

# HOO・ラジカルによるアミノ酸残基の酸化反応機構解析

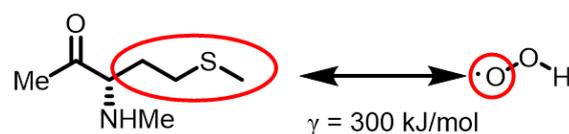
川嶋裕介<sup>1</sup>、川下理日人<sup>1,2</sup>、高木達也<sup>1,2</sup>、北野勝久<sup>3</sup> (<sup>1</sup>阪大院薬、<sup>2</sup>阪大微研、<sup>3</sup>阪大院工)

活性酸素種(Reactive Oxygen Species, ROS)や活性窒素種(Reactive Nitrogen Species, RNS)などの化学的活性種はスーパーオキシドラジカル( $O_2^-$ )や一酸化窒素(NO)に代表されるような、化学的に活性になった状態の酸素原子または窒素原子を持つ分子種であり、生体内のエネルギー代謝過程でも生成される。これらは強い酸化力を持ち、生体の免疫応答等で重要な物質である反面、過剰な蓄積は細胞毒となることが知られている。生体内において、活性酸素は酸化ストレスの原因になり、その反応過程の一つにアミノ酸やタンパク質等の生体高分子の酸化がある。

一方、北野らは、大気圧非平衡プラズマにより水溶液中に生成した活性酸素種が低 pH 条件で高い殺菌作用を有することを見出し、その殺菌反応機構を解明すべく、現在様々な検討を行っている。 $O_2^-$ の酸解離平衡により生成されるヒドロペルオキシラジカル(HOO $\cdot$ )が重要であると考えており、細胞膜を通過しやすい電的に中性なラジカルが細胞質内へ侵入することで増殖能を抑えていると報告している[1]。また、プラズマ照射によってモデルタンパク質としたリゾチームの酵素活性が失活し、立体構造の変化によることを確認し、タンパク質の部分構造であるアミノ酸残基が酸化されることも報告している[2, 3]。

しかしながら、HOO $\cdot$ ラジカルによるアミノ酸残基の酸化の詳細な反応機構はいまだ不明瞭な部分も多く、量子化学の観点からにどのように水溶液中で酸化反応が進行しているかはいまだ研究段階である。そこで今回我々は、これらアミノ酸残基の酸化機構を網羅的に評価することで、反応性の検討を行い、機能性タンパク質を構成するアミノ酸残基の酸化失活過程を定量評価することを目的に計算を行った。

最初に検討するアミノ酸残基としてメチオニンとシステインを考えた。特にメチオニンはチオメチル基を有することから、アミノ酸の中で最も酸化されやすいものとして知られており、北野らのプラズマ実験でも最も早く酸化されている[2]。



本計算では、量子化学計算ソフトとして Gaussian 09 を用いた。汎関数は、経路探索の際の構造最適化に B3LYP を用い、最終的な構造最適化と基準振動解析には BHandHLYP を用いた。基底関数として 6-31g(d, p) を用いた。経路探索の際、GRRM14 プログラム[4]付属の MC-AFIR オプションを用いた。これによって、反応経路を網羅的に探索することができ、複数の反応経路を考慮した上での反応性の定量化を行うことができる。MC-AFIR で用いる人工誘起力 (artificial force induced reaction, AFIR) は  $\gamma$  値で設定でき、これによって任意の原子を互いに押しつけ、この力よりも小さいエネルギー障壁を越えて反応経路を探索することができる。

計算の結果、メチオニンに関しては、最も活性化エネルギーの低い  $\beta$  位水素引き抜き反応よりも、反応経路数の多いチオメチル基の水素引き抜き反応が確率的に最も起こりやすいことが示された。これらの計算結果の詳細については、当日報告する。

[1] S. Ikawa, K. Kitano, S. Hamaguchi, *Plasma Process. Polym.*, **7** (1), 33, (2010).

[2] E. Takai, K. Kitano, J. Kuwabara, K. Shiraki, *Plasma Process. Polym.*, **9** (1), 77 (2012).

[3] E. Takai, T. Kitamura, J. Kuwabara, S. Ikawa, S. Yoshizawa, K. Shiraki, H. Kawasaki, R. Arakawa, K. Kitano, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, **47** (28), 285403, (2014).

[4] GRRM14: S. Maeda, Y. Harabuchi, Y. Osada, T. Taketsugu, K. Morokuma, and K. Ohno, GRRM14, Version 14.01, (2014).