

[文章编号] 1007-3949(2009)17-07-0603-01

• 研究论文摘要 •

RNA 干扰技术选择性下调大鼠血管内皮细胞 血管紧张素转化酶的表达

周 华, 边云飞, 李茂莲, 高 奋, 肖传实

(山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] RNA 干扰; 内皮细胞; 血管紧张素转化酶

目的 构建带有血管紧张素转化酶 (ACE) 基因短发夹 RNA (shRNA) 的腺病毒载体, 用 RNA 干扰技术选择性下调大鼠血管内皮细胞上 ACE 的表达。**方法** 自先期构建的 p-ACE-shRNA 真核表达载体中用逆转录聚合酶链反应法扩增出 ACE-shRNA 片段, 并克隆进入穿梭质粒 pDC316 中, 将构建好的穿梭质粒 pDC316-ACE-shRNA 载体和骨架病毒 pBHG lox-E1, 3Cre 共转染 293 细胞, 包装成重组的病毒颗粒并进行纯化和滴度测定。转染原代培养的大鼠血管内皮细胞, 分别于转染前及转染后 24、48 和 72 h 通过实时荧光定量 PCR 检测 ACE mRNA 的表达。**结果** 经限制性内切酶、PCR 检测和 GFP 表达证实成功构建了携带 ACE-shRNA 的重组腺病毒载体并制备出高滴度重组病毒, 转染大鼠血管内皮细胞后 24 h ACE mRNA 表达无明显变化; 转染后 48 h ACE mRNA 表达明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 转染后 72 h 时表达更低。**结论** 成功地构建了携带 ACE-shRNA 片段的重组腺病毒载体。RNA 干扰能选择性下调原代培养的大鼠血管内皮细胞上 ACE 的表达, 这可能为心血管疾病基因治疗的研究和应用提供新思路。

(此文编辑 许雪梅)