

*Терпинская Т.И.¹, Янченко Т.Л.¹, Полукошко Е.Ф.¹, Радченко А.В.²,
Артемов М.В.²*

**Влияние тиольных групп полимерной оболочки наночастиц на их
взаимодействие с клетками**

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

Клеточная мембрана характеризуется наличием тиольных групп, которые служат для защиты клетки от окислительных повреждений, а также регулируют активность мембранных белков. Вероятно, что сульфгидрильные группы в составе внеклеточных молекул или наночастиц могут взаимодействовать с тиольными группами клеточной

мембраны и изменять биологические функции клеток, в том числе процессы эндоцитоза.

Целью нашей работы было изучить влияние тиольных групп в оболочке наночастиц на их взаимодействие с клетками.

Материалы и методы. Использованы флуоресцентные наночастицы CdSe/ZnS, инкапсулированные амфифильным полимером, без тиольных групп и с тиольными группами в оболочке (модификация аминокислотой), с ζ -потенциалом +5 мВ.

Клетки глиомы С6, Hela или асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) суспензировали в фосфатном буфере и вносили ингибиторы клатрин-зависимого (хлорпромазин или сахарозу), кавеолин-зависимого (генистеин) эндоцитоза, макропиноцитоза (этилизопропил амилорид – ЭИПА), ингибитор динамина динасор, хелатор кальция ЭГТА, ингибитор формирования микротрубочек нокодазол или инкубировали клетки без ингибиторов. Через 30 мин добавляли наночастицы, затем оценивали интенсивность флуоресцентной маркировки клеток методом проточной цитометрии.

Результаты. Наночастицы без тиолов в оболочке связывались со всеми исследованными типами клеток, причем с клетками Hela – в три раза интенсивнее, чем с клетками глиомы С6 и АКЭ. Тиолы способствовали снижению связывания наночастиц с клетками Hela в 1,9 раза, аналогичная тенденция зарегистрирована для клеток глиомы С6; для клеток АКЭ изменений не выявлено.

Исследовали влияние тиолов в оболочке наночастиц на механизмы их эндоцитоза. Динасор в 2 – 2,8 раза, ЭГТА – в 12 – 25 раз снижали маркировку всех типов клеток наночастицами без тиолов. Для клеток АКЭ также выявлена тенденция к снижению маркировки в присутствии хлорпромазина и снижение в 3 и 2 раза в присутствии сахарозы и ЭИПА соответственно. Нокодазол усиливал маркировку клеток глиомы С6 и АКЭ (в 2,5 и 3 раза), генистеин – клеток Hela (в 1,3 раза). При наличии тиолов в оболочке наночастиц зависимость их связывания с клетками от динамина и ионов кальция сохранялась – маркировка клеток АКЭ и Hela снижалась в присутствии динасора (в 3,1 и 2,8 раза соответственно) и ЭГТА (в 13,6 и 15,4 раза). Для клеток глиомы С6 наблюдали ослабление этой зависимости и снижение маркировки в 1,7 раза в присутствии динасора и в 4,4 раза в присутствии ЭГТА. Маркировка клеток АКЭ, как и в экспериментах с наночастицами без тиолов, подавлялась сахарозой и ЭИПА (в 2,4 и 2,7 раза). Более интенсивному связыванию наночастиц с клетками глиомы С6 способствовали хлорпромазин и нокодазол (в 1,8 и 1,7 раза), с клетками АКЭ – хлорпромазин и генистеин (в 3,3 и 1,8 раза). Так как хлорпро-

Республиканская конференция с международным участием, посвященная 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ, Минск, 29 мая 2020 г.

мазин является ингибитором кальмодулина, вероятно, активация поглощения происходила вследствие усиления кальмодулин-независимых механизмов.

Заключение. Тиольные группы в оболочке наночастиц со слабopоложительным дзета-потенциалом не изменяют их связывание с клетками АКЭ и в различной степени снижают связывание с клетками HeLa и глиомы С6. Механизмы, обеспечивающие взаимодействие клеток с наночастицами, зависят от динамина и от ионов кальция. Тиольные группы в оболочке наночастиц снижали эту зависимость для клеток глиомы С6. Хлорпромазин способствовал усилению связывания наночастиц, несущих тиольные группы, с клетками глиомы С6 и АКЭ, вероятно, вследствие активации кальмодулин-независимых механизмов.