

# 胎牛血清对聚乙烯亚胺基因传递系统的降毒作用研究

邓思韵\*, 杨 樱, 陈 杰(中山大学附属第一医院, 广州 510080)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)16-2209-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.16.16

**摘要** 目的:研究胎牛血清(FBS)对聚乙烯亚胺(PEI)基因传递系统的降毒作用。运用 Nanoparticles albumin bound 技术的原理,制备以 FBS 修饰 PEI/DNA 的复合物(PEI/DNA/FBS)。采用 MTT 比色法计算人宫颈癌上皮 Hela 细胞存活率(CV),测定 PEI 质量浓度分别为 0.5、1、2、5、10、15、20、30  $\mu\text{g/ml}$  时的细胞毒性,比较 FBS 含量分别为 0、2.5%、5%、10% 时 PEI/FBS 复合物和 N(PEI 中氮的物质的量)/P(DNA 中磷的物质的量)比分别为 10、20 时的 PEI/DNA/FBS 复合物的细胞毒性差异,比较 PEI 和 N/P 比分别为 10、20 且 FBS 含量为 0、5%、10% 的 PEI/DNA/FBS 复合物作用 4、8、12、16 h 时的细胞毒性差异。结果:CV 值与 PEI 质量浓度呈负相关,当 PEI  $\geq 10 \mu\text{g/ml}$  时,对细胞有明显的毒性;随 FBS 含量的增加 CV 值增加,当 FBS 含量为 2.5%、5%、10% 时 PEI/DNA/FBS 复合物 CV 值均在 80% 以上,且 FBS 含量为 5%、10% 时 CV 值均大于 100%;且随作用时间的延长 CV 值基本维持稳定。结论:FBS 可有效降低 PEI 基因传递系统的细胞毒性,经 FBS 修饰后的 PEI 基因传递系统不会随作用时间的延长而加大对细胞的损伤。

**关键词** 聚乙烯亚胺;胎牛血清;DNA;复合物;人宫颈癌上皮 Hela 细胞;细胞毒性

## Study on Toxicity Attenuation Effects of Fetal Bovine Serum on Polyethylenimine Gene Delivery System

DENG Si-yun, YANG Ying, CHEN Jie (The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the toxicity attenuation effects of fetal bovine serum (FBS) on the polyethyleneimine (PEI) gene delivery system. METHODS: Nanoparticles albumin bound technology was conducted to prepare the FBS-modified PEI/DNA compound PEI/DNA/FBS. MTT assay was used to calculate the Hela cell viability rate (CV) in human cervical epithelium, determine the cytotoxicity of PEI with the mass concentration of 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, 20 and 30  $\mu\text{g/ml}$ , compare the toxicities between the PEI/FBS with the FBS content of 0, 2.5%, 5% and 10% and PEI/DNA/FBS with the N (amount of nitrogen in PEI)/P (amount of phosphorus in DNA) ratio of 10 and 20, and compare the toxicities changes between PEI and PEI/DNA/FBS with the N/P ratio of 10 and 20 for 4, 8, 12 and 16 h, respectively. RESULTS: CV value and PEI mass concentration were negatively correlated and it had obvious toxicity to cells when PEI  $\geq 10 \mu\text{g/ml}$ ; the CV value was increased with the increasing of FBS content, the CV value of compound PEI/DNA/FBS was more than 80% when the FBS content was respectively 2.5%, 5% and 10% and the CV value was more than 100% when the FBS contents were respectively 5% and 10%; and the CV value was basically stable with the prolonging of action time. CONCLUSIONS: FBS can effectively reduce the cell toxicity of PEI gene delivery system and the FBS-modified PEI gene delivery system will not increase the cell damage with the prolonging of action time.

**KEYWORDS** Polyethylenimine; Fetal bovine serum; DNA; Compound; Hela cell in human cervical epithelium; Cytotoxicity

随着现代分子生物学的发展以及人类基因组计划的实施,基因治疗药物的概念应运而生,成为现代药物研究开发的一个新领域。基因治疗药物主要是用于治疗那些对人类健康有严重威胁的疾病,包括遗传病(如血友病、囊性纤维病、家庭性高胆固醇血症等)、恶性肿瘤、心血管疾病、感染性疾病(如艾滋病、类风湿等),其基本机制是将正常的遗传物质导入患者体细胞内并使之表达,产生有治疗作用的蛋白质,从而达到治疗疾病的目的。选择合适的载体将外源目的基因转移至特定的细胞内,是研制基因治疗药物的关键步骤。基因传递系统是转运目的基因的媒体,其大致可以分为病毒型和非病毒型两类。病毒型载体具有转染效率高的优点,但也存在着诸多的缺陷与安全隐患;非病毒型载体虽然转染效率较低,但具有安全、低免疫原性、合成简单、易于组装等优点<sup>[1-2]</sup>。

\* 药师。研究方向:药房管理。电话:020-87755766-8445。E-mail: dengsiyun@163.com

# 通信作者:副主任药师,博士。研究方向:临床药学。E-mail: chenjiezs@163.com

聚乙烯亚胺(PEI)是众多非病毒型载体中具有较高转染率的一种载体,但其对细胞的毒性较大,限制了其临床应用。PEI的毒性主要来源于对细胞膜的损伤,其富含正电荷,能与细胞膜表面带负电性的硫酸黏多糖结合,对细胞膜有较高的亲和黏附能力,并使细胞膜通透性增加<sup>[3-4]</sup>。有研究报道,PEI/DNA复合物在含胎牛血清(FBS)的培养液环境下,转染效率有所下降,但同时细胞毒性也降低了,主要原因是液体环境中的FBS表面所带负电荷部分中和了PEI的正电荷<sup>[5]</sup>。近几年,国外开发了一种新型的技术,即 Nanoparticles albumin bound (Nab)技术,原理是将营养物质白蛋白与纳米级药物相连,利用细胞对营养物的摄取趋向性,同时将药物一同吞入,从而增加药物的摄取率。本试验尝试运用 Nab 技术的原理,用营养物质 FBS 对 PEI/DNA 复合物进行修饰,通过静电作用,使之形成 PEI/DNA/FBS 复合物,并利用 MTT 比色法<sup>[6]</sup>测定复合物的毒性,以考察 FBS 对 PEI 的降毒作用。

## 1 材料

### 1.1 仪器

电热恒温 CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司); T1-SM 型倒置显微镜(日本 Nikon 公司); ROTOFIX32 型台式高速离心机(德国 Hettich 公司); HZQ-Q 型全温振荡器(中国哈尔滨东联电子技术开发有限公司); 低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司); 生物分光光度计(德国 Eppendorf 公司); Elx 800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司); 涡漩混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂)。

## 1.2 药品与试剂

支链型 PEI(b-PEI, 美国 Aldrich-Sigma 公司, 分子质量: 25 000 Da, 无水); 质粒 pEGFP-VEGF165(本实验室自行构建); 磷酸盐缓冲液干粉(PBS)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)均购自广州威佳科技有限公司; RPMI 1640 培养基、FBS(美国 Gibco 公司); 碳酸氢钠(广州化学试剂厂); 胰蛋白酶(吉诺生物医药技术有限公司); 二甲基亚砜(DMSO, 天津市福晨化学试剂厂); 去内毒素质粒大量抽提试剂盒[EndoFree Plasmid Kit, 天根生化科技(北京)有限公司]。

## 1.3 细胞

人宫颈癌上皮 HeLa 细胞, 由中山大学药学院微生物与生化制药实验室提供。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

将 HeLa 细胞接种于 75 cm<sup>2</sup> 斜颈培养瓶中, 使用含 10% FBS、100 u 双抗的 RPMI 1640 培养基, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

### 2.2 质粒 pEGFP-VEGF165 的制备

将酶切鉴定正确的 pEGFP-VEGF165 质粒(以下以 DNA 代称), 大量扩增其转化的细菌, 参考去内毒素质粒大量抽提试剂盒说明, 并再次酶切鉴定, 用分光光度计测定质粒的浓度和纯度。

### 2.3 溶液的制备

2.3.1 PEI、DNA 溶液 称取适量的 PEI, 将其均匀分散于去离子水中, 制备成适当质量浓度的溶液, 备用; 加药前用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液将其稀释至所需质量浓度, 即可。将提取所得的质粒 DNA 溶液用 PBS 稀释到适当的浓度, 备用。所有溶液的制备均在适合容积的微型离心管(EP 管)中进行, 下同。

2.3.2 PEI/DNA 复合物溶液 根据 PEI 的终浓度和不同 N(PEI 中所含氮的物质的量)/P(DNA 中所含磷的物质的量)比, 分别取所需体积的 PEI、DNA 溶液, 混合, 并用 PBS 补足体积(使每孔复合物的 PBS 溶液体积为 100 μl, 下同), 涡旋 10 s, 室温静置 30 min<sup>[7]</sup>; 再加入等体积的无血清 RPMI 1640 培养液, 涡旋混合, 即得。复合物须在加药前配制, 复合时间足够后, 立即使用, 下同。

2.3.3 PEI/DNA/FBS 复合物溶液 根据 PEI 的终浓度和不同 N/P 比, 分别取所需体积的 PEI、DNA 溶液, 混合, 涡旋 10 s, 室温静置 15 min; 再加入所需体积的 FBS 溶液, 用 PBS 补足体积, 涡旋混合 10 s, 室温静置 15 min; 最后加入等体积的无血清 RPMI 1640 培养液, 涡旋混合, 即得。

2.3.4 PEI/FBS 复合物溶液 根据 PEI 的终浓度和所需 FBS 的量, 分别取所需体积的 PEI、FBS 溶液, 混合, 并用 PBS 补足体积, 涡旋 10 s, 室温静置 15 min; 最后加入等体积的无血清 RPMI 1640 培养液, 涡旋混合, 即得。

## 2.4 MTT 比色法测定细胞活力

2.4.1 PEI 的毒性测定 将培养瓶中细胞消化并离心后, 吸除上清, 加入 2 ml 含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液, 充分吹打混悬后计数, 再用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液对原细胞悬液进行稀释, 调整至细胞密度为 40 000 ml<sup>-1</sup>。将上述稀释好的细胞悬液接种于 96 孔培养板中, 每孔 200 μl, 使细胞终密度为 8 000/孔, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。吸去每孔中的旧培养液, 阴性对照用含 10% FBS 的新鲜 1640 培养液交换, 其余加入含不同质量浓度 PEI(质量浓度梯度为 0.5、1、2、5、10、15、20、30 μg/ml) 的 RPMI 1640 培养液, 每个浓度复种 3 孔, 继续培养 24 h。每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 20 μl, 继续培养 4 h, 终止培养, 小心吸出孔内培养液后, 每孔加入 DMSO 150 μl, 振荡 5 min, 使结晶物充分溶解后用酶标仪检测 570 nm 波长处各孔光密度(OD 值)。

2.4.2 不同 FBS 含量的复合物的毒性测定 按“2.4.1”项下方法接种、培养细胞 24 h, 吸去每孔中的旧培养液, 阴性对照用无血清 RPMI 1640 培养液交换, 其余分别加入含 20 μg/ml PEI 的无血清培养液(即 FBS 含量为 0), FBS 含量为 2.5%、5%、10% 的 PEI/FBS 复合物溶液, N/P 比为 10 或 20<sup>[7-8]</sup> 且 FBS 含量为 0(即 PEI/DNA 复合物溶液)、2.5%、5%、10% 的 PEI/DNA/FBS 复合物溶液(各复合物溶液中 PEI 的终质量浓度均为 20 μg/ml), 每种复合物复种 3 孔, 继续培养 4 h<sup>[7]</sup>。吸去每孔中的旧培养液, 换上含 10% FBS 的新鲜 RPMI 1640 培养液, 继续培养 24 h。按“2.4.1”项下方法用酶标仪检测 570 nm 波长处各孔 OD 值。

2.4.3 复合物作用不同时间的毒性测定 按“2.4.1”项下方法接种、培养细胞 24 h, 吸去每孔中的旧培养液, 阴性对照用无血清 RPMI 1640 培养液交换, 其余分别加入含 13.6 μg/ml PEI 的无血清培养液(即 FBS 含量为 0), N/P 比为 10 或 20 且 FBS 含量为 0(即 PEI/DNA 复合物溶液)、5%、10% 的 PEI/DNA/FBS 复合物溶液(各复合物溶液中 PEI 的终质量浓度均为 13.6 μg/ml), 每种复合物复种 3 孔, 继续培养 4、8、12、16 h。吸去每孔中的旧培养液, 换上含 10% FBS 的新鲜 RPMI 1640 培养液, 继续培养 24 h。按“2.4.1”项下方法用酶标仪检测 570 nm 波长处各孔 OD 值。

2.4.4 细胞毒性的评价方法 按下列公式计算细胞存活率(CV, %), 通过 CV 值推定载体的细胞毒性。CV=(试验孔 OD 值/阴性对照 OD 值)×100%。

## 3 结果

### 3.1 PEI 的细胞毒性

结果显示, 随着 PEI 质量浓度的增加, 细胞的 CV 值下降; 当 PEI 质量浓度为 5 μg/ml 时, CV<50%, 即已有超过半数的细胞死亡; 当 PEI 质量浓度≥10 μg/ml 时, CV<25%, 即细胞大部分死亡。这表明 PEI 质量浓度越高, 细胞毒性越大, 当 PEI 浓度≥10 μg/ml 时, 已对细胞有很明显的毒性, 可引起大量细胞的死亡。不同质量浓度 PEI 的细胞毒性结果见图 1。

### 3.2 不同 FBS 含量的复合物的细胞毒性

结果显示, 随着 FBS 含量的增加, 细胞的 OD 值和 CV 值逐渐上升; N/P 比为 10 或 20 时, CV 值的变化趋势呈现一致性, FBS 含量为 2.5%、5% 和 10% 的 PEI/DNA/FBS 复合物中 CV 值均在 80% 以上, 且 FBS 含量为 5% 和 10% 时 CV 值均>100%。这表明在加入 FBS 进行修饰之后, 整个复合物的毒性

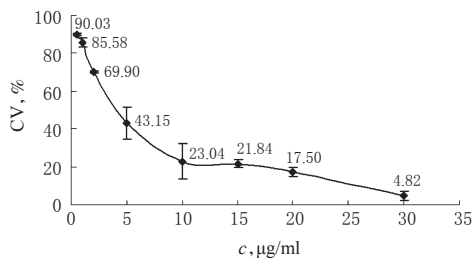


图1 不同质量浓度PEI的细胞毒性

Fig 1 Cytotoxicity of PEI with different mass concentrations

明显下降,FBS起到了优化作用;另外,当FBS加入量为5%和10%时,笔者认为整个复合物对细胞几乎没有毒性。不同质量浓度FBS对细胞毒性的影响见图2。

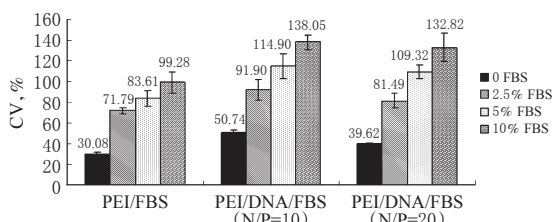


图2 不同质量浓度FBS对细胞毒性的影响

Fig 2 Effects of FBS with different mass concentrations on cytotoxicity

### 3.3 复合物作用不同时间的细胞毒性

结果显示,加PEI和PEI/DNA复合物的细胞OD值与CV值随作用时间的延长呈现下降趋势;而PEI/DNA/FBS复合物的细胞OD值与CV值随作用时间的延长没有很大的变化,基本维持稳定。这表明PEI及PEI/DNA复合物的毒性会随作用时间的延长而增加;但加入FBS之后,复合物不仅具有较小的毒性,而且还会随作用时间的延长而加大对细胞的毒性。复合物作用不同时间对细胞毒性的影响见图3。

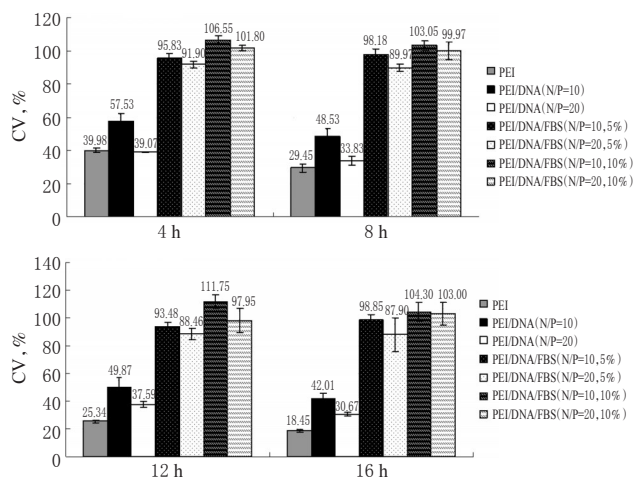


图3 复合物作用不同时间对细胞毒性的影响

Fig 3 Effects of compound with different action time on cytotoxicity

## 4 讨论

1982年美国质量标准协会将Hela细胞推荐为细胞毒性试验中的标准细胞<sup>[9]</sup>。这种细胞具有传代容易、繁殖迅速、体外培养条件低等的优点,因此能被许多材料的细胞毒性评价所

应用。故本毒性研究中,选用了Hela细胞。一般来说,PEI与DNA形成复合物后,PEI的一部分正电荷被DNA的负电荷所中和,从而使其细胞毒性降低<sup>[4]</sup>。因此,在未形成复合物前进行考察,可得到最敏感的细胞毒性检测结果。本试验阴性对照与PEI溶液的稀释均采用含10% FBS的RPMI 1640培养液,目的在于考察在正常营养供应状态下,不同质量浓度的PEI对Hela细胞的毒性。其获得的OD值会与采用无血清RPMI 1640培养液时有所不同,但其随PEI质量浓度变化的趋势不会改变,可在无血清培养液条件下选择PEI的质量浓度提供一定的参考。

由于DNA复合物的毒性考察是在转染条件下的考察,因此本试验选用了周鹏等<sup>[7]</sup>优化出来的转染条件:复合物形成时间为30 min;无血清状态下,在细胞上作用4 h,换液。由于PEI与DNA复合后,毒性会相对降低,为了突出FBS加入后对PEI或PEI/DNA复合物毒性的影响,本试验选了一个毒性较高的PEI质量浓度,即20 µg/ml,以显现FBS的修饰作用。试验结果显示,FBS是一种很好的修饰用营养物质,其能降低PEI及PEI/DNA复合物毒性的原因主要为:FBS为一种混合物,其中存在着多种蛋白,在这些蛋白中,有一部分能在PBS环境下与PEI以静电作用相互结合,中和了PEI的正电荷。但也由于其作为一种混合物,成分比较复杂,笔者不能判断是其中哪一个组分发挥了作用,这就为将来更深入的研究和探讨带来了局限性。

为了解PEI/DNA/FBS复合物整体在转染条件下的毒性,本试验使用了转染条件下5倍的复合物浓度进行细胞毒性试验:即PEI的浓度,按质量量为2 µg, N/P比为10<sup>[7-9]</sup>时换算,再乘以倍数而获得。如果在此浓度下,复合物的毒性都不大,笔者认为,其在转染条件下对细胞来说是安全的。经过换算,PEI的质量浓度确定为13.6 µg/ml。本试验结果显示,在此浓度下,PEI对细胞具有较大的毒性,因此,就能够突出不同作用时间对细胞毒性的重要性。

对于Hela细胞来说,当加入FBS进行修饰后,PEI及PEI/DNA复合物的细胞毒性都大大地降低,且随FBS加入量的增加,细胞毒性不断变小;当FBS的含量为5%、10%时,其DNA复合物已基本无细胞毒性。另一方面,PEI/DNA/FBS复合物不会随作用时间的延长而加大对细胞的损伤。由此表明,FBS是一种良好的修饰营养物,可有效降低PEI基因传递系统的细胞毒性;若将来经过转染试验的验证,依据Nab技术的原理,能获得较高的转染率,即说明FBS修饰的PEI基因传递系统有望成为疾病治疗基因的良好载体,促进基因治疗药物的研究发展与临床应用。

## 参考文献

- [1] 林磊,熊伟,祝庆余.非病毒型载体介导基因转染[J].医学分子生物学杂志,2007,4(1):36.
- [2] 李达,王青青,余海.基于聚乙烯亚胺为骨架的非病毒转染基因载体的构建策略[J].国际肿瘤学杂志,2006,33(3):167.
- [3] 姚元虎,刘永彪.肿瘤基因治疗转导载体聚乙烯亚胺[J].国际肿瘤学杂志,2006,33(7):493.
- [4] 吴涛,张凤鱼.非病毒型基因传递系统[J].沈阳药科大学学报,2001,18(4):307.
- [5] 李经忠,王青青,余海.新型非病毒载体聚乙烯亚胺介导基因转染参数的研究[J].中国生物医学工程学报,2006,

# 纳米羧甲基壳聚糖氟化钠涂膜预防龋齿的实验室研究

李长春\*,许晓燕#,徐全臣,宋文斌,刘凤芝,刘沂(青岛大学附属医院口腔科,山东青岛 266003)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)16-2212-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.16.17

**摘要** 目的:研究纳米羧甲基壳聚糖氟化钠涂膜(NCCF涂膜)对龋齿的预防作用。方法:以未处理的牙釉质块为空白对照(A1组),采用原子吸收分光光度法测定分别涂布0.15%NCCF涂膜(B1组)、0.15%柯伯脂含氟涂膜(C1组)、0.15%氟化钠溶液(D1组)的牙釉质块在脱矿液中的钙离子溶出量,采用扫描电镜观察牙釉质表面的超微结构。以涂抹无菌生理盐水的羟基磷灰石片为阴性对照(A2组),采用生物膜活菌计数法考察分别涂布0.15%NCCF涂膜(B2组)、0.15%柯伯脂含氟涂膜(C2组)、0.15%氟化钠溶液(D2组)的羟基磷灰石片在人工唾液中培养12、24、48 h对变形链球菌和血链球菌菌落数的影响。结果:与A1、C1、D1组比较,B1组牙釉质块在脱矿液中钙离子溶出量降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),釉质表面结构基本完整。与A2、C2、D2组比较,B2组羟基磷灰石片上变形链球菌和血链球菌的菌落数均减少,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:NCCF涂膜对牙釉质脱矿及口腔中变形链球菌、血链球菌的生长和黏附均具有抑制作用。

**关键词** 羧甲基壳聚糖;氟化物涂膜;钙离子溶出量;龋齿

## Laboratory Research on Nano-carboxymethyl Chitosan Fluoride Varnish in the Prevention of Dental Caries

LI Chang-chun, XU Xiao-yan, XU Quan-chen, SONG Wen-bin, LIU Feng-zhi, LIU Yi (Dept. of Oral Medicine, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266003, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the protective effects of Nano-carboxymethyl chitosan fluoride varnish (NCCF varnish) on dental caries. METHODS: Untreated enamel blocks were blank control (A1 group), atomic absorption spectrometry (AAS) was used to determine the calcium leaching amount in enamel block demineralization solution with 0.15% NCCF varnish (B1 group), 0.15% copal varnish (C1 group) and 0.15% sodium chloride solution (D1 group). The electron microscopy was used to scan the ultrastructure of the enamel surface. Hydroxyapatite tablets with sterile normal saline were negative control (A2 group), biofilm viable counting method was used to detect the effects of Hydroxyapatite tablets with 0.15% NCCF varnish (B2 group), 0.15% copal varnish (C2 group) and 0.15% sodium chloride solution (D2 group) on the colonies of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* cultivating in artificial saliva for 12, 24 and 48 h. RESULTS: Compared with A1, C1 and D1 groups, the calcium leaching amount in enamel block demineralization solution in B1 group was decreased, with significant difference ( $P<0.05$ ), and the structure of enamel surface was basically intact. Compared with A2, C2 and D2 groups, the colonies of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in B2 group were decreased, with significant difference ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: NCCF varnish has inhibition effects on enamel demineralization and the growth and adhesion of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in oral.

**KEYWORDS** Carboxymethyl chitosan; Fluoride varnish; Calcium leaching amount; Dental caries

氟化物防龋是预防龋病的有效措施,其中局部用氟是目前公认的有效且较为安全的防龋措施之一<sup>[1]</sup>。氟化物涂膜(Fluoride varnish)是一种防龋的含氟涂膜材料,涂于牙齿表面并凝固后,能较长时间缓慢释放氟离子。因其操作简便、安全有效、依从性较好,适用于各年龄人群,尤其适用于儿童口腔预防保健<sup>[2-5]</sup>。

氟化物涂膜的防龋机制主要在于氟化物对牙釉质脱矿和口腔致龋菌的生长有抑制作用,从而发挥其防龋效能。氟化物涂膜与牙釉质表面结合,能够缓慢释放氟离子<sup>[6]</sup>,抑制牙釉质的脱矿,促进再矿化<sup>[7]</sup>。同时氟离子能够抑制口腔致龋菌对牙面的附着,干扰细菌的繁殖和生长,抑制细菌的产酸能力,从而减少龋病的发生。

25(4):481.

[6] 司徒镇强,吴军正.细胞培养[M].2版.西安:世界图书出版社,2007:200-201.

[7] 周鹏,张瑜.聚乙烯亚胺介导基因转染的影响因素研究

\* 硕士研究生。研究方向:口腔疾病预防。电话:0532-82912065。E-mail:xiaoxuefeng2008@126.com

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:口腔疾病预防。电话:0532-82912065。E-mail:xuxiaoyan0543@aliyun.com

[J].中国药业,2010,19(13):25.

[8] Richardson RR Jr, Miller JA, Reichert WM. Polyimides as biomaterials: preliminary biocompatibility testing[J]. *Bio-materials*, 1993, 14(8):627.

[9] 赵梦丹,杨峰亮,陈坚,等.多聚乙烯亚胺介导基因转染的体外研究[J].中国药理学杂志,2008,43(16):1211.

(收稿日期:2014-09-01 修回日期:2014-12-27)

(编辑:邹丽娟)