

บทคัดย่อภาษาไทย

รหัสโครงการ DBG518005
ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาอนุภาคระดับนาโนสำหรับนำส่งยีน
ชื่อผู้วิจัยและสถาบัน รศ.ดร. ปราณิศา โอปะณะโสภิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร praneet@su.ac.th
ระยะเวลาโครงการ 3 ปี (1 พค 2551 ถึง 30 เมษายน 2554)

บทคัดย่อ

โคโคซานเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกชนิดหนึ่งที่สามารถละลายได้ภายในร่างกายและสามารถนำมาใช้เป็นตัวพาในการนำส่งยีนได้ แต่ข้อจำกัดของโคโคซานคือมีการละลายน้ำต่ำในพีเอชที่เป็นกลางและประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงต่ำ การสังเคราะห์อนุพันธ์ของโคโคซานชนิดใหม่โดยปรับปรุงโครงสร้างทางเคมีของโคโคซานขึ้นนี้เพื่อเพิ่มการละลายและประสิทธิภาพของโคโคซานในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงและศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์โคโคซานที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ ได้แก่ ควอเทอร์ไนซ์ เอ็น-(4-เอ็น, เอ็น-ได เมทิลอะมิโนเบนซิล) โคโคซาน (TM-Bz-CS) ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงได้แก่ อัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อดีเอ็นเอ ขนาดอนุภาค ประจุบนพื้นผิวอนุภาค รูปร่างอนุภาค พีเอชของอาหารเลี้ยงเซลล์ และซีรัม เป็นต้น พลาสมิดที่ใช้ศึกษาครั้งนี้คือพลาสมิดที่สามารถแปลรหัสได้เป็น green fluorescence protein (pEGFP-C2) เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้คือ human hepatoma cell lines (Huh7 cells) โดยศึกษาประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงของอนุพันธ์โคโคซานเปรียบเทียบกับพีอีไอ ผลการศึกษาพบว่าอนุพันธ์โคโคซานทุกตัวสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีเอ็นเอได้ โดยประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงขึ้นกับอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อดีเอ็นเอ กล่าวคือเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อดีเอ็นเอ ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงจะเพิ่มสูงขึ้น และประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีหมู่ที่ไม่ชอบน้ำอยู่ในสูตรโครงสร้าง เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงของอนุพันธ์โคโคซานพบว่า $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS} > TM_{47}\text{-Bz}_{43}\text{-CS} > TM_{57}\text{-Bz}_{18}\text{-CS}$ การเพิ่มปริมาณหมู่เบนซิลจะเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยง เมื่อศึกษาผลของพีเอชของอาหารเลี้ยงเซลล์พบว่า พีเอชไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงของ $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS}$ แต่มีผลต่อโคโคซานเบส จากผลการศึกษาทั้งหมดพบว่า $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS}$ เป็นตัวพายีนที่มีประสิทธิภาพ โดยสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีเอ็นเอได้และให้การถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงที่สูงที่สุด รวมทั้งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ Huh7 ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับพีอีไอ

กุญแจคำ ระบบนำส่งยีน ตัวพายีนที่ไม่ใช่ไวรัส อนุพันธ์โคโคซาน

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Project code DBG518005
Research Title: Development of nanoparticles for gene delivery
Investigator: Assoc. Prof. Dr. Praneet Opanasopit
 Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, praneet@su.ac.th
Project period: 3 years (1 May 2008- 30 April 2011)

Abstract

Chitosan (CS) is a biodegradable polymer and can be used as carriers in gene delivery. However the major drawback of CS is low solubility in neutral pH values and low transfection efficiency. To improve the solubility and transfection efficiency, novel CS derivatives were synthesized by modifying the chemical structure of CS. The purpose of this study was to investigate the transfection efficiencies and cytotoxicity of three different types of this novel synthesized (Quaternized N-(4-N,N-dimethylaminobenzyl) chitosan; TM-Bz-CS. The factors affecting the transfection efficiency such as N/P ratio, particle size, zeta-potential, morphology, pH of culture medium and serum have been evaluated. Transfection efficiency was investigated using the plasmid DNA encoding green fluorescence protein (pEGFP-C2) on human hepatoma cell lines (Huh7 cells), compared with polyethylenimine (PEI, 25 kDa). The results revealed that all CS derivatives were able to condense with pDNA. The gene transfection efficiencies were influenced by the N/P ratios. When the N/P ratio increased, the gene expression increased. The gene transfection increased, when CS was substituted with hydrophobic group. The rank of transfection efficiency of the CS derivatives were $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS} > TM_{47}\text{-Bz}_{43}\text{-CS} > TM_{57}\text{-Bz}_{18}\text{-CS}$. When the amount of N-benzyl substituted group increased, the gene expression increased. The pH of culture medium did not affect the transfection efficiency of pDNA/ $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS}$ complex, whereas affected to CS. $TM_{57}\text{-Bz}_{43}\text{-CS}$ showed elevated potential as gene carrier by efficient DNA condensation and mediated highest level of gene transfection with negligible cytotoxicity in Huh7 cells in comparison to PEI.

Key words: gene delivery system, non-viral gene carrier, chitosan derivatives