

【作者】	张玉玲, 刘凤军, 张涌
【单位】	河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳
【卷号】	37
【发表年份】	2009
【发表刊期】	31
【发表页码】	15146-15149
【关键字】	细胞; 单克隆; 扩大培养; 转基因; 山羊
【摘要】	<p>[目的] 为探索单个转基因阳性细胞快速扩大培养成为细胞克隆的技术体系。[方法] 对转染人乳铁蛋白 (Human lactoferrin, hLF) 基因乳腺特异性表达载体pBLM C1的单个山羊胎儿成纤维细胞 (Fetal Fibroblasts, FF) 和乳腺上皮细胞 (Mammary Gland Epithelial, MGE) 细胞进行克隆。在96孔板中, 首先用3种浓度 ( V/V : 0、50%和100%) 的适应性条件培养基对单个转染细胞进行细胞单克隆的制备, 进而把转染细胞单克隆与非转染细胞共培养进行扩大培养, neo 基因被用于筛选基因, 以PCR方法鉴定转染细胞基因组DNA。并对单克隆细胞进行染色体核型分析。[结果] 与非适应性条件培养基相比, 100%适应性条件培养基能够显著提高细胞单克隆存活率; 与对照相比, 转染细胞单克隆与非转染细胞共培养, 显著提高了转染细胞单克隆扩大培养后的比率 (FF: 53.33% vs. 10.00%; MGE: 33.33% vs. 6.670%), 且明显缩短了扩大培养汇合时间 (20~30 d); PCR鉴定结果表明, 上述方法获得的克隆细胞整合有 hLF 目的基因; 核型分析表明, 大部分细胞克隆染色体正常。[结论] 该研究可为分离转基因细胞、理想载体的插入及诊断提供一种可靠的方法, 并能节省转基因动物生产的及费用时间。</p>
【附件】	 PDF下载 <a href="#">PDF阅读器下载</a>

关闭