

**Новая генетически кодируемая наноконтейнерная система для
внутриклеточной доставки белка**

Научный руководитель – Габашвили Анна Николаевна

Леонова Мария Кирилловна

Студент (бакалавр)

Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Институт
новых материалов и нанотехнологий, Москва, Россия

E-mail: leonovamasha19@gmail.com

Терапия с использованием пептидов различных типов (инсулин, факторы роста, моноклональные антитела) показала свою эффективность в лечении ряда заболеваний (рак, эндокринологические заболевания и др.) за счет высокой специфичности и биологической активности, а также меньшей токсичности подобных препаратов. Однако, общими недостатками таких препаратов являются их быстрая деградация, а также короткое время циркуляции и нестабильность *in vivo*. Для решения этих проблем применяют различные системы, такие как: неорганические наночастицы, липосомы, везикулы и др. [1].

Мы представляем новую генетически кодируемую наноконтейнерную систему на основе инкапсулина бактерии *Mycococcus xanthus* (*Mx*) с фотоактивируемым белком mCherry (PAmCherry), используемым в качестве модельного грузового белка. Оболочка инкапсулина *Mx* представляет собой капсидоподобный икосаэдр диаметром 31 нм и образуется путем самосборки из идентичных белков-протомеров. Оболочки инкапсулинов - это очень стабильные структуры, чрезвычайно устойчивые к изменениям pH и температуры, что крайне важно для сохранения грузового белка.

Гены, кодирующие белки оболочки (EncA-FLAG) и модельный груз (PAmCherry), были внесены в клетки линии 293T методом лентивирусной трансдукции, что позволило получить стабильную клеточную линию-продуцент инкапсулинов (293T EncA PAmCherry). Далее методом иммунопреципитации было произведено выделение инкапсулинов, содержащих PAmCherry, из клеток, их характеристика методами просвечивающей электронной микроскопии и динамического светорассеивания, а также исследован процесс их интернализации в макрофаги линии RAW. Было показано, что уже через 15 минут наноконтейнер захватывался макрофагами, после чего флуоресцентный сигнал PAmCherry оставался четко различимым в течение, как минимум, 2 часов инкубации, при этом сигнал локализовался в лизосомах клеток.

Такой способ получения инкапсулинов исключает контаминацию бактериальными эндотоксинами, и не требует использования в лаборатории бактериальных штаммов. Полученный наноконтейнер не токсичен в отношении клеток, а белковая оболочка надежно защищает грузовой белок, предотвращая его деградацию. Генетически кодируемые наноконтейнеры, полученные в данном исследовании, могут быть в дальнейшем векторизованы с помощью лигандов или моноклональных антител, а модельный грузовой белок можно заменить терапевтическим пептидом, таким образом, подобная платформа может быть использована для разработки системы адресной доставки.

Работа поддержана грантом РФФ 21-75-00096.

Источники и литература

- 1) Dean, S.N.; Turner, K.B.; Medintz, I.L.; Walper, S.A. Targeting and Delivery of Therapeutic Enzymes. *Ther. Deliv.* 2017, 8, 577–595.