

### タンパク架橋剤による酵素安定化

NADPH oxidaseは活性が不安定なことで有名な酵素で、そのことが本酵素の実体と単離の妨げになっていました。私達はこの問題を解決すべく様々な取り組みをしましたが、その中で最初にうまくいったのはタンパク架橋剤を使う方法でした。必要なサブユニット（サイトソル因子）を混ぜて活性化しておき、EDCという架橋剤を加えて複合体が解離するのを防いだのです。しかし、この方法も初めからうまくいったわけではありません。というのも反応させるためにはある程度の温度と時間が必要ですが、その間に酵素が失活してしまうのです。注意深く反応条件を変えてみて、0℃で12時間反応させることでついに安定な酵素を得ることができました。この安定化酵素は並はずれて安定で、ふつうの酵素なら失活してしまう37℃という温度で1時間おいてもなお80%の活性がありました。この方法は、酵素の性質を調べるのに大変役立ちましたが、もうひとつ重要な意味がありました。それはNADPH oxidaseにサブユニットが会合することが活性化で、解離することが失活という仮説が証明されたことです。そしてサブユニットの中でもとくにp47が安定性に大事であることを、このタンパク質をもたない遺伝病患者の好中球サイトソルを用いて明らかにしました。

発表論文 Tamura et al. (1992) JBC, 276, 2449; Miyano et al. (2004) ABB, 431, 129 (詳細はPublicationsを参照して下さい)