

## 好中球による生体防御の分子機構：次亜塩素酸とヘムオキシゲナーゼの反応解析

○足立八重佳、本田裕樹、中沢隆、藤井浩（奈良女子大院理）

**Elucidation of the mechanism of reaction of hypochlorous acid with heme oxygenase** (Graduate School of Science, Nara Women's University) ADACHI, Yaeka; HONDA, Yuki; NAKAZAWA, Takashi; FUJII, Hiroshi

次亜塩素酸(HOCl)は強い酸化力を持ち、漂白剤や殺菌剤などに使われている。例えば白血球の一種である好中球は、細胞内に取り込んだ細菌を分解するために次亜塩素酸を用いている。好中球は細菌を取り込むと、ミエロペルオキシダーゼという酵素が過酸化水素と塩素イオンから次亜塩素酸を合成する。合成された次亜塩素酸は、細菌のさまざまな分子を酸化し、不活性化する。これまで次亜塩素酸と有機分子の反応は有機化学の観点から研究が行われ、次亜塩素酸がエポキシ化、アルコールの酸化、スルフィドやジスルフィドへの酸素付加などさまざまな酸化反応を行うことが報告されているが、生命反応の鍵を握るタンパク質自体をどのように不活性化するかは推測の域を出ていない<sup>1)</sup>。これまでに次亜塩素酸とヘム錯体との反応が研究され、次亜塩素酸はヘム鉄に配位すること、配位した次亜塩素酸はO-Cl結合の開裂を経てヘムを活性化すること、O-Clの開裂過程を制御する機構などが明らかとなった<sup>2)</sup>。しかし、ヘムタンパク質内のヘムと次亜塩素酸の反応はほとんど研究されていない。また、タンパク質を構成するアミノ酸はさまざまな有機官能基をもつため、次亜塩素酸によるさまざまな反応が考えられるが、その詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、次亜塩素酸によるヘムタンパク質の不活性化機構を解明するため、生体内でヘム代謝反応を担うヘムオキシゲナーゼ(HO)との反応を研究した。HOのヘムと次亜塩素酸の反応においては、ヘム代謝反応の第一段階であるヘム水酸化反応機構に着目した研究を行った。HOに取り込まれたヘムは、酸素活性化反応を経てヒドロペルオキシ型( $\text{Fe}^{3+}\text{-O-OH}$ )ヘムを生

じ、この中間体の末端酸素によってポルフィリン環の $\alpha$ -メソ位炭素が水酸化されると考えられている(図1参照)<sup>3)</sup>。同様に、HO内のヘムと次亜塩素酸の反応から、 $\alpha$ -メソ位が塩素化された錯体が生成するかを検討した(図1参照)。さらに、HOのタンパク部位と次亜塩素酸との反応については、stopped-flow法やESI-MS測定を行い、反応過程を調べた。さらに次亜塩素酸反応後のHOをトリプシンによりペプチドに切断した。それらのLC/MS/MS測定を行い、タンパク部位のどのアミノ酸が次亜塩素酸と反応したのかを同定した。発表では、これらの結果の詳細を報告する。

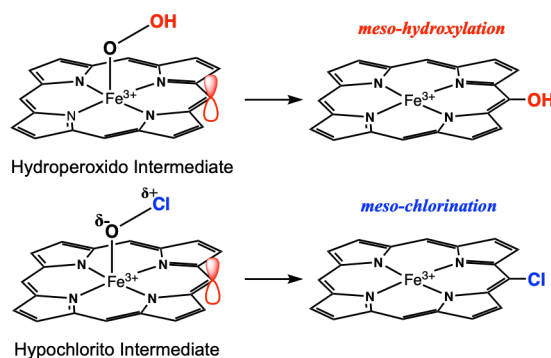


Fig.1 Initial hydroxylation step induced by hydroperoxido intermediate (upper) and chlorination step induced by hypochlorite intermediate (lower).

- 1) J. Michael Albrich, Carol A. McCarthy, and James K. Hurst, *Proc. Natl. Sci. USA*, 78, 210 (1981)
- 2) Sawako Yokota and Hiroshi Fujii, *J. Am. Chem. Soc.*, 140, 5127 (2018)
- 3) Angela Wilks, Justin Torpey, and Paul R. Ortiz de Montellano, *J. Biol. Chem.*, 269, 29553 (1994)