

Доставка терапевтических нуклеиновых кислот в клетки в составе нековалентных комплексов с белком лактаптином

Научный руководитель – Коваль Ольга Александровна

Голубицкая Екатерина Андреевна

Студент (специалист)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: sennuie@gmail.com

Лактаптин, фрагмент κ -казеина молока человека, и его рекомбинантный аналог RL2 обладают цитотоксической активностью по отношению к раковым клеткам млекопитающих *in vitro*. Основываясь на данных о первичной структуре и механизме проникновения RL2 в клетки, этот пептид был отнесён к пептидам класса CPP (Cell-penetrating peptides), известным своей способностью проникать через плазматическую мембрану живых клеток и доставлять связанные с ними молекулы. Пептиды CPP успешно используют для доставки терапевтически значимых молекул или препаратов, например, наночастиц, липосом, мицелл, белков, антибиотиков и нуклеиновых кислот, в виде как нековалентных, так и ковалентных комплексов.

Целью данной работы было изучение способности RL2 доставлять нуклеиновые кислоты в составе нековалентных комплексов в клетки человека. В качестве модельной нуклеиновой кислоты использовали ДНК плазмиды pEGFP, несущую ген зелёного флуоресцентного белка EGFP. При исследовании связывания белка RL2 с ДНК плазмиды мы обнаружили, что с ростом молярного соотношения белкового и нуклеинового компонентов размер комплексов изменяется незначительно и составляет около 110 нм. При этом размеры комплексов белок:ДНК оказались меньше, чем размеры ДНК и олигомерной формы RL2 по-отдельности. Это свидетельствует о том, что при формировании комплексов RL2 и ДНК компактизуются. Поверхностный заряд комплексов в диапазоне мольных соотношений от 2000:1 до 3600:1 положителен и по мере увеличения содержания в них RL2 стремится к поверхностному заряду олигомерной формы RL2. Таким образом, на поверхности комплексов локализуются преимущественно молекулы пептида, при этом ДНК остается частично доступной для нуклеаз. Изучение комплексов в присутствии конкурентного полианиона гепарина показало, что стабильность комплекса возрастает с увеличением содержания RL2 в них.

Эффективность доставки нуклеиновых кислот в комплексе с RL2 в клетки анализировали на модели аденокарциномы легкого A549 методом флуоресцентной микроскопии. Мы обнаружили, что при трансформации клеток таким комплексом молекулы ДНК плазмиды pEGFP проникают в клетки, и количество трансформированных клеток возрастает при обработке комплексами с мольными соотношениями от 2000:1 до 3600:1.

В совокупности полученные данные позволяют заключить, что RL2 способен эффективно доставлять в клетки ДНК плазмиду, причём эффективность трансформации клеток пропорциональна поверхностному заряду комплексов.

Работа поддержана грантом ПФНИ ГАН на 2013-2020 гг. (VI.62.1.5,0309-2016-0003)