

КОМПЛЕКСЫ ПРОТАМИН-МРНК

Шумкова В.А. (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»), Добровольская О.А.(ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»), Высочинская В.В.(ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»)

Научный руководитель – с.н.с, к.б.н., доцент, Шишлянников С.М.
(ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»)

Введение. Использование мРНК-вакцин безопаснее и рациональнее применения традиционных вакцин. В тоже время, в отличие от ДНК-вакцин, вирусная РНК должна быть доставлена в цитоплазму вместо ядра, что является более легкой задачей [1]. Простота метода *in vitro* транскрипции мРНК предоставляет возможность для быстрого, масштабируемого и недорогого производства вакцин. Доставка нуклеиновых кислот в клетку требует использования специальных систем на основе вирусных и невирусных векторов. Протамин как катионный пептид образует наноконплексы с РНК, и его применяют при создании мРНК вакцин наряду с другими катионными носителями (липиды, пептиды и другие полимеры). Протамин широко используется в медицине как препарат для нейтрализации гепарина и как адъювант в различных лекарственных формах [2]. Протамин несет положительный заряд в водном растворе за счет высокого содержания аргинина в составе молекулы, и поэтому образует стабильные наночастицы с отрицательно заряженными молекулами. Протамин не только защищает РНК от деградации в биологических системах, но и способствует её проникновению в клетки.

Основная часть. С использованием метода *in vitro* транскрипции была получена модельная мРНК белка GFP (green fluorescent protein). Для создания комплексов брали протамин различных концентраций (0.02-2.0 мг/мл) и смешивали с мРНК с получением соотношения 3:1 (протамин:мРНК) [3], приготовленные комплексы оставляли на 10-20 минут при комнатной температуре. Были проанализированы размеры полученных наноконплексов методом динамического светового рассеивания (dynamic light scattering) и были измерены дзета потенциалы наноконплексов электрофоретическим методом с использованием Zetasizer 3000 HS (Malvern Instruments, UK), методом гель-электрофореза было проанализировано связывания РНК с протамином.

Было показано, что комплексы стабильны и имеют минимальный размер (169.35 \pm 0.034 d.nm) при концентрации протамина 0.8 мг/мл (при PDI равном 0.26 и дзета потенциале +28.4). Также было получено, что мРНК полностью связывается с протамином при концентрации протамина 0.1 мг/мл.

Выводы. Таким образом, была определена концентрация, при которой наноконплексы протамин/мРНК (eGFP) были наиболее стабильны. Оптимизация метода по созданию стабильных наноконплексов протамин/мРНК представляет собой гибкую и универсальную систему, которую можно настроить в соответствии с терапевтическими целями.

Список использованных источников:

1. Pozharov, V.P.; Minko, T. Nanotechnology-Based RNA Vaccines: Fundamentals, Advantages and Challenges. Received: 26 November 2022 / Revised: 27 December 2022 / Accepted: 30 December 2022 / Published: 5 January 2023
2. Jarzebska, N.T.; Mellet, M.; Frei, J.; Kundig, T.M.; Pascolo, S. Protamine-based strategies for RNA-transfection. Received: 23 April 2021 / Revised: 28 May 2021 / Accepted: 3 June 2021 / Published: 14 June 2021

3. Jarzebska, N.T.; Lauchli, S.; Iselin, C.; French, L.E.; Johansen, P.; Guenova, E.; Kundig, T.M.; Pascolo, S. Functional differences between protamine preparations for the transfection of mRNA. *Drug Deliv.* **2020**, *27*, 1231–1235.