

旧世界ザルゲノム中の内在性サルレトロウイルスの 網羅的探索及び進化解析

池田昌輝^{†1} 遠藤俊徳^{†1} 長田直樹^{†1}

概要：内在性レトロウイルスは、ゲノム中に組み込まれた外因性レトロウイルス由来のDNA配列であり、ウイルスとしての機能を持っているものがある。本研究では、旧世界ザルのゲノム中存在する内在性サルレトロウイルスを網羅的に調査し、進化系統解析を行った。旧世界ザルは、ワクチン製造や生理学実験で使用されているため、本研究で明らかにされた内在性サルレトロウイルスの進化の歴史が医学研究に貢献することが期待される。

Comprehensive Search and Evolutionary Study of Simian Endogenous Retrovirus in the Genome Sequence of the Old World Monkeys.

MASAKI IKEDA^{†1} TOSHINORI ENDO^{†1} NAOKI OSADA^{†1}

1. 背景

内在性レトロウイルス (ERV) は、生殖細胞のゲノム中に挿入された外因性レトロウイルス由来の DNA 配列であり、多くの生物のゲノム中に ERV が存在する。外因性レトロウイルスの DNA 塩基配列上には、LTR に挟まれた領域に *gag*, *pol*, *env* と呼ばれる三つの遺伝子が存在しており、これらが発現されることでウイルスが放出される [1]。ERV の多くは進化の過程で機能を失うような変異がこれらの領域に蓄積しているため、ウイルスの機能をもっていないと考えられるが、稀にウイルスとしての機能をもった ERV 配列が存在する。また、他のウイルス配列と組換えをおこなうことで、宿主に病気を引き起こす可能性がある [2]。したがって、ERV がゲノム中にどのように分布しているかを調べることは、医学的に重要な課題となっている。

本研究の研究対象である内在性サルレトロウイルス (SERV) は、サルレトロウイルス (SRV) と相同な ERV であり、主に旧世界ザルのゲノム中存在することが知られている。SRV は上記 3 つの遺伝子に加え、*prt* 遺伝子を *gag* 遺伝子の下流に持つ。SRV は、現在までに 7 種類発見されており、AIDS と似た症状を引き起こすことも知られている [3] また、旧世界ザルに属するサルは、コロブス亜科とオナガザル亜科に分類され [4]、現在では、薬理実験やワクチン製造の際に使用されている。そのため、SERV に病原性が存在する場合、ヒトに重大な問題を生じさせる危険性がある。しかし、SERV の詳細な性質については未だ不明な点が多い。

本研究は SERV の歴史の解明を通して及び医学・薬学研

究へ貢献するために、旧世界ザルのゲノム中に存在する SERV を網羅的に調べ、SRV と比較解析をすることで、SERV の進化系統を明らかにした。

2. 材料・方法

本研究では旧世界ザルに属するアフリカミドリザル (*chlorocebus sabaeus*)、アカゲザル (*Macaca mulatta*)、カニクイザル (*Macaca fascicularis*)、アヌビスヒヒ (*Papio anubis*)、キンシコウ (*Rhinopithecus roxellana*)、ウンナンシシバナザル (*Rhinopithecus bieti*)、テングザル (*Nasalis larvatus*)、アンゴラコロブス (*Colobus angolensis*) のゲノム中に存在する SERV を、blast を用いて調べた。この時に使用したゲノムの accession number を表 1 に記載する。

表 1 accession number 一覧

DNA配列	Accession number
Vero細胞のSERV	AB935214
アフリカミドリザル	GCA_000409795.1
アカゲザル	GCF_000000115.2
カニクイザル	GCF_000364345.1
アヌビスヒヒ	GCF_000264685.2
キンシコウ	GCF_000769185.1
ウンナンシシバナザル	GCA_001698545.1
テングザル	GCA_000772465.1
アンゴラコロブス	GCA_000951035.1
SMRV	M23385.1
SRV-1	M11841.1
SRV-2	AF126467.1
SRV-2	M16605
SRV-3	M12349
SRV-4	NC_014474.1
SRV-Y	AB611707.1
SERV	U85505
SERV25.2	U85506

Blast を行った後、SERV の全長、及び各遺伝子領域に相同性がある DNA 配列を用いて、clustalW [5] でマルチブ

[†] 北海道大大学院情報科学研究科

^{††} The graduated school of Information science and Technology, Hokkaido University

ルアライメントを行った。また、SERV の DNA 配列中の未成熟終始コドンの有無を確認した。その後、MEGA6[6]を用いて近隣接合法により進化系統樹を作成した。

3. 結果

旧世界ザルのゲノム中に存在する SERV を、相同性検索を用いて調べたところ、オナガザル亜科に属するアフリカミドリザル、アカゲザル、カニクイザル、及びアヌビスヒビ、コロブス亜科に属するキンシコウのゲノムから、多数の完全長 SERV 配列を発見した。これらの SERV 配列について、未成熟終始コドンの存在を確かめたところ、キンシコウの SERV には未成熟終始コドンが存在しないことが判明した。

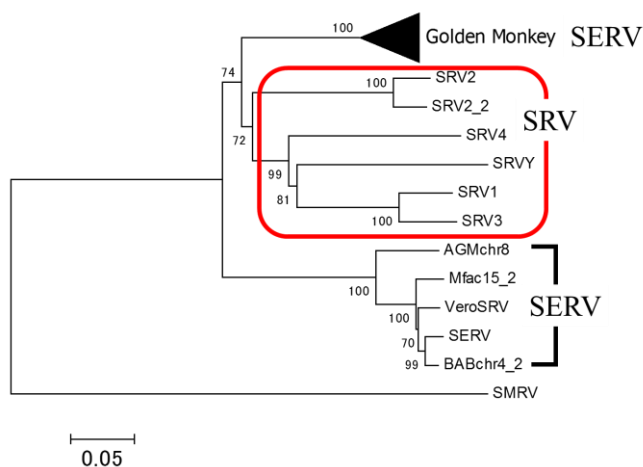


図 1 完全長 SERV 配列を用いた進化系統樹

さらに、データベースに登録された SRV と得られた SERV の塩基配列を使い、近隣接合法により進化系統樹を作成したところ、SRV と SERV は異なるクラスターに分類されることが判明した。図 1 は、完全長 SERV の DNA 塩基配列を用いて、近隣接合法により作成した進化系統樹である。赤枠の内部が SRV で、赤枠の外部が SERV である。図 1 から、SERV と SRV は異なるクラスターに分類されることが明らかになった。さらに、完全長配列を 4 つの遺伝子 (*gag*, *prt*, *pol*, *env*) に分けて、同様に系統樹を作成しても、同様に SERV と SRV が異なるクラスターに分類された。また、SERV の中でも、オナガザル亜科の SERV とコロブス亜科の SERV は異なるクラスターに分類された。

4. 考察

オナガザル亜科の SERV には未成熟終始コドンが存在し、コロブス亜科の SERV には未成熟終始コドンが存在しないことと、SRV とそれぞれのサルの SERV が異なるクラスターに分類されたことから、オナガザル亜科の SERV とコロブス亜科の SERV は異なるファミリーである可能性が示唆された。また、キンシコウのゲノム中に存在する SERV は、

未成熟終始コドンを持っていないため、ウイルスの機能を保持していることが考えられる。キンシコウゲノムに存在する SERV 配列は、これまで報告された SRV6 系統と同系統のウイルス配列であることが推測される[7]。今回の研究から、キンシコウのゲノムから変異を受けていない可能性がある SERV が多数発見された。また、SRV と SERV は異なるグループに属しており、SERV の中にも異なるファミリーが存在する可能性が示唆された。これらの発見が、将来的に内在性サルレトロウイルスの進化の歴史の解明に貢献し、医学・薬学研究の発展に貢献することが期待される。

参考文献

- [1] Y. Miyazaki, A. Miyake, M. Nomaguchi, and A. Adachi, Structural dynamics of retroviral genome and the packaging, *Frontiers in Microbiology*, 2011.
- [2] R. E. Tarlinton, J. Meers, and P. R. Young, Retroviral invasion of the koala genome, *Nature*, 2006.
- [3] M. Okamoto, T. Miyazawa, S. et al., Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese, *SCIENTIFIC REPORTS*, 2015.
- [4] P. Perelman, W. E. Johnson et al., A molecular phylogeny of living primates, *PLoS Genetics*, 2011.
- [5] M. A. Larkin, G. Blackshields et al., Clustal W and Clustal X version 2.0, *Bioinformatics* 2007.
- [6] K. Tamura, G. Stecher et al., MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, *Molecular and Evolution*, 2013.
- [7] J. S. Nandi, V. Bhavalkar-Potdar et al., A novel type D simian retrovirus naturally infecting the Indian Hanuman langur (*Semnopithecus entellus*), *Virology*, 2000.