

【11】證書號數：I415940

【45】公告日：中華民國 102 (2013) 年 11 月 21 日

【51】Int. Cl. : C12N15/87 (2006.01)

發明

全 13 頁

【54】名稱：超順磁氧化物與聚乙烯二胺複合式磁性錯合物的奈米粒子作為基因轉染載體
HYBRID SUPERPARAMAGNETIC IRON OXIDE NANOPARTICLES AND POLYETHYLENIMINE AS A MAGNETOPLEX FOR GENE TRANSFECTION

【21】申請案號：099144853

【22】申請日：中華民國 99 (2010) 年 12 月 20 日

【11】公開編號：201226567

【43】公開日期：中華民國 101 (2012) 年 07 月 01 日

【72】發明人：王麗芳 (TW) WANG, LI FANG ; 孫碩澧 (TW) SUN, SHUO LI ; 羅于倫 (TW) LO, YU LUN

【71】申請人：高雄醫學大學

KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY

高雄市三民區十全一路 100 號

【74】代理人：蔡清福

【56】參考文獻：

Krötz, F.; Sohn, H.-Y.; Gloe, T.; Plank, C.; Pohl, U., "Magnetofection Potentiates Gene Delivery to Cultured Endothelial Cells" *Journal of Vascular Research*, 2003, vol. 40, no. 5, pages 425-434

Yunn-Hwa Ma, Siao-Yun Wu, Tony Wu, Yeu-Jhy Chang, Mu-Yi Hu, Jyh-Ping Chen, "Magnetically targeted thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator bound to polyacrylic acid-coated nanoparticles" *Biomaterials*, vol. 30, no. 19, pages 3343-3351

審查人員：吳秀中

[57]申請專利範圍

1. 一種製備一奈米粒子的方法，包括步驟：將一聚乙烯二胺靜電地修飾於一聚丙烯酸鍵結的氧化鐵之表面，以獲得一聚合物；以及將一遺傳物質靜電地耦合於該聚合物中的該聚乙烯二胺，以製備該奈米粒子。
2. 如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該聚丙烯酸鍵結的氧化鐵係藉由反應一聚丙烯酸及一四氧化三鐵而獲得。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該奈米粒子為一磁性奈米粒子。
4. 如申請專利範圍第 3 項所述的方法，其中該磁性奈米粒子被一磁鐵吸引，以去除未與該聚丙烯酸鍵結的氧化鐵耦合之該聚乙烯二胺。
5. 如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該遺傳物質係選自由一 DNA、一 RNA、一互補 DNA、一小干擾 RNA 所組成的群組其中之一。
6. 如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該聚丙烯酸鍵結的四氧化三鐵為水溶性。

(2)

7. 一種奈米粒子，包括：一聚合物，包括一聚丙烯酸鍵結的氧化鐵及一聚乙二胺，其中該聚丙烯酸鍵結的氧化鐵具有一表面，且該聚乙二胺被靜電地修飾於該聚丙烯酸鍵結的氧化鐵的該表面；以及一遺傳物質，靜電地耦合於該聚乙二胺。
8. 如申請專利範圍第 7 項所述的奈米粒子，其中該遺傳物質係選自由一 DNA、一 RNA、一互補 DNA、一小干擾 RNA 所組成的群組其中之一，該聚丙烯酸鍵結的四氧化三鐵為水溶性。
9. 一種奈米粒子，包括：一聚合物，包括一聚乙二胺及一聚丙烯酸鍵結的金屬粒子，其中該聚丙烯酸鍵結的金屬粒子具有一表面，且該聚乙二胺被靜電地修飾於該聚丙烯酸鍵結的金屬粒子的該表面；以及一遺傳物質，靜電地耦合於該聚乙二胺。
10. 如申請專利範圍第 9 項所述的奈米粒子，其中該聚丙烯酸鍵結的金屬粒子中的金屬粒子為水溶性，該金屬粒子係選自由一金奈米粒子、一銀奈米粒子及一鐵奈米粒子所組成的群組其中之一，該遺傳物質係選自由一 DNA、一 RNA、一互補 DNA、一小干擾 RNA 所組成的群組其中之一。

圖式簡單說明

第 1 圖為本發明 PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子之示意圖。

第 2 圖(a)及(b)分別為使用兩種不同 PAAIO 及 PEI 重量比所製備之不同 pH 值與 PEI-PAAIO 奈米粒子的(a)粒子尺寸及(b) zeta 電位關係圖。

第 3 圖(a)為 PEI、PAAIO 及 PEI-PAAIO 奈米粒子的 FTIR 光譜示意圖。

第 3 圖(b)及(c)為 PAAIO 及 PEI-PAAIO 奈米粒子的 ESCA 光譜示意圖。

第 3 圖(d)為 PAAIO 及 PEI-PAAIO 奈米粒子在 25 之 SQUID 磁化強度曲線圖。

第 4 圖(a)及(b)分別為 PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子在不同 N/P 比值之(a)粒子尺寸及(b) zeta 電位。

第 5 圖(a)及(b)分別為(a)不同濃度之 PEI-PAAIO 對 HEK 293T 細胞之細胞毒殺作用，及(b)不同 N/P 比值之 PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子在有或無磁場下對 HEK 293T 細胞之細胞毒殺作用。

第 6 圖(a)及(b)分別為(a)在缺乏 10% FBS 及(b)含有 10% FBS 的條件以及在有或無磁場的條件下，PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子與 HEK 293T 細胞培養 4 小時，再培養 72 小時後之 pEGFP-C1 之表現。

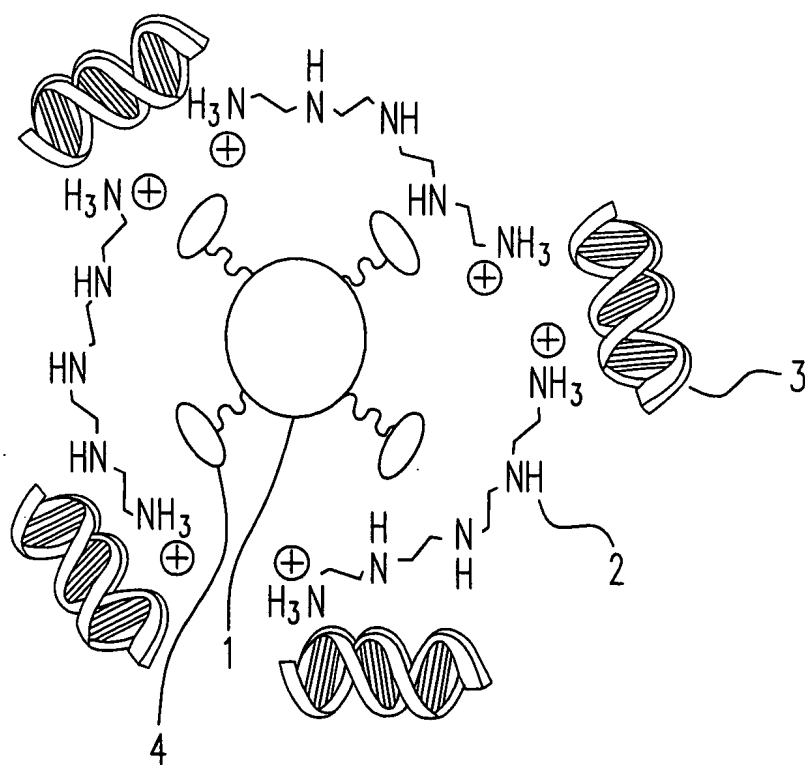
第 7 圖(a)及(b)分別為(a)在缺乏 10% FBS 及(b)含有 10% FBS 的條件以及在有或無磁場的條件下，PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子與 HEK 293T 細胞培養 4 小時，再培養 72 小時後之螢光素酶活性。

第 8 圖(a)及(b)分別為(a)在缺乏 10% FBS 及(b)含有 10% FBS 的條件以及在有或無磁場的條件下，PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子與 HEK 293T 細胞培養 4 小時後，以感應耦合電漿發射光譜分析儀(ICP-OES)測定 HEK 293T 細胞攝入之鐵含量。

第 9 圖(a)及(b)分別為(a)在缺乏 10% FBS 及(b)有 10% FBS 的條件以及在有或無磁場的條件下，PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子與 U87 細胞培養 4 小時，再培養 72 小時後之螢光素酶活性。

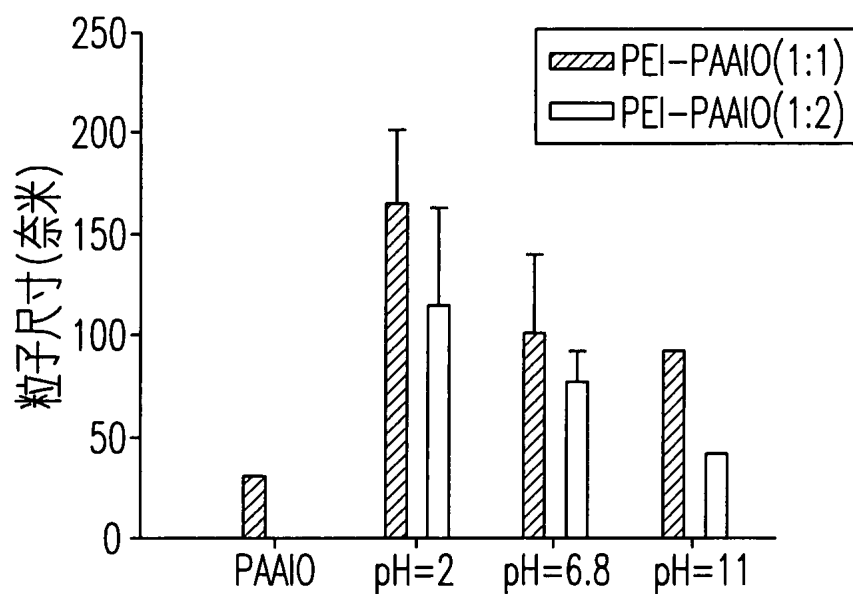
第 9 圖(c)及(d)分別為(c)在缺乏 10% FBS 及(d)有 10% FBS 的條件以及在有或無磁場的條件下，PEI-PAAIO/pDNA 磁性奈米粒子與 U87 細胞培養 4 小時，再培養 72 小時後，以感應耦合電漿發射光譜分析儀(ICP-OES)測定 U87 細胞攝入之鐵含量。

(3)

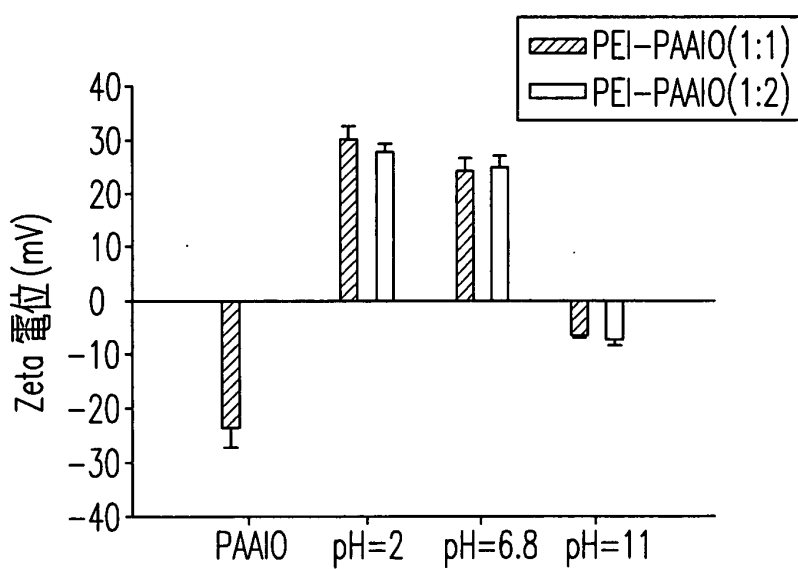


第1圖

(4)

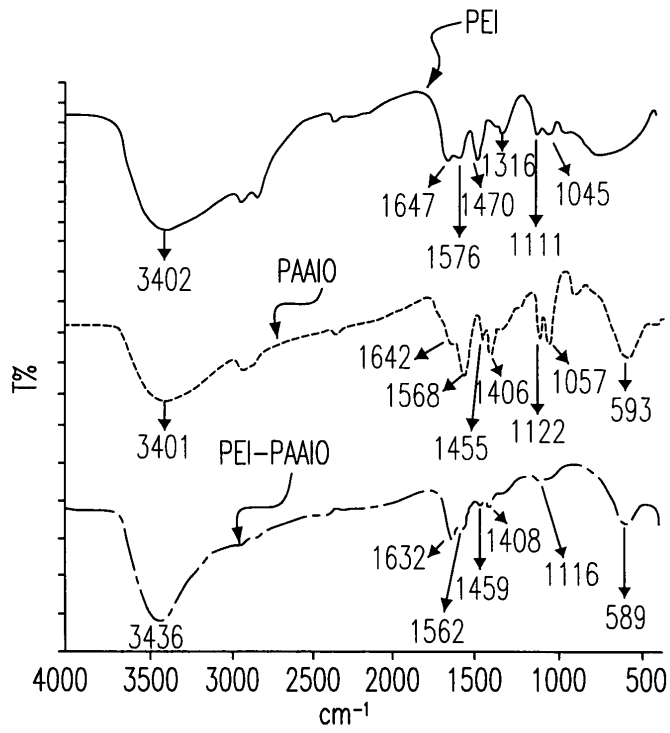


第2圖(a)

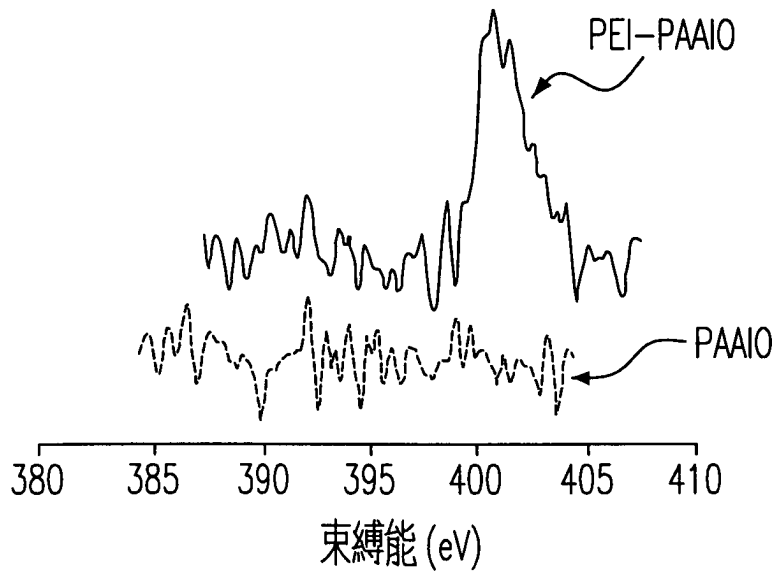


第2圖(b)

(5)

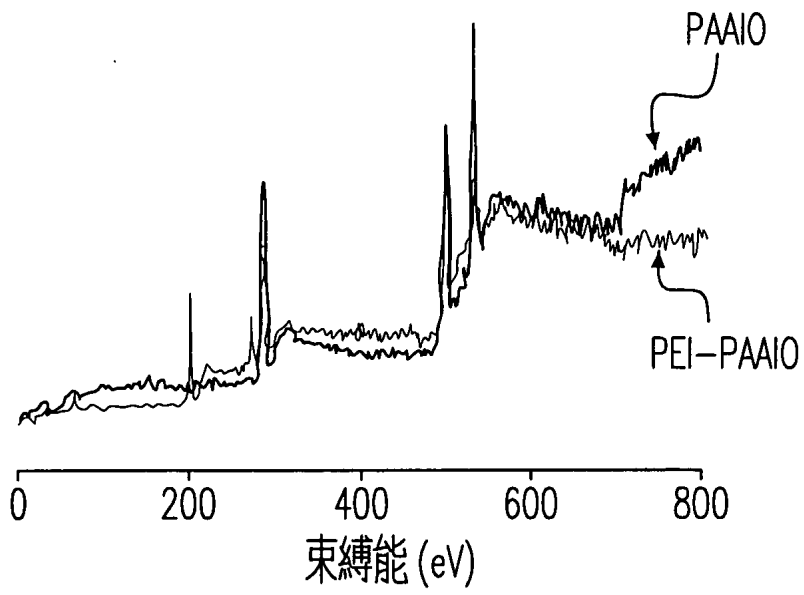


第3圖(a)

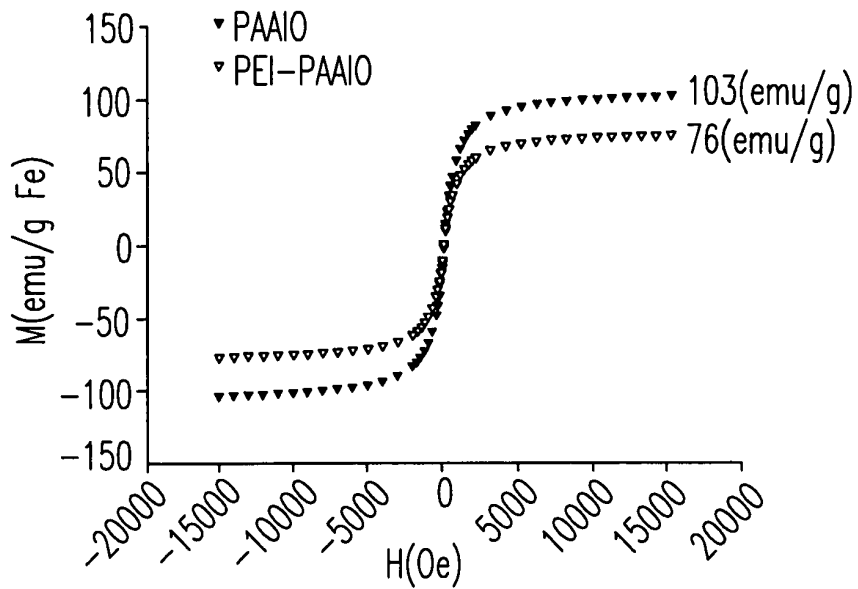


第3圖(b)

(6)

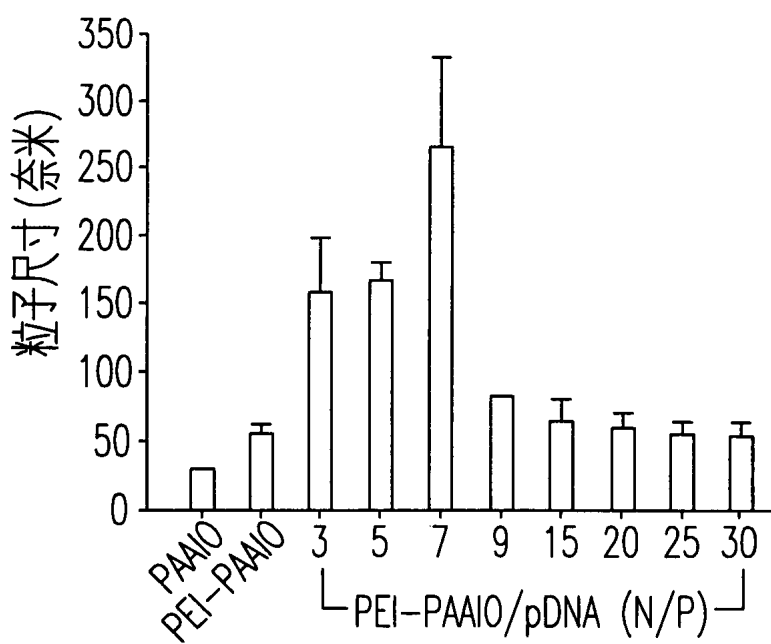


第3圖(c)

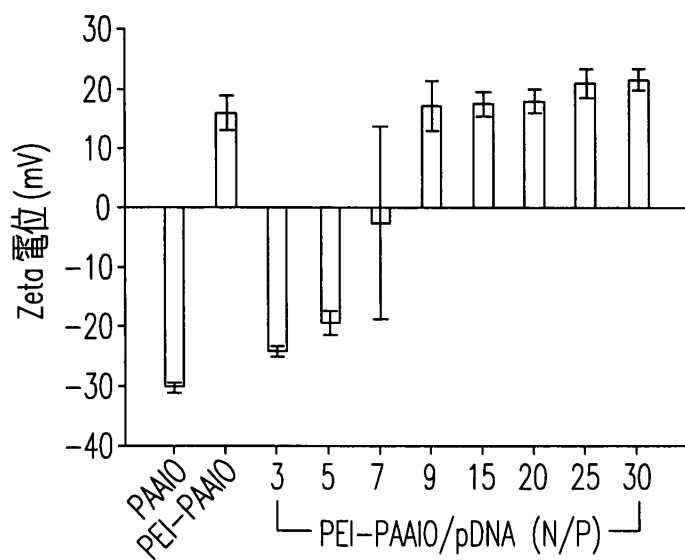


第3圖(d)

(7)

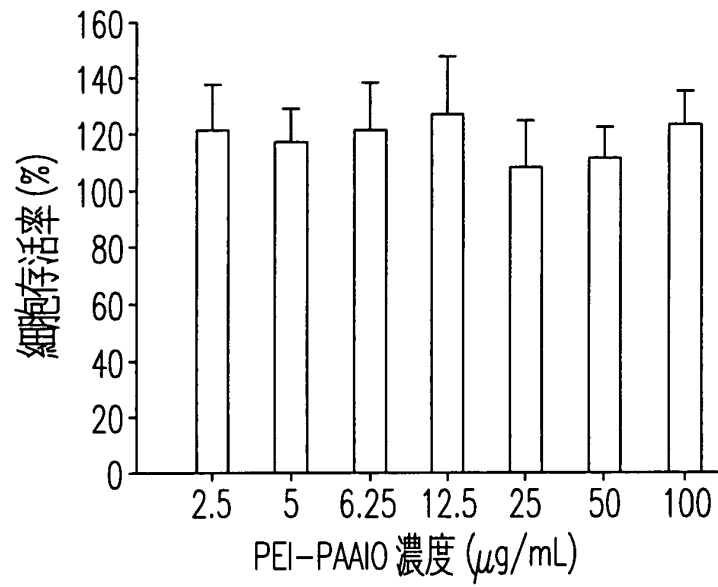


第4圖(a)

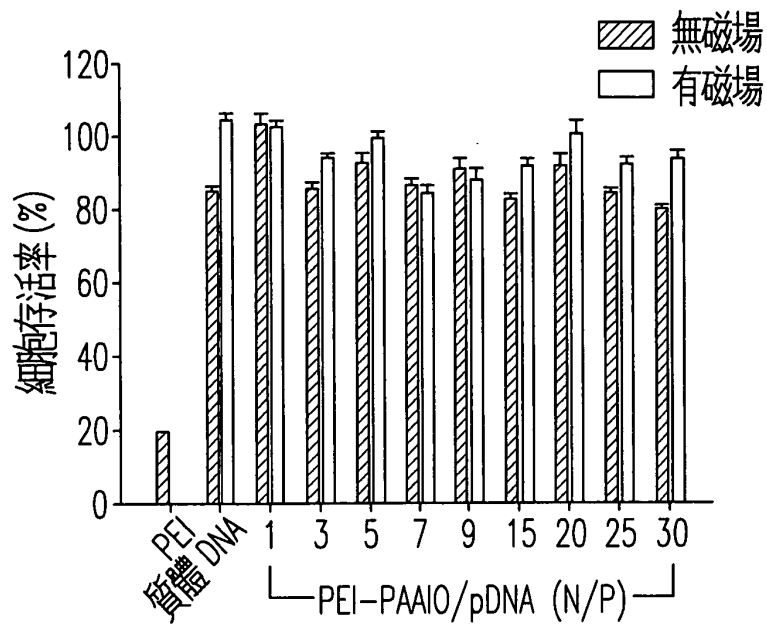


第4圖(b)

(8)

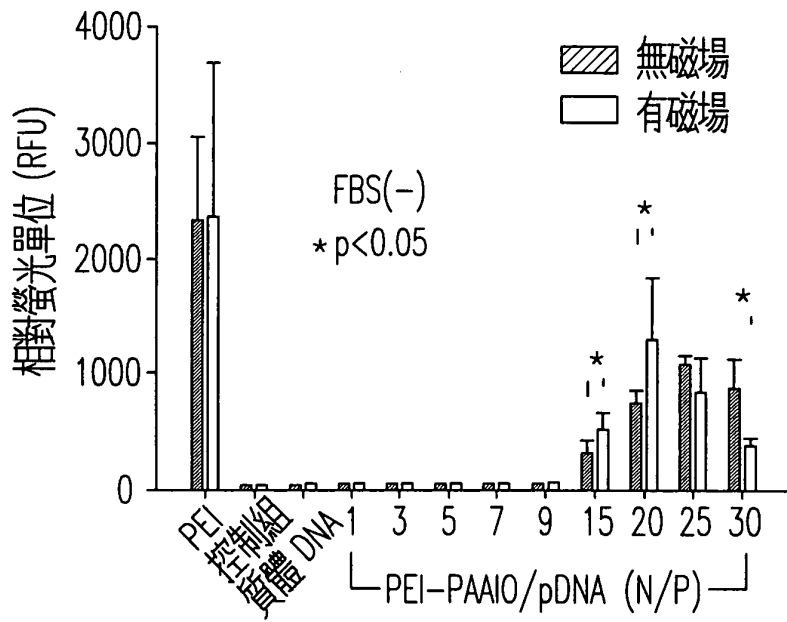


第5圖(a)

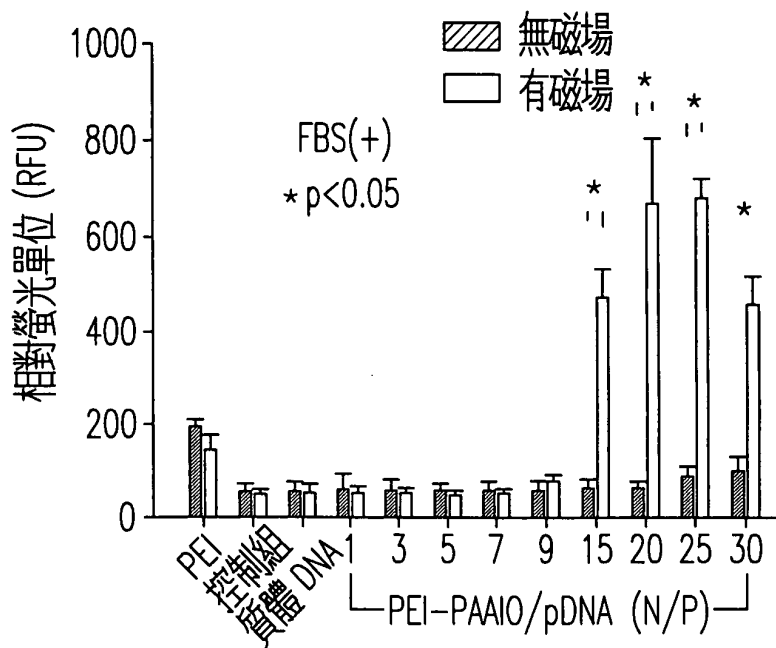


第5圖(b)

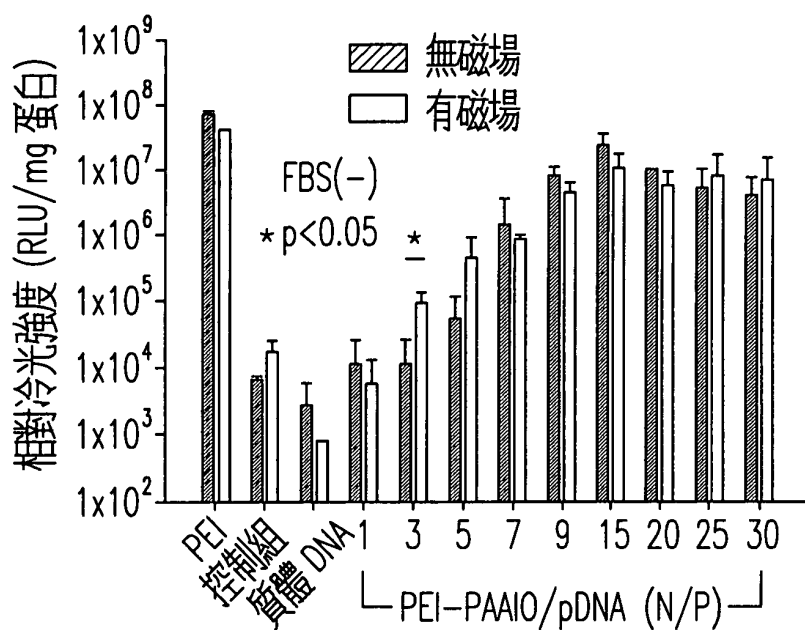
(9)



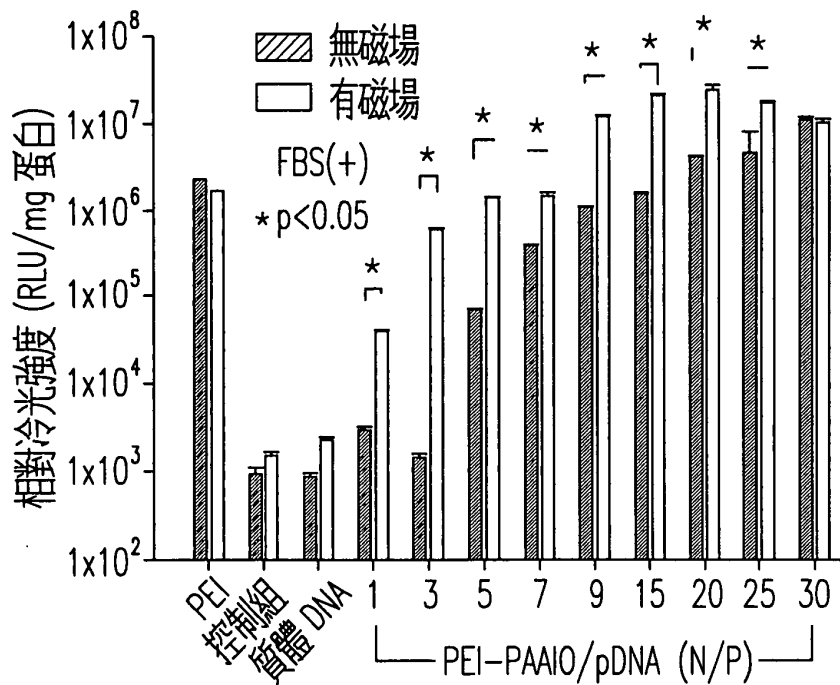
第6圖(a)



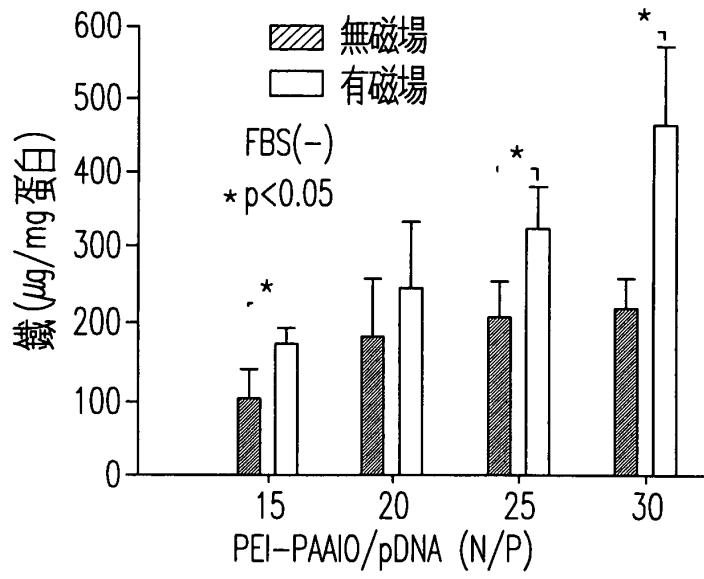
第6圖(b)



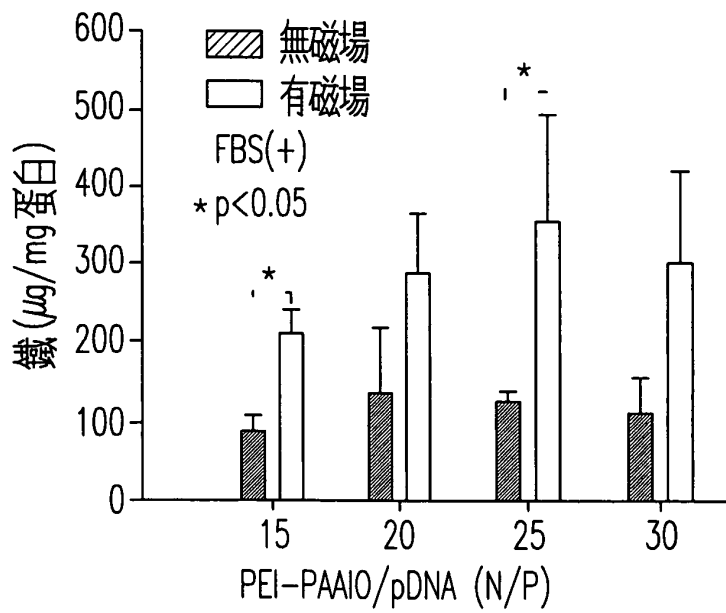
第7圖(a)



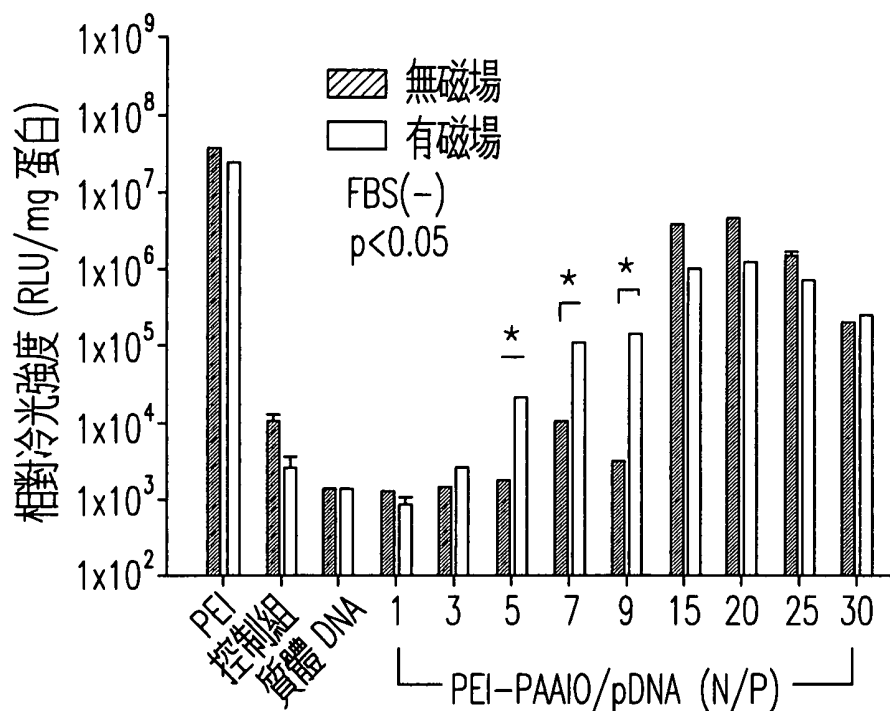
第7圖(b)



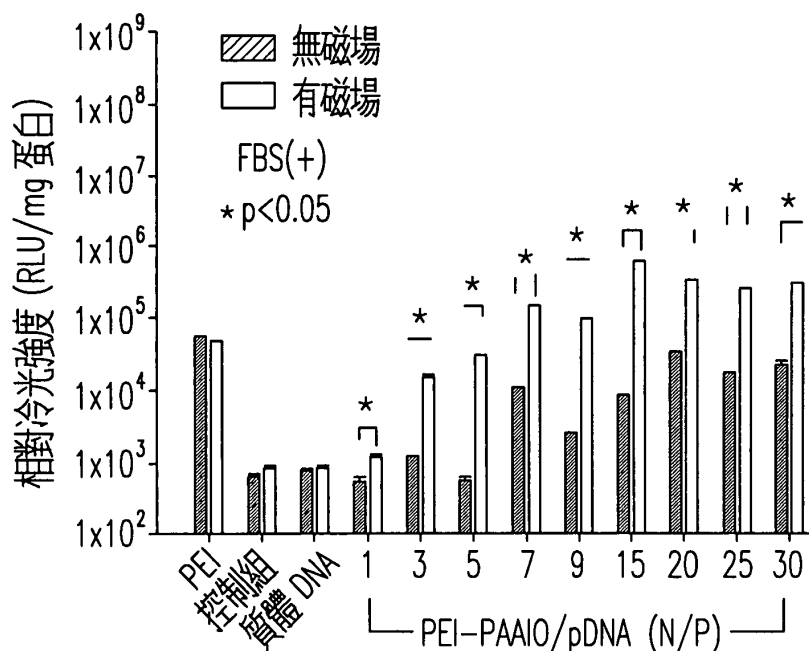
第8圖(a)



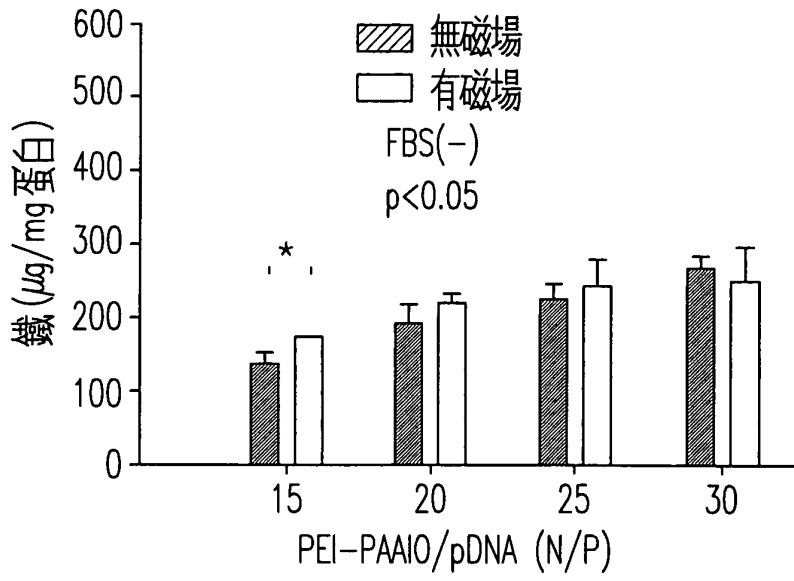
第8圖(b)



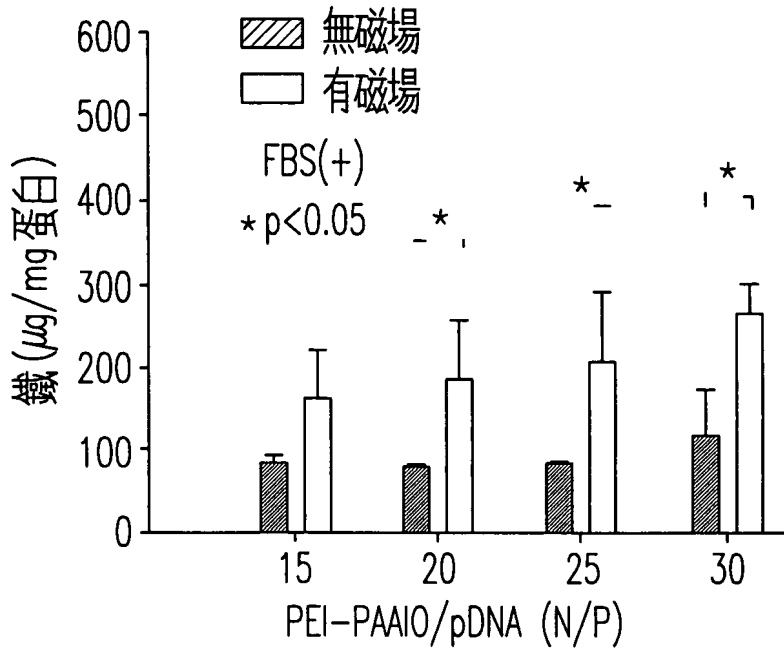
第9圖(a)



第9圖(b)



第9圖(c)



第9圖(d)