

Трансфекция миобластов мышцы комплексами ДНК и катионных пептидов с анионным пептидным покрытием

Девяткин Д.М.¹, Штыкалова С.В.²

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: dimi02121@gmail.com*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: sofia.shtykalova@gmail.com*

Доставка нуклеиновых кислот в мышечные клетки является актуальной проблемой развития генной терапии нервно-мышечных заболеваний, а также необходима при использовании мышечной ткани для наработки фермента в случае терапии некоторых метаболических болезней и мРНК-вакцинации. Трансфекция мышечной ткани считается одной из самых трудноосуществимых по нескольким причинам, в том числе малого количества рецепторов на поверхности клеток, необходимых для направленной доставки, и отсутствия митотических делений в миофибриллах, что усложняет попадание комплексов в ядро [2].

Ранее нами были разработаны невирусные носители на основе аргинин-гистидин-богатых пептидов, была показана их способность доставлять ДНК в клетки [1]. Для повышения устойчивости комплексов в биологической среде организма было разработано анионное пептидное покрытие. Так как в дальнейшем предполагается внутримышечное введение ДНК-комплексов, то актуальным является уменьшение объема упаковки ДНК, что позволит доставлять большее количество терапевтических конструкций в мышцы в меньшем объеме.

Целью работы является изучение комплексов плазмидной ДНК и катионных пептидов, покрытых анионными пептидами, приготовленных в малом объеме упаковки.

Были синтезированы аргинин-гистидин-богатые пептидные носители, а также анионные пептиды, содержащие глутаминовую кислоту, и сформированы комплексы с плазмидой, несущей ген β -галактозидазы. Изучена эффективность связывания носителей с ДНК. Была проведена трансфекция клеток линии С2С12 с последующей оценкой токсических свойств комплексов и анализом трансфекционной активности.

С помощью теста на вытеснение бромистого этидия было показано, что снижение объема упаковки не оказывает негативного влияния на связывание носителей с ДНК. Токсичность, оцениваемая с помощью красителя Alamar Blue, не превышала порог в 20% для всех типов комплексов. Эффективность трансфекции комплексами, приготовленными в малом объеме, оцененная с помощью MUG-теста на активность β -галактозидазы, была сопоставима с таковой у комплексов, приготовленных в большем объеме.

Таким образом, уменьшение объема упаковки комплексов не снизило их трансфекционную активность и эффективность связывания ДНК пептидными носителями, а также не привело к увеличению токсических эффектов, связанных с введением исследуемых комплексов, для клеток С2С12.

Источники и литература

- 1) Egorova A. et al. Characterization of iRGD-ligand modified arginine-histidine-rich peptides for nucleic acid therapeutics delivery to $\alpha v \beta 3$ integrin-expressing cancer cells // *Pharmaceuticals*. – 2020. – Т. 13. – №. 10. – С. 300.
- 2) Zabner J. et al. Cellular and molecular barriers to gene transfer by a cationic lipid // *Journal of Biological Chemistry*. – 1995. – Т. 270. – №. 32. – С. 18997-19007.