

## СОЗДАНИЕ НОВОГО ВЕКТОРА ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКА Hsp70

В настоящее время наиболее серьезным препятствием на пути развития средств доставки олигопептидов и олигонуклеотидов в клетки является низкая проницаемость биологических мембран для данных объектов. Система доставки биологически активных макромолекул в клетки, основанная на пептидах, имеет целый ряд преимуществ перед другими общепринятыми средствами доставки: пептиды характеризуются высокой эффективностью доставки, низкой цитотоксичностью, к тому же существует возможность вносить различные модификации в пептидный остов. В последнее время так называемые проникающие пептиды проявили огромный потенциал в области разработки средств доставки лекарств. Последние публикации показывают, что проникающие пептиды способны доставлять широкий класс биоактивных молекул, таких как белки, пептиды, олигонуклеотиды, наночастицы в клетки различных типов и в различные клеточные компартменты как *in vitro*, так и *in vivo* [1]. Проникающие пептиды сильно различаются по размерам, аминокислотной последовательности, заряду, но одно свойство у них общее — они обладают способностью быстро пересекать плазматическую мембрану и достигать цитоплазмы клеток и ядра.

В нашей лаборатории впервые были получены данные о том, что шаперон Hsp70 обладает способностью проникать в клетки различных типов [2], и этот факт побудил нас выявить в аминокислотной последовательности белка участки, потенциально ответственные за внутриклеточный транспорт всей молекулы белка. В процессе анализа трехмерной структуры молекулы Hsp70 были выявлены два домена в С-концевой части молекулы и синтезированы соответствующие пептиды, получившие название KRN- и KST-пептид. В опытах на клеточных культурах было установлено, что KST-пептид и в меньшей степени KRN-пептид способны проникать через плазматическую мембрану в течение 15–30 мин инкубации и накапливаться в клетках, причем внутриклеточный транспорт проходит с помощью механизма, напоминающего эндоцитоз. Было установлено, что биотинилированный KST-пептид способен к эффективной доставке авидина в клетки глиомы человека Т-98. Наконец впервые удалось показать, что KST-пептид успешно переносит в клетки Т-98 более крупные комплексы, включающие авидин и связанные с ним очищенные и биотинилированные антитела к белку Hsp70; приблизительный размер комплекса составлял около 300 кДа. В опытах на клеточных линиях U937 данные пептиды незначительно тормозили клеточный рост и не были токсичными для клеток. Все приведенные данные позволяют считать, что удалось создать новый пептидный транспортер для переноса в живые клетки человека крупных молекулярных комплексов.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Handbook of Cell-Penetrating Peptides, Second Edition; изд.2 Langel U. CRC Press; 2006; 600 стр.
2. Guzhova I.V., Arnholdt A.C.V., Darieva Z.A., Kinev A.V., Lasunskaja E.B., Nilsson K., Bozhkov V.M., Voronin A.P., Margulis B.A. 1998. Cell Stress and Chap. 3: 67-77.