

文章编号: 1005-8893 (2002) 03-0025-03

茶多酚与 DNA 相互作用的初步探讨^{*}

蔡志强¹, 韩金多², 李 亮¹, 李尔炆¹, 吴小伦³

(1. 江苏石油化工学院 生物工程实验室, 江苏 常州 213016; 2. 上饶农校, 江西 上饶 334000; 3. 珠海市出入境检验检疫局, 广东 珠海 519015)

摘要: 利用荧光探针溴化乙锭 (EB) 研究了茶多酚与 DNA 相互作用时其荧光光谱的变化。实验表明, 在实验质量浓度范围内, 茶多酚对 EB-DNA 体系的荧光强度的抑制率几乎成线性关系, 随它们质量浓度的增加, 抑制率也升高, 其半抑制质量浓度为 0.5 mg/mL; 茶多酚的荧光抑制率随质量浓度的变化不存在饱和性, 且抑制率可达 95% 以上。并对茶多酚与 DNA 分子相互作用的机理作了初步探讨。

关键词: 茶多酚; 脱氧核糖核酸; 荧光探针; 溴化乙锭

中图分类号: Q 615

文献标识码: A

荧光探针 EB 为一扁平分子, 和 DNA 一样仅有很弱的荧光, 当其以共价形式嵌入到 DNA 的平面碱基对之间后, 两者间发生能量传递^[1]。EB 吸收能量后, 荧光强度大大增强, 在 580 nm 附近有最大发射, 当加入某些物质后, 可造成 EB 的荧光强度下降。这样, 通过荧光检测可推断添加物与 DNA 作用的强弱。据此, 可为研究某些物质的生理活性或为药物应用和开发提供必要信息^[2]。茶多酚作为一种广泛使用的天然抗氧化剂, 具有极为显著清除自由基的能力^[3], 对 DNA 的氧化损伤具有较强的保护能力, 但 DNA 与茶多酚之间的相互作用机制很少有所研究, 本文就这方面问题作了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

实验材料为茶多酚 (纯度 99%, 批号: 991227)、小牛胸腺 DNA (Sigma 公司)、EB (Sigma 公司) 配制成 1.0×10^{-4} mol/L 的储备液, 避

光保存, 使用时稀释成所需的浓度、 1.0×10^{-2} mol/L 硝酸钾 (AR)、pH=6.2 的 0.05 mol/L 磷酸钠缓冲液 (PBS)。

分析仪器为 RF-5000 型荧光分光光度计, 日本岛津公司制造、电子天平, Made in Sartorius AG mode: BP190S、10~5 000 μ L 系列移液枪和连续加样器, Germany。

1.2 实验方法

用三蒸水将茶多酚配制成质量浓度为 1 mg/mL 的原液。在 1 mL 荧光杯中, 加入 25 μ g DNA 和 2 μ g EB, 再加入不同质量浓度的茶多酚材料, 不足部分用 10 mmol/L 硝酸钾溶液补足成 1 mL, 静置 10 min 后进行荧光强度的测定。

测试条件为: 狭缝 $E_x=5$ nm, $E_m=5$ nm, 激发波长为 520 nm, 扫描速度为中等速度, 混合液所发射的荧光 (EB 的荧光) 扫描范围为 550~720 nm, 测出不同条件下最大发射的荧光强度 I_a , I_b , I_c (在 580.8 nm 附近); 计算抗氧化剂抑制

EB 的荧光强度的抑制率公式为 $1 - \frac{I_c - I_a}{I_b - I_a}$, I_a 为

* 收稿日期: 2002-04-02

基金项目: 江苏石油化工学院科技基金资助

作者简介: 蔡志强 (1975-), 男, 江苏新沂人, 硕士, 主要从事生物化学与免疫分析方面的研究。

单纯 EB 在 580.8 nm 处的荧光强度, I_b 为不加抗氧化剂材料的 EB-DNA 体系在 580.8 nm 处的荧光强度, I_c 为加入抗氧化剂不同质量浓度后 EB 在 580.8 nm 处的荧光强度 (需经校正, 即再减去该质量浓度材料在 580.8 nm 处的荧光强度)

2 结果与讨论

不同质量浓度茶多酚处理对 EB-DNA 系统荧光特性的影响见图 1。

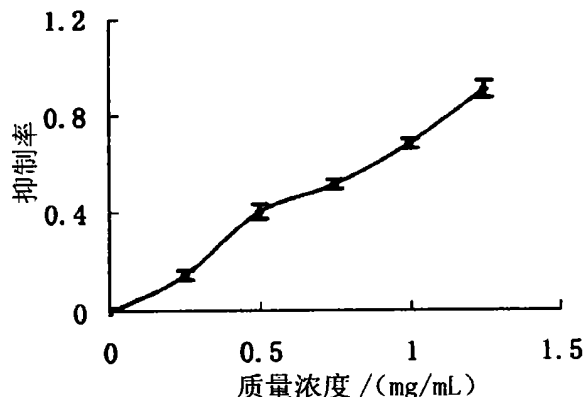


图 1 茶多酚对 EB-DNA 系统荧光特性的影响

图 1 表明, 在本实验质量浓度范围内, 茶多酚对 EB-DNA 体系的荧光强度的抑制率几乎成线性关系, 随它们质量浓度的增加, 其抑制率也升高; 1.25 mg/mL 的茶多酚质量浓度荧光强度抑制率可达 90% 左右。进一步研究还表明, 茶多酚的荧光抑制率随质量浓度的变化不存在饱和性, 且抑制率可达 95% 以上。

茶多酚与 EB-DNA 的作用, 可能存在两种作用的竞争, 即茶多酚分子对 DNA 的作用和 EB 分子对 DNA 的作用之间的竞争。

茶多酚分子的出现使 EB 结合到 DNA 的几率下降, 从而使 DNA 到 EB 的能量传递得以部分阻断, 最终导致荧光发射率降低。这样, 随着茶多酚分子质量浓度的增加, EB-DNA 体系的荧光发射率下降, 而且只要茶多酚分子质量浓度足够大, 这种荧光抑制率原则上可达到 100%^[3]。(我们的实验结果可达 95% 以上)。

图 2 所反应的实验事实, 是对上述解释——即两类分子有两种不同的 (与 EB-DNA 体系) 作用机制的一个旁证。参照上述实验方法, 茶多酚质量浓度 1 mg/L 恒定, ABCD 曲线各为含 EB 0、5、10、20 μ g 时, 茶多酚的荧光发射光谱 ($E_x = 329.6$ nm, E_m 的扫描范围 340~720 nm, 最大 E_m

为 448 nm (注: DNA 对茶多酚发射光谱无影响)。

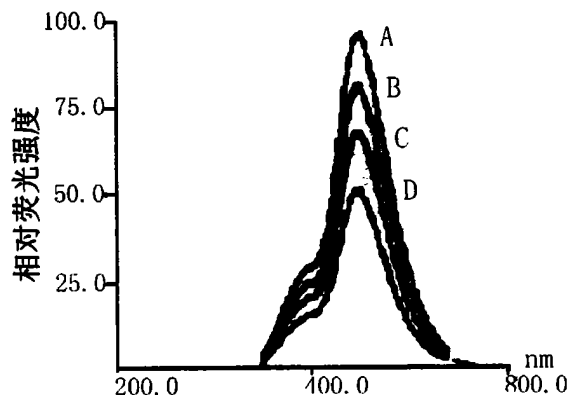


图 2 茶多酚与 EB 系统荧光特性

图 2 茶多酚的荧光光谱表明, 随 EB 的浓度增加, 茶多酚的峰值荧光强度随之下降低, 而不同 DNA 的浓度对其无影响。这意味着小分子类的茶多酚可能与 EB 竞争其在 DNA 分子上的结合位点, 将嵌插在 DNA 碱基对上的 EB 分子拉下来, 这样, 茶多酚的浓度越高, 结合在 DNA 上的 EB 分子就越少, DNA-EB 的荧光强度就越低。在一定浓度范围内荧光抑制率不存在饱和现象。我们其它实验同时证明, 小分子性质的银杏提取物和竹叶提取物的作用方式与茶多酚非常类似。

3 结 论

上述表明, 在本实验质量浓度范围内, 茶多酚对 EB-DNA 体系的荧光强度的抑制率几乎成线性关系, 随它们质量浓度的增加, 抑制率也升高, 其半抑制质量浓度为 0.5 mg/mL; 茶多酚的荧光抑制率随质量浓度的变化不存在饱和性, 且抑制率可达 95% 以上。

参考文献:

- [1] Cao En-hua, Liu Xiao-Qi, Wang Ju-Jun, et al. Effect of Natural Antioxidant Tanshinone II-A on DNA Damage by Lipid Peroxidation in Liver Cells [J]. Free Radical Biology & Medicine, 1996, 20 (6): 801-806.
- [2] 赵宝路. 氧自由基和天然抗氧化剂 [M]. 北京: 科学出版社, 1999. 286-300.
- [3] David S Sigman. Chemical Nucleases [J]. Biochemistry, 1990, 29: 9097-9105.

Preliminary Studies on Interaction of TP and DNA

CAI Zhi-qiang¹, HAN Jin-duo², LI Liang¹, LI Er-yang¹, WU Xiao-lun³

(1. Biochemistry Engineering Research Lab., Jiangsu Institute of Petrochemical Technology, Changzhou 213016, China; 2. Shangrao Agricultural Technical Secondary School, Shangrao 334000, China; 3. Zhuhai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhuhai 519015, China)

Abstracts: The changes of the fluorescent spectrum were studied by using Fluorescence Probe EB when TP and DNA interacted. The results showed: the inhibition rate of relative fluorescence intensity would rise when the concentration of TP was elevated, and their correlation was linear. The inhibition rate of relative fluorescence intensity at 1.25 mg/mL concentration was 0.902 for TP and the concentration of TP was approximately 0.5 mg/mL when the inhibition rate of relative fluorescence intensity was 50 percent. The inhibition rate of fluorescence intensity, which was treated with TP, was not saturated when the concentration varied, even above 95 percent. Meanwhile, the mechanism of interaction of TP and DNA had been discussed preliminarily.

Key words: Tea Polyphenols; DNA; fluorescence probe; Ethidium Bromide

简 讯

“一种低镍含量苯加氢催化剂及其制备方法”获国家发明专利

我院林西平教授负责开发的“一种低镍含量苯加氢催化剂及其制备方法”近日获国家发明专利,专利号为:ZL 97 1 06594.2。一种用于苯加氢的催化剂及其制备方法,催化剂的活性组分为 Ni,载体为 TiO_2 - SiO_2 复合氧化物体系,其中 $w(\text{Ni}) = (3 \sim 35)\%$ (以 NiO 计),载体中 TiO_2 与 SiO_2 的物质的量比为 $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2 = (0.02 \sim 1.50):1$,催化剂采用溶胶-凝胶法制备。

与现有技术相比,本催化剂镍含量大为降低,在较宽的反应温度范围内均有理想的催化活性和选择性,并有优良的耐热性能,从而使本催化剂在工业应用中对可能产生的飞温的适应性明显提高。另外,本催化剂能适应较高的反应空速,一般情况下液苯空速 LHSV 可为 $0.5 \sim 8.0 \text{ hr}^{-1}$ 。该专利的应用可为我国石化和化工企业创造出可观的经济效益。

科技处