

転移中間体を元通りに？ : ERCC1/XPF と Trex1

non-LTR retrotransposon の転移においては、エンドヌクレアーゼが片側の DNA 鎖を切断し、切断された 3' 末端をプライマーにして逆転写が開始される。すなわち転移の中間産物として、二本鎖 DNA の片側から枝分かれする形で一本鎖 DNA がつながる構造が形成される。このように 3' 側が塩基対を作らずに伸びている構造は 3' flap と呼ばれる。転移中間体としての 3' flap は鋳型 RNA と塩基対形成している。

このような構造が出来た場合、これを元の配列に戻すことが出来ないとする、一度逆転写が始まってしまったら必ず変異が入ることになる。ゲノム中に数多く存在する 5' 側の欠失したコピーの一部はそのようにして形成されるのかもしれない。しかし、元通りの配列に戻すことができないものだろうか？今回紹介する 2 本の論文はそのような機構の存在を示しているのかもしれない。

1 本目の論文は、ヌクレオチド除去修復に関わる 2 つのタンパク質が 3' flap を切断する働きをしているかもしれないという論文である (Gasior et al. 2008)。ERCC1 と XPF の 2 つのタンパク質はヘテロ二量体を形成する。XPF は ERCC4 とも呼ばれる。ERCC はヌクレオチド除去修復に異常がある変異体の原因遺伝子につけられた名前であり、この 2 つのタンパク質がヌクレオチド除去修復に働いていることを意味している。ERCC1/XPF ヘテロ二量体はヌクレオチド除去修復の過程で 3' flap を切断するエンドヌクレアーゼである。しかし、ヌクレオチド除去修復以外にも働いていることが知られている。

ERCC1 欠損のハムスター細胞 CHO-UV20 にヒトの ERCC1 を発現するベクターを導入すると、L1 の転移効率は 72% 減少した。ERCC1 欠損でないハムスター細胞 CHO-K1 に ERCC1 を発現するベクターを導入しても転移効率に変化は無かった。一方ヒトの培養細胞 HCT-116 に XPF の発現を抑制する siRNA を発現するベクターを導入すると、XPF のタンパク量が 60% 程度にまで減少し、L1 の転移は逆に 71% 増加した。コントロール実験が不足している印象は否めないが、この結果からは、ERCC1/XPF ヘテロ二量体が L1 の転移を抑制していることが示唆される。著者らはこの抑制の機構として、ERCC1/XPF が L1 の転移中間体の 3' flap を切断しているのではないかと記述している。なるほど 3' flap を根元から切断してしまえば転移前の配列に戻すことが可能である。

2 本目の論文では、エクソヌクレアーゼが L1 の転移を抑制するという結果が報告されている (Stetson et al. 2008)。Three prime repair exonuclease 1 (Trex1) は細胞内に最も大量に存在する 3' to 5' exonuclease であり、一本鎖 DNA だけを 3' 末端から分解する。Trex1 はアイカルディ・ゴーシェ症候群 (Aicardi-Goutieres syndrome, AGS) と凍瘡状狼瘡 (chilblain lupus) の原因遺伝子であり、どちらも

自己免疫疾患と考えられている。著者らは Trex1 のノックアウトマウスでは、自己を攻撃する抗体が産生されることを明らかにした。Trex1 ノックアウトマウスの心臓から細胞質中の一本鎖 DNA を抽出し、配列を決定したところ、正常マウスに比べて LINE、SINE、LTR レトロトランスポソンの配列がより多く得られた。LINE ではその配列は 5'側よりも 3'側に偏っていたが、sense 鎖と antisense 鎖の間では顕著な偏りは見られなかった。一方、LTR レトロトランスポソンでは、得られる配列は LTR に偏り、antisense に偏っていた。antisense 鎖は逆転写によって最初に合成される側の鎖である。HeLa 細胞を用いて転移に対する Trex1 の影響を調べたところ、L1 と LTR レトロトランスポソンの一種 IAP の両方で Trex1 発現ベクターの量を増やすと転移頻度が低下した。プラスミドとゲノムとの組み換えの頻度は Trex1 の有無による影響はなく、逆転写を伴った転移のみを抑制していることが確認できた。エクソヌクレアーゼ活性が失われる点変異を加えた Trex1 を発現させた場合には転移抑制効果も失われた。ドミナントネガティブとして働く変異 Trex1 を発現させた場合には、IAP の転移量が増加した一方で L1 の転移には変化は見られなかった。Trex1 は二量体で働くことからドミナントネガティブは正常な Trex1 と結合して活性を阻害すると考えられる。L1 と IAP への影響の違いは閾値の違いによるのかもしれないし、細胞内局在や逆転写産物の構造の違いによるのかもしれない。

以上の結果から、Trex1 は L1 や LTR レトロトランスポソンの転移中間体として合成される一本鎖 DNA を分解していると考えられる。興味深いことに RNaseH2 を構成する 3 つの蛋白質をコードする遺伝子の変異でも Trex1 の変異と同様の AGS が報告されている。RNaseH2 は DNA-RNA 二本鎖の RNA を分解する酵素である。従ってレトロトランスポソンの転移中間体の DNA-RNA 二本鎖の内、RNA は RNaseH2 が分解し、残る一本鎖 DNA を Trex1 が分解すると考えることができる。ただし、転移中間体は L1 の場合には核内、LTR レトロトランスポソンの場合にはウイルス様粒子内で起こるので、基質となる二本鎖は転移に失敗した後、細胞質に放出されたものなのかもしれない。Trex1 の発現量を増やすと転移効率が低下するので転移途中のものを分解することもできるのかもしれないが、自然な状態で本当に分解しているのかは不明である。いずれにせよ自己免疫疾患の原因遺伝子となっているのは、このようにして本来分解されるはずの一本鎖 DNA に対して自然免疫応答が起こり、自己組織を標的とする抗体の産生を促すためであろう。

自然状態を反映しているのかどうかは定かではないが、上述の論文の結果を踏まえると、Trex1 の過剰発現によって L1 の転移が抑制されるのは、転移中間体の 3' flap を分解するためであると考えて良いだろう。となれば ERCC1、XPF、Trex1 (もしかすると RNaseH2 も) の破壊された細胞では転移中間体が残ったま

ま別の修復系の酵素によって修復されているだろう。おそらく細胞内では、終了したレトロトランスポゾンの転移よりも転移中間体の方が有害だろう。どのように転移中間体が除去されているのかは変異体での転移産物の構造を調べることで早晚明らかになることだろう。

Gasior SL, Roy-Engel AM, Deininger PL.

ERCC1/XPF limits L1 retrotransposition.

DNA Repair (Amst). 2008 Jun 1;7(6):983-9.

Stetson DB, Ko JS, Heidmann T, Medzhitov R.

Trex1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity.

Cell. 2008 Aug 22;134(4):587-98.

2008/12/18

小島 健司 著

禁 無断複写転載