

### 3A01

## 肺の表面に存在する界面活性タンパク質のラジカル酸化反応の研究

(京大・白眉<sup>1</sup>, 京大・生存研<sup>2</sup>, JST・さきがけ<sup>3</sup>) 江波進一<sup>1,2,3</sup>

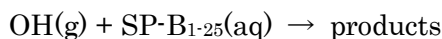
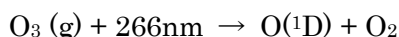
### Interfacial radical oxidation of a human surfactant protein

(The Hakubi Center, Kyoto Univ.<sup>1</sup>, RISH, Kyoto Univ.<sup>2</sup>, PRESTO, JST<sup>3</sup>) Shinichi

Enami<sup>1,2,3</sup>

[序] 人間がPM2.5やオゾンなどの大気汚染物質を吸い込むと肺の表面にヒドロキシルラジカル(OHラジカル)が発生することが知られている。我々の肺は厚さ約100nmの肺上皮被覆液(ELF)で守られている。ELFにはアスコルビン酸、尿酸、グルタチオン、トコフェロールなどの抗酸化物質<sup>1-4</sup>のほかに、界面活性タンパク質(SP)が含まれている。SPは肺胞の虚脱を防ぐなど、生命維持に必須のタンパク質であるが、大気汚染物質により発生するOHラジカルとどのように反応し、その機能が失活しているかはわかっていない。本研究ではレーザーと質量分析法を組み合わせた画期的な界面ラジカル反応測定手法を用いて、SPのモデルペプチドであるSP-B<sub>1-25</sub>とOHラジカルの気液界面反応のメカニズムの解明を行った。

[実験] 界面活性タンパク質SP-BのモデルペプチドであるSP-B<sub>1-25</sub>(NH<sub>2</sub>-<sup>1</sup>FPIPLPYCWLCLRALIKRIQA MIPK<sup>25</sup>G-COOH, MW = 2928 Da)を含む水のマイクロジェットを作り、そのほぼ垂直方向からオゾンと水蒸気を含む混合ガスを放射する(図1)。また同時にパルスレーザー光(266 nm, YAG 4倍波)を照射することによってOHラジカルをその場で発生させる<sup>5</sup>。



空気/マイクロジェットの気液界面でラジカル反応が起きた後、マイクロジェットはすぐにネブライザーガスによって分解し、マイクロメートル以下のサイズの微小液滴となり、最終的に気相にイオンを放出する。その間約10~50マイクロ秒である。その過程でマイクロジェットの気液界面に存在す

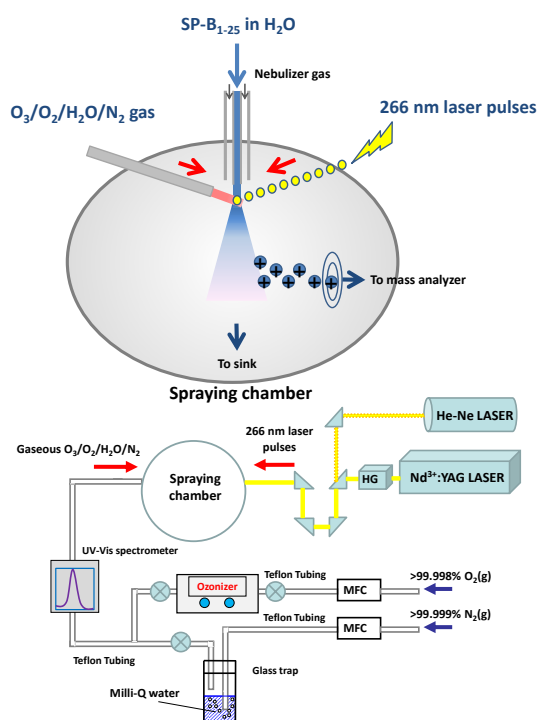


図1 Schematic diagram of setup used to study laser-induced radical reactions at the air-water interface.

る反応物・生成物のイオンが質量分析法で検出される<sup>5</sup>。

[結果と考察] SP-B<sub>1-25</sub> を含むマイクロジェットに混合ガス/266nm を放射しないとき (青)、放射したとき (赤) の質量スペクトルを図 2 に示す。OH ラジカルとの反応で酸素原子が 1 から 5 個まで付加した中間体・生成物が生成することがわかる。266nm のレーザー強度、オゾン濃度を変化させる実験結果などから、これらの中間体・生成物はトリプトファン基とシステイン基に OH が反応し、O 原子が付加した化合物であることがわかつた。

特に後者の中間体はシステインスルフェン酸<sup>6</sup>であることが示唆される。システインスルフェン酸はジスルフィド結合を結ぶため、本来の SP の機能が失われている可能性が高い。本講演では気液界面特有のラジカル酸化メカニズムについても議論する。本研究によって、オゾンや PM<sub>2.5</sub> などの大気汚染物質を吸引したときに肺の表面に生成する OH ラジカルによる界面活性タンパク質の分子レベルでの変質メカニズムが一部解明された。

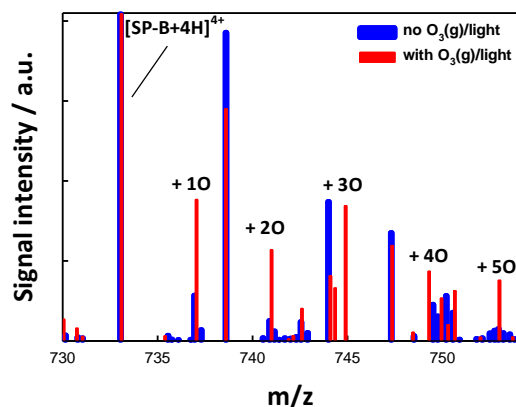


図 2 Positive ion mass spectra of 43  $\mu\text{M}$  SP-B<sub>1-25</sub> aqueous microjets (blue) or exposed to  $\sim 500$  ppmv O<sub>3</sub>(g) in O<sub>2</sub>(g)/H<sub>2</sub>O(g)/N<sub>2</sub>(g) mixtures with 266 nm pulses (red).

#### [参考文献]

- 1 Enami, S., Hoffmann, M. R. & Colussi, A. J. Acidity enhances the formation of a persistent ozonide at aqueous ascorbate/ozone gas interfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 7365-7369, doi:10.1073/pnas.0710791105 (2008).
- 2 Enami, S., Hoffmann, A. R. & Colussi, A. J. Ozonolysis of uric acid at the air/water interface. *J. Phys. Chem. B* **112**, 4153-4156 (2008).
- 3 Enami, S., Hoffmann, M. R. & Colussi, A. J. Ozone Oxidizes Glutathione to a Sulfonic Acid. *Chem. Res. Toxicol.* **22**, 35-40, doi:10.1021/tx800298j (2009).
- 4 Enami, S., Hoffmann, M. R. & Colussi, A. J. How phenol and alpha-tocopherol react with ambient ozone at gas/liquid interfaces. *J. Phys. Chem. A* **113**, 7002-7010, doi:10.1021/jp901712k (2009).
- 5 Enami, S., Hoffmann, M. R. & Colussi, A. J. In Situ Mass Spectrometric Detection of Interfacial Intermediates in the Oxidation of RCOOH(aq) by Gas-Phase OH-Radicals. *J. Phys. Chem. A* **118**, 4130-4137, doi:10.1021/jp503387e (2014).
- 6 Enami, S., Hoffmann, M. R. & Colussi, A. J. Simultaneous detection of cysteine sulfenate, sulfinate, and sulfonate during cysteine interfacial ozonolysis. *J. Phys. Chem. B* **113**, 9356-9358, doi:10.1021/jp904316n (2009).