

超氧化物歧化酶翻译后修饰的研究进展

贾海红 李冰清

(山东第一医科大学(山东省医学科学院)基础医学院(基础医学研究所)病原生物学实验室, 济南 250062)

摘要: 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是生物体内存在的一种抗氧化金属酶,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧(O_2)和过氧化氢(H_2O_2),在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用,且与很多疾病的发生、发展密不可分。对SOD的活性调节一直是研究热点,大多数研究都集中在转录水平(基因表达)和翻译水平(酶蛋白合成)两个方面。随着研究的深入,发现蛋白质翻译后修饰(PTM)对SOD的酶活性有重要影响。近年来,研究蛋白质翻译后修饰对SOD的酶活性的影响越来越受到重视。总结了硝基化、磷酸化、S-谷胱甘肽化、糖基化、乙酰化、次磺酸化、亚磺酸化、SUMO化等几种SOD翻译后的修饰方式,讨论了修饰后对SOD酶活性的影响和生理意义,并对SOD翻译后修饰的发展及面临的挑战进行了展望,为相关疾病的研究、治疗及靶向药物的研制提供了理论基础。

关键词: 超氧化物歧化酶;蛋白质翻译后修饰;酶活性;蛋白翻译后修饰新方式

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0611

Research Progress in the Post-translational Modification of Superoxide Dismutase

JIA Hai-hong LI Bing-qing

(Department of Microbiology, Institute of Basic Medicine, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062)

Abstract: Superoxide dismutase (SOD) is a kind of antioxidant metal enzyme in living organisms, which can catalyze the disproportionation of superoxide anion radicals to produce oxygen (O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2), and plays an important role in the balance of oxidation and antioxidant in the body as well as is closely related to the occurrence and development of many diseases. The regulation of SOD enzyme activity has always been the focus of research, most of which focus on two aspects: transcription level (gene expression) and translation level (enzyme protein synthesis). With the development of research, it is found that post-translational modification of protein (PTM) has an important effect on the enzyme activity of SOD. In recent years, more and more attentions have been paid to the influence of protein post-translational modification on SOD enzyme activity. In this review, we summarized several ways of SOD post-translation modification, such as nitration, phosphorylation, S-glutathione, glycosylation, acetylation, sulfonic acid modification, sulfonic acid modification, SUMO modification, etc., and discussed the effect of modification on SOD enzyme activity and its physiological significance. Also we prospected the development and challenges of SOD post-translational modification. It provides a theoretical basis for the research, treatment and development of targeted drugs of related diseases.

Key words: superoxide dismutase; post-translational modification of proteins; enzyme activity; new ways of post-translation modification

氧对于需氧生物来说极其重要,氧参与的代谢活动是正常生命活动不可或缺的,它经常会伴有活

性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生^[1]。活性氧在机体中有双重作用,生物体内活性氧的含量

收稿日期: 2021-05-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31900124)

作者简介: 贾海红,女,博士,助理研究员,研究方向: 抗氧化酶的结构和功能; E-mail: jia11112222@126.com

通讯作者: 李冰清,女,博士,副研究员,研究方向: 微生物致病蛋白的结构和功能; E-mail: bingqingsdu@163.com

通常处于平衡状态。当机体内吞噬细胞在细胞膜受到刺激时,通过呼吸暴发机制,产生大量 ROS,这时候 ROS 是吞噬细胞发挥吞噬和杀伤作用的主要介质。但是在 ROS 的产生和清除失去平衡时,常常会造成 ROS 对机体的损伤,比如造成酶失活、蛋白质损伤、脂质过氧化和 DNA 突变等^[2]。为了控制 ROS 的水平,防止氧自由基对细胞的破坏,保护细胞免受不良环境的影响,几乎所有需氧生物都进化出了一套发达的氧化防御体系,来清除细胞有氧化代谢产生的各种 ROS^[3]。其中,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)便是该体系中的抗氧化酶之一,它是一种能够催化超氧化物通过歧化反应转化为 O₂ 和 H₂O₂ 的酶^[4]。

SOD 在需氧生物中普遍存在,所有 SOD 催化中心都包含有一个金属离子,根据其结合金属离子的不同,SOD 可以分为 4 种类型: Cu/ZnSOD、FeSOD、MnSOD 和 NiSOD。在哺乳动物中含有 3 类: SOD1 (Cu/ZnSOD)、SOD2 (MnSOD)、SOD3 (胞外 Cu/ZnSOD)。最近发现 NiSOD 只存在于某些极少数原核细菌中^[5-6]。SOD 被认为是抗氧化系统的第一道防线,在保护细胞免受氧自由基的毒害中发挥着重要作用^[4]。研究表明,SOD 与胃病、帕金森综合征、老年痴呆症、心血管疾病等有着密切关系^[7-10]。近年来,SOD 也在农业、食品、化妆品领域表现出很大的应用潜力。随着分子生物学的发展,对该酶进行了广泛深入的研究,尤其是在酶基因的表达、调控方面。目前对于 SOD 活性调节,无论是从相关基因的转录水平还是翻译水平都有大量的文献报道^[11-13]。翻译后修饰在调节 SOD 活性中也起重要作用,但是通过翻译后修饰来调控 SOD 活性仍处于起步阶段,是一个新的研究热点领域。

目前报道的 SOD 的翻译后修饰方式主要有硝基化、磷酸化、S-谷胱甘肽化、糖基化以及蛋白翻译后修饰新方式次磺酸化等,这些修饰方法的生理意义包括影响酶的活性、稳定性,调控与其他蛋白相互作用,调控酶的细胞内定位等^[14-15]。但是目前对 SOD 的翻译后修饰的调控研究仍不深入。本文对近年来 SOD 的翻译后修饰的研究进展进行综述,总结了几种翻译后修饰的方式及翻译后修饰对 SOD 酶活性影响,并讨论其病理生理意义。

1 硝基化对 SOD 酶活性的调控

蛋白质酪氨酸(Tyr)和色氨酸(Trp)硝基化是一种重要的蛋白质翻译后修饰,能引发一系列病理生理过程,其被认为与炎症、神经退行性疾病、心血管疾病和癌症等疾病相关^[16-18]。在 SOD 翻译后修饰领域中,硝基化是研究最广泛修饰之一^[14]。

1.1 硝基化对 Cu/ZnSOD 酶活性的影响

Ischiropoulos 等^[19]首次报道了牛 Cu/ZnSOD 与过氧亚硝酸盐(ONOO⁻)反应生成 3-硝基酪氨酸残基。晶体结构表明,Cu/ZnSOD 的硝基化位点为 Tyr108^[20]。修饰后的酶活性与野生型 Cu/ZnSOD 酶活性相同^[19]。与牛 Cu/ZnSOD 不同的是人 Cu/ZnSOD 的氨基酸序列中没有 Tyr 残基,只有一个色氨酸残基(Trp32)。通过质谱(MS)和高效液相色谱(HPLC)-光电二极管阵列分析发现,人重组 Cu/ZnSOD 与 ONOO⁻/CO₂ 和髓过氧化物酶/H₂O₂/亚硝酸盐体系反应生成的 6-硝基色氨酸是主要硝化产物。而 6-硝基色氨酸可能是内源性活性氮(RNS)存在的一种新的生物标志物^[21-22]。修饰后的人 Cu/ZnSOD 酶活性均降低,在 ONOO⁻修饰和髓过氧化物酶系统修饰时分别有 30% 和 15% 的酶活性损失^[21-22]。但是,Alvarez 等^[23]报道人 Cu/ZnSOD 经过 ONOO⁻修饰后失去了 90% 的酶活性。因为他们在硝化体系中没有使用 CO₂,从 ONOO⁻裂解中产生的羟基自由基类似物可能对酶活性造成了影响。之后,Taylor 等^[24]报道 W32F 突变体降低了 SOD 的 G93A 突变体的细胞毒性及在家族性肌萎缩侧索硬化小鼠模型(FALS)中形成细胞质内含物的倾向。这一证据表明,Trp32 的硝化作用可能对 Cu/ZnSOD 在 FALS 中的细胞毒性产生一定影响。

1.2 硝基化对 Fe/MnSOD 酶活性的影响

1996 年,MacMillan-Crow 等^[25]首次报道了人 MnSOD 中的酪氨酸硝化作用在人移植肾慢性排斥反应中的作用。研究发现虽然病人体内 MnSOD 总蛋白升高,但是硝化后酶活性降低。体外研究发现重组人 MnSOD 与 ONOO⁻反应完全抑制了酶的活性,并诱导了硝基酪氨酸和二酪氨酸的生成。作者利用质谱分析发现 MnSOD 的 9 个酪氨酸残基中有 3 个(Y34, Y45, Y193)发生了硝基化反应。其中 ONOO⁻能

完全使 Y34F MnSOD 突变体活性消失,除了 Y34 位点,其他两个位点也可以灭活 Y34F MnSOD 突变体。研究表明,硝基化 Tyr 残基的氧化产物二酪氨酸也有助于 MnSOD 酶的失活,尤其是在突变酶中更有效^[26-27]。相反地,有研究发现 Tyr34 残基是 ONOO⁻ 唯一的硝化位点,该 Tyr 残基位于锰活性位点约 5.5Å 之内,并且随着 Tyr 残基硝化速率的增加,MnSOD 活性逐渐丧失^[19, 28]。Quijano 等^[29] 也发现 MnSOD 中加入一个硝基后,大部分酶活性丧失。Quint 等^[30] 研究表明,约 75% 的 Tyr34 被硝化,而其他 Tyr 残基未被硝化,而且硝化后酶活性被抑制了将近 80%,此外他们还解析出了硝基化的人 MnSOD 的晶体结构。Neumann 等^[31] 通过使用氨基酰-tRNA 合成酶和 tRNA 对在基因编码位点进行 3- 硝基酪氨酸位点特异性结合,使人类 MnSOD 的 Tyr34 加入 3- 硝基酪氨酸。他们发现,对人 MnSOD 中 Tyr34 进行定量硝化可以使其酶活性丧失 97%。总之,可以得出这样的结论: ONOO⁻ 几乎只硝化 Tyr34,而且单独硝化 Tyr34 足以降低人 MnSOD 的酶活性。ONOO⁻ 首先与蛋白质金属中心反应,并促进金属中心相邻蛋白质 Tyr 残基的硝化。这一机制可以解释 MnSOD 的 Tyr34 与其他 8 个酪氨酸残基相比更容易被特异硝化。根据以上研究结果提出了 3 种被硝基化修饰后 MnSOD 失活的机制,即(1)与底物结合后对空间的干扰,(2)在催化过程中支持质子转移的氢键网络减弱,(3)硝基的存在和由硝基引起的氧化还原反应有关的静电效应^[28-32]。

研究发现 ONOO⁻ 同样催化大肠杆菌和卵圆假单胞菌 Fe-SOD 发生硝基化反应,使酶活性降低^[19, 28]。Larrainzar 等^[33] 报道,来自植物豇豆细胞的重组 FeSOD 通过与 ONOO⁻ 供体 SIN-1 (3- 吗啉斯德酮亚胺, 3-morpholinosydnonimine, SIN -1) 孵育被硝化灭活,同时产生 NO 和 O₂。最近有科学家报道,克氏锥虫的两种亚型 Fe-SOD (线粒体 Fe-SODA 和胞质 Fe-SODB) 均能被 ONOO⁻ 硝化和灭活^[34]。因此,我们认为活性氮 (RNS) 可能是通过硝化关键的 Tyr 残基,比如人 MnSOD 的 Tyr34 位点,来灭活大部分的 Fe/MnSOD。

2 磷酸化对 SOD 酶活性的调控

丝氨酸 (Ser) / 苏氨酸 (Thr) / 酪氨酸 (Tyr) 残基的磷酸化是蛋白质典型的翻译修饰之一。Csar 等在用粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 治疗髓细胞时首次报道了胞浆 Cu/ZnSOD 的短暂磷酸化。他们发现用 G-CSF 处理后,Cu/ZnSOD 的表达量和活性都降低,这可能是磷酸化修饰后 Cu/ZnSOD 容易水解。在这种情况下,SOD 水平的降低和 O₂ 水平的升高可能有助于 G-CSF 对髓系细胞信号转导的调控^[35]。Archambaud 等^[36] 报道了细菌 SOD 的磷酸化,研究发现李斯特菌胞质 MnSOD 在丝氨酸和苏氨酸上发生了磷酸化,当细菌达到平台期时酶活性降低。而最活跃的非磷酸化 MnSOD 在细菌培养过程中能分泌到细胞外,而且分泌的 MnSOD 可能是该细菌的一个毒力因子,可以抵消宿主吞噬细胞的作用。此外,他们观察到在感染细胞中分泌的 MnSOD 被磷酸化并且下调表达,这可能是由一种未知的细胞激酶介导的。该机制可作为宿主吞噬细菌控制细胞内感染的新策略。磷酸化蛋白组学分析也观察到了一种革兰氏阴性细菌空肠弯曲杆菌中也发现了磷酸化的 FeSOD^[37]。线粒体 MnSOD 也被预测为磷酸化底物,之后利用双向电泳和 [γ-32P]-ATP 标记的 MS 分析,首次报道了在马铃薯线粒体中被磷酸化的 MnSOD,但未进行活性研究^[38]。Hopper 等^[39] 利用磷酸化蛋白组技术也报道了离体猪心脏线粒体中 MnSOD 的磷酸化。此外,Ca²⁺ 诱导的线粒体 MnSOD 去磷酸化能使酶的活性最多增加 2 倍。这一证据表明 MnSOD 活性可能被 Ca²⁺ 依赖的信号通路控制,以调节基质中超氧化物或 H₂O₂ 的稳态水平。将大鼠神经母细胞瘤细胞线粒体蛋白提取物及同位素标记的 [γ-32P]-ATP 孵育,测定大鼠线粒体 MnSOD 磷酸化位点为 Ser82,但尚未进行活性研究^[40]。

综上所述,磷酸化作为 SOD 的一种新的调控机制在生物界可能是普遍存在的无论是细菌还是脊椎动物。虽然与 SOD 磷酸化相关的疾病还没有报道,但是这一领域的进一步研究可能导致 SOD 在细胞氧化损伤和氧化还原信号传导中的功能有轻微调整。为了解析整个调控机制,还需要筛选催化 SOD 磷酸化的特异性激酶和去磷酸化磷酸酶、鉴定 SOD 的磷

酸化位点, 以及更详细地分析磷酸化后 SOD 功能的变化。

3 S-谷胱甘肽化对 SOD 酶活性的影响

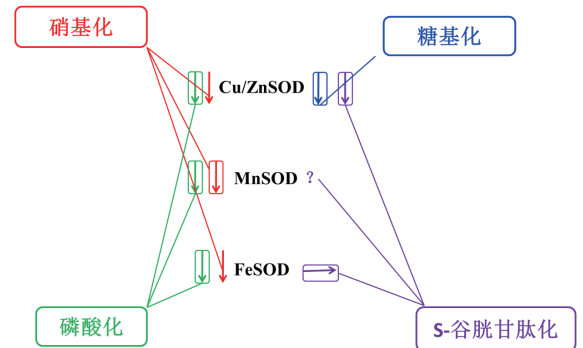
S-谷胱甘肽化是通过添加谷胱甘肽对蛋白质半胱氨酸 (Cys) 残基进行翻译后修饰, 氧化或亚硝化应激可促进这种修饰, 这种修饰也发生在未受应激的细胞中。它可以通过调节蛋白质功能和防止蛋白质硫醇的不可逆氧化来调节多种细胞过程^[41]。从人红细胞中分离到谷胱甘肽化的 Cu/ZnSOD, Cys111 为修饰位点, Cys111 位点谷胱甘肽化修饰后酶活性没有显著变化, 但促进了 Cu/ZnSOD 突变体酶活性的降低, 使 Kd 增加了 2 倍^[42]。家族性肌萎缩侧索硬化 (FALS) 是一种以进行性运动神经元丧失为特征的致命疾病。研究提出人 Cu/ZnSOD 的 S-谷胱甘肽化导致其酶活性降低, 促进其聚集, 而聚集后与 FALS 的发生有关^[43]。从嗜碱假交替单胞菌 (Ph) 中也分离得到 S-谷胱甘肽化的 FeSOD, 其 S-谷胱甘肽化位点是一种活性很高的半胱氨酸残基 (Cys57)。这种修饰可以发生在假交替单胞菌中也可以发生在过表达的大肠杆菌细胞中。虽然与未修饰的酶相比, 修饰后酶活性降低了不到 10%, 但是 FeSOD 的 S-谷胱甘肽化修饰保护了酶免受 Tyr 硝化和 ONOO⁻ 硝化而失活, 并且细胞遭受氧化胁迫时这种修饰会增强^[44]。因为假交替单胞菌在寒冷条件下能很好地抵抗活性氧的损伤, 这种修饰被认为是一种提高细胞抗氧化能力的冷适应策略^[44]。研究还发现了重组大鼠 MnSOD 在大肠杆菌中表达时发生了 S-谷胱甘肽化, 但在这种情况下还没有酶活性相关的研究报告^[43]。

4 糖基化对 SOD 酶活性的影响

糖基化是在糖基转移酶作用下将糖类转移至蛋白质和蛋白质特殊的氨基酸残基上形成糖苷键的过程。蛋白质的糖基化是一种重要的蛋白翻译后修饰, 有调节蛋白质功能的作用。糖尿病患者肾脏、肝脏等器官的蛋白易被糖基化修饰。Cu/ZnSOD 的糖基化是 SOD 最早发现的翻译后修饰之一^[42]。Cu/ZnSOD 的糖基化能导致酶的降解, 而酶活性的丧失可能是导致糖尿病患者患病的生理原因^[45]。虽然我们在 Cu/ZnSOD 的糖基化方面有很多研究, 但关于

Cu/ZnSOD 的糖基化有了很好的综述, 本文不做进一步的详细介绍^[43]。

根据上文介绍的 4 种关于 SOD 的翻译后修饰, 图 1 总结了硝化、磷酸化、S-谷胱甘肽化和糖基化对 SOD 活性的影响。由图中可以看出, 以上各种修饰对酶活性的调控大部分都是负调控。



向下箭头表示 SOD 活性下降。方框覆盖的箭头表示修饰发生在体内。水平箭头表示修饰后的酶活性没有改变

The downward arrow shows decreased SOD activity. The arrows covered by boxes indicate that the modification occurred in the body. The horizontal arrow indicates that the enzyme activity did not change after modification

图 1 翻译后修饰对 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of post-translational modification on SOD activity

5 乙酰化修饰对 SOD 酶活性的调控

乙酰化修饰 (acetylation) 是指在酶 (或非酶) 的作用下将乙酰 CoA 的乙酰基团转移至蛋白质氨基酸残基上, 是重要的蛋白质翻译后修饰类型之一。其在表观调控过程中至关重要, 参与了生命活动的各个方面, 并且修饰过程是可逆的。乙酰化修饰分布十分广泛, 无论是真核还是原核生物, 都大量存在这种修饰。乙酰化修饰普遍存在于代谢酶之中, 并且调节代谢通路及代谢酶的活性。大肠杆菌 FeSOD 蛋白 12、44、51 位的 Lys 均能发生乙酰化修饰, 另外 CobB 能催化 FeSOD 去乙酰化, 同时发现去乙酰化后 FeSOD 的酶活降低^[46]。子宫平滑肌瘤中 MnSOD 乙酰化增加导致其酶活性降低, 而恢复去乙酰化的 MnSOD 则能抵抗高浓度的 ROS^[47]。位于线粒体中的去肿瘤抑制因子 SIRT3 可以去乙酰化并激活 MnSOD 以清除 ROS。从而保护细胞免受氧化损伤^[48]。肾透明细胞癌 786-O 中 MnSOD 的去乙酰

化能增强其细胞增殖能力^[49]。研究表明 SOD 能被乙酰化和去乙酰化修饰并且修饰影响了 SOD 酶活性。

6 次磺酸化修饰对 SOD 酶活性的调控

次磺酸化 (sulfenation) 是 2018 年公布的生物物理学名词。次磺酸化是蛋白质半胱氨酸的自由巯基 (-SH) 被氧化形成次磺酸 (-SOH) 的过程。次磺酸化出现在一些酶类的中间反应过程中, 进一步可能氧化为更高级产物 (如亚磺酸、磺酸), 也可以被可逆还原为自由巯基。ALS 是一种致命的神经退行性疾病, 其重要病理特征之一就是由 Cu/ZnSOD (SOD1) 以及 TAR DNA 结合蛋白 43 (TDP-43) 在中枢神经系统的运动神经元以及星形胶质细胞中形成纤维样聚集体^[44, 50]。但是散发型 ALS 发病的根本原因仍不清楚。2018 年, 梁毅教授研究组发现病理浓度 H₂O₂ 都可以使得野生型 SOD1 发生次磺酸化修饰, 而且这种可逆的修饰对于 SOD1 生长纤维和发挥病理功能至关重要。研究发现散发型 ALS 病人脑脊液样本中的次磺酸化修饰 SOD1 水平显著高于对照组脑脊液样本, 因此次磺酸化修饰 SOD1 可能是散发型 ALS 早期诊断生化指标。脑脊液中次磺酸化修饰的 SOD1 与散发型 ALS 的相关性这一发现将为早期 ALS 的诊断和治疗提供一条全新的途径^[13]。

7 SUMO 化修饰对 SOD 酶活性的调控

SUMO 是一类重要的类泛素蛋白, SUMO 化蛋白翻译后修饰 (SUMOylation), 又称为“小泛素化”, 是一种普遍存在、动态可逆的蛋白翻译后修饰类型, 在细胞中起调节蛋白的结构、增强蛋白质的活性和功能稳定性作用。哺乳动物细胞中有 3 种比较常见的 SUMO 化蛋白: SUMO1、SUMO2 和 SUMO3。研究报道 SOD1 可被 SUMO1、SUMO2/3 修饰, 其中 SUMO-1 对 SOD1 在第 75 位赖氨酸 (Lys75) 和 Lys9 修饰, SUMO-1 修饰后野生型和突变型 SOD1 所形成的胞浆内聚集均会增加, 而且 SUMO-1 能够被招募至 SOD1 所形成的聚集上, 与 SOD1 在细胞内聚集体上有共定位现象, SUMO-1 可以稳定野生型和突变型 SOD1 而不易降解, 进而可能对由 SOD1 突变所引起的 FALS 的发病产生影响。而 SUMO2/3 的修饰位点为 Lys75, 可增加 SOD1 突变蛋白的聚集, 增加突变蛋白的稳定性^[51]。

8 亚磺酸化修饰对 SOD 酶活性的调控

香港浸会大学环境与生物分析国家重点实验室蔡宗苇课题组近日于 *Small Structures* 上发表的研究成果表明, 1-硝基芘 (1-nitropyrene, 1-NP) 可以通过攻击 SOD1 的 Cys111 位点产生亚磺酸化, 进而抑制 SOD 活性并导致 ROS 增加。因此, 提出了 1-NP 诱导细胞毒性和 ROS 生成的新机制^[52]。

9 总结与展望

酶活性的发挥是一个复杂的过程, 仅仅转录或者翻译水平的上调或者下调, 并不能推断最后酶活性的增强或减弱, 同时涉及到翻译后修饰, 在组织、细胞及亚细胞中的定位以及与其他蛋白质之间的相互作用。鉴于 SOD 在抗氧化过程中发挥的重要作用, 对其各个环节的调控都应引起足够的重视。随着分子生物学的迅猛发展, 翻译后修饰对酶活性的影响得到广泛的重视。蛋白质翻译后修饰是影响 SOD 酶活性的重要环节, 如前所述, 目前发现的对于 SOD 的翻译后方式主要是硝基化、磷酸化、糖基化和 S-谷胱甘肽化等。其中硝基化和磷酸化对 SOD 酶活性影响的研究较多, 而且修饰后酶活性都降低。除了以上几种常规的修饰, 越来越多小众修饰也逐渐成为研究热点, 次磺酸化修饰、亚磺酸化修饰、SUMO 化修饰等。此外, 对于甲基化等一些常见的修饰也对 SOD 酶活性产生影响^[53], 目前相关研究尚不多, 但是很多研究具有开创性。对于修饰后 SOD 酶活性降低的生理意义, 我们推测翻译后修饰有利于维持体内正常的氧化还原状态。但是, 目前翻译后修饰对 SOD 酶活性影响的研究相对较少, 翻译后修饰影响 SOD 酶活性的机制也尚不明确, 修饰后的生理意义也不清楚。因此, 对翻译后修饰影响 SOD 酶的方式和机制的进一步研究, 以及各种新修饰方式的研究将会是未来关注的焦点。

参考文献

- [1] Flohé L. Looking back at the early stages of redox biology [J]. *Antioxidants*, 2020, 9 (12): 1254.
- [2] Hatinguais R, Pradhan A, Brown GD, et al. Mitochondrial reactive oxygen species regulate immune responses of macrophages to *Aspergillus fumigatus* [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 641495.

- [3] Candas D, Li JJ. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20 (10) : 1599-1617.
- [4] Sheng Y, Abreu IA, Cabelli DE, et al. Superoxide dismutases and superoxide reductases [J]. *Chem Rev*, 2014, 114 (7) : 3854-3918.
- [5] Zhao HQ, Zhang RF, Yan XY, et al. Superoxide dismutase nanozymes: an emerging star for anti-oxidation [J]. *J Mater Chem B*, 2021. DOI : 10. 1039/d1tb00720c.
- [6] Perry JJ, Shin DS, Getzoff ED, et al. The structural biochemistry of the superoxide dismutases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804 (2) : 245-262.
- [7] Tak YJ, Park JH, Rhim H, et al. ALS-related mutant SOD1 aggregates interfere with mitophagy by sequestering the autophagy receptor optineurin [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (20) : 7525.
- [8] Yan Z, Spaulding HR. Extracellular superoxide dismutase, a molecular transducer of health benefits of exercise [J]. *Redox Biol*, 2020, 32 : 101508.
- [9] Basak D, Uddin MN, Hancock J. The role of oxidative stress and its counteractive utility in colorectal cancer (CRC) [J]. *Cancers*, 2020, 12 (11) : 3336.
- [10] Lei Y, Wang K, Deng L, et al. Redox regulation of inflammation : old elements, a new story [J]. *Med Res Rev*, 2015, 35 (2) : 306-340.
- [11] Dhar SK, Tangpong J, Chaiswing L, et al. Manganese superoxide dismutase is a p53-regulated gene that switches cancers between early and advanced stages [J]. *Cancer Res*, 2011, 71 (21) : 6684-6695.
- [12] Chang KY, Hsu TI, Hsu CC, et al. Specificity protein 1-modulated superoxide dismutase 2 enhances temozolomide resistance in glioblastoma, which is independent of O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase [J]. *Redox Biol*, 2017, 13 : 655-664.
- [13] Dhar SK, Zhang J, Gal J, et al. FUsed in sarcoma is a novel regulator of manganese superoxide dismutase gene transcription [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20 (10) : 1550-1566.
- [14] Yamakura F, Kawasaki H. Post-translational modifications of superoxide dismutase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804 (2) : 318-325.
- [15] Xu WC, Liang JZ, Li C, et al. Pathological hydrogen peroxide triggers the fibrillization of wild-type SOD1 via sulfenic acid modification of Cys-111 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9 (2) : 67.
- [16] Ahmad R, Hussain A, Ahsan H. Peroxynitrite : cellular pathology and implications in autoimmunity [J]. *J Immunoassay Immunochem*, 2019, 40 (2) : 123-138.
- [17] Bila I, Dzydzan O, Brodyak I, et al. Agmatine prevents oxidative-nitrative stress in blood leukocytes under streptozotocin-induced diabetes mellitus [J]. *Open Life Sci*, 2019, 14 : 299-310.
- [18] Bartesaghi S, Radi R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration [J]. *Redox Biol*, 2018, 14 : 618-625.
- [19] Demicheli V, Moreno DM, Radi R. Human Mn-superoxide dismutase inactivation by peroxynitrite : a paradigm of metal-catalyzed tyrosine nitration *in vitro* and *in vivo* [J]. *Metallomics*, 2018, 10 (5) : 679-695.
- [20] Smith CD, Carson M, van der Woerd M, et al. Crystal structure of peroxynitrite-modified bovine Cu, Zn superoxide dismutase [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1992, 299 (2) : 350-355.
- [21] Yamakura F, Matsumoto T, Fujimura T, et al. Modification of a single tryptophan residue in human Cu, Zn-superoxide dismutase by peroxynitrite in the presence of bicarbonate [J]. *Biochim et Biophys Acta BBA Protein Struct Mol Enzymol*, 2001, 1548 (1) : 38-46.
- [22] Yamakura F, Matsumoto T, Ikeda K, et al. Nitrated and oxidized products of a single tryptophan residue in human Cu, Zn-superoxide dismutase treated with either peroxynitrite-carbon dioxide or myeloperoxidase-hydrogen peroxide-nitrite [J]. *J Biochem*, 2005, 138 (1) : 57-69.
- [23] Alvarez B, Demicheli V, Durán R, et al. Inactivation of human Cu, Zn superoxide dismutase by peroxynitrite and formation of histidinyl radical [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37 (6) : 813-822.
- [24] Taylor DM, Gibbs BF, Kabashi E, et al. Tryptophan 32 potentiates aggregation and cytotoxicity of a copper/zinc superoxide dismutase mutant associated with familial amyotrophic lateral sclerosis [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282 (22) : 16329-16335.
- [25] MacMillan-Crow LA, Crow JP, Kerby JD, et al. Nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in chronic rejection of human renal allografts [J]. *PNAS*, 1996, 93 (21) : 11853-11858.
- [26] MacMillan-Crow LA, Crow JP, Thompson JA. Peroxynitrite-

- mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues [J]. *Biochemistry*, 1998, 37 (6): 1613-1622.
- [27] MacMillan-Crow LA, Thompson JA. Tyrosine modifications and inactivation of active site manganese superoxide dismutase mutant (Y34F) by peroxynitrite [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 366 (1): 82-88.
- [28] Yamakura F, Taka H, Fujimura T, et al. Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (23): 14085-14089.
- [29] Quijano C, Hernandez-Saavedra D, Castro L, et al. Reaction of peroxynitrite with Mn-superoxide dismutase. Role of the metal center in decomposition kinetics and nitration [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (15): 11631-11638.
- [30] Quint P, Reutzel R, Mikulski R, et al. Crystal structure of nitrated human manganese superoxide dismutase: mechanism of inactivation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40 (3): 453-458.
- [31] Neumann H, Hazen JL, Weinstein J, et al. Genetically encoding protein oxidative damage [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130 (12): 4028-4033.
- [32] Guan Y, Hickey MJ, Borgstahl GE, et al. Crystal structure of Y34F mutant human mitochondrial manganese superoxide dismutase and the functional role of tyrosine 34 [J]. *Biochemistry*, 1998, 37 (14): 4722-4730.
- [33] Larrainzar E, Urarte E, Auzmendi I, et al. Use of recombinant iron-superoxide dismutase as a marker of nitrative stress [J]. *Methods Enzymol*, 2008, 437: 605-618.
- [34] Martinez A, Peluffo G, Petruk AA, et al. Structural and molecular basis of the peroxynitrite-mediated nitration and inactivation of *Trypanosoma cruzi* iron-superoxide dismutases (Fe-SODs) A and B: disparate susceptibilities due to the repair of Tyr35 radical by Cys83 in Fe-SODB through intramolecular electron transfer [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (18): 12760-12778.
- [35] Csar XF, Wilson NJ, Strike P, et al. Copper/zinc superoxide dismutase is phosphorylated and modulated specifically by granulocyte-colony stimulating factor in myeloid cells [J]. *Proteomics*, 2001, 1 (3): 435-443.
- [36] Archambaud C, Nahori MA, Pizarro-Cerda J, et al. Control of *Listeria* superoxide dismutase by phosphorylation [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (42): 31812-31822.
- [37] Voisin S, Watson DC, Tessier L, et al. The cytoplasmic phosphoproteome of the Gram-negative bacterium *Campylobacter jejuni*: evidence for modification by unidentified protein kinases [J]. *Proteomics*, 2007, 7 (23): 4338-4348.
- [38] Bykova NV, Egsgaard H, Møller IM. Identification of 14 new phosphoproteins involved in important plant mitochondrial processes [J]. *FEBS Lett*, 2003, 540 (1/2/3): 141-146.
- [39] Hopper RK, Carroll S, Aponte AM, et al. Mitochondrial matrix phosphoproteome: effect of extra mitochondrial calcium [J]. *Biochemistry*, 2006, 45 (8): 2524-2536.
- [40] Castellano I, Cecere F, De Vendittis A, et al. Rat mitochondrial manganese superoxide dismutase: amino acid positions involved in covalent modifications, activity, and heat stability [J]. *Biopolymers*, 2009, 91 (12): 1215-1226.
- [41] Rashdan NA, Shrestha B, Pattillo CB. S-glutathionylation, friend or foe in cardiovascular health and disease [J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101693.
- [42] Banks CJ, Andersen JL. Mechanisms of SOD1 regulation by post-translational modifications [J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101270.
- [43] Bruijn LI. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1 [J]. *Science*, 1998, 281 (5384): 1851-1854.
- [44] Castellano I, Ruocco MR, Cecere F, et al. Glutathionylation of the iron superoxide dismutase from the psychrophilic *Eubacterium Pseudoalteromonas haloplanktis* [J]. *Biochim et Biophys Acta BBA Proteins Proteom*, 2008, 1784 (5): 816-826.
- [45] Anastasiou IA, Eleftheriadou I, Tentolouris A, et al. The effect of oxidative stress and antioxidant therapies on pancreatic β -cell dysfunction: results from *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28 (7): 1328-1346.
- [46] 徐玉英. 乙酰化对大肠杆菌 SodB 蛋白功能的影响研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- Xu YY. Effect of acetylation on the iron-containing superoxide dismutase (SodB) of *Escherichia coli* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012.
- [47] Vidimar V, Gius D, Chakravarti D, et al. Dysfunctional MnSOD leads to redox dysregulation and activation of prosurvival AKT signaling in uterine leiomyomas [J]. *Sci Adv*, 2016, 2 (11): e1601132.

- [48] Chen YH, Zhang JY, Lin Y, et al. Tumour suppressor SIRT3 deacetylates and activates manganese superoxide dismutase to scavenge ROS [J] . EMBO Rep, 2011, 12 (6) : 534-541.
- [49] 赵作辉, 李翠玲, 王道光, 等. MnSOD 乙酰化对肾透明细胞癌 786-O 细胞增殖、凋亡的影响 [J] . 山东大学学报: 医学版, 2017, 55 (9) : 31-35.
- Zhao ZH, Li CL, Wang DG, et al. Effect of MnSOD acetylation on the proliferation and apoptosis of clear cell renal cell carcinoma cell line 786-O [J] . J Shandong Univ : Heal Sci, 2017, 55 (9) : 31-35.
- [50] Cohen TJ, Hwang AW, Restrepo CR, et al. An acetylation switch controls TDP-43 function and aggregation propensity [J] . Nat Commun, 2015, 6 : 5845.
- [51] Niikura T, Kita Y, Abe Y. SUMO3 modification accelerates the aggregation of ALS-linked SOD1 mutants [J] . PLoS One, 2014, 9 (6) : e101080.
- [52] Xie GS, Zhu L, Zhang YH, et al. Sulfinylation on superoxide dismutase 1 Cys111 : novel mechanism for 1-nitropyrene to promote acute reactive oxygen species generation [J] . Small Struct, 2021, 2 (3) : 2000123.
- [53] Li J, Dai X, He X, et al. Effect of SOD2 methylation on mitochondrial DNA4834-bp deletion mutation in marginal cells under oxidative stress [J] . Bosn J Basic Med Sci, 2020, 20 (1) : 70-77.

(责任编辑 朱琳峰)