

レトロエレメントのマイナーグループ：Retroplasmid

菌類のミトコンドリアには逆転写酵素をコードしたプラスミドが存在する。これらはレトロプラスミドと呼ばれるレトロエレメントのグループであり、知られている種類は非常に少ないが、大変興味深いグループである。レトロプラスミドは環状レトロプラスミドと線状レトロプラスミドに分けられる。環状レトロプラスミドにはアカパンカビ *Neurospora crassa* の Mauriceville plasmid と近縁種 *N. intermedia* の Varkud plasmid、*Trichoderma harzianum* (*Hypocrea lixii*) の pThr1 が含まれ、線状レトロプラスミドには、*Fusarium oxysporum* の pFOXC1~3 と *Epichloe typhina* の Et2.0L、*Rhizoctonia solani* の pRS224 が含まれる。これで知られている全てである。これらレトロプラスミドは逆転写酵素をコードする 1 つの ORF だけを持ち、他には蛋白質をコードしていないため、2kb から 4kb 程度と小さい。

環状レトロプラスミドは構造上、カリフラワーモザイクウイルスや B 型肝炎ウイルスなどの環状のウイルスと類似性がある。これらも逆転写酵素をコードするが、系統上これらのウイルスは LTR レトロトランスポゾンやレトロウイルスに近く、環状レトロプラスミドとの血縁は遠い。

環状レトロプラスミドはローリングサークル型の転写を行なう。結果、RNA はコンカテマーになるが、切断されてモノマーになる。切断される位置の 5' 側（切断後の 3' 末端）には tRNA 様の RNA 二次構造がある。逆転写は 3' 末端から数えて 2 塩基目からプライマーなしに始まり (Wang and Lambowitz 1993)、終わりまで行くと反対側の鎖が合成され、環状化される。プライマーなしに DNA 合成を開始できるというのは他の逆転写酵素では知られていない特徴である。RNA ポリメラーゼはプライマーを必要としないが、他の全ての DNA ポリメラーゼはプライマーを必要とする。逆転写酵素 (RNA 依存性 DNA ポリメラーゼ) は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼから進化したと考えられるので、これは、環状レトロプラスミドの逆転写酵素が非常に原始的な特徴を保持していることを示している。調べられているのは逆転写開始の特徴のみで、残念ながらその先の情報はほとんど無い。著者の憶測になるが、最初の RNA の切断には、RNA 自身の持つリボザイムが働くらしい。このリボザイムは Varkud リボザイムと呼ばれ、知られているリボザイムの中では最も大きなものの一つである。一方、3 末端の 1 塩基が付加される機構も不明だが、tRNA の 3 末端に CCA を付加する tRNA ヌクレオチヂルトランスフェラーゼを流用しているのではないか。これも著者の憶測である。

一方、線状レトロプラスミドの構造は別に意味で進化的に興味深い。線状レトロプラスミドはどれも小さく 2kb 前後の大きさで中に 400 アミノ酸ほどの逆

転写酵素をコードしている。線状の DNA には末端複製問題がついて回る。DNA の複製をつかさどる DNA 依存性 DNA ポリメラーゼはプライマーがないと DNA を合成できない。プライマーはプライマーゼと呼ばれる RNA ポリメラーゼが合成するが、プライマーは DNA 合成後には分解されてしまうため、線状の DNA の 5' 末端は少しずつ短くなる。これが末端複製問題である。真核生物の染色体は全て線状 DNA であり、これに対処するために特殊な逆転写酵素であるテロメラーゼが RNA を鋳型に染色体の 3' 末端に反復配列を付加する。線状レトロプラスミドはこれに類似した方法で末端複製問題を克服している。線状レトロプラスミドの構造は、洗濯ばさみ (clothespin) 構造と名づけられている (Walther and Kennell 1999)。片方の末端はヘアピン構造になっている。つまり、DNA の 5' 末端と 3' 末端が共有結合している。一方、反対側の末端には、短い反復配列が存在している。これは FOXC2 では、3' 末端が ATCTA-3' であり、もちろん 5' 末端は 5' -TAGAT になっている。この 5 塩基を逆転写の過程でスリップさせて数を増やすというのが線状レトロプラスミドの末端複製問題回避法らしい (Simpson et al. 2004)。

まず、線状レトロプラスミドは蛋白質をコードしている側の鎖 (+鎖) の途中からヘアピンを經由して蛋白質をコードしていない側の鎖 (-鎖) を転写する。このため、DNA の長さよりも少し長い RNA が合成される。この RNA から逆転写酵素が合成され、同時に逆転写の鋳型にもなる。ここからはモデルである。逆転写には鋳型とプライマーが必要なのだが、このプライマーとして鋳型となる RNA の 3' 末端を利用する。AUCUA 側の鎖が自分自身と塩基対を形成して、その 3' 末端から AUCUA 側の鎖を鋳型に TAGAT を合成する。これがスリップして再び TAGAT を合成する。このスリップは non-LTR レトロトランスポゾンの逆転写開始の際にも認められる。このようにして逆転写の最初の段階で反復配列の水増しを行ない、末端複製問題を回避する。RNA は +鎖の途中まで含んでいるので、そこまで逆転写を行うと、鋳型をすでに合成した -鎖に切り替えて全長を合成する。このようにして、線状レトロプラスミド全長が複製される。逆転写の際に、3' 末端が自分自身で塩基対形成をするため、スリップをしないと末端は短くなる。しかし問題はそれ以前にもあって、それは RNA の転写が DNA の末端まで正しく進まないことである。反復配列の途中で止まる RNA が多いため、この理由でも末端が短くなってしまふ。末端の反復配列のスリップによる末端複製問題の回避はテロメラーゼによる真核生物染色体の場合と同じといえる。ただし、真核生物のテロメラーゼは 3' 末端を伸長するのに対して、線状レトロプラスミドでは 5' 末端を伸長している点に違いがある。このため、線状レトロプラスミドがテロメラーゼの起源であるとは考えにくい、関連性をうかがわせる機構ではある。

レトロプラスミドは糸状菌のミトコンドリアでしか見つかっていないが、レトロン、グループ II イントロンなどとともに原核生物性のレトロエレメントの一翼を担っている。レトロエレメントの深い系統関係は明らかでなく、今後明らかになってくれば、その興味深い特徴がどのようにして生じたのかが明らかになるだろう。

Wang H, Lambowitz AM.

The Mauriceville plasmid reverse transcriptase can initiate cDNA synthesis de novo and may be related to reverse transcriptase and DNA polymerase progenitor.

Cell. 1993 Dec 17;75(6):1071-81.

Walther TC, Kennell JC.

Linear mitochondrial plasmids of *F. oxysporum* are novel, telomere-like retroelements.

Mol Cell. 1999 Aug;4(2):229-38.

Simpson EB, Ross SL, Marchetti SE, Kennell JC.

Relaxed primer specificity associated with reverse transcriptases encoded by the pFOXC retroplasmids of *Fusarium oxysporum*.

Eukaryot Cell. 2004 Dec;3(6):1589-600.

2005/10/07

小島 健司 著
禁 無断複写転載