

## 逆転写酵素が感染を防ぐ？ : Abortive infection

不稔感染と訳される Abortive infection とは、ウイルス感染は起こるが、その後のウイルスの増殖と放出が起らないような感染を意味する言葉である。その過程はさまざまにウイルスの細胞傷害性が強く、ウイルス粒子の成熟前に細胞が死亡する場合もあれば、細胞が自殺することでウイルス粒子の生産を防ぐ場合もある。感染細胞が死亡することによって周辺被害を防ぐ Abortive infection は利他的行動とみなすことができる。このため、Abortive infection が起こるのは、周辺の細胞が自己と同一のゲノムを持つ場合、すなわち多細胞生物の組織や、コロニー中のバクテリアに限られると考えられる。バクテリアにおいては大腸菌や枯草菌を含むさまざまな生物で Abortive infection が観察されている。最もよく調べられているのは乳酸菌 *Lactococcus lactis* である。乳製品の製造過程ではほぼ均一な乳酸菌の集団が形成されるため、バクテリオファージにとっても格好の環境となる。ファージの増殖を防ぐために Abortive infection が産業的に有用なのである。

知られている *Lactococcus lactis* の Abortive infection 遺伝子はほぼ全てプラスミドに乗っている。この内の一つに AbiK と名づけられた遺伝子がある。また、独立に発見された AbiA は AbiK と 23% の相同性がある。これらの遺伝子の N 末側半分には逆転写酵素がコードされている。*Lactococcus lactis* に感染するファージには大きく分けて 3 つのグループ (936, c2, P335) があるが、AbiK と AbiA は全てのファージに Abortive infection を引き起こす。しかし、ファージの中には突然変異により AbiK の攻撃を免れるものが報告されている。その機構は 2 種類に分類される。一つは、P335 グループにのみ認められるもので、宿主の染色体に存在するプロファージと組換えを起こすことで遺伝子の配列を大きく入れ替える (Bouchard and Moineau 2000)。この機構が P335 グループにしか認められないのは、936 や c2 は毒性が強いためプロファージの形で挿入されていないかららしい。また、P335 は配列の多様性が高いのに対して、936 や c2 では配列が高度に保存されているため、組換えによる配列の交換が有効ではないことも理由の一つかもしれない。もう一つの機構は、点変異 (point mutation) である。Bouchard らの結果は解析が不十分な印象を拭えないが、AbiK に耐性を持ったファージで点変異が起こっている遺伝子を 4 つ同定し、その内の 2 つが single-strand annealing protein (SSAP) に属することを示している。SSAP には酵母の RAD52 など組換えに関与する蛋白質が含まれ、相補的な DNA 同士を会合させる働きを持っている。SSAP はファージ DNA の環状化、修復、複製への関与が示されているため、もし、SSAP が AbiK の作用する蛋白質ならば、AbiK はファージの DNA 複製を阻害することで増殖を防いでいる可能性がある。ただし、彼らはフ

ファージの全配列をシーケンスしたわけではないので、他の遺伝子での変異が原因になっている可能性も否定できない。

AbiK 遺伝子は単独で転写されると同時に、上流のオペロンと一緒に転写される (Fortier et al. 2005)。上流のオペロンは2つの蛋白質をコードしており、その内の1つはヘリックスターンヘリックスモチーフを持つ転写抑制蛋白質として上流のオペロンの転写抑制に働いているらしい。しかし、上流のオペロンからの readthrough 転写産物が AbiK の機能に関与しているかは明らかではない。逆転写酵素活性に必須のアミノ酸 (モチーフ5の YVDD の Y、D、D 及びモチーフ3の DxSxFF/Y の D、F/Y) に変異を加えると、Abortive infection の活性は全く認められなくなった。一方、YVDD の Y を F に変えた場合にはファージの増殖は 1/10 程度に低下しただけだった。このことは、AbiK の逆転写酵素活性が Abortive infection に関与していることを示している。

AbiK や AbiA によって引き起こされるファージの増殖抑制の本当の姿は、プラスミドとファージとの生存競争なのかもしれない。細胞の増殖に伴って増殖するプラスミドにとって細胞を殺してしまうファージは敵である。その増殖を止めることで宿主の生存を助ければプラスミド自身の増殖にも利することになる。同様の理由で潜伏感染ファージにとっても別のファージの増殖を阻害することには利益がある。

大腸菌に潜伏感染するバクテリオファージの一種 P2 ファージには、生存に必要な遺伝子があり、これらの遺伝子は他のファージの感染の邪魔をする機能を持っている。P2 ファージではこのような遺伝子が3つあり、AT 含有量が他の領域と比べて多いことなどから水平伝播した遺伝子であると見られていた。その内の一つ、*old* 遺伝子は exonuclease をコードし、 $\lambda$  様ファージの増殖を阻害している。ところが、他の P2 ファージに近縁なファージでは、この *old* 座位に異なる遺伝子がコードされている。Odegrip らが P2 ファージに近縁なファージのいくつかから *old* 座位の配列を決定したところ、それぞれに全く異なる配列が含まれていることが明らかとなった (Odegrip et al. 2006)。P2-EC30 と P2-EC58 と名付けられた2種類のファージでは、この領域に逆転写酵素がコードされていた。この2つの逆転写酵素はお互いに69%の相同性があった。*in vitro* で発現させたところ、P2-EC30 の逆転写酵素は確かに逆転写酵素活性を有していた。Odegrip らはこれらの遺伝子が乳酸菌 *Lactococcus lactis* の AbiK 遺伝子と弱い類似性があることから、この P2-EC30 の逆転写酵素を発現させた大腸菌に T5 ファージを感染させる実験を行った。結果は明瞭で、逆転写酵素を発現させた大腸菌では普通の大腸菌に比べて T5 ファージの量が  $10^7$  分の一程度に抑制されることがわかった。また、逆転写酵素活性に必須な YRDD を除いた場合にはこの T5 ファージの抑制効果が見られなくなることもわかった。

Odegrip らの解析は、この逆転写酵素が P2 様ファージとは異なる由来のものであることを示唆している。この逆転写酵素はファージ内部に存在するが、機能的に類似した AbiK や AbiA はプラスミド中にコードされている (Fortier et al. 2005)。これら Abi 様の逆転写酵素はファージの感染を妨害する役割を持っており、プラスミドやファージはこれを獲得することでライバルとなるファージの感染を阻害し、生存率を高めているのだろう。Abi 様の逆転写酵素にとっては、必ずしもファージやプラスミドに挿入されている必要性はなく、生物ゲノム中であっても、ファージの感染を排除する機能によって宿主の生存率を上昇させ、自身の生存を確かなものにできるはずである。従って Abi 様の逆転写酵素はファージやプラスミドとは独立した遺伝因子であると考えるのが適切であろう。Abi 様の逆転写酵素は、配列上は非常に異なっているため、どこまでがこれと同様の機能を果たしているのかを推測するのは困難であるが、ファージの感染増殖を阻害する機能を持つレトロエレメントのグループとして新たに認識する必要があるだろう。原核生物の別のレトロエレメントであるレトロンもゲノム上に存在するものとファージに乗っているものとが知られており、Abi 様の逆転写酵素と比較して解析するのも面白いかも知れない。

Bouchard JD, Moineau S.

Homologous recombination between a lactococcal bacteriophage and the chromosome of its host strain. *Virology*. 2000 Apr 25;270(1):65-75.

Bouchard JD, Moineau S.

Lactococcal phage genes involved in sensitivity to AbiK and their relation to single-strand annealing proteins.

*J Bacteriol*. 2004 Jun;186(11):3649-52.

Fortier LC, Bouchard JD, Moineau S.

Expression and site-directed mutagenesis of the lactococcal abortive phage infection protein AbiK.

*J Bacteriol*. 2005 Jun;187(11):3721-30.

Odegrip R, Nilsson AS, Haggard-Ljungquist E.

Identification of a gene encoding a functional reverse transcriptase within a highly variable locus in the P2-like coliphages.

*J Bacteriol*. 2006 Feb;188(4):1643-1647.

2006/01/13

加筆修正 2006/07/11

小島 健司 著

禁 無断複写転載