

細菌の塩基修飾

古田 芳一

DNAの塩基は基本的にアデニン (A), チミン (T), グアニン (G), シトシン (C) の4種であるが, これらの塩基がメチル化などの修飾を受けることで, 周辺の遺伝子の発現量を変化させ, 細胞ひいては個体の状態を制御する現象が知られている. いわゆるエピジェネティクスと呼ばれる分野の現象であり, 真核生物においては発生や細胞分化に関わることから, 盛んに研究されている.

細菌においては, 塩基修飾の主な役割は細胞の防御機構としての機能と考えられてきた. 細菌のDNAメチル化酵素は, 制限酵素とペアで制限修飾系を構成する. 制限酵素は特定のDNA認識配列を切断する活性 (EcoRIなどのクローニングに使用する酵素としておなじみ) を持ち, ファージやプラスミドなどの外来DNAを切断・分解することでその侵入を防ぐ. 一方, ペアを組むDNAメチル化酵素は, 自己のゲノムDNAにおいて, 制限酵素と同じ認識配列の特定の塩基をメチル化する. メチル化された認識配列は制限酵素によって切断されないため, 自己のゲノムDNAを制限酵素の切断から保護できる.

こうした主な役割の違いから, 細菌のDNAメチル化酵素は, 真核生物のものと活性が大きく異なる. 細菌のゲノム上には制限修飾系の認識配列が 10^2 から 10^4 か所程度存在し, 制限酵素による自己のゲノムDNAの切断を防ぐためには, そのほとんどがメチル化される必要がある. そのため, 細菌のDNAメチル化酵素の活性はきわめて高く, ゲノム上の認識配列はほぼ100%がメチル化されると言われている. この点, ゲノム中の位置や外部刺激によってメチル化率がダイナミックに変化する真核細胞と大きく異なる. また, 認識配列が異なるさまざまな制限酵素が存在することはご存知の通りだが, 対応するDNAメチル化酵素も同様に多様である. 種や株が異なれば, 保持するDNAメチル化酵素が異なるため, ゲノム中のメチル化箇所も大きく異なる.

細胞防御機構の一部と考えられてきた細菌の塩基修飾であるが, 真核細胞と同様に, 遺伝子発現制御などの活性も持つ事例が, 近年多く報告されるようになった. 大腸菌などの種で, DNAのメチル化がゲノムの修復や複製を制御していることが知られている. また, DNAのメチル化によって遺伝子発現や病原性が制御されている事例が, トランスクリプトーム解析と後述のメチローム解析の組合せによってさまざまな種において明

らかとなっており, 中にはゲノムの逆位によってDNAメチル化酵素の認識配列をスイッチングし, メチル化箇所を変化させることで病原性を変化させる, という複雑なものも見つかった¹⁾.

これらの活性の報告を可能にしたのが, 近年開発されたロングリードシーケンサーである. ゲノム中に塩基修飾が存在しているかどうかは, ゲノムDNAを一塩基単位に分解し, 質量分析を行えばわかるが, ゲノム中のどの塩基が修飾されているかをマッピングすることはできない. 真核生物において代表的な塩基修飾である5-メチルシトシンについては, バイサルファイト法によってゲノム中の修飾塩基の位置を特定できるものの, 細菌で主に検出される N^6 -メチルアデニンや4-メチルシトシンといった塩基修飾については, 相当する手法が存在しなかった. 2010年代より登場したロングリードシーケンサーがこの状況を一変させ, PacBioなどが使用するSMRT法や, MinIONなどのナノポアシーケンサーによって, ゲノムを解読する際に, 塩基配列情報に加え, 各塩基の特定の修飾についての情報も同時に得られるようになった. こうした修飾塩基を網羅的にマッピングする手法 (メチローム解析) により, 新しい認識配列を持つDNAメチル化酵素が次々と見つかり, 現在では4000以上の認識配列が知られ, 細菌のエピゲノムの多様性を明らかにしている.

細菌の塩基修飾による遺伝子制御や表現系制御の解析の多くは, それぞれの種について個別に解析されている状態であった. しかしここ数年でロングリードシーケンサーの精度と出力データ量が大幅に向上し, メタゲノムサンプル中の塩基修飾を網羅的に検出する研究も行われつつあり, 細菌集団の環境適応や進化に対して, 塩基修飾がどのような役割を果たすか調べられるようになってきた²⁻⁴⁾. また, ヒトは細菌と修飾塩基の種類が異なることから, 細菌のDNAメチル化酵素を用いた遺伝子回路を構築し, ヒト細胞内で作用させる生物工学研究も行われている⁵⁾. 今後生態学や生物工学といった分野への発展が期待されるトピックであると言える.

- 1) Manso, A. S. *et al.*: *Nat. Commun.*, **5**, 5055 (2014).
- 2) Beaulaurier, J. *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **36**, 61 (2018).
- 3) Hiraoka, S. *et al.*: *Nat. Commun.*, **10**, 159 (2019).
- 4) Suzuki, Y. *et al.*: *Microbiome*, **7**, 119 (2019).
- 5) Park, M. *et al.*: *Cell*, **176**, 227 (2018).