

**ІННОВАЦІЙНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ І НАНОМАТЕРІАЛИ ДЛЯ  
СТВОРЕННЯ ЗАСОБІВ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ І ХІМІОТЕРАПІЇ  
ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ ЛЮДИНИ**

Робота представлена на здобуття Державної премії України  
в галузі науки і техніки

Автори:

- 1. СТОЙКА Ростислав Стефанович** - член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу регуляції проліферації клітин та апоптозу Інституту біології клітини НАН України
- 2. РИНДИЧ Алла Володимирівна** - член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор, завідувачка відділу функціональної геноміки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України
- 3. ФІЛОНЕНКО Валерій Вікторович** - доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України
- 4. ДРОБОТ Людмила Борисівна** - доктор біологічних наук, професор, завідувачка відділу сигнальних механізмів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
- 5. МАТИШЕВСЬКА Ольга Павлівна** - доктор біологічних наук, професор, пров. н.с. відділу науково-технічної інформації Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
- 6. ПРИЛУЦЬКИЙ Юрій Іванович** - доктор фізико-математичних наук, професор, професор кафедри біофізики та медичної інформатики ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка
- 7. ПАНЧУК Ростислав Русланович** - доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник відділу регуляції проліферації клітин та апоптозу Інституту біології клітини НАН України
- 8. ПІРКО Ярослав Васильович** - кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, учений секретар Державної Установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»

## ІННОВАЦІЙНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ І НАНОМАТЕРІАЛИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ ЗАСОБІВ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ І ХІМІОТЕРАПІЇ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ ЛЮДИНИ

**Актуальність роботи.** Серед найбільш розповсюджених тяжких патологій людини онкологічні та нейродегенеративні захворювання посідають провідні місця за рівнем смертності та інвалідності. Хвороба Альцгеймера є прогресуючим нейродегенеративним захворюванням, що найчастіше призводить до порушень розумової діяльності. Майже безсимптомний перебіг цієї хвороби упродовж тривалого часу та відсутність достовірних неінвазивних методів ранньої діагностики не дозволяли створити ефективні методи її лікування. Вважають, що генетичне тестування та аналіз біомаркерів хвороби Альцгеймера у спинномозковій рідині хоча і мають високий прогностичний потенціал, але їх використання є інвазивною, болісною і потенційно небезпечною процедурою. Чутливість імуноензимних методів аналізу не дозволяє специфічно детектувати біомаркери хвороби та інші нейрональні протеїни у плазмі крові. Тому необхідним є розробити біотехнологію, яка дозволить з високою специфічністю і чутливістю розпізнавати нейрональні маркери хвороби Альцгеймера у плазмі крові, а також передбачати ризик її розвитку у безсимптомних пацієнтів із незначними когнітивними порушеннями.

Всесвітня організація охорони здоров'я вважає, що у найближчі 20 років число випадків захворювання на рак зросте на 70%. Кількість онкохворих в Україні становить 800 000 чоловік із щорічним приростом 150 000 чоловік і смертністю 90 000 чоловік за рік (<http://www.unn.com.ua/uk/news/1652701>). 30% нових випадків онкологічних захворювань діагностується на пізніх стадіях хвороби і тому обов'язково потребують хіміотерапевтичного лікування. Ціна курсу лікування в Україні 1-го онкохворого лише найбільш вживаним протипухлинним препаратом Доксорубіцином (наприклад, компанія Teva, Ізраїль) становить 13 \$/20 мг (325 \$/річний курс), а повний курс хіміотерапії під час лікування раку молочної залози в середньому коштує 50 тис. грн. на рік.

Ефективність протипухлинної терапії напряму залежить від ранньої діагностики онкологічного захворювання, а, отже, актуальним є створення неінвазивних високочутливих систем діагностики, які, наприклад, здатні ідентифікувати специфічні пухлино-асоційовані антигени на ранній стадії розвитку злоякісного новоутворення.

Більшість високоефективних протипухлинних препаратів має серйозний недолік – негативні побічні ефекти (гепато-, кардіо-, нефро-, нейро- та імунотоксичність) в організмі онкохворих. Ціна препарату Doxil (компанія Janssen) зі зниженою кардіотоксичністю і більшою тривалістю дії, порівняно з Доксорубіцином, становить 705 \$/20 мг (14 000 \$/річний курс). Тому актуальним є створення інноваційних протипухлинних ліків з високою ефективністю дії, адресною доставкою в організмі і незначними побічними ефектами. Це також потребує ідентифікації нових мішеней для таргетної терапії серед яких найбільш перспективними є компоненти сигнальних каскадів клітини залучених до злоякісної трансформації.

Створення багатофункціональних наноматеріалів, які називають «розумними» (smart) матеріалами, є головним пріоритетом у розвитку сучасного фармацевтичного ринку. Застосування таких наноматеріалів дозволяє розвинути інноваційні біотехнології, що забезпечують адресну дію ліків, і створити лікарські форми, що долають множинну медикаментозну резистентність. Водночас важливим завданням таких біотехнологій є створення водорозчинних форм медикаментозних препаратів і засобів для візуалізації поглинання і доставки ліків, моніторингу їхньої дії і виведення з організму.

Під час виконання цієї роботи враховано зазначену вище необхідність розвитку безпечних методів ранньої діагностики патологічних станів людини і потребу в інноваційних засобах лікування на основі комплексів традиційних протипухлинних препаратів з наноматеріалами, що забезпечують таргетну і пролонговану дію за мінімальних побічних ефектів.

**Мета роботи** - розробка сучасних інноваційних біотехнологій для медицини і фармацевтики, скерованих на виявлення біомаркерів ранніх стадій розвитку нейродегенеративних та онкологічних захворювань людини, створення засобів ранньої діагностики цих патологічних станів із застосуванням наноматеріалів, підвищення ефективності та забезпечення таргетності дії протипухлинних препаратів шляхом їх іммобілізації на створених наноносіях.

#### **Основні завдання роботи:**

1) встановити роль білків родини інтерсектинів (ITSN, ген розташований на 21-й хромосомі), задіяних у клатрин-опосередкованому ендоцитозі клітин і перебудові їх актинового цитоскелету, у регуляції сигнальних процесів у нервових клітинах та виживанні цих клітин від пацієнтів з хворобою Альцгеймера і синдромом Дауна;

2) дослідити альтернативний сплайсинг матричної РНК білків ITSN, що призводить до утворення структурних ізоформ цих білків з різною локалізацією у тканинах організму, зокрема у нейронах гіпокампу головного мозку і клітинах молочної залози, обґрунтувати прогностичне значення білка ITSN2 як біомаркера раку молочної залози та довести, що білки ITSN1 і ITSN2 є біомаркерами як нейродегенеративних, так і онкологічних захворювань людини;

3) створити нанокон'югати для високочутливої детекції біомаркерів ранніх стадій нейродегенеративних та онкологічних захворювань у плазмі крові пацієнтів та на їх основі розробити високочутливу тест-систему для детекції нейрональних маркерів хвороби Альцгеймера у плазмі крові;

4) виявити пухлино-асоційовані антигени і білкові маркери, зокрема на поверхні клітин низки пухлин людини. Проти цих біомаркерів отримати моноклональні антитіла як елементи нових систем ранньої діагностики онкологічних захворювань, а також вектори адресної доставки нанокомплексів, які містять традиційні протипухлинні препарати;

5) створити інноваційні клітинні біотехнології для підтримання активності ракових стовбурових клітин (CSCs) *in vitro* упродовж тривалого часу, що дозволить оцінити ефективність дії новітніх антиметастатичних препаратів та здійснити широкомасштабний скринінг малих молекул і бібліотек siRNA на

предмет вибіркового знищення CSCs і клітин з агресивним гібридним мезенхімно-амебоїдним фенотипом;

6) створити та охарактеризувати нові наноконструкції  $C_{60}$  фулерену з іммобілізованими протипухлинними препаратами, які володіють підвищеною ефективністю дії *in vitro* та *in vivo*, долають множинну медикаментозну резистентність та зменшують негативні побічні наслідки дії, зокрема токсичність щодо нормальних тканин і органів;

7) створити наноплатформи на основі полі-2-оксазолінового полімеру для іммобілізації експериментального протипухлинного антибіотика ландоміцину А та інших водонерозчинних медикаментозних препаратів і продемонструвати зменшення негативних побічних ефектів створених наноконструкцій, зокрема щодо імунних клітин лабораторних тварин;

8) використати фітохімічні ємності (екстракти з рослин та міцелію грибів) для синтезу біметалічних наночастинок Ag/Au і квантових точкових наночастинок  $Ag_2S$  для візуалізації субклітинних структур пухлинних клітин.

## КОРОТКИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### 1. Розробка тест-систем на основі нанокон'югатів для чутливої детекції біомаркерів раних стадій нейродегенеративних та онкологічних захворювань

У роботі розроблені нові засоби ранньої діагностики хвороби Альцгеймера і раку молочної залози, що базуються на виявленні нових білкових маркерів. Застосування існуючих засобів обмежене через низьку концентрацію цих маркерів у плазмі крові, а також через низьку чутливість наявних методів їх виявлення. Для підвищення чутливості методу детекції запропоновано оригінальний підхід, що базується на використанні антитіл до двох різних частин маркерного білка. Це не лише підвищує специфічність детекції, але й збільшує швидкість проведення аналізу. У створених тест-системах використано нові наноматеріали, зокрема подвійні та потрійні кон'югати специфічних антитіл з магнітними наночастинами, а також квантові точки і наночастинок золота з олігонуклеотидами, які виконують функцію «біо-штрих-коду». Такий підхід належить до найсучасніших методів ранньої діагностики патологічних станів людини.

Розроблено методи виявлення прогностичних маркерів інвазивного фенотипу злоякісних пухлин молочної залози у період пост-операційного лікування онкохворих. Встановлено роль нових біомаркерних білків як адаптерних/скаффолдних білків у формуванні та регулюванні мульти-білкових комплексів у процесах ендоцитозу, передачі регуляторних сигналів у клітині, полімеризації цитоскелетного білка актину, під час вірусних інфекцій і функціонування нейронів, за регуляції експресії генів на рівні альтернативного сплайсингу, а також генів, пов'язаних із канцерогенезом.

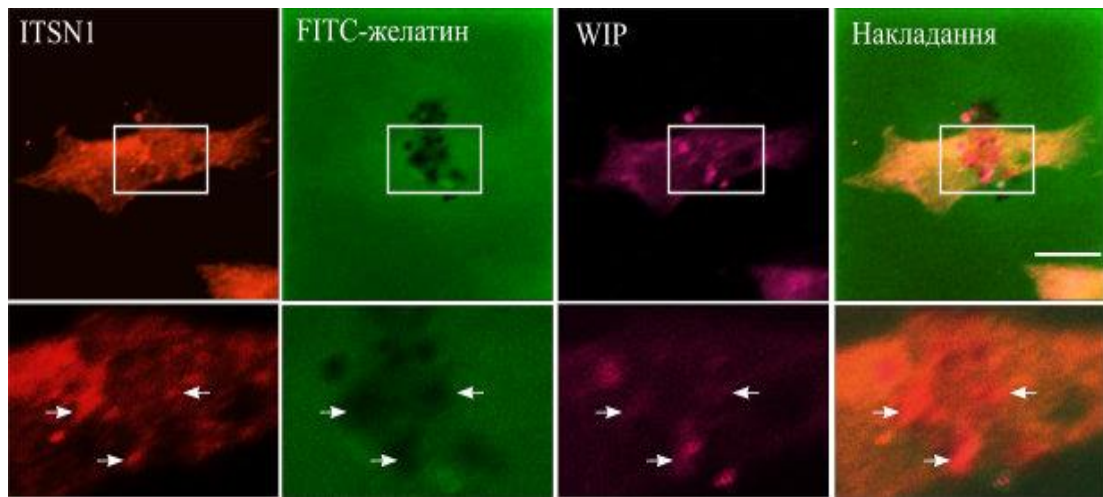


Рис. 1. Виявлення білків ITSN1 і WIP, що беруть участь в утворенні інвадоподій. Імунофлуоресцентний аналіз колокалізації ITSN1 і WIP в інвадоподіях клітин лінії MDA-MB-231 карциноми грудної залози людини. Ендогенні білки ITSN1 (червоний) та WIP (пурпурний) детектували за допомогою специфічних антитіл. Інвадоподії детектували як чорні плями на желатині (зелений). Стрілки вказують на ко-локалізацію протеїнів.

На Рис. 1 представлені результати візуалізації біомаркерів, виявлених за допомогою нанокон'югатів, які містять антитіла, іммобілізовані на наночастинках. Мова тут йде про виявлення нових функціональних взаємодій адаптерних/скаффолдних білків родини інтерсектинів (ITSN), які мають вирішальне значення на початкових етапах клатрин-опосередкованого ендоцитозу. Ці білки також регулюють процеси перебудови актинового цитоскелету, сигналіngu і виживання клітин. Аномальна експресія гена ITSN1, розташованого на 21-й хромосомі, пов'язана із порушенням ендоцитозу у клітинах пацієнтів із хворобою Альцгеймера і синдромом Дауна. **Ідентифіковано 11 нових білків-партнерів ITSN1 та ITSN2**, пов'язаних з ендоцитозом, трансдукцією клітинного сигналу, перебудовою актинового цитоскелету і підтримкою вірусної латентності.

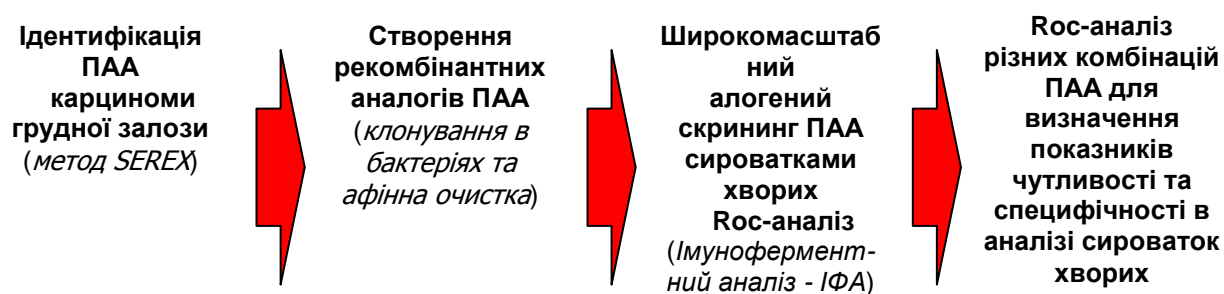
Встановлено роль ITSN1 у синаптичній передачі нервових сигналів і пластичності нервової системи. Використовуючи афінну хроматографію та MALDI-TOF мас-спектрометрію, ідентифіковано новий ITSN1-зв'язувальний білок STOP (stable tubule-only polypeptide). Показано, що STOP та ITSN1 формують комплекс *in vivo* і частково ко-локалізуються у первинних нейронах гіпокампу лабораторних тварин (Риндич А.В.).

## **2. Виявлення білкових маркерів пухлинних клітин для створення векторів адресної доставки наноконструкцій, що містять протипухлинні препарати, та розробки систем діагностики**

Налагоджено технологію SEREX (серологічна ідентифікація рекомбінантних антигенів) для виявлення пухлино-асоційованих антигенів людини (Рис. 2). Це дозволило здійснити скринінг кДНК бібліотек генів пухлин сироватками крові хворих з метою виявлення імуногенних білків/антигенів, що є потенційними складовими протипухлинних вакцин. Антитіла проти цих антигенів є основою ефективних системи адресної доставки протипухлинних

ліків і діагностики онкологічних захворювань.

**Ідентифіковано близько 100 антигенів пухлин щитоподібної залози, меланоми, товстої кишки, шлунка, яєчників та грудної залози людини. Отримано моноклональні антитіла проти низки антигенів, які застосовуються для оцінки проліферативної активності пухлин і диференційної діагностики пухлин, а у гуманізованому вигляді вони можуть безпосередньо використовуватись у протипухлинній терапії. Поглиблений аналіз імуногенних властивостей 16-ти ідентифікованих антигенів карциноми грудної залози дозволив запропонувати комбінацію із 6-ти антигенів для ефективної діагностики, здатної відрізнити хворих від здорових пацієнтів із чутливістю 95% і специфічністю 70%. За своїми характеристиками створена діагностична система не поступається світовим аналогам (Філоненко В.В.).**



**Вибір комбінації з 6 пухлино-асоційованих антигенів (ПАА) (RAD50, NY-BR-62, NY-CO-58, PARD3, SAP30BP, SPP1) з найкращими показниками чутливості (95%) та специфічності (70%) для розробки тест-системи серологічної діагностики раку грудної залози**

Рис. 2. Виявлення пухлино-асоційованих антигенів людини за допомогою технології SEREX.

### **3. Інноваційні клітинні біотехнології для оцінювання ефективності нових протипухлинних та антиметастатичних препаратів для вибіркового знищення ракових стовбурових клітин**

Створено інноваційні клітинні біотехнології, придатні для підтримання життєздатності ракових стовбурових клітин (CSCs) *in vitro* упродовж тривалого часу. Це дозволило здійснювати оцінку ефективності дії новітніх антиметастатичних препаратів і проводити широкомасштабний скринінг малих молекул і бібліотек siRNA на предмет **вибіркового знищення ними CSCs**.

Здійснено ефективний пошук нових перспективних мішеней для таргетної хіміотерапії злоякісних пухлин. Для цього детально досліджено компоненти mTOR/S6K1-залежного сигнального каскаду й показано, що вибіркоче інгібування онкогенних ізоформ протеїнаказ mTOR і S6K1 призводить до пригнічення злоякісного росту. Результати експериментів, проведених на пухлинних моделях *in vitro* та *in vivo*, засвідчили ключову роль адаптерного протеїну Ruk/CIN85 у контролі за епітелійно-мезенхімною пластичністю пухлинних клітин.

Вперше встановлено, що високий рівень експресії цього протеїну в клітинах аденокарцином різного тканинного походження призводить до розвитку високоагресивного мезенхімно-амебоїдного фенотипу (RukUp-1).

Водночас пригнічення експресії цього адаптерного протеїна зупиняє розвиток аденокарциномних клітин в епітелійному стані і блокує їх метастатичний потенціал (RukDown) (Рис. 3). Отже, **адаптерний білок Ruk/CIN85 є важливим прогностичним маркером** процесу пухлинного росту і може слугувати **молекулярною мішенню** протипухлинних препаратів, скерованих на пригнічення пластичності аденокарциномних пухлин (Дробот Л.Б.).

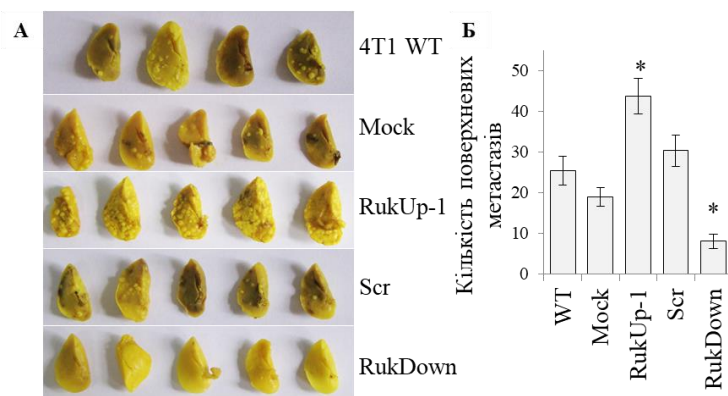


Рис. 3. Метастазування в легеню аденокарциномних клітин молочної залози лінії 4T1 посилюється за високого рівня експресії адаптерного протеїну Ruk/CIN85 (RukUp-1), порівняно з контролем (Mock), тоді як пригнічення експресії Ruk/CIN85 (RukDown) призводить до блокування цього процесу. **А** – зображення правої легені тварин досліджуваних груп, фіксованої розчином Буена; **Б** – кількість поверхневих метастазів. \* $p < 0,05$  порівняно з відповідним контролем,  $n = 5$ .

#### 4. Підвищення ефективності дії протипухлинних ліків за їх доставки у клітини-мішені $C_{60}$ фулереном. Застосування фотозбудження $C_{60}$ фулерену та новостворених біосумісних наночастинок у хіміотерапії та діагностиці злоякісних пухлин

Вперше показано, що  $C_{60}$  фулерен у концентраціях до  $10^{-5}$  М не спричиняє токсичного впливу на нормальні клітини і тканини організму й ефективно поглинається лейкозними клітинами. Під час опромінення у видимому діапазоні світла  $C_{60}$  фулерен виявляє фототоксичний ефект, біохімічним механізмом якого є інтенсивне продукування активних форм кисню (АФК) та активація апоптозу. За спільної дії фотозбудженого  $C_{60}$  фулерену і цисплатину вдається подолати резистентність лейкозних клітин до цього протипухлинного препарату (Рис. 4). Це свідчить про перспективність використання  $C_{60}$  фулерену як фотосенсибілізатора у протипухлинній терапії (Матишевська О.П., Дробот Л.Б.).

Проаналізовано природу взаємодії  $C_{60}$  фулеренів та їх кластерів з молекулами протипухлинних хіміопрепаратів – доксорубіцину і цисплатину у біологічних середовищах. Вперше виявлено самоорганізацію водних сумішей  $C_{60}$  фулерен - протипухлинний препарат (Рис. 5). Встановлено, що наявність у структурі  $C_{60}$  фулерену ароматичної поверхні, що складається із кон'югованих вуглецевих кілець, зумовлює його ефективну  $\pi$ -стекінгову взаємодію з ароматичними групами у складі протеїнів та основ нуклеїнових кислот (Прилуцький Ю.І.).

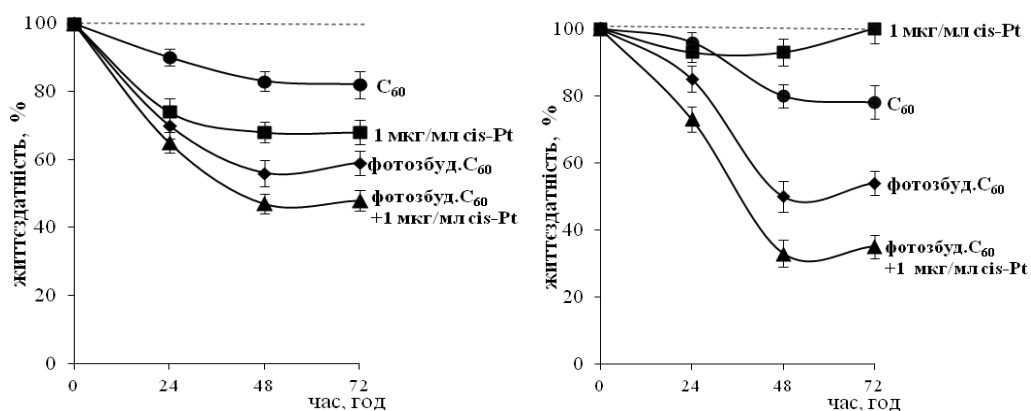


Рис. 4. Ступінь пригнічення життєздатності (за результатами МТТ-тесту) лейкозних клітин лінії L1210 дикого типу (зліва) і цих клітин, резистентних до цисплатину (справа), за комбінованої дії фотозбудженого C<sub>60</sub> фулерену і цисплатину (cis-Pt).

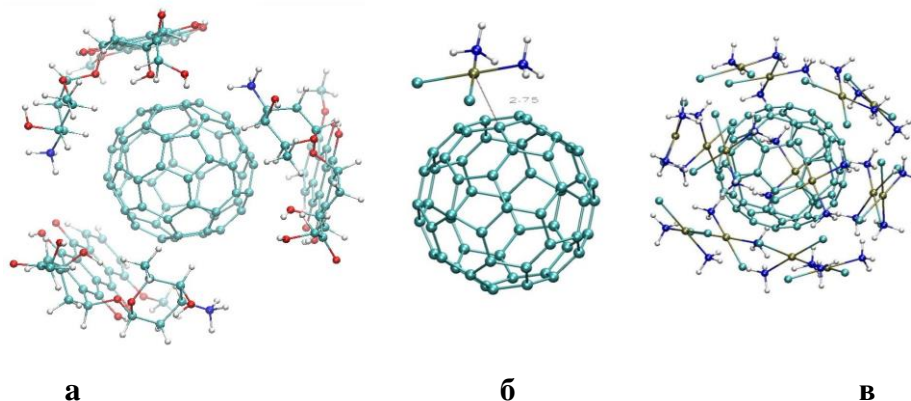


Рис. 5. Розраховані у водному середовищі оптимальні структури: а) нековалентного наноконкомпексу C<sub>60</sub>-доксорубіцин (1:3); б) нековалентного наноконкомпексу C<sub>60</sub>-цисплатин (1:1); в) такого наноконкомпексу C<sub>60</sub> із цисплатином у співвідношенні 1:15.

У наноконкомпексі із C<sub>60</sub> фулереном, цисплатин у 1,5-2 рази більш токсичний щодо різних ліній пухлинних клітин людини, порівняно з вільним цисплатином. Дія такого наноконкомпексу реалізується через індукцію апоптозу пухлинних клітин. Створений наноконкомпекс C<sub>60</sub>-цисплатин ефективніше долає множинну медикаментозну резистентність пухлинних клітин людини, суттєвіше зменшує кількість та об'єм метастазів пухлини у мишей (Табл. 1), а також, що дуже важливо, перешкоджає втраті ваги тіла тварин (кахексії), викликаній ростом пухлини. Високі значення показника LD<sub>50</sub> (721 мг/кг) водорозчинного C<sub>60</sub> фулерену підтверджує безпечність його використання у хіміотерапії онкозахворювань (Матишевська О.П.).

Сильніший цитотоксичний ефект наноконкомпексу C<sub>60</sub> фулерен-доксорубіцин корелює із виявленим авторами пришвидшенням накопичення доксорубіцину в ядрі пухлинних клітин, що відбувається завдяки мембранотропній дії C<sub>60</sub> фулерену (Матишевська О.П., Прилуцький Ю.І.).

Розроблено оригінальні методи нековалентної біологічно сумісної функціоналізації вуглецевих нанотрубок для їх стабільного диспергування у водних середовищах і подальшого використання для перенесення в клітини таргетних біомолекул, зокрема ДНК. З використанням оригінальної біотехнології фітохімічних ємностей (екстракти з рослин, міцелію грибів)



синтезовано біметалічні наночастинки Ag/Au та квантові точкові наночастинки Ag<sub>2</sub>S для візуалізації субклітинних структур пухлинних клітин (Пірко Я.В.).

Таблиця 1. Інгібувальний вплив нанокомплексу C<sub>60</sub>-цисплатин на рівень метастазування карциноми легені Льюїс у миші.

Група тварин	Кількість метастазів пухлини у мишей	Загальний об'єм (мм <sup>3</sup> ) метастазів у легені мишей	Середній об'єм (мм <sup>3</sup> ) окремого метастазного вузла
<b>Контрольна група</b> (внутрішньочеревне введення фізрозчину), n=10	13	112±8	8.6±0.6
<b>Група 1</b> (внутрішньочеревне введення водного розчину C <sub>60</sub> фулеренів), n=10	7	30±2*	4.3±0.3*
<b>Група 2</b> (внутрішньочеревне введення цисплатину), n=10	12	48±3*	4.0±0.3*
<b>Група 3</b> (внутрішньочеревне введення нанокомплексу C <sub>60</sub> -цисплатин), n=10	9	28±2*	3.1±0.2*

\*p<0,05 – порівняно з контрольною групою

## 5. Посилення протипухлинної дії *in vitro* та *in vivo* експериментального протипухлинного антибіотика ландоміцину А шляхом його іммобілізації на полі-2-оксазоліновій наноплатформі

Встановлено, що ландоміцинові антибіотики є перспективними кандидатами на роль супресорів пухлинних клітин із множинною медикаментозною резистентністю (ММР). Ландоміцин А (ЛА) володіє протипухлинною активністю щодо мишачої лімфоми NK/Ly, маючи при цьому значно менше виражені негативні побічні ефекти, порівняно із доксорубіцином, дія якого супроводжується кардіотоксичністю та іншими побічними ефектами і який вважають «золотим стандартом» хіміотерапії (Панчук Р.Р.).

ЛА, як і багато інших протипухлинних препаратів, наприклад, таксол, погано розчинний у воді. Для вирішення цієї проблеми у співпраці з партнерами з Університету м. Вюрцбург (ФРН) створено стабільну водорозчинну форму ЛА у комплексі з полімерним наноносієм на основі полі-2-оксазоліну, що володіє кращою біосумісністю і меншими побічними ефектами.

Використовуючи методи моделювання *in silico*, ідентифіковано потенційну молекулярну мішень дії ландоміцинів – НАДФ-дегідрогеназу NQO1, а також виявлено взаємозв'язок між інтенсивністю продукції Активних Форм Кисню за дії ландоміцинів і довжиною вуглеводного ланцюга антибіотика (Прилуцький Ю.І., Панчук Р.Р.). Факт вибіркового зв'язування ландоміцинів з ензимом NQO1 пояснює переважаюче генерування пероксиду водню у злоякісних клітинах, тоді як генерування високотоксичного супероксид-аніону

за дії ЛА є значно слабшим, ніж за дії доксорубіцину (Панчук Р.Р., Стойка Р.С.). Це може бути причиною менш виражених негативних ефектів в організмі за дії ландоміцинів, порівняно з такими ефектами за дії доксорубіцину.

Наноконкомплекс ландоміцину А із біосумісним полі-2-оксазоліновим носієм забезпечує повну ремісію меланоми В16 в усіх піддослідних групах тварин. У 2-х незалежних експериментах спостерігали виживання понад 120 діб у 10-ти із 10-ти лікованих мишей із прищепленою їм злоякісною меланою (Рис. 6).

Отже, полі-2-оксазоліновий полімер є **перспективним наноносієм ліків**, у першу чергу, погано розчинних у воді (Стойка Р.С., Панчук Р.Р.).

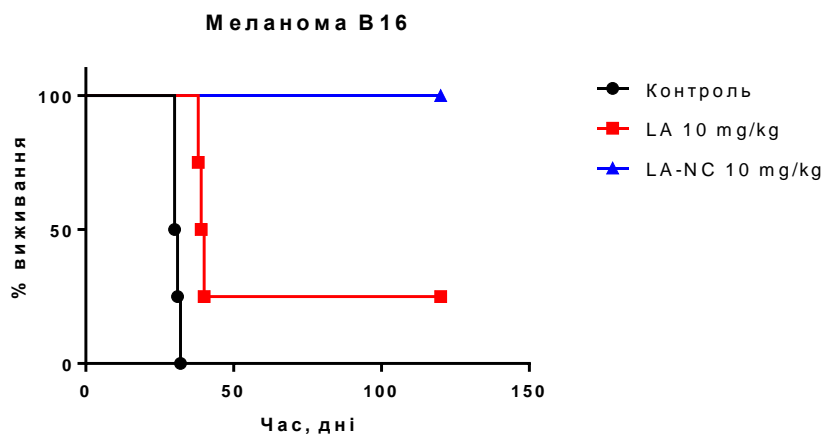


Рис. 6. Криві виживання мишей з меланою В16 за дії ландоміцину А (LA) у вільній формі та LA, іммобілізованого на полі-2-оксазоліновому наноносії (LA-NC).

## Висновки за результатами роботи

1) На генетичному і молекулярному рівнях ідентифіковано біомаркери низки патологічних станів людини. Зокрема, розроблено технологію високочутливого детектування біомаркерів ранніх стадій нейродегенеративних та онкологічних захворювань у плазмі крові пацієнтів з використанням подвійних і потрійних кон'югатів специфічних антитіл з магнітними наночастинками, квантовими точками і наночастинками золота з "біо-штрих-код"-олігонуклеотидами. Високу чутливість і специфічність діагностичних тест-систем, створених з використанням нанокон'югатів, підтверджено на клінічних зразках пацієнтів з хворобою Альцгеймера, синдромом Дауна і раком молочної залози.

2) Модифікація технології SEREX дозволила ідентифікувати близько 100 пухлино-асоційованих антигенів новоутворень щитоподібної і грудної залоз, меланоми і товстої кишки. Ці антигени були внесені до бази даних Людвігівського Інституту Ракових Досліджень (LICR, США) (<http://www.licr.org/SEREX.html>). Вони мають високий потенціал для ранньої діагностики та імунотерапії вказаних вище типів раку (Патент США US 9,701,755 B2, July 11, 2017 «Membrane transporter NAPI2B (SLC34A2) epitope for antibody therapy, antibodies directed thereto, and target for cancer therapy»).

3) Здійснено молекулярний дизайн і синтез нових вітчизняних

наноматеріалів біомедичного призначення. По-перше, це наноконплекси протипухлинних препаратів, іммобілізованих на C<sub>60</sub> фулерені. Завдяки цьому, вони набувають підвищеної ефективності дії *in vitro* та *in vivo*, долають множинну медикаментозну резистентність і мають менш виражені негативні побічні ефекти, зокрема нижчу токсичність щодо нормальних тканин і органів. Створення і дію цих інноваційних наноматеріалів захищено низкою Патентів України. По-друге, це комплекси експериментального протипухлинного антибіотика ландоміцину А на наноплатформі на основі полі-2-оксазолінового полімера. Останній не лише забезпечує водорозчинність цього антибіотика, але й підвищує ефективність його дії подібно, як це описано вище для наноконплексів протипухлинних препаратів із C<sub>60</sub> фулереном.

4) Для тестування нових протипухлинних та антиметастатичних препаратів створено оригінальну клітинну біотехнологію (Патент України №130483 від 10.12.2018 «Застосування стабільних субліній пухлинних клітин як моделі для тестування протипухлинних препаратів, скерованих на знищення ракових стовбурових клітин»).

Проведені розрахунки перспективності представленої розробки показали, що вартість імпортозаміщення за переходу на створений інноваційний протипухлинний засіб для фармакотерапії злоякісних пухлин становить **1 млн. 564 тис. доларів США** на рік. Виконання авторами роботи 28-ми грантів з міжнародним фінансуванням дозволило залучити в бюджет України кошти міжнародних фондаций у сумі, еквівалентній **28,0 млн. грн.**

**Матеріали роботи висвітлені в 5-ти монографіях, 39-ти розділах монографій, у т.ч. 16-ти виданих за кордоном. Опубліковано 492 статті у журналах бази даних Scopus (297 статей у міжнародних журналах) із сумарним імпаکت-фактором 849,04, сумарний індекс Гірша – 39 (Scopus), кількість цитувань – 6332 (Scopus), 5211 (Web of Science), 9944 (Google Scholar).**

Матеріали роботи також містяться у **20-ти Патентах**, у т.ч. **14-ти патентах України** на винахід.

В рамках роботи виконано **80 науково-дослідних проектів**, у т.ч. **28 проектів з міжнародним фінансуванням**, а також захищено **6 докторських і 59 кандидатських дисертацій**.

Результати роботи включені у навчальні курси для студентів університетів.

**Автори:**  
Стойка Р.С.  
Риндич А.В.  
Філоненко В.В.  
Дробот Л.Б.  
Матишевська О.П.  
Прилуцький Ю.І.  
Панчук Р.Р.  
Пірко Я.В.

