

具標靶功能聚胺基奈米矽微粒與聚胺基甲酸酯共聚物之基因載體合成及轉染效率研究

蕭翔友¹、鍾仁宏¹、蔡百豐²、蕭明達^{1*}

¹ 嘉南藥理大學，生物科技系

² 嘉南藥理大學，職業安全衛生系

基因治療的成功必須仰賴一個優秀的輸送系統，而一個良好的基因載體則必須要有幾個重要的條件。本研究擬利用有機合成方式製備陽離子基因載體 (cationic gene carrier) 來攜帶 siRNA (Small interfering RNA or silencing RNA) 的 DNA 模板進入癌細胞進行表現，並在載體上加上葉酸 (Folic acid)，使合成出來的材料具備癌細胞標靶功能，在材料合成部分主要分為六個步驟。第一個步驟是將 Glycidyl methacrylate 與 1,4-Diaminobutane 進行反應合成出產物 EOD；第二個步驟則是將 EOD 與 3-Amino-1-propanol 進行聚合反應，產生產物 PEOH；第三步驟則是將產物 PEOH 與 Ethyl isocyanatoacetate 以重量比 1:1 的比例進行合成，形成產物 PEU；第四步驟則是將具有癌細胞標靶效果的葉酸分子接到 PEU 的側鏈 NH 基上；第五步驟則是要先製備聚胺基奈米矽微粒，再以奈米矽微粒上所帶之 NH 基攻擊 PEU 側鏈上未與葉酸結合的酯鍵，將矽微粒接到 PEU 上，使我們的產物側鏈官能基帶有許多帶正電的奈米矽微粒；最後步驟則是將所合成出來的產物與所欲搭載之基因體以正負電相吸的方式進行複合，在進行最後一個步驟前，會將所合成出來的材料利用 MTT assay 的方法進行細胞毒性測試，以及測試葉酸在我們藥物載體上對於癌細胞的標靶效果。如果細胞毒性低於一般化療藥物以及其他藥物載體；對於癌細胞亦具有良好的標靶效果，我們將再進行材料酸鹼緩衝效果的測試，了解其穩定結構所需要的最適合 pH 範圍，再利用綠螢光蛋白基因的表現量來了解材料所搭載基因體的轉染效果。另外也會利用膠體電泳(Gel electrophoresis)來了解一單位之材料所能攜帶的最大基因體量，以及利用北方墨點法來檢測我們送進癌細胞的基因體是否成功轉錄出 si RNA。

關鍵字：陽離子型高分子、奈米矽製備、聚胺基甲酸酯、基因載體