

天然抗氧化剂麦角硫因保护铜所致 DNA 和蛋白质氧化损伤的作用机理

朱本占, 毛莉, 范瑞梅, 朱俊歌

中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

E-mail: bzhu@rcees.ac.cn

2011-04-21 收稿, 2011-06-22 接受

国家重点基础研究发展计划(2008CB418106)、中国科学院“百人计划”和国家自然科学基金(20877081, 20890112, 20921063 和 20925724)资助项目

摘要 麦角硫因是一种天然的氨基酸类似物, 在生物组织和体液中通常以毫摩尔级的浓度存在. 尽管如此, 麦角硫因的生物学功能及作用并不完全清楚. 我们对麦角硫因对铜所致的 DNA 和蛋白质氧化损伤的影响及其可能扮演的角色进行了深入探讨. 在研究中采用了两种含铜的反应体系: Cu(II)/抗坏血酸体系以及 Cu(II)/H₂O₂ 体系. DNA 和牛血清蛋白的氧化损伤分别通过 DNA 链断裂和蛋白质羰基化这两项指标来检测. 研究结果表明, 在两种含铜的反应体系中, 麦角硫因都能显著保护 DNA 和蛋白质免于氧化损伤, 并且这种保护作用具有剂量依赖效应. 与此相对照, 经典的羟基自由基清除剂(如 DMSO 和甘露醇)尽管浓度高达 100 mmol/L, 也只能提供很微弱的保护作用. 此外, 研究中通过紫外-可见以及低温电子自旋共振等分析手段发现, 麦角硫因能明显抑制铜催化的抗坏血酸的氧化过程, 并且还能与组氨酸以及 1,10-邻菲罗啉有效地竞争络合一价而非二价铜离子. 从上述研究结果我们得知, 麦角硫因是一种天然的含硫抗氧化剂, 可以通过形成不具有氧化还原活性的麦角硫因-铜的络合物形式, 从而达到有效抑制金属铜离子所致的对生物大分子的氧化损伤.

关键词

麦角硫因
铜离子
麦角硫因-铜络合物
DNA 链断裂
蛋白质羰基化

L-麦角硫因(2-巯基-组氨酸-三甲基内盐)是一种天然氨基酸, 其分子结构中含有咪唑-2-硫酮基团(图 1). 麦角硫因分子结构中的硫酮基团会发生硫醇-硫酮的共振互变平衡, 但在生理 pH 条件下主要以硫酮形式存在, 这一特性将麦角硫因与其他的生物巯基化合物区分开来. 某些细菌和真菌能自身合成麦角硫因, 但动物却不能自身合成^[1,2]. 人体中的麦角硫因主要是通过食物(如蘑菇、燕麦、谷物和肉类等)获得, 并贮藏在人体的脑、肝、肾、心、精液以及眼组织中^[1-4]. 然而麦角硫因的生物学效应及作用并不完全清楚. 有研究表明, 麦角硫因具有抗辐射性能^[5], 并能清除单线态氧、羟基自由基、次氯酸和氢过氧自

由基^[6-8], 抑制过氧硝酸盐导致的蛋白质和 DNA 硝基化^[9], 保护视网膜神经细胞免于 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)所致的体内兴奋毒性以及抑制母鼠糖尿病所导致的胚胎疾病^[10,11]. 此外, 麦角硫因还可以抑制过氧硝酸盐导致的黄嘌呤、次黄嘌呤以及它们的代

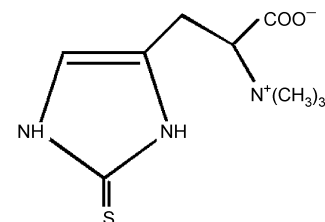


图 1 麦角硫因的化学结构

英文引用格式: Zhu B Z, Mao L, Fan R M, et al. Mechanism of protection by natural antioxidant ergothioneine against copper-induced oxidative damage to DNA and protein (in Chinese). Chinese Sci Bull (Chinese Ver), 2011, 56: 2283-2288, doi: 10.1360/972011-785

谢物尿酸盐的形成,而上述这些物质可以引起痛风及其他炎症等疾病^[9].

铜是人体必须的一种重要的微量元素,这种氧化还原活性的过渡金属构成了多种金属酶(如Cu, Zn-SOD和细胞色素c氧化酶)的活性中心^[12,13].此外,铜还是染色质的重要组成成分,它与DNA的碱基紧密相连(尤其是在G-C位点附近)^[14-16].尽管金属铜具有很重要的生物学作用和意义,但其毒性仍然是不容忽视的^[16-23].众所周知,过量的铜能导致DNA、蛋白质和脂质的氧化损伤,因此也就可能导致一系列的疾病^[21-23].铜能在某些组织和细胞如肝细胞中积累并导致肝损伤.金属铜离子所致的损伤一般被归因于铜的氧化还原活性,尤其是与此相关的铜催化的类Fenton反应^[19-23].许多严重的慢性肝疾病,如Wilson氏疾病、先天性铜中毒、印第安儿童肝硬化都是由于肝脏中铜累积所导致的遗传性疾病^[12,18].研究发现,这些患者体内的铜浓度比正常人高出5~8倍^[12,18].此外,研究还发现LEC大鼠肝中铜的积累导致了肝癌细胞的形成,这些都表明非正常的铜代谢参与了动物体内肝癌细胞的形成^[12,18].对大量病例的研究表明,发病前血浆中铜的浓度水平与乳腺癌的增生呈现U形关系^[24].

在化学体系中,麦角硫因会与金属离子以及金属酶发生反应^[6,25,26].但是,麦角硫因能否保护生物大分子如DNA、蛋白质和脂质免于铜所致的氧化损伤,以及通过何种反应机理实现这种保护作用并不清楚.我们通过两种含铜的反应体系——Cu(II)/抗坏血酸以及Cu(II)/H₂O₂,深入研究了麦角硫因对铜所致的DNA和牛血清蛋白氧化损伤的作用及影响.在研究中,DNA和蛋白质氧化损伤分别通过DNA链断裂以及蛋白质羰基化这两项指标来检测.研究结果发现,麦角硫因能通过铜反应形成不具氧化还原活性的麦角硫因-铜络合物,从而有力保护了DNA和蛋白质免于铜所致的氧化损伤^[27].

蛋白质的氧化会导致形成大量的反映氧化损伤程度的羰基,因此,作者研究小组通过测定形成的蛋白质羰基数量,从而对铜介导的对牛血清蛋白的氧化损伤进行检测.在37℃条件下,1 mg/mL的牛血清蛋白溶液加入到0.1 mmol/L Cu(II)和1 mmol/L 抗坏血酸或者0.1 mmol/L Cu(II)和1 mmol/L H₂O₂反应体系中,最后形成的蛋白质羰基分别为44.7和25.5 nmol(蛋白质羰基)/mg(蛋白质).研究表明,在两种含

铜的反应体系中,麦角硫因能明显抑制蛋白质羰基的形成,且这种抑制作用呈现明显的浓度依赖方式:麦角硫因浓度越高,抑制作用越强.相对而言,在加入羟基自由基清除剂DMSO和甘露醇的体系中,尽管浓度高达100 mmol/L,却仅有微弱的保护作用.例如,在Cu(II)/抗坏血酸的反应体系中,0.1 mmol/L的麦角硫因可抑制80%的蛋白质羰基形成,浓度为0.2 mmol/L的麦角硫因就可以完全抑制蛋白质羰基形成,而100 mmol/L的DMSO只能抑制20%.此外,麦角硫因也能抑制两种含铜反应体系(Cu(II)/抗坏血酸和Cu(II)/H₂O₂)导致的DNA氧化损伤,并且这种抑制在麦角硫因浓度范围为0.1~1.0 mmol/L时呈现浓度依赖方式(图2).组氨酸对铜离子所致的DNA损伤的抑制效应要弱于麦角硫因(图2),尤其是在Cu(II)/抗坏血酸反应体系中,这表明麦角硫因结构中的巯基对其抑制Cu(II)/抗坏血酸导致的DNA损伤起着关键作用.相对而言,即使浓度高达100 mmol/L的DMSO和甘露醇都几乎无任何保护作用.

研究发现,麦角硫因能显著抑制蛋白质羰基形成和DNA损伤,而DMSO和甘露醇却不能,这说明麦角硫因的作用并不是由于清除了羟基自由基.此外,还考察了另外一种铜络合剂——浴铜灵的影响,结果表明浴铜灵能抑制铜所致的蛋白质氧化和DNA损伤.上述实验结果表明麦角硫因的抑制作用可能是由于络合了铜并抑制其氧化还原活性(图2).

此前已有研究表明,麦角硫因在生理条件下能

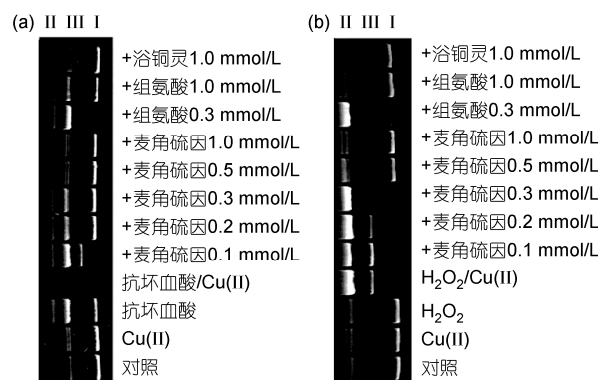


图2 麦角硫因、组氨酸和浴铜灵对Cu(II)/抗坏血酸(a)以及Cu(II)/H₂O₂(b)体系所致DNA链断裂的抑制研究

反应在0.1 mol/L经Chelex过夜预处理的磷酸盐缓冲液中进行(pH 7.4, 温度37℃),反应1 h.反应体系包括5 μg/mL质粒DNA,0.1 mmol/L Cu(II),0.1 mmol/L 抗坏血酸,麦角硫因、组氨酸以及浴铜灵的浓度如图中所示.图中所示有3种不同形式的DNA: I,共价闭环超螺旋双链DNA; II,开环DNA; III,线状DNA

与铜络合并形成麦角硫因-铜络合物^[25,26],但并不清楚麦角硫因是否会影响铜的氧化还原活性以及麦角硫因是与Cu(II)还是Cu(I)络合.因此,在本研究中,我们通过检测Cu(II)介导的抗坏血酸的氧化,深入研究了麦角硫因对铜氧化还原活性的影响.研究发现,麦角硫因能显著抑制Cu(II)介导的抗坏血酸的氧化,并且该抑制作用也具有浓度依赖效应,而组氨酸却没有类似的抑制作用.这些结果表明,麦角硫因与铜反应形成了不具有氧化还原活性的络合物.

为进一步验证上述结论,我们又研究了麦角硫因对铜催化的类Fenton反应中自由基产生的影响.众所周知,ESR是检测自由基的最直接的手段,如羟基自由基($\cdot\text{OH}$)与DMSO反应后产生的甲基自由基($\cdot\text{CH}_3$)能被自旋捕获剂POBN捕获,从而通过ESR手段被直接检测.在研究中,当DMSO和POBN同时存在时,Cu(II)/H₂O₂/抗坏血酸反应体系会产生自由基 $\cdot\text{CH}_3$ 与捕获剂POBN的加合物POBN-CH₃,这表明反应中产生了 $\cdot\text{OH}$ 或活性相似的中间产物.当麦角硫因的浓度逐渐增加时(也即麦角硫因与Cu²⁺的浓度比例增加),形成的POBN-CH₃加合物的量逐渐减少(图3).当麦角硫因与Cu²⁺的反应配比为3:1或更高时,几乎观察不到POBN-CH₃加合物的形成.由于实验中所使用的麦角硫因的浓度(0.1~1 mmol/L)远低于POBN(100 mmol/L)和DMSO(100 mmol/L)的浓度,因此麦角硫因抑制POBN-CH₃加合物的形成不能归因于其清除了Cu(II)/H₂O₂/抗坏血酸反应体系产生的 $\cdot\text{OH}$ 或活性相似的中间产物,而是由于麦角硫因与铜反应形成了不具有氧化还原活性的麦角硫因-

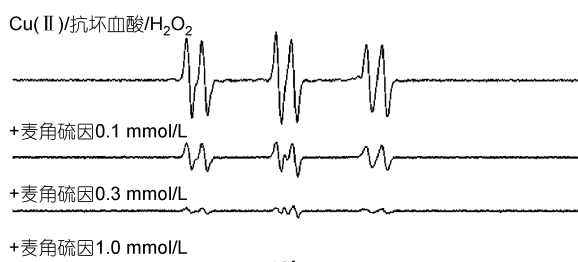


图3 麦角硫因抑制Cu(II)介导的POBN- $\cdot\text{CH}_3$ 自由基加合物的形成

反应在0.1 mol/L的经Chelex过夜预处理的磷酸盐缓冲液中进行(pH 7.4, 温度 37℃).反应体系包括100 mmol/L POBN, 0.1 mmol/L Cu(II), 1 mmol/L H₂O₂, 0.1 mmol/L 抗坏血酸和5%的DMSO.麦角硫因在H₂O₂前1 min加入到反应液中.自由基加合物POBN-CH₃的超精细分裂常数为: $a^N = 15.96\text{ G}$, $a^H = 2.74\text{ G}$.ESR波谱图中位于中间位置的重叠信号为抗坏血酸自由基的信号

铜络合物.

为进一步研究麦角硫因与Cu(II)还是Cu(I)络合,我们采用两种铜的络合物作为研究模型,Cu(II)(组氨酸)₂和Cu(I)(1,10-邻菲罗啉)₂络合物.组氨酸能络合铜使之处于具有氧化还原活性的状态,并形成一种蓝色的在640 nm处具有最大吸收的Cu(II)(组氨酸)₂络合物.在研究中,当将2 mmol/L麦角硫因加入到含有2 mmol/L的Cu(II)(组氨酸)₂络合物的反应液中,发现640 nm处的吸光值仅微弱减少(图4(a)),这表明麦角硫因不能与组氨酸有效地竞争络合Cu(II).与之相对地,当抗坏血酸(10 mmol/L)存在时,2 mmol/L麦角硫因的加入导致640 nm处的吸光值急

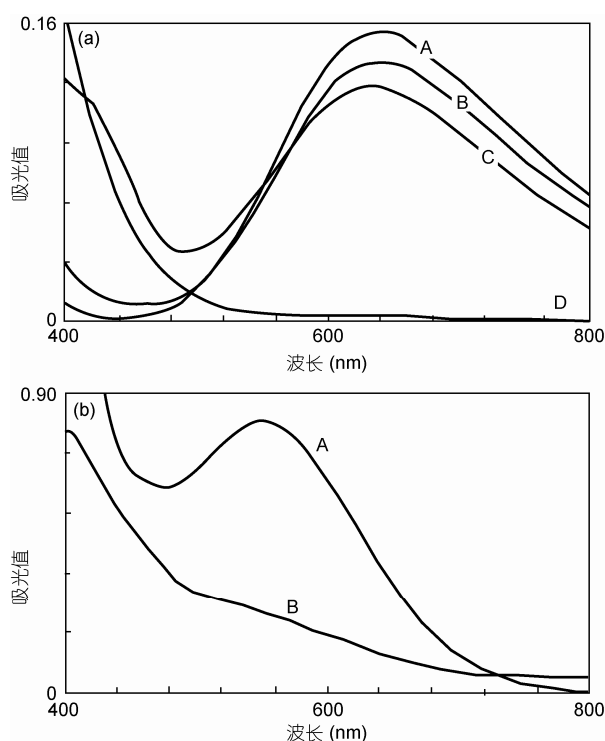


图4

(a) 麦角硫因和组氨酸竞争络合铜离子.络合物Cu(II)(组氨酸)₂通过将Cu(II)与组氨酸按1:2的比例进行反应而获得.反应体系包括2 mmol/L Cu(II)(组氨酸)₂、2 mmol/L 麦角硫因、4 mmol/L 抗坏血酸. A, Cu(II)(组氨酸)₂; B, Cu(II)(组氨酸)₂和麦角硫因; C, Cu(II)(组氨酸)₂和抗坏血酸; D, Cu(II)(组氨酸)₂、抗坏血酸和麦角硫因. (b) 麦角硫因和1,10-邻菲罗啉竞争络合一价铜离子Cu(I).络合物Cu(II)(1,10-邻菲罗啉)₂通过将Cu(II)与1,10-邻菲罗啉按1:2的比例进行反应而获得;络合物Cu(I)(1,10-邻菲罗啉)₂通过将过量的抗坏血酸加入到Cu(II)(1,10-邻菲罗啉)₂中反应而获得.反应体系包括0.5 mmol/L Cu(II)(1,10-邻菲罗啉)₂、10 mmol/L 麦角硫因、10 mmol/L 抗坏血酸. A, Cu(II)(1,10-邻菲罗啉)₂和抗坏血酸; B, Cu(II)(1,10-邻菲罗啉)₂、抗坏血酸和麦角硫因

剧减少(图 4(a)), 这表明麦角硫因能有效地与组氨酸竞争络合一价铜离子 Cu(I) 。此外, 在采用络合物 $\text{Cu(I)}(1,10\text{-邻菲罗啉})_2$ 的反应体系中也观察到麦角硫因具有类似的效应, 麦角硫因能有效地与 1,10-邻菲罗啉竞争络合 Cu(I) (图 4(b))。上述数据表明在抗坏血酸存在条件下, 麦角硫因与 Cu(I) 反应形成了一种不具有氧化还原活性的麦角硫因- Cu(I) 复合物。

在研究中, 我们使用低温 ESR 手段来进一步验证上述结论。在 77 K 温度条件下, $\text{Cu(II)}(\text{组氨酸})_2$ 络合物是典型的四方平面结构, 其具有特征的 ESR 波谱^[28]。当麦角硫因和抗坏血酸同时加入后, $\text{Cu(II)}(\text{组氨酸})_2$ 复合物的特征 ESR 波谱完全消失。这表明在抗坏血酸存在时, 麦角硫因能有效地与组氨酸竞争络合铜离子使其稳定在 Cu(I) 状态。上述所有结果强烈表明麦角硫因可与 Cu(I) 络合形成不具有氧化还原活性的麦角硫因- Cu(I) 络合物, 其摩尔比最可能为 2:1。

麦角硫因只被真菌和分枝杆菌合成^[1,2], 在人类的食物中含量相差很大。到目前为止, 发现蘑菇中麦角硫因的含量最高, 干重可达 0.1~1.0 mg/g。哺乳动物可从食物中摄取麦角硫因, 并以最少代谢的方式将其储存在体内。在生物体内, 麦角硫因通常以自由形式储存在经常暴露于氧化应激的组织中(其浓度可达毫摩尔级), 这些组织包括红细胞、精液、肝、肾、心以及眼组织。此外, 脑部也可储存微摩尔级的自由形式的麦角硫因, 而脑部是另一个经常暴露于氧化应激的组织^[1]。

自 1909 年麦角硫因被发现之后, 其在生物体系中扮演的角色为何仍不够清楚^[1]。大多数的研究人员都认为麦角硫因是一种细胞内抗氧化剂, 然而, 细胞中麦角硫因的浓度仅为 0.1~1 mmol/L, 远低于亲水性抗氧化剂如谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸在生物体内的浓度(分别为 3~7 mmol/L 和 1~4 mmol/L)^[29]。因此, 与其他常见的抗氧化剂和巯基化合物诸如 GSH 和半胱氨酸相比, 麦角硫因在生物体内是否也具有重要意义值得商酌。有趣的是, 此前有研究表明在生理 pH 条件下, 麦角硫因不会由于过渡金属离子如铜或铁的存在而发生自动氧化, 这一点与 GSH 和抗坏

血酸明显不同。总的来说, 麦角硫因被认为是一种强的催化性清除剂, 可以催化清除非自由基的氧化性物质^[29], 而 GSH 和抗坏血酸则只是自由基清除剂。

麦角硫因能清除羟基自由基, 但是大多数生物大分子与羟基自由基的反应都是以扩散控制速率进行。我们的研究发现, 麦角硫因不仅可以直接清除羟基自由基, 更重要的是络合了金属铜离子, 使其不与过氧化氢反应产生活性氧物质和自由基。研究还发现, 麦角硫因能相当有效地抑制铜介导的蛋白质和 DNA 氧化, 且形成的麦角硫因- Cu(I) 络合物不会分解产生活性氧物质。值得注意的是, 研究发现 $\text{Cu(II)}/\text{抗坏血酸}$ 反应体系导致的蛋白质羰基化程度强于 $\text{Cu(II)}/\text{H}_2\text{O}_2$ 反应体系。造成这种差异的一个原因可能是由于 H_2O_2 倾向于将铜离子维持在 Cu(II) 状态, 而抗坏血酸则将 Cu(II) 还原为 Cu(I) , 生成的 Cu(I) 又被氧气氧化为 Cu(II) , 这种 Cu(I) 与 Cu(II) 之间的氧化还原循环就产生了大量的活性氧物质。上述结果表明, 在某种常规抗氧化剂如抗坏血酸存在条件下, 除非金属铜被紧密络合, 否则络合较松的金属铜仍能与这些抗氧化剂反应产生活性氧物质。此外, 上述结果也能很好地解释为何麦角硫因在 $\text{Cu(II)}/\text{抗坏血酸}$ 体系中的保护作用更强, 其原因主要是由于麦角硫因能将金属铜稳定在 Cu(I) 状态。相对而言, 其他的巯基化合物如 GSH, 则会被铜离子快速氧化而产生有毒的自由基物质。此外, 铜离子同样也能促进 NAD(P)H、血红蛋白、红细胞膜以及低密度脂蛋白的氧化。因此, 在红细胞和其他的人体组织中, 麦角硫因的主要生物学功能可能是络合铜离子使其处于不具有氧化还原活性的状态。

综上所述, 我们的研究表明, 麦角硫因可通过与 Cu(I) 形成不具有氧化还原活性的络合物来保护 DNA 和蛋白质免于铜所导致的氧化损伤。因此, 作为一种天然的含硫化合物, 由于其具有很强的铜络合能力且在体内的浓度可达 1 mmol/L, 故麦角硫因可能对治疗因含过量的具有氧化还原活性的铜所导致的许多疾病有用, 这些疾病包括威尔森氏疾病、先天性铜中毒、印第安儿童肝硬化、缺血-再灌注损伤以及老年痴呆症等疾病^[12,18,30]。

参考文献

- 1 Hartman P E. Ergothioneine as antioxidant. *Methods Enzymol*, 1990, 186: 310-318

- 2 Melville D B, Horner W H, Otken C C, et al. Studies of the origin of ergothioneine in animals. *J Biol Chem*, 1955, 213: 61–68
- 3 Ey J, Schomig E, Taubert D. Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 6466–6474
- 4 Mitsuyama H, May J M. Uptake and antioxidant effects of ergothioneine in human erythrocytes. *Clin Sci*, 1999, 97: 407–411
- 5 Van den Broeke L T, Beyersbergen van Henegouwen G M. Thiols as potential UV radiation protectors: An *in vitro* study. *J Photochem Photobiol B*, 1993, 17: 279–286
- 6 Akanmu D, Cecchini R, Aruoma O I, et al. The antioxidant action of ergothioneine. *Arch Biochem Biophys*, 1991, 288: 10–16
- 7 Asmus K D, Bensasson R V, Bernier J L, et al. One electron oxidation of ergothioneine and analogues investigated by pulse radiolysis: Redox reactions involving ergothioneine and vitamin C. *Biochem J*, 1996, 315: 625–629
- 8 Aruoma O I, Whiteman M E, Halliwell B. The antioxidant action of ergothioneine: Assessment of its ability to scavenge peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 231: 389–391
- 9 Aruoma O I, Spencer J P E, Mahmood N. Protection against oxidative damage and cell death by natural antioxidant ergothioneine. *Food Chem Toxicol*, 1999, 37: 1043–1053
- 10 Moncaster J A, Walsh D T, Gentleman S M, et al. Ergothioneine treatment protects neurons against N-methyl-D-aspartate excitotoxicity: In an *in vivo* retinal model. *Neurosci Lett*, 2002, 328: 55–59
- 11 Guijarro M V, Indart A, Aruoma O I, et al. Effects of ergothioneine on diabetic embryopathy in pregnant rats. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40: 1751–1755
- 12 Linder M C. *Biochemistry of Copper*. New York: Plenum Press, 1991
- 13 Barceloux D G. Copper. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1999, 37: 217–230
- 14 Karlin K D. Metalloenzymes, structural motifs, and inorganic models. *Science*, 1993, 261: 701–708
- 15 Wacker W E C, Vallee B L. Nucleic acids and metals. *J Biol Chem*, 1995, 234: 3257–3262
- 16 Geierstanger B H, Kagawa T F, Chen S L, et al. Base-specific binding of copper(II) to Z-DNA. The 1.3-Å single crystal structure of d(m5CGUAm5CG) in the presence of CuCl₂. *J Biol Chem*, 1991, 266: 20185–20191
- 17 Albert A. *Selective toxicity. The Physico-Chemical Basis of Therapy*. London: Chapman & Hall, 1985
- 18 Harris Z L, Gitlin J D. Genetic and molecular basis for copper toxicity. *Am J Clin Nutr*, 1996, 63: 836S–841S
- 19 Ozcelik D, Ozaras R, Gurel Z, et al. Copper-mediated oxidative stress in rat liver. *Biol Trace Elem Res*, 2004, 96: 209–216
- 20 Pourahmad J, O'Brien P J. A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for Cu²⁺ and Cd²⁺. *Toxicology*, 2000, 143: 263–273
- 21 Chevion M. A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: The essential role of redox-active transition metals. *Free Radical Biol Med*, 1988, 5: 27–37
- 22 Chevion M, Berenshtein E, Zhu B Z. The role of transition metal ions in free radical mediated damage. In: Gilbert D L, Colton C A, eds. *Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach*. New York: Plenum Press, 1999. 103–131
- 23 Gaetke L M, Chow C K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 2003, 189: 147–163
- 24 Overvad K, Wang D Y, Olsen J, et al. Copper in human mammary carcinogenesis: A case-cohort study. *Am J Epidemiol*, 1993, 137: 409–414
- 25 Hanlon D P. Interaction of ergothioneine with metal ions and metalloenzymes. *J Med Chem*, 1971, 14: 1084–1087
- 26 Motohashi N, Mori I, Sugiura Y. Complexing of copper ion by ergothioneine. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24: 2364–2368
- 27 Zhu B Z, Mao L, Fan R M, et al. Ergothioneine prevents copper-induced oxidative damage to DNA and protein by formation of a redox-inactive ergothioneine-copper complex. *Chem Res Toxicol*, 2011, 24: 30–34
- 28 Zhu B Z, Antholine W E, Frei B. Thiourea protects against copper-induced oxidative damage by formation of a redoxinactive thiourea-copper complex. *Free Radical Biol Med*, 2002, 32: 1333–1338
- 29 Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol*, 1999, 37: 949–962
- 30 Bush A I, Masters C L, Tanzi R E. Copper, β -amyloid, and Alzheimer's disease: Tapping a sensitive connection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 11193–11194

Mechanism of protection by natural antioxidant ergothioneine against copper-induced oxidative damage to DNA and protein

ZHU BenZhan, MAO Li, FAN RuiMei & ZHU JunGe

State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Eco-Toxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Ergothioneine is a naturally occurring amino acid found in up to millimolar concentrations in several biological tissues and fluids. The biological functions of ergothioneine are not completely understood. In this study, the role of ergothioneine in copper-induced oxidative damage to DNA and proteins was investigated using the following two copper-containing systems: Cu(II) with ascorbate and Cu(II) with H₂O₂. Strand breakage and protein carbonyl formation were used as indicators of oxidative damage to DNA and bovine serum albumin, respectively. Ergothioneine provided strong, dose-dependent protection against oxidation of DNA and proteins in both copper-containing systems. By contrast, only limited protection was observed with the hydroxyl radical scavengers dimethyl sulfoxide and mannitol, even with the scavengers at concentrations as high as 100 mmol/L. UV-visible spectroscopy and low-temperature electron spin resonance spectroscopy showed ergothioneine significantly inhibited copper-catalyzed oxidation of ascorbate and competed effectively with histidine and 1,10-phenanthroline for binding of Cu(I) but not Cu(II). In conclusion, ergothioneine is a potent, natural, sulfur-containing antioxidant that prevents copper-dependent oxidative damage to biological macromolecules by forming a redox-inactive ergothioneine-copper complex.

ergothioneine, copper, ergothioneine-copper complex, DNA strand breakage, protein carbonyl formation

doi: 10.1360/972011-785