真核生物における翻訳制御機構†

江 尻 慎 一 郎

(岩手大学農学部附属細胞育種実験施設)

はじめに

ヒト赤血球 グルコース-6-リン酸脱水素酵素の N-末端領域および C-末端領域は、おのおの第6およびX染色体に存在する遺伝子より転写される別々の mRNA から1本のポリペプチドとして翻訳される可能性が示された⁽¹⁾。mRNA 上の遺伝暗号が翻訳段階で編集されることも見出された⁽²⁾。まさに、常識をはるかに超える事実が、翻訳段階で相次いで発見されている。また、リボソーム、ペプチド鎖生成伸長因子等の翻訳装置自身の活性が、各種の修飾によりきわめて複雑な制御を受ける事実も明らかになりつつあり、生物の発生・分化、増殖等の機構を理解するうえで、重要な手がかりを与えるものと期待されている。本稿では、ポリペプチド鎖生成開始および伸長反応のリン酸化による活性制御機構を中心に、翻訳制御機構を概観する。

1. 開始反応をめぐる翻訳制御機構

真核生物における開始反応は、図1に示したように9種類以上もの開始因子が関与する、生体で最も複雑な反応の1つである。第1段階は、met-tRNA、GTP、および開始因子 eIF-2 から、開始三重複合体が生成する反応である。この複合体は、40S リボソームサブユニットに結合し、pre-43S 開始複合体となり、4A、4B、4F等の作用により mRNA を結合し、48S 開始複合体となる。この複合体は、eIF-5 の作用により 60S リボソームサブユニットと結合し、80S 開始複合体が形成され、eIF-2・GDP がリボソームから遊離する。長い間 eIF-2・GDP から eIF-2・GTP が再生する機構は不明であったが、Ochoa らにより GDP/GTP 交換反応促進因子 GEF (guanine nucleotide exchange factor) が発見され、開始反応のサイクルが完成するとともに、開始反応をめ

る諸制御系が明らかになってきた^(3,4) (図3)。

真核生物では、遺伝情報の転写と翻訳とが時間的にも場所的にも異なっており、原核生物に比し翻訳制御の重要性が増す。その際、ペプチド鎖の生合成を開始段階で制御することが最も効果的と考えられる。網状赤血球等で、ヘム欠乏やウイルス感染時に、おのおの、HCI (heme-controlled translational inhibitor) および DAI (double stranded RNA activated inhibitor) と呼ばれる protein kinase が自己リン酸化により活性化され、eIF-2 の α サブユニットがリン酸化される。リン酸化された eIF-2 (eIF-2-P) は、細胞に少量しか存在しない GEF と非解離型複合体を形成し、GDP/GTP 交換反応が阻害される。その結果、eIF-2 が数十%リン酸化されるとタンパク合成がほぼ完全に阻害されると推定されている⁽⁴⁾。また、興味深いことに、GEF 活性は、glucose-6-phosphate や fructose-1,6-diphosphate 等により促進され⁽⁵⁾、リン酸化され活性型となる⁽⁶⁾。長い間、ヘムによる HCI の活性調節に関する分子機構も不明であったが、最近 London らのグループによる *in vitro* の実験で、ヘム存在下では、HCI がジスルフィド結合によりダイマーとなり protein kinase 活性が失われることが示された。ヘムが存在しないときには、ジスルフィド結合が還元され、活性型のモノマーとなり、eIF-2 をリン酸化し開始反応を阻害すると推定されている⁽⁷⁾。eIF-2 のリン酸化のレベルは、protein phosphatase PP1 によっても調節される⁽⁸⁾。細胞を熱処理すると、各種の熱ショックタンパク質が作られ、ホストのタンパク質合成が停止することが知られていたが、最近、網状赤血球の 90 kDa 熱ショックタンパク質がリン酸化され活性型となり、eIF-2 のリン酸化を促進し、開始段階を阻害する可能性が示された⁽⁹⁾。このタンパク質は、エストロゲン受容体や発癌遺伝子産物 pp60^{src} とも親和性を有するので研究の進展が待たれる。以上の諸結果は細胞の生理的状态の変化に応じてタンパク質生合成を制御する戦略

† Translational Regulation in Mammalian Cells. Shin-ichiro EJIRI (Institute for Cell Biology and Genetics, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020)

図 1 真核生物におけるポリペプチド鎖生成開始反応機構

図 2 真核生物におけるポリペプチド鎖伸長反応機構 (A): A(aminoacyl-tRNA) 部位, (P): P(peptidyl-tRNA) 部位

として興味深い。

2. 伸長反応をめぐる翻訳制御機構

リボソームに aa-tRNA を結合させる因子が elongation factor EF-1 であり、多くの真核生物で α , β , β' , γ (または $\alpha\beta\gamma$) サブユニットより構成される⁽¹⁰⁾。EF-1 は、GTP および aa-tRNA 存在下に、EF-1 α ·GTP·aa-tRNA 三重複合体を形成し、aa-tRNA をリボソームに結合させ、EF-1 α ·GDP がリボソームから遊離する。長い間、EF-1 α ·GDP から EF-1 α ·GTP を再生する機構は不明であったが、筆者らは、 $\beta\beta'\gamma$ (または $\beta\gamma$) が GDP/GTP 交換反応を触媒する因子であることを明らかにし、aa-tRNA 結合反応のサイクルを完成させた⁽¹¹⁾ (図 2)。リボソームの P 部位に met-tRNA_f または peptidyl-tRNA, A 部位に aa-tRNA が結合すると、リボソーム 60S サブユニットに存在する peptidyltransferase により、ペプチドが aa-tRNA に転移する。A 部

図 3 翻訳段階諸反応のリン酸化による活性制御機構 Δ , Protein kinase; $\blacktriangle$, protein phosphatase (PP); HCl, heme-controlled translational inhibitor; DAI, double stranded RNA activated inhibitor; GEF, guanine nucleotide exchange factor.

位の peptidyl-tRNA は、EF-2 の translocation 作用により P 部位に転移し、mRNA が 1 コドン移動する。現在のところ、translocation 反応に伴うメカノケミカルな過程およびペプチド転移反応の分子機構は不明であり、残された最大の課題である。伸長段階をめぐる制御系の解析も今後の重要な課題であり、図 3 に示した諸制御系が明かにされつつある。

いったん開始したペプチド鎖生成を、伸長レベルで制御することは非合理的であると思われていたが、筆者は、タンパク質合成系の進化の初期には、伸長段階の制御が主力であり、現在もその名残が存在するものと考え解析を続けた。1985 年に伸長因子のリン酸化がコムギ胚芽 EF-1 β サブユニットで初めて確認された。このリン酸化は cGMP により促進され、タンパク質合成が促進される⁽¹²⁾。現在、カイコ糸糸腺およびコムギ胚芽より protein kinase および protein phosphatase を精製し、EF-1 のリン酸化による活性制御機構の解析を進めている段階であるが、精製した casein kinase II 類似の EF-1 β kinase は、EF-1 β phosphatase で脱リン酸化し、タンパク質合成促進活性を失ったカイコおよびコムギ胚芽の EF-1 $\beta\beta'\gamma$ を再リン酸化し、活性をほぼ 100% 回復させた。 β のリン酸化により GDP/GTP 交換反応が促進され、タンパク質合成が促進されることが明らかになりつつある。多くの動植物の系で同様のリン酸化が観察されるので、上記の制御系は、真核生物に共通したタンパク質合成の基本的な制御系ではないかと推定している。

EF-1 の多形現象も興味深い：各種動物の EF-1 の分子量が約 50, 150, 600, >600 K, とさまざまな成分の存在が知られていたが、その構造と機能は全く不明であっ

た。われわれは、50 K が EF-1 α , 150 K 以上の成分が $\alpha\beta\beta'\gamma$ より構成されることを示すとともに、600 K 以上の成分には細胞質の低分子 RNA (EF-1 RNA) が含まれていることを明らかにした⁽¹³⁾。カイコ網糸線より精製した EF-1 RNA は、150 K の EF-1 を高分子化するとともに、タンパク質合成を強く阻害する。酵素の多形成および活性制御に RNA が関与する例はまれであり、その構造と機能の解明が待たれる。

EF-2 は、約 90 K の単一ポリペプチド鎖よりなる因子であり、最近、ラット肝臓の EF-2 が特異的な kinase によりリン酸化され、EF-2 の translocation 活性が阻害されることが明らかにされた⁽¹⁴⁾。新たな翻訳制御系として興味深い。EF-2 の修飾ヒスチジン残基 (diphthamide) がジフテリア毒素により認識され、ADP-ribosyl 化を受け EF-2 が不活性化される事実は古くから知られていたが、この場合は、ADP-ribosyl 化された EF-2 がリボソームより解離し難いことが原因であると推定されている。古細菌および真核生物はジフテリア毒素に犯されるために EF-2 を飾ったとは考えられなかったが、最近、生体内にも ADP-ribosyltransferase が存在し、EF-2 活性の制御に関与する可能性が示された。すなわち、ポリオマーウイルスで形質転換した baby hamster の腎臓細胞を 2 および 10% の血清存在下に培養すると、増殖速度の遅い前者で EF-2 の ADP-ribosyl 化の度合いが高いことが示された⁽¹⁵⁾。

以上に概観したように、タンパク質合成は、開始および伸長段階に限ってみても、きわめて複雑な制御を受けていることがわかる。この他、aminoacyl-tRNA 合成酵素 (ARSase), mRNA タンパク質複合体 (mRNP), リボソームタンパク質 S6 等もリン酸化により制御される⁽¹⁶⁾ (図 3)。ARSase ではリン酸化により活性が阻害されるが、mRNP および S6 はリン酸化により活性化される。S6 は、40 S リボソームサブユニットのおもなリン酸化タンパク質であり、タンパク合成を促進するインシュリン等によりリン酸化が促進され、タンパク合成活性が促進される。

おわりに

多細胞生物においては、組織や細胞間の統制のとれた情報伝達のネットワークが、細胞の増殖、恒常性の維持、環境変化への適応等に必須であり、これらの乱れ

が、細胞の老化や癌化の原因の 1 つと考えられている。昨今、細胞増殖因子等のシグナルの変換・増幅に関する分子機構の解明は目ざましいものがある。しかし、シグナル伝達の最終ターゲット等は依然として謎に包まれている。細胞の発生・分化や癌細胞の旺盛な増殖のためには、タンパク質合成の活性化が必須であり、その機構の解明が待たれる。

上述したように、翻訳段階をめぐる制御系の分子機構も最近急速に解明されつつあり、21 世紀を待たずに、シグナル伝達機構や転写制御を含めた、タンパク質合成制御系の全体像が素描できるものと期待される。

- (1) H. Kanno, I. Huang, Y. W. Kan and A. Yoshida: *Cell*, **58**, 595 (1989).
- (2) D. M. Driscoll, J. K. Wynne, S. C. Wallis and J. Scott: *Cell*, **58**, 519 (1989).
- (3) 大槻建蔵: 蛋白質 核酸 酵素, **31**, 2023 (1986).
- (4) I. M. London, D. H. Levin, R. L. Matits, N. S. B. Thomas, R. Petryshyn and J. Chen: *Enzyme*, **18**, 359 (1987).
- (5) M. Gross, M. S. Rubino and T. K. Starn: *J. Biol. Chem.*, **263**, 12486 (1988).
- (6) J. N. Dholakia and A. J. Wahla: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 51 (1988).
- (7) J. Chen, J. M. Yang, R. Petryshyn, N. Kosower and I. M. London: *J. Biol. Chem.*, **264**, 9559 (1989).
- (8) R. Szyszk, W. Kudlicki, G. Kramer, B. Hardesty, J. Galabru and A. Hovanessian: *J. Biol. Chem.*, **264**, 3827 (1989).
- (9) D. W. Rose, W. J. Welch, G. Kramer and B. Hardesty: *J. Biol. Chem.*, **264**, 6239 (1989).
- (10) S. Ejiri: *Methods Enzymol*, **118**, 140 (1986).
- (11) 江尻慎一郎: 「タンパク質合成」, 講談社, 1984, p. 25.
- (12) S. Ejiri and H. Honda: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **128**, 53 (1985).
- (13) S. Ejiri, H. Nakamura, H. Takizawa and T. Katsumata: (in preparation).
- (14) A. G. Ryazanov and E. K. Davydova: *FEBS Lett.*, **251**, 187 (1989).
- (15) J. L. Fendrick and W. J. Iglewski: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 554 (1989).
- (16) J. A. Traugh and A. M. Pendergast: *Progress in Nucleic Acid Research*, **33**, 195 (1986).