

Исследование стадий внутриклеточного перемещения модульных нанотранспортеров, доставляющих лекарственные средства в ядра клеток со сверх-экспрессией фолатных рецепторов

Научный руководитель – Сластникова Татьяна Александровна

Овечко Сергей Александрович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия

E-mail: sovechkoo@gmail.com

Одним из перспективных подходов к лечению онкологических заболеваний является адресная доставка лекарств в заданные компартменты непосредственно раковых клеток. Адресная доставка позволяет снизить эффект общей токсичности принятых химиотерапевтических препаратов, а также проводить эффективное лечение даже в случае метастазов. Модульные нанотранспортеры (МНТ) позволяют производить адресную доставку различных терапевтических молекул в наиболее чувствительный для ряда лекарств компартмент - ядра клеток [1].

Данная работа посвящена исследованию стадий внутриклеточного перемещения нового МНТ, содержащего фолиевую кислоту (ФК), в раковых клетках, экспрессирующих фолатные рецепторы (ФР). Исследуемый МНТ состоит из следующих частей: ФК, выступающей в качестве лиганда к ФР, и присоединенной через спейсер из полиэтиленгликоля к белковой части МНТ, включающей в себя: эндосомолитический модуль - транслокационный домен дифтерийного токсина; сигнал ядерной локализации и модуль-носитель - гемоглобиноподобный белок *E.coli*. Методом проточной цитофлуориметрии было показано, что флуоресцентно меченный МНТ специфично интернализуется клетками HeLa, экспрессирующими ФР. Спустя 48 ч инкубации клеток с МНТ мы наблюдали значительный флуоресцентный сигнал интернализованного транспортера ($86,1 \pm 0,4$ отн.ед.), который оказывался в 7 и более раз ниже при инкубации в среде, содержащей избыток свободной ФК, и более чем в 12 раз ниже в случае использования транспортера, лишённого лиганда (ФК). Кроме того, внутриклеточный сигнал от МНТ после инкубации с контрольными клетками A549, не экспрессирующими ФР, оказывался в 10 с лишним раз ниже, по сравнению с клетками HeLa. Исходя из этого, мы заключили, что специфическая интернализация МНТ протекает вследствие взаимодействия ФК транспортера с ФР клеток. Методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии была продемонстрирована способность МНТ накапливаться в ядрах клеток-мишеней. На модельной системе бислойных липосом было показано, что начиная с рН6 и ниже МНТ проявляет мембранолитическую активность, с двумя максимумами эффективности: в области рН~5,5 (соответствует рН закисляющихся эндосом) и рН~3,5.

Таким образом, была показана способность МНТ нарушать целостность липидного бислоя при значениях рН, соответствующих рН эндосом, указывая на способность МНТ выходить из них в цитоплазму. В результате показана активность каждого функционального модуля в составе нового МНТ с ФК.

Источники и литература

- 1) Соболев А.С. Модульные нанотранспортеры – многоцелевая платформа для доставки противораковых лекарств // Вестник РАН, 2013. Т. 83. No. 8. С. 685-697.