

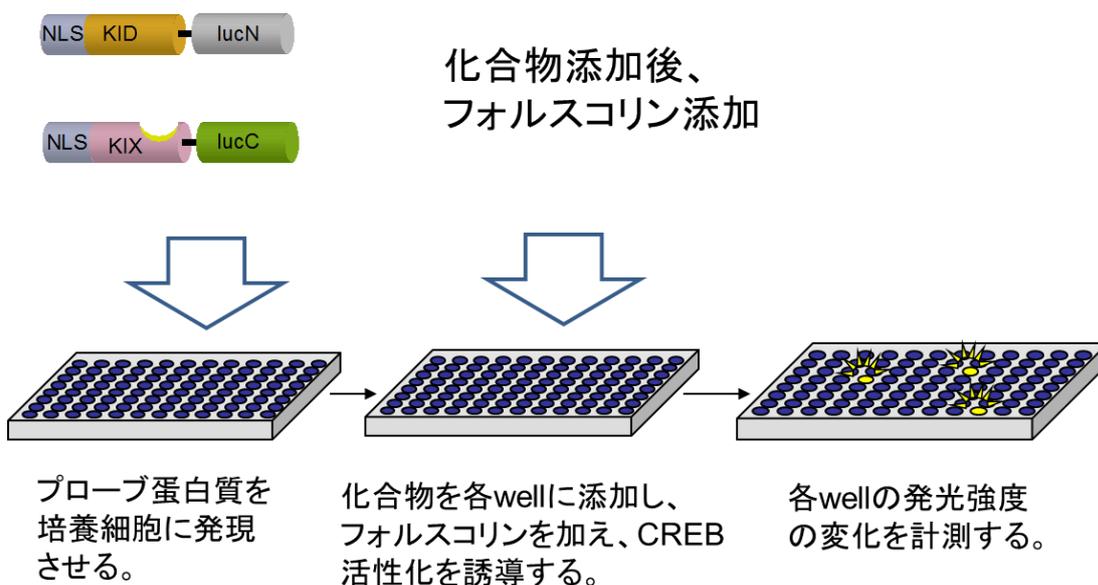
#### 日本語要約④

Identification of a novel protein kinase A inhibitor by bioluminescence-based screening.

\*Ishimoto T., Azechi K., Mori H.

Biol. Pharm. Bull. 38: 1969-74, 2015

ホタル発光蛋白質と培養細胞を用いて、特定の蛋白質の活性に影響を与える化合物を探索する、新しい薬剤スクリーニング方法を開発しました。この方法では、我々が開発した cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化を検知し、発光が上昇する発光プローブ蛋白質を培養細胞に発現させます。この状態でアデニル酸シクラーゼを活性化するフォルスコリンを投与すると、発光が上昇します。ここであらかじめ 4800 種類の化合物ライブラリーを各ウェルに加えておくことでフォルスコリンの効果を打ち消す効果が見られれば、その化合物が CREB もしくは CREB リン酸化の上流の酵素を阻害する物質であるといえます。



(図1)フォルスコリンによって誘導される、CREB活性化検出プローブ蛋白質からの発光上昇を抑制する化合物を探索した。

この技術を利用して、4800 種類の化合物の中から CREB 蛋白質のリン酸化経路を抑制する化合物を探索し、候補化合物を絞り込むことに成功しました。この化合物は、その後の生化学的解析で PKA の阻害剤であることが明らかになりました。この方法は、生きた細胞を用いることでより生体に近い条件での薬

剤スクリーニングができる点、手技が単純であるので 96well プレートなどを用いて大量の化合物をスクリーニングすることが可能である点で優れた方法といえます。