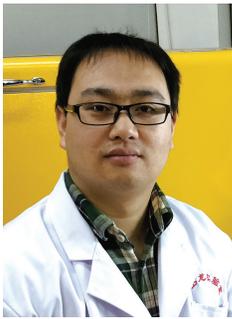




李丕龙, 德克萨斯大学西南医学中心博士, 德克萨斯大学西南医学中心博士后, 宾夕法尼亚大学博士后, 现任清华大学生命科学学院研究员, 青年“千人计划”学者。蛋白质“液-液”相分离概念的提出者之一, 实验室主要通过生物物理学、结构生物学、生物化学、细胞生物学等方法研究“液-液”相分离在生物学上的意义, 同时致力于开发基于“液-液”相分离的生化系统, 用于在体外或体内研究任意分子互作。

http://www.icsb.tsinghua.edu.cn/info/yjdw_zxpi/1493



郜一飞, 清华大学生命学院, 李丕龙研究员课题组在读博士, 从事表观遗传调控中蛋白质“液-液”相分离现象的相关研究。

生物大分子“液-液”相分离: 现状与展望

郜一飞* 李丕龙*

(清华大学生命科学学院, 北京结构生物学高精尖创新中心, 北京 100084)

摘要 生物大分子“液-液”相分离是近年来在生命科学领域迅速发展起来的新概念。相分离概念的提出, 为我们深入理解细胞内生物大分子的组织模式和功能调控提供了新的观点和研究工具, 因此迅速成为生命科学领域的研究前沿。但是围绕生物大分子相分离的生物物理学特性及其在细胞中扮演的角色仍有很多未解之谜。该文对近年来生物大分子相分离的相关研究进行了综述, 对其在细胞中的功能和未来的发展趋势进行了初步探讨和展望。

关键词 相分离; 无膜细胞器; 多价相互作用; 低复杂度结构域; 固有无序区; 细胞区室化

“Liquid-Liquid” Phase Separation of Biological Macromolecules: Current Situation and Prospects

Gao Yifei*, Li Pilong*

(Beijing Advanced Innovation Center for Structural Biology, School of Life Science, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract The “liquid-liquid” phase separation of biological macromolecules is a new concept that has rapidly developed in the field of life sciences in recent years. The concept of phase separation provides a

国家自然科学基金(批准号: 31871443)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-62794071, E-mail: yifeigao@126.com; E-mail: pilongli@mail.tsinghua.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31871443)

*Corresponding authors. Tel: +86-10-62794071, E-mail: yifeigao@126.com; E-mail: pilongli@mail.tsinghua.edu.cn

网络出版时间: 2019-02-21 14:51:40

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1451.016.html>

new perspective and research tool for us to deeply understand the organization mode and function regulation of intracellular biomacromolecules, and thus quickly becomes the research frontier in the life science field. But there are still many unsolved mysteries surrounding the biophysical properties of biomacromolecular phase separation and their role in cells. In this paper, recent studies on the phase separation of biomacromolecules have been reviewed, and their functions in the cell and future development trends have been discussed and prospected.

Keywords phase separation; membraneless organelles; multivalent interaction; low complexity domain; intrinsically-disordered region; cell compartmentalization

真核细胞需要有序地组织各种复杂的生化反应, 保证反应高效进行且互不干扰, 同时还要受到精细的调控。维持这种复杂生化反应有序性的重要手段就是将细胞区室化, 即从空间上将各种生化反应进行分类, 反应的相关性越大, 在空间上越临近。各种细胞器的产生就是这种策略的体现。常见的细胞器大部分是通过生物膜将内外环境隔绝开, 形成执行特定生理功能的场所, 称为有膜细胞器。然而研究表明, 细胞中还存在多种无膜细胞器^[1](图1), 例如应激颗粒(stress granules)、cajal小体(cajal body)等, 这类细胞器没有膜包裹, 成分也很复杂, 是靠什么来维持结构稳定的呢? 从传统生物大分子相互作用的角度很难解释。另外, 很多蛋白质包含多个功能结构域, 有些功能结构域会在同一个蛋白中重复出现, 而有些蛋白虽然只含有一个特定类型的结构域, 但

是它们会通过多聚化来发挥功能。这些现象曾经并没有引起研究者的注意, 更没有进一步去探究这种蛋白质构筑模式背后的深意。上面提出的两个问题, 无膜细胞器结构的维持和一些蛋白质独特的构筑模式, 看似毫不相干, 但是随着生物大分子“液-液”相分离(liquid-liquid phase separation, 下文简称相分离)概念的提出, 这两个问题汇聚成了一个问题: 生物大分子如何通过分子间的相互作用在细胞中有序组织起来, 进而获得一些独特的物理化学性质, 有助于其发挥生理学功能。

1 多价相互作用介导的相分离

多价相互作用的分子之间可以形成不断富集互作分子的聚集体, 聚集体中分子的浓度不断提高, 直至达到分子在溶液中的溶解极限, 就会以相分离

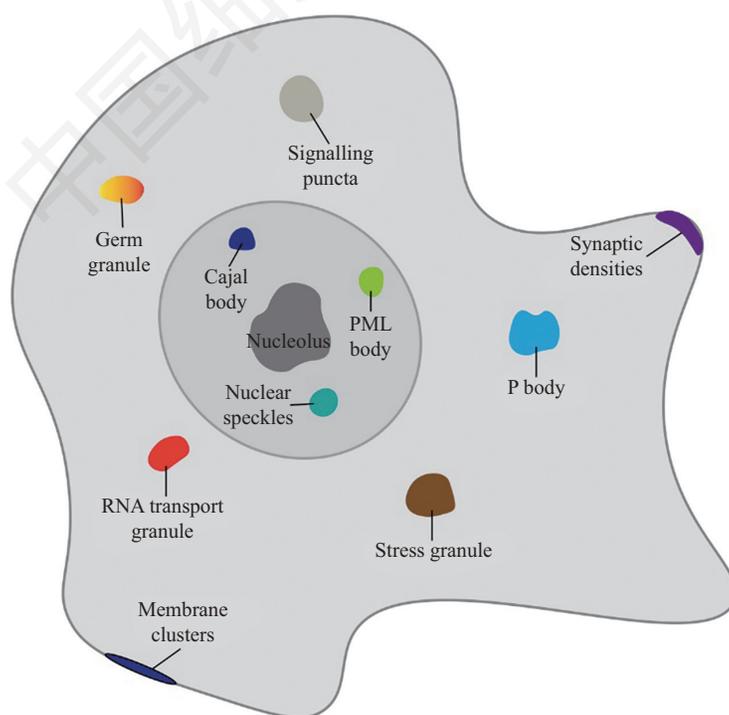


图1 真核细胞中的无膜细胞器

Fig.1 Representative membraneless organelles in eukaryotic cell

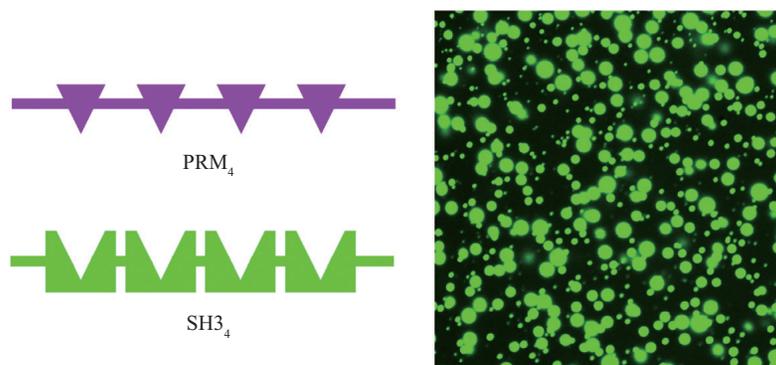


图2 多价SH3结构域与多价PRM发生“液-液”相分离

Fig.2 “Liquid-liquid” phase separation of multivalent SH3 and multivalent PRM

的形式从溶液中析出。对于生物大分子来说, 这种相分离以一种液滴的形态存在, 称为生物大分子“液-液”相分离。比如, Prolin-rich结构域(PRM)和SH3结构域是一对可以相互作用的结构域, 且很多细胞内蛋白质中都含有这两种结构域。2012年, Li等^[2]发现, 体外纯化串联的PRM和串联的SH3结构域, 二者混合之后即形成相分离液滴(图2), 并把这种现象称为多价相互作用引发的相分离。这种相分离现象有着独特的物理学特性: 能够流动, 可以融合, 且荧光漂白后能够恢复, 同时, 液滴的形成呈现明显的浓度依赖性和价态依赖性, 这一研究开启了相分离领域的大门。除了结构域之间的多价相互作用, 是否有其他类型的相互作用能够引发相分离呢? 很多蛋白质除了具有规则结构的结构域之外, 还包含一些没有固定结构的区域, 称为固有无序区(intrinsically-disordered region, IDR)或者低复杂度结构域(low complexity domain, LCD), 这些区域由于独特的氨基酸分布也可以在蛋白之间发生多价相互作用, 进而发生相分离现象^[3-4]。生物大分子的互作不仅仅发生在蛋白与蛋白之间, 蛋白与核酸的互作也非常重要, 那么核酸是否也能够参与到相变之中呢? Lin等^[5]报道了包含IDR区域的RNA结合蛋白能够自身相分离, 且RNA能够增强这些蛋白的相变。Jain等^[6]报道了47×CUG/CAG RNA能够在体外自发相变, 首次证明了核酸自身也有相变能力。

2 相分离的生物学功能和与疾病的关系

在细胞中, 通过相分离形成的无膜细胞器对细胞的各种生理功能有重要的调控作用, 除此之外, 相分离作为一种生物大分子的组织模式, 对信号转导、基因表达调控等都有着重要意义, 一旦正常相分离

的形成或动态性发生变化, 就会导致疾病的发生。

2.1 相分离与无膜细胞器形成

研究者发现, 多种蛋白与蛋白或蛋白与核酸通过相互作用在体外能够发生相分离, 那相分离在细胞中是否存在? 如果存在, 其生理意义又是什么呢? 研究表明, 相分离与细胞中无膜细胞器的形成有着非常密切的关系。P颗粒是线虫胚胎细胞中的一种无膜细胞器。Brangwynne等^[7]的研究表明, P颗粒具有一系列独特的性质: (1)在线虫胚胎不对称分裂时, P颗粒在细胞的一端解聚, 在另一端重新形成, 导致在产生的两个子细胞中不对称分布; (2)在应力的作用下, P颗粒可以沿着细胞核流动, P颗粒之间可以融合成更大的P颗粒; (3)用荧光蛋白标记P颗粒后, P颗粒在荧光漂白之后能够恢复, 表明其有很好的动态性。这些特点表明, P颗粒具有液态的性质, 在细胞中有很强的动态性, 其形成和解聚受严格调控。P颗粒的这一性质与体外形成的相分离液滴十分相似, P颗粒很可能是由相分离介导形成的。Smith等^[8]证明, RNA与MEX-3形成相分离对于P颗粒形成至关重要。Shana等^[4]报道, IDR蛋白LAF-1能够通过相分离招募到P颗粒中调控P颗粒的组装。除了P颗粒, 越来越多的无膜细胞器被证明是通过相分离介导形成的^[1,9], 如应激颗粒^[10-11]、细胞核核仁^[12]等。

虽然我们已经在体外重构出大量的相分离, 在细胞中也发现了多种相分离现象, 然而对于相分离发生的生物物理学机制仍然有很多问题存在, 需要进一步的探索。

2.2 相分离与细胞信号转导

细胞信号通路往往包含配体、受体以及下游的信号分子, 最终启动特定基因的表达发挥生物学功能。很多信号通路的激活都与膜受体的寡聚密不

可分,而这种多聚的膜蛋白与下游同样多聚的信号分子相互作用则很可能发生相分离。Banjade等^[13]报道了一种体外重组二维脂膜上相变的方法,以此模拟真实细胞中膜蛋白p-Nephrin与下游信号分子Nck、N-WASP通过多价相互作用形成二维膜上“液-液”相分离的现象。利用这一体系,Su等^[14]证明了T细胞受体信号通路的信号分子LAT、Grb2和SOS1能通过多价相互作用引发脂质膜上的相分离,这种相分离能够促使细胞骨架蛋白Actin重排,促进T细胞受体信号通路的激活。同样利用这一系统,Zeng等^[15-16]探究了相分离与突触后膜密集区形成之间的关系。神经突触是神经信号传递的重要结构,突触后膜密集区的形成对于神经元之间信号的传递非常重要,而突触后膜密集区的本质就是以PSD-95、SynGAP等分子相分离为基础,向上偶联膜蛋白NMDAR,向下逐层招募GKAP、Shank、Homer等分子形成的相变系统。

除了形成膜上相变,一些信号转导通路的重要中介分子也可以发生相变。Du等^[17]研究了相分离在固有免疫信号传递过程中的功能,发现外源性DNA与cGAS互作发生相分离对于激活cGAS的环化腺苷鸟苷一磷酸合成酶活性,生成cGAMP非常重要,cGAMP作为第二信使进而能够激活cGAS-STING通路,引发固有免疫反应,抵御外源病毒的入侵^[18-21]。Sun等^[22]则从选择性自噬中p62小体形成的机制入手,证明p62通过识别“货物”蛋白上的多聚泛素化修饰发生相分离,形成p62小体,进而与自噬受体作用,被质膜包裹,形成自噬小体。Zhang等^[23]证明,在秀丽隐杆线虫胚胎中的PGL颗粒是一种由相分离介导形成的无膜细胞器,mTOC1通路的激活能够通过调控PGL颗粒的相变影响其自噬降解和对热激的适应。

多价结构域之间的相互作用在细胞信号转导中大量存在,这些是否在体内都形成相分离,这些相分离如何影响细胞的生理功能以及相分离在细胞中如何受到精密调控,这些问题我们依然还不清楚,未来还需要进一步探究。

2.3 相分离与基因表达调控

真核生物基因表达受多层次的调控,染色质高级结构^[24]、表观遗传修饰^[25-26]、转录因子^[27-28]、非编码RNA^[29]等都可以从不同层面起到重要作用。这些调控模式中往往都会涉及到多价相互作用,如表

观修饰阅读器对表观修饰的识别、转录因子组成的复合体与DNA序列的相互作用等,相分离可能在这些过程中也起了重要作用。Sabari等^[30]研究了相分离是如何促进超级增强子活性的。他们的研究表明,BRD4和MED1可以通过各自自身的固有无序区形成相分离液滴,从核提取物中富集RNA聚合酶II。这些结果说明,共激活因子在超级增强子处形成相分离,富集转录机器,且共激活因子固有无序区在该过程中起重要作用,这项研究也提供了一种新的调控转录的模式。相分离除了在顺式作用元件和转录因子的层面起作用,还能够调控染色质高级结构。Larson等^[31]和Strom等^[32]分别从人类异染色质蛋白HP1 α 和果蝇异染色质蛋白HP1A的角度解释了相分离现象是如何调控异染色质形成的。相分离也在转录后调控中起作用。Sheu-Gruttadauria等^[33]发现,microRNA结合蛋白Ago2能够与RNA诱导沉默复合体RISC相互作用,促进RISC相分离,RISC相分离液滴引导microRNA靶向mRNA,招募去腺苷化酶deadenylases,降解mRNA。目前,相分离在转录调控中的作用已经成为相分离领域的前沿热点。

2.4 相分离与疾病

相分离现象在细胞各种生理过程中都发挥了重要作用,因此相分离的异常就会导致各种疾病,目前研究最多的是神经退行性疾病,如肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和额颞叶痴呆(rontotemporal degeneration, FTD)。ALS/FTD是由于FUS^[34-35]和TDP-43^[36-37]突变导致的,FUS和TDP-43本身都含有IDR和RNA结合结构域,自身能够发生相分离,导致疾病的突变会使相分离液滴失去动态性,变为固体状,从而产生对细胞的毒性^[38-39]。除了氨基酸突变导致神经退行性疾病,一些移码突变导致蛋白中出现异常的二肽重复,发生了由液态向固态转化的相分离也会导致神经退行性疾病,如c9orf72^[40]。而RNA中CUG三碱基重复过多,在细胞中发生相变也会产生细胞毒性,导致神经退行性疾病ALS/FTD^[6]。除了神经退行性疾病,相分离潜在的可能与癌症有密切关系。Kwon等^[41]的研究表明,FUS蛋白的低复杂度结构域会和一些转录因子的DNA结合结构域发生融合,这种融合蛋白会通过相分离招募RNA聚合酶II,激活转录。很多导致癌症的蛋白是由于染色质重排产生的融合蛋白,这些融合蛋白导致癌症的机制多种多样,十分复杂,而这项

研究恰好提供了一种融合蛋白致癌的机制。

相分离具有重要的生理和病理意义, 关于相分离与各种疾病之间的关系也是当今生命科学领域的重大问题。

3 展望

生物大分子“液-液”相分离概念一经提出, 迅速成为生命科学的前沿领域, 其根本原因是相分离作为一种生物物理现象, 能够将多种多样的生理过程与生物大分子的独特组织模式统一起来, 而生物大分子的组织模式可以综合应用生物学、化学、物理学、数学等多学科手段来探究其深层次规律, 进而帮助我们更多的维度理解细胞的工作机制, 用相对统一的模型来研究多种生物学过程。深层次来说, 生物大分子相分离的提出使得生命科学的研究方法从归纳发展到演绎。然而, 对生物大分子相分离的研究还处于起步阶段, 依然有很多问题亟待解决, 这些问题主要集中在四个方面: (1)相分离现象的物理化学本质; (2)相分离在细胞中的生理及病理功能及其机制; (3)在细胞中, 相分离如何受到精细的调控; (4)发展更先进的技术与方法研究相分离现象。

3.1 相分离现象的物理化学本质

为什么多价对多价相互作用的蛋白之间会发生相分离? 为什么含有固有无序区的蛋白有些可以发生自身相分离, 而有些却不能? 什么样的作用力维持了相分离液滴的稳定? 这些问题的本质都是同一个问题: 相分离现象的物理化学本质是什么。相分离的概念来自于高分子物理学。在高分子物理学中, 已经建立起一套相对完整的研究高分子相分离的理论与方法。高分子的相分离与生物大分子的相分离有诸多相似之处, 如其本质都是大分子通过复杂的相互作用在溶液中发生的分子富集现象, 二者也有着很大的区别, 如生物大分子的相分离是在细胞中发生的, 其体系复杂度远远高于高分子物理学中的相分离。尽管有很大不同, 我们依然可以以高分子物理的理论与方法为基础, 考虑生物学系统的特殊性, 发展新的理论与方法来解释生物大分子相分离的物理化学本质。目前, 我们对于生物大分子相分离的热力学与动力学知之甚少, 大多是定性的估计。应当综合应用多学科的知识与技术探究生物大分子相分离热力学与动力学的定量规律, 并将这些规律应用于细胞内的相分离现象, 这样我们就可

以通过定量的方法研究细胞中多种生理过程的热力学与动力学规律, 极大地加深我们对细胞内部运行规律的理解。

3.2 相分离在细胞中的生理、病理功能及其机制

前文中已经对相分离的生理、病理功能和可能的机制做了初步总结, 然而更多的证据表明, 相分离的功能十分广泛, 非常重要^[42-44]。细胞中的多价相互作用几乎无处不在, 以表观遗传学为例, 染色质中的核小体上带有各种表观遗传修饰, 这些表观修饰对于基因表达调控、染色质高级结构和基因组稳定性意义重大。表观修饰通常在某一区域中密集存在, 形成一种多价, 如果这些表观修饰对应的阅读器能够自身或在其他因子的辅助下形成寡聚, 那阅读器和对应修饰的结合就是一种多价对多价的相互作用, 很有可能发生相分离, 直接参与基因表达调控和染色质高级结构的维持, 甚至对基因组的稳定性也起了重要作用。相反, 一旦这些相变发生异常, 就可能会导致严重的疾病。目前, 我们已知的多价相互作用很多, 但是已知的细胞内相分离很少, 我们对这些相分离之间的关系也知之甚少。探究这些细胞中多价互作与相分离之间的关系, 明确其生理意义, 甚至开发以此为靶点的药物治疗疾病是生命科学的前沿与热点问题。

3.3 在细胞中, 相分离如何受到精细的调控

细胞中的相分离种类繁多, 生理功能复杂, 因此需要受到精细的调控。然而关于相分离如何受到调控的研究非常缺乏。Guo等^[45]、Hofweber等^[46]、Yoshizawa等^[47]、Qamar等^[48]的工作从蛋白翻译后修饰的角度揭示相分离的调控, 他们发现, FUS蛋白精氨酸非对称二甲基化能够抑制其自身相分离, 他们还发现, 核转运受体KAP β 2与FUS相互作用抑制FUS相分离。相分离受到的调控包括三方面: 一是改变相分离液滴的物理化学性质, 如改变动态性; 二是促进或抑制相分离的发生; 三是不同相分离体系之间的相互作用。这三方面都有着深刻的生物学意义。动态性的改变使得液滴中的某种分子更难或更容易脱离液滴的束缚, 进而控制某种分子在液滴内外的浓度, 影响其生理功能。相分离程度的改变, 如无膜细胞器的解聚与重组直接影响这种无膜细胞器的功能和分布。很多无膜细胞器之间含有相同的组分, 暗示了它们之间可能存在着物质交换, 而有些无膜细胞器则表现出互斥现象, 不能够同时存在, 暗

示了它们调控不同状态下的生理活动。系统地在细胞中研究相分离现象的精细调控有助于我们理解相分离的生理意义, 这些调控方式也可以为我们提供人为操控细胞内相分离的思路与方法, 有助于我们治疗相分离紊乱导致的疾病。

3.4 发展更先进的技术与方法研究相分离现象

目前, 相分离的主要研究方法是体外重组和细胞内成像。然而随着研究的深入, 这些方法已经远远不能满足我们的需求。如何在体外和体内更精细观察相分离的特性, 如何在细胞内不改变蛋白完整性而人为操控相分离, 这些都需要我们开发新的技术和方法。把生命科学最前沿的技术, 如冷冻电镜、单分子成像等运用到对相分离的研究中, 同时吸取其他领域的优势技术, 如分子模拟、生物信息、人工智能等, 发展出一套针对相分离特点的技术方法体系是目前急需探究的重要方向, 这将极大推动我们对相分离的研究。在研究过程中, 也会促进方法和技术的进一步发展, 加深我们对蛋白质“液-液”相分离理论的认识。除了充分利用现有的方法, 我们还需要开发新的理论与方法, 探究更多生物大分子“液-液”相分离不为人知的一面。

参考文献 (References)

- Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK. Biomolecular condensates: Organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2017; 18(5): 285-98.
- Li P, Banjade S, Cheng HC, Kim S, Chen B, Guo L, *et al.* Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature* 2012; 483(7389): 336-40.
- Simon JR, Carroll NJ, Rubinstein M, Chilkoti A, Lopez GP. Programming molecular self-assembly of intrinsically disordered proteins containing sequences of low complexity. *Nat Chem* 2017; 9(6): 509-15.
- Elbaum-Garfinkle S, Kim Y, Szczepaniak K, Chen CC, Eckmann CR, Myong S, *et al.* The disordered p granule protein laf-1 drives phase separation into droplets with tunable viscosity and dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(23): 7189-94.
- Lin Y, Protter DS, Rosen MK, Parker R. Formation and maturation of phase-separated liquid droplets by rna-binding proteins. *Mol Cell* 2015; 60(2): 208-19.
- Jain A, Vale RD. Rna phase transitions in repeat expansion disorders. *Nature* 2017; 546(7657): 243-7.
- Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoeghe C, Gharakhani J, *et al.* Germline p granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science* 2009; 324(5935): 1729-32.
- Smith J, Calidas D, Schmidt H, Lu T, Rasoloson D, Seydoux G. Spatial patterning of p granules by rna-induced phase separation of the intrinsically-disordered protein meg-3. *Elife* 2016; doi: 10.7554/eLife.21337.
- Banani SF, Rice AM, Peeples WB, Lin Y, Jain S, Parker R, *et al.* Compositional control of phase-separated cellular bodies. *Cell* 2016; 166(3): 651-63.
- Riback JA, Katanski CD, Kear-Scott JL, Pilipenko EV, Rojek AE, Sosnick TR, *et al.* Stress-triggered phase separation is an adaptive, evolutionarily tuned response. *Cell* 2017; 168(6): 1028-40.
- Molliex A, Temirov J, Lee J, Coughlin M, Kanagaraj AP, Kim HJ, *et al.* Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization. *Cell* 2015; 163(1): 123-33.
- Feric M, Vaidya N, Harmon TS, Mitrea DM, Zhu L, Richardson TM, *et al.* Coexisting liquid phases underlie nucleolar subcompartments. *Cell* 2016; 165(7): 1686-97.
- Banjade S, Rosen MK. Phase transitions of multivalent proteins can promote clustering of membrane receptors. *Elife* 2014; doi: 10.7554/eLife.04123.
- Su X, Ditlev JA, Hui E, Xing W, Banjade S, Okrut J, *et al.* Phase separation of signaling molecules promotes t cell receptor signal transduction. *Science* 2016; 352(6285): 595-9.
- Zeng M, Shang Y, Araki Y, Guo T, Haganir RL, Zhang M. Phase transition in postsynaptic densities underlies formation of synaptic complexes and synaptic plasticity. *Cell* 2016; 166(5): 1163-75.
- Zeng M, Chen XD, Guan DS, Xu J, Wu HW, Tong PE, *et al.* Reconstituted postsynaptic density as a molecular platform for understanding synapse formation and plasticity. *Cell* 2018; 174(5): 1172-87.
- Du M, Chen ZJ. DNA-induced liquid phase condensation of cgas activates innate immune signaling. *Science* 2018; 361(6403): 704-9.
- Wu JX, Sun LJ, Chen X, Du FH, Shi HP, Chen C, *et al.* Cyclic gmp-amp is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science* 2013; 339(6121): 826-30.
- Sun LJ, Wu JX, Du FH, Chen X, Chen ZJJ. Cyclic gmp-amp synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type i interferon pathway. *Science* 2013; 339(6121): 786-91.
- Gao DX, Wu JX, Wu YT, Du FH, Aroh C, Yan N, *et al.* Cyclic gmp-amp synthase is an innate immune sensor of hiv and other retroviruses. *Science* 2013; 341(6148): 903-6.
- Li XD, Wu JX, Gao DX, Wang H, Sun LJ, Chen ZJJ. Pivotal roles of cgas-cgamp signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects. *Science* 2013; 341(6152): 1390-4.
- Sun DX, Wu RB, Zheng JX, Li PL, Yu L. Polyubiquitin chain-induced p62 phase separation drives autophagic cargo segregation. *Cell Res* 2018; 28(4): 405-15.
- Zhang GM, Wang Z, Du Z, Zhang H. Mtor regulates phase separation of pgl granules to modulate their autophagic degradation. *Cell* 2018; 174(6): 1492-506, e22.
- Gonzalez-Sandoval A, Gasser SM. On tads and lads: Spatial control over gene expression. *Trends Genet* 2016; 32(8): 485-95.
- Pirrotta V. Histone marks direct chromosome segregation. *Cell* 2015; 163(4): 792-3.
- Gates LA, Foulds CE, O'Malley BW. Histone marks in the 'driver's seat': Functional roles in steering the transcription cycle. *Trends Biochem Sci* 2017; 42(12): 977-89.
- Lambert SA, Jolma A, Campitelli LF, Das PK, Yin Y, Albu M, *et al.*

- al.* The human transcription factors. *Cell* 2018; 172(4): 650-65.
- 28 Jolma A, Yan J, Whittington T, Toivonen J, Nitta KR, Rastas P, *et al.* DNA-binding specificities of human transcription factors. *Cell* 2013; 152(1/2): 327-39.
- 29 Sun Q, Hao Q, Prasanth KV. Nuclear long noncoding rnas: Key regulators of gene expression. *Trends Genet* 2018; 34(2): 142-57.
- 30 Sabari BR, Dall'Agnese A, Boija A, Klein IA, Coffey EL, Shrinivas K, *et al.* Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control. *Science* 2018; 361(6400): 379.
- 31 Larson AG, Elnatan D, Keenen MM, Trnka MJ, Johnston JB, Burlingame AL, *et al.* Liquid droplet formation by hplalpha suggests a role for phase separation in heterochromatin. *Nature* 2017; 547(7662): 236-40.
- 32 Strom AR, Emelyanov AV, Mir M, Fyodorov DV, Darzacq X, Karpen GH. Phase separation drives heterochromatin domain formation. *Nature* 2017; 547(7662): 241-5.
- 33 Sheu-Gruttadauria J, MacRae IJ. Phase transitions in the assembly and function of human mirisc. *Cell* 2018; 173(4): 946-57, e916.
- 34 Wang JW, Brent JR, Tomlinson A, Shneider NA, McCabe BD. The als-associated proteins fus and tdp-43 function together to affect drosophila locomotion and life span. *J Clin Invest* 2011; 121(10): 4118-26.
- 35 Hofmann JW, Seeley WW, Huang EJ. Rna binding proteins and the pathogenesis of frontotemporal lobar degeneration. *Annu Rev Pathol* 2018; 14: 469-95.
- 36 Gopal PP, Nirschl JJ, Klinman E, Holzbaur EL. Amyotrophic lateral sclerosis-linked mutations increase the viscosity of liquid-like tdp-43 rnp granules in neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(12): E2466-75.
- 37 Johnson BS, Snead D, Lee JJ, McCaffery JM, Shorter J, Gitler AD. Tdp-43 is intrinsically aggregation-prone, and amyotrophic lateral sclerosis-linked mutations accelerate aggregation and increase toxicity. *J Biol Chem* 2009; 284(30): 20329-39.
- 38 Patel A, Lee HO, Jawerth L, Maharana S, Jahnel M, Hein MY, *et al.* A liquid-to-solid phase transition of the als protein fus accelerated by disease mutation. *Cell* 2015; 162(5): 1066-77.
- 39 Mackenzie IR, Nicholson AM, Sarkar M, Messing J, Purice MD, Pottier C, *et al.* Tial mutations in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia promote phase separation and alter stress granule dynamics. *Neuron* 2017; 95(4): 808-16, e809.
- 40 Lee KH, Zhang P, Kim HJ, Mitrea DM, Sarkar M, Freibaum BD, *et al.* C9orf72 dipeptide repeats impair the assembly, dynamics, and function of membrane-less organelles. *Cell* 2016; 167(3): 774-88, e717.
- 41 Kwon I, Kato M, Xiang SH, Wu L, Theodoropoulos P, Mirzaei H, *et al.* Phosphorylation-regulated binding of rna polymerase ii to fibrous polymers of low-complexity domains. *Cell* 2013; 155(5): 1049-60.
- 42 Colombrita C, Onesto E, Tiloca C, Ticozzi N, Silani V, Ratti A. Rna-binding proteins and rna metabolism: A new scenario in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Ital Biol* 2011; 149(1): 83-99.
- 43 Aguzzi A, Altmeyer M. Phase separation: Linking cellular compartmentalization to disease. *Trends Cell Biol* 2016; 26(7): 547-58.
- 44 De Strooper B, Karran E. The cellular phase of alzheimer's disease. *Cell* 2016; 164(4): 603-15.
- 45 Guo L, Kim HJ, Wang H, Monaghan J, Freyermuth F, Sung JC, *et al.* Nuclear-import receptors reverse aberrant phase transitions of rna-binding proteins with prion-like domains. *Cell* 2018; 173(3): 677-92.
- 46 Hofweber M, Hutten S, Bourgeois B, Spreitzer E, Niedner-Boblitz A, Schifferer M, *et al.* Phase separation of fus is suppressed by its nuclear import receptor and arginine methylation. *Cell* 2018; 173(3): 706.
- 47 Yoshizawa T, Ali R, Jiou J, Fung HYJ, Burke KA, Kim SJ, *et al.* Nuclear import receptor inhibits phase separation of fus through binding to multiple sites. *Cell* 2018; 173(3): 693.
- 48 Qamar S, Wang GZ, Randle SJ, Ruggeri FS, Varela JA, Lin JQ, *et al.* Fus phase separation is modulated by a molecular chaperone and methylation of arginine cation-pi interactions. *Cell* 2018; 173(3): 720-34.