

51361205 : MAJOR : PHARMACEUTICAL SCIENCES

KEY WORDS : GENE DELIVERY/CATIONIC POLYPEPTIDES/CHITOSAN/LIPOSOME

JINTANA TRAGULPAKSEEROJN : ENHANCEMENT OF GENE DELIVERY MEDIATED BY CATIONIC POLYPEPTIDES. THESIS ADVISORS : ASSOC. PROF. AUAYPORN APIRAKARAMWONG, Ph.D., AND ASSOC. PROF. PRANEET OPANASOPIT, Ph.D. 165 pp.

The aim of this research was to investigate the effect of cationic polypeptides mixed with cationic polymers (chitosan hydrochloride, CSHCI) or anionic liposomes on *in vitro* transfection efficiency and cytotoxicity in human cervical carcinoma cells (HeLa cells) and human hepatoma cells (Huh7 cells). The effect of the type and molecular weight of polypeptides, the weight ratio of carrier: DNA, the pH of transfection medium, order of mixing and the serum on transfection efficiency and cytotoxicity were evaluated. The results showed that three types of cationic polypeptides including poly-L-lysine (PLL), poly-L-arginine (PLA) and poly-L-ornithine (PLO) were able to form complete complex with DNA at weight ratio 0.5. The PLA showed a higher transfection efficiency than PLL and PLO. HeLa cells showed higher transfection efficiency than that of Huh7 cells. The transfection efficiency of PLA depended on the MW. PLA with high MW (> 70 kDa) showed the highest transfection efficiency. Therefore, the PLA MW > 70 kDa was used to mixed with CSHCI or coated anionic liposome. The order of mixing between CSHCI, PLA and DNA affected the transfection efficiency. The transfection efficiency on HeLa cells at pH 6.4 was ranked as: PLA/DNA/CSHCI > PLA/CSHCI/DNA > CSHCI/DNA/PLA > PLA/DNA. The highest transfection efficiency of PLA/DNA/CSHCI complexes was equal to PEI/DNA complex and higher than PLA/DNA complex about 2.39 times. In PLA-coated liposomes, the transfection efficiency on HeLa cells was about 1.83 and 1.49 times higher than the PLA/DNA complexes at pH 7.4 and 6.4, respectively. In conclusion, PLA/DNA/CSHCI showed elevated potential as gene carrier by efficiently condensing the DNA, mediating the highest level of gene transfection and lowering the cytotoxicity, compared with PEI, in HeLa cells.

Program of Pharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic year 2009

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1..... 2.....

51361205 : สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

คำสำคัญ : การนำส่งยีน/พอลิเพปไทด์ประจุบวก/ไคโตซาน/ลิโปโซม

จินตนา ตระกูลปักษ์โรจน์ : การเพิ่มการนำส่งยีนโดยอาศัยพอลิเพปไทด์ประจุบวก.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ญญ.รศ.ดร.อวยพร อภิรักษ์อร่ามวง และ ญญ.รศ.ดร.ปราณีต
โอปนยะโสภิต. 165 หน้า.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการผสมพอลิเพปไทด์ประจุบวก กับพอลิเมอร์
ประจุบวก (ไคโตซานไฮโดรคลอไรด์, CSHCI) หรือลิโปโซมประจุลบต่อประสิทธิภาพในการถ่าย
โอนยีนและความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง human cervical carcinoma cells (HeLa cells) และ human
hepaatoma cells (Huh7 cells) โดยศึกษาปัจจัยของชนิดและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเพปไทด์ประจุ
บวก, อัตราส่วนโดยน้ำหนักของตัวพาต่อดีเอ็นเอ, พิเอชของตัวกลางในการนำส่งยีน, ลำดับการผสม
และผลของซีรัม จากการศึกษาพบว่าพอลิเพปไทด์ประจุบวกทั้งสามชนิดประกอบด้วยพอลิแอลไกลซีน
(PLL), พอลิแอลอาร์จินีน (PLA) และพอลิแอลออร์นิติน (PLO) สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ
ดีเอ็นเอได้ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 0.5 PLA มีประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนสูงกว่า PLL และ PLO
ตามลำดับ ในเซลล์ HeLa แสดงประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนที่สูงกว่าใน Huh7 ประสิทธิภาพใน
การถ่ายโอนยีนของ PLA ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล โดยจะพบว่าที่น้ำหนักโมเลกุลสูง (> 70 kDa) จะ
ให้ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ PLA น้ำหนักโมเลกุล > 70 kDa ในการ
ผสมกับไคโตซานไฮโดรคลอไรด์ หรือนำมาเคลือบกับลิโปโซม ลำดับการผสมระหว่างไคโตซาน
ไฮโดรคลอไรด์, PLA และดีเอ็นเอส่งผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีน เมื่อเปรียบเทียบ
ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์ HeLa พบว่า PLA/DNA/CSHCI > PLA/CSHCI /DNA >
CSHCI/DNA/PLA > PLA/DNA ที่ pH 6.4 สารประกอบเชิงซ้อน PLA/DNA/CSHCI มีประสิทธิภาพ
ในการถ่ายโอนยีนสูงที่สุดซึ่งไม่แตกต่างจาก PEI/DNA และมีประสิทธิภาพสูงกว่า PLA/DNA
ประมาณ 2.39 เท่า ในกรณีของ PLA ที่เคลือบบนลิโปโซม พบว่าประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนเข้า
สู่เซลล์ HeLa สูงกว่าสารประกอบเชิงซ้อน PLA/DNA ประมาณ 1.83 และ 1.49 เท่า ที่ pH 7.4 และ 6.4
ตามลำดับ จากผลการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่า PLA/DNA/CSHCI เป็นตัวพาที่มีประสิทธิภาพในการ
ถ่ายโอนยีนสูงที่สุดโดยสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีเอ็นเอได้ และมีความเป็นพิษต่อเซลล์
HeLa ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับ PEI

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1..... 2.....