

氏 名 譚 海 東

授与した学位 博 士

専攻分野の名称 学 術

学位授与番号 博乙第 4355 号

学位授与の日付 平成 23 年 3 月 25 日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者

(学位規則第 5 条第 2 項該当)

学位論文の題目 Multiple analyses of the mechanism of biological evolution utilizing DNA and protein sequences

(DNA およびタンパク質の配列情報を利用する生物進化メカニズムの多角的解析)

論文審査委員 教授 妹尾 昌治 教授 尾坂 明義 教授 大槻 高史

### 学位論文内容の要旨

**Background:** Understanding DNA and protein evolution is of central importance in the fields of molecular evolution, comparative genomics and structural biology. Unique tools to investigate species evolution, senescence, genetic diseases, drug targets and social lifestyle will be provided from the results. A large number of genome-scale data, which are now available from databases, have enabled to retest some assumptions about DNA and protein evolution. For example, the introns-early versus introns-late debate for its origin still continues while introns were found in 1977. Another example, in 2005, *Nature* published a paper reporting a general trend of amino acid changes during protein evolution but the trend may not suit for the proteins encoded by some organelle genomes, such as mitochondria. Hence, DNA and protein evolution should be reanalyzed with many elements integrated together under a new theory. Evolution is both the fact and theory, thus, the molecular evolutionary experiments should be improved.

**Methods:** To study introns origin, the Exon-Intron-Intergen database of various organisms is downloaded from various public websites. The similarity change in the nucleotide composition pattern of intergenic regions, exon regions and intron regions is analyzed at chromosomal level. To explore DNA and Protein evolution, the mitochondrial genomes of phylogenetically related species are selected. All the sequences are compared through three taxa method. The amino acid and base substitution matrices are constructed. Regarding the change in biological functions resulting from protein evolution, two aspects are focused. For prokaryotes, one strain of *S. thermophilus* is isolated from yogurt culture and tested to be resistant to most current antibiotics. The effect of horizontal gene transfer on antibiotic resistance is analyzed. Neighbor-joining weighted tree are constructed using different distance measures. In eukaryotes, more than 40,000 papers on the increased susceptibility to the cancers associated with amino acid substitutions are surveyed. Finally, the study on the improvement of molecular evolutionary experiments is performed, including site-directed mutagenesis, DNA transformation and virus evolution.

**Results and conclusion:** The main findings in this study are as following.

1. The large-scale random unequal crossover in eukaryote meiosis has fueled spliceosomal introns.
2. DNA evolution proceeds through two ways: C-to-T (caused by DNA methyltransferase, which mainly existed in vertebrates) and A-to-G substitution (which increased linearly with the A/G gradient).
3. The trend of protein evolution is controlled by the simple trend of coding-DNA evolution.
4. Cys content is found to be increased in all species during the protein evolution. Two Cys will form a disulfide bond, which contributes to stabilizations of the structure of proteins and thereby enhances their functionality.
5. Horizontal gene transfer induced the antibiotics resistance in *S. thermophilus*
6. DNA methyltransferase is considered to affect protein evolution, which will promote various cancers prevalence, thus an enzyme inhibitor can be a potential candidate for cancer therapy.
7. Basic techniques are improved for molecular evolutionary experiment, including multibase site-directed mutagenesis; heterogeneous DNA transformation via nanomaterials and inter-host evolution of virus.

Our results suggest that mtDNA may origin very recently. Second, mitochondrial genome evolution may imply global Warming Dynamics. Third, the evolution of chloroplasts genome, just like the mitochondrial genome, is thought to be originated from independent organelle. Fourth, the library for p53 mutants should be constructed. Fifth, the inhibitor of DNA methyltransferase will be explored to control the risk of various cancers.

## 論文審査結果の要旨

DNA およびタンパク質の配列から抽出される情報には色々な発想が必要となる。本論文では、生物の分子進化の観点から、このような情報を抽出するバイオインフォマティクスの技術の開発を多角的に試みて以下のような解析結果を得ている。

1. ゲノム配列中で、転写される領域やタンパク質をコードする領域に着眼し、イントロンの存在比率など種々の場合分けを考えた比率をパラメータとして考えると、同一種内でも染色体によりイントロンとエクソンの比が著しく異なっていること、性染色体ではイントロンが最も少なくなっていること、さらに減数分裂の際に起こる遺伝子の交差によりイントロンが増えていることが示された。
2. 核内およびミトコンドリアの DNA において、タンパク質をコードする領域の配列において進化に従って塩基の変異を辿ると、DNA 進化のプロセスはシトシンからチミンへの置換とアデニンからグアニンへの置換が主となっていることが示された。特に、シトシンからチミンへの置換については DNA メチル基転移酵素が脊椎動物では関与していると考えられる。
3. 同時に進化を辿るとタンパク質の進化は前記の DNA の進化に単純に帰属する事が示された。
4. 本論で調べた生物種においてはすべて、タンパク質中のシステイン残基の数が増える方向で進化が進んでいる事が示された。
5. トランスポゼース遺伝子のフィロジェネティックな解析により *S. thermophilus* の抗生物質耐性は突然変異ではなく *Enterococcus* からの水平遺伝による事が示された。
6. DNA 進化のプロセスは癌の罹患の可能性を拡大することが示唆されることから DNA メチル基転移酵素の阻害剤は抗がん剤のデザインを考える上で有効であることが示された。

このように膨大な配列情報を多角的に解析することにより、分子進化に関する情報を種々取得することが可能であることが示された。これらの情報解析技術を発展させることにより、創薬や薬効の指針決定などにも応用できると考えられる。また、システムの構築により新しい診断や治療に結びつけることができるものとして有望であると認め、審査委員の全員が本論文を学位にふさわしい論文であると評価した。