

Исследование противовирусного потенциала компенсаторных синтетических миРНК в составе гибридных суб- и микрокапсул в отношении вируса гриппа А in vitro

Научный руководитель – Бродская Александра Валерьевна

Кухарева Александра Павловна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kuharevap@gmail.com

Одним из перспективных направлений создания противовирусных препаратов является использование ингибиторов вирусной репродукции на основе малых интерферирующих РНК (миРНК). РНК-интерференция [U+2012] механизм, основанный на сайленсинге генов вируса на стадии трансляции с помощью деградации мРНК при участии миРНК [1].

В качестве исследуемых вирусов были выбраны штаммы вируса гриппа А (ВГА): А/PR/8/34 (H1N1) и А/California/7/09 (H1N1)pdm. Изучаемые миРНК: let-7a, miR-16, miR-24, miR-194, являются синтетическими аналогами клеточных миРНК. Было показано, что уровень этих миРНК в клетке снижается при заражении ВГА, а при компенсации за счет введения синтетических аналогов в экспериментах in vitro наблюдается снижение вирусной репродукции [2].

Были определены дозы заражения и предельная чувствительность метода ИФА. По результатам полученных данных установлены дозы заражения 0,1-0,01МОИ, так как они не вызывают значительного разрушения клеточного монослоя и позволяют достоверно определить вирусингибирующее действие препаратов.

В качестве системы доставки использовались микронные и субмикронные полиаргининовые капсулы [3]. Были синтезированы по два вида капсул, содержащих коктейль противовирусных миРНК и негативную миРНК (последовательность миРНК не имеющая мишеней ни в клетке, ни в геноме ВГА). С помощью МТТ теста на клетках А549 были определены пороги токсического действия препаратов миРНК в капсулах. На основе полученных данных было решено испытывать противовирусное действие препаратов в диапазоне концентраций по миРНК менее 0,1мкМ, для которых токсическое действие на клеточный монослой не превышало 30%.

В ходе предварительного эксперимента для препарата миРНК, инкапсулированных в микрокапсулы было продемонстрировано противовирусное действие, выраженное в снижении вирусного белка в клетках до 50% относительно 100% инфекционного контроля. Субмикронные капсулы не показали ожидаемого преимущества для внутриклеточной доставки миРНК, а также достоверного вирусингибирующего действия.

Источники и литература

- 1) 1. Van Mierlo J.T., van Cleef K.W.R., van Rij R.P. Small Silencing RNAs: Piecing Together a Viral Genome // Cell Host Microbe. – 2010. – V. 7, № 2. – P. 87–89.
- 2) 2. Aleksandra V. Brodskaja, Alexander S. Timin, Andrey N. Gorshkov, Albert R. Muslimov, Andrei B. Bondarenko, Yana V. Tarakanchikova, Yana A. Zabrodskaya, Irina L. Baranovskaya, Eugenia V. П'inskaia, Elena I. Sakhenberg, Gleb B. Sukhorukov, Andrey V. Vasin. Inhibition of influenza A virus by mixed siRNAs, targeting the PA, NP, and NS genes, delivered by hybrid microcarriers // Antiviral Research. – 2018. – №158. – P, 147-160.

- 3) 3. Timin A., Petrova-Brodskaya A., Muslimov A., Lepik K., Vasin A., Sukharukov G. New strategies for effective delivery of antiviral siRNA against influenza A virus. // International conference “Trends in Influenza Research” September 18-20, 2017. – Saint-Petersburg. –Abstract book, –p. 89-90