

宇宙からの侵略者：SPACE INVADERS

ヒトやマウスでの DNA トランスポゾンによる mutagenesis では、魚類由来で復元した DNA トランスポゾンである *Sleeping Beauty* やメダカの DNA トランスポゾン *Tol2* を用いている。しかし以前紹介したように哺乳類でも進化の過程では DNA トランスポゾンは転移していた（「そして誰もいなくなった：ヒトゲノムの中の DNA トランスポゾン」参照）。今回紹介する論文では、その哺乳類由来の DNA トランスポゾンとして mutagenesis や transgenesis に使えそうな DNA トランスポゾンが報告されている（Pace et al. 2008）。

彼らはオオガラゴ *Otolemur garnettii* のゲノム配列から DNA トランスポゾンを探索している途中、*hAT* スーパーファミリーに属する DNA トランスポゾンを発見した。SPACE INVADERS (SPIN) と名付けたこの DNA トランスポゾンの全長配列は 21 個見つかり、アラインメントにより祖先配列を復元すると、602aa の蛋白質をコードしていたことがわかった。この蛋白質はイントロンの無い ORF にコードされており、*hAT* スーパーファミリーに共通の二量体化ドメインを C 末側に持ち、中央に transposase のモチーフを持っていた。また、8bp の直列反復配列（target site duplication, TSD）に挟まれていることも *hAT* スーパーファミリーの DNA トランスポゾンと共通する特徴であった。

この配列を query にして blast を各種脊椎動物のゲノムに対して行なったところ、マウス *Mus musculus*、ラット *Rattus norvegicus*、テンレック *Echinops telfairi*、コウモリ *Myotis lucifugus*、オポッサム *Monodelphis domestica*、グリーンアノール *Anolis carolinensis*、ニシツメガエル *Xenopus tropicalis* から類似の配列が得られた。その一方でヒトやイヌなどのゲノムからは全く見つからなかった。テンレックとコウモリでは複数の全長の SPIN の挿入が見つかったので、コンセンサスを作る事ができた。他の種では全長のコピーが見つからないか、見つかっても 1 コピーだけだったので、ガラゴ、テンレック、コウモリの配列に合わせてアラインメントした。SPIN の長さは約 2.9kb で全ての比較で 96% 以上塩基が一致した。コンセンサス同士だと 98% の塩基が同じであった。コンセンサスの作成は祖先配列の復元をしているのと同じことなので、配列の一致度がより高いのは当然である。末端には 16bp の逆位反復配列 (terminal inverted repeat, TIR) が見つかった。TIR は全ての種の SPIN で、4 番目の塩基だけがミスマッチになっていた。

SPIN を持つ 8 種全てで、SPIN に由来するが transposase を持たない非自律性の DNA トランスポゾン（miniature inverted-repeat transposable elements, MITEs）が見つかった。これらの MITE は全て SPIN の内部が失われてできていた。しかし内部欠失の境界が一致する MITE はなかったので、種ごとに独立に MITE が派生した事がわかった。MITE の存在はゲノム DNA を鋳型にした PCR で確認でき

た。全長の SPIN のコピー数が少ないのに対して、MITE はそれぞれの種のゲノム中に大量に見つかった。例えば、テンレックでは自律性の *SPIN_Et* が 13,961 コピーなのに対して、非自律性の *SPIN_NA_1_Et* は 52,551 コピー、*SPIN_NA_6_Et* は 32,824 コピー見つかった。自律性の *SPIN_Md* の数が少なく 5 コピー以下のオポッサムでも、非自律性の *SPIN_NA_3_Md* は 3,671 コピー、*SPIN_NA_4_Md* は 1,136 コピー見つかった。

配列が非常に良く似ていて、かつ見つかる種が飛び飛びになっていることから、SPIN の水平伝播が疑われた。DNA トランスポゾンではある種から別の種への水平伝播は珍しくはない。共通祖先から受け継がれたと考えると少なくとも 13 回独立にゲノム中から SPIN が失われた計算になる。また、相同な位置に挿入されている SPIN はマウスとラットの場合を除いては見つからなかった。また、もし共通祖先から受け継がれた DNA トランスポゾンの配列が非常に良く似ているとすれば、強い負の淘汰圧がかかっているはずである。しかし、transposase をコードする ORF のコドンの第 1 位、第 2 位、第 3 位の塩基の間に相同性の違いは見られなかった。また、SPIN のそれぞれのコピーの配列は種を超えてコンセンサスから同じ程度離れており、同時期に転移したと考えられた。これらの事実から SPIN はある時期に水平伝播によって四足動物のいくつかの種に入り込み爆発的に増加したと考えられる。

中立的に変異が蓄積したと考えられるので、突然変異速度を基にしていつ SPIN が増加したのかを予測することができる。著者らは比較のために、orthologous な座位にある古い DNA トランスポゾンの配列を 400 個以上集めて突然変異速度を解析した。それぞれの種の分岐年代を利用する事で、突然変異速度が計算され、それを利用するとマウスとラットの共通祖先、テンレック、ガラゴ、ツメガエルでは 4,600 から 3,100 万年前頃に大量に SPIN が転移したと想定された。また、コウモリとオポッサムでは 1,500 万年前ごろに転移したと考えられた。無論、水平伝播されたのは増幅よりも前の時期である。

哺乳類での DNA トランスポゾンの水平伝播の確からしい報告は初めてである。しかしそれ以上に応用面の意義は大きいと思われる。複数種の哺乳類で活発に転移した過去を考えると、祖先配列を復元すれば幅広い哺乳類で転移可能な DNA トランスポゾンは容易に復元できるだろう。自律性の SPIN で 2.8kb、非自律性の *SPIN_NA* の最も短いものはたった 80bp である。とても便利そう。より転移時期が遅いコウモリとオポッサムの祖先配列の復元ならばもっと簡単かもしれない。早速応用研究が始まっていることだろう。

Pace JK 2nd, Gilbert C, Clark MS, Feschotte C.

Repeated horizontal transfer of a DNA transposon in mammals and other tetrapods.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Nov 4;105(44):17023-8. Epub 2008 Oct 20.

2009/06/08

小島 健司 著

禁 無断複写転載