

A nanotechnológia lehetősége az egészségügyben

Vonderviszt Ferenc, Veszprémi Egyetem, Műszaki Informatikai Kar, Nanotechnológia Tanszék, Veszprém, MTA Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Kutatóintézet, Budapest

Az élő rendszerek alulról építkeznek, bennük elsősorban fehérjékből és nukleinsavakból felépülő szupramolekuláris rendszerek működnek. Éppen ezért a hatékony gyógyítás nélkülözhetetlen eleme a molekuláris szintű beavatkozás. Ez a rövid összefoglaló azt kívánja érzékeltetni, hogy a nanotechnológia alkalmazásától milyen forradalmi változások várhatók a betegségek megelőzésében, diagnosztizálásában és gyógyításában. A bemutatásra kerülő példák – ható- és jelzőanyagok irányított célbajuttatása, sejtszintű rákterápia funkcionális nanorészecskékkkel, nanoszenzorok, RNS és DNS terápia, nanokapszulák és nanobevonatok, távirányítású biomolekulák – várhatóan 5-10 éven belül a klinikai gyakorlatban is megjelennek.

A technológiai fejlődés eredményeként egyre parányibb objektumokat állítunk elő. Általános értelemben a 100 nm alatti mérettartományban működő technológiákat hívjuk nanotechnológiának. A nanométeres méretskála megfelel a hajszál vastagsága százazred részének, de ezerszer kisebb még a baktériumok méreténél is. Azonban nem a parányi méretek jelentik az igazi újdonságot a nanotechnológiában. Ebben a mérettartományban lehetővé válik egy az eddigiektől gyökeresen eltérő, újfajta megközelítés: az atomokból és molekulákból történő irányított építkezés.

Manapság gyakran halljuk, hogy a nanotechnológia a jövő ígérete, a XXI. század technológiája. Pedig a nanotechnológia nem új dolog, ősidők óta létezik, hiszen az élő szervezetek valójában nanotechnológiát alkalmaznak, bennük elsősorban fehérjékből és nukleinsavakból felépülő, önszerveződésre képes molekuláris gépezetek működnek. A több mint 4 milliárd éves földi evolúció eredményeként kialakult élő szervezetek fehérjei rendkívül szerteágazó feladatokat ellátására képesek: bonyolult kémiai reakciókat katalizálnak; fényenergia, kémiai és mechanikai energia egymásba alakítását végzik; jelátviteli és jelfeldolgozási folyamatokat irányítanak. De fehérjékből és nukleinsavakból akár programvezérelt összeszerelő rendszerek is építhetők. Ilyenek pl. a riboszómák, amelyek a sejtekben a fehérje szintézisét végzik. A DNS-ben tárolt információ másolatát hordozó hírvív ribonukleinsav (RNS) molekulákat megkövetve, a nukleotidsorrendjükben rejlő lineáris információ alapján képesek legyártani a megfelelő fehérjét. Valójában az RNS molekula hordozza azt a digitális programot, ami vezérli a riboszóma működését. A riboszóma a legnagyobb molekuláris komplexum, amelynek szerkezetét atomi precizitással ismerjük. A riboszóma két alegysége három hatalmas RNS molekulá-

ból és több mint 50 fehérje komponensből épül fel. Ez az óriási szupramolekuláris rendszer is rendelkezik az önszerveződés képességével, alkotóelemeiből, azokat megfelelő sorrendben és körülmények között összekeverve, kémcsőben is rekonstruálható.

Az élő szervezetek példája azt mutatja, hogy a fehérjék és nukleinsavak kiválóan alkalmasak önszerveződő molekuláris rendszerek építésére. Bár saját nanotechnológiánk kifejlesztéséhez sokféle más úton is elindulhatnánk, de ha már az orrunk előtt van egy jól működő fehérje/nukleinsav alapú nanotechnológia, akkor célszerű ebből kiindulnunk. Van honnan ellesnünk a trükköket, működési elveket, s ezek segítségével megalkotni a mi saját molekuláris nanotechnológiánkat.

NANOMEDICINA

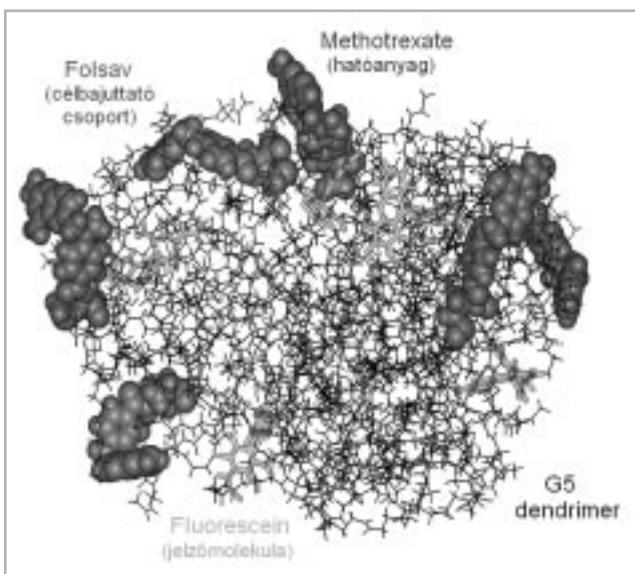
Mit várhatunk a nanotechnológiától? Minden technológia alapvető célja, hogy az előállított termékek révén életünket szebbé, jobbá, kellemesebbé tegye. Természetesen fontos, hogy legyenek gyors számítógépeink, falra akasztható plazmatelevízióink, mindent tudó mobiltelefonjaink. De ezeknél még sokkal fontosabb a saját egészségünk. Jövőbeni életünkre talán legnagyobb hatással a nanotechnológia gyógyászati alkalmazása lehet. Az élő szervezetek alulról építkező, molekuláris nanotechnológiát használó rendszerek, éppen ezért a hatékony gyógyítás elképzelhetetlen a molekuláris szintű, célzott beavatkozás képessége nélkül. Néhány példával azt szeretném érzékeltetni, hogy a nanotechnológia alkalmazásától milyen forradalmi változások várhatók a betegségek megelőzésében, diagnosztizálásában és gyógyításában [1-4]. Az alábbiakban olyan fontos alkalmazási területek kerülnek bemutatásra, ahol a ma folyó intenzív kutatások azzal kecsegtetnek, hogy ezek az eljárások várhatóan 5-10 éven belül a klinikai gyakorlatban is megjelennek:

Ható- és jelzőanyagok irányított célbajuttatása

Mai gyógyszereink alapvető problémája, hogy általában nem képesek sejtszinten célzott hatás kifejtésére. A véráramba kerülve eljutnak testünk szinte minden szegletébe, s nem csak ott fejtik ki hatásukat, ahol arra valóban szükség lenne. Alapvető feladat olyan ható és jelzőanyagok kifejlesztése, amelyek képesek felismerni a kívánt célsejteket, specifikusan hozzájuk kötődni, és irányított, lokalizált hatást kifejteni. Ez a megközelítési mód a célirányos hatás miatt a mellékhatások drasztikus csökkenését is eredményezi. A

feladat elvben egyszerűen megoldható [5]. Képzelnünk el egy olyan nanoméretű hordozó egységet, amelyhez háromféle funkció csoportot rögzítünk (funkcionális nanorészecske). A célbajuttató csoportok biztosítják a célsejtek felismerését és a hozzájuk való kötődést. A nanorészecske felszínéhez kötött vagy belsejében elhelyezkedő hatóanyagok biztosítják a célsejtekben a kívánt hatás elérését. Végezetül célszerű felszerelni nanorészecskéinket egy jeladó (általában fluoreszkáló) csoporttal is, hogy nyomon követhessük az előidézett változásokat. Konkrét megvalósításként nézzük meg, hogy Baker és munkatársai [6-8] miként végeztek sikeres sejtszintű rákterápiát funkcionalizált nanorészecskéikkel.

Hordozó egységként modulokból rétegesen felépíthető, faszzerűen elágazó, néhány nanométer átmérőjű dendrimer makromolekulákat használtak (1. ábra). A megfigyelések szerint bizonyos típusú carcinoma sejtek felszínén nagy számban jelennek meg folsav receptorok. Célbajuttató egységként ezért folsav molekulákat kötöttek a dendrimer felületéhez. Hatóanyagként a methotrexate (MTX) nevű vegyületet választották, amely a citoszolikus dihidrofolát redukáz enzimet gátolja, s ezáltal megakadályozza a DNS replikációját és sejthalált okoz. Végezetül fluorescein molekulákat használtak a nanorészecskék vándorlásának nyomon követésére. Az állatkísérletes tapasztalatok szerint a funkcionizált dendrimer nanorészecskék felületi folsav csoportjaikon keresztül specifikusan és erősen kötődtek a rákos sejtek felszíni folsavreceptoraihoz. A megkötött nanorészecskék endocitózissal a sejtek belsejébe jutottak, ahol az MTX molekulák gátló hatása következtében a daganatos sejtek elpusztultak. A jelzőmolekulát nyomonkövetése azt mutatta, hogy a nanorészecskék kizárólag a rákos sejtek belsejébe hatoltak be. Egérkísérletekben az esetek jelentős részében a daganatok teljes eltűnése volt megfigyelhető. Jelenleg kezdeti humán kísérletek folynak, s remélhetőleg



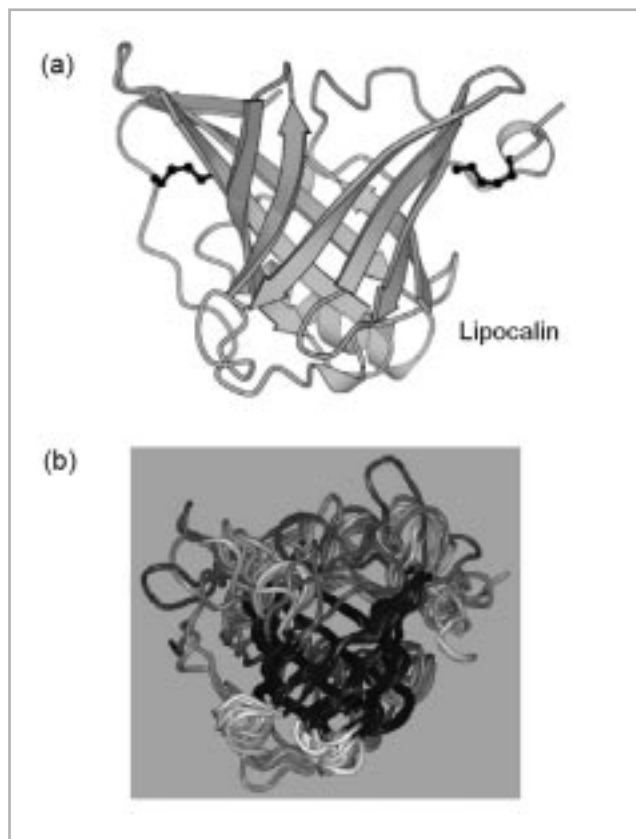
1. ábra Rákterápiában alkalmazható funkcionizált dendrimer alapú nanorészecske

10 éven belül a klinikai gyakorlatban is megjelenhet az eljárás. Természetesen hasonló elven számos más betegség molekuláris terápiája is megtervezhető és megvalósítható.

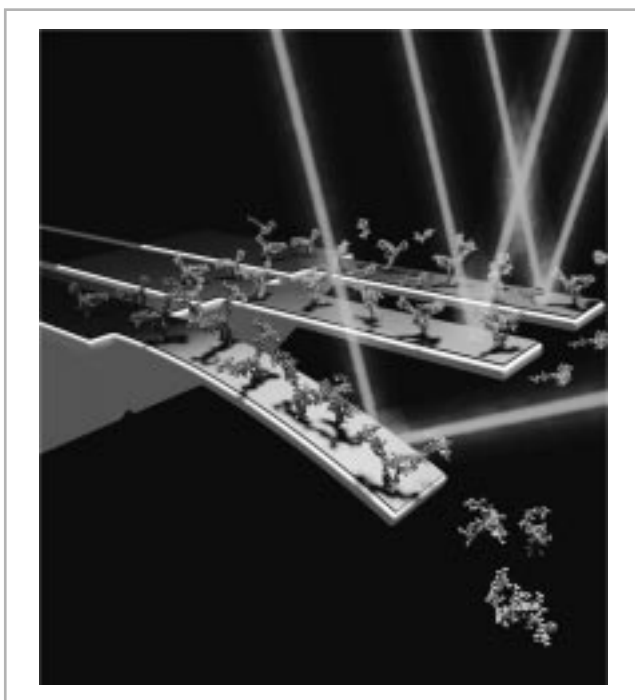
Mesterséges receptorok

A funkcionális nanorészecskék alkalmazásának kritikus lépése, hogy képesek vagyunk-e a célsejtek specifikus felismerésére és azonosítására alkalmas célbajuttató csoportokkal felszerelni őket. Számos esetben ismeretesek a beteg sejtek felszínén megjelenő marker molekulák. Nézzük meg, miként tudunk olyan fehérje-alapú mesterséges kötőmolekulákat létrehozni, amelyek képesek tetszőleges – pl. egy beteg sejt felszínén specifikusan megjelenő – célmolekula felismerésére és a hozzá való kötődésre.

Hogyan csinálhatunk egy adott célmolekulához való kötődésre képes mesterséges receptorokat? Próbáljunk meg tanulni az élő szervezetektől! A magasabbrendűek immunrendszerében meghatározó szerepet játszó IgG molekulák akár több millióféle idegen molekulát képesek megbízhatóan felismerni. A természet nagyszámú IgG variánst generál, amelyek aminosavszekvenciája több mint 90%-ban azonos. Az egyes variánsok csak az antigénkötésben szerepet játszó felületi hurokrégiók aminosavszekvenciájában külön-



2. ábra Mesterséges fehérje receptorok létrehozása irányított evolúcióval. (a) A lipocalin fehérje. (b) A felületi hurokrégiók aminosavszekvenciáit variálva nagyszámú mutáns hozható létre, amelyek közül megfelelő szelekciós eljárások alkalmazásával kiválaszthatók egy adott célmolekula erős és specifikus megkötésére képes módosulatokat. Az így előállított mesterséges receptorok bioszenzorok alapelemül szolgálhatnak. (Skerra [9] nyomán.)



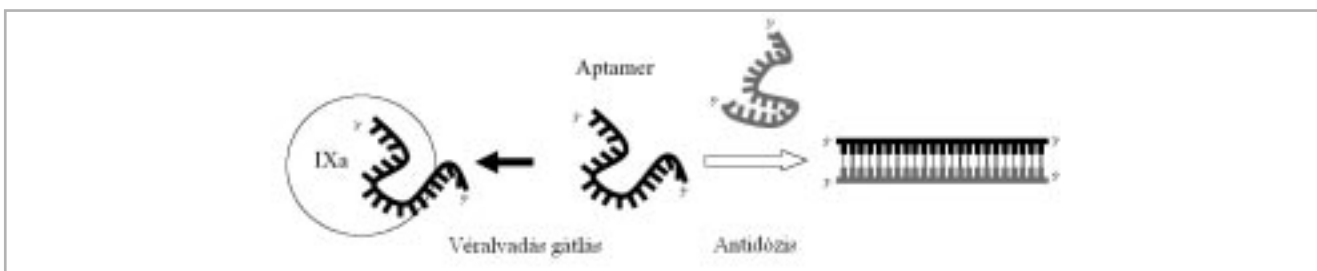
3. ábra
Rezgőnyelves bioszenzor.
 A rezgőnyelves bioszenzorokban a receptorfehérjéket nagyfrekvenciával rezgetett parányi szilíciumlapkákra rögzítik. Ha a lapka felett átáramoltatott mintában jelen van a keresett komponens, akkor azt a lapka felületén lévő receptorok megkötik, ami tömegnövekedéssel és a rezgési frekvencia megváltozásával jár. Mindez a lapkára bocsátott lézertény eltéréésének megváltozása révén könnyen detektálható

bőznek egymástól, ez eredményezi az eltérő kötőfelszín kialakulását. Az IgG doméneknel megfigyelt alapelveket alkalmazva, ún. irányított evolúciós eljárások segítségével más, eredetileg receptor tulajdonságokkal nem rendelkező fehérjék felületén is kialakíthatunk adott célmolekulára specifikus kötőhelyeket. Pl. Skerra és munkatársai [9] a lipocalin fehérje felületi hurokrégióinak aminosavszekvenciáinak véletlenszerű variálása révén nagyszámú mutánst hoztak létre, majd ezek közül megfelelő szelekciós eljárások alkalmazásával kiválasztották egy adott célmolekula erős és specifikus megkötésére képes módosulatokat (2. ábra). A mai legmodernebb sejtmentes fehérjeszintetizáló és szelekciós módszerekkel (pl. riboszóma display, mRNS display) óriási számú, 1012 – 1015 variáns előállítására és szelektá-

lására (tesztelésére) nyílik lehetőség [10]. Az így előállított mesterséges receptorokat használhatjuk funkcionális nanorészecskék célbajuttató csoportjaként, de akár bioszenzorok alapeleméül is szolgálhatnak. Pl. az ún. rezgőnyelves bioszenzorokban receptorokat egy nagyfrekvenciával rezgetett parányi szilíciumlapkára rögzítik (3. ábra) [11]. Ha a lapka felett átáramoltatott mintában a keresett komponens jelen van, akkor azt a lapka felületén lévő receptorok megkötik, ami tömegnövekedéssel és a rezgési frekvencia megváltozásával jár. Mindezt a lapkára bocsátott lézertény eltéréésének megváltozása révén könnyen detektálhatjuk. Egyetlen bioszenzor akár több tucat egyedi receptorral bevont lapkát is tartalmazhat, lehetővé téve – az orvosi diagnosztikában is gyakran előforduló – komplex minták parányi anyagmennyiségekből történő gyors és megbízható diagnosztizálását, összetételének meghatározását.

Aptamer terápia

Irányított evolúciós eljárásokkal nem csak új fehérjéket hozhatunk létre, de speciális kötődési tulajdonságokkal rendelkező egyszálú nukleinsav molekulákat is előállíthatunk. Az egyszálú nukleinsavak (DNS, RNS) a fehérjékhez hasonló bonyolult, kompakt térszerkezet felvételére képesek, ami alkalmas lehet más (makro)molekulákhoz való specifikus kötődésre. Véletlenszerű nukleotidszekvenciájú, 40 – 60 tagú oligonukleotidok nagyszámú variánsát előállítva, azok közül kihalásztathatjuk az adott célmolekulához való erős kötődésre képes variánsokat [12], amelyeket aptamernek neveznek. Ezeket nem csak a receptorfehérjékhez hasonló módon bioszenzorok alapelemeiként használhatjuk, de akár reverzibilis hatásmechanizmusú gyógyszerként is alkalmazhatók [13]. Pl. Rusconi és mts. [14] a véralvadási faktorhoz erősen kötődő, annak működését blokkolni képes egyes szálú RNS aptamert állítottak elő (4. ábra). Ez a gátló hatás azonban az aptamer komplementer oligonukleotidjának hozzáadásával könnyen feloldható. Mivel a komplementer RNS láncok az energetikailag kedvező kettőshélix szerkezetet favorizálják, ezért az aptamer leválik a célmolekuláról, s ezáltal a gyógyszerhatás megfordítható. Az intracelluláris alkalmazásokban aptamereket nanorészecske hordozóhoz kötve növelhetjük azok szerkezeti stabilitását, biztosíthatjuk nukleázokkal szembeni védelmét, s megnövelhetjük a sejtbe való bejutás esélyeit is.



4. ábra
Reverzibilis aptamer hatóanyagok.
 Az aptamerek specifikus kötési tulajdonságokkal rendelkező egyszálú DNS vagy RNS molekulák. A IXa véralvadási faktorhoz kötődő aptamer gátló hatása a komplementer oligonukleotid hozzáadásával egyszerűen feloldható

Nanokapszulák

A nanotechnológia alkalmazása segítségünkre lehet a nemkívánatos immunreakciók elkerülésében is. Manapság egyre gyakrabban alkalmaznak olyan nanorétegű bevonatokat az inplantátumok felületén, amelyek lényegesen megnövelik azok biokompatibilitását. Előállíthatunk olyan kapszulákat is, pl. szilíciumból, amelyek mérete ugyan a mm-es nagyságrendbe esik, de falaik néhány nanométer átmérőjű pórusokat tartalmaznak [15]. Ilyen nanoszerkezetű kapszulákba pl. patkány hasnyálmirigy sejteket zárva azok a bőr alá beültethetők. A pórusméret elég kicsi ahhoz, hogy megakadályozza az immunválasz molekuláris komponenseinek behatolását, ugyanakkor lehetővé teszi a vérből a tápanyagok bejutását, valamint a termelőző inzulin vérbe juttatását. A kísérletek szerint egy ilyen kapszulába zárt sejt kultúra akár több hónapig is megőrzi életképességét, folyamatos és kontrollált inzulin kibocsátást téve lehetővé.

Távírányítású biomolekulák

A kvantumpötty néhány nanométeres átmérőjű parányi fémsziget. A kvantummechanika törvényei szerint egy ilyen parányi fémpötty elektromos és optikai tulajdonságait (pl. színét, gerjeszthetőségét) annak mérete, s nem pedig anyagi minősége határozza meg. A méret precíz kontrollja révén tehát az elektromos és optikai tulajdonságok is precízen szabályozhatók. Egy kvantumpötty tervezhető gerjeszthetősége révén kicsiny antennaként szolgálhat, amely külső

elektromos és mágneses rádiófrekvenciás (RF) impulzusokkal szelektíven gerjeszthető. Rögzítsünk ilyen kvantumpöttyöket pl. olyan oligonukleotidokhoz, amelyek komplexmentaritásuk révén képesek egy adott génhez kapcsolódni, s ezáltal blokkolják annak működését. A megfelelő külső RF impulzusokat alkalmazva a kapcsolt kvantumpöttyök szelektíven gerjeszthetők, felmelegíthetők, s a lokális hőhatás eredményeként a gátló oligonukleotid leválik a géndarabról. Így kívülről az adott gén működése szabályozható, ki- és bekapcsolható [16]. Természetesen kvantumpöttyöket fehérjékhez is kapcsolhatunk, ezáltal lehetővé válik az enzimműködés vagy akár komplex biológiai folyamatok kívülről történő elektronikus szabályozása.

ÖSSZEFOGLALÁS

Talán egyszer majd képesek leszünk parányi nanorobotokat előállítani, amelyek a vérbe jutva folyamatosan figyelik testünk állapotát, megtalálják a hibásan működő sejteket és molekuláris szinten javítják ki bennük a hibákat. Bár ettől még távol vagyunk, számos izgalmas kutatási eredmény jelzi, hogy a nanotechnológia újfajta szemlélete, a molekuláris szintű beavatkozás képessége forradalmi változásokat eredményezhet az orvosi diagnosztikában és klinikai gyakorlatban. Reményeink szerint nem is olyan távoli az az idő, amikor a nanotechnológiai megközelítéseken alapuló gyógymódok általánossá válnak.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Emerich DF: Nanomedicine – prospective therapeutic and diagnostic applications. *Expert Opin. Biol. Ther.* 5, 1-5 (2005)
- [2] Freitas RA: What is nanomedicine? *Nanomedicine* 1, 2-9 (2005)
- [3] Bogunia-Kubik K, Sugisaka M: From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *BioSystems* 65, 123-138 (2002)
- [4] Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC: Nanomedicine: current status and future prospects. *FASEB J.* 19, 311-330 (2005)
- [5] Hughes GA: Nanostructure-mediated drug delivery. *Nanomedicine* 1, 22-30 (2005)
- [6] Thomas TP, Majoros IJ, Kotlyar A, Kukowska-Latallo JF, Bielinska A, Myc A, Baker JR: Targeting and inhibition of cell growth by an engineered dendritic nanodevice. *J. Med. Chem.* 48, 3729-3735 (2005)
- [7] Kukowska-Latallo JF, Candido KA, Cao Z, Nigavekar SS, Majoros IJ, Thomas TP, Balogh LP, Khan MK, Baker JR: Nanoparticle targeting of anticancer drug improves therapeutic response in animal model of human epithelial cancer. *Cancer Res.* 65, 5317-5324 (2005)
- [8] Patri AK, Majoros IJ, Baker JR: Dendritic polymer macromolecular carriers for drug delivery. *Curr. Op. Chem. Biol.* 6, 466-471 (2002)
- [9] Skerra A: Anticalins: a new class of engineered ligand-binding proteins with antibody-like properties. *Rev. Mol. Biotech.* 74, 257-275 (2001)
- [10] Amstutz P, Forrer P, Zahnd C, Pluckthun A (2001) In vitro display technologies: novel developments and applications. *Curr. Op. Biotech.* 12, 400-405.
- [11] Ilic B, Czaplowski D, Zalalutdinov M, Craighead HG, Neuzil P, Campagnolo C, Batt C: Single cell detection with micromechanical oscillators. *J. Vac. Sci. Technol B* 19, 2825-2828 (2001)
- [12] Brody EN, Gold L: Aptamers as therapeutic and diagnostic agents. *J. Biotechnol.* 74, 5-13 (2000)
- [13] Nimjee SM, Rusconi CP, Sullenger BA: Aptamers: an emerging class of therapeutics. *Annu. Rev. Med.* 56, 555-583 (2005)
- [14] Rusconi CP, Scardino E, Layzer J, Pitoc GA, Ortel TL, Monroe D, Sullenger BA: RNA aptamers as reversible antagonists of coagulation factor IXa. *Nature* 419, 90-94 (2002)

[15] Leoni L, Desai TA: Micromachined biocapsules for cell-based sensing and delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 211-229 (2004)

[16] Hamad-Schifferli K, Schwartz JJ, Santos, AT, Zhang S, Jacobson JM: Remote electronic control of DNA hybridization through inductive coupling to an attached nanocrystal antenna. *Nature* 145, 152-156 (2002)

A SZERZŐ BEMUTATÁSA



Vonderviszt Ferenc 1982-ben szerzett fizikusi diplomát az Eötvös Loránd Tudományegyetemen. Összesen több mint hat évet töltött vendégkutatóként Japánban. 1992 óta dolgozik a Veszprémi Egyetemen, jelenleg a Műszaki Informatikai Kar Nanotechnológia Tanszékének tanszékvezető egyetemi tanára. 1989-ben kandidátu-

si fokozatot szerzett, majd 2001-ben az MTA doktora lett. A bakteriális flagellumok szerkezetének kutatása terén elért eredményeiért 1992-ben Akadémiai Ifjúsági Díjban részesült. 1997-ben Széchenyi Professzori ösztöndíjat kapott. 1999-ben a Veszprémi Akadémiai Bizottság az „Év kutatója” címmel tüntette ki. Veszprém város „Pro Urbe” díjasa. Vezetőségi tagja a Magyar Biofizikai Társaságnak, tudományos titkára az MTA Veszprémi Területi Bizottságának.

Állatról emberre terjedő betegségek – Konferencia

A fenti címen a Közép-európai Innovációs és Oktatási Központ rendez akkreditált továbbképző konferenciát, amelynek központi témája a madárinfluenza és a humán influenza lesz. A konferencián való részvételt a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszerész Kar Továbbképző Bizottsága 25 ponttal ismeri el.

Időpont: 2006. február 17-18-án (péntek – szombat) 10 óra

Helyszín: Danubius Thermal & Conference Hotel HÉLIA (1133 Budapest, Kárpát utca 62-64.)

A rendezvény középpontjában, a napjainkban leggyakrabban emlegetett kórokozók és kórképek állnak. Víz E. Szilveszter, a Magyar Tudományos Akadémia elnökének megnyitóját követően szakterületük képviselőjében a legrangsabb szakértők tartanak előadást a madárinfluenzáról, a H5N1 jelzéssel hírhedtté vált vírustörzsről, valamint az állatról emberre terjedő fertőzésekről. Az előadók sorából: Dr. Berencsi György (Országos Epidemiológiai Központ, virológus), Dr. Varga János (SZT. István Egyetem, zoonózis tanszékvezető).

Rácz Jenő egészségügyi miniszter és Bujdosó László országos tisztifőorvos beszél a nemzeti pandémiás tervről, ismerteti hazánk szerepvállalását a madárinfluenza elleni nemzetközi küzdelemben, majd az Országos Epidemiológiai Nemzetközi Oltóközpont vezetői ismertetik a védőoltás szerepét és a hazai vakcinagyártás eredményeit. A járványügyi katasztrófaelhárítás szakemberei arról szólnak majd, mit tesznek, tehetnek a Belügyminisztérium, illetve még inkább az egészségügyi ágazat szereplői az esetleges influenza pandémia által előidézett helyzet megelőzésében, kezelésében.

Dr. Jakab Zsuzsanna, a WHO Európai Betegségmegelőzési és Ellenőrzési Központ igazgatójának vezetésével az Egészségügyi Világszervezet szakértői ismertetik a rendezvény hallgatóságával a WHO szerepvállalását a világméretű járvány megfékezésében. Ezt követően nemzetközi kerekasztal beszélgetésre kerül sor a WHO szakembereinek, továbbá az érintett közép-ázsiai, délkelet-ázsiai térség (pl. Törökország, Indonézia, Vietnam), illetve a Románia képviselőjében megjelenő szakértő részvételével.

**További felvilágosítás, illetve jelentkezés a www.keiok.hu honlapon,
illetve: KÖZÉP- EURÓPAI INNOVÁCIÓS ÉS OKTATÁSI KÖZPONT 2040 BUDAÖRS, KÁLVÁRIA U. 20.
TEL: 23/444-117 FAX: 23/444-313**