

# 制限修飾系

(Restriction and modification system type I, type I R-M system)

大腸菌に代表されるバクテリアの制限修飾系。ファージからの感染を防ぐためのシステム。EcoKIやEcoBIなど。菌のゲノム上の特定の配列をメチラーゼで修飾(メチル化)し、メチル化されていない外来遺伝子を制限(切断)することによって外来遺伝子からゲノムを守る。

## Typel制限修飾系

hsd(host specificity defective)。近接するhsdR, hsdM, hsdSから成り、それぞれ制限(切断)・修飾(メチル化)・認識を担うサブユニットである。

### 特徴

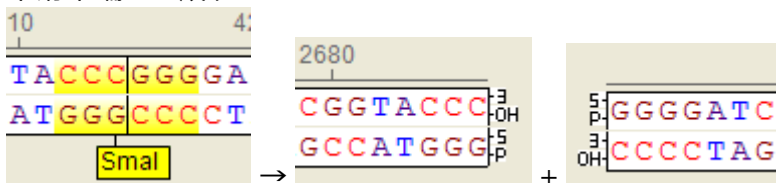
- 3つのサブユニットを持つヘテロ多量体酵素。
- 修飾系はS-アデノシルメチオニンをメチル基のドナーとするメチルトランスフェラーゼ活性を有する。
- 制限系にはATPとMg<sup>2+</sup>イオンを必要とする。
- 認識部位から離れた位置を切断する。

## Typell制限修飾系

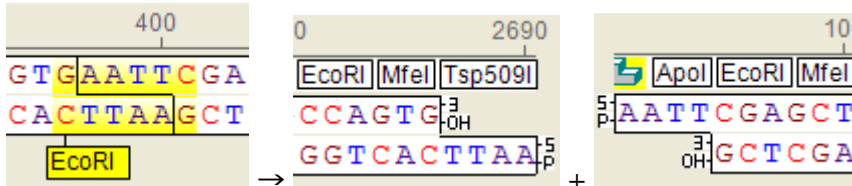
遺伝子工学で用いられる制限酵素のほとんどは、制限修飾系(Typell)の制限酵素である。一般的に、基質は二重鎖DNAで、反応生成物は末端が平滑なもの(平滑末端)と、突出したもの(粘着末端、突出末端)が得られる。対となるメチラーゼによってこの反応が抑制される。(eg. EcoRIとM.EcoRI) 認識部位はパリンドローム(回文)配列となっていることが多い。

制限酵素: Restriction enzyme, Endonuclease, REase

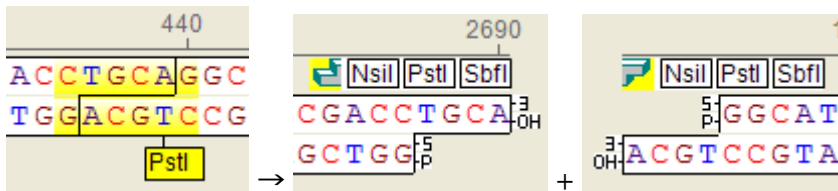
平滑末端を生成する



5'突出末端を生成する



3'突出末端を生成する



## 特徴

- 制限酵素とメチラーゼが複合体を形成しない。⇨ 活性な制限酵素だけをクローニングできる。
- 制限酵素はMg<sup>2+</sup>を必要とする。ATPは必要としない。
- 多くの場合、認識サイト内で切断できる。

### Quiz

- 6塩基を認識する制限酵素の場合、3,000bpあたりの切断箇所は平均何箇所？
- ゲノムを断片化してパターンを見たいときには、4塩基認識と6塩基認識とどちらを使う？
- DNAのバッファーにTEを使う理由は？

## クローニングへの影響

遺伝子工学のクローニングで用いられる大腸菌の遺伝子型は、hsdR欠損(*r<sup>m+</sup>*)か、hsdR,hsdM欠損(*r<sup>m-</sup>*)である。まれなケースだが、*r<sup>m-</sup>* 遺伝子型の株から野生型の株に導入する場合は注意を要する。

### 大腸菌の遺伝子型

表記	機能
dam	dam(DNA adenine methylase)欠損。damメチラーゼは塩基配列GATCのアデニンをメチル化する。
dcm	dcm(DNA cytosine methylase)欠損。dcmメチラーゼは塩基配列CCWGG (WはAかT) の2番目のシトシンをメチル化する。
mcrA	mCpG (5'-mCG)配列の制限欠損。(mcr = methyl cytosine restriction) 哺乳動物細胞由来のゲノムを扱う場合、CGメチラーゼによってメチル化されている場合がほとんどなので、mcrA欠損株が必要となる。
mcrBC	RmC (5'-RmC) 配列の制限欠損。(RはAかG)
mrr	メチル化配列制限欠損。(mrr = methylation requiring restriction) Mrrは認識するコンセンサス配列はなく、メチル化されたアデニンあるいはシトシンをもつDNAを切断する。ただし、dam・dcm・EcoKIによるメチル化サイトは切断しない。
hsd	制限性遺伝子型欠損。あるいは宿主特異性遺伝子型欠損 (hsd = host specificity defective)。制限修飾系 (TypeI)
e14	K-12株に存在するが、他の株には存在しない。e14にmcrA遺伝子が含まれている。

## 連続する遺伝子の表記

制限修飾系の遺伝子は下のように連続しており、省略されて表記されることがある。

mcrC-mcrB-hsdS-hsdM-hsdR-mrr

たとえば、HB101の制限修飾系の場合、 $\Delta$ (mcrC-mrr) → mcrCからmrrまですべて欠損

## 命名法

制限酵素やメチラーゼの名前は、起源となる生物の属・種から頭字語(acronym)をつけ、さらに株の区別などの情報をもとにして名付けられている。同じ組織の中の別の制限・修飾系がある場合にはローマ数字で区別する。制限酵素とメチラーゼを区別する場合は名前の前にRやMをつけるが、TypeIの場合は省略されることが多い。

acronym		other designation	
1文字目	2, 3文字目	4文字目以降(必要な場合)	
属(genus)	種(species)	株の指定	同起源の場合の区別 (I, II, III,,)

### 例

属・種・株	酵素名
<i>Escherichia coli</i>	<i>EcoRI</i> , <i>EcoRV</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	<i>HindIII</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> Rf	<i>Hinfl</i>

生物種はラテン語表記なので、イタリック体(斜体)表記するのが正式な表記法だが、イタリックにしないことも多い。

## Reference

folder\_large

[Type I restriction systems: sophisticated molecular machines \(a legacy of Bertani and Weigle\).](#)

Murray NE

Microbiol Mol Biol Rev64p412-34(2000 Jun)

## リンク

- [制限酵素のバッファー](#)
- [制限酵素](#)
  - [DpnI](#)
  - [DpnII](#)
  - [MboI](#)

[酵素](#), [制限酵素](#), [メチラーゼ](#), [実験プロトコル](#)

From:

<https://bio.edu-wiki.org/> - BioWiki

Permanent link:

<https://bio.edu-wiki.org/%E5%88%B6%E9%99%90%E4%BF%AE%E9%A3%BE%E7%B3%BB>

Last update: **2018/10/25 23:00**

