

配信先：文部科学記者会、科学記者会、熊本県内報道機関



令和4年12月20日

報道機関 各位

熊本大学

## ヒトの病気の原因となる遺伝子変異が タンパク質の細胞内動態に影響することを解明

### (ポイント)

- 自閉症スペクトラムの原因と考えられる変異がDNAトポイソメラーゼ2β (TOP2B)<sup>\*1</sup> 遺伝子中に同定されています。しかしこの変異がTOP2Bタンパク質にどのような影響を及ぼすかは不明でした。
- 通常は生きた細胞の核内でダイナミックに挙動するTOP2Bタンパク質が、この変異を持つと動きが顕著に低下することを見出しました。
- 遺伝子変異の影響が、生きた細胞中でのタンパク質の挙動に現れることを示しました。TOP2B遺伝子の変異によってなぜ自閉症スペクトラムが発症するかを理解するための重要な手がかりといえます。

### (概要説明)

熊本大学産業ナノマテリアル研究所の矢野憲一教授らの研究グループは、病気の原因と考えられる遺伝子変異の影響が、生きた細胞中でのタンパク質の挙動の変化として現れる例を明らかにしました。

近年、中国と日本において自閉症スペクトラム患者のDNA解析より、この病気の原因と考えられる変異がDNAトポイソメラーゼ2β (TOP2B) 遺伝子中に同定されていました。しかしこの変異がTOP2Bタンパク質にどのような影響を及ぼすかは不明でした。

本研究にて、遺伝子変異の影響が生きた細胞中でのタンパク質の挙動に現れる例を示したことにより、他の病気と関連する遺伝子変異でも同様のケースがある可能性が考えられます。また、本研究はTOP2B遺伝子の変異によってなぜ自閉症スペクトラムが発症するかを理解するための重要な手がかりといえます。

本研究成果は、令和4年11月30日に科学雑誌「Scientific Reports」に掲

載されました。

なお、本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業の支援を受けて行われました。

## (説明)

### [背景]

これまで、自閉症スペクトラムや発達遅滞がみられる患者のゲノム解析により、この病気の原因と考えられる遺伝子変異が同定されていました。この変異はDNAトポイソメラーゼ2 $\beta$  (TOP2B) 遺伝子中に存在し、この変異によってTOP2Bタンパク質の58番目のアミノ酸がヒスチジンからチロシンに変わることになります (以下、この変異を「H58Y」という)<sup>\*2</sup>。TOP2Bタンパク質はDNAのねじれを解消する機能を持つ酵素ですが、H58YはTOP2Bの酵素機能を担う領域の一番端に位置していることから (図1)、TOP2Bの酵素機能に与える影響は限定的と推測されていました。よってH58YがTOP2Bの機能にどのような影響を及ぼしているのかは不明でした。

### [研究内容と成果]

本研究グループは、生きたヒト細胞の核の中でタンパク質がどのように挙動するかについてFRAP法と呼ばれる手法 (図2) を利用して、正常型のTOP2BとH58Yを持つTOP2B (以下、「TOP2B H58Y」という。) の細胞内動態を比較しました。正常型TOP2BのFRAP解析<sup>\*3</sup>を行うと、核内で非常に速いスピードで動き回っている挙動が観察されました。こういった素早い挙動は多くの核タンパク質で共通して見られ、核タンパク質が適切な場所で適切なタイミングで機能するのに重要とされています。一方、変異型タンパク質であるTOP2B H58Yでは、核内での動きが著しく低下しており、DNAなどにいったん結合すると離れにくくなっていました (図3)。これは病気の原因となるような遺伝子変異の影響がタンパク質の核内動態の変化として現れている珍しい例と考えられます。

TOP2BはDNAのねじれを解消する酵素ですが、その機能を発揮する際にはまずDNAに結合し、多段階の酵素反応を行い、最後のステップでDNAから離れます。この多段階の酵素反応のそれぞれのステップに対する阻害剤が既に開発されています。そこでこういった阻害剤がTOP2B H58Yに効くかどうかを調べたところ、TOP2Bの多段階の酵素反応の最後のステップに作用する阻害剤であるICRF-187がTOP2B H58Yに全く効かないことを明らかにしました。このことはTOP2B H58Yは酵素機能のほとんどを保持していますが、多段階反応の最後のステップであるDNAから離れる部分に異常をきたしていることを示しています。

## (本研究の意義と今後の展望)

近年のゲノム解析技術の大きな進展により、病気と関連する遺伝子変異が数多く同定されるようになりましたが、遺伝子変異がタンパク質にどういった影響を及ぼすかは多くの場合で不明なままです。本研究では遺伝子変異の影響が、生きた細胞中でのタンパク質の挙動に現れる例を示しました。他の病気と関連する遺伝子変異でも同様のケースがある可能性が考えられます。

また、本研究は TOP2B 遺伝子の変異によって、なぜ自閉症スペクトラムが発症するかを理解するための重要な手がかりといえます。TOP2B は神経系での転写制御に関与して神経発生をコントロールすることから、次の研究の焦点は、転写制御における正常型 TOP2B と TOP2B H58Y の違いを探索することになります。

図1 ヒト TOP2B タンパク質の構造

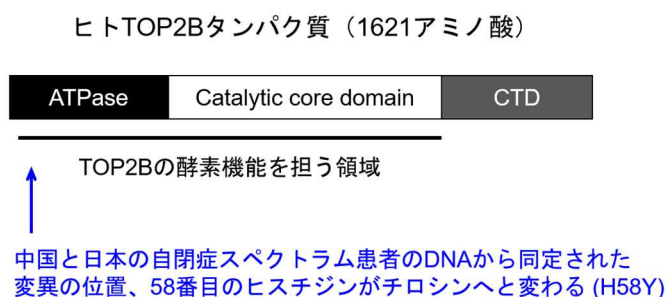


図2 FRAP 解析の原理

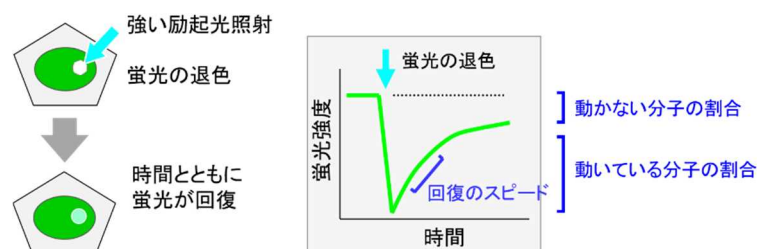
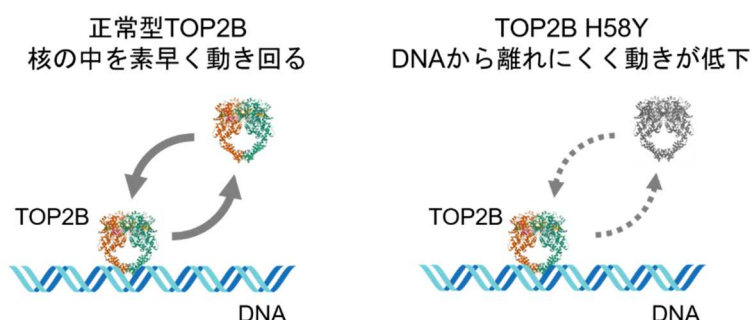


図3 正常型と変異型の TOP2B タンパク質の細胞内挙動



[用語解説]

\*1 DNA トポイソメラーゼ 2 $\beta$  (TOP2B)

TOP2 は DNA の過剰なねじれを解消する酵素で、転写、DNA 複製、染色体分配など、DNA が関わる様々な局面で機能します。ヒト細胞は TOP2A と TOP2B の 2 つの TOP2 を持っています。TOP2B は神経系での遺伝子発現に特に重要な役割を担っており、その機能不全は神経系の発生に様々な悪影響を及ぼすことが知られています。

\*2 自閉症スペクトラム患者より同定された TOP2B 変異

発達遅滞を伴う自閉症スペクトラム患者のゲノム解析が中国の研究グループにより行われ、この病気の原因と考えられる変異が TOP2B 遺伝子中に同定されました (2017 年、Clin. Chim. Acta Vol. 469, 63-68)。さらに同様の症状を示す日本人患者より、同じ遺伝子変異が同定されました (2020 年、Mol. Genet. Genomic Med. Vol. 8, e1145)。この変異により TOP2B タンパク質の 58 番目のアミノ酸がヒスチジンからチロシンへと置き換わります (図 1 参照)。どちらの患者においても、この遺伝子変異は生殖細胞系列変異でした。すなわち全身の全ての細胞の DNA で同じ変異が存在することになります。

\*3 FRAP 解析 (FRAP: Fluorescence recovery after photobleaching)

FRAP 解析は分子の動態を観察する手法です。蛍光標識されたタンパク質が存在する細胞領域中的一部分に強い励起光を照射することで、照射部位の蛍光を退色させます。その後、周囲から退色部位へと蛍光標識分子が流入するため、退色部位の蛍光が時間とともに回復していきます。回復のスピード・程度から、分子の動きや、細胞内で動いている分子と何かに結合して動きづらくなっている分子の割合を調べることができます (図 2 参照)。

**(論文情報)**

論文名 : Disease-associated H58Y mutation affects the nuclear dynamics of human DNA topoisomerase II $\beta$ .

(病態関連変異 H58Y はヒト DNA トポイソメラーゼ II $\beta$  の核内動態に影響する)

著者 : Keiko Morotomi-Yano, Yukiko Hiromoto, Takumi Higaki, Ken-ichi Yano (責任著者)

掲載誌 : Scientific Reports Volume 12, Article number: 20627 (2022)

doi : 10.1038/s41598-022-24883-2

URL : <https://www.nature.com/articles/s41598-022-24883-2>

**【お問い合わせ先】**

熊本大学産業ナノマテリアル研究所

担当 : 教授 矢野 憲一

電話 : 096-342-3965

e-mail : yanoken@kumamoto-u.ac.jp