**รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณีต โอปณะโสภิต**

**รองศาสตราจารย์ ธนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์**

**คณะเภสัชศาสตร์**

**การพัฒนาลิโพโซมเคลือบด้วยพอลิเมอร์ประจุบวกสำหรับนำส่งยีน**

**รายละเอียด**

ในการศึกษาครั้งนี้เตรียมลิโพโซมประจุลบซึ่งเคลือบด้วยพอลิเมอร์ประจุบวก โดยวิธีลดขนาดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงและศึกษาการเป็นตัวนำส่งยีน ลิโพโซมประจุลบประกอบด้วยฟอสฟาทิดิลโคลลีนจากไข่แดง (EPC) และสารลดแรงตึงผิวประจุลบ ได้แก่ โซเดียมโอลีเอต (NaO) หรือโซเดียมทอโรโคลเลต (NaT) หรือสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบ ได้แก่ 3-[(3-คอลลามิโดโพรพิล)-ไดเมทธิลแอมโมนิโอ]-1-โพรเพนซัลโฟเนต (CHAPS) ที่อัตราส่วนโมลาร์เท่ากับ 10:1, 10:1.5 และ 10:2 นำลิโพโซมประจุลบเหล่านี้มาเคลือบด้วยพอลิเมอร์ประจุบวกคือ พอลิแอลอาร์จินิน (PLA) หรือพอลีเอททิลอิมมีน (PEI) ในการศึกษาการนำส่งยีนนั้นทำโดยนำลิโพโซมมาเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีเอ็นเอที่สามารถแปลรหัสได้เป็น green fluorescent protein (pEGFP-C2) และศึกษาประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้คือ human hepatoma cell lines (Huh7 cells) สำหรับลิโพโซมเคลือบด้วย PEI และ human cervical carcinoma cell line (HeLa cells) สำหรับลิโพโซมเคลือบด้วย PLA เปรียบเทียบกับ PEI และลิโพเฟคตามีน ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีน เช่น ชนิดของสารลดแรงตึงผิว อัตราส่วน EPC ต่อสารลดแรงตึงผิว ชนิดของพอลิเมอร์ประจุบวกที่ใช้เคลือบลิโพโซม พีเอชของอาหารเลี้ยงเซลล์และซีรัมในอาหารเลี้ยงเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าลิโพโซมทุกตำรับสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีเอ็นเอได้ในรูปของอนุภาคซึ่งมีขนาดอยู่ในช่วง 300 ถึง 1500 นาโนเมตรขึ้นกับอัตราส่วนโดยน้ำหนักของตัวพาต่อดีเอ็นเอ ลิโพโซมซึ่งเคลือบด้วย PEI จะให้ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนสูงกว่าการเคลือบด้วย PLA ประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนของลิโพโซมซึ่งเคลือบด้วย PEI และลิโพโซมซึ่งเคลือบด้วย PLA สูงกว่าสารประกอบเชิงซ้อนของ PEI และ PLA กับดีเอ็นเอ อย่างมีนัยสำคัญ ตำรับลิโพโซมซึ่งเคลือบด้วย PEI ที่เตรียมโดยใช้ NaO เป็นสารลดแรงตึงผิวจะให้ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนสูงกว่าตำรับที่เตรียมจาก NaT หรือ CHAPS ลิโพโซมทึกตำรับมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำกว่า PEI โดยที่ NaO ลิโพโซมซึ่งเคลือบด้วย PEI จะให้ประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนสูงสุดและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำแสดงให้เห็นว่าลิโพโซมตำรับนี้เป็นตัวพายีนที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัย

**Researcher Assoc. Prof. Dr. Praneet Opanasopit**

**Assoc. Prof. Tanasait Ngawhirunpat**

**Office Faculty of Pharmacy, Silpakorn University**

**Research Title Development of cationic polymer coated liposomes for gene delivery**

In the present study, cationic polymers-coated anionic liposomes were prepared by sonication

method and studied for their use as gene carriers. The anionic liposomes were composed of egg yolk phosphatidylcholine (EPC) and anionic surfactants i.e. sodium oleate (NaO) or sodium taurocholate (NaT) or zwitterionic surfactant 3-[(3-cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS) at the molar ratio of 10:1, 10:1.5 and 10:2. Subsequently, these liposomes were coated with cationic polymer poly-L-arginine (PLA) or polyethelenimine (PEI). In the gene delivery study, the liposomes were used to form complexes with plasmid DNA encoding green fluorescent protein (pEGFP-C2) and investigated for their ability to transfect human hepatoma cell lines (Hun cells) for PEI coated liposomes and human cervical carcinoma cell line (HeLa cells) for LPA coated liposomes compared with PEI and Lipofectamine2000TM . The factors affecting the transfection efficiency i.e. type of surfactants, EPC:surfactant ratio, type of cationic polymers coating on the liposomes, pH of the culture medium and the presence of serum were evaluated. The results revealed that all liposomal formulations were able to form complex with and condense DNA to yield the particles with the size between 300-1500 nm depending on the carrier to DNA weight ratios. The liposomes coated with PEI showed higher transfection efficiency than that coated with PLA. The transfection efficiency of PEI-coated anionic liposomes and PLA-coated anionic liposomes were significantly higher than that of the PEI/DNA complexes and PLA/DNA complexes. Among PEI-coated liposomes, the formulations which were prepared by using NaO as surfactant showed higher transfection efficiency than those using NaT or CHAPS. All liposomal formulations had lower cytotoxicity than PEI. PEI coated NaO-liposomes had the highest transfection and low cytotoxicity, suggesting that these formulations the potential to be used as effective and safe gene carrier.