

## 聚乙烯亚胺改性的双介孔氧化硅基因载体构建

方美蓉<sup>1</sup>, 秦利梅<sup>2</sup>, 贾晓博<sup>2</sup>, 李永生<sup>2</sup>, 牛德超<sup>2</sup>, 胡泽岚<sup>1</sup>

(华东理工大学 1. 药学院, 上海新药设计重点实验室; 2. 材料科学与工程学院, 上海 200237)

**摘要:** 为了开发一种新型的非病毒无机基因载体, 采用 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTMS)和聚乙烯亚胺(PEI)对嵌入型双介孔氧化硅球(EDMSNs)进行改性, 分别得到 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 和 EDMSNs-PEI, 并比较了两种载体结合和保护 pCMV-EGFP-N1 质粒(pDNA)的能力及细胞转染性能。利用透射电镜、动态光散射及氮气吸附-脱附实验对材料的颗粒形态, 动力学粒径, Zeta 电位及孔结构参数进行表征。结果显示, EDMSNs-NH<sub>2</sub> 和 EDMSNs-PEI 均表现出明显的双介孔结构, 形貌为规整的球形且平均动力学粒径分别为 343.2 和 338.9 nm, 表面电位分别为+18 和+43 mV。琼脂糖凝胶电泳、CCK-8 法及荧光显微镜结果表明, EDMSNs-PEI 对 pDNA 的负载量为 8%, 远高于 EDMSNs-NH<sub>2</sub>(1%)。与 PEI 和 lipofectamine2000 相比, EDMSNs-PEI 载体展示出更低的细胞毒性。EDMSNs-PEI/pDNA 质量比为 33:1 时, EDMSNs-PEI/pDNA 对 293T 细胞的转染效率在 72 h 达到最大值。因此, 与 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 相比, EDMSNs-PEI 具有更高的正电位及 pDNA 负载量, 可作为一类有前景的非病毒无机类基因载体用于重大疾病如恶性胶质瘤的治疗。

**关键词:** 双介孔氧化硅球; 聚乙烯亚胺; 基因治疗; 恶性胶质瘤

中图分类号: TQ174 文献标识码: A

## Construction of Polyethyleneimine-modified Dual-mesoporous Silica Gene Carrier

FANG Mei-Rong<sup>1</sup>, QIN Li-Mei<sup>2</sup>, JIA Xiao-Bo<sup>2</sup>, LI Yong-Sheng<sup>2</sup>, NIU De-Chao<sup>2</sup>, HU Ze-Lan<sup>1</sup>

(1. Shanghai Key Laboratory of New Drug Design, School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. School of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** To develop a new kind of non-viral inorganic gene vector, embedded dual-mesoporous silica spheres (EDMSNs) was modified with polyethyleneimine (PEI) or 3-aminopropyltriethoxysilane (APTMS). Then gene loading and transfection ability of the obtained EDMSNs-PEI and EDMSNs-NH<sub>2</sub> was tested by choosing the pCMV-EGFP-N1 plasmids (pDNA) as a gene model. Particle morphologies, particle sizes, zeta potentials, and pore structure parameters of EDMSNs-NH<sub>2</sub> and EDMSNs-PEI were characterized by transmission electron microscopy, dynamic light scattering and nitrogen adsorption-desorption. Both EDMSNs-NH<sub>2</sub> and EDMSNs-PEI display obvious dual-mesoporous structure and well-defined spherical morphology. Average dynamic sizes of EDMSNs-NH<sub>2</sub> and EDMSNs-PEI are 343.2 and 338.9 nm, while zeta potentials of EDMSNs-NH<sub>2</sub> and EDMSNs-PEI are +18 and +43 mV, respectively. The results of gel electrophoresis, CCK-8 assay, and fluorescence microscope show that the pDNA load-

收稿日期: 2019-03-05; 收到修改稿日期: 2019-04-01

基金项目: 国家自然科学基金(51572083, 81772689); 上海市科技启明星计划(16QA1401300)

National Natural Science Foundation of China (51572083, 81772689); Shanghai Rising-Star Program (16QA1401300)

作者简介: 方美蓉(1993-), 女, 硕士研究生. E-mail: meirongfang@163.com

FANG Mei-Rong (1993-), female, Master candidate. E-mail: meirongfang@163.com

通讯作者: 胡泽岚, 副教授. E-mail: huzelan@ecust.edu.cn; 牛德超, 副教授. E-mail: dcnium@ecust.edu.cn

HU Ze-Lan, associate professor. E-mail: huzelan@ecust.edu.cn;

NIU De-Chao, associate professor. E-mail: dcnium@ecust.edu.cn

ing amount of EDMSNs-PEI is 8%, much higher than that (1%) of EDMSNs-NH<sub>2</sub>. In addition, EDMSNs-PEI exhibits lower cytotoxicity than that of pure PEI polymers and lipofectamine2000. When the mass ratio of EDMSNs-PEI/pDNA is 33 : 1, the transfection rate of the 293T cells by EDMSNs-PEI/pDNA reaches a maximum at 72 h. In conclusion, EDMSNs-PEI, compared with EDMSNs-NH<sub>2</sub>, has a higher positive potential and pDNA loading capacity, which can be used as a promising non-viral inorganic gene vector for the treatment of diseases such as malignant glioma.

**Key words:** embedded dual-mesoporous silica spheres; polyethyleneimine; gene therapy; malignant glioma

传统的手术治疗、放疗和化疗对恶性肿瘤的治疗往往效率低、毒副作用大<sup>[1-2]</sup>。因此,寻求新的肿瘤治疗方法以达到更好的治疗效果仍然是该领域面临的重大挑战之一。近年来,基因治疗通过将具有治疗功能的核酸分子递送到细胞或靶向部位以纠正或修改遗传信息,被广泛认为是在遗传水平上治疗癌症极富前途的方法。为实现将核酸递送至细胞中,基因载体不仅要具备良好的生物相容性,而且能保护核酸不被体内外的核酸酶降解<sup>[3]</sup>。目前,基因载体主要包括病毒载体和非病毒载体两大类,其中病毒载体具有较高的细胞转染效率,但因安全性和制备成本昂贵,限制了其进一步应用。与病毒载体相比,非病毒载体在安全性和可控制备方面具有明显优势,并广泛应用于基因转染和肿瘤基因治疗<sup>[4-5]</sup>。如 Shi 等<sup>[6]</sup>开发了一种精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)多肽和聚乙烯亚胺(PEI)共修饰的金纳米载体,能够将 Bcl-2(B 细胞淋巴瘤-2) siRNA 转运至人脑胶质瘤细胞,并且由于 RGD 多肽介导的靶向作用导致其在靶细胞中特异性基因沉默。

在众多的非病毒基因载体中,介孔氧化硅生物载体具有细胞毒性小,孔道内部和表面易被不同基团修饰<sup>[7-8]</sup>,孔径可调<sup>[9-10]</sup>等特点,在药物负载及运输方面具有明显的优势。对其表面功能化修饰,可实现对治疗性核酸<sup>[11-12]</sup>类生物大分子或小分子药物<sup>[13]</sup>的装载,在降低细胞毒性的同时提高药物的抑瘤效果。Li 等<sup>[10]</sup>通过把阳离子聚合物聚乙烯亚胺(PEI)和融合肽(KALA)修饰的磁性介孔二氧化硅纳米粒子(M-MSNs)作为 VEGF-siRNA 递送系统,有效降低靶基因 VEGF 在体外的表达和抑制肿瘤血管在体内形成。最近,本课题组成功制备出一种具有新颖多孔结构的嵌入型双介孔氧化硅球,即小孔孔道位于大孔孔道的骨架中,并分别以氨基和羟基对大小孔径进行修饰,实现对亲/疏水药物分子(盐酸阿霉素/姜黄素)的共同负载<sup>[14]</sup>。然而,利用该嵌入型双介孔氧化硅球的大孔结构对生物大分子(如质粒、蛋白质等)的负载和运输研究还未见文献报道。

为实现作为基因载体的功能,我们分别制备了 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTMS)和聚乙烯亚胺(PEI)

改性的嵌入型双介孔氧化硅球,并研究了其对 pCMV-EGFP-N1(6.1 kbp)质粒的负载与运输性能,以期构建同时负载生物大分子和小分子药物的新型硅基纳米生物载体提供新的思路和方法。

## 1 实验方法

### 1.1 改性的介孔氧化硅材料

#### 1.1.1 嵌入型双介孔氧化硅球(EDMSNs)

根据我们之前的文献报道<sup>[14]</sup>,将 100 mg PS<sub>92</sub>-*b*-PAA<sub>16</sub>(嵌段共聚物聚苯乙烯-*b*-聚丙烯酸:采用原子转移自由基聚合方法制备得到<sup>[15]</sup>)溶于 10 mL THF 中,充分搅拌后加入 40 mL 含 CTAB 100 mg 的碱性水溶液(0.5 mL NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)中,形成乳白色溶液。搅拌一段时间后将乳白色溶液加入含有 0.3 g TEOS 的 80 mL 乙醇溶液中。静置 18 h 后,离心收集产物,并用无水乙醇和盐酸萃取去除有机模板剂,最终得到样品 EDMSNs。

#### 1.1.2 PEI 改性的 EDMSNs

将 10 mg EDMSNs 分散在 10 mL 超纯水中,加入 200 μL NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 和 5 μL 三甲基异硫氰酸基硅烷,搅拌 24 h,得到 NCO-EDMSNs;将上述 10 mg NCO-EDMSNs 分散于 10 mL 乙醇中,加入 2 mg PEI,搅拌 24 h,最终得到 EDMSNs-PEI。

#### 1.1.3 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTMS)改性的 EDMSNs

70 mg EDMSNs 溶解在 30 mL 甲苯中,在 80 °C、N<sub>2</sub> 保护下加入 0.3 mL APTES,继续通 N<sub>2</sub> 3 h 后,关闭 N<sub>2</sub>,反应 7 h。离心,醇洗,45 °C 干燥,最终得到 EDMSNs-NH<sub>2</sub>。

### 1.2 EDMSNs 的表征

#### 1.2.1 形貌和孔结构分析

使用 JEM-2100 透射电子显微镜在 100 kV 的加速电压下获得 TEM 照片,N<sub>2</sub> 吸附-脱附在 77 K 温度下使用 Micromeritics Tristar II 3020 system 完成。

#### 1.2.2 粒径和表面电位测定

将纳米材料用超纯水配制成 10 mg/mL 的溶液,

测定时用 pH=7.4 超纯水稀释成 1 mL。采用 Zeta potential/particle Sizer 测定粒径和表面电荷。

### 1.3 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 和 EDMSNs-PEI 与 pDNA 的纳米复合物制备和稳定性检测

将 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 和 EDMSNs-PEI 质粒(1 μg)分别按照质量比(200 : 1, 100 : 1, 50 : 1, 34 : 1, 25 : 1, 12.5 : 1, 5 : 1)混合在 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液中。配制两份, 放置在摇床中, 140 r/min、30 min 振荡混匀后, 其中一份加入 DNaseI, 37 °C, 生化培养箱继续孵育 30 min。电泳条件: 1×TAE 缓冲液, 电压 110 mV, 电流 100 mA, 30 min 后在凝胶电泳成像仪上观察 DNA 的条带。

### 1.4 EDMSNs-PEI 的细胞毒性

以人肾上皮细胞(293T)和人脑胶质瘤细胞(u87)为细胞模型, 37 °C、5%的二氧化碳培养箱孵育 24 h, 除去培养基, 分别加入 PEI、lipofectamine2000 或 EDMSNs-PEI DMEM 溶液(浓度为 15.6~250 μg/mL), 孵育 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 继续孵育 1.5 h 后在酶标仪上 450 nm 处读取 OD 值, 并计算细胞活力。

### 1.5 EDMSNs-PEI/pDNA 在 293T 细胞上的转染研究

以 293T 细胞为细胞模型, 37 °C、5%的二氧化碳培养箱孵育 24 h 后, 加入含质粒(2 μg)的质量比为 33 : 1 的 EDMSNs-PEI/pDNA 纳米复合物。此外, 按照试剂说明书配制的 lip2k (lipofectamine2000)质粒复合物作为对照, 孵育 48 h, 72 h 后用荧光显微镜观察转染效果。

### 1.6 统计学方法

使用 Prism graphpad 5.0 进行数据统计学分析,  $p < 0.01$ , 认为数据有显著性统计学差异。

## 2 结果和分析

### 2.1 EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 的表征

从透射电镜结果(图 1)可以看出, 经 PEI 和 APTES 改性后的 EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 均呈现规整的球形形貌和均匀的介孔结构, 且孔道分布均匀, 颗粒未出现团聚现象。从动态光散射仪(DLS)结果可以看出(图 2), EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 的动力学粒径分别为 338.9 和 343.2 nm。Zeta 电位结果显示, 经 PEI 和 APTES 改性后样品的表面电位由负值变为正值, 表明 PEI 和氨基被成功嫁接到 EDMSNs 的孔道及表面。此外, EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 的 Zeta 电位分别为 +43 mV 和

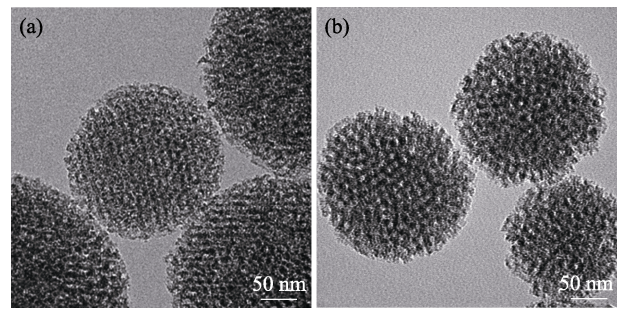


图 1 EDMSNs-PEI(a)和 EDMSNs-NH<sub>2</sub>(b)的透射电镜照片  
Fig. 1 TEM images of EDMSNs-PEI (a) and EDMSNs-NH<sub>2</sub> (b)

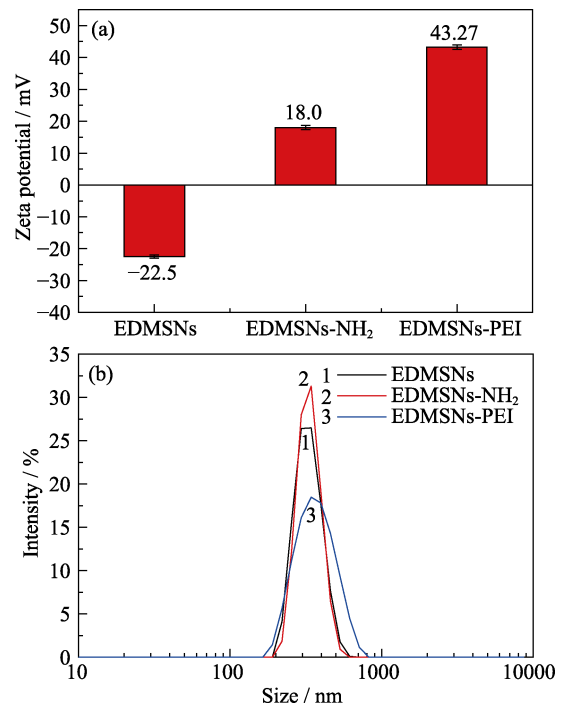


图 2 EDMSNs, EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 的 Zeta 电位 (a)和动力学粒径分布(b)  
Fig. 2 Zeta potentials (a) and particle size distributions (b) of EDMSNs, EDMSNs-PEI and EDMSNs-NH<sub>2</sub>

+18 mV。根据文献[16]报道, 纳米颗粒的 Zeta 正电位越大, 越有利于提高转染效率。因此, 具有高正电位的 EDMSNs-PEI 更有利于基因的担载及输运。

氮气吸附脱附曲线表明(图 3(a,c)): 在相对压力 0.6~0.8 处, EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 均出现吸附量突跳现象, 且有明显的滞后环, 表明两类载体均具有丰富的大介孔结构。采用 Density Functional Theory(DFT)法计算样品的孔径分布, 结果显示: EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 均存在 2.5 nm 的小介孔, 且大介孔孔径为 10.8 和 11.6 nm, 为后续质粒担载提供了保障。采用 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 法计算样品的比表面积得到, EDMSNs-PEI 的比表面积和孔容分别为 734.7 m<sup>2</sup>/g 和 1.46 cm<sup>3</sup>/g。相比之

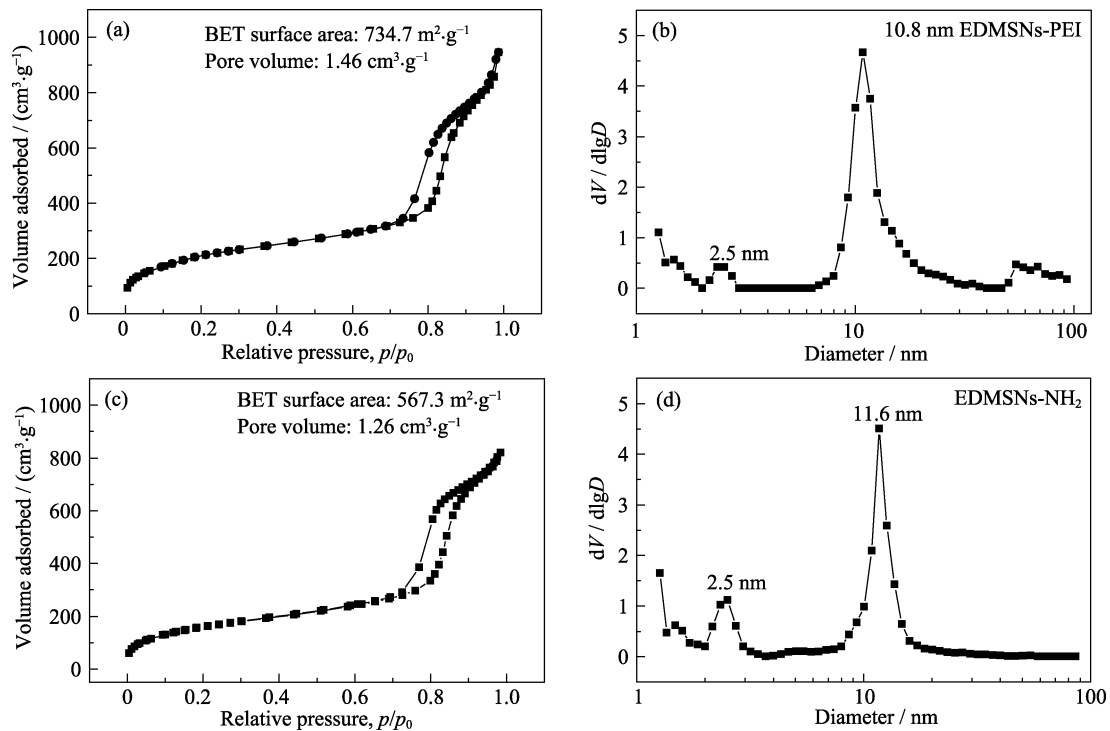


图3 EDMSNs-PEI (a~b)和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> (c~d)的氮气吸附-脱附曲线及相应的 DFT 孔径分布  
Fig. 3 N<sub>2</sub> adsorption-desorption isotherms and the corresponding DFT pore size distributions of EDMSNs-PEI (a~b) and EDMSNs-NH<sub>2</sub> (c~d)

下, EDMSNs-NH<sub>2</sub> 的比表面积和孔容较低, 其数值分别为 567.3 m<sup>2</sup>/g 和 1.26 cm<sup>3</sup>/g。而这种比表面积和孔容的小幅度下降可能归结于氨基改性过程中高温回流对部分孔结构的破坏。

## 2.2 EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 对 pDNA 的担载以及纳米复合物稳定性研究

图4(a)为纳米复合物凝胶电泳结果, 当 EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 与 pDNA 的质量比均为 5 : 1 时, 在紫外灯的照射下能观察到清晰的 DNA 条带, 表明未能有效地包裹 pDNA; 当 EDMSNs-PEI/pDNA 质量比增加至 12.5 : 1 时, 未见明显的条带, 说明 pDNA 被完全包裹, 其装载量为 8%。而对于 EDMSNs-NH<sub>2</sub>/pDNA, 质量比为 100 : 1 时, 明亮的条带才消失, 其 pDNA 装载量为 1%, 明显低于 EDMSNs-PEI。这可能是因为 PEI 为高分子量阳离子聚合物, 其改性的 EDMSNs 孔道和表面具有更多的氨基, 提供更多 pDNA 担载位点, 从而实现更高的 pDNA 担载量。

进一步用脱氧核糖核酸酶 DNaseI 处理质量比大于 12.5 : 1 的 EDMSNs-PEI/pDNA 纳米复合物, 凝胶电泳结果显示(图 4(b)): 在 C 泳道中的 pDNA 经 DNaseI 核酸酶剪切后, 未出现条带; 而 8~13 泳道的 EDMSNs-PEI/pDNA 纳米复合物经 DNaseI 核酸酶剪切后, 条带无迁移, 表明 EDMSNs-PEI 能保护

pDNA 不被核酸酶降解。此外, 通过测试 EDMSNs-PEI/pDNA 纳米复合物在不同质量比下(25 : 1~100 : 1)的 Zeta 电位发现, 当 EDMSNs-PEI/pDNA 质量比为 33 : 1 时, 纳米复合物 Zeta 电位由负值变为正值(图 4(c)), 进一步说明 pDNA 已被全部包裹在 EDMSNs-PEI 中。

## 2.3 EDMSNs-PEI 的细胞毒性

图 5 为 EDMSNs-PEI 对人脑胶质瘤细胞(u87)和人肾上皮细胞 (293T)细胞的毒性影响。在 293T 细胞上, PEI 25kD 只有在较低的浓度下(≤ 15.6 μg/mL)的细胞活力在 80%左右, LIP2K 在浓度 ≤ 31.25 μg/mL 时细胞活力在 80%左右。相比之下, EDMSNs-PEI 浓度为 125 μg/mL 时, 细胞活力在 80%左右。在 u87 细胞上, PEI 25kD、LIP2K 和 EDMSNs-PEI 的细胞毒性实验结果与 293T 细胞基本一致。综上所述表明, EDMSNs-PEI 具有更好的生物相容性和更低的细胞毒性。

## 2.4 EDMSNs-PEI 的细胞转染

结合上述凝胶电泳结果, 以 EDMSNs-PEI 与 pDNA 的质量比为 33 : 1 的纳米复合物来研究其细胞转染。从荧光显微镜照片(图 6)可以看出, 孵育 48 h, EDMSNs-PEI/pDNA 实验组开始表达 EGFP 绿色荧光蛋白, 并在 72 h 达到最大值。尽管其转染效果低于脂质体 lip2k 对照组, 明场显微镜照片显示,

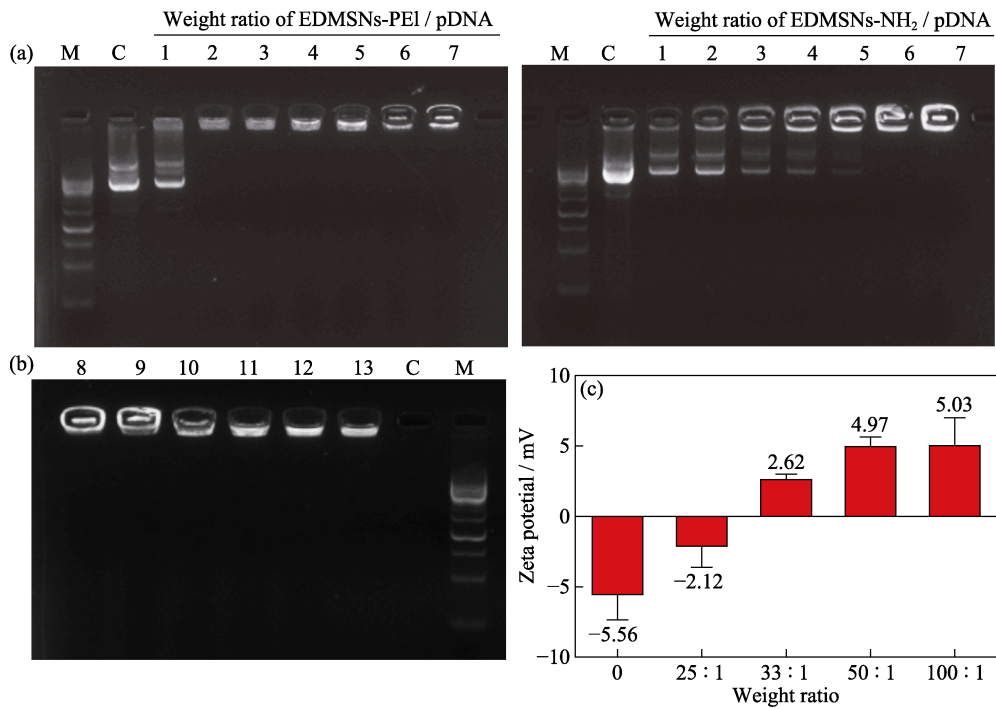


图 4 EDMSNs-PEI/pDNA 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub>/pDNA 纳米复合物在不同质量比下的电泳照片(a), EDMSNs-PEI/pDNA DNaseI 酶切电泳照片(b)和 Zeta 电位(c)

Fig. 4 Electrophoresis diagram of EDMSNs-PEI/pDNA and EDMSNs-NH<sub>2</sub>/pDNA nanoparticles at different weight ratios (a), DNaseI digestion electrophoresis diagram (b) and zeta potentials (c) of EDMSNs-PEI/pDNA with M indicating DNA marker and C indicating naked pDNA

Weight ratio=weight ratios of EDMSNs-PEI and pDNA. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: weight ratios of 5 : 1, 12.5 : 1, 25 : 1, 33 : 1, 50 : 1, 100 : 1, 200 : 1; 8, 9, 10, 11, 12, 13: weight ratios of 200 : 1, 100 : 1, 50 : 1, 33 : 1, 25 : 1, 12.5 : 1 for EDMSNs-PEI/pDNA nanocomplexes treated with DNaseI

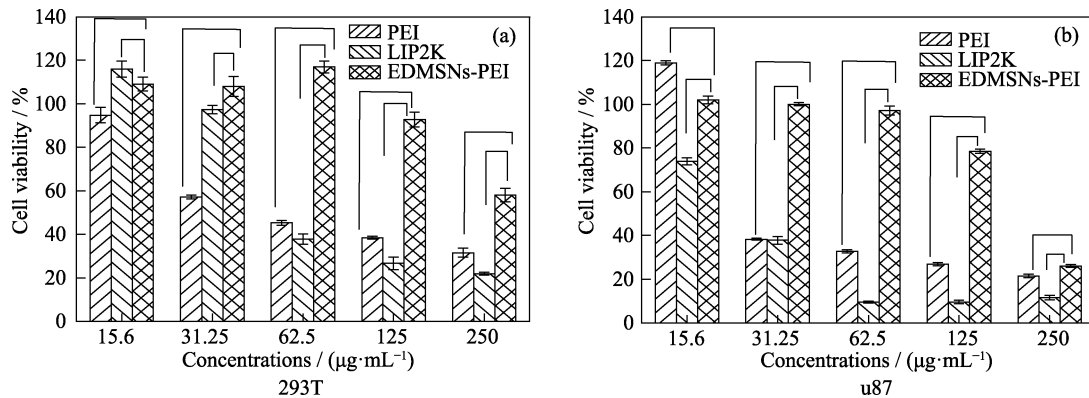


图 5 PEI 25kD、LIP2K 和 EDMSNs-PEI 在 293T(a)和 u87(b)上的细胞毒性

Fig. 5 Cytotoxicity assay of PEI 25kD, LIP2K and EDMSNs-PEI in 293T (a) and u87(b). \*  $p < 0.01$ , EDMSNs-PEI

lip2k 对照组在转染 72 h 后出现细胞增值减弱, 呈现细胞脱落的状态。反之, EDMSNs-PEI/pDNA 实验组的细胞状态良好, 且细胞增值不受影响。这一结果表明, 与 lip2k 对照组相比, EDMSNs-PEI/pDNA 实验组具有更低的细胞毒性。

### 3 结论

本研究采用 PS-*b*-PAA/CTAB 双模板剂制备的嵌入型双介孔氧化硅球, 并分别进行 PEI 和 APTES

改性, 得到两种氨基化的多孔氧化硅球。EDMSNs-PEI 和 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 均具有规整的球形形貌和双介孔结构, 粒径均在 340 nm 左右且表面电荷为正值。凝胶电泳实验表明, 由于 EDMSNs-PEI 具有更高的正电位, 实现了对 pDNA(6.1 kbp) 8%的担载量, 明显强于 EDMSNs-NH<sub>2</sub> 对 pDNA 的结合能力(1%)。同时, EDMSNs-PEI 对 pDNA 的担载量也优于之前报道的改性的介孔二氧化硅纳米基因载体<sup>[12,17]</sup>。细胞转染实验显示, EDMSNs-PEI 与 pDNA 形成的纳米复合物, 转染 48 h 后能在 293T 细胞中正常表达, 说

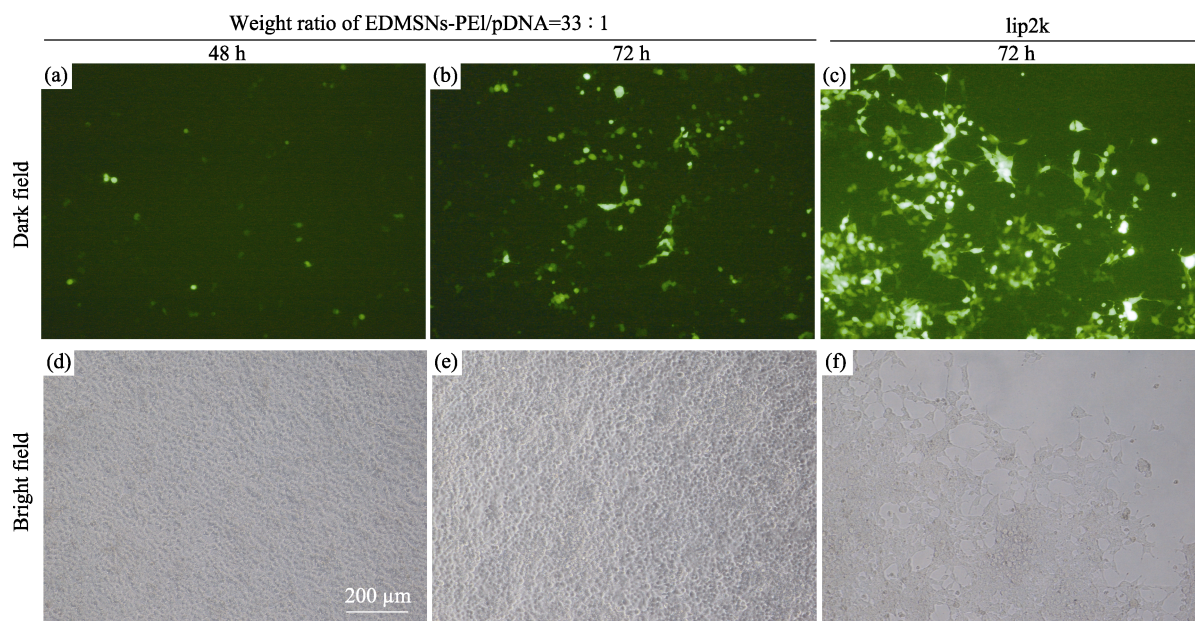


图 6 EDMSNs-PEI/pDNA 纳米复合物在 293T 细胞内的转染效果

Fig. 6 Transfection efficacy of EDMSNs-PEI/pDNA nanoparticle in 293T cell lines.

明 EDMSNs-PEI 能保护 DNA 不被溶酶体和核酸酶降解。此外, 尽管本研究中 EDMSNs-PEI 的转染效率仍低于商用转染试剂 lipofectamine2000, 但其具有较低的细胞毒性, 是一类相对安全的非病毒硅基基因载体。综上, EDMSNs-PEI 载体应用于基因传递的优势主要体现在两个方面: 一是对生物大分子质粒具有较高的负载量; 二是具有较低的细胞毒性。在后续的实验, 我们将进一步通过调控 EDMSNs 的孔结构/孔径及优化 PEI 的负载工艺来提高其转染效果, 最终构建高性能硅基基因载体。

### 参考文献:

- [1] WELLER M, BENT V D M, TONN J C, *et al.* European association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncology*, 2017, **18(6)**: 315–329.
- [2] ELLIS M J, DING L, SHEN D, *et al.* Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*, 2012, **486(7403)**: 353–360.
- [3] MILLER J B, ZHANG S Y, KOS P, *et al.* Non-viral CRISPR/Cas gene editing *in vitro* and *in vivo* enabled by synthetic nanoparticle co-delivery of Cas9 mRNA and sgRNA. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2017, **56(4)**: 1059–1063.
- [4] LI J, HAN Y T, Lu Y, *et al.* A novel disulfide bond-mediated cleavable RGD-modified PAMAM nanocomplex containing nuclear localization signal HMGB1 for enhancing gene transfection efficiency. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, **13**: 7135–7153.
- [5] LI A J, QIU J R, ZHOU B Q, *et al.* The gene transfection and endocytic uptake pathways mediated by PEGylated PEI-entrapped gold nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 2018, DOI: 10.1016/j.arabic.2018.06.009.
- [6] KONG L, QIU, J, SUN W, *et al.* Multifunctional PEI-entrapped gold nanoparticles enable efficient delivery of therapeutic siRNA into glioblastoma cells. *Biomaterials Science*, 2017, **5(2)**: 258–266.
- [7] MAHMOODI M, BEHZAD-BEHBAHANI A, SHARIFZADEN S, *et al.* Co-condensation synthesis of well-defined mesoporous silica nanoparticles: effect of surface chemical modification on plasmid DNA condensation and transfection. *IET Nanobiotechnology*, 2017, **11(8)**: 995–1004.
- [8] XIA T, KOVOCHICH M, LIONG M, *et al.* Polyethyleneimine coating enhances the cellular uptake of mesoporous silica nanoparticles and allows safe delivery of siRNA and DNA constructs. *ACS Nano*, 2009, **3(10)**: 3273–3286.
- [9] LI J, SHEN S Q, KONG F, *et al.* Effects of pore size on *in vitro* and *in vivo* anticancer efficacies of mesoporous silica nanoparticles. *RSC Advances*, 2018, **8(43)**: 24633–24640.
- [10] LI X, CHEN Y J, WANG M Q, *et al.* A mesoporous silica nanoparticle-PEI-Fusogenic peptide system for siRNA delivery in cancer therapy. *Biomaterials*, 2013, **34(4)**: 1391–1401.
- [11] SHEN J J, KIM H C, SU H, *et al.* Cyclodextrin and polyethyleneimine functionalized mesoporous silica nanoparticles for delivery of siRNA cancer therapeutics. *Theranostics*, 2014, **4(5)**: 487–497.
- [12] NIU D C, LIU Z J, LI Y S, *et al.* Monodispersed and ordered large-pore mesoporous silica nanospheres with tunable pore structure for magnetic functionalization and gene delivery. *Advanced Materials*, 2014, **26(29)**: 4947–4953.
- [13] LIU X S, JIANG J H, CHAN R, *et al.* Improved efficacy and reduced toxicity using a custom-designed irinotecan-delivering silicasome for orthotopic colon cancer. *ACS Nano*, 2019, **13(1)**: 38–53.
- [14] LI N, NIU D C, JIANG Y, *et al.* Morphology evolution and spatially selective functionalization of hierarchically porous silica nanospheres for improved multidrug delivery. *Chemistry of Materials*, 2017, **29(24)**: 10377–10385.
- [15] KANG Y J, TATON T A. Core/shell gold nanoparticles by self-assembly and crosslinking of micellar, block-copolymer shells. *Angewandte Chemie International Edition*, 2005, **44(3)**: 409–412.
- [16] PARK I Y, KIM I Y, YOO M K, *et al.* Mannosylated polyethyleneimine coupled mesoporous silica nanoparticles for receptor-mediated gene delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, **359(1/2)**: 280–287.
- [17] KIM M H, NA H K, KIM Y K, *et al.* Facile synthesis of monodispersed mesoporous silica nanoparticles with ultralarge pores and their application in gene delivery. *ACS Nano*, 2011, **5(5)**: 3568–3576.