

## アイはカーゴに載って

*Drosophila* 属のショウジョウバエでは、I-R hybrid dysgenesis と呼ばれる現象が知られている。I-R hybrid dysgenesis とは、I (Inducer) 系統のオスと R (Reactive) 系統のメスを掛け合わせて生まれた娘 (Sterile Female, SF) の産む卵がほとんど孵らない現象である。この現象は、I factor と呼ばれる non-LTR retrotransposon が原因で起こる。すなわち、活性を持った I factor を持つ I 系統のオスと、不活性な I factor しか持たない R 系統のメスの子供の卵では、父親由来の I factor が抑制を解かれて転移することで多くの卵が致死となる。ちなみに逆に I 系統のメスと R 系統のオスの間の娘の子供は正常に発生する。

死んでしまっても元も子も無いが、生殖細胞系列でしか転移しないという性質は non-LTR retrotransposon の生存に有利な特性である。体細胞での転移はいたずらに変異を引き起こすだけで子孫繁栄にはつながらない。

I factor は non-LTR retrotransposon なので、タンパク質と一緒に RNA が核の中に移動しなければならない。I factor は ORF1p と ORF2p と呼ばれる 2 種類のタンパク質をコードしているが、この内、ORF1p が RNA が核内に入るのに重要であることが示された (Seleme et al. 2005)。

昆虫では、卵細胞の周囲には哺育細胞 (nurse cell) と呼ばれる細胞が存在し、栄養や RNA、タンパク質を卵細胞へ供給する。Seleme らの観察結果によると、哺育細胞で作られた I factor の ORF1p は卵形成 (oogenesis) の初期に卵細胞の細胞質に運ばれ、中期まで卵細胞の後部に蓄積した。中期に ORF1p は卵細胞の前方に移動し、局在する。I factor の RNA も同様の挙動を示した。彼女らはこの局在パターンを Loc+ と表現している。ORF2p が翻訳されないような変異を加えても ORF1p と RNA の局在に変化は見られなかった。しかし、ORF2 の内部を欠失させる実験から、ORF2 の内部 552nt の領域を欠失させると Loc+ の局在パターンは観察されず、細胞質の全体に散在するように変化した。この 552nt の領域は、逆転写酵素ドメインのコード領域に相当する。この 552nt の配列を *lacZ* の RNA に接続すると、*lacZ* が Loc+ 型の局在を示したところから、この 552nt の RNA は Loc+ の局在に十分であることがわかる。

ORF1 内部の配列を欠失させた系統を I 系統の代わりに用いると、ORF1p は哺育細胞から卵細胞へほとんど移動せず、また、前方への局在も認められなかった。同様に、RNA もわずかに前方に局在するものが見られるほかは ORF1p と同様の挙動を示した。一方、ORF1 内部の配列を欠失させた I factor の配列と I factor の ORF1p だけをコードする配列とを持つ系統を利用すると、Loc+ の局在が復活した。ここから、ORF1p は自身をコードする RNA の局在だけではなく、別の RNA 分子の局在にも寄与することがわかる。

I factor の ORF1p と RNA の局在の変化は、微小管の極性の変化と連動しているように見える。初期発生 of 軸形成に大きな役割を果たす *bicoid* や *gurken* の RNA も I factor と似た局在パターンを示す。ここからは、I factor の RNA は *bicoid* や *gurken* と同様に微小管の極性の変化とダイニンなどのモータータンパク質によって移動しているのではないかという仮説が成立する。ダイニンは微小管上をマイナス末端に向かって移動するモータータンパク質であり、*bicoid* や *gurken* の RNA はダイニンの運ぶカーゴに乗って移動することが知られている。この仮説における ORF1p の役割は、RNA が正しい二次構造を取り、局在シグナルを提示できるようにすることである。そしてこの仮説を検証したのが、続く Van De Bor らの論文である (Van De Bor et al. 2005)。

Van De Bor らは I factor の Loc+型局在の *cis* シグナルとなる 552nt の配列から責任配列を更に縮めて、288nt で十分であることを卵への RNA 注射実験から明らかにした。続いて、二次構造予測プログラム mfold でこの領域に 2 つの stem-loop が予測されたので、それぞれを削った RNA を注射し、彼らが ILS (I factor localization signal) と名付けた 58nt の構造が重要であることを示している。同様に、*gurken* について局在に必要な配列を 400nt から 170nt に縮め、I factor と同様の解析で 64nt の stem-loop が予想される配列、GLS (*gurken* localization signal) が局在に重要であることを明らかにした。この領域は、幅広い *Drosophila* の種で保存されており、*D. melanogaster* の *gurken* は *D. virilis* の卵でも正しい局在を示す。*gurken* はまず、前後軸、その後に背腹軸の形成に働く遺伝子である。*gurken* の RNA は最初前後に張られた微小管上をダイニンに乗ってマイナス端へ移動し、前方に到着すると背腹軸に沿って張られた別の微小管のマイナス端へと向かうことで最終的に背側前方に移動すると考えられている。

ILS と GLS とは塩基配列上はたった 34% しか相同でない (注: 塩基配列では完全なランダムでも  $1/4=25\%$  は相同となる) が、予測される二次構造は互いに良く似ている。ここから、I factor の RNA は *gurken* の RNA 同様にダイニンと微小管によって移動していると考えられる。まず、I factor と *gurken* の RNA の局在を詳細に観察すると、卵形成の stage 6 から 7 では卵細胞の前部先端に局在していた。stage 9 になると、核のそばの背側前方にほとんどの *gurken* の RNA は移動し三日月状に見えるが、一部前方にリング状に残っていた。I factor の RNA も背側前方に三日月状に見えるが、*gurken* よりも前方のリングがはっきりしており、*bicoid* の局在ととても良く似ている。stage 10 では、*gurken* は完全に背側前方の三日月に限定され、I factor は前方でも各周辺でも分散し、*bicoid* は前方リングに集中する。I factor の RNA の一部は核内に移動しているらしい。

微小管を破壊する colcemid や抗ダイニン重鎖抗体を加えて ILS あるいは GLS の RNA の局在を観察すると、どちらも正しく局在しなくなっていた。更に、

*gurken* の RNA が転写されない *grk<sup>2B6</sup>* という株で同様の観察をして、内在性の *gurken* の RNA の関与を除外した。また、過剰量の非ラベル *gurken* RNA を加えらうラベルした *gurken* RNA が局在しなくなるという競合実験系を確立し、非ラベル GLS を過剰量加えらうラベルした *gurken* の RNA の局在が阻害されることを確認した。

*squid* 変異体では、GLS の RNA も ILS の RNA も、前方には局在するが、背側前方への局在にはならなかった。この特徴は *gurken* の全長 RNA と同じである。ILS や GLS を GFP と融合させた場合には、stage 9 で背側前方への局在は見られたが、stage 10 ではほとんど認められなかった。

以上のように I factor の RNA は微小管とダイニンによって輸送され、*gurken* の RNA と競合する。ならば、I factor の RNA が大量に転写される SF の卵では *gurken* の RNA の局在が乱れているのではないだろうか。実際、Van De Bor らの解析では、*gurken* の RNA がより分散していることが確認された。また、*bicoid* の RNA に関しても局在が弱まっていた。対して、*oskar* の RNA の局在には影響は見られなかった。更に、SF の産んだ胚では弱く腹側化しており、卵殻突起 (dorsal appendages) が短くしばしば融合していた。この発生異常は、*bicoid* と *gurken* の RNA の局在異常によって説明が付く。これは I-R hybrid dysgenesis について非常に興味深い可能性を提示している。これまで I-R hybrid dysgenesis は活性化された I factor の転移によってゲノム上に異常が生じることで胚致死が起こると考えられてきた。しかし、Van De Bor らの結果からは、転写活性の上昇した I factor の RNA によって *bicoid* や *gurken* などの発生に重要な遺伝子の局在が乱されることで胚致死が生じる可能性を見ることができる。

Seleme MC, Disson O, Robin S, Brun C, Teninges D, Bucheton A.

In vivo RNA localization of I factor, a non-LTR retrotransposon, requires a cis-acting signal in ORF2 and ORF1 protein.

Nucleic Acids Res. 2005 Feb 1;33(2):776-85.

Van De Bor V, Hartswood E, Jones C, Finnegan D, Davis I.

*gurken* and the I factor retrotransposon RNAs share common localization signals and machinery.

Dev Cell. 2005 Jul;9(1):51-62.

2007/03/08

小島 健司 著  
禁 無断複写転載