

НАНОКОМПЛЕКСЫ МИРНК С ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *BCR-ABL* В КЛЕТКАХ K562

Н. С. Макшанова, В. С. Бурдаков, А. А. Богданов

ГБУЗ «СПб КНнЦСВМП(о) им. Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург, Россия

Аномальная активность химерного гена *BCR-ABL* и экспрессия BCR-ABL тирозинкиназы являются патофизиологическими причинами хронического миелоидного лейкоза [1]. Известно, что малые интерферирующие РНК (миРНК) используют как эффективный способ подавления экспрессии различных генов, в том числе участвующих в патогенезе злокачественных новообразований. Однако, основной проблемой в использовании миРНК является отсутствие безопасных для организма и эффективных способов ее доставки в клетки-мишени [2]. Ранее было показано, что таргетные миРНК обеспечивают снижение уровня транскрипта *BCR-ABL*, подавляя экспрессию мРНК онкогена [3]. Мы предположили, что отрицательно заряженные молекулы миРНК при взаимодействии с положительно заряженными ионами кальция способны формировать наноконплексы при определенных соотношениях. Известно, что Ca^{2+} способствует интернализации клеток и быстрому выходу из эндосом, благодаря чему комплексы Ca^{2+} /миРНК могут представлять собой простую, эффективную платформу для доставки миРНК в цитоплазму клетки с последующим успешным подавлением гена-мишени [4]. Целью настоящей работы стала оценка эффективности подавления экспрессии гена *BCR-ABL* в клетках миелоидной лейкемии K562, положительной по гену *BCR-ABL*, с использованием наноконплексов миРНК с ионами кальция. Для определения оптимальных условий образования комплексов миРНК- CaCl_2 мы оценивали размер и диапазон концентраций частиц (комплексов) в смесях, содержащих от 10 до 50 нМ миРНК и от 0,5 до 25 мМ CaCl_2 . Оценку размеров и концентраций получавшихся комплексов производили методом анализа треков наночастиц NTA. Было установлено, что наибольшую объемную плотность при размерах 95 ± 2 нм и концентрации $(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^9$ частиц/мл, комплексы достигают при соотношении концентраций 50 нМ миРНК и 2 мМ CaCl_2 . В экспериментах по подавлению экспрессии гена *BCR-ABL* мы использовали данное соотношение. Определение уровня мРНК гена *BCR-ABL* проводилось методом ПЦР в реальном времени относительно референсных генов *RPLP0* и *GAPDH*. Уровень мРНК оценивался с использованием метода $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$. Нами впервые таким способом доставки было показано эффективное подавление экспрессии гена *BCR-ABL* на 52% ($0,48 \pm 0,02$) при 24-ч культивировании в присутствии наноконплекса миРНК по сравнению с контролем ($1,0 \pm 0,09$) ($p < 0,05$).

Библиографические ссылки

1. Goldman J. M., Melo J. V. Chronic myeloid leukemia-advances in biology and new approaches to treatment // N Engl J Med. 2003. Vol. 349, iss. 15. P. 1451.
2. Recent progress in development of siRNA delivery vehicles for cancer therapy / H. J. Kim [et al.] // Adv Drug Deliv Rev. 2016. Vol. 104. P. 61–77.
3. Progress in RNAi-mediated molecular therapy of acute and chronic myeloid leukemia / B. Landry [et al.] // Mol Ther Nucleic Acids. 2015. Vol. 4. P. 240.
4. Calcium siRNA nanocomplexes: what reversibility is all about / E. Ruvinov [et al.] // J Control Release. 2015. Vol. 203. P. 150–160.