

成熟は他人任せ：RIR-3 と nMat

グループIIイントロンは自身のRNAを切り出す活性を持つリボザイムである。しかし、グループIイントロンがRNA単独でも高い効率でスプライシングを触媒出来るのに対して、グループIIイントロンは単独ではほとんどスプライシングを触媒することは出来ない。細胞内環境では、グループIIイントロンのスプライシングは、内部にコードされた成熟酵素(maturase)の働きがあって初めて可能となる。maturaseはリボザイムRNAの構造を維持しスプライシングを助ける働きを持ち、Xドメインと呼ばれる領域がその機能を担っていると考えられている。maturaseはXドメインの前方に逆転写酵素を、後方にH-N-Hタイプのエンドヌクレアーゼをコードする多機能タンパク質である。

ところがグループIIイントロンには、maturaseをコードしないものも多数見つかってきている。とりわけ、ミトコンドリアや色素体に乗っているイントロンではその比率が高い。例えばシロイヌナズナでは、22個のミトコンドリアグループIIイントロンの内の1つ(*nad1-I4: matR*)と26個の色素体イントロンの1個(*trnK-I1: matK*)だけしかmaturaseをコードしていない。しかも、これらのイントロンは必須遺伝子の中に挿入されており、生物の正常な発生にはスプライシングが不可欠である。それでは、これらのmaturaseを持たないイントロンはどのようにしてスプライシングされているのだろうか。

まず考えられるのは、1つのイントロンのコードするmaturaseが他のイントロンのスプライシングをも助けている可能性である。matKではそのような可能性が示唆されているが、未だに実験的な証拠は出ていない。しかし、2003年にバクテリアでmaturaseが*trans*に作用する例が報告されているのでmatKが*trans*に他のイントロンのスプライシングを制御している可能性は高いと考えられる(Meng et al. 2003)。

シアノバクテリア(藍藻)の一種*Trichodesmium erythraeum*のRIR(ribonucleotide reductase)遺伝子には2つのイントロン(RIR-2, RIR-3)が挿入されている。Mengらがこれに近縁なイントロンを探索したところ、*dnaN*(DNA polymerase III β subunit)に4つ(*dnaN-1, dnaN-2, dnaN-3, dnaN-4*)挿入されていた。これらの6本のイントロンの配列は互いによく似ており、リボザイム活性に必要なコア領域約680ntでは75-85%の相同性があった。にも関わらず、RIR-3だけがmaturaseをコードしており、他ではmaturaseの残骸が観察されるだけだった。著者らがこれら6本のイントロンを大腸菌にプラスミドの形で導入し、スプライシングが起こるかどうかを観察したところ、RIR-3だけがスプライシングを起こすことが示された。他のイントロンは単独ではスプライシングが出来ないが、RIR-3のmaturaseと一緒に導入してやった場合には非常に効率的にスプライシングされ

た。この結果は、maturase が自身をコードするイントロンのスプライシングを *cis* に助ける以外に、配列の相同性が高い他のイントロンのスプライシングを *trans* に補助する能力を持っていることを示している。

イントロンの持つ maturase ではなく、イントロンと独立した maturase が遺伝子としてコードされている可能性も考えられる。Mohr らはシロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* とイネ *Oryza sativa* の核ゲノムに 2 グループの逆転写酵素遺伝子を発見し、nMat-1、nMat-2 と命名した (Mohr and Lambowitz 2003)。これまで核ゲノムにグループ II イントロンがコードされているという報告はない。nMat-1 は逆転写酵素の後ろに X ドメインをコードしており、最も近縁な逆転写酵素はゼニゴケ *Marchantia polymorpha* のミトコンドリアゲノムに乗っているグループ II イントロン、*coxII-I2* (cytochrome oxidase II intron 2) であった。ただし、nMat-1 では活性残基に変異が入っており、逆転写酵素活性は持っていないことが明らかである。nMat-2 は逆転写酵素と X ドメインに加えてその後ろに H-N-H タイプのエンドヌクレアーゼドメインを持っている。nMat-2 では活性残基に変異は入っていなかった。このように maturase と非常によく似た構造を持ちながら、どちらの逆転写酵素遺伝子の周囲にもグループ II イントロンのモチーフは観察されなかった。nMat-1 と nMat-2 は近縁ではなく、それぞれコケから被子植物に至る進化の途中でミトコンドリアから核へ移行したと考えられる。また、シロイヌナズナとイネの分岐前かつ核への移行後にゲノムの倍加が起こったため、nMat-1 も nMat-2 もパラログ (nMat-1a/nMat-1b, nMat-2a/nMat-2b) が存在する。

この内、nMat-1a の機能が、実験的に明らかにされた (Nakagawa and Sakurai 2006)。Nakagawa らは、cellulose synthesis inhibitor に感受性のシロイヌナズナの変異体 *css1* の原因遺伝子が nMat-1a であることを連鎖解析によって決定した。*css1* では、セルロース合成だけではなく、デンプン合成、ストレス耐性、糖添加に対する応答、脂質代謝、アラニンの蓄積など様々な異常が生じている。この変異体の nMat-1a では、C から T への変異によってグルタミンコドンが終止コドンに変化し、nMat-1a の C 末端 93 残基が失われる。nMat-1a の C 末 93 アミノ酸は X ドメインよりも後ろに相当するが、シロイヌナズナとイネの合計 4 つのパラログで高度に保存されている。nMat-1a の全長を含んだ DNA を *Agrobacterium* を用いて *css1* 個体に導入してやると表現型の回復が見られることから nMat-1a が *css1* の原因遺伝子であることは確かである。著者らは *css1* では、nMat-1a の転写量が激減すること、そして、変異によって *nad4* と *rps3*、*rpl2* のスプライシング量に変化が生じることを明らかにしている。一方、*cox2* のスプライシングに変化は見られず、イントロンを持たない *nad6* でも mRNA 量に変化は認められない。以上の結果からは、nMat-1a が *nad4* を含む複数のグループ II

イントロンのスプライシングを *trans* に制御していることがうかがえる。変異体 *css1* でもパラログの *nMat-1b* はあるはずだが相補されていないところから考えると、他のイントロンのスプライシングを制御しているのかもしれない。

真核生物のスプライシング機構では、触媒活性を担う RNA はスプライソソームへ移行し、イントロンは基質としての役割しか持たない。そしてリボザイムたる U RNA 群は Sm タンパク質などのタンパク質の助けを借りて立体構造を維持している。上記に見たような maturase を持たないグループ II イントロンのスプライシングでは、リボザイム活性こそイントロンに残っているが、その活性を補佐するタンパク質 maturase は他のイントロンや核ゲノムへと移行してしまっている。もちろん、ミトコンドリアや色素体に現在見られるグループ II イントロンは、核のイントロンとは別物である。しかし、真核生物のスプライソソームの進化を理解する上でも、並行してイントロンの単純化が進んでいるグループ II イントロンの研究の発展を期待したい。

Meng Q, Wang Y, Liu XQ.

An intron-encoded protein assists RNA splicing of multiple similar introns of different bacterial genes.
J Biol Chem. 2005 Oct 21;280(42):35085-8.

Mohr G, Lambowitz AM.

Putative proteins related to group II intron reverse transcriptase/maturases are encoded by nuclear genes in higher plants.
Nucleic Acids Res. 2003 Jan 15;31(2):647-52.

Nakagawa N, Sakurai N.

A mutation in *At-nMat1a*, which encodes a nuclear gene having high similarity to group II intron maturase, causes impaired splicing of mitochondrial NAD4 transcript and altered carbon metabolism in *Arabidopsis thaliana*.
Plant Cell Physiol. 2006 Jun;47(6):772-83.

2007/01/12

小島 健司 著
禁 無断複写転載