

**【目的】** 睡眠の恒常性維持や睡眠覚醒状態を切り替える分子機構は明らかではない。研究代表者らはマウスを用いた睡眠のフォワードジェネティクス研究によって、睡眠の恒常性維持や睡眠量を決定に深く関与する分子としてリン酸化酵素 SIK3 を同定した。SIK3 は SIK (salt-inducible kinase) ファミリーを構成する。しかし、SIK3 に代表される SIK ファミリーがどのような機構によって個体の睡眠量を増加させているのかは不明である。インフレームの点突然変異によってプライス異常が生じ、途中を欠失した変異型 SIK3 蛋白が産生される。SIK ファミリーは C 末側の構造には多様性があるものの、N 末にあるキナーゼドメインと、中間部にあるプロテインキナーゼ A (PKA) リン酸化部位はよく保存されている。変異型 SIK3 蛋白は PKA リン酸化部位を欠失することから、PKA-SIK が睡眠覚醒制御の細胞内シグナルを構成していることが推測される。本研究では、マウス個体および細胞を用いて SIK ファミリー蛋白質が睡眠覚醒を制御する分子機構の理解を深めることを目的とした。

**【方法】** Cre を発現するアデノ随伴ウイルスを作製し、脳定位固定装置およびキャピラリーを用いて脳内局所にウイルスを投与した。FLAG タグを付加した SIK を発現するアデノ随伴ウイルスベクターも調整した。睡眠覚醒は脳波筋電図に基づいて検討した。HEK293 細胞を用いて Cre を発現するアデノ随伴ウイルスを作製した。FLAG タグを付加した SIK1、SIK2、SIK3 および SIK1 (S577A)、SIK2 (S587A)、SIK3 (S551A) を pcDNA3 に組み込んだ発現ベクターを、FuGENE を用いて HEK293 にトランスフェクトした。ホモジネートから FLAG 抗体を結合させたビーズを用いて免疫沈降を行った。

**【結果】** SIK3 S551 に相当するアミノ酸は、SIK1 S577 および SIK2 S587 である。このセリン残基をアラニン置換した SIK1 (S577A)、SIK2 (S587A)、SIK3 (S551A) 蛋白はいずれも PKA リン酸化認識抗体の反応性が大きく低下し共沈する 14-3-3 の量が大きく減少した。AAV ベクターを視床下部に局所投与することにより部位特異的に変異型 SIK3 を発現させ、脳波筋電図に基づき睡眠覚醒行動を検討した。コントロールベクターを投与したマウスも未処理のマウスに比べるとわずかにノンレム睡眠量が増加する傾向が見られた。AAV ベクターは視床下部の各部位に局所投与した。ノンレム睡眠量が増加する部位を見出し詳細な検討を進めている。

SIK ファミリーによる睡眠制御シグナル

