

O_2^- 発生デバイスの開発

活性酸素は現在レドックス制御の観点からまた酸化ストレスの観点から生化学の分野だけでなく医学の分野からも多大の関心が寄せられています。活性酸素が生体で果たす様々な生理的役割が明らかになってきています。一方で加齢に伴う病気には多かれ少なかれ活性酸素が関わっていることが知られてきました。一体、活性酸素は細胞にどのように影響するのでしょうか。体が最初に生み出す活性酸素はたいていの場合 O_2^- です。そこで培養細胞に O_2^- を当ててみたらこれが調べられると思われました。ところがこれまで穏やかな条件下で O_2^- を発生させる方法がありませんでした。唯一の方法はキサンチンオキシダーゼにキサンチンを加えるもので、酵素の保存が難しく、また基質のキサンチンが溶けにくく、さらに副産物として尿酸が出るなどの欠点がありました。私たちは体のもつ O_2^- 生成酵素であるNADPH oxidaseの安定化を追求した結果、通常の酵素よりはるかに安定な酵素に改変することに成功しました。そこでこれを利用してマイクロな O_2^- 発生デバイスができないか、と考え研究に着手しました。ここでは輸送することも考え、安定なだけでなく、凍結に耐えること、また培地をなるべく乱さないために少量加えるだけでよいように高濃度に濃縮することを試みました。さらに37°Cで保温した時に長時間持続することもめざしました。その結果、上記の点をほとんどクリアしたデバイスを完成することができました。このデバイスをヒトの培養細胞として汎用されるHEK293細胞に入れ1日培養したところ60%の細胞が細胞死を起こすことがわかりました。詳しく調べると、実際に効いているのは O_2^- ではなくそれから派生した H_2O_2 であることも確かめました。そこで学内外の研究者に声をかけ、神経細胞やグリア細胞、大腸癌細胞などでも効果があることを確かめました。

このように高性能の O_2^- 発生デバイスを開発しましたが、ただひとつ欠点がありました。それは培地中では酵素の安定性がやや落ち、思ったほど O_2^- 発生が持続しないという点でした。この点についても様々な改良を試み、我々の得意な架橋剤を用いることにより、培地中でも安定なデバイスの開発に成功しました（未発表データ）。今後この新型 O_2^- デバイスを用いて、様々な組織の細胞について検討してゆきたいと思います。

発表論文: Tamura *et al.* (2005) *J. Biotech.*, 120, 421 (詳細はPublicationsを参照して下さい)