

几种超氧化物歧化酶在 氧化铟电极上的循环伏安行为

孟晓云, 吴霞琴, 章宗穰

(上海师范大学 生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 采用循环伏安方法研究了三种不同来源的超氧化物歧化酶在氧化铟电极上的电化学反应行为, 并与裸金电极及半胱氨酸修饰的金电极上所得实验结果作了比较及讨论。

关键词: 循环伏安法; 超氧化物歧化酶; 氧化铟电极

中图分类号: O646.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-5137(2001)01-0061-04

0 引言

超氧化物歧化酶(Superoxidedismutase, 简称 SOD)的生理功能及其在生物医学方面的应用已有较多的研究报道^[1-3]。为了进一步拓宽其应用领域, 相关的基础研究工作显得越来越重要。由于 SOD 与大多数生物分子一样, 在固体金属电极上的电化学反应活性较小, 用常规的方法通常难以观测到电流响应, 因而相关的基础研究工作报道甚少。本研究小组通过采用不同的实验方法和手段对其电化学反应行为进行了考察, 获得的结果表明, 诸如在金微网栅电极上和金微盘电极上^[4,5], 或者在经 L-半胱氨酸修饰的金丝电极上^[6], 才可获得 SOD 准可逆的电子传递过程。

另据文献报道, 掺杂锡(Sn)的氧化铟(In_2O_3)电极由于其具有特殊的亲水性^[7], 因而已有学者将其成功地应用于细胞色素 C (Cytochrome C) 和铁氧还原蛋白(Ferridoxin)等生物活性大分子的电化学反应研究, 并获得了快速的电子传递过程的信息。这是由于氧化铟电极表面的水层可以阻止生物活性分子在电极上的直接吸附, 从而使异相电子传递速率大大加快。同时, 蛋白质的纯度对其电化学反应行为也有很大的影响^[8]。

作者则应用了循环伏安法, 分别对国内外几种不同来源的牛红细胞 SOD 在氧化铟电极上的电化学反应进行了比较。同时, 结合金丝电极和经 L-半胱氨酸修饰的金丝电极上所得的实验结果进行了初步的讨论。

1 实验部分

实验中所用的 3 种铜-锌牛红细胞超氧化物歧化酶分别购自上海华东理工大学(比活力 1.33

收稿日期: 1999-04-26

基金项目: 上海市科委青年科技启明星项目资助(00QA14017); 上海师范大学青年基金(SK200008)

作者简介: 孟晓云(1974-), 女, 上海师范大学生命和环境科学学院助教; 吴霞琴(1951-), 女, 上海师范大学生命与环境科学学院教授; 章宗穰(1936-), 男, 上海师范大学生命与环境科学学院教授。

$\times 10^{-4}$ mol/s)、上海东风丽珠试剂公司(比活力 1.17×10^{-4} mol/s)和美国 Sigma 公司(比活力 7.33×10^{-5} mol/s). 为了便于叙述,将以上公司购得的 SOD 分别标号为 SOD1, SOD2 和 SOD3. 所有被研究的 SOD 溶液浓度均为 0.26 mmol/L. 其他试剂均为分析纯,研究溶液均用二次水配制.

电化学测量在 M173 恒电位仪和 M175 信号发生器(EG&GPARC)上进行,循环伏安曲线用 MRE0089 X-Y 记录仪记录.

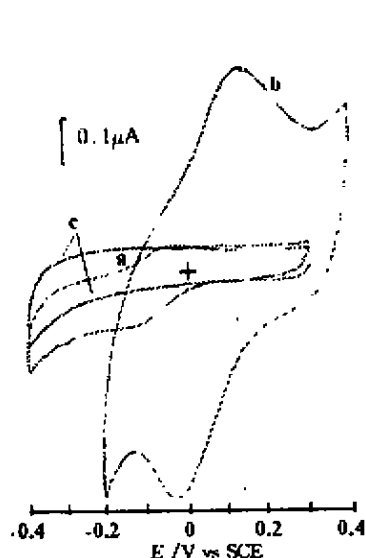
工作电极采用掺杂锡的氧化铟电极(5mm \times 5mm,以下简称氧化铟电极),使用前须依次在表面活性剂溶液、二次水中超声清洗数小时. 对电极为铂片电极,参比电极为饱和甘汞电极.

2 结果与讨论

2.1 不同来源 SOD 在氧化铟电极上的循环伏安曲线(CV 曲线)

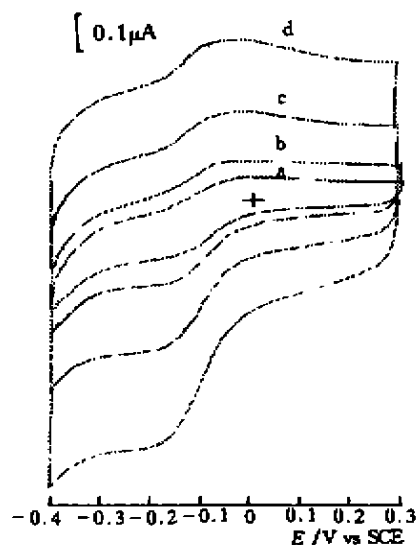
作者首先对上述 3 种不同来源的 SOD 在氧化铟电极上的循环伏安行为进行了考察.

图 1 曲线 a 是 SOD1 在氧化铟电极上所得的循环伏安曲线. 在 $-0.4 \sim 0.3$ V 的电位范围内进行循环扫描时,在 -0.03 V 和 -0.15 V 处,分别可以观察到氧化、还原电流峰. 这与 SOD 在裸金电极上的 CV 曲线(图 1 曲线 b)相比有明显的不同^[4].



扫描速度: 10 mV/s.

图 1 SOD1 在氧化铟电极上(曲线 a)和
金丝电极上(曲线 b)的循环伏安行为;
磷酸缓冲溶液的在氧化铟电极上的循环伏安行为(曲线 c).



扫描速度(mV/s). a: 10 b: 20 c: 50 d: 100

图 2 SOD1 在氧化铟电极上的循环伏安行为

图 2 是其在不同扫描速度下测得的 CV 曲线. 从中可以观察到,氧化峰电流与还原峰电流之比接近 1, ΔE 为 100 mV(在 10 mV/s 的扫描速度下). 可以确定为是一个准可逆过程. 这可归因于氧化铟电极表面适宜的亲水性,改善了 SOD 与电极之间进行电子传递反应的微环境. 因为,氧化铟电极表面的水层可以阻止生物活性分子在电极上的直接吸附,从而使异相电子传递速率大大加快^[7,8]. SOD1 在该电极上尽管有一定的电流响应,但从峰电流的大小来看,不足 $0.1 \mu\text{A}$. 根据 NICHOLSON^[9]关于电极反应动力学的公式,对其相应的动力学参数进行测定,计算得到扩散系数 D 为 $1.74 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$,异相电子迁移速率常数为 $0.94 \times 10^{-4} \text{ cm/s}$,反映出 SOD 在氧化铟电极上的

电化学活性仍旧相当弱。

SOD2、SOD3 在氧化铟电极上的 CV 曲线相似(图 3)。在研究的电位范围内,只有充电电流而无明显的氧化、还原电流。

以上实验结果表明,尽管这 3 种 SOD 的生物活性都比较高,但它们在氧化铟电极上的电化学性质却有很大的差别,这可能是与它们的纯度不同有关。由于作者的实验室目前还不具备生物试剂的进一步纯化的设备和经验,要想利用氧化铟电极来观察 SOD 直接的电化学行为,看来尚存在一定的困难。

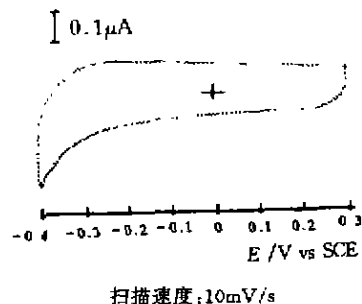


图 3 SOD2、SOD3 在氧化铟电极上的循环伏安行为

15 圈左右可获得稳定重合的扫描曲线。氧化峰电位约为 0.12V,还原峰电位约为 0V,最终的峰电位差接近 0.12V(10mV/s),峰电流可以接近 0.4 μ A。然而,SOD3 在半胱氨酸修饰的金丝电极上却没有观测到明显的电流响应。

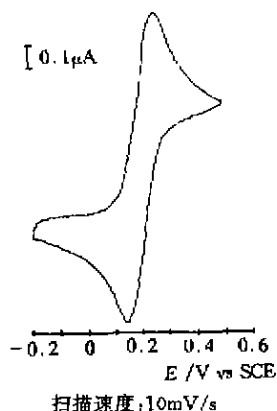


图 4 $K_3Fe(CN)_6$ 在金丝电极、氧化铟电极上的循环伏安行为

将以上结果与其在氧化铟电极上所得的循环伏安曲线比较,仅有 SOD1 在氧化铟电极上具有电化学活性,且峰电流、峰电位都与先前在半胱氨酸修饰的金丝电极上所得结果略有差异,即峰电流明显减小,峰电位也发生了明显的负移(近 200mV)。为了进一步探究不同电极材料可能给电活性物质的峰电位带来的差异,我们比较了 $K_3Fe(CN)_6$ 溶液在氧化铟电极、裸金电极上的峰电位,发现其在以上两种电极上的氧化、还原峰电位分别均在 0.23、0.15V 处(图 4),即并未表现出明显的差异,这表明无机电活性物质与 SOD 这类生物活性大

分子的电化学行为受电极材料的影响是不同的。因此,我们推测 SOD1 在氧化铟电极上电位出现明显负移的现象是由于生物活性分子在不同电极材料上的电子传递过程的微环境不同而引起的。在半胱氨酸修饰的金丝电极上,SOD1、SOD2 都显示出电化学活性,且循环伏安行为相似。只有国外进口的 SOD3 在以上两种电极上均无明显的电流响应。这可能是与生物试剂提纯过程中所用的平衡剂、或其它一些提纯条件的不同所致。

以上结果表明,氧化铟电极的特殊性能确实可对诸如细胞色素 C 或 SOD 这样的生物活性大分子的电子传递过程起加速作用,但与 SOD 在半胱氨酸作电子传递促进剂修饰的金丝电极上的行为是有一定的差异。但从现有的实验结果出发,尚未能找出不同来源 SOD 所表现出的不尽相同的电化学特性的根源。目前,我们将几者之间的差异归因于不同生产厂家在制备提取 SOD 的过程中,采用了不同的化学试剂、或三者之间的纯度有所高低所致。详细结论将有待与作者通过现场光谱电化学的测试来获取。

2.2 SOD 在半胱氨酸修饰金丝电极、氧化铟电极上循环伏安行为的比较

作者曾在半胱氨酸修饰的金丝电极上观测得到 SOD1 准可逆的循环伏安曲线^[5]。以同样的实验方法,作者又对 SOD2、SOD3 进行了同样的试验。

结果表明,SOD2 具有与 SOD1 相似的循环伏安特性,即随着循环扫描圈数的增加, CV 曲线上氧化、还原峰电流也不断增加,近

15 圈左右可获得稳定重合的扫描曲线。氧化峰电位约为 0.12V,还原峰电位约为 0V,最终的峰电位差接近 0.12V(10mV/s),峰电流可以接近 0.4 μ A。然而,SOD3 在半胱氨酸修饰的金丝电极上却没有观测到明显的电流响应。

日本熊本大学谷口功教授提供了本实验所用的氧化铈电极,在此表示诚挚的谢意。

参考文献:

- [1] 李文杰. 超氧化物歧化酶在治疗超氧阴离子自由基所引起的疾病及抗衰老上的应用[J]. 中国药学杂志, 1989, 24(7): 397.
- [2] 袁勤生. 超氧化物歧化酶的研究现状及应用前景[J]. 中国药学杂志, 1991, 26(8): 456.
- [3] 袁勤生. SOD 的研究进展[J]. 中国药学杂志, 1995, 24(7): 387.
- [4] 吴霞琴, 刘倩, 许兵, 孟晓云, 章宗耀. SOD 在金微网栅电极上的电化学行为[J]. 电化学, 1997, 3(2): 136.
- [5] WU Xiaqin, MENG Xiaoyun, WANG Zheshu, ZHANG Zongrang. Study on direct electrochemical reaction of superoxide dismutase[J]. Bioelectrochem Bioenerg, 1999, 48(1): 227.
- [6] WU Xiaqin, MENG Xiaoyun, WANG Zheshu, ZHANG Zongrang. Study on direct electron transfer process of SOD at cysteine-modified gold electrode[J]. Chem Lett, 1999, 12: 1271.
- [7] TANIGUCHI I J. Direct electron-transfer of horse heart myoglobin at an indium oxide electrode[J]. Anal Chem, 1992, 333: 331-338.
- [8] TANIGUCHI I J. Probing metalloproteins and bioelectrochemical systems[J]. The Electrochemical Society Interface, 1997, 6(4): 34.
- [9] RICHARD S Nicholson. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics[J]. Anal Chem, 1965, 37: 1351-1355.

Cyclic Voltammetric Behaviors of Superoxide Dismutase from Different Sources on the Indium Oxide Electrode

MENG Xiao-yun, WU Xian-qin, ZHANG Zong-rang

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Teachers University, Shanghai 200234, China)

Abstract: The electrochemical behaviors of superoxide dismutase from different sources on the indium oxide electrode were studied with cyclic voltammetric method. And the results were analyzed and compared with that on bare gold electrode and on cysteine-modified gold electrode.

Key words: cyclic voltammetric method; superoxide dismutase; indium oxide electrode