

## Luonnonerittämät nanorakenteet uutena monipuolisena bioteknologisena materiaalina



Tämä BioFuture2025 projekti tarkastelee luonnosta ja sen organismeista viime vuosina identifioituja nano- ja mikrotason bioviestirakkuloita eli solun ulkoisia vesikkeleitä (extracellular vesicles, EV). EV:t ovat monisoluisissa organismeissa havaittu humoraalinen eli koko elimistön tason systeminen säätelyjärjestelmä. Vesikkeleiden pienestä koosta (virusten kokoluokkaa) johtuen ja siitä, että niitä tavataan lähes kaikissa eläin- ja kasvikunnan biologisissa nesteissä, ne voivat mahdollisesti toimia myös bioaerosoleina. EV:t kuljettavat monenlaisia molekyylejä kuten proteiineja, DNA/RNA:ta ja solujen metaboliitteja, jotka kulkeutuvat soluihin ja vaikuttavat niissä. Tämän vuoksi EV:t voivat tarjota keinoja mm. (bio)lääkkeiden solukohdennukseen kudoksiin, elimistön kuvantamiseen ja ei-invasiivisen kirurgian kehittämiseen. Puhdistetut tai massatuotetut EV:t voivat toimia myös uusina biolääkkeinä.

Kokoamme tietoa luonnossa esiintyvien solun ulkoisten vesikkeleiden koostumuksesta ja rakenteista. Olemme määrittäneet lehmän maidosta eristettyjen vesikkeleiden proteomin sekä selvittäneet minkä tyyppisiä nukleiinihappoja maidon vesikkelit kuljettavat. Olemme tunnistaneet useita proteiineja, joiden tiedetään rikastuvan solun ulkoisiin vesikkeleihin nisäkkäillä. RNA-sekvensoinnilla selvitimme minkä tyyppisiä RNA-molekyylejä maidon vesikkelit kuljettavat. Olemme tunnistaneet usean tyyppisiä RNA-molekyylejä kuten lyhyitä ja pitkiä ei-koodaavia RNA-molekyylejä, lähetti-RNA:ta, siirtäjä-RNA:ta ja ribosomaalista RNA:ta. Pienet mikro-RNA:t olivat selvästi yleisin RNA-tyyppi maidon vesikkeleissä. Ne osallistuvat geenien transkription jälkeiseen säätelyyn kohdesoluissa. Luomillamme bioinformatiikan työkaluilla vesikkeleiden sisältämiä nukleiinihappoja voidaan tunnistaa ja kvantitoida laajoista sekvenssiaineistoista. Analyysimenetelmillä voidaan lisäksi selvittää mihin biologisiin prosesseihin vesikkeleiden sisältämät nukleiinihapot todennäköisesti liittyvät.

Olemme myös kehittäneet funktionalisoidun nanoselluloosan, jonka kationisen pintavarauksen ansiosta voimme erottaa maidosta (ja mahdollisesti muistakin biologisista nesteistä) nopeasti bioaktiivisia nanovesikkeleitä käyttämällä tavallisia sentrifugeja. Tämä on

kustannustehokas, nopea ja helppo menetelmä, jolla voidaan korvata aikaa vievä, yleisesti käytetty ultrasentrifugointi. Massaspektrometrian mukaan uudella menetelmien voidaan erottaa vesikkeleitä, joiden proteiinikoostumus on sama kuin perinteisellä ultrasentrifugoinnilla. Menetelmän suorituskyky on hyvä ja se on helposti hyödynnettävissä myös muihinkin näytteisiin.

Nanoselluloosasta pakastekuivaamalla valmistetut erittäin huokoiset ja superkevyet nanoselluloosa-aerogeelit ovat osoittautuneet tehokkaiksi ilmansuodattimiksi.

Suodattamalla pienihiukkasia kokoalueella 10-250 nm on päästy yli 99,99 % suodatustehokkuuksiin. Suodattimien tehokkuutta tullaan testaamaan ilmassa olevien vesikkeleiden rikastamiseen ja erottamiseen

Olemme tunnistaneeet potentiaalisia munuaissyövän RCC (Clear cell Renal Cell Carcinoma) proteiini ja RNA EV markkereita, jotka indusoituvat hypoksia olosuhteissa kasvatetuissa soluviljelmissä. Olemme aloittaneet RCC-peräisten EV:en karakterisoinnin tuumorimekanismeissa käyttämällä kahta solutyyppiä: hiiren munuaissoluja ja primaarisia hiiren hepatosyyttejä, jotka edustavat tyypillisiä RCC:n metastointipaikkoja huonon ennusteen taudissa. Renca EV analyysin kautta tunnistettuja potentiaalisia kandidaatteja tuumorigeneesissä tutkitaan nyt laboratoriossa. Valmistamme Renca solulinjan mistä on poistettu caveolin-1 geeni käyttämällä Crispr/Cas9 genomien editointi menetelmää. Teemme myös kokeita, joissa seurataan EV:tä klassissa in vitro malleissa; kananalkio malli ja uusi munuaisorganoidi yhteiskasvatus malli mikä on kehitetty meidän ryhmässämme.

**Lisätietoja:**

Professori Seppo Vainio, Oulun yliopisto ([seppo.vainio@oulu.fi](mailto:seppo.vainio@oulu.fi))