

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

クライオ電子顕微鏡

(2) 研究代表者

氏名：竹田哲也

所属機関名・部局名・職名：岡山大学・学術研究院医歯薬学域（医）・研究准教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

クライオ電子顕微鏡解析で紐解くダイナミンおよび BAR ドメイン蛋白質の膜リモデリング機構とその破綻に起因する難治性疾患の発症機序

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：加藤貴之 (研究室名：電子線構造生物学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

背景および目的

中心核ミオパチー (Centronuclear Myopathy: CNM) は、先天性ミオパチーの一つで、乳児期の発育の遅れ、近位筋優位の筋力低下、非進行性など、他の先天性ミオパチーと同様の臨床病態を示す。一方、骨格筋の筋病理は、中心核、T 管形成不全、ミトコンドリアなどのオルガネラ分布異常、コストメア構造異常、神経筋接合部の形成不全など多岐にわたる。しかし、どの病態が筋力低下を引き起こす主要因になっているかは明らかになっていない。細胞膜リモデリングに関わる BIN1、DNM2 は、CNM の原因遺伝子として知られている。しかし、BIN1 および DNM2 遺伝子がコードする BIN1 とダイナミン 2 の膜リモデリング異常により CNM が発症するメカニズムは、未だに解明されていない。本研究では、BIN1 とダイナミン 2 の膜リモデリング機能異常に起因する CNM の発症メカニズムを、クライオ電子顕微鏡を用いた構造生物学的なアプローチで解明することを目的とした。

方法と結果

CNM 変異型 BIN1 やダイナミン 2 のクライオ電子顕微鏡を用いた構造解析に向け、これらの膜リモデリング分子の機能異常について、① *in vitro* 再構成系による分子レベルの解析と、② 筋芽細胞を用いた細胞レベルの解析を行った。研究代表者はこれまでに、(1) *in vitro* および細胞内の T 管様構造再構成系を用い、ダイナミン 2 の膜リモデリング機能を定量的に評価することに成功した。またこの解析系を用いて、(2) CNM 変異型ダイナミン 2 では、膜切断に必要な GTP アーゼ活性が亢進していること、(3) 国立精神・神経医療研究センター (NCNP) の筋レポジットリーから同定された CNM 患者由来の新規 DNM2 バリエーションから、病因性バリエーションを同定することに成功した。これらの成果は、原著論文 2 報 (Fujise et al., JBC 2021; Fujise et al., Human Mutation 2021) と総説 1 報 (Fujise et al., IJMS 2022)、著書 1 報 (竹田、医学のあゆみ 2022) として発表した。今年度は、T 管様構造再構成系を用いて、(1) T 管様構造のメカニカルストレス耐性にダイナミン 2 が必要であること、(2) SH3 ドメインを部分的に欠失した CNM 変異型 BIN1 が、異常に凝集した T 管様構造を形成することを明らかにした (論文準備中)。クライオ電子顕微鏡を用いた CNM 変異型 BIN1 の構造解明に向けた精製条件について検討し、正常型および CNM 変異型 BIN1 のクライオ電顕サンプルの調製を行い解析を進めている。