

годных для их последующей конденсации с другими биомолекулами или МНЧ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А.М. Дёмин¹, А.Г. Першина², В.В. Иванов²,
О.Б. Шевелев³, К.В. Невская², Д.О. Ащеулова²,
В.П. Краснов¹, А.Э. Сазонов², Л.М. Огородова²

СИНТЕЗ НАНОГИБРИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ Fe_3O_4 , ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ pH-ЗАВИСИМЫМ ПЕПТИДОМ (rHLIP), ДЛЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗОН ЛОКАЛЬНОГО АЦИДОЗА

¹ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

²ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск;

³ФГБНУ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

Введение. Пептиды rHLIPs (pH Low Insertion Peptides) — класс гидрофобных пептидов, способных встраиваться в мембраны клеток при низких значениях pH. Известно, что опухолевые ткани имеют пониженную pH межклеточного пространства. Поэтому rHLIP может служить молекулярным вектором для транспортировки лекарственных веществ или, например, магнитных наночастиц (МНЧ) в опухоль. Таким образом, можно получить высокоэффективные диагностические препараты для использования в онкологии.

Цель исследования — разработка нанобиогибридной конструкции на основе МНЧ, модифицированных силановыми производными и функционализированных за счет формирования ковалентной связи с pH-чувствительным пептидом, предназначенной для выявления зон локального ацидоза *in vivo* методом магнитно-резонансной (МР) томографии.

Материалы и методы. Для получения нанобиогибридной конструкции использовали МНЧ Fe_3O_4 диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей Fe^{3+} и Fe^{2+} . Наночастицы охарактеризованы методами инфракрасной спектроскопии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, динамического рассеяния света. Проведены исследования МР-контрастных свойств *in vitro* и *in vivo* (Bruker, Biospec 117/16 USR, Германия).

Результаты. МНЧ модифицировали 3-аминопропилсиланом, далее проводили конденсацию малеимидного кросс-линкера EMCS, имеющего активированную гидроксисукцинимидом карбоксильную группу, с аминок группами на поверхности МНЧ. Иммунизация rHLIP на МНЧ проведена за счет нуклеофильного присоединения SH-группы L-Cys данного пептида к двойной связи остатка малеимида. В результате получена наногибридная конструкция МНЧ — rHLIP, в которой пептид закреплен на поверхности ковалентно. МР-контрастные свойства МНЧ подтверждены исследованиями *in vitro* и *in vivo*, эффективное контрастирование патологической ткани достигается при введении наноконъюгата в дозе 0,6 мг/кг, сопоставимой с дозами введения ряда коммерческих препаратов, например Feridex. По данным ЛДГ- и МТТ-тестов полученный наноконъюгат в концентрации до 40 мкг/мл не оказывал выраженного токсического действия *in vitro* на клетки линии НТС.

Заключение. Проведена иммобилизация rHLIP на МНЧ на основе Fe_3O_4 . rHLIP был закреплен на поверхности 3-аминопропилсилан-модифицированных МНЧ при использовании гетерофункционального линкера EMCS. Полученные МНЧ-rHLIP малотоксичны, а по своим МР-контрастным свойствам сопоставимы с рядом коммерческих препаратов и могут быть использованы для создания в дальнейшем препаратов для МР-диагностики.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00247).

А.М. Дёмин¹, А.Г. Першина², А.Э. Сазонов²,
Л.М. Огородова², В.П. Краснов¹

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПЕПТИДАМИ И БЕЛКАМИ

¹ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

²ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Введение. Наноматериалы на основе магнитных наночастиц (МНЧ), в первую очередь Fe_3O_4 , часто используются как диагностические (в том числе для магнитно-резонансной томографии или магнитной релаксометрии) и терапевтические (гипертермия) агенты, в качестве систем фармацевтической доставки лекарственных средств, применяемых в онкологии и других областях.

Цель исследования — разработка подходов к модификации МНЧ пептидами и белками визуализирующих диагностических агентов и препаратов для терапии онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе использованы МНЧ на основе Fe_3O_4 диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей Fe^{3+} и Fe^{2+} . МНЧ предварительно функционализировали 3-аминосиланом (МНЧ-NH₂) (ковалентно) или N-(фосфонометил)аминодиуксусной кислотой (МНЧ-COOH) (нековалентно). В работе использованы методы инфракрасного, ультрафиолетового излучения, флуориметрии и масс-спектропии высокого разрешения и др.

Результаты. Иммунизацию на функционализированные МНЧ можно проводить путем конденсации аминокислотных или карбоксильных групп на их поверхности со свободными карбоксильными или аминок группами белка (или пептида) соответственно при использовании карбодиимидов. На примере конъюгации МНЧ с rHLIP флуоресцентным белком TagGFP2 и антителами к CD117 изучены процесс иммобилизации пептидов и белков на поверхность МНЧ при использовании 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и возможность протекания побочных процессов, связанных с поликонденсацией молекул пептидов и белков в присутствии карбодиимида. Реакции проводили в фосфатном буферном растворе (pH 7,5) при использовании эквивалентных количеств EDC в расчете на количество функциональных групп на поверхности МНЧ. В случае МНЧ-COOH на 1-м этапе проводили активацию карбоксильных групп EDC, после чего добавляли соответствующий аминок компонент. В случае МНЧ-NH₂ EDC добавляли в реакционную массу в присутствии карбоксильной компоненты.

Заключение. Разработаны химические подходы к получению МНЧ-конъюгатов с пептидами и белками. Пока-