The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Analysis of roles of NurA and HerA in DNA repair in Thermus thermophilus
Author(s)	藤井, 裕己
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70785
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　藤井　裕己　）	
論文題名	Analysis of roles of NurA and HerA in DNA repair in *Thermus thermophilus* （*Thermus thermophilus* 由来 NurA, HerA の DNA 修復系における機能の解析）

論文内容の要旨

NurA and HerA are thought to be essential proteins for DNA end resection in archaeal homologous recombination systems. *Thermus thermophilus*, an extremely thermophilic eubacterium, has proteins that exhibit significant sequence similarity to archaeal NurA and HerA. To unveil the cellular function of NurA and HerA in *T. thermophilus*, I performed phenotypic analysis of disruptant mutants of *nurA* and *herA* with or without DNA-damaging agents. The *nurA* and *herA* genes were not essential for survival, and their deletion had no effect on cell growth and genome integrity. Unexpectedly, these disruptants of *T. thermophilus* showed increased resistance to UV irradiation and mitomycin C treatment. Further, these disruptants and the wild type displayed no difference in sensitivity to oxidative stress and a DNA replication inhibitor. *T. thermophilus* NurA had nuclease activity, and HerA had ATPase. The overexpression of loss-of-function mutants of *nurA* and *herA* in the respective disruptants showed no complementation, suggesting their enzymatic activities were involved in the UV sensitivity. In addition, *T. thermophilus* NurA and HerA interacted with each other *in vitro* and *in vivo*, forming a complex with 2:6 stoichiometry. These results suggest that the NurA-HerA complex has a similar architecture to archaeal counterparts, but that it impairs, rather than promotes, the repair of photoproducts and DNA crosslinks in *T. thermophilus* cells. This cellular function is distinctly different from that of archaeal NurA and HerA.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（ 藤井　裕己 ）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	上田　昌宏
	副 査	教授	平岡　泰
	副 査	教授	深川　竜郎
	副 査	教授	増井　良治　（大阪市大）

論文審査の結果の要旨

真正細菌に存在する古細菌型ヌクレアーゼ NurA とヘリカーゼ HerA の機能解析を行ってきた。*in vitro* の実験系において、NurA のヌクレアーゼ活性および HerA の ATP アーゼ活性を検証した結果、DNA損傷修復への関与が想定される結果が得られた。一方、*in vivo* の実験系において *nurA* 遺伝子と *herA* 遺伝子の破壊株を用いて細胞内の機能解析を行ったところ、遺伝子破壊株は、増殖速度やプラスミドとゲノム DNA 間の相同組換え効率では、野生株と大きな違いはなかったが、DNA 損傷をもたらす紫外線に対して顕著な耐性を示した。さらに DNA の架橋を引き起こす mitomycin C に対しても破壊株のほうが高い耐性を示した。これらの表現型は、従来の DNA 修復系酵素の欠損が DNA 損傷要因に対して感受性を示すのと対照的である。つまり、NurA と HerA は、DNA 損傷修復を促進するのでなく、逆に修復系を抑制するかのように見える。さらに、複数の遺伝子を破壊した *in vivo* での実験系により、NurA と HerA が既知の DNA 損傷修復経路にどのように関わっているかも明らかにした。これらの発見は、従来の理解に照らして予想外の結果であり、DNA 損傷修復系の仕組みを考える上で重要な知見を与える意義あるものである。この成果をまとめた論文は国際学術誌に掲載されており、その重要性が認められている。

よって、博士学位論文に値するものと認める。