

Opracowanie i charakterystyka fizyko-chemiczna nośników transfekcyjnych siRNA na bazie surfaktantów polikationowych

Jednym z największych wyzwań dzisiejszej medycyny jest opracowanie skutecznych metod leczenia szerokiego spektrum chorób do tej pory nieuleczalnych. Do grupy tej należą nie tylko wszystkie schorzenia o podłożu genetycznym jak np: fenyloketonuria, mukowiscydoza, dystrofia mięśniowa, nowotwory, ale również choroby wywoływane przez bakterie, wirusy itp. Ich różnorodność pod względem przyczyn, objawów i przebiegu powoduje znaczne problemy w znalezieniu satysfakcjonujących metod terapeutycznych. Rozwiązaniem wydaje się być rozwijana w ciągu ostatnich lat *terapia genowa*, polegająca na leczeniu za pomocą terapeutycznych fragmentów kwasów nukleinowych¹. Głównym jej założeniem jest dostarczenie do chorych komórek organizmu krótkiej cząsteczki siRNA (tzw. *transgenu*). Obecnie wyróżnia się transgeny o różnym sposobie działania. Może ono polegać na:

- zastąpieniu przez wprowadzoną cząsteczkę wadliwych genów (fragmentów kwasu nukleinowego),
- modyfikacji procesów prowadzących do "odczytania" informacji genetycznej, czyli uwidocznienia jej w postaci cech organizmu,
- blokowaniu powstawania w chorych komórkach nieprawidłowych białek (tzw. *interferencja RNA*).

Pomimo szeregu dobrze określonych założeń terapia genowa jest nadal ogromnym wyzwaniem. Jej realizacja napotyka na naturalne bariery, w które na drodze ewolucji wyposażyły się organizmy żywe. Ominięcie procesów odpowiedzi immunologicznej, które mogłyby doprowadzić np. do zniszczenia transgenu lub nawet masowej śmierci komórek zdrowych jest bardzo trudne. Głównym problemem staje się w tym wypadku przeprowadzenie pomyślniej *transfekcji*, czyli wprowadzenia cząsteczki kwasu nukleinowego do wnętrza chorej komórki. W dalszym ciągu wykorzystywane do tego celu metody nie są skuteczne, ponieważ komórki najczęściej odrzucają wprowadzone cząsteczki terapeutyczne traktując je jak ciała obce, patogenne, co prowadzi do naturalnej obrony organizmu przez układ odpornościowy jak to ma miejsce w przypadku każdej choroby. Aby temu zapobiec konieczne jest opracowanie odpowiednich nośników, które byłyby w stanie przetransportować transgen do wnętrza komórki bez indukcji procesów odpornościowych. Jediną możliwością jest więc stworzenie takich czynników, które dzięki swojej budowie i właściwościom fizyko-chemicznym byłyby potraktowane przez komórkę jako "swoje". Obiecującą grupą związków chemicznych posiadających takie właściwości są tzw. *surfaktanty*.

Niniejszy projekt dotyczy wytworzenia i dokładnego zbadania pod względem fizyko-chemicznym wybranych układów transfekcyjnych na bazie surfaktantów typu polimerycznego. Do tego celu wykorzystane zostaną zaawansowane techniki badawcze z zakresu mikroskopii, spektroskopii², elektrokinetyki³, metod rozproszeniowych⁴ oraz badań komórkowych⁵. Dzięki wykorzystaniu tych metod określone zostaną między innymi: stabilność (trwałość) opracowanych kompleksów siRNA-surfaktant, ich morfologia (kształt, wielkość, masa, struktura w skali mikro i makro) oraz zmiany w strukturze cząsteczki kwasu nukleinowego, która znajduje się w kompleksie. Zbadany zostanie również sam proces powstawania lipopleksów (łączenia się siRNA z cząsteczkami surfaktantu), wpływ (toksyczność) tych kompleksów na wybrane typy komórek np. nowotworowych w celu sprawdzenia przeżywalności komórek w obecności kompleksów, a także proces transfekcji z wykorzystaniem otrzymanych czynników.

Oczekiwany rezultatem zaplanowanych w niniejszym projekcie badań będzie opracowanie nowych, stabilnych i nietoksycznych układów transfekcyjnych, a także, co najistotniejsze określenie sposobu przeprowadzania procesu transfekcji siRNA przy wykorzystaniu tych układów.

¹ *kwas nukleinowy* – wielkocząsteczkowy związek organiczny (biopolimer) występujący we wszystkich komórkach i wirusach kodujący informacje genetyczne dotyczące danego organizmu oraz biorący udział w procesie produkcji białek; zbudowany z zasad azotowych, których kolejność decyduje o zmienności danej cechy osobnika np. kolorze włosów, oczu, charakterze itp.; wśród kilku rodzajów kwasów nukleinowych najważniejsze to kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) oraz rybonukleinowy (RNA). W terapii genowej wykorzystuje się tzw. cząsteczki siRNA (*small-interference RNA*), czyli małe "interferencyjne" RNA.

² *spektroskopia* – dział fizyki dotyczący zagadnień powstawania i analizy promieniowania wysyłanego lub odbieranego przez różnego typu związki chemiczne, roztwory itp.

³ *elektrokinetyka* – dział fizyki dotyczący charakterystyki związków chemicznych pod względem wielkości, kształtu, masy itp. na podstawie sposobu poruszania się ich w sztucznie wytworzonym polu elektrycznym.

⁴ *metody rozproszeniowe* – metody badawcze polegające na charakterystyce związków chemicznych na podstawie sposobu w jaki rozpraszają różnego typu promieniowanie.

⁵ *badania komórkowe* – eksperymenty prowadzone w warunkach laboratoryjnych na różnego typu komórkach.