

# 植物 SOD 的基因表达、活性调节及抗逆作用研究进展

丁义峰 靳 萍 刘 萍\* (河南师范大学生命科学学院 新乡 453007)

**摘 要** 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是植物细胞清除氧自由基伤害的第一道防线,对于保护细胞免受氧化损伤有十分重要的作用。本文概述了植物 SOD 的基本性质、基因表达、活性调节以及与植物抗逆性的关系。

**关键词** SOD 基因表达 活性调节

1969 年,McCord 和 Fridovich 首先报道了超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的生物学功能,认为它是保卫植物细胞免受自由基伤害的第一道防线。SOD 能催化  $O_2^-$  形成  $H_2O_2$ ,故将其命名为超氧化物歧化酶<sup>[1-2]</sup>。

植物在正常的生长发育过程中,细胞内活性氧的产生和清除始终处于一种动态平衡。当植物受到各种不良环境的影响时,生物体中活性氧的产生大于活性氧的清除而使这种平衡被打破,结果导致细胞内活性氧急剧积累而使细胞受到胁迫。如极端温度(高温或低温)、大气污染( $SO_2$ 、臭氧)、重金属(镉、铅)、水分胁迫(旱害或涝害)、盐渍和衰老等胁迫均能导致细胞产生大量的活性氧,包括超氧阴离子( $O_2^-$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、羟自由基( $\cdot OH$ )等。SOD 是活性氧清除反应过程中发挥重要作用的抗氧化酶,能将  $O_2^-$  快速歧化为  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,生成的  $H_2O_2$  然后在过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶等的作用下进一步转变为  $H_2O$  和  $O_2$ ,使植物细胞免受  $O_2^-$  的氧化损伤。

## 1 植物 SOD 的分布和种类

SOD 几乎存在于所有好气组织的细胞的叶绿体、胞质、线粒体和过氧化物体中。SOD 是一种含金属的抗氧化酶,在植物界普遍存在而且具有多种类型。不同类型的 SOD 具有不同的分子量和氨基酸序列,且酶

活性中心的金属原子也不同。

以结合的金属种类的不同, SOD 可分为 Cu/Zn-SOD、Mn-SOD、Fe-SOD 和 Ni-SOD 4 种类型。Fe-SOD 是较原始的一种 SOD 类型,呈黄褐色,分子量在 42000 Da 左右;存在于较原始的生物类群中,如厌氧细菌梭状芽孢杆菌属、绿菌属和脱硫弧菌属,表明 Fe-SOD 出现于生命进化的早期。Mn-SOD 是在 Fe-SOD 基础上进化而来的,呈紫红色,分子量在 40000 Da (原核细胞中)或 80000 Da (真核细胞中)左右;主要存在于原核细胞和真核细胞的基质中;任何来源的 Mn-SOD 和 Fe-SOD 的一级结构同源性都很高,均不同于 Cu/Zn-SOD 的序列,证明它们来自同一个祖先。Cu/Zn-SOD 呈蓝绿色,分子量在 32000 Da 左右;主要存在于真核细胞的细胞质中;广泛存在于菠菜叶、豌豆、麦叶和刺梨等植物体内。Ni-SOD 是近年才发现的一种 SOD,主要存在于链霉菌中 *Streptomyces* spp. 和 *S. coelicolor* 中。

## 2 植物 SOD 的基因表达

不同类型的 SOD 具有各自特有的表达调控形式,其中 Cu/Zn-SOD 和 Fe-SOD 基因大多数属管家基因,其表达量一般较稳定,如微生物体内的 Fe-SOD 在整个生长阶段都比较稳定,当受到氧胁迫时才会提高表达量。而 Mn-SOD 基因则属于奢侈基因,一般是

只含极少量色素而不能为人眼察觉所致。

(本文属国家自然科学基金(No. 30972341)和重庆师范大学教改项目资助; \* 通讯作者)

## 主要参考文献

- [1] 温广宇,朱文学. 2003. 天然植物色素的提取与开发应用. 河南科技大学学报(农学版), 23 (2): 68 ~ 74
- [2] Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. The Plant Journal, 54 (4): 733 ~ 749
- [3] Stintzing FC, Carle R. 2007. Betalains emerging prospects for food scientists. Trends in Food Science and Technology, 18 (10): 514 ~ 525
- [4] Horbowicz M, Kosson R, Grzesiuk A, et al. 2008. Anthocyanins of

nutrition. Vegetable Crops Research Bulletin, 68 (1): 5 ~ 22

- [5] Archetti M. 2009. Decoupling vigour and quality in the autumn colours game: Weak individuals can signal, cheating can pay. Journal of Theoretical Biology, 256 (3): 479 ~ 484
- [6] Hughes NM, Morley CB, Smith WK. 2007. Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species. New Phytologist, 175 (4): 675 ~ 685
- [7] Oren-Shamir M. 2009. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? Plant Science, 177 (4): 310 ~ 316
- [8] Brockington SF, Walker RH, Glover BJ, et al. 2011. Complex pigment evolution in the Caryophyllales. New Phytologist, 190 (4): 854 ~ 864
- [9] Stafford HA. 1994. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. Plant Science, 101 (2): 61 ~ 68

在培养基中 Fe 不足时或者在培养基中加入 Mn 或 Fe 的螯合剂时才开始表达。

几种类型的 SOD 表达是相互补充的,当其中一种 SOD 表达受到抑制时(比如缺 Fe)其他类型的 SOD 表达量则会增加。当然,不同来源的 SOD 基因的表达调控有着不同的控制因子,原核生物常常与所生存的环境有直接的联系,而真核生物的调控条件则复杂得多,常常与不同的生长阶段有关。

### 3 植物体内 SOD 活性的调节

**3.1 植物发育对 SOD 的调节作用** SOD 活性受到植物发育的调节。Perl 等报道了番茄 SOD 基因受发育调节,并且对光敏感。在番茄的根尖、芽、幼叶和花蕾中, SOD mRNA 水平较高<sup>[3]</sup>。也有研究表明,Cu/Zn-SOD mRNA 在发育过程中保持不变,而 Mn-SOD 在发育过程中可被诱导表达。玉米在籽粒受精 10d 后 SOD 活性明显上升,其中 Mn-SOD 和 Cu/Zn-SOD 活性在籽粒发育过程中增加<sup>[4]</sup>。有人将烟草胞质的 Cu/Zn-SOD 的启动子与 GUS 基因相连形成嵌合基因来研究胞质 Cu/Zn-SOD 表达调控的分子机理,发现该 Cu/Zn-SOD 启动子不受 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和百草枯诱导,而受植物发育的调节,并且对不同环境胁迫产生反应。

**3.2 温度对 SOD 的调节作用** 不同温度对 SOD mRNA 水平也具有调节作用。胞质 Cu/Zn-SOD 在温度胁迫下反应最为敏感,它在热激和冷处理后的恢复生长中都被强烈诱导表达,而且不依赖光照。将发芽 3d 的玉米苗置于 4℃ 下,7d 后全部死去,但是预先经过 3d 的 14℃ 的冷锻炼后,再以 4℃ 处理 7d 后仍能存活。采用差异显示方法分离锻炼后的玉米苗特异表达的 cDNA,发现中胚轴中 cat3 基因的表达提高,但 SOD 活性并不受影响。同样地,小麦的幼苗经锻炼后,叶中的 SOD 活性也没有改变,但是将锻炼后的小麦在 4℃ 冷冻处理后,叶与根中的 SOD 活性比对照高,这可能是因为尽管锻炼处理阶段对 SOD 基因表达本身没有影响,但影响 SOD 基因表达的调控因子,因而在后来的冷处理阶段, SOD 活性水平上升。

**3.3 强光对 SOD 的调节作用** 早在 1991 年就有人报道了不同光处理下 SOD mRNA 的变化,反映了植物在胁迫下产生活性氧是适应性反应之一,并且可以反映出各细胞器中的氧化胁迫程度的大小。对绿色叶片和黄化苗中的不同 SOD mRNA 丰度的鉴定结果表明,光照后质体中的 Fe-SOD 活性受白光的强烈诱导,Tsang 认为与其说是光诱导倒不如说是光照条件下因电子渗漏而导致的氧化胁迫调节了叶绿体 Fe-SOD 的表达<sup>[5]</sup>。

波段紫外线)和臭氧对高等植物的毒害作用颇受研究者的关注。臭氧分子通过气孔进入叶肉细胞内,转变成 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、·OH 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,少量的可以激活植物体内的抗氧化系统(包括抗氧化酶与抗氧化剂成分)以消除活性氧带来的负面影响。Rao 的研究发现,用 UV-B 处理 5d 和臭氧处理 8d 后的拟南芥均有特异的 Cu/Zn-SOD 异构酶出现, SOD 的活性提高。而 Conklin 和 Last 却发现核编码的 Fe-SOD 的 mRNA 水平降低。还有研究发现 UV-B 处理导致烟草 Fe-SOD mRNA 和水稻叶绿体 Cu/Zn-SOD mRNA 水平下降。

### 4 SOD 转基因植物与抗逆性

如今,不同类型的 SOD 的基因已被导入到多种植物中, SOD 在转基因植株中的过量表达能不同程度地提高植物对环境胁迫的抵抗能力。Bowler 等将叶绿体特异的前导序列取代 Mn-SOD 基因的线粒体前导序列,然后将此融合基因转到烟草中, Mn-SOD 在叶绿体前导肽作用下进入叶绿体内并行使其功能,这种转基因烟草能够抵抗除草剂引起的氧胁迫<sup>[6]</sup>。Mn-SOD 的高表达可以提高植物对寒冷、干旱的抵抗力以及百草枯诱导的氧化胁迫<sup>[7]</sup>。转基因植株中 Fe-SOD 高表达可以提高植株对百草枯的耐受力及它们的御寒能力<sup>[8]</sup>。Cu/Zn-SOD 在转基因烟草植株中的高表达可以提高植株对氧化胁迫的耐受力<sup>[9]</sup>。转豌豆叶绿体 Cu/Zn-SOD 在烟草中的高表达可以提高植株对强光、低温的耐受力<sup>[10]</sup>。在转基因拟南芥中抗 miR398CSD2 的高表达会比正常情况下 CSD2 的表达产生更多的 CSD2 RNA,更能提高植株对高光强、重金属等逆境的抵抗力<sup>[11]</sup>。

(\* 通讯作者)

#### 主要参考文献

- [1] McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase, an enzymatic function for erythrocuprein. *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22): 6049 ~ 6055
- [2] Alscher RG, Erturk N, Heath LS. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53 (372): 1331 ~ 1341
- [3] Perl TR, Galun E. 1991. The tomato Cu, Zn superoxide dismutase genes are developmentally regulated and respond to light and stress. *Plant Molecular Biology*, 17 (4): 745 ~ 760
- [4] White JA, Scandalios JG. 1988. Isolation and characterization of a cDNA for mitochondrial manganese superoxide dismutase (SOD-3) of maize and its relation to other manganese superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 951 (1): 61 ~ 70
- [5] Tsang EW, Bowler C, Herouart D, et al. 1991. Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress. *Plant Cell*, 3 (8): 783 ~ 797

# 基于科学本质的特征开展生物科学史教学的探讨

李安静 (江苏省南京市第十三中学 210008) 汪 忠 (南京师范大学生命科学学院 210046)

**摘 要** 本文联系“探索遗传物质的过程”一节的教学阐述了生物科学史教学应着重引导学生深入思考科学家的工作过程,领悟科学家是如何发现问题、寻找证据、合理推理的,体验科学家不断深化对问题认识的过程,形成科学探索的精神,认识科学的本质。

**关键词** 科学本质 生物科学史教学 探讨

近年来,国际科学教育界大力倡导把科学史与科学哲学(history and philosophy of science,简称 HPS)纳入到中小学科学课程中,以期促进学生对科学本质的理解,帮助学生形成正确的科学本质观,培养他们的科学精神和创新能力,这是科学教育的一个重大的课程与教学问题。我国基础教育课程改革倡导提高学生的生物科学素养,其重要方面是“认识科学的本质”<sup>[1]</sup>。因为认识科学的本质不仅有助于学生更深刻地理解和运用科学知识,更恰当地学习和运用科学方法,也有助于学生形成科学精神。

笔者对苏教版高中生物学教材“探索遗传物质的过程”一节尝试基于科学本质的特征<sup>[2]</sup>开展生物科学史的教学,从教学目标制定、教学过程的设计和教学反思的展开三方面进行了探讨。

## 1 基于科学本质的特征制定教学目标

在“探索遗传物质的过程”一节中涉及生物科学史中几个经典的科学实验。这些实验从如下三方面体现了科学本质的特征,即:人类对遗传物质的认识是不断深化和完善的过程;科学实验技术的发展推动了研究的进展和完善;科学家在探索的过程中具有严谨的科学态度和大胆怀疑、不断创新的科学精神。据此,可结合学情,侧重从能力和情感目标的制定上凸显科学本质的特征。

**能力目标:**通过分析肺炎双球菌转化实验和噬菌体侵染细菌实验,探讨实验技术在证明 DNA 是遗传物质中的作用;通过分析证明 DNA 是遗传物质的实验设计思路,培养分析、比较、推理、归纳等科学思维能力和获取证据检验假说或修正理论的能力。

**情感目标:**认同科学实验技术的发展在探索遗传物质过程中的作用;认同人类对遗传物质的认识是不断深化和完善的过程;养成严谨的科学态度和唯物辩证观;形成质疑品质和创新精神。

## 2 基于科学本质的特征设计教学过程

增进科学本质认识的实施策略一般可以归纳为内隐途径和外显途径。其中,外显途径主要是指以科学史等去诠释科学本质,并通过课堂讨论、阅读资料等方式直接传达科学本质的讯息给学习者。教学中应着重引导学生深入思考科学家的工作过程,领悟科学家是如何发现问题、寻找证据、合理推理的,体验科学家不断深化对问题认识的过程,从而形成对科学本质的认识。为此,对本节的教学可设置如下环节:

**2.1 创设问题情境,激发学习兴趣** 在充分考虑教材编排体系和学生认知发展水平的基础上,从生物科学史上对于遗传物质的争执切入,创设问题情境:染色体的主要组成成分 DNA 和蛋白质何者是遗传物质?以诱发学生参与讨论,激发其对遗传物质探索的兴趣,发挥其主动性。因为培养学生的科学本质观不是向学生灌输某种观念,它的一个重要目的就是帮助学生理解科学知识本身,了解知识的产生过程、历史背景、存在的价值等。只有学生产生浓厚的探究热情,才能激发他们的怀疑精神,勇于批判和创新。

**2.2 依据实验现象,分析实验结果** 采用支架式的建构主义的教学方法,引导学生用问题解决法等主动建构对科学本质的认识。具体做法是,通过将科学家的实验(肺炎双球菌转化实验和噬菌体侵染细菌的实验)思路细化为若干有梯度的问题,逐步引导学生在自

tolerances. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43(1): 83 ~ 116

[7] McKersie BD, Bowley SR, Jones KS. 1999. Winter survival of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. Plant Physiology, 119(3): 839 ~ 848

[8] Van BF, Slooten L, Stassart JM, et al. 1999. Overproduction of Arabidopsis thaliana Fe-SOD confers oxidative stress tolerance to transgenic maize. Plant Cell Physiology, 40(5): 515 ~ 523

[9] Pitcher JH, Zilinskas RA. 1996. Overexpression of copper/zinc su-

resistance to ozone-induced foliar necrosis. Plant Physiology, 110(2): 583 ~ 588

[10] Gupta AS, Webb RP, Holaday AS, et al. 1993. Over-expression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress: Induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants. Plant Physiology, 103(4): 1067 ~ 1073

[11] Sunkar R, Kapoor A, Zhu JK. 2006. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in Arabidopsis is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress toler-