

纳米粒转染后细胞上清液中出现 1 条显色带,而阴性对照细胞则未出现,表明表达产物能与抗 ITF 的单克隆抗体结合,具有抗原性。

3 讨论

本研究采用复凝法,利用壳聚糖包裹重组质粒制备纳米粒。一般认为,小粒径的复合物可瞬间打开上皮细胞间的紧密连接,渗透至黏膜下层或组织深部,而大粒径者只能滞留于局部上皮表面,不能被组织细胞摄取。有报道,粒径大小为 300 nm 的粒子最适于基因转染,在研究中制备的纳米粒径集中在 300 ~ 500 nm,可以用于细胞转染。Zeta 电位为纳米粒的表面电位,当 Zeta 电位为正时,可以和带负电位的细胞膜通过静电吸引相结合,以利于细胞吞噬。本实验制备的纳米粒 Zeta 电位均为正值,而且随氮磷比增加而增加。在 pH 值对 Zeta 电位影响的研究中观察到,酸性环境中 Zeta 电位为正值,且酸度越高 Zeta 电位越大。凝胶阻滞实验提示,当氮磷比大于 1.0:1.0 时,质粒完全被阻滞于加样孔内,说明制备的壳聚糖纳米粒可以完全包裹质粒。众所周知,机体内存在着大量的 DNA 酶用以分解 DNA,这也是基因治疗必须解决的一个问题。DNA 保护实验说明,壳聚糖纳米粒完全可以保护内部的质粒,使其免受 DNA 酶的消化。氮磷比是壳聚糖纳米粒中壳聚糖氨基和 DNA 磷酸根之间的摩尔分数之比,只有氮磷比在一定范围内时才能形成稳定有效的复合物。氮磷比过低,形成的复合物不稳定容易被破坏;氮磷比越大,复合物结合越紧密,对 DNA 保护效果越好, DNA 的酶解减少从而提高转染效率。因此,必须选择合适的氮磷比的壳聚糖纳米粒用于转染,本研究选择常用参数即氮磷比为

3.0:1.0 的纳米粒进行研究。作者观察到,纳米粒的封装率随着氮磷比的增加而增加,当氮磷比大于 1.0:1.0 时,其封装率接近 100%,说明该纳米粒具有强大的基因包裹能力。另一方面载药量随着氮磷比的增加而减小,其原因是由于壳聚糖的增加,而质粒的量并未增加,因此载药量相对下降,说明随着氮磷比的增加,纳米粒的载药空间会更大。体外释放实验显示,所有纳米粒在 20 h 内释放速度较快(暴发期),20 h 后速度明显降低(平台期)。这种释放速度既避免了纳米粒未到达靶细胞而过快释放被降解,又避免了到达靶细胞后过慢释放影响基因表达。在成功制备壳聚糖纳米粒、检测物理表征之后,作者又将其转染 HEK 293 细胞,以检验壳聚糖纳米粒的转染效率,同时以商品化的转染载体——脂质体 2000 作为阳性对照。倒置荧光显微镜及流式细胞仪检测证明,壳聚糖纳米粒的转染效率和脂质体基本一致,且远远高于单纯质粒转染。然而从价格上比较,壳聚糖远远低于脂质体,具有极大的经济效益。RT-PCR 和蛋白质印迹法检测从转录和翻译的水平证实,壳聚糖纳米粒转染后可以成功地表达 ITF,并顺利地分泌至细胞培养液中,符合其细胞外发挥生理作用的特点。综上所述,作者制备的壳聚糖 ITF 纳米粒,能保护内部基因免受核酸酶的降解,其细胞转染效率和脂质体类似。该研究为 ITF 的基因治疗提供了一条新思路。

[本文已以英文发表,全文见“Sun Y, Zhang S, Peng X, et al. Preparation, characterization and transfection efficacy of chitosan nanoparticles containing the intestinal trefoil factor gene. Mol Bio Rep, 2012, 39(2): 945-952.”]

(收稿日期:2012-11-22)

(本文编辑:梁光萍)

· 消息 ·

2013 年全军烧伤外科专业学术年会征文通知

为促进军内外烧伤专业的发展及创面修复领域的合作交流,全军第九届烧伤专业委员会定于 2013 年 7 月 25—30 日在塞外煤都山西省大同市召开“2013 年全军烧伤外科专业学术年会”。会议将邀请全国烧伤、创面修复及整形与修复重建等领域的专家做专题报告,为全体与会代表提供一个高水平的医学科学交流平台。

1. 会议组织机构:主办单位为全军第九届烧伤外科专业委员会,承办单位为北京军区解放军第三二二医院。
2. 会议时间及地点:2013 年 07 月 25 日 30 日,山西省大同市。
3. 征文内容:烧伤流行病学、急救,烧伤早期损害和脏器保护、烧伤休克,烧伤感染与免疫、营养与代谢,烧伤护理理论与实践,烧伤后整形、功能重建、康复,瘢痕研究和治疗,创面处理。
4. 征文要求:本次学术会将编辑会议论文集,请作者将论文摘要及论文全文于 2013 年 4 月 20 日前发送电子邮件至 sfsslx@sohu.com。纸质稿件请寄往:山西省大同市解放军第三二二医院烧伤科石富胜收邮编:037006。
5. 联系电话:地方线为 0352-5387421、5387422、5387423,军线为 0261-87421、87423、87422;石富胜主任为 13327429595、18935244879(军线直拨),陶白江秘书长为 18910883407,010-66343407。

全军烧伤外科专业委员会秘书组