

レトロトランスポゾンからインテグラーゼを獲得した巨大転移因子：Polinton

Transib や *Helitron* を発見した Jurka の研究室がまたも新しい転移因子を報告している (Kapitonov and Jurka 2006)。その名も Polinton。Kapitonov らが Polinton を発見したきっかけは、Gao らが 2005 年に報告した c-integrase の論文という (Gao and Voytas 2005)。Gao らはこの論文で、レトロウイルスにも LTR レトロトランスポゾンにも含まれない新規のインテグラーゼを報告し、c-integrase (cellular integrase) と命名している。レトロエレメントのインテグラーゼは DNA トランスポゾンのトランスポザナーゼと近縁であるが、明らかに別のグループを構成する。LTR レトロトランスポゾンの Ty1/copia、Ty3/gypsy、BEL、の 3 つのグループとレトロウイルスがインテグラーゼを持っているが、c-integrase はこのどれとも特に近縁ではない別の単系統群を構成する。Gao らはこの c-integrase のグループに出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の Fob1、及び、織毛虫 *Tetrahymena thermophila* の Tlr を含めている。Fob1 は rDNA 内の RFB という配列上で replication fork の進行を阻害し、組み換えを促進する役割を持ち、rDNA のコピー数の調節に重要な機能を担っている (Kobayashi et al. 1998)。一方、Tlr は *Tetrahymena thermophila* の小核特異的な反復配列である (Gershan and Karrer 2000)。Fob1 と近縁なことから Gao らは c-integrase は細胞に必須の機能を担っているのではないかと考えた。命名にもその考えが反映されている。

しかし、Wuitschick らは Tlr は巨大な転移因子であるという報告をしている (Wuitschick et al. 2002)。Wuitschick らは Tlr の周辺の配列を決定し、Tlr が 22kb 程度の非常に長い反復配列で、Tlr の両末端に逆向きの反復配列が存在していることを見いだした。この両末端の逆向き反復配列の中には数十塩基程度の順向き反復配列が含まれている。これらの特徴は DNA トランスポゾンと共通するものであることから、彼らは Tlr が巨大な転移因子であり、c-integrase によって転移するというモデルを提示している。また、Tlr は c-integrase の他に複数の遺伝子をコードしている。その中には、Walker タイプの ATPase や SF1 ヘリカーゼがあった。また、Feschotte らは c-integrase が逆向き反復配列に挟まれていること、そして、この逆向き反復配列の外側に 6 塩基の target site duplication があることから、これを巨大な転移因子として、Maverick と命名した (Feschotte and Pritham 2005)。ただし、Gao らの論文で報告されている哺乳類の c-integrase についてはこの仲間ではないらしい。

Kapitonov らの論文 (Kapitonov and Jurka 2006) はこれらの解析の延長線上に位置づけられる。Kapitonov らは詳細な配列解析により、逆向き反復配列に挟まれた領域に 8-10 個の遺伝子が存在していることを示している。この逆向き反復配列に挟まれた領域が Polinton で、通常 15-20kb と巨大な転移因子である。この

中には、c-integraseに加えて、タンパク質をプライマーにして複製を行なう DNA 依存性 DNA ポリメラーゼ B (POLB)、アデノウイルスのものに近縁なシステインプロテアーゼ、そして ATPase が含まれている。c-integrase と ATPase は上述のように他にも報告されているが、興味深いのは、POLB である。POLB は各種のファージ、アデノウイルスや、植物や真菌類に分布する直鎖状プラスミドなどにコードされている。最尤法（と書いてあるが実際にはベイズ法）を用いた系統解析により、Kapitonov らは Polinton を 2 つのグループ (POLB1、POLB2) に分類している。それぞれのグループは単系統だが、Polinton 全体の単系統性は支持されていない。Polinton の POLB1 グループには、ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)、ツメガエル (*Xenopus tropicalis*)、イソギンチャク (*Nematostella vectensis*)、ゴミムシダマシ (*Tribolium castaneum*)、ムラサキウニ (*Strongylocentrotus purpuratus*) の Polinton が含まれる。POLB は N 末側のエクソヌクレアーゼドメインと、C 末側のポリメラーゼドメインの 2 つのドメインから構成されるが、POLB1 は両ドメインの間に 145 アミノ酸程度の挿入配列があることでも共通する。この挿入配列は、very-short-patch DNA repair endonuclease (VSR) と十分な相同性が認められる。VSR は G:T ミスマッチによる塩基除去修復の開始に重要なタンパク質である。一方、Polinton の POLB2 グループには、トリコモナス (*Trichomonas vaginalis*)、エントアメーバ (*Entamoeba invadens*)、ゴミムシダマシ (*Tribolium castaneum*)、ヤクバシヨウジョウバエ (*Drosophila yakuba*)、真菌 (*Glomus intraradices*)、線虫 (*Caenorhabditis briggsae*) の Polinton が含まれる。この内、トリコモナスとエントアメーバの POLB では、やはり 2 つのドメインの間に 140 アミノ酸程度の挿入配列がある。しかし、この配列は POLB1 の挿入配列とは似ておらず、HNH ヌクレアーゼに類似している。一方、他の POLB2 グループのメンバーはこの挿入配列を持っていない。挿入配列を持たない Polinton はカイコに感染する *Bombyx mori* denonucleosis virus type 2 (BmDENV-2) の POLB と単系統群を形成する。このことから、私見では POLB2 グループは更に 2 つのグループ、HNH ヌクレアーゼを挿入配列に持つグループ（ここでは POLB2A と表記）と持たないグループ（同 POLB2B）、に分類すべきであろう。トリコモナスとエントアメーバの Polinton (POLB2A) は POLB1 グループの ATPase とは類似性が認められない ATPase を 2 つ持ち、PTV6 と名付けられた遺伝子をコードするなどの共有点も持っている。従って POLB1 グループと POLB2B グループの相同遺伝子は、c-integrase と POLB の 2 つだけである。それに比べ、POLB2B に属する線虫の Polinton は POLB1 と c-integrase、POLB、ATPase、cysteine protease 及び機能未知遺伝子 PY を共有している。

発見の経緯からもわかるように、Polinton は c-integrase によりゲノム中に挿入されると考えられる。Gao らは Fob1 と Tlr、哺乳類のものを除く c-integrase では

C 末に chromodomain が存在することを示している (Gao and Voytas 2005) 。 chromodomain は DNA 結合ドメインであり、興味深いことに、Ty3/gypsy グループの LTR レトロトランスポゾンの一部がやはりインテグラーゼの C 末側に chromodomain を持っている。Polinton の両末端は、5'-AG かつ CT-3' となっている。LTR レトロトランスポゾンの 1 グループ Ty3/gypsy でも両末端は、5'-AG、YT-3' となっているから、Polinton の両末端の配列も c-integrase による挿入機構を支持する。また、target site duplication は全て 6 塩基で統一されている。これらの点から Kapitonov らは Polinton の転移複製機構のモデルを提示している。Polinton はゲノムの複製に際して、両末端の反復配列がアニールしてフライパン構造をとり、integrase によって 1 本鎖の形でゲノムから切り出される。切り出された Polinton は POLB によって POLB 自身をプライマーに複製される。複製されて 2 本鎖となった Polinton は integrase によってゲノム中に挿入される。このモデルでは、転移は複製を伴うため、Polinton は元の位置と新しい位置の 2 カ所に増えることができる。このモデルの是非は今後の解析を待つほかない。

POLB の系統樹では、原核性の因子 (ファージ、ミトコンドリアの直鎖状プラスミド) と真核性の因子 (Polinton、アデノウイルス、BmDENV-2、細胞質の直鎖状プラスミド) とが分かれているが、それぞれのグループ間の系統関係は不明瞭である。一方、インテグラーゼの系統樹では、c-integrase (Polinton) は Ty1/copia、Ty3/gypsy/retrovirus、BEL とは独立した単系統群を構成するが、DNA トランスポゾンのトランスポザラーゼよりはレトロエレメントのインテグラーゼに近い。Polinton のインテグラーゼは LTR レトロトランスポゾンの一系統、おそらく Ty3/gypsy に近い系統、から比較的古い時期に獲得されたと考えられる。LTR レトロトランスポゾンは真核生物にしか分布しないので、この獲得が真核生物で起こったことは確かである。そして、細胞外に出るためのタンパク質が見つからないところから、Polinton の祖先は直鎖状プラスミドであった可能性が高い。原核生物のプラスミドやファージのチロシンリコンビナーゼ同様、インテグラーゼを獲得することによって Polinton の祖先の直鎖状プラスミドはゲノム中に挿入して維持されるようになったのだろう。

最後にコメントが必要と思われるが、Gao らによって命名された c-integrase は現時点の知見を基に、3 つ以上のグループに分類するのが妥当と思われる。必須遺伝子である Fob1、転移因子である Polinton、そして機能未知の哺乳類の c-integrase である。Tlr を含む Polinton は単系統性が支持されているが、*Dictyostelium discoideum* の c-integrase は系統的にやや離れているのでこれも Polinton であるかどうかは定かではない。Tlr もインテグラーゼと Walker タイプの ATPase を Polinton と共有するが、POLB が見つからず代わりに SF1 ヘリカーゼをコードするなど相違点がある。Tlr に POLB が見つかるのかどうかは今後の

解析を待たねばならない。そして、c-integrase と LTR レトロトランスポゾンとの系統関係のみならず、これらのグループ同士の系統関係を明確にすることが、Polinton の起源を知る上でも不可欠であろう。

Kapitonov VV, Jurka J.

Self-synthesizing DNA transposons in eukaryotes.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 21;103(12):4540-4545.

Gao X, Voytas DF.

A eukaryotic gene family related to retroelement integrases.

Trends Genet. 2005 Mar;21(3):133-137.

Kobayashi T, Heck DJ, Nomura M, Horiuchi T.

Expansion and contraction of ribosomal DNA repeats in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement of replication fork blocking (Fob1) protein and the role of RNA polymerase I.

Genes Dev. 1998 Dec 15;12(24):3821-3830.

Gershan JA, Karrer KM.

A family of developmentally excised DNA elements in *Tetrahymena* is under selective pressure to maintain an open reading frame encoding an integrase-like protein.

Nucleic Acids Res. 2000 Nov 1;28(21):4105-4112.

Wuitschick JD, Gershan JA, Lochowicz AJ, Li S, Karrer KM.

A novel family of mobile genetic elements is limited to the germline genome in *Tetrahymena thermophila*.

Nucleic Acids Res. 2002 Jun 1;30(11):2524-2537.

Feschotte C, Pritham EJ.

Non-mammalian c-integrases are encoded by giant transposable elements.

Trends Genet. 2005 Oct;21(10):551-552.

2006/04/12

小島 健司 著
禁 無断複写転載