

Research Progress on the Protections of Zinc on the Cell Damage

Yijia Li¹, XuanYang², Wentao Xu^{1,2*}

¹College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing

²The Supervision Inspection & Testing Center of Genetically Modified Organisms Food Safety, Ministry of Agriculture, Beijing

Email: ncussliyijia@163.com, xuwentao@cau.edu.cn

Received: Sep. 10th, 2014; revised: Oct. 14th, 2014; accepted: Oct. 21st, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

As an essential trace element in the body, zinc plays a very crucial role in maintaining the normal physiological function of cells. This paper mainly summarizes the regulatory mechanism of intracellular zinc homeostasis and displays how zinc can protect cells from oxidative stress, DNA damage or apoptosis with different level or source. At the same time, we aim to explain that it is important for us to supply dietary zinc in proper way.

Keywords

Zinc, Oxidative Stress, DNA Damage, Apoptosis, Protection

锌对细胞损伤的保护机制研究进展

李宜珈¹, 杨 暄², 许文涛^{1,2*}

¹中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京

²农业部转基因生物使用安全检验监督测试中心, 北京

Email: ncussliyijia@163.com, xuwentao@cau.edu.cn

收稿日期: 2014年9月10日; 修回日期: 2014年10月14日; 录用日期: 2014年10月21日

*通讯作者。

摘要

锌作为机体内必需的微量元素，虽然含量甚微，但对维持细胞的正常生理功能有重要作用。本文主要综述了细胞内锌稳态的调控机制及锌对细胞氧化应激、DNA损伤及细胞凋亡的保护作用及其机制并对锌研究的前景加以展望。以此显示出适量补充膳食锌的重要性。

关键词

锌，氧化应激，DNA损伤，细胞凋亡，保护作用

1. 引言

锌在生物学和医学上的应用可以追溯到公元前 1500 年，古埃及人应用一种叫炉甘石的制剂治疗皮炎、湿疹等局部炎症。炉甘石实际上是一种碱式碳酸锌和氧化锌矿石。然而，从科学家发现锌对黑曲霉的生长必不可少，到锌被证实是生物体必需微量元素却经历了一个漫长的过程[1]。近年来，随着锌研究的不断深入，科学家通过构建动物模型和体外培养细胞模型，逐步揭示了锌的吸收转运机制及锌参与生命过程调控的作用机理。这些研究为全面了解锌的生理生化功能提供理论依据，同时也为锌及锌添加剂的广泛应用奠定坚实基础。

2. 锌稳态的调控

锌是机体必需的微量元素之一，因其具有广泛的生物学功能而被称为“生命元素”[2]。它主要以辅酶、辅基或激活剂的形式参与物质的合成、分解、转化[3]。锌参与合成机体内的 300 多种金属酶并辅助调控 2000 多种转录因子。锌缺乏会导致机体发育迟缓、免疫功能紊乱、代谢失调、认知障碍及不孕不育，而锌过量对机体也会产生一定的毒性。因此细胞内的锌稳态对机体非常重要。

Kirchgessne 在 1993 年提出，组织或器官内某营养素水平维持恒定的状态即为稳态[4]，对于人和动物个体而言，肠道内锌的吸收和内源性外排是维持体内锌稳态的主要机制。在机体极度锌缺乏或极度锌过量情况下肾的外排作用及组织和细胞内锌的再分配也辅助维持锌稳态[5]。而在细胞内，锌稳态主要靠两个溶质运载蛋白家族(Solute Carrier Slc families), Slc39A (ZIP)和 Slc30A (ZnT)及金属硫蛋白进行调控[6][7]。

2.1. 锌离子转运蛋白 Slc39A 家族和 Slc30A 家族

Slc39A (solute-linked carrier 39A)又称 Zip 家族，共有 14 个成员。它们主要负责将锌离子从胞外或胞内锌贮藏部位跨膜转运到胞浆中。该蛋白的氨基和羧基末端均伸展到细胞膜或细胞器膜外侧，通常有 8 个跨膜区，其中第 3 和第 4 跨膜区之间存在一个富含组氨酸的长环区域，而第 4 和第 5 跨膜区之间则形成了具有亲水亲脂特性的金属离子运输通道，这种结构对 Zip 家族蛋白发挥功能至关重要[8][9]。

Slc30A (solute-linked carrier 30A)又称 ZnT 家族，属于 CDF (cation diffusion facilitator)超家族。目前，在哺乳动物体内发现了 ZnT1~ZnT10 共 10 个成员，它们主要负责为含锌蛋白的合成转运锌离子，同时可将胞浆中多余的锌离子转运到胞外或胞内锌贮藏部位以防引起细胞锌中毒。该家族蛋白的氨基与羧基末端位于细胞膜或细胞器膜内侧，通常有 6 个跨膜区且在第 4 和第 5 跨膜区之间存在一个富含组氨酸的长环区域，这为锌离子提供了结合位点[10]。

Zip 家族和 ZnT 家族的蛋白主要定位于细胞膜和胞内各种细胞器膜上，其具体分布则因细胞种类而

异。如 Zip1 蛋白, 在 K562 细胞系中, 该蛋白主要定位在细胞膜上, 协助细胞吸收锌, 而在 COS-7 或 PC3 细胞系中, 它主要定位在内质网上。此外, 两个家族蛋白的分布也具有组织和器官特异性。以人为例, Zip2 主要分布在前列腺, 子宫, 子宫颈上皮细胞中, Zip4 主要分布在小肠上皮细胞, 胃, 结肠, 盲肠中。而对于 ZnT 家族而言, ZnT4 主要分布在小肠上皮细胞中, ZnT6 和 ZnT7 主要分布在肝脏中[11]。已有研究表明, Zip 家族和 ZnT 家族的蛋白不仅能够维持细胞内锌稳态, 其表达水平还与某些疾病的发生和发展密切相关。如在人体中, Zip4 和 Zip13 编码基因突变将分别引发肠源缺锌性皮炎(acrodermatitis enteropathica, 简称 AE)和新型埃莱德·当洛综合征(Ehlers-Danlos Syndrome, 简称 EDS) [12] [13]。就 ZnT 家族而言, 伴随前列腺癌的扩散, 患者体内 ZnT4 蛋白水平不断降低。另有研究表明, 在阿尔茨海默症(AD)患者体内 ZnT1, ZnT4, 和 ZnT6 蛋白水平显著上升[14] [15]。目前, 关于锌转运蛋白与疾病的确切关系尚不完全清楚, 故研究前景广阔。

2.2. 金属硫蛋白 (metallothionein)

金属硫蛋白(metallothionein, MT)是一类富含半胱氨酸的金属结合蛋白, 且在 5'调控区有多个金属反应元件(Metal response element, MRE)。细胞主要依靠金属硫蛋白和硫蛋白组成 MT/T 调节系统来调控其内部锌离子浓度。当细胞内锌离子浓度较高时, 硫蛋白合成量增加用以结合多余的锌离子形成金属硫蛋白。这是因为细胞内游离的锌离子能够与金属应答转录因子(Metal-response transcription factor-1, MTF-1)结合并将其激活, 有活性的 MTF-1 转入细胞核中识别含有 6 个 Cys₂His₂ 型锌指结构域的 MRE 位点并特异性的结合到 DNA 上, 进而启动下游基因的转录[16]; 当可用锌离子较少时, 金属硫蛋白释放已结合的锌离子, 自身变回硫蛋白[17] [18]。

3. 锌对细胞的保护作用

已有实验表明, 锌对诸如生物毒素, 重金属, H₂O₂ 和酒精等毒性物质造成的细胞损伤均有保护作用 [19]-[22]。以下将主要从缓解细胞氧化应激, 维持 DNA 的稳定性和调控细胞凋亡三方面分别叙述锌对细胞损伤的保护作用及其机制的研究进展。

3.1. 锌对细胞氧化应激的保护作用

氧化应激是指机体受到有害刺激时, 活性氧的生成速率大于清除速率, 而在体内蓄积, 并引起一系列生物反应的过程。这一过程中细胞内蛋白质、核酸及脂质等生物大分子会受到严重损伤[23]。

锌具有调节细胞内氧化还原水平的能力, 它能防止生物膜系统氧化、减少活性氧形成。而锌缺乏会增加机体对氧化应激的敏感性[24], Yousef M. I.等人以大鼠为动物模型, 观察锌缺乏膳食对大鼠体内活性氧平、脂质及蛋白水平的影响, 结果发现机体缺锌会导致脂质过氧化增强, 诱发机体产生氧化损伤, 适量补锌后损伤得以缓解[25]。锌的这种调节方式可分为慢性效应和急性效应两大类[26]。在慢性效应过程中, 由于锌的长期作用, 机体内产生了具有抗氧化活性的物质, 如金属硫蛋白、谷胱甘肽过氧化物酶和 Cu/Zn 超氧化物歧化酶等, 它们能够有效地清除过量自由基以防其对细胞造成伤害。Cao G.等人对大鼠的研究结果证实, 适当添加锌可以增加大鼠体内金属硫蛋白的水平, 且该蛋白分子上的硫簇结构可以率先与自由基反应, 进而防止细胞内其他结构受损[27]。在急性效应过程中, 锌主要起到保护蛋白巯基及通过拮抗过渡金属减少过氧化氢生成的作用[26]。

3.2. 锌对细胞 DNA 损伤的保护作用

锌具有潜在的抗氧化能力, 它能够清除自由基, 防止细胞结构和生物大分子(如 DNA、蛋白质)受到氧化损伤[28]。本实验室前期研究中采用碱性细胞彗星电泳实验观察到: 用赭曲霉毒素 A (OTA)处理

HepG2 细胞后, 处理组与对照组相比彗尾 DNA 含量、彗尾长及彗矩等指标显著升高, 加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 硫酸锌共培养后, 各指标均显著降低。同时, 对细胞内 DNA 氧化损伤标志物 8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG)的含量进行测定, 结果与碱性细胞彗星电泳结果相符, 锌添加显著降低了由 OTA 引起的 8-OHdG 激增, 这说明, 添加硫酸锌一定程度上缓解了 OTA 引发的 HepG2 细胞 DNA 氧化损伤[19]。

锌对 DNA 稳定性的维持还表现在它可以以锌指蛋白形式参与调控 DNA 的复制、转录及损伤修复。锌指蛋白是一种高度保守且具有锌指结构的蛋白, 在锌指结构中, Zn^{2+} 与多个半胱氨酸和(或)组氨酸进行配位结合, 同时在氨基酸残基间的疏水相互作用下形成稳定的四面体结构。其中 Zn^{2+} 在维持锌指结构完整和辅助完成蛋白功能的过程中发挥着不可替代的作用。依据锌指结构组成的不同可分为: Cys2-His2, Cys3-His-Cys4, Cys2-His-Cys, Cys3-His, Cys4, Cys6, Cys8, Cys2-His-Cys5 以及 Cys4-His-Cys3 等多种, 尤以 Cys2-His2 型锌指结构最为常见[29]。不同的锌指结构选择性地与 DNA 链、RNA 链或 DNA-RNA 杂交链结合, 进而在转录和翻译水平上调控基因表达[30] [31]。p53 基因在调控 DNA 修复、细胞增殖分化、细胞周期和细胞凋亡过程中发挥重要作用[32], 现有研究表明, 它的表达受到胞内锌含量的调控, 这是因为 p53 基因的主要突变位点位于其 DNA 结合域上, 而这一结构恰好也是锌指蛋白的结合位点[33] [34]。针对肺成纤维细胞和支气管上皮细胞的研究发现, 无论是在培养基中加入锌螯合剂四吡啶甲基乙二胺(TPEN)还是使用锌缺乏培养基培养细胞均能引起细胞内 p53 基因表达上调[35] [36]。另有研究表明, 虽然低锌条件下 p53 基因表达量增加, 但 p53 基因与下游靶基因相互作用的活性显著降低, 因此导致 DNA 损伤修复不能及时完成[37]。

此外, 细胞内锌含量在一定程度上影响 DNA 甲基化水平。DNA 甲基化是真核生物遗传物质化学修饰的一种方式, 在正常细胞中某些基因的重复序列处于高甲基化水平, 这样可以防止被转录因子的重新活化从而维持基因组的稳定, 但当正常细胞全基因组甲基化水平降低或某些启动子区域甲基化水平增高时将导致基因功能丧失, 甚至造成细胞癌变[38]。Duerre J A 等在研究中发现, 缺锌大鼠肝脏中的 DNA 及组蛋白的甲基化水平与对照组相比均下降[39] [40]。分析原因, 作者认为锌缺乏导致的改变很可能与含锌金属酶——甲基转移酶(BHM)相关。在本实验室前期研究中, 我们测定了 HepG2 细胞内 5-甲基脱氧胞苷(5-methyl-2'-deoxycytidine, 5mdC)的水平, 其作为 DNA 甲基化生物标志物被广泛用于 DNA 甲基化的研究。结果表明, 添加 50 $\mu\text{mol/L}$ 硫酸锌能够有效缓解 OTA 诱发的 HepG2 细胞总体甲基化水平降低[19]。

3.3. 锌对细胞凋亡的保护作用

细胞凋亡是细胞在正常生理或病理状态下发生的一种自发的程序性死亡过程, 它的发生受到机体严密调控。生物体发育、组织退化及疾病的发生过程中都会涉及到细胞凋亡[23]。

细胞凋亡是一个复杂的生物过程, 受到多方面因素影响, 如前文提到的氧化应激和 DNA 损伤都能通过激发不同路径引起细胞凋亡。大量研究表明, 锌缺乏会促进细胞凋亡, 研究者推测这可能与锌的生物学功能相关。一方面, 锌可以通过诱导合成抗氧化蛋白减少自由基产生, 协助细胞抵抗氧化应激引起的细胞凋亡, 另一方面, 锌通过调控锌指蛋白介导的 DNA 损伤修复缓解细胞凋亡[41]。目前, 锌参与调控细胞凋亡的机制尚不明确, 但研究者从未停止探索的脚步。已有研究表明, 锌能够通过抑制线粒体凋亡通路, 防止细胞凋亡。简单来说线粒体凋亡通路是指, 在外源物刺激下, 线粒体膜通透性增加, Bax 等促凋亡蛋白由胞浆转移至线粒体内进而引发线粒体释放细胞色素 C (cyto c)和凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, 简称 AIF)等进入胞浆, 最终导致 Caspase 级联反应依赖的细胞凋亡的过程[42]-[45]。Guo B 等探索了锌缺乏对小鼠成骨细胞凋亡的影响[46], 其结果发现: 锌缺乏条件下, 细胞线粒体膜电位下降, 同时线粒体内 Bax 蛋白水平、胞浆内 cyto c 和 AIF 水平均上升且 Caspase 级联反应被激活, 而适量添加锌 (15 $\mu\text{mol/L}$)能够使这些指标恢复到与对照组相近的水平。该结果表明, 锌缺乏能够激活小鼠成骨细胞的

线粒体凋亡通路进而引发细胞凋亡而适量锌添加能够防止细胞凋亡。另有研究表明, 锌还可以通过调控 AP-1, NF- κ B 和 p53 等转录因子介导的信号通路调控细胞凋亡[47] [48]。

3.4. 不同锌源对细胞损伤的保护作用

无机锌和有机锌在动物营养领域已经得到广泛应用, 它们被添加到动物日粮中用以缓解动物体可能发生的锌缺乏。无机锌包含硫酸锌、氧化锌氯化锌等, 有机锌分为简单有机酸锌盐(如葡萄糖酸锌、柠檬酸锌、醋酸锌)和锌的氨基酸或肽的螯合物(如蛋氨酸锌、赖氨酸锌) [49]。已有研究表明, 日粮中分别添加适量的两种锌源均有助于改善动物体健康状况, 如提高动物体抗氧化能力和免疫力, 促进动物生长繁殖等, 而且研究结果显示有机锌比无机锌的生物学效价更高, 即更易被机体吸收利用[50]-[53]。

虞泽鹏等人采用地塞米松作为诱导剂, 构建小鼠胸腺细胞体外培养的凋亡模型, 研究相同锌添加水平条件下, 硫酸锌和蛋氨酸锌对细胞凋亡的影响。结果表明, 锌添加能显著缓解地塞米松诱发的细胞凋亡率上升, Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 mRNA 表达量上升等不利状况。比较两种锌源的作用效果可知, 蛋氨酸锌处理组的细胞凋亡率及 Caspase-3 mRNA 表达均高于硫酸锌处理且后者具有显著差异。这说明在抑制细胞凋亡方面, 硫酸锌稍强于蛋氨酸锌, 但产生这种差异的原因有待进一步探究[54]。在该作者的另外一项研究中发现, 不同添加水平的硫酸锌和蛋氨酸锌均能在一定程度上抑制凋亡发生、减少 DNA 片段化, 且这种抑制作用具有剂量效应。在添加量为 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 蛋氨酸锌处理组细胞凋亡率显著高于相同水平的硫酸锌处理组, 而添加量增至 500 和 1000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 两者无显著差异[55]。这提示, 不同锌源间保护作用差异可能与锌添加水平有关。

4. 总结与展望

综上所述, 细胞内的锌稳态对维持正常的细胞状态至关重要, 锌过量和锌缺乏都会对细胞造成不同程度的损伤, 但锌稳态失衡导致细胞损伤的机制有待进一步研究。大量动物实验表明, 无机锌和有机锌的合理补充都对机体有益, 但由于有机锌具有生物利用率高, 吸收快、副作用小等特点而受到营养学家青睐。然而, 两种锌源在吸收方式和保护细胞免受损伤机制方面的异同尚不明确。相信随着锌研究的不断深入, 这些问题能够得到很好的回答。

另一方面, 锌的理论研究成果也在逐步向实际应用转化且前景广阔, 这些成果的转化给人们的现实生活带来福音。例如基于理论研究, 科学家发现锌是免疫细胞中重要的信号分子。进一步临床实践表明, 为患者补充适量的锌有助于辅助治疗或预防多种疾病, 如小儿腹泻, 慢性肝炎, 急性呼吸道感染及普通型感冒等[56]。

基金项目

教育部基本科研业务费(2014JD007)以及教育部新世纪优秀人才支持计划(2014FG046)。

参考文献 (References)

- [1] 于康 (2012) 于康家庭营养全书——中国家庭必备手册. 科学技术文献出版社, 北京.
- [2] 于昱, 吕林, 张亿一, 等 (2007) 影响动物肠道锌吸收因素的研究进展. *动物营养学报*, **19(suppl)**, 459-464.
- [3] 弓福利 (2002) 糖尿病患者血清铜锌的测定分析. *实用医学杂志*, **9**, 60.
- [4] Kirchgessner, M. (1993) Homeostasis and homeorhesis in trace element metabolism. In: Anke, M., Meissner, D. and Mills, C.F., Eds., *Trace Elements in Man and Animals-Tema*, Underwood Memorial Lecture, **8**, 4.
- [5] King, J.C., Shames, D.M. and Woodhouse, L.R. (2000) Zinc homeostasis in humans. *The Journal of Nutrition*, **130**, 1360-1366.
- [6] Jeong, J. and Eide, D.J. (2013) The SLC39 family of zinc transporters. *Molecular Aspects of Medicine*, **34**, 612-619.

- [7] Vašák, M. and Meloni, G. (2011) Chemistry and biology of mammalian metallothioneins. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **16**, 1067-1078.
- [8] Eide, D.J. (2006) Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochim Biophys Acta*, **1763**, 711-722.
- [9] Rogers, E.E, Eide, D.J. and Guerinot, M.L. (2000) Altered selectivity in an Arabidopsis metal transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 12356-12360.
- [10] Huang, L. and Tepasorndech, S. (2013) The SLC30 family of zinc transporters—A review of current understanding of their biological and pathophysiological roles. *Molecular Aspects of Medicine*, **34**, 548-560.
- [11] Lichten, L.A. and Cousins, R.J. (2009) Mammalian zinc transporters: Nutritional and physiologic regulation. *Annual Review of Nutrition*, **29**, 153-176.
- [12] Küry, S., Dréno, B., Bézieau, S., Giraudet, S., Kharfi, M., Kamoun, R. and Moisan, J.-P. (2002) Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nature Genetics*, **31**, 239-240.
- [13] Giunta, C., Elçioglu, N.H., Albrecht, B., Eich, G., Chambaz, C., Janecke, A.R., *et al.* (2008) Spondylocheiro dysplastic form of the Ehlers-Danlos syndrome—An autosomal-recessive entity caused by mutations in the zinc transporter gene SLC39A13. *American Journal of Human Genetics*, **82**, 1290-1305.
- [14] Henshall, S.M., Afar, D.E.H., Rasiah, K.K., Horvath, L.G., Gish, K., Caras, I., *et al.* (2003) Expression of the zinc transporter ZnT4 is decreased in the progression from early prostate disease to invasive prostate cancer. *Oncogene*, **22**, 6005-6012.
- [15] Lyubartseva, G., Smith, J.L., Markesbery, W.R. and Lovell, M.A. (2010) Alterations of zinc transporter proteins ZnT-1, ZnT-4 and ZnT-6 in preclinical Alzheimer's disease brain. *Brain Pathology*, **20**, 343-350.
- [16] Maret, W. (2000) The function of zinc metallothionein: A link between cellular zinc and redox state. *The Journal of Nutrition*, **130**, 1455-1458.
- [17] Romero-Isart, N. and Vašák, M. (2002) Advances in the structure and chemistry of metallothioneins. *Biochemistry*, **88**, 388-396.
- [18] Vašák, M. and Romero-Isart, N. (2006). Metallothioneins. *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*.
- [19] Zheng, J., Zhang, Y., Xu, W., Luo, Y., Hao, J., Shen, X.L., Yang, X., Li, X. and Huang, K. (2012) Zinc protects HepG2 cells against the oxidative damage and DNA damage induced by ochratoxin A. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **268**, 123-131.
- [20] Scheiber, I.F., Schmidt, M.M. and Dringen, R. (2010) Zinc prevents the copper-induced damage of cultured astrocytes. *Neurochemistry International*, **57**, 314-322.
- [21] Suntres, Z.E. and Lui, E.M.K. (2006) Antioxidant effect of zinc and zinc-metallothionein in the acute cytotoxicity of hydrogen peroxide in Ehrlich ascites tumour cells. *Chemico-Biological Interactions*, **162**, 11-23.
- [22] Szuster-Ciesielska, A., Plewka, K., Daniluk, J. and Kandfer-Szerszeń, M. (2008) Zinc inhibits ethanol-induced HepG2 cell apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **229**, 1-9.
- [23] 褚启龙, 杨克敌, 王爱国 (2003) 氧化应激与细胞凋亡关系的研究进展. *卫生研究*, **23**, 276-278.
- [24] Taylor, C.G., Bettger, W.J. and Bray, T.M. (1988) Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *Journal of Nutrition*, **118**, 613-621.
- [25] Yousef, M.I., El-Hendy, H.A., El-Demerdash, F.M. and Elagamy, E.I. (2002) Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology*, **175**, 223-234.
- [26] Powell, S.R. (2000) The antioxidant properties of zinc. *The Journal of Nutrition*, **130**, 1447-1454.
- [27] Cao, G. and Chen, J. (1991) Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **291**, 147-153.
- [28] 张德莉, 朱圣姬, 罗光富, 黄应平, 袁丁, 刘立明 (2004) 自由基与 DNA 氧化损伤的研究进展. *三峡大学学报 (自然科学版)*, **6**, 563-567.
- [29] 陈思明 (2013) Sp1 锌指蛋白与铂类抗肿瘤药物的相互作用研究. 中国科学技术大学, 合肥.
- [30] Meng, X., Thibodeau-Beganny, S., Jiang, T., Joung, J.K. and Wolfe, S.A. (2007) Profiling the DNA-binding specificities of engineered Cys2His2 zinc finger domains using a rapid cell-based method. *Nucleic Acids Research*, **35**, e81.
- [31] 赵楠, 赵飞, 李玉花 (2009) 锌指蛋白结构及功能研究进展. *生物技术通讯*, **1**, 131-134.
- [32] Faure, P., Bouvard, S., Roucard, C., Favier, A. and Halimi, S. (2005) Zinc protects HeLa-tat cells against free radical cytotoxicity induced by glucose. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **18**, 269-276.
- [33] Bedwal, R.S. and Bahuguna, A. (1994) Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia*, **50**, 626-640.

- [34] Pavletich, N.P., Chambers, K.A. and Pabo, C.O. (1993) The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. *Genes & Development*, **7**, 2556-2564.
- [35] Ames, B.N. (2001) DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutation Research*, **475**, 7-20.
- [36] Ho, E., Courtemanche, C. and Ames, B.N. (2003) Zinc deficiency induces oxidative DNA damage and increases p53 expression in human lung fibroblasts. *Journal of Nutrition*, **133**, 2543-2548.
- [37] Ho, E. and Ames, B.N. (2002) Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappaB and AP1 binding and affects DNA repair in a rat glioma cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 16770-16775.
- [38] Weisenberger, D.J. (2014) Characterizing DNA methylation alterations from the cancer genome atlas. *Journal of Clinical Investigation*, **124**, 17-23.
- [39] Wallwork, J.C. and Duerre, J.A. (1985) Effect of zinc deficiency on methionine metabolism, methylation reactions and protein synthesis in isolated perfused rat liver. *Journal of Nutrition*, **115**, 252-262.
- [40] Duerre, J.A. and Wallwork, J.C. (1986) Methionine metabolism in isolated perfused livers from rats fed on zinc-deficient and restricted diets. *British Journal of Nutrition*, **56**, 395-405.
- [41] Ho, E. (2004) Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **15**, 572-578.
- [42] Dewson, G. and Kluck, R.M. (2009) Mechanisms by which Bak and Bax permeabilise mitochondria during apoptosis. *Journal of Cell Science*, **122**, 2801-2808.
- [43] Sheridan, C., Delivani, P., Cullen, S.P. and Martin, S.J. (2008) Bax- or Bak-induced mitochondrial fission can be uncoupled from cytochrome C release. *Molecular Cell*, **31**, 570-585.
- [44] Slee, E.A., Harte, M.T., Kluck, R.M., Wolf, B.B., Casiano, C.A., Newmeyer, D.D., *et al.* (1999) Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: Hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *Journal of Cell Biology*, **144**, 281-292.
- [45] Twiddy, D., Brown, D.G., Adrain, C., Jukes, R., Martin, S.J., Cohen, G.M., *et al.* (2004) Pro-apoptotic proteins released from the mitochondria regulate the protein composition and caspase-processing activity of the native Apaf-1/caspase-9 apoptosome complex. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 19665-19682.
- [46] Guo, B., Yang, M., Liang, D., Yang, L., Cao, J. and Zhang, L. (2012) Cell apoptosis induced by zinc deficiency in osteoblastic MC3T3-E1 cells via a mitochondrial-mediated pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **361**, 209-216.
- [47] Siebenlist, U., Franzoso, G. and Brown, K. (1994) Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annual Review of Cell Biology*, **10**, 405-455.
- [48] Shaulian, E. and Karin, M. (2001) AP-1 in cell proliferation and survival. *Oncogene*, **20**, 2390-2400.
- [49] 高建伟, 王林枫, 杨改青, 严平, 贺翠婷 (2010) 锌的消化吸收机制研究进展. *安徽农业科学*, **1**, 33-34.
- [50] Sahin, K., Smith, M.O., Onderci, M., Sahin, N., Gursu, M.F. and Kucuk, O. (2005) Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poultry Science*, **84**, 882-887.
- [51] 胡亮, 乐国伟, 王立宽, 范查海, 施用晖 (2007) 不同氨基酸螯合锌对小鼠抗氧化能力的影响. *食品科学*, **11**, 541-544.
- [52] 邵凯, 徐桂梅, 荣威恒, 包赛娜, 张海鹰, 珊丹, 于朝晖, 王洪荣 (1996) 不同锌源对绵羊免疫机能的影响. *动物营养学报*, **4**, 51-55.
- [53] Sapota, A., Daragó, A., Skrzypińska-Gawrysiak, M., Nasiadek, M., Klimczak, M. and Kilanowicz, A. (2014) The bio-availability of different zinc compounds used as human dietary supplements in rat prostate: A comparative study. *Bio-metals*, **27**, 495-505.
- [54] 虞泽鹏, 乐国伟, 施用晖 (2005) 两种锌源对体外培养胸腺细胞 Bc-1 2、Bax、Caspase-3 mRNA 表达的影响. *畜牧兽医学报*, **36**, 328-332.
- [55] Yu, Z.-P., Le, G.-W., Huang, H.-Y., Wei, Y.-Y. and Shi, Y.-H. (2005) Effect of different zinc sources and levels on inhibition of the apoptosis induced by glucocorticoid of thymocytes *in Vitro*. *Biological Trace Element Research*, **105**, 215-227.
- [56] Prasad, A.S. (2009) Zinc: Role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, **12**, 646-652.