

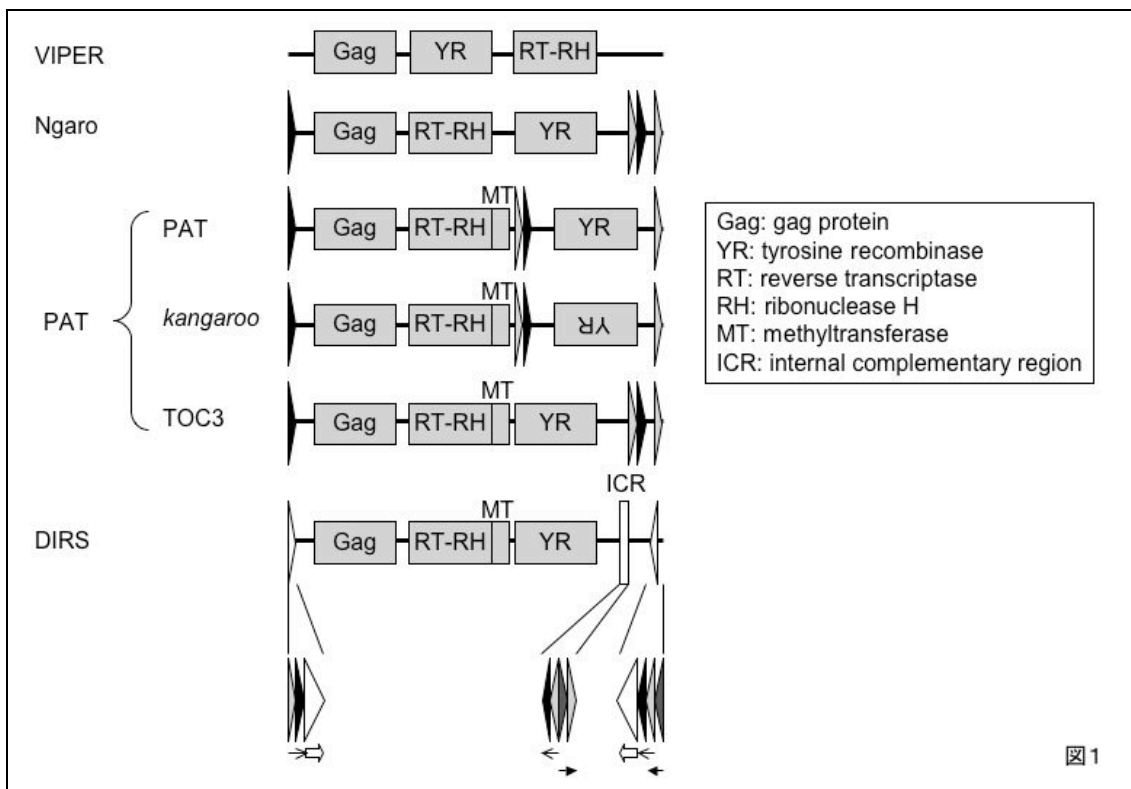
LTRのないLTRレトロトランスポゾン：DIRS、PAT、Ngaro、VIPER

LTRレトロトランスポゾンとnon-LTRレトロトランスポゾンを区別する最大の根拠はその名の通りLTR(Long Terminal Repeat)の有無であった。しかし、両末端に反復配列を持ちながら、エンドヌクレアーゼをコードする *Penelope-like elements* の発見に加えて、ここで紹介するDIRSをはじめとするLTRレトロトランスポゾンと近縁でありながらLTRを持たないグループの同定により、古典的な分類体系は崩壊の兆しを見せ始めている。そろそろ新しい分類体系が欲しいが、その前にまず、それぞれのグループの特徴をしっかりと理解しておかなければならない。

DIRS-1が粘菌 *Dictyostellium discoideum* から発見され、特徴づけが為されたのは実に20年以上昔のことである (Cappello et al. 1985)。それ以後に見つかった近縁なレトロトランスポゾンもLTRを持っていなかったが、逆転写酵素がLTRレトロトランスポゾンのもに近縁であることから長い間LTRレトロトランスポゾンの一員として扱われてきた。この慣習を大きく変えるきっかけとなったのは、Goodwinらによるチロシンリコンビナーゼの発見である (Goodwin and Poulter 2001)。

GoodwinらはDIRS-1に近縁な多数のレトロトランスポゾンをゼブラフィッシュ、フグ、線虫などから探索し、多数を同定した (Goodwin and Poulter 2001)。そしてそれまで機能が不明だったORFに入ファージのリコンビナーゼと相同な配列があることを発見した。入ファージのリコンビナーゼの仲間は活性残基としてチロシンを持っているためチロシンリコンビナーゼと呼ばれ、セリンを活性残基に持つセリンリコンビナーゼと区別されている。チロシンリコンビナーゼ全体での保存性は非常に低く、たった4つのアミノ酸しか保存されていない。RHRV tetrad と呼ばれ、活性に必須のアミノ酸である。RからHまでは約100アミノ酸、HとRは2アミノ酸、RとYは約30アミノ酸離れている。それ以後、DIRSのようにチロシンリコンビナーゼをコードしたレトロトランスポゾンがいくつも同定され、予想以上に大きなグループであることが明らかとなってきた。構造上も、おそらく転移機構上もLTRレトロトランスポゾンと大きく異なるこれらのグループは、LTRレトロトランスポゾンから独立させることが適当であると考えられている。ここではこのグループをPoulterらの提唱する「YRレトロトランスポゾン」と呼ぶことにする (Poulter and Goodwin 2005)。これまでの解析をまとめると、これらのレトロトランスポゾンは3つ、あるいは4つのグループに分類できるらしい。DIRS、PAT、Ngaro、そしてVIPERである。DIRSとPATは単系統であることが系統解析から示されているが、他のグループ間の類縁性は不明である。

DIRS (DIRS1) グループのレトロトランスポゾンは、粘菌の他、真菌類、ゼブラフィッシュ、フグ、カエル、ウニなどで見つかっている (Goodwin and Poulter 2001; 2004)。DIRS グループの特徴は両末端に逆向きの反復配列 (inverted terminal repeat, ITR) を持つことである。これは PAT、Ngaro、VIPER では見られない。DIRS の構造を言葉で説明するのは難しいので図 1 を参照してもらいたい。ITR の間には、ICR (internal complementary region) と呼ばれる配列があり、ITR の一部と同じ配列を持っている。実際には、逆向きの反復配列は両末端にあるわけではなく、右側の末端にはさらに数十 bp の配列が存在しており、これは *re* と名付けられている。細かく見ると ITR、*re* と ICR で 3 組の逆向き反復配列を形成していることがわかる。この領域はおそらく PAT や Ngaro の反復配列と同様に転移の際に重要な役割を果たすと考えられているが、どのような機能を持っているのかの証明はなされていない。DIRS の逆転写酵素と RNase H の下流には、ファージの DNA adenine methyltransferase に似た保存配列が見られる (Goodwin and Poulter 2004)。また、図 1 ではドメインのみを記したため書かれていないが、チロシンリコンビナーゼをコードする ORF は Gag の 3' 側とオーバーラップする形になっており、逆転写酵素/RNaseH/メチルトランスフェラーゼをコードする ORF とは完全に重なっている。チロシンリコンビナーゼの上流域には保存配列は見られず、翻訳の調節のために長い ORF が保存されているものと想定されている。



PAT の仲間では、PAT が 1992 年に、*Prt1* が 1996 年に、それぞれ線虫 *Panagrellus redivivus* と真菌 *Phycomyces blakesleeanus* から発見されている (de Chastonay et al. 1992; Ruiz-Perez et al. 1996)。その後、線虫 *Caenorhabditis briggsae*、緑藻 *Volvox carteri*、*Chlamydomonas reinhardtii*、ウニ *Strongylocentrotus purpuratus* などから見つかっている (Goodwin and Pouter 2001; 2004; Duncan et al. 2002)。PAT は DIRS と単系統群を形成するが、その構造は大きく異なる。コードされているタンパク質ドメインの種類、並び順は DIRS と共通するが、逆位反復配列を持たず、順方向の特殊な反復配列を持っている。5'末端には A1、3'末端には B2 と名付けられた配列があり、これと同じ配列が内部に存在している。これは split direct repeat (SDR) と命名されている。内部の配列は、B1、A2 と呼ばれる。PAT の仲間は構造の多様性が高く、図 1 に示したように、SDR がチロシンリコンビナーゼの前に来るもの (PAT)、後に来るもの (TOC3)、そしてチロシンリコンビナーゼが逆向きにコードされているもの (*kangaroo*) などが含まれている。ところで、チロシンリコンビナーゼが逆向きにコードされているというのは DNA トランスポゾンでは何でもないことだが、レトロトランスポゾンでは重大である。レトロトランスポゾンでは、片側の RNA 鎖がタンパク質の翻訳と逆転写の鋳型の両方に使われるからだ。つまり、*kangaroo* では両方の鎖が転写されていると考えられる。ところが、Duncan らの解析ではチロシンリコンビナーゼをコードすると思われる RNA の転写は確認されていない (Duncan et al. 2002)。

Ngaro はニュージーランドの原住民マオリの言葉で「飛ぶ」を意味する言葉である (Goodwin and Poulter 2004)。Ngaro は最初ゼブラフィッシュで発見され、他にカエル、ウニや真菌類に分布している。Ngaro は構造としては PAT に似ているが、メチルトランスフェラーゼを持っていない。また、逆転写酵素の系統樹でも、チロシンリコンビナーゼの系統樹でも DIRS や PAT との単系統性は支持されない。面白いことに、カエルの Ngaro はもう一つ余分に ORF を持っており、この ORF は non-LTR レトロトランスポゾンの仲間である CR1 の仲間の ORF1 にコードされているエステラーゼ様の配列と良く似ている。機能は未知だが、Goodwin らはこれがペプチダーゼとしてタンパク質のプロセッシングに働くのではないかと予測している。一方、真菌類の Ngaro にはスプライセオソームイントロンがコードされていることがわかった。レトロエレメントでは、スプライシングはテロメラーゼの他にはレトロウイルスと *Penelope*-like element でのみ報告されている。基本的に mRNA とゲノム RNA が同じ分子であるレトロエレメントで何故イントロンが存在するのかという疑問は転移機構と関連して興味深い話題である。

最後の VIPER は Ngaro と同様、メチルトランスフェラーゼをコードしていない (Lorenzi et al. 2006)。上述の 3 グループと異なり、VIPER ではチロシンリコ

ンビナーゼが Gag と逆転写酵素の間にコードされている。また、ITR も ICR も SDR も見つかっていない。VIPER はこれまでのところ、*Trypanosoma* 属の 3 種 (*T. cruzi*, *T. brucei*, *T. vivax*) でのみ見つかっており、近縁な *Leishmania* 属では断片すら見つかっていない。

上述したように、DIRS と PAT が近縁であることは分かっているが、酵素、チロシンリコンビナーゼの系統樹では、それ以外には信頼性の高い系統関係は見えてこない。しかし、これら 4 グループは単系統と考えるのが妥当だろう。構造からは、VIPER が最も古く、そこに SDR が加わったのが Ngaro、更にメチルトランスフェラーゼが加わったのが PAT、そして SDR が変化して ITR と ICR を持つようになったのが DIRS という進化が想定できる。DIRS グループの ICR を 180° 回転させると PAT グループの SDR と同じ構造になる。これは、DIRS グループの ICR が回転して PAT グループが誕生したか、逆に PAT グループの SDR が回転して DIRS グループが生じた可能性を示している (Duncan et al. 2002)。

進化的起源も今後の課題だが、転移機構も分かっていない。しかし、コードするタンパク質や挿入前後の配列変化から、転移機構のモデルは提案されている。チロシンリコンビナーゼを持つレトロトランスポゾンの仲間では、転移中間体として環状 DNA が想定されている。これは、チロシンリコンビナーゼを持つファージの多くが環状 DNA をゲノム DNA と組み換える形でゲノム中に挿入することからの推測である。Duncan らは、PAT の仲間である *kangaroo* で両側に外向きのプライマーを設計して PCR を行い、実際に PCR 産物を確認している (Duncan et al. 2002)。これは複製中間体として環状 DNA が合成されている証拠である。更に、Goodwin らは一步踏み込んで Ngaro の転写される RNA では、両末端の A1 と B2 の一部が欠けており、両端を内部の SDR を鋳型にして補うことで環状 DNA が合成されるというモデルを提出している (Goodwin and Poulter 2004)。DIRS グループでは、これと類似しているが多少異なるモデルが提案されている (Cappello et al. 1985)。DIRS-1 では、実際に転写が左側 (5'側) の ITR の内部から始まることが示されている (Cohen et al. 1984)。このため、何らかの形で左側の ITR を複製しなければならない。そこで右側 (3'側) の ITR、そして ICR を鋳型にして複製を補完するというのが Cappello らのモデルである。これと Goodwin らのモデルとでは、両端の反復配列の鋳型になるのが、RNA であるのか (DIRS)、それとも cDNA (PAT、Ngaro) であるのか、という点が大きく異なる。本当にこのモデルが正しいのか、あるいは思いもよらない機構が存在するのか、今後の転移機構解析の進展に期待したい。

2005 年の *Cytogenetics and Genome Research* のレトロトランスポゾン特集号で Poulter らが総説を書いている (Poulter and Goodwin 2005) ので興味のある人は参考にしてもらいたい。

Cappello J, Handelsman K, Lodish HF.

Sequence of Dictyostelium DIRS-1: an apparent retrotransposon with inverted terminal repeats and an internal circle junction sequence.

Cell. 1985 Nov;43(1):105-115.

Goodwin TJ, Poulter RT.

The DIRS1 group of retrotransposons.

Mol Biol Evol. 2001 Nov;18(11):2067-2082.

Poulter RT, Goodwin TJ.

DIRS-1 and the other tyrosine recombinase retrotransposons.

Cytogenet Genome Res. 2005;110(1-4):575-588. Review.

de Chastonay Y, Felder H, Link C, Aeby P, Tobler H, Muller F.

Unusual features of the retroid element PAT from the nematode *Panagrellus redivivus*.

Nucleic Acids Res. 1992 Apr 11;20(7):1623-1628.

Ruiz-Perez VL, Murillo FJ, Torres-Martinez S.

Prt1, an unusual retrotransposon-like sequence in the fungus *Phycomyces blakesleeana*.

Mol Gen Genet. 1996 Dec 13;253(3):324-333.

Goodwin TJ, Poulter RT.

A new group of tyrosine recombinase-encoding retrotransposons.

Mol Biol Evol. 2004 Apr;21(4):746-759.

Duncan L, Bouckaert K, Yeh F, Kirk DL.

kangaroo, a mobile element from *Volvox carteri*, is a member of a newly recognized third class of retrotransposons.

Genetics. 2002 Dec;162(4):1617-1630.

Lorenzi HA, Robledo G, Levin MJ.

The VIPER elements of trypanosomes constitute a novel group of tyrosine recombinase-encoding retrotransposons.

Mol Biochem Parasitol. 2006 Feb;145(2):184-194.

Cohen SM, Cappello J, Lodish HF.

Transcription of Dictyostelium discoideum transposable element DIRS-1.

Mol Cell Biol. 1984 Nov;4(11):2332-2340.

2006/06/29

小島 健司 著

禁 無断複写転載