

1. 転移因子, RNAサイレンシング, ゲノム進化

塩見 春彦

慶應義塾大学医学部分子生物学教室

Watson & CrickによるDNA二重らせん構造の解明からちょうど50年を経た2003年にヒトゲノム配列解読の完了宣言がなされたが、このプロジェクトの驚くべき成果の一つは、私達のゲノムの40%以上が転移因子(transposable elements; TE)とその‘残骸’で占められているということであった。他の哺乳類のゲノムでも少なくとも30%以上がTEで占められており、また、ショウジョウバエのゲノムにおいても約27%がTEから構成されている。TEとその残骸は、最近まで、ジャンクや利己的またはパラサイトDNAと見なされ、宿主にとって無駄で役に立たないもの、さらにはむしろ、ゲノム中を転移することで宿主ゲノムに傷をつける可能性があることから、宿主に害を与えるものと捉えられてきた。しかし、最近のゲノム解析から、TEこそがゲノム進化の主役であり、宿主とTEとの間の軍備拡張競争(‘arms race’)の結果がゲノムを形づくって来たことが明らかになりつつある。この軍備競争の宿主側の重要な‘arms’の一つが「RNAサイレンシング」である。TEとRNAサイレンシング機構の間の‘軍備競争’が複雑な遺伝子発現制御を可能にするゲノムの進化をもたらしたという新しいコンセプトが生まれてきた。

はじめに：ヒトゲノムプロジェクトの成果

ゲノム配列が解読された結果、ヒトゲノムの実に40%以上がTE(特にretroelements)とその残骸(進化の過程で変異を蓄積し、既に転移活性を失ってしまったTEおよびそれらTEに由来すると考えられる反復配列)で占められていることが明らかとなった⁵⁾。TEは長い間‘利己的’または‘パラサイト’DNAと見なされ、進化においては、宿主にとって中立であるかまたは害を及ぼすものと考えられてきた。しかし、最近のゲノム解析の結果、TEとその宿主には単なる寄生関係以上の極めて複雑な相互作用が存在することが見えてきた^{3, 6, 15, 16)}。つまり、これらTEとその残骸は宿主ゲノムに様々な変化を生み出し、進化の過程でその変化の中からたまたま宿主の生存に都合の良いものが宿主ゲノム情報発現制御機構に組み込まれてきた(‘co-

option’とか‘exaptation’とか呼ばれる)ことを示唆する結果が次々に報告されている。このようなexaptationの代表例の一つが哺乳類のPeg10という胎盤形成に必須の遺伝子である¹²⁾。この遺伝子は明らかにTEに由来しており、フグでは極めて類似の配列を持つTEが未だにTEとして機能していることがわかっている。このようにTEが遺伝子そのもののソースとして使われるだけでなく、TEが宿主遺伝子の内部や近傍に転移することで新しい制御配列を宿主遺伝子に提供する(宿主側から考えると、そのような挿入があることで「偶然たまたまそれまでより具合が良くなった」)例も見られる。これらの制御配列には転写のプロモーターやエンハンサー配列、スプライシング配列、ポリA付加配列等があり、おそらく、もっと微妙な制御を可能にする配列(mRNAの安定性、翻訳効率、局在化等)も含まれるであろう。

TE：

TEはレトロトランスポソンとDNAトランスポソンに大きく分類され、それぞれ自身のコピーを宿主ゲノムの他の領域に挿入する転移能を有している。TEは細胞外に行かないレトロウイルスの様なものと見なすことができる。TEの転移は時として宿主に取って害のある挿入(たとえば、遺伝子内に転移することでタンパク質コード領域を破

連絡先

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学
医学部 分子生物学教室
TEL : 03-5363-3754
E-mail : awa403@sc.itc.keio.ac.jp

壊したり、制御領域に転移することで遺伝子の発現が大きく変化する)やゲノムの組み換え(たとえば、相同な TE 配列間の組み換え)を引き起こすことになる。特に、生殖細胞系における新たな挿入や組み換えは次世代に伝えられる可能性があるため、生殖細胞系におけるゲノムの「品質管理」は極めて重要である。このため、宿主側は TE の発現を押さえ込むさまざまな仕組みを進化させてきた。その代表例が DNA のメチル化であり、また染色体のヘテロクロマチン化である。最近の研究成果から、RNA サイレンシング機構が TE、特にレトロトランスポソンの抑制に関わる重要な生体防御機構の一翼を担っていることが明らかになってきた^{15,16)}。

RNA サイレンシング:

最近、RNAi (RNA 干渉) に代表される 20 ~ 30 塩基長の小分子 RNA が鍵となる遺伝子発現制御メカニズムが動植物で次々に明らかとなり、このような機構は包括的に RNA サイレンシングと呼ばれるようになった^{14,17)}。RNAi は Fire, Mello らにより 1998 年に発表された 2 本鎖 RNA により誘導される配列特異的な遺伝子発現抑制機構である。RNAi において、2 本鎖 RNA は Dicer により siRNA と呼ばれる約 22 塩基長の小分子 RNA にプロセスされ、この小分子 RNA がその核酸配列の相補性を利用することで、Argonaute タンパク質を中核とする作動複合体 (RISC: RNA induced silencing complex) を標的 mRNA にターゲットする。標的 RNA は Argonaute タンパク質が有する RNase H 様の endonuclease 活性 (Slicer 活性と呼ばれる) を用いて切断され、その後、分解される。したがって、siRNA は遺伝子発現を特異的に抑制するガイド分子として機能する¹⁷⁾。

RNAi 研究の進展に伴い、私達の細胞には RNAi と良く似た分子経路が幾つか存在することが明らかとなってきた。その一つが microRNA (miRNA) 経路である¹⁴⁾。既に線虫において見つかった発生の時間軸を制御する翻訳阻害性小分子 RNA let-7 (21 塩基長) がショウジョウバエやヒトにおいてもゲノムにコードされ発現しているという 2000 年の発見が契機となり¹³⁾、類似の小分子 RNA の探索から miRNA が様々な生物種で見いだされた。miRNA は、siRNA と同様、Argonaute 蛋白質と RISC 複合体を形成し、標的 mRNA の分解や翻訳抑制を引き起こすことで、細胞増殖、細胞死、細胞運命系譜決定、幹細胞維持、発生段階の時間的制御等、様々な生物学的プロセスに関与していることが明確になってきた。ヒトでは既に 500 以上の miRNA が同定されており、さらに、コンピュータを用いた解析では数千から数万の miRNA 遺伝子がヒトゲノムに存在することが予想されている。また、ヒトのタンパク質をコードする遺伝子の 30 % 以上の発現が、これら miRNA の制御下にあると見積もられている。これは miRNA の標的部位が

全て mRNA の 3' 非翻訳領域 (UTR) に存在するというシバリをかけた場合の数値であるが、最近、miRNA の標的部位は 3' UTR のみならず 5' UTR にも存在することが報告されている⁹⁾。もしかしたら、miRNA の標的部位はタンパク質コード領域にも存在するかもしれない。これらの結果と予想は、全く思いもよらなかった制御ネットワークの階層が存在することを示唆する。興味深いことに、多くの miRNA とその標的部位が TE 配列から進化してきたことが示唆されている⁶⁾。たとえば、TE 反復配列が head-to-head に配置された場合を想定すると、これが進化の過程で変異を蓄積し、その結果、その領域からの転写産物が miRNA 前駆体様のヘアピン構造を取るようになることが考えられる。一方、同種の TE がゲノム中の他の領域にも存在すれば、それらに変異を蓄積していく過程で、TE 由来の miRNA の標的部位にもなると考えられる。

一方、私達のゲノムには、miRNA 以外にも類似の小分子 RNA である内在性 siRNA や piRNA (次項参照) が膨大な数、少なくとも数十万種、おそらく百万種以上、コードされていることも分かってきており、これらがゲノムの品質管理やクロマチン修飾、さらにはテトラヒメナで見られる様なゲノムのスキミングと再編成にも関与している可能性が出てきている。しかもこれら多くの小分子 RNA のソースが TE である。つまり、私達の細胞は TE に由来する多種多様なしかも膨大な数の小分子 RNA を発現していることになる。先に述べたように、このような小分子 RNA は Argonaute タンパク質と複合体 (1 分子の小分子 RNA と 1 分子の Argonaute) を形成し、標的に作用する。

RNA サイレンシング機構による TE の抑制:

生殖細胞系における新たな挿入や組み換えは次世代に伝えられる可能性があるため、生殖細胞系における TE の制御は極めて重要である。ショウジョウバエの遺伝学的な解析から、ハエ生殖細胞系における TE の抑制には生殖細胞特異的に発現している Argonaute タンパク質である Piwi と Aubergine (Aub) が関与していることが知られていた。ショウジョウバエには 5 種類の Argonaute タンパク質が存在し、これらは生殖細胞特異的に発現する PIWI サブファミリー (AGO3, Aub, Piwi) と体細胞を含むほぼ全ての細胞で発現している AGO サブファミリー (AGO1, AGO2) に分類される。PIWI サブファミリータンパク質と直接相互作用する RNA の探索から、miRNA や siRNA より少しサイズの大きな小分子 RNA (24 ~ 29 塩基長) がこれらタンパク質と強固に結合していることが明らかとなった。最近、このような小分子 RNA は piRNA (Piwi-interacting RNA) と総称される。piRNA の多くが各種 TE、特にレトロトランスポソンに由来する。しかも、AGO3 に結合する piRNA の多くがそれら TE のセンス鎖に由来しており、一方、Aub と Piwi に結合する piRNA の多くがアンチセンス

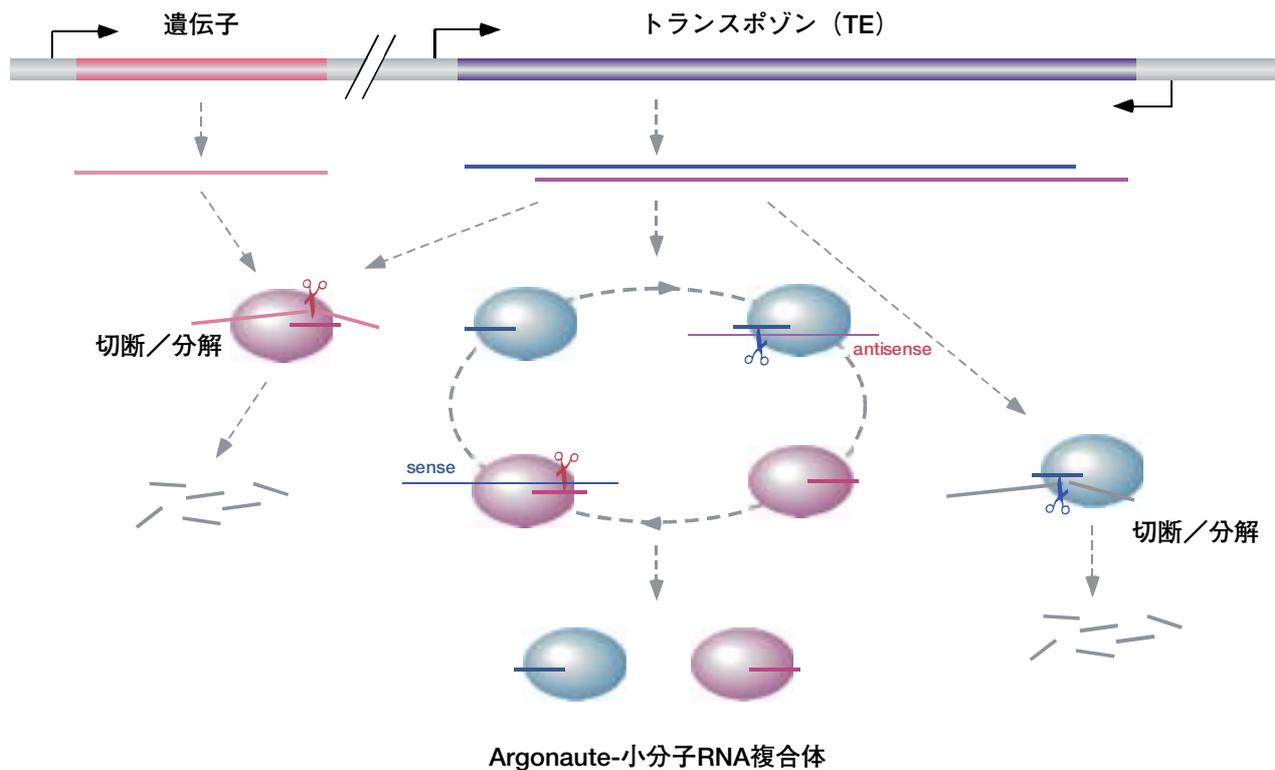


図1 Argonaute-小分子RNA複合体によるトランスポゾン (TE) の抑制

ゲノムのTEおよびその残骸領域は両方向から転写されており、センス鎖およびアンチセンス鎖転写産物がつくられる。これらセンス鎖およびアンチセンス鎖からDicer依存的または非依存的に小分子RNAが生成され、それらは特異的なArgonauteタンパク質と複合体を形成する。Argonauteタンパク質は一般にSlicer活性 (RNase H様のendonuclease) を持ち、小分子RNAがガイドする標的RNAの切断を行う。いったん、TEセンス鎖由来の小分子RNAとアンチセンス鎖由来の小分子RNAが生成され、Argonauteによる切断が始まると、TEおよびそのTEと部分的に相同な配列を持つ転写産物の切断も起こる。TEと部分的に相同な配列を持つ転写産物には、染色体の他の領域に存在するTEやTEの残骸のみならず、細胞の遺伝子からの転写産物も含まれる。

鎖に由来していた。また、PIWIサブファミリータンパク質はそれぞれSlicer活性を有していることから、piRNA-PIWIサブファミリータンパク質複合体はpiRNAの配列情報に基づいて、TE転写産物のセンスまたはアンチセンス鎖に結合し、それらを切断することでTEの発現を抑制すると考えられている^{2,4)}。さらに、piRNAはDicer非依存的に生成され、このTE転写産物の切断反応そのものがpiRNA生合成の一環でもあることが明らかとなった。つまり、piRNA-PIWIサブファミリータンパク質複合体によるTE転写産物の切断はpiRNAの生合成と共役しているというモデルが提唱されている^{2,4)} (図1)。マウス精巣においても同様に、piRNA-PIWIサブファミリータンパク質複合体がTEの発現抑制に関与している。ただし、マウスの場合、piRNA-PIWIサブファミリータンパク質複合体はDNAメチル化をとおしてTEの抑制に働いているようである^{1,8)}。

piRNAの中にはTEだけでなく細胞遺伝子のmRNAの一部と高い相補性を示すものがあり、実際、そのような

mRNAはpiRNA-PIWIサブファミリータンパク質複合体により切断される¹¹⁾。したがって、piRNAは単にTEの抑制のみならず、細胞遺伝子の発現制御にも関与している可能性が出てきた。これはTEとRNAサイレンシング機構の間の'軍拡競争'の過程で生じたexaptationの一例と考えることができるかもしれない。また、ショウジョウバエPIWIサブファミリータンパク質は生殖細胞系列を通して直接母親からその子孫に伝えられる為、'TE抑制シグナル'となるpiRNAや特定遺伝子の制御に関する'記憶'となるpiRNAが世代間を伝播していく可能性がある。

長い間TEの活動は生殖細胞系に限定されていると思われていたが、最近、ある種の体細胞 (たとえば、神経前駆体細胞) においても転移活性が高いことが明らかとなった¹⁰⁾。このような体細胞におけるTEの転移は、個々の細胞に挿入箇所の違いによる遺伝子発現の変化を生み出し ('somatic mosaicism'), 細胞の多様性を生み出していると考えられている。また、最近のゲノム機能解析から、私達のゲノムは

コード非コード領域に関係なく全体の少なくとも80%が転写されていることも判明した。つまり、体細胞においてもTEを含むゲノム領域は転写されており、ある種のTEは転移することがあるらしい。さて、それでは体細胞において、TEはどのような機構で抑制されているのであろうか？ ショウジョウバエAGOサブファミリーArgonauteであるAGO2と体細胞において相互作用する小分子RNAが解析された結果、これらはpiRNAと同様各種TEに由来していた。しかし、piRNAと異なりそのサイズは21塩基長程であった。また、生合成経路も異なりDicer依存的に生成される。したがって、その性状から内在性のsiRNA (endogenous siRNA: esiRNA) と呼ぶことができる。これらesiRNAはAGO2と結合し、AGO2の持つSlicer活性を使うことでTE転写産物を切断することが判明した⁷⁾。したがって、ショウジョウバエ体細胞ではesiRNA-AGO2複合体がTEの発現抑制に関与している。ヒト体細胞においても同様な機構が働いているらしい¹⁸⁾。また、今後の解析からesiRNAの中には細胞の遺伝子を制御しているものが見つかるともかもしれない。

最後に：

TE との間の軍拡競争の宿主側の重要な'arms'の一つが「RNAサイレンシング」であることが明らかになってきた。ただし、そこに関わる役者 (Argonaute と小分子RNA) が生殖系細胞と体細胞では違うことも明らかになってきた。また、宿主にとってTEはゲノムに変化をもたらす重要な因子であるが、転移活性が高すぎると細胞死を招き、時に個体の存続を危うくする。一方、寄生するTEにとっても宿主の死はTE自身の死でもある。したがって、宿主とTEとの間の軍拡競争は微妙なバランスの上に成り立っていると考えられる。このバランスが変化することで新しいTEの挿入が生まれ、またある場合にはある細胞集団にmosaicismを引き起こす。偶然、この中に宿主の生存にとって都合の良いものがある場合、それは使われ始め生き残る。進化の過程でこれが繰り返されることで現在の私達のゲノムが形づくられてきたのかもしれない。

文 献

- 1) Aravin AA, Sachidanandam R, Girard A, Fejes-Toth K, Hannon GJ: Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control. *Science*, 316: 744-747, 2007.
- 2) Brennecke, J. et al: Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*. *Cell*, 128: 1089-1103, 2007.

- 3) Feschotte C. Transposable elements and the evolution of regulatory networks. *Nat Rev Genet*. 9:397-405, 2008.
- 4) Gunawardane LS. et al: A Slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*. *Science*, 315: 1587-1590, 2007.
- 5) International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921, 2001.
- 6) Jurka J, Kapitonov VV, Kohany O, Jurka MV: Repetitive sequences in complex genomes: structure and evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 8: 241-259, 2007.
- 7) Kawamura Y. et al. *Drosophila* endogenous small RNAs bind to Argonaute2 in somatic cells. *Nature* 453: 793-797, 2008.
- 8) Kuramochi-Miyagawa S. et al. DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes. *Genes Dev*. 22:908-917, 2008.
- 9) Lytle JR, Yario TA, Steitz JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104: 9667-9672, 2007.
- 10) Muotri A.R. et al.: Somatic mosaicism in neuronal precursor cells mediated by L1 retrotransposition. *Nature*, 435: 903-910, 2005.
- 11) Nishida K.M. et al: Gene silencing mechanisms mediated by Aubergine piRNA complexes in *Drosophila* male gonad. *RNA*, 13: 1911-1922, 2007.
- 12) Ono R. et al. Deletion of Peg10, an imprinted gene acquired from a retrotransposon, causes early embryonic lethality. *Nat Genet*. 38:101-106, 2006.
- 13) Pasquinelli AE. et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408:86-89, 2000.
- 14) Siomi H, Siomi MC. Expanding RNA physiology: microRNAs in a unicellular organism. *Genes Dev*. 21:1153-6, 2007.
- 15) Siomi H, Siomi MC. Interactions between transposable elements and Argonautes have (probably) been shaping the *Drosophila* genome throughout evolution. *Curr Opin Genet Dev*. 2008 Feb 27. [Epub ahead of print]
- 16) Slotkin RK, Martienssen R: Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet*, 8: 272-285, 2007.
- 17) Tomari Y, Zamore PD: Perspective: machines for RNAi. *Genes Dev*, 19: 517-529, 2005.
- 18) Yang N, Kazazian HH Jr. L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells. *Nat Struct Mol Biol*. 13:763-771, 2006.

Transposable elements, RNA silencing, and their impacts on the genome throughout evolution

Haruhiko SIOMI

Department of Molecular Biology
Keio University School of Medicine
35 Shinanomachi, Shinjuku-ku
Tokyo, JAPAN 160-8582
Tel: 81-3-5363-3754
awa403@sc.itc.keio.ac.jp

It is remarkable to consider that more than 40% of the human genome is comprised of transposable elements (TEs) and their relics. TEs were long thought of as either ‘selfish’ or ‘parasitic’ DNA elements that were there not for the sake of the host organism, but for their own sake in an evolutionary sense; thus they were considered to be either neutral or deleterious to their hosts. However, it is becoming increasingly clear that there are more complex interactions between TEs and their hosts than strict parasitism; these elements produce changes that have a broad range of fitness values at an organismal level. Recent evidence indicates that these elements confer a fitness benefit to the host more frequently than previously recognized. RNA silencing is thought to have evolved as a form of nucleic-acid-based, and thus sequence-directed, immunity to block the action of viruses and TEs. Host-parasite interactions are typically associated with rapid evolution because of a permanent antagonistic relationship resembling an “arms race” in which parasite adaptations are countered by host adaptations. Complex interactions between TEs and RNA silencing machineries have been co-opted to regulate cellular genes.

