

УДК 608

БІОБЕЗПЕКА ВИРОБНИЦТВА ТА ВИКОРИСТАННЯ ДНК-БІОСЕНСОРІВ

Золотопупова Софія Сергіївна¹

s.zolotopupova.zf41mp.fbmi25@lil.kpi.ua

Худецький Ігор Юліанович^{1,2}

igorkhudetsky@gmail.com

Соболевський Максим Сергійович³

m.s.sobolevsky@imbg.org.ua

¹Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

м. Київ, Україна

²Інститут електрозварювання імені Є.О.Патона Національної
академії наук України,

м. Київ, Україна

³Інституту молекулярної біології та генетики НАН України,
відділ біомолекулярної електроніки

Анотація – ДНК-біосенсиори швидко інтегруються у клінічну діагностику та екологічний моніторинг завдяки здатності розпізнавати біомаркери з нано- та пікомольною чутливістю. Водночас їх виробництво і застосування пов'язані з низкою ризиків біобезпеки: потенційна токсичність наноматеріалів, що входять до складу сенсорів; деградація ДНК-компонентів під впливом температури, ультрафіолету чи нуклеаз, що може спричинити хибні результати; небезпека витоку конфіденційної генетичної інформації. Робота розглядає основні типи ДНК-біосенсорів — аптамерні, каталізаторні, гібридизаційні та наноструктурні — а також використання синтетичних нуклеїнових кислот для підвищення стабільності сенсорних платформ. Окрема увага приділена аспектам біоетики та біобезпеки: захисту приватності генетичної інформації, етичній відповідальності виробників, контролю точності вимірювань і управлінню ризиками, пов'язаними з використанням наноматеріалів. Висвітлено вибір матеріалів для сенсорів (AuNP, AgNP, ZnO, TiO₂, Fe₃O₄, графен, полімери) з огляду на їхню ефективність і екологічну безпеку, а також необхідність належної утилізації відпрацьованих сенсорів. Підкреслюється, що дотримання міжнародних стандартів біобезпеки та етичних норм є необхідною умовою відповідального розвитку технологій ДНК-біосенсорів. Впровадження принципів біобезпеки забезпечить безпечне використання сенсорів у медицині й захист довкілля, сприятиме підвищенню довіри суспільства до інновацій у сфері біотехнологій.

Ключові слова: біоетика, біобезпека, ДНК-біосенсиори, ДНК, наноматеріали, утилізація біологічних матеріалів, цитотоксичність, генотоксичність, захист довкілля.

I. ВСТУП

Біосенсиори на основі ДНК стали передовими інструментами зі значним потенціалом для революційної зміни медичної діагностики та моніторингу навколишнього середовища. Ці біосенсиори використовують специфічність та чутливість взаємодій ДНК для виявлення широкого спектру біомолекулярних мішеней, що робить їх ідеальними для раннього виявлення захворювань, генетичного аналізу та оцінки стану довкілля. Більш чутливий, придатний для повторного використання і дешевший, ніж мікрочіпи, ДНК-біосенсор покликаний забезпечити доступне за ціною виявлення аналізу в режимі реального часу і вийти за межі клітинних і навіть гістологічних масштабів.

Проте створення і впровадження цих пристроїв вимагають глибокого врахування біобезпекових питань. Йдеться про ретельний добір матеріалів, використання високоочищеної ДНК, дотримання етичних норм під час роботи з біоматеріалами та захист довкілля через безпечну утилізацію сенсорів. Нижче детальніше розглянуто основні аспекти цього комплексного підходу.

II. МЕТА РОБОТИ

Метою даної роботи є визначення основних принципів біобезпеки під час виробництва та експлуатації ДНК-біосенсорів, а також окреслення вимог до матеріалів і методів, що забезпечують їх надійну та безпечну роботу.

III. ОСНОВНІ ПОНЯТТЯ

ДНК-біосенсор – це аналітичний пристрій, в якому в ролі біологічного рецептора виступає ДНК або похідний від неї елемент. Як і будь-який біосенсор, він складається з двох основних частин: біорецептор (чутливий шар) та перетворювач сигналу. У ДНК-біосенсорах специфічні властивості нуклеїнових кислот забезпечують розпізнавання цільової речовини, а перетворювач, зазвичай електрод або оптична система, реєструє та перетворює це у вимірюваний сигнал [1]. У ролі цільових аналітів можуть виступати як інші нуклеїнові кислоти, так і білки, метаболіти, токсини чи навіть клітини – головне, щоб вони специфічно взаємодіяли з ДНК-елементом сенсора [1]. Висока специфічність комплементарного спарювання основ ДНК дозволяє з великою точністю розпізнавати навіть одиничні мутації в геномі, а сучасні методи підсилення сигналу дають змогу досягати надзвичайної чутливості – до пікомолярних концентрацій [2].

До основних типів ДНК-біосенсорів належать аптамерні ДНК-біосенсори, біосенсори на основі каталізаторної ДНК, гібридизаційні ДНК-біосенсори і наноструктурні ДНК-сенсори.

3.1 Аптамерні ДНК-біосенсори

Аптамер — синтетична одониткова ДНК або РНК, що згортається у тривимірну форму і здатні зв'язувати певну мішень (ліганд) з високою специфічністю та афінністю [3]. Їх добувають методом SELEX *in vitro*, тому вони є синтетичними нуклеїновими кислотами, спеціально підібраними до цілі. Порівняно з антитілами, аптамери термостійкі, витримують екстремальні рН та іонну силу й легко модифікуються. У сенсорі аптамер ковалентно іммобілізують (наприклад, на золотому електроді); через ковалентний зв'язок, а на інший кінець аптамеру приєднують мітку-репортер. Приєднання цільової молекули змінює конформацію аптамеру і, як наслідок, просторове розташування мітки. Це спричиняє зміну

оптичного чи електрохімічного сигналу, яка і фіксується приладом [3].

3.2 Біосенсори на основі каталізаторної ДНК

Каталізаторна ДНК, або ДНК -ензим (англ. DNAzyme), — це штучна одониткова ДНК, що в присутності певного йона-кофактора (напр., Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+}) набуває ферментативної активності й може розщеплювати РНК- чи ДНК-субстрат. У сенсорі аптамер забезпечує вибіркове зв'язування цілі, а ДНК -ензим перетворює цю подію на вимірюваний сигнал. Після зв'язування мішені аптамер змінює конфігурацію й активує приєднаний ДНК -ензим. Приклад такої дії: активований ДНК-ензим формує G-квадруплекс, який у присутності Fe^{3+} і H_2O_2 проявляє пероксидазну активність та окиснює безбарвний субстрат ABTS²⁻ до зелено-синього радикал-катиона; інтенсивність кольору прямо пропорційна кількості аналіту [4].

3.3 Гібридизаційні ДНК-біосенсори

Принцип гібридизаційних ДНК-сенсорів — комплементарне спарювання ДНК-ДНК або ДНК-РНК. Одноланцюговий зонд, іммобілізований на електроді, гібридує з цільовою послідовністю, утворюючи дуплекс; зміна фіксується через струм маркера, флуоресценцію чи поверхневий плазмонний резонанс. Для підсилення часто застосовують розмноження сигнального ДНК, коли одна цільова нитка ініціює каскад послідовних з'єднань між допоміжними олігонуклеотидами, утворюючи довгі полімери або вторинні структури, що підсилюють сигнал. Такі ампліфікаційні методи підвищують чутливість сенсорів до 10^{12} – 10^{15} М і успішно застосовуються, зокрема, для виявлення мікроРНК та онкомаркерів [4].

3.4 Наноструктурні ДНК-сенсори

Сюди належать системи, в яких ДНК використовується як конструкційний матеріал для побудови впорядкованих нанорозмірних решіток, каркасів та «контейнерів», на які вже нанесли функціональні елементи сенсору. Приклад – ДНК-орігами: довга «скелетна» ДНК шляхом

комплементарного з'єднання з короткими допоміжними олігонуклеотидами складається у задану форму (пластину, коробочку, трубку тощо) [2]. До такої наноструктури можна приєднати численні біомолекули або наночастинки у строго визначених положеннях. Таким чином можна створювати б'їгтоіунціональні сенсори з контрольованою просторовою організацією. Наприклад, ДНК-орігамі було використано як платформа для впорядкованого розміщення декількох аптамерів на поверхні сенсору, що підвищило чутливість та динамічний діапазон детекції завдяки оптимальній орієнтації і щільності упакування рецепторів. В іншій роботі ДНК-орігамі служило «наноантеною»: між двома закріпленими на ньому золотими наночастинками виникало підсилене електромагнітне поле, що значно посилювало флуоресцентний сигнал від міток при детекції одиничних молекул [2].

3.5 Використання синтетичних ДНК у біосенсорах

Однією з передових тенденцій є використання синтетичних аналогів ДНК та штучних нуклеїнових кислот у біосенсорах. До них належать, зокрема, модифіковані олігонуклеотиди (з хімічними групами, що покращують стабільність), замкнені нуклеїнові кислоти (LNA, з фіксованою рибозою для підвищення афінності), пептидні нуклеїнові кислоти (PNA, де цукрофосфатний остов замінений на пептидний – зовсім інша хімія, яка не зустрічається в живій природі) та інші ксено-нуклеїнові кислоти (XNA). Переваги використання таких молекул у сенсорах очевидні. По-перше, вони значно стабільніші: ферменти-нуклеази не розпізнають чужорідну структуру, тож, наприклад, PNA-зонд залишатиметься цілим там, де звичайний ДНК-зонд швидко деградує. Це критично для сенсорів, що працюють у складних середовищах (кров,

грунт), – строк служби подовжується. По-друге, синтетичні нуклеїнові кислоти дають повний контроль над послідовністю і властивостями. Можна включити в молекулу небіологічні основи, які реагують на зовнішні стимули. Водночас, є і проблемні аспекти та етичні питання щодо застосування синтетичної ДНК. Насамперед – біоетичні межі втручання.

IV. ОСНОВНІ АСПЕКТИ БІОЕТИКИ ТА БІОБЕЗПЕКИ У ВИРОБНИЦТВІ ТА ВИКОРИСТАННІ ДНК-БІОСЕНСОРІВ

Широке впровадження ДНК-біосенсорів у медицині супроводжується низкою біоетичних викликів та вимог біобезпеки. Принципи біоетики вимагають, щоб користь цих технологій для суспільства переважала потенційні ризики для окремої людини, а самі пристрої не порушували приватність, добробут чи гідність особи [5]. ДНК-біосенсори працюють з генетичною інформацією, яка належить до особливо чутливих персональних даних. Це піднімає серйозні питання конфіденційності та можливого неправомірного використання генетичних відомостей. Зчитування геному пацієнта або біомаркерів може ненавмисно розкрити приватні факти про схильність до захворювань, що без належного контролю загрожує порушенням прав або дискримінацією. Тому необхідні надійні етичні протоколи і правові норми, які гарантують, що зібрані дані зберігаються конфіденційно та використовуються виключно за згодою пацієнта і в межах визначених цілей (наприклад, відповідно до вимог GDPR щодо генетичних даних). Етична обґрунтованість застосування ДНК-біосенсорів у медицині полягає в суворому дотриманні принципів автономії та благодійності: пацієнт має надати інформовану згоду на проведення аналізу, розуміючи його мету та можливі наслідки для приватності.

Виробники ДНК-біосенсорів несуть як правову, так і етичну відповідальність за безпечність, ефективність та якість своєї

продукції. Це включає виконання вимог стандартів і регуляторних актів (наприклад, дотримання Регламенту ЄС 2017/746 щодо *in vitro* діагностичних пристроїв), проведення оцінки ризиків та забезпечення належної інструкції з використання.

Хоча більшість ДНК-біосенсорів не містять живих компонентів і самі по собі не здатні до мутагенезу, можливі зміни їх властивостей з часом. Наприклад, деградація чи хімічна модифікація ДНК-аптамера під дією факторів середовища може змінити його спорідненість до цілі, що потенційно призведе до хибнонегативних або хибнопозитивних результатів. Якщо ж до складу сенсора входять живі біологічні системи (наприклад, генетично модифіковані клітини-біосенсиори), існує ризик справжніх мутацій цих організмів або горизонтального переносу їх генетичних елементів у природні популяції. Тому такі проекти вимагають особливих заходів безпеки, як-то використання штабів з блокованою здатністю до поширення (*auxotrophic strains*, генетичні «замки») тощо [6]. В цілому, мутації компонентів біосенсора можуть поставити під загрозу надійність приладу і безпечність його застосування, тож потрібен ретельний контроль якості і стабільності сенсорних елементів.

Суттєвим також є екологічний вимір: ДНК-сенсори інтегрують наноматеріали та хімічно модифіковані олігонуклеотиди, здатні накопичуватися у біосистемах [6]. Проблеми вибору матеріалів, їхньої токсикологічної оцінки, а також утилізації відпрацьованих елементів потребують окремого детального розгляду; вони будуть висвітлені у наступних розділах разом із нормативними документами, що регламентують процеси виробництва і використання ДНК-біосенсорів.

V. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ДНК-БІОСЕНСОРІВ: ВИБІР З ОГЛЯДУ НА ЧУТЛИВІСТЬ ТА БІОБЕЗПЕКУ. УТИЛІЗАЦІЯ

Від вибору матеріалу залежить чутливість приладу, його стабільність, а

також питання біосумісності та безпеки. Нижче розглянуто найбільш поширені наноматеріали, їх призначення та пов'язані з ними аспекти біобезпеки. У Таблиці 1 узагальнена класифікація таких матеріалів за параметрами застосування та утилізації.

5.1 Наночастинки золота (AuNP)

Золоті наночастинки діаметром приблизно 10–100 нм мають унікальні оптичні властивості завдяки явищу поверхневого плазмонного резонансу. Вони характеризуються великою питомою поверхнею, високою електропровідністю та хімічною інертністю (золото стійке до окиснення). Поверхня AuNP легко функціоналізується біомолекулами; зокрема, ДНК приєднують через тіолові групи, утворюючи міцні зв'язки Au–S. У біосенсорах ДНК AuNP використовуються у кількох ролях. Наприклад, у колориметричних тест-системах агрегація або дисперсія ДНК-модифікованих AuNP змінює колір розчину, сигналізуючи про наявність цільової послідовності. Також наночастинки золота слугують підсилювачами сигналу в електрохімічних сенсорах, збільшуючи площу електрода та покращуючи перенесення електронів [6, 12].

В масивному стані золото біологічно інертне, і наночастинки Au зазвичай розглядаються як малотоксичні (їх широко застосовують у біомедичних технологіях). Проте, потрапляючи в клітини, за певних умов вони можуть спричиняти цитотоксичність або генотоксичність. Токсичність AuNP залежить від їх розміру, форми, концентрації та покриття. У навколишньому середовищі AuNP практично інертні й нерозчинні, тому прямий токсичний ефект мінімальний; втім, їхня довготривала стабільність може призводити до накопичення наночастинок у екосистемах [6].

Зважаючи на цінність золота, AuNP бажано використовувати даний матеріал повторно. Існують методи хімічного вилучення золота з електронних відходів (розчинення з подальшим осадженням), які можна застосувати і до наноматеріалів. Повторне використання AuNP можливе в

лабораторії: наприклад, сенсор на їх основі регенерують видаленням зв'язаних молекул та повторним нанесенням частинок. Проте у масовій діагностиці наразі переважають одноразові тест-смужки. Щоб уникнути потрапляння AuNP у природу, використані пристрої утилізують як електронні відходи з подальшим вилученням дорогоцінного металу [6].

збільшує оптичний відгук від біомолекулярних взаємодій (наприклад, гібридизації ДНК). В електрохімічних сенсорах AgNP можуть слугувати мітками: після зв'язування з цільовою ДНК наночастинки розчиняють, а отриманий струм окиснення срібла виступає кількісним сигналом. Такі наночастинки також входять до складу різноманітних нанокомпозитів (наприклад, з графеном) з метою покращення чутливості ДНК-сенсорів.

Таблиця 1. Класифікація найпоширеніших матеріалів у виробництві ДНК-біосенсорів

Матеріал	Застосування в ДНК-біосенсорах	Токсичність / безпека	Утилізація та вплив на довкілля
Золото (Au)	Електроди, наночастинки для іммобілізації ДНК і підсилення сигналу. Дає стабільні електрохімічні та оптичні сигнали.	Біосумісне, хімічно інертне та практично нетоксичне для клітин [6]. Не викликає імунних реакцій, не містить небезпечних іонів.	Підлягає збору і переробці (дорогоцінний метал). В довкіллі інертне, але у вигляді наночастинок схильні агрегувати і осідати. Надлишкове накопичення нанозолота в організмі може викликати стрес у клітинах. При утилізації бажано вилучати наночастинки з відходів.
Срібло (Ag)	Наночастинки для оптичних (колориметричних, SERS) сенсорів, каталіз у біосенсорах.	Антимікробне, але і токсичне: Ag ⁺ іони, що вивільняються, пригнічують мікроорганізми та можуть шкодити клітинам [7]. Високі дози викликають окислювальний стрес у тканинах.	Потребує спеціальної утилізації як небезпечний компонент. Наночастинки срібла не повністю видаляються очисними спорудами, здатні накопичуватися в водних екосистемах. Відпрацьовані сенсори зі сріблом слід збирати окремо [7].
Оксиди металів (ZnO, TiO ₂)	Фотоактивні електроди, матриці для іммобілізації ДНК, магнітні наночастинки (Fe ₃ O ₄) для сепарації.	ZnO: розчиняється з вивільненням іонів цинку, дуже токсичних для водних організмів. TiO ₂ : інертний, але наноформи можуть генерувати радикали під УФ. Fe ₃ O ₄ : помірно біосумісний, надлишок може викликати стрес [8].	Необхідна утилізація як хімічних відходів. Розчинені іони (Zn ²⁺) можуть забруднювати ґрунти і водойми. Наночастинки схильні агломерувати, що частково знижує їх рухливість у природі. Рекомендується нейтралізація (додавання сорбентів) перед утилізацією.
Полімери (поліанілін, PEDOT та ін.)	Провідні покриття електродів, матриці для фіксації біомолекул, гнучкі друковані сенсори. Покрашують електропровідність, дозволяють наносити сенсори на пластик/папір.	Низька гостра токсичність: поліанілін та інші полімери хімічно інертні, можуть навіть знижувати токсичність нанокомпозитів. Однак наночастинки полімерів є мікропластиком, довготривалі ефекти якого на екосистеми малодосліджені [9].	Утилізувати як пластик. Небезпечні при спаленні (виділення токсичних газів). В природі не розкладаються, можуть накопичуватися. Перспективним є використання біорозкладних полімерів для зменшення негативного впливу [9].
Графен і нанотрубки	Модифікатори електродів для підвищення чутливості, носії для адсорбції ДНК, компоненти гнучких електронних сенсорів.	Можуть спричиняти ушкодження клітинних мембран і запалення; проникають у клітини і накопичуються. Вдихання частинок небезпечно для легенів. Дані про екотоксичність суперечливі, але є свідчення про негативний вплив на тварин і рослини [10].	В природі не розкладаються. Рекомендується збір і зберігання/переробка, а не викидання. У воді може агрегувати або адсорбуватися на організми, що частково знижує його токсичність. Відходи графенових матеріалів підлягають контролю як потенційно небезпечні [11].

5.2 Срібні наночастинки (AgNP)

Срібні наночастинки (AgNP) діаметром десятки нанометрів мають сильний локалізований поверхневий плазмонний резонанс (у видимій області, близько 400 нм), що забезпечує інтенсивне світлопоглинання та розсіювання. Вони високо електропровідні, а їх поверхню можна функціоналізувати біомолекулами подібно до AuNP. Для AgNP характерне поступове окиснення з вивільненням іонів Ag⁺, яке надає їм виражених антимікробних властивостей [7].

У оптичних ДНК-сенсорах (плазмонних, SERS тощо) срібні наночастинки використовуються як потужні підсилювачі сигналу: їхній плазмонний резонанс різко

Наночастинки срібла можуть спричиняти значну цитотоксичність та бактерицидну дію через вихід Ag⁺ та утворення активних форм кисню. Високі концентрації наносрібла здатні викликати в клітинах пошкодження мембран, оксидативний стрес і навіть руйнування ДНК. Тому слід мінімізувати експозицію та застосовувати захисні покриття на наночастинках, що уповільнюють виділення іонів. У довкіллі срібло становить ризик для водних екосистем: Ag⁺ дуже токсичні для мікроорганізмів і можуть накопичуватися в харчових ланцюгах.

Відходи, що містять наночастинки срібла, підлягають спеціальній утилізації. Бажано здійснювати переробку

використаних сенсорів з вилученням срібла – існують хімічні методи травлення та осадження, запозичені з електронної промисловості. Пряме повторне використання AgNP складне через їхню нестабільність (агрегацію, окиснення), тому такі біосенсори зазвичай одноразові. Для знешкодження відходів з AgNP застосовують високотемпературне спалювання з очищенням викидів або довготривале ізольоване зберігання, щоб запобігти потраплянню срібла в навколишнє середовище [7, 12].

5.3 Оксиди металів (ZnO, TiO₂, Fe₃O₄)

Наноматеріали на основі оксидів металів мають різноманітні фізико-хімічні властивості, корисні в біосенсорах. У ДНК-біосенсорах такі наноструктури підвищують чутливість і додають нові принципи детекції. ZnO-наноструктури на електродах збільшують площу для закріплення ДНК-зондів і покращують електронний трансфер, що знижує межу виявлення. TiO₂-наночастинки застосовуються у фотоелектрохімічних сенсорах: під УФ-опроміненням їх фотострум змінюється при зв'язуванні цільової ДНК, дозволяючи виявити наявність аналізованої послідовності. Магнітні частинки Fe₃O₄ використовують для магнітного вилучення цільової ДНК зі зразків, що підвищує вибірковість та чутливість аналізу [8].

ZnO і TiO₂ вважаються відносно біосумісними матеріалами (застосовуються у косметичці та харчових добавках), але у формі наночастинок можуть бути токсичними. ZnO виділяє йони Zn²⁺, надлишок яких спричиняє оксидативний стрес і шкодить клітинам; наночастинки TiO₂ при вдиханні провокують запалення, а під УФ створюють радикали, що пошкоджують тканини. Fe₃O₄ належить до біосумісних наноматеріалів, оскільки в організмі може розкладатися до іонів заліза, утилізованих метаболізмом (хоча надлишок заліза небажаний). Таким чином, для оксидних наноматеріалів важливо контролювати дозування та тривалість контакту.

Після використання наноструктур оксидів важливо запобігти їх потраплянню в

навколишнє середовище. Зазвичай такі відходи утилізують разом з твердими лабораторними/електронними відходами. Спалення сенсорів з цими наноматеріалами призводить до утворення інертного оксидного попелу. Вторинне вилучення ZnO чи TiO₂ з відпрацьованих сенсорів економічно не доцільне через низьку вартість, хоча в лабораторних умовах можливе магнітне вилучення та повторне використання Fe₃O₄ або хімічне осадження ZnO. Більшість біосенсорів на основі оксидів металів є одноразовими та недорогими, тому акцент робиться на їх безпечній утилізації (наприклад, як електронних відходів) та мінімізації екологічних ризиків [8].

5.4 Провідні полімери

Провідні полімери – це органічні матеріали, що набувають електропровідності після відповідного легування. Прикладами є поліанілін (PANI) та PEDOT:PSS. У ДНК-біосенсорах провідні полімери служать матрицею для фіксації ДНК-зондів і одночасно перетворювачем сигналу. Олігонуклеотиди іммобілізуються на їх поверхні, а при гібридизації з цільовою ДНК властивості полімерного шару – заряд, провідність або ємність – змінюються. Це призводить до вимірюваного електрохімічного відгуку (зміни струму, потенціалу чи імпедансу), що відображає факт зв'язування ДНК [9].

Перевагою провідних полімерів є відсутність у їх складі важких металів чи інших токсичних елементів. В екологічному плані ці полімери хімічно інертні й нерозчинні у воді, проте, як і інші пластмаси, не розкладаються біологічно та можуть накопичуватися у відходах.

Зазвичай сенсори на основі провідних полімерів є одноразовими, оскільки після аналізу полімерні шари можуть забруднюватися і втрачати стабільність. Повторне застосування можливе лише обмежено (іноді можливе очищення електродів для повторного вимірювання), тому використані пристрої зазвичай утилізують як електронні відходи. При спалюванні такі полімери розкладаються до вуглекислого газу, води та інших простих

сполук без утворення високотоксичних продуктів [13].

5.5 Вуглецеві наноматеріали (графен, нанотрубки)

Вуглецеві наноматеріали, такі як графен і вуглецеві нанотрубки, мають виняткові електричні та механічні властивості. Графен – одноатомний шар вуглецю з дуже високою електропровідністю, міцністю і великою поверхнею. Вуглецеві нанотрубки (одно- чи багатостінні) – це згортки графену у циліндр діаметром кілька нанометрів; вони легкі і надзвичайно міцні. У ДНК-біосенсорах графен і нанотрубки широко застосовуються для підсилення сигналу та нових форматів детекції. В електрохімічних сенсорах введення цих наноматеріалів до електрода збільшує площу і покращує перенесення заряду, що дає змогу виявляти нуклеїнові кислоти при нижчих концентраціях. Графен використовують як провідний канал у транзисторних ДНК-сенсорах: зв'язування зарядженої ДНК на його поверхні змінює провідність, і цей ефект фіксується як сигнал.

Вуглецеві наноматеріали хімічно інертні, проте можуть негативно впливати на живі системи. Немодифіковані нанотрубки здатні викликати запалення. Графен і особливо його оксид у високих дозах спричиняють оксидативний стрес і пошкодження клітинних мембран. Під час застосування в сенсорах ці наноматеріали контактують лише із зразком, тому ризик для оператора мінімальний. У довкіллі графен і нанотрубки дуже стійкі та не розкладаються, можуть накопичуватися й впливати на мікроорганізми [10, 11].

Відходи, що містять графен чи нанотрубки, слід утилізувати обережно. Найкращим підходом є високотемпературне спалювання, яке перетворює їх на CO₂ і не залишає твердих залишків. У лабораторії графенові або нанотрубкові поверхні інколи очищують для повторного використання, але у промислових сенсорах це не практикується. Необхідно поводитися з такими відходами як з небезпечними матеріалами, уникаючи їх потрапляння в навколишнє середовище [14].

VI. ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТОЧНОСТІ ДНК-БІОСЕНСОРІВ: БІОБЕЗПЕКОВИЙ ТА ЕТИЧНИЙ АСПЕКТ

Точність біосенсора визначає його здатність відрізнити істинні позитивні зразки від негативних. Хибнонегативні результати ведуть до пропущених діагнозів і неконтрольованого поширення патогенів; хибнопозитивні — до зайвих процедур і психологічного стресу. З огляду на принцип «не нашкодь» контроль якості стає етичним обов'язком розробника й лабораторії.

Аналітично точність описують [6, 15]:

- чутливістю — мінімізацією хибнонегативних результатів;
- специфічністю — відсутністю неспецифічних зв'язувань;
- межею виявлення — найменшою кількістю ДНК, яку можна надійно зафіксувати;
- відтворюваністю — стабільністю показників у повторних вимірюваннях.

На ці параметри впливають зовнішні чинники. Температурні коливання та волога змінюють гібридаційну кінетику; контамінація зразків чи реагентів чужорідною ДНК породжує хибнопозитивні результати; деградація реагентів збільшує межу виявлення. Усе це прямо загрожує біобезпеці: недостовірний тест може ініціювати помилкові клінічні чи епідемічні дії.

Для мінімізації ризиків застосовують багаторівневий контроль.

Внутрішні контролю — позитивні чи негативні зразки у кожній серії дозволяють негайно виявити збої.

Калібрування приладу на еталонних розчинах забезпечує коректність вимірювань і моніторинг дрейфу сигналу.

Міжлабораторна перевірка (зовнішня валідація): участь лабораторії в програмах зовнішнього контролю якості (так звані міжлабораторні раунди) дозволяє зіставити результати біосенсора з результатами інших незалежних лабораторій. Для цього різним лабораторіям розсилаються однакові зразки, і отримані значення порівнюються статистично.

Етично важливим є прозорість: пацієнт повинен отримувати результат, підтверджений контрольними процедурами; лабораторія — дотримуватися встановлених протоколів; а регулятори — вимагати документованого моніторингу точності.

VII. ЕТИЧНІ НОРМИ ТА СТАНДАРТИ БІОБЕЗПЕКИ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ ДНК У БІОСЕНСОРАХ

Розробка і застосування ДНК-біосенсорів регулюються сукупністю міжнародних та національних норм у галузі біобезпеки, біоетики і якості медичних виробів. Хоча спеціалізованих стандартів, присвячених саме ДНК-біосенсорам, поки небагато, існує ряд документів, які встановлюють рамки безпечної роботи з біологічними матеріалами та генетичною інформацією, релевантні для цієї сфери.

Найбільш відомим глобальним документом з біобезпеки є Картахенський протокол про біобезпеку (2000) до Конвенції про біологічне різноманіття [17, 18]. Він спрямований на захист біорізноманіття від потенційних ризиків, пов'язаних з трансгенними організмами (ГМО). Хоча ДНК-біосенсиори зазвичай не містять ГМО, згідно з ним, країни мають право отримувати повну інформацію про біологічні агенти, що ввозяться, і забороняти імпорту, якщо є сумніви в їх безпеці. У контексті біосенсорів це може стосуватися, наприклад, наборів, що містять рекомбінантні ДНК чи синтезовані гени: виробник повинен забезпечити документацію про їх походження і безпечність.

У 2019 році прийнято перший міжнародний стандарт з управління біологічними ризиками – ISO 35001:2019 “Biorisk management for laboratories” [19]. Він встановлює процеси оцінки та контролю ризиків при роботі з небезпечними біологічними матеріалами в лабораторіях. Для розробників ДНК-біосенсорів цей стандарт корисний тим, що вимагає впровадження системи менеджменту ризиків: ідентифікації потенційних загроз (наприклад, робота з патогенними ДНК-

шаблонами або токсичними наноматеріалами), навчання персоналу, застосування інженерних бар'єрів (боксів, фільтрації). Хоч ISO 35001 більше орієнтований на мікробіологічні лабораторії, його принципи – “знай ризик – керуй ризиком” – цілком можуть бути адаптовані в контексті сенсорних технологій.

Спеціально для діагностичних виробів існує стандарт ISO 13485:2016 (система управління якістю медичних приладів), що охоплює і *in vitro* діагностику [19]. ДНК-біосенсиори, призначені для медичного застосування (наприклад, тестери на мутації або віруси), повинні відповідати вимогам цього стандарту щодо безпеки, ефективності та контролю виробництва. Також діють стандарти на електробезпеку та електромагнітну сумісність обладнання (серія IEC 61010, 61326), які важливі для приладів з електронними компонентами.

У багатьох країнах діють власні нормативи щодо роботи з рекомбінантними ДНК. У США – це NIH Guidelines for Research Involving Recombinant or Synthetic Nucleic Acid Molecules, які фактично є галузевим стандартом і часто інтегровані у законодавство (Biosafety and Biosecurity Policy - NIH Office of Science Policy). Вони встановлюють класифікацію робіт з генетичним матеріалом за рівнем ризику і відповідні вимоги (наприклад, будь-яке створення рекомбінантних ДНК потребує схвалення Інституційного комітету з біобезпеки – IBC). В Україні та ЄС діють подібні правила, гармонізовані з Картахенським протоколом: наприклад, Регламент ЄС 2017/746 про діагностику *in vitro* (який з 2022 р. охоплює й тести на основі нуклеїнових кислот) [20].

Не варто забувати і про стандарти етичної експертизи. Якщо біосенсор випробовується за участю донорів, потрібен інформований дозвіл, схвалення комісії з етики, дотримання конфіденційності. Ці вимоги регламентуються Гельсінкською декларацією для медичних досліджень та відповідними національними законами (Закон України «Про захист персональних даних»)

VIII. ВИСНОВКИ

Ключові ризики біобезпеки при розробці та експлуатації ДНК-біосенсорів включають нестабільність і деградацію їхніх ДНК-компонентів та потенційну біотоксичність використаних матеріалів, а також небезпеку витоку або неправомірного використання генетичних даних.

Для мінімізації цих загроз необхідно запровадити суворий контроль якості на всіх етапах створення біосенсорів, обирати біосумісні й стабільні матеріали та дотримуватися принципів відповідального поводження з генетичною інформацією. Особливо важливим є встановлення чітких регуляторних норм і стандартів безпеки, що супроводжують розвиток технологій ДНК-біосенсорів.

Дотримання згаданих підходів забезпечить надійність сенсорних систем і суспільну довіру до використання ДНК-біосенсорів. Таким чином, виконання принципів біобезпеки та етики є необхідною умовою реалізації повного потенціалу ДНК-біосенсорів у покращенні медичної діагностики та моніторингу стану довкілля.

Фінансування. Ця публікація підготовлена в рамках проєкту №3064 “Improving professional communication on biosecurity and biohazard management in medicine, pharmacy and biotechnology”, який отримав фінансування через проєкт EURIZON, що фінансується Європейським Союзом за грантовою угодою №871072.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ORCID ID та внесок авторів.

0009-0008-7691-5705 (A, E) Sofiia

Zolotopupova

0000-0003-0815-6950 (B, C, D) Igor

Khudetskyi

0009-0000-6059-7724 (C, D) Sobolevskyi

Maksym

A – концепція роботи та дизайн; *B* – аналіз інформації; *C* – написання статті; *D* – критичний огляд; *E* – остаточне схвалення статті.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Hua Y., Su L. ДНК-біосенсори для біохімічного аналізу: огляд. *Biosensors*. 2022. Vol. 4, no. 3. P. 20. DOI: <https://doi.org/10.3390/biosensors4030020>
2. Jia Y., Liu X., Yao C. ДНК-біосенсори для виявлення генетичних маркерів: огляд. *Biosensors*. 2022. Vol. 12, no. 3. P. 183. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios12030183>
3. Rana K., Arya S. Останні досягнення у створенні ДНК-біосенсорів: від дизайну до застосування. In: *ДНК-нанотехнологія*. IntechOpen. 2023. Розділ 9. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.101114>
4. Lakard B. ДНК-біосенсори. ResearchGate. 2020. URL: https://www.researchgate.net/publication/343859487_DNA_Based_Biosensors
5. Ulrich C. M., Rathouz P. J., Foster M. Біоетика та використання біосенсорів у сфері охорони здоров'я: етичні аспекти. *Nursing Outlook*. 2020. Vol. 68, no. 5. P. 547–553. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.outlook.2020.04.008>
6. Lim C. T., Zhang Y., Wang Y. Розвиток ДНК-біосенсорів для медичної діагностики: тенденції та виклики. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 971402. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.971402>
7. Ahmed S. R., Husale S. ДНК-біосенсори для моніторингу довкілля: можливості та виклики. *Biosensors*. 2023. Vol. 13, no. 3. P. 255. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios13030255>
8. Fadeel B., Bussy C., Merino S. Оцінка безпеки матеріалів на основі графену: акцент на здоров'я людини та довкілля. *ACS Nano*. 2018. Vol. 12, no. 11. P. 10582–10620. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b04758>
9. Lakard B. Електрохімічні ДНК-біосенсори для генетичного аналізу: основи та застосування. *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 18. P. 6614. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10186614>
10. Pulingam T., Thong K. L., Ali N. M. Токсичність графену та його похідних: огляд. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 6. P. 961. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano12060961>
11. Hou W.-C., Lin C.-F. Екологічна доля та екотоксичність оксиду графену: огляд. *Chemosphere*. 2020. Vol. 256. Article 127026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127026>
12. Zhao L., Zhan P., Liu J. Біосенсори на основі графену для виявлення ДНК: досягнення і перспективи. *Biosensors*. 2022. Vol. 12, no. 12. P. 1082. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios12121082>
13. Lakard B. Електрохімічні ДНК-біосенсори для генетичного аналізу: основи та застосування. *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 18. P. 6614. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10186614>
14. Singh Z., Singh R. Матеріали на основі оксиду графену — застосування та токсичність: огляд. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 3. P. 466. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano12030466>
15. Cheng Y., Zhang X., Luo J. Останні досягнення у використанні біосенсорів для виявлення онкомаркерів. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023. Vol. 11. Article 1091809. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1091809>
16. Savas S., Altintas Z. ДНК-біосенсори на основі нанотехнологій для генетичної детекції. *Biosensors*. 2021. Vol. 11, no. 12. P. 486. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios11120486>
17. Закон України «Про приєднання до Картахенського протоколу про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття». Офіційний портал Верховної Ради України. 2002. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_935#Text

18. Kricka L. J., Wild D. Питання біобезпеки та біозахисту у біотехнологічних дослідженнях. *Journal of Bioterrorism & Biodefense*. 2016. Vol. 7, no. 1. Article 1000e153. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-2526.1000e153>

19. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ). Настанова з біобезпеки лабораторій. 4-те видання. 2020. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>

20. Європейський парламент і Рада ЄС. Регламент (ЄС) № 2017/746 Європейського парламенту та Ради від 5 квітня 2017 року щодо діагностичних медичних виробів in vitro. Official Journal of the European Union. 2017. URL: <https://www.ce-certification.lv/userfiles/files/regulation-eu-2017-746-in-vitro-diagnostic-medical-devices.pdf>

REFERENCES

1. Hua Y., Su L. DNA-Based Biosensors for the Biochemical Analysis: A Review. *Biosensors*. 2022. Vol. 4, no. 3. P. 20. DOI: <https://doi.org/10.3390/biosensors4030020>
2. Jia Y., Liu X., Yao C. DNA Biosensors for the Detection of Genetic Markers: A Review. *Biosensors*. 2022. Vol. 12, no. 3. P. 183. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios1203018>
3. Rana K., Arya S. Recent Advances in DNA-Based Biosensors: From Design to Applications. In: *DNA Nanotechnology*. IntechOpen. 2023. Chapter 9. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.10111>
4. Lakard B. DNA Based Biosensors. ResearchGate. 2020. URL: https://www.researchgate.net/publication/343859487_DNA_Based_Biosensor
5. Ulrich C. M., Rathouz P. J., Foster M. Bioethics and the Use of Biosensors in Healthcare: Ethical Considerations. *Nursing Outlook*. 2020. Vol. 68, no. 5. P. 547–553. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.outlook.2020.04.008>
6. Lim C. T., Zhang Y., Wang Y. Advancing DNA Biosensors for Medical Diagnostics: Trends and Challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 971402. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.971402>
7. Ahmed S. R., Husale S. DNA-Based Biosensors for Environmental Monitoring: Opportunities and Challenges. *Biosensors*. 2023. Vol. 13, no. 3. P. 255. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios1303025>
8. Fadeel B., Bussy C., Merino S. Safety Assessment of Graphene-Based Materials: Focus on Human Health and the Environment. *ACS Nano*. 2018. Vol. 12, no. 11. P. 10582–10620. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b04758>
9. Lakard B. Electrochemical DNA Biosensors for Genetic Analysis: Fundamentals and Applications. *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 18. P. 6614. DOI: <https://doi.org/10.3390/app1018661>
10. Pulingam T., Thong K. L., Ali N. M. Toxicity of Graphene and Its Derivatives: A Review. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 6. P. 961. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano12060961>
11. Hou W.-C., Lin C.-F. Environmental Fate and Ecotoxicity of Graphene Oxide: A Review. *Chemosphere*. 2020. Vol. 256. Article 127026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127026>
12. Zhao L., Zhan P., Liu J. Graphene-Based Biosensors for DNA Detection: Progress and Prospects. *Biosensors*. 2022. Vol. 12, no. 12. P. 1082. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios12121082>
13. Lakard B. Electrochemical DNA Biosensors for Genetic Analysis: Fundamentals and Applications. *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 18. P. 6614. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10186614>
14. Singh Z., Singh R. Graphene Oxide Materials—Applications and Toxicity: A Review. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 3. P. 466. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano1203046>
15. Cheng Y., Zhang X., Luo J. Recent Advances in Biosensor Application for Cancer Biomarker Detection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023. Vol. 11. Article 1091809. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1091809>
16. Savas S., Altintas Z. Nanotechnology-Based DNA Biosensors for Genetic Detection. *Biosensors*. 2021. Vol. 11, no. 12. P. 486. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios1112048>
17. Law of Ukraine on Accession to the Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity. 2002. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_935#Text
18. Kricka L. J., Wild D. Biosafety and Biosecurity Issues in Biotechnology Research. *Journal of Bioterrorism & Biodefense*. 2016. Vol. 7, no. 1. Article 1000e153. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-2526.1000e153>
19. World Health Organization (WHO). WHO Laboratory Biosafety Manual. 4th ed. 2020. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>
20. European Parliament and Council. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices. Official Journal of the European Union. 2017. URL: <https://www.ce-certification.lv/userfiles/files/regulation-eu-2017-746-in-vitro-diagnostic-medical-devices.pdf>

UDC 608

BIOSAFETY IN THE PRODUCTION AND APPLICATION OF DNA BIOSENSORS

Sofiia Zolotopupova¹

s.zolotopupova.zf41mp.fbmi25@ill.kpi.ua

Igor Khudetskyi^{1,2}

igorkhudetskyi@gmail.com

Maksym Sobolevskyi³

m.s.sobolevskyi@imbq.org.ua

¹National Technical University of Ukraine
“Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”

²E. O. Paton Electric Welding Institute
of the National Academy of Sciences of Ukraine

³Institute of Molecular Biology and Genetics,
NAS of Ukraine,

Abstract – DNA biosensors are rapidly being integrated into clinical diagnostics and environmental monitoring due to their ability to recognize biomarkers with nano- and picomolar sensitivity. At the same time, their production and application are associated with a number of biosafety risks: the potential toxicity of nanomaterials incorporated into sensors; degradation of DNA components under the influence of temperature, ultraviolet radiation, or nucleases, which can lead to false results; and the risk of leakage of confidential genetic information. This study examines the main types of DNA biosensors — aptamer-based, catalytic, hybridization-based, and nanostructures as well as the use of synthetic nucleic acids to improve the stability of sensing platforms. Particular attention is paid to bioethical and biosafety aspects, including the protection of genetic data privacy, the ethical responsibility of manufacturers, the accuracy control of measurements, and the management of risks related to nanomaterials. The selection of materials for sensors (AuNP, AgNP, ZnO, TiO₂, Fe₃O₄, graphene, polymers) is discussed in terms of their efficiency and environmental safety, along with the necessity of proper disposal of used biosensors. It is emphasized that adherence to international biosafety standards and ethical principles is essential for the responsible development of DNA biosensor technologies. Implementing biosafety principles will ensure the safe use of sensors in medicine and environmental protection and will contribute to strengthening public trust in biotechnological innovations.

Key words: bioethics, biosafety, DNA biosensors, DNA, nanomaterials, disposal of biological materials, cytotoxicity, genotoxicity, environmental protection.