

研究快报

脱水再加水法包裹 DNA——影响包裹率因素的研究*

尹长城 沈子威 赵南明 汤辉仙 贾士荣
(清华大学生物科学与技术系) (中国农业科学院生物技术中心, 北京)

脂质体 (liposome) 做为一种新的基因工程载体, 近年来受到了广泛的重视。本文尝试用脱水再加水法制备脂质体来包裹质粒 DNA, 摸索包裹的合适条件。

脱水再加水法按文献[1]; 包裹时脂质/质粒的比例为 25:1—100:1(W/W); 包裹率按下式计算

$$\text{包裹率}(\%) = \frac{(A_{t,260} - A_{0,260})}{A_{t,260}} \times 100$$

式中, $A_{t,260}$ 为包裹前 DNA 溶液在 260nm 的光密度;
 $A_{0,260}$ 为包裹后脂质体外 DNA 在 260nm 的光密度。

1. 水化体积对包裹率的影响 开始我们采用水化体积: 冷冻前体积 = 1:1 制备脂质体, 结果包裹率很低, 仅为 10% 左右; 后来我们逐步减小水化体积, 发现水化体积减小, 包裹率增加, 结果如表 1。

表 1 水化体积对包裹率的影响

包裹物	脂质成分	水化体积: 原体积	包裹率(%)
pLGV _{neo} 1103	大豆磷脂 (SPL)	1:1	—10
pLGV _{neo} 1103	SPL	1:2.5	60—70
pLGV _{neo} 1103	SPL	1:5	60—70

但水化体积再减小时, 包裹率不再提高, 这可能是由于水化体积太小时, 水化不充分所致。故在后续实验中采用水化体积: 原体积 = 1:5

制备脂质体。

2. 脂质组成对包裹率的影响 根据上述方法, 我们用不同脂质成分制备脂质体, 结果如表 2

表 2 脂质组成对包裹率的影响

包裹物	分子量	脂质成份	包裹率(%)
calcein	632	SPL	10—30
pUC12-CAT	4.8kb	SPL	—70
pLGV _{neo} 1103	7.3kb	SPL	—70
pLGV _{neo} 1103	7.3kb	DOPE/Chol/OA (4:4:3)	—20
pLGV _{neo} 1103	7.3kb	DOPC/Chol/OA (4:4:3)	—30

由表 2 可见, SPL 要比其它两种脂质组成包裹率高, 其原因可能是 SPL 带大量负电荷, 因而比其它两种组成的脂质更易水化而形成稳定的脂质体。另外, 小分子化合物 calcein 不如大分子包裹率高, 这可能是再水化时小分子比大分子更容易从脂质夹层中渗漏出来, 所以脱水再加水法更适于包裹大分子物质。

参 考 文 献

[1] Gregoriadis, G.: CRC Press *Liposome Technology*, 1984, Vol. I, 19.

[本文于 1988 年 8 月 12 日收到]

* 国家“七·五”攻关项目基金资助。