ミニレビュー [Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol.64, No.1, pp.43~45, 1990]

=シリーズテーマ=

プラスミド性線状 DNA 遺伝体

プラスミド性線状 DNA 遺伝体.....	穴戸 和夫...43
酵母線状プラスミドの構造とその機能.....	徳永 正雄...46
放線菌の線状プラスミド.....	木梨 陽康...50
担子菌のプラスミド性線状 DNA 遺伝体.....	片寄 裕一, 穴戸 和夫...54
植物病原糸状菌の線状プラスミド.....	羽柴 輝良...58
雄性不稔植物のミトコンドリアに見出される線状プラスミド.....	木下 俊郎...62

プラスミド性線状 DNA 遺伝体†

穴戸 和 夫

(東京工業大学理学部)

プラスミドといえば、古くは多くの細菌に見出され、その形状は二本鎖 DNA で環状というのが通り相場だったが、ここ 10 年足らずの間に線状で二本鎖 DNA のプラスミドが、放線菌、スピロヘータの原核生物や、酵母、子囊菌、担子菌、植物病原糸状菌、さらにはトウモロコシ、キビおよびアブラナ科植物など幅広い真核生物において次々と見出された。細胞内の存在位置は、はっきり述べられているものではすべてミトコンドリア内である。それら線状プラスミドの大きさは植物病原糸状菌 *Fusarium oxysporum* の 1.9 kb から放線菌 *S. coelicolor* と *S. violaceoruber* の 590 kb のものまで実に幅広く、線状二本鎖 DNA の末端構造も一様ではなくまちまちで、次のように大きく 3 つのタイプに分類されるようだ (図 1 参照)。

〔Ⅰ〕動物のアデノウイルスや枯草菌のファージ $\phi 29$ のように、DNA の両末端は逆向きの相補的繰返し配列：逆方向反復配列 (inverted complementary repeat

sequence) となっており、かつ、両方の 5' 末端には蛋白質が共有結合で結合している。アデノウイルス、 $\phi 29$ の場合は末端蛋白質が直接 DNA 複製の開始にかかわっている^(1,2) (protein-primed replication)。報告された大部分の線状プラスミドはこのタイプに属する。

〔Ⅱ〕織毛虫テトラヒメナやオキシトリカの線状リボソーム DNA、および酵母やトリパノゾームの染色体のテロメア領域と同じようにヘアピン構造をとっている^(3~7)。酵母 pGKL 1 の派生プラスミドがこの例であり、1 つある 5' 末端にはやはり蛋白質が結合しているようである (徳永のレビュー参照のこと)。

〔Ⅲ〕ボックスウイルス DNA の場合のように、DNA の両末端がホスホジエステル結合で閉じてヘアピンループとなった線状構造を成している。スピロヘータのプラスミド⁽⁸⁾や *Rhizoctonia solani* の PRS 64 (羽柴のレビュー参照) などがこの例である。

線状プラスミドは上記のごとくウイルス (ファージ) やテロメアの構造と類似しており、あるいはまた、DNA の両末端の逆方向反復配列の存在という点からは、細菌の各種挿入配列 (IS) とトランスポゾン (Tn) やトウモロコシの Ac, Ds, Spm^(9,10), キンギョソウの Tam⁽¹¹⁾, ダイズの Le 1, Le 2⁽¹²⁾ ショウジョウバエの

† Autonomously Replicating Linear Double-Stranded DNA Elements.
Kazuo SHISHIDO (Department of Life Science, Faculty of Science, Tokyo Institute of Technology, Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama 227)

P-factor⁽¹³⁾ や線虫の Tc1⁽¹⁴⁾ などの真核生物転移性遺伝要素と同類である。事実、タイプ [I] に属するトウモロコシのミトコンドリア内在性線状プラスミド S-1 と S-2 (両者に相同性あり) の場合には、これらの末端逆方向反復配列とミトコンドリア主ゲノム DNA 上の相同配列との間で組み換えが起こり、主ゲノムは、環状より末端に S-1 または S-2 を有する種々の線状構造に変換しうる。さらに、S-1 と相同な配列が核染色体中にも見出される。つまりは S-1, S-2 はエピソードであり、かつまた、転移性遺伝要素ということが出来る (詳細は木下のレビュー参照のこと)。これと近いことは放線菌においてもあり、巨大線状プラスミド SCP1 が染色体に入り込んだり、染色体断片とともに切り出されたりする。これらのことが放線菌の遺伝的不安定さにかかわっている可能性がある (詳細は木梨のレビュー参照のこと)。

このように、線状プラスミドはプラスミドとして簡単に片付けられない広がりを持っているわけで、ここではあえてプラスミド性線状 DNA 遺伝体とした。本遺伝体の興味ある生理的機能もいろいろとわかってきた。また、プラスミド性線状遺伝体はそれが宿主 DNA から派生したものなのか、ウイルスのように外界からの侵入者なのかということに興味を持たれる存在であり、かつまた、DNA 複製研究の格好の対象であり、クローニングベクターとしても魅力的な素材であることなどから、俄然脚光を浴びてきた。研究のさらなる進展を期待する意味も含めてここにミニレビューとして取り上げた。内容的には、比較的発見が早く、生理的機能 (キラー現象に直接関与) がはっきりしている酵母のプラスミド、抗生物質の生産あるいは菌の遺伝的不安定性にかかわっていると考えられる放線菌の巨大プラスミド、病原性との関連が予想される植物病原糸状菌のプラスミド、細胞質雄性不稔性の発現とのかかわりが考えられているトウモロコシなどの植物ミトコンドリア内在性プラスミドにつ

いて、それぞれ第一線で活躍されている先生方のレビューと、われわれの研究室で片寄が中心となつて行った高等担子菌のプラスミドからの自律的複製にかかわる領域のクローニングなどの紹介とから構成されている。

なお、線状 DNA の形状が数少ないタイプ [III] (図 1)。であり、かつ、興味ある生理的機能を持っているスピロヘータのプラスミド⁽⁸⁾ がレビューからもれているので、ここで紹介する。病原性スピロヘータ *Borrelia burgdorferi* (Lyme 病) 中に 49 kb の線状プラスミドが存在する。本プラスミドは興味あることに細菌外膜の主要蛋白質である Osp A と Osp B (一緒に転写される) をコードしている。同様のことは *Borrelia hermsii* (回帰熱の原因) においてもいえる。*B. burgdorferi* のものについて、エキソヌクレアーゼ抵抗性やアルカリ変性後中和してすぐの制限酵素切断性の検討、さらに水酸化メチル水銀とグリオキサールで加熱し高濃度ホルムアミド処理にて完全変性後電子顕微鏡観察を行い、線状プラスミドの両末端はホスホジエステル結合で閉じていると結論している。一次構造についてはまだ明らかにされていない。上記両方の菌にはバクテリオファージが見つかり、プラスミドとファージの間に因果関係があるかどうか興味の持たれるところである。

図 1 プラスミド性線状 DNA 遺伝体の形状
●: 末端蛋白質, 詳細は本文参照。

- (1) M. K. Kenny, L. A. Balogh and J. Hurwitz: *J. Biol. Chem.*, **263**, 9801 (1988).
- (2) M. Serrano, J. Gutiérrez, I. Prieto, J. M. Hermoso and M. Salas: *EMBO J.*, **8**, 1879 (1989).
- (3) J. W. Szostak and E. H. Blackburn: *Cell*, **29**, 245 (1982).
- (4) E. H. Blackburn and J. W. Szostak: *Annu. Rev. Biochem.*, **53**, 163 (1984).
- (5) A. F. Pluta, G. M. Dani, B. B. Spear and V. A. Zakian: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 1475 (1984).
- (6) J. Shampay, J. W. Szostak and E. H. Blackburn: *Nature*, **310**, 154 (1984).
- (7) J. Berman, C. Y. Tachibana and B. K. Tye: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 3713 (1986).
- (8) A. G. Barbour and C. F. Garon: *Science*, **237**, 409 (1987).
- (9) H. P. Döring and P. Starlinger: *Cell*, **39**, 253 (1984).
- (10) Z. Schwarz-Sommer, et al.: *EMBO J.*, **3**, 1021 (1984).
- (11) U. Bonas, H. Sommer and H. Saedler: *EMBO J.*, **3**, 1015 (1984).

- (12) L. O. Vodkin, P. R. Rhodes and R. B. Goldberg : *Cell*, **34**, 1023 (1983).
 - (13) K. O'Hare and G. M. Rubin : *Cell*, **34**, 25 (1983).
 - (14) L. W. Liao, B. Rosenzweig and D. Hirsh : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3585 (1983).
-