

# 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 特异性小发夹 RNA 表达载体的构建及其对巨噬细胞源性泡沫细胞氧化应激的影响

杨慧宇, 边云飞, 杨志明, 张娜娜, 高 奋, 肖传实

(山西医科大学第二医院, 山西省太原市 030001)

[关键词] 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1; 发卡样 sRNA; 巨噬细胞源性泡沫细胞; 氧化应激

**目的** 构建靶向血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)基因的发卡样 sRNA(shRNA)表达载体,并探讨其对巨噬细胞源性泡沫细胞氧化应激的影响。**方法** (1)采用 DNA 重组技术,将 LOX-1 shRNA 双链与线性化 pGenesi1 质粒表达载体连接,构建 LOX-1 特异性小发夹 RNA 表达载体 pLOX-1-shRNA1 及 pLOX-1-shRNA2 用脂质体法转染小鼠单核巨噬细胞(RAW 264 7),半定量逆转录聚合酶链反应法检测 LOX-1 mRNA 的表达,Western blot 法检测 LOX-1 蛋白的表达,选择沉默效果最佳的作为下一步的干预序列。(2)氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导巨噬细胞建立泡沫细胞模型,pLOX-1-shRNA 进行干预,干预组使用脂质体法进行细胞转染,转染 48 h 后,再加入 ox-LDL 作用 24 h 用油红 O 染色法、细胞内游离胆固醇及总胆固醇测定法观察对泡沫细胞形成的影响。(3)选用沉默效果最佳的 pLOX-1-shRNA2 干预 48 h 后再加入 ox-LDL 刺激 24 h 用半定量逆转录聚合酶链反应法及 Western blot 法检测 LOX-1 mRNA 和蛋白的表达,观察 pLOX-1 shRNA2 对泡沫细胞 p22phox 和 gp91phox 表达水平的影响。**结果** 测序鉴定发现插入的发卡样序列正确,成功合成了发卡样 LOX-1 基因 RNA 干扰表达载体,pLOX-1-shRNA1 及 pLOX-1-shRNA2 转染 RAW 264 7 细胞后,其 LOX-1 基因和蛋白表达显著下调,并且以 pLOX-1-shRNA2 沉默效果最佳;pLOX-1-shRNA2 干预后能够明显降低泡沫细胞 p22phox 和 gp91phox 表达水平。**结论** 成功构建了能有效抑制 LOX-1 基因及蛋白表达的干扰表达载体,同时可抑制巨噬细胞源性泡沫细胞形成,减少巨噬细胞 p22phox 和 gp91phox 的表达,为动脉粥样硬化的防治提供新的理论依据。

---

[基金项目] 山西省科技攻关项目(20090311059-3)

[作者简介] 杨慧宇,博士研究生,研究方向为冠心病基础与临床,E-mail为 huivuan@vahoo.com.cn 杨志明,硕士,教授,硕士研究生导师,研究方向为冠心病基础与临床。通讯作者肖传实,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为冠心病基础与临床,E-mail为 yhy0603@sohu.com。(此文编辑 许雪梅)