

---

**Project Code :** TRG5480020

**Project Title :** Nanodelivery System for Effective Reduction of E6/E7 Oncogenes in HPV-Induced Cervical Cancer Cells Using RNA Interference Approach

**Investigator :** Nattika Saengkrit, National Nanotechnology Center (NANOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathumthani, Thailand

**E-mail Address :** nattika@nanotec.or.th

**Project Period :** 15 June 2011-14 June 2013

We examined the potential of cationic nanoparticle – polyethyleneimine-introduced chitosan shell/poly (methyl methacrylate) core nanoparticles (CS-PEI) for siRNA delivery. Initially, DNA delivery was performed to validate the capability of CS-PEI for gene delivery in the human cervical cancer cell line, SiHa. siRNA delivery were subsequently carried out to evaluate the silencing effect on targeted E6 and E7 oncogenes. Physicochemical properties including size, zeta potential and morphology of CSPEI/ DNA and CS-PEI/siRNA complexes, were analyzed. The surface charges and sizes of the complexes were observed at different N/P ratios. The hydrodynamic sizes of the CS-PEI/DNA and CS-PEI/siRNA were approximately 300–400 and 400–500 nm, respectively. Complexes were positively charged depending on the amount of added CS-PEI. AFM images revealed the mono-dispersed and spherical shapes of the complexes. Gel retardation assay confirmed that CS-PEI nanoparticles completely formed complexes with DNA and siRNA at a N/P ratio of 1.6. For DNA transfection, CS-PEI provided the highest transfection result. Localization of siRNA delivered through CS-PEI was confirmed by differential interference contrast (DIC) confocal imaging. The silencing effect of siRNA specific to HPV 16 E6/E7 oncogene was examined at 18 and 24 h post-transfection. The results demonstrated the capacity of CS-PEI to suppress the expression of HVP oncogenes.

**Keywords :** Chitosan, Polyethyleneimine, Core/shell nanoparticle, DNA delivery, siRNA delivery

รหัสโครงการ: TRG5480020

**ชื่อโครงการ:** การยับยั้งการแสดงออกของยีนก่อมะเร็ง E6/E7 ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัส HPV ด้วย RNA interference และระบบนำส่งขนาดนาโน

**ชื่อนักวิจัย:** นางณัฐวิภา แสงกฤษ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ปทุมธานี

**E-mail Address :** nattika@nanotec.or.th

**ระยะเวลาโครงการ:** 15 มิถุนายน 2554-14 มิถุนายน 2556

งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนประจุบวก Polyethyleneimine-Introduced Chitosan Shell/Poly (methyl Methacrylate) Core Nanoparticles (ตัวพา CS-PEI) สำหรับระบบนำส่ง siRNA โดยเบื้องต้นจะทดลองนำส่ง DNA เข้าสู่เซลล์มะเร็งปากมดลูกก่อน จากนั้นจึงนำส่ง siRNA เพื่อประเมินผลยับยั้งการแสดงออกของอองโคจีนของเชื้อ Human papillomavirus (HPV) ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกชนิด SiHa สำหรับการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของตัวพา CS-PEI จะศึกษา ขนาด, ประจุ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อทำจับกับ DNA และ siRNA (CS-PEI/DNA, CS-PEI/siRNA) ที่อัตราส่วนโมลของหมู่เอมีน (N) บนตัวพา ต่อหมู่ฟอสเฟต (P) บนกรดนิวคลีอิก (N/P) ต่าง ๆ ผลที่ได้พบว่า CS-PEI/DNA และ CS-PEI/siRNA มีขนาดประมาณ 300-400 และ 400-500 นาโนเมตร โดยความเป็นประจุบวกของ complex จะเพิ่มตามปริมาณของตัวพา CS-PEI และผลจากกล้อง Atomic force microscopy (AFM) พบลักษณะของ complex เป็นทรงกลมขนาดเล็ก มีการกระจายตัวที่ดี เมื่อทดสอบความสามารถในการจับกับ DNA และ siRNA โดยการทำให้ Gel retardation พบว่าตัวพา CS-PEI จับได้อย่างสมบูรณ์ที่อัตราส่วน N/P เท่ากับ 1.6 นอกจากนี้ตัวพาดังกล่าวให้ผลการนำส่ง DNA เข้าสู่เซลล์สูงสุด และเมื่อใช้ตัวพา CS-PEI นำส่ง siRNA ให้ผลยับยั้งการแสดงออกของอองโคจีน E6 และ E7 ที่เวลา 18 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบเพื่อยืนยันการเข้าสู่เซลล์มะเร็งปากมดลูกด้วยภาพจากกล้อง differential interference contrast (DIC) confocal จากผลการทดลองที่ได้พบว่าตัวพา CS-PEI สามารถนำส่ง siRNA เพื่อกดการแสดงออกของอองโคจีนดังกล่าวได้

**คำหลัก :** ไคโตซาน, พอลิเอทิลีนอิมิน, ระบบนำส่งดีเอ็นเอ, ระบบนำส่งเอสไออาร์เอ็นเอ