

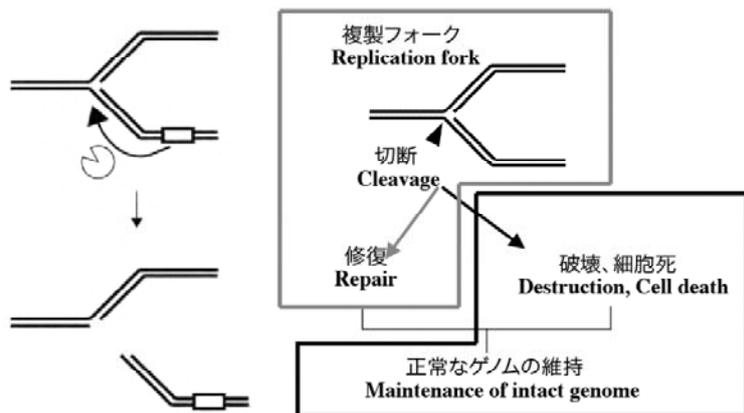
論文内容の要旨

論文題目 Novel functions of restriction endonucleases (制限酵素の新しい機能)

氏名 石川 健

1. 複製フォーク型 DNA の I 型制限酵素による切断。

複製フォークの切断は、停止した複製を組換え修復によって再開するための反応であると考えられて来た。私は、フォークの切断が、このようなゲノムの「修復」とゲノムの「破壊」との選択に関わる事を示唆する結果を得た。



DNA メチル化低下のために、複製直後の染色体は原核生物では制限酵素により切断される可能性がある。*in vivo* の観察から、DNA 複製と I 型制限酵素による切断には何らかの関係が考えられる。I 型制限酵素は、未メチル認識配列に結合し、DNA をたぐり寄せ、数百から数千塩基離れた位置で DNA を切断するという奇妙な反応で知られていた。

私は、*in vitro* で I 型制限酵素 EcoR124I が複製フォークを模した DNA を分岐点付近

で切断する事を発見した。解析結果は、この酵素が複製フォーク通過後の娘 DNA 上にある未メチル認識配列から DNA をたぐり寄せ、分岐点にぶつかると切断するというモデルを支持する。

I 型制限酵素によるフォーク切断は、ゲノムが不安定になった細胞を排除する事により、正常なゲノムの維持に関与する可能性がある。

2. ゲノム比較と無細胞発現系による新しい機能と構造を持つ制限酵素の発見

全く新しい立体構造と機能を持つ DNA 結合タンパク質を発見するには、どうしたらよいだろうか？ゲノム配列を比較し、メチル化酵素遺伝子ホモログと共にゲノムを動いている遺伝子で、構造が予測できないものは、新しい基本立体構造（フォールド）と機能をもつ制限酵素である可能性がある。私は、この考え方と小麦胚芽無細胞タンパク質合成系を用いた活性スクリーニングにより、新しい構造と機能の制限酵素を発見する方法を確立した。超好熱古細菌 *Pyrococcus abyssi* 由来の II 型制限酵素 PabI は、 Mg^{2+} 非要求、TA3'突出の断端の生成など新しい性質を示し、新しいフォールドを持っていた。

