

研究快报

用碱性连二亚硫酸钠水溶液产生超氧阴离子自由基*

翁元凯 黄 山

翁念宇

(中国药科大学物理化学教研室)

(南京无线电厂)

产生超氧阴离子自由基 (O_2^-) 虽有多种方法, 例如黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶法^[1]、碱性二甲基亚砷法^[2]等, 但简单易行的方法迄今未见有介绍。本文报道用氧饱和的碱性连二亚硫酸钠 ($Na_2S_2O_4$) 水溶液产生 O_2^- , 方法简易, O_2^- 的浓度稳定。

由 SO_3^{2-} - $S_2O_4^{2-}$ 及 O_2 - O_2^- 两电对的标准电极电位 (E^0)^[3]: $2SO_3^{2-} + 2H_2O + 2e \rightleftharpoons S_2O_4^{2-} + 4OH^-$, $E^0 = -1.12V$; $O_2 + e \rightleftharpoons O_2^-$, $E^0 = -0.563V$ 可知反应 $S_2O_4^{2-} + 2O_2 + 4OH^- \rightleftharpoons 2SO_3^{2-} + 2H_2O + 2O_2^-$ 能自发进行, 反应平衡常数 (K) 经计算为 $K = 7.6 \times 10^{13}$ 。因反应平衡常数很大, 此反应在以氧饱和的碱性水溶液中可认为实际进行完全, 故 $[O_2^-]$ 可用 $S_2O_4^{2-}$ 的原始浓度表示。

利用 luminol 与 O_2^- 的发光反应及超氧化物歧化酶 (SOD) 可抑制此反应, 证实了由 $Na_2S_2O_4$ 配制的碱性水溶液中有 O_2^- 的存在。

我们在 $0.1mol/L$ Na_2CO_3 - $NaHCO_3$ 缓冲液 ($pH = 9.4, 10.3$) 及 $0.1mol/L$ $NaOH$ 三种介质中, 研究了不同量 $Na_2S_2O_4$ 对 luminol 发射光子数的定量关系。结果表明, 在 $25^\circ C$, $Na_2S_2O_4$ 加入量为 $5-40nmol$, 光子发射数与 $Na_2S_2O_4$ 量呈线性关系; 此范围外, 由于仪器的灵敏度及测量上限值的限制, 不能记录出光子数。所用仪器为华东电子管厂生产的 DG3030 发光仪。 $5mmol/L$ $Na_2S_2O_4$ 的 $0.1mol/L$ $NaOH$ 液可保持 O_2^- 浓度稳定至少 2 小时, 故配制 $Na_2S_2O_4$ 贮

备液, 宜用 $0.1mol/L$ $NaOH$ 。

从以上实验结果很自然导出 SOD 的测定方法。SOD 可催化歧化反应: $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 。因 SOD 能清除 O_2^- , 故可抑制 luminol- O_2^- 体系的发光强度, 从而提供了一种高灵敏的测定 SOD 活力的方法, 我们采用的反应物体系为: $0.1mol/L$ Na_2CO_3 - $NaHCO_3$ 缓冲液 ($pH = 9.4, 10.3$) $1.0ml$, $5mmol/L$ luminol 的 $0.1mol/L$ $NaOH$ 液 $50\mu l$, $5mmol/L$ $Na_2S_2O_4$ 的 $0.1mol/L$ $NaOH$ 液 $4\mu l$ 及不同浓度的 SOD 液 $20\mu l$ 。在此条件下, 使 luminol- O_2^- 发光抑制 50% 的 SOD 浓度定义为一个活力单位。由此测得精制 SOD ($54,000U/mg$, 中科院上海生物化学研究所产品, 批号 8607201) 的活力为 $50U/\mu g$ 蛋白 ($pH = 9.4$) 及 $89U/\mu g$ 蛋白 ($pH = 10.3$), 前者与样品标示量很符合。

参 考 文 献

- [1] McCord, J. M. & Fridovich, I.: *J. Biol. Chem.*, 1969, **244**, 6049.
- [2] Hyland, K. & Auclair, C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1981, **102**, 531.
- [3] Milazzo, G. & Caroli, S.: *Tables of Standard Electrode Potentials*, John Wiley & Sons, New York, 1978, 229, 239.

[本文于 1988 年 12 月 16 日收到]

* 国家自然科学基金资助课题。