

日本語要約③

In vivo imaging of CREB phosphorylation in awake-mouse brain

Ishimoto T, Mano H, *Mori H.

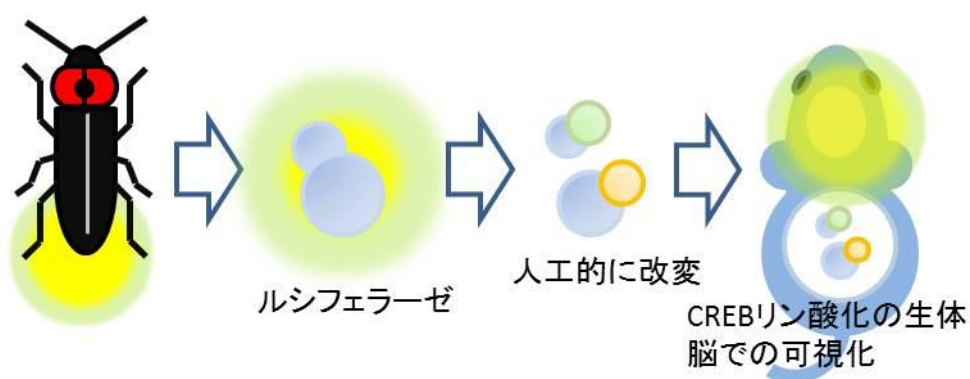
Scientific Reports 5: 9757, 2015

背景

多くの蛋白質は、リン酸化酵素によってリン酸化されることで、その機能の ON/OFF が調節されています。本論文では、CREB (cAMP response element binding protein) という核内蛋白質のリン酸化の可視化を試みました。CREB は脳内で遺伝子発現を調節している司令塔的な役割を持つ蛋白質で、CREB 自身がリン酸化されることで活性化することが知られています。つまり CREB のリン酸化を生体脳で可視化することは、遺伝子発現の司令塔としての機能の ON/OFF を可視化することであり、脳内で何が起きているか知るための重要な情報となります。しかし脳内蛋白質のリン酸化は、PET や MRI といった従来からある脳内可視化法では計測できないため、あらたな方法を確認する必要がありました。

結果

CREB のリン酸化計測法確立のために、我々はホタルの発光蛋白質であるルシフェラーゼを利用して、CREB のリン酸化に応じて発光する人工蛋白質を作りました。さらにこの人工蛋白質を発現する遺伝子改変マウスを作製し、脳内の発光が体外から観測できるか微量発光計測装置を用いて試験したところ、脳内の CREB リン酸化量の変化を反映して発光強度が変化する現象が確認できました。



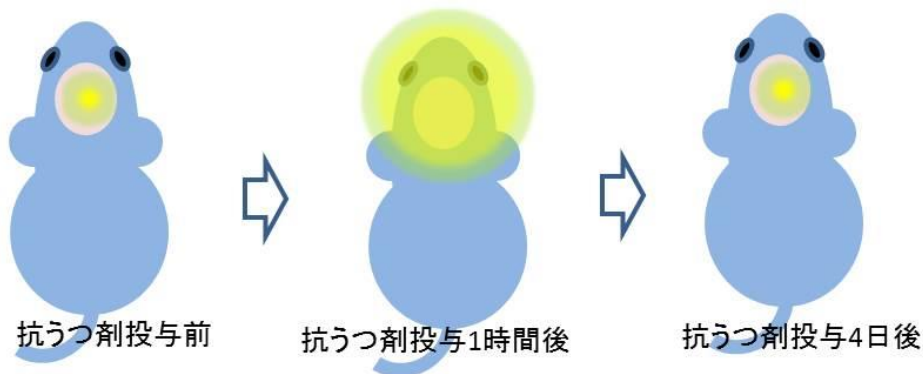
(図1)ホタルの発光蛋白質ルシフェラーゼを、人工的に改変し、CREBリン酸化を検知して発光するような蛋白質を設計した。そのDNA配列をマウスゲノムに挿入する(トランスジェニックマウス)ことで、マウス脳でのCREBリン酸化を可視化することができた。

この結果から、世界で初めて脳内の特定の蛋白質のリン酸化を可視化する方法

を確立したといえます（図1）。

使用例

このマウスに抗うつ剤を注射すると、脳からの発光が一過的に上昇することも明らかになりました。これは抗うつ剤の効果が、CREB リン酸化を介して発揮されることを示唆しています（図2）。このように、従来からある生化学的手法



（図2）抗うつ剤投与によって脳内CREBのリン酸化が一過的に上昇することを世界で初めて可視化した。

では、脳をすりつぶして解析しなければならなかった実験が、生きたマウスを使って繰り返し解析できるようになりました。

応用できる対象

CREB のリン酸化は、アルツハイマー病や PTSD（外傷後ストレス障害）などの精神神経疾患とも関連性が指摘されており、我々が開発した実験系を用いて、疾患モデルマウスの脳内 CREB のリン酸化を計測することによって、発症メカニズムの解明や治療法の確立につながることを期待されます。また、CREB は脳内で記憶が形成されるときにリン酸化され、多くの遺伝子発現を誘導すると考えられているので、記憶のメカニズム解明にもこの実験方法が役立つと考えられます。