

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-145

**РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ДОСТАВКИ СИНТЕТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ*****DEVELOPMENT OF SYNTHETIC NUCLEIC ACID DELIVERY SYSTEMS
BASED ON CALCIUM CARBONATE NANOPARTICLES**Б. Р. Хасанов^{1,2}, В. К. Попова², Е. В. Дмитриенко²¹Новосибирский государственный университет²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, НовосибирскB. R. Khasanov^{1,2}, V. K. Popova², E. V. Dmitrienko²¹Novosibirsk State University²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ b.khasanov@g.nsu.ru

Аннотация

Исследование посвящено разработке систем доставки на основе композитных наночастиц карбоната кальция (СаНЧ) для транспорта синтетических нуклеиновых кислот (НК). В работе подобраны условия добавления олигонуклеотидов (ОН) в состав комплекса с СаНЧ. Для увеличения эффективности взаимодействия НК с СаНЧ был предложен способ модификации наночастиц полиэтиленiminaми (ПЭИ).

Abstract

The research is devoted to the development of delivery systems based on composite calcium carbonate nanoparticles (CaNPs) for the transport of synthetic nucleic acids. The conditions for the addition of oligonucleotides to the complex with CaNPs were selected in the work. To increase the efficiency of the interaction of NA with CaNPs, a method for modifying nanoparticles with polyethylenimines was proposed.

Эффективные системы доставки биологически активных соединений (БАС) способны увеличить терапевтическую эффективность лекарственных средств и снизить побочные действия на организм — за счет избирательности распределения, уменьшения токсичности препарата, а также преодоления проблем, связанных со стабильностью индивидуальных соединений в физиологических условиях [1]. Дегградация немодифицированных олигонуклеотидов под действием барьерных функций организма, в том числе нуклеаз, создает ограничения для развития и применения генной терапии. Однако использование наночастиц в качестве носителей НК может служить одним из решений данной проблемы. Таким образом, разработка систем доставки синтетических нуклеиновых кислот является перспективным направлением для лечения различных заболеваний, включая онкологические и генетические.

Целью работы является разработка стабильных при физиологических условиях комплексов наночастиц карбоната кальция с синтетическими нуклеиновыми кислотами.

На первом этапе были синтезированы монодисперсные наночастицы карбоната кальция (СаНЧ). Полученные СаНЧ были охарактеризованы методом динамического светорассеяния (ДСР), их размер составил 200 ± 5 нм, а поверхностный заряд $-20,2 \pm 0,7$ мВ. Далее исследовали оптимальные условия взаимодействия модельных ОН с СаНЧ, варьируя условия инкубации, буферные растворы, а также состав реакционной смеси при синтезе. Наибольшая эффективность связывания составила $2,1 \pm 0,6$ нмоль ОН на мг СаНЧ при pH 7,0.

На следующем этапе была разработана методика модификации СаНЧ с целью увеличения емкостных показателей по отношению к НК. Для этого использовались линейные и разветвленные модификации ПЭИ различной молекулярной массы. Показано, что оптимальной стратегией модификации наночастиц является инкубация с 0,5 об.% ПЭИ 70 кДа. Полученные наноконпозиты карбоната кальция и ПЭИ (СаНЧ-ПЭИ) характеризовались размером 207 ± 30 нм и ζ -потенциалом $+28,4 \pm 0,5$ мВ по данным ДСР. Эффективность взаимодействия СаНЧ-ПЭИ с ОН составила $13,6 \pm 0,5$ нмоль/мг.

Далее исследовали профиль высвобождения ОН из состава наноконпозита. Продемонстрировано, что при физиологическом значении pH комплекс СаНЧ-ПЭИ с ОН (СаНЧ-ПЭИ-ОН) высвобождает более 40 % транс-

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-24-20105).

© Б. Р. Хасанов, В. К. Попова, Е. В. Дмитриенко, 2025

портируемой НК. Для стабилизации полученного CaHЧ-ПЭИ-ОН была разработана методика повторного покрытия нанокompозита слоем карбоната кальция. Впервые полученный нанокompозит CaHЧ-ПЭИ-ОН-CaCO₃ характеризовался не то только стабильностью при pH 7,4, но и увеличенной pH-зависимой эффективностью извлечения НК при pH 5,5 и ниже.

По данным МТТ-теста на трех линиях клеток доказано отсутствие токсичности всех исследованных образцов в рабочем диапазоне концентраций вплоть до концентрации 60 мкг/мл.

По данным конфокальной микроскопии исследования наноматериалов с ковалентно присоединенным цитаниновым красителем, исходя из совпадения оптического сигнала от частиц и эндосом, было показано, что материалы преодолевают мембрану клетки и преимущественно локализованы в эндосомах.

Таким образом, в ходе данной работы предложены варианты эффективного присоединения модельных олигонуклеотидов к наночастицам. Разработана методика модификации CaHЧ с помощью полиэтиленimina. Полученные нанокompозиты исследованы методом ДСР, а также показана эффективность их взаимодействия с НК. Для наноматериала, содержащего в своем составе НК, был продемонстрирован профиль высвобождения и разработана методика модификации путем повторного покрытия нанокompозита слоем карбоната кальция для стабилизации полученного CaHЧ-ПЭИ-ОН. Разработанные нанокompозиты были исследованы методами МТТ и конфокальной микроскопии. Полученные в работе данные доказывают перспективность разработанных нанокompозитов для дальнейших исследований *in vivo*.

Литература

1. Henderson M. L. et al. Gene therapy for genetic syndromes: understanding the current state to guide future care // BioTech. 2024. Vol. 13, No. 1. P. 1.