

アクチンの関与

米国のスクリプス研究所を訪ねて、NADPH oxidase分野の権威 Babiorに面会した時、この酵素が細胞骨格を土台にして形成されるかも知れないという説を聞きました。たいへん興味深く思い、帰国してから実験で確かめることにしました。細胞骨格は複雑な網目状の形をしていますが、基本はアクチンが重合した繊維です。そこでアクチン繊維がこのNADPH oxidaseの活性にどう影響を与えるかを調べました。NADPH oxidaseのin vitro活性化系にとりあえず市販しているアクチンを加えてみたところ、それだけで活性が上がりました。ただし、活性化する前に加えておかないと効果がありませんでした。またアクチンの重合を阻止するDNaseIを加えておくと、効果がなくなりました。in vitro系にはサイトソルを使っているので元々アクチンが含まれています。そこで、サイトソルをDNaseI-カラムで処理し、持ち前のアクチンを除いてみました。すると、活性化のレベルは格段に下がったのです。

そこで次に、酵素が重合アクチンで安定化されているのかどうかを確かめるために、重合アクチンの量を定量しました。すると本酵素の活性化の条件下で、加えた単量体アクチンが重合していることがわかったのです。さらに活性化した酵素に各種のアクチン脱重合剤を入れておくと不活性化が早まることもわかりました。アクチンの重合維持には Mg^{2+} が必要です。そこで希釈時にEDTAを含ませて Mg^{2+} を除くと同様の現象が見られました。これらのことから活性化したNADPH oxidaseはアクチン繊維の存在で寿命がのびることがわかったのです。

ところで、最初の実験でサイトソルをDNaseI-カラムで処理した時、アクチンと同時にp47も半分ほど除かれていることに気づきました。このことがアクチンとp47が結合するという発見に結びつきました。アクチンの短縮型を遺伝子工学でつくり調べた結果、p47の319-337配列にアクチンが結合することをつきとめました。この部位はp47の自己制御に関わっている大事な部位でした。さらにp47はモノマーより重合アクチンにより強く結合することがわかりました。これらの結果からアクチンのNox2への関わりとしくみが明らかになりました。

発表論文: Morimatsu *et al.* (1997) BBRC, 230, 206; Tamura *et al.* (2000) Biochem. J. 349, 369; Tamura *et al.* (2000) BBRC, 276, 1186; Tamura *et al.* (2006) FEBS Letters, 580, 261 (詳細はPublicationsを参照して下さい)