

分类号 R34

单位代码 10183

研究生学号 2004722023

吉 林 大 学

作者姓名：王 志

专 业：营养与食品卫生学

导师姓名：刘 娅 章培标

及 职 称：教 授 副研究员

学位类别：医学硕士

论文起止年月：2005年4月至2007年5月

吉林大学硕士学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的硕士学位论文，是本人在指导教师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：王磊

日期：2007年6月9日

作者姓名	王志		论文分类号	R34
			研究生学号	2004722023
学位类别	医学硕士		授予学位单位	吉林大学
专业名称	营养与食品卫生		培养单位 (院、所、中心)	公共卫生学院
研究方向	基因治疗		学习时间	2004年9月至 2007年6月
论文中文题目	新型高分子基因载体与基因缓释			
论文英文题目	Novel Polymer Based Gene Carrier and Control Released Gene Transfection			
关键词 (3-8个)	基因载体; 基因转染; 释放; 海藻酸钠; 生长因子; 组织工程			
导师情况	姓名	刘娅	职称	教授
	学历学位	硕士	工作单位	吉林大学
论文提交日期	2007年4月15日		答辩日期	2007年5月22日
是否基金资助项目	否	基金类别及编号		
如已经出版, 请填写以下内容				
出版地(城市名、省名)		出版者(机构)名称		
出版日期		出版者地址(包括邮编)		

内 容 提 要

本研究的主要目的在于对新型高分子基因载体的生物学评价以及对基因缓释复合材料的制备和研究。

本实验首先对新型高分子基因载体聚乙烯亚胺-聚谷氨酸苄酯(PEI-PBLG)进行深入的生物学评价, MTT 实验证明其具有良好的生物相容性, PEI-PBLG 介导绿色荧光蛋白质粒(pEGFP-N1)对 ECV304 细胞的转染实验证明该载体具有较强的转染能力; 其次将该高分子基因载体与 pcDNA3.0-VEGF₁₆₅ 混合孵育后与天然的高分子海藻酸钠共混制备了基因缓释复合材料—基因/海藻酸水凝胶复合物。体外的基因释放实验和转染实验证明该复合材料可以缓慢的将基因复合物颗粒释放出来并且能够对细胞进行有效的转染。另外进一步将基因缓释复合材料植入豚鼠体内, 采用免疫组化染色的方法对体内转染效果进行了评价, 结果证明本研究所制备的基因/海藻酸水凝胶复合物能够缓慢释放基因并使释放的基因在局部进行有效的基因表达。

本研究应用新型高分子基因载体制备了基因缓释复合材料, 体外和体内实验结果证明该基因/海藻酸水凝胶复合物能够促进皮肤组织的损伤修复, 为临床应用提供有益的实验依据。

关键词: 基因载体; 基因转染; 释放; 海藻酸钠; 生长因子; 组织工程

缩略词

AMP	aminobenzyl penicillin	氨苄青霉素
BMP	bone morphogenetic protein	骨形态发生蛋白
DMSO	dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
ECV	vascular endothelial cell	人脐静脉内皮细胞
EGF	epidermal growth factor	表皮生长因子
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium	DMEM 培养基
MTT	thiazolyl blue	噻唑蓝
OD	optical density	光密度
PBLG	poly(Benzyl L-Glutamate)	聚谷氨酸
PEI	polyethylenimine	聚乙烯亚胺
PGA	glycolic acid	聚乙交酯
DNA	deoxynucleic acid	脱氧核糖核酸
PLA	polylactide	聚乳酸
PLGA	poly(lactide-co-glycolide)	聚丙交酯-乙交酯
PVA	poly(vinyl alcohol)	聚乙烯醇
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
HE	Hematoxylin and Eosin	苏木精-伊红染色
LB	Luria-Bertani (broth)	LB 培养基
VEGF	vascular endothelial cell growth factor	血管内皮细胞生长因子

目录

第一章 前言	3
1 基因治疗与基因载体	3
1.1 基因治疗	3
1.2 用于基因转移的基因载体	5
2 基因的控制释放与组织工程	8
2.1 组织工程概述	8
2.2 基因的控制释放	13
第二章 新型高分子基因载体细胞学评价与基因转染	17
1 材料与方法	17
1.1 主要仪器与试剂	17
1.1.1 主要仪器	17
1.1.2 主要试剂	17
1.2 实验方法	19
1.2.1 质粒的大量制备与纯化	19
1.2.2 细胞培养	22
1.2.3 电泳阻滞实验	22
1.2.4 细胞毒性实验	22
1.2.5 体外转染实验	23
2 结果	23
2.1 电泳阻滞实验	23
2.2 细胞毒性实验	24
2.3 体外转染实验	25
3 讨论	27
4 小结	30

第三章 基因缓释	31
1 材料与amp;方法	31
1.1 主要仪器与试剂	31
1.1.1 主要仪器	31
1.1.2 主要试剂	31
1.2 实验方法	31
1.2.1 质粒的大量制备与纯化	31
1.2.2 细胞培养	32
1.2.3 基因/海藻酸水凝胶复合物的制备	32
1.2.4 基因释放实验	32
1.2.5 体外基因释放与表达	32
1.2.6 体内基因释放与表达	33
2 结果	36
2.1 基因释放实验	36
2.2 基因体外表达实验	38
2.3 基因/海藻酸水凝胶复合物的体内转染	38
2.3.1 组织学观察	38
2.3.2 免疫组化方法检测 VEGF 表达	39
3 讨论	41
4 小结	43
参考文献	45
中文摘要	I
ABSTRACT	III
导师及作者简介	1
致 谢	2

