〔農化 第 50 巻, 第 2 号, p. R 97~R 103, 1976〕

ヌクレオチドで調節されるリボヌクレアーゼ

—ATP 阻害リボヌクレアーゼを中心として—

(昭和 50 年度農芸化学奨励賞受賞)

山 崎 真 狩

(東京大学農学部)

Ribonucleases Controlled by Nucleotides with
Special Reference to ATP-inhibited Ribonuclease

By Makari YAMASAKI

Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo, Tokyo

はじめに

Cell-free の蛋白合成系が Nirenberg と Matthei より確立されてからすでに 15 年を経過するが⁽¹⁾, 菌体外酵素の cell-free 合成系は, 最近やっと枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の α -アミラーゼ系ではば成功したといえるように思われる⁽²⁾. 著者らは, 約 10 年前に枯草菌 K 株の菌体外リボヌクレアーゼ (RNase)* の cell-free 合成系を確立するつもりで, 菌の粗抽出液の RNase 活性をしらべていたところ, その活性が ATP できわめてつよく阻害されることを知った⁽³⁾. 当時このような制御をうける RNase の存在がほとんど知られていなかったため, この ATP で阻害される RNase の研究を本格的に行うことにした. ここでは, はじめにこの ATP に感受性の RNase の諸性質について述べ, ついで, 他のヌクレオチド (オリゴおよびポリヌクレオチドを含む) に感受性の RNase についてのべ, これら RNase の制御機構の生理的意味についても言及したい.

ATP に感受性の RNase の分布

I. 細 菌

枯草菌 K 株の場合は, 後述のように菌体内 RNase が単離精製されて⁽⁴⁾, ATP 感受性が確かめられた⁽⁵⁾. 著者らは, これを ATP 阻害 RNase と呼んでいる. RNase

は, ホスホトランスフェラーゼ型 (環化型ともいい, 3'-ヌクレオチド生産型) と, ホスホジェステラーゼ型 (非環化型, 5'-ヌクレオチド生産型) に大別できるが, ATP 阻害 RNase は前者の型に属する. 同じような性質の酵素の細菌における分布につきしらべる目的で, 12 属, 34 種, 68 菌株のグラム陽性菌, 14 属, 23 種, 32 菌株のグラム陰性菌を対象として検索を行った. その結果, ATP に感受性を示す RNase を保持しているのは, *Bacillus* 属に属する 2 グループの菌のみであることが判明した⁽⁶⁾. すなわち 1 つは, *B. subtilis* (*B. amyloliquefaciens* と呼ばれているものを含む) グループで, RNase の至適 pH は 5.7, 粗酵素の状態では EDTA に対しても感受性が高い. Senesi らは, *B. subtilis* の菌体内 phosphodiesterase II (PDase II) がヌクレオシド 3 リン酸に感受性であることを報じている⁽⁷⁾が, 著者らの考えでは, これは PDase ではなく, ATP 阻害 RNase そのものであると思われる. *Bacillus* 属のもう 1 つのグループは, *B. cereus*, *B. cereus* var. *mycoides*, *B. thuringiensis* (いずれも近縁で, *B. anthracis* も含まれると思われる) で, これらの菌種の RNase は, 至適 pH 6.8, 粗酵素の EDTA 感受性は低い. このグループの RNase

* 略号: リボヌクレアーゼ: RNase, メッセンジャー RNA: m-RNA, トランスファー RNA: t-RNA, リボゾーム RNA: r-RNA.

も、後述するように環化型である。両グループの菌とも静止期でしらべると、細胞内 RNase 活性の 95% 以上が、この ATP 阻害 RNase で占められている⁽⁶⁾。

今田らによれば、*Pseudomonas graveolens* において、RNA の自己消化が 1 mM の ATP 存在下で約 70%、10 mM で 100% 阻害されることを報告している⁽⁸⁾。分解産物が 5'-ヌクレオチドであるので、ATP 阻害 RNase とは異なる非環化型の ATP 感受性 RNase の存在が予測される。一時、大腸菌において、m-RNA の分解酵素の候補の 1 つである RNase II (非環化型) が ATP に感受性であると報じられたが、その後誤りであることが分っている⁽⁹⁾。

II. 糸状菌、担子菌

古くに赤パンカビ (*Neurospora crassa*) の菌体内 RNase 活性が、ATP で阻害されるという短い記述があるが⁽¹⁰⁾、その後同菌から単離された RNase N₁, N₂, N₃ (いずれも環化型) については ATP 感受性について報告がない⁽¹¹⁾。同じ菌の分生孢子からとられたエンドヌクレアーゼ (1 本鎖の RNA および DNA に作用する非環化型酵素) が ATP で特異的に阻害されることが、別の研究者により報じられているが⁽¹²⁾、これが古い報告と対応するのかも知れない。

最近、黒沢らは、エノキダケの子実体の RNase (環化型) が、やはり ATP により特異的に阻害されることを発見し、酵素化学的検討をすすめている⁽¹³⁾。

III. 酵 母

古く Ohtaka らにより、パン酵母のリボゾームが ATP の存在下で安定化されることが報じられているのは⁽¹⁴⁾、あるいは ATP 感受性 RNase と関係があるのかもしれない。酵母の一種 *Candida lipolytica* の菌体内 RNase は、RNase 自身が ATP に感受性ではないのだが、熱に不安定な蛋白質と ATP が共存すると、酵素活性が阻害される⁽¹⁵⁾。これは、ちょうど ATP で阻害される酵素と、蛋白性のインヒビターで阻害される酵素の両方の性質を有し、きわめて興味のあるものである。

IV. 動 物

ウシ脾臓 RNase A (環化型) も、実は ATP 感受性である⁽¹⁶⁾。しかしこの場合には、むしろ ADP などの方が阻害活性が強く、また酵素活性の阻害に 10 mM 以上の ATP (または ADP) を必要とし、生理的に意味のある感受性とはいいがたい。また Ukita らは、同じ RNase A の環状ホスホジエステラーゼ活性が ATP で拮抗的に

阻害されることを見出しているが、ATP のほかにも各種のヌクレオチドで阻害をうける⁽¹⁷⁾。

ATP 阻害 RNase の性質

I. 枯草菌 (*B. subtilis*) の酵素

i) 蛋白化学的特性

静止期では、ATP 阻害 RNase は枯草菌の主要菌体内 RNase であるが、著者らが研究をはじめた当時、この菌体内 RNase が西村、丸尾によって、すでに 17 倍に精製されていた⁽¹⁸⁾。しかし、ATP 感受性については知られていなかったため、枯草菌 K 株の ATP 阻害 RNase を精製し、その性質をしらべることにした。培地には代用肉汁を用い、37°C で通気培養し、対数期の終りから 10 時間目に集菌した。後述するように、この RNase を多量に得るためには、静止期の菌体を用いなければならない。ATP 阻害 RNase は、菌体粗抽出液の 10 万 g 上澄画分に存在する。6.3 kg の湿菌体の粗抽出液から、pH 5 の酸処理、硫酸分画、Sephadex G-75、DEAE-Sephadex A-25、Amberlite IRC-50 のカラムクロマトグラフィー、調製用ディスク電気泳動、最後に Sephadex G-75 のカラムクロマトグラフィーにより、ディスク電気泳動的に均一な標品 27 mg を得た。精製度は 4700 倍、回収率は 20% であった。回収率から考えて、静止期の湿菌体 1 kg に約 20 mg の ATP 阻害 RNase が含まれていることになる。これは、可溶性蛋白の 0.04 % に相当する。分子量を考慮に入れば、静止期の細胞 1 匹当たり、1500 分子程度存在する。

精製した酵素は、超遠心的にも電気泳動的にも単一であった。SDS ディスク電気泳動法でも、その他の方法でも分子量は 25,000 と算出され、単一ポリペプチド鎖より成る酵素と考えられる。本酵素の物理化学的恒数を、第 1 表に示す⁽¹⁹⁾。

枯草菌 K 株は、枯草菌 H 株と同様に、静止期に菌体外

第 1 表 枯草菌 K 株の ATP 阻害 RNase の物理化学恒数

分子量	SDS ゲル電気泳動法:	24,500
	ゲル濾過法:	25,000
	アミノ酸分析:	25,500
	遠心沈降法:	(37,600)
$S_{20,W}$		2.4 S
$D_{20,W}$		5.8×10^{-7} cm ² /sec
偏比容 (アミノ酸分析から)		0.725
まさつ比		1.32
等電点		4.5

に多量の RNase を分泌する⁽²⁰⁾。H 株の菌体外 RNase は Nishimura により結晶化され⁽²¹⁾、性質がよく知られているが、分子量は ATP 阻害 RNase のちょうど半分程度 (12,382) であり⁽²²⁾、反応分解物をみると、環化型の酵素であることが分る⁽²¹⁾。後述するように、ATP 阻害 RNase も環化型であり、また生成してくる時期が、菌体内外の両 RNase とほとんど同じなので、菌体内 ATP 阻害 RNase は、菌体外 RNase のダイマー型前駆体ということが考えられた。しかしアミノ酸分析の結果、菌体外 RNase には含まれない半シスチンが、ATP 阻害 RNase には2分子含まれていることが分り⁽¹⁹⁾、お互いに由来を異にする酵素であることが示唆された。このことは、さらに ATP 阻害 RNase に対するウサギの抗血清が、菌体外 RNase と交差反応を示さないことから確かめられた⁽¹⁹⁾。なお Nakai らが、枯草菌 SB 15 株で認めた菌体外 RNase (環化型) は、記述されたいろいろな性質が、ATP 阻害 RNase ときわめてよく類似しているので⁽²⁷⁾、この株では菌体内の RNase が、一部分分泌されていることが考えられる。著者らが材料に用いている枯草菌 K 株でも、ATP 阻害 RNase の一部が漏出していることが、前述のウサギの抗血清を用いて確かめられた⁽¹⁹⁾。

ii) 酵素化学的特性

枯草菌 K 株の精製 ATP 阻害 RNase は、至適 pH が 5.7 にあり、酵母 RNA をほぼ 100% 分解してヌクレオシド-2',3'-環状モノリン酸 (N>) にする⁽⁴⁾。従って本酵素は、環化型の RNase である。通常の RNase は、環状ホスホジエステル結合をさらに切断し 3'-ヌクレオチドを与えるが、この酵素の場合その環状ホスホジエステラーゼ活性を全く欠いている点で、きわめて特異的である。poly A, poly C, poly U, poly G を分解すれば、対応する N> になる⁽⁴⁾。また合成 2 重鎖 RNA の poly I-poly C は、酵母 RNA の 1/200 の速度で分解される⁽¹⁹⁾。反応分解物を経時的にしらべてみても N> のみであることから、はじめ本酵素は、エキソ型の酵素と考えられたが、第1図で明らかなように、枯草菌の r-RNA に短時間反応させてみると、きわめて大きなフラグメントに分解していることが分ってきた⁽⁴⁶⁾。従って、正しくはエンド型の酵素であるが、最終的にはすべて N> になるので、塩基特異性はほとんどない。

ATP 阻害 RNase は、RNA から N> を調製するのに最適の酵素である。N> には比較的高エネルギーの

第1図 ATP 阻害 RNase のエンドヌクレアーゼ活性

r-RNA と RNase を、一定時間反応させ、加熱処理で反応を止めた後、4% アクリルアミドゲルで電気泳動し、RNA をアクリジン・オレンジで染めたもの。

1: *B. subtilis* および *B. cereus* の r-RNA, 2: *B. cereus* の r-RNA を *B. cereus* の RNase で2分間分解したもの (pH 7.0), 3: 同じく 10分間反応, 4: 同じく 60分間反応, 5: *B. subtilis* の r-RNA を *B. subtilis* の RNase で2分間分解したもの (pH 7.0), 6: 同じく 10分間反応, 7: 同じく 60分間反応。

ン酸結合が保持されており、酵素の逆反応で RNA を合成できる⁽²³⁾。環状ホスホジエステラーゼ活性を併せもつ環化型の RNase は、この逆合成の効率が悪く、ATP 阻害 RNase は RNA の逆合成の酵素としても最適である。RNA の逆合成といっても鎖長の長いものは無理で N> とヌクレオシド (N') から、ジヌクレオシドモノリン酸 (NpN') の合成がもっともやりやすい。たとえば、

第2表 枯草菌 K 株の ATP 阻害 RNase による NpU および NpC の合成

NpN'	Yield (%) [*]	Base composition	
		Np	N'
UpU	53.0	1.00	0.91
CpU	52.1	1.00	0.97
ApU	75.4	1.00	0.97
GpU	43.0	1.00	0.97
UpC	21.4	1.00	0.97
CpC	25.5	1.00	1.01
ApC	51.7	1.00	1.00
GpC	57.5	1.00	0.98

N> : 0.25 M, U : 1.61 M, C : 0.55 M, pH 6.5, 0°C, 24 日の反応。できた NpN' は、RNase A または T₂ で分解して base composition をしらべた。

^{*} yield は、はじめの N> に対する%。

ApU の合成を例に挙げれば, 0.25 M の A> と 1.61 M のウリジン存在下, pH 6.5 で 0°C, 24 日反応させると, A> の 75% が ApU になっている⁽²⁴⁾. 37°C では, 約 20 時間で最高値に達し, A> の 20% が ApU になる. 単に収量を問題にするのであれば, 0°C がもっともよい. ATP 阻害 RNase は塩基特異性がほとんどみられず, 考えられる 16 とおりの NpN' がすべて合成できるはずである. 第2表には, そのうちの8種の合成例を示したが, 今までに試みられたどの RNase よりも高収量で NpN' を合成しうる⁽²⁴⁾. この合成反応も, また ATP 感受性である⁽²⁴⁾.

iii) ATP による阻害

精製酵素につき, 各種のヌクレオチドの影響をしらべてみた. 第3表にその結果を示すが, ATP, dATP によ

第3表 枯草菌の ATP 阻害 RNase 活性に対する各種ヌクレオチドの影響

Nucleotide	% Inhibition		Nucleotide	% Inhibition	
	pH 5.7	pH 7.0		pH 5.7	pH 7.0
ATP	95	97	5'-AMP	0	0
GTP	9	31	5'-GMP	0	0
CTP	0	0	5'-CMP	0	0
UTP	3	6	5'-UMP	0	0
ITP	4	8	5'-IMP	0	0
dATP	94	98	3',5'-AMP	0	0
ADP	55	97	3'(2')-AMP*	0	0
GDP	20	33	3'(2')-GMP*	0	0
CDP	0	0	3'(2')-CMP*	0	0
UDP	0	10	3'(2')-UMP*	0	0

各ヌクレオチドの濃度は 0.1 mm.

* 3'-ヌクレオチドと 2'-ヌクレオチドの混合物.

第2図 基質 (RNA) と反応速度の両逆数プロット

A: pH 5.7 での反応, ●—● 無添加, ○—○ 50 μM ADP 添加, +—+ 0.5 μM ATP 添加. B: pH 7.0 での反応, ●—● 無添加, ○—○ 0.2 μM ATP 添加, +—+ 0.1 μM ATP 添加. A, B とも, 枯草菌 K 株の ATP 阻害 RNase による反応.

って特異的につよい阻害をうけることが分る. ATP の阻害は可逆的で, ATP をはずせば活性は 100% 回復する. 第2図 (A), (B) に明らかなように ATP の阻害形式は拮抗型で, pH 5.7 (至適 pH) での K_i 値は 1.2×10^{-7} M (dATP は 2.1×10^{-7} M, ADP は 5.2 μM) であった. ATP による阻害は pH 依存性で, 中性から微アルカリ性で増強される. pH 7.0 での K_i 値は 6.2×10^{-8} M と, さらに pH 5.7 の場合より低くなる. pH 7.0 では 5 μM の ATP でも 90% の阻害がかかる⁽⁶⁾. エノキダケ子実体からの精製 RNase も ATP に感受性であることは前に述べたが, この場合は至適 pH も, 阻害の至適 pH もともに 5.4 であり, 500 μM で 90% の阻害がかかる⁽¹⁸⁾.

枯草菌の ATP 阻害 RNase できわめて興味ある点は, 微酸性側では認められないのに, 中性から微アルカリ性にかけて基質濃度と反応速度の両逆数プロットが, ATP 存在下でのみ曲線化することである (第2図 (B)). このことは, もとの基質飽和曲線は, シグモイド状を呈することを示す. pH 7.0 で Hill plot をとってみると, ATP 非存在下で, 勾配が 1, ATP 存在下で 1.33~1.35 となる. すなわち ATP 存在下では, 通常の Michaelis-Menten 型の 1 次反応から, 2 次反応にずれることを示し, アロステリック酵素の様相を呈する⁽⁶⁾. ところが pH 7.0 で ATP 存在下, 非存在下に ATP 阻害 RNase をショ糖密度勾配遠心にかけてみると, RNase 活性のピークの出るフラクション数は全く同じで, ATP 存在下に酵素分子の解離・会合が起っていないことがはっきりした⁽¹⁹⁾. また各種の脱感作処理が成功せず⁽⁵⁾, 酵素分子がモノマーであり, ATP による阻害形式が拮抗的であるところから, 現段階では定義の仕方にもよるが, アロステリック酵素とはいいたくない.

一方, 枯草菌の細胞内 ATP の濃度もルシフェリン・ルシフェラーゼ系で実測したところ, 対数期で高く, 静止期に入ると下降するが, 大体 10^{-4} M~ 10^{-5} M の間におさまることが分った. 従って ATP 阻害 RNase の阻害には, 充分量の ATP が存在する. 枯草菌細胞内の pH は実測できていないが, 大量の静止期菌体から濃い粗抽出液を調製すると, pH 6.0 くらいを示す. これらの条件下では, 細胞内で, ATP 阻害 RNase はきびしい制御下におかれているものと考えられる.

II. *B. cereus* の酵素

B. cereus グループには, 枯草菌グループに認められ

るものとは異なった至適 pH をもつ ATP 阻害 RNase のあることは前に述べたが, *B. cereus* IFO 3131 からこの RNase を部分精製した。分子量はゲル濾過法によると 27,000~28,000, 酵母 RNA を分解すると, やはり N^+ を生ずる。至適 pH は 6.8 で, 枯草菌酵素の 5.7 と異なるが, ATP の阻害の至適 pH は, 枯草菌の場合と同様 7.0 付近で K_i 値は 1.0×10^{-8} M である。ATP の阻害形式は, 拮抗型である。これらのことから至適 pH は異なるが, 基本的には, かなり枯草菌の酵素とよく似ていることが分った⁽²⁵⁾。著者らのグループでは, 最近この *B. cereus* の酵素も, 電気泳動的に均一な標品に精製したが, この精製酵素も枯草菌酵素と同様に, *B. cereus* の r-RNA にごく短時間反応させると, 大きなフラグメントにまず分解されることが分った⁽⁴⁶⁾ (第1図参照)。

ATP 阻害 RNase の生成

枯草菌 168 株では, 第3図で分るように, 対数期には ATP 1 mM を添加したときにも測定できる RNase 活性 (+ATP RNase) と, ATP 無添加のときの RNase 活性 (-ATP RNase) が同じである。すなわち, ATP 非感受性の RNase のみが存在し (従って阻害%は0になる), その活性は静止期に下降し, 逆に ATP 阻害 RNase は静止期に入り急激に細胞内活性が上昇する⁽²⁶⁾。従って ATP 阻害 RNase の生成は, 生育期依存性 (phase dependent) である。*B. cereus* IFO 3131 でも全く同様

の phase dependency が認められるが^(26,26), 枯草菌 K 株は, この phase dependency がややくずれている。

第3図の結果から, 静止期に入ると, ATP 非感受性 RNase から ATP 阻害 RNase への転換がおこる可能性も考えて, ATP 阻害 RNase の生成に及ぼすクロラムフェニコール (CM) の影響をしらべてみた。対数増殖期の終り (T_0) から一定時間ごとに CM 100 μ g/ml を添加してみると, CM の添加した時点から細胞内の ATP 阻害 RNase の比活性は全く上昇しないことが確かめられたので, *de novo* の合成により T_0 以降に生成されるものと考えられる⁽²⁶⁾。また ATP 阻害 RNase の生成は, グルコースにより顕著な catabolite repression をうける⁽²⁶⁾。

ATP 阻害 RNase の生理的役割

ATP 阻害 RNase は, 限られた種ではあるが *Bacillus* 属の細菌に認められること, および静止期に入って急激に細胞内で合成されるところから, 胞子形成に関与している可能性があるが, まだ明らかでない。ATP 存在下では, ATP 阻害 RNase が全く阻害されているというよりも, ATP の存在下に特殊なエンドヌクレアーゼとなり, RNA の代謝系に関与していることは充分に考えられる。

Rhaese らは, 枯草菌が胞子形成期にアデノシンペンタリン酸 (pppApp), アデノシンテトラリン酸 (ppApp) などのような特殊なヌクレオチドを微量ながら蓄積することを認めた⁽²⁸⁾。つづいて村尾らは, これら特殊ヌクレオチドおよび, グアノシンペンタリン酸 (pppGpp), グアノシンテトラリン酸 (ppGpp) を外部から枯草菌に与えると, 胞子形成率を顕著に増大することを報告している⁽²⁹⁾。従って, これら多リン酸ヌクレオチドが, ATP に代って RNase の制御因子として働く可能性も考えられる。

また枯草菌には anaerobic lysis といって, 対数期後期以後の菌を静置しておくと, 顕著な lysis が認められる場合があることが報告されている⁽³⁰⁾。もちろん lysis の主役は, 細胞壁溶解酵素であるが, 嫌気条件下で ATP レベルが下り, ATP 阻害 RNase が活性化されて

第3図 *Bacillus subtilis* 168 における ATP 阻害 RNase 生成の培養時期依存性

— ATP RNase: ATP 非存在下での RNase 活性,
+ ATP RNase: ATP 1 mM 存在下での RNase 活性。

RNA 分解が起り、これが lysis の引金になっている可能性も否定できない。

ATP 以外のヌクレオチドに感受性の RNase

I. モノヌクレオチドに対する感受性

最近、*Bacillus brevis* の菌体内の非環化型の RNase が、グアノシン-3',5'-環状モノリン酸 (cGMP) に強い感受性を示すことが報じられた⁽³¹⁾。動物においても微生物においても cGMP の細胞内濃度は cAMP と逆相関を示し、今まで cAMP のみによって説明されてきた調節現象が、cGMP も考慮に入れて解釈される機運にある。*B. brevis* の RNase は、1 mM の cGMP で 98% の障害がかかる。しかし細胞内の cGMP の濃度は 5×10^{-8} M ときわめて低く、cGMP に構造の似た自然の障害剤が別に存在するものと考えられる。

さらに最近、大腸菌から新たに見出された oligoribonuclease というオリゴヌクレオチドに特異的に作用する非環化型 RNase が、やはりヌクレオチド感受性を示す。障害の強いのは次の 4 ヌクレオチド、GDP, GTP, GMP, ADP (各 1 mM) で、それぞれ 88, 78, 75, 72% の障害がかかる。他のヌクレオチドの障害は弱い⁽³²⁾。

ここに述べた両酵素は、次に述べる大腸菌の RNase II とよく似た酵素で、この型の酵素は一般的にヌクレオチド感受性があるのではないと思われる。

II. オリゴヌクレオチドに対する感受性

大腸菌の RNase II は、1 本鎖 RNA の 3'-OH 末端よりエキソ型に分解する非環化型の酵素で、m-RNA を分解する酵素の候補の 1 つになっている。もしそうだとすれば、なんらかの形で制御されてしかるべき酵素であるが、今のところ分っているのは、オリゴデオキシリボヌクレオチドに対する感受性である⁽³³⁾。オリゴデオキシリボヌクレオチドには、いろいろの生理活性が知られており、RNase II 型の酵素の障害となんらかの関係があるともしろい⁽³⁴⁾。

III. ポリヌクレオチドに対する感受性

RNase ではないが大腸菌の DNA 分解酵素エンドヌクレアーゼ I が、t-RNA で強力に阻害される例は最も有名である⁽³⁵⁾。このため、大腸菌の粗抽出液を調製しただけでは、エンドヌクレアーゼ I の活性は検出できない。t-RNA のみならず、2 重鎖を形成した RNA が阻害活性をもっている⁽³⁶⁾。

RNase の例では、*Citrobacter* の RNase および、人

血清の RNase、人の脾臓の RNase が、ポリアデニル酸 (poly A)、ポリグアニル酸で強力に阻害される⁽³⁷⁾。動物の m-RNA のほとんどは、3'-末端に 50~200 ヌクレオチドの poly A 部分を持つが⁽³⁸⁾、この poly A がついているために RNase に抵抗性になっているという考え方があつた。実際動物の m-RNA の場合、poly A 部分を除去すると、崩壊の半減期が短くなったという報告もある⁽³⁹⁾。一方、細菌の m-RNA の半減期は一般に数分であるが、なかにはかなり長いものもあるようである⁽⁴⁰⁾。この半減期が短いのは、poly A 部分がないためだという考え方もあつたが、最近続々と微生物の m-RNA にも poly A 部分のついているものがあることが分つてきた^(41~43)。ただし大腸菌の場合⁽⁴²⁾、m-RNA のうち 3% 程度が poly A をもっているということで、このものが長寿命の m-RNA に対応するのかどうかは解析が進んでいない。

動物細胞や動物ウイルスの m-RNA の長寿命は、むしろ 5' 末端側のキャップ構造によるものと思われる。たとえば、ヘラ細胞の核のホモジェネートで合成された m-RNA の 5' 末端側は、いずれも 7-methylguanosine-5'-p-(p)-p^{5'}-2'-o-methylnucleoside-p- という構造をしている⁽⁴⁴⁾。微生物の m-RNA では、このような特殊構造は報告されていない。

お わ り に

Ochoa ら⁽⁴⁵⁾によって見出されたポリヌクレオチドホスホリラーゼは、ノーベル賞の受賞対象となったほどの酵素でありながら、生体内での役割がいまだに分らない例の 1 つである。

逆に m-RNA の崩壊現象のように、きわめて整然と制御されていることは分っているが、崩壊に関与する酵素の実態が分っていない例もある。

当然この両極の例では、酵素と生理現象の早期の融和が望まれる。ヌクレオチドに感受性の RNase の研究は、前者 (酵素先行型) の例になるが、調節を受けるだけでも少しは、他の一般 RNase よりは、生理現象との関連の解明に近い位置にあると思われるから、自らの反省もこめて、今少しの進展が望まれる。

ATP 阻害 RNase の研究に際し、終始ご指導、ご鞭達をいただきました東京大学農学部、田村学造教授ならびに有馬啓教授に厚くお礼申し上げます。また研究に協力

していただいた金子はるみ博士, 杉正人氏, 早津彦哉博士, 水上透氏他の諸氏ならびに三共株式会社 醸酵研究所, 科研化学株式会社の関係諸氏に心からお礼申し上げます。

- (1) M. W. Nirenberg and J. H. Matthaei : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **47**, 1558 (1961).
- (2) 二宮保男, 今西太治, 新名惇彦, 江夏敏郎 : 日農化大会講演要旨, p. 457 (1975).
- (3) M. Yamasaki and K. Arima : *Biochim. Biophys. Acta*, **139**, 202 (1967).
- (4) M. Yamasaki, K. Yoshida and K. Arima : *ibid.*, **209**, 463 (1970).
- (5) M. Yamasaki and K. Arima : *ibid.*, **209**, 475 (1970).
- (6) M. Yamasaki, M. Sugi and G. Tamura : *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 2595 (1973).
- (7) S. Senesi, G. Falcone, P. L. Ipata and R. A. Felicioli : *Biochem.*, **13**, 5008 (1974).
- (8) 今田 哲, 中尾義雄, 野上昂雄, 五十嵐政二, 緒方浩一 : 発酵と代謝, 第8号, p. 118 (1963).
- (9) R. K. Holms and M. F. Singer : *J. Biol. Chem.*, **248**, 2014 (1973).
- (10) S. Suskind and D. M. Bonner : *Biochim. Biophys. Acta*, **43**, 173 (1960).
- (11) 高井紀栄, 内田庸子, 江上不二夫 : 生化学, **39**, 473 (1967).
- (12) E. Z. Rabin, M. Mustard and M. J. Fraser : *Can. J. Biochem.*, **46**, 1285 (1968).
- (13) 黒沢辰一, 継岡秀行, 森口治雄 : 日農化大会講演要旨, p. 125 (1974); 黒沢辰一, 清水光雄, 内田博通 : 同上, p. 163 (1975).
- (14) Y. Ohtaka and K. Uchida : *Biochim. Biophys. Acta*, **76**, 94 (1963).
- (15) A. Imada, A. J. Sinskey and S. R. Tannenbaum : *ibid.*, **268**, 674 (1972).
- (16) W. Gamble and L. D. Wright : *Biochem. J.*, **97**, 340 (1965).
- (17) T. Ukita, W. Waku, M. Irie and D. Hoshino : *J. Biochem.*, **50**, 405 (1961).
- (18) S. Nishimura and B. Maruo : *Biochem. Biophys. Acta*, **40**, 355 (1966).
- (19) 金子はるみ, 山崎真狩, 田村学造 : 日農化大会講演要旨, p. 163 (1975).
- (20) S. Nishimura and M. Nomura : *J. Biochem.*, **46**, 161 (1959).
- (21) S. Nishimura : *Biochim. Biophys. Acta*, **45**, 15 (1960).
- (22) R. W. Hartley and E. A. Barker : *Nature New Biol.*, **235**, 15 (1972).
- (23) K. Sato-Asano and F. Egami : *Biochim. Biophys. Acta*, **29**, 655 (1958).
- (24) M. Saito, Y. Furuichi, K. Takeishi, M. Yoshida, M. Yamasaki, K. Arima, H. Hayatsu and T. Ukita : *ibid.*, **195**, 299 (1969).
- (25) 杉 正人, 山崎真狩, 田村学造 : 日農化大会講演要旨, p. 380 (1972).
- (26) 杉 正人, 山崎真狩, 田村学造 : 生化学, **46**, 494 (1974).
- (27) M. Nakai, Z. Minami, T. Yamazaki and H. Tsugita : *J. Biochem.*, **57**, 96 (1965).
- (28) H. J. Rhaese, H. Richtelmüller, R. Grade and R. Groscruth : *Spore VI*, p. 335 (1975).
- (29) S. Murao, Y. Hamagishi and T. Nishino : *Agr. Biol. Chem.*, **39**, 1893 (1975).
- (30) 野村真康 : 農化, **29**, 674 (1955).
- (31) N. Sarkar and H. Paulus : *J. Biol. Chem.*, **250**, 684 (1975).
- (32) A. K. Datta and S. K. Niyogi : *ibid.*, **250**, 7313 (1975).
- (33) L. Gorelic and D. Apirion : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **44**, 1184 (1971).
- (34) W. Braun and W. Firshein : *Bacteriol. Rev.*, **31**, 83 (1967).
- (35) I. R. Lehman, G. G. Roussos, and E. A. Prott : *J. Biol. Chem.*, **237**, 829 (1962).
- (36) A. DeWaard and I. R. Lehman : "Procedures in Nucleic Acid Research," ed. by G. L. Cantoni and D. R. Davis, Harper and Row Publishers, New York, 1966, p. 122.
- (37) C. C. Levy, P. B. Jewett, M. Schmukler, P. A. Hieter, J. J. Frank, S. M. LeGendre, T. P. Karpetsky and R. G. Dorr : *Nature*, **256**, 340 (1975).
- (38) G. Brawerman : *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, 621 (1974).
- (39) G. Huez, G. Marbaix, E. Hubert, M. Leclercq, U. Nudel, S. Soreq, R. Solomon, B. Lebleu, M. Revel and U. Z. Littauer : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **71**, 3143 (1974).
- (40) S. Lorengo, 山本 雅, 今本文男 : 生化学, **47**, 536 (1975).
- (41) N. Ohta, M. Sanders and A. Newton : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **72**, 2343 (1975).
- (42) H. Nakazato, S. Venkatesan and M. Edmonds : *Nature*, **256**, 144 (1975).
- (43) P. R. Srinivasan, M. Ramanarayanan and E. Rabbani : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **72**, 2910 (1975).
- (44) Y. Groner and J. Hururitz : *ibid.*, **72**, 2930 (1975).
- (45) M. Grunberg-Manago and S. Ochoa : *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 3165 (1955).
- (46) 杉 正人, 金子はるみ, 水上 透, 山崎真狩, 田村学造 : 未発表。

(50年12月15日受理)