

文章编号: 1007-4627(2007)01-0055-04

# 重离子辐射提高腺病毒介导小鼠黑色素瘤细胞转染率的研究\*

段 昕<sup>1,2</sup>, 张 红<sup>1</sup>, 邱 嵘<sup>1</sup>, 高清祥<sup>3</sup>, 闵凤玲<sup>1,2</sup>, 郝冀芳<sup>1</sup>, 刘 兵<sup>1,2</sup>,  
周清明<sup>1,2</sup>, 李小达<sup>1,2</sup>, 王燕玲<sup>1,2</sup>, 周光明<sup>1</sup>

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049;

3 兰州大学生命科学院, 甘肃 兰州 730000)

**摘 要:** 探讨<sup>12</sup>C<sup>6+</sup> 离子束辐射对用带有绿色荧光蛋白基因的缺陷性腺病毒(AdCMV-GFP)转染小鼠黑色素瘤细胞(B16 细胞系)的影响。采用不同剂量的<sup>12</sup>C<sup>6+</sup> 重离子束辐射经 AdCMV-GFP 转染的 B16 细胞, 利用流式细胞仪检测腺病毒的转染率。结果表明, <sup>12</sup>C<sup>6+</sup> 重离子束辐射能提高腺病毒对 B16 细胞的转染率, 且具有量效关系。此外, 先转染后辐射法比起先辐射后转染法能更显著地提高转染率。

**关键词:** <sup>12</sup>C<sup>6+</sup> 离子束; 重组腺病毒载体; 转染效率; 小鼠黑色素瘤细胞

**中图分类号:** R817.5 **文献标识码:** A

## 1 引言

基因治疗是运用分子生物学技术将目的基因导入人体内治疗或预防疾病, 最初用于治疗遗传性单基因缺失病的研究。随着基因治疗的迅速发展, 肿瘤渐渐成为基因治疗临床研究中最重要的适应症<sup>[1]</sup>。长久以来, 靶基因导入效率低是困扰基因治疗进一步发展的关键问题之一。人类腺病毒是目前临床基因治疗研究中应用最为广泛的基因转移载体之一<sup>[2]</sup>, 其优点有: 易于培养和纯化、不整合至宿主的基因组、遗传毒性低、宿主范围广, 最重要的是它有较高的病毒滴度和转移效率, 能获得动物体内较高水平的外源基因表达量<sup>[3]</sup>。重离子是一种具有高传能线密度(LET)的电离辐射线, 它不仅可以在低 LET 辐射不敏感的肿瘤细胞, 而且靶区内能量沉积呈布拉格(Bragg)峰分布, 是增加治疗增益因素(TGF)最理想的辐射线之一<sup>[4, 5]</sup>。小鼠黑色素瘤细胞是一种难于被腺病毒感染的细胞<sup>[6]</sup>, 选用这种细胞有利于更好地研究辐射对腺病毒转染效率的影响。研究发现电离辐射可以提高质粒 DNA 的

转染效率<sup>[7]</sup>, 而重离子对腺病毒转染效率影响的报道较少。本研究通过带有绿色荧光蛋白基因的缺陷性腺病毒感染小鼠黑色素瘤细胞, 同时加以重离子辐射处理, 探索重离子辐射对腺病毒感染肿瘤细胞转染率的影响, 为研究基因治疗联合放射治疗黑色素瘤提供实验依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 重组腺病毒载体和细胞系

重组腺病毒 Ad-CMV-GFP 由中国人民解放军军事医学科学院的吴祖泽院士惠赠。293 细胞为腺病毒 E1 基因转化的人胚肾细胞系, 购自 ATCC(ATCC CRL-10852<sup>TM</sup>); B16 细胞为小鼠黑色素瘤细胞。293 细胞和 B16 细胞均培养于含 10% 胎牛血清 DMEM 培养液中。

### 2.2 重组腺病毒的扩增、纯化和滴度测定

**重组腺病毒的扩增** 在培养瓶内培养 293 细胞, 待丰度达 70%—80% 时, 弃培养液, 加 3 ml

\* 收稿日期: 2005 - 06 - 19; 修改日期: 2006 - 07 - 05

\* 基金项目: 中国科学院百人计划资助项目(BR030601)

作者简介: 段 昕(1977—), 女(汉族), 甘肃兰州人, 博士研究生, 从事辐射生物学研究; E-mail: duanxin823@yahoo.com.cn