

## Electro-spray를 이용한 유전자 전달용 Poly(glycolic acid) 나노 입자의 제조

이상욱, 김학용, 이덕래, 길명섭\*, 이호근\*\*

전북대학교 섬유공학과, \*라이지오 케미칼 코리아, \*\*(주)진비컨

### Preparation of Poly(glycolic acid) Nano-particles by Electro-spray for Gene Carrier

Sang Uk Lee, Hak Yong Kim, Douk Rae Lee,

Myung Seob Khil\*, Ho Keun Lee\*\*

Department of Textile Engineering, Chonbuk National University, Chon-ju, Korea.

\*Raisio Chemicals Korea. \*\*GeneBeacon. co.

#### 1. 서론

유전자 전달체에는 바이러스성 유전자 전달체와 비바이러스성 유전자 전달체의 두 종류가 있다. 바이러스성 유전자 전달체의 장점은 바이러스가 인체의 여러 세포에 침투가 용이하므로 유전자 전달의 효과가 크다는 것이다. 반면 바이러스에 의한 부작용과 인체의 면역 작용에 바이러스의 퇴치가 빠르게 진행되어 목적하는 효과가 반감된다는 단점이 있다. 비바이러스성 유전자 전달체를 이용할 경우 유전자의 전달은 유전자와 전달체의 복합적 형태를 순간적인 고압력을 주어서 피하세포와 근육세포 그리고 면역력을 제시하는 세포 등에 전달시켜 목적하는 단백질을 발현시키게 된다. 현재 비바이러스성 유전자 전달체로는 금과 텅스텐이 사용되고 있지만, 가격과 세포에 미치는 독성 등의 문제로 인하여 제한적인 양만이 사용되고 있다. 기타 지질계와 칼슘의 복합체가 사용되고 있지만 인체나 동물체에서 유전자가 세포의 핵내로 전달이 매우 적은 단점을 갖고 있다. 인체에 무해하고 상대적으로 값싼 생분해성 고분자를 이용하여 전달체를 제조하기 위해 Emulsification-diffusion solvent evaporation 법으로 poly(glycolic-acid)(PGA)의 나노 입자의 분산상은 제조할 수 있으나 건조 과정에서 aggregation이 일어나 원하는 나노 입자를 얻을 수 없다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 electro-spray를 도입하여 aggregation을 이루지 않은 나노 입자를 얻을 수 있다. Electro-spray의 원리는 용액의 표면장력보다 강한 전기장을 걸어주면 대전된 고분자 용액이 접지 방향으로 분산되는 것인데, 용액의 농도가 높아 점도가 높을 경우 섬유를 형성하여 방사가 되지만, 이번 실험에서와 같이 아주 낮은 농도의 용액일 경우 용액은 미세한 입자로 spray되게 된다. 본 연구에서는 가격과 안전성이 입증되고 많은 양의 유전자를 효과적으로 각종 인체 세포의 핵 내로 전달하는 새로운 개념의 전달체의 제조를 목표로 하고 있다.

## 2. 실험

### 2.1 재료 및 장치

PGA(Birmingham Polymers, Inc.)는 고유점도 1.4 dL/g을 사용하였으며, 용매로는 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol(HFIP)를 사용하였으며, emulsification-diffusion solvent evaporation법에서 2차 용매로서 ethanol을 사용하였다. Electro-spray 장치는 자체 제작하여 사용하였다.

### 2.2 PGA와 유전자의 결합

실험용 DNA를 제조하여 정상생체용액에서의 일반적인 PGA 입자(10~20 $\mu$ m)와 칼슘을 결합한 PGA 입자의 DNA와의 결합여부를 측정하였다.

### 2.2 나노 입자의 제조

PGA를 HFIP에 0.5wt%, 1wt%, 2wt%, 3wt%의 농도로 용해하여 Homogenizer를 이용하여 ethanol을 9,000 r.p.m으로 교반 시켜주면서 서서히 dropping 시킨 후 10분 동안 계속 교반 시켜주어 나노 입자의 분산상을 만든다. 이렇게 만들어진 분산상을 electro-spray를 이용하여 나노 입자를 얻어내게 된다.

### 2.3 입자 크기 측정

PGA 나노 입자의 크기를 알아보기 위해 주사전자현미경(SEM, X-650, Hitachi. co., Japan)을 이용하여 각각의 조건에서 제조된 나노 입자를 30,000배의 배율로 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

Figure 1은 DNA와 PGA 입자와의 결합여부를 보여주는 것이다. 정상생체용액 안에서 일반적인 PGA 입자는 DNA와 결합하지 않았지만, 칼슘과 결합된 PGA와는 잘 결합하는 것을 알수 있었다.

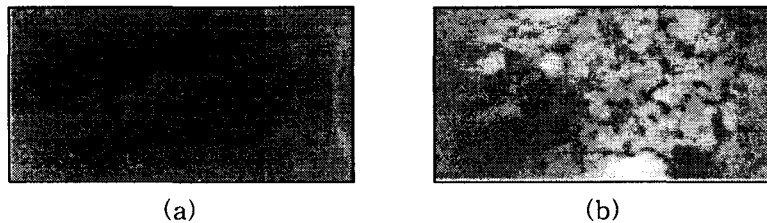


Figure 1. Consolidation of DNA and PGA particles (a:PGA, b:PGA+Ca)

Emulsification-diffusion solvent evaporation법으로 만들어진 PGA 나노 입자의 분산상을 일반적인 방법으로 건조하면 입자들이 aggregation을 일으켜 나노 입자를 얻

을 수 없었다. Electro-spray를 도입하여 aggregation이 발생하지 않은 나노 입자를 얻어낼 수 있었다. Figure 2는 각 농도별로 제조된 입자를 보여주는 SEM 사진인데 0.5wt%에서 50nm 정도의 비교적 균일한 나노 입자를 얻어낼 수 있었고, 농도가 증가할수록 입자의 크기 또한 증가하였으며, 농도가 2wt% 이상이 되면 aggregation의 영향으로 인해 균일한 나노 입자를 얻어낼 수 없었다.

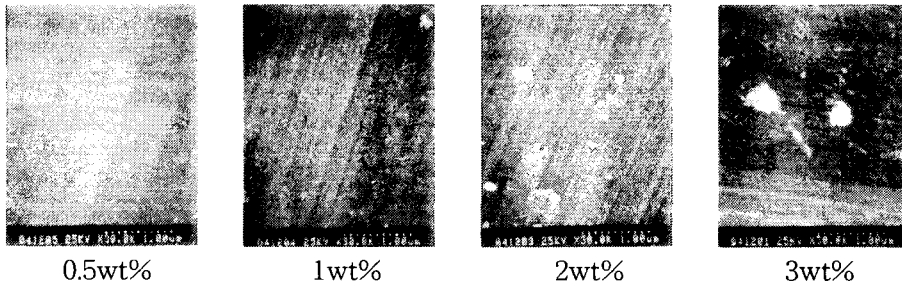


Figure 2. SEM photographs of PGA nano-particles as a function of concentration.

#### 4. 참고문헌

- 1) K. Y. Kim, *U. S. Patent* 6,060,128, 2000.
- 2) 김학용, 강영식, 황평한, 이호근, 이상욱, 라영민, 2001년 특허출원 제27914호.
- 3) E. Walter, K. Moelling, J. Pavlovic, and H. P. Merkle, *J. Controlled Release*. **61**. 361-374(1999).