**Регулирование проницаемости ферментов в раковые клетки как ключевой подход к усилению терапевтической эффективности аспарагиназ при лечении лейкозов**

***Злотников И.Д., Кудряшова Е.В.***

*Студент, 4 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E–mail:* *izlotnikov2003@yandex.ru*

Терапевтическое применение противоопухолевых аспарагиназных препаратов, катализирующих гидролиз незаменимой аминокислоты L-аспарагина, основано отсутствии или низкой активности L-аспарагинсинтаз в опухолевых клетках в отличие от здоровых. L-аспарагиназы из *Escherichia coli* (EcA) и *Erwinia. chrysanthemi* (ErA) используются в первой линии стандартной терапии острого лимфобластного лейкоза. Однако длительное применение белковых препаратов вызывает развитие сильного иммунного ответа, из-за этого терапию часто приходится прекращать преждевременно. Повышение переносимости L-аспарагиназ за счет повышения их модификации биосовместимыми полимерами, а также снижения иммуногенности способствует более полной реализации их терапевтического потенциала. Мы изучали препараты аспарагиназ из различных источников, включая *Thermococcus sibiricus* (TsA), *Melioribacter roseus* (MrA), *Erwinia carotovora* (EwA), *Wolinella succinogenes* (WsA) и *Rhodospirillum rubrum* (RrA). Оказалось, что каталитическая активность аспарагиназ, измеренная *in situ*, плохо коррелирует с их цитостатической активностью в отношении опухолевых клеток K562 и Raji. Это указывает на многофакторный механизм цитостатического действия ферментов. Мы показали, что в дополнение к способности гидролизовать L-аспарагин, некоторые аспарагиназы (например, RrA) способны усваиваться лейкозными клетками, что значительно усиливает противоопухолевую активность фермента

Мы показали, что повышенная противоопухолевая активность L-аспарагиназы коррелирует со степенью интернализации фермента в раковые клетки, регулируемой конъюгацией аспарагиназы с поли- и олиго-катионами. Синтезировали четыре серии аспарагиназных конъюгатов с полиэтиленимин-полиэтиленгликолем, спермином, гликоль-хитозан-спермином, хитозан- полиэтиленимином, используя карбодиимидный подход. Характеристику полученных конъюгатов проводили с помощью ИК-спектроскопии. Используя ковалентную эозиновую метку на ферменте с помощью флуоресцентной спектроскопии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (CLSM), мы показали, что полученные аспарагиназные конъюгаты RrA и WsA могут проникать в лейкозные клетки K562 и Raji на 45% (для остальных ферментов до 25-30%) эффективнее по сравнению с нативными ферментами. Используя флуоресцентный субстрат, было показано, что активность аспарагиназ внутри раковых клеток возрастает до 5 раз, когда вместо нативных ферментов используются их конъюгаты. В будущем полученные результаты могут быть использованы для создания новых фармацевтических препаратов аспарагиназ с повышенной активностью и переносимостью.

*Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 24-25-00104. Работа выполнена с использованием оборудования (ИК микроскоп МИКРАН-3 (Simex, Новосибирск, Россия), ИК спектрометр Bruker Tensor 27 (Bruker, Германия), Jasco J-815 спектрометр кругового дихроизма (JASCO, Япония), Атомно-силовой микроскоп NTEGRA II (NT-MDT Spectrum Instruments, Россия) программы развития Московского государственного университета.*