• 計畫中文名稱	微紅外線光譜儀探討多重有毒金屬干擾超氧化物歧化酵素的二級結構		
• 計畫英文名稱	The Secondary Structural Changes of Superoxide Dismutase Interfered by Multiple Heavy Metals by FT-IR Microspectroscopy		
• 系統編號	PA9508-0580	• 研究性質	基礎研究
• 計畫編號	NSC95-2113-M038-005	• 研究方式	學術補助
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 研究期間	9508 ~ 9607
• 執行機構	台北醫學院醫學系		
• 年度	95 年	• 研究經費	583 千元
• 研究領域	化學類		
• 研究人員	陳建志,周志銘		
• 中文關鍵字	--		
• 英文關鍵字	--		
• 中文摘要	銅鋅超氧化物歧化脢 Cu,Zn-SOD 蛋白質結合銅鋅兩金屬，結合能力受到環境毒物 影響，降低 Cu,Zn-SOD 蛋白質之活性，可能是百分之八十五到九十肌肉萎縮性側索硬 化症(Amylotrophic Lateral Sclerosis, ALS)偶發性(Sporadic, SALS)的致病原因。 本實驗室過去的研究發現重金屬鎘在 SOD 蛋白組合時，干擾同族及性質相近過渡 元素的銅鋅，造成活性下降，用於解釋環境因素產生的 SALS。從人類肝臟組織 cDNA 中，利用 RT-PCR 之技術，選殖出人類的 SOD1 基因。以大腸桿菌在 0.5 mM 的銅及鋅 濃度下過量表現最高酵素活性的 Cu,Zn-SOD，測定大腸桿菌對鎘之最大耐受度爲 500 nM。於 SDS-PAGE 與西方墨點法分析可見 23 kDa 之 Cu,Zn-SOD 之過量表現。鎘濃度 的提高，酵素活性隨之下降。利用石墨爐式原子吸收光譜儀，分析純化之 Cu,Zn-SOD 所含銅和鋅的變化，顯示隨著鎘濃度提高，每毫克之 Cu,Zn-SOD 之鎘的含量亦隨之增 高；相反的，鋅含量卻因鎘誘導金屬硫蛋白大量的表現，造成流失，但銅則無變化。因 此鎘金屬影響 Cu,Zn-SOD 蛋白質之活性降低,是經由影響鋅在 Cu,Zn-SOD 的結合力。 利用圓振二向色性分析(CD)二級結構變化,發現鎘會造成 α-helix 和 β-sheet 結構的減 少。 除了同族的元素外，汞或砷等會影響細胞的抗氧化狀態，亦改變 Cu,Zn-SOD 的活 性，也影響酵素結合銅鋅兩金屬能力。汞或砷濃度的提高，酵素活性隨之下降。利用感 應耦合電漿原子發散光譜儀(ICP)，分析純化之 Cu,Zn-SOD 所含金屬的變化，顯示隨著 汞或砷濃度提高，每毫克之 Cu,Zn-SOD 之汞或砷的含量亦隨之增高；相反的，銅含量 隨之減少，但鋅則無變化。因此汞或砷金屬影響 Cu,Zn-SOD 蛋白質之活性降低，是經 由影響銅在 Cu,Zn-SOD 的催化能力。利用 CD 分析二級結構變化，發現汞或砷亦會造成 α-helix 和 β-sheet 結構的減少。 我們假設多重金屬元素的污染會影響蛋白對		

	銅鋅的結合，進而影響 Cu,Zn-SOD 的 活性，初步結果顯示低濃度的鎘、汞及砷均會結合 SOD 分子，降低 SOD 的活性。蛋白 分子合成後的摺疊是一個熱力學上的步驟，當細胞面臨一個多重污染的環境下，分子可 能取捨金屬是一個重要的課題。姑論金屬污染也許是取代、競爭或隨機的結合，然而明 顯地，分子的二級結構 α-helix 和 β-sheet 的減少，造成活性的下降。研究金屬介入分子 二級結構的改變，是瞭解 SALS 很重要的基礎研究。 本研究的目的主要:利用大腸菌的 Cu,Zn-SOD 蛋白表現系統，觀察在汞、砷、銅、 鋅與鎘等多種金屬環境下，(1)以 ICP 檢測 SOD 分子內的金屬含量，及計算金屬的結合 強度及結合優先度，以金屬含量變化，推論金屬間是否競爭；(2)比較各 SOD 活性，推 測金屬介入分子的毒性；(3)以結構圓振二向色性分析儀及顯微鏡紅外線光譜儀分析不 同 M,M-SOD 的二級結構；(4)改變溫度及酸鹼值等因子，以顯微鏡紅外線光譜儀分析不 同 M,M-SOD 的結構變化，推測金屬介入分子內之可能機制。 關鍵詞: 萎縮性側索硬化症、銅鋅超氧化物歧化脢、重金屬、感應耦合電漿原子發 散光譜儀、圓振二向色性分析、微紅外線光譜儀
• 英文摘要	查無英文摘要