



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания – 2017 г.
Основна научна област:
Химически науки
№ на договор:
ДН 19/8
Начална и крайна дата на проекта:
10.12.2017 – 10.06.2019 (етап 1)
Заглавие на проекта:
Дизайн на нови супрамолекулни наночастици: сферични нуклеинови киселини с полимерни и липозомни ядра
Базова организация:
Институт по полимери, Българска академия на науките
Партньорски организации:
Биологически факултет, Софийски университет “Св. Кл. Охридски“
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Проф. дхн Станислав Рангелов
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 лв.
Интернет страница на проекта (ако има такава):
http://polymer.bas.bg/index.php?option=com_content&view=article&id=233&Itemid=37&lang=bg
Научни публикации по проекта:
<i>Polymeric Mesoglobules – a Platform for Preparation of Thermoresponsive Spherical Nucleic Acids.</i> Изпратена в <i>Macromolecular Rapid Communications</i>
<i>Synthesis of Novel Oligonucleotide-Polymer Conjugates via Click Reactions</i> (в подготовка, работно заглавие)



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Финансираният проект е **интердисциплинарен**. Той има отношение към редица области от науката за полимери, органичната и колоидната химия, физикохимията, нанонауките и нанотехнологиите, клетъчната биология и наномедицината, биохимията и биофизиката. В съответствие с интердисциплинарния характер и специфичност, за изпълнението му е сформиран екип от учени от водещи в областта си и международно разпознаваеми центрове – Института по полимери на БАН и Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“, чиито **знания, опит и компетентност взаимно се допълват**.

Целта на проекта е получаването на специфични супрамолекулни наночастици, наречени **сферични нуклеинови киселини (СНК)**. Те се състоят от полимерно или липозомно ядро, към което са свързани силно ориентирани олигонуклеотиди, образуващи плътна обвивка. Изследванията са **фокусирани** изключително върху **разработването на нови полимерни или липозомни ядра** с цел разнообразяването на съществуващите и придаването на нови свойства. Изследователските цели се постигат чрез синтезиране на **разнообразни полимер-олигонуклеотидни конюгати**, които чрез **самоасоцииране или съасоцииране** с рационално композирани/съставени съполимери и фосфолипиди са способни да образуват супрамолекулни наночастици. **Разнообразни техники за синтез, приготвяне и натоварване** (от методи за контролирани полимеризации през “клик” и други високоефективни реакции до специфични подходи за получаване на структури чрез самоасоцииране/съасоцииране) се използват за дизайн и конструиране на СНК. **Пълното физикохимично охарактеризиране**, състоящо се в определяне на размер и разпределение по размери, молни маси, размери на ядрото, дебелина на обвивката, повърхностен потенциал и др. е последвано от **детайлно изследване на биологичните им свойства**. В частност, изследват се взаимодействията на новите СНК и проникването им през биологични мембрани, оценява се биологическата им толерантност и съвместимост, трансфекционната ефективност и потенциалът им да пренасят ензими, малки молекули, терапевтични и диагностични агенти.

Изпълнението на научната програма води до **натрупване на познание и експериментални данни и факти**, които са с потенциална приложимост при **решаване на здравни проблеми с обществена и социална значимост**, като лечение на рак и генетични заболявания, разработване на ваксини, при регенеративната медицина, разработване на терапевтични и тераностични платформи. Докато планираните изследвания са **силно фундаментални**, една съществена част от проекта има **иновационен характер и потенциал**. Реализирането на проекта създава предпоставки за **подобряване на уменията и квалификацията** на членовете на колектива и **повишаване на конкурентноспособността** на партниращите организации.



Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
<i>Базова организация:</i>	
Институт по полимери, Българска академия на науките	
<i>Ръководител на научния колектив</i>	
Проф. дхн Станислав Рангелов	
<i>Участници:</i>	
1. Проф. дхн Станислав Рангелов 2. Доц. д-р Ивайло Димитров 3. Доц. д-р Христо Новаков 4. Гл. ас. д-р Еми Халаджова 5. Гл. ас. д-р Наталия Тончева-Мончева 6. Гл. ас. д-р Радостина Калинова 7. Ас. д-р Павел Бакърджиев 8. Димитрина Бабикова 9. Емилия Велева-Костадинова 10. Мартин Иванов 11. Бетина Ангелска 12. Лилия Ерменкова	ПД ПД ДО ДО СТ СТ СТ
<i>Партньорска организация:</i>	
Биологически факултет, Софийски университет "Св. Кл. Охридски"	
<i>Участници:</i>	
1. Доц. д-р Йордан Думанов 2. Проф. д-р Светла Петрова-Чанкова 3. Доц. д-р Таня Топузова-Христова 4. Доц. д-р Веселина Москова-Думанова 5. Гл. ас. д-р Кирилка Младенова 6. Юлия Пецева 7. Ралица Велева 8. Член кор. проф. д-р Здравко Лалчев, дбн-консултант 9. Деница Мелнишка – лаборант	ПД МУ, ПД ДО ДО

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

² Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Чрез използване на “клик” и други високоефективни реакции са получени четири групи полимер-олигонуклеотидни конюгати, като са варирани, от една страна, природата на полимерите и техните молни маси и функционалността на олигонуклеотида, от друга. Полимер-олигонуклеотидните конюгати са на основата на поли(етоксиетил глицидилов етер), поли(ϵ -капролактон), поли(D,L-лактид) и съполимер поли(D,L-лактид-съ-бис(азидометил)триметиленкарбонат). Конюгатите са с дблокова, триблокова и присадена архитектура на веригата в зависимост от функционалността на (съ)полимера – моно-, ди- или мулти-. Намерени са условия, при които конюгатите спонтанно самоасоциират във водни разтвори, при което се получават добре дефинирани наночастици, изградени от хидрофобно ядро, образувано от синтетичния полимер, и корона, състояща се от олигонуклеотидни вериги. Чрез комплекс от аналитични методи са определени основните параметри на частиците – размери, молни маси, повърхностен потенциал, от които са определени агрегационните числа, броя на олигонуклеотидните вериги за една частица и тяхната гъстота в короната. Получените частици показват свойства и отнасяния, характерни за сферичните нуклеинови киселини, макар размерите им да са по-големи от типичните. Направени са серия опити за възпроизводимо и с висок добив получаване на конюгати на олигонуклеотид с липидоподобен остатък, като са варирани различни синтетични подходи и реакции.

Използван е оригинален подход за получаване на сферични нуклеинови киселини с полимерно ядро, състоящ се в образуване на мезоглобули от термочувствителен полимер, обвиване на мезоглобулите с омрежена полимерна обвивка и присаждане върху последната на олигонуклеотидни вериги. Проведено е пълно физикохимично охарактеризиране на получените наноразмерни частици, като са определени редица параметри – молни маси, хидродинамични радиуси, инерционни радиуси, повърхностен потенциал и др. при различни температури. Новите наноконструкции са термочувствителни и претърпяват напълно обратим преход *свиване-експандиране* (при нагряване и охлаждане, съответно) и промяна на размерите, без това да засяга молните маси на частиците. Тези преходи са свързани с промени в гъстотата на олигонуклеотидите във функционализираната обвивка и, съответно, в конформационен преход към изпънато състояние при повишени температури.

Извършена е оценка на жизнеспособността на A549 и HepG2 клетки, третирани с получените наночастици. Инкубирането на клетките значително променя метаболитната им активност и оцеляването, но не и цитотоксичността. За определяне на съдбата на наночастиците в еукариотните клетки бе изследвана стабилността към различни ензими в клетките. Установено бе, че олигонуклеотидите, които са организирани на повърхността на частиците, се разграждат от ендонуклеази (DNase I и II), но и двата ензима имат от 4-5 до 9-10 пъти по-ниска ензимна активност, в сравнение с реакциите със свободна ДНК, което е свързано със специфичната структура на наночастиците. Интернализирането в клетките се извършва чрез ендоцитоза, медирана от scavenger (чистач) рецептори, които се намират по плазмените мембрани на много клетки. Допуснат е и друг, не-ендодозмален, път на интернализиране.