

亚硒酸钠对小麦幼苗中谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶活性以及谷胱甘肽含量的影响

赵耀 吴珍龄* 杨盛山

西南农业大学农学与生命科学学院, 北碚 400716

提要 用 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚硒酸钠根施小麦幼苗, 测定亚硒酸钠对谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶活性以及还原性谷胱甘肽含量的结果表明, 外源亚硒酸钠对麦苗地上部的谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶活性均有诱导作用, 使麦苗体内的谷胱甘肽含量水平增加。

关键词 亚硒酸钠; 谷胱甘肽过氧化物酶; 谷胱甘肽转硫酶; 谷胱甘肽

Effects of Sodium Selenite on Glutathione Peroxidase and Glutathione S-transferase Activities and Glutathione Content in Wheat Seedlings

ZHAO Yao, WU Zhen-Ling*, YANG Sheng-Shan

College of Agronomy and Life Science, Southwest Agricultural University, Beibei 400716

Abstract The results showed that the glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, glutathione S-transferase (GST) activity and the glutathione (GSH) level in the wheat seedlings treated with exogenous Se were higher than that of the control seedlings.

Key words sodium selenite; glutathione peroxidase; glutathione S-transferase; glutathione

谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和谷胱甘肽转硫酶(glutathione S-transferase, GST)均以谷胱甘肽(glutathione, GSH)为底物。GSH-Px通常又称为硒谷胱甘肽过氧化物酶(Se-GSH-Px),其活性中心为硒代半胱氨酸(Se-Cys),主要的生物学作用是清除脂质氢过氧化物,并在过氧化氢酶含量很少或 H_2O_2 产量很低的组织中代替过氧化氢酶清除 H_2O_2 ^[1]。而GST通常又称之为不含硒的谷胱甘肽过氧化物酶(Non-Se-GSH-Px)^[2],其主要的生物学作用是可以与许多亲电性药物结合,起解毒作用,也有减轻脂类过氧化的作用^[3]。因此GST与Se-GSH-Px之间的关系应引起人们的重视。关于GSH-Px和GST的研究主要集中于动物和微生物,对植物的研究相对较少。本文研究外源亚硒酸钠对小麦幼苗GSH-Px和GST活性以及GSH含量的影响,以了解三者之间的关系。

材料与方法

小麦(*Triticum aestivum*)品种川麦107种子,

以75%乙醇消毒5 min,于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下浸种24 h, $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下催芽24 h,选取露白后1 d萌发均匀一致的种子,播于2层滤纸的培养皿(直径10 cm)中,每皿30粒。置于光照度3 000 lx,昼温 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,夜温 $(12 \pm 1)^\circ\text{C}$,每天12 h光照的培养箱中培养。前3 d用Hoagland完全培养液培养,第4天换用不同浓度 Na_2SeO_3 溶液根施麦苗,以蒸馏水培养为对照,继续培养3 d后,地上部分用于各项测定。每处理4次重复,测定时重复3次。

亚硒酸钠(Na_2SeO_3)为上海化学试剂厂生产,AR纯;二硫代硝基苯甲酸(DTNB),为美国Fluka公司生产,AR纯;放线菌素D(AMD)、环己亚胺(CHI)均为美国Sigma公司生产。

GSH-Px活性测定参照荣征星等^[4]和邓修惠等^[5]的DTNB显色法;GST活性和蛋白质含量测

收稿 2003-07-01 修定 2003-11-24

* 通讯作者(E-mail:wuzl@swau.edu.cn, Tel:023-68251330)。

定用南京建成生物工程研究所试剂盒的方法进行 [每 mg 蛋白在 37°C 反应 1 min, 扣除非酶促反应, 使反应体系中 GSH 浓度降低 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为 1 个酶活力单位, $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)]; GSH 测定参照 Ellman^[6] 和张宗申等^[7] 的 DTNB 显色法。

实验结果

1 Na_2SeO_3 处理浓度的筛选

GSH-Px 的活性中心含硒, 所以 Na_2SeO_3 与 Se-GSH-Px 的活性有直接关系。本文以 GSH-Px 的活性变化作为筛选 Na_2SeO_3 处理浓度的指标。Hoagland 营养液培养麦苗 3 d, 再换用 $0.25\sim 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Na_2SeO_3 处理 3 d 后, 测定其 GSH-Px 的活性。结果表明, 随着 Na_2SeO_3 浓度的加大, GSH-Px 活性增加, $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时活性达到最大, 浓度增至 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以后, 活性反而下降(表 1)。故本文选用 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为 Na_2SeO_3 处理浓度。

表 1 不同浓度 Na_2SeO_3 对麦苗 GSH-Px 活性的影响
Table 1 Effects of Na_2SeO_3 of different concentrations on the GSH-Px activity in wheat seedlings

Na_2SeO_3 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	GSH-Px活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$
0	1.702 ± 0.117
0.25	1.756 ± 0.087
0.5	1.879 ± 0.121
1.0	1.937 ± 0.106
2.0	1.782 ± 0.124
4.0	1.683 ± 0.098

2 Na_2SeO_3 对麦苗 GSH-Px 活性的影响

由图 1 可知, 施 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2SeO_3 后的 3 d 中, 麦苗 GSH-Px 活性有一定程度的提高, 表明 Na_2SeO_3 对 GSH-Px 有诱导作用。

3 Na_2SeO_3 对麦苗 GST 活性的影响

由图 2 可以看出, GST 的活性并不像 GSH-Px 那样随着培养时间的增加而增加, 而是下降。但以外源 Na_2SeO_3 处理后, GST 活性有所提高, 比对照 GSH-Px 提高明显。表明 Na_2SeO_3 对 GST 有较明显的诱导作用。

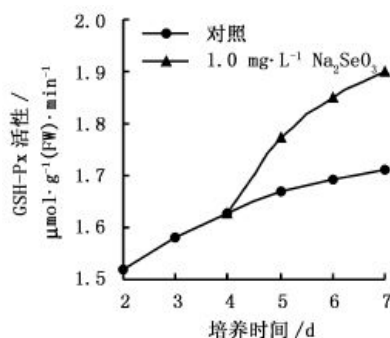


图 1 Na_2SeO_3 对麦苗 GSH-Px 活性的影响
Fig. 1 Effects of Na_2SeO_3 on GSH-Px activity in wheat seedlings

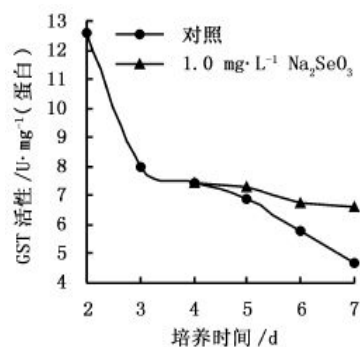


图 2 Na_2SeO_3 对麦苗 GST 活性的影响
Fig. 2 Effects of Na_2SeO_3 on the GST activity in wheat seedlings

4 Na_2SeO_3 对麦苗中 GSH 含量的影响

由图 3 可以看出, 麦苗 GSH 含量在第 2 天时极高, 可能是由于测定时麦苗较幼嫩, 单位质量内麦苗数相对较多所致。3 d 时急剧下降, 随后又逐渐升高。以 Na_2SeO_3 处理后, 其含量增高, 这

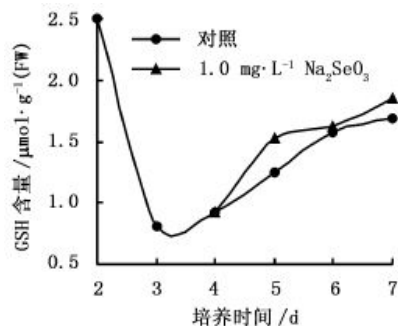
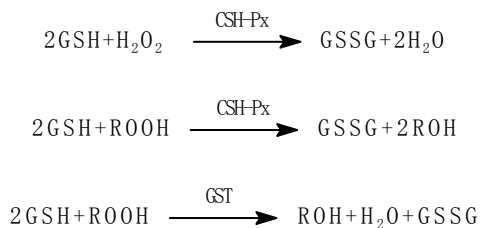


图 3 Na_2SeO_3 对麦苗 GSH 含量的影响
Fig. 3 Effects of Na_2SeO_3 on the GSH content in wheat seedlings

表明 Na_2SeO_3 对麦苗体内的 GSH 的含量亦有影响。

讨 论

谷胱甘肽过氧化物酶作为生物体内普遍存在的一种抗氧化酶, 从 20 世纪 60、70 年代就得到广泛的研究。它能将脂质过氧化物和 H_2O_2 还原成相应的醇和水, 并与维生素 E 协同作用, 阻止脂质过氧化的链式反应, 具有抗氧化功能, 可保护细胞膜免受过氧化物的刺激和损伤^[8]。谷胱甘肽转硫酶可以和许多亲电性药物结合发挥解毒作用。它不仅是生物体内重要的解毒酶素, 而且还具有 GSH-Px (非硒依赖性) 的活性, 可减轻脂质过氧化作用^[3]。而 GSH 作为两酶的作用底物, 在生物体抗氧化与解毒过程中同样有重要作用, 其参与的反应有:



本文结果表明: $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Na_2SeO_3 能提高麦苗 GSH-Px 和 GST 的活性, 增加 GSH 含量。GST 活性与 GSH-Px 活性不一样, 并不随着培养时间

的增加而增加, 反而下降。这暗示 GSH-Px 可能与 GST 之间存在某种动态平衡关系和协同作用。至于硒诱导 GSH-Px 合成的作用机制, 以及非硒依赖性的 GST 活性为什么会随硒处理时间的增加而增加的问题, 尚待进一步研究。

参考文献

- Ladenstein R, Epp O, Bartel K et al. Structure analysis and molecular model of the selenoenzyme: glutathione peroxidase of 2.8Å resolution. *J Mol Biol*, 1979, 134:199~218
- 方允中. 过氧化氢酶与过氧化物酶. 见: 方允中, 李文杰主编. 自由基与酶——基础理论及其在生物学和医学中的应用. 北京: 科学出版社, 1989. 126~146
- 方允中. 过氧化氢酶与过氧化物酶. 见: 方允中, 郑荣梁主编. 自由基生物学的理论和应用. 北京: 科学出版社, 2002. 213~232
- 荣征星, 刘慧中, 鲍景奇等. 小鼠全血中谷胱甘肽过氧化物酶活力的微量测定法. *生物化学与生物物理学进展*, 1994, 21(4):362~366
- 邓修惠, 黄学梅, 李伟道. 改良 DTNB 比色法测定血清 GSH-Px 活力. *重庆医学*, 2000, 29(5):445
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 1959, 82:70~77
- 张宗申, 利容千, 王建波. 外源 Ca^{2+} 预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、AsA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响. *植物生态学报*, 2001, 25(2):230~234
- Raddy K. Effects of dietary selenium and autoxidized lipids on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. *J Nutr*, 1974, 194:1069~1074