ポリゾーム

富山大学薬学部和漢薬 大 浦 彦 吉^{*}
研究所生物試験部門

I. はじめに

タンパク生合成の場としてよく知られているリボゾームの研究は、1962年の末から1963年にかけてタンパク合成の活性機能を有するリボゾーム集合体、すなわちポリゾーム^{*}(polysome)またはポリリボゾーム (polylisosome) が Rich¹⁾ら、 Noll²⁾ら、 Gierer³⁾によって相ついでウサギの網状赤血球およびラット肝細胞からそれぞれ独立的に発見された。さらに最近、大腸菌、HeLa 細胞、骨格筋、酵母、胸腺、葉緑体からも見い出されるにおよび、ポリゾーム構造は広く生物体中存在することが確認され、それによって mRNA (メッセンジャー RNA)、sRNA と組み合わさったタンパク質合成のメカニズムが一段と精密になり、その研究成果が蓄積されつつある。リボゾームに関する多くのすぐれた総説があるので、ここではポリゾームの発見に至る経過とその後の研究を中心にして紹介したい。

II. 活性リボゾームと重いリボゾーム

リボゾームはあらゆる細胞において沈降定数70~80 Sの一定の粒子で、50 Sと30 Sの2つの subunit から構成されている。

リボゾーム集合体らしきものを最初に報告したのは Hamilton, Petermann (1959)⁹⁾であろう。彼等はラット肝リボゾームを 0.002 M MgCl₂, pH6.5 で1日透析後、超遠心分析した結果 83 S リボゾームの他に110 S と 140 S のピークの存在を認めたが、当時はリボゾーム subunit の分析の研究が中心であったためか、この高い沈降物の意義を明らかにすることができず、ただ会合凝集体であろうと述べたにすぎなかったことは非常に印象的である。Arnstein¹⁰⁾もウサギの網状赤血球のミクロゾーム粒子を RNase で処理した pellet は大部分が74 S、他に少量の107 Sが存在し、RNase 未処理のものは、この他に133 S、155 Sの2つの小さいピークがあることを報告しているがこれらの活性に

ついてはぜんぜんふれていない。Attardi, Smith¹¹⁾も HeLa 細胞の細胞質リボゾームの超遠心沈降像で、非常に速やかに沈降する heterogeneous な組成があること、また Lamfrom, Glowacki¹²⁾は網状赤血球リボゾームの subunit の解離研究で1.5 mM の Mg²⁺ 濃度では大部分が 70 S ~ 80 S であるが 100 S、120 S、150 S、180 S の集合したリボゾームが全体の 6 ~ 15% 存在し、50 S、30 S subunit は 5 ~ 10% しか解離しないことを示し、この解離に抵抗を示すこれら集合したリボゾームのみがタンパクの合成活性を有していることを報告した。

他方においてアミノ酸の取り込み活性を目標として研究が行われていた。Tisseires¹³⁾等は大腸菌の無細胞抽出物を 0.0005 M Mg²⁺ 濃度で透析 (大腸菌では一般にこの条件で70 S リボゾームは50 S と 30 S に解離するといわれていた) し、その後 C¹⁴ アミノ酸を取り込ませて蔗糖密度勾配遠心 (Sucrose Density Gradient Centrifugation 以下 SDGC と略記する) で分析した結果 radioactivity と O.D. (optical density) のパターンが一致せず、全リボゾームの 5 ~ 10% が 70 S 付近に高くラベルされ、50 S、30 S subunit に比し15 ~ 40 倍の取り込み能を有することを見出し、“active 70 S”と呼んだ。

その後 mRNA の存在が明らかになり、これがリボゾームに結合して mRNA の有する code に従って特異的なタンパクを合成すると考えられるに至った。

そこで Risebrough 等は mRNA が DNA テンプレート上で合成され、ついでリボゾームに結合するならば当然 free のリボゾームより小し速く沈降する S の大きいリボゾームが見い出されるのではないかと想定し、大腸菌にラベルした T₂ フェージを感染して T₂ mRNA のみを合成させ、それと結合したリボゾームを SDGC で分析し free のリボゾームより 5 ~ 10 S 速く沈降し、かつ70 S より100 S リボゾームに mR

Polysome ;

^{*} Hikokichi OURA: Division of Biochemistry, Institute for Oriental Drug, Faculty of Pharmaceutical Science, Toyama University.

NA が主として結合することを認め “heavy 100S リボゾーム” と呼び、この複合体が30°C, 15分のインキュベーションで幾分減少し、又 RNase に極めて鋭敏であり、タンパク合成の機能を有していることを示したが、ただ全リボゾームの5~10%だけが “heavy” である点が疑問として残された。

Ⅲ. 合成ポリヌクレオチドとリボゾームの結合

Barondes, Nirenberg¹⁵⁾ は H³-ポリ U と大腸菌リボゾームとの結合を検討し興味ある結果を得た。すなわちポリ U とリボゾームを ATP 生成系, GTP, 105.000×g 上清の存在下に 3°C で混合し、インキュベーションすることなく、ただちに SDGC で分析すると、H³-ポリ U は130S 付近にピークを有する broad なパターンを示し、70S リボゾームには結合しないことを見出し、このピークは35°C, 3分または、10分間のインキュベーションで次第に消失、分解する。さらにリボゾームとポリ U のみでも結合して 100S 以上の heterogeneous なパターンが得られることから (用いたポリ U は 8S にピークを有する 3S~13S), 小分子量のポリ U も高分子のものと共にリボゾームに結合し、特定のポリヌクレオチドの size のみがこの結合に対して必須でないと考えた。C¹⁴-フェニールアラニンもこの領域に多く取り込まれることからポリ U は mRNA と同じ機能を有しており、このリボゾーム集合体がタンパク質合成の site であろうと述べた。これに反し、TMV の P³²-RNA を用いた場合、3°C では重いリボゾームは形成されず 70S リボゾームにのみ結合し、35°C, 5分間インキュベーションによって RNA の相当量が “リボゾーム” を形成することから mRNA とリボゾームの結合にはエネルギーが必要か否かの問題には結論がでなかった。同様の研究は Spyrides, Lipmann¹⁶⁾ によってもほとんど同時に行われ、ラベルしたポリ U とリボゾームを 0~4°C に保つと radioactivity のすべては 150~200S の部位に存在し、この領域の O.D. の増加も認められ、フェニールアラニンの取り込めもこの領域にあり、比活性が50倍に増大したことからポリ U と結合したリボゾームのポリマーが形成されたものと結論した。しかしポリ U の添加によってできるこの重いリボゾームは全リボゾームの数%以下にすぎず、このことは前述の Tissieres 等の結論とよく一致することから、活性リボゾームは加えられた RNA によって選択されるのか、またはいかなる因子が不活性リボゾームと活性リボゾームとを区別するのかという点で混乱をもたらした。この疑

問に対して明確な解答を与えた岡本¹⁷⁾、高浪の論文を高く評価したい。詳細は高浪氏の綜説があるので省略するがポリ U, ポリ GC に対してすべてのリボゾームは等価に結合する能力があり、ほとんどすべてのリボゾームは重いリボゾームを形成すること、また、ポリ U は 30S subunit にのみ特異的に結合することを証明した。一方 Gilbert¹⁸⁾ はポリフェニールアラニンが 50S subunit に結合していることを明らかにし、ポリペプチド合成の site は 50S であるとし、リボゾーム subunit の機能も明らかとなり、Zubay¹⁹⁾ の提出したモデルの基礎となった。

Ⅳ. リボゾームの発見

ここで疑問に考えられたのは mRNA とリボゾームがタンパク合成を行う際の相互作用の幾何学的、立体的配置は一体どのようなになっているかということであった。すなわちヘモグロビン分子のポリペプチド鎖は、それぞれ約 150 個のアミノ酸からなり、triplet code を用いると 1 個のヌクレオチド 3.8Å として 450 個のヌクレオチドの mRNA は 1.500Å の分子となる。他方 1 本のリボゾームの直径はわずかに 230Å であり、将来さらに高分子の mRNA が発見されるとすると、この長い mRNA 分子が 70S 活性リボゾームや 100S の重いリボゾームの site に、その情報のすべてをどのように伝達して、ポリペプチド鎖を成長させるのか。これはもはや物理的に不可能であると考えざるを得なくなった。

Rich 等は前述のポリ U の実験結果や Arnstein¹⁰⁾ の文献から考察して、大きなリボゾーム集合体は非常にこわれやすいと考え、細胞の破壊操作を出来るだけ穏和に行う方法を研究し、低張緩衝液を用いて網状赤血球から 90% 以上重いリボゾームを含む 5 本集合した pentamer を中心にしたポリマーを分離することに成功し、そのすばらしい電子顕微鏡写真を 1962 年の最終号の Science 誌上に発表し驚かせた。

一方 Noll⁸⁾⁴⁾ 等も前述の Hamilton⁹⁾ 等その他の研究を参考にして、ラット肝細胞からタンパク質合成の活性機能単位を分離すべく、従来のリボゾーム分離法を改良、簡易化し (後述)、90% 以上集合したリボゾームを分離することに成功した。いずれの場合も極めて簡単なテクニックを導入して成功したことは、誠に教訓的であるといわねばならない。

(1) ウキギの網状赤血球のリボゾーム

機械的操作や酵素 (RNase) によって極端に破壊さ

れやすいので、細胞膜を0.0015 M Mg 濃度低張緩衝液中で融解し、細胞質をただちに15—30% SDGC で分析した結果が図1である。O.D. は76Sモノマーと

図1. ウサギの網状赤血球のポリゾーム分布と C^{14} アミノ酸の取り込み¹⁾、37°C、15分間インキュベーション蔗糖密度勾配遠心 25,000 rpm 2時間

broad な170Sピークのパターンがみられ、 C^{14} アミノ酸の取り込みは *in vivo* で大部分170Sに存在することから、この領域がヘモグロビン合成の site で微量 (0.25 μ g/ml) の RNase でこの170Sピークは完全に破壊され76Sに変化した²⁾が、DNase に対してはぜんぜん影響がみられなかったことから、このピークは mRNA によって holding されたリボゾーム複合体と考えられ、さらに電顕像図2の如くリボゾームが

図2. 網状赤血球のポリゾーム電顕像¹⁾
図1の170Sピークから分取したもの
大部分はリボゾーム5個からなる pentamer³⁾

ぶどうの房のように集合しているのが確認された。各フラクションの電顕像から次の如く分析された。pentamer (76S)₅ 170S 75%, tetramer (76S)₄ 154S 10%, hexamer (76S)₆ 180S 10%, monomer 76S,

dimer (76S)₂ 108S, trimer (76S)₃ 134S, heptamer (76S)₇ 5%

また、このポリゾームは染色によって10~15Åの直径、1300Åの長さの細い糸状の mRNA によって holding され、環状または直線状にリボゾームが配列され、リボゾーム間距離50~100Å、リボゾーム中心—中心間距離280~350Åと測定された(図3)。(染色方法で幾分異なる)

図3. 陽性染色ポリゾームの電顕像³⁾
矢印はリボゾームの substructure

Pentamer がヘモグロビン合成の単位とすると15% = 30個のアミノ酸が1個のリボゾーム上で合成されることになる。したがって生成しつつあるポリペプチド鎖が1個のリボゾームから次のリボゾーム上へとび回るよりも、個々のリボゾームに付着して完結すると考えた方が合理的である。リボゾームが mRNA の末端に達すると mRNA から遊離し、完結したポリペプチド鎖をはなし、free になり不活性の76Sモノマーの pool に入ると考えた。ここで1つの問題が提起される。それはどうして mRNA strand がリボゾーム上を動いてゆくか、そこには筋肉の収縮にみられるようなエネルギーの消費メカニズムが存在するかという点であるが、この問題についてはまだ結論が出ていないようである。

(2) ラット肝細胞のポリゾーム

Wettstein, Noll 等はスピノチュープに2M蔗糖—緩衝液、次に0.5M蔗糖—緩衝液を重ねし、その上に常法により分離したミトコンドリアをおとした上清をDOC処理後、静かに重層して4万回転、4時間超

遠心し透明な無色の pellet を分離した。底部の蔗糖濃度を上げることで1回の遠心操作で、不純な金属タンパク質やその他の不純物の混入をさけるのに非常に有

図4. ラット肝細胞のポリゾームの分布と C^{14} アミノ酸の取り込み
蔗糖密度勾配遠心 25,000 rpm 2.5時間

効であった。この pellet の 0.3—1.0 M の SDGC 分析は図4で、120S以上のポリマーが90%以上含有し、7個のピークが認められた(最近 convex gradient により9個のピークが分離されるようになった)。このポリゾームも Rich 等同様 RNase(0.012 μ g/ml)で大部分73Sと110Sに分解すること、 C^{14} アミノ酸の取り込みの比活性は73Sに近く、(73S)₂ dimer から (73S)₁₀ 250S の decamer まで、ポリマーの大きさと共に増し、250S—600S (73S)₁₅ で一定に達する(図4)ことを認めた。

次に筆者等²⁰⁾はこれら size の異なるポリゾームに結合している mRNA を分離、証明すべく次の実験を行った。すなわち P^{32} を10mc ラットに注射し、3時間後に殺してポリゾームを分離し、 C^{12} アミノ酸混合物 pH5 酵素、ATP 生成系、GTP 等の存在下に 26°C 2.5分インキュベーションして、ポリゾーム上に存在する P^{32} sRNA を追い出し、SDGC で分析した(図5)。この図5のAからFまでの6個の斜線フラクション (73S)_n $n=1, 3, 5, 7, \sim 10, \sim 14$ をそれぞれ別々に SDS で処理してタンパクを変性させ、ただちに0.5—1.0MのSDGCで40時間25,000回転、分析したのが図6である。リボゾーム RNA (29S, 18S) のほかにいずれも小さい S の mRNA と考えられる P^{32} のピーク (4.8S—13.6S) がみられ、ポリゾームの size と共に増大しているのが認められ、分子量

図5. P^{32} ラベル3時間のラット肝ポリゾームを C^{12} アミノ酸等で2.5分、26°C インキュベーション後 0.2—0.6 M直線的蔗糖密度勾配遠心 25,000 rpm 2時間

図6. 図5のA~Fのちがった size のポリゾームの p^{32} mRNA 沈降分析
 SDS 処理後0.5-1.0M直線的蔗糖密度勾配遠心,
 25,000 rpm 40時間

を算出した結果、図7の如く大体においてリボゾームの数と分子量は直線関係にある。この結果からリボゾーム間の距離は90個±10%のヌクレオチド数に相当した。この値は先の Rich らの結論と同じで、coding ratio は3ケのヌクレオチドであることを決定した。

図7. mRNA の分子量とポリゾームの size

しかし肝細胞は種々の size のタンパクを合成しているゆえか、各種の size の異なる mRNA が存在していることも明らかとなった。

(3) 大腸菌のポリゾーム

リボゾームの研究に古くから広汎に利用されてきた大腸菌の native なポリゾームが、動物細胞同様存在するか、否かは最も興味あることであった。大腸菌の増殖期の mRNA の half life は約2.5分と測定されており、且 RNase の活性も高いのでその分離は困難かと考えられてきたが、Staehelin, Noll 等および Kihō, Rich²³⁾ は彼等の開拓した方法または改良法を導入してこの問題に入って行ったのは当然であろう。

Staehelin 等は細片にしたドライアイスとガラスビーズで細胞を温和に破壊し、前述の二層法で分離した pellet を SDGC で分析した所、70S モノマーのほかには全リボゾームの18~25%のポリゾームが存在し、dimer, trimer, tetramer, pentamer のピークがみられ、 C^{14} アミノ酸の取り込み実験結果も肝細胞同様、decamer $(70S)_{10}$ 前後に maximum を有し、電顕像から $(70S)_8$ — $(70S)_{11}$ のポリゾームを確認し、それらが mRNA 様の filament (10~20Å) によって holding されていることを見出した。したがって本質的には肝細胞と同様であるが、細胞破壊の条件のため分解したと思われる 70S monomer の含有率は高かった。

この点を完全に克服したのが Kihō 等で、細胞浮遊液に nonionic detergent ポリエチレングリコールを加え、次いでペニシリンで spheroplast となし、注意

図8. 大腸菌ポリゾームの分布と C^{14} アミノ酸の取り込み²³⁾

(a) 正常ポリゾーム

(b) 47/ml RNase 処理20分, 4°C

15—30%蔗糖密度勾配遠心, 25,000 rpm 4時間図

深く振盪して細胞膜を破壊し SDGC 分析したのが図8で, dimer 以上のポリゾームが70—80%含有していた。

さらに β -galactosidase の induction を行い, この酵素活性が図9にみられる如く, フラクシオン番号8に maximum を有する非常に鋭いピークに局在していることを見出した。もちろん inducer を除外するとこのピークは消失することから, この酵素は一定の size のポリゾーム上で合成されると推定された。電顕像からこのポリゾームは30—50個のリボゾームの

集団であることがわかり, inducer が β -galactosidase の mRNA の合成を刺激し, その結果合成された mRNA が酵素タンパクを合成するため, リボゾームを集めてポリゾームを形成するものと考えた。このポリゾームを平均40個の集団として, 先の網状赤血球ヘモグロビン合成のデーターから, β -galactosidase ポリゾームは分子量約135,000のタンパク質を合成する能力があること, またこの mRNA の分子量は約120万と推定された。この mRNA の size の計算は Attardi,²⁴⁾ Hayashi²⁵⁾ 等によるメチルアルブミンカラムでの

図9. 大腸菌ポリゾームの分布と β -galactosidase²³⁾

(a) 正常ポリゾーム

(b) induction したポリゾーム

この酵素の mRNA の分子量の実験結果と非常によく一致している。

また、この酵素は約50万の分子量を有するが、Zipser²⁶⁾ は濃厚 urea 中 4 個の subunit に解離することを示し、さらに Zabin Weber²⁷⁾ 等によってこの subunit は約 4 万の monomer タンパク 3 個から構成されていることが報告されたので、14 万に近いタンパク分子を合成する能力のあるこのポリゾームは、約13万の subunit か、あるいは 4 万の monomer 3 個を合成する polycistron mRNA を有しているかは非常におもしろい点である。

一方この菌のタンパク合成の kinetics が研究され、1 分間当り 1,000 単位の β -galactosidase と 180 μ g のタンパクを合成することが測定された。酵素 1,000 単位は 3.2 μ g のタンパクに相当することから、全タンパクの 1.8% が細胞内で合成されることになる。図 8 から少なくとも全リボゾームの 70—80% がポリゾーム上でタンパク合成に関与しているから、大腸菌 1 個の細胞が平均約 10^4 個のリボゾームを含むとして、約 130 個 ($10^4 \times 1.8\% \times 70-80\%$) のリボゾームがこの酵素の産生に従事していることになる。ポリゾームが 40 個のリボゾーム単位から構成されているので、合成の rate が maximum であるとき、このバクテリアの細胞当たりわずかに約 3 個の β -galactosidase ポリゾームが存在しているという誠にユニークな結論が提出された (40 個のリボゾーム単位の β が 4 万の monomer タンパクを合成していると仮定すれば、約 10 個のポリゾームが存在)。

(4) HeLa 細胞のポリゾームとポリオウィルスの感染

HeLa 細胞は 18—24 時間の generation time で exponential に増殖するので、同調細胞をうるのに有利であり、これを用いて mRNA の合成 rate および RNA の型を知るのに好都合である。また、ポリオウイルス (RNA 型ウイルス) はこの細胞でよく増殖するゆえ、感染という現象を細胞内ポリゾームの変化で追求することは興味あることであった。

正常細胞のポリゾーム分布は Rich, Penman, Darnell, Hall 等により測定され、150—400 S の broad なパターン図 10(a) が得られた。

ポリオウイルス感染によって機能的な mRNA は、おそらくウイルス RNA (分子量約 200 万, 35 S) それ自身であることから、非常に大きな size のポリゾームが形成されるであろうと考えられた。

mRNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D を細胞培養液に添加すると、新たに合成される mRNA の連続的な供給が遮断されるためポリゾームが消失し、その結果大きいポリゾーム領域のタンパク合成活性も消失することが明らかにされた。しかしこの阻害剤はウイルス RNA の合成を阻害しないことが知られている。またポリオウイルスの感染によって全タンパクの合成の減少や宿主細胞の RNA 合成の停止がすでに知られているので、この時の細胞のポリゾームの変化を追求めた結果、感染後 1.5 時間では約 25%、3.5 時間 (ウイルス RNA の合成とウイルスタンパク合成

図10. HeLa 細胞のポリゾームの分布
(a) 正常ポリゾーム分布と C^{14} アミノ酸の取り込み。矢印の数字はポリゾーム size
(b) ポリオウイルス感染 HeLa 細胞ポリゾーム。

の開始後約0.5～1時間に相当)では90%以上というポリゾームの劇的な減少がみられた。この効果はアクチノマイシン処理より著しく大きく、ポリオ感染はポリゾームに対して直接的な破壊効果を有していることが証明された。

次にこれら2つの効果を併用してみた所、感染後4時間では、新たに出来てきたポリゾームは、図10(b)の如く正常細胞よりもsizeの大きなポリゾームが出来ており、フラクションAを電顕像でみた所、平均60個(50—70個)の巨大なポリマーであった(図11)。ポ

図11. 正常 HeLa 細胞ポリゾームの電顕像。
図10(a)の Fraction Number 16 (ポリゾーム size 14—22) から分取

リオウイルスの RNA の分子量から考えて、約6,000個のヌクレオチドが50—70個のリボゾームを hold する size は、ヘモグロビンのポリゾームの結果とよく一致する。

図12の電顕像(a)のY字形構造と(b)の房形構造のものが、何を示しているかは不明であるが、(b)でみられる多くの小粒子は長軸70Å、短軸50Åの回転楕円体で

図12. ポリオ感染 HeLa 細胞ポリゾームの電顕像
図10(b)の Fraction A から分取
(a) Y字形ポリゾーム (b) 房状ポリゾーム小さい粒子はウイルス capsid タンパク質

分子量約8万と推定され、この値はポリオウイルスの capsomere の分子量と大体同じである。ポリオポリゾームはウイルス coat タンパクでつくられた抗体に結合する物質を含んでいることが知られているので、ポリオ coat タンパクのいくらかがポリゾームと一緒に SDGC で沈降したものと考えられた。最近2種の capsid タンパクが存在することが判明したこと、新しい RNA ポリメラーゼの出現すること、および細胞内ポリゾームの特異的分解や host RNA の合成の抑制等の機能から考えて、Rich 等はポリオ RNA は5種類あるいはそれ以上のタンパクに対する code を有していることが想像され、このウイルス RNA も polycistronic mRNA として彼等はいろいろタンパク鎖同志の立体的形成について論じている。

(5) 筋肉のポリゾーム

筋肉組織は分子量約50万の巨大タンパク質 myosin を約60% (乾燥重量)の高率で含有し(ウサギ)、各種のホルモンに対して鋭敏であることから、この組織のタンパク質合成はどのようになっているかということも興味あることである。しかも mRNA の大きさとポリゾームの size との相関関係が次第に解明されつつあったので、Florini はラットの骨格筋を用いて、アミノ酸の取り込み能をしらべた所、他の細胞同様、GTP、還元型グルタチオン、ATP、 K^+ 、 Mg^{2+} 、sRNA および可溶性酵素が必須であることを認めたが、他の多くの人々と同様活性ポリゾームを分離することに失敗した。そこで彼等は Rendi, Hultin, Jackson, Munro, Korner の方法を巧みに利用して、ミクロゾーム分割を0.5% Lubrol, 1% DOC 処理後1.0M蔗糖溶液上に重層し遠心して得た pellet から図13のようなきれいな電顕像を示した。このポリゾームは115個の

図13. ラット骨格筋のポリゾームの電顕像³⁸⁾
 (a) 全リボゾームの resuspend したペレットからのフラクション。38,000×
 (b) 蔗糖密度勾配遠心で分離したポリゾーム鎖 25,500×

リボゾームが直線状に連結した直径250Åの極端に長い(約72,000Å)ものであり, papain, collagenase, chymotrypsin, lysozyme, wheat germ lipase, DNase の処理でもぜんぜんその電顕像に変化を与えなかったが, RNase に対して敏感に作用しポリゾーム構造は完全に消失した。Kielley 等は myosin を尿素処理して約20万の分子量の subunit に解離することを最近発表している。例の如く計算するとこのポリゾームは約35万のタンパク分子, さらに mRNA が固く coil しているならば triplet 当り10.5Åで, 約70万のタンパク分子を合成する能力を有し, myosin の全分子を合成するに充分な size であろうと述べている。

(6) 酵母およびその他のポリゾーム

Marcus 等は最近酵母から50%ポリゾームを含有する標品を分離し, 73Sモノマーから (73S)₇までの7個のピーク, さらに電顕像から octamer, nonamer も認め, リボゾーム当りの C¹⁴ アミノ酸のとりこみの比活性が (73S)₁₀ まで直線的に増大することを見出した。

また, Rich 等は繊維タンパク質コラーゲンの合成を C¹⁴ プロリンを用いて, ニワトリ胎児で研究し, 400S 以上のポリゾーム上で合成され, 電顕像から約

100個のポリゾームであると報告している。

その他, 葉緑体からのポリゾームも報告され, 短時間(40分)キャベツの葉を太陽光線にさらすことにより, 急速にポリゾームが増加することや, ラット胸線のポリゾームが hydrocortisone の投与で減少すること等, 次々とその存在が報告されている。

V. mRNA の安定性

大腸菌の増殖期(log phase)の mRNA は非常に代謝回転がはやいこと(half life 約2.5分)から, 一般に mRNA は非常に不安定であると考えられてきた。

しかし Penman, Darnell 等は Hela 細胞で約3時間と測定され, Steahelin, Noll 等⁴⁶⁾ Korner, Munro⁴⁷⁾ はアクチノマイシンによる実験でのポリゾーム構造の減少速度から約4~5時間と推定した。

成熟ラットの肝細胞の細胞分裂が, 平均年1回位といわれ, 約6日間で細胞の等量のタンパク質を合成するという報告がある。したがってバクテリア細胞とはことなり, ラット肝の場合には非常に長い generation time と非常に高いタンパク合成 rate を有しているのが特徴であろう。

このような観点から最近 Revel, Hiatt は Steahelin 等に反論し, アクチノマイシンDを1.5mg/1kg体重(体重200~250gラット使用)投与後, 17~18時間後および40時間後のRNAの合成阻害を確認した後, C¹⁴-ロイシンでの in vivo, in vitro の両方の取り組みを見た所, アクチノマイシン未処理のものとぜんぜん差異が認められないことなどから, 細胞質の mRNA A は少くとも40時間は安定であると報告した。

ポリゾーム構造の減少は大過剰のアクチノマイシン(2mg/400gラット)の細胞毒によることも考えられる。筆者はポリゾームRNA合成に対するアクチノマイシンの titration の研究で, 0.25mg/400gラット投与後, 15時間後では細胞質 mRNA の合成が完全に阻害されていることを知ったので, この時期のポリゾーム構造の減少をしらべた結果, ぜんぜん影響のないことが判明した。

それゆえ, Hiatt 等の結論を支持するものである。したがって大腸菌 2.5分, Hela 細胞 3時間, ラット肝細胞 40時間以上という値から, mRNA の half life は細胞の generation time によって決定されるのではないかと考えるものである。

さらに最近ポリゾーム構造を手段に使用して, リボゾーム上でのポリペプチド鎖の生成の際, 各リボゾー

ム当りの sRNA の数が測定され、Warner, Rich⁵³⁾ A. Kaji は2個、Wettstein, Noll は3個の sRNA が合成に関与していることを報告していることから、Schweet⁵⁴⁾⁵⁵⁾ らの結合酵素 (TF-1) とペプチド合成酵素 (TF-2) とからみ合せて、triplet code の解読と aminoacyl 基の transfer によるペプチド結合のメカニズムの解明が期待される。

* Noll 等は Ergosome と命名したが一般にポリゾームが用いられているので、ポリゾームに統一した。

文 献

- 1) J.R. Warner, A. Rich, C.E. Hall; Science 138, 1399 (1962)
- 2) J. R. Warner, P. M. Knopf, A. Rich; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 49, 122 (1963)
- 3) F.O. Wettstein, T. Staehelin, H. Noll; Nature 197, 430 (1963)
- 4) H. Noll, T. Staehelin, F.O. Wettstein; ibid. 198, 632 (1963)
- 5) A. Gierer; J. Mol. Biol. 6, 148 (1963)
- 6) 前田章夫;蛋白質, 核酸, 酵素, 6, 713 (1961)
- 7) 高浪満;生化学 35, 293 (1963)
- 8) 田代裕;蛋白質, 核酸, 酵素 10, 151 (1965)
- 9) M. G. Hamilton, M.L. Peterman; J. Biol. Chem. 234, 1441 (1959)
- 10) H.R.V. Arnstein; Biochem. J., 81, 24p (1961)
- 11) G. Attardi, J. Smith; Symposia on Quantitative Biology Vol. XXVII, 271 (1962)
- 12) H. Lamfrom, E.R. Glowacki; J. Mol. Biol. 5, 97 (1962)
- 13) A. Tisseières, D. Schlessinger, F. Gros; Proc. Nat. Acad. Sci. u.s. 46, 1450 (1960)
- 14) R.W. Risebrough, A. Tisseières, J. D. Watson; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 48, 430 (1962)
- 15) S.H. Barondes, M.W. Nirenberg; Science, 138, 813 (1962)
- 16) G.J. Spyrides, F. Lipmann; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 48, 1977 (1962)
- 17) T. Okamoto, M. Takanami; Biochem. et Biophys. Acta. 68, 325 (1963).
- 18) W. Gilbert; J. Mol. Biol. 6, 389 (1963)
- 19) G. Zubay; Science 140, 1092 (1963)
- 20) T. Staehelin, F. O. Wettstein, H. Oura, H. Noll; Nature, 201, 264 (1964)
- 21) C. Levinthal, A. Keynan, A. Higa; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 48, 1631 (1962)
- 22) T. Staehelin, C.C. Brinton, F. O. Wettstein, H. Noll; Nature 199, 865 (1963)
- 23) Y. Kiho, A. Rich; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 51, 111 (1964)
- 24) G. Attardi, S. Naono, J. Rouvière, F. Jacob, F. Gros; in Synthesis and Structure of Macromolecules, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Vol. 28 (1963)
- 25) M. Hayashi, S. Spiegelman, N. C. Franklin, S. E. Luria; Proc. Natl. Acad. Sci., 49, 728 (1963)
- 26) D. Zipser; J. Mol. Biol., 7, 113 (1963)
- 27) I. Zabin, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, vol. 28 (1963)
- 28) K. Weber, H. Sund, K. Wallenfels; Angew. Chem. 2, 481 (1963)
- 29) A. Rich, S. Penman, Y. Becker, J. Darnell, C. Hall, Science 142, 1658 (1963)
- 30) A. Rich, I. R. Warner, H. M. Goodman; Cold Spring Harbor Symposia. vol 28 (1963) p. 269
- 31) S. Penman, K. Scherrer, Y. Becker, J. E. Darnell; Proc. Natl. Acad. Sci., 49, 654 (1963)
- 32) J. T. Finch, A. King; Nature, 183, 1709 (1959)
- 33) M.D. Scharff, A.J. Shatkin, L. Levintow; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 50, 686 (1963)
- 34) J. Maizel, in press.
- 35) D. Baltimore, H.J. Eggers, R.M. Franklin, I. Tamm; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 49, 843 (1963)
- 36) A.G. Szent-Gyorgyi, Strunct. Function Muscle 2, 1 (1960)
- 37) J. R. Florini; Biochemistry 3, 209 (1964)
- 38) C.B. Breuer, M.C. Davies, J.R. Florini, ibid. 3, 1713 (1964)
- 39) R. Rendi, T. Hultin; Exptl. Cell. Res. 19, 253 (1960)
- 40) R. J. Jackson, A. J. Munro, A. Korner; Biochem. J., 89, 11p (1963)
- 41) W.W. Kielley, W. F. Harrington; Biochem. Biophys. Acta. 41, 401 (1960)
- 42) L. Marcus, R. Bretthauer, H. Halvorson, R. Bock; Science, 147, 615 (1965).
- 43) R.H. Kretsinger, G. Manner, B.S. Gould, A. Rich; Nature 202, 438 (1964)
- 44) M.F. Clark; Biochem. Biophys. Acta, 91, 671 (1964)
- 45) J. D. Gabourel, K.E. Fox; B.B.R.C. 18, 81 (1965)
- 46) T. Staehelin, F. O. Wettstein, H. Noll; Science, 140, 180 (1963)
- 47) A. Korner, A. Y. Munro; B. B. R. C. 11, 235 (1963)
- 48) J. Post, C. Y. Huang, J. Hoffman J. cell. Biol., 18 1 (1963)
- 49) J.E. Richmond, W.C. Shoemaker, D.H. Elwyn; Am. J. Physiol. 205, 848 (1963)
- 50) M. Revel, H. H. Hiatt; Proc. N.A.S. U.S. 51, 810 (1964)
- 51) H. Oura, H. Noll; in preparation
- 52) H. Oura; unpublished.
- 53) J. R. Warner, A. Rich; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 51 1134 (1964)
- 54) A. Kaji, H. Kaji; B. B. R. C. 13, 186 (1963)
- 55) H. Kaji, A. Kaji; Proc. Natl. Acad. Sci. u. s. 52, 1541 (1964)
- 56) F.O. Wettstein, H. Noll; J. Mol. Biol. 11, 35 (1965)
- 57) R. Arlinghaus, J. Schaeffer, R. Schweet; Proc. Natl. Acad. Sci. u.s. 51, 1291 (1964)