

## Генетически кодируемые материалы для адресной доставки препаратов

Научный руководитель – Габашвили Анна Николаевна

Федотов К.А.<sup>1</sup>, Ода В.В.<sup>2</sup>

1 - Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Институт новых материалов и нанотехнологий, Москва, Россия, *E-mail: cfvallwork@gmail.com*; 2 - Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Институт новых материалов и нанотехнологий, Москва, Россия, *E-mail: oda-vera@mail.ru*

Разработка систем направленного транспорта диагностических и терапевтических препаратов из системного кровотока к клеткам-мишеням является одной из самых актуальных задач бионанотехнологии.

В данной работе представлено создание двух не имеющих аналогов стабильных клеточных линий, способных биосинтезировать бактериальные наноконфартменты (инкапсулины) - икосаэдрические комплексы, образующиеся в результате самосборки оболочек, состоящих из белков-протомеров одного вида [1].

Из литературы известно, что инкапсулиновые системы из бактерий штаммов *Mycococcus xanthus* (MxEnc), с диаметром оболочки 31 нм [2] и *Quasibacillus thermotolerans* (QtEnc), с диаметром оболочки 42 нм, [3] могут успешно биосинтезироваться в эукариотических клетках после транзиторной трансфекции и обнаруживаться с помощью флуоресцентной и электронной микроскопии.

Подобные инкапсулиновые системы можно в дальнейшем выделять из клеток-продуцентов методами эксклюзионной хроматографии и ультрацентрифугирования. Функционализирование поверхности оболочки выделенных инкапсулинов обеспечивает адресную доставку диагностических и терапевтических препаратов. Кроме того, QtEnc и MxEnc могут инкапсулировать внутри оболочек грузовые белки, такие как флуоресцентные белки или ферменты, что может обеспечить визуализацию инкапсулинов с помощью различных подходов.

Методом лентивирусной трансдукции нами были получены две клеточные линии: AML12-Mx и AML12-Qt, содержащее инкапсулиновые системы бактерий вышеописанных штаммов. В обеих клеточных линиях грузовым белком, инкапсулированным в наноконфартментах, является ферроксидаза. Ферроксидаза - фермент, окисляющий двух валентное железо до трех валентного. Добавление соответствующего субстрата двухвалентного железа к клеткам, обуславливает повышение накопления железа и образование магнитных наночастиц внутри инкапсулинов, что позволяет использовать данные наноконтейнерные системы в МРТ-диагностике. Для увеличения интенсивности транспорта и накопления железа была дополнительно проведена еще одна генетическая модификация: добавлены гены, кодирующие трансмембранный переносчик двух валентного железа. В результате проведенной нами работы было показано, что после инкубации полученных трансгенных клеток с  $Fe_2SO_4 \cdot 6H_2O$  в течение 24 часов с последующей окраской Прусским синим, депозиты железа визуализируются в существенно большем количестве, по сравнению с интактной клеточной линией. Методом ПЭМ были получены микрофотографии белковых наноконфартментов, соотносящихся по размеру с инкапсулинами описанными в тексте ранее.

Полученные данные обеспечивают основу для создания наноконтейнерных систем адресной доставки препаратов, обладающих рядом преимуществ среди аналогов:

такие инкапсулиновые системы обладают высокой прочностью (устойчивы к широкому диапазону температур и pH) [4]; белковая структура оболочки способствует снижению

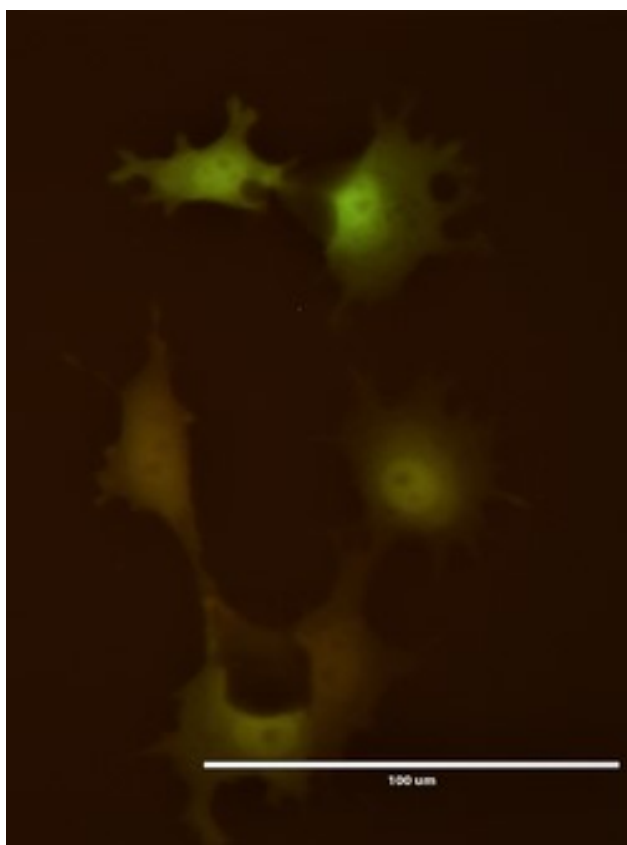
токсичности препарата; генетическая основа синтеза инкапсулинов позволяет уменьшить содержание эндотоксинов, а также обеспечивает единообразие размеров получаемых белковых оболочек.

При поддержке РФФ, грант № 19-45-06302.

### Источники и литература

- 1) Sutter M. et al. Structural basis of enzyme encapsulation into a bacterial nanocompartment //Nature structural & molecular biology. 2008. Т. 15. №. 9. С. 939-947.
- 2) Sigmund F. et al. Bacterial encapsulins as orthogonal compartments for mammalian cell engineering //Nature communications. 2018. Т. 9. №. 1. С. 1-14.
- 3) Sigmund F. et al. Iron-sequestering nanocompartments as multiplexed Electron Microscopy gene reporters //ACS nano. 2019. Т. 13. №. 7. С. 8114-8123.
- 4) Giessen T. W. et al. Large protein organelles form a new iron sequestration system with high storage capacity //Elife. 2019. Т. 8. С. e46070.

### Иллюстрации



**Рис. 1.** Клеточная линия AML12-Qt. В вирусы, кодирующие оболочку и трансмембранный переносчик железа, были включены гены GFP и RFP, что обуславливает зеленую и красную флуоресценцию соответственно.