

重组人甲硫氨酸硫氧化物还原酶 A 对氧化脂蛋白的修复作用

王 贞, 李 明, 李小明, 武军驻, 何春燕, 喻 红

(武汉大学基础医学院生物化学与分子生物学系, 湖北省武汉市 430071)

[关键词] 病理学与病理生理学; 动脉粥样硬化; 甲硫氨酸硫氧化物还原酶; 氧化; 低密度脂蛋白; 高密度脂蛋白

目的 探讨重组人甲硫氨酸硫氧化物还原酶在体外是否对氧化的低密度脂蛋白和高密度脂蛋白有还原修复作用以及对氧化脂蛋白所致细胞损伤的保护作用。**方法** 用含有人甲硫氨酸硫氧化物还原酶基因的重组质粒转化大肠杆菌 E Coli M15 (pREP4), 经诱导表达、破菌、Ni-NTA Agarose 亲和层析分离纯化目的蛋白, 并检测其活性; 采用两步密度梯度超速离心法纯化人血浆低密度脂蛋白和高密度脂蛋白; 以 AAPH、 Cu^{2+} 体外氧化型低密度脂蛋白和高密度脂蛋白, 应用 TBA 法、琼脂糖凝胶电泳检测人甲硫氨酸硫氧化物还原酶对氧化型低密度脂蛋白和高密度脂蛋白的还原保护作用, SDS-PAGE、PAGE 分别检测人甲硫氨酸硫氧化物还原酶对低密度脂蛋白的载脂蛋白 B100 氧化降解、高密度脂蛋白的载脂蛋白 A iv 的氧化修饰, MTT 法和流式细胞仪进一步检测人甲硫氨酸硫氧化物还原酶对培养的内皮细胞氧化损伤的影响。**结果** 利用基因工程技术、亲和层析法

成功表达纯化了人甲硫氨酸硫氧化物还原酶,并证实人甲硫氨酸硫氧化物还原酶具有以下作用:催化还原甲硫氨酸硫氧化物的活性;减少体外 Cu^{2+} 、AAPH 氧化型低密度脂蛋白和高密度脂蛋白的相对电泳迁移率,显著降低丙二醛水平,抑制脂质过氧化;降低载脂蛋白 B100 的氧化降解,恢复高密度脂蛋白中修饰的载脂蛋白 A iv;减弱氧化型高密度脂蛋白对内皮细胞的损伤程度。**结论** 人甲硫氨酸硫氧化物还原酶在修复氧化脂蛋白及保护细胞免受氧化损伤中发挥重要作用,其机制可能与人甲硫氨酸硫氧化物还原酶能还原载脂蛋白中甲硫氨酸硫氧化物为甲硫氨酸的作用有关。

(此文编辑 许雪梅)