

(様式 1-1)

提出日：2026 年 4 月 27 日

2025 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、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：藤田 英明

所属機関名・部局名・職名：広島大学・原爆放射線医科学研究所・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ください。）

蛍光 γ -H2AX センサーの開発

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：鈴木 団 （研究室名：蛋白質物理生物学）

(5) 研究成果の概要

*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記載。

本研究では、DNA 二本鎖切断の指標である γ -H2AX を生細胞中でリアルタイムに観察するため、Split-GFP を用いた単色 ON 型 γ -H2AX センサーの開発を目指した。当初は、H2AX および MDC1 由来 BRCT ドメインに Split-GFP を融合したプローブを実際に作製し、放射線照射後の応答を評価する計画であった。

しかし本年度は、予算上の制約により実験的なセンサー作製には至らなかった。そのため、AlphaFold3 を用いた *in silico* 解析により、センサー設計の妥当性を検討した。設計したセンサーは、H2AX に Split-GFP の N 末端側断片を、MDC1 由来 BRCT ドメインに Split-GFP の C 末端側断片を融合したものであり、H2AX にはリン酸化 Ser139 を模倣する S139D 変異を導入した。

AlphaFold3 による構造予測の結果、H2AX のリン酸化ミミックにより、H2AX 側断片と MDC1-BRCT 側断片が近接し、水溶液中で GFP を再構成しうる配置をとることが示唆された。これにより、 γ -H2AX 形成を単色 ON 型蛍光シグナルとして検出するという本研究の基本設計が、構造予測上成立する可能性が示された。

今後は、本解析結果をもとに実際の融合タンパク質を作製し、*in vitro* および細胞内で Split-GFP の再構成による蛍光発生を検証する。さらに、放射線照射後の γ -H2AX 応答を免疫染色法と比較し、本センサーの有用性を評価する予定である。本センサーが実用化されれば、DNA 二本鎖切断応答の時系列解析や、低線量放射線影響の評価に貢献できると期待される。