

УДК 577.29

**ОНКОТЕРАНОСТИКА: АГЕНТЫ ВЫСОКОИЗБИРАТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ****С.М. Деев***Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

Развитие молекулярной медицины диктует необходимость разработки новых подходов, обеспечивающих высокочувствительную детекцию и высокоизбирательную терапию злокачественных новообразований. Значительная мутационная изменчивость опухолевых клеток, в том числе в ходе лечения, может приводить к изменению молекулярного профиля опухоли и возникновению лекарственной резистентности. Поэтому крайне важной и актуальной задачей является введение в арсенал современной онкологии широкого набора соединений с разным механизмом воздействия на раковые клетки. Ориентируясь на эти цели, нами был создан ряд соединений, способных специфически доставлять в раковые клетки токсические агенты различной природы - токсины, фотосенсибилизаторы, радионуклиды и др. [1-16].

Точная диагностика патогенных молекулярных мишеней и адресное воздействие на них должны обеспечивать высокую селективность противоопухолевой терапии. Этим практическим задачам отвечает новая медицинская стратегия – тераностика (**терапия+диагностика**), которая объединяет диагностику заболевания и персонализированное лечение пациента с улучшенной эффективностью и безопасностью. Эффективный тераностический агент должен одновременно обеспечивать следующие возможности: 1) направленную доставку к молекулярной мишени, 2) визуализацию патологического очага и его прижизненный имиджинг в процессе лечения, 3) эффективное и селективное воздействие на молекулярную мишень.

Современные методы конструирования тераностических агентов основаны на присоединении адресной молекулы к визуализирующему и/или лекарственному компоненту. В случае, когда оба структурно-функциональных модуля представлены белковыми молекулами, они могут быть объединены в единую полипептидную цепь методами генной инженерии. Генно-инженерный подход к конструированию белковых мультифункциональных тераностических агентов позволяет преодолевать целый ряд существенных недостатков традиционных методов химической конъюгации белков: недостаточную воспроизводимость и непостоянство состава конъюгатов, возможное снижение аффинности антитела или эффективности действия токсина, а также наличие примесей неконоъюгированных антител и токсина в конечном продукте.

При необходимости адресные и действующие компоненты в генетически кодируемом тераностическом агенте можно варьировать путем замены соответствующего фрагмента гена, однако эта задача не является тривиальной и требует специальных усилий при конструировании и тщательной проверки конечного продукта. Таким образом, создание каждого тераностического агента всегда представляет собой новое самостоятельное исследование. Нами предложено решение этой проблемы путем создания универсальной модульной платформы, обеспечивающей простоту сборки мультифункциональных комплексов с заранее заданными свойствами из уже имеющегося (готового) набора модулей различной функциональности – направляющих, диагностических, терапевтических.

В лаборатории молекулярной иммунологии ИБХ РАН была разработана универсальная модульная платформа для конструирования тераностических агентов на основе самосборки гетеромерных надмолекулярных структур с помощью белковой адаптерной системы барназа:барстар [1-3]. Эти белки образуют прочный гетеродимерный комплекс со строгим соотношением компонентов 1:1. С использованием генно-инженерных методов оба белка могут быть объединены с адресными полипептидами, направляющими конструкцию на клетки-мишени, флуоресцентными белками, обеспечивающими визуализацию, и с белковыми противоопухолевыми агентами: токсинами, иммунофотосенсибилизаторами, ферментами [4-10]. Возможности модульного подхода к конструированию мультифункциональных гибридных структур была продемонстрирована нами также с использованием наночастиц различной при-

роды, включая коллоидное золото, квантовые точки, магнитные наночастицы, липосомы, люминесцентные наноплазмы и апконверсионные нанофосфоры (UCNP). Последние находят всё более широкое применение в оптической диагностике и терапии благодаря уникальному набору физико-химических свойств. Перспективность указанного подхода была недавно продемонстрирована нами *in vivo* на модельных животных с привитыми опухолями аденокарциномы молочной железы человека на примере создания четырехфункционального комплекса, в котором апконверсионные наночастицы (UCNP) несли в своем составе бета-излучающий радионуклид иттрий-90 ( $^{90}\text{Y}$ ), а к их поверхности был присоединен фрагмент псевдомонадного экзотоксина А (PE40) и нацеливающий рекомбинантный полипептид, дарпин, специфически распознающий онкомаркер HER2 [16]. Было показано, что, хотя направленная доставка каждого из токсических агентов по отдельности,  $^{90}\text{Y}$  и PE40, давала очень существенный эффект, их комбинация проявлялась в синергическом действии (~2200 раз) по отношению к HER2-позитивным опухолевым клеткам. При этом фотофизические свойства самих апконверсионных наночастиц (UCNP) позволили прижизненно методами флуоресцентного имиджинга в «окне прозрачности» биологических тканей визуализировать опухоль. Таким образом становится возможным в одном мультифункциональном комплексе объединить функции детекции патологического очага, селективного воздействия на него терапевтического агента и мониторинга ответа на лечение, реализуя принцип, когда целое больше, чем сумма составляющих частей.

*Работа поддержана грантами РФФИ КОМФИ № 17-00-00121 (получение рекомбинантных белков), РФФИ № 14-24-00106 (исследования на опухолевых клетках) и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» (конструирование адресных наноструктур). Работа выполнена с использованием ЦКП ИБХ, поддержанного Минобрнауки России, идентификатор соглашения RFMEFI62117X0018.*

**Ключевые слова:** тераностика, адресные агенты, наночастицы, рецептор HER2.

#### Литература

1. Deyev S.M., Waibel R., Lebedenko E.N., Schubiger A.P., Plückthun A. Design of multivalent complexes using the barnase-barstar module. // *Nat. Biotechnol.* 2003. V.21. P. 1486-1492.
2. Kostyukevich Y., Shulga A.A., Kononikhin A., Popov I., Nikolaev E., Deyev S. CID fragmentation, H/D exchange and supermetallization of Barnase-Barstar complex. // *Sci Rep.* 2017. V. 7(1). P. 6176.
3. Shipunova V.O., Zelepukin I.V., Stremovskiy O.A., Nikitin M.P., Care A., Sunna A., Zvyagin A.V., Deyev S.M. Versatile Platform for Nanoparticle Surface Bioengineering Based on SiO<sub>2</sub>-Binding Peptide and Proteinaceous Barnase\*Barstar Interface // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2018. V. 10. P. 17437-17447.
4. Sokolova E., Guryev E., Yudinsev A., Vodenev V., Deyev S., Balalava I. HER2-specific recombinant immunotoxin 4D5scFv-PE40 passes through retrograde trafficking route and forces cells to enter apoptosis // *Oncotarget.* 2017. V. 8(13). P. 22048-22058.
5. Semenova G., Stepanova D.S., Deyev S.M., Chernoff J. Medium throughput biochemical compound screening identifies novel agents for pharmacotherapy of neurofibromatosis type I. *Biochimie.* 2017. V. 135. P.1-5.
6. Prokofjeva M.M., Proshkina G.M., Lebedev T.D., Shulgin A.A., Spirin P.V., Prassolov V.S., Deyev S.M. Lentiviral gene delivery to plasmalipin-expressing cells using *Mus caroli* endogenous retrovirus envelope protein // *Biochimie.* 2017. V. 142. P. 226-233.
7. Liang L, Lu Y, Zhang R, Care A, Ortega TA, Deyev SM, Qian Y, Zvyagin AV. Deep-penetrating photodynamic therapy with KillerRed mediated by upconversion nanoparticles // *Acta Biomater.* 2017. V. 51. P. 461-470.
8. Souslova E.A., Mironova K.E., Deyev S.M. Applications of genetically encoded photosensitizer miniSOG: from correlative light electron microscopy to immunophotosensitizing // *J. Biophotonics.* 2017. V. 10(3). P. 338-352.
9. Shilova O.N., Shilov E.S., Deyev S.M. The effect of trypan blue treatment on autofluorescence of fixed cells // *Cytometry A.* 2017. V. 91(9). P. 917-925.
10. Semenova G., Stepanova D.S., Dubyk C., Handorf E., Deyev S.M., Lazar A. J., Chernoff J. Targeting Group I p21-Activated Kinases to Control Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor Growth and Metastasis // *Oncogene.* 2017. V. 36. P. 5421-5431.
11. Deyev S., Proshkina G., Ryabova A., Tavanti F., Menziani M.C., Eidelstein G., Avishai G., Kotlyar A. Synthesis, Characterization, and Selective Delivery of DARPin-Gold Nanoparticle Conjugates to Cancer Cells // *Bioconjug Chem.* 2017. V.28(10). P. 2569-2574.

12. Shilova O.N., Shilov E.S., Lieber A., Deyev S.M. Disassembling a cancer puzzle: Cell junctions and plasma membrane as targets for anticancer therapy // *J. Control. Release*. 2018. V. 286. P. 125-136.
13. Mironova K., Khochenkov D.A., Generalova A.N., Rocheva V.V., Sholina N.V., Nechaev A., Semchishen V., Deyev S.M., Zvyagin A.V., Khaydukov E. Ultraviolet phototoxicity of upconversion nanoparticles illuminated with near-infrared light // *Nanoscale*. 2017. V.9(39). P. 14921-14928.
14. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Evaluation of Radioiodine and Technetium-Labeled DARPIn 9\_29 for Radionuclide Molecular Imaging of HER2 Expression in Malignant Tumors // *Contrast Media Mol Imaging*. 2018. V. 2018. P. 6930425. doi: 10.1155/2018/6930425.
15. Deyev S, Proshkina G, Baryshnikova O, Ryabova A, Avishai G, Katrivas L, Giannini C, Levi-Kalisman Y, Kotlyar A. Selective staining and eradication of cancer cells by protein-carrying DARPIn-functionalized liposomes // *Eur J Pharm Biopharm*. 2018. V. 130. P. 296-305.
16. E. Guryev, N. Volodina, N. Shilyagina, S. Gudkov, I. Balalaeva, A. Volovetskiy, A. Lyubeshkin, A. Sen', S. Ermilov, V. Vodeneev, R. Petrov, A. Zvyagin, Zh. Alfërov, S. Deyev Radioactive ( $^{90}\text{Y}$ ) upconversion nanoparticles conjugated with recombinant targeted toxin for synergistic nanotheranostics of cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2018. Sep 7. doi: 10.1073/pnas.1809258115