

non-LTR レトロトランスポゾンによる DNA 修復? : L1 と L1Tc

Non-LTR レトロトランスポゾンは時折、遺伝子に挿入し、遺伝病を引き起こすことが知られている。また既存のレトロトランスポゾン同士の組み換えによって大きな欠失が起こることも知られている。しかし、non-LTR レトロトランスポゾンは常に悪者なのだろうか? たまには生物の役に立つことをしているのではないだろうか? そんな疑問を生むのが今回紹介する2本の論文(Morrish et al. 2002; Olivares et al. 2003) である。

ヒトの L1 は転移系が確立され、多くの研究がなされている。Morrish らはヒト L1 の高頻度転移クローンである L1.3 をハムスターの培養細胞 CHO-K1 で転移させる実験をした(Morrish et al. 2002)。ヒトの L1 は生物種の壁を超えて転移した。しかし、ヒトの培養細胞 HeLa で転移させた場合と大きな違いがあった。逆転写酵素に変異を加えた L1 はやはり転移しなかったのだが、エンドヌクレアーゼの活性残基を置換した L1 が野生株の 5% 程度の転移効率を示したのだ。

HeLa では転移効率は 0.5% 程度だったのだから、かなりの違いである。しかし、エンドヌクレアーゼと逆転写酵素の両方に変異を加えた場合には転移は全く観察されなかった。従って逆転写によって L1 が挿入されているのは確かである。

エンドヌクレアーゼの役割は DNA を切断して、逆転写酵素にプライマーを提供することである。そこで、Morrish らは DNA 損傷によって露出している DNA 末端をプライマーにして逆転写が起こっているのではないかと考えた。DNA 修復系 NHEJ (non-homologous end-joining, 非相同末端結合) に重要な役割を持つ XRCC4 の破壊株と DNA-PKcs の破壊株の2種類のヒトの培養細胞で同様の転移実験を行ったところ、これらの細胞では、野生株の 30% から 90% という非常に高い頻度で転移が観察された。一方、変異体ではない培養細胞では数% 以下の転移効率しか示さなかった。

NHEJ 変異細胞でのエンドヌクレアーゼ非依存的な転移では、通常のエンドヌクレアーゼ依存的な転移とは、挿入位置に異なった特徴が見られた。エンドヌクレアーゼ依存的な転移では、L1 の 3' 末端から逆転写が起こり、挿入位置の両側には target site duplication(TSD)と呼ばれる順列反復配列ができる。また、挿入位置には、TT|AAAA というコンセンサス配列が見られることが多い。これに対して、エンドヌクレアーゼ非依存的な転移では逆転写は L1 の途中(厳密には L1 と polyA の間に挿入されたカセットの途中)から起こることが多く、TSD も認められなかった。挿入位置には DNA の欠失が起こることも多く、また、別の遺伝子の cDNA が L1 の 3' 側に挿入されている例も見つかった。見つかった DNA の欠失は 3 例だが、内 2 例では十数塩基程度の短い欠失である。これらの観察結果は、エンドヌクレアーゼ非依存的な転移が、DNA 損傷による露出末端をプ

ライマーにする逆転写によることを示唆するが、逆転写された DNA が組み換えによって挿入された可能性も残っている。

上述の研究を踏まえると、Non-LTR レトロトランスポソンのエンドヌクレアーゼ非依存的な転移は DNA 損傷を修復する役割を果たしている可能性がある。ところが、今のところ積極的な証拠は出ていない。Farkash らはガンマ線照射によって L1 の転移効率が上昇することを発見している (Farkash et al. 2006)。しかし、ガンマ線照射によって誘導される転移はエンドヌクレアーゼ依存的で、エンドヌクレアーゼの変異体では転移効率は上昇しない。

一方、細胞の生存率を実際に高める働きを non-LTR レトロトランスポソンのエンドヌクレアーゼがしているという報告がある (Olivares et al. 2003)。Olivares らが用いているのは、*Trypanosoma cruzi* の non-LTR レトロトランスポソン L1Tc のエンドヌクレアーゼ (NL1Tc) である。NL1Tc は non-LTR レトロトランスポソンのエンドヌクレアーゼの中で唯一、塩基の失われている位置

(apyriminic/apyrimidinic site, AP site) で DNA を切断することが報告されている (Olivares et al. 1997)。この NL1Tc1 を *Trypanosoma* で強制発現させると、様々な DNA 損傷の原因となるダウノルビシン (daunorubicin) 処理や、DNA 二本鎖切断の原因となるガンマ線照射による増殖曲線の低下が抑えられるという。残念ながらこれだけでは、NL1Tc がどのようにして DNA 損傷を緩和しているのか明らかではない。塩基除去修復と二重鎖切断修復とは全く異なるシステムなので、AP エンドヌクレアーゼ活性が役に立っているのかも不明である。ただ、系統解析から示唆されるように、non-LTR レトロトランスポソンの持つエンドヌクレアーゼが DNA 修復系の AP エンドヌクレアーゼが獲得されたことに由来するならば、当初は non-LTR レトロトランスポソンは AP site に特異的に挿入することで DNA 修復の役割を担っていた可能性がある。non-LTR レトロトランスポソンは、現在は DNA 修復に寄与していないかもしれないが、過去に寄与していたことを否定することは出来ないだろう。

Morrish TA, Gilbert N, Myers JS, Vincent BJ, Stamato TD, Taccioli GE, Batzer MA, Moran JV.

DNA repair mediated by endonuclease-independent LINE-1 retrotransposition.

Nat Genet. 2002 Jun;31(2):159-165.

Olivares M, Lopez MC, Garcia-Perez JL, Briones P, Pulgar M, Thomas MC.

The endonuclease NL1Tc encoded by the LINE L1Tc from *Trypanosoma cruzi* protects parasites from daunorubicin DNA damage.

Biochim Biophys Acta. 2003 Apr 15;1626(1-3):25-32.

Farkash EA, Kao GD, Horman SR, Prak ET.

Gamma radiation increases endonuclease-dependent L1 retrotransposition in a cultured cell assay.

Nucleic Acids Res. 2006 Feb 28;34(4):1196-1204.

Olivares M, Alonso C, Lopez MC.

The open reading frame 1 of the L1Tc retrotransposon of Trypanosoma cruzi codes for a protein with apurinic-apyrimidinic nuclease activity.

J Biol Chem. 1997 Oct 3;272(40):25224-25228.

2006/04/20

小島 健司 著

禁 無断複写転載