

动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展

张克烽 张子平** 陈芸 林鹏 王艺磊*

(集美大学水产学院 水产科学技术与食品安全省高校重点实验室 厦门 361021)

摘要 抗氧化系统是机体清除体内多余的活性氧、保护自身免受氧化损伤的重要体系,其中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等起主要作用。本文将对动物抗氧化系统中,超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶基因的种类、分布、结构及表达进行综述。

关键词: 抗氧化系统,超氧化物歧化酶基因,过氧化氢酶基因,谷胱甘肽过氧化物酶基因

中图分类号: Q751 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2007)02-153-08

Antioxidant Defense System in Animals

ZHANG Ke-Feng ZHANG Zi-Ping** CHEN Yun LIN Peng WANG Yi-Lei*

(The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The antioxidant defense system which eliminates unnecessary active oxygen is important for protecting the organism from oxidation damage. The major antioxidants include superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. This review has addressed the category, distribution, structure and expression of antioxidant genes.

Key words: Antioxidant defense system; Superoxide dismutase gene; Catalase gene; Glutathione peroxidase gene

需氧生物在氧化还原循环中往往产生大量的超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等活性氧。此外,酶促反应、电子传递及小分子自身氧化等细胞正常的代谢过程也会产生活性氧。活性氧是自由基的重要组成部分,少量的自由基是生物体所必需的,它们作为第二信使,对信号传导起重要的作用,影响基因的表达,但是自由基的性质极为活泼,过多的自由基如果不能被及时清除,它们将会攻击各种生物大分子,引起DNA损伤、酶失活、脂质过氧化等一系列氧化损伤,进而引起生物体各种生理病变^[1]。

生物体在长期的进化过程中,形成了一套完整的保护体系——抗氧化系统来清除体内多余的活性氧。抗氧化系统包括非酶类抗氧化剂和酶类抗氧化剂。非酶类抗氧化剂,主要有维

生素E、维生素C、谷胱甘肽、一氧化氮、 β -胡萝卜素等,酶类抗氧化剂,主要有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),过氧化氢酶(catalase, CAT)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等。SOD在清除活性氧反应过程中第一个发挥作用,它将超氧阴离子自由基快速歧化为过氧化氢和分子氧,过氧化氢在过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶的

基金项目: 福建省自然科学基金(No. B0510027),厦门大学海洋环境科学教育部重点实验室开放基金(No. MEL0402),福建省教育厅项目(No. JA004240),厦门市科技项目(No. 502Z20055024);

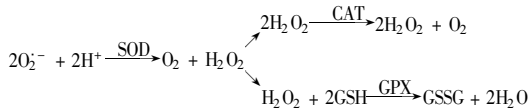
* 通讯作者, E-mail: ylwang@jmu.edu.cn;

第一作者介绍: 张克烽,男,硕士研究生,从事水产养殖与生物技术研究, E-mail: zhangkefeng21@sina.com

** 目前地址: 美国密歇根州立大学 水产与野生生物系。

收稿日期: 2006-08-23, 修回日期: 2006-12-30

作用下转化为水和分子氧。



(GSH 还原型谷胱甘肽 ;GSSG 氧化型谷胱甘肽)

因此 ,SOD、CAT 和 GPX 具有清除氧自由基、保护细胞免受氧化损伤的作用。由于抗氧化系统与生物体的免疫力密切相关 ,其各成分的活性或含量的变化往往与某些疾病有关 ,因此对于抗氧化系统中主要酶类基因的研究正日益受到重视。本文将对动物抗氧化系统中的主要抗氧化酶类基因 :超氧化物歧化酶基因 (*sod*)、过氧化氢酶基因(*cat*)及谷胱甘肽过氧化物酶基因(*gpx*)的种类、分布、结构和表达的研究进行综述。

1 超氧化物歧化酶基因(*sod*)

1.1 *sod* 基因的种类及分布

1938 年 Mann 和 Keilin 从牛(*Bos taurus*)血细胞中分离出血 Cu 蛋白。1969 年 ,McCord 和 Fridovich 发现血 Cu 蛋白具有将超氧阴离子催化成过氧化氢的功能 ,并正式命名为超氧化物歧化酶。

目前 ,已知的 *sod* 基因类型有 6 种 :*CuZnsod* 基因、*Mnsod* 基因、*Fesod* 基因、*Nisod* 基因、*MnFesod* 基因和 *FeZnsod* 基因。*CuZnsod* 基因主要存在于真核生物细胞中 ,少数原核细胞中也有存在(如光合细菌 *Photobacter leiognathi*、假单胞菌 *Pseudomonas diminuta*、嗜麦芽假单胞菌 *P. maltophila* 等)。*Mnsod* 基因主要存在于线粒体中 ,在甲壳类动物的细胞质中也有存在^[2]。*Fesod* 基因主要存在于原核生物和某些植物的叶绿体中。*Nisod* 基因^[3,4]、*MnFesod* 基因^[5]和 *FeZnsod* 基因^[4]目前已经分别在链霉菌 *Streptomyces* spp. 细胞质部分、*Pyrobaculum calidifontis* 及链霉菌 *Streptomyces coelicolor* 中发现。

1.2 *sod* 基因存在的形式和结构

sod 基因在不同物种中大部分是以多基因家族形式存在。如在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)中 ,有 *CuZnsod* 基因、线粒体 *Mnsod* 基因和细胞质

Mnsod 基因 3 种类型^[2,6,7]。不同细胞定位的 *sod* 基因结构也有所区别 ,如罗氏沼虾线粒体 *Mnsod* 基因含有一段编码 16 个氨基酸信号肽的序列 ,而细胞质 *Mnsod* 基因则没有。目前已经在人(*Homo sapiens*)^[8]、黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)^[9]、罗氏沼虾^[2,6,7]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[10]、真鲷(*Pagrus major*)^[11]、伪旋毛形线虫(*Trichinella pseudospiralis*)^[12]、杂色鲍(*Haliotis diversicolor supertexta* NCBI :DQ000610、AY449717)、近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis* NCBI :ABC68462)、斑马贝(*Dreissena polymorpha* NCBI :AAQ88164)、文蛤(*Ruditapes decussatus* NCBI :AAQ88163)和紫贻贝(*Mytilus edulis* NCBI :AJ581746)等物种中克隆到 *sod* 基因。

黑腹果蝇 *CuZnsod* 基因和人的 *Mnsod* 基因研究得较为深入 ,它们在基因定位和结构上均有较大的差异。黑腹果蝇的 *CuZnsod* 基因定位于 3 号染色体的左臂上 ,由两个外显子和一个内含子组成。在黑腹果蝇 6 个不同的种群中 ,外显子长度固定 ,分别为 66 bp 和 396 bp ,而内含子长度略有变化(708 ~ 783 bp)^[9]。该基因具有典型的真核生物的基因结构 ,在 5' 侧翼具有 TATA ,TATTTCT 和 CCCAAT 框等启动子的上游调控位点^[13] ,且内含子与外显子之间遵循 GT-AG 规则^[9]。人的 *Mnsod* 基因位于第 6 号染色体长臂 2 区 5 带^[8]。该基因是单拷贝基因 ,在细胞核编码而成 ,包含 5 个外显子和 4 个内含子。该基因内含子与外显子之间也严格遵循 GT-AG 规则 ,但是 *Mnsod* 基因 5' 侧翼序列中未发现上述的启动子调控位点 ,取而代之的是在其转录起始位点上游 400 bp 区段集中分布着 7 个转录因子 SP-1(promoter-selective transcription factor-1 5'-GGGCGG-3') 结合位点和 3 个转录因子 AP-2(activator protein-2 ,5'-CCGCGGGCG-3') 的结合位点。另外 3' 端还各含一个 SP-1 和 NFκB(nuclear factor kappa B)序列^[14]。这些异同点一方面说明了这两种基因作为同一多基因家族的成员在结构上具有一定的进化保守性 ,另一方面也表明它们在基因表达调控和具体功

能上具有明显的不同,这可能是造成它们在不同细胞器或物种中的存在或表达各有差异的原因。这将为今后的基因克隆和分析奠定良好的基础。

1.3 *sod* 基因的时空特异性表达 不同的 *sod* 基因表达具有组织和发育的特异性。Yuan 等研究了豚鼠(*Cavia porcellus*)不同组织中不同发育时期的抗氧化酶基因 *CuZnsod* 和 *Mnsod* mRNA 的表达水平。结果显示孕期末、出生前后和青春期的豚鼠中,这两种基因的表达方式显著不同,如肺中 *Mnsod* 基因 mRNA 在孕期末和出生前的表达水平增加,出生后降低。肝中 *Mnsod* 基因 mRNA 表达水平从孕期开始增加,一直持续到青春期。肺中 *CuZnsod* 基因 mRNA 的表达在怀孕后 50 d 达到最高水平,出生前迅速降低,在新生儿阶段一直保持较低水平。而肝中 *CuZnsod* 基因 mRNA 的表达水平在孕期不变,在出生后增加,一直持续到青春期,到青春期仍保持较高的水平。青春期的豚鼠 *CuZnsod* mRNA 的表达由强至弱顺序:肝 > 肾 > 肺 > 脾 > 心;*Mnsod* mRNA 表达在心脏中最高,其组织特异性表达顺序:心 > 肾 > 肝 > 肺 > 脾。说明在不同发育阶段 *CuZnsod* 和 *Mnsod* 发挥着不同的作用^[15]。

同一种 *sod* 基因,在不同的生活周期,基因的表达水平也不同。Wu 等克隆了旋旄毛形线虫细胞质的 *CuZnsod* 基因,并用实时定量 PCR 检测该基因的表达情况,结果表明,细胞质的 *CuZnsod* 基因在感染幼虫的表达水平比成虫高^[12]。同一 *sod* 基因在不同的组织的表达水平也不同。Gomez-Anduro 等克隆了凡纳滨对虾细胞质 *Mnsod* 基因(*cMnsod*),用 RT-PCR 检测细胞质 *Mnsod* 基因在血细胞、心、肝胰腺、肠、神经细胞、肌肉、附肢和鳃的表达,结果显示各器官具有不同的表达丰度。细胞质 *Mnsod* 基因在鳃和附肢最丰富,而在心和肌肉的表达最低^[10]。

1.4 *sod* 基因的诱导表达 病原菌感染能引起 *sod* 基因表达的改变。Gomez-Anduro 等用实时定量 PCR 检测白斑综合症病毒感染凡纳滨

对虾后,不同免疫时相细胞质的 *Mnsod* 基因 mRNA 的变化。感染 1 h 的细胞质 *Mnsod* 基因的转录水平显著高于对照组。然而,随着感染时间的延长,细胞质 *Mnsod* 基因的转录水平逐渐降低,感染 6 h 的时候,达到与对照组相同的水平,而感染 12 h 的时候,其转录水平已经显著低于对照组^[10]。Cheng 等用实时定量 PCR 检测感染格氏球菌的罗氏沼虾 *sod* 基因转录情况,研究发现线粒体 *Mnsod* 基因的表达在注射后 3~24 h 未见明显变化^[2];在感染后 3~6 h,*CuZnsod* 基因在血细胞的转录水平呈现增强的趋势,在肝胰腺的转录水平呈降低趋势^[6];细胞质 *Mnsod* 基因在肝胰腺的转录水平减少,但血细胞中的细胞质 *Mnsod* 基因在感染 3~24 h 后,转录水平未见变化^[7]。这些说明不同类型的 *sod* 基因在感染条件下,在不同的组织发挥不同的作用。

药物刺激对 *sod* 等抗氧化系统相关基因的表达也有影响。Pallavi 等利用链脲霉素诱导雄性褐家鼠(*Rattus norvegicus*)6 周后,肾皮质 SOD 总活力增加 32%,而 *CuZnsod* 基因 mRNA 水平增加了 35.68%。CAT 酶活力减少 42.53%,然而, *cat* 基因的转录水平不但没有减少反而增加了 33.28%,这表明酶活力的减少是在后翻译水平发生的;GPX 酶活力增加了 62.58%,而 *gpx* 基因 mRNA 水平增加 44.74%。GPX 酶活力的增加和 CAT 酶活力的减少暗示着在抗氧化酶与氧应激之间可能存在着某种互补机制^[16]。

生境的改变也能诱导 *sod* 基因的表达。Kaneko 等克隆了褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)的 *Mnsod* 基因,并研究了不同种群的轮虫在食物量受限制的不同生命周期 *Mnsod* 基因的表达,结果发现年龄较大的轮虫 *sod* 基因 mRNA 的表达水平较高^[17]。

1.5 *sod* 基因的体外表达 *sod* 基因可在酵母中实现表达。凌敏等研究了人 *Mnsod* 基因 cDNA 在巴斯德毕赤酵母中的表达。将 *Mnsod* 基因 cDNA 插入含有 *AOX1* 基因启动子和 α 分泌信号肽序列的毕赤酵母表达载体 pPIC9k,构

建重组质粒 pPIC9k-MnSOD, 转化毕赤酵母 GS115, 筛选出整合了多拷贝人 *Mnsod* 基因的 Mut^r + 表型菌株, 0.5% 甲醇诱导表达。SDS-PAGE 分析显示, 人 *Mnsod* 基因在巴斯德毕赤酵母中实现了分泌性表达^[18]。

陈春等采用定向克隆的方法将人 *CuZnsod* 的 cDNA 片段克隆到表达载体 pGEX-2T 上, 构建表达质粒 pGEX-SOD, SDS-PAGE 分析证实, 融合蛋白 GST-SOD 获得高效表达。亲和层析初步纯化后, 得到纯度达 90% 的目的蛋白。活性实验表明, GST-SOD 具有生物活性^[19]。

2 过氧化氢酶基因(*cat*)

2.1 *cat* 基因的种类和分布 过氧化氢酶普遍存在于原核生物和真核生物中^[20]。目前已知的 *cat* 基因有 *Mncat* 基因, *cat* 过氧化物(*cat-pod*) 基因和单功能血红素 *cat* 基因 3 种。单功能血红素 *cat* 基因又称为典型的 *cat* 基因, 主要存在于原核和真核生物的需氧组织。*cat-pod* 基因广泛存在于动植物组织中, *Mncat* 基因属于非典型的 *cat* 基因, 存在于栖热菌(*Thermus*) 株系 YS8-13 中。

2.2 *cat* 基因的结构 目前已克隆和分析了褐家鼠^[21]、人^[22]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[23]、凡纳滨对虾^[24]等物种中的 *cat* 基因。

在高等动物中, 褐家鼠 *cat* 基因含有 13 个外显子和 12 个内含子, 5' 调控区无典型的 TATA 盒结构, 但是含有多个 CCAAT 盒和 GC 盒, 在起始密码子上游 66 ~ 105 bp 处有多个转录起始位点^[21]。3' 调控区含有长的 AC 重复序列^[25]。该基因 cDNA 编码区长 1 581 bp, 编码 527 个氨基酸, 但不含将酶转入过氧化物酶体的信号肽^[25]。人 *cat* 基因与褐家鼠 *cat* 基因结构基本一致, 但 3' 调控区不含 AC 重复序列^[22]。有研究表明 3' 非编码区的 AC 重复序列与 5' 非编码区一茎环结构, 共同构成 mRNA 蛋白结合位点^[23]。该结构在鼠类和斑马鱼中都存在, 其功能是调节 mRNA 的表达水平还是增强 mRNA 稳定性, 有待进一步研究。另外, 人 *cat* 基因 mRNA 中不具有这一共同结构, 提示该结构不

是 *cat* 基因必须的。

在无脊椎动物中, 有关 *cat* 基因的信息很有限。Tavares-Sanchez 等从凡纳滨对虾中克隆了 *cat* 基因(AY518322), 其核苷酸序列全长是 1 692 bp, 3' 非编码区是 104 bp, 编码序列是 1 515 bp, 编码 505 个氨基酸, 与无脊椎动物、脊椎动物甚至细菌有很高的一致性^[24]。目前本实验室在杂色鲍(NCBI:DQ855089), 其他实验室在日本盘鲍(*H. discus discus*, NCBI:DQ530211) 红鲍(*H. rufescens*, NCBI:DQ087487) 大西洋舟螺(*Crepidula fornicata*, NCBI:DQ087480) 紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*, NCBI:AY580287) 地中海贻贝(*M. galloprovincialis*, NCBI:AY743716) 紫贻贝(NCBI:AY580271) 加州贻贝(*M. californianus*, NCBI:AY580259) 和黄殖翼柱头虫(*Ptychodera flava*, NCBI:AY580291) 等物种中克隆到了 *cat* 基因。

2.3 *cat* 基因在转录水平的表达 目前有关 *cat* 基因调控的报道主要集中在植物、细菌、哺乳动物^[26]。在啮齿动物中, *cat* 基因的表达具有明显的组织特异性。*cat* 基因表达水平最高的是肝、肾、血液, 而在脑的表达水平较低^[27]。在甲壳类中, 凡纳滨对虾^[23]的 *cat* 基因 mRNA 的转录水平也具有组织特异性, 在肝胰腺中表达水平最高, 鳃次之, 而在肌肉中未检测到 *cat* 基因 mRNA 的转录。*cat* 基因的表达也与发育时序相关, 如豚鼠肺中的 *cat* 基因 mRNA 表达水平在孕期末和出生前的表达水平增加, 出生后降低。而肝 *cat* 基因 mRNA 的表达水平在孕期不变, 出生后增加, 一直持续到青春期还保持很高的表达水平^[15]。另外, *cat* 基因可被过氧化氢诱导表达^[28]。关于不同环境胁迫下的 *cat* 基因的表达研究较少, 相关研究见本文 *sod* 基因部分。

3 谷胱甘肽过氧化物酶基因(*gpx*)

3.1 谷胱甘肽过氧化物酶基因种类和分布 目前已知的 GPX 有 7 种类型, 下述前 4 种蛋白含硒半胱氨酸, 后 3 种为不含硒半胱氨酸的蛋

白。

Mill 首次描述 GPX 酶活性,并推断其可通过氧化作用来保护红细胞避免溶解。该酶最初被命名为谷胱甘肽过氧化物酶,目前通常称 GPX1,也有学者将其称做细胞质 GPX 或细胞 GPX^[29]。在人(NCBI:NM_000581、NM201397) 卫氏并殖吸虫(*Paragonimus westermani* NCBI: DQ454159) 褐家鼠(NCBI:NM_008160、NM_053906) 牛(*Bos taurus* NCBI:NM_174076) 热带爪蟾(*Xenopus tropicalis* NCBI:NM_001016669) 等物种中已克隆获得 *gpx1* 基因的 DNA 或 cDNA 序列。

第二种 GPX 存在于细胞质中,为四聚体,称为胃肠型或 GPXG2,目前通常命名为 GPX2,其氨基酸序列与 GPX1 的相似性约 65%,而核苷酸序列的相似性约 60%^[29]。

GPX3 是从人的血浆中纯化得到的,GPX3 部分氨基酸序列及其 cDNA 序列与 GPX1 相比差异很大。现已克隆多个物种的 *gpx3* 基因 cDNA 序列,如褐家鼠(NCBI:NM008161、BA062227) 热带爪蟾(NCBI:NM203630) 人(NCBI:NM002084) 卷尾猴(*Cebus apella* NCBI:AB121009) 日本猕猴(*Macaca fuscata* NCBI:AB121008) 白掌长臂猿(*Hylobates lar* NCBI:AB121007) 猩猩(*Pongo pygmaeus* NCBI:AB121006)。 *gpx3* 基因的 mRNA 主要存在于肾,尤其是近端小管的表皮细胞中^[29]。

GPX4 又称磷脂氢过氧化物或 PHGPX。 Ursini 等 1982 年首先纯化出 GPX4 蛋白,并认为其是“过氧化反应抑制蛋白”^[29]。在人(NCBI:NM001039847、NM001039848、NM002085) 褐家鼠(NCBI:NM_017165) 等物种中 *gpx4* 基因的 cDNA 已被克隆出来。目前 *gpx4* 分为细胞质 *gpx4*、线粒体 *gpx4* 和核 *gpx4* 三种基因,它们是由不同的转录起点造成的。

gpx5 基因又称附睾特异的 *gpx5* 基因。*gpx5* 基因已经从褐家鼠(NCBI:XM574039、BC100749) 牛(NCBI:NM001025335) 马(*Equus caballus* NCBI: DQ058077) 猪(*Sus scrofa* NCBI:NM213886) 狗(*Canis familiaris* NCBI:AF045185) 黑猩猩(*Pan*

trogodytes NCBI:AY410488) 和人类(NCBI:NM003996) 等物种中克隆得到。

GPX6 在嗅觉系统的鲍曼氏腺中首次被发现。目前已经在褐家鼠(NCBI:BC013526、NM147165) 人(NCBI:NM182701) 猕猴(*M. mulatta* NCBI:BV208576) 中克隆到了相应的序列,它的氨基酸序列与 GPX1 的序列有 40% 的一致性,其生物学功能目前尚未确定^[29]。

无硒的 *gpx* 基因家族中的很多编码产物具有 GPX 活性的基因被认为是 GPX 第七类型的基因^[29]。目前已经在小家鼠(*Mus musculus* NCBI:NM_024198) 人(NCBI:BC032788) 等物种中克隆得到了这类基因。

贝类中有两种谷胱甘肽硫转移酶基因不同转录本,如日本盘鲍(DQ530212、DQ530213)。

3.2 *gpx* 基因的存在形式和结构 *gpx* 基因大多是以多基因家族的形式存在,如在猩猩中就存在着 *gpx1*、*gpx2*、*gpx3*、*gpx4* 四种类型的基因^[30]。*gpx* 基因家族中研究比较充分的是 *gpx4* 基因,其在不同物种中的结构有所不同。但仍有些基本结构是一致的,比如人、猪、小家鼠 *gpx4* 基因含有 7 个外显子、6 个内含子。外显子 1 中,存在着 2 个起始密码子。外显子 3 含有编码硒半胱氨酸(selenocysteine)的密码子(TGA),这种终止密码子和 SECIS(selenocysteine insertion sequence)结构也存在于外显子 7 中。而有些调控位点则因物种而异,这大概与基因在该物种中的表达调控有关。比如在小家鼠和猪的 *gpx4* 基因中,5'侧翼靠近帽子部位的 200 bp 具有中等的保守性(47% 的同源性),不具有典型真核生物启动子的上游调控位点,但含有 NFY(Y-box binding factor)、IK2(ikaros2)、SP1(stimulating protein 1)和 MZF1(myeloic zinc finger protein1)结合位点,且第一个外显子含有 NF-KB 和 SP1 的结合位点。在小家鼠 *gpx4* 基因 5'侧翼有一簇 3 个 GATA1(GATA1 binding protein)元件,而在猪的启动子只有一个 GATA1 元件。此外在小家鼠的外显子 1 和 3 中存在着 2 个 CREB 元件(cAMP response element binding protein),而猪的 *gpx4* 基因却不含有这 2 个元

件^[31, 32]。

Schwaab 等人的研究表明小家鼠的 *gpx3* 基因是单拷贝基因, 该基因含有 5 个外显子和 4 个内含子, 在第一个外显子的 +465 和 +531 处各有一个 ATG。在 +4999 至 +5004 处有个 AGTAAA 位点。第二、三、四个外显子的长度与 *gpx5* 基因的大小一致。这两个基因除了内含子大小不同外, 它们的主要差别是第一个外显子的大小和 5' 非翻译区的不同。在 *gpx3* 基因的 -57 至 -61 间有一个推测的 TATA 盒的序列 TTTAA, 在上游 167 处有个保守的 CAAT 盒。在该基因的启动子区和 3' 非翻译区有多个 CACC/GT 基序、EST 样结合位点及一个 GAT 型蛋白结合位点^[33]。

人的 *gpx2* 基因含有 2 个外显子和一个 2.6 kb 的内含子。有 3 个多态位点, 一个位点在内含子的 3' 末端, 含有 5 个重复的 TC。第二个多态位点在第一个外显子 5' 端, 该位点由一个单核苷酸变体组成 (TvA)。第三个多态位点也位于第一个外显子上, 随着该核苷酸的变化, 翻译产物也会发生改变, 形成相应的亮氨酸或精氨酸。在人胃肠中, 与该位点相应的翻译产物是亮氨酸。*gpx2* 基因的 5' 侧翼不具有典型的真核生物启动子上游调控位点, 即不含有 TATA 和 CCAAT 位点, 且 (G + C)% 含量不高 (< 50%), 但存在着 SPI、AP 系列转录位点, HNF-1, -3, -4 及 GATA 位点^[34]。在褐家鼠中有 2 个 *gpx2* 基因, 其中一个为假基因, 位于褐家鼠 7 号染色体 *Pcsk3* 和 *Hbb* 之间。另一个 *gpx2* 基因位于褐家鼠的 12 号染色体的 *D12Mit4* 和 *D12Mit5* 基因的中间部位, 靠近 *fos* 和 *Tgfb3* 位点^[35]。

人的 *gpx1* 基因 (NCBI :X13709) 的 cDNA 全长 819 bp, 编码序列从第六个碱基至 611 碱基处, 编码 201 个氨基酸。其基因组结构的研究未见报道。

3.3 *gpx* 基因的组织表达 不同的 *gpx* 基因在不同组织的表达不同。Fukuhara 等克隆了猩猩 *gpx1*、*gpx2*、*gpx3*、*gpx4* 基因。用 Northern 杂交分析了 *gpx2*、*gpx3*、*gpx4* 基因 mRNAs 在各种

组织的表达情况, 发现 *gpx2* 基因 mRNA 专门在胃和小肠表达, *gpx3* 基因在肾和肾上腺表达水平比较高, 在小脑、心、肺表达水平比较低, *gpx4* 基因 cDNA 在精巢表达水平比较高, 而在肺、心、小脑的表达比较低^[30]。这些结果表明 *gpx* 基因是在组织特异调控下表达的。

同种类型的基因在不同组织的表达也不同。Fukuhara 等的研究表明, 猩猩 *gpx1* 基因 mRNA 在肝、肾、肾上腺表达比较高^[36]。在鼠的各个器官中, *gpx6* 基因 mRNA 水平在肺中最高, 其次是肌肉、肝、眼睛、心、精巢、胸腺、肾、脾, 在脑的表达水平最低^[37]。通过 Northern 印迹观察 *gpx4* 基因 mRNA 在鼠科动物不同部位的表达, 发现在精巢 *gpx4* 基因的表达丰度最高, 随后依次是肾、心、骨骼肌、肝、脑、肺和脾^[38], 这些说明 *gpx* 基因的表达具有明显的组织特异性。

同一种基因在机体的不同发育阶段也是不同的。Lapointe 等用实时定量 RT-PCR 对牛输卵管 *gpx4* 基因的表达进行分析, 发现 *gpx4* 基因的表达在卵泡期和排卵后期最高^[39]。

3.4 硒对 *gpx* 基因的影响 硒是机体保持适当免疫力所必需的微量元素, 硒的缺少常常导致硒蛋白表达缺乏, 包括 mRNA 的稳定和蛋白的翻译。所有硒蛋白都对硒的调节作出相应的调节^[40]。硒的供给对不同基因表达影响是不一样的。一些硒蛋白基因对硒变化比其他物质更敏感。在 GPX 家族中, 在硒缺乏期间, GPX1 和 GPX3 的 mRNA 及蛋白将很快地被降解, 而 GPX2 和 GPX4 的 mRNA 及蛋白则对硒的变化具有很强的耐受性^[40]。老鼠 *gpx4* 基因的表达对硒的缺乏具有耐受的特点表明, *gpx4* 基因是物种生存所必需的。*gpx4* 基因在脑和精巢中高度表达, 以及缺乏 *gpx4* 基因的老鼠无法存活进一步证实这一观点^[41, 42]。*gpx2* 基因的表达对硒缺乏更具有耐受性表明 *gpx2* 基因在动物的生存中也发挥重要作用。

随着人们对抗氧化系统的重视, *sod*、*cat* 和 *gpx* 等基因不断在更多的物种被克隆出来, 同时随着生物技术的不断进步, 特别是基因芯片、

基因敲除和 RNAi 技术的成熟, *sod*、*cat* 和 *gpx* 等基因的结构和功能及其相互关系将会被全面认识, 这将为认识抗氧化系统的分子机制奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Li H J, Jae H B, Won S E, *et al.* Transduction of human catalase mediated by an HIV-1 tat protein basic domain and arginine-rich peptides into mammalian cells. *Free Radical Biology & Medicine* 2001 **31**(11):1 509 ~ 1 519.
- [2] Cheng W, Tung Y H, Chiou T T, *et al.* Cloning and characterisation of mitochondrial manganese superoxide dismutase (mtMnSOD) from the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish Shellfish Immunol* 2006 **21**(4):453 ~ 466.
- [3] Youn H D, Kim E J, Roe J H, *et al.* A novel nickel-containing superoxide dismutase from *Streptomyces* spp. *J Biochem* 1996 **318**(3):889 ~ 896.
- [4] Kim F, Kim H, Hah Y, *et al.* Differential expression of superoxide dismutases containing Ni and Fe/Zn in *Streptomyces coelicolor*. *Eur J Biochem* 1996 **241**:178 ~ 185.
- [5] Amo T, Atomi H, Imanka T. Biochemical properties and regulated gene expression of the superoxide dismutase from the facultatively aerobic hyperthermophile *Pyrobaculum calidifotis*. *J Bacteriology* 2003 **185** 6 340 ~ 6 347.
- [6] Cheng W, Tung Y H, Liu C H, *et al.* Molecular cloning and characterisation of copper/zinc superoxide dismutase (Cu /Zn-SOD) from the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish Shellfish Immunol* 2006 **21**(1):102 ~ 112.
- [7] Cheng W, Tung Y H, Liu C H, *et al.* Molecular cloning and characterisation of cytosolic manganese superoxide dismutase (cytMn-SOD) from the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish Shellfish Immunol* 2006 **20**(4):438 ~ 449.
- [8] Church S L, Grant J W, Meese E U, *et al.* Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (Mn-SOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence *in Situ* hybridization and somatic cell hybrid mapping. *Genomics* 1992 **14** 823 ~ 825.
- [9] Arhontaki K, Eliopoulos E, Goulielmos G, *et al.* Functional constraints of the Cu /Zn superoxide dismutase in species of the *Drosophila melanogaster* subgroup and phylogenetic analysis. *Journal of Molecular Evolution* 2002 **55**(6):745 ~ 756.
- [10] Gomez-Anduro G A, Barillas-Mury C V, Peregrino-Urate A B, *et al.* The cytosolic manganese superoxide dismutase from the shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular cloning and expression. *Dev Comp Immunol* 2006 **30**(10):893 ~ 900.
- [11] Ken C F, Weng D F, Duan K J, *et al.* Characterization of copper/zinc-superoxide dismutase from *Pagrus major* cDNA and enzyme stability. *J Agric Food Chem* 2002 **50**(4):784 ~ 789.
- [12] Wu W K, Mak C H, Ko R C. Cloning and characterization of the Cu/Zn superoxide dismutase of *Trichinella pseudospiralis*. *Parasitol Res* 2006 **98**(4):281 ~ 287.
- [13] Seto N, Hayashi S, Tener G M. Cloning, sequence analysis and chromosomal localization of the Cu-Zn superoxide dismutase gene of *Drosophila melanogaster*. *Gene* 1989 **75**(1):85 ~ 92.
- [14] Wan X S, Devalaraja M N, St Clair D K. Molecular structure and organization of human manganese superoxide dismutase gene. *DNA Cell Biol* 1995 **13**:127 ~ 136.
- [15] Yuan H T, Bingle C D, Kelly F J. Differential patterns of antioxidant enzyme mRNA expression in guinea pig lung and liver during development. *Biochim Biophys Acta* 1996 **1305**(3):163 ~ 171.
- [16] Limaye P V, Raghuram N, Sivakami S. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003 **243**(1-2):147 ~ 152.
- [17] Kaneko G, Yoshinaga T, Yanagawa Y, *et al.* Molecular characterization of Mn-superoxide and gene expression studies in dietary restricted *Brachionus plicatilis* rotifer. *Hydrobiologia* 2005 **546**:117 ~ 123.
- [18] 凌敏 赖祥进 谢科. Mn-SOD cDNA 的克隆及其在巴斯德毕赤酵母中的表达. *生物工程* 2005 **21**(3):478 ~ 481.
- [19] 陈春 陈躬瑞 刘树滔等. hCuZn-SOD 基因的克隆、表达及其产物的初步纯化和表征. *福州大学学报* 2004 **32**(6):763 ~ 768.
- [20] Tavares-Sanchez O L, Gomez-Anduro G A, Felipe-Ortega X, *et al.* Catalase from the white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*: molecular cloning and protein detection. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2004 **138**(4):331 ~ 337.
- [21] Nakashima H, Yamaoto M, Goto K, *et al.* Isolation and characterization of the rat catalase-encoding gene. *Gene* 1989 **79**(2):279 ~ 288.
- [22] Quan F, Korneluk R G, Tropak M B, *et al.* Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res* 1986 **14**(13):5 321 ~ 5 335.
- [23] Gerhard G S, Kauffman E J, Grundy M A. Molecular cloning and sequence analysis of the *Danio rerio* catalase gene. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2000 **127**(4):447 ~ 457.
- [24] Tavares-Sanchez O L, Gomez-Anduro G A, Felipe-Ortega X, *et al.* Catalase from the white shrimp *Penaeus (Litopenaeus)*

- vannamei*: molecular cloning and protein detection. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2004, **138**(4):331 ~ 337.
- [25] Furuta S ,Hayeshi H ,Hijikata M , *et al.* Complete nucleotide sequence of cDNA and deduced amino acid sequence of rat liver catalase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, **83**(2):313 ~ 317.
- [26] Glenn S. Gerhard ,Elizabeth J , *et al.* Molecular cloning and sequence analysis of the *Danio rerio* catalase gene. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2000, **127**:447 ~ 457.
- [27] Chen X ,Liang H ,Renmen H V , *et al.* Catalase transgenic mice : characterization and sensitivity to oxidative stress. *Archives of Biochemistry and Biophysics* , 2004 ,**422** :197 ~ 210.
- [28] Moreira S F ,Bailao A M ,Barbosa M S , *et al.* Monofunctional catalase P of *Paracoccidioides brasiliensis* : identification , characterization ,molecular cloning and expression analysis. *Yeast* 2004 **2**(2) :173 ~ 182.
- [29] Arthur J R. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci* , 2000 **57** :1 825 ~ 1 835.
- [30] Fukuhara R , Kageyama T. Tissue distribution , molecular cloning and gene expression of cytosolic glutathione peroxidase in Japanese monkey. *Zoolog Sci* 2003 **20**(7) 861 ~ 868.
- [31] Borchert A ,Schnurr K ,Thiele B J , *et al.* Cloning of the mouse phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase gene. *FEBS Lett* ,1999 **446**(2-3) 223 ~ 227.
- [32] Brigelius-Flohe R , Aumann K D , Blocker H , *et al.* Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA ,cDNA ,and deduced amino acid sequence. *J Biol Chem* , 1994 **269** :7 342 ~ 7 348.
- [33] Schwaab V ,Baud E ,Ghyselinck N , *et al.* Cloning of the mouse gene encoding plasma glutathione peroxidase : organization , sequence and chromosomal localization. *Gene* ,1995 **167**(1 - 2) 25 ~ 31.
- [34] Kelner M J ,Bagnell R D ,Montoya M A , *et al.* Structural organization of the human gastrointestinal glutathione peroxidase (*GPX2*) promoter and 3'-nontranscribed region : transcriptional response to exogenous redox agents. *Gene* , 2000 **248**(1 - 2) :109 ~ 116.
- [35] Chu F-F ,Steven E R ,Burmeister M. The mouse glutathione peroxidase *Gpx2* gene maps to chromosome 12 ; its pseudogene *Gpx2-ps* maps to chromosome 7. *Genomics* ,1996 **33** :516 ~ 518.
- [36] Fukuhara R , Kageyama T. Tissue distribution , molecular cloning and gene expression of cytosolic glutathione peroxidase in Japanese monkey. *Zoolog Sci* 2003 **20**(7) 861 ~ 868.
- [37] Singh A K ,Shichi H. A novel glutathione peroxidase in bovine eye. Sequence analysis ,mRNA level ,and translation. *J Biol Chem* ,1998 **273**(40) 26 171 ~ 26 178.
- [38] Knopp E A ,Arndt T L ,Eng K , *et al.* Murine phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase :cDNA sequence ,tissue expression and mapping. *Mamm Genome* ,1999 **10**(6) 601 ~ 605.
- [39] Lapointe J , Kimmins S , Maclaren L A , *et al.* Estrogen selectively up-regulates the phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase in the oviducts. *Endocrinology* ,2005 , **146**(6) 2 583 ~ 2 592.
- [40] Chu F-F ,Esworthy S R ,Doroshov J H. Role of Se-dependent glutathione peroxidases in gastrointestinal inflammation and cancer. *Free Radical Biology & Medicine* 2004 **36**(12) :1 481 ~ 1 495.
- [41] Maiorino M ,Scapin M ,Ursini F , *et al.* Distinct promoters determine alternative transcription of *gpx-4* into phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase variants. *J Biol Chem* 2003 **278**(36) 34 286 ~ 34 290.
- [42] Yant L J ,Ran Q ,Rao L , *et al.* The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radic Biol Med* ,2003 **34** (4) 496 ~ 502.