

- 5 黄平等, 生物化学杂志, 1989;5(6): 461
- 6 鄂征, 组织培养技术, 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1988:128
- 7 朴长青等, 实验生物学报, 1985;18(4): 463
- 8 Pierson R W. *J Cell Physiol*, 1972; 79:319
- 9 Mollenberg M D. *PNAS*, 1973; 70:2964
- 10 Ewa M. *Biochem and Biophysiol Res Commun*, 1989; 163(1):649
- 11 Levi-Montalcini R. *TINS*, 1986; 9:473

亚铁盐诱发谷氨酸降解的自由基机理

李 忌 郑荣梁*

(兰州大学生物系, 兰州 730000)

关键词 亚铁离子, 谷氨酸, 自由基, 丙二醛类似物

铁是生物体中一种极为重要的金属元素, 但从铁蛋白释放的铁, 在特定情况下可诱发体内不饱和脂肪酸发生过氧化反应。Gutteridge 报道了离体实验中亚铁盐尚能降解几种常见氨基酸和糖^[1], 生成丙二醛(MDA)样物质, 因而可与硫代巴比妥酸(TBA) 发生反应, 生成粉红色产物。我们观察了亚铁盐诱发谷氨酸降解, 并对其自由基机理进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

谷氨酸购自上海试剂二厂; 过氧化氢酶 (CAT) 为 Sigma 公司产品, 超氧化物歧化酶 (SOD) 购自夏河生化制剂厂; 其它试剂均为分析纯。

1.2 亚铁盐对谷氨酸的降解

将要检测的试剂均溶于 0.1mol/L pH7.4 的磷酸缓冲液 (PBS) 中, 按浓度要求加到盛有 0.5 ml 10mmol/L 谷氨酸的离心管中, 然后向离心管中加入 0.1 ml FeSO_4 (10mmol/L)。谷氨酸和 FeSO_4 的终浓度分别为 4.5mmol/L 和 0.9mmol/L。37℃水浴中温育 15min, 对照组不加 FeSO_4 , 以等量 PBS 代替。

1.3 MDA 样物质的测定

向温育过的样品中加入 1ml TBA 溶液 (1%, 溶于 50 mmol/L NaOH 中), 然后加入 1 ml 36% 冰醋酸, 沸水浴 30min, 迅速冷却至室温, 3 000r/min 离心 10min, 于 532nm 测光密度。

2 结果与讨论

据 Gutteridge 报道, 亚铁盐所诱发谷氨酸降解的程度较强^[1], 我们的实验结果表明这种降解作用受到羟自由基清除剂二甲基亚砷 (DMSO), 苯甲酸和甘露醇, 以及抗氧化剂谷胱甘肽 (GSH) 和抗坏血酸的显

著抑制, 且表现出浓度依赖关系。(图 1)

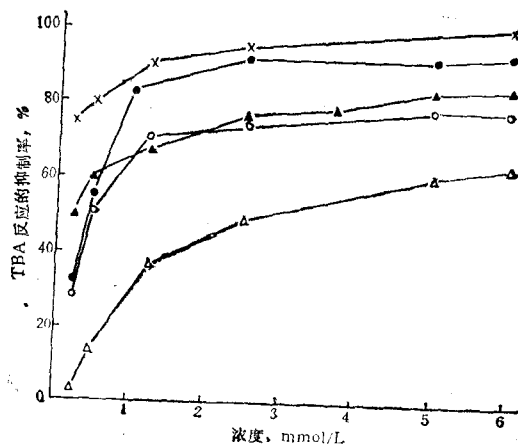
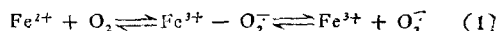


图 1 羟自由基清除剂和抗氧化剂对亚铁盐诱发谷氨酸降解的影响

×——二甲基亚砷 ●——抗坏血酸 ▼——苯甲酸
○——谷胱甘肽 △——甘露醇

CAT 对谷氨酸的降解也表现出抑制效应, 而 SOD 却稍促进降解。热灭活的 CAT 和 SOD 均无相应的效应。 H_2O_2 能十分强烈地促进降解。用氮气将该系统中的 O_2 除去后, 谷氨酸的降解程度明显减弱 (表 1)。

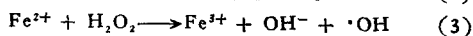
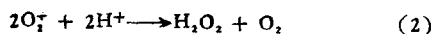
由以上结果我们可得出以下重要结论: 亚铁盐对谷氨酸的降解作用与羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 有关, 亚铁盐在非酶系统中诱发产生 $\cdot\text{OH}$ 的机理可表示为下列反应式:



* 通讯联系人

收稿日期: 1991-09-28

修回日期: 1991-11-04



除去系统中的 O_2 , 使得反应 (1) 受到抑制, 因此, 减弱了谷氨酸的降解。SOD 之所以对谷氨酸的降解

表 1 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢对谷氨酸降解的影响

	A_{532} $\bar{x} \pm \text{SD} (n=3)$	抑制率 (%)
对照(有氧)	0.294 ± 0.004	
+CAT(400U/mL)	0.105 ± 0.014	64 ³⁾
+CAT(失活)	0.300 ± 0.009	-2.0 ¹⁾
+SOD(66U/mL)	0.325 ± 0.007	-10.5 ²⁾
+SOD(失活)	0.288 ± 0.004	2.2 ¹⁾
+ H_2O_2 (6mmol/L)	0.440 ± 0.021	-49.7 ³⁾
对照(缺氧)	0.135 ± 0.011	54 ³⁾

与对照(有氧)比较: 1) $P > 0.05$, 2) $P < 0.05$, 3) $P < 0.01$

表现出一定的促进效应, 原因在于它能催化反应 (2) 的进行, 同时, 这也说明引起谷氨酸降解的不是超氧阴离子 (O_2^-), 而可能是羟自由基 ($\cdot\text{OH}$)。

向该系统中适当增加 H_2O_2 , 可促进反应 (3), $\cdot\text{OH}$ 的量相应增多。结果导致谷氨酸的降解加剧。反之, CAT 使 H_2O_2 减少, 进而减少了 $\cdot\text{OH}$ 的生成, 表现出 CAT 的保护作用。

本文提出的亚铁盐对谷氨酸的降解作用与其他作者提出的亚铁盐对核酸^[2]及糖类^[3,4]的损伤机理类似。

参 考 文 献

- 1 Gutteridge JMC. *FEBS Letters*, 1981; 128:343
- 2 Gutteridge JMC, Toeg D. *Int J Biochem*, 1982, 14:891
- 3 Halliwell B, Gutteridge JMC. *FEBS Letters*, 1981; 128:347
- 4 Gutteridge JMC. *Biochem J*, 1987; 243:709

《中国生化药物杂志》征订启事

《中国生化药物杂志》(原名《生化药物杂志》)为全国生化制药情报中心站编辑出版的学术性刊物, 创刊于 1976 年。本刊具有综合性、实用性和开拓性等特点, 可供生化制药工作者、科技人员、教学人员及医药卫生人员阅读。

本刊内容包括: 新生化药物(动物、植物、微生物及海洋生物等来源); 动物资源的利用; 生化药物剂型研究; 新工艺、新技术、新材料的应用及工艺改革; 先进生化制药设备和仪器的推广和应用, 开发生化制品的新途径; 生化药物的理化分析、药理学和临床医学; 生

化制药工业管理等。

本刊国内统一刊号: CW32-1355/R, 为季刊, 每期 3 元(含邮费), 全年 12 元。

征订方法:

1. 邮局汇款至全国生化制药情报中心站(江苏南京下关宝塔桥 168 号) 邮政编码: 210015

2. 银行汇款

开户银行: 南京工商银行城北办

南京生化制药研究所帐号: 1965-03525