

2. ゲノムウイルス学： 内在性 RNA ウイルスの発見とその進化的意義の解析

朝長 啓造

京都大学ウイルス研究所
ヒトがんウイルス研究分野

ハワード・テミンが提唱した DNA プロウイルス仮説に始まるゲノムウイルス学は、生物ゲノムの多様性と進化におけるレトロウイルスの役割について多くの知見を明らかにしてきた。一方、私たちはヒトをはじめとする多くの哺乳動物のゲノムに、逆転写酵素を持たないマイナス鎖 RNA ウイルスであるボルナウイルスの遺伝子断片が内在化していることを発見した。その後、さまざまな非レトロウイルス型ウイルスの内在化が報告され、生物のゲノムにはこれまでに考えられていた以上にウイルス由来の配列が存在することが明らかとなった。本稿は、2011 IUMS 国際ウイルス会議・第59回日本ウイルス学会学術総会で講演した内容をもとに、内在性ボルナウイルス因子の発見と動物ゲノムにおける内在性ウイルス因子の存在意義について、最近の知見を交えながら考察を行うものである。

1. はじめに

ノーベル生理学・医学賞を受賞したハワード・テミンが1964年に提唱した DNA プロウイルス仮説^{1,2)}は、「RNA 腫瘍ウイルスは DNA に変換されて、宿主染色体に取り込まれる過程を介して増殖する」というものであった。セントラルドグマに反するこの仮説は、一般的にはすぐには受け入れられなかったものの、1970年前後より相次いだ内在性レトロウイルスの発見³⁻⁵⁾やテミンそしてバルティモアらによる逆転写酵素の発見^{6,7)}を通じて、その発想の妥当性は証明されていった。DNA プロウイルス仮説はウイルスと生物ゲノムとのつながりを示唆した最初のものであり、その後のレトロウイルス研究に大きな影響を与えることになった。

私たちのゲノムにレトロウイルスに由来する配列が数多く存在することは、今日ではよく知られた事実である。ヒ

トゲノムでは、タンパク質へと翻訳される可能性を持つ遺伝子領域は全体の約1.5%に過ぎない。一方、化石化したレトロウイルスのゲノムがコードされている領域は8%にも及ぶことがわかっている^{8,9)}。マウスではゲノムの約10%がレトロウイルス由来である^{8,9)}。これまでに、ヒトゲノムには内在性レトロウイルス (human endogenous retrovirus: HERV) が約98,000カ所、LTR型レトロトランスポゾンが約158,000カ所に組み込まれていることが判明している¹⁰⁾。これらの多くは、生殖細胞系列での転移や遺伝子重複により形成されたと考えられているが、異なるタイプのレトロウイルスに由来する HERV も数多くの存在している。このことは、私たちが進化の過程で幾度となくレトロウイルスの感染を経験してきたことを意味している。

ゲノムに占める割合からも明らかのように、レトロウイルスはゲノム進化の大きな推進力である。また、内在性レトロウイルスは生物の進化と成り立ちを知る上でもきわめて貴重な道具となっている。テミンが提唱した DNA プロウイルス仮説に始まるゲノムウイルス学は、ウイルスと生物の共進化を明らかにするだけでなく、近年ではエピジェネティクスを介したゲノムの制御機構の解明など、生命の本質に迫る研究にも大きく寄与している^{11,12)}。

内在性レトロウイルスの発見以来、ゲノムに内在化しているウイルスはレトロウイルスのみであると信じられてきた。しかしながら、近年私たちは、ヒトをはじめとする多

連絡先

〒606-8507
京都府京都市左京区聖護院川原町 53
京都大学ウイルス研究所ヒトがんウイルス研究分野
TEL: 075-751-3997
FAX: 075-751-4000
E-mail: tomonaga@virus.kyoto-u.ac.jp

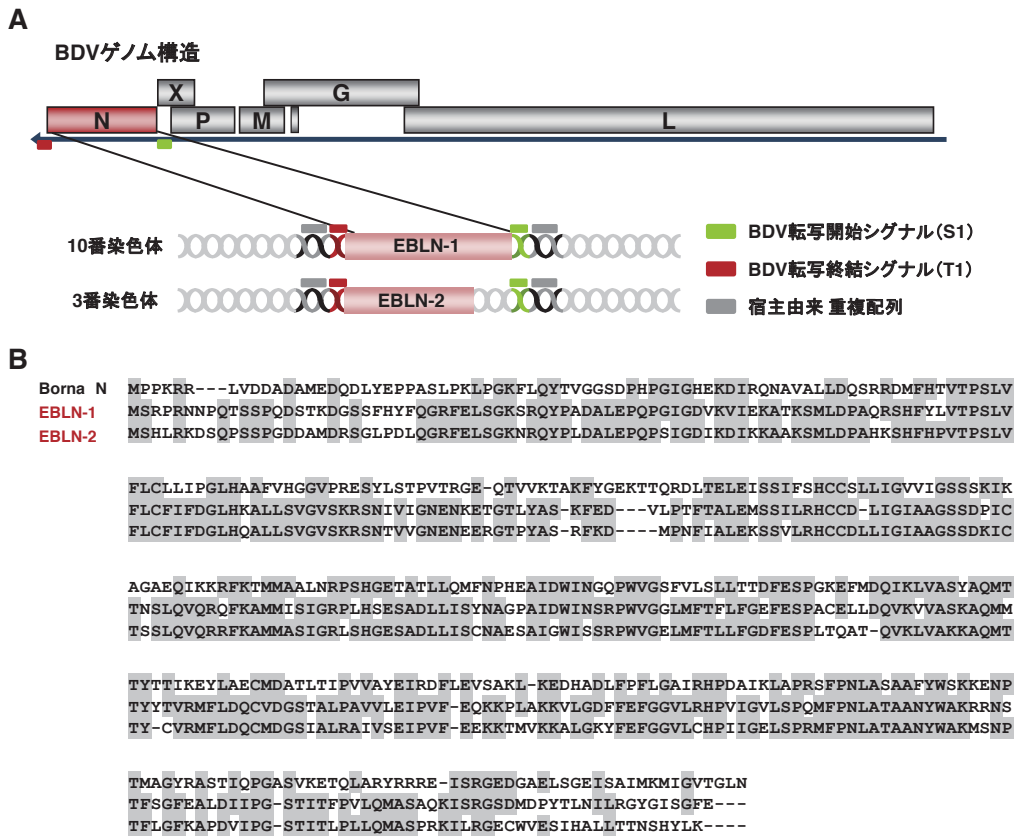


図1 ヒトゲノムで見つかった内在性ボルナウイルス様ヌクレオプロテイン EBLN.

A. BDVのゲノム構造とEBLN. EBLNの両末端にはボルナウイルス特異的な転写シグナルと宿主由来の重複配列が存在する.
 B. BDV Nとヒト由来EBLNのアミノ酸配列の同源性比較. 同一アミノ酸を網掛けで示している.

くの哺乳動物のゲノムにマイナス鎖RNAウイルスであるボルナウイルスのヌクレオプロテイン (N) 遺伝子と高い同源性を示す配列が存在することを明らかにした^{13,14)}. 内在性ボルナウイルス様ヌクレオプロテイン (Endogenous bornavirus-like nucleoprotein: EBLN) と名付けられたこのウイルス化石は、長いコーディング領域 (ORF) を保持するとともに、mRNAとして発現していることが示されている¹³⁾. EBLNの発見を皮切りに、その後、多種多様なウイルスの内在化が報告され¹⁵⁻²¹⁾、私たちのゲノムにはこれまでに考えられていた以上にウイルスに由来する配列が多く存在することが明らかとなった。これら非レトロウイルス型の内在性ウイルスの発見は、生物進化におけるウイルス感染の役割について新たな考察が必要なことを示唆している。

本稿は、2011 IUMS 国際ウイルス会議・第59回日本ウイルス学会学術総会で講演した原稿をもとに、EBLNの発見と進化系統学解析、そしてヒトゲノムに存在するEBLNの意義についてまとめたものである。なお、講演で使用した未発表データを含む内容についてはここでは割愛させて

頂くことをご了承願いたい。

2. EBLNの発見

レトロウイルス以外にも動物ゲノムに組み込まれるRNAウイルスの存在は古くより報告されていた^{22,23)}。しかしながら、今世紀に入ってもなお系統的な内在化については明らかになっていなかった。筆者は、1990年代に留学先であるボストンのタフツ大学で内在性レトロウイルスの解析に従事していた経験から、非レトロウイルスの内在化についても大きな関心があった。ボルナウイルスは細胞核で持続感染するというきわめて特異な性状を持つRNAウイルスである^{24,25)}。そこで筆者は、ボルナウイルスが何らかの宿主タンパク質の機能を擬態することで核内感染を維持しているのではないかと考え、哺乳類に感染するボルナウイルスであるボルナ病ウイルス (Borna disease virus: BDV) のタンパク質と同源性を有する宿主因子の検索を行った。その結果、驚くことにヒトゲノムにBDVのNタンパク質ときわめて高い同源性を示す予測タンパク質が3番染色体と10番染色体の2ヶ所に存在することが判

表1 ヒトゲノムにおける EBLN 配列

EBLN	染色体	BDV N 相同部位	Blast E-Value / 相同性	ORF (aa)
EBLN-1	Chr. 10	28-349	2E-65 / 41%	336
EBLN-2	Chr. 3	24-319 280-331	7E-40 / 33% 3E-07 / 48%	225
EBLN-3	Chr. 9	37-217 150-331	2E-15 / 34% 3E-30 / 40%	—
EBLN-4	Chr. 17	70-267 293-331	4E-31 / 35% 4E-31 / 46%	109
EBLN-5	Chr. 1	196-274 271-321	1E-08 / 30% 1E-08 / 29%	—
EBLN-6	Chr. 11	222-323	1E-05 / 30%	184
EBLN-7	Chr. 10	227-323	1E-05 / 31%	—

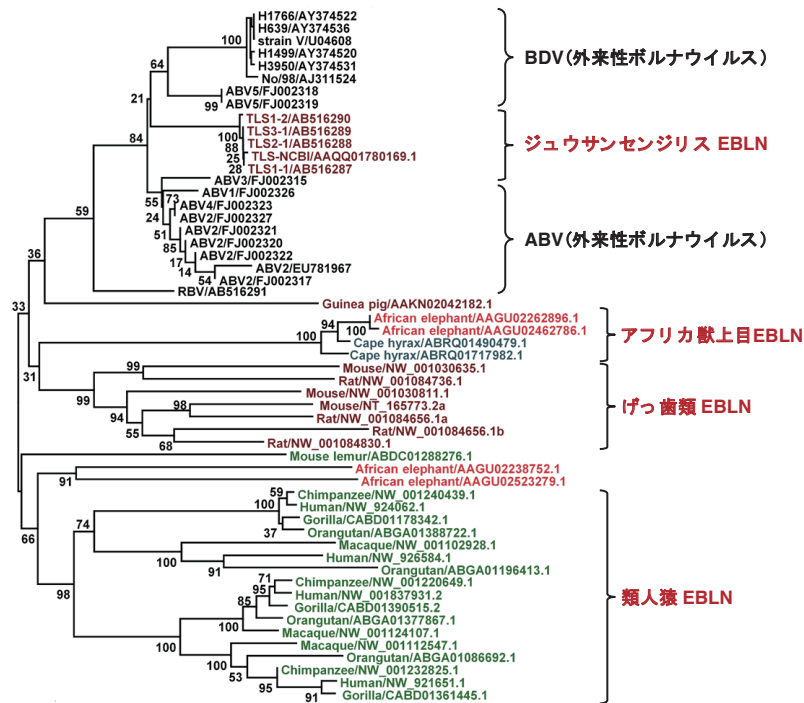
明した (図 1A)¹³⁾. どちらの予測タンパク質も BDV N タンパク質とのアミノ酸での一致率が 41% と高い相同性を示した (図 1B). また, これらの予測タンパク質に隣接する領域の塩基配列には S1, T1 という BDV の転写関連シグナル配列が存在し, BDV ゲノムの構造と酷似していることが明らかとなった (図 1A). 詳細な遺伝学的解析により, これらの遺伝子は BDV の N タンパク質と同じ起源を持つことが明らかとなり EBLN (EBLN-1 および EBLN-2) と命名した. さらに, ヒトゲノムを詳細に解析した結果, 私たちのゲノムには少なくとも 7ヶ所に EBLN 配列が存在していることが明らかとなった (表 1)¹⁴⁾. これら 7つの EBLN 配列は, その配列構造より, それぞれ個別の感染により形成されたと考えられている.

次に, ヒト以外の動物のゲノムにも EBLN が存在する可能性を確かめるために, 真核生物のゲノムデータベースを用いた検索を行った. その結果, 原猿類を含む霊長類, マウス, ラットやジウサンセンジリスなどのげっ歯類, ゾウやハイラックスなどのアフリカ獣上目動物, コウモリ, さらに有袋類であるオポッサムなど, さまざまな哺乳類のゲノムに EBLN が存在することが明らかとなった^{13,14)}. 系統樹解析の結果, 哺乳類で見つかった EBLN は, それぞれの生物系統において独立して形成されたことが示された (図 2). 興味深いのは, 北米大陸原産でリス科に属するジウサンセンジリス由来の EBLN は, 現存する BDV の N 遺伝子とアミノ酸で 77% ときわめて相同性が高く, 系統樹で同じクラスターを形成したことである (図 2). このことは, ジウサンセンジリスのゲノムがきわめて近年に EBLN を獲得したことを示唆している.

3. ボルナウイルスの逆転写とインテグレーション

レトロウイルスは, その複製において自身が持つ逆転写酵素によりウイルスゲノム RNA を DNA へと変換させ, 宿主染色体へとインテグレーションさせる過程をとる. このため, 生殖細胞系への感染を考えたときに, レトロウイルスの内在化は比較的考えやすい. 私たちが発見した EBLN は, 太古に感染したボルナウイルスの N 遺伝子が内在化したものと考えられた. しかしながら, マイナス鎖 RNA ウイルスであるボルナウイルスは過去においても逆転写酵素を有していなかったと考えられる. それでは, ボルナウイルスに由来する RNA がどのように DNA に変換され, 宿主ゲノムへとインテグレーションされるのだろうか. この疑問を解決するため, 私たちは外来性 BDV を用いた実験を行った. まず, BDV が持続感染した細胞におけるウイルス特異的 DNA の存在を解析した. その結果, さまざまな種類の持続感染細胞中に BDV ゲノムに特異的な DNA 断片が検出された¹³⁾. さらに, BDV ゲノム上に複数のプライマーを設計し PCR を行ったところ, 検出された DNA は, BDV の mRNA を鋳型として合成されていることが示された.

次に, 培養細胞で検出された BDV 特異的 DNA が細胞のゲノムにインテグレーションされているのかを検討するため, Alu-PCR 法を用いた解析を行った. その結果, BDV が持続感染した細胞では, 少なくとも一部の細胞において BDV DNA がインテグレーションしていることが明らかとなった¹³⁾. インバース PCR 法を用いた解析により, 培養細胞における BDV DNA の組み込み配列の特徴として, BDV mRNA の転写開始部位からインテグレーションが確認されること, そして, 転写終結部位からポリ A 配列が続く配列が多くの場合存在することが示された. ま



(文献13より改変)

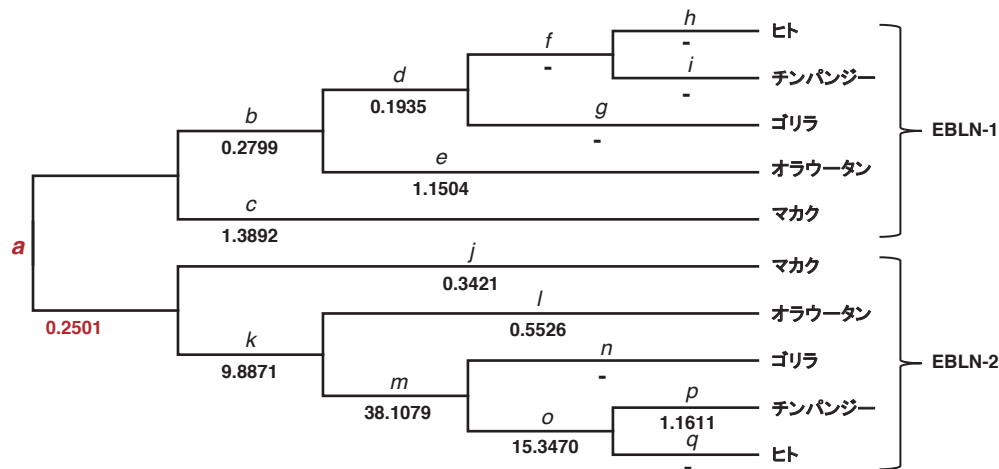
図2 外来性ボルナウイルス N 遺伝子と哺乳類 EBLN の進化系統樹。
近隣結合法にて作成を行った。

た、インテグレーションされた BDV DNA 配列の両端には宿主ゲノムに由来する重複配列も観察された。インテグレーションされた BDV の配列および隣接する宿主の重複配列の特徴から、BDV mRNA のインテグレーションに非 LTR 型レトロトランスポゾンである LINE-1 (Long interspersed nuclear element-1) が関与する可能性が示された¹³⁾。LINE-1 は逆転写酵素をコードしており、転写された自身の mRNA を逆転写し、ゲノム内を転移する。また、LINE にコードされている逆転写酵素は、稀に他の遺伝子の mRNA を鋳型にして、逆転写とゲノムへの挿入を引き起こすことも知られている^{26,27)}。LINE の逆転写酵素によってインテグレーションした典型的な DNA 配列の特徴として、1) 5' 末端は mRNA の転写開始部位が含まれること、2) 3' 末端にはポリ A 配列を持つこと、そして 3) 隣接する重複配列が見られること、の3つが挙げられる。これらの特徴は我々が突き止めた BDV mRNA のインテグレーションの特徴と一致する。このことから、BDV mRNA は LINE の逆転写酵素により、宿主ゲノムへと組み込まれた可能性が考えられている。実際に、私たちが発見した EBLN 配列にも LINE-1 が関与したことを示唆する証拠が残されている (図 1A)。ヒト EBLN 周辺の塩基配列を観察すると、BDV の転写開始および転写終結シグナルとポリ A 配列が存在する。さらに、隣接する DNA 配列には重複配列も確

認された。これは、EBLN の形成に LINE が介在性した可能性を強く示唆している。

4. EBLN の進化系統学的解析

系統樹解析により、ヒトゲノムで見つかった EBLN は少なくとも 4,000 から 4,500 万年前までに霊長類の共通祖先において内在化したことが示された。すなわち、ボルナウイルスはこれまで知られている中で最も古い RNA ウイルスの感染例と考えられる。一方、はるか太古に形成されたウイルス化石である EBLN と現存するボルナウイルスの遺伝子配列がきわめて高い相同性を示したことは驚くべき発見であった。特に、ヒト由来の 2 つの EBLN (EBLN-1, EBLN-2) は、ほぼ完全長の ORF を有するとともに、mRNA として発現されていることも示された。また、これらの EBLN は、アミノ酸配列での相同性はもとより、塩基配列レベルでも N 遺伝子と高い相同性を保持していた。これらの事実から、EBLN が何かしらの機能を保持しつつ進化してきた可能性が考えられた。そこで私たちは、霊長類の EBLN の進化を明らかにするために、名古屋市立大学の鈴木善幸博士らとの共同研究により、霊長類 EBLN に働いている自然選択をアミノ酸の非同義置換率と同義置換率の比により解析を行った。さらに、選択的中立性のもと、新世界サルと旧世界サルが分岐したのちに



(文献28より改変)

図3 霊長類 EBLN-1 と EBLN-2 の系統樹の各枝における非同義置換・同義置換の比。

各枝の下の数字は非同義置換・同義置換の比 (dN/dS ratio) を示している。赤で示している枝 a において負の自然選択が確認された。

EBLN-1 ORF に入るナンセンス置換の予測数を Monte Carlo simulation により解析した。その結果、新世界サルと旧世界サルが分岐する以前の EBLN には負の自然選択が働いていることが明らかとなったが、それ以降の EBLN は機能的制約が緩み、中立に進化してきた可能性が明らかになった (図3)²⁸⁾。また、コンピュータシミュレーションの結果、現在もなお EBLN が完全長の ORF を有していることは必ずしも機能の保持とは関係していない可能性も示された²⁸⁾。すなわち、現在、霊長類 EBLN には共通した機能は保存されていないことが予測された。

5. EBLN の発現と新奇性の獲得

哺乳類ゲノムに存在する内在性レトロウイルスのなかには、生命現象に欠かせない機能を付与されたものがある。例えば、ヒトを含む哺乳類の胎盤形成に必須の遺伝子の中には、内在性レトロウイルスに由来する遺伝子が複数存在することが明らかとなっている²⁹⁻³²⁾。この事実は、ゲノムに内在化したウイルスが、その進化の過程で新たな役割を付与され新奇性を獲得したことを示している。このような現象をイグザプテーションと呼んでいる。

私たちが行った遺伝学的な解析は、霊長類 EBLN がタンパク質として共通した機能を保存していないことを示唆していた。しかしながら、ヒト由来の EBLN-1 および EBLN-2 では、発現レベルは低いものの、mRNA への転写が確認されている。また、EBLN-2 はマイクロアレイによる発現解析データも公開されており、多くの組織や細胞、特に CD4/CD8 陽性 T 細胞において発現が認められている。さらに、ヒト細胞におけるタンパク質間結合を網羅的

に解析した報告において、EBLN-2 と結合する細胞因子も多数同定されている³³⁾。これらのことから、少なくともヒト由来 EBLN-2 は、その進化過程でタンパク質として何らかの新奇性を獲得した可能性が考えられた。そこで現在、私たちはヒトゲノムに存在する EBLN-2 の mRNA の発現ならびにタンパク質としての機能について分子生物学的手法を用いて詳細な解析を行っている。これまでに、ヒト由来 EBLN-2 がタンパク質として機能あるいは機能していた可能性を示唆する結果が得られている (データ未掲載)。

一方、霊長類以外のゲノムで見つかった EBLN のなかにも、比較的長い ORF を保持しているものが存在する (表2)。しかしながら、細胞や臓器サンプルの入手が難しいことから、これらの動物の EBLN については解析が進んでいない。その中において、北米大陸に生息するジュウサンセンジリスはゲノムの解読をはじめ研究が比較的進んでいる。先にも述べたが、ジュウサンセンジリスの EBLN は、これまでに同定された EBLN の中で、外来性ボルナウイルスの N 遺伝子と最も高い相同性 (77%) を示している。そこで私たちは、研究目的にジュウサンセンジリスのコロニーを維持しているウイスコンシン大学オシュコシュ校のヴォーン博士より、ジュウサンセンジリス臓器の分与を受け、ゲノム DNA より EBLN のクローニングを行った。また、発現プラスミドを作成し、培養細胞での局在についても観察した。現在、ジュウサンセンジリスの EBLN が外来性ボルナウイルスの感染に及ぼす影響を含め詳細な観察を行っている (データ未掲載)。動物ゲノムに残されている EBLN の発現と機能を明らかにすることは、RNA ウィ

表2 動物ゲノムにおける EBLN ORF の保存性

種	BDV N との相同性 (%)	ORF の長さ (アミノ酸)
ジュウサンセンジリス	77	329
アフリカゾウ	32	256
ガラゴ	29	168
小コウモリ	29	168
トガリネズミ	31	167
ラット	46	101
マウス	40	269*

* 1ヶ所の終止コドンを含む

表3 EBLN とボルナウイルスに対する感受性の比較

宿主	EBLN	自然感染 / 疾患	実験感染での病態
真猿類 (ヒトを含む)	+	+ / ±	+
原猿類	+	ND / ND	ND
マウス・ラット	+	- / -	+
リス	+	ND / ND	ND
モルモット	+	- / -	+
イス	-	+ / +	+
ネコ	-	+ / +	+
ウマ	-	+ / +	+
ウシ	+ / -	+ / +	+
ウサギ	-	+ / +	+
ヒツジ	-	+ / +	ND
ブタ	-	ND / ND	ND
トガリネズミ	+	+ / -	ND
オポッサム	+	+ / ±	ND
鳥類	-	+ / +	+

* ND: not determined

ルス内在化の意義と進化過程におけるウイルスと宿主との相互作用を考察する上できわめて有用であると考えられる。

6. 感染記憶: 内在性ウイルスの存在は何を意味するのか?

先にも述べたが、マイナス鎖 RNA ウイルスであるボルナウイルスは逆転写酵素を持っていない。そのために、レトロウイルスと比較すると宿主ゲノムにインテグレーションする効率はきわめて低い(堀江, 朝長ら, 未発表データ)。しかしながら, 私たちの染色体には, 個別にインテグレーションしたと思われる EBLN 配列が少なくとも 7ヶ所に存在している。その他, ゲノムに EBLN を持つ多くの動物においても, 染色体の複数個所に EBLN が見つかって

いる。このことは, 私たちが進化の過程で幾度となくボルナウイルスの流行を経験してきたことを意味している。一方, ボルナウイルスの感染は, 現在もなお, さまざまな動物種で見つかっている。すなわち, 私たち哺乳類は少なくとも数千万年にわたりボルナウイルスと共存してきたと考えられる。

それでは, 進化の過程で繰り返されたボルナウイルス感染は, 私たちとボルナウイルスとの攻防にどのような影響を与えたのであろうか。表3は, さまざまな動物種における EBLN の有無とボルナウイルスに対する感受性の相関性を示したものである。ヒトを含む霊長類ならびにげっ歯類はゲノムに EBLN を有している。面白いことに, これらの動物では BDV の感染は認められるものの, 疾患の発

症は確認されていない^{34,35)}。また、BDVの保有動物と考えられているトガリネズミもEBLNを持っている。トガリネズミではBDVは不顕性感染が主な感染形態と考えられている^{36,37)}。一方、BDV感染により重篤な疾患を呈するウマヤウシ、そしてネコヤイヌでは、そのゲノム中にEBLN配列は見つかっていない。さらに、鳥ボルナウイルスの感染により致死性の神経系疾患を起こす鳥類^{38,39)}でもEBLNの存在は確認されていない。このように、ゲノムにおけるEBLNの存在とボルナウイルス感染に対する感受性にはある程度の相関性があるように見える。

同様の現象は、フィロウイルス科やレトロウイルス科の感染においても観察されている。エボラウイルスのNPならびにVP35タンパク質と相同性を持つ遺伝子がマイクロバットのゲノムに内在化していることが報告されている¹⁴⁾。ある種のコウモリではエボラウイルスの感染は確認されているが、疾患の発症は確認されておらず、エボラウイルスの保有宿主と考えられている。一方、エボラウイルスの感染により疾患を発症する霊長類やブタは内在化配列を持っていない。また、ほとんどすべての動物は内在化レトロウイルスを持っているが、例えばヒトを含む特定の動物種においては、ガンマレトロウイルス属やスプーマウイルス属に属するレトロウイルスの感染による病原性は明らかになっていない。これら内在性ウイルスと外来性ウイルスの病原性との相関性は何を意味しているのであろうか。まず考えられるのは、ゲノムに内在化ウイルスの配列を持つ動物では、進化過程で繰り返された感染の経験から、そのウイルスの病原性に対する抵抗性を身に付け、共存を成し遂げた可能性である。宿主は、何千万年も前に繰り返された特定のウイルスとの攻防の歴史をゲノムに記憶することで、今日でもなお、共存関係を維持しているのかもしれない。現在、私たちはEBLNを指標にしてゲノムに残された感染記憶の謎について詳細な解析を進めている。

7. おわりに

生命誕生から40億年、遺伝情報であるゲノムDNAは生物の進化に伴いさまざまな情報の蓄積と変異を繰り返してきたと考えられる。生物ゲノムの進化には多様な要因が関与していると考えられるが、これまで解読された生物ゲノムの情報からも明らかのように、ウイルス感染も大きな役割を果たしてきたことは間違いない。内在性レトロウイルスの研究により大きく展開したゲノムウイルス学は、EBLNの発見によりさらなる広がりを見せ始めている。現在、動物ゲノムに見つかった内在性非レトロウイルス型ウイルスは10種類にも及んでいる。今後、生物ゲノムのデータベースのさらなる充実に伴い、より多くの非レトロウイルス型ウイルスの内在化が発見されると考えられる。ウイルス化石である内在性ウイルスの研究は、ウイルス進化の謎を明らかにできるだけではなく、ウイルスと宿主との共

存と共進化、そして“ウイルスとは何か?”の答えへとつながると確信している。

謝辞

本稿を執筆するにあたり、協力していただいた京都大学ウイルス研究所ヒトがんウイルス研究分野の皆さん、ならびに現在、ドイツ・フライブルグ大学に留学中の堀江真行博士に深謝いたします。

参考文献

- 1) Temin, H. M. Nature of the provirus of Rous sarcoma. *Nat Cancer Inst Monogr* 17, 557-70, 1964.
- 2) Temin, H. M. Homology between RNA from Rous Sarcoma Virus and DNA from Rous Sarcoma Virus-Infected Cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 52, 323-9, 1964.
- 3) Rosenthal, P. N., Robinson, H. L., Robinson, W. S., Hanafusa, T., and Hanafusa, H. DNA in uninfected and virus-infected cells complementary to avian tumor virus RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68(10), 2336-40, 1970.
- 4) Varmus, H. E., Weiss, R. A., Friis, R. R., Levinson, W., and Bishop, J. M. Detection of avian tumor virus-specific nucleotide sequences in avian cell DNAs (reassociation kinetics-RNA tumor viruses-gas antigen-Rous sarcoma virus, chick cells). *Proc Natl Acad Sci U S A* 69(1), 20-4, 1972.
- 5) Benveniste, R. E., Lieber, M. M., Livingston, D. M., Sherr, C. J., Todaro, G. J., and Kalter, S. S. Infectious C-type virus isolated from a baboon placenta. *Nature* 248(443), 17-20, 1974.
- 6) Baltimore, D. RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature* 226(5252), 1209-11, 1970.
- 7) Temin, H. M., and Mizutani, S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature* 226(5252), 1211-3, 1970.
- 8) Coffin, J. M., Stoye, J. P., and Frankel, W. N. Genetics of endogenous murine leukemia viruses. *Ann N Y Acad Sci* 567, 39-49, 1989.
- 9) Weiss, R. A. (2006). The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology* 3, 67, 2006.
- 10) Belshaw, R., Katzourakis, A., Paces, J., Burt, A., and Tristem, M. High copy number in human endogenous retrovirus families is associated with copying mechanisms in addition to reinfection. *Mol Biol Evol* 22(4), 814-7, 2005.
- 11) Rowe, H. M., and Trono, D. Dynamic control of endogenous retroviruses during development. *Virology* 411, 273-87, 2011.
- 12) Matsui, T., and Shinkai, Y. [Epigenetic silencing mechanism of retrotransposons]. *Seikagaku* 82(3), 237-46, 2010.
- 13) Horie, M., Honda, T., Suzuki, Y., Kobayashi, Y., Daito, T., Oshida, T., Ikuta, K., Jern, P., Gojobori, T., Coffin, J. M., and Tomonaga, K. Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes. *Nature*

- 463(7277), 84-7, 2010.
- 14) Belyi, V. A., Levine, A. J., and Skalka, A. M. Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient bornavirus and ebolavirus/marburgvirus sequences in vertebrate genomes. *PLoS Pathog* 6(7), e1001030, 2010.
 - 15) Taylor, D. J.; Leach, R. W.; Bruenn, J. Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. *BMC Evol. Biol.* 10, 193, 2010.
 - 16) Katzourakis, A.; Gifford, R. J. Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genet.* 6, e1001191, 2010.
 - 17) Belyi, V. A.; Levine, A. J.; Skalka, A. M. Sequences from ancestral single-stranded DNA viruses in vertebrate genomes: the parvoviridae and circoviridae are more than 40 to 50 million years old. *J. Virol.* 84, 12458-12462, 2010.
 - 18) Kapoor, A.; Simmonds, P.; Lipkin, W. I. Discovery and characterization of mammalian endogenous parvoviruses. *J. Virol.* 84, 12628-12635, 2010.
 - 19) Gilbert, C.; Feschotte, C. Genomic fossils calibrate the long-term evolution of hepadnaviruses. *PLoS Biol.* 8, e1000495, 2010.
 - 20) Liu, H., Fu, Y., Xie, J., Cheng, J., Ghabrial, S. A., Li, G., Peng, Y., Yi, X., and Jiang, D. Widespread endogenization of densoviruses and parvoviruses in animal and human genomes. *J Virol* 85, 9863-76, 2011.
 - 21) Holmes, E. C. The evolution of endogenous viral elements. *Cell Host Microbe* 10(4), 368-77, 2011.
 - 22) Zhdanov, V. M. Integration of viral genomes. *Nature* 256(5517), 471-3, 1975.
 - 23) Zhdanov, V. M. Integration of genomes on infectious viruses. *Mol Cell Biochem* 15(1), 45-62, 1977.
 - 24) Tomonaga, K., Kobayashi, T., and Ikuta, K. Molecular and cellular biology of Borna disease virus infection. *Microbes Infect* 4, 491-500, 2002.
 - 25) Matsumoto, Y., Hayashi, Y., Omori, H., Honda, T., Daito, T., Horie, M., Ikuta, K., Fujino, K., Nakamura, S., Schneider, U., Chase, G., Yoshimori, T., Schwemmler, M. and Tomonaga, K. Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. *Cell Host Microbe* (in press).
 - 26) Maestre, J., Tchenio, T., Dhellin, O. and Heidmann, T., mRNA retroposition in human cells: processed pseudogene formation. *EMBO J* 14, 6333-8, 1995.
 - 27) Esnault, C., Maestre, J. and Heidmann, T., Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat Genet* 24, 363-7, 2000.
 - 28) Kobayashi, Y., Horie, M., Tomonaga, K., and Suzuki, Y. No evidence for natural selection on endogenous borna-like nucleoprotein elements after the divergence of Old World and New World monkeys. *PLoS One* 6(9), e24403, 2011.
 - 29) Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G.M., Finnerty, H., Racie, L., LaVallie, E., Tang, X.Y., Edouard, P., Howes, S., Keith, J.C., Jr. and McCoy, J.M., Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* 403, 785-9, 2000.
 - 30) Blaise, S., de Parseval, N., Benit, L. and Heidmann, T., Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 13013-8, 2003.
 - 31) Dupressoir, A., Marceau, G., Vernochet, C., Benit, L., Kanelloupolous, C., Sapin, V. and Heidmann, T., Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 725-30, 2005.
 - 32) Dupressoir, A., Vernochet, C., Bawa, O., Harper, F., Pierron, G., Opolon, P. and Heidmann, T., Syncytin-A knockout mice demonstrate the critical role in placentation of a fusogenic, endogenous retrovirus-derived, envelope gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 12127-32, 2009.
 - 33) Ewing, R.M., Chu, P., Elisma, F., Li, H., Taylor, P., Climie, S., McBroom-Cerajewski, L., Robinson, M.D., O'Connor, L., Li, M., Taylor, R., Dharsee, M., Ho, Y., Heilbut, A., Moore, L., Zhang, S., Ornatsky, O., Bukhman, Y.V., Ethier, M., Sheng, Y., Vasilescu, J., Abu-Farha, M., Lambert, J.P., Duewel, H.S., Stewart, II, Kuehl, B., Hogue, K., Colwill, K., Gladwish, K., Muskat, B., Kinach, R., Adams, S.L., Moran, M.F., Morin, G.B., Topaloglou, T. and Figeys, D., Large-scale mapping of human protein-protein interactions by mass spectrometry. *Mol Syst Biol* 3, 89, 2007.
 - 34) Jordan, I., and Lipkin, W. I. (2001). Borna disease virus. *Rev Med Virol* 11(1), 37-57.
 - 35) Hornig, M., Briese, T., Licinio, J., Khabbaz, R. F., Alshuler, L. L., Potkin, S. G., Schwemmler, M., Siemietzki, U., Mintz, J., Honkavuori, K., Kraemer, H. C., Egan, M. F., Whybrow, P. C., Bunney, W. E., and Lipkin, W. I. Absence of evidence for bornavirus infection in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 17(5), 486-93, 2012
 - 36) Hilbe, M., Herrsche, R., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Zlinszky, K., and Ehrensperger, F. (2006). Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. *Emerg Infect Dis* 12(4), 675-7.
 - 37) Puorger, M. E., Hilbe, M., Muller, J. P., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Zlinszky, K., and Ehrensperger, F. Distribution of Borna disease virus antigen and RNA in tissues of naturally infected bicolored white-toothed shrews, *Crocidura leucodon*, supporting their role as reservoir host species. *Vet Pathol* 47(2), 236-44, 2010.
 - 38) Kistler, A. L., Gancz, A., Clubb, S., Skewes-Cox, P., Fischer, K., Sorber, K., Chiu, C. Y., Lublin, A., Mechani, S., Farnoushi, Y., Greninger, A., Wen, C. C., Karlene, S. B., Ganem, D., and DeRisi, J. L. Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. *Virol J* 5, 88, 2008.
 - 39) Staeheli, P., Rinder, M., and Kaspers, B. Avian bornavirus associated with fatal disease in psittacine birds. *J Virol* 84(13), 6269-75, 2010.

Genome Virology: The novel interaction of RNA viruses and host genomes

Keizo TOMONAGA

Department of Viral Oncology, Institute for Virus Research, Kyoto University

The origin of virus-like organisms probably dates back to the earliest forms of cellular life. Such a long coexistence between viruses and ourselves suggests that viruses may have crucially influenced the evolution of our species and vice versa. Sequences derived from retroviruses and retrotransposons have been shown to make up a substantial part of the human genome, suggesting a direct role of virus infection as a source of new genetic information and genomic innovation of the host species. Until very recently, retroviruses were the only viruses known to generate such endogenous copies in vertebrate genomes. However, we and others have reported recently that non-retroviral RNA viruses, including bornaviruses and filoviruses, have been endogenized repeatedly during mammalian evolution. These endogenous elements of RNA viruses not only provide evidence of ancient viral infections in each animal species but also offer novel paradigms for the interaction between RNA viruses and their hosts. Based on the presentation of the plenary lecture at the XV International Congress of Virology 2011, I will review here our recent findings regarding the generation and functions of endogenous bornavirus-like N elements in mammalian genomes, in order to reveal the unknown dynamics of RNA viruses in eukaryotic cells, and also discuss the evolutionary interaction between RNA viruses and hosts.

