

蛋白质分散的纳米红色元素硒的延缓衰老作用

张劲松* 高学云 张立德¹ 朱茂祥² 杨陟华²

(中国科学技术大学经济技术学院, 合肥 230052; ¹ 中国科学院固体物理研究所, 合肥 230031; ² 军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

【摘要】 目的 考察以蛋白质为核、红色元素硒为膜和以蛋白质为分散剂的纳米红色元素硒是否具有延缓衰老作用。方法 采用D-半乳糖小鼠衰老和黑腹果蝇生存模型, 评价纳米红色元素硒的抗氧化和延长生存时间作用。结果 纳米红色元素硒能显著降低小鼠全血丙二醛含量和提高小鼠全血谷胱甘肽过氧化物酶活性, 显著延长黑腹果蝇生存时间。结论 适当剂量的纳米红色元素硒具有延缓衰老保健作用。

关键词: 纳米红色元素硒; D-半乳糖; 黑腹果蝇; 延缓衰老

中图分类号: R151.41 文献标识码: A 文章编号: 0512-7955(2000)03-0219-04

已知硒化合物, 如亚硒酸钠和硒蛋氨酸, 有较高生物活性和毒性。而零价元素硒, 如灰和黑色元素硒, 几乎无生物活性和毒性^[1]。目前, 对于红色元素硒生物性质的认识是模糊的。无机反应形成的红色元素硒为粗大颗粒, 易聚合形成灰或黑色元素硒^[2], 评价这种红色元素硒无实际意义。一些微生物对无机硒有耐受性, 原因是将无机硒转化形成对这些微生物无毒性的处于胶体状态的红色元素硒^[3,4]。利用酵母或植物生产硒蛋白的实践中, 经常会发现红色元素硒, 通常情况下是把它当作无生物利用价值的元素硒而废弃。

Nuttal 提出胶体状态红色元素硒具有或在特定环境下具有生物活性的假说, 由于无实验证据, 加上一些微生物中红色元素硒对微生物既无生物活性也无毒性, 而是作为代谢终端产物存在的概念, 以及灰和黑色元素硒没有生物活性和毒性的概念, 他的假说未得到研究证实。

化学反应形成的是大颗粒、浑浊状态红色元素硒, 而生物体形成的是纳米尺度、胶体状态红色元素硒。两种硒状态的明显不同, 说明生物体内存在着能控制元素硒原子聚合的物质。

我们在体外研究中观察到, 蛋白质能够控制红色元素硒原子的聚合, 从而形成以蛋白质为核、红色元素硒为膜和以蛋白质为分散剂的纳米粒子。这种纳米红色元素硒对热稳定, 不转化形成灰或黑色元素硒。本研究拟从营养剂量水平, 研究纳米红色元素硒的延缓衰老作用, 认识其生物利用价值, 为其应用提供依据。

1 材料与 方法

1.1 材料

纳米红色元素硒由本实验室制备, 利用蛋白质的酰胺平面对红色元素硒原子有吸附作用的原理, 控制红色元素硒形成以蛋白质为核、以红色元素硒为膜和以蛋白质为分散剂的纳米粒子, 其尺度为 20 ~ 60 nm, 平均尺度为 36 nm (图 1); D-半乳糖和硫

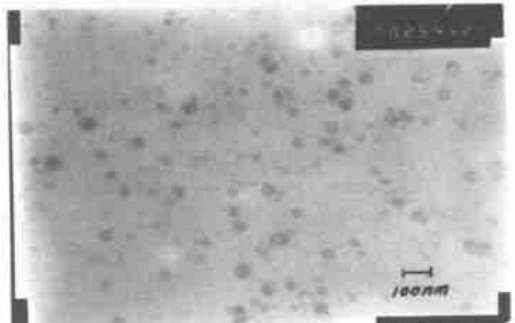


Fig. 1 TEM photo of nano red elemental selenium 代巴比妥酸(TBA)购自上海试剂二厂; 1, 1', 3, 3'

收稿日期: 1999-12-21

作者简介: * 男, 1964 年出生, 副研究员, 博士, 全国优秀教师, 第三届中国科技创业优秀青年

四乙氧基丙烷(TEP)购自Sigma公司;叠氮钠还原型谷胱甘肽(GSH)购自华美生物工程公司;5,5'-二硫二硝基苯甲酸(DTNB)为Fluka分装,购自北京百泰生化技术公司;其余为国产分析或优级纯试剂

1.2 实验动物模型

1.2.1 小鼠衰老模型^[7]:昆明二级雌性小鼠合格号:01-3024,6wk龄左右,体重18~22g,购自军事医学科学院实验动物中心。实验动物随机分为正常对照(NC)、D-半乳糖模型对照(MC)和D-半乳糖加纳米红色元素硒3个剂量共5个组,每集约10只,口服给药,每天1次,硒剂量分别为4.17、8.33和25.0 μg/kg bw。小鼠每天颈后皮下注射D-半乳糖水溶液0.2 ml,注射剂量和时间如下:60 mg/kg 3 d, 80 mg/kg 5 d, 100 mg/kg 8 d, 120 mg/kg 10 d,总剂量为2580 mg/kg, 26 d后活杀,测定外周全血丙二醛(MDA)含量和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。

1.2.2 黑腹果蝇(*D. rosophila melanogaster*)模型^[8]:黑腹果蝇按照常规方法繁殖,收集10 h内羽化的成虫,乙醚麻醉下,区分雌雄,随机分为正常

对照(NC)和纳米红色元素硒3个剂量共4组,每组雌雄果蝇约120只,每25只称重,并放在一培养管(3 cm × 13 cm)中,在(25 ± 1)、相对湿度65%左右的暗温箱内饲养。每支培养管内培养基厚度为0.5 cm ~ 1.0 cm,每3~4 d更换一次培养基,将纳米红色元素硒加入溶化的果蝇基础饲料中调匀,按1.0、2.0和4.0 mg/kg 硒剂量加入。每日定时3次统计果蝇死亡数并排除因其他原因死亡的果蝇,直至全部死亡。计算最高寿命、平均寿命和半数死亡时间。

1.3 指标及方法

1.3.1 TBA显色法测定小鼠全血MDA含量^[9]。

1.3.2 GSH-DTNB显色法测定GSH-Px活性^[10]。

1.3.3 最高寿命为每组最后死亡的10只果蝇成虫存活日数的平均数,平均寿命以不同存活时间果蝇的死亡数按加权平均法计算,半数死亡时间以累计死亡率与存活天数的直线回归法求得。

1.3.4 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SAS软件进行统计处理和显著性检验。

2 结果

Table 1 Effect of nano red elemental selenium on blood MDA content and GSH-Px activity of mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	Se dose (μg/kg bw)	n	MDA content (μmol/L)	GSH-Px activity (kU/L)
NC	0	12	3.63 ± 0.17 ^b	41.20 ± 3.27 ^a
MC	0	11	3.80 ± 0.15 ^a	33.11 ± 3.74 ^b
MC+ Se	4.17	11	3.63 ± 0.08 ^b	35.63 ± 4.70 ^b
	8.33	9	3.45 ± 0.15 ^c	39.20 ± 4.29 ^a
	25.0	11	3.40 ± 0.06 ^c	42.00 ± 3.78 ^a

Values in the same column not sharing common superscript letter were significantly different at $P < 0.05$; NC: control group; MC: D-galactose group

2.1 纳米红色元素硒的抗氧化作用(表1)

可以看出,小鼠注射D-半乳糖后,全血MDA含量显著增高,GSH-Px活性显著下降,提示D-半乳糖造成了小鼠的氧化损伤。对注射D-半乳糖的小鼠用纳米红色元素硒进行保护,小鼠全血MDA含量显著下降,其中8.33和25.0 μg/kg bw组下降到

比NC组还低的水平,GSH-Px活性明显增高,其中8.33和25.0 μg/kg bw组效果显著,恢复到与NC组同样的水平。综上所述结果表明,纳米红色元素硒具有明显的抗氧化作用。

2.2 纳米红色元素硒对果蝇生存的影响(表2,3)

可以看出,除1.0 mg/kg 纳米红色元素硒组雌

Table 2 Effect of nano red element selenium on maximal life-span, half-death time and average life-span of male *D. rosophila melanogaster* (DM, $\bar{x} \pm s$)

Group	DM (n)	Average weight (μg)	Maximal life-span (d)	Half-death time (d)	Average life-span (d)
NC	85	800	59.8 ± 0.8 ^a	38.9 ± 19.0 ^a	39.8 ± 18.3 ^a
1.0 mg/kg Se	125	780	64.5 ± 2.4 ^b	45.3 ± 21.0 ^b	46.5 ± 16.2 ^b
2.0 mg/kg Se	92	800	69.1 ± 1.8 ^c	49.3 ± 22.0 ^b	51.0 ± 17.2 ^b
4.0 mg/kg Se	81	800	74.3 ± 4.1 ^d	45.9 ± 29.7 ^b	47.9 ± 20.7 ^b

Values in the same column not sharing common superscript letter were significantly different at $P < 0.05$

Table 3 Effect of nano red elemental selenium on maximal life-span, half-death time and average life-span of female *D. rosophila melanogaster* (DM, $\bar{x} \pm s$)

Group	Sample (n)	Average weight (μg)	Maximal life-span (d)	Half-death time (d)	Average life-span (d)
NC	106	960	66.2 \pm 0.4 ^a	45.7 \pm 20.6 ^a	46.0 \pm 20.2 ^a
1.0 mg/kg Se	119	960	69.8 \pm 2.4 ^b	49.8 \pm 20.7 ^a	50.8 \pm 17.4 ^a
2.0 mg/kg Se	103	950	74.1 \pm 3.2 ^c	55.1 \pm 23.8 ^b	56.0 \pm 17.4 ^b
4.0 mg/kg Se	84	960	76.6 \pm 4.6 ^d	55.7 \pm 26.5 ^b	57.3 \pm 18.7 ^b

Values in the same column not sharing common superscript letter were significantly different at $P < 0.05$

性果蝇的平均寿命和半数死亡时间没有显著延长外,其余各组果蝇最高寿命、半数死亡时间和平均寿命均比对照组显著延长,在高剂量组,对以上三项生存期指标的延长率均达到 20%。表明纳米红色元素硒具有明显的抗衰老作用。

3 讨论

从表 1 结果可以看出,补充低剂量纳米红色元素硒(4.17 μg Se/kg bw),谷胱甘肽过氧化物酶活力尚未恢复到正常水平,但脂质过氧化物已很快恢复到正常水平。补充中和高剂量纳米红色元素硒(8.33和 25.0 μg Se/kg bw),谷胱甘肽过氧化物酶均恢复到正常水平,但此时脂质过氧化物含量已显著低于正常水平。纳米红色元素硒清除脂质过氧化物与谷胱甘肽过氧化物酶活力明显不同步,提示纳米红色元素硒在体内发挥抗氧化作用与其直接清除自由基活性有一定联系^[11]。

硒在体内代谢要经过零价元素硒过程,类似于生物体代谢形成的零价元素硒(可能为 Se₂, Se₄ 或含几千个硒原子的原子团簇)具有生物利用价值是很自然的推断。由此可以设想含几万至几十万个硒原子,处于纳米尺度的红色元素硒具有一定的生物利用价值。然而,长期以来,在硒研究中,化学体系经常会出现浑浊状态红色元素硒,生物体系经常会出现胶体状态红色元素硒,红色元素硒被排除在新形式硒研究之外,对红色元素硒的认识被禁锢在无生物活性和毒性范围内。本研究在一定意义上证实了 Nuttal 假说的科学性和预见性。但 Nuttal 当年不可能设想红色元素硒将会以什么形式悬浮于胶体体系中。我们应用纳米技术,将红色元素硒确定在蛋白质体系中,得到纳米红色元素硒,证实红色元素硒具有很好的生物利用价值。将硒的生物医学研究带入了纳米生物学(Nanobiology)这一新兴领域。

纳米粒子有大量奇异性质,如铜是导体,纳米铜却不导电,镍是催化剂,纳米镍催化活性提高了约

15 倍,普通陶瓷脆硬,含纳米粒子的陶瓷具有韧性,能够弯曲。与其更宏观的粉末、块体和比其更微观的原子、分子相比,纳米粒子具有独特的小尺寸效应、量子尺寸效应、表面效应和宏观量子隧道效应,从而在光、电、热、磁、催化、吸附等方面出现大量特性^[12],指导着研究不同尺度、不同表面修饰的纳米红色元素硒的结构和生物性质,从而丰富了探索高生物活性和低毒性硒的途径,有望得到生物性质更佳的纳米红色元素硒。探索具有高生物活性和低毒性硒的研究工作长期围绕着硒的化学形式进行,很大程度上忽略了零价元素硒。目前有关纳米红色元素硒的研究将带动从零价元素硒入手,围绕着硒的物理形式进行探索。

【参 文 文 献】

- [1] WHO working group. Selenium [M]. *Environ Health Criteria*, 1987, 58: 306-307.
- [2] Ganther HE. Selenotrisulfides formation by the reaction of thiols with selenous acid [J]. *Biochem*, 1986, 7(8): 2898-2905.
- [3] Garbisu C, Gonzalez S, Yang WH, et al. Physiological mechanisms regulating the conversion of selenite to elemental selenium by bacillus subtilis [J]. *Biofactors*, 1995, 5(1): 29-37.
- [4] Tomei FA, Barton LL, Semanski CL, et al. Transformation of selenate and selenite to elemental selenium by desulfovibrio desulfuricans [J]. *J Indus Microbiol*, 1995, 14(3-4): 329-336.
- [5] Nuttall KL. Elemental selenium and glutathione reductase [J]. *Med Hypotheses*, 1985, 16(2): 155-158.
- [6] Spallholz JE. On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity [J]. *Free Radic Biol Med*, 1994, 17(1): 45-64.
- [7] 龚国清,徐赓本.小鼠衰老模型研究[J].中国药科大学学报,1991,12(2): 101-103.

- [8] 卫生部卫生监督司 保健食品管理法规汇编[S] 长春: 吉林科学技术出版社, 1997. 78-80
- [9] 卫生部卫生监督司 保健食品管理法规汇编[S] 长春: 吉林科学技术出版社, 1997, 81-84
- [10] 卫生部卫生监督司 保健食品管理法规汇编[S] 长春: 吉林科学技术出版社, 1997, 94-99
- [11] Shimazu F, Tapple AL. Selenoamino acid as radiation protectors in vitro [J]. *Radiation Res*, 1964, 23: 210-217.
- [12] 张立德, 牟季美 纳米材料学[M] 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994 9-25

STUDY ON ANTI-AGING FUNCTION OF NANO RED ELEMENTAL SELENIUM DISPERSED BY PROTEIN

ZHANG Jin-song¹, GAO Xue-yun¹, ZHANG Li-de², ZHU Mao-xiang³, YANG Zhi-hua³

(1. Institute of Economics and Technology, University of Sciences & Technology of China, Hefei 230052;

2. Institute of Solid State Physics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031;

3. Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850)

【Abstract】 Objective: To investigate whether nano red elemental selenium with protein as the core, red elemental selenium as the membrane, and protein as disperser has anti-aging function. Methods: The anti-aging function of nano red elemental selenium was evaluated using the models of both aging mice induced by D-galactose and *Drosophila melanogaster*. Results: Nano red elemental selenium could significantly decrease blood MDA content and increase GSH-Px activity in mice, and prolong the life-span of *Drosophila melanogaster*. Conclusion: Nano red elemental selenium has anti-aging function at nutritional level.

Key words: nano red elemental selenium; D-galactose; *Drosophila melanogaster*; anti-aging

第三届亚洲食品安全与营养大会将在北京召开

由国际生命科学学会(LSD)和各亚洲分会组织的第三届亚洲食品安全与营养大会将于2000年10月3~6日在北京召开。

此次会议将为来自学术界、企业界、政府部门的科学家们提供一个讨论未来食品安全和营养工作发展方向的论坛;确定并讨论可能对亚洲的食品供应带来影响的食品科学和技术新进展;总结各种因素对食品法规发展的影响;提出本世纪亚洲人群面临的重要营养学问题。

会议主要议题是:

1. 危险性分析和食品安全;
2. 食源性和水源性疾病;
3. 营养需求和下世纪优先考虑的营养问题;
4. 功能性食品;
5. 使食品标准达到协调统一的科学途径。