

mPEG-PCL-g-PEI 聚合物纳米粒介导的小干扰 RNA 递送

黄伟¹, 吕明², 高钟镐^{1*}, 金明姬¹, 杨长青²

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 2. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133000)

摘要: 本文旨在合成小干扰核糖核酸 (siRNA) 递送载体聚合物聚乙二醇-聚己内酯-聚乙烯亚胺 (mPEG-PCL-g-PEI), 并探讨其体外 siRNA 递送性能。通过开环聚合反应制备二嵌段共聚物聚乙二醇-聚己内酯 (mPEG-PCL-OH), 将 mPEG-PCL-OH 的羟基末端依次化学转化为羧基 (-COOH) 和 *N*-羟基琥珀酰亚胺 (-NHS) 生成 mPEG-PCL-NHS, 再将 mPEG-PCL-NHS 同枝化聚乙烯亚胺(PEI)反应生成三元共聚物 mPEG-PCL-g-PEI。应用傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、核磁共振 (NMR) 和凝胶渗透色谱 (GPC) 对聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 进行结构表征; 通过复凝聚法制备 mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒, 并测定其粒径和 zeta 电位; 通过体外细胞 MTT 测试, 比较 mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒和 PEI/siRNA 纳米粒的细胞毒性; 通过体外细胞转染实验, 考察不同 N/P 比的 mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒对萤火虫荧光素酶基因表达的抑制效率。结果表明, 合成的三元共聚物 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 能压缩 siRNA 形成粒径为 50~200 nm 的纳米粒, 其表面带有正电荷。MTT 分析结果显示 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒的细胞毒性显著小于 PEI_{10k}/siRNA 纳米粒 ($P < 0.05$)。当 N/P 比在 50~150, 萤火虫荧光素酶基因的表达显著下调 ($P < 0.01$)。当 N/P 比为 125 时, 萤火虫荧光素酶基因表达的抑制效率最大。聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 能递送 siRNA 进入细胞, 抑制靶基因表达, 且细胞毒性较低, 有望成为一种新型的 siRNA 递送载体。

关键词: 小干扰核糖核酸; 载体; 聚合物; 纳米粒; 转染

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0344-06

Small interfering RNA delivery mediated by mPEG-PCL-g-PEI polymer nanoparticles

HUANG Wei¹, LÜ Ming², GAO Zhong-gao^{1*}, JIN Ming-ji¹, YANG Chang-qing²

(1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;
2. College of Pharmaceutical Sciences, Yanbian University, Yanji 133000, China)

Abstract: The aim of this paper is to report the synthesis of the mPEG-PCL-g-PEI copolymers as small interfering RNA (siRNA) delivery vector, and exploration of the siRNA delivery potential of mPEG-PCL-g-PEI *in vitro*. The diblock copolymers mPEG-PCL-OH was prepared through the ring-opening polymerization. Then, the hydroxyl terminal (-OH) of mPEG-PCL-OH was chemically converted into the carboxy (-COOH) and *N*-hydroxysuccinimide (NHS) in turn to prepare mPEG-PCL-NHS. The branched PEI was reacted with mPEG-PCL-NHS to synthesize the ternary copolymers mPEG-PCL-g-PEI. The structure of mPEG-PCL-g-PEI copolymers was characterized with Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), nuclear magnetic resonance (NMR) and gel permeation chromatography (GPC). The mPEG-PCL-g-PEI/siRNA nanoparticles were prepared by complex coacervation, and the nanoparticles size and zeta potential were determined, separately. The

收稿日期: 2010-10-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873168).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63028096, E-mail: zggao@imm.ac.cn

cytotoxicities of mPEG-PCL-g-PEI/siRNA nanoparticles and PEI/siRNA nanoparticles were compared through cells MTT assays *in vitro*. The inhibition efficiencies of firefly luciferase gene expression by mPEG-PCL-g-PEI/siRNA nanoparticle at various N/P ratios were investigated through cell transfection *in vitro*. The experimental results suggested that the ternary (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} copolymers were successfully synthesized. (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} could condense siRNA into nanoparticles (50–200 nm) with positive zeta potential. MTT assay results showed that the cytotoxicity of (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticles was significantly lower than that of PEI_{10k}/siRNA nanoparticles ($P < 0.05$). The expression of firefly luciferase gene could be significantly down-regulated at a range of N/P ratio from 50 to 150 ($P < 0.01$), and maximally inhibited at the N/P ratio of 125. The mPEG-PCL-g-PEI polymers could delivery siRNA into cells to inhibit the expression of target gene with very low cytotoxicity, which suggested that mPEG-PCL-g-PEI could serve as a new type of siRNA delivery vector.

Key words: siRNA; vector; polymer; nanoparticle; transfection

小干扰核糖核酸 (small interfering RNA, siRNA) 是长双链 RNA 分子在细胞质中 Dicer 酶的切割作用下生成长度为 21~28 bp 的双螺旋 RNA 分子。参与 RNA 干扰效应的蛋白分子能够特异性识别 siRNA 的双链结构, 并与其中的一条单链结合形成 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)。RISC 可以切割同 siRNA 具有完全互补序列的 mRNA 分子, 阻断靶 mRNA 的翻译过程, 进而下调或完全封闭靶基因的表达^[1, 2], 这无疑给包括癌症在内的许多疑难疾病提供了一种崭新的治疗方法^[3, 4]。

siRNA 本身不能被细胞摄取吸收, 且容易被核酸酶降解。因此, siRNA 必须借助载体的保护和递送才能进入细胞发挥作用^[5, 6]。目前 siRNA 递送载体分为病毒载体 (viral vectors) 和非病毒载体 (non-viral vectors) 两大类。虽然病毒载体细胞转染效率高, 但是病毒具有免疫原性, 容易致畸和致突, 而且制备成本较高, 因此病毒载体的应用受到很大限制^[7]。近年来, 非病毒载体因其无免疫原性, 具有良好生物相容性, 且制备容易等优点而倍受关注, 成为 siRNA 递送 (siRNA delivery) 领域的研究热点^[8]。

聚乙烯亚胺 (polyethylenimine, PEI) 是一种高效的 siRNA 非病毒型递送载体^[9, 10], 但是其分子表面具有高密度正电荷会导致严重的细胞毒性, 成为限制 PEI 临床应用的重要影响因素^[11]。本文旨在研制基于 PEI 的新型 siRNA 递送载体。本研究合成了二段共聚物聚乙二醇-聚己内酯 (mPEG-PCL), 然后将其化学枝接在 PEI 分子上的伯胺基 (-NH₂) 部位形成聚合物聚乙二醇-聚己内酯-聚乙烯亚胺 (mPEG-PCL-g-PEI)。本文对该聚合物的结构进行了表征, 并初步探讨了其细胞毒性和 siRNA 递送性能。

材料与方法

材料与试剂 聚乙烯亚胺 (PEI, M_w 10 000) (美国 Polysciences 公司); 聚乙二醇单甲醚 (mPEG, M_w 5 000) (Fluka 公司); ϵ -己内酯 (ϵ -CL) 和 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) (Acros 公司); 丁二酸酐、*N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 和辛酸亚锡 (SnOct) (美国 Sigma-Aldrich 公司); 细胞培养基和胎牛血清 (美国 Hyclone 公司); QIAprep Spin Miniprep kit 质粒提取试剂盒 (QIAGEN 公司); Dual-Luciferase Reporter Assay System 试剂盒、质粒 pGL3_Control 和 pGL 4.75 (美国 Promega 公司); GL3_Luc_siRNA (Dharmacon 公司); 其他试剂均为分析纯。

聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 的制备 分别将适量的 mPEG 与 ϵ -CL 单体用甲苯溶解, 通入氮气, 加入催化剂辛酸亚锡, 在氮气的保护下于 120 °C 磁力搅拌反应 24 h, 纯化得白色产物 mPEG-PCL-OH。将 0.5 mmol 的 mPEG-PCL-OH 加无水甲苯 20 mL 溶解, 再加入 3 mmol 丁二酸酐与 3 mmol DMAP, 室温下反应 24 h, 纯化得白色蜡状沉淀 mPEG-PCL-COOH。在通氮气下用二氯甲烷 (DCM, 30 mL) 溶解 0.5 mmol mPEG-PCL-COOH 和 1 mmol NHS, 冰水浴中磁力搅拌 1 h 后加入 1 mmol 二环己基碳二亚胺 (DCC), 室温下反应 12 h。反应液经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 滤液在大量的乙醚中沉淀, 过滤, 异丙醇洗涤, 将白色蜡状沉淀真空干燥得 mPEG-PCL-NHS。最后, 将一定比例的 PEI 和 mPEG-PCL-NHS 用 DCM 溶解, 室温下搅拌反应 24 h。反应液在 DCM 中透析 48 h (透析袋截流相对分子质量 12 000~14 000), 纯水中透析 48 h, 除去未反应的 PEI 及二嵌段共聚物。将透析袋内的液体离心 (5 000 r·min⁻¹), 上清液经 0.8 μ m 微孔滤膜过滤后放入冷冻干燥机 (Martin Christ, Germany)

中干燥, 得 mPEG-PCL-g-PEI。聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 的结构通过傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、核磁共振 (NMR) 和凝胶渗透色谱 (GPC) 进行测定。

mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒的制备 将 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 载体溶于去离子水中得到不同浓度的聚合物溶液, 0.22 μm 滤膜除菌过滤。将一定量的 siRNA 用一定体积 RNase-free Water 稀释, 然后分别加入等体积的不同浓度的聚合物水溶液, 涡旋混合 30 s, 即得 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒混悬液。

mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒的粒径和 zeta 电位 吸取少量 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒混悬液, 加双蒸水稀释后用 Zetasizer 3000HS 纳米粒度分析仪 (Malvern, England) 测定粒径和 zeta 电位。

细胞培养 MCF-7 人乳腺癌细胞和 HepG2 人肝癌细胞均由中国医学科学院基础医学研究所细胞中心提供。MCF-7 细胞使用 DMEM 高糖培养基加 10% 胎牛血清进行培养; HepG2 细胞使用 MEM/NEAA 培养基加 10% 胎牛血清进行培养。细胞生长至 80% 融合时进行传代。取处于对数生长期的细胞用于以下实验。

mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒的细胞毒性实验 将 HepG2 细胞按 8 000/孔、MCF-7 细胞按 5 000/孔的密度接种到 96 孔板中, 接种体积均为 100 μL。将接种细胞置于 5% CO₂、37 °C 培养箱中培养。将 N/P 比为 25、50、75、100、125 和 150 的 mPEG-PCL-g-PEI/siRNA 纳米粒混悬液各取 20 μL 分别加入到每组实验孔中, 每组设 5 个复孔。细胞继续培养 24 h 后, 每孔中加入 MTT 溶液 20 μL, 再于 37 °C 培养 4 h 后, 每孔加入 DMSO 150 μL, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。同时设置调零孔和对照孔。使用酶标仪在 560 nm 波长下测定各孔吸光度 (A), 计算细胞存活率 (cell viability)。细胞存活率 (%) = A 值_{实验组}/A 值_{对照组} × 100%。

体外细胞转染 将 MCF-7 细胞以 6 × 10⁴/孔的密度接种到 24 孔板中, 于培养箱 (37 °C, 5% CO₂) 中孵育 24 h。将旧培养基吸去, 每孔换上新培养基 500 μL。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂, 每孔共转染报告质粒 pGL3_Control 400 ng 和内参质粒 pGL4.75 1 ng。转染 4 h 后, 实验组每孔分别加入不同 N/P 比的 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒混悬液 100 μL, 空白对照组加入等体积 RNase-free Water; 阴性对照组每孔分别加入等量的裸 siRNA 溶液; 阳性对照组加入 Lipofectamine 2000/siRNA 转染复合物

100 μL。每组均设 3 个平行孔, 每孔 siRNA 的转染剂量均为 4 pmol。

双荧光素酶报告基因分析 细胞转染 36 h 后, 使用 Dual-Luciferase Reporter Assay System 试剂盒进行双荧光素酶活力分析。首先, 去除各孔培养基, 每孔用 PBS 缓冲液 1 mL 漂洗 1 次。去除 PBS 缓冲液后, 每孔加入细胞裂解液 100 μL, 室温温和振荡 30 min, 各孔形成细胞裂解物。然后, 使用 TriStar LB941 luminometer 仪器 (Brthold Detection Systems, Germany) 进行活力分析, 取细胞裂解物 20 μL 加入 LAR II Reagent 试剂 100 μL, 测定 5 s, 得到萤火虫荧光素酶活力; 再加入 Stop & Glo Reagent 试剂 100 μL, 测定 5 s, 得到 *Rennila* 荧光素酶活力。计算相对荧光素酶活力 (relative luciferase activity, RLA): 萤火虫荧光素酶活力/ *Rennila* 荧光素酶活力。

数据分析 采用 SPSS 13.0 软件进行数据分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结果

1 mPEG-PCL-g-PEI 的结构和分子质量

FTIR 和 NMR 的测定结果显示, 合成的 mPEG-PCL-g-PEI 结构为 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}。以四氢呋喃为流动相, 聚苯乙烯为内标, 采用 GPC 测定的聚合物数均分子质量 (*M_n*) 为 16 352, 重均分子质量 (*M_w*) 为 19 542, 分子质量多分散度 (polydispersity) 为 1.195, 说明聚合物 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 的分子质量分布较窄 (图 1)。

2 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒的粒径和 zeta 电位

分别制备 N/P 比为 25、50、75、100 和 125 的 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒。取各处

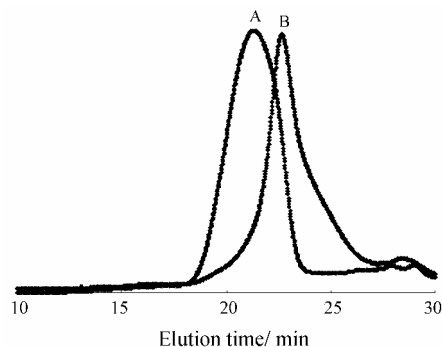


Figure 1 Gel permeation chromatography (GPC) results of synthetic polymers. A: Final product (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}; B: Mediate product mPEG_{5k}-PCL_{1.2k}-OH

方纳米粒混悬液适量, 用 RNase-free Water 稀释至 1.5 mL, 用 Malvern 纳米粒度分析仪测定粒径及 zeta 电位, 测定结果见图 2。当 N/P 比为 125 时, (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒平均粒径为 (68.8 ± 2.1) nm, 其粒径分布见图 3。

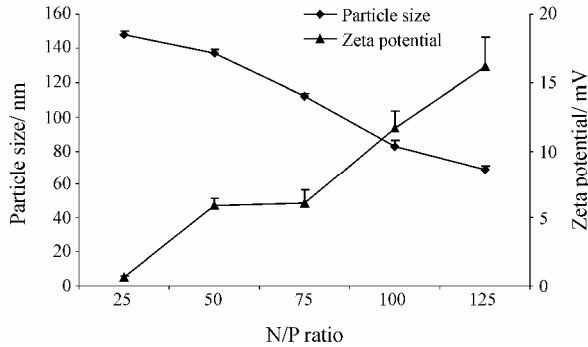


Figure 2 Particle size and zeta potential of (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticles at various N/P ratios. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

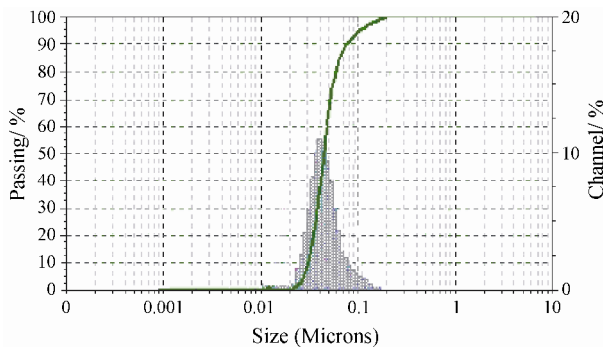


Figure 3 Particle size distribution of (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticle at the N/P ratio of 125

3 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒的细胞毒性

不同 N/P 比的 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒对细胞毒性的影响结果见图 4。结果显示, 当 N/P 比较小时, 两种载体制备的纳米粒所带正电荷均较少, 产生的细胞毒性小, 两者比较无显著性差异。随着 N/P 比增加, 纳米粒的细胞毒性逐渐增大, 但在相同 N/P 比时, (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒的细胞毒性显著小于 PEI_{10k}/siRNA 纳米粒 ($P < 0.05$)。当 N/P 比增大时, 由于正电荷强度的增加幅度较大, 两种载体均产生较大的细胞毒性, 因此在 siRNA 递送中 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 的浓度应控制在一定范围内。

4 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒对萤火虫荧光素酶报告基因表达的抑制

不同 N/P 比的 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA

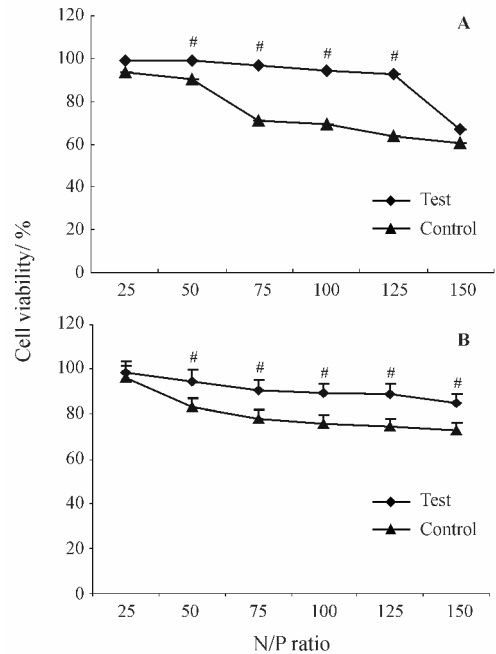


Figure 4 Effect of (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticle at various N/P ratios on cell viability. A: HepG2 cells; B: MCF-7 cells. Test: (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticles; Control: PEI_{10k}/siRNA nanoparticles. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. # $P < 0.05$ vs control

纳米粒对萤火虫荧光素酶报告基因表达的抑制结果见图 5。结果显示, 当 N/P 比在 50~150, 萤火虫荧光素酶基因的表达被显著下调, 与阴性对照组 (NC) 和空白对照组 (BC) 比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。当 N/P 比为 125 时, 萤火虫荧光素酶基因表达的抑制效果最好, 与 Lipofectamine 2000 阳性对照组 (PC) 比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。

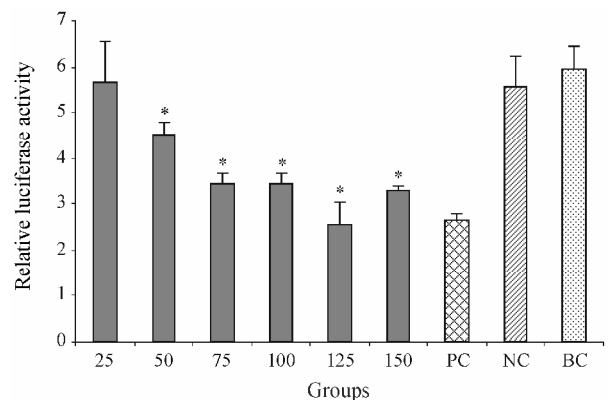


Figure 5 Inhibition of firefly luciferase expression by (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA nanoparticle at various N/P ratios. PC: Positive control; NC: Negative control; BC: Blank control. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.01$ vs negative and blank controls

讨论

PEI 在分子结构上具有大量的游离伯胺基。在酸性条件下, 这些伯胺基能够发生质子化而使 PEI 分子表面带有高密度的正电荷^[12]。通过电性作用, PEI 可以结合带有负电荷的核酸分子 (包括 DNA 和 RNA) 并能够有效转染细胞^[13]。虽然 PEI 已经成为一种高效的核酸递送载体, 但是 PEI 分子表面带有的高密度正电荷对细胞具有很大的毒性^[14], 这在很大程度上限制了 PEI 在核酸递送领域的应用。为了降低 PEI 的细胞毒性, 可以在 PEI 高分子上的伯胺基部位键合引入化学基团, 减少伯胺基的数量, 进而降低 PEI 分子表面的正电荷密度, 减小 PEI 载体的细胞毒性。因此, 本文首先合成了二嵌段共聚物 mPEG-PCL, 然后将 mPEG-PCL 分子的 PCL 一端和 PEI 分子的 -NH₂ 基团化学键连接, 形成新型载体材料 mPEG-PCL-g-PEI。本文采用 FTIR, NMR 和 GPC 等方法对聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 进行了结构表征, 结果表明合成的聚合物组成明确, 分子结构为 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}, 分子质量可控且分布较窄 (图 1)。

mPEG-PCL 聚合物基团的引入改变了 PEI 分子的两亲性, 其中亲脂性片段 PCL 使 mPEG-PCL-g-PEI 分子具有一定程度的疏水性, 这有利于 mPEG-PCL-g-PEI 压缩核酸分子形成纳米粒。结果表明 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 能够压缩 siRNA 形成粒径小于 200 nm 的纳米粒, 粒度分布较窄, 且纳米粒表面带有一定强度的正电荷 (图 2)。随着 N/P 比的增大, (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 载体与 siRNA 的结合力逐渐增大, 压缩 siRNA 的能力逐渐增强, 因而纳米粒的粒径随之减小; 同时, 随着 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 比例的逐渐增大, 整个纳米粒体系的正电荷密度增大, zeta 电位也逐渐升高。

另外, 细胞毒性实验显示 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒的细胞毒性显著小于 PEI_{10k}/siRNA 纳米粒 (图 4), 表明合成的聚合物 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 的细胞毒性相对于 PEI_{10k} 载体显著降低, 原因在于无毒的 mPEG-PCL 基团的引入减少了伯胺基的数量, 降低 PEI 分子表面的正电荷密度, 从而降低了 PEI 载体的细胞毒性, 达到了本实验的设计目的。

萤火虫荧光素酶报告基因表达灵敏且表达产物易于定量检测^[15], 因此本文选择该基因为靶基因进行体外 siRNA 递送研究。由于萤火虫荧光素酶基因为外源性基因, 哺乳动物细胞本身不表达萤火虫

光素酶, 所以在体外 siRNA 递送实验中首先将报告质粒 pGL3_Control 和 pGL4.75 共同转染细胞, 其中 pGL3_Control 能够表达产生萤火虫荧光素酶, 用于测试 siRNA 递送效率, 而 pGL4.75 为内参质粒, 能够表达产生 *Rennila* 荧光素酶, 在此用作转染实验内部对照, 用来校正各实验孔间转染效率的差异。体外细胞转染结果显示 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k}/siRNA 纳米粒能显著下调萤火虫荧光素酶的表达水平 (图 5), 表明 (mPEG_{5k}-PCL_{1.2k})_{1.4}-g-PEI_{10k} 载体可以将 siRNA 递送到细胞内并有效抑制萤火虫荧光素酶基因的表达。总之, 合成的新型载体聚合物 mPEG-PCL-g-PEI 细胞毒性显著小于 PEI, 能有效递送 siRNA 进入细胞干扰靶基因表达, 其有望成为一种较有前途的 siRNA 递送载体。

References

- [1] Leung RK, Whittaker PA. RNA interference: from gene silencing to gene-specific therapeutics [J]. *Pharmacol Ther*, 2005, 107: 222-239.
- [2] Sen GL, Blau HM. Argonaute 2/RISC resides in sites of mammalian mRNA decay known as cytoplasmic bodies [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7: 633-636.
- [3] Bumcrot D, Manoharan M, Kotliansky V, et al. RNAi therapeutics: a potential new class of pharmaceutical drugs [J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 711-719.
- [4] Shao RG. Small interfering RNA mediated multi-target therapy of cancer [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 219-225.
- [5] De Fougerolles A, Vornlocher HP, Maraganore J, et al. Interfering with disease: a progress report on siRNA-based therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 443-453.
- [6] Kim DH, Rossi JJ. Strategies for silencing human disease using RNA interference [J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 173-184.
- [7] Kim WJ, Kim SW. Efficient siRNA delivery with non-viral polymeric vehicles [J]. *Pharm Res*, 2009, 26: 657-666.
- [8] Takahashi Y, Nishikawa M, Takakura Y. Nonviral vector-mediated RNA interference: its gene silencing characteristics and important factors to achieve RNAi-based gene therapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 760-766.
- [9] Lungwitz U, Breunig M, Blunk T, et al. Polyethylenimine-based non-viral gene delivery systems [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 60: 247-266.
- [10] Yang H, Che O, Chen S, et al. Silence of VEGFR2 expression

- mediated by PEI/siRNA complexes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 576–581.
- [11] Tong AW, Zhang YA, Nemunaitis J. Small interfering RNA for experimental cancer therapy [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2005, 7: 114–124.
- [12] Boussif O, Lezoualc'h F, Zanta MA, et al. A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and *in vivo*: polyethylenimine [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92: 7297–7301.
- [13] Kopatz I, Remy JS, Behr JP. A model for non-viral gene delivery: through syndecan adhesion molecules and powered by actin [J]. *J Gene Med*, 2004, 6: 769–776.
- [14] Chollet P, Favrot MC, Hurbin A, et al. Side-effects of a systemic injection of linear polyethylenimine-DNA complexes [J]. *J Gene Med*, 2002, 4: 84–91.
- [15] Shcharbin D, Pedziwiatr E, Blasiak J, et al. How to study dendriplexes II: transfection and cytotoxicity [J]. *J Control Release*, 2010, 141: 110–127.

关于推荐第 14 届中国药学会-施维雅青年药物化学奖和专项研究资助项目的通知

中国药学会-施维雅青年药物化学奖和专项研究资助项目是由中国药学会与法国施维雅研究院共同设立, 每年评选一次, 旨在鼓励我国优秀青年药物化学工作者立足于国内, 致力于新药研究。设奖十多年来, 有力推动了优秀青年药物化学工作者的健康成长和科学发展。2011 年第 14 届奖项推荐评选工作已经开始, 欢迎积极推荐申报。

根据设奖宗旨和国内药物化学学科发展的实际情况, 2011 年奖励办法为: (1) 继续面向全国, 奖励 3 名从事药物化学研究的青年药物化学 (合成药物和天然药物) 学者; 获奖者每人可获得奖金 15000 元人民币、奖杯和证书。(2) 面向边远地区的专项资助项目, 资助 1 项研究课题, 经费为 50000 元人民币, 二年内完成; 并颁发专项资助项目证书。(3) 如专项资助项目空缺, 则青年药物化学奖奖励名额为 5 名。奖金和专项研究经费均由法国施维雅研究院提供。

有关获奖候选人及专项研究资助项目申请人条件、评审材料报送要求和评审程序和颁奖时间等事宜可从在中国药学会网站 (<http://www.cpa.org.cn>) 查询相关通知。

联系人和征集截止时间:

联系人: 孙文虹 (010-58699280-819)、范玫杉 (010-58699280-820)

地 址: 北京市朝阳区建外大街 4 号建外 SOHO 九号楼 18 层

邮 编: 100022

传 真: 010-58694812

E-mail: sunwenhong2002@163.com; yxfms@163.com

申报截止时间: 2011 年 4 月 30 日, 以邮戳为准。