

## 博士論文要旨

新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻

学籍番号 57608 福田 江里

終了年月:2009年3月

指導教員:小林一三(教授)

キーワード:メチル化、細胞死

論文題目: Cell death strategy in fight against epigenetic genome methylation systems:  
a novel function of methyl-specific deoxyribonucleases

(エピジェネティックなゲノムメチル化システムに対する細胞死型防御戦略:  
メチル化 DNA エンドヌクレアーゼの新たな役割)

近年、ゲノムに対するエピジェネティックな変化が生命活動の様々なプロセスにおいて、非常に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。特に、DNA のメチル化は、遺伝子発現の制御に影響を与えている。原核生物では、DNA メチル化システムが遺伝子発現を劇的に変化させることが知られている。DNA メチル化システムは、ゲノム間を頻繁に動き、原核生物のゲノムを潜在的な脅威にさらしている。

大腸菌ゲノムの *mcrBC* 遺伝子産物は、二つの R<sup>m</sup>C (R=A or G)配列を認識してその間で DNA を切断することが知られており、「T4 のような修飾塩基を持つファージに対する防御機構」と考えられてきた。この McrBC が仮説のように防御機構として維持されてきたならば、McrBC ホモログの分布もそれと相関関係があると考えられる。しかしながら、現在、報告のあるシトシンがメチル化修飾されたファージは、*Xanthomonas* や *Halobacterium* に感染するファージなどである。それに対し、論文提出者が共同研究者と共に行った解析では、200 以上の菌種から McrBC ホモログが同定された。このことより、本研究では、McrBC は、メチル化システムの感染に対する防御機構という新しい仮説を立て、実験とゲノムインフォマティクス解析という二つのアプローチから仮説の検証を行った。

まず McrBC によるメチル化システムの細胞への樹立の阻害の効果を定量的に解析し、メチル化した配列が McrBC により認識される PvuII メチル化酵素遺伝子の樹立が、非常に厳しく阻害されることを示した。さらに、メチル化酵素遺伝子を持つファージの感染実験においても、このファージの増殖の厳しい阻害

を示し、感染に伴う宿主の染色体切断を発見した。以上の結果は、メチル化酵素遺伝子が侵入すると、宿主ゲノムのメチル化が起き、それを McrBC が察知し、攻撃していることを示す。

次に、この McrBC による制限の過程を詳細に観察するために、誘導型 PvuII 修飾酵素発現系を構築した。この系により、ゲノムのメチル化、染色体切断、細胞死の相関を示した。また、染色体切断の過程への宿主の組換え修復機構の影響を調べ、各変異体に固有の染色体切断のパターンの変化を検出することに成功した。SOS 応答の役割について変異体を用いて検討した。さらに、4つのメチル化酵素について、McrBC の効果を検討し、その一般性と配列特異性を示した。

後半では、PSI-Blast を用いて、McrBC システムのホモログを多数同定し、McrBC ホモログの広範囲な分布を示した。また、ホモログ間の比較により、McrBC システムの認識配列の多様性の可能性を提示した。McrBC ホモログのゲノム・コンテキスト解析により、McrBC ホモログが可動性因子（制限修飾系やインテグレース、トランスポゾンなど）の近傍に多く存在することを明らかにした。

さらに、ワード頻度に基づく方法で、*mcrBC* ホモログの遠縁からの水平伝達が比較的最近起きた場合が 1/3 に上ることを示した。また、*mcrBC* ホモログがゲノムから失われやすいことを示した。

以上、本研究は、「McrBC はエピジェネティックな染色体メチル化に対する細胞死型防御機構」という仮説を実験およびゲノムインフォマティクス解析により検証した。