Структура магнетоферритина: синхротронные и нейтронные исследования

М.В.Авдеев

Лаборатория нейтронной физики им. И.М.Франка, Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

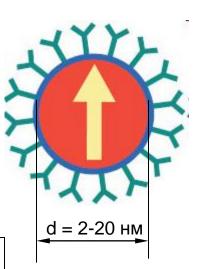
Коллаборация

- В.И.Петренко, О.И.Иваньков
- Лаборатория нейтронной физики им. И.М.Франка,
 Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
 - Л.А.Булавин
- Физический факультет, Киевский Национальный Университет им. Тараса Шевченко, Киев, Украина
 - Л.Мельникова, З.Митрова, П.Копчански
- Институт экспериментальной физики, Словацкая академия наук, Кошице, Словакия
 - В.М.Гарамус
- Исследовательский центр Геестахт, Геестахт, Германия
 - Л.Алмаши
- Исследовательский центр Вигнера, Венгерская академия наук, Будапешт, Венгрия

Магнитные наночастицы: полезные свойства для биомедицины

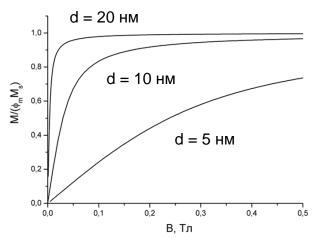
Малый размер – большая удельная поверхность, естественное удаление из организма

Магнетизм – управление внешним магнитным полем



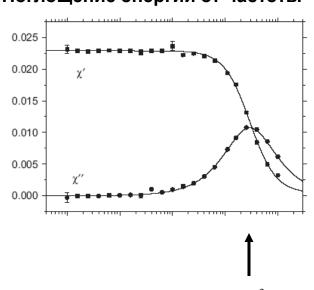
Однодоменное состояние – суперпарамагнетизм

Намагничивание Ланжевена



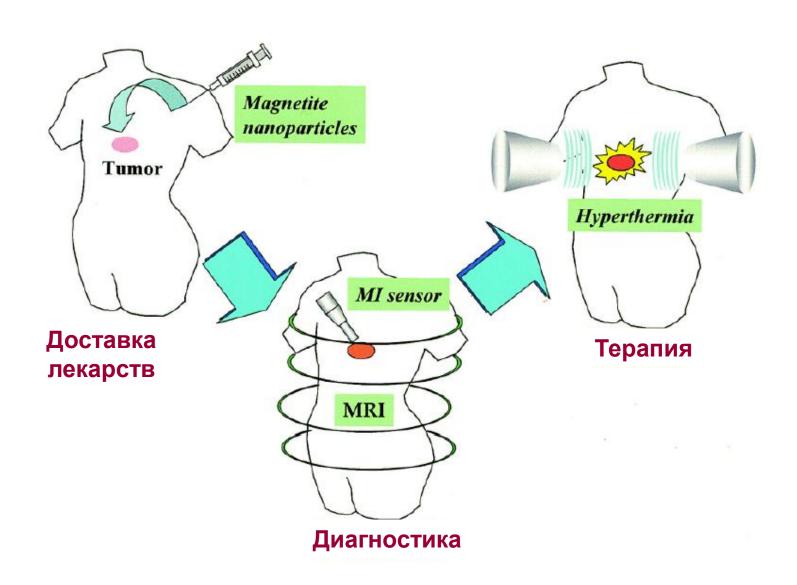
$$\frac{M}{\varphi_m M_s} = cth \, \xi - \frac{1}{\xi}, \qquad \qquad \xi = \frac{\mu_0 m H}{kT}$$

Поглощение энергии от частоты



$$\omega_{B} = kT/(4\pi d^{3}) \sim 10 - 1000 \text{ kHz}$$

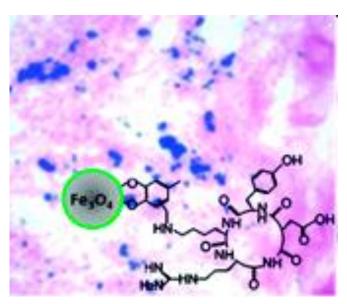
Магнитные наночастицы в лечении рака



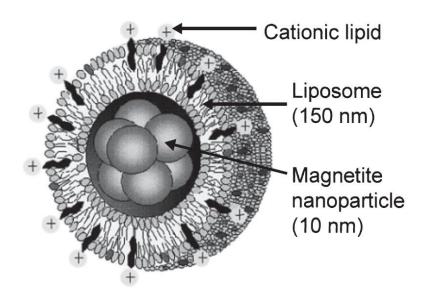
Доставка лекарств

Цель – концентрирование лекарства в опухоли под действием внешнего градиентного магнитного поля

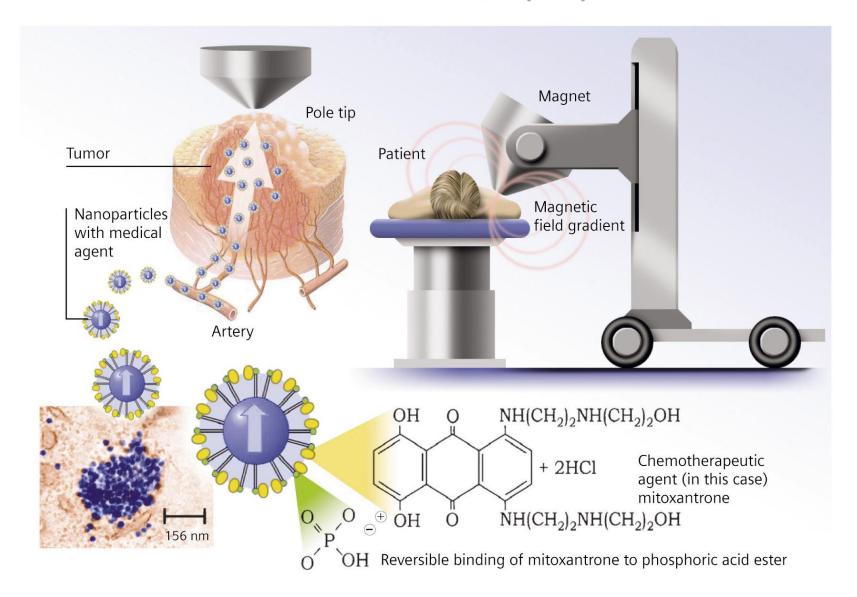
Адсорбция лекарственных препаратов на поверхности магнитных наночастиц



Магнитные липосомы



Магнитный концентратор



Диагностика: магнитно-резонансная томография (МРТ)

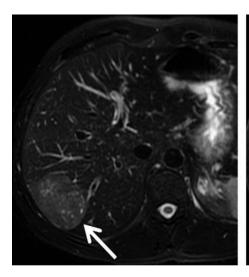
Цель – расширение возможностей контрастирования МРТ



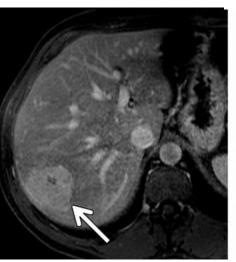
Промышленные SPIO MR contrast agents

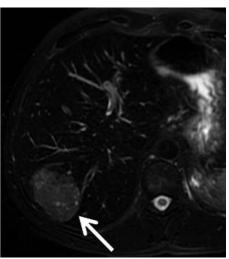
Feridex (Berlex Laboratories; Guerbet) Resovist (Bayer Healthcare)

Ferumoxtran-10 (AMAG Pharma; Guerbet)



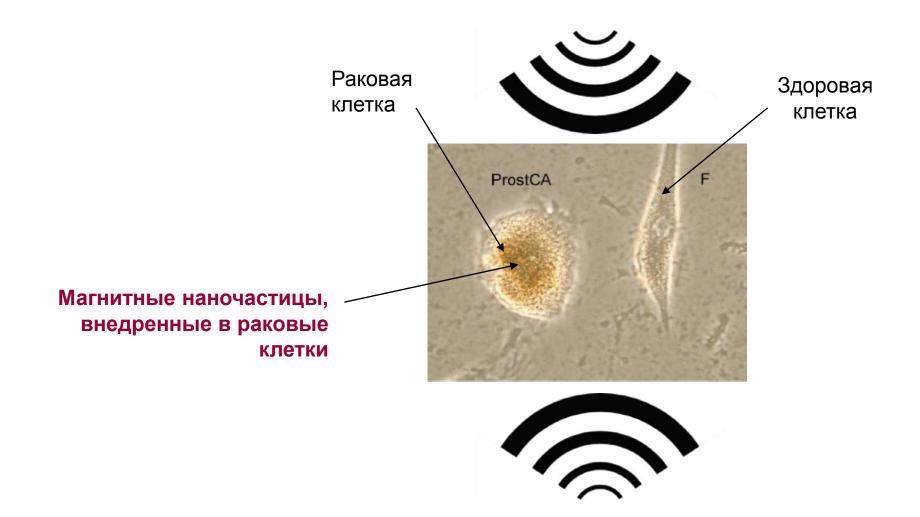




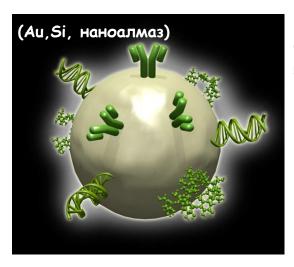


Магнитная гипертермия

Цель – локальный нагрев раковых клеток под действием внешнего переменного электромагнитного поля



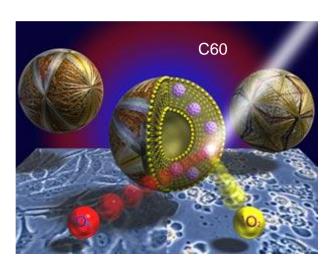
Взаимодействие наночастиц с биологическими макромолекулами

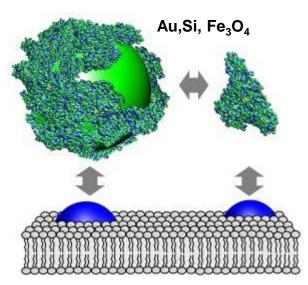


Адсорбция биомолекул на биосовестимых наночастицах

Адсорбция наночастиц на биомолекулах

Проникновение наночастиц сквозь липидные мембраны





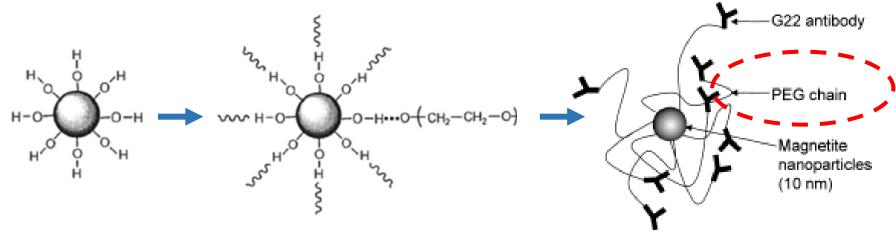
Биосовместимость

Понижение токсичности

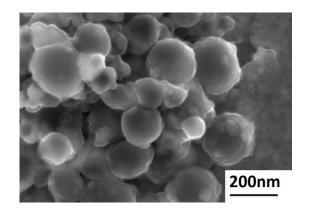
+

Подавление реакции иммунной системы

Задача: поиск наименее токсичных и биосовместимых покрытий



Магнитные капсулы с антираковым препаратом Taxol



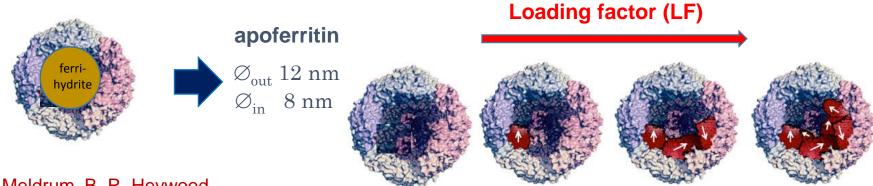
в сотрудничестве с IEP SAS, Kosice, Slovakia

M.V.Avdeev, A.V.Feoktystov, M.Timko, P.Kopcansky, et al. *J. Appl. Cryst.* 43 (2010) 959

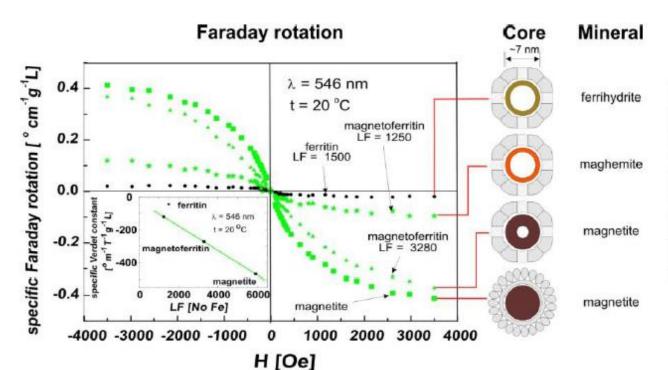
V.Závišová, M.V.Avdeev, M.Timko, P.Kopcansky, et al. *J. Magn. Magn. Mater.* 323 (2011) 1408 M.V.Avdeev, V.M.Haramus, Highlights NMI3 2013

Магнетоферритин:

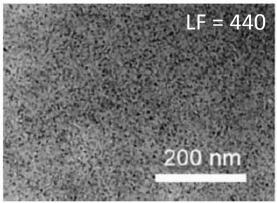
использование естественной белковой полости



F. C. Meldrum, B. R. Heywood, S. Mann, *Science* 257 (1992) 522



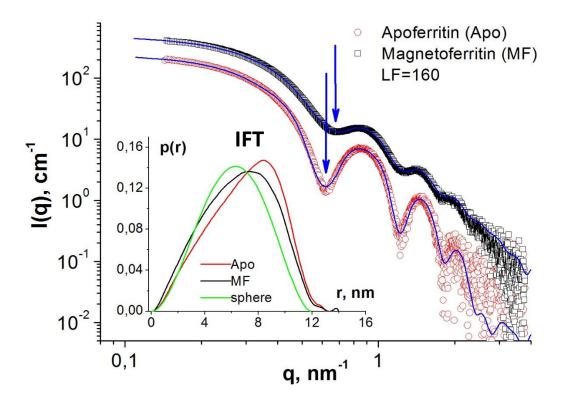
LF = mean number of **Fe** atoms per apoferritin complex



M.Koralewski, M.Pochylski, Z.Mitroova, M.Timko, P.Kopcansky, L. Melnikowa, *JMMM* (2012).

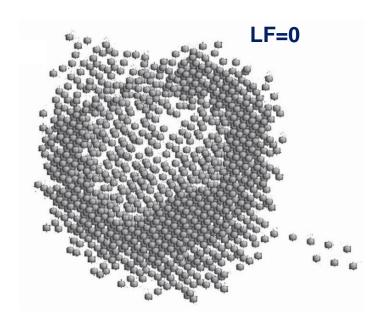
Малые загрузки: анализ МУРР

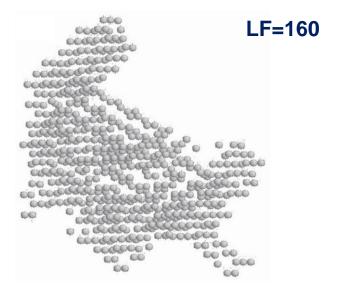
Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 2-3 мг/мл



Bio-SAXS (PETRA -III, DESY), HZG

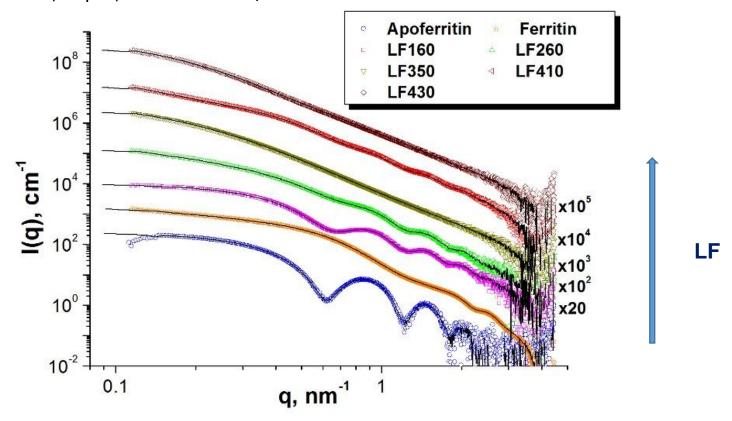
Ab initio models (DAMMIF)





Средние загрузки: анализ МУРР

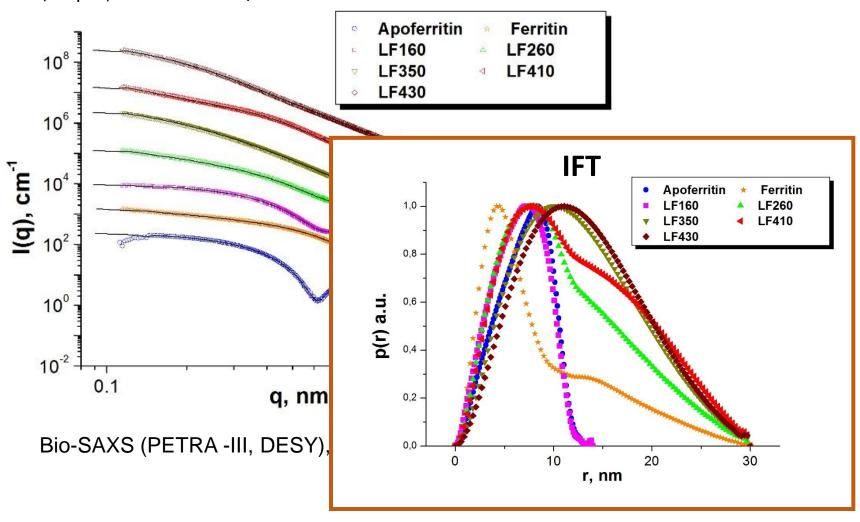
Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 2-9 мг/мл



Bio-SAXS (PETRA -III, DESY), HZG

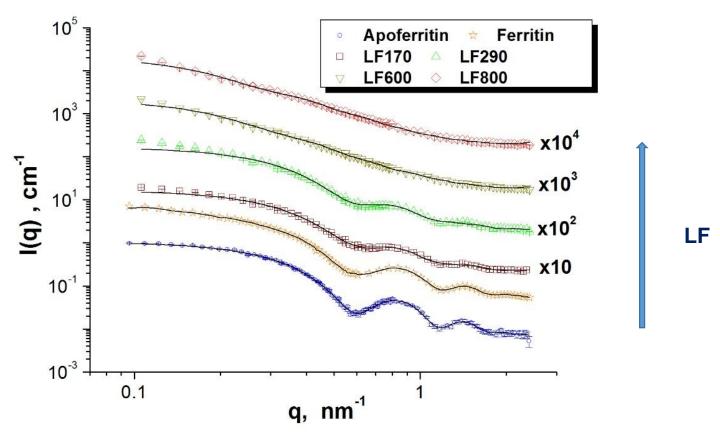
Средние загрузки: анализ МУРР

Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 2-9 мг/мл



Средние загрузки: анализ МУРН

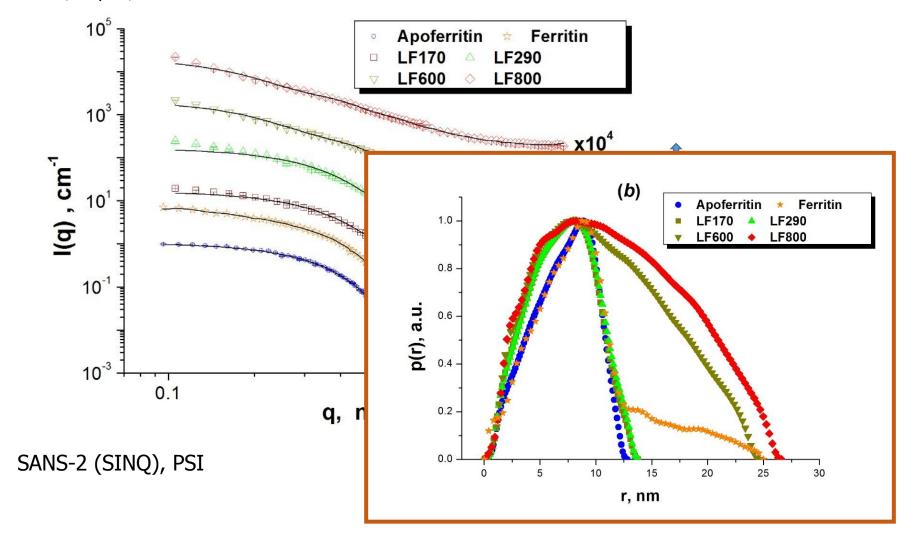
Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 20 мг/мл



SANS-2 (SINQ), PSI

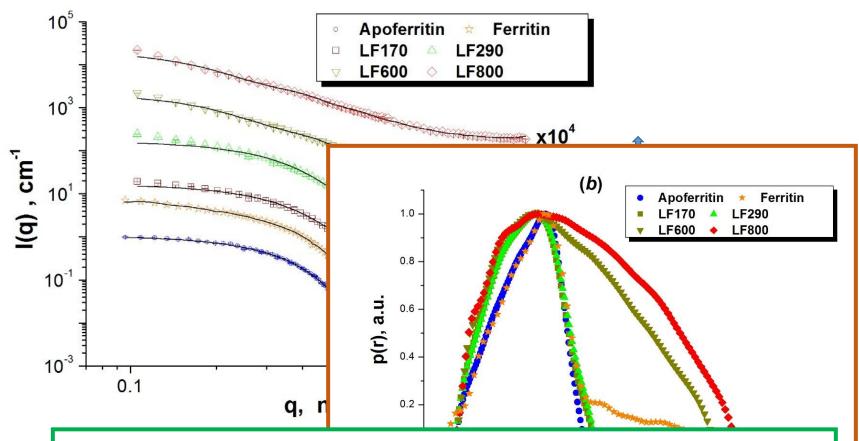
Средние загрузки: анализ МУРН

Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 20 мг/мл



Средние загрузки: анализ МУРН

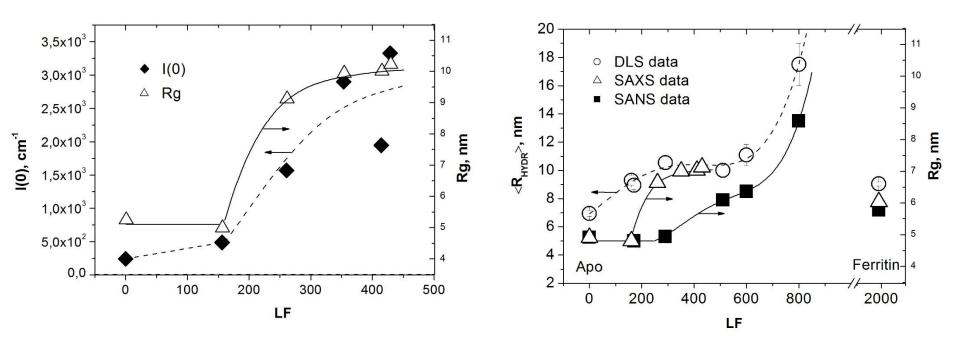
Водный раствор, AMPSO буфер, концентрация белка 20 мг/мл



SANS-2 Увеличение фактора загрузки приводит к сглаживанию кривых рассеяния аналогично для МУРР и МУРН — результат частичного разрушения белковой оболочки

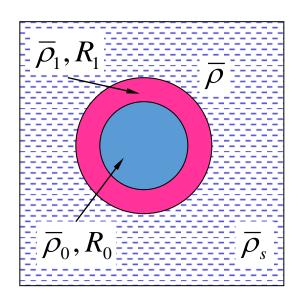
Анализ параметров Гинье

$$I(q) = I(0) \exp(-\frac{1}{3}R_g^2 q^2)$$



С ростом LF имеет место первичная и вторичная агрегация комплексов

Вариация контраста МУРН

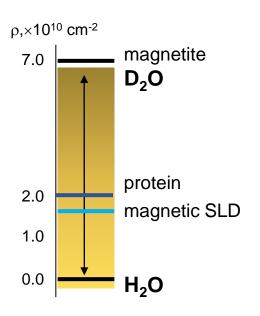


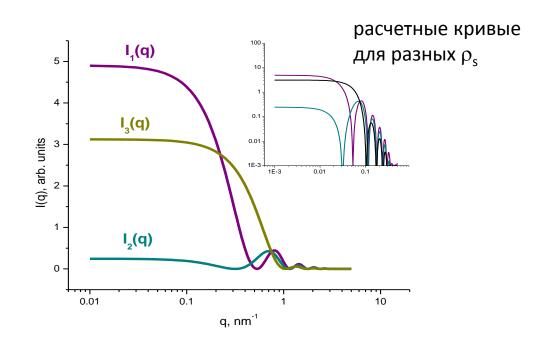
$$I(q) = n[(\rho_1 - \rho_s)V_1\Phi(qR_1) - (\rho_1 - \rho_0)V_0\Phi(qR_0)]^2$$

$$\Phi(x) = 3(\sin x - x \cos x) / x^3$$
 $V_i = (4/3)\pi R_i^3$

n is the particle number density

$$\overline{\rho} = \frac{V_0}{V_1} \rho_0 + (1 - \frac{V_0}{V_1}) \rho_1 \qquad \Delta \rho = \overline{\rho} - \rho_s$$





Вариация контраста МУРН

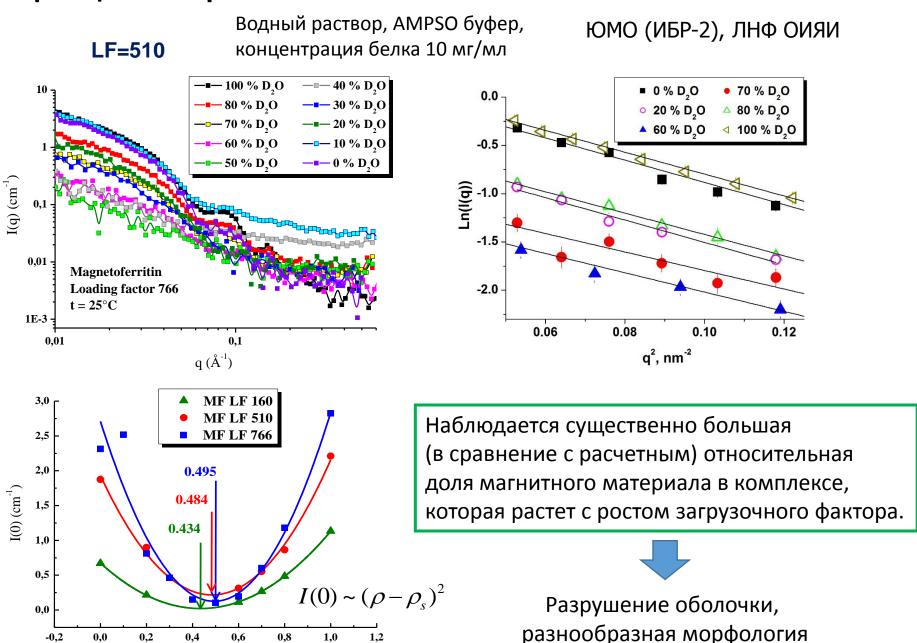
-0,2

0,0

0,6

η

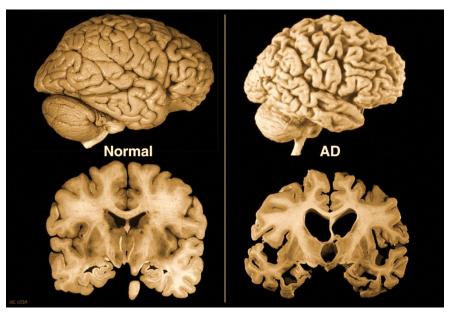
0,8



Большие загрузки сильная агрегация **TEM LF > 900 LF < 900 SANS** LF = 910MF LF 910 ME LE 766 MF LF 510 MF LF 160 Apoferritin I(q), cm⁻¹ I(q) (cm⁻¹) **LF = 2000** надосадочный 0,1 раствор Apoferritin 0,01 Magnetoferritin 0,01 -1E-3 0,1 0,01 0,05 0,1 0,15 0,2 q, nm⁻¹ q (Å⁻¹)

Амилоидные агрегаты – причина амилоидозов

Alzheimer's disease



Normal (healthy) brains

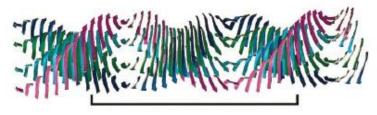
Brains at pathology

Alzheimer's disease Parkinson's disease Huntington's disease

Diabetes type 2 Atherosclerosis Rheumatoid arthritis

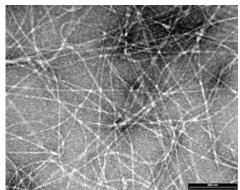
.

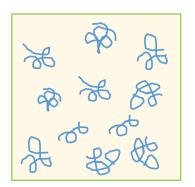
High-resolution X-ray diffraction from oriented amyloids

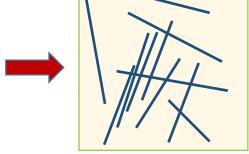


11.5 nm, 24 β -strands

Electron microscopy



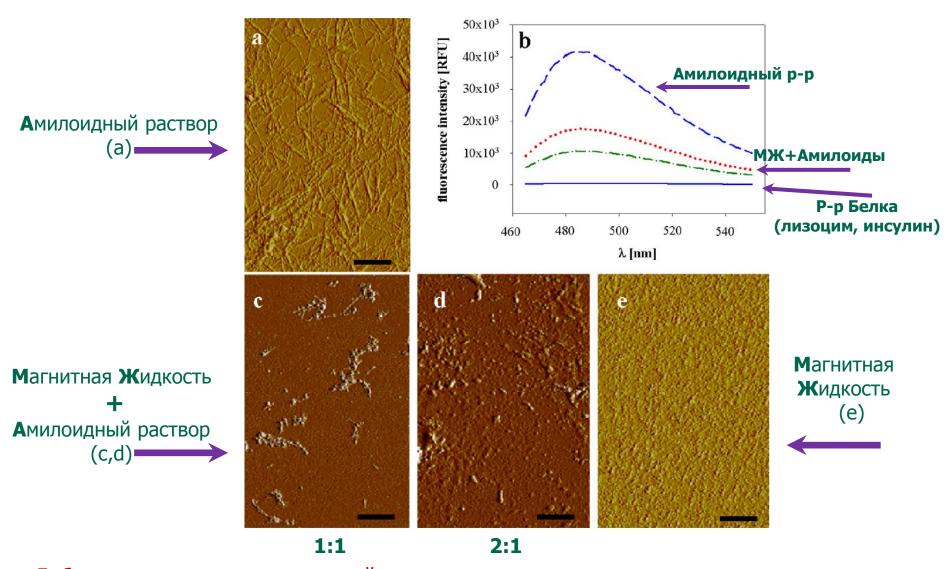




Proteins (soluble form)

Specific protein aggregation

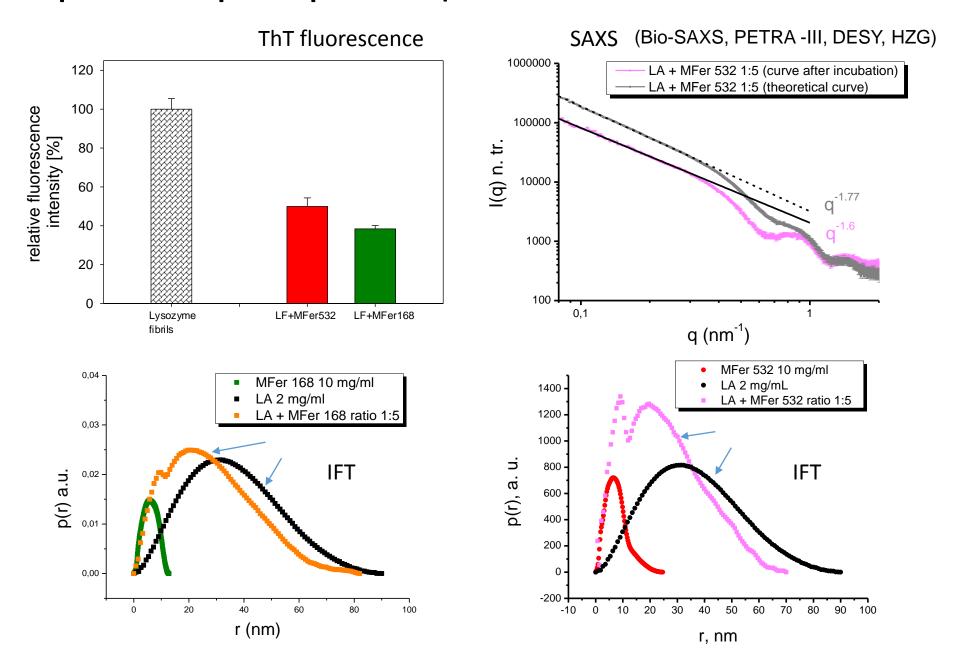
Взаимодействие наночастиц с амилоидами



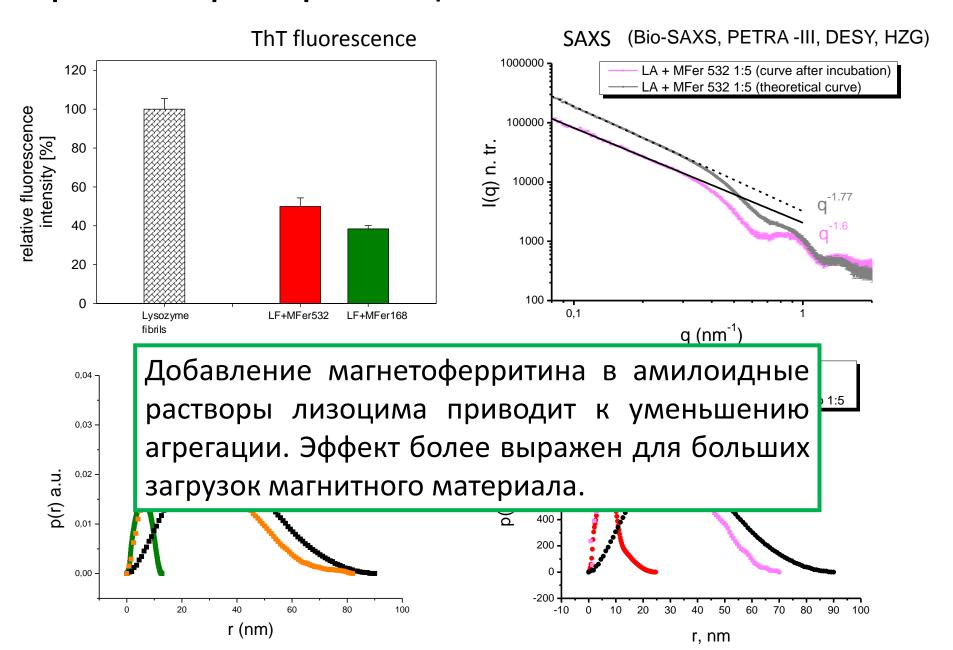
Добавление магнитных жидкостей **подавляет** амилоидную агрегацию в модельных растворах белков

K. Siposova et al. Nanotechnology 23 (2012) 055101 A. Bellova et al. Nanotechnology 21 (2010) 065103

Взаимодействие магнетоферритина с амилоидными агрегатами в растворах лизоцима



Взаимодействие магнетоферритина с амилоидными агрегатами в растворах лизоцима



Заключение

- 1. МУРР и МУРН использованы в рамках комплексного подхода для получения структурной информации об организации водных растворов магнетоферритина и смесей с амилоидными агрегатами лизоцима.
- 2. Большие загрузки магнетоферритина приводят к нарушению структурной устойчивости белковой оболочки; как следствие, растворы характеризуются большой полидисперсностью в отношении «завершенности» оболочки.
- 3. Растворы магнетоферритина характеризуются «ступенчатой» (в отношении загрузочного фактора) агрегацией, связанной, по-видимому, с разрушением белковой оболочки.
- 4. Обнаружен эффект подавления амилоидной агрегации магнетоферритином с ростом загрузочного фактора.

Публикации

- L.Melnikova, Z.Mitroova, M.Timko, J.Kovac, M.Koralewski, M.Pochylski, M.V.Avdeev, V.I.Petrenko, V.M.Garamus, L.Almasy, P.Kopcansky, Physical characterization of iron oxide nanoparticles in magnetoferritin, *Magnetohydrodynamics* 49 (2013) 293–296
- L.Melníková, Z.Mitróová, M.Timko, J.Kováč, M.V.Avdeev, V.I.Petrenko, V.M. Garamus,
 L.Almásy, P. Kopčanský, Structural Characterization of Magnetoferritin,
 Mendeleev Comm. 24 (2014) 80
- L. Melníková, V.I. Petrenko, M.V. Avdeev, V.M. Garamus, L. Almásy, O.I. Ivankov, L.A. Bulavin, Z. Mitróová, P. Kopčanský, Effect of iron oxide loading on magnetoferritin structure in solution as revealed by SAXS and SANS, *Colloids and Surfaces B* (2014) in press.
- P. Kopcansky, K. Siposova, L. Melnikova, Z. Bednarikova, M. Timko, Z. Mitroova, A. Antosova, V. M. Garamus, V. I. Petrenko, M. V. Avdeev, Z. Gazova, Destroying activity of magnetoferritin on lysozyme amyloid fibrils, *J. Magn. Magn. Mater.* (2014) in press.
- L. Melníková, V.I. Petrenko, M.V. Avdeev, V.M. Garamus, L. Almásy, O.I. Ivankov,
 L.A. Bulavin, Z. Mitróová, P. Kopčanský, SANS contrast variation study of magnetoferritin structure at various iron loading, *J. Magn. Magn. Mater.* (2014) accepted.