

核内相分離構造形成メカニズムの解明(1): 新規タンパク質プローブの開発

(名大院工) ○金岡 英徳・深田 梨沙子・渡邊 愛梨・清中 茂樹

Characterization of nuclear bodies formation by phase separation (1): Development of novel protein-based probes (*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) ○Hidenori Kaneoka, Risako Fukata, Airi Watanabe, Shigeki Kiyonaka

In eukaryotic cells, nuclear bodies are composed of many biological macromolecules such as proteins and nucleic acids, which regulate various biological reactions. Recent studies have revealed that they are formed by phase separation. However, analyses and dynamics of the nuclear bodies are limited because these are formed by transient and weak interactions. We focus on DNA repair foci, a representative of nuclear bodies.

It is known that post-translational modifications of DNA repair factors and their protein-protein interactions are important for the formation of the DNA repair foci. In this study, we prepared the fluorescent protein probes based on the interaction between SUMO (small ubiquitin-like modifiers) and the repair factor RAP80 to visualize the DNA repair foci. Confocal imaging revealed that the dynamics of the fluorescent probes changed in a DNA damage-dependent manner, and the fluorescent signals merged well consistent with the DNA damage marker.

Keywords : *Fluorescent protein; Nuclear body; Phase separation*

真核生物の細胞核内にある核内構造体は、タンパク質や核酸など多くの生体高分子の相互作用により構成され、転写・複製・DNA 修復など様々な生体反応を制御している。近年、これらの核内構造体は相分離により形成されることが明らかとなり注目されているが、この構造は一過的で弱い相互作用により形成されているため、その動的特性により解析法は限られている。我々はその特性の解析モデルとして DNA 損傷により生じる DNA 修復 foci に着目し、新規のタンパク質プローブの開発を目指した。

DNA 修復 foci の形成には修復因子の翻訳後修飾とそれに伴うタンパク質間相互作用が重要である。そこで翻訳後修飾因子 SUMO とそれと相互作用する修復因子 RAP80 を用いた蛍光タンパク質プローブを作製し、薬剤処理により DNA 損傷を加えた細胞の観察を行なった。その結果、蛍光プローブの動態は DNA 損傷依存的に変化した。また、DNA 損傷マーカーと一致したことから、DNA 修復 foci の可視化に成功したと言える。

