

21世紀COE

「言語から読み解くゲノムと生命システム」

2004年2月21日公開シンポジウム

転移因子が手繰るゲノム言語の形成と進化

新領域創成科学研究科・先端生命科学専攻
遺伝システム革新学分野

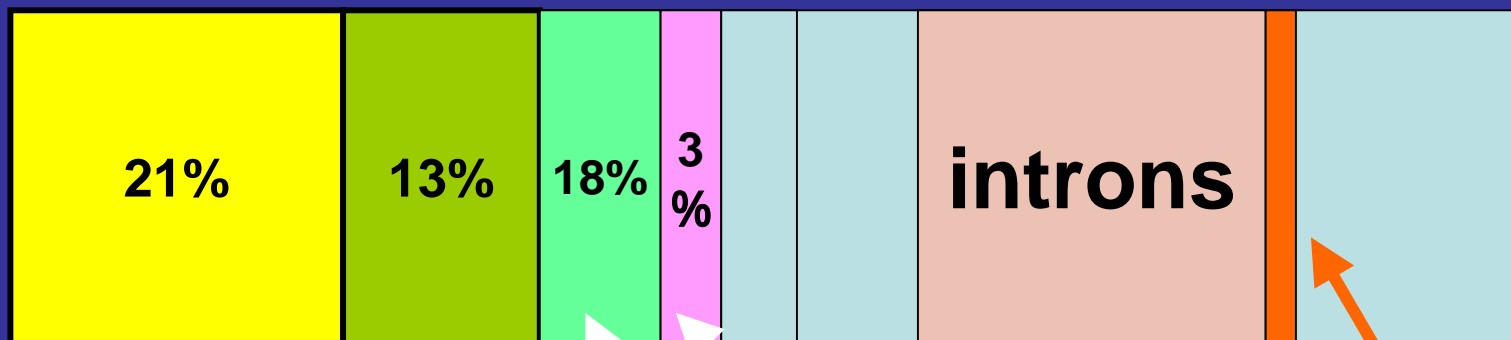
藤原 晴彦

ヒトゲノムの半分は利己的遺伝子である

利己的遺伝子



レトロトランスポゾン(レトロ因子)



LINEs **SINEs**

Long interspersed
nuclear element

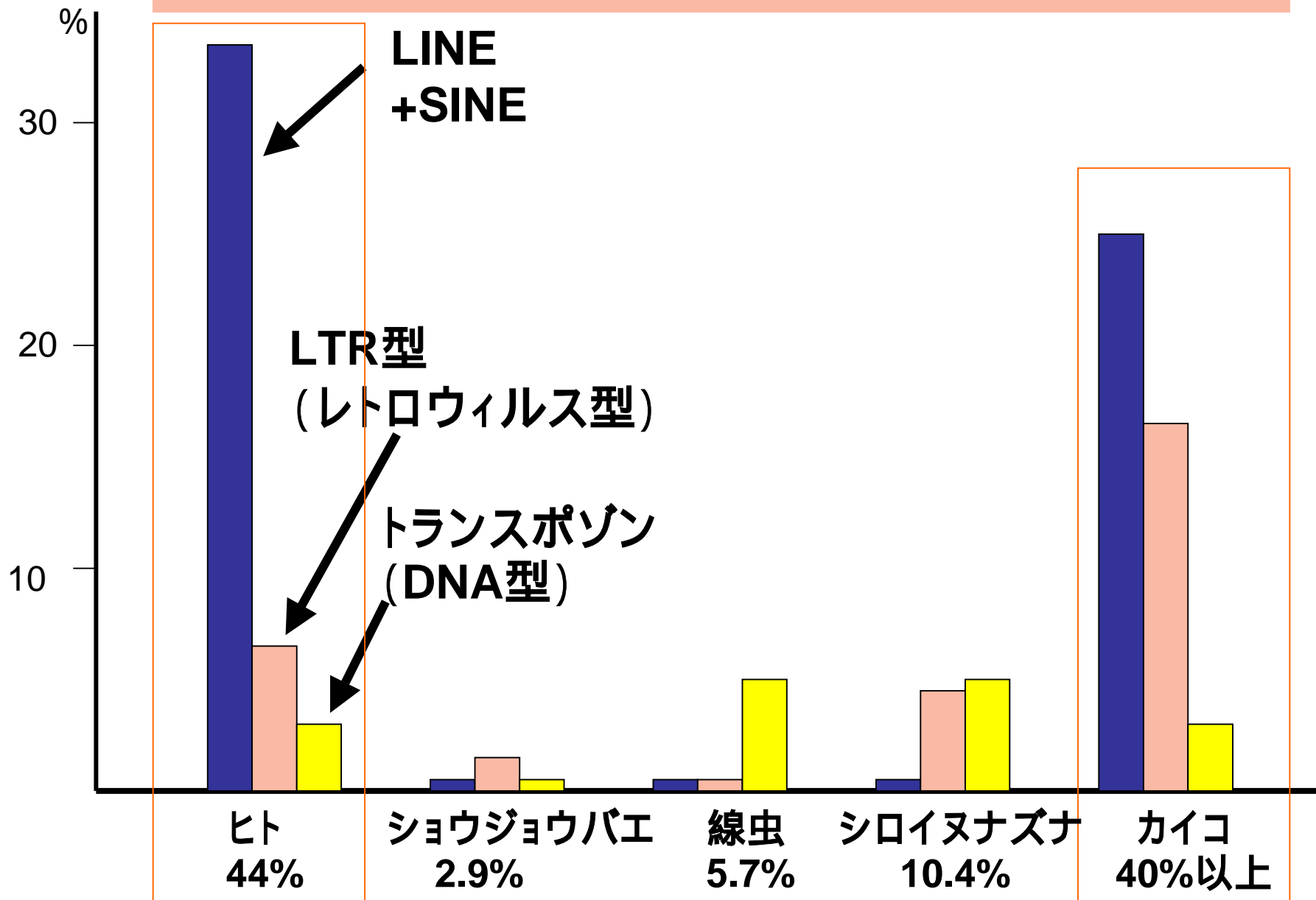
レトロウィルス型
(LTR)

トランスポゾン

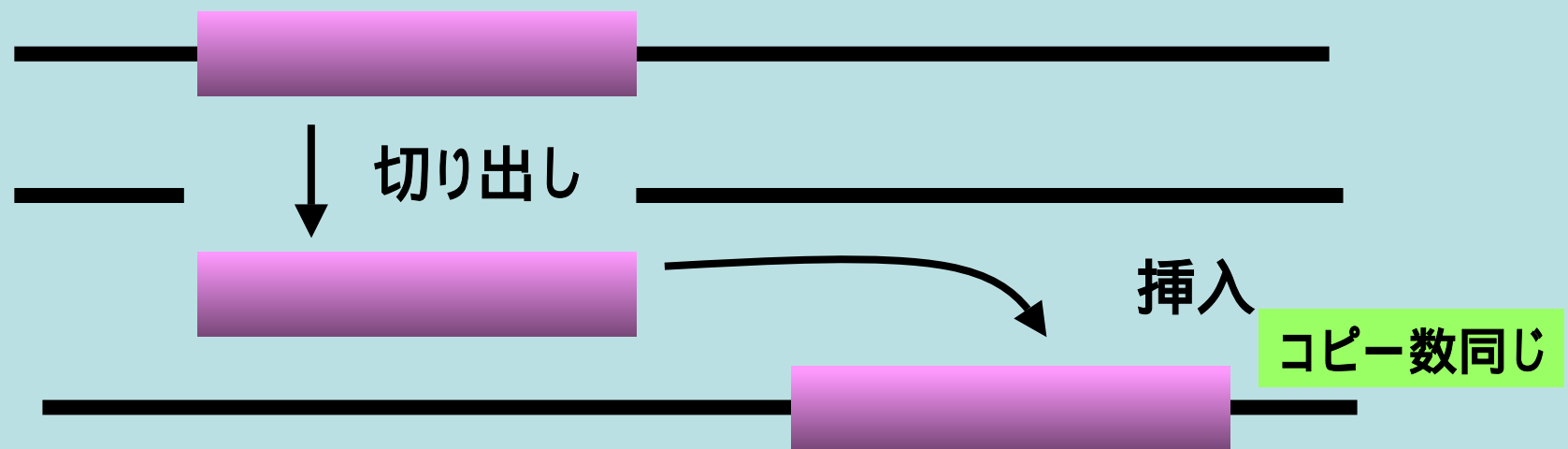
ヒトゲノムを構成するもの

タンパク質の
コード配列

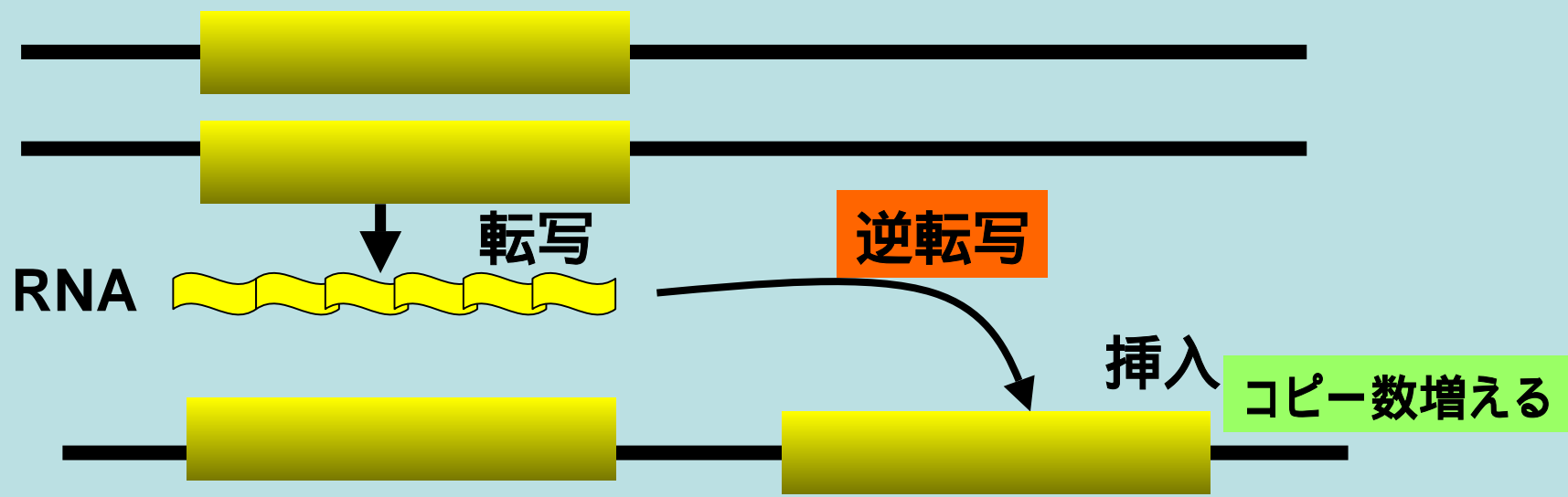
生物種によってゲノム構成は大きく異なる



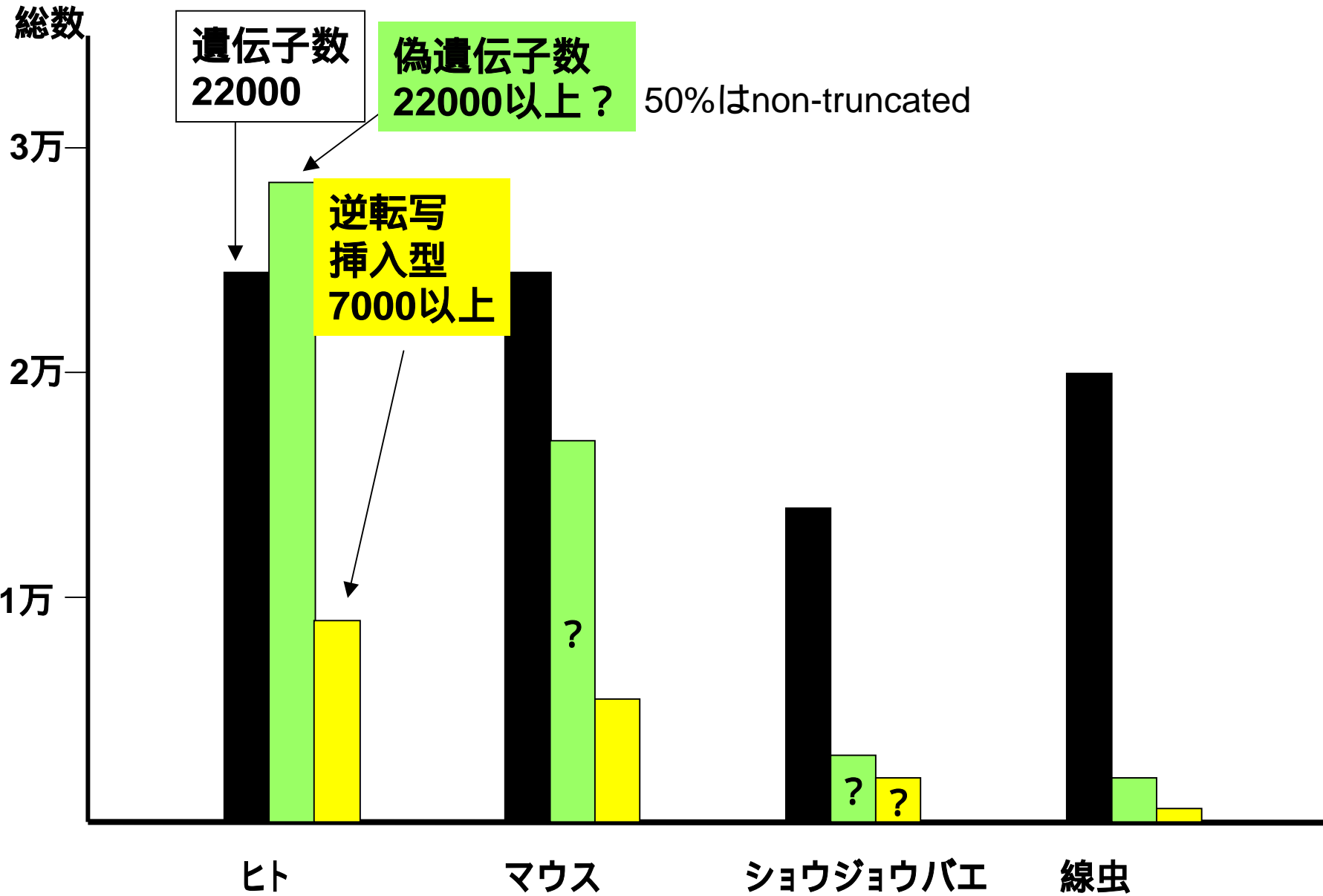
トランスポゾン (カット & ペースト方式)



レトロトランスポゾン (コピー & ペースト方式)

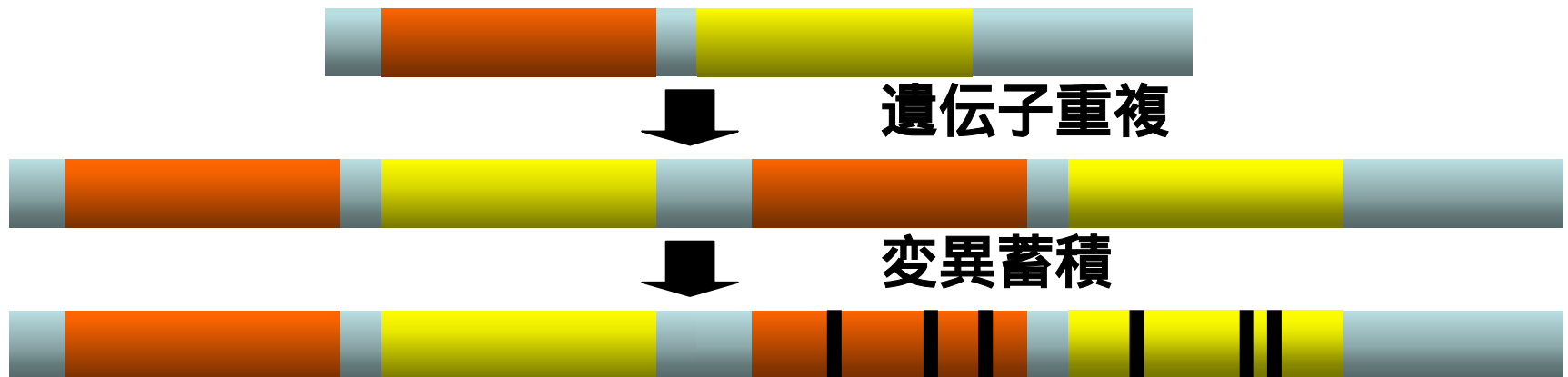


ヒトゲノムには偽遺伝子も大量に存在する

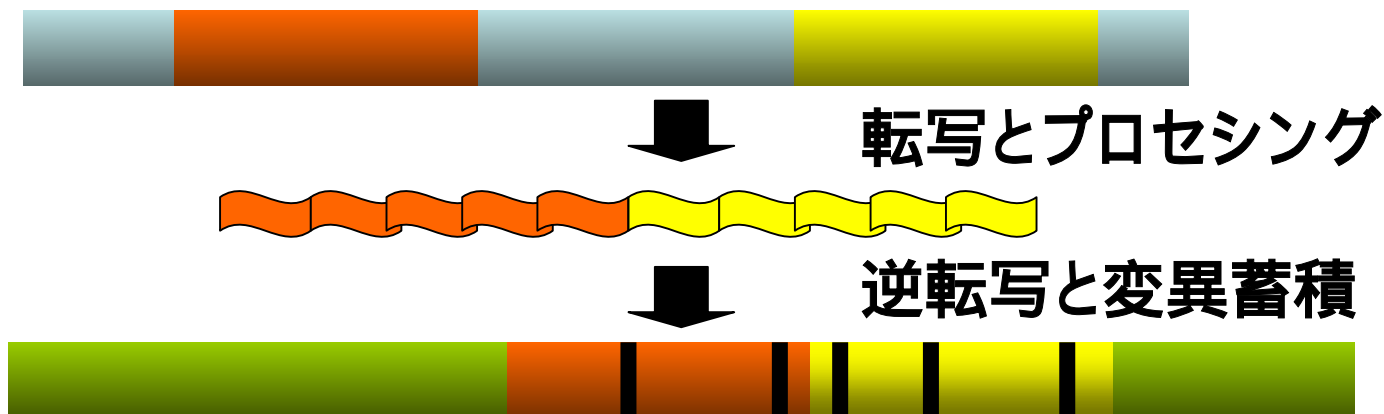


偽遺伝子 (pseudogene) の生じ方

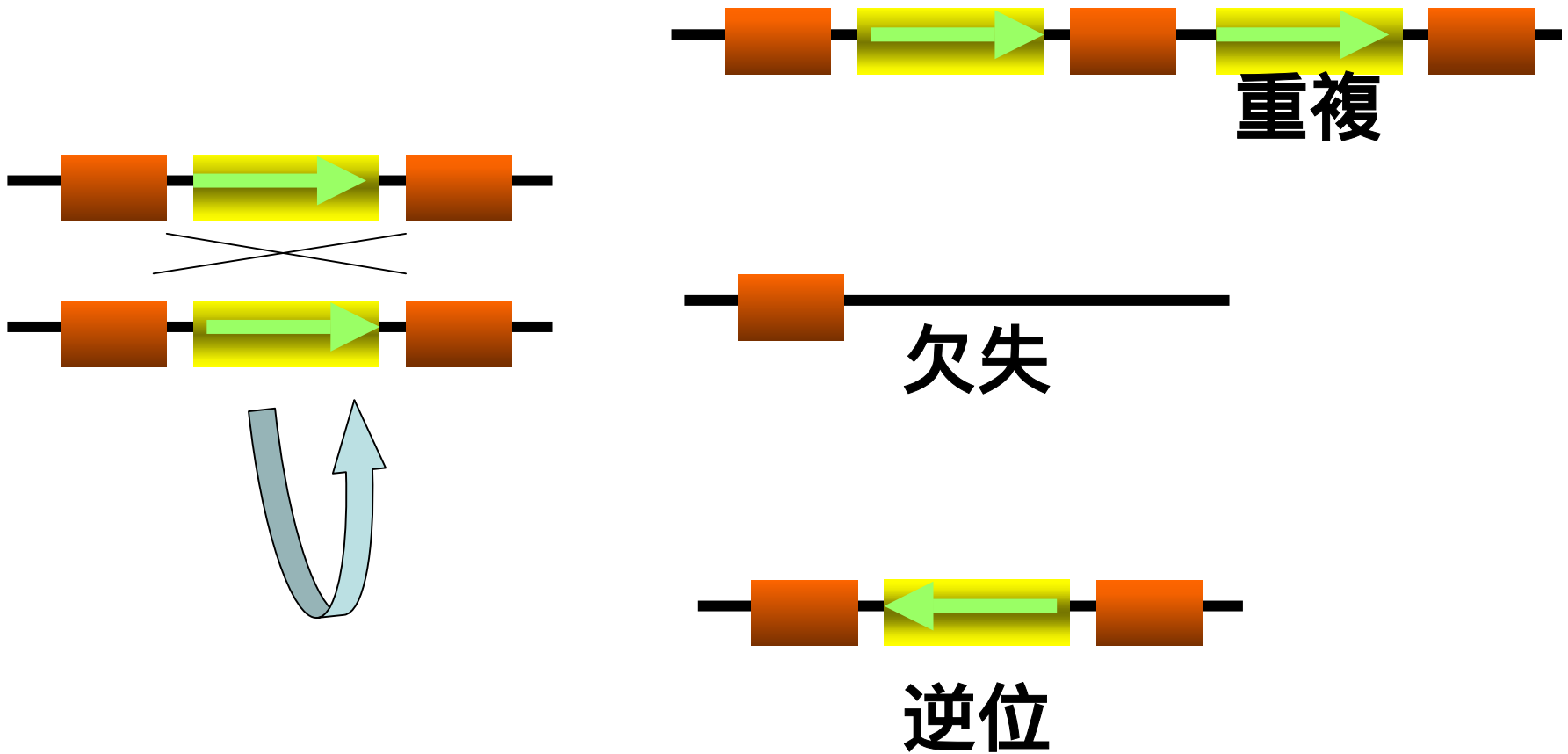
Non-processed pseudogenes (遺伝子重複型)



Processed pseudogenes (逆転写挿入型)



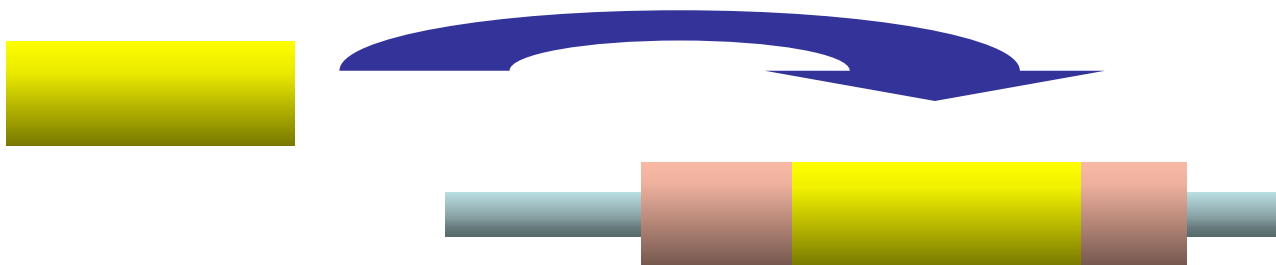
疑問： 利己的遺伝子はゲノムの形成・再編に
どのように関わっているのか？



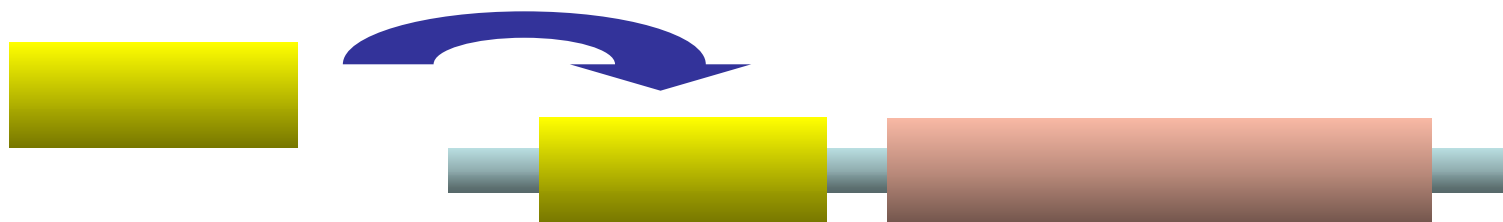
1. 反復的JUNK配列はゲノム再編に関わる

2. 遺伝子を破壊したり、発現調節を変更させる

レトロトランスポゾン

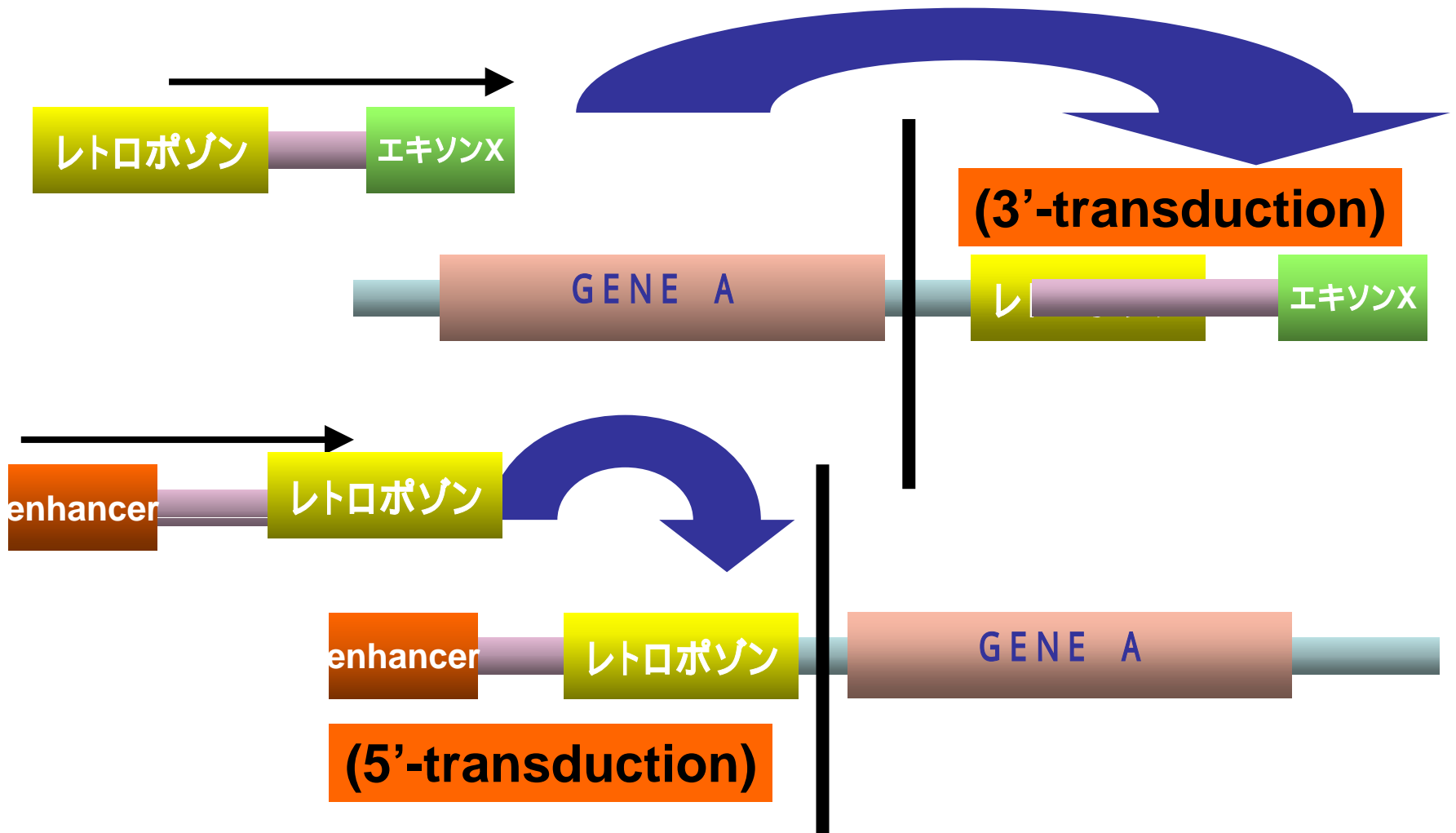


遺伝子内部への導入 → 変異・新規スプライシング

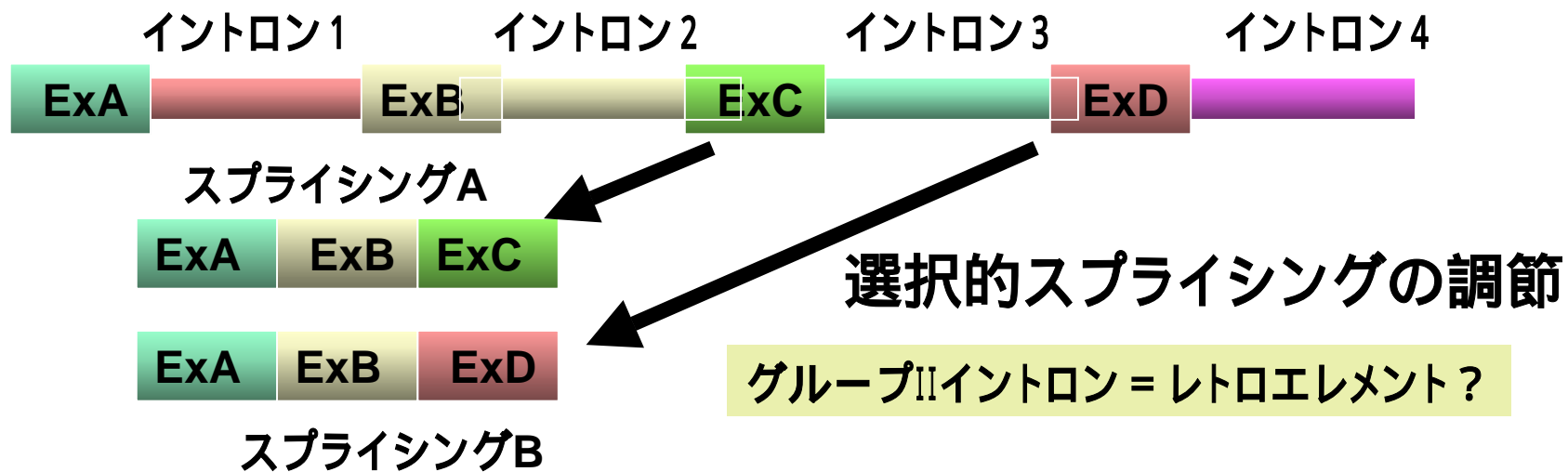
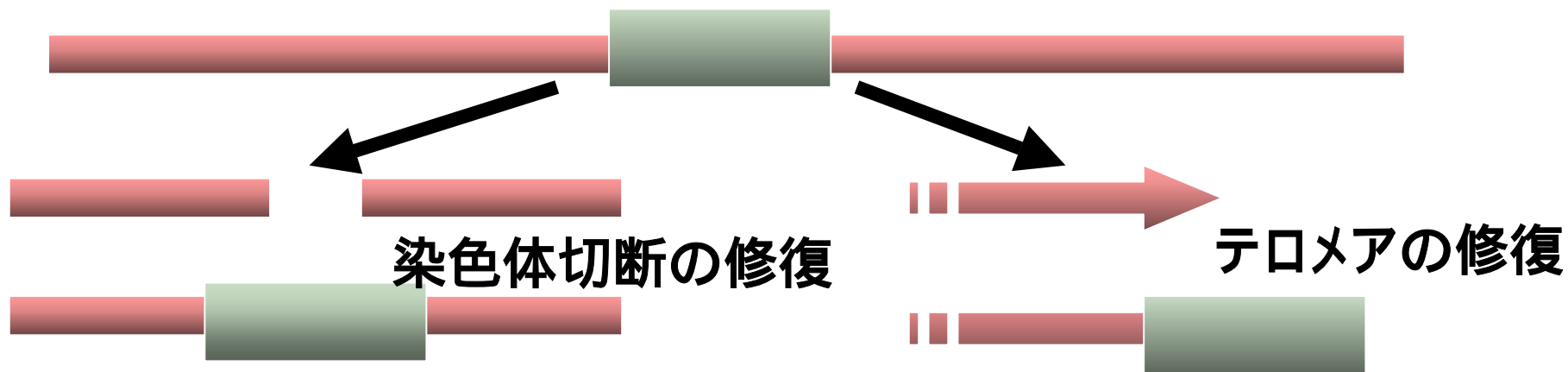


遺伝子調節領域への導入 → 転写・発現量の変化

3. 前後の配列を巻き込んで転移 (transduction)



4. レトロエレメントの一部は細胞機能を担う？



逆転写酵素はさまざまな存在形態をとる

レトロエレメント: 逆転写酵素を持つ因子の総称

逆転写酵素と組み合わされる蛋白ドメインの種類によって
ウイルス、転移因子、生物の遺伝子など様々な存在形態をとる

逆転写酵素

+

インテグラーゼ
エンベロープ



レトロウイルス

(エイズウイルスなど)



ウイルス

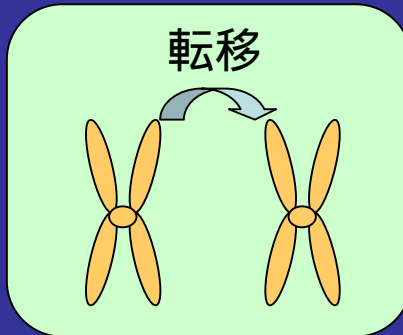
逆転写酵素

+

エンドヌクレアーゼ



non-LTRレトロトランスポゾン
(ヒトのL1、カイコTRAS1など)



転移因子

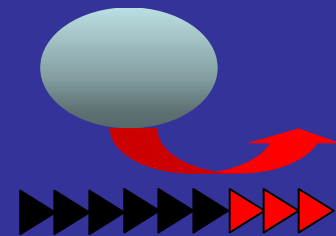
逆転写酵素

+

Tモチーフ



テロメラーゼ



テロメア付加

生物の必須遺伝子

グループII インترون

Non-LTR レトロトランスポゾン(LINE)

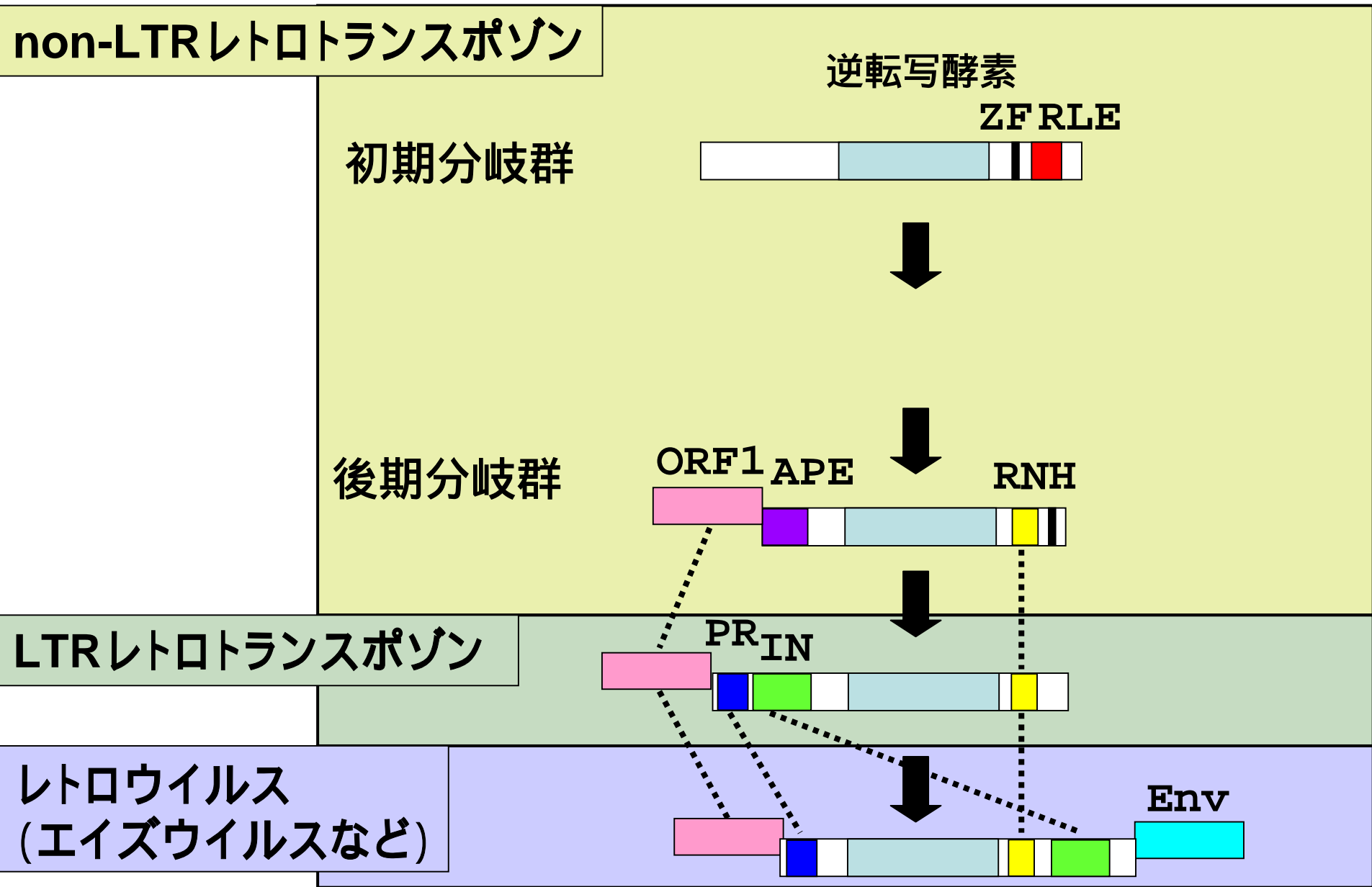
テロメラーゼ

LTR レトロトランスポゾン

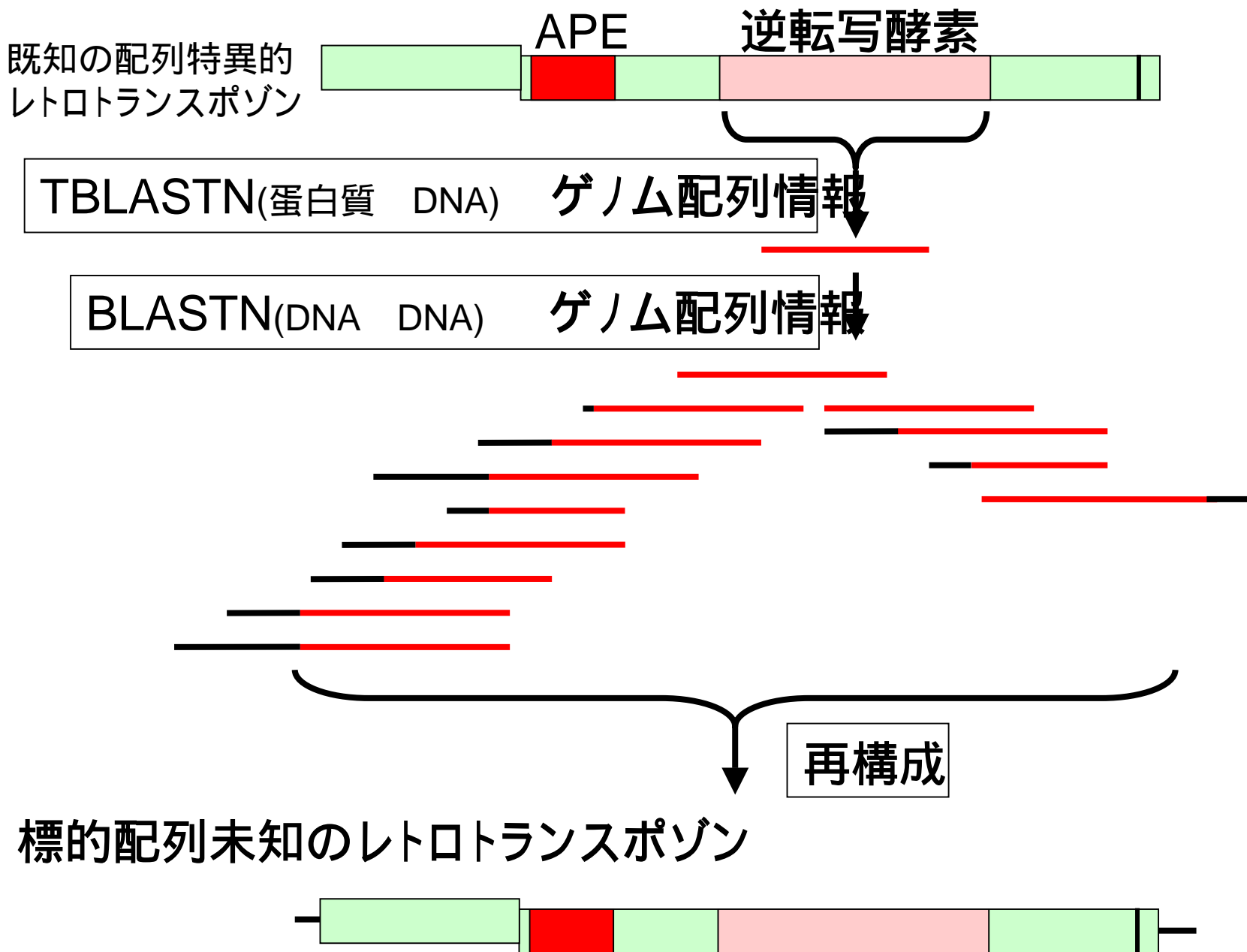
レトロウィルス

レトロ因子の進化の概略

non-LTRレトロトランスポゾンとレトロウイルスの祖先

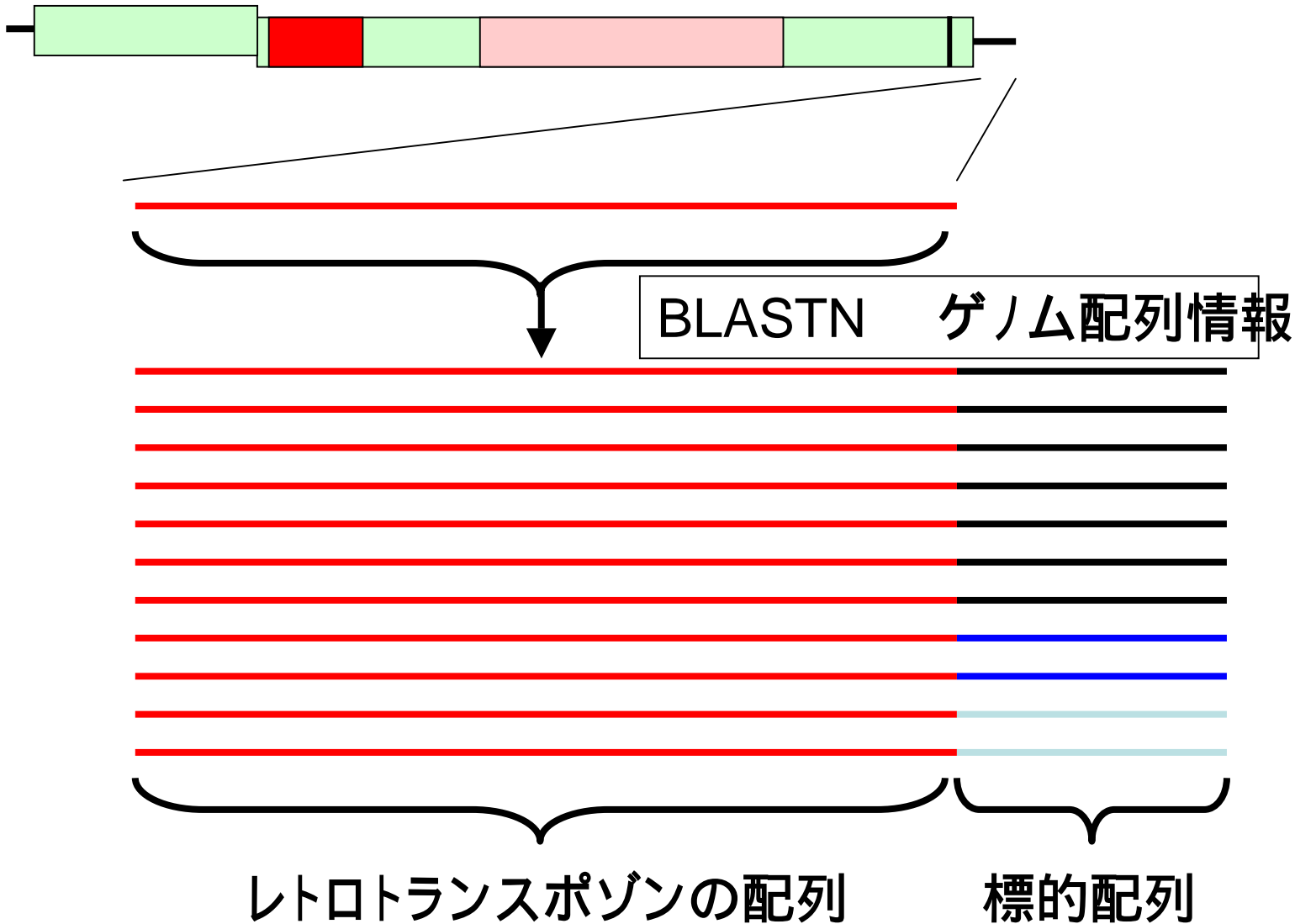


標的配列特異的レトロトランスポソンの同定(手法)



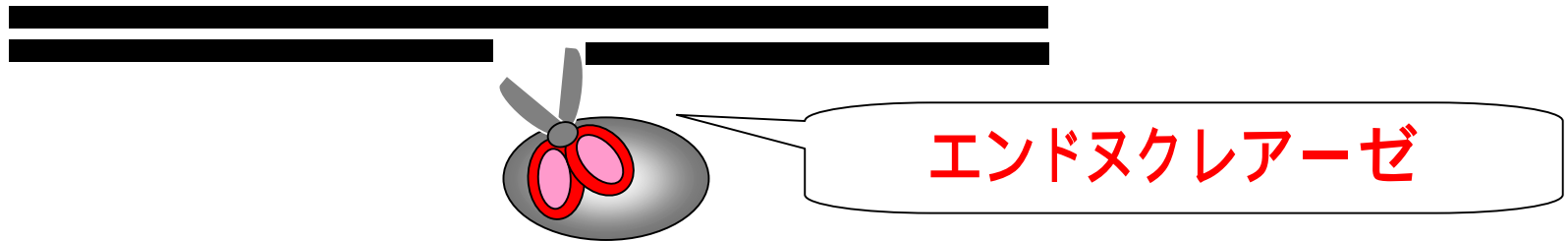
レトロトランスポソンの標的配列の同定(手法)

標的配列未知のレトロトランスポソン

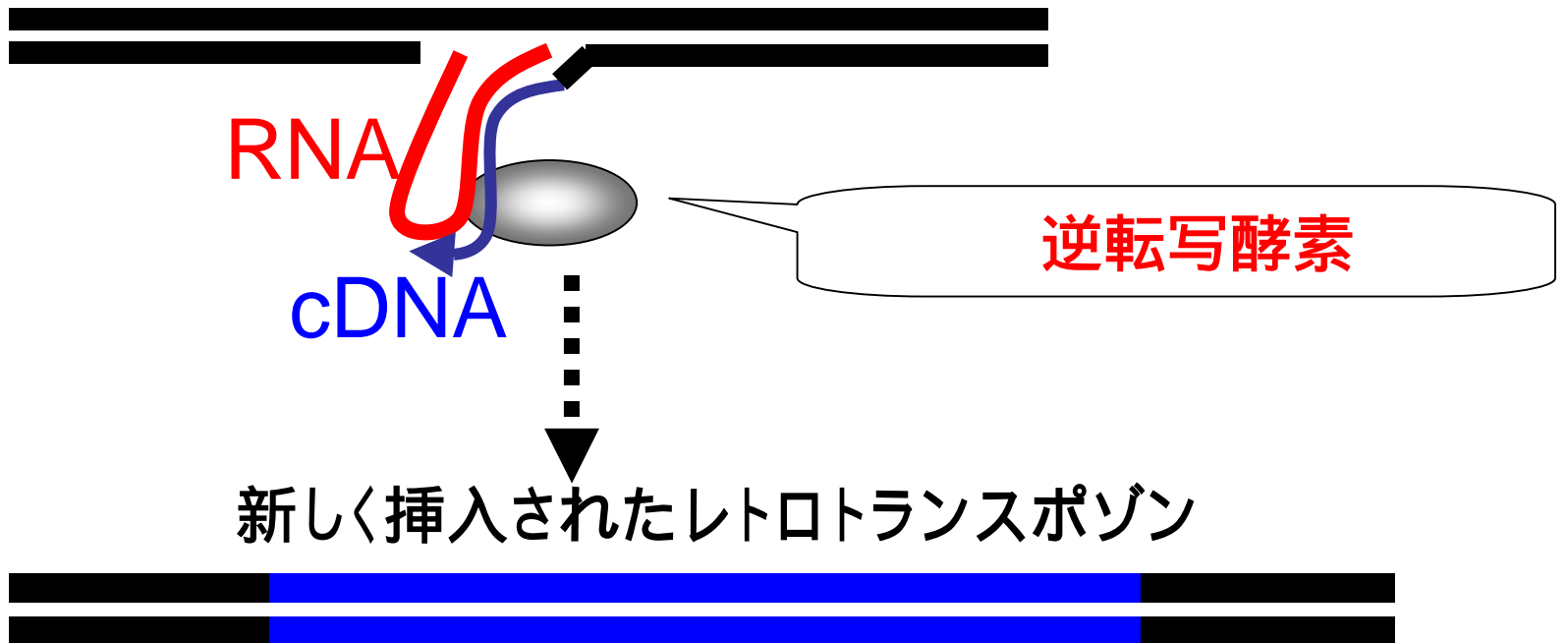


non-LTRレトロトランスポソンの転移機構

1. 標的DNAの切断



2. 鋳型RNAの逆転写



どの生物のR2も28S rDNA中の同じ位置に転移する

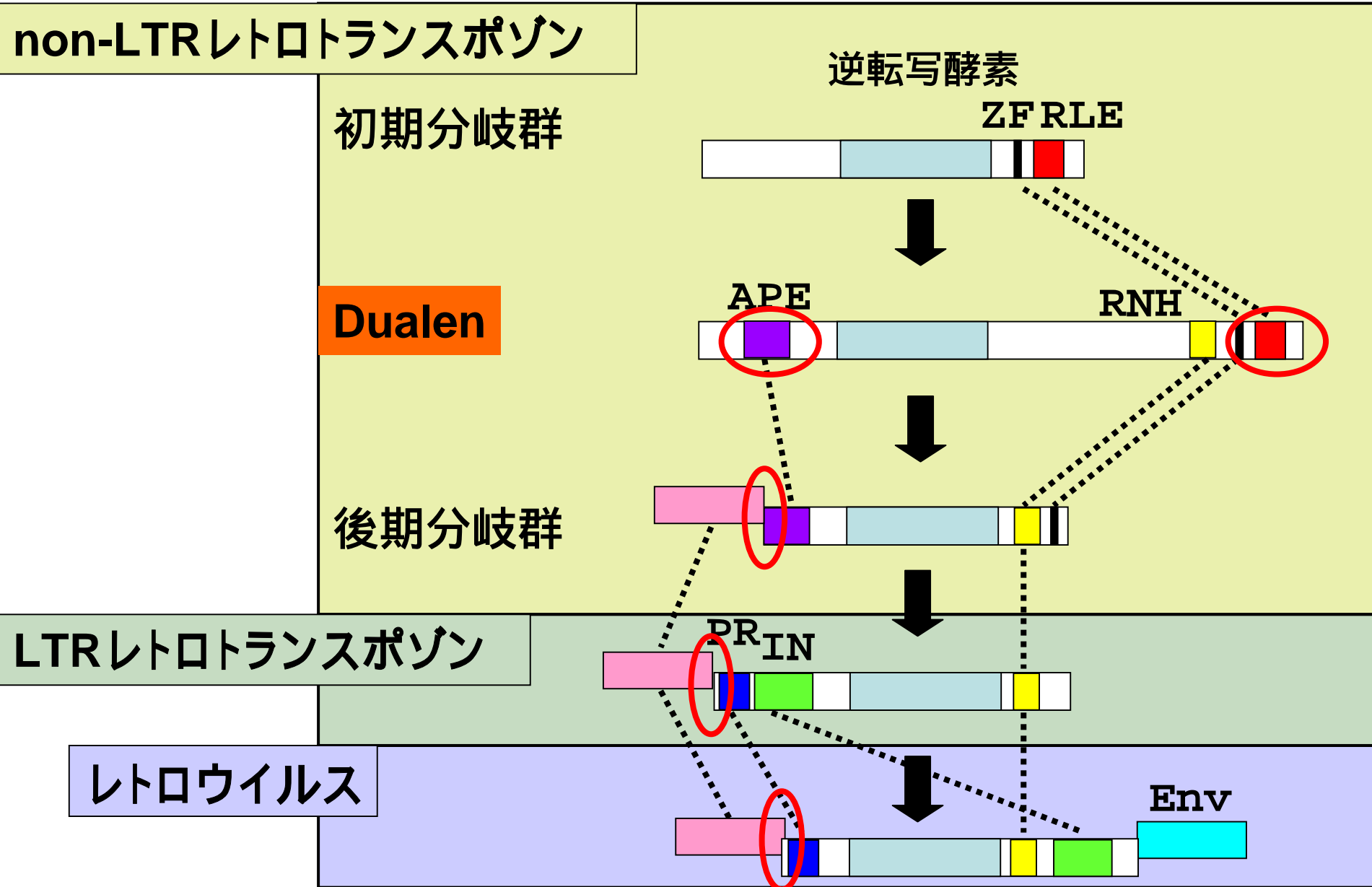
宿主生物種	R2の3'末端の配列	28S rRNA gene
カイコ	TA	AGCCAAATGC
ショウジョウバエ	TA	AGCCAAATGC
ゼブラフィッシュ	TA	AGCCAAATGC
カタユレイボヤ A	TA	AGCCAAATGC
カタユレイボヤ B	TA	AGCCAAATGC
カタユレイボヤ C	TA	AGCCAAATGC
カタユレイボヤ D	TA	AGCCAAATGC
ヌタウナギ	TA	AGCCAAATGC
メダカ A	TA	AGCCAAATGC
アカヒレ	TA	AGCCAAATGC
クサガメ A	TA	AGCCAAATGC
ウミユリ	TA	AGCCAAATGC
マンソン住血吸虫 A	TA	AGCCAAATGC
ミツバチ	TA	AGCCAAATGC
アメリカザリガニ	TA	AGCCAAATGC

R2は幅広い動物門にまたがって分布する

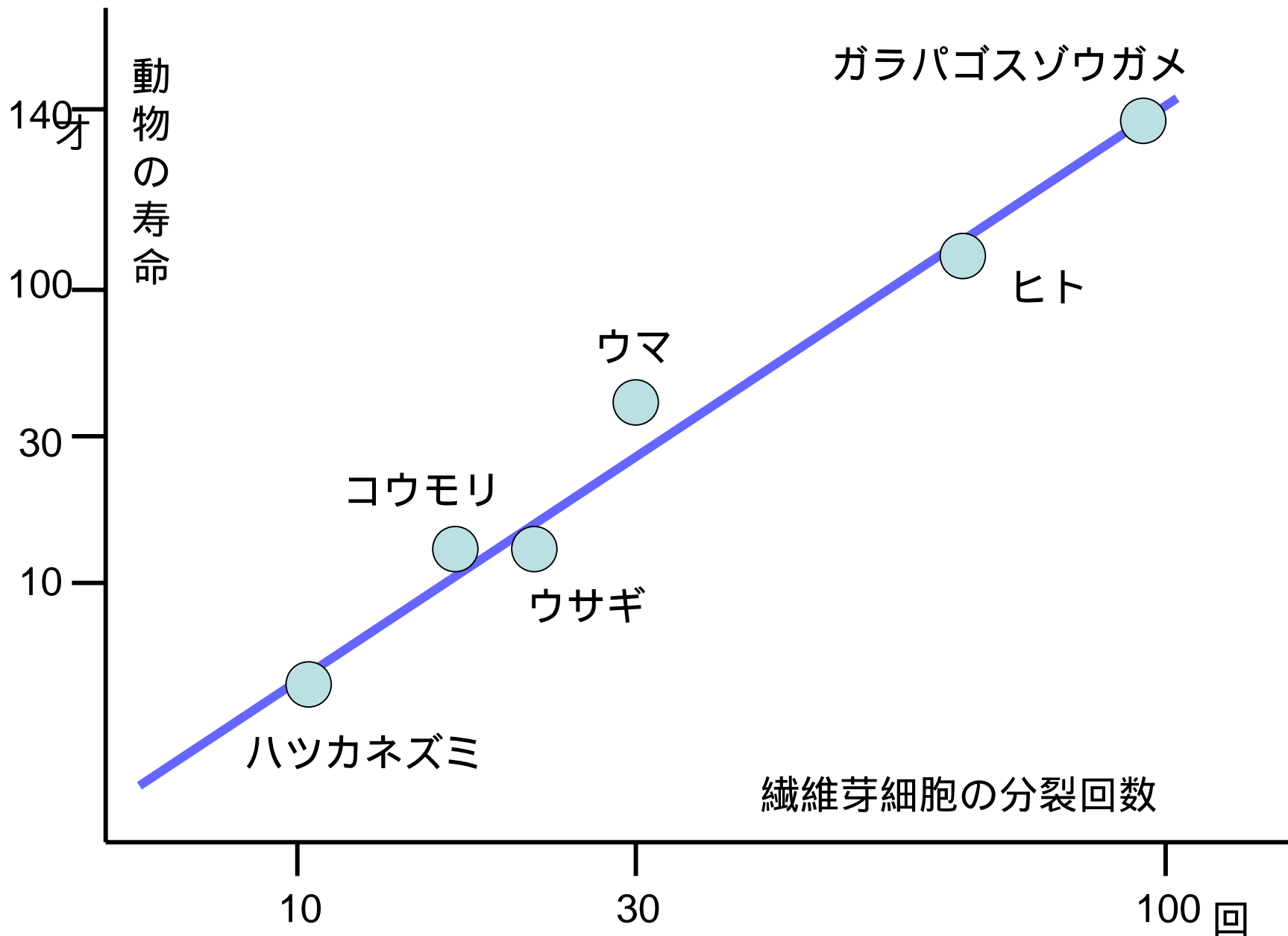
今回新たにR2を発見した生物種

クサガメ	爬虫綱	脊椎動物	脊索動物門
アカヒレ	硬骨魚綱		
ゼブラフィッシュ	硬骨魚綱		
メダカ	硬骨魚綱		
ヌタウナギ	メクラウナギ綱	棘皮動物門	
カタユレイボヤ	ホヤ綱		
ユレイボヤ	ホヤ綱		
トリノアシ	ウミユリ綱	扁形動物門	
マンソン住血吸虫	吸虫綱		
アダンソンハエトリグモ	クモ綱	節足動物門	
アメリカザリガニ	甲殻綱		
アメリカカブトエビ	甲殻綱		
セイヨウミツバチ	昆虫綱		

レトロエレメントの進化の過程を解明しつつある



さまざまな動物の寿命と細胞分裂回数の関係



ヒト細胞の細胞寿命・ガン化とテロメラーゼの関係

テロメア長

15kb

生殖細胞
幹細胞？
テロメラーゼ on

体細胞
テロメラーゼ off

~~P53, RPB~~

不死化ガン細胞
テロメラーゼ on

5-7

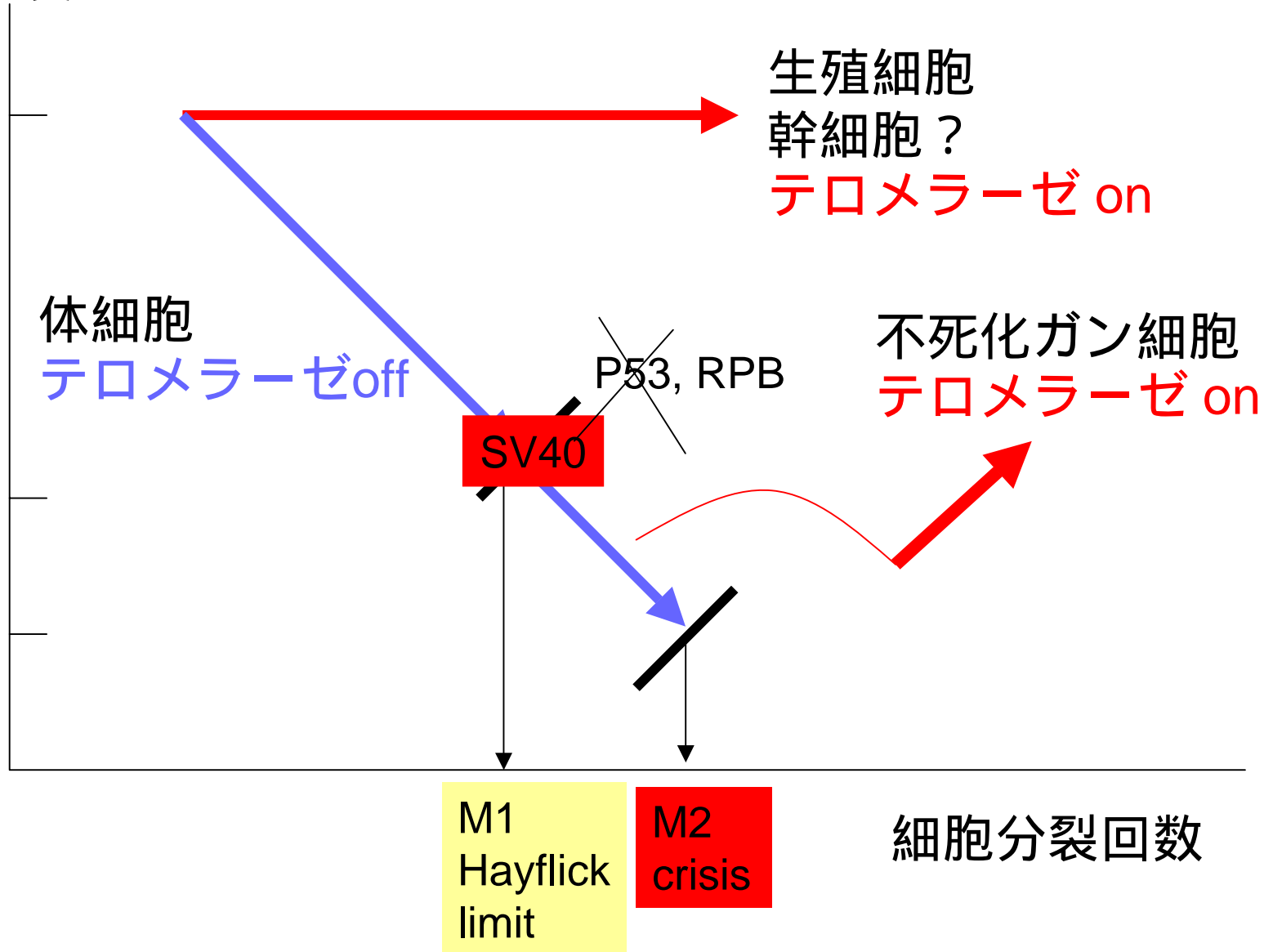
SV40

2-4

M1
Hayflick
limit

M2
crisis

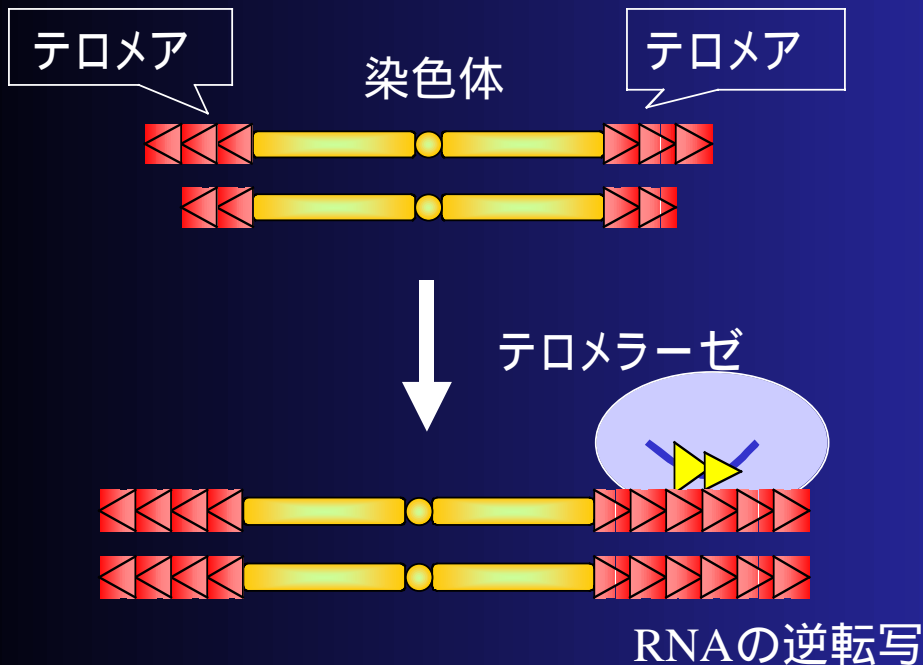
細胞分裂回数



テロメア長は逆転写酵素によって維持される

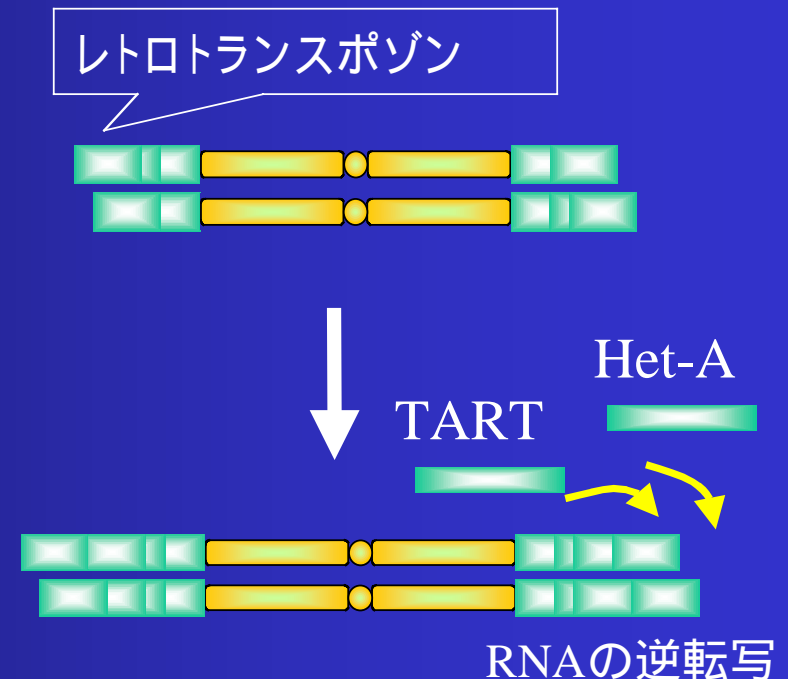
多くの真核生物

テロメア反復配列を末端に持つ
例) ヒト: (TTAGGG)_n



ショウジョウバエ

末端はレトロポゾンで構成される
例) TERT、Het-A



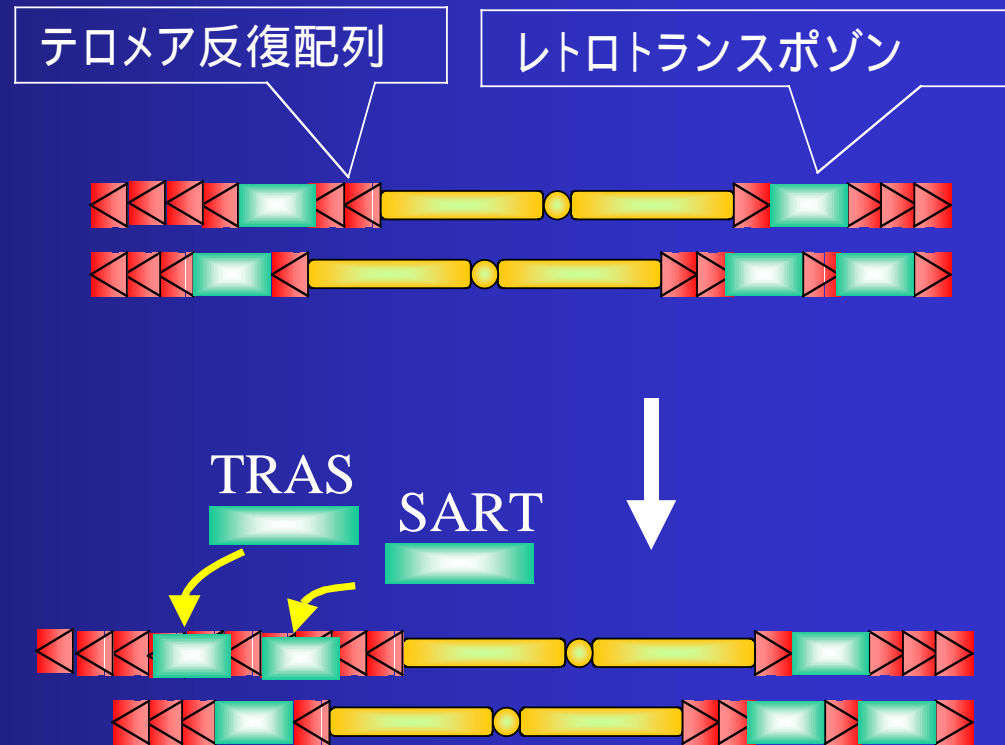
カイコのテロメアには反復配列とレトロポゾンが混在する

カイコ (*Bombyx mori*)

カイコではテロメラーゼ
活性は検出されない
(Sasaki et al. 2000)

レトロポゾンは *in vivo* で
活発に転写されている
(Takahashi et al. 1999)

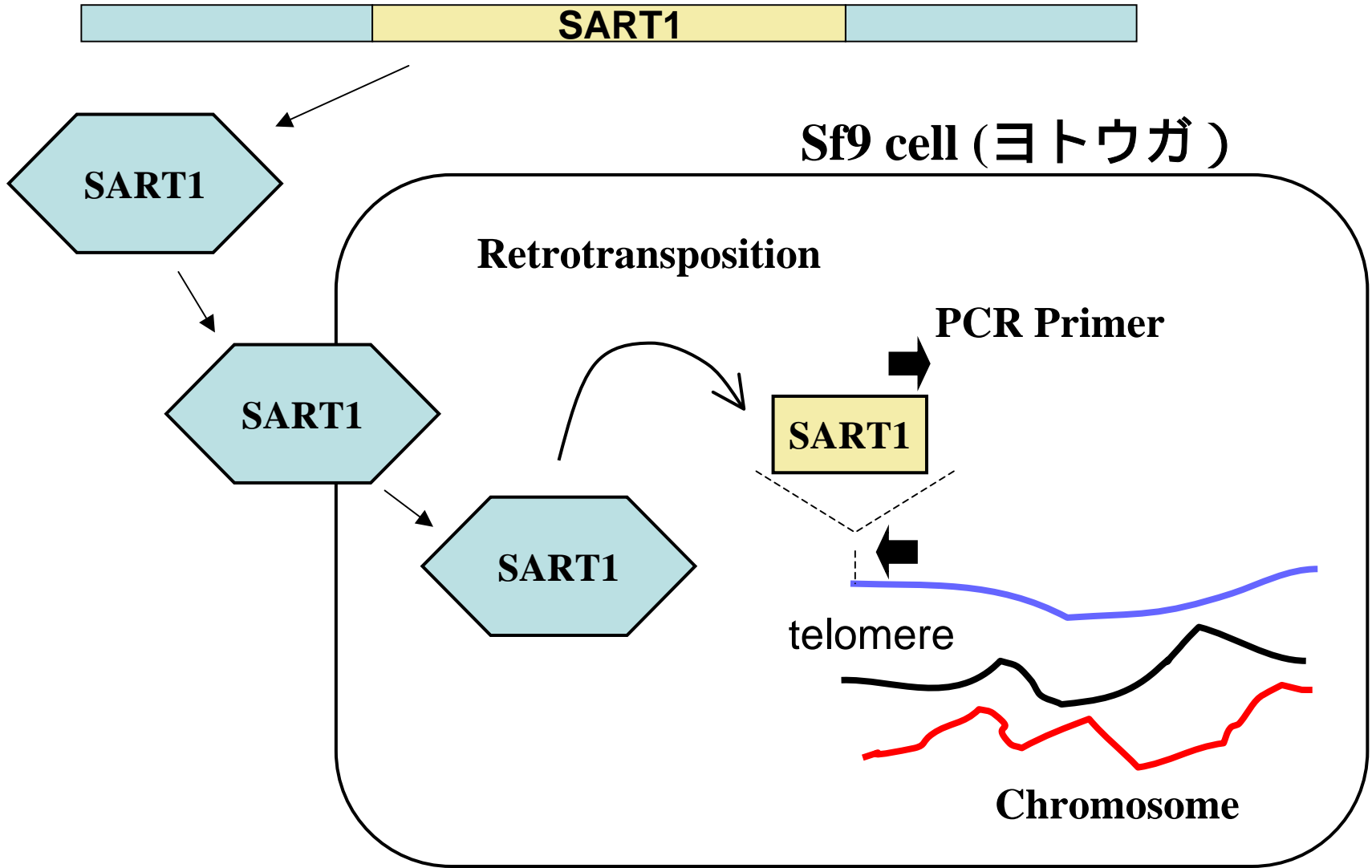
レトロポゾンがテロメア反復配列
に転移することで伸長している？



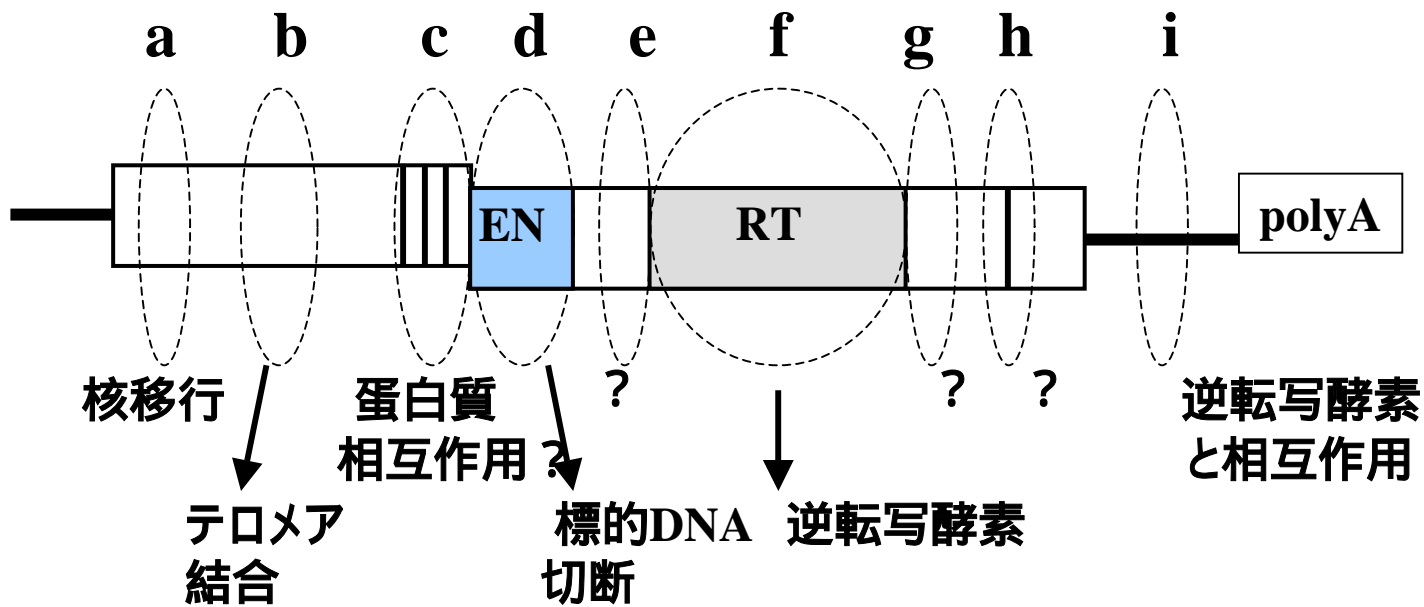
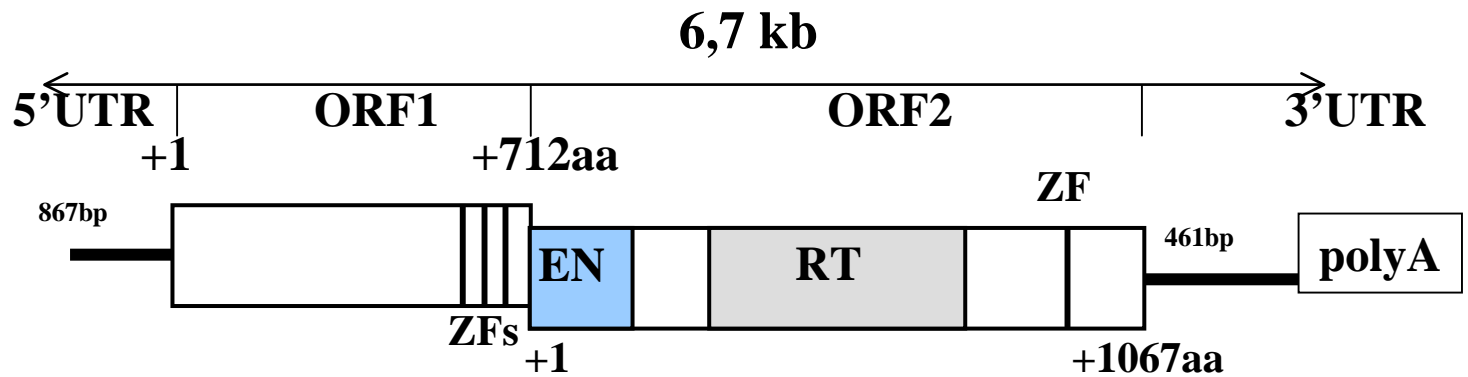
Question

どうやって TRASといったレトロポゾンは
ゲノムの中からテロメアだけを選んで転移するのか？

Baculovirus(AcNPV)



テロメア特異的レトロトランスポゾン細胞内で転移させる



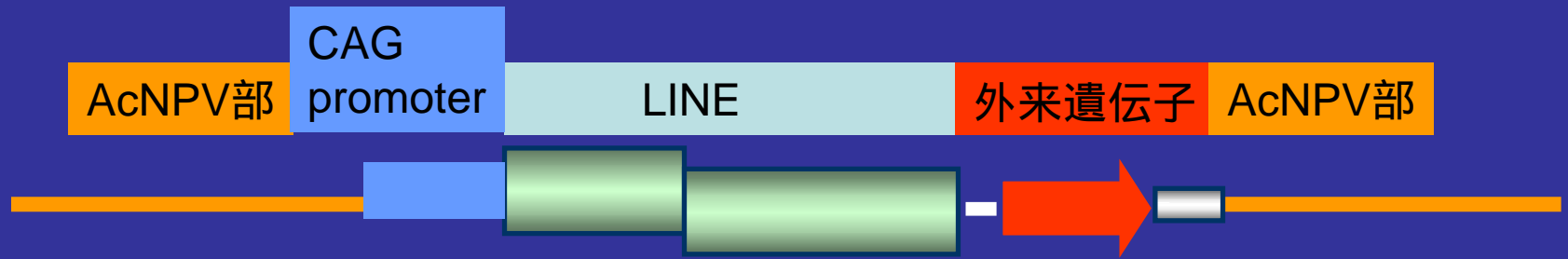
テロメア特異的 LINE/SART1の網羅的機能解析

何故カイコのLINEを遺伝子治療ベクターに使うのか？

1. ゲノムに挿入されるので永続的な遺伝子発現が期待できるが、テロメア特異的に転移するので、非特異的挿入による変異を起こす可能性が低い。
2. AcNPVでLINEを発現させることで、ウイルス感染によりゲノムへの挿入が可能である。
3. AcNPVは極めて広範な宿主域をもち、ヒトにも感染すると報告されている。

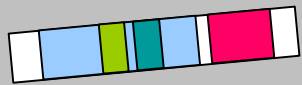
AcNPVとLINEを組み合わせることでこれまでの遺伝子治療ベクターの欠点を解決できる

テロメア特異的LINEをAcNPVに 組み替えた遺伝子治療用ベクター

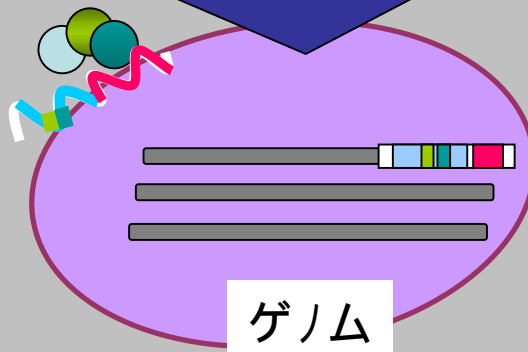


AcNPVでヒト細胞に安全に感染

CAG promoter
などによりLINE
部分のみ発現



テロメア特異的EN
により特定位置
に外来遺伝子挿入



ゲノム