

二酸化塩素によるタンパク質の変性：トリプトファン残基とチロシン残基の酸化修飾

緒方規男

Biochemistry,46(16) 2007,pp4898-4911

次亜塩素酸 (HOCl) と二酸化塩素 (ClO₂) のような酸塩素化合物は、強力な抗菌作用を有する。HOCl の抗菌作用の生化学機序は広範囲に調査されたが、ClO₂ についてはほとんど調査されていない。今回の実験で私達は、モデルタンパク質としてウシ血清アルブミンと酵母のグルコース 6 - リン酸デヒドロゲナーゼを使用して、ClO₂ の抗菌作用が主にそのタンパク質変性効果に起因していることを証明した。溶解度分析、円偏光二色性分光、示差走査熱量測定と酵素活性の測定によって、私達はタンパク質が、反応混合物中の ClO₂ 濃度の減少に伴って急速に変性していることを証明した。ClO₂ 処理されたタンパク質の円偏光二色性スペクトルは 220 ナノメートルで楕円率の変化を示す。そのことは、 α -ヘリックスの含有量の減少を意味する。示差走査熱量測定は、熱による変性の遷移温度と吸熱遷移エンタルピーが ClO₂ 処置したタンパク質で減少することを明らかにした。グルコース 6 - リン酸デヒドロゲナーゼの酵素活性は、10 μ M の ClO₂ で 15s 処理すると 10%に減少した。元素分析によって ClO₂ を処理したタンパク質に取り入れられた原子は、塩素原子ではなく、酸素原子であることが明らかとなった。そのことはタンパク質が ClO₂ によって酸化されるという直接的な証拠である。さらに、マススペクトル分析と核磁気共鳴スペクトル測定法によって、ClO₂ 処理されたタンパク質のトリプトファン残基が *N*-formylkynurenine になること、チロシン残基は 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) または 2,4,5-trihydroxyphenylalanine (TOPA) になることを示した。これらの結果から、私達は微生物の安定した構造および/または機能にきわめて重要な組成タンパク質が、ClO₂ によって変性されることにより、微生物は不活化されるということ、そしてさらに、この変性が主にそれらタンパク質のトリプトファンとチロシン残基の共有結合的酸化修飾に起因すると結論づけた。