**Цитотоксическая активность L-аспарагиназы *Rhodospirillum rubrum* и её конъюгатов c поликатионами в отношении клеток солидных опухолей**

***1,2Добрякова Н.В., 2Жданов Д.Д., 2Соколов Н.Н., 1Кудряшова Е.В.***

*аспирант, 3 г/о*

*1МГУ им. М.В. Ломоносова,* *химический факультет, Москва, Россия*

*2ИБМХ им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия
E–mail: natdobryak@gmail.com*

L-аспарагиназы (EC 3.5.1.1) – это ферменты класса амидогидролаз, которые широко используются для лечения разных типов лейкозов. L-аспарагиназа из мезофильной бактерии *Rhodospirillum rubrum* (RrA) обладает меньшей молекулярной массой, чем у коммерческих L-аспарагиназ *Escherichia coli* и *Erwinia сhrysanthemi*, сниженными глутаминазной активностью и иммуногенностью, что делает ее перспективным ферментом для разработки нового противоопухолевого препарата. Для улучшения физико-фармацевтических свойств фермента ранее были получены ковалентные конъюгаты RrA с сополимерами хитозана [1]. Конъюгаты обладали более высокой активностью и стабильностью к действию трипсина, а также повышенной противоопухолевой активностью на клетках хронического миелоидного лейкоза К562.

Целью данной работы было исследовать влияние поликатионов на олигомерный состав RrA, а также способность нативного фермента и его конъюгатов связываться с опухолевыми клетками. В работе использовали конъюгаты, модифицированные следующими поликатионами: ПЭГилированный хитозан 7 кДа (хит-ПЭГ), хитозан-гликоль (хит-глик, 72 кДа), разветвленный ПЭГилированный полиэтиленимин (ПЭИ-ПЭГ, 30 кДа) и спермин (Спм). Методом ВЭЖХ гель-хроматографии было обнаружено, что конъюгаты сдвигают равновесие RrA в сторону тетрамерной формы. Наилучший эффект достигался для конъюгата, сшитого спермином: на хроматограмме присутствовал только пик, соответствующий тетрамерной форме (около 72 кДа). Для нативного фермента преобладал пик характерный для димерной формы. Некоторые из полученных конъюгатов также проявляли цитотоксическую активность против солидных клеток A549 (рак легкого) и SkBr3 (рак молочной железы). Наибольшую активность проявлял конъюгат RrA-ПЭИ-ПЭГ и RrA-хит-глик. Они снижали выживаемость клеток A549 до 52 и 43 %, соответственно (нативная RrA – до 59 %); SkBr3 – до 40 и 44 %, соответственно. Для нативного фермента выживаемость была не ниже 52 %. Данные проточной цитометрии показали, что конъюгаты лучше связываются с клетками А549, по сравнению с нативным ферментом. Спустя 3 часа инкубации меченого FITC конъюгата RrA-ПЭИ-ПЭГ с клетками показало более 95 % FITC-положительных клеток. Вероятно, положительный заряд сополимера ПЭИ-ПЭГ обеспечивает лучшее связывание с отрицательно заряженной мембраной опухолевых клеток.

*Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 годы) (№ 122022800499-5).*

*Работа выполнена с использованием оборудования (ИК-Фурье-спектрометр Bruker Tensor 27 и Jasco J-815 CD Spectrometer) по программе развития МГУ.*

**Литература**

1. Dobryakova N. V., Zhdanov D.D., Sokolov N.N., Aleksandrova S.S., Pokrovskaya M. V., Kudryashova E. V. Improvement of Biocatalytic Properties and Cytotoxic Activity of L‑Asparaginase from *Rhodospirillum rubrum* by Conjugation with Chitosan-Based Cationic Polyelectrolytes // Pharmaceuticals. 2022. Vol. 15, № 4. P. 406.