

Aukso nanoklasterių, stabilizuotų JSA, susikaupimo efektyvumas ląstelėse

Bovine serum albumin stabilized gold nanoclusters' accumulation effectiveness in cells

Kornelija Buivydaite^{1,2}, Greta Jarockyte^{1,2}, Vilius Poderys¹, Vitalijus Karabanovas^{1,3}, Ričardas Rotomskis^{1,4}

¹ Biomedicininės fizikos laboratorija, Nacionalinis vėžio institutas, P. Baublio g. 3b, LT-08406 Vilnius

² Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Saulėtekio al. 7, LT-10257, Vilnius

³ Chemijos ir bioinžinerijos fakultetas, Vilniaus Gedimino technikos universitetas, Saulėtekio al. 11, LT-10223, Vilnius

⁴ Biofotonikos grupė, Lazerinių tyrimų centras, Vilniaus universitetas, Saulėtekio al. 9, LT-10222, Vilnius

kornelija.buivydaite@gmc.stud.vu.lt

Pagrindiniai šiuolaikinio mokslo tikslai onkologijoje yra pagerinti ankstyvą vėžinių darinių diagnostiką bei padidinti gydymo efektyvumą. Ypatingas dėmesys yra skiriamas naujai besivystančiai medicinos sričiai – navikų teranostikai. Ieškoma nanodalelių, kurios galėtų būti naudojamos tiek kaip diagnostiniai žymekliai, tiek kaip fotovaistai. Tokios dalelės, kurios atlieka diagnostinę ir terapinę funkcijas, vadinamos teranostinėmis dalelėmis. Viena tokių medžiagų galėtų būti J. Xie grupės aprašyti aukso (Au) ir jaučio serumo albumino (JSA) nanoklasteriai – JSA–Au NK [1]. JSA–Au NK – ne vienerius metus yra tiriami kaip potencialūs fotovaistai bei fotoluminescuojantys žymekliai diagnostikoje. Tačiau yra neaišku, kaip jie kaupiasi ląstelėse ir kaip yra šalinami

JSA–Au NK pasižymi ryškia fotoluminescencija raudonojoje regimojo spektro srityje ($\lambda_{\max} = 680$ nm). Raudonoji sritis patenka į žinomą audinių skaidrumo langą, todėl JSA–Au NK yra tinkami tiek vaizdinimui, tiek diagnostikai. Be to, švitinami regimąją šviesa – 405 nm spinduliuote – šie nanoklasteriai generuoja aktyvias deguonies formas, kurios parodo jų kaip fotovaistų potencialą [2].

Svarbu, kad šie nanoklasteriai vėliau būtų saugiai pašalinami iš organizmo. A. Cantelli ir kt. parodė, kad JSA–Au NK kaip tik linkę kauptis kepenyse ir inkstuose – organuose, kurie prisideda prie šalinimo [3]. Šio darbo tikslas buvo ištirti, kaip tokie NK susikaupia skirtingose šalinimo organų ląstelėse – inkstų embrioninėse HEK–293T bei kepenų vėžinėse HEP–G2 ląstelėse.

Tyrimo metu naudotas konfokalinis mikroskopas Nikon Eclipse Te2000–S, žadinta 404 nm ir 488 nm bangos ilgio lazeriais, matuota naudojant 621 – 720 nm juostinį pralaidumo filtrą. JSA–Au NK buvo susintetinti modifikuotu J. Xie aprašytu sintezės metodu [1]. Žadinant lazeriu ties 488 nm, šių nanoklasterių fluorescencija stebėta raudonojoje spektro srityje. Ląstelių branduoliai dažyti su Hoechst dažu, kurio fluorescencija sužadinus ties 404 nm stebėta mėlynojoje regimojo spektro dalyje ($\lambda_{\max} = 452$ nm). JSA susikaupimui ištirti naudotas fluorescenciniu dažu Alexa488 konjuguotas JSA (JSA–Alexa488), kurio fluorescencija sužadinus ties 488 nm stebėta žaliojoje regimojo spektro dalyje ($\lambda_{\max} = 520$ nm),

Pirmiausia, inkubuodami JSA konjuguotą suAlexa488 fluorescenciniu dažu, mes nustatėme, ar

jaučio serumo albuminas patenka į ląsteles. Panaudojant konfokalinę mikroskopiją, buvo nustatyta, kad tiek vėžinėse HEP–G2, tiek embrioninėse HEK–293T ląstelėse šis baltymas susikaupė sėkmingai. Taigi, galėjome daryti išvadą, kad pats baltymas JSA–Au NK patekimo į ląstelę neturėtų apriboti. Vėliau buvo tiriamas JSA–Au NK susikaupimas HEK–293T bei HEP–G2 ląstelėse po 24 h inkubacijos. Rezultatai parodė, kad JSA–Au NK gerai kaupėsi HEK–293T (gana tolygiai ląstelių plote išsiskirstę JSA–Au NK), tačiau prastai HEP–G2 ląstelėse (stebimi nebent pavieniai didesni agregatai ląstelių pakraščiuose).

Buvo ištirta ir JSA–Au NK susikaupimo dinamika HEK–293T ląstelėse. Jos buvo inkubuotos su JSA–Au NK nuo 15 min iki 6 h. Pastebėta, kad iki 1 h susikaupimas labai mažais, tik pavienės ląstelės turi sukaupe NK, po 1 – 3 h jau matomas didesnis kiekis JSA–Au NK ląstelių ribose, o po 4 – 6 h dar daugiau JSA–Au NK patenka į ląsteles ir jau yra stebimas efektyvus susikaupimas.

Apibendrinant galima teigti, kad JSA–Au NK gerai susikaupia tik HEK–293T ląstelėse. Praėjus vos 4 – 6 h po inkubacijos šiose ląstelėse jau stebimas reikšmingas JSA–Au NK susikaupimas. Tuo tarpu HEP–G2 ląstelėse net po 24 h nebuvo stebimas JSA–Au NK susikaupimas.

Reikšminiai žodžiai: jaučio serumo albuminas, aukso nanoklasteriai, susikaupimas ląstelėse

Literatūra

- [1] Xie J., Zheng Y., Ying J.Y. Protein-Directed Synthesis of Highly Fluorescent Gold Nanoclusters. *J. Am. Chem. Soc.*; 2009, 131, 888-889.
- [2] Poderys V., Jarockyte G., Bagdonas S., Karabanovas V., Rotomskis R. Protein-stabilized gold nanoclusters for PDT: ROS and singlet oxygen generation. *J. Photochem. Photobiol.*; 2020, 204
- [3] Cantelli A., Battistelli G., Guidetti G., Manzi J., Di Giosia M., Montalti M. Luminescent gold nanoclusters as biocompatible probes for optical imaging and theranostics. *Dyes and Pigments*; 2016, 135, 64-79