

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文)	相互活性化型タンパク質複合体による持続性シグナル成立の分子メカニズム		
研究テーマ (英文)	Mechanisms of persistent activity of Reciprocally-activating-kinase-effector-complex		
研究期間	2020年 ~ 2021年	研究機関名 京都大学大学院	
研究代表者	氏名	(漢字)	實吉 岳郎
		(カタカナ)	サネヨシ タケオ
		(英文)	Saneyoshi, Takeo
	所属機関・職名	京都大学大学院医学研究科・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

申請者は、基質にある自己阻害領域と似た配列がキナーゼに結合することで、酵素の活性抑制が解除され、活性化し、基質のリン酸化とそれに続くリン酸化酵素自身の活性化をもたらす RAKEC コンセプトを提唱した (Saneyoshi, Brain Res. Bull. 2021)。つまり RAKEC とは2つの分子がお互いを活性化し合うことで、その活性を長期に亘り継続させるメカニズムである (Saneyoshi *et al.*, Neuron, 2019)。本研究では多くのキナーゼが自己阻害領域による活性制御を行うため、RAKEC が一般化可能なコンセプトであること概念実証を試みた。

これまでシナプス可塑性の数多くの研究により、CaMKII がその中心的役割を果たすことが示されているが、ほとんどの研究はキナーゼ活性とその活性調節に興味向けられていた。通常、酵素は一分子で多数の基質を修飾できるため、大量に存在する必要がない。ところが、CaMKII はシナプスでもっとも多量に存在するタンパク質である。従来キナーゼ機能だけを考えると、CaMKII が大量に存在する意義を合理的に説明するモデルはなかった。RAKEC モデルでは、Ca<sup>2+</sup> 依存的な多くのシグナル伝達の数だけ CaMKII も必要となるため、その存在量について合理的な説明が可能である。今回、CaMKII とアクチン細胞骨格制御を担ういくつかのキナーゼがシナプスで相互作用することを見出した。FRET ライブイメージングと CaMKII 変異体を使った解析により CaMKII-Pak1-LIMK1 の3つのキナーゼを含むシグナル複合体がシナプスの長期増強現象を誘導する刺激依存的に形成されることがわかった。また、この複合体は RAKEC 不全変異により強く抑制された。したがって CaMKII が Pak1-LIMK1 とともに RAKEC を形成している可能性が強く示唆される。今後は、それぞれの酵素活性を生化学的に解析するとともに分子活性をライブイメージングで定量し、これらの酵素も RAKEC を形成することを証明していく。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Reciprocal Activation within a Kinase Effector Complex: A Mechanism for the Persistence of Molecular Memory				
	著者名	Takeo Saneyoshi	雑誌名	Brain Research Bulletin		
	ページ	58~64	発行年	2 0 2 1	巻号	170
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Synaptic connections in neuronal circuits change in response to neuronal activity patterns. This can induce a persistent change in the efficacy of synaptic transmission, a phenomenon known as synaptic plasticity. One form of plasticity, long-term potentiation (LTP) has been extensively studied as the cellular basis of memory. In LTP, the potentiated synaptic transmission persists along with structural changes in the synapses. Many studies have sought to identify the “memory molecule” or the “molecular engram”.  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) is probably the most well-studied candidate for the memory molecule. However, consensus has not yet been reached on a very basic aspect: how CaMKII is regulated during LTP. Here, I propose a new model of CaMKII regulation: reciprocal activation within a kinase effector complex (RAKEC) that is made between CaMKII and its effector protein, which is mediated by a persistent interaction between CaMKII and a pseudosubstrate sequence on T-lymphoma invasion and metastasis protein 1 (Tiam1), resulting in reciprocal activation of these two molecules. Through the RAKEC mechanism, CaMKII can maintain memory as biochemical activity in a synapse specific manner.