



关于超氧化歧化酶研究进展



- 一、超氧化物歧化酶的来源、分布及种类
- 二、超氧化物歧化酶的结构、性质、作用机理及其基因的分子生物学
- 三、超氧化物歧化酶的活力测定和生理功能
- 四、超氧化物歧化酶的研究动态、开发应用及存在的问题

Superoxide Dismutase

- 简称**SOD** , **EC1. 5.1.1**
- 含不同金属离子的氧化还原酶
- 广泛存在于生物界

历史与发现

- **1938年，Mann he Keilin**首次从牛红细胞中分离出一种蓝色的含铜蛋白。当时并不知道它们的性质和作用，以为它是金属的储藏库。
-
- **1969年，Mccord和Fridovich**因其能催化超氧阴离子的歧化反应，而将其命名为超氧化物歧化酶。

■ 主要作用：专一地去除生物氧化中产生的超氧阴离子自由基。

■ 医药--- 预防或治疗由超氧阴离子自由基引起的多种疾病，是一种很有用途的酶。

■ 生物领域---抗病与抗衰老

■ 食品---功能性食品

一、SOD的来源、分布及种类

■ 1、来源与分布

- 广泛存于生物界的金属酶类，是生物体防御活性氧毒害的关键蛋白质。
- **Keele**等推测，在所有需氧细胞包括最简单的微生物体内，都可能含有。

- **1973年，Bell等发现厌氧菌硫酸还原菌中有SOD活力，以后在多种专性厌氧菌中都发现其存在，只是活力很低，不易检测。**
- **侯金泉等考察发现蚯蚓、葡萄、大蒜及一些保健饮料中含量丰富。**



- 迄今为止，人们已从细菌、真菌、原生植物、藻类、昆虫、植物、两栖动物和哺乳动物（有氧呼吸生物体内）中分离提纯得**SOD**。
- 含量最丰富的是动物的肝脏组织、血液。
- 含**SOD**较高的天然植物有大蒜，韭菜、大葱、油菜、柠檬和番茄等也含有。

- 微生物中**SOD**含量与该菌的需氧程度和耐氧能力有很大关系，一般菌体耐氧能力强，其**SOD**含量就高。
- 真核微生物的**SOD**含量高于原核生物，好氧微生物显著高于厌氧微生物。

2、分类

根据SOD所含金属辅基的不同，一般可将其分为**Cu/ZnSOD**、**MnSOD**、**FeSOD**三种类型。

- **Cu/ZnSOD**是真核生物酶。主要存在于真核细胞的细胞质和叶绿体的基质中，动物血肝、奶、植物叶、果等均含有。
- **MnSOD**和**FeSOD**是原核生物酶。**MnSOD**主要存在于原核细胞、真核细胞以线粒体基质中
- **FeSOD**主要存在于原核细胞及少数植物中。



■ 二、超氧化物歧化酶的结构、性质、作用机理及其基因的分子生物学

(一)、SOD的结构

- 1、Cu/ZnSOD
- 分子结构为二聚体或四聚体，亚基分子结构由 β -折叠组成，几乎没有 α -结构，分子量为32000-65000。
- 三维结构由2个基本相似的亚基组成的二聚体，每个亚基的分子量为16KD，150个氨基酸残基，含有一个铜原子和一个锌原子。两个相同亚基之间通过非共价键的疏水相互作用而缔合，类似于圆筒的端面。

Richardson 用 0.2 nm X-射线衍射晶体结构分析得到 Cu/Zn SOD 三维结构,指出 SOD 的活性部位是以 Cu 为中心的一个“疏水口袋”(见图 1)^[2]。

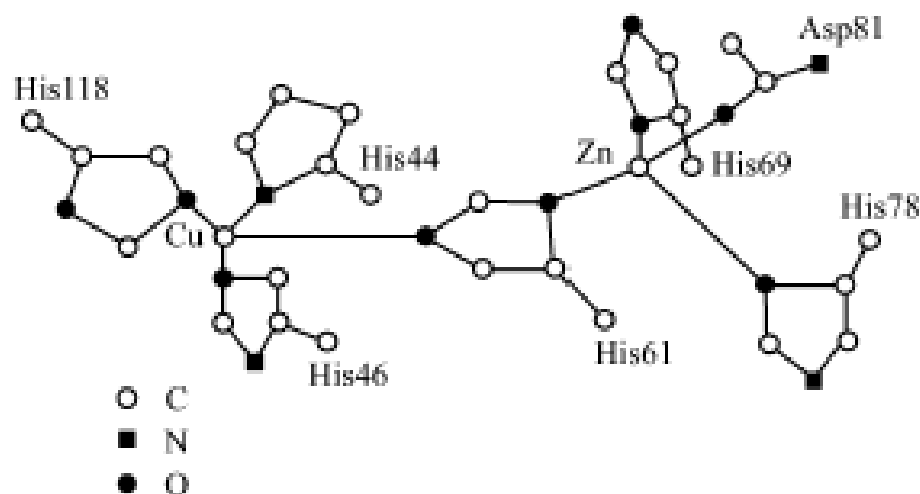


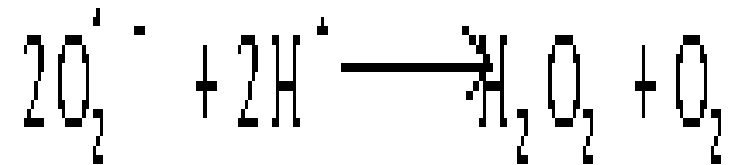
图 1 天然 Cu/Zn SOD 活性中心结构

2、 MnSOD和FeSOD

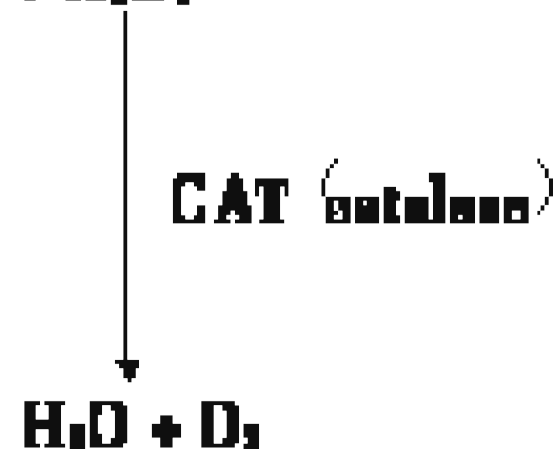
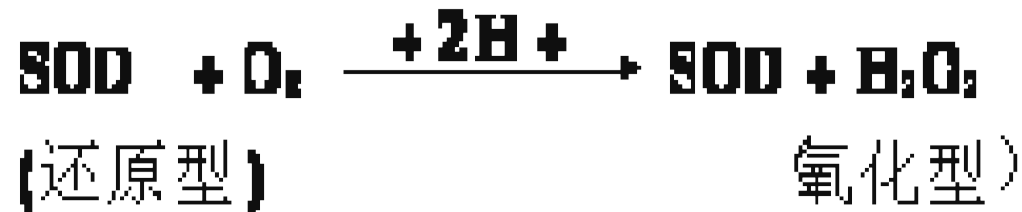
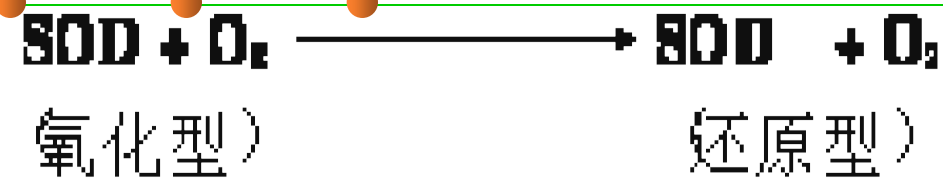
- MnSOD和FeSOD一般为二聚体或四聚体，每个亚基的分子量约为23KD，含0.5-1.0个Fe原子。
- 它们在空间结构上与Cu/ZnSOD不同，含有较高级度的 α -螺旋，而 β -折叠较少。

(二)、SOD的作用底物和作用机理

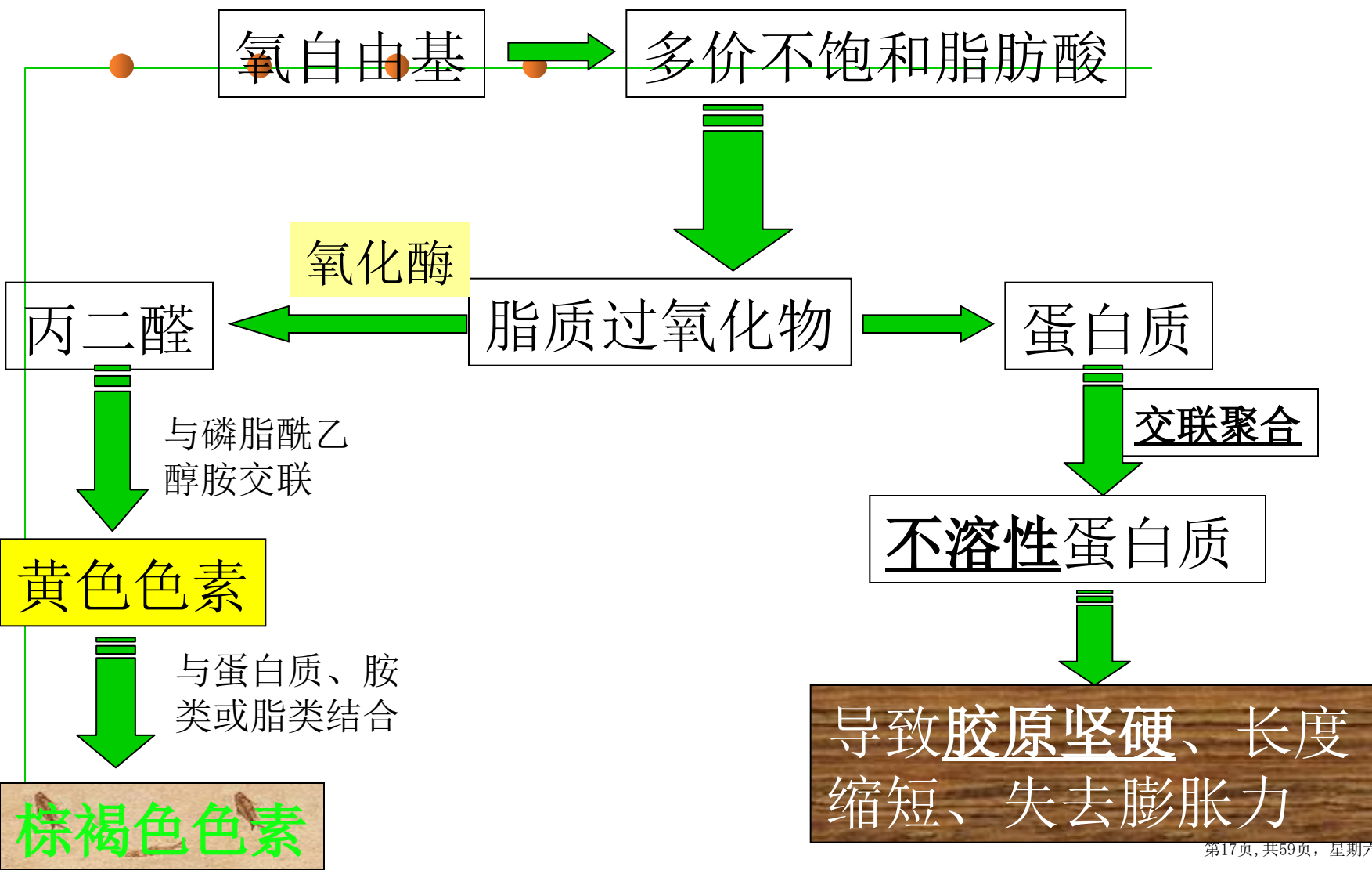
它的功能是催化超氧阴离子自由基歧化为过氧化氢和氧：



SOD 的作用底物是生物体内产生的超氧阴离子自由基 (O_2^-)，作用机理是：



皱纹和老年斑是如何产生的？



（三）、SOD的性质

■ 1、基本性质特征

- **MnSOD和FeSOD**性质相似，它们与**Cu/ZnSOD**在蛋白质一级结构，空间结构，分子量，光谱性质等方面差别较大。
- **Cu/ZnSOD**呈蓝绿色，分子中的铜为二价，紫外、可见特征吸收峰在**250nm、680nm**。

- **MnSOD**呈紫红色（粉红色），特征吸收峰在**280nm**、**475nm**。
- **FeSOD**呈褐色（黄），特征吸收峰在**280nm**、**350nm**。

2、热稳定性

- 对热表现出异常的稳定性。
- 在**55°C / 15~30分钟**，**60°C / 10~25分钟**或**65°C / 10~15分钟**的条件下，酶活性的变化不大。
- 加热至**75°C**时，其酶活性几乎不会丧失。
- 在离子强度非常低时，即使加热至**95°C**其酶活性丧失亦很小。

- 牛红细胞中Cu-Zn-SOD的 T_m 为83℃
- 室温下保藏9个月，酶活存留率为60%；
- 保藏一年为51.2%。
- SOD的热稳定性有种族差异，
- 如大鼠肝中的Mn-SOD不耐热，
- 但人肝和鸡肝的Mn-SOD却很耐热。

3、pH的影响

天然的Cu-Zn-SOD

- 在pH3.6时，95%的Zn会脱落，
- pH<6.0，Cu的结合位点要移动，
- pH>12.2时酶的构象会发生变化，
- 但总的来说，SOD对pH并不敏感，通常pH5.3~9.5范围内对酶活性影响不大

4、对氰化物、 H_2O_2 的敏感性

- Cu-Zn-SOD活力受KCN、 H_2O_2 抑制
- Mn-SOD活力不受KCN、 H_2O_2 抑制
- Fe-SOD活力不受KCN、受 H_2O_2 抑制
- 临床诊断
- 肿瘤细胞内的Mn-SOD 要比正常低得多

5、金属辅因子

- Cu-Zn-SOD中

Zn仅与酶分子的结构有关，而与催化活性无关，

Cu与催化活性有关，透析去Cu，酶活全部丧失，重新加入，活性恢复。

- Mn和Fe与Cu一样分别对Mn-SOD和Fe-SOD的催化活性具有作用。

6、变性剂和还原剂

- 变性剂：尿素、SDS和EDTA。

牛血SOD在含SDS、EDTA的6M尿素溶液加热活性丧失，但在8M尿素溶液中相当稳定。

- 还原剂：巯基乙醇导致酶活性的降低

巯基乙醇作用于-SH或二硫键，当加入后SOD就会解聚。这已在人、牛和麦胚中的Cu-Zn-SOD中得到证实。

7、电离辐射

- 电离辐射会产生超氧阴离子，SOD能清除超氧阴离子，SOD具有抗辐射作用。
- SOD通过辐照后，除酶本身活性降低外，许多理化性质如电子图谱、紫外吸收、电子核磁共振以及铜、锌的含量等都会改变。
- Mn-SOD和Fe-SOD经电离辐射后，金属辅助因子Mn和Fe会脱落，导致酶活性的丧失。

(四)、SOD基因的分子生物学

不同的物种以不同的形式编码 SOD, 有多基因家族也有单拷贝基因。此外不同细胞定位的 SOD 基因结构也存在区别。Fe-SOD 和 Mn-SOD 的基因来源于共同的祖先基因, 具有很高的同源性, 氨基酸序列非常相似, 差异仅几个氨基酸。Cu/Zn-SOD 的基因与 Fe-SOD 和 Mn-SOD 的基因有不同的祖先基因, 并且在进

化上高度保守。SOD 基因的突变可导致一系列异常生命现象的出现。如 1994 年就有人发现 SOD 基因的突变可导致家族性的运动神经元萎缩 (FALS)。近年来随着对 SOD 家族的深入研究表明人 Mn-SOD 是一个由位于 6 925 位基因编码的抗氧化酶，由于其紧挨着胶质细胞瘤、淋巴瘤、卵巢癌等多种肿瘤染色体畸变的频发部位，Bravard 等提出 Mn-SOD 是潜在的新型肿瘤抑制基因；Millikin 等研究表明 Mn-SOD 具有抑制

- 目前,在基因库中已经登记的**SOD** 基因已有上千个,来自各种微生物、动物和植物等,并
- 有多种**SOD** 已经在大肠杆菌、酵母等载体中得到表达,在植物中也得到多种**SOD** 的 cDNA 克隆并转化成功了不同的植株,获得了**SOD** 活性增强转基因植株。通过对转 **SOD** 基因种子的水培试验,发现转基因烟草植株能在叶绿体中过量表达**FeSOD** ,在叶绿体和线粒体中过量表达**MnSOD** ,其**SOD** 活性都比没经转化的对比植株高许多。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/178010021054006107>