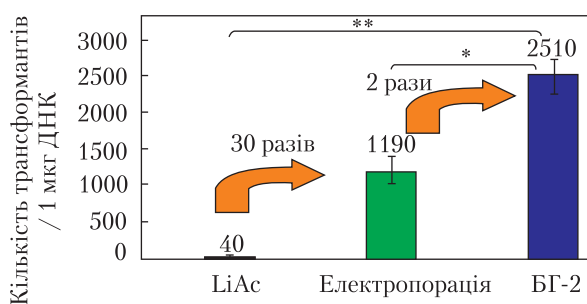
У генній терапії є кілька обов'язкових вибог до засобів доставки нуклеїнових кислот

**Таблиця 1. Порівняння ефективності стабільної трансформації моху *Ceratodon purpureus* плазмідною ДНК рSF3 з використанням різних полімерних носіїв і поліетиленгліколю (ПЕГ-6000)**

Полімерний носій	Ефективність трансформації (кількість отриманих клонів)
TN 83/5	11
TN 83/6	5
5Dq	1
БГ-2m	1
ПЕГ-6000	–
Контроль (доставка ДНК без носія)	–

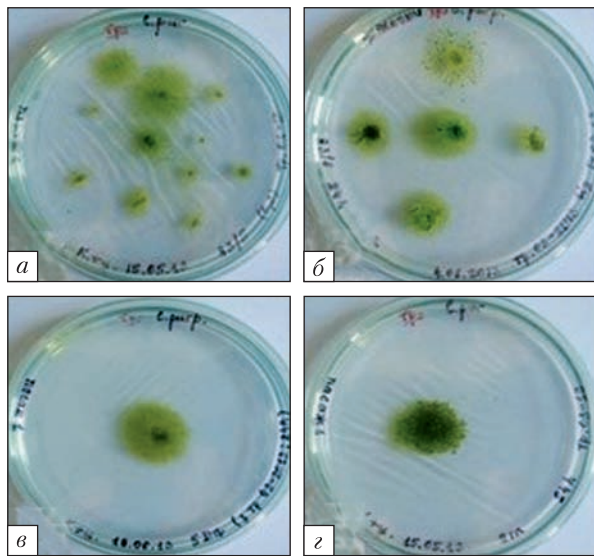


**Рис. 5.** Результати генетичної трансформації бактерій *E. coli* за допомогою поліетиленіміну (а) і нанорозмірного полімеру БГ-2 (б). Ріст бактерій відбувався на селективному середовищі

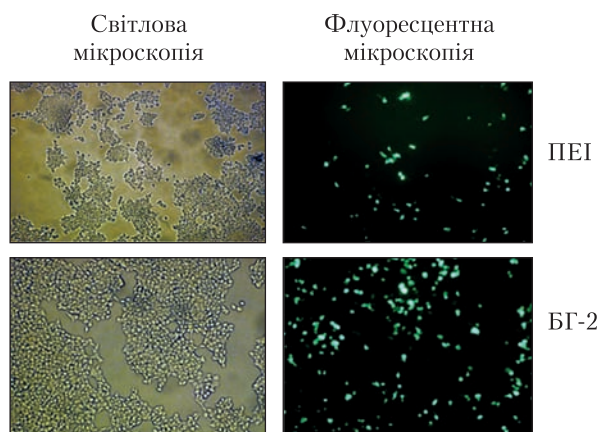


**Рис. 6.** Результати, що показують ефективність трансфекції дріжджів *Hansenula polymorpha* за допомогою хімічного методу з використанням літію ацетату, електропорації і синтетичного полімеру БГ-2 [10]

(ДНК). Зокрема, молекули ДНК повинні проникати крізь плазматичну мембрану реципієнтних клітин, зберігати свої структурно-функціональні властивості всередині клітини після поглинання клітинами шляхом ендцитозу, а також проникати в ядро, де ДНК має інтегруватися у хроматин і транскрибуватися в інформаційну РНК [13]. Описано ряд таких засобів доставки нуклеїнових кислот, зокрема поліетиленімін [14–16], полі-L-лізин [17, 18], дендримери [19], хітозан [20], ліпосоми [21], металовмісні наноматеріали [22], і цей список далеко не повний. Встановлено, що саме полімерні нанорозмірні носії для генетичної трансформації клітин мають істотні переваги – високу ефективність доставки нуклеїнової кислоти в реципієнтні клітини, її захист від розщеплення позаклітинними і внутрішньо-



**Рис. 7.** Клоні стабільних генетичних трансформантів рослини (мох *Ceratodon purpureus*), отримані з використанням різних синтетичних полімерних носіїв (*a* – TN 83/5; *б* – TN 83/6; *в* – 5Dq, *г* – БГ-2m) для доставки плазмідної ДНК. Селекцію трансформантів здійснювали на середовищі Кнопа, що містило гігromіцин Б. У контролі (не показано) жодних трансформантів не виявлено



**Рис. 8.** Результати генетичної трансформації клітин лінії 293T нирки ембріона людини з використанням синтетичного полімерного носія Н-1 як вектора для доставки плазмиди, що містить ген зеленого флуоресцентного білка (GFP), і з використанням лінійного поліетиленіміну (PEI, фірма Polysciences Inc., США)

клітинними нуклеазами, а також можливість здійснення адресної доставки генетичного матеріалу в клітині.

Одна з ключових проблем, що виникає при застосуванні як ліків, так і генетичних матеріалів, полягає в тому, що лише 0,001–0,01% активної лікарської субстанції, введеної внутрішньовенно, доходить до своїх біологічних мішеней в організмі (цит. за [23]). Подоланню цієї проблеми може сприяти комплексування цих біологічно активних речовин зі спеціальними носіями, особливо якщо ці носії містять у своєму складі спеціальний векторний елемент, здатний забезпечувати адресну дію відповідних комплексів. Саме полімери з функціональними групами можуть слугувати платформою для приєднання молекул таких векторів. Наприклад, полімерний дендример, використаний як багатофункціональна платформа для доставки лікарської субстанції [24], містить у своєму складі малу інтерференційну РНК (блокує роботу матричної РНК, яка кодує структуру специфічного гена), поліетиленгліколь (перешкоджає передчасному видаленню лікувального комплексу клітинами імунної системи), антитіло (молекула імуноглобуліну, що розпізнає специфічний рецептор на поверхні клітин-мішеней), фолієву кислоту (сприяє дії комплексу саме на пухлинні клітини), певний пептид (поліпшує адресну дію), флуоресцентний барвник (опційний, необов'язковий елемент, який використовують для кращої візуалізації доставки, дії і видалення комплексу в організмі) і контрастувальні фактори (служать для виявлення комплексу за допомогою методу магнітного резонансу).

Зважаючи на таку багатофункціональність систем доставки ліків і нуклеїнових кислот, їх без перебільшення можна вважати своєрідними біологічними нанороботами, використання яких покликане суттєво підвищити ефективність і адресність дії лікарських засобів та зменшити негативні побічні прояви їхньої дії в організмі.

Доцільно звернути увагу на наявність у складі описаного вище експериментального лікувального чинника інтерференційних РНК [25].

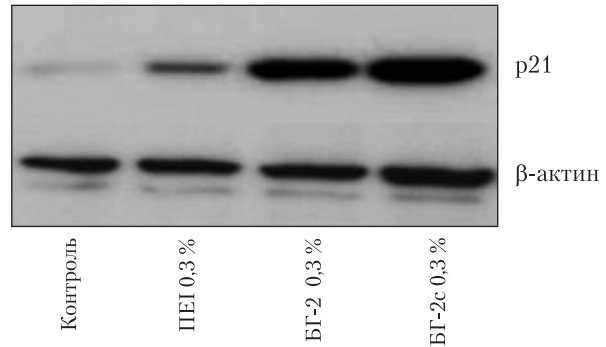


Ці молекули називають ще малими (довжиною до 25 нуклеотидів), некодуючими (генетична інформація в них записана у дзеркальному відображенні, тобто у послідовності навпаки), терапевтичними (їх безспідставно вважають ліками майбутнього) РНК. Транспортування таких РНК є ще більш проблематичним, ніж транспортування ДНК, оскільки молекули РНК більш чутливі до руйнування, адже ензими, які розщеплюють РНК, дуже поширені не лише всередині клітини, а й у позаклітинному середовищі. Тому ефективні та безпечні носії малих некодуючих РНК є дуже цінними для біології і медицини. Ми розпочали дослідження з доставки малих РНК синтезованими полімерними наноносіями, а також започаткували роботи зі створення гібридних наноносіїв, які одночасно транспортують протипухлинний лікарський препарат і малу РНК.

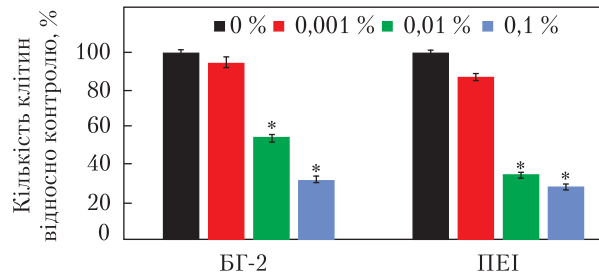
На основі модифікованого багат шарового оксиду графену нещодавно було створено багатофункціональний гібридний наноносій для генної терапії раку підшлункової залози у миші [25]. Цей наноносій (FA/PEG/GO) для доставки нуклеїнових кислот містить фолієву кислоту (FA) (забезпечує переважну дію на пухлинні клітини), приєднану до аміногрупи поліетиленгліколю ( $\text{NH}_2\text{-mPEG-NH}_2$ ), який слугує для поліпшення водорозчинності і біосумісності нанокомплексів, з утворенням комплексу GO/PEG/FA/РАН, здатного доставляти siRNA завдяки електростатичній взаємодії з поверхнею клітини-мішені, що має негативний заряд [25].

Як відомо, в Україні проводяться дослідження з використанням графену, тому описаний вище експериментальний підхід повинен зацікавити вітчизняних учених.

Незважаючи на високу ефективність трансфекції за допомогою багатофункціональних наноносіїв, ряд проблем поки що не вдалося подолати. Це, зокрема: 1) недостатньо специфічний



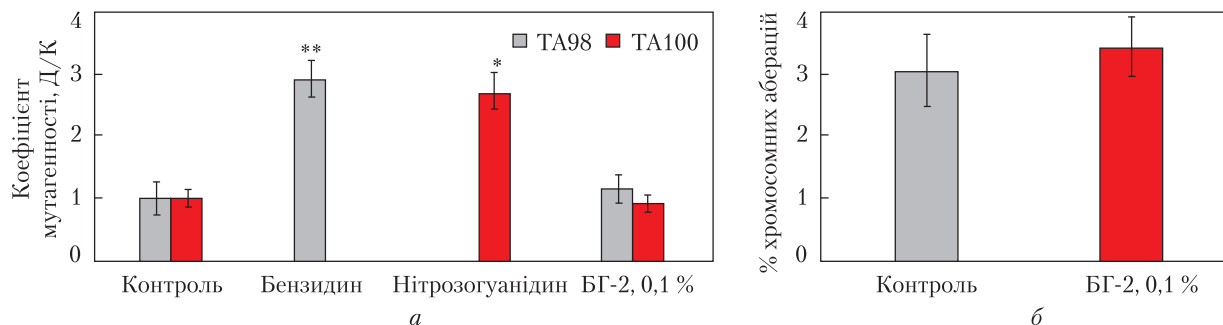
**Рис. 9.** Результати вестерн-блотингу з визначення вмісту білка p21 (інгібітор росту клітин) у клітинах лінії MCF-7 аденокарциноми молочної залози людини (після трансфекції клітин плазмідом, що містить ген цього білка)



**Рис. 10.** Результати порівняння токсичної дії поліетиленіміну і полімеру BG-2 на клітини лінії MCF-7 аденокарциноми молочної залози людини

**Таблиця 2. Ефективність трансфекції клітин ссавців з використанням різних полімерних носіїв ДНК**

Лінія клітин	Ефективність трансфекції з	
	BG-2, %	PEI, %
HEK 293T (нирка ембріона людини)	71,1 ± 2,4	60,8 ± 3,1
MCF-7 (аденокарцинома молочної залози людини)	48,2 ± 2,3	40,9 ± 2,1
HeLa (карцинома шийки матки людини)	10,1 ± 0,3	26,0 ± 1,1
HCT 116 (карцинома товстого кишківника людини)	9,4 ± 0,2	7,1 ± 0,3
L929 (трансформовані фібробласти миші)	8,4 ± 0,2	5,7 ± 0,1
MDA-MB-231 (аденокарцинома молочної залози людини)	6,3 ± 0,2	5,1 ± 0,2
SK-MEL-28 (меланома шкіри людини)	4,4 ± 0,1	2,8 ± 0,1



**Рис. 11.** Результати тесту Еймса (а) і ана-телофазного (б) аналізу генотоксичної дії полімеру БГ-2 в концентрації 0,1 %, що значно перевищує концентрацію, в якій він використовується в дослідях з доставки генетичних матеріалів

біорозподіл таких носіїв в організмі; 2) низька розчинність багатьох сильнодійних лікарських субстанцій; 3) передчасна біодеградація лікарських субстанцій, що істотно знижує ефективність їх дії; 4) низький терапевтичний індекс (діапазон між ED50 і TD50); 5) множинна медикаментозна резистентність; 6) імуногенна та алергогенна дія як ліків, так і систем їх доставки (ця проблема маловивчена, на відміну від кардіо-, гепато-, нефро- чи навіть нейротоксичності); 7) маловивченість впливу наноформ ліків на експресію генів зі спадковими наслідками; 8) низька відтворюваність синтезу носіїв ліків, що перешкоджає їх затвердженню як медичних засобів агенцією FDA (Food and Drug Administration) у США; 9) доставка малих некодуючих терапевтичних РНК усе ще перебуває на початкових етапах розвитку.

Значну проблему також становить вартість реагентів, необхідних для доставки генетичного матеріалу (ДНК) в клітини. Так, 1,5 мл реагенту Lipofectamine 2000 (фірма Invitrogen) коштує 600 дол. США, 1 мл реагенту FuGENE – 500 дол. США (на 1 зразок витрачається 5 мкл реагенту), 1 г лінійного поліетиленіміну (фірма Polysciences Inc.) – 230 дол. США, 1 мл реагенту PolyJet™ (розрахований на 333 біологічні зразки) – 150 дол. США.

Раніше ми експериментально довели, що доставка високотоксичних протипухлинних ліків (наприклад, доксорубіцину) у комплексі зі створеними полімерними наноносіями суттєво знижує негативні побічні ефекти від дії цих

ліків, зокрема їхню кардіо-, гепато- і нефротоксичність [26–28]. Що стосується нових полімерних наноносіїв для доставки генетичних матеріалів, то насамперед необхідно виключити їхню генотоксичну дію, оскільки в цьому разі втрачається сенс у транспортуванні ними генетичних матеріалів. Для оцінки генотоксичної дії синтетичних наноносіїв було використано два відомі тести — Еймса і ана-телофазний. З даних, наведених на рис. 11, видно, що полімерні наноносії типу БГ-2, які були найбільш ефективними для доставки плазмідної ДНК, не мають генотоксичної (мутагенної) дії [29].

Отже, підсумовуючи все сказане, можна зробити такі висновки:

1) проведено порівняльне дослідження структури, колоїдно-хімічних і спектральних характеристик нових вітчизняних поліамфолітних носіїв типу БГ-2, синтезованих на основі полі-ДМАЕМ. Встановлено, що вони ефективно зв'язують плазмідну ДНК, утворюючи з нею поліплекси;

2) поліамфолітні носії типу БГ-2 формують міцелярні структури в рідкому середовищі. Завдяки утворенню міцел з електропозитивним поверхневим зарядом ці носії утворюють комплекси з плазмідною ДНК. У складі таких комплексів плазмідна ДНК повністю захищена від дії нуклеаз;

3) поліамфолітні носії типу БГ-2 не мають суттєвої токсичності щодо клітин ссавців. У тесті Еймса не виявлено мутагенної дії використаних носіїв у всіх досліджуваних

дозах. Відсутність мутагенного впливу цих носіїв підтверджено також результатами аналофазного аналізу;

4) продемонстровано істотне підвищення ефективності доставки ДНК в клітини дріжджів *Pichia pastoris* (5–79 разів) та *Hansenula polymorpha* (2–15 разів) новими поліамфолітними носіями порівняно з доставкою ДНК за допомогою хімічного методу (лігію ацетат) чи електропорації. Аналогічного висновку можна дійти за результатами вивчення доставки ДНК в клітини пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*;

5) продемонстровано підвищення ефективності доставки ДНК в бактерійні клітини *E. coli* новими поліамфолітними носіями – 1445 колоній трансформантів у разі використання БГ-2 проти 919 колоній трансформантів з використанням хімічного методу трансформації (кальцію хлорид);

6) у разі використання поліамфолітного носія БГ-2 виявлено суттєве (у 5 разів порівняно з ПЕГ-трансформацією) підвищення ефективності генетичної трансформації *Streptomyces lividans*;

7) виявлено ефективність доставки плазмідної ДНК у складі поліплексів з поліамфолітними носіями в клітини ссавців (7 різних ліній, включно з пухлинними клітинами);

8) уперше продемонстровано здатність нових лінійних поліамфолітних носіїв ефективно доставляти плазмідну ДНК в клітини рослинних організмів.

Слід зазначити, що вирішення проблем, пов'язаних зі створенням ефективних вітчизняних носіїв генетичних матеріалів, не лише є питанням престижу нашої науки, а й має вагоме економічне значення – звільняє вітчизняних дослідників від необхідності купувати високовартісні імпортні реагенти. У табл. 3 наведено порівняльні характеристики використання різних методів трансфекції, у тому числі за допомогою запропонованого нами синтетичного нанополімеру.

Команда дослідників з Інституту біології клітини НАН України спільно з науковцями з Національного університету «Львівська по-

літехніка» одержали патент України [30] і подали заявку на патент США та міжнародну патентну заявку РСТ на захист прав на високоєфективну систему доставки нуклеїнових кислот у клітини.

Питання, розглянуті в цьому огляді, частково були описані в монографії [2], а використанню вітчизняних полімерних наночасинок для доставки плазмідної ДНК в клітини дріжджів присвячено написаний нами розділ монографії [10].

Що стосується подальших досліджень, то в найближчій перспективі потрібно розв'язати такі проблеми:

1) створення проформ лікарських субстанцій, що мають бути зібрані в одну наносистему під час контакту з біомаркерами патологічних клітин (у цьому випадку компоненти системи можуть вживатися оральним шляхом);

2) створення гібридних наночасинок для одночасної доставки в клітини-мішені протипухлинних ліків і генетичних матеріалів;

3) підвищення адресності доставки ДНК чи малих РНК наночасинками;

4) ефективне мічення наночасинок для забезпечення можливості візуалізації транспортування наночасинок з ліками чи генетичними матеріалами;

Таблиця 3. Порівняння різних методів трансфекції клітин людини гетерологічною ДНК

Метод трансфекції	Вартість обладнання, USD	Вартість досліду, USD	Тривалість досліду, хв	Ефективність трансфекції
Наночасини Н-1	0	0,1	15	++
PEI	0	0,1	90	+
Електропорація	10 000	1	90	++
Ліпосомний носій	0	15	15	++
Генна гармата	>50000	10	210–450	++/+++

5) створення наноносіїв із підвищеною здатністю долати біологічні бар'єри в організмі;

6) вивчення фармакокінетики застосованих наноносіїв ліків і генетичних матеріалів, а також з'ясування наслідків їх впливу на імунну систему і спадкові ознаки.

Однією з проблем, що виникають на шляху інтенсифікації робіт зі створення і використання вітчизняних носіїв для доставки генетичних матеріалів у різні типи клітин-мішеней, є традиційне для України недостатнє матеріально-технічне забезпечення проведення необхідних досліджень. Наприклад, в Україні й досі немає жодного сучасного мінітомографа для лабораторних тварин, що допоміг би візуалізувати доставку ліків і генетичних матеріалів, без чого неможливе розроблення носіїв та їх біовипробування.

У проведенні досліджень з цього напрямку необхідно посилити співпрацю з установами

Відділення хімії НАН України (створення нових наноносіїв на основі органічних (полімери) і мінеральних речовин), Відділення фізико-технічних проблем матеріалознавства та Відділення фізики і астрономії (фізична характеристика нових наноносіїв і створення матеріалів для магнітофекції ДНК), Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології, передусім з Інститутом молекулярної біології і генетики НАН України, та Відділення загальної біології (біовипробування нових наноносіїв генетичних матеріалів), Київським національним університетом імені Тараса Шевченка, Національним університетом «Львівська політехніка» (створення наноносіїв і випробування), а також із закордонними партнерами в Німеччині, Австрії, Канаді, Польщі. Триває пошук нових партнерів для співпраці в Україні і за кордоном.

## REFERENCES

### [СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Pask A.J., Behringer R.R., Renfree M.B. Resurrection of DNA function in vivo from an extinct genome. *PLoS One*. 2008. **3**(5): e2240. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002240>
2. Stoika R.S. (ed.). *Multifunctional nanomaterials for biology and medicine: molecular design, synthesis and application*. (Kyiv: Naukova Dumka, 2017).  
[Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування (за ред. Р.С. Стойки). К.: Наук. думка, 2017.]
3. Lewin B. *Genes VII*. (Oxford University Press, New York, 2000). P. 533–539.
4. Tanasienko I.V., Yemets A.I., Finiuk N.S., Stoika R.S., Blume Ya.B. DMAEM-based cationic polymers as novel carriers for DNA delivery into cells. *Cell Biol. Int.* 2014. **39**(3): 243. <https://doi.org/10.1002/cbin.10381>
5. Ficen S.Z., Guler Z., Mitina N., Finiuk N., Stoika R., Zaichenko A., Ceylan S.E. Biophysical study of novel oligo-electrolyte based non-viral gene delivery systems to mammalian cells. *J. Gene Med.* 2013. **15**(5): 193. <https://doi.org/10.1002/jgm.2710>
6. Finiuk N.S., Vitak T.Y., Mitina N.Y., Filyak Y.Z., Zaichenko O.S., Stoika R.S. Polyplex formation by novel surface active comb-like polyamfolytes and plasmid DNA. *Biotechnologia Acta*. 2012. **5**(6): 66.  
[Фінюк Н.С., Вітак Т.Я., Мітіна Н.Є., Філяк Є.З., Заїченко О.С., Стойка Р.С. Утворення поліплексів новими поверхнево-активними гребенеподібними поліамфолітами і плазмідною ДНК. *Biotechnologia Acta*. 2012. Т. 5, № 6. С. 66–72.]
7. Zimmer M. GFP: from jellyfish to the Nobel prize and beyond. *Chem. Soc. Rev.* 2009. **38**(10): 2823. <https://doi.org/10.1039/b904023d>
8. Finiuk N.S., Filyak Y.Z., Zaichenko O.S., Mitina N.Y., Stoika R.S. Using of the new nanosized polymer carrier for genetic transformation of bacterial cells. In: *Microbial Biotechnology: Activities and Future (daRostim 2012)*: Proc. VIII Int. Conf. (Kyiv, 2012). P. 329–330.  
[Фінюк Н.С., Філяк Є.З., Заїченко О.С., Мітіна Н.Є., Стойка Р.С. Використання нового нанорозмірного полімерного носія для генетичної трансформації бактерійних клітин. У кн.: *Мікробні біотехнології: актуальність і майбутнє (daRostim-2012)*: зб. матер. міжнар. наук.-практ. конф. К., 2012. С. 329–330.]
9. Filyak Y., Finiuk N., Mitina N., Bilyk O., Titorenko V., Hrydzuk O., Zaichenko A., Stoika R. A novel method for genetic transformation of yeast cells using oligoelectrolyte polymeric nanoscale carriers. *Biotechniques*. 2013. **54**(1): 35. <https://doi.org/10.2144/000113980>



10. Filyak Y., Finiuk N., Mitina N., Zaichenko A., Stoika R. Application of novel polymeric carrier of plasmid DNA for transformation of yeast cells. In: *Genetic transformation systems in Fungi*. van den Berg M.A., Maruthachalam K. (eds.). Vol. 1. (Springer, 2015). P. 201–207. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-10142-2\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10142-2_20)
11. Finiuk N.S., Chaplya A.Y., Mitina N.Y., Boiko N.M., Lobachevska O.V., Miahkota O.S., Yemets A.I., Blume Ya.B., Zaichenko O.S., Stoika R.S. Genetic transformation of the moss *Ceratodon purpureus* by novel polycationic carriers of DNA. *Cytology and Genetics*. 2014. **48**(6): 345. <https://doi.org/10.3103/S0095452714060048>  
[Фінюк Н.С., Чапля А.Є., Мітіна Н.Є., Бойко Н.М., Лобачевська О.В., М'ягkota О.С., Ємець А.І., Блюм Я.Б., Заїченко О.С., Стойка Р.С. Генетична трансформація моху *Ceratodon purpureus* за допомогою нових полікатионних носіїв. *Цитологія і генетика*. 2014. № 6. С. 3–11.]
12. Finiuk N., Buziashvili A., Burlaka O., Zaichenko A., Mitina N., Miagkota O., Lobachevska O., Stoika R., Blume Ya., Yemets A. Investigation of novel oligoelectrolyte polymer carriers for their capacity of DNA delivery into plant cells. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2017. **131**(1): 27. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-017-1259-7>
13. Barry M.E., Pinto-Gonzalez D., Orson F.M., McKenzie G.J., Petry G.R., Barry M.A. Role of endogenous endonucleases and tissue site in transfection and CpG-mediated immune activation after naked DNA injection. *Hum. Gene Therapy*. 1999. **10**(15): 2461. <https://doi.org/10.1089/10430349950016816>
14. Lungwitz U., Breunig M., Blunk T., Göpferich A. Polyethylenimine-based non-viral gene delivery systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005. **60**(2): 247. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.11.011>
15. Rudolph C., Ortiz A., Schillinger U., Jauernig J., Plank C., Rosenecker J. Methodological optimization of polyethylenimine (PEI)-based gene delivery to the lungs of mice via aerosol application. *J. Gene Med.* 2005. **7**(1): 59. <https://doi.org/10.1002/jgm.646>
16. Wang Y., Chen P., Shen J. The development and characterization of a glutathione-sensitive cross-linked polyethylenimine gene vector. *Biomaterials*. 2006. **27**(30): 5292. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.05.049>
17. Liu G., Swierczewska M., Lee S., Chen X. Functional nanoparticles for molecular imaging guided gene delivery. *Nano Today*. 2010. **5**(6): 524. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2010.10.005>
18. Sun X., Zhang N. Cationic polymer optimization for efficient gene delivery. *Mini Rev. Med. Chem.* 2010. **10**(2): 108. <http://dx.doi.org/10.2174/138955710791185109>
19. Marvaniya H.M., Parikh P.K., Patel V.R., Modi K.N., Sen D.J. Dendrimer nanocarriers as versatile vectors in gene delivery. *J. Chem. Pharm. Res.* 2010. **2**(3): 97. <http://www.jocpr.com/articles/dendrimer-nanocarriers-as-versatile-vectors-in-genedelivery.pdf>
20. Strand S.P., Lelu S., Reitan N.K., de Lange Davies C., Artursson P., Varum K.M. Molecular design of chitosan gene delivery systems with an optimized balance between polyplex stability and polyplex unpacking. *Biomaterials*. 2010. **31**(5): 975. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.102>
21. Tros de Larduya C., Sun Y., Düzgüneş N. Gene delivery by lipoplexes and polyplexes. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2010. **40**(3): 159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2010.03.019>
22. Hu J., Kovtun A., Tomaszewski A., Singer B.B., Seitz B., Epple M., Steuhl K.-P., Ergun S., Fuchsluger T.A. A new tool for the transfection of corneal endothelial cells: Calcium phosphate nanoparticles. *Acta Biomaterialia*. 2012. **8**(3): 1156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.013>
23. Ljubimova J.Y., Fujita M., Ljubimov A.V., Torchilin V.P., Black K.L., Holler E. Poly(malic acid) nanoconjugates containing various antibodies and oligonucleotides for multitargeting drug delivery. *Nanomedicine (Lond.)*. 2008. **3**(2): 247. <http://dx.doi.org/10.2217/17435889.3.2.247>
24. Madaan K., Kumar S., Poonia N., Lather V., Pandita D. Dendrimers in drug delivery and targeting: Drug-dendrimer interactions and toxicity issues. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2014. **6**(3): 139. <http://dx.doi.org/10.4103/0975-7406.130965>
25. Yin F., Hu K., Chen Y., Yu M., Wang D., Wang Q., Yong K.T., Lu F., Liang Y., Li Z. SiRNA delivery with PEGylated graphene oxide nanosheets for combined photothermal and genetherapy for pancreatic cancer. *Theranostics*. 2017. **7**(5): 1133. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.17841>
26. Kobylins'ka L.I., Havryliuk D.Ia., Riabtseva A.O., Mitina N.Ie., Zaichenko O.S., Zimenkovskiy B.S., Stoika R.S. Study of rat blood serum biochemical indicators of cardiotoxic action of novel antitumor 4-thiazolidinone derivatives and doxorubicin in complexes with polyethylene glycol-containing polymeric carrier in the rat blood serum. *Ukr. Biochem. J.* 2014. **86**(6): 84. <http://dx.doi.org/10.15407/ubj86.06.084>  
[Кобилінська Л.І., Гаврилюк Д.Я., Рябцева А.О., Мітіна Н.Є., Заїченко О.С., Зіменковський Б.С., Стойка Р.С. Дослідження біохімічних показників кардіотоксичної дії нових протипухлинних похідних 4-тіазолідінонів і доксорубіцину у комплексах із поліетиленглікольвмісним полімерним носієм у сироватці крові щурів. *Ukr. Biochem. J.* 2014. Т. 86, № 6. С. 84–95.]
27. Kobylinska L.I., Havrylyuk D.Y., Ryabtseva A.O., Mitina N.E., Zaichenko O.S., Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S., Stoika R.S. Biochemical indicators of hepatotoxicity in blood serum of rats under the effect of novel 4-thiazolidinone

- derivatives and doxorubicin and their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. *Ukr. Biochem. J.* 2015. **87**(2): 122. <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.02.122>  
[Кобилінська Л.І., Гаврилюк Д.Я., Рябцева А.О., Мітіна Н.Є., Заїченко О.С., Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С., Стойка Р.С. Біохімічні показники гепатотоксичності у сироватці крові щурів за дії нових похідних 4-тіазолідинонів і доксорубіцину та їх комплексів із поліетиленглікольвмісним полімерним нанорозмірним носієм. *Ukr. Biochem. J.* 2015. Т. 87, № 2. С. 122–132.]
28. Kobylinska L.I., Havrylyuk D.Ya., Mitina N.E., Zaichenko A.S., Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S., Stoika R.S. Biochemical indicators of nephrotoxicity in blood serum of rats treated with novel 4-thiazolidinone derivatives or their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. *Ukr. Biochem. J.* 2016. **88**(1): 51. <https://doi.org/10.15407/ubj88.01.051>  
[Кобилінська Л.І., Гаврилюк Д.Я., Мітіна Н.Є., Заїченко О.С., Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С., Стойка Р.С. Біохімічні показники нефротоксичності у сироватці крові щурів за дії нових похідних 4-тіазолідинонів та їхніх комплексів із поліетиленглікольвмісним полімерним нанорозмірним носієм. *Ukr. Biochem. J.* 2016. Т. 88, № 1. С. 51–60.]
29. Finiuk N.S., Filyak Y.Z., Boiko N.M., Mitina N.Y., Zaichenko O.S., Stoika R.S. Evaluation of cytotoxic and mutagenic action of novel surface active comb-like polyampholytes that are used for delivery of nucleic acids to target cells. *Biol. Studii.* 2013. **7**(2): 15.  
[Фінюк Н.С., Філяк Є.З., Бойко Н.М., Мітіна Н.Є., Заїченко О.С., Стойка Р.С. Оцінка цитотоксичної і мутагенної дії нових поверхнево-активних гребенеподібних поліамфолітів, що використовуюються для доставки нуклеїнових кислот у клітини-мішені. *Біологічні студії.* 2013. Т. 7, № 2. С. 15–26.]
30. Patent of Ukraine No. 51916. Filyak Y., Stoika R., Hrydzjuk O. et al. Method for introduction of nucleic acids in the yeast cells. 10.08.2010.  
[Патент України № 51916. Філяк Є., Стойка Р., Гриджук О. та ін. Спосіб введення нуклеїнових кислот у клітини дріжджів. Опубл. 10.08.2010, бюл. № 15.]

*R.S. Stoika*

Institute of Cell Biology of the National Academy of Sciences of Ukraine (Lviv)

#### PERSPECTIVES OF DEVELOPMENT OF THE NANOCARRIERS FOR DELIVERY OF GENETIC MATERIALS INTO CELLS

According to the materials of scientific report at the meeting of the Presidium of NAS of Ukraine, January 31, 2018

The most important results of the long-term experimental investigations conducted by scientists of the Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine in collaboration with other institutions of the Academy and universities and addressed on the development and characteristics of the nanoscale carriers for efficient delivery of nucleic acids into cells of living organisms are presented in the review. Advantages and drawbacks of the viral (biological) and non-viral (chemical and physical) methods of gene delivery have been described. The first native non-viral gene delivery systems based on the comb-like and linear co-polymers with the polyampholytic properties have been synthesized at Lviv National Polytechnic University. Their ability to deliver genetic materials into cells of organisms of various taxonomic types (bacteria, yeast, and mammalian) was demonstrated at the Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine. In collaboration with scientists of the Institute of Food Biotechnology and Genomics of NAS of Ukraine, first native polymeric nanocarriers for gene delivery into plant cells were also developed. The physico-chemical characteristics and biological effects of these gene delivery systems were compared with those of the polyethylenimine that is a widely used polymeric carrier of the nucleic acids. The biocompatibility of the developed systems, as well as the lack of their mutagenic activity, were demonstrated. Due to availability of specific chemical groups in the synthesized polymeric nanocarriers, it is possible to perform an addressed delivery of different biomolecules, particularly the DNA, that is impossible when using the traditional liposomal carriers of DNA. This can provide the carriers with ability to conduct addressed delivery of the biologically active molecules to target tissues with a simultaneous decreasing of their general toxicity and prolonging their therapeutic action in the treated organism. Thus, the availability of native nanocarriers of genetic materials that can be bought in the country should enhance gene engineering and gene therapy investigations in Ukraine.

**Keywords:** delivery of nucleic acids to cells, nanocarriers, multifunctional polymers.