

# 真核細胞におけるリボソーム生合成について

## rRNA およびリボソームタンパク質の相関的生合成のメカニズム

劔 邦夫

リボソームは細菌から高等動物にいたる全ての細胞に存在し、数種の rRNA と数十種のリボソームタンパク質から構成されている。これら100種ちかい構成成分の大部分は一分子ずつで構成され、少なくとも亜粒子を単位に合成、分解を受けている。したがって、各成分がどのように等分子数ずつ合成されるように調節を受けているかは大いに興味ある問題である。このような場合、遺伝子が最初に読取られる転写レベルでの調節機構が最も考えられ、酵母を用いた研究から、リボソームタンパク質の合成に遺伝子上の転写調節要素と、トランス作動性調節因子の存在が明らかになってきた。しかし、その詳しい作用機構や、rRNA との相関的生合成に関しては分かっていない。また、転写後の種々のステップ、すなわち、mRNA の輸送、リボソームタンパク質への翻訳、リボソームタンパク質の分解などの段階でも調節されていることが分かってきた。

キーワード：真核細胞，リボソーム，生合成，転写調節，タンパク質分解

### I リボソームとは

#### 1. リボソームの構造

リボソームは細菌から高等動物にいたる全ての細胞に存在し、タンパク質合成の場として必須の細胞内小器官である。その構成は前核細胞と真核細胞でサイズに明確な違いが見られるが本質的には同じもので数種の RNA と数十種のタンパク質からなる超高分子構造物である<sup>1)</sup> (図1)。真核細胞のリボソームは沈降速度係数が80S で前核細胞のリボソーム(70S)より大きく、大亜粒子は3種の RNA (28S, 5.8S, 5S) と約50種のタンパク質、小亜粒子は1種の RNA (18S) と約40種のタンパク質から構成されている。

#### 2. リボソームの合成過程

リボソームの生合成については、細胞内小器官の形成のモデルとしてだけでなく、各構成成分が各1分子ずつが会合して構成されていることから、個々の構成成分の合成がなんらかの協調的制御を受けていると考

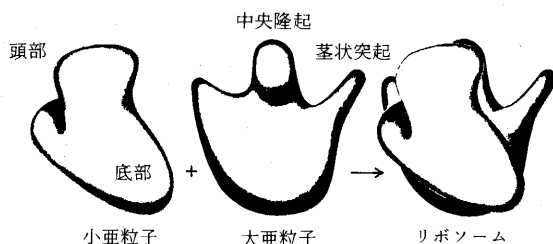


図1 前核細胞リボソームの立体構造<sup>1)</sup>

前核細胞の場合、大亜粒子は23S, 5SrRNA と40種のタンパク質、小亜粒子は16SrRNA と32種のタンパク質からなる。真核細胞リボソームの詳しい立体構造はまだ分かっていないが、基本的な構造はあまり変わらない<sup>1)</sup>。

えられ、情報発現の調節機構の研究モデルとして多くの研究が行われている。ことに真核細胞では、RNA 合成の場である核とタンパク質合成の場である細胞質が分化していることにより、リボソームの合成の過程は非常に複雑になっている<sup>2,3)</sup>。図2に見られるように、リボソーム合成は大きく分けて rRNA を中心とする流れと、リボソームタンパク質を中心とする流れがある。すなわち、rRNA のうち大亜粒子の28S, 5.8SrRNA, および小亜粒子の18SrRNA は核小体で45SrRNA 前駆体として合成され、残りの5SrRNA は核

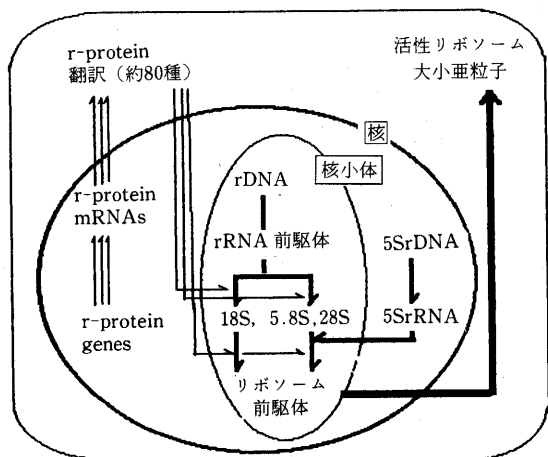


図2 真核細胞におけるリボソーム合成経路の概要  
(r-protein はリボソームタンパク質の略)

小体外で合成され核小体へ移行する。一方のリボソームタンパク質のmRNAは核内で合成後、細胞質へ運搬され、タンパク質に翻訳されたのちに核小体へ移行する。両者は核小体で会合した後、なんらかの成熟過程を経て細胞質へ游出して機能することになる。また、後述のようにリボソームタンパク質の一部は細胞質内でリボソームに会合することが知られている。

## II リボソーム生成の調節機構

### 1. リボソームの代謝

真核細胞におけるリボソームの代謝は細胞によってかなり異なる。酵母や原生動物のような単細胞の生物では成長期ではリボソームは合成される一方で、分解されることはない。この点では大腸菌などの前核細胞に似ているが、成長速度の上昇にともなう細胞内リボソーム量の増加はそれほど多くはない。それに対し哺乳動物の肝臓などに代表される静止期にある細胞では、リボソームは常に合成と分解によって交替（ターンオーバー）し、両者の速度は何等かの機構によってバランスがとられ、リボソーム量は一定に保たれる。これらの細胞はなにかの刺激で増殖を始めたとしても一時的で、リボソーム合成も合成と分解のバランスの変動によって調節される。たとえば、ラット再生肝では合成が促進することによって細胞分裂に見あうようにリボソーム量が増加する。また、培養細胞、あるいは

は形質転換した細胞では、増殖期においては合成が優位になるが、静止期では合成と分解がバランスし、交替しながらリボソーム量は一定に保たれる。

この様に、リボソーム代謝は細胞の分裂サイクルの状態に応じてうまく調節されているが、それではリボソームの100種近い構成成分は個々に代謝されているのであろうか、あるいはリボソームを単位として代謝されるのであろうか。われわれは再生肝をもちい、二重標識法などを用いて各リボソームタンパク質、およびrRNAの半減期などを検討し、リボソームが亜粒子あるいはモノソームを単位として分解されることを示したり。すなわち、リボソームの各成分は同じ半減期（100時間）を示し、同時に分解され、リボソーム間でタンパク質やRNAが交替したり、再利用されたりすることはないことを示している。このことはまた、新たなリボソームの合成には新たに合成されたリボソームタンパク質とrRNAが必要だと考えられる。

それでは、新たにリボソームが合成されるには約100種ちかい構成分子が互に過不足なく合成されることが必要になるが、それはどのように制御されているのであろうか。この機構については、従来、rRNAとリボソームタンパク質mRNAの転写レベル（DNAからRNAが合成されるレベル）での相関的制御がもっとも考えられてきた。しかし、研究が進むにつれて、事実それほど単純ではなく、転写に引きつづく全ての段階、すなわち、転写産物のプロセッシングや分解、mRNAの翻訳、翻訳産物（リボソームタンパク質）の分解、等々における制御についても考える必要があることが明らかになってきている<sup>3)</sup>。

### 2. rRNAとリボソームタンパク質の生合成における相関について

リボソームの生合成におけるrRNAとリボソームタンパク質の合成の相関については大腸菌では早くから認められていた。すなわち、大腸菌では要求アミノ酸を培養液から除去すると、リボソームタンパク質mRNAの転写だけでなくrRNAの転写も同時に停止する。これは緊縮応答と呼ばれ、いわゆる“マジック・スポット” (ppGpp) が反応の伝達物質となっていることが知られている。真核細胞でも酵母でのみ、この緊縮応答に似た反応がおこることが報告されている<sup>5)</sup>が、その詳しい機構については明らかではない。

高等生物でのrRNAとリボソームタンパク質合成の相関は最初に、再生肝を用いて検討された<sup>6)</sup>。その結果、両者の合成は部分肝切除後から徐々に上昇し12時間後にはほぼ12倍近い上昇が見られ、両者に強い相関が在ることが分かった。さらに、リボソームタンパク質の合成の上昇は、おもにそのmRNAの増加によることが分かり、両者は転写レベルで相関していることが示された。同じような結果が培養細胞において、培地に血清添加した場合に見られるリボソーム合成の上昇時にも見られることが報告されている。したがって、リボソームおよびrRNA合成が促進するような条件では、リボソームタンパク質合成も転写レベルで促進されることが分かる。

上述の結果はrRNAとリボソームタンパク質mRNA合成の相関に直接的な機構が介在している可能性を示唆しているが、もしそうだとすると、rRNA合成が抑制される条件ではリボソームタンパク質合成も抑制されることになる。この点を確認するためRNA合成阻害剤であるアクチノマイシンDのlow doseを部分肝切除ラットに注射しrRNA合成を選択的に阻害して、リボソームタンパク質合成への影響が調べられた。その結果、rRNA合成阻害時にはリボソームタンパク質合成はほとんど正常に行われているが、合成されたリボソームタンパク質は20~40分という非常に短い半減期で分解されていることが分かった<sup>7)</sup>。すなわち、rRNA合成が一次的に阻害されたときは、リボソームタンパク質合成は直接的な影響は受けないようである。このことは同じアクチノマイシンDを用いた実験でHeLa細胞でも同じ結果が得られ、また、筋原細胞の分化時や、培養細胞のグルコルチコイド処理時に見られるrRNA合成阻害時にも同じ結果が得られている。したがって、rRNAとリボソームタンパク質合成の相関関係において、rRNA合成が優先的にリボソームタンパク質の合成レベルを直接調節している可能性はないと思われる。また、クローン化したリボソームタンパク質遺伝子を細胞内に導入し、特定のリボソームタンパク質の合成を高めて、その効果をみた実験もかなり行われているが、rRNAや他のリボソームタンパク質の合成には影響はなく、ほとんどの場合過剰に合成されたタンパク質は分解されているようである。結局のところ、真核細胞のrRNAとリボソームタンパク質の生合成における相関関係は現象

的には明らかであるが、そこに介在する分子機構は複雑で間接的であることが推測される。

### 3. リボソームタンパク質の生合成の調節機構について

リボソームの構成成分のうち、rRNAは5SrRNAを除いては一つの前駆体RNAからプロセッシングにより生成されるのであまり問題にならないが、数十種以上あるリボソームタンパク質がどのように協調的に合成されているかは大きな問題であった。大腸菌では53あるリボソームタンパク質遺伝子は、約20のオペロンに分れて存在し、自己フィードバック制御機構によって調節されている<sup>8)</sup>。すなわち、オペロン中の一つのタンパク質が、合成されているrRNAに対し過剰になると自分のオペロンの調節部位に結合しその転写を抑制する。真核細胞では、各リボソームタンパク質遺伝子はゲノム中に散在して存在し、前核細胞とは大きく異なっている。しかし、前核細胞のものとよく似た自己フィードバック機構がWarnerらによって酵母をもちいて提唱された<sup>9)</sup>(図3のA)。すなわち、あるリボソームタンパク質が過剰に合成されると、そのタンパク質が自己のmRNA前駆体のイントロンに結合し、そのプロセッシングを抑制するという説である。この説は魅力的ではあるが、これに該当するものは、酵母のほかアフリカツメガエルで一個しか見つかっておらず、一般的な制御機構とは考えられない。むしろ、真核細胞の場合にもっとも考えられるのは、各遺伝子に

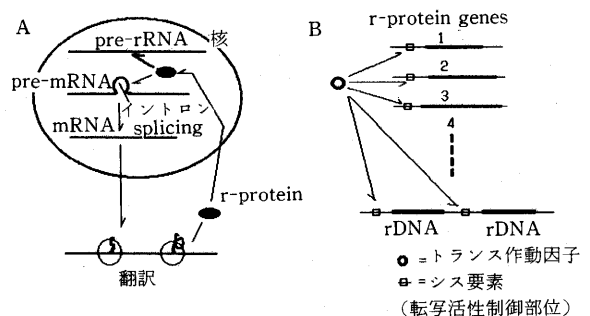


図3 転写レベルでのリボソーム合成調節機構に関する二つの仮説

A, Warnerらによるスプライシングの抑制によるフィードバック自己制御機構モデル。B, 各リボソームタンパク質遺伝子に共通のトランス作動性因子によって転写が調節されるという説。

共通してその転写を調節するタンパク質性因子（トランス作動性因子）が存在することである（図3のB）。そのためには因子が結合して機能するための塩基配列（シス要素）が各遺伝子に存在しなければならない。リボソームタンパク質遺伝子はまず酵母において多数クローン化され、それらの遺伝子の5'隣接領域の共通塩基配列が検索された。その結果、HOMOLI と RPG-box と呼ばれる12-15塩基長の二つの配列がよく保存されていることが示された<sup>10,11)</sup>。これらの塩基配列はUASrpg（リボソームタンパク質遺伝子の上流活性化部位）と呼ばれ、基本的には相同なものとされている。これらの配列は塩基性リボソームタンパク質のほぼ全ての遺伝子に見られ、TUF とよばれるタンパク質性因子が結合することが分かった<sup>12)</sup>。この因子は始めリボソームタンパク質遺伝子や転写延長因子に特異的なものと考えられていたが、これまで見つかったいくつかの因子と共通であることが分かり、リボソームタンパク質遺伝子に特異的なものではないようである。しかし、酵母を栄養の高い培地にシフトした際に見られるリボソームタンパク質の合成促進はこのUASrpg を介して行われることが明らかとなり、リボソームタンパク質の相関的合成に関係していることは確かである。しかし、温度シフト時に見られるリボソームタンパク質の転写制御には関与していないことが分かり、また、rRNA 遺伝子の転写にも関与しているという証拠はなく、より上位の調節機構がある可能性が大きい。高等動物のリボソームタンパク質遺伝子はまだクローン化されたものが少ないが、マウス、アフリカツメガエルなどの遺伝子でおこなわれた研究ではトランス作動因子もシス要素も複数存在しているようである。しかし、これらがリボソームタンパク質遺伝子間の相関的合成にどのように関与しているかはまだ分かっていない。

#### 4. リボソームタンパク質の分解による調節機構について

前に述べたように、ラット再生肝や HeLa 細胞でアクチノマイシン D で選択的に rRNA 合成を阻害したとき、リボソームタンパク質合成は継続的に行われ、新生リボソームタンパク質は急速に分解される。また、リボソームタンパク質遺伝子の gene dosage 実験などでも、リボソームタンパク質は過剰に合成され、分

解を受けることが分かってきた。これらの結果はリボソームタンパク質合成の調節が転写、あるいは翻訳レベルの機構ばかりでなく、最終産物の分解という一見非効率な機構によっても調節されていることを示している。この分解の機構はリボソームタンパク質にかなり特異的で核内のシステインプロテアーゼによって行われる<sup>13)</sup>。すなわち、ラットにシステインプロテアーゼの特異的阻害剤である E-64 を注射すると、アクチノマイシン D 処理によってひきおこされるリボソームタンパク質の分解が抑制され、リボソームタンパク質は核内に貯留する。また、この分解抑制はアクチノマイシン D 非処理のラット再生肝でも見られることから、正常でも過剰に合成されたリボソームタンパク質は分解によって調節されていることが明らかになった。さらに、アフリカツメガエル卵母細胞に標識したリボソームタンパク質を注入して調べた結果、ラット再生肝と同様、リボソームタンパク質はシステインプロテアーゼで分解され、脱核した卵母細胞では分解は見られなかった<sup>14)</sup>。これらのことから、リボソームタンパク質合成後、核内に移行し rRNA と会合できないものは、核内のシステインプロテアーゼで分解されることが示唆された。

#### 5. 酸性リボソームタンパク質の代謝について

リボソームを構成するタンパク質は大部分が塩基性タンパク質であるが、一部酸性リボソームタンパク質が存在する。酸性リボソームタンパク質はリボソーム上に基状突起を形成し、GTPase 活性センターを形成し、タンパク質合成の延長反応に関与していることが明らかとなっている。これらのタンパク質はリン酸化を受けていることから P タンパク質と総称され、酵母の場合、共通抗原性をもつ分子量13kDa の4種のタンパク質と38kDa のものからなるタンパク質ファミリーからなっている。これらはその代謝においても特異で、細胞質で合成された後、塩基性リボソームタンパク質と異なり核には移行せず、細胞質内で複合体を形成してプールされている。始め、アルテミアや酵母で細胞質内にはリボソーム結合型の約2倍の酸性リボソームタンパク質がプールされ、リボソームに結合したものと自由に交替しているものと考えられていた。しかし、酵母で詳しく検討してみると、プールの量は高々0.3%に過ぎないことがわかり、また、プールの大

部分は新生のタンパク質で酸性タンパク質の前駆体プールのであることがわかった<sup>15)</sup>。

酸性リボソームタンパク質の遺伝子は酵母でクローン化され、塩基配列が決定されている。これら遺伝子の5'隣接領域には塩基性リボソームタンパク質のものと同様、HOMOL1と RPG-box の二つの要素が認められるが、配列が後者の場合の逆になっている<sup>3)</sup>。しかし、これが酸性リボソームタンパク質の代謝の特異性とどう関係しているかはまだ分かっていない。

### III ま と め

最近の遺伝子のプロモーター領域の研究から、リボソームタンパク質の相関的合成は、転写レベルでの調節が大きな役割をもっていることが明らかになりつつある。つまり、リボソームタンパク質遺伝子はその5'隣接領域に共通の塩基配列をもち、その部位にトランスに作用する転写促進因子が存在することが分かってきた。しかし、リボソームタンパク質と rRNA の合成における相関性にも同じ因子が関与している可能性は薄く、より上位になんらかの機構がはたらいているものと思われる。また、特に高等生物のリボソーム合成の調節は転写後の調節機構によって行われている場合が多いことが指摘されている (図4)。本文では触れな

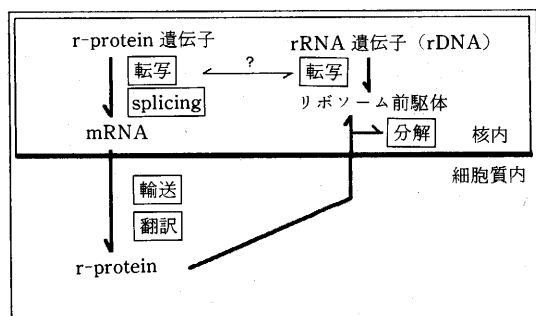


図4 これまで提唱されているリボソーム合成の調節段階のまとめ

かったがインシュリン欠乏やデキサメサゾン処理で細胞増殖が抑制されたときは、リボソームタンパク質 mRNA の翻訳が特異的に抑制される。同じことは卵形成や初期胚形成でも見られている。また、転写後の調節として分解による機構も重要である。100種にも及

ぶリボソームの構成成分の生合成をストイキオメトリックに調節する機構は存在しないので、新生 rRNA と結合できないリボソームタンパク質は分解されることによって最終的な調節が行われるものと思われる。

### 文 献

- 1) Oakes M, Henderson E, Scheinman A, Clark M, Lake JA (1985) Ribosome structure, function, and evolution. In: Hardesty B, Kramer G, eds. Structure, Function and Genetics of Ribosomes. pp 47-67.
- 2) Warner JR, Tushinski RJ, Wejksnora PJ (1980) Coordination of RNA and proteins in eukaryotic ribosome production. In: Chamberliss G, Craven GR, Davies J, Kahan L, Nomura M, eds. Ribosomes, Structure, Function, and Genetics. University Park Press, Baltimore, pp 889-902.
- 3) 劔 邦夫 (1989) 真核細胞におけるリボソーム合成の調節機構について. 生化学, 61: 271-284.
- 4) Tsurugi K, Morita T, Ogata K (1974) Mode of degradation of ribosomes in regenerating rat liver *in vivo*. Eur J Biochem, 45: 119-126.
- 5) Warner JR, Gorenstein C (1978) Yeast has a true stringent response. Nature, 275: 338-339.
- 6) Tsurugi K, Morita T, Ogata K (1972) Studies on the metabolism of ribosomal structural proteins of regenerating rat liver. Eur J Biochem, 25: 117-128.
- 7) Tsurugi K, Morita T, Ogata K (1977) Preferential degradation of newly synthesized ribosomal proteins in rat liver treated with a low dose of actinomycin D. Biochem Biophys Res Commun, 3: 525-531.
- 8) Nomura M, Gourse R, Baughman G (1984) Regulation of the synthesis of ribosomes and ribosomal components. Annu Rev Biochem, 53: 75-117.
- 9) Dabeva MD, Post-Beittenmiller MA, Warner JR (1986) Autogenous regulation of splicing of the transcript of a yeast ribosomal protein gene. Proc Natl Acad Sci U S, 83: 5854-5857.

- 10) Teem JL, Abovich N, Kaufer NF, Schwindinger WF, Warner JR, Levy A, Woolford J, Leer RJ, van Raamsdonk-Duin MMC, Mager WH, Planta RJ, Schultz L, Friesen JD, Fried H, Rosbash M (1984) A comparison of yeast ribosomal gene DNA sequences. *Nucl Acids Res*, 12 : 8295-8312.
- 11) Leer RJ, van Raamsdonk-Duin MMC, Mager WH, Planta RJ (1985) Conserved sequences upstream of yeast ribosomal protein genes. *Curr Genet*, 9 : 273-277.
- 12) Vignais ML, Woudt LP, Wassenaar GM, Mager WH, Sentenac A, Planta RJ (1987) Specific binding of TUF factor to upstream activation sites of yeast ribosomal protein genes. *EMBO J*, 6 : 1451-1457.
- 13) Tsurugi K, Ogata K (1979) Degradation of newly synthesized ribosomal proteins and histones in regenerating rat liver with and without treatment with a low dose of actinomycin D. *Eur J Biochem*, 101 : 205-213.
- 14) Tsurugi K, Motizuki M, Mitsui K, Endo Y, Shiokawa K (1988) The metabolism of ribosomal proteins microinjected into the oocytes of *Xenopus laevis*. *Exp Cell Res*, 251 : 177-187.
- 15) Mitsui K, Nakagawa T, Tsurugi K (1988) On the size and the role of a free cytoplasmic pool of acidic ribosomal proteins in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biochem*, 104 : 908-911.

#### Abstract

#### On the ribosome synthesis in eukaryotic cells ; Mechanisms for the coordinated biosyntheses of rRNA and ribosomal proteins.

Kunio TSURUGI

Ribosome is a ribonucleo-particle consisting of several species of RNA and nearly one hundred species of ribosomal proteins. These ribosomal components have been known to be synthesized coordinately and degraded as a unit of small or large subunit. Recently, it has been shown that the most genes of ribosomal proteins have common *cis*-elements which bind specific *trans*-acting transcription regulatory factors. However, this mechanism is not responsible for all cases of coordinated regulation of ribosomal protein synthesis and does not affect rRNA synthesis at all. Further, it has been demonstrated that ribosome synthesis is also regulated at other steps than transcription such as transport of mRNA, translation of mRNA and degradation of final products (ribosomal proteins). The degradation mechanism of ribosomal proteins must be important as an elimination of excess amounts of ribosomal proteins which can not be associated with newly-synthesized rRNA.

---

Department of Biochemistry 2