

论文

利用体细胞核移植技术制作人胰岛素原转基因牛 (英文)

杨东山¹, 郭旭东¹, 海棠¹, 杜晨光¹, 王建国¹, 仓明¹, 刘东军¹, 李喜和², 旭日干^{1,*}

1. 哺乳动物生殖生物学及生物技术教育部重点实验室, 内蒙古大学实验动物研究中心, 呼和浩特 010021; 2. Department of Clinical Veterinary Medicine, University of Cambridge, UK

收稿日期 2007-1-19 修回日期 网络版发布日期 2007-8-22 接受日期 2007-6-18

摘要

通过体细胞核移植技术制作了人胰岛素原转基因牛。在CMV启动子指导下以内部核糖体进入位点序列(IRES)连接的新霉素抗性基因和绿色荧光蛋白基因组成了双重标记基因的筛选系统,用于转基因细胞的富集以及细胞和植入前胚胎的筛选。转基因通过电穿孔的方法(900 V/cm, 5 ms)转入体外培养的牛胎儿成纤维细胞,基因转染细胞在添加G418(800 µg/mL)的培养基中培养10天以富集转基因细胞。选择表达绿色荧光蛋白的转基因细胞作为核供体进行体细胞核移植,重构胚经体外培养至囊胚阶段,选择表达绿色荧光蛋白的囊胚进行胚胎移植。为比较基因转染以及供体细胞所处周期对转基因细胞核移植胚胎发育的影响,用作核移植供体的转基因细胞或非转基因细胞先饥饿培养2—4天(0.5% FBS),然后恢复培养(10% FBS)10?h使细胞同步化于G1期,以正常培养的细胞作为对照进行核移植。结果表明,转基因细胞作为核供体得到的核移植胚胎的体外囊胚发育率低于以非转基因细胞为核供体的对照组(23.2% VS 35.2%, P<0.05);转基因细胞周期同步化处理与否对其克隆胚囊胚发育率无显著影响(23.2% VS 18.9%, P>0.05)。胚胎移植后2个月直肠检查发现7头受体牛(每头移植2—4枚胚胎)中有一头妊娠,并最终发育足月产下一头小牛。聚合酶链反应(PCR)检测和DNA测序分析表明其为转人胰岛素原基因的转基因克隆牛。

关键词 [体细胞核移植](#); [人胰岛素原](#); [绿色荧光蛋白](#); [转基因牛](#)

分类号 [Q813.7](#) [Q812](#)

DOI:

通讯作者:

旭日干 xrg@xzwlxz.imu.edu.cn

作者个人主页:

杨东山¹; 郭旭东¹; 海棠¹; 杜晨光¹; 王建国¹; 仓明¹; 刘东军¹; 李喜和²; 旭日干^{1,*}

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF\(1105KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)

▶ [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“体细胞核移植; 人胰岛素原; 绿色荧光蛋白; 转基因牛”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

- [杨东山](#)
- [郭旭东](#)
- [海棠](#)
- [杜晨光](#)
- [王建国](#)
- [仓明](#)
- [刘东军](#)
- [李喜和](#)
- [旭日干](#)
- [—](#)