

使用合成化学发光探针L-012分析活性氧的生成状况

大阪市立大学研究生院医学研究科分子病理学讲座
 今田伊助、佐藤英介、西川学、井上正康

1. 前言 需氧性生物每天需要通过呼吸消耗大量的的氧气,以用于产生能量。在消耗的氧气中,有一小部分(数个百分点)在生物体内被转换成具有反

应性的活性氧。氧气通过呼吸进入生物体内之后,会被细胞内的线粒体、小胞体或者过氧化物酶体等还原而形成过氧化物(superoxide)(见图1),后者又会在超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的作用下形成过氧化氢。然后,过氧化氢会在微量过渡金属的作用下形成羟基等。

2. 活性氧分

活性氧的分析方法包括电子自旋共振法、分光分析法及化学发光法等。其中,化学发光法操作简单,同时具有较高的灵敏度。本文的作

者从众多的生物试剂中选择了8-amino-5-chloro-7-phenylpyrido[3,4-d]pyridazine-1,4 (2H, 3H) dione (L-012)作为化学发光探针,并且使用这种探针揭示了人血液及口腔内的嗜中性白血球以及家兔腹腔内的嗜中性白血球的活性氧活动情况2)。下面将对于家兔肝细胞线粒体中的活性氧的产生机制进行介绍。我们使用各种化学发光探针对于家兔肝细胞线粒体在基质呼吸时的活性氧产生机制进行了分析,测定了在以琥珀酸或谷氨酸为基质时线粒体呼吸所产生的活性氧。与以前使用的lumimol、lucigenin及MCLA相比,L-012的灵敏度更高。我们发现,活性氧的生成量在各状态下具有显著的差别。按照状态I<状态III<状态IV<状态II的顺序,在状态II时增加,而在状态III时减少。在呼吸状态II及呼吸状态III时产生的活性氧被SOD及去铁胺所抑制,其发光是由于过氧化物及羟基所导致的(图2)。

3. 结束语 大多数的活性氧具有很高的反应性,可以对于生物体进行攻击,加重老年病等各种疾病,严重时还可以导致死亡。因此,对于活性氧进行定量分析,抑制其代谢过程具有重要的意义3)。最近的研究成果表明,在线粒体生成的活性氧可导致细胞凋亡或者加快机体老化4)。这引起了人们的广泛注意。使用L-012对于活性氧的生成情况进行分析,可以对这方面的研究做出贡献。

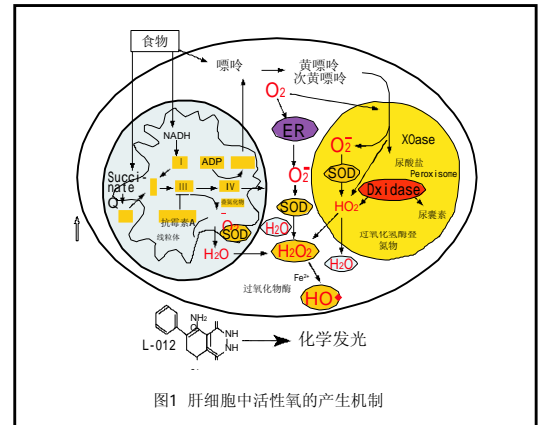


图1 肝细胞中活性氧的产生机制

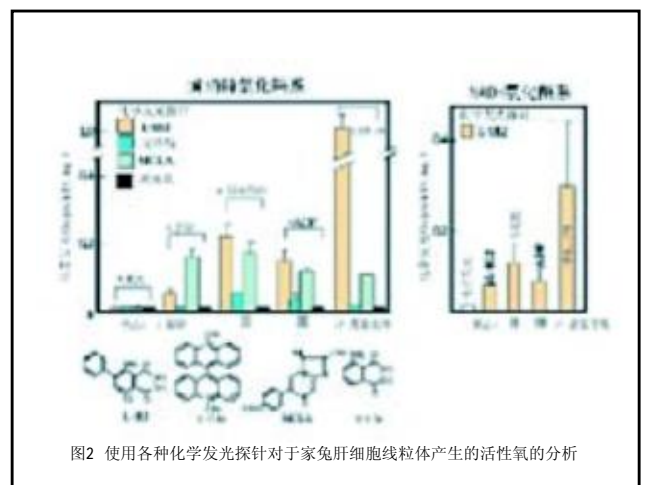


图2 使用各种化学发光探针对于家兔肝细胞线粒体产生的活性氧的分析

编号	品名	容量
120-04891	L-012	100mg

[参考文献]

- 1) Singh, H. Ann. N. Y. Acad. Sci., 804 612627 (1996); Chance, B., Sies, H., Boveris, B., Physiol. Rev., 59,527-605 (1979).
- 2) Imada, I等:Anal. Biochem., 271, 53-58 (1999)。参照:今田伊助等,《和光纯药时报》,69(3),31-34(2001)。
- 3) 井上正康监译:《氧化还原控制及抗氧化治疗战略》,医药杂志社,大阪(2001)。
- 4) Inoue, M.等:《线粒体产生的活性氧及其对于需氧生物的作用》, Curr. Med. Chem., 10, 2495-2505(2003)。

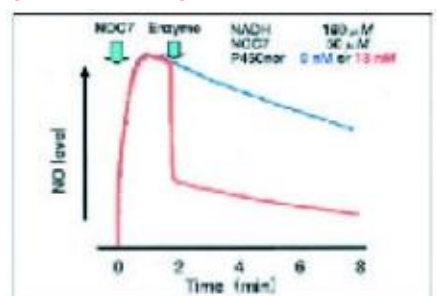
NO测定/去除试剂 NO还原酶(P450nor)

P450nor不是独特的P450酶。它不是单氧酶,而是一种还原酶,可以将NO还原成为N2O。其与NO的结束速度常数显著高于PRIO等NO引诱剂,可用于测定、去除NO。

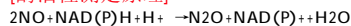
[规格]

来源 : 米曲霉(Aspergillus oryzae) 外
 观 : 液体(冻结品)
 分子量 : 45,600 最适
 pH值 : 5.5-7.2 热稳定
 性 : T50=53.9 等电位
 点 : 5.44
 活性 : 高于43,000mol NO/mol酶(37 ° C)
 krea : 1.5 × 10⁷ M-1s-1

[瞬间NO除去反应]



[酶活性测定原理]



编号	品名	容量
120-04891	NO还原酶(P450nor)	100n mol

K.T.A