

# 基因转导技术 在心脑血管疾病 相关研究中的应用

Gene Transduction in  
Cardio-Cerebrovascular  
Research

HANBIO

汉恒生物—专注病毒包装

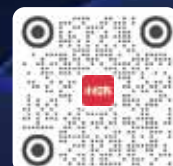
☎400-092-0065

📍上海市浦东新区蔡伦路150号1号楼

✉service@hanbio.net



汉恒生物微信公众号



汉恒生物小红书科研平台



汉恒客户服务中心

www.hanbio.net



## Research Background

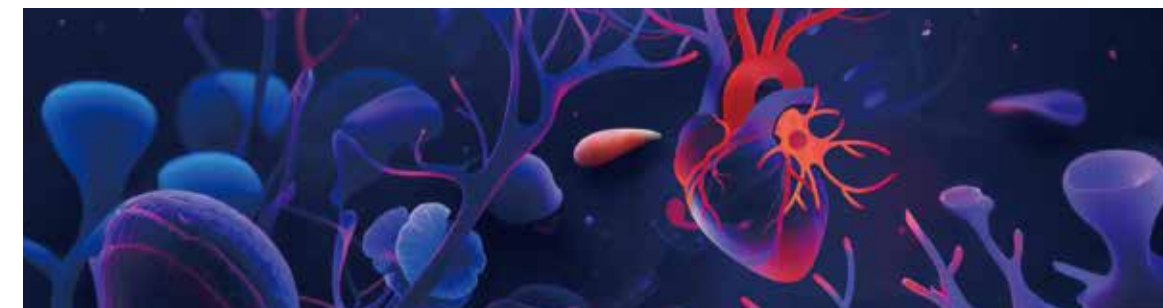
### 研究背景

心脑血管疾病 (Cardiocerebrovascular Disease, CCVD) 是心血管疾病与脑血管疾病的统称, 主要包括心脏疾病、血管疾病及脑血管疾病, 临床表现涵盖高血压、心绞痛、冠心病、心律失常、急性心肌梗死、脑卒中等。

其中, 心脏病的主要表现形式是缺血性心脏病 (ischemic heart disease, IHD), 即因冠状动脉狭窄、供血不足导致的心肌功能障碍和/或器质性病变, 亦称冠状动脉性心脏病。心肌缺血不仅引起缺氧和能量代谢障碍, 还会导致毒性代谢产物堆积、钙离子超载及炎症反应, 进而诱发心肌死亡。缺血性心脏病常继发心律失常、心力衰竭、心源性休克等并发症, 是心源性猝死的罪魁祸首。

人体的血管系统是一个遍布全身的循环网络, 由心脏、脑血管及外周血管共同构成, 维持着生命活动的基本运转。血管壁细胞 (如内皮细胞和平滑肌细胞) 是维持血管结构与功能健康的核心。这些细胞的功能一旦失调, 便可能引发动脉粥样硬化、高血压、脑卒中等多种严重疾病。

目前, 针对多数心血管疾病尚缺乏根治性手段, 治疗仍以预防和外科手术介入为主。因此, 探索有效的药物治疗靶点成为研究的重要方向。与此同时, 基因治疗的兴起和快速发展, 为心血管疾病的治疗提供了新的突破口与可能性。





心脑血管疾病研究模型

| 心血管模型     | in vivo                                                                                                                   | ex vivo                    | in vitro                                                            |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| 心梗/缺血再灌注  | 1. 冠状动脉前降支结扎<br>2. 冠脉夹闭法<br>3. 栓塞法<br>4. 药物干预法 (异丙肾上腺素或垂体后叶素)                                                             | Langendroff<br>离体心脏灌流 (成年) | 1. 乳鼠心肌细胞缺氧模型<br>2. 成年鼠心肌细胞培养及缺血再灌注模型<br>3. H9C2心肌成肌细胞系缺氧模型         |
| 心力衰竭/心肌肥厚 | 1. 主动脉弓缩窄心衰模型<br>2. Ang II infusion诱导的心肌肥厚                                                                                |                            | 1. 乳鼠心肌肥厚模型 (AngII, 或者 Phenylephrine)<br>2. H9C2心肌成肌细胞系肥大模型 (AngII) |
| 动脉粥样硬化    | 1. 饮食诱导模型 (高脂喂养)<br>2. 机械损伤模型 (胸/颈主动脉塑料球囊损伤处理, 或辐射处理)<br>3. 免疫刺激模型 (牛血清白蛋白、卵清白蛋白、肺炎衣原体等免疫刺激)<br>4. 转基因模型 (ApoE和LDL-R敲除)   | 人源性动脉粥样硬化斑块的离体培养           | ox-LDL刺激构建泡沫细胞模型 (内皮细胞/巨噬细胞/平滑肌细胞)                                  |
| 高血压       | 1. 两肾一夹型 (用丝线或银夹狭窄肾动脉)<br>2. 内分泌/代谢诱导 (DOCA或AngII)<br>3. 环境诱导 (闪光灯、噪音、冷/热刺激)<br>4. 转基因模型 (小鼠肾敲除Nedd4-2或ACE, 大鼠肾敲除Hsd11b2) | 离体微血管                      | AngII诱导HUVEC                                                        |
| 心律失常      | 1. 化学药物诱导<br>2. 电刺激<br>3. 手术干预                                                                                            | 离体心脏灌流                     | hiPSC分化的心肌细胞<br>构建PKP2突变                                            |
| 腹主动脉瘤     | 药物诱发 (氯化钙诱发、弹性蛋白酶 (HY-P2974) (Elastase) 诱发、Ang II)                                                                        |                            |                                                                     |
| 缺血性脑血管病   | 局灶性缺血<br>1. 线栓法: 经血管内线栓阻断的大脑中动脉缺血 (MCAO)<br>2. 血栓栓塞模型: 注射血栓栓或光化学法诱导血栓全脑缺血<br>1. 三动脉/四动脉阻断全脑缺血<br>2. 结合低血压诱导全脑缺血           | 离体脑片OGD模型<br>离体血管OGD模型     | 1. 氧糖剥夺模型及其变体 (OGD、OGD/R)<br>2. LPS刺激小胶质细胞 (如BV2细胞系、原代小胶质细胞)        |
| 出血性脑血管病   | 1. 基底节区颅内血肿 (局部注射胶原酶或自体鲜血)<br>2. 蛛网膜下腔出血 (经线栓法颅内动脉定点穿刺)                                                                   | 离体脑片灌注模型<br>离体血管           | 1. 血红蛋白/血红素等刺激模型<br>2. LPS刺激小胶质细胞 (如BV2细胞系、原代小胶质细胞)                 |



常见的基因转导载体工具

当前, 主流的基因转导载体主要包括慢病毒 (LV)、腺病毒 (AdV) 与腺相关病毒 (AAV)。它们在生物学特性、递送效率和适用范围上各有不同, 具体总结如下:

|         | 慢病毒                                            | 腺相关病毒                                            | 腺病毒                                                |
|---------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 表达丰度及速度 | 高水平表达, 细胞水平72hr达到稳定, 动物水平约需要96hr, 开始表达         | 表达慢, 细胞水平需要3-4天左右, 动物水平需要2周左右开始表达                | 高水平表达, 细胞水平36hr可达到高峰, 动物水平约72hr达到高峰                |
| 维持表达时间  | 稳定表达                                           | 表达3-6个月                                          | 体内1-3周, 体外一周                                       |
| 滴度      | 10 <sup>8</sup> TU/mL<br>10 <sup>9</sup> TU/mL | 10 <sup>12</sup> vg/mL<br>10 <sup>13</sup> vg/mL | 10 <sup>10</sup> PFU/mL<br>10 <sup>11</sup> PFU/mL |
| 克隆容量    | 不超过4kb的外源片段, 滴度随插入片段长度增加而降低                    | 不超过4kb的外源片段, 滴度随插入片段长度增加而降低                      | 高达7kb的外源片段, 滴度随插入片段长度增加而降低                         |
| 细胞实验    | 适合, 广谱                                         | AAV-DJ比较适合, 其他血清型感染效率较差                          | 适合, 广谱, 感染效率高, 适合原代细胞感染                            |
| 动物实验    | 感染效率低, 根据观察时间和注射部位选择                           | 非常适合 (首选), 极低免疫原性                                | 较适合, 免疫原性较高, 根据观察时间和注射部位选择                         |



病毒载体在心脑血管疾病相关研究中的应用

|           | 慢病毒                                                         | 腺病毒                                                       | 腺相关病毒                                                                                                                                     |
|-----------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 心血管系统应用   | 体外高效转导心脑血管相关细胞系, 如AC16细胞、HL-1细胞、H9C2细胞、VSMC、HUVEC等, 并可建立稳转株 | 转导原代心肌细胞、原代VSMC、原代VEC的最佳载体<br>适用于体内短期心血管疾病模型, 如心肌缺血再灌注损伤等 | 体内转导心脑血管的首选载体, AAV1、AAV2、AAV6、AAV8和AAV9型等均被报道对心脏有较好的感染效率, 目前靶向心肌使用最为广泛的是AAV9血清型。<br>若要实现组织特异性的靶向感染可选择特异性血清型和启动子 (详见腺相关病毒 (AAV)-体内靶向递送策略)。 |
| 心血管系统应用局限 | 随机插入宿主基因组, 有致瘤风险; 滴度低, 在体内感染心脏或血管效率低                        | 免疫原性高, 可能引发强烈的免疫反应; 尾静脉等系统性注射靶向心脑血管的能力较差                  | 表达速度慢, 到达高峰通常需3周左右, 载体容量小 (~4kb)                                                                                                          |



腺相关病毒(AAV) - 体内靶向递送策略



特异性血清型

不同AAV血清型因其衣壳蛋白结构存在差异, 能够识别并结合不同的细胞表面受体, 从而具有天然的组织趋向性。在心脏靶向研究中, AAV1、AAV2、AAV6、AAV8和AAV9均被证实能高效感染心肌细胞, 其中AAV9是目前应用最广泛的血清型; 同时, AAV1、AAV5和AAV9也被证明可有效感染主动脉。

然而, 这些天然血清型的靶向特异性往往有限, 可能导致病毒在非目标组织中的脱靶表达。为提升靶向精度, 研究人员正通过衣壳工程改造, 致力于开发更具组织特异性的新型AAV血清型。汉恒生物可提供针对血管更具靶向性的AAV血清型: AAV-Vec、AAV-BR1、AAV-BI30和AAV-eVEC。

| 血清型名称    | 靶向组织 (细胞) |
|----------|-----------|
| AAV-Vec  | 内皮细胞      |
| AAV-BR1  | 脑微血管内皮细胞  |
| AAV-BI30 | 脑血管内皮细胞   |
| AAV-eVEC | 外周血管内皮细胞  |



常见体内注射方式与注射剂量

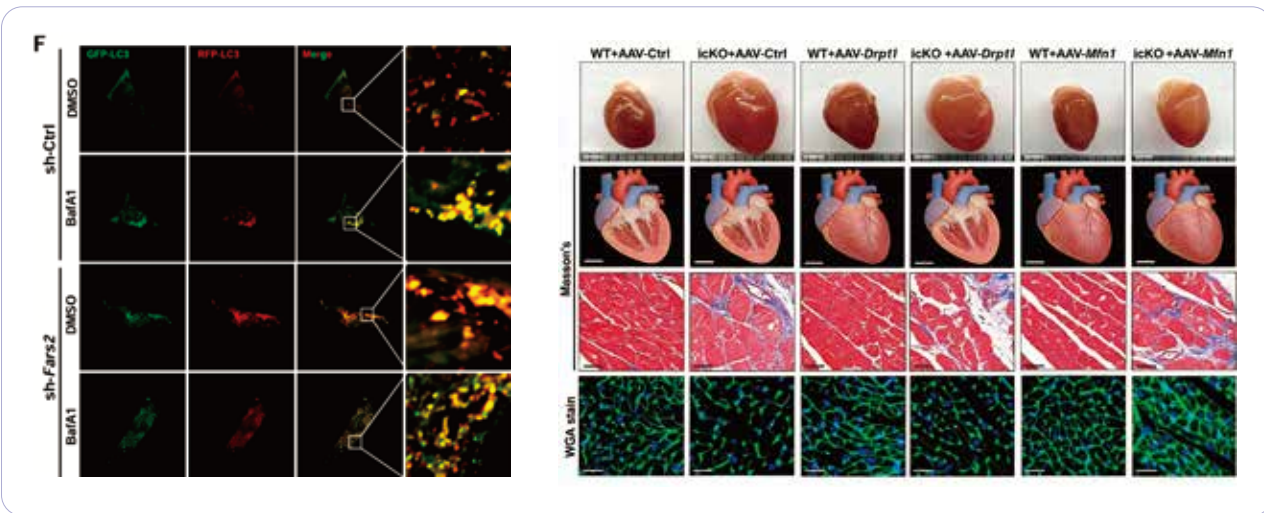
| 感染目标 | 注射方式           | 优势                     | 不足                       | 推荐注射体积 (以成年小鼠为例, 病毒滴度为10 <sup>12</sup> vg/mL) |
|------|----------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------|
| 感染心脏 | 心肌原位注射         | 病毒用量小, 特异性感染注射位点心肌细胞   | 操作要求高, 损伤动物, 仅在注射部位周围高表达 | 10-15 μL/点, 3-5个点                             |
|      | 静脉注射 (尾静脉和颈静脉) | 操作简单, 非侵入性             | 病毒用量大, 特异性差              | 100-200 μL                                    |
| 感染血管 | 尾静脉注射          | 操作简单, 创伤性小             | 病毒用量大, 靶向性相对不足           | 100-200 μL                                    |
|      | 眼眶后静脉注射        | 操作简单, 可适用于新生大小鼠        | 安全性低于尾静脉注射               | 50-100 μL                                     |
|      | 结扎法原位注射        | 病毒用量小, 局部血管靶向性强, 感染效率高 | 操作要求较高, 创伤性较大            | 常见10-50μL(需依据结扎血管范围调整用量)                      |
|      | 凝胶孵育法原位注射      |                        |                          | 根据不同凝胶材料及孵育的血管面积进行摸索                          |
|      | 脑立体定位注射        |                        |                          | 1-5μL (如侧脑室)                                  |

经典案例 1

FARS2 Deficiency Causes Cardiomyopathy by Disrupting Mitochondrial Homeostasis and the Mitochondrial Quality Control System

杂志: Circulation  
IF: 38.7  
客户单位: 空军军医大学

使用产品: AAV9-cTNT、自噬LC3腺病毒  
使用方法: 腺病毒感染NRVMs (MOI=100); AAV9注射小鼠左心室游离壁 (25μL)



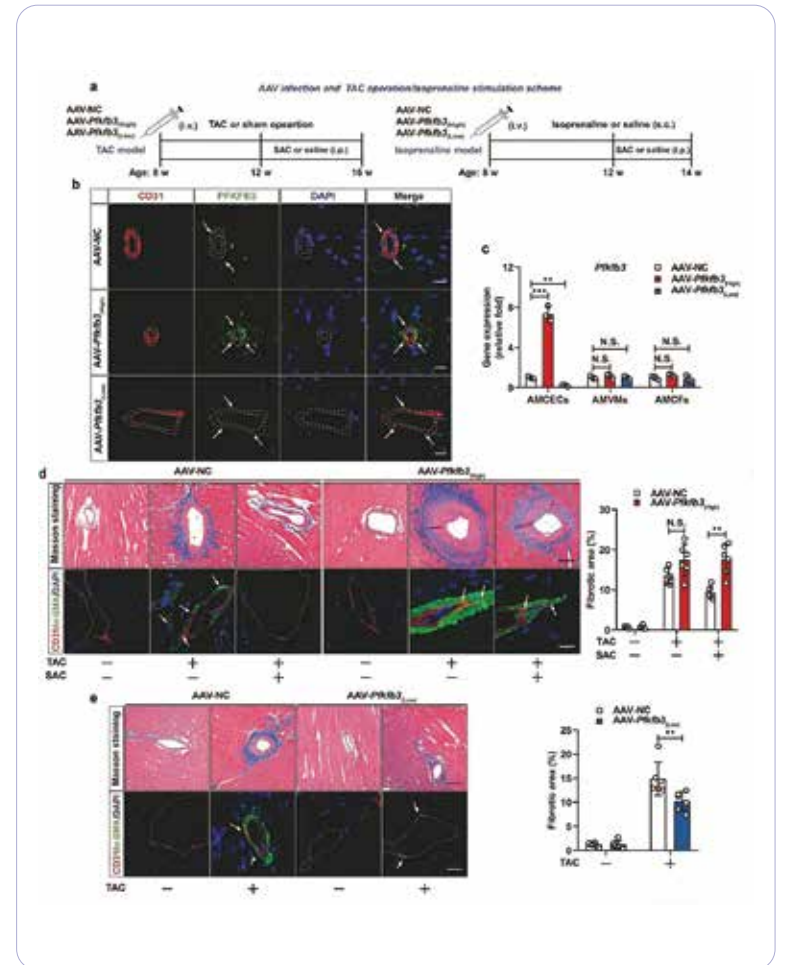
经典案例 3

Suppression of PFKFB3-driven glycolysis restrains endothelial-to-mesenchymal transition and fibrotic response

杂志: Signal Transduction and Targeted Therapy  
IF: 52.7  
客户单位: 中国药科大学

使用产品: AAV-Vec-tie-mPfkfb3 (内皮细胞特异性血清型)

使用方法: 小鼠静脉注射100μL感染心脏血管内皮



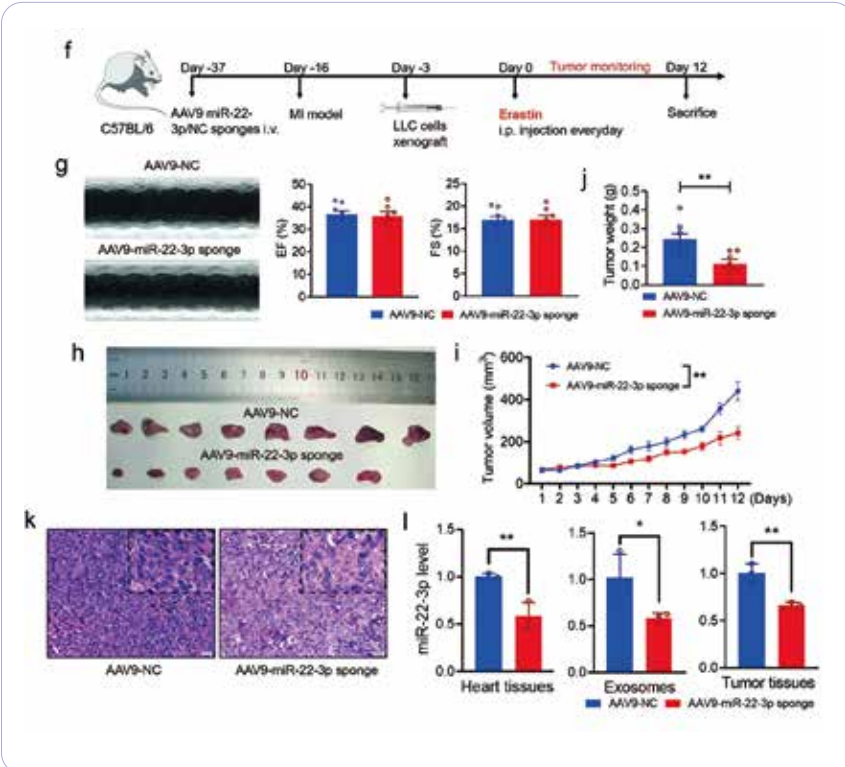
经典案例 2

Exosomes secreted from cardiomyocytes suppress the sensitivity of tumor ferroptosis in ischemic heart failure

杂志: Signal Transduction and Targeted Therapy  
IF: 52.7  
客户单位: 哈尔滨医科大学

使用产品: AAV9-cTNT-miR-22-3p sponge

使用方法: 尾静脉注射 $1.5 \times 10^{11}$  vg感染小鼠心肌



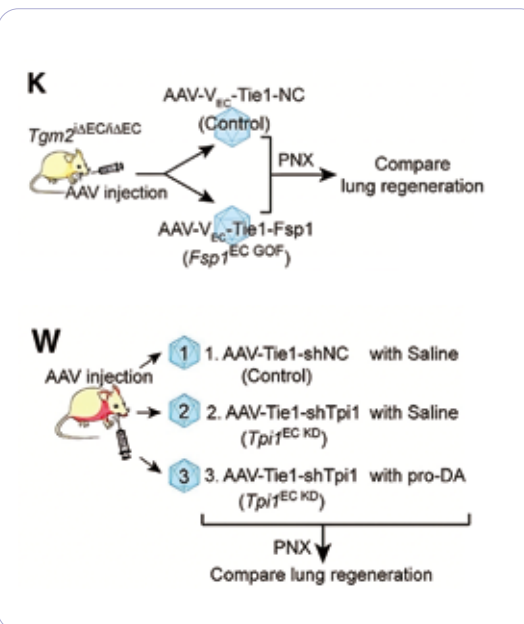
经典案例 3

Dopaminylation of endothelial TP11 suppresses ferroptotic angiocrine signals to promote lung regeneration over fibrosis

杂志: Cell Metabolism  
IF: 33.4  
客户单位: 四川大学

使用产品: AAV-Vec-Tie1-EGFP-mir30-shRNA (shTpi1, shAgps, shPex3, and shPex10) 和 AAV-Vec-Tie1-Fsp1-T2A-EGFP

使用方法: 气管内注射100μL AAV (滴度  $> 2 \times 10^{12}$  vg/mL) 感染肺内皮细胞

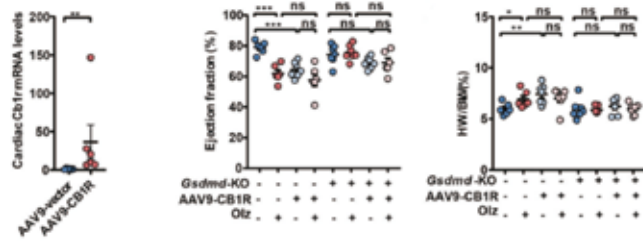


经典案例 5

CB1R-stabilized NLRP3 inflammasome drives antipsychotics cardiotoxicity

杂志:Signal Transduction and Targeted Therapy  
IF:52.7  
客户单位:复旦大学

使用产品:AAV9-EGFP和AAV9-CB1R  
注射方式:原位注射心脏左心室3-5个位点( $2 \times 10^{11}$  vg)  
感染小鼠心脏



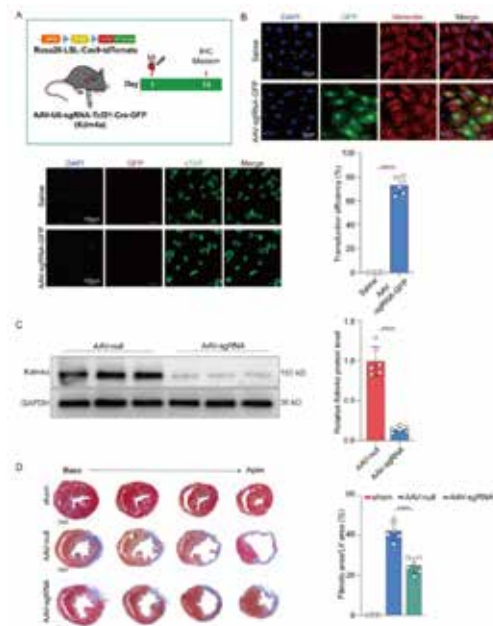
经典案例 6

Inhibiting the Histone Demethylase Kdm4a Restrains Cardiac Fibrosis After Myocardial Infarction by Promoting Autophagy in Premature Senescent Fibroblasts

杂志:Advanced Science  
IF:14.1  
客户单位:南方医科大学南方医院

使用产品:AAV-U6-sgRNA-TCF21-CRE-T2A-EGFP和AAV-TCF21-CRE-T2A-EGFP

使用方法:原位注射心脏左心室( $1 \times 10^{11}$  vg, 约30  $\mu$ L)感染小鼠心肌成纤维细胞



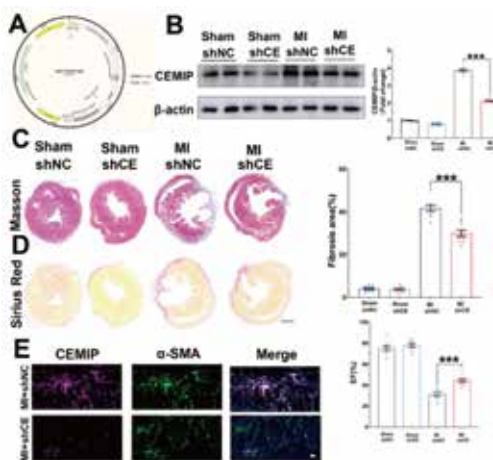
经典案例 7

KIAA1199/CEMP knockdown attenuates cardiac remodeling post myocardial infarction by activating TSP4 pathway in mice

杂志:Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease  
IF:4.2  
客户单位:上海交通大学医学院仁济医院

使用产品:AAV9-periostin-shCE和AAV9-periostin-shTSP4 (成纤维细胞特异性启动子)

使用方法:尾静脉注射 $3 \times 10^{11}$  vg感染小鼠心肌成纤维细胞

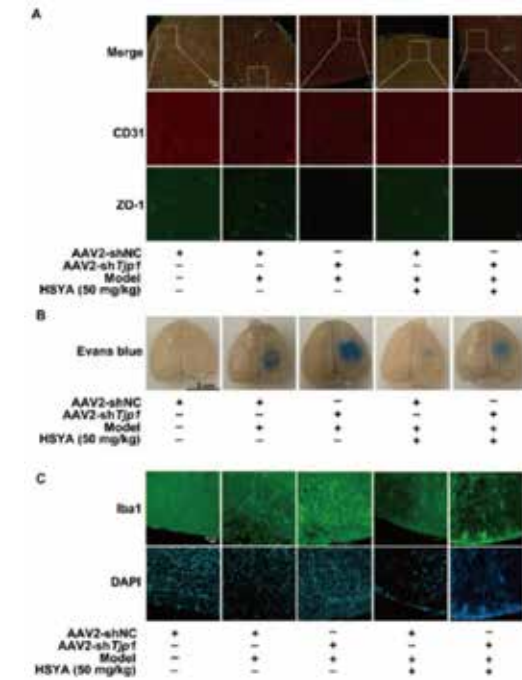


经典案例 8

Hydroxysafflor Yellow A Blocks HIF-1 $\alpha$  Induction of NOX2 and Protects ZO-1 Protein in Cerebral Microvascular Endothelium

杂志:Antioxidants  
IF:6.6  
客户单位:中国药科大学

使用产品:AAV2/br1/TIE-mir30-m-Tjp1以及AAV2-br1-TIE-NC  
使用方法:小鼠尾静脉注射,将体积150 $\mu$ L,滴度 $1.5 \times 10^{12}$  vg/mL,感染脑微血管内皮细胞

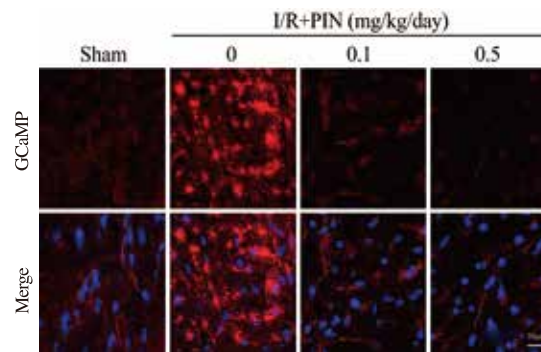
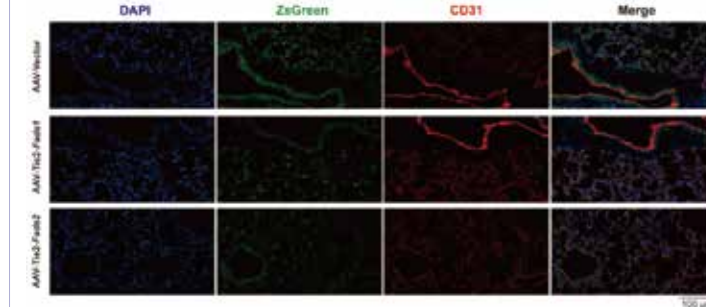


经典案例 9

Metabolic Interplay in Acute Lung Injury: PARK7 Integrates FADS1/2-Dependent PUFA Metabolism and H3K14 Lactylation to Attenuate Endothelial Ferroptosis and Dysfunction

杂志:Advanced Science  
IF:14.1  
客户单位:复旦大学附属中山医院

使用产品:AAV-Vec-TIE2-Fads1、AAV-Vec-TIE2-Fads2  
使用方法:气管内注射70  $\mu$ L AAV,感染肺血管内皮细胞



经典案例 10

Pinacidil ameliorates cardiac microvascular ischemia-reperfusion injury by inhibiting chaperone mediated autophagy of calreticulin

杂志:Basic Research in Cardiology  
IF:8  
客户单位:复旦大学附属中山医院

使用产品:AAV9-Cdh5-GCaMP8  
使用方法:小鼠尾静脉注射 $5 \times 10^{11}$  vg感染小鼠心脏微血管内皮细胞

## Ferroptotic stress facilitates smooth muscle cell dedifferentiation in arterial remodelling by disrupting mitochondrial homeostasis

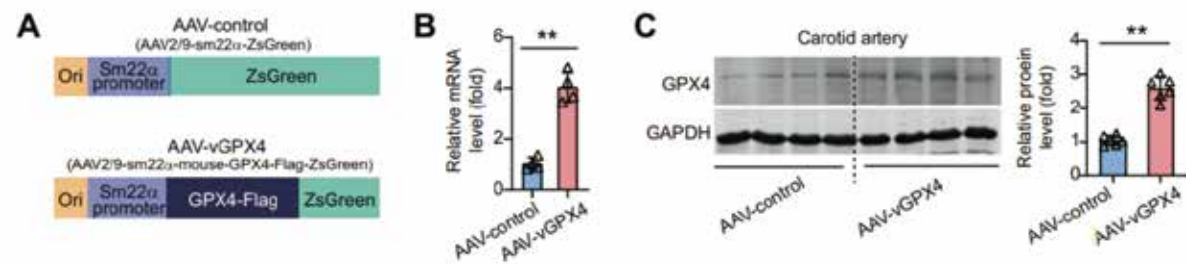
杂志: Cell Death & Differentiation

IF: 15.4

客户单位: 海军军医大学

使用产品: AAV2/9-SM22 $\alpha$ -mGPX4-Flag-ZsGreen和AAV2/9-SM22 $\alpha$ -ZsGreen

使用方法: 病毒滴度 $1.6 \times 10^{12}$  vg/mL, 共注射2次, 第一次小鼠颈总动脉原位注射至血管腔中( $1 \times 10^{11}$  vg/mouse), 2周后再进行尾静脉注射( $3 \times 10^{11}$  vg/mouse), 感染小鼠颈动脉血管平滑肌细胞



## Lineage-specific regulatory changes in hypertrophic cardiomyopathy unraveled by single-nucleus RNA-seq and spatial transcriptomics

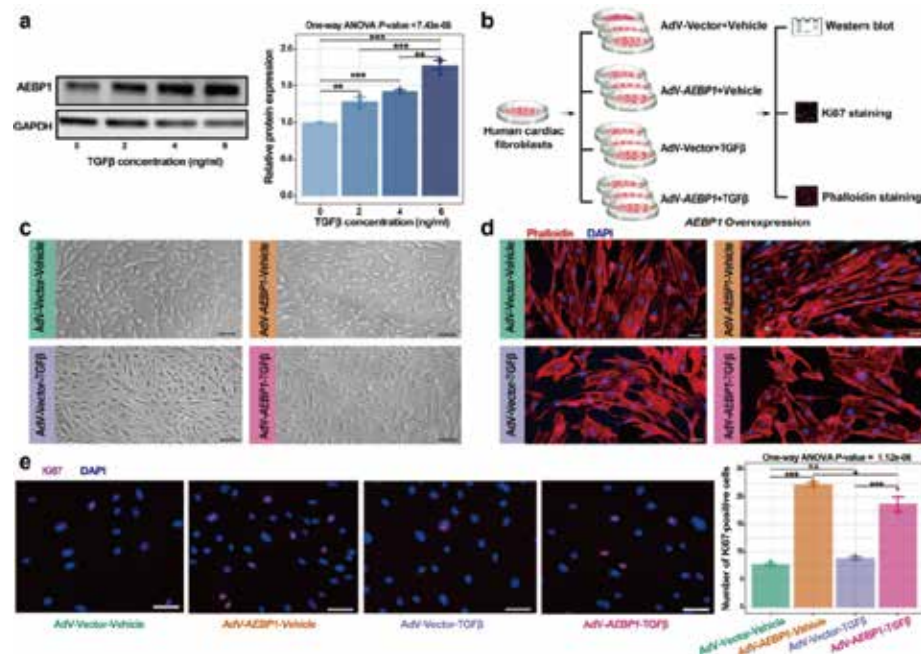
杂志: Cell Discovery

IF: 12.5

客户单位: 中国医学科学院阜外医院

使用产品: 腺病毒AD-vector-GFP和AD-AEBP1-GFP

使用方法: 30%-50%汇合度的心脏成纤维细胞, 以MOI=300-400的腺病毒感染4h换液。



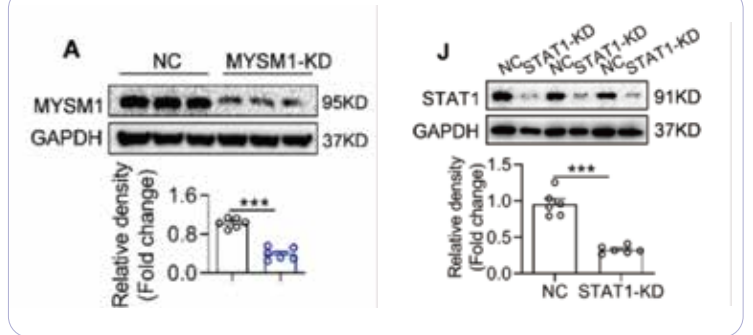
## Deubiquitinase MYSM1 drives myocardial ischemia/reperfusion injury by stabilizing STAT1 in cardiomyocytes

IF: 13.3

客户单位: 嘉兴大学附属第二医院

使用产品: 慢病毒LV-STAT1-KD和LV-MYSM1-KD

使用方法: shRNA慢病毒感染HL-1细胞, 用嘌呤霉素(10  $\mu$ g/mL) 筛选2周, 构建稳定敲低稳定细胞系。



## Role of Argininosuccinate Synthase 1 - Dependent L - Arginine Biosynthesis in the Protective Effect of Endothelial Sirtuin 3 Against Atherosclerosis

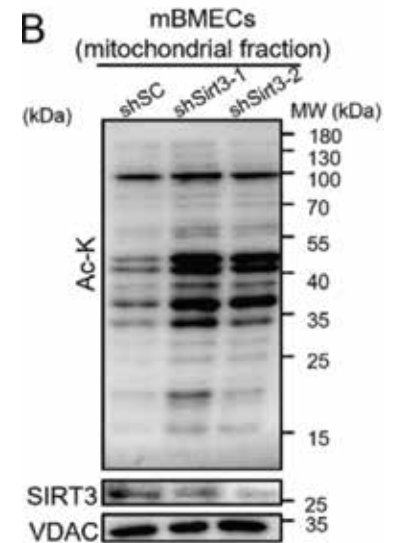
杂志: Advanced Science

IF: 14.1

客户单位: 香港中文大学

使用产品: 慢病毒LV- mSirt3-KD

使用方法: shRNA慢病毒感染mBMECs(小鼠脑微血管内皮细胞永生化细胞系), 汇合度达到50%-70%后感染 sirt3 shRNA慢病毒, 构建稳定敲低稳定细胞系。



## Defective autophagy of pericytes enhances radiation-induced senescence promoting radiation brain injury

杂志: Neuro-Oncology

IF: 13.4

客户单位: 华中科技大学同济医学院同济医院

使用产品: 自噬双标腺病毒mRFP-GFP-LC3

使用方法: 自噬双标腺病毒感染人脑微血管周细胞(HBVPs)

