

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-221

**ПОДАВЛЕНИЕ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСА ГРИППА А/Н5Н1 *IN VITRO*  
НЕМОДИФИЦИРОВАННЫМИ SIRNA В СОСТАВЕ НАНОКОМПЛЕКСОВ  
НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ АМИНОПРОПИЛСИЛАНОЛА \***

**SUPPRESSION OF INFLUENZA A/H5N1 VIRUS REPLICATION *IN VITRO* BY UNMODIFIED SIRNAS  
IN NANOCOMPLEXES BASED ON AMINOPROPYLSILANOL NANOPARTICLES**

М. Е. Ребус<sup>1</sup>, Е. И. Филиппова<sup>1</sup>, М. А. Проценко<sup>1</sup>, Е. В. Макаревич<sup>1</sup>,  
Б. П. Челобанов<sup>2</sup>, М. Н. Репкова<sup>3</sup>, А. С. Левина<sup>3</sup>, В. Ф. Зарытова<sup>3</sup>, Л. Н. Шишкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

М. Е. Rebus<sup>1</sup>, Е. И. Filippova<sup>1</sup>, М. А. Protsenko<sup>1</sup>, Е. В. Makarevich<sup>1</sup>,  
B. P. Chelobanov<sup>2</sup>, M. N. Repkova<sup>3</sup>, A. S. Levina<sup>3</sup>, V. F. Zarytova<sup>3</sup>, L. N. Shishkina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

<sup>2</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

<sup>3</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ rebus\_me@vector.nsc.ru

**Аннотация**

В работе показано, что наночастицы аминопропилсиланола ( $\text{SiNH}_2$ ) в составе нанокомплексов  $\text{SiNH}_2\text{-siRNA}$  доставляют siRNA в клетки, защищают их от гидролиза клеточными ферментами и обеспечивают молекулам siRNA возможность с высокой эффективностью подавлять репликацию вируса гриппа А/Н5Н1.

**Abstract**

The work shows that aminopropylsilanol ( $\text{SiNH}_2$ ) nanoparticles in the  $\text{SiNH}_2\text{-siRNA}$  nanocomplexes deliver siRNA to cells, protect them from hydrolysis by cellular enzymes, and provide siRNA molecules with the ability to suppress influenza A/H5N1 virus replication with high efficiency.

Малые интерферирующие РНК (siRNA) являются перспективными терапевтическими средствами на основе РНК. Однако их потенциал полностью не реализован. Ограничивающими факторами являются низкая эффективность доставки siRNA в клетки-мишени и деградация siRNA клеточными нуклеазами. Одним из наиболее эффективных подходов к решению проблемы доставки siPHK в клетки является использование невирусных векторов на основе наночастиц (НЧ) [1].

Целью работы является исследование возможности НЧ аминопропилсиланола ( $\text{SiNH}_2$ ) в составе нанокомплексов с siRNA ( $\text{SiNH}_2\text{-siRNA}$ ) способствовать проникновению siRNA в клетки, защищать их от гидролиза клеточными ферментами и в итоге подавлению репликации вируса гриппа штамма A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1).

В качестве мишени для воздействия с помощью siRNA выбран сегмент 5-го вируса гриппа А, кодирующий нуклеопротеин [2]. Использованы две siRNA (см. таблицу), направленные на кодирующую область сегмента 5, которая является консервативной и уязвимой к действию siPHK [3]. В качестве контроля использована siRNA-SCR, неспецифическая к вирусу гриппа А.

**Нуклеотидные последовательности siRNA**

Цепь	Последовательность 5' → 3'	siRNA
RNA1	CUCCGAAGAAUAAGAUCC	siRNA1/2
RNA2	GGAUCUUAUUCUUCGGAG	
RNA3	CUCCGAAGAAUAAGAUCC(dTdT)	siRNA3/4
RNA4	GGAUCUUAUUCUUCGGAG(dTdT)	

\* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-75-10105)

© М. Е. Ребус, Е. И. Филиппова, М. А. Проценко, Е. В. Макаревич, Б. П. Челобанов, М. Н. Репкова, А. С. Левина, В. Ф. Зарытова, Л. Н. Шишкина, 2025

Нанокомплексы  $\text{SiNH}_2$ -siRNA (далее Si-siRNA) получали иммобилизацией siRNA на  $\text{SiNH}_2$  [4]. Показано, что нанокомплекс Si-siRNA проникает в клетки MDCK, причем обе цепи проникают в составе сформированного дуплекса (рис. 1).

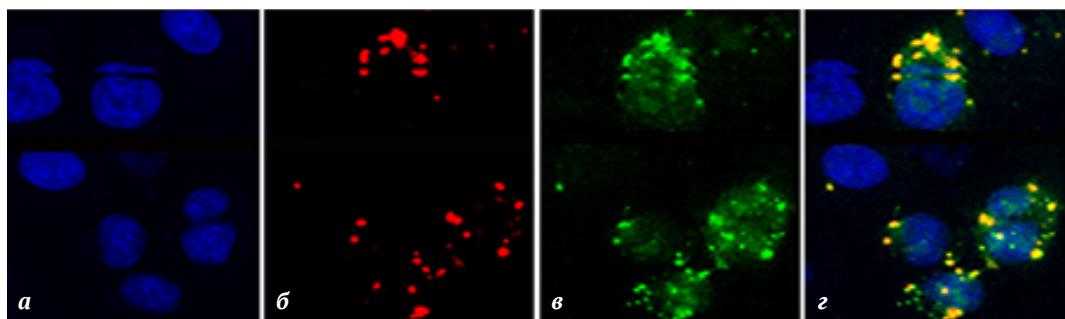


Рис. 1. Конфокальная лазерная микроскопия MDCK клеток после их инкубации с Si-siRNA; одна из цепей мечена флуоресцеином, другая — родадином. Клеточные ядра окрашены DAPI blue (а, синий цвет); родадин-меченная цепь (б, красный цвет); флуоресцеин-меченная цепь (в, зеленый цвет); суперпозиция каналов (г)

Противовирусную активность Si-siRNA в зараженных клетках MDCK изучали при концентрации 0,5 мМ по  $\text{SiNH}_2$ , что намного ниже их 50%-х токсических концентраций ( $\text{TC}_{50} = 38 \text{ мМ}$  по  $\text{SiNH}_2$ ) [5]. Эксперименты проводили так же, как описано в [4]. Результаты приведены на рис. 2.

$\text{SiNH}_2$  и контрольный Si-siRNA-SCR практически не подавляют репликацию вируса гриппа А, что свидетельствует о высокой специфичности воздействия созданных нанокомплексов. Одноцепочечные фрагменты обеих молекул siRNA были менее эффективными по сравнению с двухцепочечными молекулами. Нанокомплексы Si-siRNA3/4 и Si-siRNA1/2 оказались эффективными ингибиторами репликации вируса. Индексы подавления продукции вируса под действием этих образцов составили 2,2 и 1,8 lg соответственно. Эффективность Si-siRNA3/4 оказалась сравнима с контрольным препаратом озельтамивиром.

Таким образом, показана высокая противовирусная активность нанокомплексов на основе немодифицированных siRNA и НЧ аминопропилсиланола против вируса гриппа А/H5N1 в клеточной системе. Полученные результаты указывают на перспективность использования НЧ для доставки siRNAs в клетки, способных эффективно предотвращать гидролиз siRNA в составе нанокомплекса.

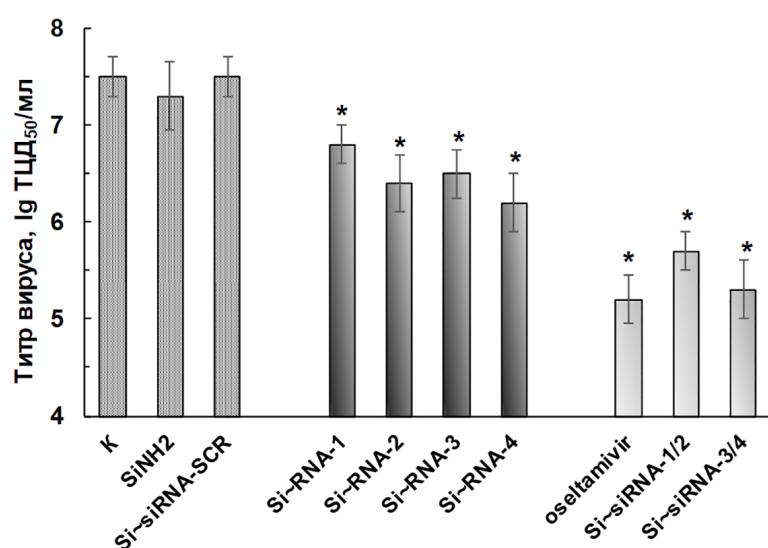


Рис. 2. Противовирусная активность образцов в отношении A/H5N1. Концентрации: siRNA — 0,5 мМ;  $\text{SiNH}_2$  — 0,5 мМ; озельтамивир — 100 мкг/мл. К — титр вируса в клетках без образца. Результаты представлены в виде средних значений и стандартных отклонений.  
\* — отличие от контроля (без образца) по методу Спирмена — Кербера,  $p \leq 0,05$

**Литература**

1. Clipp A., Burger M., Leroux J. C. Get out or die trying: Peptide- and protein-based endosomal escape of RNA therapeutics // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2023. Vol. 200. P. 115047.
2. Repkova M., Mazurkov O., Filippova E. et al. Effect of modification of siRNA molecules delivered with aminopropylsilanol nanoparticles on suppression of A/H5N1 virus in cell culture // *BBA — Gen. Sub.* 2024. Vol. 1868. P. 130727.
3. Ge Q., McManus M. T., Nguyen T. et al. RNA interference of influenza virus production by directly targeting mRNA for degradation and indirectly inhibiting all viral RNA transcription // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100 (5). P. 2718–2723.
4. Levina A. S., Repkova M. N., Shikina N. V. et al. Non-agglomerated silicon-organic nanoparticles and their nanocomplexes with oligonucleotides: synthesis and properties // *Beilstein J. Nanotechnol.* 2018. Vol. 9. P. 2516–2525.
5. Репкова М. Н., Левина А. С., Мазурков О. Ю. и др. Подавление репликации вируса гриппа А/H5N1 *in vitro* с помощью нанокомплексов, состоящих из siRNA и наночастиц аминопропилсиланола // *Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол.* 2024. Т. 101 (6). С. 794–802.