

原核生物のテロメラーゼ : protelomerase

線状染色体は末端の複製に問題を抱えている。すなわち末端複製問題(end replication problem)。プライマーを使わずに DNA の 5'末端を複製することはどの生物の DNA ポリメラーゼでも不可能である。この問題の一つの解決法は我々真核生物が使っているテロメア反復配列である。テロメア反復配列の 5'末端は失われても問題ない。このテロメア反復配列を合成するには、鋳型を滑りやすい逆転写酵素と鋳型 RNA の組み合わせ、すなわち、テロメラーゼが用いられる。

原核生物にも線状のゲノムを持つものがある。例えば、スピロヘータの仲間 *Borrelia burgdorferi* であり、放線菌の仲間 *Streptomyces coelicolor* A3(2)である。この 2 者では全く異なるテロメア構造を持っている。*Borrelia burgdorferi* では、5'末端と 3'末端とが共有結合してヘアピン構造を採っている。言い換えれば、全ての塩基が相補対を作る環状一本鎖 DNA である。一方、*Streptomyces coelicolor* A3(2)では、タンパク質が 5'末端に結合している。また、プラスミドやファージにも線状ゲノムを持つものがある。大腸菌に感染するコリファージ (coliphage) N15 は菌内で線状プラスミドの形態をとる。

N15 ファージはファージとしては λ ファージの仲間によく似ており、多数の共通する遺伝子をコードしている。一方で、 λ ファージがゲノムに組み込まれて菌内で維持されるのに対して、N15 ファージはゲノムとは独立した線状 DNA、プラスミドとして維持される。プラスミドとしての維持に関わる遺伝子とファージの機能に関わる遺伝子とは異なるクラスターを形成しており、ファージの機能遺伝子を失っても N15 ファージはプラスミドとして増殖することができる。おそらく、N15 ファージは線状プラスミドと λ 様ファージとが融合した由来を持つのであろう。全長 46.3kb の内、プラスミドの維持に必要な領域はたった 5.2kb であり、線状ゲノムの両端にまたがった形で存在している。ここには、DNA 複製に必要な *repA* 遺伝子、細胞分裂時に両娘細胞に分かれるための *parA/B* 遺伝子、線状 DNA の形成に必要な *telN* 遺伝子、そして DNA 末端の特異な反復配列が含まれている。DNA 末端は 56 塩基の長いパ lindロームを形成しているが、テロメア間で数塩基の違いが見られる。

telN 遺伝子産物 TelN は 630 アミノ酸のタンパク質で、前半 2/3 ほどがチロシンリコンビナーゼとある程度の類似性を示す (Rybchin et al. 1999)。このタンパク質はテロメアの特異な 5'末端-3'末端共有結合を作る機能を持つ (Deneke et al. 2000)。このことから、このタンパク質は protelomerase (prokaryotic telomerase or protein telomerase) と命名されている。もちろん、真核生物のテロメラーゼとは構造的にも生化学的にも全く関連はない。

Huang らの詳細な解析 (Huang et al. 2004) によれば、TelN や近縁な TelK (*Klebsiella* phage ϕ KO2 の protelomerase) は溶液中では単量体として存在するが、逆位の反復配列である標的 DNA 上では二量体として、対称的に結合する。まず protelomerase は、対称の中心から 5' 側に 3 塩基離れた位置を切断する。従って、切断された DNA は 6 塩基の 5' 突出となる。その際、DNA の 3' 末端はリン酸基を通して protelomerase と結合している。5' 末端には OH 基が露出する。続いて、protelomerase と結合した 3' 末端は他方の protelomerase が切断した DNA の 5' 末端と再結合される。これにより、DNA が線状となり、かつ、5' 末端と 3' 末端が共有結合したヘアピン構造をとる。protelomerase は他に ATP や cofactor を要求せず、単独でこの組み換え反応を行なうことができる。反応中間体として DNA とタンパク質が結合するのは、チロシンリコンビナーゼやトポイソメラーゼ IB を含むタンパク質グループの特徴であり、上述の配列上の類似性を裏付けるものである。

N15 ファージは、 ϕ KO2 ファージや *Yersinia* の線状プラスミド PY54 と近縁である。また、これらの線状プラスミドの protelomerase は *Borrelia burgdorferi* でヘアピンテロメア形成を触媒する ResT (resolvase of telomeres) と 22% の相同性を持っている。

ライム病の病原体である *Borrelia burgdorferi* の菌内には 1 本の線状染色体と 12 本以上の線状プラスミド、9 本の環状プラスミドが存在する。線状染色体と線状プラスミドは全て似たテロメアを持っており、やはりパンドロームの形になっている。ResT は興味深いことに線状染色体や線状プラスミドには乗っておらず、環状プラスミド cp26 上にコードされている。他のプラスミドが失われた系統は知られているが、cp26 が失われた系統は知られておらず、おそらく ResT が必須遺伝子であるため維持されているのだろう。ResT も TelN と同様に対称の中心から 5' 側に 3 塩基離れた位置を切断し、6 塩基の 5' 突出を形成する (Kobryn and Chaconas 2002)。また、反応中間体として活性残基のチロシンがリン酸基を通じて DNA の 3' 末端と結合していることも明らかとなった (Deneke et al. 2004)。また、ResT と TelN を含む、protelomerase あるいは telomere resolvase と呼ばれるグループには、チロシンリコンビナーゼやトポイソメラーゼと異なった保存残基があることも明らかになり、そのほとんどは活性に必須であった (Deneke et al. 2004)。

N15 ファージや *Borrelia burgdorferi* の線状 DNA は通常の環状 DNA の複製のように一つの複製起点から両方向に始まる。複製を終えた時には、頭と頭、尾と尾が向き合った二量体環状 DNA が生成される。protelomerase により、2 カ所のパンドローム配列においてヘアピン化されることで、2 本の線状 DNA が合成される。複製そのものは環状染色体の複製の場合と同じ機構によって起こる

ので、protelomerase 一つあれば、環状染色体から線状染色体への変換が起こり得る。他のスピロヘータ類のゲノムは環状 DNA なので、*Borrelia* の線状ゲノムは protelomerase を持つ線状プラスミドとの組み換えによって生じたのかも知れない。

Rybchin VN, Svarchevsky AN.

The plasmid prophage N15: a linear DNA with covalently closed ends.

Mol Microbiol. 1999 Sep;33(5):895-903. Review.

Deneke J, Ziegelin G, Lurz R, Lanka E.

The protelomerase of temperate *Escherichia coli* phage N15 has cleaving-joining activity.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Jul 5;97(14):7721-7726.

Huang WM, Joss L, Hsieh T, Casjens S.

Protelomerase uses a topoisomerase IB/Y-recombinase type mechanism to generate DNA hairpin ends.

J Mol Biol. 2004 Mar 12;337(1):77-92.

Kobryn K, Chaconas G.

ResT, a telomere resolvase encoded by the Lyme disease spirochete.

Mol Cell. 2002 Jan;9(1):195-201.

Deneke J, Burgin AB, Wilson SL, Chaconas G.

Catalytic residues of the telomere resolvase ResT: a pattern similar to, but distinct from, tyrosine recombinases and type IB topoisomerases.

J Biol Chem. 2004 Dec 17;279(51):53699-53706.

2006/06/29

小島 健司 著

禁 無断複写転載