

杜醌诱导溶菌酶的光敏损伤研究

郝淑梅^{1,2} 张兆霞^{1,2} 朱红平^{1,2} 赵红卫¹ 葛敏^{1,2} 王文锋¹ 姚思德¹

¹ (中国科学院上海应用物理研究所 上海 201800)

² (中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 通过对溶菌酶活性的测量以及利用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 对光照后稳态产物的分析, 证实了紫外可见波段光照射下杜醌能够诱导溶菌酶的光敏损伤, 导致溶菌酶结构破坏和活性降低。研究发现, 溶菌酶的光敏损伤途径和损伤产物与杜醌浓度、光照时间、体系的气氛等密切相关, 在氮气条件下为 I 型光敏损伤机制, 在有氧条件下对溶菌酶的损伤是以 II 型反应为主的 I 型和 II 型协同作用的结果。同时考察了抗氧化剂-羟基肉桂酸类衍生物对溶菌酶的保护作用。

关键词 溶菌酶活性, 杜醌, 光敏损伤, 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶, 抗氧化剂

中图分类号 O644.12, Q518.4

醌类物质在有氧呼吸及光合作用的能量传递过程中起着重要作用。许多醌类物质亦具有其它生物活性, 一些外源性醌类衍生物作为抗生素或抗肿瘤药物已应用于医疗^[1]。杜醌(Duroquinone, DQ)是一种重要的光敏剂, 对其光化学性质及生化作用的研究文献[2]—[4]已有报道。在光激发下 DQ 能够产生激发态, 其激发单重态寿命仅为约 12ps, 与物质发生反应的几率很小, 但其具有较高的系间窜越系数($\Phi_{isc}=0.91$)^[5], 即 DQ 易从短寿命的激发单重态转化为较长寿命的激发三重态, 激发三重态寿命为 15 μ s^[6], 有较高的激发能和还原电位(2.17 V)^[7]。因此, DQ 有着丰富和复杂的光化学和光生物学性质。文献[8]—[9]报道了 DQ 作为电子受体, 可以逆转鱼藤酮等物质引起的大鼠肺氧耗量的减少。文献[10]的报道中指出通过呼吸抑制作用, 低剂量的 DQ (0.8—1.6 μ g $\cdot$ ml⁻¹)可以抑制 90%的幽门螺旋杆菌的生长。Zhou 等^[11]通过彗星电泳实验以及对授精率和孵化率的检测, 证实了在体内和体外实验中, DQ 的暴露均可以引起鲤鱼精子 DNA 的断裂, 授精率和孵化率的降低。相对于 DQ 对 DNA 的光敏损伤研究, DQ 光敏损伤蛋白质方面的研究要少得多。

光敏剂引起的光敏损伤一般认为有两种途径: 一是 I 型反应机制, 即光敏剂的激发态直接与底物发生电子或氢原子转移诱发底物的损伤; 二是 II 型反应机制, 即光敏剂激发态与基态氧发生激发能转移产生单线态氧或通过电子转移产生超氧阴离子自由基, 继而引发底物的损伤^[12]。光敏剂可与蛋白质

发生复杂的光化学反应, 攻击蛋白质引起结构和构象改变, 造成肽键的断裂^[13]、聚合与交联^[14,15]。但是由于蛋白质结构复杂, 种类繁多, DQ 光敏损伤蛋白质的机理仍知之甚少。事实上, 蛋白质约占细胞和组织干重的 68%, 因此蛋白质是光氧化损伤的主要靶分子之一。研究 DQ 对蛋白质损伤的光化学反应对于阐明光动力学机理具有非常重要的意义, 也是要进一步深入研究光敏剂 DQ 的临床应用前景所必须解决的问题。

本工作以溶菌酶(Lysozyme, Lyso)为模型, 研究光照条件下 DQ 对 Lyso 的光敏损伤。揭示了光敏损伤的时间、浓度和气氛效应, 并对反应机理进行了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 药品

DQ, 芥子酸(Sinapic acid), 阿魏酸(Ferulic acid), 咖啡酸(Caffeic acid), 绿原酸(Chlorogenic acid)和乙睛均购自 Sigma 试剂公司, Lyso(分子量为 14.6kDa)是 Fluka 公司产品。溶菌酶活性测试盒购自南京建成生物工程研究所。试剂使用前均未经进一步处理。实验溶液使用 Millipore 纯水新鲜配制。

1.2 实验装置与检测方法

本文实验采用 500W 的氙灯作为稳态光照光

国家自然科学基金(20373086、10675158)资助

第一作者: 郝淑梅, 女, 1981 年 10 月出生, 2004 年毕业于山西医科大学, 辐射化学专业, 现为中国科学院上海应用物理研究所在读硕士

通讯联系人: 王文锋

收稿日期: 初稿 2007-01-10, 修回 2007-03-09

源,通过圆孔引出的光透过注水的玻璃比色皿,聚焦到石英样品池上,样品的光辐照功率为 $300\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。经稳态光照处理的样品利用 Laemmli 方法进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),电泳结束后用考马斯亮蓝 G-250 染色,经甲醇-乙酸溶液脱色后,用 Bio-Rad 公司的 Quantity one 成像分析系统成像并分析结果,凝胶电泳仪型号为 Mini-PROTEIN[®] 3 Cell。紫外光谱仪为 U-3010 分光光度计,扫描速度为 $300\text{nm}\cdot\text{min}^{-1}$,狭缝宽度为 0.5nm 。

Lyso 活性用比浊法进行测定,原理为:Lyso 溶解黄微球菌,从而降低细菌悬液的浑浊度,利用分光光度计测定透光度的变化,结合下列公式可求出酶的活性。

$$U = (T_{\text{样品}} - T_{\text{空白}} / T_{\text{标准品}} - T_{\text{空白}}) \times U'$$

式中, $T_{\text{样品}}$, $T_{\text{空白}}$, $T_{\text{标准品}}$ 代表在黄微球菌溶液中分别加入样品、水、标准品后,体系在 530nm 处的透光率, U 和 U' 分别代表样品和标准品的活性。本文选择未经处理的 Lyso 为标准品(活性 100%),文中所给出的活性值均为与此标准品而言的相对活性。

2 实验结果

2.1 光照波长的选定

图 1 为测得的 DQ 溶液和 Lyso 溶液的吸收谱及稳态光照实验中所选波长范围。实验所用溶剂为磷酸缓冲液 (0.1mol/L , $\text{pH}=7.4$) 和乙睛 ($V:V$, $7:1$) 的混合体系。从图中可以看出, Lyso 在 310nm 以后的范围内无吸收。而 DQ 在可见光以及 UVA 波段主要在 346nm 处有吸收峰,主要为 $n-\pi^*$ 吸收^[16]。选用注水的玻璃比色皿进行光过滤既可以滤去波长小于 310nm 的紫外光以避免对蛋白质的直接损伤,同时又可以避免长波长的红外光引起的热效应。

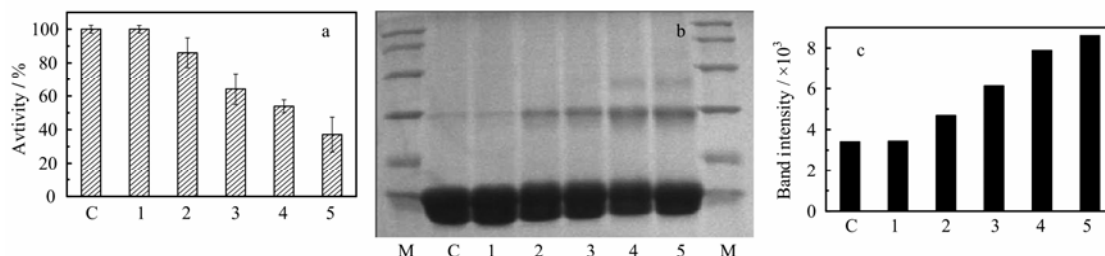


Fig.2 Lysozyme activity (a) and gel electrophoresis pattern (b) present the effect of irradiation time on the photodamage of Lyso. (c) shows the intensity of bands at 28-29kDa, The data represent the average of three different experiments. The solutions, which contained $5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso and $1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DQ, were irradiated for different time bubbled with air. C, control group; 1, 0; 2, 5min; 3, 15min; 4, 30min; 5, 60min; M, molecular weight marker (Increase from bottom to top: 14.4, 20.1, 31, 43, 66.2, 97.4kDa)

2.3 DQ 浓度的影响

图 3 为 $5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso 及不同浓度 DQ 的混

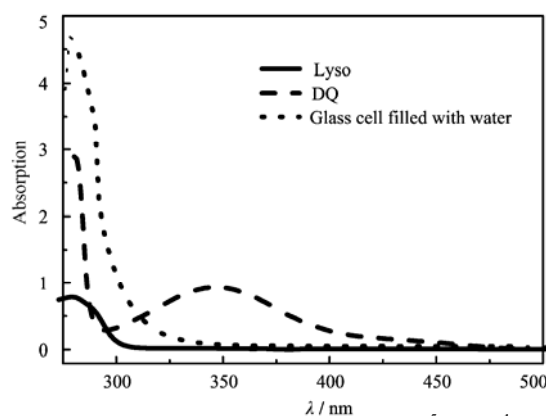


Fig.1 UV-Visible absorption spectra of $3\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso solution (solid), $3.3\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DQ solution (dash) and glass cell filled with water (dot)

2.2 光照时间的影响

图 2 为 $5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso 溶液及 DQ ($1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 Lyso ($5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的混合溶液分别在空气饱和条件下,光照不同时间后得到的活性测量结果和 SDS-PAGE 图。从实验结果可见,在非光照的情况下,加入 DQ(0min)并未造成溶菌酶活性或者结构的改变。光照组的活性结果显示:随着光照时间的延长, Lyso 的活性逐渐下降,说明蛋白质的结构发生了改变,并且损伤波及蛋白质的活性中心。从电泳结果可见,光照时间在 5min 以上,均在 28—29kDa 处出现大分子量的蛋白质片段,该片段恰好是 Lyso 分子量 14.6kDa 的两倍,说明是二聚产物。光照时间大于 30min 则在 38—39kDa 位置处出现第三条带,说明除交联反应外还发生了 Lyso 的断裂反应,断裂的小分子继续与二聚体或其它分子反应生成分子量为 38—39kDa 的产物。实验结果表明,在空气饱和的条件下, DQ 可以造成 Lyso 的结构和活性的损伤,随光照时间的延长,二聚产物条带强度逐渐增强, DQ 对 Lyso 的光敏损伤加剧,造成 Lyso 活性逐渐减弱。

合溶液在空气饱和条件下光照 60min 得到的活性和电泳结果。从实验结果可以看出, DQ 浓度在 1×10^{-5}

$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}-1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内, 随 DQ 浓度的增加 Lyso 活性逐渐降低, 电泳结果显示与活性改变相一致的结构变化。随 DQ 浓度的增加, Lyso 的含量逐渐减少, 在 28–29kDa 处出现的二聚产物条带强度逐渐增强, 证实了随 DQ 浓度增加 Lyso 的损伤加

剧。与光照时间效应相似, 损伤 Lyso 的 DQ 浓度效应进一步证实了 DQ 可以诱导 Lyso 的损伤, 并且在实验所给浓度范围内, 随着 DQ 浓度的增加损伤加剧, 对于其中的反应机理将在后面做进一步的探讨。

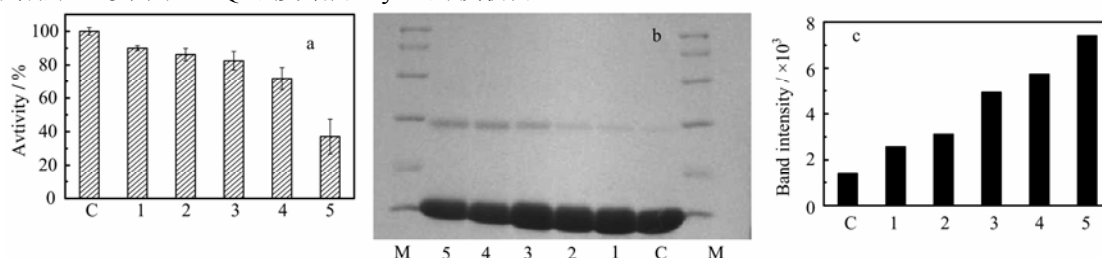


Fig.3 Lysozyme activity (a) and gel electrophoresis pattern (b) present the effect of concentration of DQ on the photodamage of Lyso. (c) shows the intensity of bands at 28-29kDa
The mixed solutions which contained $5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso and different concentration of DQ were irradiated with air bubbling for 60min. DQ concentrations in 1-5 are $0, 1\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}, 4\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}, 2\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and $1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; C, control group; M, molecular weight marker (Increase from 14.4, 20.1, 31, 43, 66.2 to 97.4kDa)

2.4 气氛的影响

上面的实验结果显示, 在光照的条件下, DQ 可以引起 Lyso 的结构和活性的光敏损伤, 且损伤程度与 DQ 的浓度和光照时间密切相关, 为了进一步对其损伤机理进行探讨, 考察了不同气氛下 DQ 对 Lyso 的损伤作用。

图 4 为 Lyso ($5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液及 DQ ($1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 Lyso ($5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的混合溶液分别在氮气 (N_2)、空气 (Air) 和氧气 (O_2) 饱和的条件下光照 60min 后, 得到的活性结果和 SDS-PAGE 图。实验结果表明, 上述溶液在不同气氛下光照, Lyso 活性均有减弱, 并有与之相对应的 Lyso 二聚产物甚至第三条带的出现。与不含 DQ 的空白实验对比, 在相同气氛条件下, DQ 的存在使 Lyso 活性明显下降, 二聚产物明显增加, 说明 DQ 会敏化 Lyso 的损

伤。在氮气饱和条件下 Lyso 也受到了光敏损伤, 但损伤程度相对最小, 比较不同气氛下 DQ 对 Lyso 的损伤程度为: $\text{Air} > \text{O}_2 > \text{N}_2$ 。说明氮气气氛下, DQ 通过 I 型光氧化反应直接造成 Lyso 结构和活性的损伤; 有氧条件下, 空气饱和时 Lyso 的损伤最严重, 并在 38–39kDa 处出现了明显的第三条带; 氧气饱和和下损伤程度次之。提示在一定的氧浓度下, 活性氧自由基可使 DQ 对 Lyso 的光敏损伤加剧, 但并不是氧气浓度越大损伤越明显。因此推测, 在有氧条件下, DQ 通过 I 型和 II 型反应机理的某种协同作用实现对 Lyso 的结构和活性的损伤, 协同作用的发生又与气氛中氧气的浓度密切相关, 一定量的氧气浓度有利于光敏损伤的实现, 氧气浓度过大, 反而不利于光敏损伤的实现。

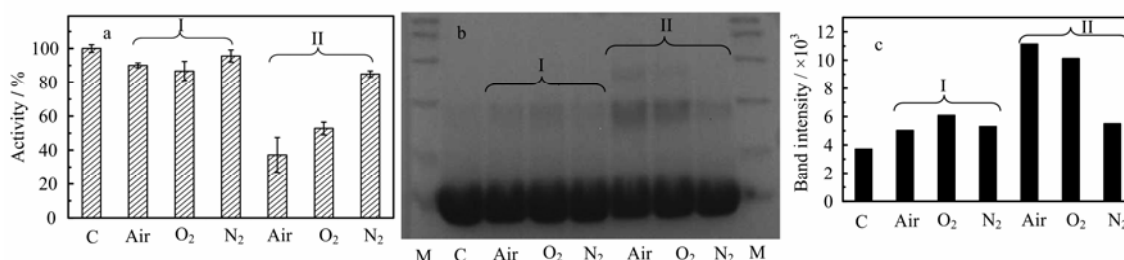


Fig.4 Lysozyme activity (a) and gel electrophoresis pattern (b) present the effect of different ambiances on the photodamage of Lyso caused by DQ. (c) shows the intensity of bands at 28-29kDa
Irradiated for 60min; I, $5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Lyso bubbled with N_2 , Air and O_2 , respectively; II, the solution containing DQ ($1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and Lyso ($5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) bubbled with N_2 , Air and O_2 , respectively. C, control group; M, molecular weight marker (Increase from 14.4, 20.1, 31, 43, 66.2 to 97.4kDa)

2.5 抗氧化剂的影响

$5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 芥子酸、阿魏酸、咖啡酸和绿原酸分别加入到 Lyso ($5\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 DQ ($1.5\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的混合溶液中, 在空气饱和条件下光照

60min, 所得到的活性和 SDS-PAGE 结果如图 5 所示。实验表明加入抗氧化剂后 Lyso 的活性降低明显受到抑制, 活性甚至可以保持在 90%以上。相应的

电泳结果显示, 在 28—29kDa 处的条带强度明显减弱, 甚至并未观察到第三条带的出现, 说明抗氧化

剂的加入有效地降低了 DQ 对 Lyso 的光敏损伤程度。

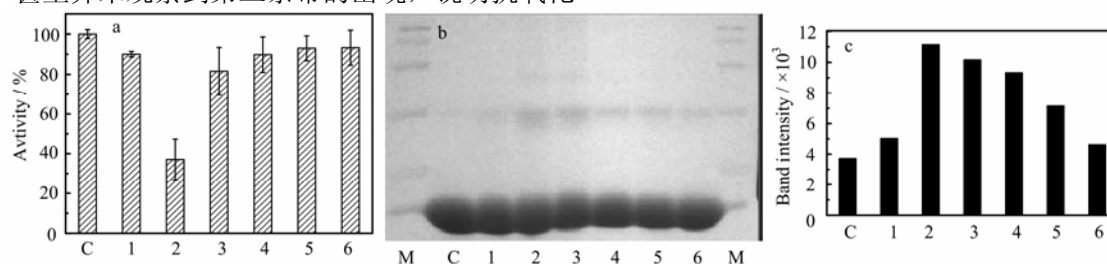


Fig.5 Lysozyme activity (a) and gel electrophoresis pattern (b) present the effect of antioxidants on the photodamage of Lyso by DQ. (c) shows the intensity of bands at 28-29 kDa

The mix solutions of $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Lyso and $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DQ with $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ antioxidant were irradiated for 60min bubbled with air. 1, $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Lyso 2, system without antioxidant; 3, system with antioxidant ferulic acid; 4, caffeic acid; 5, sinapic acid; 6, Chlorogenic acid; C, control group; M, molecular weight marker (Increase from 14.4, 20.1, 31, 43, 66.2 to 97.4kDa)

3 讨论

Lyso 是由 129 个氨基酸组成的单肽链蛋白酶, 其结构高度稳定。其中 3 个酪氨酸均位于分子的内部, 不易暴露在溶剂中, 对稳定 Lyso 的结构有非常重要的作用^[17]。6 个色氨酸, 其中 4 个在酶分子表层部位, 其余 2 个位于 Lyso 的活性中心部位, 参与 Lyso 的催化过程。

实验结果显示, 在氮气条件下, DQ 能够光敏损伤 Lyso。Lyso 在溶剂中 6 个色氨酸都会不同程度的暴露出来^[18], Lyso 结构中最易暴露的色氨酸残基是自由基攻击的主要目标之一, 文献中有报道 Lyso 中色氨酸残基被氧化后产生的自由基能够使两个色氨酸残基之间成键, 是蛋白质交联主要原因^[19]。DQ 三重态对色氨酸表现出很高的反应活性^[20], 因此推测在氮气条件下, DQ 光敏损伤 Lyso 的途径主要为 DQ 激发三重态直接与 Lyso 中的色氨酸残基反应造成的, 即 I 型反应机制。

当体系中有氧气参与时(体系中为空气或者氧气饱和), DQ 激发三重态与氧之间发生能量转移生成单线态氧, 后者可以有效地诱导 Lyso 的光氧化损伤^[18]。侧链上的不同氨基酸残基与单线态氧的反应速率和空间位阻的差别导致氨基酸的选择性损伤, 如单线态氧对色氨酸的反应速率高达 $4.1 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[21]。Lyso 中色氨酸残基不同程度地暴露在溶剂中, 使其成为单线态氧和 DQ 激发三重态攻击的主要目标, 反应产生的自由基能够使色氨酸之间成键, 这也是 Lyso 交联的原因之一。荧光实验显示, 光敏损伤的 Lyso 可以表现出相应的荧光减弱现象, 证实其中色氨酸残基受到了损伤^[18]。随着光照时间的延长、DQ 浓度的增大溶液中的自由基浓度增大, 促进蛋白质的交联反应。利用协同反应机理, 可以解释在氧气和空气条件下, DQ 光敏作用造成的 Lyso 活性降低的趋势不同。在氧气饱和的气氛中, 单线态氧的生成较空气中增加, 但体系中 I 型

反应的发生受到抑制, 因此氧气中 Lyso 活性的减小并没有在空气中显著。说明 DQ 对 Lyso 的光敏损伤是 I 型和 II 型反应协同作用的结果, 并与体系中的氧浓度密切相关。对比在氮气和氧气条件下 Lyso 的损伤可以看出, 在氧气条件下 Lyso 的活性降低更为明显, 二聚产物的生成也较氮气条件下增加, 说明 DQ 对 Lyso 的光敏损伤是 I 型和 II 型反应协同作用的结果, 并以 II 型反应为主。

Lyso 中其他类型的氨基酸残基(如组氨酸, 酪氨酸)也可以参与反应, 有文献报道在 pH=7.4 的环境下, DQ 激发三重态与组氨酸和酪氨酸均可发生反应, DQ 激发三重态与组氨酸的反应速率甚至超过了与其色氨酸的反应速率^[21]。本文实验中出现了 38—39kDa 位置处的第三条电泳条带(见图 2), 说明 DQ 对 Lyso 光敏损伤不仅造成了 Lyso 交联而且还使其发生了断裂, 断裂的小分子片段与二聚体结合产生了更高分子量的蛋白质片段^[13]。有关 DQ 光敏损伤造成 Lyso 的断裂位点需要进一步研究判断。

羟基肉桂酸类衍生物芥子酸、阿魏酸、咖啡酸和绿原酸的加入使 DQ 对 Lyso 的光敏损伤明显减弱, 即抗氧化剂起到了保护 Lyso 的作用。在有氧条件下, 四种抗氧化剂对 Lyso 的保护效果依次为绿原酸>芥子酸>咖啡酸>阿魏酸。文献[22]结果显示其对羟基自由基的清除能力为: 芥子酸>阿魏酸>咖啡酸>绿原酸, 对伽马射线辐照引起的蛋白质损伤的保护能力为: 阿魏酸>咖啡酸>芥子酸>绿原酸。这些结果提示抗氧化剂的保护能力是多重因素共同作用的结果, 包括抗氧化剂的结构, 对自由基的清除能力, 对损伤的修复能力, 与底物的结合能力, 与损伤位点之间结合的位阻效应等。文献[23]报道了此类抗氧化剂对单线态氧的淬灭作用, 抗氧化剂可以通过电荷转移反应猝灭单线态氧, 从而阻止对蛋白质的光敏损伤, 也可以通过与氨基酸之间的电子转移反应修复损伤的蛋白质^[24]。因此推测, 本实验中抗氧化剂既可以清除体系中的氧化性产物, 阻止其对蛋白

质的损伤, 又可以对损伤的蛋白质进行修复。羟基肉桂酸类衍生物的强抗氧化性揭示了其作为抗氧化剂在治疗和预防退行性疾病中可能的应用前景。

4 结论

在实验所选波长光照下, DQ 能够通过 II 型反应为主的 I 型和 II 型反应的协同作用, 选择性地损伤 Lyso 中的特定氨基酸如色氨酸和酪氨酸, 形成的自由基能够使氨基酸之间成键, 导致肽键的断裂、聚合与交联, 引起蛋白质结构和构象改变, 进而导致其活性的降低。Lyso 的损伤程度随 DQ 浓度的增大而增强, 随光照时间的延长而加剧。羟基肉桂酸类衍生物的加入有效地阻止了 Lyso 的双分子交联, 抑制了 DQ 光敏作用对 Lyso 造成的损伤。

致谢 河北科技大学生物科学与生物技术学院徐亲民教授, 周晓辉讲师对本研究工作给予无私帮助和指导, 在此表示衷心的感谢!

参考文献

- Schrier B, Peters M, Barentsz J, *et al.* Eur Urol, 2006, **49**(4): 698-703
- Scheerer R, Graetzel M. J Am Chem Soc, 1977, **99**(3): 865-871
- Wielburski A, Nelson B D. Fed Eur Biochem Soc Lett, 1978, **93**(1): 69-72
- Scaiano J C, Neta P. J Am Chem Soc, 1980, **102**(5): 1608-1611
- Bisby R H, Parker A W. Biochem Biophys Res Commun, 1998, **244**(1): 263-297
- Gorner H. J Phys Chem A, 2003, **107**(51): 11587-11595
- Bisby R H, Parker A W. J Am Chem Soc, 1995, **117**(21): 5664-5670
- Audi S H, Bongard R D, Krenz G S, *et al.* Am J Physiol.-Lung Cell Mol Physiol, 2005, **289**(5): 788-797
- Merker M P, Bongard R D, Krenz G S, *et al.* Free Radic Biol Med, 2004, **37**(1): 86-103
- Inatsu S, Ohsaki A, Nagata K. Antimicrob Agents Chemother, 2006, **50**(6): 2237-2239
- Zhou B S, Liu W H, Siu W H L, *et al.* Aquat Toxicol, 2006, **77**(2): 136-142
- Foote C S. Photochem Photobiol, 1991, **54**(5): 659-659
- Davies K J. J Biol Chem, 1987, **262**(20): 9895-9901
- Viteri G, Edwards A M, Silva E, *et al.* Photochem Photobiol, 2003, **77**(5): 535-540
- Zhang Z, Zhao H, Zhu H, *et al.* Sci China Ser B-Chem (in Chinese), 2007, **50**(1): 84-90
- Shinichi Nogaoka, Kazuhiko Ishihara. J Am Chem Soc. 1996, **118**(13): 7361-7366
- Blake C C F, Phillips D C, Sarma V R, *et al.* Nature, 1965, **206**(986): 757-761
- Edwards A M, Silva E. Radiat Environ Biophys, 1986, **25**(2): 113-122
- Silva E, Ugarte R, Andrade A, *et al.* J Photochem Photobiol B-Biol, 1994, **23**(1): 43-48
- Kaupp M. Biochemistry, 2002, **41**(9): 2895-2900
- Bisby R H, Morgan C G, Hamblett I, *et al.* J Phys Chem A, 1999, **103**(37): 7454-7459
- Zhu H P, Chen S M, Hao S M, *et al.* Biochim Biophys Acta-Gen Subj, 2006, **1760**(12): 1810-1818
- Foley S, Navaratnam S, McGarvey D J, *et al.* Free Radic Biol Med, 1999, **26**(9-10): 1202-1208
- Silva E, Jopia M, Edwards A M, *et al.* Photochem Photobiol, 2002, **75**(6): 585-590

Study on photooxidation damage of lysozyme induced by duroquinone

HAO Shumei^{1,2} ZHANG Zhaoxia^{1,2} ZHU Hongping^{1,2} ZHAO Hongwei¹
GE Min^{1,2} WANG Wenfeng¹ YAO Side¹

¹ (Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

² (Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

ABSTRACT The photooxidation damage of Lysozyme induced by duroquinone was studied by lysozyme activity analysis and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). It is suggested that the mechanisms and products of oxidative damage were relative to the concentration of duroquinone, the time of irradiation and the ambience. The type I process was considered in nitrogen saturated solution, whereas both type I and type II were involved in under aerobic atmosphere and type II was the dominant process. The study also indicates that antioxidants such as hydroxycinnamic acid derivatives can reduce the damage of lysozyme effectively.

KEYWORDS Lysozyme activity, Duroquinone, Photooxidation, Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), Antioxidant

CLC O644.12, Q518.4