

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Identification and functional analysis of a Protruding Acidic Patch, PAP, a novel motif of Schizosaccharomyces pombe Rad51
著者(和文)	AfsharNegar
Author(English)	Negar Afshar
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12049号, 授与年月日:2021年9月24日, 学位の種別:課程博士, 審査員:岩崎 博史,田口 英樹,林 宣宏,村上 聡,加納 ふみ,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12049号, Conferred date:2021/9/24, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	Afshar Negar	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 岩崎 博史	教授	中戸川 仁	准教授
	田口 英樹	教授	加納 ふみ	准教授
	村上 聡	教授		
	林 宣宏	教授		

本論文は「Identification and functional analysis of a Protruding Acidic Patch, PAP, a novel motif of *Schizosaccharomyces pombe* Rad51」と題し、英文で記述され、8章より構成されている。

第一章「Introduction」では、相同組換えとその反応機構について説明している。まず、相同組換えは、DNA二重鎖切断を正確に修復するシステムとして機能することを述べ、その生物学的重要性を示している。次に、相同組換えの多段階からなる反応機構について、関与するタンパク質を示して現在の知見を総括し、さらにこの中で中心的な反応を担うRad51タンパク質について詳説している。そして、Rad51と相互作用する補助因子として、Rad52、Rad54、Rad55-Rad57複合体に代表されるRad51パラログ、Swi5-Sfr1複合体、Shu複合体について概説している。そのうえで、これらの複数の補助因子がどのようにRad51と相互作用して相同組換えを制御しているのか未だに不明な点が多いことを指摘し、本研究の目的を明示している。

第二章「Methods and Materials」では、本研究で用いた実験材料と実験手法の詳細を述べている。

第三章から第七章までは本研究で得られた結果について述べている。

第三章「Identification of the PAP (protruding acidic patch) in *S. pombe* Rad51」では、分裂酵母Rad51タンパク質の表面電荷を解析した結果、突き出た酸性パッチ領域 (protruding acidic patch: PAP) が存在すること、このパッチの形成には205番目と206番目のグルタミン酸 (E205とE206) と209番目のアスパラギン酸(D209)が関与すること、また、PAPは生物種を超えて広くRad51に存在すると述べている。

第四章「*In vivo* and *in vitro* analysis of Rad51-E206A」では、生物種間で最もよく保存されているPAP中のE206残基の変異体であるRad51-E206変異について解析している。*rad51-E206A*変異株のDNA損傷に対する感受性の解析から、Rad55-Rad57複合体が補助するRad51修復経路に欠損があることを示し、さらに、*in vivo*の共免疫沈降実験からこの変異体はRad55-Rad57複合体との相互作用が低下することを示している。一方、この変異体を用いた試験管内DNA鎖交換反応において、Rad51単独の反応、及び、活性化因子Swi5-Sfr1存在下での反応の両方とも正常であることを示している。これらの結果から、PAP中のE206残基がRad55-Rad57複合体との相互作用に重要であると述べている。

第五章「The PAP is essential for Rad51-dependent DNA repair」では、PAP中の3箇所の酸性アミノ酸残基をアラニンに置換したRad51-EED変異体について解析している。*rad51-EED*変異株は、*rad51-E206A*変異株と違い、*rad51*欠失変異と同等のDNA損傷感受性を示し、DNA損傷に応じたRad51 fociの形成が著しく欠損している。これらの事実は、Rad51-EEDタンパク質がDNA損傷部位に集積する機能を欠損していることを示唆していると述べている。

第六章「*In vitro* analysis of Rad51-EED」では、Rad51-EEDタンパク質を精製し、生化学的解析をしている。Rad51-EEDタンパク質は、野生型と比べて高いDNA鎖交換活性を有する。また、Swi5-Sfr1複合体によって促進されるRad51依存的DNA鎖交換反応においても、野生型と同等の活性を示している。よって、*rad51-EED*変異株のDNA修復欠損はSwi5-Sfr1複合体との相互作用欠損によるものではないと述べている。

第七章「The PAP is important for the interaction of Rad51 with both Rad52 and Rad54」では、Rad52及びRad54との相互作用を解析している。その結果、Rad51-EEDにおいてはこれらの因子との物理的相互作用が低下していることを見出している。このことから、PAPはRad55-Rad57複合体のみならず、Rad52やRad54との相互作用に重要な部位であると述べている。

第八章「Discussion」では、PAPにおけるRad55-Rad57複合体、Rad52、及びRad54との相互作用様式、Rad51フィラメント促進化、PAPの種間保存性について考察している。

以上を要するに、本論文はRad51を制御する3種類の補助因子の相互作用部位を明らかにし、Rad51の活性制御機構について新しい重要な知見を提示したものであり理學上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。