

テロメラーゼの「転移」: interstitial telomeric sequences

テロメア反復配列はテロメラーゼによって染色体末端に付加される、数塩基の単純反復配列である。ヒトでは TTAGGG の 6 塩基が 1 単位となって繰り返される。しかし、テロメア反復配列は染色体の内部にも見つかる。この染色体内部のテロメア反復配列は interstitial telomeric sequences (ITSs) と呼ばれる。この ITS の形成機構としては、染色体末端同士の融合が提案されているが、それだけで全ての ITS が説明できるとは考えられない。

Azzalin らは ITS をゲノムライブラリからクローニングし、配列の特徴から 3 タイプに分類した (Azzalin et al. 2001)。1 つは正確なテロメア反復配列からなる短いテロメア反復配列。2 つ目は長いけれども間違ったテロメア反復配列が含まれ、おそらくサブテロメア領域に由来するもの。間違ったテロメア反復配列が含まれる理由は、かつてテロメア末端としてテロメラーゼによって合成されたものに、DNA 複製で繰り返し複製される間に変異が蓄積したためである。3 つ目は長い、テロメア反復配列が中央で向き合っているもので、おそらく染色体末端同士の融合によって作られたものである。続くゲノム配列データベースからの探索により、短い ITS は他の 6 塩基の繰り返しからなるマイクロサテライトよりも遥かに多い数が存在していることがわかった。

そこで、Nergadze らは短い ITS の挿入箇所をヒト 22 カ所、チンパンジーから 1 カ所選び、その挿入がいつ、どのように起きたのかを他の霊長類の配列との比較により解析した (Nergadze et al. 2004)。PCR を用いて目的の位置の配列を、類人猿、旧世界猿、新世界猿で調べたところ、10 カ所の挿入の時期が明らかとなった。また、1 つは LTR レトロトランスポソンの LTR に挿入されていたので、元の配列がわかった。彼らはこの 11 カ所の挿入を 4 つのタイプに分類した。1 つは DNA の二重鎖切断が起こり、その間にきれいにテロメア反復配列が付加された状態で、2 カ所が該当した。2 番目のタイプは短い配列の欠失が起こり、代わりにテロメア反復配列が挿入されている場合で 5 カ所見つけた。失われた長さは 1 塩基から 42 塩基であった。逆にテロメア反復配列の他に余分な塩基が付加されている例も 2 つ見つけた。どちらも TTAGG の前側に余分な配列が付加されていた。配列の欠失も挿入も非相同末端結合 (non-homologous end-joining, NHEJ) に見られる現象なので、これも非相同末端結合の過程でテロメア反復配列が付加されたと考えられる。残りの 2 カ所では、挿入前の配列の一部がテロメア反復配列の両側に重複していた。重複の長さは 15 塩基と 67 塩基であった。LTR と AluY の内部配列の重複であったが、これらの転移因子のコンセンサスでは重複は見られないので、テロメア反復配列の挿入に伴って重複が起こったと考えられる。挿入の両側での配列の重複は、non-LTR レトロトランスポソンの

挿入の場合にできる target site duplication と良く似ていることから、これら 2 つの例では、二重鎖切断の際に両鎖の切断位置が異なるため 3' 突出の末端となったものにテロメア反復配列が付加されて修復されたものと予想される。

以上のように短いテロメア反復配列が付加される場合には、二重鎖切断が起こり、非相同末端結合の過程でテロメア反復配列の付加が起こることが示唆された。このテロメア反復配列の付加には、テロメラーゼが切断により露出した 3' 末端からテロメア反復配列を付加する可能性と、DNA ポリメラーゼが二重鎖切断を修復する過程で、別の箇所に元々存在したテロメア反復配列を鋳型として利用する可能性の 2 つの可能性が考えられる。続報では、このどちらが正しいのかに検証を加えている (Nergadze et al. 2007)。

ゲノムが解読された 4 種の哺乳類、ヒト、チンパンジー、マウス、ラットを材料として、種特異的な ITS の挿入を BLAT による相同性検索と、近縁種ゲノム比較により調べた。その結果、単位 (TTAGGG) 当たり 1 塩基以内の置換しかない 4 単位以上の ITS の挿入が、ヒトで 5、チンパンジーで 4、マウスで 58、ラットで 72 個見つかった。齧歯類 2 種で数が多いのはマウスとラットの分岐年代がヒトとチンパンジーよりも古いからである。齧歯類の ITS でも上述の霊長類の結果と同様に、テロメア反復配列の挿入位置に、塩基の付加や欠失、重複が観察された。また、テロメア反復配列が付加された位置には、元々テロメア反復配列と同じ配列が 1 から 4 塩基存在している場合が多かった。これは、テロメラーゼによるテロメア反復配列付加を示唆する結果である。更に興味深いことにマウスの ITS では、テロメラーゼ RNA の配列と一緒に挿入されている例が 5 例観察された。種特異的な挿入でない場合も合わせると、14 座位でテロメラーゼ RNA の配列とテロメア反復配列とが一緒に観察された。挿入されているテロメラーゼ RNA の配列は座位ごとに異なるが、常に決まった 17 塩基 (マウスのテロメラーゼ RNA の 357-373 番目の塩基) が含まれていた。また、テロメア反復配列の前側に逆向きに挿入されているという共通点もあった。テロメア反復配列とテロメラーゼ RNA 遺伝子が一緒に挿入されていること、そして挿入されている領域が違ふことはこれら ITS が形成される際にテロメラーゼによるテロメア反復配列合成が働いていることを如実に表している。テロメラーゼ RNA 遺伝子とテロメア反復配列が逆向きであるという事実を説明する機構を想定するのは難しいが、著者らはテロメラーゼ RNA の 3' 末端をプライマーにした cDNA 合成から始まるモデルを提示している。

結果を総合すると、DNA 二重鎖切断の修復の際に非相同末端結合と同時にテロメラーゼによるテロメア付加が進行することで ITS が形成されていることが明らかとなった。テロメラーゼのみが働けば染色体は分断されてしまうが、非相同末端結合が同時に働くことで、染色体はそのままテロメア反復配列を間に

含むだけで修復される。これで3タイプ全てのITSの形成機構が明らかとなった。

テロメラーゼは染色体の3'末端をプライマーとして逆転写を行なう。DNA二重鎖切断によって露出した3'末端を利用してもおかしくない。テロメラーゼRNA遺伝子の配列が挿入されていることから、DNA二重鎖切断を利用してテロメラーゼが「転移」していると言い換えることも可能であろう。レトロトランスポゾンにはDNA損傷により露出した3'末端をプライマーとして転移できることが示されているし、最近では、レトロトランスポゾンが染色体末端に転移することも示されている（テロメラーゼとnon-LTRレトロトランスポゾンの新たな接点、テロメラーゼと勝利の女神は“エン”が無い？ : *Athena* と *Coprina*）。今回の結果は、テロメラーゼがレトロトランスポゾンのように振る舞うことを示しており、レトロトランスポゾンがテロメラーゼのように振る舞うこととは別の方向から、テロメラーゼとレトロトランスポゾンとの関連性を示した結果と言えるだろう。

Azzalin CM, Nergadze SG, Giulotto E.

Human intrachromosomal telomeric-like repeats: sequence organization and mechanisms of origin. *Chromosoma*. 2001 May;110(2):75-82.

Nergadze SG, Rocchi M, Azzalin CM, Mondello C, Giulotto E.

Insertion of telomeric repeats at intrachromosomal break sites during primate evolution. *Genome Res*. 2004 Sep;14(9):1704-10.

Nergadze SG, Santagostino MA, Salzano A, Mondello C, Giulotto E.

Contribution of telomerase RNA retrotranscription to DNA double-strand break repair during mammalian genome evolution. *Genome Biol*. 2007 Dec 7;8(12):R260

2008/02/21

小島 健司 著
禁 無断複写転載