

Title	The analysis of roles of a single-stranded DNA binding protein complex, RPA, in yeast meiosis by Auxin-inducible degron system
Author(s)	Sampathkumar, Arivarasan
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/98638">https://doi.org/10.18910/98638</a>
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name ( Arivarasan Sampathkumar )	
Title	<p><b>The analysis of roles of a single-stranded DNA binding protein complex, RPA, in yeast meiosis by Auxin-inducible degron system</b></p> <p>(オーキシндеグロン分解系による1本鎖DNA結合蛋白質RPAの酵母減数分裂期の機能解析)</p>
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Replication Protein A (RPA) stands as a pivotal player in various facets of eukaryotic DNA metabolism, particularly in safeguarding single-stranded DNA (ssDNA) structures. This study delves into the diverse functions of RPA, revealing its significant involvement in double-strand break (DSB) formation and repair. Notably, RPA's role extends to axis formation post-S-phase replication and the elongation of the synaptonemal complex, evidenced by the absence of linear immunostaining with Rec8 and Zip1.</p> <p>Furthermore, findings from this study indicate a crucial interplay between RPA and Rad51 assembly during meiosis. Depletion of Rfa1, a subunit of RPA, resulted in observable impacts on Rad51 assembly, shedding light on the intricate connections between these essential components during meiotic processes.</p> <p>In addition to its structural contributions, RPA emerges as a key sensor for ssDNA, activating a checkpoint mechanism pivotal for recombination. This activation involves the orchestrated interplay of Mek1, Hop1, and Ndt80, underscoring RPA's role as a molecular sentinel in the cellular response to DNA recombination events.</p> <p>Collectively, this comprehensive exploration highlights the multifunctional nature of RPA, emphasizing its indispensable role in maintaining genomic integrity through its participation in various DNA processes, ranging from replication and recombination to checkpoint activation.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （ Arivarasan Sampathkumar ）			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	篠原 彰
	副 査	教授	岡田 眞里子
	副 査	教授	石谷 太
	副 査	教授	岩永 史朗

**論文審査の結果の要旨**

The analysis of roles of a single-stranded DNA binding protein complex, RPA, in yeast meiosis by Auxin-inducible degron system

オーキシングレグロン分解系による 1 本鎖 DNA 結合蛋白質 RPA の酵母減数分裂期の機能解析

減数分裂期の組換えはゲノムの多様性の産生と、配偶子形成に必須の役割を果たしている。その仕組み、配偶子形成時のゲノムの安定化の分子メカニズムを解明することは、これまでに知られていないゲノム安定化の仕組みを明らかにするばかりでなく、配偶子の機能不全などの医学的側面の理解に繋がることが期待できる。特に減数分裂期組換えは体細胞分裂期組換えとは異なり、相同染色体間で起きることが知られているが、その制御の分子メカニズムについてはほとんど解明されていない。

Arivarasan S氏は、学位の申請研究として、減数分裂期の組換えの仕組みを明らかにするために出芽酵母の 1 本鎖DNA結合タンパク質複合体RPA(Replication Protein A)に着目して、その機能解析を実施した。RPAの構成遺伝子であるRFA1, -2, -3は細胞生育に必須であるため、オーキシントラップ型デグロン系を用い、条件特異的な分解系により、減数分裂期の段階ごとのRfa1 (RFA1)の機能の解析を実施した。これまでの体細胞分裂期の点突然変異などの解析から示されているように、減数分裂期のDNA複製と減数分裂期特異的に導入されるDNA 2 重鎖切断 (Double-strand breaks, DSB) の修復、DNA損傷チェックポイントに必要であることを確認したばかりでなく、新しい機能として、RPAが効率良いDSB形成に必要なこと、DSB修復の中では相同鎖交換反応を担うRad51- 1 本鎖DNA複合体の安定化に必要であることを見出した。前者の発見はDSB形成後に必要な因子が、実はDSB形成そのものに関わるという興味深い役割を提唱している。一方、後者の発見は、これまでRPAはRad51の結合に阻害的に働くだけでなく、Rad51機能を助ける活性を有し、Rad51- 1 本鎖DNA複合体が相同鎖検索反応能の分子実態であると考えられてきた従来の考えとは異なり、Rad51-RPA- 1 本鎖DNA複合体がその分子実態であるという新しいモデルの提案に繋がると期待できる。

本研究により、減数分裂期組換えの新しい制御の仕組みを明らかにした点において、学位に値する成果と言える。今後の進展により、当該分野での研究の発展も大きく期待できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。

博士研究の一部は下記の国際誌の論文の筆頭著者として発表している。

Arivarasan Sampathkumar, Chen Zhong, Yuting Tang, Masaru Ito, Yuruka Fujita, and Akira Shinohara. Replication protein-A, RPA, plays a pivotal role in the maintenance of recombination checkpoint in yeast meiosis. *Scientific Reports*, 14, 9550, 2024. doi: 10.1101/2023.09.01.555993.