



博士后文库

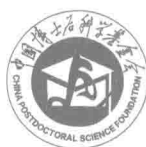
中国博士后科学基金资助出版

酵母源金属硫蛋白 与铅中毒改善

王 颖 张桂芳 张东杰 著



科学出版社



博士后文库
中国博士后科学基金资助出版

酵母源金属硫蛋白 与铅中毒改善

王 颖 张桂芳 张东杰 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

《酵母源金属硫蛋白与铅中毒改善》分为两篇共9章。第一篇为基础理论知识概述,主要借助前人的研究和自己课题研究的探索,通过对金属硫蛋白的系统阐述,以及重金属铅的危害改善机制和改善方法的现状等方面的总结,阐述了金属硫蛋白的生理功能和在重金属清除方面的应用前景。第二篇为酵母源金属硫蛋白的抗氧化作用和铅毒危害改善试验探索。首先以具有自主知识产权的酵母源金属硫蛋白为出发点,对其在复合诱变过程的提取条件和培养条件进行优化,选出最佳筛选条件;其次,对分离纯化方面的多种研究方法及结论进行平行比较和阐述,确定较佳纯化路径;然后,对酵母源金属硫蛋白的氨基酸序列和蛋白二级结构等方面的研究方法及研究结论进行探讨,探明抗氧化活性的显效构象和基本组成;最后,以动物实验模型对酵母源金属硫蛋白的生物抗氧化活性进行评价与验证,并研究其对重金属急、慢性铅中毒的改善。该篇是著者对酵母源金属硫蛋白与食品安全领域的主要探索和科学凝练,以及在食品质量安全领域中针对重金属危害清除的总体思路和试验方法的试剂探究的具体详尽的总结。

本书可供食品安全领域的大专院校师生,保健品行业的加工技术人员,以及农产品深加工和提高行业产品附加值等领域的科技同仁阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

酵母源金属硫蛋白与铅中毒改善/王颖,张桂芳,张东杰著.
—北京:科学出版社,2016.6
(博士后文库)
ISBN 978-7-03-048525-0
I. ①酵… II. ①王… ②张… ③张… III. ①金属蛋白—研究
②铅中毒—研究 IV. ①Q51 ②R595.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第123195号

责任编辑:张会格 / 责任校对:张怡君
责任印制:张 伟 / 封面设计:刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717
<http://www.sciencep.com>

北京东华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年6月第一版 开本:720×1000 B5

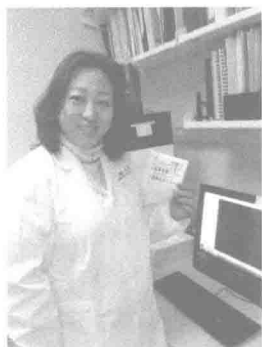
2016年6月第一次印刷 印张:16 7/8

字数:320 000

定价:118.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

作者简介



王颖 1979 年 1 月出生，黑龙江八一农垦大学副教授，研究生导师。2008 年获吉林大学博士学位，主要研究方向为食品质量和农产品加工与贮藏工程。现任中国农业工程学会农产品加工与贮藏工程分会常务理事，中国畜牧兽医学会兽医公共卫生学会分会理事，中国食品科学技术学会理事和青年分会副主任委员，以及《食品与机械》杂志副主任委员。多年来始终从事小分子污染物和天然化学成分的评估与检测相关的研究工作，组织申报了与金属硫蛋白和重金属促排等相关研究课题 16 项，包括主持国家自然科学基金、黑龙江省青年科学基金、黑龙江省教育厅新世纪优秀人才项目、黑龙江省博士后科研启动金等，并参与“十五”到“十二五”期间食品安全领域课题项目 8 项。获省级科技进步奖二等奖 3 项，三等奖 2 项，大庆市科技进步奖一等奖、二等奖、三等奖各 1 项，黑龙江省农垦总局科技进步二等奖 1 项。目前主编及参编教材 4 部，学术专著 3 部，发表学术论文 80 余篇，获授权发明专利 10 项。



张桂芳 1980 年 12 月出生，2008 年获得韩国庆尚国立大学食品营养专业工学硕士学位和黑龙江八一农垦大学食品科学专业工学硕士学位。现为黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术研究中心助理研究员，在读博士。一直从事农产品加工与贮藏及食品安全方向的科研工作，主持厅局级科研课题 4 项；参与国家级、

省部级、厅局级课题 10 余项，其中作为主要负责人承担国家星火计划项目“高寒地区特色产业集成示范”子课题 1 项、国家星火计划项目“杂粮主食生产全产业链技术集成应用与示范”子课题 1 项、黑龙江省自然科学基金项目 2 项，获得厅局级科研奖励 3 项，获得国家发明专利 2 项，发表科研论文 10 余篇。



张东杰 1966 年 12 月出生，吉林大学工学博士，教授，博士生导师，黑龙江八一农垦大学食品学院院长，黑龙江省（食品科学与工程）重点学科后备带头人，黑龙江农垦总局（农产品加工与贮藏工程）重点学科带头人，黑龙江省高校（农产品加工与质量安全）科研创新团队负责人，黑龙江省政府特殊津贴获得者。

主要从事农产品加工与质量安全的教学、科研与社会服务工作。曾主持国家“十五”食品安全重大科技专项，“十一五”、“十二五”国家科技支撑计划，国家科技成果转化项目等多项国家级课题，作为黑龙江省“十一五”食品安全科技领域首席专家先后主持了黑龙江省自然科学基金重点项目、省重大攻关项目等 20 余项省部级及其他各类项目，许多成果在黑龙江垦区、省内企业得到广泛应用，主持获得黑龙江省科技进步奖一等奖 1 项、农业部科技成果奖二等奖 1 项、省教学成果奖二等奖 1 项，参与获得其他科技奖励 10 余项；出版学术专著 3 部、教材 5 部，发表论文 100 余篇，获得发明专利等知识产权 10 余项；培养博士、硕士研究生 60 余名。

社会兼职主要有国家农产品加工营养大数据创新战略联盟副理事长，中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会常务理事，中国农学会农产品贮藏与加工分会常务理事、黑龙江省食品科学技术学会常务理事和中国食品科学技术学会理事；中国食品科学技术学会会刊《食品与机械》副主任编委、《中国酿造》杂志编委。

《博士后文库》编委会名单

主 任 陈宜瑜

副主任 詹文龙 李 扬

秘书长 邱春雷

编 委（按姓氏汉语拼音排序）

付小兵 傅伯杰 郭坤宇 胡 滨 贾国柱 刘 伟

卢秉恒 毛大立 权良柱 任南琪 万国华 王光谦

吴硕贤 杨宝峰 印遇龙 喻树迅 张文栋 赵 路

赵晓哲 钟登华 周宪梁

《博士后文库》序言

博士后制度已有一百多年的历史。世界上普遍认为，博士后研究经历不仅是博士们在取得博士学位后找到理想工作前的过渡阶段，而且也被看成是未来科学家职业生涯中必要的准备阶段。中国的博士后制度虽然起步晚，但已形成独具特色和相对独立、完善的人才培养和使用机制，成为造就高水平人才的重要途径，它已经并将继续为推进中国的科技教育事业和经济发展发挥越来越重要的作用。

中国博士后制度实施之初，国家就设立了博士后科学基金，专门资助博士后研究人员开展创新探索。与其他基金主要资助“项目”不同，博士后科学基金的资助目标是“人”，也就是通过评价博士后研究人员的创新能力给予基金资助。博士后科学基金针对博士后研究人员处于科研创新“黄金时期”的成长特点，通过竞争申请、独立使用基金，使博士后研究人员树立科研自信心，塑造独立科研人格。经过30年的发展，截至2015年年底，博士后科学基金资助总额约26.5亿元人民币，资助博士后研究人员五万三千余人，约占博士后招收人数的1/3。截至2014年年底，在我国具有博士后经历的院士中，博士后科学基金资助获得者占72.5%。博士后科学基金已成为激发博士后研究人员成才的一颗“金种子”。

在博士后科学基金的资助下，博士后研究人员取得了众多前沿的科研成果。将这些科研成果出版成书，既是对博士后研究人员创新能力的肯定，也可以激发在站博士后研究人员开展创新研究的热情，同时也可以使博士后科研成果在更广范围内传播，更好地为社会所利用，进一步提高博士后科学基金的资助效益。

中国博士后科学基金会从2013年起实施博士后优秀学术专著出版资助工作。经专家评审，评选出博士后优秀学术著作，中国博士后

科学基金会资助出版费用。专著由科学出版社出版，统一命名为《博士后文库》。

资助出版工作是中国博士后科学基金会“十二五”期间进行基金资助改革的一项重要举措，虽然刚刚起步，但是我们对它寄予厚望。希望通过这项工作，使博士后研究人员的创新成果能够更好地服务于国家创新驱动发展战略，服务于创新型国家的建设，也希望更多的博士后研究人员借助这颗“金种子”迅速成长为国家需要的创新型、复合型、战略型人才。



中国博士后科学基金会理事长

序

我很欣喜在众多讨论食品污染或者与之相关问题的著述中，有这样一本不止于单单谈其严重性和危害性的专著——《酵母源金属硫蛋白与铅中毒改善》即将出版。这是因为在林林总总的食品安全危害源头中，重金属由于对体会造成多器官、多指征且不可逆转的危害，近年来已成为公众及食品学业界的关注焦点。金属硫蛋白作为一种由微生物和动植物相互作用后产生的金属结合蛋白，富含半胱氨酸的短肽，其巯基能强烈螯合有毒金属，并将之排出体外，从而实现解毒功能。此外，有研究表明，金属硫蛋白还具有较强修复氧化损伤生理特性，因此在抗癌，抗肿瘤方面作用突出，这为清除重金属等小分子污染物和修复因氧化损伤造成的危害带来了新的希望。我们关注问题的产生，却更期盼更新更有效的解决方法。

王颖博士所在的张东杰教授科研团队撰写的这本专著，较为系统地介绍了近年来金属硫蛋白及其相关重金属解毒机制的基础理论和研究进展。尤其难能可贵的是，该专著以相当的篇幅介绍了王颖博士所在的科研团队多年的研究工作，特别是他们主持和承担的国家“十五”食品安全重大科技专项、黑龙江省人事厅新世纪人才项目、黑龙江省科技成果转化重点项目、黑龙江省农垦总局“十二五”重点科技计划项目、黑龙江省博士后基金和黑龙江八一农垦大学的博士后基金等项的相关课题的学术成就。他们的研究工作围绕金属硫蛋白的诱导、发酵、提取、分离、纯化、验证等各个方面，并取得了一些具有独到见解的研究结果，在金属硫蛋白及其铅的排解机制研究领域做了新的探索，为丰富食品安全科技相关的理论和实践做出了十分有益的贡献。

“未来如果美好，源于当下的努力”。感谢中国博士后科学基金会对该书的资助，使金属硫蛋白研究领域的各个方面的工作得以系统地梳理和总结，这对了解金属硫蛋白的相关科学知识和后续的研究工作都有着十分重要的意义。我深信，众多致力于食品安全领域的耕耘者的每一滴汗水每一分努力都预示着食品产业必将会有更为美好的未来！



中国农业大学食品科学与营养工程学院

2015年12月29日 于北京

前 言

重金属污染是指由密度在 5 g/cm^3 以上的金属或其化合物造成的环境污染，主要由采矿、废气排放、污水灌溉和使用重金属制品等人为因素所致。2011 年 4 月初，中国首个“十二五”专项规划——“重金属污染综合防治‘十二五’规划”获得国务院正式批复，防治规划力求控制汞、铬、镉、铅和类金属砷 5 种重金属。而且，重金属的污染及其危害程度取决于重金属在环境、食品和生物体内存在的浓度和化学形态，主要表现在水污染和一部分大气和固体废物中。

重金属在食品中的限量得到国际和国内标准的严格限制，如婴幼儿乳制品对铝的限量规定严格控制在 0.15 mg/kg 以下。重金属中毒主要表现为影响红细胞的功能和寿命、导致心脏植物神经紊乱、对形成长期记忆中起关键作用的蛋白合成及脑神经细胞造成损伤、损害肾小管功能等。目前对重金属毒副作用、危害机制和改善办法的研究日益迫切，尤其在治疗和预防方面成为研究热点。治疗的手段主要有临床性治疗和保健预防性治疗两大类。平行比较可发现，临床治疗促排重金属物质的品种相对较单一，治疗药物还是以巯基类竞争解毒剂和氨基酸金属螯合剂为主，其注射和口服的治疗方式主要针对于临床治疗重金属中毒，这些药物在排除体液和组织细胞中的重金属离子时出现选择性不强、肝肾毒副作用和给药不方便等特点。作为保健预防治疗的药物还有单纯的中药方剂和天然营养保健饮品等，相对而言作用缓慢，周期长，停药后复发率高。开发和利用天然食药源物质，对于体内蓄积一定量重金属而未达到中毒临床治疗标准的人群更具现实的意义。

本书的研究成果得益于张东杰教授课题组主持研究的“十五”国家重大科技专项、“十一五”国家科技支撑计划重点项目课题、“十二五”农村领域国家科技计划项目、国家自然科学基金青年基金项目、黑龙江省自然基金、黑龙江省教育厅新世纪优秀人才项目和黑龙江八一农垦大学博士后基金项目等强力支撑，并在累积了十五年的科研成果和教学成果的基础上，参考了相关国内外文献资料，在张东杰教授指导下由王颖博士在博士后工作期间总结而成。主要内容包括金属硫蛋白基本理论知识，酵母源金属硫蛋白从分离提取、纯化到抗氧化活性以及对重金属铅的协同促排的规律，以及酵母源金属硫蛋白通过抗氧化途径在重金属驱除方面的基础研究。

本书内容共分为两篇，共 9 章，由黑龙江八一农垦大学王颖、张桂芳和张东

杰合著而成。本书的出版还得益于著者所在科研团队里所有师生的辛苦付出和坚持不懈，特别是参与试验过程的食物学院的张爱武和姚笛老师，校医院检验科任晚霞医师，生命科学技术学院的韩英浩、肖翠红和黄玉兰老师等，以及张东杰教授团队的研究生苗兰兰、李靖元、李冰、徐炳政、王月、梁小月、王欣卉和陈纯琦等与生命科学技术学院的研究生何超、刘军、于佳斌、于楠楠等。另外在本书整理与校对过程中，沈琰、杨义杰、赵雅楠、陈羽红、王欣卉和马楠等研究生付出了辛勤的努力和贡献，在此表示衷心感谢！

由于著者的学术视野不够宽阔，研究的方法和条件尚有局限，书中定有诸多浅显、片面，甚至错误的观点和结论，愿各位同仁和读者在阅读本书的过程中给予更多的指导和宝贵的建议。我们衷心希望这部专著可以为食品安全领域的大专院校师生，保健品行业的加工技术人员，以及农产品深加工和提高行业产品附加值等领域的科技同仁提供参考。

最后，再次感谢在本书出版过程中给予我们无私帮助和支持的人们！

著 者

黑龙江八一农垦大学

2016年1月15日于大庆

目 录

《博士后文库》序言

序

前言

第一篇 基本理论知识概述

第 1 章 金属硫蛋白概述	3
1.1 概述	3
1.1.1 金属硫蛋白定义	3
1.1.2 金属硫蛋白的分类及结构	3
1.2 金属硫蛋白的生物学功能	8
1.2.1 金属硫蛋白与重金属解毒作用	8
1.2.2 金属硫蛋白与自由基清除	9
1.2.3 金属硫蛋白与肿瘤标识	10
1.2.4 金属硫蛋白与辐射修复	10
1.2.5 金属硫蛋白与微量元素代谢	11
1.2.6 金属硫蛋白与激素调节	12
1.2.7 金属硫蛋白与人类其他疾病	12
1.3 金属硫蛋白的应用	13
1.3.1 金属硫蛋白在医学上的应用	13
1.3.2 金属硫蛋白与化妆品	16
1.3.3 金属硫蛋白与保健食品	17
1.3.4 金属硫蛋白与养殖业	18
1.3.5 金属硫蛋白在环境保护方面的应用	19
1.4 金属硫蛋白的提纯和检测	20
1.4.1 金属硫蛋白的提纯方法	20
1.4.2 金属硫蛋白的检测技术	23
参考文献	28
第 2 章 酵母源金属硫蛋白概述	40
2.1 酵母源金属硫蛋白研究进展	40
2.1.1 酵母类金属硫蛋白国外研究进展	40

2.1.2 酵母类金属硫蛋白国内研究进展	41
2.2 酵母源金属硫蛋白特性	42
2.3 酵母源金属硫蛋白的制备方法	44
2.3.1 菌体选育和诱变	44
2.3.2 菌体的培养	45
2.3.3 金属硫蛋白的提取分离	46
2.3.4 金属硫蛋白的纯化	47
参考文献	48
第3章 铅中毒机制和金属硫蛋白的排铅解毒机制与应用	51
3.1 铅毒的危害、作用机制及其临床表现	51
3.1.1 铅对神经系统的毒性	51
3.1.2 铅对心血管系统的毒性	52
3.1.3 铅对消化系统的毒性	53
3.1.4 铅对生殖和泌尿系统的毒性	54
3.1.5 铅对免疫系统的毒性	54
3.1.6 铅对酶系统的毒性	56
3.1.7 铅对骨骼系统的毒性	57
3.2 铅中毒危害的改善方法现状和存在问题	57
3.2.1 西药制剂的改善治疗	57
3.2.2 中药方剂	62
3.2.3 矿物元素和维生素	64
3.2.4 生物活性物质	65
3.2.5 医疗仪器物理辅助治疗	66
3.2.6 其他食源性食物	67
3.2.7 铅中毒改善治疗尚存在的问题	68
3.3 金属硫蛋白排铅解毒机制及在排铅产品中的应用	69
3.3.1 金属硫蛋白排铅解毒机制	69
3.3.2 金属硫蛋白在排铅解毒产品中的应用	72
参考文献	72

第二篇 酵母源金属硫蛋白的抗氧化作用和铅毒危害改善试验探索

第4章 高产酵母源金属硫蛋白菌株的筛选和培养优化	81
4.1 筛选高产酵母源金属硫蛋白菌株的实验	81
4.1.1 材料与设备	82
4.1.2 实验方法	83

4.1.3	结果与讨论	87
4.1.4	小结	93
4.2	筛选高产金属硫蛋白的产朊假丝酵母菌株实验	93
4.2.1	材料与设备	93
4.2.2	实验方法	94
4.2.3	结果与讨论	97
4.2.4	小结	100
4.3	产酵母源金属硫蛋白菌株诱导培养条件的优化实验	101
4.3.1	材料与设备	101
4.3.2	实验方法	102
4.3.3	结果与讨论	105
4.3.4	小结	115
4.4	优化高产金属硫蛋白酵母菌的发酵条件	116
4.4.1	材料与设备	116
4.4.2	实验方法	117
4.4.3	结果与讨论	118
4.4.4	小结	123
4.5	超声波辅助提取酵母源金属硫蛋白的优化实验	123
4.5.1	材料与设备	124
4.5.2	实验方法	124
4.5.3	结果与讨论	126
4.5.4	小结	131
	参考文献	131
第 5 章	酵母源金属硫蛋白分离纯化的研究	134
5.1	产朊假丝酵母菌产金属硫蛋白提取工艺的优化	134
5.1.1	材料与设备	134
5.1.2	实验方法	135
5.1.3	结果与讨论	139
5.1.4	小结	142
5.2	Sephadex-100 凝胶柱分离三种不同亚型的酵母源金属硫蛋白	142
5.2.1	材料与设备	143
5.2.2	实验方法	144
5.2.3	结果与讨论	147
5.2.4	小结	150
5.3	(NH ₄) ₂ SO ₄ 双水相体系纯化铜、锌诱导的酵母源金属硫蛋白	151
5.3.1	材料与设备	151

5.3.2	实验方法	152
5.3.3	结果与讨论	154
5.3.4	小结	160
	参考文献	160
第 6 章	酵母源金属硫蛋白的结构解析及其分析影响因素	164
6.1	酵母源金属硫蛋白的氨基酸组成分析和二级结构的分析与成分解析	164
6.1.1	材料与设备	164
6.1.2	实验方法	165
6.1.3	结果与讨论	167
6.1.4	小结	172
6.2	不同诱变因素对酵母源金属硫蛋白二级结构的影响	173
6.2.1	材料与设备	174
6.2.2	实验方法	175
6.2.3	结果与讨论	176
6.2.4	小结	178
	参考文献	179
第 7 章	酵母源金属硫蛋白抗氧化活性的研究	182
7.1	复合诱变分离获得的酵母源金属硫蛋白体外抗氧化活性测定	182
7.1.1	材料与设备	183
7.1.2	实验方法	185
7.1.3	结果与讨论	189
7.1.4	小结	192
7.2	超声波诱导分离后获得的酵母源金属硫蛋白体外抗氧化活性测定	192
7.2.1	材料与设备	193
7.2.2	实验方法	194
7.2.3	结果与讨论	195
7.2.4	小结	198
7.3	双水相分离后获得的酵母源金属硫蛋白体外抗氧化活性测定	198
7.3.1	材料与设备	198
7.3.2	实验方法	199
7.3.3	结果与讨论	200
7.3.4	小结	202
7.4	高效分离纯化后获得的酵母源金属硫蛋白体外抗氧化活性测定	203
7.4.1	材料与设备	203
7.4.2	实验方法	204
7.4.3	结果与讨论	205

7.4.4 小结	207
参考文献	208
第 8 章 酵母源金属硫蛋白在模拟胃肠道环境中对铅离子的螯合作用	211
8.1 酵母源金属硫蛋白在模拟胃环境中对铅离子的螯合率	211
8.1.1 材料与设备	211
8.1.2 实验方法	212
8.1.3 结果与分析	213
8.1.4 小结	215
8.2 酵母源金属硫蛋白在模拟肠道环境中对铅离子的螯合率	215
8.2.1 材料与设备	215
8.2.2 实验方法	216
8.2.3 结果与讨论	217
8.2.4 小结	220
参考文献	220
第 9 章 酵母源金属硫蛋白对不同类型铅中毒小鼠的排铅及修复氧化损伤作用	222
9.1 酵母源金属硫蛋白对急性铅中毒小鼠的排铅及修复氧化损伤作用	222
9.1.1 材料与设备	223
9.1.2 实验方法	223
9.1.3 结果与讨论	224
9.1.4 小结	227
9.2 酵母源金属硫蛋白对慢性铅中毒小鼠的排铅及肝功能保护作用	228
9.2.1 材料与设备	228
9.2.2 实验方法	229
9.2.3 结果与讨论	230
9.2.4 小结	235
9.3 酵母源金属硫蛋白对慢性铅中毒小鼠的排铅及肾功能保护作用	235
9.3.1 材料与设备	236
9.3.2 实验方法	237
9.3.3 结果与讨论	238
9.3.4 小结	242
参考文献	243
附录: 与本书有关的成果	246
跋	250
编后记	251

第一篇

基本理论知识概述