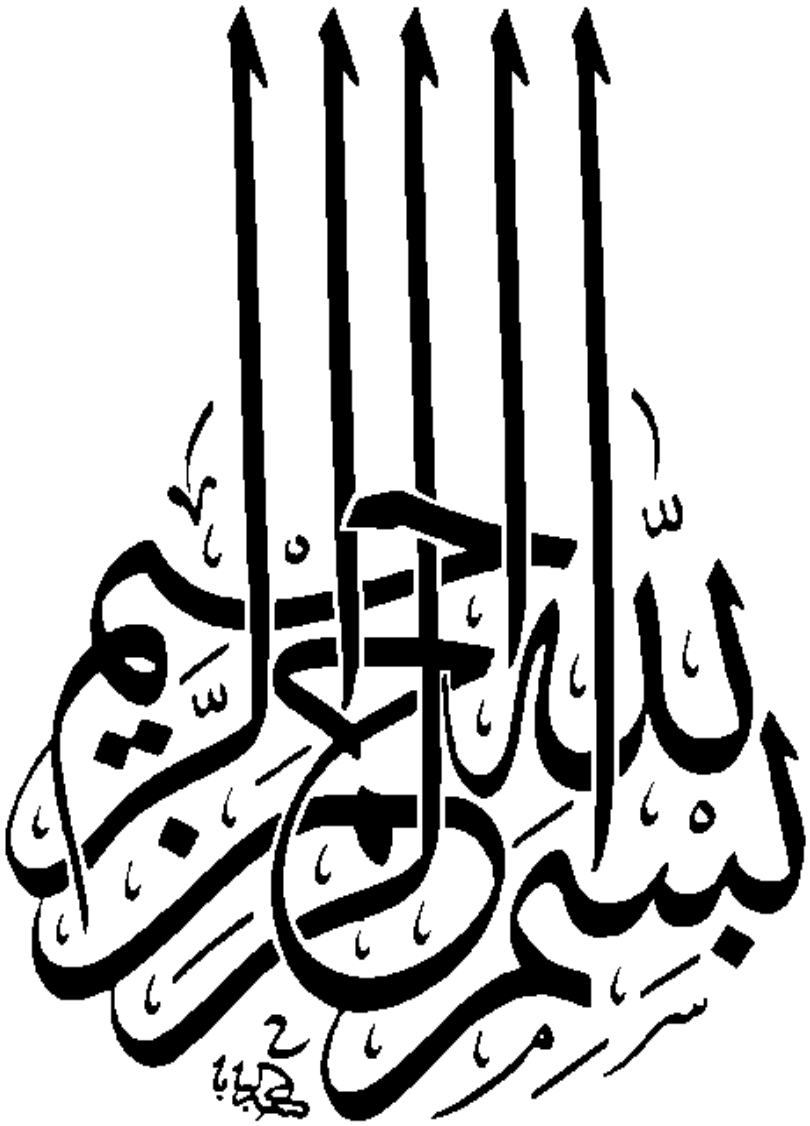

بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی

وزارت علوم. تحقیقات و فناوری

جمهوری اسلامی ایران

دانشگاه پیام نور

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی
دانشکده پیام نور مشهد
گروه علمی زیست شناسی گرایش بیوشیمی

عنوان:

تهیه و ارزیابی لیپوپلکس های با اندازه ی نانو به عنوان وکتورهای غیر ویروسی در ژن درمانی: بررسی اثر سیالیت دو لایه لیپوزوم کاتیونی بر میزان ترانسفکشن

استاد راهنمای اول:

آقای دکتر بیژن ملائکه نیکویی

استاد راهنمای دوم:

آقای دکتر محمد رمضانی

استاد مشاور:

آقای دکتر مسعود صالح مقدم

نگارش:

مجید خوش همدم

پاییز ۸۷

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم تحقیقات و فناوری

تاریخ: .....
شماره: .....
پیوست: .....

دانشگاه پیام نور

بسمه تعالی

تصویب نامه پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان: تهیه دارزیابی لیپوپلکس های با اندازه نانو به عنوان دکترهای نوین در درمان درمان : بررسی اثر سیالیت دولایه لیپوزوم کاتیونی بر میزان ترانسفکشن

که توسط خانم مهدخت صدم تهیه و به هیئت داوران ارائه گردیده است مورد تائید می باشد.

تاریخ دفاع: ۸۷/۷/۱۴ نمره: ۱۹/- (نوزده) درجه ارزشیابی: عالی

اعضای هیئت داوران :

نام و نام خانوادگی	هیئت داوران	مرتبه علمی	امضاء
دکتر مهرزاد ملائکه نیکویی	~~استاد راهنما~~		
دکتر محمد رضا فانی	استاد راهنمای همکار یا ~~مشاور~~		
دکتر سعید صالح قدم	استاد مشاور		
دکتر خدیجه هاشمی الاصل	استاد ممتحن		
دکتر آرکنی			
دکتر میثم لاری	نماینده گروه آموزشی		

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم تحقیقات و فناوری

تاریخ: .....
شماره: .....
پیوست: .....

دانشگاه پیام نور

بسمه تعالی

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان: تهیه و ارزیابی لیپوزیکس های با اندازه نانو به عنوان دلیوری های غیر ویروسی ژن درمانی : بررسی اثر سیالیت دولایه لیپیدی کاتیونی بر میزان ترانسفکشن

که توسط آقای مجید خوش لهجه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی

مرکز مشهد تهیه و به هیئت داوران ارائه گردیده است مورد تائید می باشد.

تاریخ دفاع: ۸۷/۷/۱۴ نمره: ۱۹,- (نوزده) درجه ارزشیابی: عالی

اعضای هیئت داوران :

نام و نام خانوادگی	هیئت داوران	مرتبه علمی	امضاء
دکتر بیژن ملائکه نیکویی	استاد راهنما		
دکتر محمد رضا فانی	استاد راهنمای همکار یا مشاور		
دکتر سید صالح تندم	استاد مشاور		
دکتر خدیجه های الاهری	استاد ممتحن		
دکتر آستکفی			
دکتر مسلم لاری	نماینده گروه آموزشی		

تغییرات لازم:

با سپاس فراوان از زحمات استاد ارجمند :

آقای دکتر ملائکه نیکویی

و پرسنل محترم پژوهشکده بوعلی مشهد

و با سپاس از استاد گرامی آقای دکتر صالح مقدم

و تشکر ویژه از پرسنل گرانقدر کلینیک همو دیالیز سبز درمان مشهد

چکیده:

اگرچه که به علت کارایی بالای وکتورهای ویروسی هنوز از آنها جهت انتقال ژن استفاده می گردد ولی کاربرد آنها به علت خطر ایمونو ژنیسیتی محدود شده است. از این رو امروزه استفاده از لیپوزومهای کاتیونی بعنوان جایگزینی مناسب جهت انتقال ژن با **DNA** به اندازه های متفاوت، نسبت به وکتورهای ویروسی در حال افزایش می باشد. با این وجود نگرانی اصلی در به کار گیری آنها کارایی پایین ترانسفکشن در مقایسه با وکتورهای ویروسی می باشد. با توجه به کاربرد وسیع این وکتورها، در این بررسی تلاش شده مقایسه ای چند جانبه بین کارایی لیپوزومهای کاتیونی در کنار لیپیدهای کمکی مختلف انجام گیرد. همچنین اثر سیالیت غشای لیپوزومها با اندازه های مختلف (**MLVs** ، **۸۰۰nm** و **۱۰۰nm**) در نسبتهای متفاوت **C/P** بر میزان کارایی ترانسفکشن مورد بررسی قرار گرفت که استفاده از **MLVs** نتایج بهتری در بیشتر موارد به دنبال داشت. در فرمولاسیون **DC-Chol:DOPE**، اندازه ی **۱۰۰nm** بیشترین کارایی را از خود نشان داد و استفاده از دو لیپید کمکی با هم در فرمولاسیون **DOTAP:DOPE:DPPE (2:1:1)** باعث افزایش چشمگیری در میزان ترانسفکشن گردید. اگرچه **DPPE** در این فرمولاسیون ها دارای **Tm** بالاتری (**Tm** ~ ٦٤ ˚C) نسبت به **DOPE** (**Tm** ~ -١٦/٥ ˚C) بوده است. ولی غشاهای سیال با وجود امکان آزاد سازی با سهولت بیشتر **DNA** از لیپوزوم لزوماً با افزایش کارایی در همه فرمولاسیون های لیپوزومی مواجه نگردیده است.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه.....۳۳-۱

بخش اول: ژن درمانی.....۱

بخش دوم: سیستمهای انتقال ژن.....۳

بخش سوم: لیپوزوم های کاتیونی.....۱۵

بخش چهارم : سرنوشت لیپوپلکس پس از تشکیل.....۲۰

بخش پنجم : عوامل موثر بر میزان کارایی انتقال ژن لیپوزوم های کاتیونی.....۲۶

بخش ششم : بررسی سمیت در استفاده از لیپوزوم های کاتیونی

به عنوان سیستم انتقال ژن.....۳۳

فصل دوم : روش کار.....۵۳-۳۴

بخش اول: آماده سازی و تهیه لیپوزوم ها جهت استفاده به عنوان وکتور.....۳۴

بخش دوم: تهیه لیپوزوم ها با اندازه های متفاوت.....۳۹

بخش سوم: تعیین Tm لیپوزوم ها با استفاده از روش DSC.....۴۱

بخش چهارم: کشت سلول.....۴۲

بخش پنجم: استخراج DNA پلاسمیدی.....۴۴

بخش ششم: سنجش اتدیوم برماید.....۴۸

بخش هفتم: آزمایشات ترانسفکشن (لیپوفکشن) در محیط in vitro.....۵۰

بخش هشتم: تعیین پتانسیل زتا و اندازه ی لیپوپلکس ها.....۵۲

فصل سوم : نتایج و بحث.....۷۲-۵۴

بخش اول: نتایج.....۵۴

بخش دوم: بحث.....۶۵

بخش سوم: نتیجه گیری.....۶۹

پیوستها.....۷۰-۷۳
پیوست الف: ساختار مولکولی لیپیدهای استفاده شده در تحقیق.....٦٧

فهرست منابع.....۷۳-۸۱

فصل اول :

مقدمه

بخش اول: ژن درمانی

پس از پیشرفت در درمان بیماریهای قلبی و عروقی، سرطان همچنان یکی از بزرگترین علل مرگ و میر در دنیا محسوب می شود. به علت رشد تهاجمی و مکانیسم پیچیده سلولهای سرطانی همواره پیدا کردن راهی در جهت کنترل رشد تومور و درمان کار آمد آن مورد توجه بسیاری از دانشمندان در سراسر دنیا قرار گرفته است. به عنوان نمونه از روندهای درمانی می توان به رادیو تراپی، جراحی، شیمی درمانی و ژن درمانی اشاره کرد. در مقایسه با سایر درمانها، ژن درمانی به جهت تاثیر مستقیم و ویژه بر روی ژنهای ایجاد کننده ی سرطان (عامل ایجاد بیماری) بیشتر مورد توجه محققان در عرصه زیست شناسی و پزشکی قرارگرفته است (*Merdan et al., 2002*).

اصول تئوری ژن درمانی ساده می باشد و آن عبارتست از وارد کردن یا اضافه کردن ژن های اصلاح شده به درون سلولهای میزبان (*Chaudhuri., 2002*). در طول ۱۵ سال گذشته بیشتر از ٤۰۰ مطالعه بالینی مستقیم در ژن درمانی انجام شده است که تقریباً ۷۰ درصد آن مطالعات در زمینه ژن درمانی سرطان بوده است (*Aneed., 2004*). بدین جهت ژن درمانی نه تنها جهت درمان سرطان بلکه در درمان بسیاری از بیماریهای وراثتی، بیماریهای عفونی، ویروسی و یا اکتسابی همچون AIDS مورد بررسی قرار گرفته است (*Mitrović., 2003*).

شاید مهمترین مسئله در ژن درمانی، انتقال ژن یا ژن های مورد نظر به داخل سلولهای میزبان می باشد (*Merdan et al., 2002; Chaudhuri., 2002*; *Mitrović., 2003*). به طوریکه بسیاری از شرکتهای دارویی، مراکز تحقیقاتی، بیوشیمی و پزشکی بیشترین تمرکز خود را در این باره برای بررسی و پیدا کردن راهی موثر و با کارایی بالا و در عین حال کم خطر جهت انتقال ژن اختصاص داده اند (*Lungwitz., 2005*).

هدف سیستمهای انتقال ژن بر حسب نوع کاربرد آن بسیار متفاوت می باشد. به عنوان مثال یک بیان طولانی و نگهدارنده ژن جهت درمان بیماری مرتبط با عملکرد ژن معیوب در افزایش کلسترول خون[۱] نیاز می باشد و این در حالیست که برای بسیاری از راهکارهای ژن درمانی در سرطان معمولا یک بیان ژن کوتاه مدت کافیست (*Aneed., 2004*).

هنگامیکه یک ژن که شامل مولکول DNA و یا نوکلئوتیدهای کد کننده یک پروتئین است وارد هسته سلول هدف می گردد، برای سنتز mRNA الگو قرار گرفته که پس از آن منجر به تولید

---

[۱] Hyper cholestrolemia

پروتئین درمانی که سلول اولیه فاقد آن یا دچار جهش یا نقص شده می گردد. بدین منظور ژن مورد نظر را توسط یک حامل که در اصطلاح وکتور[۲] نامیده می شود وارد هسته سلول هدف می کنند (*Lungwitz., 2005*). به دلیل اهمیت ژن درمانی، در این تحقیق نیز سعی شده اثر فرمولاسیون های مختلف لیپوزومی در اندازه های نانو و با غشاءهایی با سیالیت های متفاوت در میزان موفقیت در ترانسفکشن و در حقیقت یک انتقال ژن کارا مورد ارزیابی قرار گیرد.

---

[۲] Vector

بخش دوم: سیستمهای انتقال ژن

سیستمهای انتقال ژن را به طور کلی به چند دسته تقسیم نمود :

۱) سیستمهای انتقال ژن ویروسی.

۲) سیستمهای انتقال ژن به روشهای فیزیکی و شیمیایی.

۳) سیستمهای انتقال ژن غیر ویروسی.

۱-۲-۱ سیستمهای انتقال ژن ویروسی :

یکی از روشهای موثر انتقال ژن و ترانسفکشن[۳] در چند دهه اخیر استفاده از ویروسهای حیوانی در انتقال ژن می باشد که در آن ویروسهای نو ترکیب (حاوی ژن یا ژن اصلاح شده یا درمانی) وارد سلول و بافت هدف شده و سرانجام منجر به نو ترکیبی ژن مورد نظر با سیستم ژن میزبان و بنابراین تولید پروتئین و یا اصلاح ساختار ژن معیوب می گردد. به دلیل سرعت آماده سازی بالای ویروسها اغلب آنها در جهت ژن درمانی سرطان استفاده شده است در حقیقت کاربرد ویروسهای آنکولیتیک[٤] به طور قابل توجهی در مواجه با سرطان موثر واقع شده است (*Russell & Peng., 2007*). امروزه به کار بردن ویروسها در ژن درمانی سرطان می تواند به عنوان کمکی در کنار شیمی درمانی و رادیو تراپی مفید باشد (*Witlox et al., 2007*). مشخصات بعضی از وکتورهای رایج ویروسی در جدول ۱-۱ آمده است.

---

[۳] Transfection

[٤] Oncoletics

وکتور	ظرفیت kb	ماده ژنومی	اندازه ی ژنوم kb	قطر nm	کارایی	ویژگیها
Retrovirus	۸	RNA خطی تک رشته ای	۷-۱۱	۱۰۰-۱٤٥	محدود به سلولهای در حال تقسیم	بیان طولانی ژن و پیوستن به ژنوم میزبان
Adeno-associated virus	٤/۷	DNA خطی تک رشته ای	٤/۷	۲۰-۲۲	بالا، در سلولهای حال تقسیم و بدون تقسیم سلولی	پیوستن به ژنوم میزبان و بیان طولانی ژن وعدم کفایت در تولید در مقیاس بالا، ایمونوژنسیتی بالا
Adenovirus	۸-۹	DNA خطی دو رشته ای	۳٦	۸۰-۱۰۰	بالا، در سلولهای حال تقسیم و بدون تقسیم سلولی	بیان ژن گذرا
Herpes virus	۳۰	DNA خطی دو رشته ای	۱۵۲	۲۰۰	بالا	بیان ژن موقتی، سمیت پایین، عفونت در دوره کمون
Lentivirus	۸	DNA خطی دو رشته ای	۷-۱۱	۸۰-۱۰۰	بالا	بیان طولانی ژن وعدم کفایت در تولید در مقیاس بالا، نگرانی در بی خطر بودن

جدول ۱-۱-مقایسه وکتورهای ویروسی از نظر ویژگی و کارایی آنها در انتقال ژن.

۱-۲-۱-۱- رترو ویروسها[۵]

رترو ویروسها، ویروسهای RNA دار کوچک با واسطه DNA هستند که ژنوم آنها به سیستم ژنی میزبان اضافه شده و منجر به تولید پروتئین ویروسی می گردد [env، pol، gag] (*Zhang & Godbey., 2006*). استفاده از این ویروسها اولین بار در سال ۱۹۸۱ گزارش شد. بیشتر رترو ویروسها قادر به آلوده کردن سلولهای در حال تقسیم میتوزی می باشند. علی رغم این موضوع تمام تومورها در فاز G_0 شامل سلولهای در حال استراحت می باشند که این خود یک محدودیت استفاده از آنها در ژن درمانی سرطان می باشد. البته بعضی از محققان توانسته اند با استفاده از مواد زیستی متصل به ذرات رترو ویروسی نتایج چشمگیری را در افزایش میزان انتقال ژن و تغییر دائمی ژنتیکی در سلول هدف به دست آورند (*Gersbach et al., 2007*).

دو عضو خانواده رترو ویروسها ، آنکو ویروسها[۶] و لنتی ویروسها[۷] می باشند. آنکو ویروسها شامل وکتورهایی از ویروس *Moloney Murine 12* می باشند که اولین وکتور مورد استفاده در ژن درمانی انسانی بوده است (*Cone & Mulligan., 1984*). این ویروسها قادر به نو ترکیبی به میزان ٤٠ درصد در هر دوره تکثیر سلولی می باشند (*Hida et al., 2007*). همچنین لنتی ویروسهایی همچون HIV و وکتورهای آن در این حال میزان کارایی انتقال ژن را ۱۰ برابر افزایش داده است (*Aneed., 2004*).

۱-۲-۱-۲- آدنو ویروسها[۸]

آدنو ویروسها، ویروسهای دارای DNA دو رشته ایی هستند که قادرند هم سلولهای در حال تقسیم و هم آنهایی که توانایی تقسیم سلولی ندارند را آلوده سازند به طوری که آنها را قادر می سازد در ژن درمانی سرطان مورد استفاده قرار گیرند. با این وجود ترانسفکشن یا انتقال ژن آنها گذرا بوده و تجویز مکرر آنها جهت ایجاد پاسخ مطلوب مورد نیاز است (*Aneed., 2004; Kelly et al., 1984*).

---

[۵] Retroviruses
[۶] Oncoviruses
[۷] Letiviruses
[۸] Adenoviruses

۱-۲-۱-۳- HSV (Herpes Simplex Virus)

یکی دیگر از وکتورهای ویروسی می باشد کـه جهـت ترانسفکشـن در سـلولهای عصـبی مـورد استفاده قرار می گیرد. دارای DNA دو رشته ایی خطی می باشد که قادر است قطعات بزرگتـری از DNA نو ترکیب را حدوداً kb ٤٠ و چندین برابر لنتی ویروسها در خود جای دهد (*Angelica et al., 1999*).

۱-۲-۱-٤- AAV (Adeno Asociated Virus)

ویروسهای حاوی DNA تک رشته ایی هستند که همانند آدنو ویروسـها کـاربرد داشـته بـا ایـن تفاوت که سمیت کمتری را نسبت به آدنو ویروسـها ایجـاد مـی کننـد (*Samulski et al., 1991*). وکتورهای آن در حقیقت غیر پاتوژن بوده که قادرند سلولهای در حال تقسیم و سـلولهای در حـال استراحت را نیز آلوده سازند. استفاده از آنها برای انتقال ژن به داخـل سـلولهای کبـدی پسـتانداران مورد استفاده قرار گرفته است. البته به کار بردن این وکتورها جهـت تولیـد انسـولین در سـلولهای کبدی موشهای هپالتیک در محیط *in vitro* با موفقیت ۹۰ درصد روبـرو شـده اسـت. محـدودیت کاربرد آنها در محیط *in vivo* به خاطر مقاومت سلولها جهت پذیرش وکتور و افزایش پاسخ ایمنی می باشد که باعث کاهش کارایی ترانسفکشن خواهد شد (*Kozlowski et al., 2007*).

۱-۲-۱-۵- پاکس ویروسها[۹] :

ویروسهای دارای DNA دو رشته ایی بوده که هم سلولهای در حال تقسـیم و هـم سـلولهای در حال استراحت را آلوده ساخته که وکتورهای آن بیشتر به عنوان واکسن کـاربرد دارنـد (*Aneed., 2004*). محققان بوسیله این وکتورها قادرند سلولهای میزبان را وادار به تولید سلولهای T کنند که این مسئله باعث استفاده آنها در درمان بیماریهای بدخیم عفونی شده است (*Paolettil.,1996; Qin et al.,2001*). استفاده توام آدنو ویروسها با لیپید Lipofectamine باعث افـزایش کـارایی قابـل ملاحظـه ایـی در ترانسفکشن سلولهای عفونی صاف انسانی شده است (*Kreuze et al., 1996*).

---

[۹] Pox Viruses

۱-۲-۱-٦-معایب استفاده از ویروسها به عنوان وکتور :

با وجود کارایی بالا ترانسفکشن وکتورهای ویروسی (*Luo & Saltzman., 2000*). استفاده بالینی از این وکتورها از چندین سال گذشته با کاهش چشمگیری در عرصه پزشکی و درمان بیماریها مواجه گردیده است. مهمترین مشکل این وکتورها ایجاد پاسخ ایمنی نامناسب و سمیت بالای آنها برای سلولهای انسانی مطرح گردیده است. این مسئله دانشمندان را به استفاده از روشهای دیگر با خطر کمتر سوق داده است (*Merdan et al., 2002; Chaudhuri., 2002; Mitrović., 2003; Lungwitz., 2005; Aneed.,2004*). مشکل دیگر این وکتورها ظرفیت پایین آنها در جا دادن قطعات محدود DNA و یا ژن می باشد که برای انتقال ژنها و یا قطعات بزرگ مناسب نمی باشند.

عدم توانایی بعضی از وکتورهای ویروسی در آلوده سازی سلولهایی که در حال تقسیم شدن نیستند نیز محدودیت دیگری برای استفاده از این وکتورها محسوب می گردد (*Mitrović., 2003*). البته روشهای جدید کاربرد *Ex vivo* تا حدودی مشکلات ناشی از استفاده وکتورهای ویروسی در محیط بالینی را کاهش داده است (*Hu et al., 2006*). با این وجود تلاش محققان برای استفاده بهتر و کارآمدتر از این وکتورها ادامه دارد.

۱-۲-۲- انتقال ژن به وسیله روشهای فیزیکی و شیمیایی.

این سیستم شامل استفاده از جریان الکتریکی جهت ایجاد حفرات گذرا در غشای سلول (الکترو پوریشن)، مایکرواینجکشن، بید ترانسفکشن و انتقال ذرات بیولستیک می باشد(*Mitrović., 2003*).

۱-۲-۲-۱-الکترو پوریشن

در روش الکترو پوریشن[۱۰] جریان الکتریکی باعث افزایش ولتاژ غشایی تا ۱ ولت به طور گذرا گردیده که این خود موجب باز شدن موقتی کانالهای غشایی جهت ورود DNA به داخل سلول می گردد. این روش نتایج بهتری را نسبت به استفاده از کلسیم فسفات که پیشتر جهت ایجاد نفوذ پذیری غشاء به قطعات DNA استفاده می شده است از خود نشان داده است (*Mitrović., 2003*).

---

[۱۰] Electroporation

۱-۲-۲-۲-مایکرو اینجکشن

مایکرو اینجکشن[۱۱] نیز به استفاده از سوزن بسیار نازک شیشه ای جهت سوراخ کردن و ایجاد شکاف در غشای سلول برای تزریق مایع حاوی DNA یا ماده وراثتی مورد نظر می باشد. *(Human Gene Therapy—A Background Paper.,1984)*

۱-۲-۲-۳-بید ترانسفکشن

در بید ترانسفکشن،[۱۲]از ذرات بسیار کوچک شیشه که به DNA متصل شده در محیط بافر استفاده می گردد. که این ذرات باعث ایجاد حفرات در غشاء گردیده و در نهایت باعث انتقال DNA به داخل سلول می گردد. کارایی این روش به میزان غلظت DNA و با فر و اندازه قطعات DNA و اندازه حفرات وابسته است.

۱-۲-۲-٤-بیولستیک

در بیولستیک[۱۳] از اسلحه ژنی یا بمباران DNA ایی که با ذرات بسیار ریز فلزات سنگین معمولا با قطر۵-۱ میکرومتر پوشانیده شده جهت انتقال ژن به داخل سلول از طریق غشای سلول انجام می گیرد. استفاده از این روشها نیز محدودیتهایی را به دنبال داشته است به طوریکه دانشمندان و اغلب موسسات تحقیقاتی و دارویی را به استفاده از روشهای غیر ویروسی و غیر فیزیکی متمایل نموده است.

---

[۱۱] Microinjection
[۱۲] Bead Transfection
[۱۳] Biolistic

۱-۲-۳- سیستمهای انتقال ژن غیر ویروسی :

پس از مشاهده عوارض ناشی از انتقال ژن ویروسی و محـدودیتهای آن سیسـتم انتقـال ژن غیـر ویروسی به عنوان چاره ای مناسب در پاسخ به نیاز درمان بیماریها و نـواقص ژنتیکـی کـه مناسـب ترین شیوه درمان را ژن درمانی می دانستند مطرح گردید. در حقیقت ایـن شـیوه وکتورهـایی را در بر می گیرد که با داشتن بار مثبت در سطح خود یا با واسطه یونهای با بار مثبت همچون کلسـیم بـا DNA که دارای بار منفی (به خاطر وجود گروههای فسفات) کمپلکس تشکیل داده که باعث حمل DNA به داخل سلول در بافت هدف گشته و سپس وارد هسـته شـده و بیـان گـردد. بـدین سـان محققان قادر خواهند بود که قطعات بزرگ DNA یا ژنهای بزرگ را بدون نگرانی از خطرات ناشی از تجویز وکتورهای ویروسی و انتقال ژنهای بزرگ به داخل سلول منتقل کنند. این سیسـتم شـامل انتقال ژن به وسیله ی پلیمرها، پپتیدهای کاتیونی و لیپوزومهای کاتیونی می باشد.

۱-۲-۳-۱- پلیمرها.

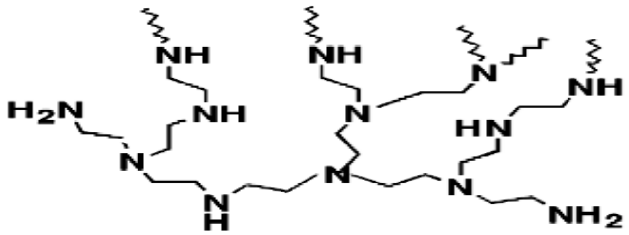
پلیمرها به عنوان وکتور غیر ویروسی دارای توانایی اتصال به DNA می باشند و مـی تواننـد بـه عنوان حامل قطعات پلاسمید با اندازه های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد. این پلیمرها انـواع متعددی دارند که شامل:

۱) فسفاتیدیل اتیلن ایمین.[۱۴]

پلی اتیلن ایمین یکی از پلیمرهای مورد استفاده در این سیستم است که بـه علـت دارا بـودن بـار مثبت می تواند به DNA متصل گردد. مشکل استفاده از این وکتور سمیت بالای آن می باشـد ولـی با این وجود، این پلیمر جهت کاربرد در سلولهای توموری و آندوتلیال در پستانداران مناسب می باشد (*Zemliñska et al., 2007*). ساختار این پلیمر در شکل ۱-۲ آمده است.

---

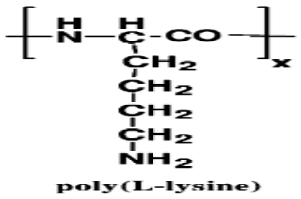
[۱۴] PEI (Phosphotidile Ethanol Imine)



شکل ۱-۲ ساختار شیمیایی یک پلی اتیلن ایمین شاخه دار(فسفاتیدیل اتیلن ایمین آلدریچ)

۲) پلی ال-لیزین.[۱۵]

پلی ال-لیزین از اولین وکتورهای پلیمری است که در ژن درمانی استفاده شـده اسـت (*Wu., 1987*). این وکتور قابل تجزیه بیولوژیکی بوده که از مزایای این پلیمر می باشد (*Aneed.,2004;Patil et al., 2005*). ایـن پلیمر کارایی ترانسفکشن پایینی دارد که به علت سرعت آزاد سازی پایین کمپلکس پلیمر DNA (پلی پلکس[۱۶]) از آندوزوم می باشد. همچنین همانند مواد قبلی دارای سمیت بالایی برای سلول می باشد. با این حال پوشش دادن آن بـا PEG (Poly Ethylene Glycol) (*Hoffman et al., 2002*). کـارایی ترانسفکشن آن را افزایش می دهد.



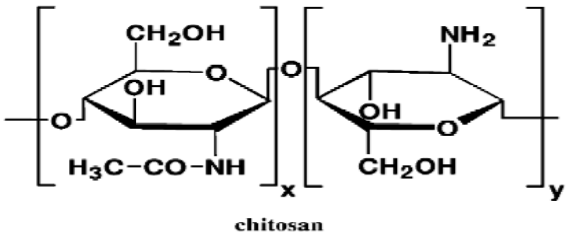
شکل ۱-۳ ساختار شیمیایی پلی ال-لیزین

---

[۱۵] Poly L- Lysine
[۱۶] Polyplex

۳) چیتوزان.

چیتوزان[۱۷] یک پلی آمینو ساکارید خطی قابل تجزیه زیستی بوده (*Merdan et al., 2002; Lungwitz et al., 2005; Aneed., 2004; Luo et al., 2000; Patil., 2005; Gwinn & Vallyathan., 2006*). که پیشتر به عنوان افزودنی خوراکی کاربرد داشته است. استفاده از نانو ذرات چیتوزان هم به عنوان حامل دارو در درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است (*Praetorius & Mandal., 2007*). این وکتور قادر است با DNA کمپکس های کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر تشکیل دهد که این وضعیت باعث محافظت پلی پلکس(کمپلکس پلیمر و DNA) از حمله ی DNase می شود (*Hu et al., 2006*).این وکتور سمیت کمتری را نسبت به سایر کمپلکس های کاتیونی دارا می باشد (*Weecharangsan et al., 2007*).



شکل ۱-٤ ساختار شیمیایی ***چیتوزان****(پلی آمینو ساکارید خطی)*

٤) دندریمرها.[۱۸]

دندریمرها دسته جدیدی از پلیمرهای سنتزی می باشد. تشکیل ذرات پلیمری با محدوده توزیع پلی دیسپرسیتی[۱۹]پایین از مشخصه های ویژه این وکتور است که آن را از پلیمرهای قبلی متمایز می سازد. توانایی این پلیمرهای بسیار پر شاخه همچنین وابسته به نوع سلول و مکانیسم جذب آنها از طریق غشای سلول می باشد (*Manunta et al., 2006*). همانطور که پیشتر اشاره شد فرمولاسیون های بسیار زیادی از پلیمرهای کاتیونی وجود دارند که تحقیقات بر روی آنها و تاثیر فرمولاسیون های مختلف آنها بر میزان ترانسفکشن جهت پیدا کردن حداکثر میزان کارایی ادامه دارد که از آنها

---

[۱۷] Chitosan
[۱۸] Dendrimers
[۱۹] Poly dispersity