

# 稳定表达小鼠CD40L 的NIH3T3细胞系的 建立及其在B细胞培养 和激活中的应用

○ 汇报人：

○ 2024-01-22



# 目 录

- 引言
- NIH3T3细胞系稳定表达小鼠CD40L的建立
- 稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系对B细胞的影响
- 稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系在B细胞激活中的应用
- 结果分析与讨论
- 结论与展望

contents

# 01

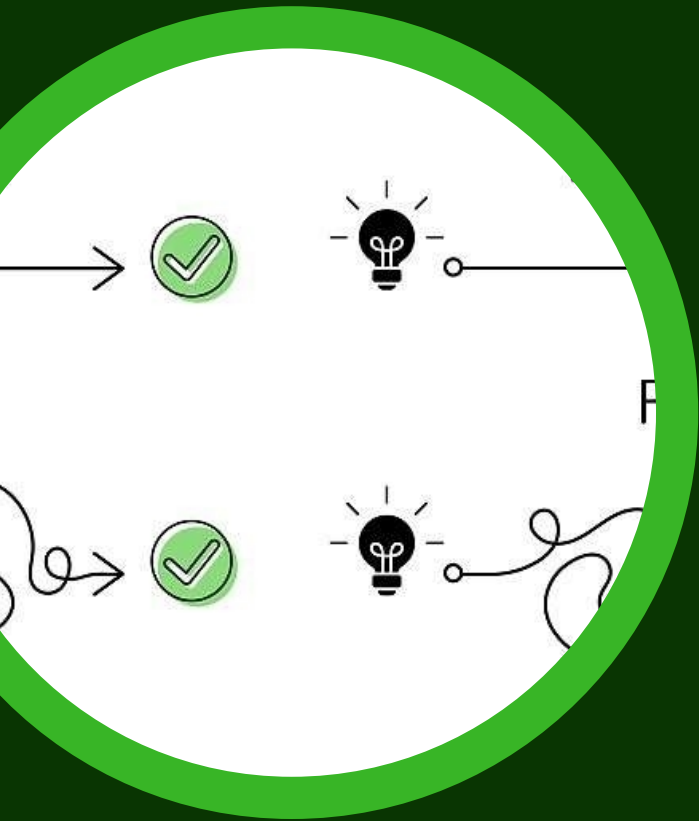
## 引言

# CHAPTER





# 研究背景和意义



## CD40L在免疫系统中的作用

CD40L是一种重要的免疫调节分子，通过与CD40受体结合，参与B细胞的活化、增殖和分化过程，对免疫应答的调节具有重要意义。

## NIH3T3细胞系的特点

NIH3T3是一种小鼠胚胎成纤维细胞系，具有易于培养、转染效率高、可稳定表达外源基因等特点，因此常被用作基因表达和细胞生物学的工具细胞。

## 稳定表达CD40L的NIH3T3细胞系的意义

通过建立稳定表达CD40L的NIH3T3细胞系，可以模拟体内CD40L对B细胞的激活作用，为深入研究B细胞的功能和免疫应答机制提供有力的工具。

# 研究目的和内容

## 01

研究目的：本研究旨在建立稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系，并探讨其在B细胞培养和激活中的应用。

## 02

研究内容

## 03

构建表达小鼠CD40L的重组质粒，并转染NIH3T3细胞系。



## 04

筛选稳定表达CD40L的NIH3T3细胞克隆，并进行鉴定和验证。

## 05

利用稳定表达CD40L的NIH3T3细胞系培养B细胞，观察其对B细胞增殖、活化和抗体分泌的影响。

## 06

探讨CD40L在B细胞激活中的作用机制，包括信号通路和基因表达调控等方面的研究。

# 02

## NIH3T3细胞系稳定表达小鼠CD40L的建立

# CHAPTER



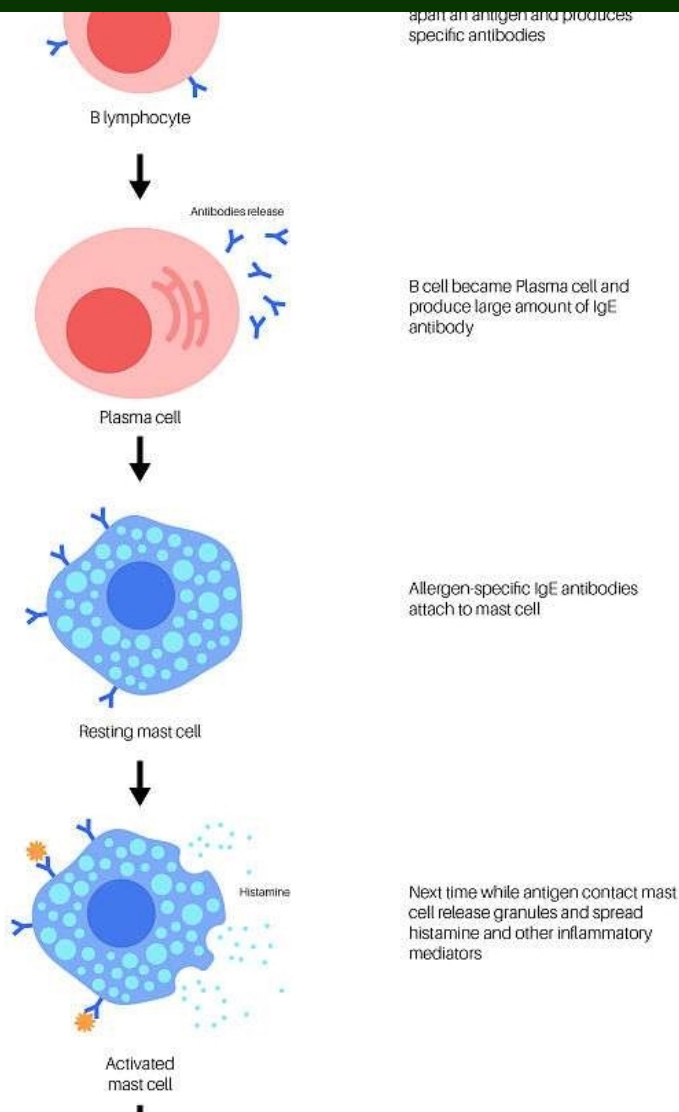
# NIH3T3细胞系的选择和培养

## 选择依据

NIH3T3细胞系是一种常用于基因表达和细胞信号研究的小鼠胚胎成纤维细胞系，具有生长迅速、易于转染和稳定整合外源基因的优点。

## 培养条件

使用含10%胎牛血清的DMEM培养基，在37°C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。传代时，用0.25%胰蛋白酶消化细胞，按1:3比例进行传代。



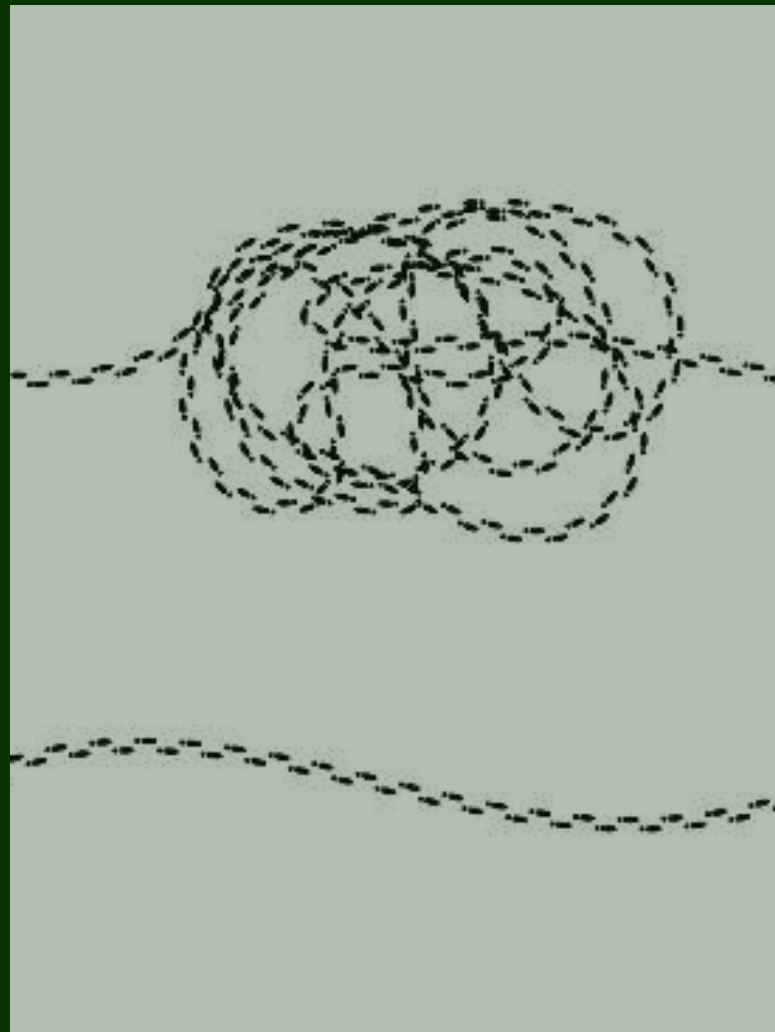
# 小鼠CD40L基因的克隆和表达载体的构建

## 基因克隆

从小鼠脾脏或淋巴结中提取总RNA，反转录成cDNA。以cDNA为模板，使用特异性引物扩增小鼠CD40L基因。将扩增产物进行凝胶电泳分离，回收目的片段。

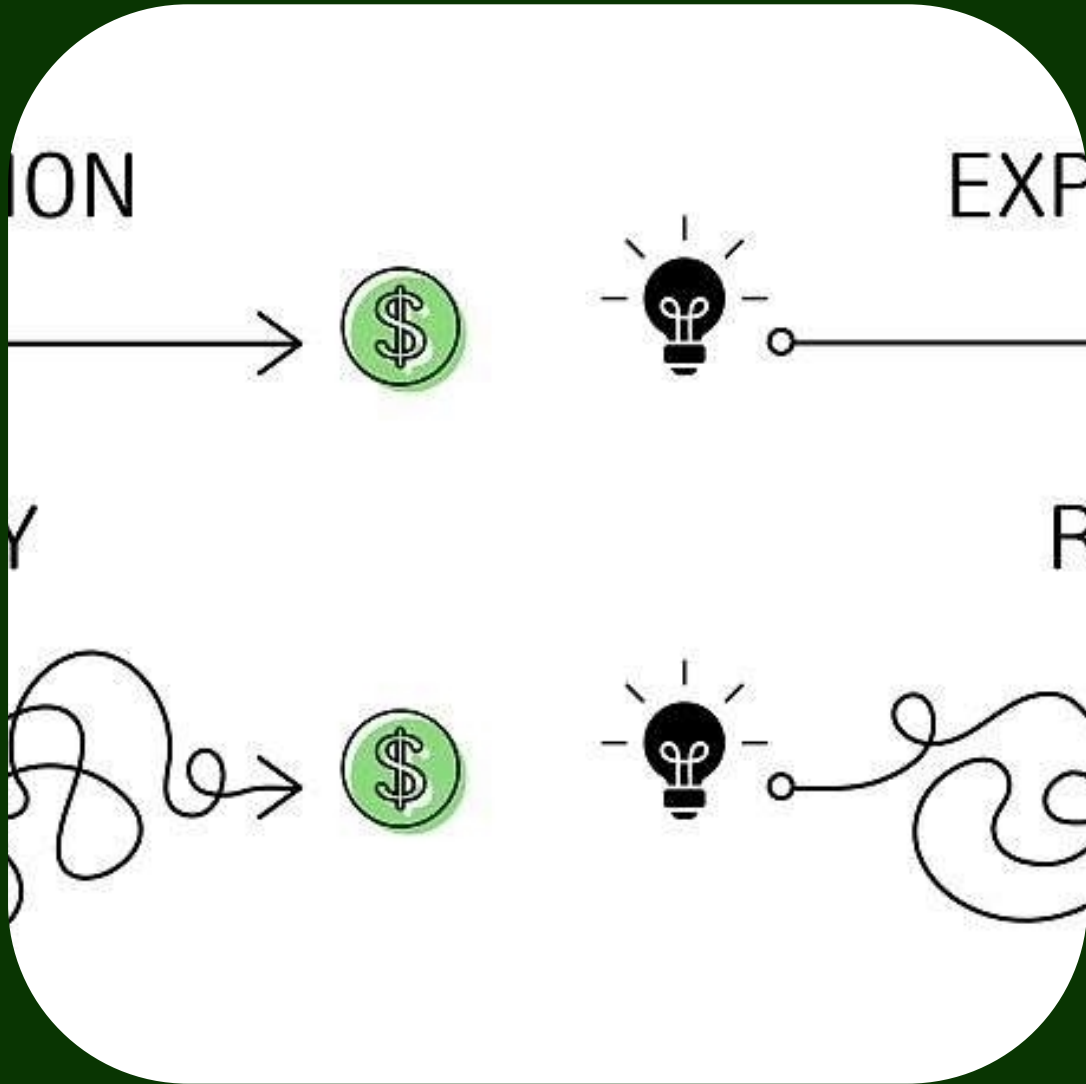
## 表达载体构建

将回收的小鼠CD40L基因片段与表达载体（如pcDNA3.1）进行连接反应，构建重组表达载体。通过转化、扩增和质粒提取等步骤，获得高纯度的重组质粒。





# 稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系的筛选和鉴定



## 细胞转染与筛选

将重组质粒转染至NIH3T3细胞系中，通过G418等选择性培养基进行筛选，获得稳定整合小鼠CD40L基因的NIH3T3细胞系。

## 表达鉴定

通过RT-PCR、Western blot等方法检测稳定转染细胞系中小鼠CD40L基因的表达情况。同时，可使用流式细胞术等方法检测细胞表面CD40L蛋白的表达水平。

## 功能验证

通过体外实验验证稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系对B细胞的激活作用，如检测B细胞增殖、抗体分泌等指标。

# 03

**稳定表达小鼠CD40L  
的NIH3T3细胞系对B  
细胞的影响**

CHAPTER





# B细胞的分离和培养

## 从小鼠脾脏或淋巴结中分离B细胞

通过密度梯度离心法或免疫磁珠分选法等方法，从小鼠脾脏或淋巴结中分离出B细胞。

## B细胞的培养条件

使用含有适当浓度胎牛血清、细胞因子和抗生素的RPMI-1640培养基，在37°C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养B细胞。

# 稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系对B细胞增殖的影响



## 促进B细胞增殖

稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系通过与B细胞表面的CD40受体结合，激活B细胞并促进其增殖。

## 增殖实验方法

将B细胞与稳定表达小鼠CD40L的NIH3T3细胞系共同培养，通过流式细胞术或MTT方法等方法检测B细胞的增殖情况。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：  
<https://d.book118.com/668006027053006106>