

HDV 型リボザイムと Non-LTR retrotransposon

哺乳類の CPEB 遺伝子内に見つかったリボザイムは HDV リボザイムの仲間が普遍的に分布している可能性を示した（「41. 哺乳類で生まれたリボザイム? : CPEB3 リボザイム」参照）。Webb らは続く研究で二次構造に基づく検索によりゲノム中から HDV 型リボザイムの候補を多数発見した（Webb et al. 2009）。*in vitro* での切断解析により、真核生物 6 種、真正細菌 1 種、昆虫ウイルス 1 種において HDV 型リボザイムの活性を確認できた。一部はゲノム中に複数コピー存在していた。ガンビエハマダラカ *Anopheles gambiae* で切断活性が確認できた 2 つのリボザイム drz-Agam-1 と drm-Agam-2 のうち、drm-Agam-2 は RTE clade に属する non-LTR retrotransposon の 5' 末端に相当することも明らかとなった。

次に HDV 型リボザイムが見つかった non-LTR retrotransposon は R2 である。R2 は 28S ribosomal RNA 遺伝子に特異的に挿入される non-LTR retrotransposon である。この R2 の転写は上流の 28S ribosomal RNA の転写に依存していると考えられており、また R2 単独の RNA も検出されているが、28S-R2 cotranscript からどのようにして R2 単独の RNA が出来るのかは長年の謎であった。Eickbush らは T7 RNA polymerase を使った *in vitro* の解析によりオナジショウジョウバエ *Drosophila simulans* の R2 の 5' 末端 200bp ほどに自己切断活性があることを明らかにした（Eickbush and Eickbush 2010）。この切断に 28S ribosomal RNA の配列は必要ではない。この領域は二次構造予測で HDV リボザイムとよく似た構造をとる事が示唆された。活性部位周辺の 27 塩基中 21 塩基が両者で一致した。primer extension 実験により、*in vitro* での切断位置は *in vivo* の R2 RNA の 5' 末端に完全に一致する事が示された。他の *Drosophila* 4 種 (*D. yakuba*, *D. ananassae*, *D. pseudoobscura*, *D. falleni*) の 5' UTR でも高い相同性を持つ配列があり、かつ自己切断活性を持っている事が明らかとなった。また進化の過程で塩基対を作る塩基が共進化していることもわかった。従って少なくとも *Drosophila* 属内部においてはこの HDV 型リボザイムが淘汰圧を受けて維持されて来た事が明らかである。

Trypanosoma cruzi の non-LTR retrotransposon である L1Tc でも、5' 末端の 77nt が HDV 型リボザイムであることが示された（Sánchez-Luque et al. 2011）。このリボザイムの活性は、上流や下流の配列により抑制される。おそらくリボザイムにならない立体構造を誘導することによる。*Trypanosoma cruzi* では mRNA の大半は polycistronic に転写された RNA を *trans-splicing* することで出来る。L1Tc は *trans-splicing* されないことが知られており、どのように翻訳が制御されているのかが謎であった。切断後の L1Tc の mRNA の 5' 末端は水酸基が露出した形であり、5' cap を持たない。このことは、L1Tc の翻訳が通常とは異なる機構に

より制御されていることを示唆しており、著者らは、RNAase P による切断実験の結果に基づき internal ribosome entry site (IRES) が存在する可能性を指摘しているが、翻訳活性については検証していない。

HDV 型リボザイムは non-LTR retrotransposon の 5' 末端に広く存在しているらしい。Ruminski らは二次構造を元に解析し、HDV 型リボザイムが前述の RTE と R2 の 2 つのクレードで広く分布している事を示し、更に他にも R4、R1、LOA クレードの一部にもあることを明らかにした (Ruminski et al. 2011)。L1Tc/Ingi についてはおそらく検索上の制約のために検出できていない。これは L1Tc の 5' 末端が C であるのに、Ruminski らの解析では、5' 末端が G で始まるという制約をかけているためである。R2 の 5' 側に隣接する配列がもしリボザイム内部の配列と塩基対を形成できるような配列の場合には、リボザイムの立体構造が乱される事で切断効率が低下する。

Sánchez-Luque らの論文で指摘された HDV 型リボザイムが IRES の活性を持っている可能性も解析されている。R2 の HDV 型リボザイム部分は rabbit reticulocyte lysate でも *Drosophila* の培養細胞 S2 でも、下流に接続された luciferase の翻訳を促す事が証明された。従って少なくとも一部の non-LTR retrotransposon の HDV 型リボザイムは 5' 末端の切断活性と IRES としての翻訳開始活性の両方を持っている。多くの non-LTR retrotransposon の 5' UTR には内部プロモータも存在しているはずであり、5' UTR がどのようにして多機能を保持しつつ進化してきたのかは大変興味深い。また、構造的に複雑な HDV 型リボザイムがそれぞれ独立に進化して来たのか、non-LTR retrotransposon の共通祖先で獲得されたものが維持されて来たのか、あるいは異なるタイプの non-LTR retrotransposon が別の non-LTR retrotransposon が持つ HDV 型リボザイムを取り込む事で維持されて来たのか、についても今後の解析を待たねばならない。

Webb CH, Riccitelli NJ, Ruminski DJ, Lupták A.

Widespread occurrence of self-cleaving ribozymes.

Science. 2009 Nov 13;326(5955):953. doi: 10.1126/science.1178084.

PMID: 19965505 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

Eickbush DG, Eickbush TH.

R2 retrotransposons encode a self-cleaving ribozyme for processing from an rRNA cotranscript.

Mol Cell Biol. 2010 Jul;30(13):3142-50. doi: 10.1128/MCB.00300-10. Epub 2010 Apr 26.

PMID: 20421411 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

Sánchez-Luque FJ, López MC, Macias F, Alonso C, Thomas MC.

Identification of an hepatitis delta virus-like ribozyme at the mRNA 5'-end of the L1Tc retrotransposon from *Trypanosoma cruzi*.

Nucleic Acids Res. 2011 Oct;39(18):8065-77. doi: 10.1093/nar/gkr478. Epub 2011 Jun 30.

PMID: 21724615 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

Ruminski DJ, Webb CH, Riccitelli NJ, Lupták A.

Processing and translation initiation of non-long terminal repeat retrotransposons by hepatitis delta virus (HDV)-like self-cleaving ribozymes.

J Biol Chem. 2011 Dec 2;286(48):41286-95. doi: 10.1074/jbc.M111.297283. Epub 2011 Oct 12.

PMID: 21994949 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

2014/02/10

小島 健司 著

禁 無断複写転載