

“十一五”上海重点图书

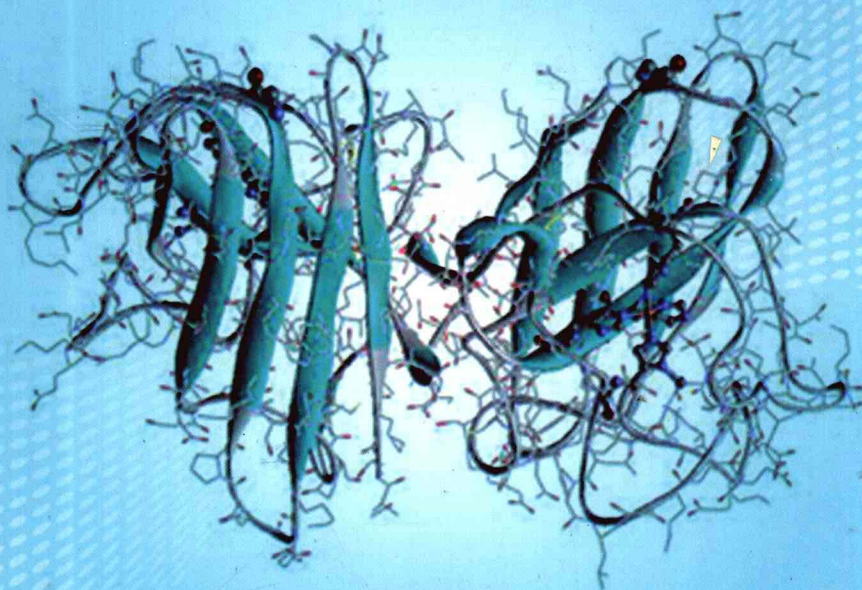
超氧化物歧化酶

Superoxide Dismutase

主 编 袁勤生

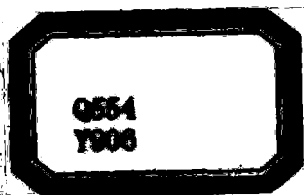
副主编 王凤山 李素霞

主 审 张天民



华东理工大学出版社
EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

“十一五”上海重点图书



超氧化物歧化酶

Superoxide Dismutase

主 编 袁勤生
副主编 王凤山 李素霞
主 审 张天民

Q554
Y906

图书在版编目(CIP)数据

超氧化物歧化酶/袁勤生主编. —上海: 华东理工大学出版社, 2009. 5

ISBN 978-7-5628-2450-3

I. 超… II. 袁… III. 超氧化物歧化酶-研究
IV. Q554

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 180305 号

“十一五”上海重点图书

超氧化物歧化酶

主 编/袁勤生

策划编辑/钱四海

责任编辑/钱四海

责任校对/张 波 李 晔

封面设计/陆丽君

出版发行/华东理工大学出版社

地址: 上海市梅陇路 130 号, 200237

电话: (021)64250306(营销部)

传真: (021)64252707

网址: www.hdlgpress.com.cn

印 刷/上海敬民实业有限公司长阳印刷厂

开 本/787 mm×1092 mm 1/16

印 张/30.75

字 数/812 千字

版 次/2009 年 5 月第 1 版

印 次/2009 年 5 月第 1 次

印 数/1-3 000 册

书 号/ISBN 978-7-5628-2450-3/TQ·136

定 价/68.00 元

(本书如有印装质量问题, 请到出版社营销部调换。)

本书编委会名单

- 主 编 袁勤生
副主编 王凤山 李素霞
主 审 张天民
编 委 (以姓氏笔画为序)
- | | |
|-----|----------------------|
| 王凤山 | 山东大学 |
| 王转花 | 山西大学 |
| 任丽萍 | 中国药品生物制品检定所 |
| 朱希强 | 山东省药学科学院 |
| 刘金峰 | 山东大学 |
| 张天民 | 山东大学 |
| 李文杰 | 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所 |
| 张尔贤 | 汕头大学 |
| 张兴群 | 东华大学 |
| 陈 勉 | 山东省药学科学院 |
| 李素霞 | 华东理工大学 |
| 陆领倩 | 上海宝安生物技术研究 |
| 吴葆杰 | 山东大学 |
| 周 帅 | 山东大学 |
| 范立强 | 华东理工大学 |
| 俞丽君 | 汕头大学 |
| 赵 健 | 华东理工大学 |
| 施惠娟 | 上海计划生育研究所 |
| 袁勤生 | 华东理工大学 |
| 曹张军 | 东华大学 |
| 谢继青 | 济南军区总医院 |
| 程速远 | 中国药品生物制品检定所 |

序 言

就蛋白质科学的发展史而言,超氧化物歧化酶是一类古老而年轻的蛋白质。说它古老是因为早在上个世纪 30 年代它就已经在剑桥大学 Keilin 的实验室被发现了。Keilin 一生在呼吸链氧化还原酶的开创性研究方面贡献卓著,也是我国生物化学先驱王应睐先生的导师。Keilin 和 Mann 首先从牛的红细胞中分离出一种含铜离子的蓝色蛋白,但是当时还不知道它的生物功能。一直到三十多年以后,美国杜克大学的 McCord 和 Fridovich 才发现它具有超氧化物歧化酶的作用,从而使长期被埋没的明珠焕发出了青春光彩。作为一种酶蛋白,超氧化物歧化酶的作用是催化细胞内超氧化物自由基转化为氧和过氧化氢,而且它催化的转换率(turnover number)比任何已知的酶都要高。超氧化物歧化酶的这种功能对细胞的正常代谢是至关重要的,因为超氧化物自由基如果不能迅速及时清除就会导致细胞的老化或癌变。此外超氧化物歧化酶基因的突变可以导致运动神经元疾病,即家族性侧索硬化症;而超氧化物歧化酶的过度表达则可产生唐氏综合征。由此可见有关超氧化物歧化酶结构与功能的研究不仅在细胞的正常生长方面具有重要的理论意义,而且在临床上对机体老化和癌变以及有关疾病的防治也具有实际应用的价值。随着国内外对超氧化物歧化酶研究的日益广泛深入,有关文献资料的积累也日益增加。现在由国内活跃在这一领域的专家将它们整理汇编成《超氧化物歧化酶》专著,我认为是十分必要的,希望这一专著的出版对我国超氧化物歧化酶的研究和开发应用发挥有益的促进作用。

张友尚

中国科学院院士

中国科学院上海生命科学研究院

生物化学与细胞生物学研究所研究员

2009 年 1 月

前 言

自 1969 年 McCord 和 Fridovich 发现超氧化物歧化酶(SOD)以来,生物体内自由基与抗氧酶的关系才逐渐被阐明。近四十年来有关 SOD 的研究十分活跃,它不仅推动了自由基的理论研究,还将自由基与 SOD 的学术研究领域扩展到生物化学、酶学、生物学、分子生物学和医学等诸多学科。

虽然国内外有关 SOD 的论文很多,但至今还没有一本专门的学术著作。为了较为全面地介绍 SOD 的基础理论和实际应用的知识和成果,我们编写了《超氧化物歧化酶》这本专著。全书共分 18 章,第 1 章至第 10 章为基础篇,主要介绍 SOD 的分类、进化、性质、理化特性和分子结构,还全面介绍了 SOD 的同工酶、化学修饰和分子生物学;第 13 章至第 18 章为应用篇,主要介绍 SOD 的活性测定、制备方法以及在工业、农业、医药等领域的应用。鉴于 SOD 的发现是自由基生物学与医学的奠基石,而且它的研究进展已成为多门学科的核心部分,所以我们在第 8 章、第 10 章和第 11 章还专门介绍了 SOD 的药理与毒理活性、抗氧酶与天然抗氧剂以及类 SOD 的结构与功能等专题。为了全面介绍 SOD 的最新进展,本书在各章均附有大量的参考文献,其中不少论文就是我们编委亲历的工作。此外,在内容安排上,本书既有基础的 SOD 理论研究,又有 SOD 的研究热点和最新的研究进展。

本书参编者大部分是 SOD 研究领域的专家和开拓者,他们目前仍还承担着繁重的教学和科研任务,他们都是在百忙中挤出时间参与了本书的撰写工作。自 20 世纪 80 年代初以来,我培养、带领的许多博士、硕士研究生和课题组的老师,积极从事 SOD 的理论和应用研究,他们大都亲历了 SOD 发展的全过程。本书许多内容其实就是他们研究成果的结晶。还有许多在读研究生和大学生也积极参与了书稿的电脑输入、图表制作及文稿的校对工作。因此本书是集体智慧的结晶,也是集体创作的成果。由于本人杂务繁忙及学术水平有限,书中难免存在不足之处,恳切希望广大读者批评指正。

袁勤生

2008 年 12 月

目 录

1 SOD 的发现和进展	1
1.1 SOD 的发现	1
1.2 SOD 的研究现状	2
1.2.1 SOD 的理论研究	3
1.2.2 SOD 的药用研究	4
1.2.3 SOD 的应用研究	5
1.2.4 rh SOD 分子生物学研究的进展及问题	6
参考文献	8
2 SOD 的种类与分布	11
2.1 概述	11
2.2 微生物中 SOD 的种类与分布	12
2.2.1 SOD 在原核微生物中的种类与分布	12
2.2.2 SOD 在真核微生物中的种类与分布	13
2.2.3 SOD 在寄生虫中的分布	13
2.2.4 SOD 在藻类生物中的分布	13
2.3 植物 SOD 的种类与分布	14
2.3.1 植物 SOD 的种类与分布	14
2.3.2 植物 SOD 在抗逆中的作用	15
2.4 动物 SOD 的种类与分布	16
2.4.1 人 SOD 的种类与分布	16
2.4.2 人 Mn-SOD 与疾病	17
2.4.3 SOD 在动物组织及器官中的分布	18
参考文献	19
3 SOD 的分子结构	22
3.1 SOD 分子的一级结构	22
3.1.1 Cu,Zn-SOD 的氨基酸组成及一级结构	22
3.1.2 Mn-SOD 的一级结构	24
3.1.3 EC-SOD 的一级结构	24
3.1.4 Fe-SOD 的一级结构	26
3.2 SOD 分子的高级结构	28
3.2.1 Cu,Zn-SOD 分子的高级结构	28
3.2.2 Mn-SOD 分子的高级结构	32
3.2.3 EC-SOD 分子的高级结构	33
3.2.4 Fe-SOD 分子的高级结构	35

3.3	SOD 的活性中心	37
3.3.1	Cu,Zn-SOD 的活性中心及其催化机理	37
3.3.2	EC-SOD 的活性中心	45
3.3.3	Mn-SOD 的活性中心	45
3.3.4	Fe-SOD 的活性中心	47
3.4	Fe/Mn-cSOD 的分子结构	48
3.4.1	Fe/Mn-cSOD 简介	48
3.4.2	<i>Ps</i> Fe/Mn-cSOD 单体的结构	50
3.4.3	<i>Ps</i> Fe/Mn-cSOD 四聚体的结构	51
3.4.4	<i>Ps</i> Fe/Mn-cSOD 的活性中心	51
	参考文献	54
4	SOD 与生物进化	57
4.1	活性氧是生物进化的动力	57
4.2	SOD 的进化	59
4.3	SOD 基因的表达与调控	65
4.4	SOD 的基因和转基因操作	66
4.5	SOD 与生存期调节	67
4.5.1	生命周期的延长和抗氧化应力提高间的关系	67
4.5.2	SOD 延长生命周期的组织特异性	67
4.5.3	SOD 延长生命周期的机理	67
4.6	Cu,Zn-SOD 的外显子基因与 Cu,Zn-SOD 分子结构的进化机制假说	67
	参考文献	69
5	SOD 的理化特点	70
5.1	SOD 全酶的相对分子质量及亚基相对分子质量	70
5.1.1	Cu,Zn-SOD 的相对分子质量、亚基数及铜锌含量	70
5.1.2	Mn-SOD 的相对分子质量及亚基相对分子质量	71
5.1.3	Fe-SOD 的相对分子质量及亚基的相对分子质量	72
5.2	SOD 的氨基酸组成及特点	73
5.2.1	Cu,Zn-SOD 的氨基酸组成及特点	73
5.2.2	Mn-SOD 的氨基酸组成及特点	76
5.2.3	Fe-SOD 的氨基酸组成及特点	77
5.2.4	EC-SOD 的氨基酸组成及特点	79
5.3	金属辅基与酶活性	79
5.4	SOD 的电泳性质	80
5.5	SOD 的光谱性质	82
5.5.1	Cu,Zn-SOD 的吸收光谱	82
5.5.2	Mn-SOD 的吸收光谱	84
5.5.3	Fe-SOD 的吸收光谱	85
5.6	电子顺磁共振(EPR)波谱	86
5.7	SOD 的稳定性	87

5.7.1	变性剂和还原剂	87
5.7.2	SOD 的热稳定性	88
5.7.3	SOD 的 pH 稳定性	89
5.8	SOD 的特殊反应	90
5.8.1	对氯化物的敏感性	90
5.8.2	SOD 对 H_2O_2 的敏感性	90
5.8.3	氯仿-乙醇对 SOD 活性的影响	90
5.9	SOD 的活性保护与失活作用	90
5.9.1	糖类对 SOD 活性的保护	91
5.9.2	有机酸对 SOD 活性的影响	91
5.9.3	还原剂对 Cu, Zn-SOD 的失活和还原作用	91
5.9.4	SOD 与电离辐射	92
5.9.5	金属螯合作用	92
	参考文献	92
6	SOD 的化学修饰	94
6.1	设计酶化学修饰的注意点	94
6.2	酶化学修饰方法的选择	95
6.2.1	修饰反应专一性的控制	95
6.2.2	修饰程度和修饰部位的测定	97
6.2.3	化学修饰反应条件的控制	97
6.3	对 SOD 特殊氨基酸残基侧链基团的化学修饰	98
6.3.1	对精氨酸残基的修饰	98
6.3.2	对组氨酸残基的修饰	99
6.3.3	对半胱氨酸残基的修饰	99
6.4	对 SOD 非活性部位的赖氨酸残基的修饰	99
6.4.1	PEG 对 SOD 的修饰	99
6.4.2	多糖类物质对 SOD 的化学修饰	102
6.4.3	聚烯属羟基氧化物对 SOD 的化学修饰	102
6.5	SOD 化学修饰实例	104
6.5.1	PEG 修饰 SOD	104
6.5.2	低分子肝素(LMWH)修饰 SOD	104
6.5.3	牛血清白蛋白修饰 SOD	104
6.5.4	棕榈酸修饰 SOD	105
6.5.5	右旋糖酐对 SOD 的化学修饰	105
6.5.6	β -环糊精对 SOD 的化学修饰	105
6.6	修饰 SOD 的性质	106
6.6.1	在血液中的半衰期	106
6.6.2	修饰 SOD 的免疫原性	106
6.6.3	修饰 SOD 的抗炎活性	107
6.6.4	修饰 SOD 的膜通透能力	107

6.6.5	修饰 SOD 体内分布的改变	107
6.6.6	修饰 SOD 理化性质的改变	108
6.7	酶化学修饰动力学	108
6.7.1	Ray-Koshland 方法	109
6.7.2	邹承鲁作图法	109
6.7.3	酶化学修饰的动力学机制	117
6.7.4	酶活性修饰过程中底物反应动力学	119
6.8	超氧化物歧化酶化学修饰的展望	123
	参考文献	124
7	SOD 的分子生物学	127
7.1	Cu,Zn-SOD 的分子生物学	127
7.1.1	Cu,Zn-SOD 的基因特征	127
7.1.2	Cu,Zn-SOD 表达的调控	132
7.1.3	Cu,Zn-SOD 基因的克隆与表达	133
7.1.4	不同细胞定位的 Cu,Zn-SOD 基因结构差异	136
7.1.5	植物 SOD 基因的组织特异性表达	136
7.2	Mn-SOD 的分子生物学	137
7.2.1	人 Mn-SOD 的分子生物学特性	137
7.2.2	Mn-SOD 表达的调控	139
7.2.3	人 Mn-SOD 启动子的突变导致人 Mn-SOD 在癌细胞中表达减少	140
7.2.4	果蝇 Mn-SOD 基因特征	148
7.2.5	hMn-SOD 基因的克隆与表达	148
7.2.6	心脏缺血再灌注中,通过氧化还原信号传递将死亡信号转变成生存信号	149
7.3	EC-SOD 的分子生物学	154
7.3.1	人类 EC-SOD 的基因结构	154
7.3.2	EC-SOD 启动子的结构	154
7.3.3	EC-SOD 基因的调控	154
7.3.4	EC-SOD 转录和表达的调节	156
7.3.5	人 EC-SOD 基因的突变	157
7.3.6	hEC-SOD 的克隆与表达	157
7.4	Fe-SOD 的分子生物学	158
7.4.1	甲藻 Fe-SOD 的前导序列与在多细胞器中的定向转运分析	158
7.4.2	水稻圆锥花序 Fe-SOD	164
	参考文献	167
8	SOD 的药理与毒理活性	170
8.1	概述	170
8.2	SOD 的抗辐射作用	171
8.2.1	放射损伤及其分类	171
8.2.2	放射损伤的机制	173

8.2.3 SOD 对放射损伤的防护作用及其机制	175
8.3 SOD 与糖尿病的慢性并发症	176
8.3.1 糖尿病的慢性并发症(DCC)	176
8.3.2 氧化应激与 DCC	177
8.3.3 Mn-SOD 与 DCC 的关系	177
8.4 SOD 与肺病	179
8.4.1 氧化应激与肺病	179
8.4.2 肺组织中的 SOD	179
8.4.3 EC-SOD 与肺病	180
8.5 SOD 的抗炎作用	181
8.5.1 炎症	181
8.5.2 自由基与炎症	181
8.5.3 SOD 的抗炎作用	182
8.6 SOD 在缺血再灌注损伤中的作用	183
8.6.1 缺血再灌注与氧化应激	183
8.6.2 SOD 与缺血再灌注	185
8.7 SOD 在心血管疾病中的作用	186
8.7.1 心血管疾病的病理生理学	186
8.7.2 氧自由基与 CVD	188
8.7.3 SOD 与 CVD	189
8.8 SOD 在脑组织中的调控作用	189
8.9 SOD 对肿瘤的作用	189
8.9.1 自由基与肿瘤	189
8.9.2 SOD 与肿瘤	190
8.10 抗衰老及其他	190
8.10.1 SOD 抗衰老的作用	190
8.10.2 SOD 的其他药理活性	191
8.11 SOD 的毒理研究	192
参考文献	193
9 SOD 与氧自由基	198
9.1 氧自由基的种类和特性	198
9.1.1 自由基的性质	198
9.1.2 超氧阴离子自由基(O_2^-)	200
9.1.3 羟基自由基($\cdot OH$)	203
9.1.4 NO 自由基	205
9.1.5 过氧化氢	207
9.1.6 脂质过氧化	209
9.2 SOD 与氧自由基的关系	214
9.2.1 SOD 与自由基	214
9.2.2 氧自由基的相互作用	215

9.2.3	NO 、 O_2^- 与 SOD 的关系	217
9.3	自由基生物学	221
9.3.1	氧自由基在生物体内的作用	221
9.3.2	生物体内自由基的产生与清除	223
	参考文献	233
10	抗氧酶与天然抗氧剂	235
10.1	生物体内的重要抗氧酶	235
10.1.1	超氧化物歧化酶(SOD)	235
10.1.2	过氧化氢酶和过氧化物酶	236
10.1.3	谷胱甘肽过氧化物酶	238
10.1.4	谷胱甘肽转硫酶	241
10.1.5	其他过氧化物酶	243
10.1.6	过氧化氢酶与谷胱甘肽过氧化物酶的协同作用	245
10.2	天然抗氧剂	245
10.2.1	天然抗氧剂的分类	246
10.2.2	重要的天然抗氧剂	246
10.3	超氧化物还原酶(SOR)	253
10.3.1	SOR 的分子结构	253
10.3.2	SOR 催化作用的特点	255
10.3.3	SOR 催化作用的机制	256
10.3.4	SOR 的生物学意义	256
10.4	衰老与氧化损伤	256
10.4.1	衰老与氧化应激	256
10.4.2	热休克蛋白(Hsp)	257
10.4.3	衰老过程中氧化损伤产物的积累和酶的失活	258
10.4.4	衰老氧化损伤理论的含义	259
	参考文献	259
11	类 SOD 的结构与功能	262
11.1	类 SOD 的来源及其简易判别法	262
11.2	含 SOD 和类 SOD 的植物资源	262
11.3	天然类 SOD 活性化合物	265
11.3.1	大分子类 SOD 活性化合物	265
11.3.2	小分子类 SOD 活性化合物	266
11.4	海洋生物抗氧剂的研究与开发	268
11.4.1	大分子自由基清除剂	268
11.4.2	小分子天然抗氧剂	269
11.5	SOD 的模拟研究	270
11.5.1	SOD 的模拟研究现状	270
11.5.2	Cu 、 Zn -SOD 的模拟	275
11.5.3	Mn -SOD 的模拟	276

11.5.4	Fe-SOD 的模拟	276
11.5.5	SOD 的功能模拟	276
11.5.6	模拟类 SOD 活性化合物——胶束化合物	277
11.6	类 SOD 的活性测定	278
	参考文献	278
12	SOD 同工酶	281
12.1	同工酶的概念	281
12.1.1	同工酶形成的结构基础	281
12.1.2	同工酶的应用	285
12.2	同工酶的分离、纯化及鉴定	286
12.2.1	几种常用的分离和测定同工酶的方法	287
12.2.2	同工酶类型的鉴别	288
12.3	SOD 同工酶谱带的鉴定	290
12.3.1	实验方法	290
12.3.2	土豆伤愈组织的 SOD 同工酶	291
12.4	SOD 同工酶	292
12.4.1	SOD 同工酶的来源和分类	293
12.4.2	SOD 同工酶的研究和应用	295
	参考文献	297
13	SOD 活性的测定	300
13.1	直接法与间接法	301
13.1.1	直接法	301
13.1.2	间接法	301
13.2	最常用的 SOD 测活方法	302
13.2.1	黄嘌呤氧化酶-细胞色素 c 法 (McCord 法)	302
13.2.2	经典连苯三酚自氧化法 (改良 Marklund 法)	303
13.2.3	微量连苯三酚法 (325 nm 法)	305
13.2.4	黄嘌呤氧化酶-NBT 还原法	305
13.2.5	化学发光法	307
13.3	SOD 活性的一般测定方法	308
13.3.1	MTT 法	309
13.3.2	亚硝酸盐法	310
13.3.3	肾上腺素自氧化法	311
13.3.4	极谱氧电极法	312
13.3.5	氯化 NBT 还原法	313
13.3.6	盐酸羟胺发色法	316
13.3.7	羟多巴胺法	317
13.3.8	光化学法	318
13.3.9	免疫学方法	319
13.3.10	电泳法	321

13.4	Cu,Zn-SOD、Mn-SOD 和 Fe-SOD 的鉴别与活性测定	322
13.4.1	Mn-SOD 和 Cu,Zn-SOD 的鉴别	322
13.4.2	Fe-SOD 活性测定	324
13.5	SOD 测活方法的比较	325
13.5.1	SOD 三种测活方法的比较	325
13.5.2	建议在 SOD 测活方法中采用参照品方法	328
	参考文献	329
14	SOD 纯度的鉴定	331
14.1	根据 SOD 的比活鉴定	331
14.2	根据 SOD 的均一性鉴定	332
14.2.1	电泳分析法	332
14.2.2	高效凝胶色谱分析法	338
14.2.3	超速离心法	339
14.3	根据 SOD 某些特殊理化性质的鉴别法	340
14.3.1	根据金属离子含量的分析法	341
14.3.2	根据最大紫外吸收鉴别法	341
14.3.3	根据相对分子质量鉴别法	341
14.3.4	根据 SOD 的构象熔点温度鉴别法	342
14.3.5	末端分析法	343
	参考文献	347
15	SOD 的制备技术	348
15.1	SOD 分离纯化的一般原则	348
15.1.1	建立一个可靠和快速的测活方法	348
15.1.2	SOD 原料的选择	348
15.1.3	SOD 提取方法的选择	349
15.1.4	SOD 纯化方法的选择	351
15.2	SOD 分离纯化中的关键技术	363
15.2.1	SOD 原料的预处理	365
15.2.2	SOD 层析技术的选择	367
15.2.3	超滤技术	368
15.2.4	变复性技术	368
15.3	SOD 的制备技术(实例)	369
15.3.1	动物血 SOD 的制备技术	370
15.3.2	人肝 Mn-SOD 的制备方法	371
15.3.3	植物 SOD 的制备方法	371
15.3.4	微生物 SOD 的制备技术	373
15.3.5	基因重组人 SOD 的制备技术	376
	参考文献	381
16	SOD 在医药上的应用研究	385
16.1	自由基与疾病	385

16.1.1	自由基与环境污染	385
16.1.2	药物、毒物与自由基的关系	386
16.1.3	自由基与氧中毒	388
16.1.4	自由基与辐射损伤	388
16.1.5	自由基与衰老	389
16.1.6	自由基与癌	391
16.2	SOD 与疾病	393
16.2.1	SOD 与辐射防护	393
16.2.2	SOD 与自身免疫性疾病	397
16.2.3	SOD 与心血管疾病	399
16.2.4	SOD 与缺血再灌注	400
16.2.5	SOD 与肿瘤	402
16.3	SOD 临床应用的最新动态	404
16.3.1	动脉粥样硬化	404
16.3.2	糖尿病	405
16.3.3	慢性阻塞性肺疾病	406
16.3.4	关节病	407
16.3.5	肌萎缩性侧索硬化症	408
16.3.6	佩罗尼病	408
16.3.7	SOD 在眼疾防治上的应用	409
16.3.8	现代病的预防与治疗	410
16.3.9	呼吸窘迫综合征的早产儿	410
16.4	我国药用 SOD 的研究与进展	411
16.4.1	化学部分	411
16.4.2	药理、毒理部分	414
16.4.3	药代动力学研究	415
16.4.4	生物利用度研究	416
16.4.5	临床试验	416
	参考文献	418
17	SOD 在工业上的应用	420
17.1	SOD 在食品工业上的应用	420
17.1.1	SOD 在食品中的存在形式	420
17.1.2	SOD 的抗氧化作用	421
17.1.3	SOD 口服有效性的研究	421
17.1.4	提高蛋白质(酶)及肽类药物生物利用度的方法	426
17.2	SOD 在日化工业上的应用	428
17.2.1	SOD 在护肤品上的应用	429
17.2.2	SOD 对牙齿、口腔的保健作用	437
	参考文献	438

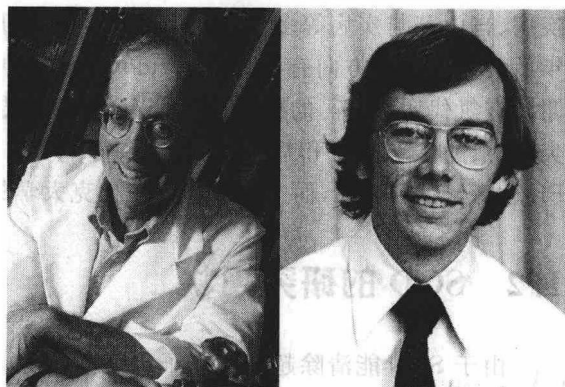
18 SOD 在农业上的应用	440
18.1 植物体内活性氧的形成及其作用	440
18.1.1 植物体内超氧阴离子(O_2^-)的形成及作用	441
18.1.2 植物体内过氧化氢(H_2O_2)的形成及作用	442
18.1.3 羟自由基($\cdot OH$)的形成机理	442
18.1.4 单线态氧(1O_2)的形成机理	442
18.1.5 活性氧在植物细胞中的作用	442
18.2 抗氧化酶与植物抗逆性的关系	443
18.2.1 SOD 与植物抗逆性的关系	443
18.2.2 过氧化氢酶(CAT)与植物抗逆性的关系	444
18.2.3 谷胱甘肽还原酶(GR)	444
18.2.4 抗坏血酸过氧化物酶(APx)	445
18.2.5 部分抗氧化剂的作用	445
18.2.6 环境对抗氧化的影响	447
18.2.7 植物抗氧化能力的基因工程	448
18.3 转基因植物	450
18.3.1 转 SOD 基因对农作物的抗逆研究	450
18.3.2 植物基因的转化方法	454
18.3.3 利用转基因植物生产生物药	460
18.4 动植物转 SOD 基因的制备方法	463
18.4.1 转基因动物 SOD 的制备方法	463
18.4.2 转基因植物 SOD 的制备方法	464
18.5 SOD 在果蔬上的应用	465
18.5.1 发展类 SOD 水果的原动力	465
18.5.2 类 SOD 水果的微生物学基础	465
18.5.3 类 SOD 产品的性能	466
18.5.4 类 SOD 水果及其功能	466
18.5.5 我国类 SOD 水果的生产现状	466
18.6 SOD 在农业上的应用前景	467
参考文献	469
附录 本书英文缩写一览表	473

1 SOD 的发现和进展

1.1 SOD 的发现

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是一种金属酶,是一种专一清除超氧阴离子自由基(O_2^-)的酶,它的发现、研究和应用极大地丰富了酶学的内容,促进了自由基医学和生物学的发展。

许多文献中都提到 McCord 和 Fridovich, 是他们在 1969 年发现了 SOD。其实不尽然, SOD 实际上早在 1930 年就已由 Keilin 和 Mann 发现, 不过在当时他们仅认为是一种蛋白质, 并命名为血铜蛋白(erythrocyte superoxide dismutase)。而 McCord 和 Fridovich 的功劳就在于发现这种蛋白质有酶的活性, 并正式命名为超氧化物歧化酶。



Irwin Fridovich

Joseph McCord

SOD 的发现过程蕴藏着许多有趣的故事。20 世纪 60 年代初在美国杜克(Duke)大学工作的 Fridovich 对黄嘌呤氧化酶(XO)特别感兴趣, 他对 XO 与细胞色素 c 的关系进行了深入研究, 认为 XO 将 O_2 还原成超氧阴离子自由基(O_2^-), O_2^- 与 XO 结合形成一个中间体, 抑制剂和细胞色素 c 都可与酶的同一位置相结合, 这是一种竞争性抑制剂。为了证实这种假设, Fridovich 将验证工作交给了新来的研究生 McCord。尽管 McCord 既聪明又勤奋, 工作十分努力, 但实验并不顺利, 得到的总是负结果, 多次失败使他产生了疑虑, McCord 开始怀疑导师的假设是否合理。1968 年 4 月 2 日, 他偶然发现了 XO/X(黄嘌呤)系统能使亚甲蓝还原。人们早知亚甲蓝可通过溶液把电子传至细胞色素 c, 这一发现启发他联想到 O_2^- 是否也像亚甲蓝那样能通过溶液将电子传递给细胞色素 c, 也就是说 O_2^- 并不是被酶束缚着的。于是 McCord 马上测定 K_m (米氏常数) 值, 奇迹出现了, 在 X 或细胞色素 c 浓度 10 倍于 XO 浓度时, X 的 K_m 值并不随着 XO 浓度变化而变化, 说明 XO 与细胞色素 c 及 O_2^- 不结合也不与其他物质作用, 这使他对 O_2^- 的作用方式有了突破性的认识。那么, 抑制剂究竟是直接与细胞色素 c 作用造成抑制还是通过催化作用消耗掉 O_2^- 而造成抑制呢? 前一种假设很快被否定, 因为实验中显示在抑制剂与细胞色素 c 的分子数比为 1:1 000 时仍产生抑制作用, 很显然后一种假设较为合理。但由于旧观念的束缚, 他们在投稿时有意隐瞒了这一点, 而是把抑制剂称为肌球蛋白, 仅在稿末附注中提到可能是一种酶。又过了 1 年即 1969 年, 经文献检索才得知, 原来这个所谓“肌球蛋白”早在 30 年前就已被发现和研究! 于是他们给这个蛋白质定名为 superoxide dismutase, 中文名译为超氧化物歧化酶, 这就是 SOD 发现的曲折过程。为此, 我们把导师 Fridovich 和他的学生 McCord 称为 SOD 的