

光応答性 RNA 結合リガンドはリピート RNA foci の形態・構成因子を変化させる

(阪大産研¹・JST CREST²) ○藤原 侑亮^{1,2}・堂野 主税^{1,2}・中谷 和彦^{1,2}

Observation of dynamics of repeat RNA foci with morphological and component changes controlled by photoswitchable RNA binding ligands (¹*SANKEN, Osaka University*, ²*CREST, JST*) ○Yusuke Fujiwara,^{1,2} Chikara Dohno,^{1,2} Kazuhiko Nakatani^{1,2}

RNAs with r(UGGAA) repeat sequences acts as scaffolds for interactions with RNA-binding proteins, forming phase-separated bodies in cells. However, when the repeat sequences are abnormally expanded, these dysregulated phase-separated bodies (RNA foci) potentially lead to neurological diseases. These phase-separated bodies change their components depending on the surrounding environment, highlighting the need for spatiotemporal control of RNA foci formation to understand their dynamics. So far, we have developed NCTA, a photoswitchable RNA ligand that binds to r(UGGAA) repeats. Azobenzene moiety in NCTA undergoes light-dependent configurational changes, altering its affinity to RNA. Treatment with NCTA in model cells enabled light-dependent control of RNA foci formation with r(UGGAA) repeats, increasing foci size within 1 hour after UV irradiation, which is reversed by subsequent visible light irradiation within the same timeframe. Furthermore, in the presence of NCTA, RNA foci after UV irradiation exhibited altered protein components, suggesting NCTA functions as a “photoswitch” for the functions of RNA foci. We will also report the temporal changes in protein localization and discuss the mechanism by which NCTA interacts with RNA foci.

Keywords : Photoswitch, Nucleic acid, RNA foci, Phase separation, Repeat RNA

r(UGGAA)反復配列をもつ RNA は、RNA 結合タンパク質の相互作用の足場となり、細胞内で相分離体を形成し、転写や翻訳を制御する。また、反復配列の異常伸長などで制御が乱れた相分離体(RNA foci)は神経疾患などにつながる。これらの相分離体は環境や時間変化に応じて構成タンパク質と機能が変化するが、その解明には相分離体の時空間的な形成制御技術が必要である。

これまでに当研究室では、UGGAA 反復配列をもつ RNA を認識し、UV 光依存的に 2 本鎖形成を促進させる光応答性 RNA 結合分子 NCTA の開発に成功している。NCTA はアゾベンゼン骨格をもち、光刺激によって構造を変化させ、RNA 結合能が変化する。本発表では、NCTA が、UGGAA リピート RNA foci を発現するモデル細胞において UV 光照射によって RNA foci の大きさを変化させ、可視光照射後元に戻す「光スイッチ」分子であることを報告する。さらに、UV 光照射後の RNA foci では構成タンパク質の組成が変化することを見出した。発表では、種々の構成タンパク質についての局在についての時間経過を観察し、NCTA の RNA foci への作用メカニズムについても議論したい。

1) Shibata T. *et al. Nat. Commun.* **2021**, *12*, 236.

2) Dohno C. *et al. Nucl. Acid. Res.* **2023**, *51*, 9533.