بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم و فناوری‌های نوین
گروه زیست فناوری

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته زیست فناوری گرایش میکروبی

تولید ویروس کاذب نقص ایمنی اکتسابی انسان

استاد راهنما:

دکتر ماندانا بهبهانی

پژوهشگر:

المیرا محمدی

آبان ماه ۱۳۹۱

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

نامه پایان این موضوع تحقیق از ناشی های نوآوری و

متعلق به دانشگاه اصفهان است.

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های نوین

گروه زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست فناوری گرایش میکروبی

خانم المیرا محمدی تحت عنوان

تولید ویروس کاذب نقص ایمنی اکتسابی انسان

در تاریخ ۹۱/۸/۳۰ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه ..... به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه دکتر ماندانا بهبهانی با مرتبه ی علمی استادیار امضا

۲- استاد داور داخل گروه دکتر حسن محبت کار با مرتبه ی علمی دانشیار امضا

۳- استاد داور خارج از گروه دکتر ابولقاسم اسماعیلی با مرتبه ی علمی استادیار امضا

امضای مدیر گروه

با سپاس بیکران از لطف خداوند این تحقیق را تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

می کنم و قدردان زحماتشان، هستم

چکیده

انتقال ژن خارجی به سلول‌ها با اهداف مختلف تحقیقاتی و درمانی و با بکارگیری سه روش فیزیکی، شیمیایی و زیستی صورت می‌گیرد. روش زیستی یا انتقال ژن با استفاده از ناقل‌های ویروسی یکی از پرکاربردترین روش‌های انتقال ژن در کارآزمایی‌هایی بالینی است. ناقل‌های لنتی ویروسی بر پایه جنس لنتی ویروس از خانواده رتروویریده تولید می‌شوند و ناقل-های بر مبنای HIV-1 از پرکاربردترین این ناقل‌ها هستند. علت توجه به این ناقل‌ها توانایی آن‌ها برای تحویل ژن به سلول-های تقسیم شونده و غیرتقسیم شونده و بیان طولانی مدت ژن خارجی در این سلول‌هاست و موجب استفاده گسترده این ناقل‌ها در شرایط *In vitro* و *In vivo* شده است. در این تحقیق یک ناقل لنتی ویروسی بر پایه HIV-1 با روش ترانسفکشن همزمان سه پلاسمید pWPXL (پلاسمید بیانی و حامل ژن GFP به عنوان گزارشگر) و psPAX2 (حامل ژن‌هایgag و pol) و pMD2.G (حامل ژن VSV-G به عنوان پوشش ویروس کاذب) و با استفاده از روش کلسیم فسفات روی رده سلولیHEK293T، تولید شد. ناقل تولید شده توانایی تکثیر و تولید ذرات ویروسی جدید را پس از ترانسداکشن، در نسل‌های بعد نداشته و ایمن است. کارایی ترانسفکشن با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری بررسی شد و میزان سلول‌های بیان کننده GFP، ۵۱/۳۷ گزارش شد. تغلیظ ویروس با استفاده از اولتراسانتریفوژ و پلی‌اتیلن‌گلیکول انجام و ترانسداکشن روی رده‌های سلولی Vero و A549 صورت گرفت و پس از آن بیان GFP با میکروسکوپ فلورسانس مشاهده و تایید شد. بررسی سلول‌های آلوده شده با ویروس کاذب، ۱۵ روز پس از ترانسداکشن با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس و همچنین تکنیک فلوسیتومتری نشان دهنده بیان مداوم GFP بوده بعلاوه ویروس کاذب تولید شده تاثیر مخرب بر چرخه سلولی نداشته است. در این پژوهش ویروس کاذب HIV-1 (یک ناقل لنتی ویروسی با پوشش VSV-G) تولید شد. این ناقل ایمن بوده و با توجه به توانایی آن در آلوده کردن هر دو نوع سلول‌های غیر تقسیم شونده و سلول‌های در حال تقسیم، ابزاری سودمند جهت کاربردهای انتقال ژن می‌باشد.

واژگان کلیدی: انتقال ژن، HIV-1، ویروس کاذب ،کلسیم فسفات، ترانسفکشن، ترانسداک

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر منابع

۱-۱ انتقال ژن به سلول‌های جانوری ۱

۱-۲-۱ روش‌های شیمیایی انتقال ژن ۳

۱-۲-۱-۱ روش کلسیم فسفات ۳

۱-۲-۱-۲ روش پلیمرهای کاتیونی ۴

۱-۲-۱-۳ روش لیپید کاتیونی ۵

۱-۲-۲ روش‌های فیزیکی انتقال ژن ۶

۱-۲-۲- ۱ ترانسفکشن بر پایه میدان الکتریکی ۷

۱-۲-۲-۲ ترانسفکشن با استفاده از ریز تزریق مستقیم ۷

۱-۲-۲-۳ ترانسفکشن با استفاده از تفنگ ژنی ۸

۱-۲-۲-۴ ترانسفکشن با استفاده از لیزر ۸

۱-۲-۳ روش‌های زیستی انتقال ژن ۹

۱-۲-۳-۱ آدنو ویروس‌ها ۹

۱-۲-۳-۲ ویروس‌های همراه آدنو ۱۰

۱-۲-۳-۳ ویروس هرپس سیمپلکس ۱۱

۱-۲-۳-۴ رتروویروس‌ها ۱۲

۱-۳ ساختار ژنومی رتروویروس‌ها ۱۳

۱-۴ ژنوم HIV-1 ..... ۱۳

۱-۴-۱ توالی‌های ترانس ۱۳

۱-۴-۱-۱ Gag ۱۳

۱-۴-۱-۲ Gagpol ۱۴

عنوان **صفحه**

۱-۴-۱-۳ Env ۱۴

۱-۴-۱-۴ پروتئین‌های تنظیمی ۱۴

۱-۴-۱-۵ پروتئین‌های فرعی ۱۵

۱-۴-۲ توالی‌های سیس ۱۵

۱-۵ همانندسازی HIV-1 ..... ۱۶

۱-۶ طراحی ناقل‌های رتروویروسی برای انتقال ژن ۱۹

۱-۶-۱ سلول‌های کمکی (رده‌های سلولی بسته بندی کننده) ۱۹

۱-۶-۲ سیستم‌های ترنسفکشن گذرا و ناپایدار ۲۰

۱-۶-۳ ناقل‌های لنتی ویروس ۲۱

۱-۶-۳-۱ پلاسمید پوششی ۲۱

۱-۶-۳-۲ پلاسمید بسته بندی ۲۱

۱-۶-۳-۳ پلاسمید بیانی ۲۲

۱-۷ فلوسیتومتری ۲۳

۱-۸ هدف از پروژه ۲۴

فصل دوم: مواد وروش‌ها

۲-۱ دستگاه‌ها و مواد مورد استفاده ۲۵

۲-۲ محیط کشت باکتری و محلول‌ها و بافرهای مور نیاز برای استخراج پلاسمید ۲۸

۲-۲-۱ محیط لوریا برتانی (LB) ۲۸

۲-۲-۲ محلول گلوکز تریس EDTA (GTE) ۲۹

۲-۲-۳ محلول NaOH-SDS ۲۹

۲-۲-۵ بافر Tris-EDTA (TE) ۳۰

۲-۲-۶ بافرتریس- بوریک اسید EDTA (TBE) ۳۰

۲-۲-۷ بافر بارگذاری ۳۰

۲-۲-۸ ژل آگارز ۳۰
۲-۲-۹ محلول اتیدیم برماید ۳۰
۲-۳ پلاسمیدهای مورد استفاده در این پژوهش ۳۱
۲-۴ استخراج پلاسمید ۳۴
۲-۴-۱ روش لیز قلیایی ۳۴
۲-۴-۲ استخراج با استفاده از کیت Roche ۳۵
۲-۵ ژل الکتروفورز ۳۶
۲-۶ تهیه محیط کشت و محلول‌های مورد نیاز برای کشت سلول ۳۶
۲-۶-۱ محیط کشت DMEM استریل ۳۶
۲-۶-۲ محلول بافر نمکی فسفات (PBS) ۳۷
۲-۶-۳ غیرفعال سازی سرم جنین گاو (FBS) ۳۷
۲-۶-۴ محلول تریپسین-EDTA ۳۷
۲-۶-۵ تهیه محلول تریپان بلو ۳۷
۲-۷ شمارش سلولی ۳۸
۲-۷-۱روش استفاده از هموسیتومتر برای شمارش سلول‌ها ۳۸
۲-۸ کشت سلول‌ها ۳۹
۲-۹ ترانسفکشن ۳۹
۲-۹-۱ محلول‌ها و مواد لازم برای ترانسفکشن ۳۹
۲-۹-۱-۱محلول کلسیم کلرید ۳۹

عنوان **صفحه**

۲-۹-۱-۲ بافر HBS 2X ۳۹
۲-۹-۲ روش کار ۴۰
۲-۱۰ جمع آوری محلول رویی حاوی ویروس ویروسی و تغلیظ آن ۴۱
۲-۱۰-۱ تغلیظ با استفاده از اولتراسانتریفیوژ ۴۱

۲-۱۰-۲ تغلیظ با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۴۱
۲-۱۱ تعیین عیار ویروسی ۴۲
۲-۱۲ روش انجام ترانسداکشن ۴۳

فصل سوم: نتایج

۳-۱ استخراج پلاسمید ۴۴
۳-۲ ترانسفکشن ۴۶
۳-۳ تغلیظ ویروس ۴۹
۳-۴ تعیین عیارویروس ۵۰
۳-۵ ترانسداکشن ۵۱
۳-۵-۲ ترانسداکشن ویروس‌های کاذب تولید شده بر سلولهای Vero ۵۳

فصل چهارم: بحث

۴-۱بحث و بررسی کلی ۵۶
۴-۲پیشنهادات ۶۰
منابع ۶۱
واژه نامه ۶۷

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱، ترانسفکشن پایدار و ترانسفکشن ناپایدار ۲
شکل۱-۲، نمای شماتیک تشکیل پلی پلکس ۵
شکل۱-۳، نمای شماتیکی از تشکیل لیپوپلکس و فرایند لیپوفکشن ۶
شکل۱-۴، ریز تزریق مستقیم ۷
شکل ۱-۵، تفنگ ژنی ۸
شکل ۱-۶، نمای شماتیک آدنوویروس ۱۰
شکل ۱-۷، نمای شماتیک ویروس همراه آدنو و ژنوم آن ۱۱
شکل ۱-۸، نمای شماتیک هرپس ویروس ۱۲
شکل ۱-۹، نمای شماتیک ویروسHIV ۱۵
شکل ۱-۱۰، ژنوم HIV-1 با اندازه ۹۷۰۰ جفت باز ۱۶
شکل ۱-۱۱، ورود ویروس HIV به سلول میزبان و دو مرحله‌ی چرخه زندگی آن ۱۸
شکل ۱-۱۳، نمای شماتیک تولید ناقل لنتی ویروسی ۲۲
شکل ۲-۱، پلاسمید pWPXL ۳۱
شکل ۲-۲، پلاسمید psPAX-2 ..... ۳۲
شکل ۲-۳، pMD2G ۳۳
شکل ۲- ۴، تصویر یک لام هموسیتومتر ۳۸
شکل۲-۵، تهیه رقت‌های ویروسی ۴۲
شکل ۳-۱، مقایسه باند پلاسمیدهای استخراج شده با روش لیز قلیایی(الف) با استفاده از کیت(ب) ۴۵
شکل ۳-۲، بیان GFP در سلولهای HEK293 T پس از گذشت ۲۴ ساعت از ترنسفکشن ۴۶
شکل ۳-۳، بیان GFP بعد از گذشت ۴۸ ساعت از انجام ترانسفکشن ۴۷
شکل ۳-۴، پیوستگی بین غشای سلول‌های HEK293T به علت بیان VSV-G ۴۷
شکل۳-۵، نمودار فلوسیتومتری نمونه شاهد (سلول‌های ترنسفکت نشده) ۴۸
شکل۳- ۶، نمودار فلوسیتومتری سلول‌های HEK ترنسفکت شده ۴۹
شکل۳- ۷، رسوب ویروسی با استفاده از اولتراسانتریفیوژ(الف) پلی اتیلن گلیکول (ب) ۵۰
شکل ۳-۸، مقایسه عیار ویروس در حالت غلیظ نشده، تغلیظ با پلی اتیلن گلیکول و تغلیظ با اولتراسانتریفیوژ ۵۱
شکل ۳-۹، بیان GFP در سلول‌های A549 آلوده شده با ویروس کاذب ۴۸ ساعت پس از ترنسداکشن ۵۲

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱۰، بیان GFP در سلول‌های Vero آلوده شده با ویروس کاذب. ۴۸ ساعت پس از ترنسداکشن ۵۳
شکل ۳-۱۱، بیان GFP در سلول‌های A549 آلوده شده با ویروس کاذب. ۱۵ روز پس از ترنسداکشن ۵۴
شکل ۳-۱۲، بیان GFP در سلول‌های Vero آلوده شده با ویروس کاذب. ۱۵ روز پس از ترنسداکشن ۵۴
شکل ۳-۱۳، نمودار فلوسیتومتر سلولهای ترنسداکشن نشده(کنترل منفی) ۵۵
شکل ۳-۱۴، نمودار فلوسیتومتری ترانسداکشن سلول‌های A549 ۱۵ روز پس از ترانسداکشن..... ۵۵

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۲-۱.....۲۵
جدول ۲-۲، کیت تجاری مورد استفاده ۲۶
جدول ۲-۳، مواد مورد استفاده در پژوهش ۲۷
جدول ۲-۴، مواد لازم جهت تهیه محیط کشت لوریا برتانی ۲۹
جدول ۲-۵، مقدار مواد مورد نیاز جهت ساخت یک لیتر محیط DMEM ۳۶
جدول ۲-۶، مواد مورد نیاز جهت تهیه ۱ لیترPBS ۳۷
جدول ۲-۷، مواد مورد نیاز برای تهیه بافر HBS 2X ۴۰
جدول ۳-۱، غلظت پلاسمیدهای استخراج شده به روش لیز قلیایی و کیت بر حسب میکروگرم بر میکرولیتر ۴۵

مخفف‌ها

عبارت	مخفف
central polypurine tract	cPPT
Central Termination Sequence	CTS
Cytomegalovirus	CMV
Cluster of Differentiation 4	CD4
Dulbecco’s Modified Eagle Medium	DMEM
Deoxiribonucleic acid	DNA
Elongation Factor 1-alpha	EF1α
Fetal Bovine Serum	FBS
Forward Scattered Light	FSC
Green Fluorescent Protein	GFP
Glicoprotein 120	gp120
Glicoprotein 41	gp41
Gene Therapy Advisory Committee	GTAC
Human Embryonic Kidney	HEK
Human Immunodeficiency Virus	HIV
Long Terminal Repeat	LTR
micro Ribonucleic acid	miRNA
Negative Regulatory F actor	Nef
Open Reading Frame	ORF
Phosphate Buffer Saline	PBS
Pre Integration Complex	PIC
polypurine tract	PPT
Replication Competent Retrovirus	RCR
Ribonucleic acid	RNA
Sodium Dodecyl Sulfate	SDS
Small Interfering RNA	siRNA
Side Scattered Light	SSC
Simian Vacuolating Virus 40	SV40
Self Inactivating vector	SIN
Trans-Activator of Transcription	Tat
Vesicular Vtomatitis Virus Glycoprotein-G	VSV-G
Viral infectivity factor	Vif
Viral Protein U	Vpu

فصل اول

مقدمه و مروری بر منابع

۱-۱ انتقال ژن به سلول‌های یوکاریوت

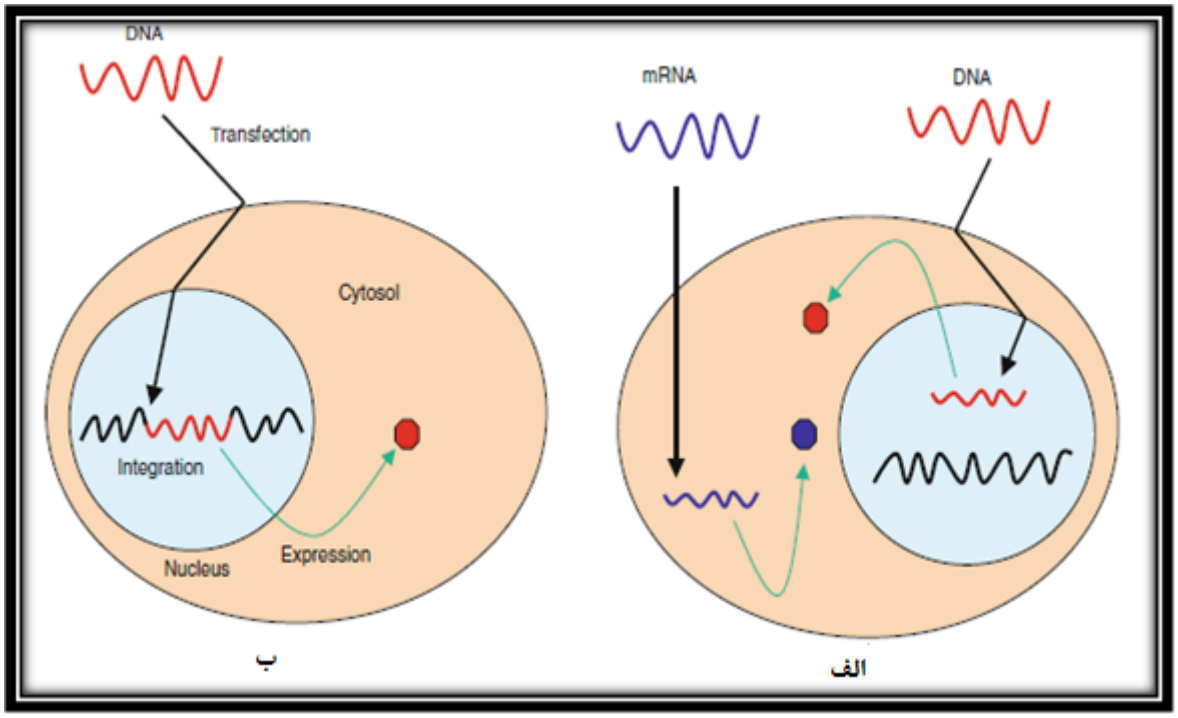
انتقال اسیدهای نوکلئیک بیگانه شامل DNA, RNA, siRNA, miRNA به رده‌های گوناگون سلول‌های یوکاریوت و تولید سلول‌های تغییر ژنتیکی یافته، ترانسفکشن[1] نامیده می‌شود (Kyung Kim and Eberwine 2010).

هدف اصلی این فرایند، مطالعه عملکرد ژن‌ها یا محصولات ژنی و تولید پروتئین‌های نوترکیب در سلول‌ها است (Wurm 2004). یکی ازکاربردهای ترانسفکشن، ژن درمانی می‌باشد. مفهوم ژن درمانی اولین بار طی دهه ۱۹۶۰ و همزمان با پیشرفت در زمینه تولید رده‌های سلولی دست ورزی شده و مشخص شدن مکانیسم ترانسفورماسیون[2] ، با استفاده از ویروس‌ها ارائه شد (Schenborn and Goiffon 2000). طبق تعریف کمیته مشورتی ژن درمانی انگلستان، مفهوم ژن درمانی به وارد کردن آگاهانه ماده ژنتیکی در سلول‌های سوماتیکی انسان برای اهداف، پیشگیری، تشخیصی و درمانی، اطلاق می‌گردد (Schenborn and Goiffon 2000).

---

[1] . Transfection
[2] . Transformation

انتقال مواد ژنتیکی به سلول به دو صورت ناپایدار و پایدار انجام می‌گیرد (Wurm 2004). در ترانسفکشن ناپایدار (شکل ۱-۱، الف)، ژن‌های انتقال یافته در ژنوم میزبان الحاق نشده و در این حالت ژن خارجی به علت تقسیم‌های پی در پی سلول میزبان و اثر فاکتورهای محیطی از بین رفته و موجب بیان کوتاه مدت ژن‌ها پس از ترانسفکشن می‌شود. در ترانسفکشن پایدار (شکل ۱-۱، ب)، ژن خارجی در ژنوم میزبان الحاق می‌شود. در این شرایط بیان ژن بیگانه بعد از همانندسازی و تکثیر سلول‌های میزبان ادامه داشته و به عبارتی دائمی است. انتخاب نوع ترانسفکشن وابسته به هدف کار است (Pfeifer and Verma 2001, Recillas-Targa 2006).



شکل ۱-۱، ترانسفکشن ناپایدار(الف) ، ترانسفکشن پایدار(ب) (Kyung Kim and Eberwine 2010)

روش‌های مختلفی برای انجام ترانسفکشن و انتقال ژن وجود دارد که به سه دسته عمده‌ی زیستی، شیمیایی و فیزیکی تقسیم بندی می‌شوند. شاخص‌های یک روش مناسب برای ترانسفکشن؛ کارایی بالا ، سمیت سلولی پایین، حداقل تأثیر روی فیزیولوژی نرمال سلول و استفاده آسان می‌باشد (Kyung Kim and Eberwine 2010).

۱-۲-۱ روش‌های شیمیایی انتقال ژن

روش‌های شیمیایی انتقال ژن، اولین روش برای انتقال ماده ژنتیکی یا ترانسفکشن به سلول‌های پستانداران بوده و فراوان‌ترین روش ترانسفکشن مورد استفاده در تحقیقات معاصر نیز می‌باشند (Schenborn and Goiffon 2000). نحوه عمل مواد شیمیایی مشابه است. به این صورت که بین مواد شیمیایی با بار مثبت و اسیدهای نوکلئیک با بار منفی کمپلکسی تشکیل می‌شود. کمپلکس حاصل که دارای بار مثبت است که جذب گروه‌های فسفات دارای بار منفی در غشای سلولی میزبان می‌شود. مکانیسم دقیق عبور این کمپلکس از غشای سلول ناشناخته است و احتمالا فرایندهایی مانند اندوسیتوز[۳] و فاگوسیتوز [۴]در این عبور نقش دارند. کارایی ترانسفکشن با روش‌های شیمیایی تا حد زیادی به عواملی مانند شرایط و وضعیت غشای سلول و نوع سلول، نسبت نوکلئیک اسید/ ماده شیمیایی و pH محلول، وابسته است. از مزایای این روش، سمیت سلولی نسبتا پایین، عدم جهش‌زایی، عدم حمل DNA اضافی و عدم محدودیت در اندازه‌ی نوکلئیک اسید منتقل شده می‌باشند، با این وجود کارایی ترانسفکشن با این روش به ویژه در شرایط *In vivo* در مقایسه با روش‌های زیستی نسبتا پایین است (Kyung Kim and Eberwine 2010).

معمول‌ترین واکنش‌گرهای شیمیایی مورد استفاده در فرایند ترانسفکشن، پلیمر کاتیونی، لیپید کاتیونی و کلسیم فسفات، هستند (Washbourne and McAllister 2002) که در زیر شرحی از این روش‌ها آورده شده است.

۱-۲-۱-۱ روش کلسیم فسفات

روش کلسیم فسفات اولین بار در سال ۱۹۷۳ و برای انتقال DNA ویروس به سلول‌های جانوری استفاده شد به علت آسان بودن انجام و عدم نیاز به تجهیزات پیشرفته، این روش همچنان به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Graham and Vander 1973). در این روش ابتدا DNA در محیط حاوی بافر فسفات به آرامی با کلرید کلسیم مخلوط شده، و به این ترتیب کمپلکس DNA و کلسیم فسفات تشکیل می‌شود. کمپلکس حاصل به صورت تدریجی

---

[3] Endocytosis
[4] Phagocytosis

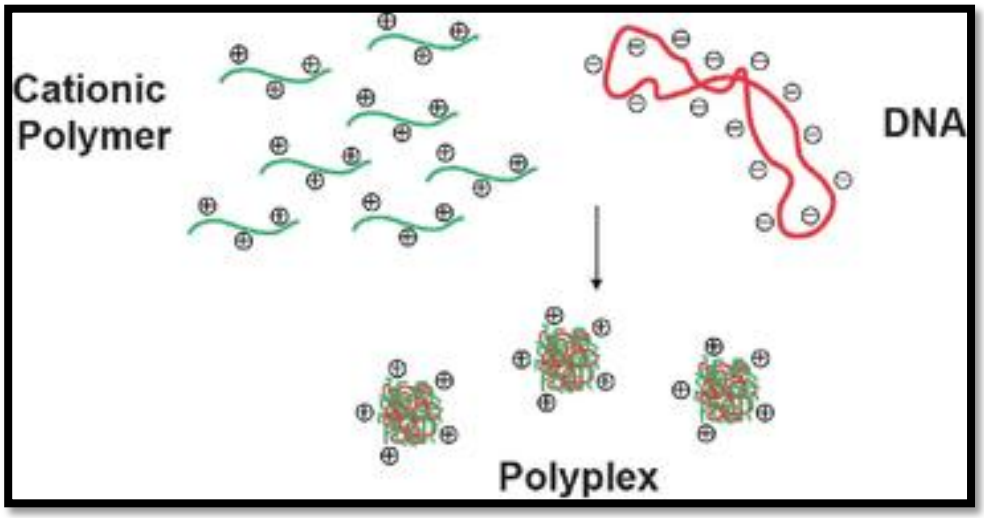
به سلول‌های هدف افزوده شده و پس از اتصال به سطح سلول‌ها طی فرایند اندوسیتوز از غشا عبور می‌کند (Wolfert and Seymour 1996).

۱-۲-۱-۲ روش پلیمرهای کاتیونی

برهمکنش یونی بین بارهای مثبت پلیمر کاتیونی و بارهای منفی DNA موجب تشکیل کمپلکس پلیمر/DNA شده و جاذبه‌ی بارهای مثبت این کمپلکس با بارهای منفی سطح سلول، موجب ورود آن به داخل سلول می‌شود (شکل ۱-۲).

در این روش اولین بار از پلیمر پلی ال لیزین استفاده شد. این پلیمر خطی، دارای ۱۹ تا ۱۱۱۶ آمینواسید و با وزن مولکولی متغیر از۳/۹۷ تا ۲۳۳/۲ کیلودالتون است. کمپلکس نانومتری بین پلیمر کاتیونی و اسید نوکلئیک، پلی پلکس[5] نام دارد. پلی‌پلکس ۱۹ آمینواسیدی تقریبا کروی بوده وقطر آن بین ۲۰تا ۳۰ نانومتر متغیر است. قطر پلی-پلکس‌های ۱۱۴ آمینواسیدی و بالاتر، به ۳۰ نانومتر هم می‌رسد. اندازه کمپکس ایجاد شده در این روش بسیار کوچک‌تر از کمپلکس حاصل در روش کلسیم فسفات است و بنابراین مقدار DNA کمتری در این روش نسبت به روش کلسیم فسفات مورد استفاده قرار می‌گیرد. دیگر پلیمرهای کاتیونی مورد استفاده در انتقال ژن، اتیل آمین اتیل-دکستران، پلی برن، پروتامین، و پلیمرهای کاتیونی منشعب تحت عنوان دندریمرها هستند. بدون استفاده از مکمل‌هایی مانند فاکتور رشد اپیدرمی و ترانسفرین ، کارایی پلی‌پلکس کاهش می‌یابد این مکمل‌ها در جذب پلیمر توسط سلول نقش دارند (Wolfert and Seymour 1996).

[5] Polyplex



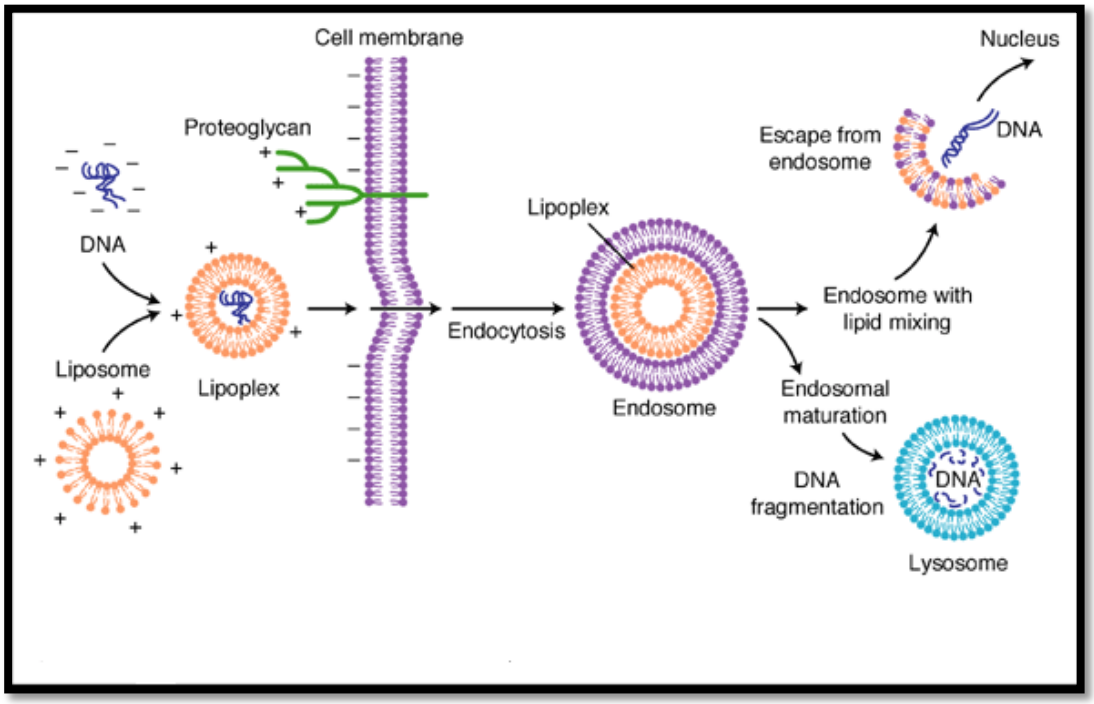
شکل۱-۲، نمای شماتیک تشکیل پلی پلکس (Wolfert and Seymour 1996)

۱-۲-۱-۳ روش لیپید کاتیونی

انتقال DNA با واسطه لیپید در سال ۱۹۸۰ توسط Felgner معرفی شد (Felgner et al. 1997). در این روش DNA با بار منفی در یک غشای لیپیدی (لیپوزوم) با بار مثبت محصور شده و پس از ادغام این غشا با غشای سلولی، DNA وارد سلول می‌شود. کمپلکس نانومتری بین لیپوزوم کاتیونی و اسید نوکلئیک، لیپوپلکس[۶] نامیده می‌شود (شکل۱-۳). لیپوپلکس‌ها از طریق فرایند اندوسیتوز وارد سلول می‌شوند.

یکی از کاربردهای لیپوزوم‌ها، انتقال ژن برای درمان بیماری‌های ریوی مانند فیبروز کیستی است، همچنین تزریق داخل صفاقی یا داخل وریدی آن‌ها برای ژن درمانی بیماری‌های کلیه و طحال گزارش شده است (Zhu et al. 1993).

[6] Lipoplex



شکل ۱-۳، نمای شماتیکی از تشکیل لیپوپلکس و فرایند لیپوفکشن (Wolfert and Seymour 1996)

۱-۲-۲ روش‌های فیزیکی انتقال ژن

جدیدترین روش‌های انجام ترانسفکشن و انتقال ژن، روش‌های فیزیکی می‌باشند. ریز تزریق مستقیم، تفنگ ژنی، ترانسفکشن بر پایه میدان الکتریکی، ترانسفکشن بر پایه لیزر، ترانسفکشن بر پایه امواج فراصوت، و ترانسفکشن بر پایه میدان مغناطیسی از جمله این روش‌ها هستند (Mehier-Humbert and Guy 2005, Scherer et al. 2002, Dobson 2006, Kim et al. 1996). در زیر شرح مختصری از این روش‌ها آورده شده است.