

**Характеристика мембранолитической активности модульных нанотранспортеров с лигандом к интернализуемым рецепторам на поверхности клеток рака простаты**

**Научный руководитель – Уласов Алексей Валентинович**

*Солдатова Ю.В.<sup>1</sup>, Уласов А.В.<sup>2</sup>*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

Одним из подходов адресной доставки биологически активных соединений в заданный тип клеток являются модульные нанотранспортеры (МНТ). МНТ представляют собой искусственные белки из нескольких модулей, каждый из которых выполняет свою функцию: лигандный модуль - распознавание клеток-мишеней и интернализация в них путем рецептор-опосредованного эндоцитоза; эндосомолитический модуль позволяет МНТ с доставляемым соединением попасть из закисляемых до pH 5-6 эндосом в цитоплазму; сигнал ядерной локализации необходим для транспорта в ядро; модуль-носитель объединяет все модули [1].

В рамках данной работы изучаются новые варианты МНТ с лигандами к рецепторам, сверхэкспрессированным на клетках рака простаты: простатспецифический мембранный антиген [2] и рецепторы гастрин-высвобождающего пептида [3]. Целью является характеристика и изучение физико-химических свойств новых МНТ. Для экспрессии МНТ был использован штамм *E. coli* BL21(DE3). Белки были выделены и очищены с помощью аффинной хроматографии на колонке с Ni-NTA агарозой. Концентрация белков измерена методом Бредфорда и оценена молекулярная масса с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Для оценки способности новых МНТ нарушать целостность мембран при pH эндосом были проведены эксперименты на липосомах. Их нагружали флуоресцирующим красителем кальцеином и изучали опосредованный МНТ выход кальцеина из липосом при разном pH. Флуоресценцию кальцеина (возбуждение при 490 нм, испускание при 520 нм) детектировали на планшетном флуориметре Synergy 4 (BioTek Instruments, США). Опыты показали наличие мембранолитической активности при pH ранних эндосом 5-6, что соответствует оптимуму работы эндосомолитического модуля [4].

**Источники и литература**

- 1) Соболев А.А. Модульные нанотранспортеры – многоцелевая платформа для доставки противораковых лекарств // Вестник РАН, 2013, том 83, № 8, с. 685–697
- 2) Chatalic K.L., Veldhoven-Zweistra J., Bolkestein M. A Novel <sup>111</sup>In-Labeled Anti-Prostate-Specific Membrane Antigen Nanobody for Targeted SPECT/CT Imaging of Prostate Cancer // J Nucl Med. 2015 Jul;56(7):1094-9
- 3) Grady E. F., Slice L.W., Brant W.O. Direct observation of endocytosis of gastrin releasing peptide and its receptor // J Biol Chem. 1995 Mar 3;270(9):4603-11
- 4) Khramtsov Y.V., Rokitskaya T.I., Rosenkranz A.A. Modular drug transporters with diphtheria toxin translocation domain form edged holes in lipid membranes // J Control Release. 2008 Jun 24;128(3):241-7