

# 論文審査の結果の要旨

氏名 福田 江里

本論文は、エピジェネティックなメチル化に対する細胞死を、実験的解析およびゲノムインフォマティクスの解析から検証している。

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  $R^mC$  ( $R=A$  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、論文提出者は、*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。

論文提出者は、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た。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、論文提出者は、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。

本論文の後半では、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、論文提出者は、「**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。

なお、本論文の実験的解析は論文提出者が行った。ゲノムインフォマティクス解析は、論文提出者が行った解析を **Janusz M. Bujnicki** と **Katarzyna H. Kaminska** (International Institute of Molecular and Cell Biology, Poland)との共同研究により、発展させたものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。