

ウニから見つかった RAG1/2 のホモログ

「免疫系はトランスポゾンが作った? : Transib と RAG1」では Kapitonov らによる RAG に似た遺伝子の解析の論文を紹介した (Kapitonov and Jurka 2005)。この論文では、当時ゲノム解読中だったムラサキウニ *Strongylocentrotus purpuratus* に RAG1 に似た配列が複数存在していることが示されていた。しかし彼らの解析は断片状態のゲノム配列を調べたのみで、周辺領域まで含めた解析はなされていなかった。Fugmann らはムラサキウニから RAG1 と RAG2 のホモログを報告している (Fugmann et al. 2006)。Fugmann らも同様にゲノム配列から RAG1 に似た配列を 26 個発見したが、ほとんどは nonsense mutation などにより破壊されていた。しかし、この内一つの配列は、長い ORF (open reading frame) を持ち、RAG1 とかなり良く似ていた。そこで、彼らはこの配列を SpRag1L と名付け、cDNA 全長を決定した。

SpRag1L の cDNA は全長 3,363nt で 983 アミノ酸のタンパク質をコードしていた。マウスの Rag1 のコア領域との相同性は 31% であった。酵素活性を担う D,D,E の 3 保存アミノ酸、Rag2 との結合に関わる zinc finger B は簡単に同定でき、nonamer-binding domain(NBD)、zinc-binding domain(ZBD)なども比較的保存されているのがわかった。Rag2 は保存性が低いためか全ゲノム配列を対象にした BLAST 探索では見つけることが出来なかった。そこで、脊椎動物で Rag1 と Rag2 が隣り合って存在していることに着目し、SpRag1L の下流側の配列から Rag2 に似た配列を探したところ、下流 3,181bp から逆向きにエクソンが見つかった。このエクソンの配列を基に RACE をすると、511 アミノ酸のタンパク質をコードする遺伝子が見つかった。このタンパク質の N 末側 424 アミノ酸は β プロペラ構造を取ることが予測され、C 末側にも plant homeodomain(PHD)が見つかった。これらの特徴は全て Rag2 に当てはまるため、Fugmann らはこれを Rag2 のホモログであると考えて、SpRag2L と命名している。

改めてゲノム DNA 配列を BAC から決定したところ、cDNA との比較から、SpRag1L、SpRag2L 共にイントロンを含んでいることがわかった。このため、イントロンの挿入されていないマウスや、イントロンの数の少ないゼブラフィッシュと比べると長さは長くなるが、SpRag1L/SpRag2L 座位が脊椎動物の Rag1/Rag2 座位と相同の構造を持っている。また、SpRag1L と SpRag2L の転写は血球細胞には限定されず、胚でも確認され、かつ、発現量の増減が一致していた。加えて、SpRag1L と SpRag2L のタンパク質が互いに結合することもプルダウンアッセイにより示された。興味深いことに SpRag1L はメジロサメ *Carcharhinus plumbeus* の Rag2 とも結合し、SpRag2L はオオメジロザメ

Carcharhinus leucas の Rag1 と結合した。マウスの Rag1、Rag2 とは結合しなかった。SpRag1L の中央領域は一本鎖 DNA と結合することも示された。

以上の結果は、SpRag1L/SpRag2L が Rag1/Rag2 とほぼ同じ生化学的性質を備えていることを示している。しかし、ウニでは VDJ 組み換えは観察されていない。Fugmann らはウニの SpRag1L/SpRag2L が脊椎動物の Rag1/Rag2 のオーソログであると考えており、これを前提として、後口動物の共通祖先で獲得された Rag1/Rag2 は元々 VDJ 組み換えとは異なる機能を持っていたが、有顎類の祖先で新しく VDJ 組み換えの機能を獲得したというモデルを提示している。しかし、SpRag1L/SpRag2L の周囲に逆位反復配列 (terminal inverted repeat, TIR) がみつからないことから、これらが現在も活性を持った DNA トランスポゾンである可能性はほぼ排除できるが、脊椎動物とは別にウニで DNA トランスポゾンが生物学的機能を獲得した可能性は否定できない。Kapitonov らの論文では、ウニの Rag1 に似た pseudogene に似た配列としてイソギンチャク *Nematostella vectensis* の配列が報告されている (Kapitonov and Jurka 2005)。ウニでの多数の壊れた Rag1 様遺伝子の存在も、Rag1 と Rag2 の両方を持った DNA トランスポゾンの存在を示唆しているように思われる。SpRag1L/SpRag2L が Rag1/Rag2 のオーソログか否かを含め、慎重な議論を期待したい。

Kapitonov VV, Jurka J.

RAG1 core and V(D)J recombination signal sequences were derived from Transib transposons.

PLoS Biol. 2005 Jun;3(6):e181.

Fugmann SD, Messier C, Novack LA, Cameron RA, Rast JP.

An ancient evolutionary origin of the Rag1/2 gene locus.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 7;103(10):3728-33.

2007/03/01

小島 健司 著

禁 無断複写転載