

● 电子杂志
● 高影响力论文
● 友情链接
访问总次数

今日访问

当前在线

郑宏庭, 邓华聪, 兰丽珍, 方芳. “胰岛代理细胞”的构建: 在HepG2细胞中获得胰岛素分泌.
世界华人消化杂志 2004年 9月;12(9):2103-2106

“胰岛代理细胞”的构建: 在HepG2细胞中获得胰岛素分泌

郑宏庭, 邓华聪, 兰丽珍, 方芳.

400016, 重庆市袁家岗, 重庆医科大学附属第一医院内分泌科. deng_huacong@yahoo.com.cn

目的: 利用转基因技术将HepG2细胞改建为具有生理性胰岛素分泌能力的“胰岛代理细胞”. 方法: 以携葡萄糖激酶 (glucokinase, gk) 基因的逆转录病毒及携人胰岛素原基因突变体 (mutant proinsulin gene, mpin) 的逆转录病毒共同感染肝母细胞瘤细胞系HepG2, G418选择培养基挑选抗性细胞集落, 放免法、SDS-PAGE、Western-blot及反转录酶聚合酶链反应 (RT-PCR) 鉴定HepG2细胞中两个目的基因的转录及表达; 选取联合表达葡萄糖激酶及成熟胰岛素的HepG2细胞进行葡萄糖反应性胰岛素分泌的检测, 以单独表达成熟胰岛素的HepG2细胞作对照. 结果: 在G418选择培养基中3 wk获阳性细胞克隆, 采用放免法、SDS-PAGE、Western-blot从20个细胞克隆中挑选出联合表达葡萄糖激酶及成熟胰岛素的HepG2细胞4株, 其中1株2个目的基因表达均较强, 命名为细胞克隆“beta”; 经RT-PCR检测证实细胞“beta”中已有两个目的基因的转录. 在细胞“beta”中, 葡萄糖浓度为0.5 mmol/L和0.75 mmol/L时, 胰岛素的分泌无显著性差异 ($P>0.05$); 葡萄糖浓度为2.0 mmol/L, 3.0 mmol/L, 4.0 mmol/L, 5.0 mmol/L及6.0 mmol/L时, 胰岛素的分泌无显著性差异 ($P>0.05$); 其余葡萄糖浓度条件下, 胰岛素的分泌差异均有显著性意义 ($P<0.05$). 在单独表达胰岛素的HepG2细胞中, 各葡萄糖浓度条件下, 胰岛素的分泌均无显著性差异 ($P>0.05$). 说明在细胞“beta”中获得了葡萄糖反应性胰岛素分泌, 葡萄糖浓度约1.75-2 mmol/L时出现胰岛素分泌高峰. 结论: 成功构建了具有生理性胰岛素分泌能力的“胰岛代理细胞”系.

世界胃肠病学杂志社, 北京百世登生物医学科技有限公司, 100023, 北京市2345信箱, 郎辛庄北路58号院怡寿园1066号

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

E-mail: wjg@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

2004-2007年版权归世界胃肠病学杂志社和北京百世登生物医学科技有限公司