

## 日本語要約②

Measuring CREB activation using bioluminescent probes that detect KID-KIX interaction in living cells

Ishimoto T., Mano H., Ozawa T., \*Mori H.

Bioconjug. Chem. 23: 923-932, 2012

脳の中には様々な役割を担っている蛋白質があり、それら蛋白質が持っている機能を発揮することで、脳全体としては記憶の形成など一つの機能を作り上げます。また蛋白質の中には、それぞれの機能を ON/OFF するスイッチをもっているものもあります。その一例として cAMP response element binding protein (CREB) と呼ばれる蛋白質があげられます。CREB は他の蛋白質からリン酸基を付加されると、蛋白質の機能が ON の状態になります。CREB の機能は特定の遺伝子の発現を誘導する、いわば遺伝子発現の司令塔なので、CREB の機能が ON になると、脳内の細胞の遺伝子発現に大きな変化を与えます。さらにそれら発現した遺伝子群は、記憶形成のために必要な遺伝子であることも分かっています。つまり CREB がどんな時に機能を ON/OFF するのかを知ることは、細胞の状態を知

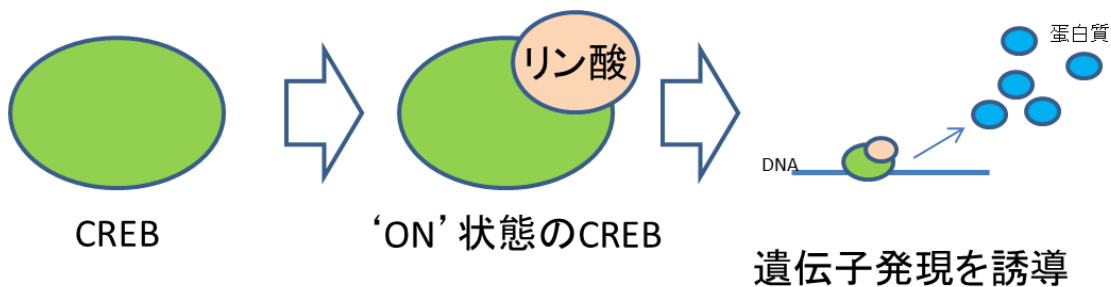


図1 CREB蛋白質は、リン酸化されることにより機能がONになり、蛋白質(青)の発現を誘導する。

るうえで重要です (図1)。

この論文では、培養細胞中の CREB 機能の ON/OFF を発光で検知する方法を開発しました。これにより、生きた培養細胞を連続的に発光計測することで、細胞中の CREB の機能が活性化されているかどうか調べることが可能になりました。具体的な手法としては、ホタルの発光蛋白質であるルシフェラーゼを N 末端 (lucN) と C 末端 (lucC) に分割し、それぞれに CREB のリン酸化部位 (KID)、リン酸化された CREB に特異的に結合するペプチド (KIX) を融合します。それらの蛋白質を細胞内で発現させることで、KID のリン酸化による KID-KIX の結合、それに引き続いて起きる lucN と lucC の会合によってルシフェラーゼとしての機

能が復活します。つまり生きた培養細胞を用いて、KID（つまり CREB）のリン酸

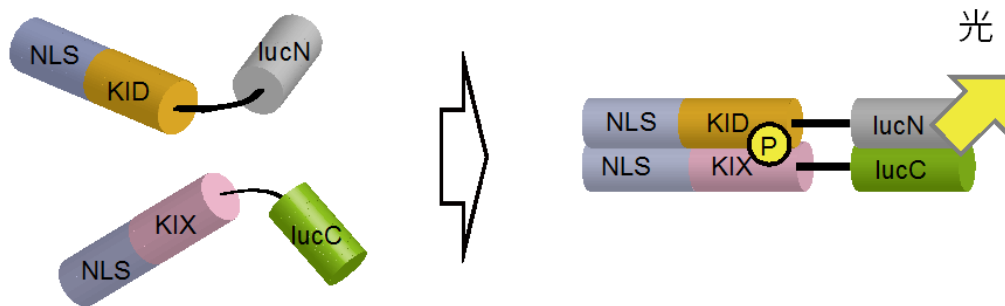


図2 CREBのKIDドメインのリン酸化によって、CBPのKIXドメインとの結合が誘導され、その結果分割したルシフェラーゼ (lucN, lucC) が会合し発光する。

化を発光で検知できるということです（図2）。

さらにこの方法を用いて、培養細胞中の CREB の機能を ON する化合物や和漢薬抽出液がないか数百種類調べたところ、数種類の和漢薬抽出液が CREB の機能を ON する活性があることが分かりました。CREB は神経系の機能と深い関係がありますので、CREB の機能を亢進もしくは抑制する化合物は、精神神経疾患を治療する薬剤に発展する可能性があります。