

不同转染试剂对慢病毒包装及包装后 病毒感染豚鼠成纤维细胞效率的影响*

何承文¹, 何玉龙¹, 吴月红^{1, 2}, 邵风慧³

(1. 宁夏大学 西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021; 2. 浙江理工大学 生命科学学院, 杭州 310018; 3. 内蒙古阜丰生物科技有限公司, 呼和浩特 010070)

中图分类号: Q25

文献标识码: A

文章编号: 1004 - 7034(2015) 10 - 0034 - 06

关键词: 基因转染; 慢病毒; 绿色荧光蛋白; 豚鼠; 成纤维细胞

摘要: 为了研究不同转染试剂对慢病毒载体包装效率及包装后病毒感染细胞的能力, 试验利用磷酸钙、脂质体 2000、脂质体 LTX 和 QuickShuttle - 293 转染编码绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Protein, GFP) 基因的重组慢病毒载体进入 293T 细胞包装病毒, 包装的病毒感染豚鼠成纤维细胞, 通过流式细胞仪检测转染试剂的转染效率和病毒感染效率, 同时利用 MTT 法检测了 4 种转染试剂的细胞毒性。结果表明: 磷酸钙在转染效率、转染后细胞活力及包装后病毒对豚鼠成纤维细胞的感染效率都最低, 分别为 $(54.8 \pm 2.9)\%$ 、 $(26.7 \pm 6.0)\%$ 和 $(7.6 \pm 1.1)\%$; 脂质体 2000 和脂质体 LTX 对 293T 细胞转染效率差异不显著 ($P > 0.05$), 但脂质体 LTX 转染后细胞活力显著高于脂质体 2000 ($P < 0.05$), 即脂质体 LTX 的细胞毒性显著低于脂质体 2000。而 QuickShuttle - 293 法转染后的转染效率、转染后细胞活力和其包装后的病毒对靶细胞的感染率分别为 $(95.5 \pm 1.8)\%$ 、 $(88.5 \pm 5.7)\%$ 和 $(93.3 \pm 1.0)\%$, 都显著高于其他三种转染试剂 ($P < 0.05$)。说明在本试验条件下, QuickShuttle - 293 是一种高效、低毒的慢病毒转染包装试剂, 可用于通过病毒载体介导的基因转染技术制备豚鼠诱导多能性干细胞 (iPS)。

DOI:10.13881/j.cnki.hljxmsy.2015.1747

将外源基因转入靶细胞是免疫学、细胞生物学和遗传学研究的基本技术, 如何高效、无害地将外源基因导入靶细胞是技术的关键^[1]。病毒载体是一种有效的基因运载工具, 在基因转染效率方面显示出很大的优势, 尤其是慢病毒载体, 其免疫原性低, 可以感染处于分裂期的细胞, 而且还易于将外源基因整合到宿主染色体上^[2], 从而达到持久性表达的效果。另外, 慢病毒的生物安全性也较好, 是目前临床靶向基因治疗中应用较多的载体^[3]。已证实慢病毒可感染神经元、肝细胞、心肌细胞、肿瘤细胞、内皮细胞和干细胞等多种类型的细胞^[4-6]。

在病毒包装过程中, 转染效率是影响高效价病毒产生的重要因素。慢病毒包装常采用价格低廉的磷

酸钙法, 但该方法转染效率较低, 严重影响了慢病毒的包装效率。近年来, 有研究者采用脂质体试剂和非脂质体试剂 (FuGENE 6) 制备慢病毒^[7-8]。还有人报道阳离子转染试剂 QuickShuttle - 293 具有高效、低毒和易于使用等优点。

豚鼠因其对多种病原体具有高敏感性而成为研究发育生物学和许多疾病 (如结核与流感) 致病机理与药物筛选的理想动物模型。但对于豚鼠体细胞重编程的研究尚未见报道。本课题组已建立了豚鼠胎儿成纤维细胞系^[9], 但对豚鼠胎儿成纤维细胞的基因转染尚需进一步的探讨。

为了寻找一种高效的感染豚鼠胎儿成纤维细胞的慢病毒制备方法, 本研究首次比较了磷酸钙、脂质体 2000、脂质体 LTX 和 QuickShuttle - 293 四种不同的转染试剂对编码绿色荧光蛋白 (GFP) 基因的重组慢病毒载体的包装效率和对细胞的毒性作用, 并比较了利用以上四种试剂包装的病毒感染豚鼠胎儿成纤维细胞的能力, 以期通过病毒载体介导的基因转染技术制备豚鼠诱导多能性干细胞 (iPS) 提供技术支持。

1 材料

收稿日期: 2015 - 01 - 29; 修回日期: 2015 - 08 - 14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31260287; 31201867; 31460585)

作者简介: 何承文 (1988 -), 男 (满族), 硕士研究生, 研究方向为诱导干细胞, hew_7_14@163.com.

通信作者: 吴月红 (1977 -), 女, 副教授, 博士, 研究方向为干细胞和细胞重编程, wuyuehong2003@163.com.

*: 本文英文题目、摘要等在参考文献后, 见第 38 页。

293T 细胞 购自中国科学院上海生命科学研究
院;豚鼠胎儿成纤维细胞 西部特色生物资源保护与
利用教育部重点实验室分离培养。

磷酸钙法细胞转染试剂盒 碧云天生物技术研
究所产品;脂质体 2000、脂质体 LTX 美国 Invitrogen 公
司产品;QuickShuttle - 293 北京康碧泉生物科技有
限公司产品;无内毒素质粒大提试剂盒 北京天根生
化科技有限公司产品;MTT 细胞增殖及细胞毒性检
测试剂盒 南京凯基生物科技发展有限公司产品;
DMEM 培养基 GIBCO 公司产品;FBS Hyclone 公司
产品。

编码 GFP 的慢病毒质粒 pGF1 - CMV - GFP 及
包装质粒 pMD. 2G 和 psPAX2 美国德州大学健康科
学中心 Peter J. Hornsby 教授馈赠。

2 方法

2.1 质粒的提取

将 pGF1 - CMV - GFP 骨架质粒及包装质粒
pMD. 2G、psPAX2 接种于液体 LB 培养基中 37 °C、
150 r/min 培养过夜。按照产品说明书进行质粒的提
取及纯化 测定浓度后 -20 °C 保存 备用。

2.2 细胞的培养

按照常规方法解冻 293T 和豚鼠胎儿成纤维细
胞 接种于含有 10% FBS(胎牛血清)和双抗(青霉
素、链霉素)的 DMEM 培养液中 37 °C、饱和湿度、
5% CO₂ 条件下培养 75% 左右汇合时用胰蛋白酶消
化、传代。

2.3 病毒的包装

转染前 24 h 用 0.25 % 胰蛋白酶消化上述培养
293T 细胞 按 1 × 10⁶/mL 重新接种于 60 mm 细胞培
养皿上 置于 CO₂ 培养箱中继续培养。待 60 mm 细
胞培养皿中培养的 293T 细胞生长至 70% ~ 80% 融
合时吸出培养液 并用 PBS 洗 2 次。按照转染试剂
的不同进行如下试验。

2.3.1 磷酸钙转染 按照产品说明书在转染前
30 ~ 60 min 吸去培养液 加入含 10% FBS 的新鲜培
养液(无抗生素) 4 mL 将 pGF1 - CMV - GFP 12 μg、
pMD. 2G 3.6 μg 和 psPAX2 质粒 9 μg 加入到 200 μL
氯化钙溶液中 混匀;把 DNA - 氯化钙溶液加入到
200 μL BBS 溶液中 混匀 室温孵育 20 min;把
DNA - 氯化钙 - BBS 混合物均匀滴加到培养皿内 在
37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱内培养 6 h 后吸去含
磷酸钙沉淀的培养液 加入 4 mL 新鲜的完全培养液
继续培养。

2.3.2 脂质体 2000 转染 将 pGF1 - CMV - GFP
12 μg、pMD. 2G 3.6 μg 和 psPAX2 质粒 9 μg 稀释在
2 mL opti - MEM 中 加入脂质体 2000 20 μL 室温静
置 25 min;将上述混合液加入培养有 293T 细胞的
60 mm 培养皿中 放入 5% CO₂、37 °C 培养箱中培养

6 h 后更换为含有 10% FBS 的完全培养液继续培养。
2.3.3 脂质体 LTX 转染 将 pGF1 - CMV - GFP
12 μg、pMD. 2G 3.6 μg 和 psPAX2 9 μg 稀释在 2 mL
opti - MEM 中 加入脂质体 LTX 20 μL 室温静置
25 min;将上述混合液加入培养有 293T 细胞的
60 mm 培养皿中 放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养
6 h 后更换为含有 10% FBS 的完全培养液继续
培养。

2.3.4 QuickShuttle - 293 转染 将 pGF1 - CMV -
GFP 5.46 μg、pMD. 2G 1.64 μg 和 psPAX2 4.10 μg
以及 QuickShuttle - 293 22.4 μL 分别稀释到 100 μL
生理盐水中 合并上述两溶液并混匀 直接加入到细
胞培养基中 轻摇细胞板以混匀;将细胞培养皿移至
37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行培养。

经以上四种试剂转染后的 293T 细胞继续培养
24 h 后观察转染结果 并于 24 小时及 48 小时收集病
毒液 -80 °C 保存。

2.4 流式细胞仪测定转染效率

将 4 组转染 48 h 后及对照 293T 细胞分别用
0.25% 的胰蛋白酶消化 1 000 r/min 离心 5 min;弃
掉上清液 收集细胞 用 PBS 重悬细胞 使细胞密度
达到 1 × 10⁶/mL 用流式细胞仪收集 2 × 10⁴ 个细胞
将其中表达 GFP 的细胞数与细胞总数相比 即为转
染效率。

2.5 MTT 法检测 293T 细胞转染后的活性

将 4 组转染 48 h 后及对照 293T 细胞分别用
0.25% 的胰蛋白酶消化 1 000 r/min 离心 5 min;用
适量的完全培养液重悬细胞 使细胞浓度达到 1 ×
10⁵/mL;取 100 μL 细胞悬液加入到 96 孔板中 每组
样品 3 个重复 同时设不加细胞的空白对照组 置
37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 24 h;每孔加 50 μL
1 × MTT 在 37 °C 孵育 4 h;吸出上清液 每孔加
150 μL DMSO 用平板摇床摇匀后 用酶标仪在
490 nm 波长处检测其吸光度。将各测试孔的 OD 值
减去本底 OD 值(完全培养基加 MTT 无细胞) 按照
以下公式计算细胞存活率。细胞存活率 = (OD 转染
细胞值/OD 未转染细胞值) × 100%。

2.6 豚鼠成纤维细胞的感染

将上述收集的病毒液经 0.45 μm 滤膜过滤 并
加入终浓度为 8 μg/mL 的聚凝胺 再加入生长至
80% 融合的豚鼠成纤维细胞中 12 h 后换取新鲜病
毒液。重复感染 2 次。

2.7 感染效率的流式细胞仪测定

将 4 组病毒感染 48 h 后及未被感染的豚鼠胎
儿成纤维细胞分别用 0.25% 的胰蛋白酶消化
800 r/min 离心 5 min;弃掉上清液 收集细胞 用适
量 PBS 重悬细胞 使细胞浓度达到 1 × 10⁶/mL。用流
式细胞仪收集 1 × 10⁴ 个细胞 将表达 GFP 的细胞与

胞总数相比,所得比值即为病毒感染效率。

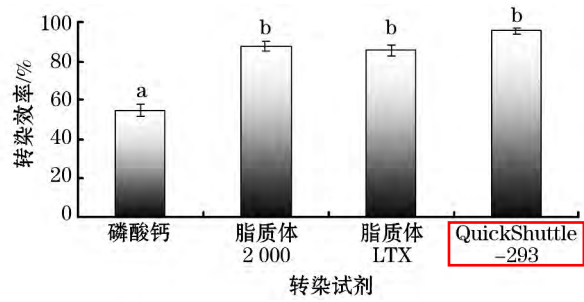
3 结果

3.1 不同转染试剂转染 293T 细胞的效率

转染 24 h 后荧光显微镜下观察发现,四种转染试剂都可以成功转染质粒进入细胞中,但 QuickShuttle-293 转染后表达荧光蛋白的细胞数最多,而磷酸钙转染后的表达荧光蛋白的细胞数最少,见图 1A、B、C 和 D 图。

3.2 流式细胞仪检测转染效率

通过流式细胞仪分析四种转染试剂的转染效率,结果表明:磷酸钙法转染效率最低,为(54.8 ± 2.9)%;其次是脂质体 2000 和 LTX,分别为(87.8 ± 2.5)%和(85.5 ± 2.5)%;而 QuickShuttle-293 为(95.5 ± 1.8)% ,显著高于其他三种试剂(P < 0.05),见图 2 和图 3。



注:字母不同表示差异显著(P < 0.05) 相同表示差异不显著(P > 0.05)。

图 3 不同转染试剂转染 293T 细胞后 GFP 阳性细胞比例

Fig. 3 The statistics of the percentages of GFP - positive cells detected by flow cytometry after transfecting 293T cells using different tranfection reagents

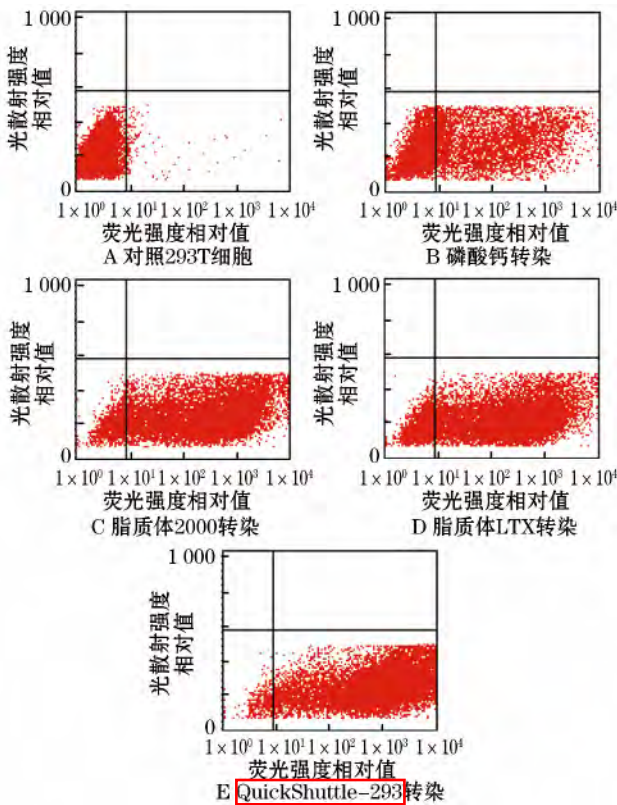


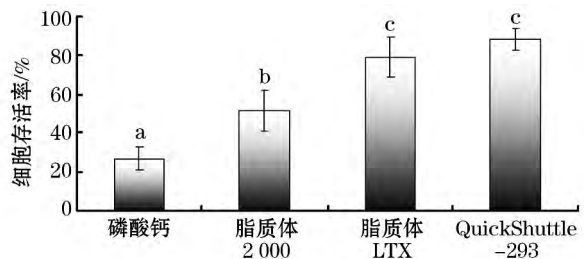
图 2 流式细胞仪检测不同转染试剂转染 293T 细胞后 GFP 阳性细胞比例

Fig. 2 The percentages of GFP - positive cells detected by flow cytometry after transfecting 293T cells using different transfection reagents

3.3 MTT 法检测转染后 293T 细胞的活力

利用 MTT 法分析转染 72 h 后的 293T 细胞的活力,可以反映转染试剂对细胞的毒性。本试验通过 MTT 法测定四种不同转染试剂转染后细胞的存活率 结果表明:在转染 72 h 后 QuickShuttle-293 对

293T 细胞活力的影响最小,即活细胞数最多,为(88.5 ± 5.7)%;其次为脂质体 LTX 和脂质体 2000,但脂质体 LTX 对细胞的影响显著低于脂质体 2000 (P < 0.05);而影响最大的为磷酸钙,活力仅为 26.68% ,显著低于其他 3 组(P < 0.05)。见图 4。



注:字母不同表示差异显著(P < 0.05) 相同表示差异不显著(P > 0.05)。

图 4 MTT 法检测不同转染试剂转染 293T 细胞后细胞的存活率

Fig. 4 The cell viability rates detected by MTT assay after transfecting 293T cells using different transfection reagents

3.4 收集的病毒对豚鼠成纤维细胞感染的结果

利用四种转染试剂转染 293T 细胞收获后的病毒液连续感染豚鼠胎儿成纤维细胞 2 次,3 d 后观察 GFP 表达情况。荧光显微镜下观察发现 QuickShuttle-293 组表达 GFP 细胞数量最多,而磷酸钙组最少 结果见 295 页彩图 5A、B、C、D。

3.5 流式细胞仪检测病毒感染豚鼠细胞的效率

通过流式细胞仪检测四种转染试剂转染 293T 细胞后包装的病毒感染豚鼠胎儿成纤维细胞的效率 结果表明:磷酸钙法转染效率最低,为(7.6 ± 1.1)%;其次是脂质体 2000 和脂质体 LTX,分别为(63.8 ± 2.2)%和(57.8 ± 1.7)%;而 QuickShuttle-293 最高

为(93.3 ± 1.0) %。见图6和7。

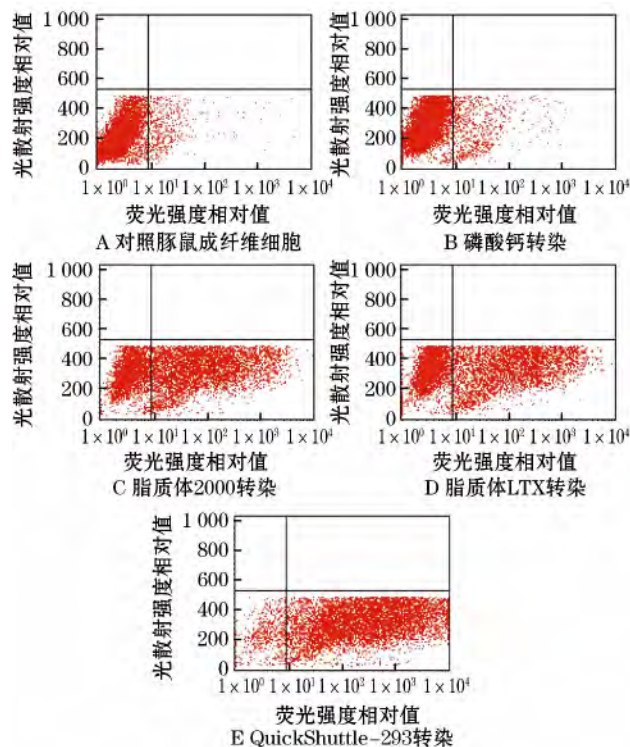
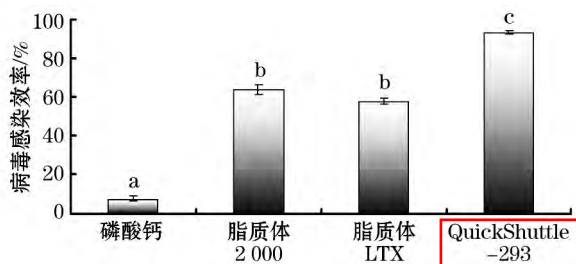


图6 流式细胞仪检测不同转染试剂包装病毒感染豚鼠胎儿成纤维细胞后 GFP 阳性率

Fig. 6 GFP - positive rates detected by flow cytometry after the packaged - lentivirus infecting guinea - pig fetal fibroblasts using different transfection reagents



注: 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$) , 相同表示差异不显著 ($P > 0.05$) 。

图7 不同转染试剂包装病毒感染豚鼠胎儿成纤维细胞后 GFP 阳性率统计

Fig. 7 The statistics of the GFP - positive rates after the packaged - lentivirus infecting guinea - pig fetal fibroblasts using different transfection reagents

4 讨论

慢病毒载体在生物医学研究中起着越来越重要的作用,尤其在药物筛选与评价,病毒与宿主相互作用,病毒复制、分泌、感染机制研究等方面已成为一个十分常用的工具^[10]。

转染效率和转染毒性是决定选择何种转染试剂以及剂量的两个主要因素^[1]。在病毒包装过程中,寻找一种转染效率高、毒性低的转染试剂或方法是保证病毒包装及其后感染靶细胞成功与否的重要条件。

在病毒包装过程中使用最广泛的是磷酸钙,具有简便、经济等优点。但该方法受很多因素影响,试验结果不稳定,又成为其一大缺点^[11]。通过技术改良的磷酸钙转染法能有效地提高转染效果,但利用其包装的病毒产量也仅为脂质体法产量的1/2^[4]。

大量试验证实,利用脂质体法转染包括293T细胞在内的多数种类细胞中有较好的效率^[12],尤其是脂质体2000在病毒包装中的使用已有大量的报道^[7]。但随着研究的深入,研究者发现脂质体2000对一些细胞具有较高的毒性^[13]。新近研发的脂质体LTX在细胞毒性方面有很大的改善,但价格昂贵难以被大规模利用。

为了寻找一种经济、简便且转染效率高的适合于慢病毒包装的转染试剂,本研究对比了磷酸钙、脂质体2000、脂质体LTX和新型针对293细胞的阳离子转染试剂QuickShuttle-293的包装效率、细胞毒性及其包装后的病毒对豚鼠胎儿成纤维细胞的感染效率,结果表明:磷酸钙在转染效率、转染后细胞活力及包装的病毒对其后的感染效率都最低,分别为(54.8 ± 2.9) %、(26.7 ± 6.0) %和(7.6 ± 1.1) %;在对293T细胞转染效率方面,脂质体2000和脂质体LTX差异不显著($P > 0.05$),但在转染后细胞活力方面脂质体LTX显著高于脂质体2000($P < 0.05$),即脂质体LTX的细胞毒性显著低于脂质体2000。而QuickShuttle-293在转染效率、转染后细胞活力和其包装后的病毒对靶细胞的感染方面都显著高于其他三种转染试剂($P < 0.05$),分别为(95.5 ± 1.8) %、(88.5 ± 5.7) %和(93.3 ± 1.0) %。

综上所述,在本试验条件下QuickShuttle-293无论在慢病毒包装过程中的转染效率、细胞毒性及包装后病毒的感染效率方面显示出较好的效果。本研究结果不仅为后续通过慢病毒介导转录因子诱导豚鼠iPS细胞提供了技术保障,也为其他研究者在转染试剂的选择方面提供了一定的数据支持。

参考文献:

- [1] 何星,李华,邵雁,等. 三种转染试剂介导pGPU6/GFP/Neo真核表达载体转染鸡胚成纤维细胞的比较研究[J]. 浙江大学学报:医学版,2013,42(6):660-665.
- [2] GUO X, WANG W, HU J, et al. Lentivirus - mediated RNAi knockdown of NUPR1 inhibits human nonsmall cell lung cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2012, 295(12):2114-2121.
- [3] 岳翠青,邵华明,林志娟,等. 三质粒慢病毒包装细胞体系的构建及其感染效率检测[J]. 潍坊医学院学报,2013,35(1):1-3.
- [4] 杨智,骆菁菁,钱程,等. 磷酸钙转染法用于第三代自身失活

- 型慢病毒包装的探讨[J]. 浙江理工大学学报, 2010, 27(2): 303-307.
- [5] MANILLA P, REBELLO T, AFABLE C, et al. Regulatory considerations for novel gene therapy products: a review of the process leading to the first clinical lentiviral vector[J]. Hum Gene Ther, 2005, 16(1): 17-25.
- [6] BUKRINSKY M I, HAGGERTY S, DEMPSEY M P, et al. A nuclear localization signal within HIV-1 matrix protein that governs infection of non-dividing cells[J]. Nature, 1993, 365(6447): 666-669.
- [7] 张磊, 刘庆友, 胡天, 等. 第三代慢病毒高效率包装系统的建立[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(2): 326-330.
- [8] 范霖, 马志昭, 高山峨, 等. 用 Fugene6 制作高滴度慢病毒方法的优化比较[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(4): 385-390.
- [9] 吴月红, 何承文, 宋孚洋, 等. 豚鼠胎儿成纤维细胞的分离培养及生物学特性分析[J]. 西北农业学报, 2013, 22(12): 174-180.
- [10] 陈斌, 李建彬, 米志强, 等. 利用移码突变和终止密码子提高下游目的基因的表达水平[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(8): 92-96.
- [11] 陈晓, 蒋捍东, 路新枝, 等. 一种用磷酸钙法高效转染 HEK293T 细胞方法的建立[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2005, 35(5): 807-810.
- [12] 李华, 刘维全, 王大一, 等. 基因导入的脂质体转染法和磷酸钙转染法之比较[J]. 中国实验动物学杂志, 2000, 10(2): 56-60.
- [13] 钟英强, 魏菁, 傅玉如, 等. 阳离子脂质体 Lipofectamine2000 对人胰腺癌 Capan-2 细胞的毒性作用[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(11): 1981-1984.

Effects of different transfection reagents on lentiviral packaging efficiency and the lentiviral infection efficiency of guinea-pig fibroblasts after packaging

HE Cheng-wen¹, HE Yu-long¹, WU Yue-hong^{1,2}, SHAO Feng-hui³

(1. Key Laboratory of the Ministry of Education for Protection and Utilization of Special Biological Resource in Western China, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. College of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 3. Inner Mongolia Fufeng Biotechnology Co., Ltd., Hohhot 010070, China)

Key words: gene transfection; lentivirus; green fluorescent protein (GFP); guinea pig; fibroblast

Abstract: To study the effects of different transfection reagents on the packaging efficiency of lentiviral vector and the ability of the lentivirus to infect the cells, the recombinant lentiviral vector encoding green fluorescent protein (GFP) gene was transfected into 293T cells by using calcium phosphate, liposome 2000, liposome LTX and QuickShuttle-293, respectively, and subsequently the guinea pig fibroblasts were infected by the lentivirus. The transfection efficiency of the transfection reagents and the efficiency of lentiviral infection were detected by flow cytometry, and the cytotoxicity of four transfection reagents was detected by MTT assay at the same time. The results showed that the transfection efficiency, cell viability after transfection and the lentiviral infection efficiency of guinea pig fibroblasts were the lowest using calcium phosphate, they were (54.8 ± 2.9)%, (26.7 ± 6.0)% and (7.6 ± 1.1)%, respectively. There were no significant differences ($P > 0.05$) in the transfection efficiency of 293T cells using liposome 2000 and liposome LTX, but the cell viability after transfection by using liposomes LTX was significantly higher than ($P < 0.05$) that using liposome 2000, namely, the cytotoxicity of liposome LTX was significantly lower than that of liposome 2000. The transfection efficiency, cell viability after transfection and the lentiviral infection efficiency of target cells by using QuickShuttle-293 was (95.5 ± 1.8)%, (88.5 ± 5.7)% and (93.3 ± 1.0)%, respectively, which were significantly higher ($P < 0.05$) than using the other three transfection reagents. The results indicate that under the experimental conditions described in the present study, QuickShuttle-293 is an efficient, low-toxicity lentiviral transfection reagent, which can be used to prepare the induced pluripotent stem (iPS) cells of guinea pig by using a lentiviral vector-mediated gene transfer technology.

(009)

(上接第 33 页)

- [10] TAKAC M, BLASI U. Phage P68 virion-associated protein 17 displays activity against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [J]. Antimicrob Agents Chemother 2005, 49(7): 2934-2940.
- [11] RASHEL M, UCHIYAMA J, TAKEMURA I, et al. Tail-associated structural protein gp61 of *Staphylococcus aureus* phage phi MR11 has bifunctional lytic activity [J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 284(1): 9-16.
- [12] HORGAN M, OFLYNN G, GARRY J, et al. The phage lysin Ly-sK, can be truncated to its CHAP domain and retain lytic activity against live antibiotic-resistant *staphylococci* [J]. Appl Environ Microbiol 2009, 75(3): 872-874.

(009)

· 试验研究 ·

不同转染试剂对慢病毒包装及包装后病毒感染豚鼠成纤维细胞效率的影响

(作者何承文等,正文见第34~38页)

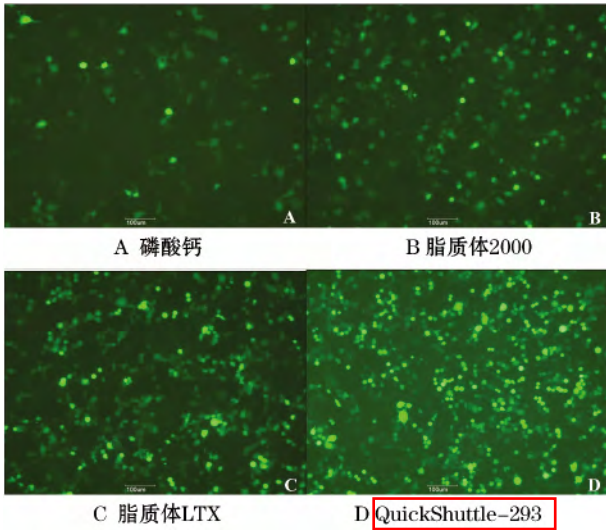


图1 不同转染试剂转染293T细胞后荧光显微镜下GFP阳性细胞比较

Fig.1 Comparison of the GFP - positive cells under a fluorescence microscope after transfecting 293T cells using different transfection reagents

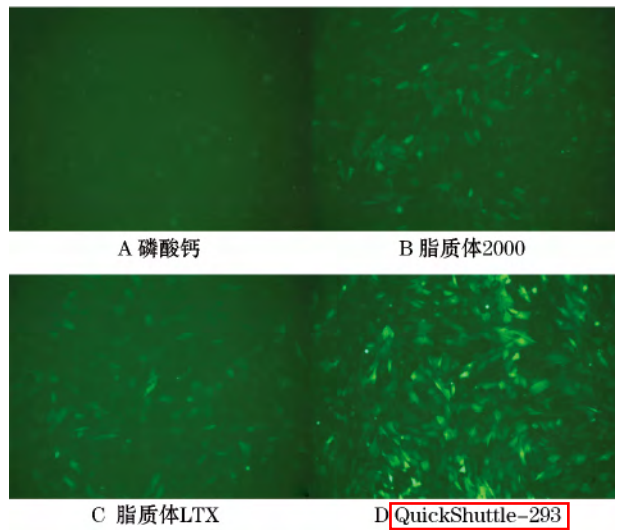


图5 不同转染试剂包装病毒感染豚鼠胎儿成纤维细胞能力的比较

Fig.5 Comparison of the packaged - lentiviral infection ability of guinea - pig fetal fibroblasts using different transfection reagents

· 试验研究 ·

慢性饮水染镉对大鼠睾丸的病理学影响

(作者潘顺叶等,正文见第47~49,53页)

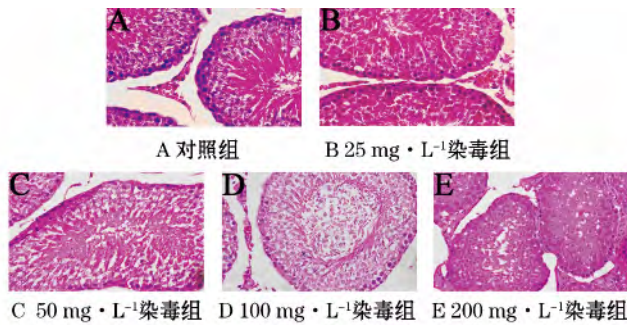


图2 镉对大鼠睾丸显微结构的影响(H. E. ,400 ×)

Fig.2 Effect of cadmium on testicular microstructure of rats(H. E. ,400 ×)

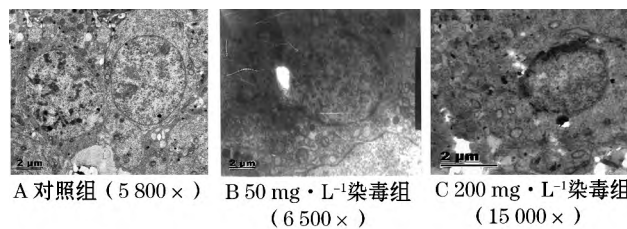


图3 镉对大鼠睾丸超微结构的影响

Fig.3 Effect of cadmium on testicular ultrastructure of rats