

Создание стабильных и биосовместимых тераностических агентов на основе магнитных наночастиц и рекомбинантных белков

Научный руководитель – Шипунова Виктория Олеговна

Котельникова Полина Александровна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: polina.kotelnikova27@gmail.com

Конструкции, сочетающие в себе способности распознать пораженные клетки, визуализировать их и адресно доставить к ним лекарство, приближают нас к медицине будущего. При этом применению таких агентов в клинике препятствует необходимость создания уникальной, сложной технологии для каждого набора активных молекул. Использование модульных конструкций позволяет легко комбинировать компоненты и собирать их при физиологических условиях.

В данном исследовании была разработана конструкция на основе Bs-Mms6 — рекомбинантного белка слияния барстара и фрагмента белка магнитотактических бактерий. Комплекс бактериальных белков барстар : барназа позволяет с высокой аффинностью соединять функциональные агенты в физиологических условиях. В природе магнитотактических бактерий используют для ориентации в магнитном поле наночастицы в составе органелл — магнетосом. Белок Mms6 играет важную роль в формировании однородных по размеру и форме кристаллов магнетита в магнетосомах. В конструкции белка Bs-Mms6 был использован С-концевой фрагмент Mms6, отвечающий за специфичное связывание с магнетитом. В качестве направляющего агента был использован нацеленный на рецептор Her2 белок DARPIn в составе конструкции DARPIn-барназа.

В ходе работы был выделен в клетках *E. coli* BL21(DE3) и очищен с помощью аффинной хроматографии рекомбинантный белок Bs-Mms6. Было показано, что в широком диапазоне концентраций белок не оказывает заметного влияния на выживаемость эукариотических клеток. Измерение ферментативной активности барназы после инкубации с различными концентрациями Bs-Mms6 показало способность белка специфично связывать барназу. Также была продемонстрирована возможность сборки конструкции барназа : Bs-Mms6 на поверхности эукариотических клеток.

Наночастицы из магнетита были синтезированы методом копреципитации солей железа. Инкубация с Bs-Mms6 и барстаром в качестве контроля показала, что Bs-Mms6, во-первых, может стабилизировать частицы в физиологических условиях, во-вторых, увеличивает гидродинамический размер частиц по сравнению с контрольными образцами. Также было показано отсутствие цитотоксичности частиц, покрытых Bs-Mms6, на двух линиях эукариотических клеток с помощью МТТ-теста. Наконец, была продемонстрирована специфичная сборка конструкции с магнитными наночастицами как в растворе, так и на поверхности клеток методами проточной цитометрии и флуоресцентной спектроскопии.

Таким образом, в данной работе был разработан метод модификации магнитных наночастиц рекомбинантным белком Bs-Mms6 без использования дополнительных полимеров и химической конъюгации. Также была получена конструкция для адресной доставки соединений в раковые клетки и их визуализации, продемонстрированы ее биосовместимость, стабильность и возможность сборки при физиологических условиях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-74-20146.