

研究论文

牛胎儿成纤维细胞的组织块贴附法分离培养与电穿孔法基因转染

杨东山*,杜晨光,高飞,旭日干

内蒙古大学 实验动物研究中心, 哺乳动物生殖生物学及生物技术教育部重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010021

收稿日期 2005-8-2 修回日期 网络版发布日期 2006-2-22 接受日期 2005-11-21

摘要 为获得转基因克隆牛的供体细胞, 采用组织块贴附培养的方法分离培养牛胎儿皮肤成纤维细胞, 经2~3次传代纯化, 绘制生长曲线, 分别分析体外传代培养10代以内和20代以上细胞的核型特征。分别采用800、900、1 000 V/cm和1、5、10、15和20 ms的参数组合, 将线性化的带有新霉素抗性和绿色荧光蛋白双重筛选标记的人胰岛素原乳腺特异表达载体pNEI电穿孔转入体外培养的牛胎儿成纤维细胞, 经800 µg/mL G418筛选2周, 继续以300 µg/mL G418扩大培养2~3代, 取部分筛选后的细胞进行PCR检测结果表明, 体外培养的牛胎儿成纤维细胞生长旺盛, 体外传代20次后核型未发生改变; 转染后24~48 h在荧光镜下检测各组均可观察到绿色荧光表达, 筛选后各组克隆形成数以900 V/cm和5 ms组最多; PCR检测得到了预期条带, 说明目的基因已经成功导入。分离得到的牛胎儿耳成纤维细胞有可能作为体细胞核移植的供体, 进行转基因克隆研究。

关键词 [牛胎儿成纤维细胞](#) [分离培养](#) [电穿孔](#) [转基因](#)

分类号 [Q813](#); [Q959.842](#)

DOI:

对应的英文版文章: [20060141](#)

通讯作者:

杨东山 crestyds@yahoo.com.cn

作者个人主页: 杨东山*;杜晨光;高飞;旭日干

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF](#) (2148KB)

▶ [\[HTML全文\]](#) (OKB)

▶ [参考文献\[PDF\]](#)

▶ [参考文献](#)

服务与反馈

▶ [把本文推荐给朋友](#)

▶ [加入我的书架](#)

▶ [加入引用管理器](#)

▶ [引用本文](#)

▶ [Email Alert](#)

▶ [文章反馈](#)

▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“牛胎儿成纤维细胞”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [杨东山](#)