

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики

к. б. н., доцент Нипорко О. Ю.

Протокол № __ засідання кафедри

від “__” _____ 2023 р.

**ІНТЕЛЕКТУАЛЬНИЙ АНАЛІЗ ДАНИХ ВЗАЄМОДІЇ БІЛКІВ З
ЛІПІДНИМИ НАНОКАПСУЛАМИ**

Випускна кваліфікаційна робота магістра
студента спеціальності 091 Біологія
ОП «Біоінформатика та структурна біологія»
Рижук Юрія Юрійовича

Науковий керівник:
завідувач кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
к. б. н., доцент **Нипорко Олексій Юрійович**

Оцінка захисту роботи

Київ – 2023 р.

АНОТАЦІЯ

Рижук Ю.Ю. Інтелектуальний аналіз даних взаємодії білків з ліпідними нанокапсулами. – Випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 091 біологія

Кваліфікаційна робота присвячена створенню публічно доступної бази даних взаємодії білків та нанокапсул ліпідної природи.

Поточний рівень знань про взаємодію ліпідних нанокапсул і білка та формування корони фрагментований між окремими дослідженнями. Відсутність централізованої системи обміну інформацією є проблемою для дослідників, які прагнуть використовувати знання про ці взаємодії для підвищення ефективності ліпідних наночастинок.

Вирішуючи цю потребу, ми створили, загальнодоступну базу даних, що зберігає дані про склад і фізико-хімічні властивості ліпідних нанокапсул, їхніх білкових корон, а також експериментальні умови, які використовуються в кожному дослідженні.

Робота охоплює розробку та наповнення бази даних, реалізацію прикладного програмного інтерфейсу для взаємодії з даними та створення веб-інтерфейсу для представлення даних. Ця ініціатива обіцяє стати кроком вперед у консолідації бази знань про взаємодію наночастинок і білків, сприяючи більш ефективному дизайну в області ліпідних нанокапсул.

Ключові слова: ліпідні нанокапсули; ліпідні наночастинки; білкова корона; база даних.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Ліпідні наночастинки для доставки ліків.....	6
1.2. Класифікація ліпідних наночастинок.....	7
1.2.1. Ліпосоми.....	7
1.2.2. Тверді ліпідні наночастинки.....	8
1.2.3. Наноструктуровані ліпідні носії.....	8
1.2.4. Гібридні ліпідно-полімерні наночастинки.....	9
1.3. Наночастинки та білкова корона.....	10
1.3.1. Формування та склад корони.....	10
1.3.2. Вплив білкової корони на біологічну долю наночастинок.....	12
1.3.3. Динаміка та еволюція білкової корони.....	12
1.3.4. Параметри, що впливають на білкову корону.....	14
1.3.4.1. Поверхневий заряд.....	14
1.3.4.2. Джерело білка.....	14
1.3.4.3. Розмір та форма.....	15
1.3.4.4. Статичне та динамічне середовище.....	16
1.3.5. Виклики у дослідженні ліпідних наночастинок та білкової корони.....	16
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ТА РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	18
2.1. База даних.....	18
2.2. Архітектура платформи.....	19
2.3. Прикладний програмний інтерфейс.....	21
2.4. Веб-сервер.....	24
2.5. Вебсайт.....	26
2.6. Контейнеризація та розгортання застосунку.....	32
РОЗДІЛ 3. УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ПОДАЛЬШІ ПЕРСПЕКТИВИ.....	35
ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	38

ВСТУП

Взаємодія між ліпідними наночастинами і білками відіграє вирішальну роль у визначенні їхньої біологічної долі, біорозподілу та терапевтичної ефективності при введенні *in vivo* [1–4]. Під впливом біологічних рідин наночастинок швидко покриваються різними білками, утворюючи корону, яка змінює їхні фізико-хімічні властивості та біологічну ідентичність [5, 6]. Розуміння природи та наслідків цих взаємодій має вирішальне значення для раціонального проектування ліпідних наночастинок як систем доставки ліків. Однак поточні знання про взаємодію наночастинок-білки та формування корони можна отримати з окремих досліджень, які використовують різноманітні експериментальні підходи та умови. Цей брак систематичної інформації створює проблеми для дослідників, які прагнуть зрозуміти та використовувати ці взаємодії для покращення продуктивності ліпідних наночастинок. Тому існує нагальна потреба систематизувати наявну інформацію про взаємодію наночастинок з білками та формування корони, щоб сприяти більш ефективному та обґрунтованому дизайну.

Суттєвим аспектом систематизації інформації є розробка комплексної бази даних, у якій зіставлені дані про склад і властивості білкових корон, утворених на різних типах наночастинок. Така база даних повинні включати інформацію про фізико-хімічні властивості наночастинок, ідентичність білка та його кількість, а також експериментальні умови, що використовуються в кожному дослідженні. Доступ до таких баз даних полегшить ідентифікацію тенденцій і кореляцій між властивостями ліпідних наночастинок і складом корони, допомагаючи дослідникам прогнозувати та маніпулювати білковою короною для покращення продуктивності таких агентів.

З огляду на вищевикладене, метою роботи було створити публічно доступну базу даних взаємодії білків та наночастинок ліпідної природи. Для досягнення мети потрібно було вирішити наступні завдання:

1. Розробити та наповнити базу даних для зберігання даних, пов'язаних із взаємодією білків та ліпідних нанокансул.
2. Впровадити прикладний програмний інтерфейс для взаємодії з даними.
3. Створити веб-інтерфейс для представлення даних.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ліпідні наночастинки для доставки ліків

Різні системи доставки лікарських засобів були розроблені з метою захистити активні компоненти, забезпечити збільшення ефективності ліків та спрямувати їх до відповідного місця дії. Наночастинки стали предметом досліджень для доставки лікарських препаратів протягом багатьох років. Такі наночастинки, такі як ліпосоми, наночастинки твердих ліпідів та наноструктуровані ліпідні носії, показали значний клінічний успіх у відправці як гідрофобних, так і гідрофільних терапевтичних агентів [7].

Доксил, перший нанопрепарат, схвалений Управлінням продовольства та медикаментів США, є пегільованою ліпосомою, наповненою доксорубіцином, що використовується для лікування раку молочної залози, раку яєчників та інших пухлин. У порівнянні з вільним доксорубіцином, пегільований ліпосомальний доксорубіцин має ряд переваг, таких як значне зниження кардіотоксичності, довший час перебування в плазмі крові людини та пасивно спрямовану доставку до пухлин. Клінічне схвалення Доксилу у 1995 році стало важливим кроком у розвитку наномедицини для лікування раку та ліпідних систем доставки лікарських засобів загалом [8].

Ліпідні наночастинки – відмінні носії для нуклеїнових кислот, таких як ДНК, мРНК та міРНК, через їх вражаючу біосумісність, можливість біодеградації та ефективне захоплення. Onpattro (патісіран) - це перша схвалена мала дволанцюгова інтерферуюча РНК, яка використовує ліпідні наночастинки [9]. Насправді, наночастинки, які містять катіонні ліпіди або рН-чутливі ліпіди, були використані для інкапсуляції та доставки нуклеїнових кислот з 1980-х років. Однак, вони можуть викликати небажану токсичність [8].

мРНК-вакцини проти COVID-19, розроблені BioNTech/Pfizer і Moderna, отримали дозвіл на екстрене використання, і обидві вони використовують ліпідні наночастинки, як носії мРНК. Такі наночапули не тільки захищають мРНК від деградації, але також забезпечують їх поглинання клітинами-господарями та доставку мРНК всередину цитозолу, де послідовність мРНК транслюється в S-білок [10].

1.2. Класифікація ліпідних наночастинок

Виділяють чотири основних класи наночастинок на основі ліпідів для доставки ліків: ліпосоми, тверді ліпідні наночастинок (ТЛН), наноструктуровані ліпідні носії (НЛН) та гібридні ліпідно-полімерні наночастинок (Рисунок 1.1)

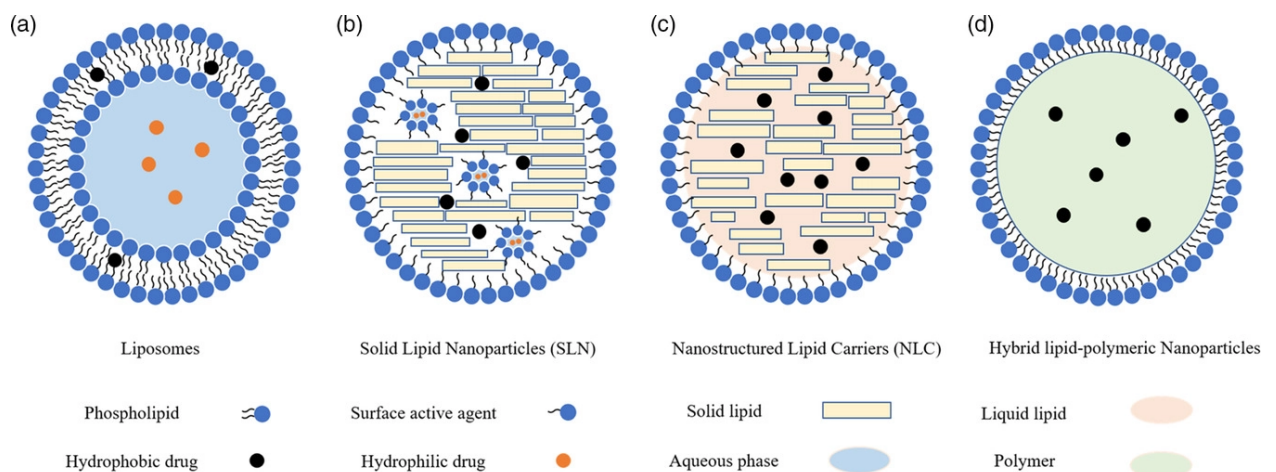


Рисунок 1.1. Схематичне зображення класів наночастинок на основі ліпідів: а) ліпосоми, б) тверді ліпідні наночастинок, с) наноструктуровані ліпідні носії і d) гібридні ліпідно-полімерні наночастинок [4].

1.2.1. Ліпосоми

Ліпосоми представляють собою сферичні структури, що зазвичай складаються з подвійного шару фосфоліпідів та внутрішнього водного ядра. Наноструктура ядро-оболонка ліпосом робить їх придатним для навантаження як гідрофобних, так і гідрофільних молекул. Зазвичай гідрофобні ліки інкапсулюються в ліпофільні подвійні шари оболонки, а гідрофільні ліки утримуються у водній фазі ядра [8, 11, 12].

1.2.2. Тверді ліпідні наночастинки

ТЛН складаються з повністю кристалізованих ліпідних компонентів і характеризуються високоорганізованою структурою з лікарськими засобами та емульгаторами. У середині 1990-х років ТЛН вперше були синтезовані, використовуючи тригліцериди, жирні кислоти та воски. ТЛН мають багато переваг, таких як підвищена стабільність наночастинок, відмінний захист активних компонентів, контрольоване вивільнення та можливість регулювати властивості шляхом зміни ліпідних компонентів. Однак стикаються з двома основними проблемами: поганим довготривалим зберіганням ліків та низькою здатністю до навантаження ліками. Під час зберігання ліпідний матрикс зазнає поліморфного переходу від стану з високою енергією до стану з низькою енергією, що призводить до формування більш організованої кристалічної решітки та поступового витіснення інкапсульованих лікарських речовин. Тому, для покращення стабільності, вводять рідкі ліпіди або солубілізатори [13, 14].

1.2.3. Наноструктуровані ліпідні носії

НЛН – друге покоління ліпідних наночастинок, з'явилося щоб подолати недоліки першого покоління, тобто ТЛН. НЛН стали перспективною системою доставки ліків завдяки своїм унікальним властивостям, які включають покращену стабільність, високу здатність завантажувати ліки та контрольоване вивільнення інкапсульованих терапевтичних агентів. НЛН складаються із суміші твердих і рідких ліпідів, які утворюють недосконалу аморфну структуру. Така структурна організація дозволяє розмістити широкий спектр лікарських засобів і покращити розчинність ліпофільних сполук, забезпечуючи привабливу платформу для різноманітних фармацевтичних застосувань. Однією з головних переваг НЛН перед іншими системами доставки ліків, такими як ліпосоми та ТЛН, є їх здатність долати обмеження, пов'язані з викидом ліків під час зберігання чи доставки. Крім того, аморфна природа таких наночастинок дозволяє краще

контролювати профілі вивільнення ліків, які можна адаптувати для досягнення тривалого, контрольованого або ініційованого вивільнення залежно від терапевтичних вимог [15, 16].

1.2.4. Гібридні ліпідно-полімерні наночастинки

Гібридні ліпідно-полімерні наночастинки з'явилися як інноваційна та універсальна система доставки ліків, яка поєднує переваги як ліпідів, так і полімерів. Завдяки поєднанню біосумісних і біорозкладаних характеристик ліпідів із міцністю та стабільністю полімерів, пропонують унікальну платформу для інкапсуляції та цільової доставки різних терапевтичних агентів, включаючи малі молекули, пептиди, білки та нуклеїнові кислоти [17].

Подвійна композиція дозволяє одночасно інкапсулювати гідрофільні та гідрофобні препарати, долаючи обмеження, пов'язані зі звичайними наночастинками на основі ліпідів або полімерів. Крім того, наявність ліпідного шару може підвищити біосумісність і поглинання клітинами наночастинок, тоді як полімерне ядро може забезпечити структурну стабільність і контрольовані профілі вивільнення ліків. Крім того, поверхню таких гібридні наночастинок можна функціоналізувати за допомогою націлюючих лігандів або фрагментів, що реагують на стимули, що також покращує специфічність та робить можливим вивільнення за вимогою інкапсульованих терапевтичних агентів [18, 19].

Незважаючи на потенціал гібридних ліпідно-полімерних наночастинок як передової платформи доставки ліків, потрібно усунути кілька перешкод, щоб повністю використати їхній терапевтичний потенціал. Серед таких викликів – оптимізація параметрів рецептури, комплексна оцінка довгострокової безпеки та біосумісності, а також з'ясування долі наночастинок *in vivo*, включаючи їх взаємодію з імунною системою та біологічними бар'єрами [18].

1.3. Наночастинки та білкова корона

Дослідження ліпідних наночастинок набуло значного імпульсу в останні роки завдяки їх перспективному застосуванню в доставці ліків та генній терапії [4, 10, 20–22]. Вирішальним аспектом дослідження ліпідних наночастинок є розуміння утворення корони – адсорбції білків та інших біомолекул на поверхні наночастинок при введенні в біологічне середовище. Вони сприяють новій біоідентичності після адсорбції білка [23–25]. Отже, важливо розуміти обидва типи корон у випадку наночастинок, розроблених для біомедичних застосувань.

1.3.1. Формування та склад корони

Формування корони починається, коли наночастинки вводяться в біологічне середовище, де вони взаємодіють з безліччю біомолекул, насамперед білків [23]. “Жорстка” корона виникає через селективне та високоафінне зв’язування специфічних біомолекул з поверхнею наночастинок, кероване різними силами, такими як електростатичні, гідрофобні та ван-дер-ваальсові взаємодії. Склад корони визначається такими факторами, як фізико-хімічні властивості наночастинок, включаючи розмір, поверхневий заряд і хімічний склад поверхні, а також природою біологічного середовища [26]. Крім того, на тверду корону може впливати так званий «ефект Вромана», коли високоафінні білки з низькою концентрацією з часом витісняють білки з низькою афінністю та високою концентрацією [27].

“Жорстка” корона має чітко визначену та стабільну структуру, яка характеризується компактним шаром міцно зв’язаних біомолекул на поверхні наночастинок. Ці біомолекули часто зазнають конформаційних змін після зв’язування з її поверхнею, що може додатково стабілізувати жорстку корону [23, 26, 28]. Завдяки своїй стабільній природі “жорстку” корону можна легше досліджувати та аналізувати, ніж “м’яку” корону. Протеоміка на основі мас-спектрометрії є найбільш поширеним методом ідентифікації та кількісного визначення складу корони [29–31].

Склад «м'якої» корони сильно залежить від локальної концентрації та типів біомолекул, а також як і «жорстка» корона – від фізико-хімічних властивостей наночастинок, таких як розмір, поверхневий заряд і хімічний склад поверхні [23]. У біологічному середовищі «м'яка» корона піддається постійним коливанням, при цьому біомолекули швидко обмінюються з навколишнім середовищем, що призводить до динамічного та неоднорідного складу корони [23, 26].

«М'яка» корона характеризується нещільно зв'язаним шаром біомолекул, що утворює дифузну та неоднорідну структуру на поверхні наночастинок. Порівняно з «твердою» короною, «м'яка» має нижче загальне покриття білками і слабшу афінність зв'язування з наночастинками [30]. Через свою динамічну природу «м'яка» корона може бути складною для вивчення та аналізу, потребує передових аналітичних методів, таких як поверхневий плазмонний резонанс і динамічне розсіювання світла, щоб дослідити її структуру та властивості [30]. Схематичне зображення «жорсткої» та «м'якої» корони зображено на Рисунку 1.2.

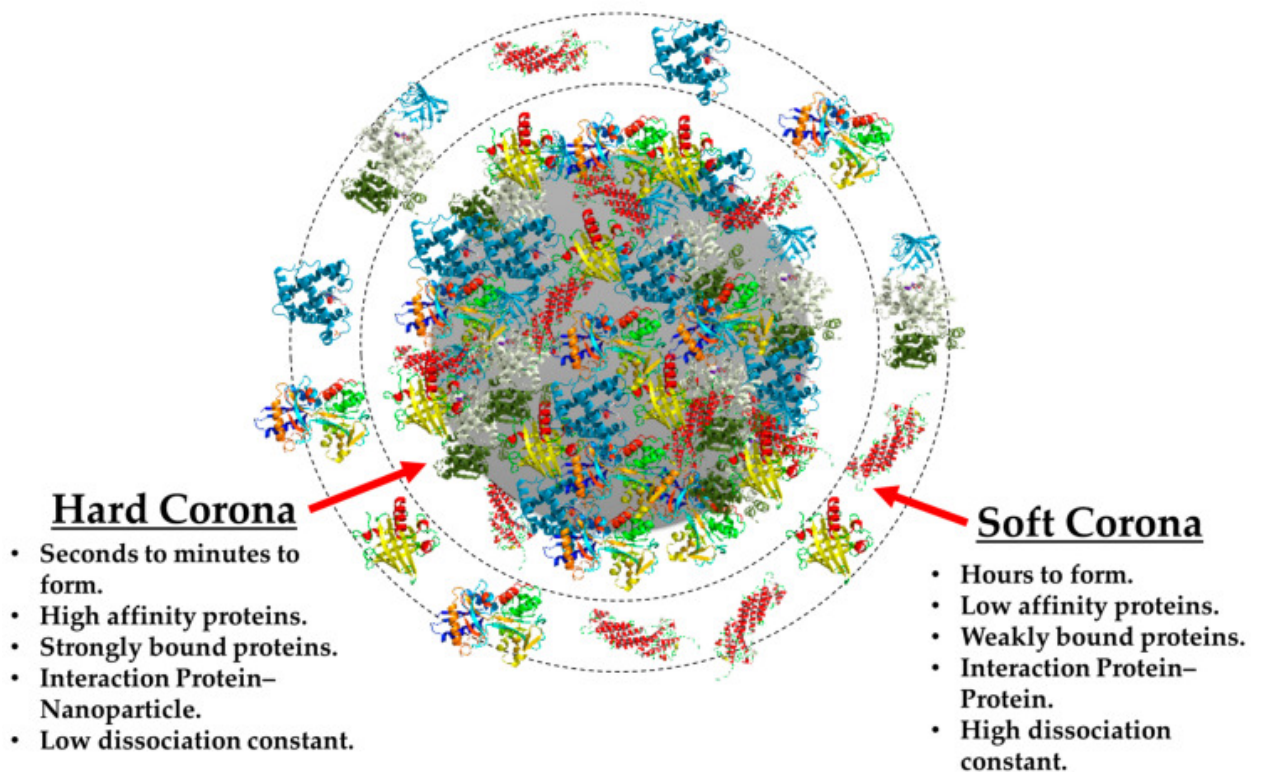


Рисунок 1.2. Схематичне порівняння основних відмінностей «жорсткої» корони від «м'якої» [23].

1.3.2. Вплив білкової корони на біологічну долю наночастинок

Склад білкової корони істотно впливає на долю наночастинок всередині організму. Загалом, адсорбція опсонінів, таких як фібриноген, IgG і фактор комплементу, сприяє фагоцитозу та видаленню наночастинок з кровотоку [32–34]. Адсорбція дизопсонінів збільшує тривалість циркуляції в крові. Аполіпропротеїни також сприяють взаємодії з ліпопротеїновими рецепторами, що покращує транспорт через гематоенцефалічний бар'єр та збільшує тривалість циркуляції в крові. Аполіпропротеїни також сприяють взаємодії з ліпопротеїновими рецепторами, що посилює транспортування через гематоенцефалічний бар'єр. Наночастинки, функціоналізовані гідрофільними полімерами, демонструють покращені властивості циркуляції та знижене розпізнавання макрофагами [30, 32, 35].

Загальноприйнятою стратегією дизайну наночастинок є пегілювання, яке значно зменшує зв'язування з білками, допомагає уникнути розпізнавання макрофагів, однак також створює стеричну перешкоду для інтерфейсу частинка–клітинна мембрана. Загалом, опсонізація та дизопсонізація є динамічними конкуруючими процесами. Для видалення частинок важливі як кількість зв'язаних опсонінів, так і сайти зв'язування на поверхні наночастинок, які розпізнають макрофаги [33, 36–38].

1.3.3. Динаміка та еволюція білкової корони

Приєднання білків із біологічного середовища призводить до утворення “твердих” і “м'яких” корон з довгим і коротким часом обміну відповідно. Досліджено, що типовий час життя “твердої” корони становить багато годин [39].

Корона не є фіксованим шаром, а її склад визначається швидкістю кінетики адсорбції та десорбції кожного білка. У більшості випадків білки з високим вмістом у плазмі адсорбуються на поверхні, і з часом вони замінюються білками з меншою концентрацією, але більш високою спорідненістю. Цей процес може тривати кілька годин [30].

Було змодельовано адсорбцію білка плазми за допомогою біекспоненціальної функції [40]. Ця модель розрізняє адсорбцію та десорбцію білка на “швидку” та “повільну” складові. Під час адсорбції наночастинок білками плазми, швидка частина (жорстка корона) формується протягом секунд, тоді як повільна частина (м'яка корона) виникає на часовій шкалі від хвилин до годин. Десорбція виявляє схожу поведінку зі середнім часом життя близько 10 хвилин для швидкої частини (м'яка корона) та близько 8 годин для повільної частини (жорстка корона). Жорстка корона є більш важливою, ніж м'яка корона, у визначенні фізіологічної відповіді. Через довгий час затримки тверда корона залишається адсорбованою на наноматеріалі під час біофізичних подій, таких як ендоцитоз [40].

Білки, адсорбовані на наноматеріалі, знаходяться в безперервному стані динамічного обміну. У будь-який момент білок може десорбуватися, дозволяючи іншим білкам взаємодіяти на поверхні наночастинок. Такі зміни в складі білкової корони в результаті десорбції/адсорбції, як зазначалося вище, відомі як ефект Вромана. Цей ефект враховує, що ідентичність адсорбованих білків може змінюватися з часом, навіть якщо загальна кількість адсорбованого білка залишається приблизно постійною. Під час початкового формування білкової корони білки з найвищими показниками асоціації адсорбуються на наноматеріалі [27, 30]. Під час адсорбції білка плазми ефект Вромана можна розділити на «ранню» та «пізню» стадії. На ранній стадії відбувається швидка адсорбція альбуміну, IgG та фібриногену, які на другому етапі замінюються аполіпопротеїнами та факторами згортання. Математичне моделювання підтверджує, що висока кількість і швидка дисоціація альбуміну та фібриногену, які поєднуються з невеликою кількістю та повільною дисоціацією аполіпопротеїнів спричиняють послідовну адсорбцію [41].

1.3.4. Параметри, що впливають на білкову корону

Різними групами дослідників [6, 35, 39, 42, 43] були розглянуті різноманітні параметри, такі як розмір наночастинок, форма, кривизна, поверхневий заряд (дзета-потенціал), розчинність, модифікація поверхні, що відіграють значну роль у визначенні складу, товщини та конформації білкової корони.

1.3.4.1. Поверхневий заряд

Відомо, що зі збільшенням поверхневого заряду наночастинок адсорбція білка також зростає. Наприклад, ліпідні наночастинок, що містять аніонні або катіонні головні групи фосфоліпідів, активують комплемент ефективніше, ніж ті, що несуть нейтральні головні групи, тоді як ліпосоми, що містять катіонні ліпіди DOTMA або BisHOP, індукують більше згортання крові. Серед заряджених ліпосом катіонні ліпосоми мають тенденцію адсорбувати більше білків, ніж їхні аніонні аналоги. Ліпосоми, виготовлені з аніонних або катіонних ліпідів, мають тенденцію переважно адсорбувати основні або кислі білки плазми, відповідно. Позитивно заряджені наночастинок віддають перевагу адсорбції білків з ізоелектричними точками (pI) < 5,5, наприклад альбумін, тоді як негативний поверхневий заряд сприяє адсорбції білків з pI > 5,5, таких як IgG [6, 34, 44].

1.3.4.2. Джерело білка

Протеїнова корона залежить від джерела білка (наприклад, сироватка чи плазма) та тваринного походження (наприклад, мишача плазма чи людська). Caracciolo з командою [45] показали, що ліпосоми в мишачій плазмі мають більш негативний заряд, менше опсонінів і більше аполіпропротеїнів порівняно з аналогами в людській плазмі. Різне збагачення ліпопротеїнами може вказувати на відмінності у часі циркуляції та фармакокінетиці ліпосом у кровотоці мишей та людей.

Недавні дослідження демонструють, що у людей з деякими хворобами можуть бути різні протеїнові корони. Виходячи з цих результатів, Najroug з колегами запропонували концепцію "індивідуальної протеїнової корони" як визначальний чинник для клінічних та біологічних застосувань [46].

В іншому дослідженні брали участь здорові учасники та пацієнти з гістологічно підтвердженим раком підшлункової залози, і було зареєстровано статистично важливе зниження рівня клінічно значущих білків [47].

1.3.4.3. Розмір та форма

Оскільки, як зазначалося вище, утворення білкової корони навколо наночастинок обумовлено різними факторами, включаючи електростатичні, ван-дер-ваальсові та гідрофобні взаємодії – розмір частинок впливає на ці взаємодії, що призводить до змін в адсорбції білків на поверхні наночастинок. Менші ліпідні нанокapsули мають більш високе співвідношення площі поверхні до об'єму, що призводить до збільшення кривизни поверхні та загальної вищої поверхневої енергії. Отже, більш дрібні частинки більш схильні до адсорбції білків, оскільки білки можуть мінімізувати поверхневу енергію [2, 35].

Кілька досліджень продемонстрували залежний від розміру вплив на склад білкової корони. Менші наночастинки часто асоціюються з більшою кількістю білків з високою молекулярною масою, тоді як більші, як правило, мають більшу частку білків з низькою молекулярною масою. Ця залежна від розміру зміна складу білкової корони може бути пов'язана з відмінностями в кінетиці адсорбції білка та доступності специфічних сайтів зв'язування на поверхні наночастинки [43].

Залежні від розміру частинок склад і динаміка білкової корони можуть мати значний вплив на клітинне поглинання та біорозподіл нанокapsул. Менші частинки з більш динамічними білковими коронами, як правило, пов'язані з більш високою швидкістю поглинання клітинами, оскільки

швидкий обмін білками на поверхні наночастинки може полегшити взаємодію з рецепторами клітинної поверхні [1].

Розмір наночастинок може впливати на динаміку формування білкової корони, включаючи швидкість обміну білків між поверхнею наночастинок і навколишнім середовищем. Менші частинки зазвичай демонструють більш динамічні білкові корони завдяки вищій поверхневій енергії та швидшій кінетиці адсорбції. Навпаки, більші ж мають тенденцію утворювати стабільніші білкові корони з нижчою швидкістю обміну білка [35].

1.3.4.4. Статичне та динамічне середовище

Необхідно враховувати різницю в складі та кількості білкової корони в статичних і динамічних умовах. Різноманітні попередні дослідження взаємодій між білком і наночастинками часто проводилися в статичних умовах [36, 48], тоді як наночастинки часто вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції та негайно взаємодіють з білком крові під різними напругами зсуву в гідродинамічних умовах тіла. Білкова корона наночастинок у динамічних рідинних умовах, очевидно, відрізняється, від таких в статичних умовах [26, 49]. При 40 см/с, що дорівнює швидкості черевної аорти, ліпосоми, покриті ПЕГ, у динамічних рідинних умовах несли більший негативний заряд порівняно зі своїми статичними аналогами, але їхні розміри були подібними, що свідчить про різницю між компонентами зв'язування білка та кількістю кожного білка. Крім того, різноманітність білків у білковій короні під потоком рідини було значно ширшою [37, 50]. Таким чином, важливо оцінити взаємодію білок-наночастинка в середовищі, яке імітує фізіологічні умови *in vivo*.

1.3.5. Виклики у дослідженні ліпідних наночастинок та білкової корони

Незважаючи на багатообіцяючі властивості ліпідних наночастинок, що описані раніше, необхідно вирішити кілька проблем, щоб повністю

використати їхній потенціал у системах доставки ліків і перевести у клінічну практику.

Однією з головних проблем у розробці ліпідних наночастинок є оптимізація параметрів рецептури для досягнення бажаних фізико-хімічних властивостей, таких як розмір частинок, заряд поверхні та здатність до завантаження лікарського засобу. Ці властивості мають вирішальне значення для визначення поведінки *in vivo*, біорозподілу та терапевтичної ефективності. Вибір відповідних ліпідів, поверхнево-активних речовин і методів приготування є дуже важливим для отримання стабільних і відтворюваних частинок з оптимальними властивостями.

Взаємодія нанокапсул з біологічними бар'єрами та імунною системою є ще одним критичним аспектом, який необхідно ретельно зрозуміти для розробки ефективних систем доставки ліків. Утворення білкової корони навколо наночастинок може суттєво впливати на їх поглинання клітинами, біорозподіл та імуногенність [51]. Отримання більш глибокого розуміння механізмів, що лежать в основі формування білкової корони, та його впливу на поведінку ліпідних наночастинок *in vivo* є вирішальним для розробки ліпідних нанокапсул з покращеною терапевтичною ефективністю.

Ще одним викликом є відсутність систематизації даних у вигляді баз даних. Без централізованого та організованого сховища інформації стає все важче розрізнити моделі, взаємозв'язки та ключові фактори, які впливають на взаємодію нанокапсула-білки та їх подальший вплив на поведінку *in vivo*. Цей брак систематизованої інформації перешкоджає ефективному порівнянню результатів різних досліджень, що часто призводить до фрагментарних і неповних знань. Як наслідок, дослідники можуть зіткнутися з труднощами в розробці раціональних стратегій дизайну для наночастинок з адаптованими білковими коронами, які оптимізують терапевтичну ефективність, безпеку та цільову специфічність.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ТА РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. База даних

Основним компонентом системи, яка служить її ядром, є база даних, яка відповідає за зберігання важливих даних, пов'язаних з білковими коронами ліпідних наночастинок. Дані отримані з різних наукових статей зібрані у ручному режимі. Пошук статей проводився за ключовими словами та у розділах з пов'язаними статтями на таких інформаційних ресурсах як pubs.rsc.org, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov та scholar.google.com.

У цьому проекті MongoDB використовується як основна база даних. MongoDB — це база даних NoSQL, яка пропонує високу продуктивність, доступність і легку масштабованість. Вона працює на основі концепції колекцій і документів, використовуючи для зберігання документів гнучкий, схожий на JSON формат під назвою BSON. На відміну від традиційних реляційних баз даних, документоорієнтована модель даних MongoDB робить її надзвичайно універсальною в управлінні даними. Програма взаємодіє з базою даних MongoDB за допомогою модуля PyMongo, дозволяючи ефективно надсилати запити та маніпулювати даними. Щоб забезпечити цілісність даних, для перевірки даних перед вставленням або оновленням використовується схема JSON.

База даних містить колекцію під назвою “nanoparticles”, де зберігається інформація про наночастинок, при цьому кожен документ у колекції представляє унікальну наночастинку. Колекція включає наступні дані про наночастинок:

- Хімічний склад наночастинок (рядок, обов'язково)
- Середній гідродинамічний діаметр або розмір (нм) (число або null, необов'язково)
- Дзета-потенціал (мВ) (число або null, необов'язково)

- Індекс полідисперсності (PDI) (число або null, необов'язково)
- Метод ідентифікації білків (рядок, обов'язково)
- Стаття
 - DOI (рядок, обов'язково)
 - Заголовок (рядок, обов'язково)
- Корони
 - Середній гідродинамічний діаметр або розмір (нм) (число або null, необов'язково)
 - Дзета-потенціал (мВ) (число або null, необов'язково)
 - Індекс полідисперсності (число або null, необов'язково)
 - Джерело білків (рядок, обов'язково)
 - Час взаємодії (хв) (рядок, обов'язково)
 - Тип експерименту (in vitro/in vivo) (рядок, обов'язково)
 - Ідентифіковані білки
 - Ім'я (рядок, обов'язково)
 - Відносне білкове різноманіття (число або null, необов'язково)

Схема бази даних була розроблена для збору важливої інформації про наночастинки, їхні білкові корони та наукові статті, з яких отримано дані. Оскільки протоколи дослідження білкових корон відрізняються, у статтях не завжди наведено всі параметри, у яких ми зацікавлені, тому було вирішено зробити ці параметри не обов'язковими. Якщо вони не вказані – у базі даних позначені як null.

2.2. Архітектура платформи

Архітектура розроблена таким чином, щоб бути модульною, масштабованою та легкою в обслуговуванні, гарантуючи, що вона може адаптуватися до потреб (Рисунок 2.1).

Користувачі безпосередньо взаємодіють з вебсайтом, який є зовнішнім компонентом цієї системи. Усі дані бази даних доступні для користувача у

різних варіантах. Веб-сторінки видаються за допомогою веб-сервера Nginx, який у даному випадку є зворотним проксі – перенаправляє запити на Python програму. Python код напряму взаємодіє з базою даних і може відправляти потрібні дані за запитом а також динамічно генерувати веб сторінки з HTML-шаблонів, які й бачить кінцевий користувач.

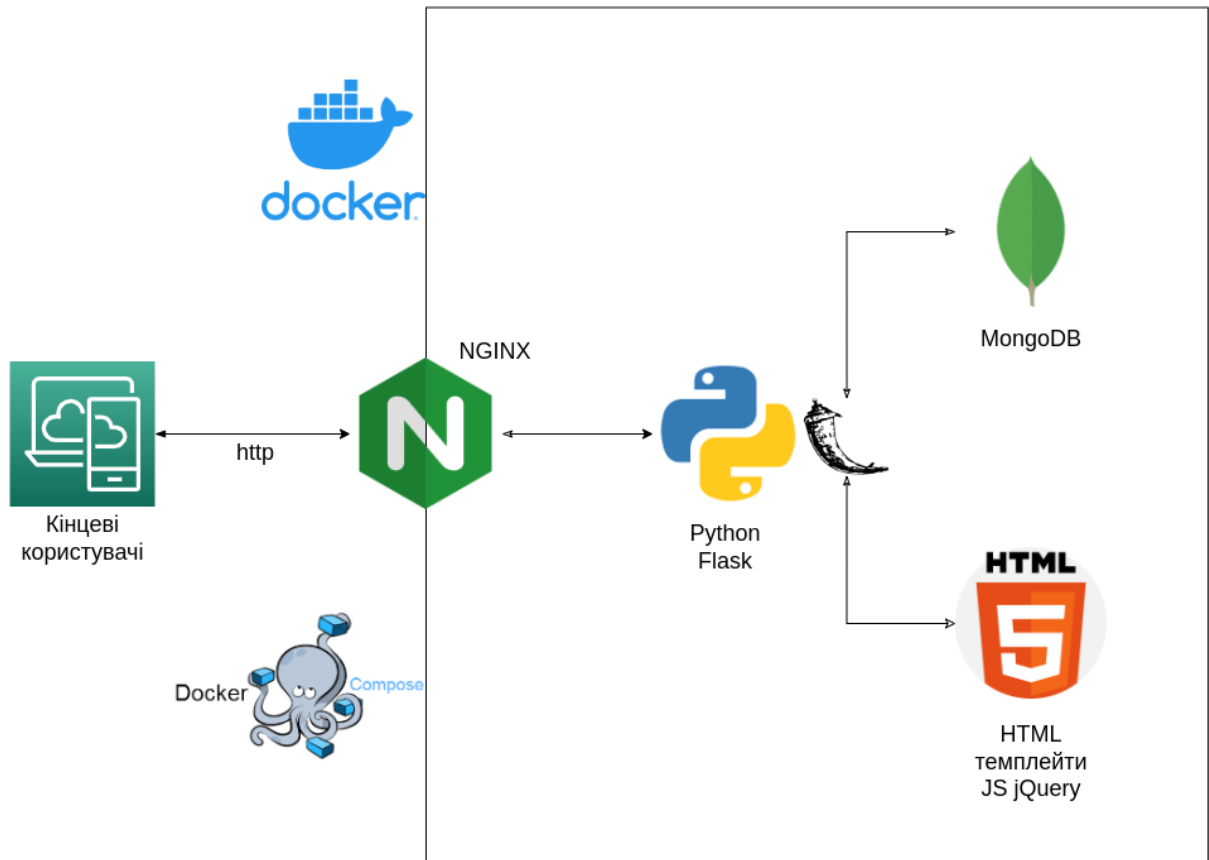


Рисунок 2.1. Загальна схема архітектури застосунку

Розглянемо різні компоненти системи окремо.

База даних: MongoDB було обрано як систему керування базою даних для програми завдяки її гнучкій схемі, високій продуктивності та масштабованості.

Прикладний програмний інтерфейс: програма реалізує архітектурний підхід RESTful, створений за допомогою Python фреймворку Flask. Він надає стандартний інтерфейс для доступу та маніпулювання даними які зберігаються в MongoDB. Прикладний програмний інтерфейс розроблений як

гнучкий, ефективний і простий у використанні, дозволяючи створювати різні програми та інструменти, які взаємодіють з даними.

Вебсайт: створений з використанням фреймворку Flask, який служить основою як для прикладного програмного інтерфейсу, так і для веб-сторінок. Flask дозволяє створювати динамічні шаблони HTML, які включають JavaScript і jQuery код для покращеної інтерактивності та взаємодії з користувачем.

Веб-сервер: Nginx використовується для обробки вхідних HTTP-запитів. Nginx діє як зворотний проксі, пересилаючи запити до програми Flask і повертаючи її відповіді клієнту. Це налаштування забезпечує підвищену продуктивність і безпеку, а також покращене балансування навантаження та підтримку SSL/TLS.

Docker і Docker Compose: уся програма контейнеризована за допомогою Docker, що дозволяє ізолювати кожен компонент і його залежності, спрощуючи розгортання та обслуговування. Docker Compose використовується для організації розгортання та керування різними контейнерами Docker, що полегшує налаштування та запуск багатоконтейнерних програм. Використання Docker і Docker Compose гарантує, що програма є портативною, масштабованою та легкою для керування в різних середовищах.

Весь код та конфігурація програми доступні онлайн (<https://github.com/Yur-k/lipid-nanoparticles-db>).

2.3. Прикладний програмний інтерфейс

Застосунок використовує прикладний програмний інтерфейс імплементуючи архітектурний стиль RESTful, який використовує HTTP-запити для доступу та обробки даних. REST, що означає Representational State Transfer, не має стану, тобто кожен HTTP-запит виконується повністю ізольовано. Коли робиться HTTP-запит, він повинен містити всю необхідну інформацію, щоб сервер міг виконати цей запит.

Сервер не може зберігати інформацію, надану клієнтом в одному запиті, і використовувати її в іншому. Клієнт обробляє інтерфейс користувача та взаємодію з користувачем, тоді як сервер зберігає та обробляє дані відповідно до запиту клієнта.

Написаний на Python прикладний програмний інтерфейс з використанням веб-фреймворку Flask, полегшує керування даними, включаючи операції CRUD (створення (create), читання (read), оновлення (uppdate) та видалення (delete)). Дані, що передаються під час цих операцій, відформатовано в JSON, який є легким і легко читається, що робить його ідеальним для обміну даними між клієнтом і сервером.

Код прикладного програмного інтерфейсу починається з імпорту необхідних бібліотек і встановлення підключення до бази даних MongoDB. Схема для даних завантажується та застосовується як валідатор, гарантуючи, що дані дотримуються вказаної структури (Рисунок 2.2).

Далі визначається ряд кінцевих точок прикладного програмного інтерфейсу для обробки різних операцій:

1. Перевірка працездатності (*/health*): проста кінцева точка GET, яка повертає повідомлення «ок», яке вказує на те, що програму запущено та вона працює.
2. Додати наночастинку(-ки) (*/api/np/add*): кінцева точка POST, яка приймає дані у формі JSON, що представляють одну або кілька наночастинок. Дані перевіряються на наявність дублікатів перед додаванням до бази даних. Якщо дублікат виявлено, він не додається і повертається відповідне повідомлення.
3. Оновити наночастинку (*/api/np/update/<id>*): кінцева точка PUT, яка приймає ідентифікатор наночастинок та оновлені дані. Перед оновленням зазначеної наночастинок дані також перевіряються на наявність дублікатів.
4. Отримати наночастинок (*/api/np/get*): кінцева точка GET, яка отримує всі наночастинок в базі даних.

5. Отримати наночастинку за ідентифікатором (`/api/np/get/<id>`): кінцева точка GET, яка приймає ідентифікатор наночастинки та повертає відповідні дані наночастинки у форматі JSON.
6. Видалити наночастинку за ідентифікатором (`/api/np/delete/<id>`): кінцева точка DELETE, яка приймає ідентифікатор наночастинки та видаляє відповідну наночастинку з бази даних.

```
1 from flask import Flask, request, jsonify, render_template
2 from pymongo import MongoClient
3 from bson import ObjectId
4 import json
5 import loguru
6
7 app = Flask(__name__)
8
9 logger = loguru.logger
10 # Load json schema for db
11 with open('schema.json', 'r') as file:
12     schema = file.read()
13 schema = json.loads(schema)
14
15 # Connect to MongoDB
16 client = MongoClient("mongodb://mongodb:27017/")
17 db = client["nanoparticles_database"]
18 collection_name = "nanoparticles"
19
20 # Apply schema as validator
21 if collection_name not in db.list_collection_names():
22     db.command("create", collection_name, validator=schema)
23 else:
24     db.command("collMod", collection_name,
25                validator=schema,
26                validationLevel="strict",
27                validationAction="error")
```

Рисунок 2.2. Імпортування модулів та підключення до бази даних

2.4. Веб-сервер

Веб-сервером для цієї програми є Nginx, високопродуктивний HTTP-сервер із відкритим кодом. Nginx відомий своєю стабільністю, багатим

набором функцій, простою конфігурацією та низьким споживанням ресурсів. Він служить воротами для програми у зовнішній світ, обробляючи вхідні HTTP-запити та направляючи їх до програми Flask, що працює в контейнері Docker, та відправляє відповіді у вигляді HTML-сторінок, цільових даних або результатів виконання назад користувачу.

Налаштування Nginx для цього проекту визначено в трьох файлах: `Dockerfile`, `python-api.conf` і `nginx.conf`.

`nginx.conf` є основним файлом конфігурації для Nginx (Рисунок 2.3). Він починається із завантаження модулів Brotli для стиснення, встановлює для користувача «root» і дозволяє робочому процесу автоматично налаштовуватися на основі кількості ядер центрального процесору. Блок «http» містить кілька директив конфігурації для обробки запитів HTTP, включаючи `gzip` і `brotli` для стиснення, параметри SSL, параметри журналювання, а також включає усі додаткові конфігураційні файли, розташовані в каталогах `/etc/nginx/conf.d` і `/etc/nginx/sites-enabled`.

`python-api.conf` визначає серверний блок у конфігурації Nginx (Рисунок 2.4). Він встановлює зворотний проксі для програми Flask, що працює на порту 5000 у контейнері «flask». Вхідні запити до Nginx на порт 80 пересилаються до Flask програми. Він також встановлює необхідні заголовки проксі-сервера, щоб забезпечити отримання програмою правильних даних запиту.

```

1 load_module modules/nginx_http_brotli_filter_module.so;
2 load_module modules/nginx_http_brotli_static_module.so;
3
4 user root;
5 worker_processes auto;
6 pid /run/nginx.pid;
7 include /etc/nginx/modules-enabled/*.conf;
8
9 events {
10     worker_connections 768;
11 }
12
13 http {
14     ##
15     # Basic Settings
16     ##
17     sendfile on;
18     tcp_nopush on;
19     types_hash_max_size 2048;
20
21     include /etc/nginx/mime.types;
22     default_type application/octet-stream;
23
24     ##
25     # SSL Settings
26     ##
27     ssl_protocols TLSv1 TLSv1.1 TLSv1.2 TLSv1.3;
28     ssl_prefer_server_ciphers on;
29
30     ##
31     # Logging Settings
32     ##
33     access_log /var/log/nginx/access.log;
34     error_log /var/log/nginx/error.log;
35
36     ##
37     # Gzip Settings
38     ##
39     gzip on;
40
41     brotli on;
42     ##
43     # Virtual Host Configs
44     ##
45     include /etc/nginx/conf.d/*.conf;
46     include /etc/nginx/sites-enabled/*;
47 }

```

Рисунок 2.3. Основні налаштування веб-сервера

Dockerfile відповідає за налаштування екземпляра Nginx у контейнері Docker. *Dockerfile* розділений на два етапи. Перший етап базується на образі Debian, де завантажується, компілюється Nginx і встановлюються додаткові

модулі, такі як Brotli для стиснення даних. Другий етап базується на образі Alpine, який є легким і не містить нічого зайвого, де копіюються бінарний файл Nginx, модулі та файли конфігурації з першого етапу. Файл Docker закінчується розкриттям портів 80 і 443, які є стандартними портами HTTP і HTTPS відповідно.

```
1 server {
2     listen 80 default_server;
3     server_name _;
4
5     location / {
6         proxy_pass http://flask:5000/;
7         # Redefine the header fields that NGINX sends
8         # to the upstream server
9         proxy_set_header Host $host;
10        proxy_set_header X-Real-IP $remote_addr;
11        proxy_set_header X-Forwarded-For
12        \ $proxy_add_x_forwarded_for;
13    }
14 }
```

Рисунок 2.4. Налаштування зворотного проксі

2.5. Вебсайт

Для реалізації сайту ми, як вже зазначалося, використовували фреймворк Flask. Візуальні елементи, такі як кнопки, були реалізовані за допомогою бібліотеки Bootstrap, а форма для введення даних за допомогою JavaScript-бібліотека jQuery. Інтерфейс програми, рівень, з яким користувачі взаємодіють безпосередньо, розроблений щоб бути зручним у використанні.

При відкритті головної сторінки користувачам пропонується загальний опис та мета вебсайту. Загалом, основне призначення – репрезентація бази даних у різних варіантах. Сторінка Database (Рисунок 2.5.) містить абсолютно всі дані з бази даних у табличному форматі, які можуть бути експортовані у форматі CSV та в подальшому завантажені у програми для опрацювання табличних даних.

[Main](#) [Database](#) [Nanoparticles](#) [Coronas](#) [DB JSON](#) [Add nanoparticle](#) [Programmatic access](#)

Database

Search:

Copy CSV

Zeta Potential (mV)	Corona Zeta Potential (mV)	NP PDI	Corona NP PDI	Protein Identification Method	Exposure Time (min)	Experiment Type	Protein
-20.3	-36.54	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vitro	Alpha-globin 1
-20.3	-36.54	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vitro	Alpha-18-glycoprotein
-20.3	-36.54	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vitro	Serotransferrin
-20.3	-36.54	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vitro	Actin, cytoplasmic 1
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Apolipoprotein C-III
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Apolipoprotein E
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Hemoglobin subunit beta-1
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Beta-globin
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Alpha-2-macroglobulin
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Alpha-globin 1
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Ig mu chain Cregion
-20.3	-27.87	0.05	0.17	LC-MS-MS	10	in vivo	Serum albumin

Showing 1 to 1,694 of 1,694 entries

Рисунок 2.5. Сторінка Database, репрезентує всі дані про наночастинки та білки.

Сторінка Nanoparticles (Рисунок 2.6.), також у табличному вигляді, відображає дані про унікальні наночастинки, включаючи хімічний склад, розмір, заряд, індекс полідисперсності, кількість досліджених білкових корон та унікальний ідентифікатор, який має гіперпосилання на сторінку з конкретною наночастинкою, яка представлена у вигляді інформаційної картки (Рисунок 2.7). Остання містить всю інформацію про нанокапсулу: її характеристики, характеристики її білкових корони та власне білкове різноманіття.

Окрема сторінка виділена для білкових корон (Рисунок 2.8.), де міститься інформація взаємодію білків з наночастинками у біологічному середовищі, а саме тип експерименту (*in vivo/in vitro*), час перебування наночастинки в середовищі, джерело білку, фізико-хімічні характеристики корони та ідентифіковані білки.

Виділено блок сторінок для ознайомлення з можливостями програмного доступу, де описано прикладний програмний інтерфейс програми, наведено приклади запитів та описана схема бази даних (Рисунок 2.9).

Main Database Nanoparticles Coronas DB JSON Add nanoparticle Programmatic access

Nanoparticles

Copy CSV Search:

Nanoparticle Type	NP Diameter (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI	Protein source	Number of coronas	Protein Identification Method	Nanoparticle ID
DC:Chol	99.6	59.2	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798938
DC:Chol:Chol	85.6	55.6	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d179893a
DC:Chol:DOPE	119.2	56.3	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798939
DL:Chol:DMPE-PEG2000(C14-0)	91.8	-0.3	0.08		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d179893f
DL:Chol:DMPE-PEG2000(C14-C14)	91.3	-1.3	0.06		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d179893e
DL:Chol:DSPE-PEG2000(C18-0)	89.5	-1	0.1		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d179893d
DL:Chol:DSPE-PEG2000(C18-C18)	88	-1.8	0.06		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d179893c
DOTAP	78.8	55.7	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798935
DOTAP:Chol	83.5	50.5	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798937
DOTAP:DC:Chol:DOPC:DOPE	86	27.4	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798942
DOTAP:DC:Chol:DOPC:DOPE:PEG1000	118.7	15.5	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798943
DOTAP:DC:Chol:DOPC:DOPE:PEG2000	116.9	18.3	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798944
DOTAP:DC:Chol:DOPC:DOPE:PEG5000	103.2	11.3	None		1	LC-MS-MS	645a8b7c4c863196d1798945

Рисунок 2.6. Сторінка Nanoparticles, репрезентує дані про про ліпідні наночастинки.

Nanoparticle Details

Nanoparticle Information
ID: 645a8b7c4c863196d1798938
Nanoparticle composition: DC-Chol
Mean Hydrodynamic Diameter (nm): 99.6
Zeta Potential (mV): 59.2
PDI: None
Article DOI: 10.1039/C4RA13335H
Article title: Lipid composition: a 'key factor' for the rational manipulation of the liposome-protein corona by liposome design
Protein Identification Method: LC-MS-MS

Coronas

Corona 1												
Corona Nanoparticle Diameter (nm): 220												
Zeta Potential (mV): -10.6												
PDI: None												
Exposure Time (min): 60												
Source of protein: Human Plasma												
Experiment Type: in vivo												
Proteins												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Name</th> <th>RPA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Complement C4-B</td> <td>5.48</td> </tr> <tr> <td>Serum albumin</td> <td>4.66</td> </tr> <tr> <td>Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2</td> <td>4.49</td> </tr> <tr> <td>Prothrombin</td> <td>4.13</td> </tr> <tr> <td>Im gamma-1 chain C region</td> <td>4.06</td> </tr> </tbody> </table>	Name	RPA	Complement C4-B	5.48	Serum albumin	4.66	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	4.49	Prothrombin	4.13	Im gamma-1 chain C region	4.06
Name	RPA											
Complement C4-B	5.48											
Serum albumin	4.66											
Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	4.49											
Prothrombin	4.13											
Im gamma-1 chain C region	4.06											

Рисунок 2.7. Сторінка Nanoparticle Details, репрезентує інформацію про конкретну наночастинку.

[Main](#) [Database](#) [Nanoparticles](#) [Coronas](#) [DB JSON](#) [Add nanoparticle](#) [Programmatic access](#)

Coronas Data

Search:

Copy CSV

Nanoparticle composition	Corona NP Diameter (nm)	Protein Identification Method	Zeta Potential (mV)	PDI	Exposure Time (min)	Protein source	Experiment Type	Proteins	Nanoparticle ID
DC-Chol	220	LC-MS-MS	-10.6	None	60	Human Plasma	in vivo	Complement C4-B, Serum albumin, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2, Prothrombin, Ig gamma-1 chain C region, Fibrinogen beta chain, Vitamin K-dependent protein S, Ig kappa chain C region, C4b-binding protein alpha chain, Vitronectin, Apolipoprotein A-I, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1, Ig gamma-3 chain C region, Complement C3, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3, Fibrinogen gamma chain, Protein AMBP, Ig gamma-2 chain C region, Fibrinogen alpha chain, Ig lambda-2 chain C regions, Vitamin K-dependent protein Z, Protein Z-dependent protease inhibitor, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein E, Vitamin K-dependent protein C, Alpha-1-antitrypsin, Keratin, type II cytoskeletal 1, Apolipoprotein C-II, Ig mu chain C region, Complement C1q subcomponent subunit B, Keratin, type II cytoskeletal 5, Apolipoprotein L1, Keratin, type I cytoskeletal 14, Ig alpha-1 chain C region, Ig kappa chain V-1 region EU, Complement C5, Complement C1q subcomponent subunit C, Complement factor B	645a8b7c4c863196d1798938
DC-Chol:Chol	210	LC-MS-MS	-11.2	None	60	Human Plasma	in vivo	Complement C4-B, Serum albumin, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2, Prothrombin, Ig gamma-1 chain C region, Fibrinogen beta chain, Vitamin K-dependent protein S, Ig kappa chain C region, C4b-binding protein alpha chain, Vitronectin, Apolipoprotein A-I, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1, Ig gamma-3 chain C region, Complement C3, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3, Fibrinogen gamma chain, Protein AMBP, Ig gamma-2 chain C region, Fibrinogen alpha chain, Ig lambda-2 chain C regions, Vitamin K-dependent protein Z, Protein Z-dependent protease inhibitor, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein E, Vitamin K-dependent protein C, Alpha-1-antitrypsin, Keratin, type II cytoskeletal 1, Apolipoprotein C-II, Ig mu chain C region, Coagulation factor IX, Apolipoprotein B-100, C-reactive protein, Apolipoprotein C-III, Collectin-11, Clusterin, Hyaluronan-binding protein 2, Ig alpha-1 chain C region, Hemoglobin subunit beta, Coagulation factor X, Apolipoprotein A-	645a8b7c4c863196d179893a

Showing 1 to 29 of 29 entries

Рисунок 2.8. Сторінка Coronas Data, репрезентує інформацію про білкові корони.

API Documentation

This API provides a way to manage nanoparticles. It allows you to add, update, get, and delete nanoparticles. The API uses JSON format for input and output.

[Schema documentation](#)

Base URL

The base URL for this API is `http://domain.com`.

Endpoints

- Health Check: `GET /health`
- Add a nanoparticle: `POST /api/np/add`
- Update a nanoparticle: `PUT /api/np/update/{id}`
- Get all nanoparticles: `GET /api/np/get`
- Get a nanoparticle by ID: `GET /api/np/get/{id}`

Health Check Endpoint

The Health Check endpoint is used to check if the API is up and running. It returns a JSON response with a message "ok" if the API is running successfully.

Example Request:

```
GET http://domain.com/health
```

Example Response:

```
HTTP Status Code: 200 OK
{
  "message": "ok"
}
```

Add a Nanoparticle Endpoint

The Add a Nanoparticle endpoint is used to add one or more nanoparticles to the database. You can either provide a single nanoparticle as a dictionary or a list of nanoparticles.

Example Request:

```
POST http://domain.com/api/np/add
Content-Type: application/json
{
  "type": "HSPC:Chol",
  ...
}
```

Рисунок 2.9. Сторінка API Documentation, містить опис та приклади програмного доступу.

Окрім репрезентації даних передбачена можливість додавання нових. Сторінка Add Nanoparticle (Рисунок 2.10) містить динамічну інтерактивну форму, за допомогою якої існує можливість додавання нових даних про наночастинки та білкові корони.

[Main](#)
[Database](#)
[Nanoparticles](#)
[Coronas](#)
[DB JSON](#)
[Add nanoparticle](#)
[Programmatic access](#)

Add Nanoparticle

[Schema documentation](#)

Nanoparticle Composition

Nanoparticle Diameter (nm)

Zeta Potential (mV)

PDI

Article DOI

Article Title

Protein Identification Method

Coronas [Add Corona](#)

Corona 1

Nanoparticle Diameter (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Exposure Time (min)	Experiment Type	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

[Delete Corona](#)

Рисунок 2.10. Сторінка Add Nanoparticle, дає можливість додавання нових даних до бази.

2.6. Контейнеризація та розгортання застосунку

Docker – це платформа з відкритим кодом, яка дозволяє автоматизувати розгортання, масштабування та керування застосунками. Це робиться за допомогою контейнеризації, легкої альтернативи віртуальним машинам. Контейнери дозволяють упакувати програму з усіма її залежностями в стандартизований блок для розробки програмного забезпечення. Це означає, що програма працюватиме однаково, незалежно від середовища.

Docker Compose – це інструмент, який доповнює Docker і призначений для оптимізації керування та оркестрування багатоконтейнерних програм

Docker. Використовуючи файли YAML для налаштування, Docker Compose здатний ініціювати та налаштовувати всі контейнери за допомогою однієї команди.

Використана нами конфігурація Docker Compose була розроблена з урахуванням версії «3.8» і описує розгортання трьох ключових компонентів, які детально були описані вище: MongoDB, Flask і NGINX (Рисунок 2.11).

Сервіс MongoDB використовує образ MongoDB версії 5.0, тоді як сервіси Flask і NGINX створені з файлів Docker, розташованих у відповідних директоріях. MongoDB налаштована на постійний перезапуск, зберігаючи свої дані в томі Docker під назвою «mongodb». Flask запускається лише після запуску MongoDB. Також включено перевірку працездатності, що забезпечує належне функціонування програми. Сервіс NGINX, залежить від служби Flask і відкриває порт 80 для хост-машини.

Розгортання цієї програми потребує інсталяції Docker і Docker Compose на машині. Процес розгортання виглядає наступним чином:

1. За допомогою терміналу потрібно перейти до каталогу, що містить файл `docker-compose.yaml`.
2. Команда `docker-compose up --build -d` наказує Docker Compose ініціювати всі служби, визначені у файлі Docker Compose. Прапорець `--build` гарантує, що Docker збиратиме образи відповідно до специфікацій Dockerfile, якщо вони ще не існують на машині, а прапорець `-d` гарантує, що служби працюють у фоновому режимі.
3. Щоб перевірити статус контейнерів, можна скористатися командою `docker compose ps`.
4. Щоб зупинити служби потрібно виконати команду `docker-compose down` у тому ж каталозі з файлом `docker-compose.yaml`.

Ця конфігурація Docker і Docker Compose пропонує надійне, масштабоване та просте в розгортанні середовище для програми, що дозволяє більше зосередитися на розробці, а не на налаштуванні інфраструктури та управлінні нею.

```

1 version: '3.8'
2 services:
3   mongodb:
4     container_name: mongodb
5     image: mongo:5.0
6     restart: always
7     volumes:
8     - mongodb:/data/db
9     deploy:
10      resources:
11        limits:
12          cpus: '1'
13          memory: 500M
14   flask:
15     container_name: flask
16     build:
17       context: ./backend/
18       dockerfile: Dockerfile
19     restart: on-failure:15
20     volumes:
21     - ./backend/./app
22     depends_on:
23       mongodb:
24         condition: service_started
25     deploy:
26       resources:
27         limits:
28           cpus: '1'
29           memory: 500M
30     healthcheck:
31       test: curl --fail http://localhost:5000/health || exit 1
32       interval: 60s
33       retries: 5
34       start_period: 20s
35       timeout: 20s
36   nginx:
37     container_name: nginx
38     restart: on-failure:15
39     build:
40       context: ./nginx/
41       dockerfile: Dockerfile
42     volumes:
43     - ./nginx/sites-enabled/python-api.conf:/etc/nginx/sites-
44     enabled/python-api.conf
45     ports:
46     - 80:80
47     deploy:
48       resources:
49         limits:
50           cpus: '2'
51           memory: 500M
52     depends_on:
53       flask:
54         condition: service_started
55   volumes:
56     mongodb:

```

Рисунок 2.11. Конфігурація Docker Compose.

РОЗДІЛ 3

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ПОДАЛЬШІ ПЕРСПЕКТИВИ

Консолідація інформації є критично важливим аспектом прогресу наукових досліджень. Наразі знання про взаємодії білків з наночастинками поширені в численних окремих дослідженнях, кожне з яких має власну спрямованість, методологію та результати. Така фрагментація знань є складною для досягнення повної картини та визначенні закономірностей чи тенденцій у взаємодії білків з наночастинками.

В результаті нашого дослідження створено унікальну базу даних, що частково вирішує цю проблему шляхом централізації та організації інформації про ліпідні нанокапсули та білкові корони. Така система дозволяє отримати більш комплексне, загальне уявлення, яке окремі дослідження не можуть дати самі по собі. Збираючи різноманітні дані в одному місці, ми дозволяємо легко порівнювати різні дослідження, сприяючи більш глибокому розумінню взаємозв'язків між взаємодіями нанокапсул та білків.

Створена база даних охоплює дані про фізико-хімічні властивості ліпідних нанокапсул, ідентичність і відносну різноманітність білків, що утворюють корони на цих нанокапсулах, а також експериментальні умови, пов'язані з кожним дослідженням. Ми зібрали дані про 22 унікальні нанокапсули та 29 окремих білкових корон.

Важливим аспектом цієї роботи була розробка зручного інтерфейсу для взаємодії з даними. Реалізовано інтерфейс прикладного програмування, який забезпечує зрозумілу взаємодію та керування даними. Це включає в себе можливість додавати, отримувати, оновлювати та видаляти дані про різні наночастинки. Крім того, було створено вебсайт для ефективного представлення даних.

Хоча поточна ітерація бази даних є значним кроком вперед у консолідації інформації про взаємодію наночастинок і білків, існує значний потенціал для майбутніх удосконалень і розширення.

Майбутня робота має бути зосереджена на постійному оновленні та вдосконаленні бази даних. У міру того, як проводиться більше досліджень і стає доступним більше даних, базу даних слід регулярно оновлювати, щоб відображати останні знання в цій галузі. Включення ширшої різноманітності типів наночастинок, білків і експериментальних умов збільшить повноту та цінність бази даних.

У міру зростання бази даних ручне введення та аналіз даних може стати дедалі складнішим. Впровадження автоматизації збору та введення даних, можливо, за допомогою таких методів штучного інтелекту як обробка природної мови для автоматизованих оглядів літератури. Крім того, алгоритми машинного навчання можуть бути інтегровані для прогнозного аналізу, допомагаючи прогнозувати утворення білкової корони на основі характеристик наночастинок.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено загальнодоступну базу даних, що містить інформацію про фізико-хімічні властивості ліпідних нанокapsул, ідентичність та відносне різноманіття білків, а також експериментальні умови кожного дослідження.
2. Відібрано та додано до бази даних інформацію про 22 унікальні нанокapsули та 29 їхніх корон.
3. Впроваджено інтерфейс прикладного програмування, для взаємодії та керування даними, який дозволяє додавати нові наночастинки, отримати наявні всі разом, або конкретну, а також видаляти та оновлювати.
4. Створено вебсайт який є платформою для ефективного та інтуїтивно зрозумілого представлення даних. Інтерфейс дозволяє робити пошук по базі даних, а також додавати дані про нові нанокapsули.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Lesniak, A., Fenaroli, F., Monopoli, M.P., Åberg, C., Dawson, K.A., Salvati, A.: Effects of the Presence or Absence of a Protein Corona on Silica Nanoparticle Uptake and Impact on Cells. *Acs Nano*. 6, 5845–5857 (2012). <https://doi.org/10.1021/nn300223w>
2. Caracciolo, G., Farokhzad, O.C., Mahmoudi, M.: Biological Identity of Nanoparticles In Vivo: Clinical Implications of the Protein Corona. *Trends Biotechnol.* 35, 257–264 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.08.011>
3. Golubovic, A., Tsai, S., Li, B.: Bioinspired Lipid Nanocarriers for RNA Delivery. *Acs Bio Med Chem Au*. 3, 114–136 (2023). <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.2c00073>
4. Zhang, W., Jiang, Y., He, Y., Boucetta, H., Wu, J., Chen, Z., He, W.: Lipid carriers for mRNA delivery. *Acta Pharm Sinica B*. (2022). <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.11.026>
5. Bashiri, G., Padilla, M.S., Swingle, K.L., Shepherd, S.J., Mitchell, M.J., Wang, K.: Nanoparticle protein corona: from structure and function to therapeutic targeting. *Lab Chip*. 23, 1432–1466 (2023). <https://doi.org/10.1039/d2lc00799a>
6. Aggarwal, P., Hall, J.B., McLeland, C.B., Dobrovolskaia, M.A., McNeil, S.E.: Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Adv Drug Deliver Rev*. 61, 428–437 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.009>
7. Mitchell, M.J., Billingsley, M.M., Haley, R.M., Wechsler, M.E., Peppas, N.A., Langer, R.: Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat Rev Drug Discov*. 20, 101–124 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
8. Xu, L., Wang, X., Liu, Y., Yang, G., Falconer, R.J., Zhao, C.-X.: Lipid Nanoparticles for Drug Delivery. *Adv Nanobiomed Res*. 2, 2100109 (2022). <https://doi.org/10.1002/anbr.202100109>
9. Akinc, A., Maier, M.A., Manoharan, M., Fitzgerald, K., Jayaraman, M., Barros, S., Ansell, S., Du, X., Hope, M.J., Madden, T.D., Mui, B.L., Semple, S.C., Tam,

- Y.K., Ciufolini, M., Witzigmann, D., Kulkarni, J.A., Meel, R. van der, Cullis, P.R.: The Onpattro story and the clinical translation of nanomedicines containing nucleic acid-based drugs. *Nat Nanotechnol.* 14, 1084–1087 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0591-y>
10. Schoenmaker, L., Witzigmann, D., Kulkarni, J.A., Verbeke, R., Kersten, G., Jiskoot, W., Crommelin, D.J.A.: mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability. *Int J Pharmaceut.* 601, 120586 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120586>
11. Has, C., Sunthar, P.: A comprehensive review on recent preparation techniques of liposomes. *J Liposome Res.* 30, 336–365 (2020). <https://doi.org/10.1080/08982104.2019.1668010>
12. Ran, R., Wang, H., Hou, F., Liu, Y., Hui, Y., Petrovsky, N., Zhang, F., Zhao, C.: A Microfluidic Tumor-on-a-Chip for Assessing Multifunctional Liposomes' Tumor Targeting and Anticancer Efficacy. *Adv Healthc Mater.* 8, 1900015 (2019). <https://doi.org/10.1002/adhm.201900015>
13. Araujo, V.H.S., Filippo, L.D.D., Duarte, J.L., Spósito, L., Camargo, B.A.F. de, Silva, P.B. da, Chorilli, M.: Exploiting solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for drug delivery against cutaneous fungal infections. *Crit Rev Microbiol.* 47, 79–90 (2021). <https://doi.org/10.1080/1040841x.2020.1843399>
14. Dong, Y., Ng, W.K., Shen, S., Kim, S., Tan, R.B.H.: Solid lipid nanoparticles: Continuous and potential large-scale nanoprecipitation production in static mixers. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 94, 68–72 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.01.018>
15. Chauhan, I., Yasir, M., Verma, M., Singh, A.P.: Nanostructured Lipid Carriers: A Groundbreaking Approach for Transdermal Drug Delivery. *Adv Pharm Bulletin.* 10, 150–165 (2020). <https://doi.org/10.34172/apb.2020.021>
16. Garg, J., Pathania, K., Sah, S.P., Pawar, S.V.: Nanostructured lipid carriers: a promising drug carrier for targeting brain tumours. *Futur J Pharm Sci.* 8, 25 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00414-8>
17. Hadinoto, K., Sundaresan, A., Cheow, W.S.: Lipid–polymer hybrid

- nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: A review. *Eur J Pharm Biopharm.* 85, 427–443 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.07.002>
18. Shah, S., Famta, P., Raghuvanshi, R.S., Singh, S.B., Srivastava, S.: Lipid polymer hybrid nanocarriers: Insights into synthesis aspects, characterization, release mechanisms, surface functionalization and potential implications. *Colloid Interface Sci Commun.* 46, 100570 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100570>
19. Mukherjee, A., Waters, A.K., Kalyan, P., Achrol, A.S., Kesari, S., Yenugonda, V.M.: Lipid–polymer hybrid nanoparticles as a next-generation drug delivery platform: state of the art, emerging technologies, and perspectives. *Int J Nanomed.* 14, 1937–1952 (2019). <https://doi.org/10.2147/ijn.s198353>
20. Xue, H.Y., Guo, P., Wen, W.-C., Wong, H.L.: Lipid-Based Nanocarriers for RNA Delivery. *Curr Pharm Design.* 21, 3140–3147 (2015). <https://doi.org/10.2174/1381612821666150531164540>
21. Capriotti, A.L., Caracciolo, G., Caruso, G., Foglia, P., Pozzi, D., Samperi, R., Laganà, A.: DNA affects the composition of lipoplex protein corona: A proteomics approach. *Proteomics.* 11, 3349–3358 (2011). <https://doi.org/10.1002/pmic.201000803>
22. Szebeni, J., Moghimi, S.M.: Liposome triggering of innate immune responses: A perspective on benefits and adverse reactions. *J Liposome Res.* 19, 85–90 (2009). <https://doi.org/10.1080/08982100902792855>
23. García-Álvarez, R., Vallet-Regí, M.: Hard and Soft Protein Corona of Nanomaterials: Analysis and Relevance. *Nanomaterials-basel.* 11, 888 (2021). <https://doi.org/10.3390/nano11040888>
24. Docter, D., Westmeier, D., Markiewicz, M., Stolte, S., Knauer, S.K., Stauber, R.H.: The nanoparticle biomolecule corona: lessons learned – challenge accepted? *Chem Soc Rev.* 44, 6094–6121 (2015). <https://doi.org/10.1039/c5cs00217f>
25. Castro, C.E. de, Panico, K., Stangherlin, L.M., Albuquerque, L.J.C., Ribeiro, C.A.S., Silva, M.C.C. da, Jäger, E., Giacomelli, F.C.: Evidence of protein coronas around soft nanoparticles regardless of the chemical nature of the outer surface:

- structural features and biological consequences. *J Mater Chem B*. 9, 2073–2083 (2021). <https://doi.org/10.1039/d0tb02734k>
26. Amici, A., Caracciolo, G., Digiaco, L., Gambini, V., Marchini, C., Tilio, M., Capriotti, A.L., Colapicchioni, V., Matassa, R., Familiari, G., Palchetti, S., Pozzi, D., Mahmoudi, M., Laganà, A.: In vivo protein corona patterns of lipid nanoparticles. *Rsc Adv*. 7, 1137–1145 (2017). <https://doi.org/10.1039/c6ra25493d>
27. Vroman, L., Adams, A., Fischer, G., Munoz, P.: Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII, and fibrinogen in plasma at interfaces. *Blood*. 55, 156–159 (1980). <https://doi.org/10.1182/blood.v55.1.156.156>
28. Pederzoli, F., Tosi, G., Vandelli, M.A., Belletti, D., Forni, F., Ruozi, B.: Protein corona and nanoparticles: how can we investigate on? *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnology*. 9, (2017). <https://doi.org/10.1002/wnan.1467>
29. Chen, D., Ganesh, S., Wang, W., Amiji, M.: Plasma protein adsorption and biological identity of systemically administered nanoparticles. *Nanomedicine-uk*. 12, 2113–2135 (2017). <https://doi.org/10.2217/nmm-2017-0178>
30. Rahman, M., Laurent, S., Tawil, N., Yahia, L., Mahmoudi, M.: Protein-Nanoparticle Interactions, *The Bio-Nano Interface*. Springer Ser Biophysics. (2013). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-37555-2>
31. Pozzi, D., Caracciolo, G., Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Piovesana, S., Colapicchioni, V., Palchetti, S., Riccioli, A., Laganà, A.: A proteomics-based methodology to investigate the protein corona effect for targeted drug delivery. *Mol Biosyst*. 10, 2815–2819 (2014). <https://doi.org/10.1039/c4mb00292j>
32. Bertrand, N., Leroux, J.-C.: The journey of a drug-carrier in the body: An anatomo-physiological perspective. *J Control Release*. 161, 152–163 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.098>
33. Caracciolo, G., Palchetti, S., Colapicchioni, V., Digiaco, L., Pozzi, D., Capriotti, A.L., Barbera, G.L., Laganà, A.: Stealth Effect of Biomolecular Corona on Nanoparticle Uptake by Immune Cells. *Langmuir*. 31, 10764–10773 (2015). <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02158>
34. Caracciolo, G.: Liposome–protein corona in a physiological environment:

- Challenges and opportunities for targeted delivery of nanomedicines. *Nanomed Nanotechnol Biology Medicine*. 11, 543–557 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.11.003>
35. Lundqvist, M., Stigler, J., Elia, G., Lynch, I., Cedervall, T., Dawson, K.A.: Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. *Proc National Acad Sci*. 105, 14265–14270 (2008). <https://doi.org/10.1073/pnas.0805135105>
36. Chen, D., Ganesh, S., Wang, W., Amiji, M.: The role of surface chemistry in serum protein corona-mediated cellular delivery and gene silencing with lipid nanoparticles. *Nanoscale*. 11, 8760–8775 (2019). <https://doi.org/10.1039/c8nr09855g>
37. Pozzi, D., Colapicchioni, V., Caracciolo, G., Piovesana, S., Capriotti, A.L., Palchetti, S., Grossi, S.D., Riccioli, A., Amenitsch, H., Laganà, A.: Effect of polyethyleneglycol (PEG) chain length on the bio–nano-interactions between PEGylated lipid nanoparticles and biological fluids: from nanostructure to uptake in cancer cells. *Nanoscale*. 6, 2782–2792 (2013). <https://doi.org/10.1039/c3nr05559k>
38. Gabizon, A., Shmeeda, H., Barenholz, Y.: Pharmacokinetics of Pegylated Liposomal Doxorubicin. *Clin Pharmacokinet*. 42, 419–436 (2003). <https://doi.org/10.2165/00003088-200342050-00002>
39. Monopoli, M.P., Walczyk, D., Campbell, A., Elia, G., Lynch, I., Bombelli, F.B., Dawson, K.A.: Physical–Chemical Aspects of Protein Corona: Relevance to in Vitro and in Vivo Biological Impacts of Nanoparticles. *J Am Chem Soc*. 133, 2525–2534 (2011). <https://doi.org/10.1021/ja107583h>
40. Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggård, T., Thulin, E., Nilsson, H., Dawson, K.A., Linse, S.: Understanding the nanoparticle–protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc National Acad Sci*. 104, 2050–2055 (2007). <https://doi.org/10.1073/pnas.0608582104>
41. Göppert, T.M., Müller, R.H.: Polysorbate-stabilized solid lipid nanoparticles as

- colloidal carriers for intravenous targeting of drugs to the brain: Comparison of plasma protein adsorption patterns. *J Drug Target.* 13, 179–187 (2005). <https://doi.org/10.1080/10611860500071292>
42. Lynch, I., Dawson, K.A.: Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today.* 3, 40–47 (2008). [https://doi.org/10.1016/s1748-0132\(08\)70014-8](https://doi.org/10.1016/s1748-0132(08)70014-8)
43. Lundqvist, M., Stigler, J., Cedervall, T., Berggård, T., Flanagan, M.B., Lynch, I., Elia, G., Dawson, K.: The Evolution of the Protein Corona around Nanoparticles: A Test Study. *Acs Nano.* 5, 7503–7509 (2011). <https://doi.org/10.1021/nn202458g>
44. Caracciolo, G., Pozzi, D., Sanctis, S.C.D., Capriotti, A.L., Caruso, G., Samperi, R., Laganà, A.: Effect of membrane charge density on the protein corona of cationic liposomes: Interplay between cationic charge and surface area. *Appl Phys Lett.* 99, 033702 (2011). <https://doi.org/10.1063/1.3615055>
45. Caracciolo, G., Pozzi, D., Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Piovesana, S., Barbera, G.L., Amici, A., Laganà, A.: The liposome–protein corona in mice and humans and its implications for in vivo delivery. *J Mater Chem B.* 2, 7419–7428 (2014). <https://doi.org/10.1039/c4tb01316f>
46. Hajipour, M.J., Laurent, S., Aghaie, A., Rezaee, F., Mahmoudi, M.: Personalized protein coronas: a “key” factor at the nanobiointerface. *Biomater Sci-uk.* 2, 1210–1221 (2014). <https://doi.org/10.1039/c4bm00131a>
47. Caracciolo, G., Caputo, D., Pozzi, D., Colapicchioni, V., Coppola, R.: Size and charge of nanoparticles following incubation with human plasma of healthy and pancreatic cancer patients. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 123, 673–678 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.10.008>
48. Caracciolo, G., Cardarelli, F., Pozzi, D., Salomone, F., Maccari, G., Bardi, G., Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Papi, M., Laganà, A.: Selective Targeting Capability Acquired with a Protein Corona Adsorbed on the Surface of 1,2-Dioleoyl-3-trimethylammonium Propane/DNA Nanoparticles. *Acs Appl Mater Inter.* 5, 13171–13179 (2013). <https://doi.org/10.1021/am404171h>
49. Palchetti, S., Colapicchioni, V., Digiaco, L., Caracciolo, G., Pozzi, D.,

- Capriotti, A.L., Barbera, G.L., Laganà, A.: The protein corona of circulating PEGylated liposomes. *Biochimica Et Biophysica Acta Bba - Biomembr.* 1858, 189–196 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.11.012>
50. Pozzi, D., Caracciolo, G., Digiaco, L., Colapicchioni, V., Palchetti, S., Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Chiozzi, R.Z., Puglisi, A., Laganà, A.: The biomolecular corona of nanoparticles in circulating biological media. *Nanoscale.* 7, 13958–13966 (2015). <https://doi.org/10.1039/c5nr03701h>
51. Sánchez-Moreno, P., Buzón, P., Boulaiz, H., Peula-García, J.M., Ortega-Vinuesa, J.L., Luque, I., Salvati, A., Marchal, J.A.: Balancing the effect of corona on therapeutic efficacy and macrophage uptake of lipid nanocapsules. *Biomaterials.* 61, 266–278 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.04.049>