

# バクテリアで見つかったtRNAとmRNAの 両方の働きをもつRNA

武藤 昱・牛田千里・姫野俵太

大腸菌で20年ほど前に見つかった10Sa RNAの機能が最近明らかになった。驚くべきことに、このRNAはtRNAとmRNAの両方の働きをもつ。まず、両末端からなるtRNA様構造がアラニルtRNA合成酵素の基質となり、アミノアシル化されてリボソームに入る。次に内部配列がタグとよばれるペプチドをコードするmRNAとして働くことにより、翻訳途中で中断したmRNAから翻訳を受け継いで、できかけのペプチドのC末端にタグを付加する。このmRNAの切り替えによる新しい翻訳機構はトランス・トランスレーション(trans-translation)とよばれ、10Sa RNAはその働きからtmRNA(transfer-messenger RNA)と新しく命名された。

**Key words** 【tmRNA】【10Sa RNA】【トランス・トランスレーション】  
【タグペプチド】

はじめに Ray と Apirion は 1979 年に大腸菌で沈降定数約 10S 付近に代謝的に安定な RNA が存在することを発見し 10S RNA と名づけた<sup>1)</sup>。その後の解析から 10S RNA は 2 種の RNA の混合物であることが判明し、それぞれ 10Sa, 10Sb RNA と名づけられた。そのうちの 10Sb RNA は RNase P の触媒活性を担う RNA 成分であることが判明し、M1 RNA または RNase P RNA とよばれるようになって、10Sb という呼び名は消えた。一方、10Sa RNA のほうはその機能が不明のままであったためにその名称でよばれてきた。最近、この RNA が tRNA と mRNA の 2 つの機能をもつことが明らかになり tmRNA という名前が提唱された。この名称は今日国際的にほぼ受け入れられていることから、本稿では tmRNA の名前を使うことにする。ところで、大腸菌の tmRNA の 1 次構造がその遺伝子 (*ssrA*) の配列から決定されたのはその発見から 10 年後の 1989 年

である<sup>2)</sup>。その間にも Apirion のグループによるいくつかの論文はあるが、この RNA の本格的研究が始まったのは、それ以後 1990 年代に入ってからとあってよい。

1990~91 年にかけて 2 種の細菌から DNA 配列によるホモログの報告があったが、いずれも DNA 配列検索で偶然見つかったものである。1994 年に筆者らはマイコプラズマ (*Mycoplasma capricolum*) と枯草菌 (*Bacillus subtilis*) から tmRNA ホモログを単離、その構造を DNA, RNA 両面から明らかにした<sup>3)</sup>。その後、数種の細菌の全ゲノム配列からの検索や偶然見つかったと思われる部分配列を含めて、約 10 種の配列が出そろった。また Williams と Bartel は tmRNA の 2 次構造モデルをつくる目的で、多くのグラム陰性菌の tmRNA 遺伝子の PCR による増幅を試み、十数種の細菌の両末端を除いた配列を新たに加えた<sup>4)</sup>。その後の報告を含めると、現在までに 30 種以上の細菌で tmRNA の存在が知られ

Akira Muto, Chisato Ushida, Hyouta Himeno, 弘前大学農学生命科学部 (〒036-8561 弘前市文京町3) [Department of Agriculture and Life Science, Hirosaki University, Bunkyo-cho, Hirosaki, Aomori 036-8561, Japan]

*A Bacterial RNA that Functions Both as a tRNA and an mRNA*

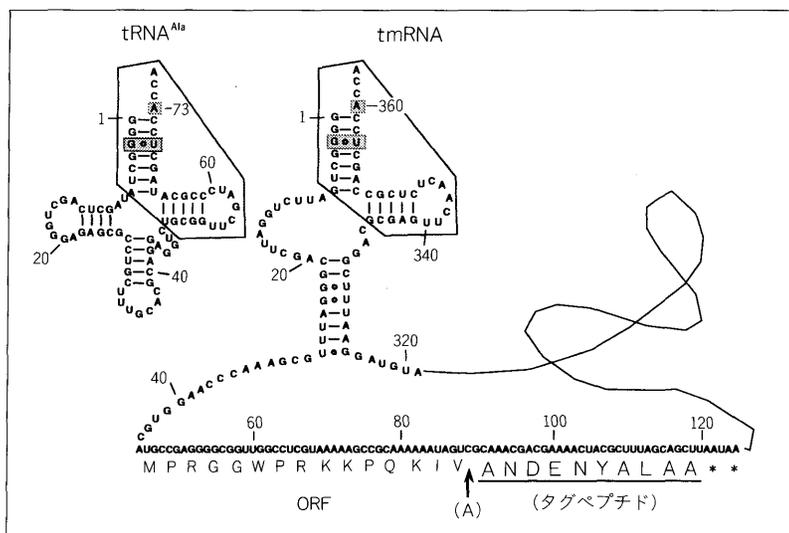


図1 tmRNAのtRNA様構造とmRNA様構造

大腸菌 tmRNA の末端付近の配列を模式的に表わしたものの。5' 末端と 3' 末端で tRNA のアクセプターステムと TΨC アーム類似の配列をとり(囲み)、アラニンを受容する。アラニン tRNA のアイデンティティー決定にかかわるアクセプターステムの第 3 塩基対の G-U 対と 3' 末端から 4 番目の塩基を網で示す。また tmRNA の 5' 末端から 45~119 塩基にわたる領域には 25 アミノ酸からなる読み枠 (open reading frame : ORF) があり、その C 末端側 10 アミノ酸がタグペプチドの mRNA として働く。ORF のアミノ酸配列を 1 文字表記で、タグコード配列は下線で示す。タグの最初のアラニン (A) はコードされていない。比較のためアラニン tRNA を示す。

ている。これまでに見つかった tmRNA はすべて真正細菌 (*Bacteria*) からのものであり、古細菌 (*Archaea*) と真核生物 (*Eukarya*) からは見つかっていない。真正細菌ではグラム陽性菌、陰性菌ともに広い範囲の系統に属する種で見つかったこと、最小のゲノムをもち不要の遺伝子を進化の過程で捨ててきたと考えられているマイコプラズマの 3 種 (*M. capricolum*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae*) にも存在していることから、tmRNA は少なくとも真正細菌には普遍的に存在していることは確かであろう。したがって、その起源はすべての真正細菌の共通の祖先にまでさかのぼることができる。

### I. tRNA 様構造

tmRNA の長さは種によって最短の 349 (*Alcaligenes eutrophus*) から最長の 411 塩基 (*M. capricolum*) まで分布し、大腸菌のものは 363 塩基である。配列を比較すると、5' 末端からの約 20 塩基と 3' 末端の約 30 塩基は種間でよく保存 (類似度 70~90%) されているが、

中間部の保存性は低い (<50%)。その保存された 5' と 3' 末端が tRNA 様の構造を取りうることを筆者らと井口らのグループは独立に見つけ、1994 年のほぼ同時期に発表した<sup>3,5)</sup>。筆者らはマイコプラズマと枯草菌から新しく見つけた RNA の配列に基づいたものであり、Komine らは大腸菌の配列に基づくものであった。筆者らより前に tmRNA の構造を報告していた 3 つのグループがそれに気づかなかったのは (もともと、Tyagi と Kinger は、1991 年に *Mycobacterium tuberculosis* の RNA には 3' 末端に tRNA の TΨC アーム類似の配列があることを記載している<sup>6)</sup>)、いずれも RNA の 5' 末端と 3' 末端のアサインメントが正確で

はなかったため、DNA 配列ばかりでなく RNA 自身の両端の配列を正確に決めることが重要であったわけである。大腸菌の場合、最初に決められた配列は末端の位置が不正確だったばかりでなく末端付近の配列にも数カ所間違いがあり、Komine らによる DNA 配列および RNA レベルでの配列決定が決め手となった<sup>5)</sup>。

図 1 に大腸菌の tmRNA の両末端からなる tRNA 様構造を示す。すべての tmRNA において、tRNA における CCA (3') 末端を含むアミノ酸アクセプターステムおよび TΨC アームがほぼ完全な形で存在する。ちなみに枯草菌の 3' 末端の CCA 配列は DNA にはコードされておらず、いくつかの tRNA と同様に転写後に付加される<sup>3)</sup>。アクセプターステムと TΨC アームの存在については化学修飾および酵素によるプローブ実験でも確かめられている<sup>7)</sup>。また tRNA の TΨC アームに存在する共通配列 GUUCPuA もすべての tmRNA に存在するし、大腸菌においてループ部分における UU から TΨ への修飾が tRNA と同じように起きていることを筆者らは最近明らかにしている<sup>8)</sup>。tRNA の D アームとアンチコドンアームに相当する構造は存在しないが、D ル

ープに相当する位置にループ構造は存在し (D ステムに相当するものはない), tRNA の D ループ共通配列 GG はすべての tmRNA の対応する位置にも見られる。残りの部分の構造については後述する。tmRNA における両末端部分の構造上の保存性は、末端部の機能上の重要性を示唆するものであった。

tRNA 様構造でもう一つ重要なのは、アクセプターステムの第 3 塩基対がすべての tmRNA で G-U 対であることで、これはアラニン tRNA のアイデンティティ決定部位 (identity determinant) として有名な構造である<sup>9,10</sup>。もう一つのアラニン tRNA の酵素認識にかかわる塩基である 3' 末端から 4 番目の A<sup>11</sup> もすべての tmRNA に保存されている (図 1)。そして、実際に大腸菌、枯草菌の tmRNA はそれぞれのアラニル tRNA 合成酵素による認識を受け、*in vitro* でアラニンを受容することが可能である<sup>3,5</sup>。また、アラニン受容にかかわるアクセプターステムの G-U 対を A-U に変化させた tmRNA はもはやアラニンを結合することができない。一般に tRNA はアンチコドンを含む広範な領域がアミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) による認識の対象になるのに対し、例外的に tRNA<sup>Ala</sup> はその認識が極端に L 型分子の上半分 (アクセプターステムと TΨC アーム) に偏っており、その部分だけのミニヘリックス分子でも認識を受けアラニンを結合することができることが知られている<sup>12</sup>。言い換えると、このような RNA で末端にアミノ酸の結合を必要とするならば、アラニンが最も都合がよいということになる。この事実は、tmRNA にとってアミノ酸を結合すること自体に大きな意味があり、結合するアミノ酸の種類は必ずしもアラニンである必要はないのではないかとことを想起させる。いずれにせよ、tmRNA は末端に tRNA 様構造をもつばかりでなく、アラニンを結合し、後述するように 70S リボソームと結合するという tRNA 様の挙動をも示すことが明らかになった<sup>3</sup>。これは翻訳レベルでの何らかの機能をもつことを予想させるものであったが、実際の具体的機能については最近になるまで謎のままであった。

## II. タグペプチド

tmRNA 機能の解決の糸口はまったく予想もしなかった方向の研究からもたらされた。

Tu らはマウス IL-6 の大腸菌での大量発現を、プラスミドに組み込んだ IL-6 遺伝子を用いて試みた<sup>13</sup>。その際、完全長の IL-6 産物のほかに、それより短いさまざまな長さのペプチドが合成されているのを見つけ、それらを単離しアミノ酸配列を決定した。それらは IL-6 の N 末端から始まり、さまざまな長さの位置で終了しており、面白いことにそれらすべての中断されたペプチドの C 末端には 11 アミノ酸からなる共通のペプチドが付加されていた。付加されたペプチドをタグ (tag) とよぶ。さらに驚いたことに、そのタグ配列 [Ala-Ala-Asn-Asp-Glu-Asn-Tyr-Ala-Leu-Ala-Ala (COOH)] は tmRNA にコードされているらしいことであった。図 1 に模式的に示すように、大腸菌の tmRNA の 5' 末端から 45~119 塩基の位置に 25 アミノ酸からなる読み枠 (open reading frame; ORF) があり、その後半 (C 末端) の 10 個のアミノ酸配列が、切断された IL-6 に見つかったタグの C 末端 10 アミノ酸の配列と一致する。ただし、タグの最初のアミノ酸であるアラニンは IL-6 mRNA にも tmRNA の ORF にもコードされていないものであった。さらに Keiler らは、意図的に終止コドンに欠いた mRNA を作製し、それが大腸菌内で翻訳されたときにできかけのペプチドの C 末端にタグがつくことを実験的に示した<sup>14</sup>。いずれの場合にも、コードする *ssrA* 遺伝子の欠損変異株ではタグの付加が起きないことから、これらの結果は少なくとも tmRNA の一部はタグペプチドの mRNA として働くことを示唆するものであった。

## III. mRNA としての働き

そのころすでに tmRNA の大量発現系の開発に成功していた筆者らのグループは、量的に RNA 標品を得ることが可能になっていたので、Tu らの報告に触発され、*in vitro* 翻訳系を使って tmRNA が mRNA としての活性をもっているかについて調べてみた<sup>15</sup>。大腸菌のタグペプチドには 5 個のアラニンが含まれているので、大腸菌の *ssrA* 欠損株の細胞抽出液 (S-30 画分) を用いたいわゆる Nirenberg の *in vitro* 翻訳系に、まず単離した tmRNA を加えアラニンの取込みを見た。図 2 のように mRNA として tmRNA だけを加えてもアラニンは蛋白質にほとんど取り込まれず、ORF はこの *in vitro* 系では読まれていないことを示す。ところが面白いこ

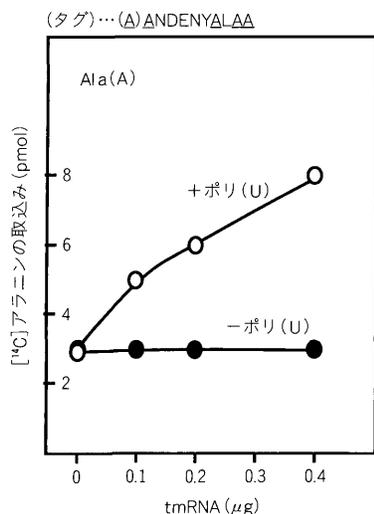


図 2 tmRNA の *in vitro* 系における翻訳

大腸菌の tmRNA 欠損株から調製した S30 画分を用いた *in vitro* 翻訳系における tmRNA の mRNA としての活性を [ $^{14}\text{C}$ ]アラニンの取込みで調べたもの<sup>15)</sup>。tmRNA だけでは取込みはないが (●), この系にポリ(U) を加えると tmRNA に依存したアラニンの取込みが見られる (○)。

とに, mRNA としてポリ(U) を入れてポリ(Phe) 合成が起きている系に tmRNA 加えると, 本来ポリ(U) で起きているはずのないアラニンの取込みが見られた。このアラニンの取込みは mRNA の量に依存して起きることから, この結果はポリ(U) の翻訳が起きている状態でのみ tmRNA が翻訳されることを示すと考えられた。次に, ほかのいくつかのアミノ酸の取込みについても同様な実験を行なったところ, 大腸菌のタグ部分に含まれるチロシン, グルタミン酸, アスパラギン酸はポリ(U) に依存して有意な取込みが見られ, この3種の取込みはいずれもアラニンの取込みの約 1/5 で, タグに含まれる比率とほぼ一致する。タグに含まれないバリン, イソロイシン, アルギニンなどの取込みは見られない。これらは ORF のタグ以外の部分には含まれているものであるから, タグをコードする部分以外は翻訳されていないことを示す。

以上の結果は, この系において *in vivo* で見られたように合成されたポリ(Phe) の C 末端にタグが翻訳付加されたことを示唆する。すなわち, 何らかの機構で翻訳がポリ(U) から tmRNA へと切り替わったことを示している。mRNA の切替えによるキメラペプチドの合

成という翻訳機構はこれまで知られていなかった。これはいったいいかなる反応なのであろうか?

#### IV. トランス・トランスレーション

Keiler らは終止コドンをもたない mRNA が翻訳されるときタグの合成付加が起き, タグをもったペプチドは速やかに分解されるという *in vivo* の彼らの観察をもとに, タグ合成の機構を説明するモデルを提唱し, この新しい翻訳機構をトランス・トランスレーション (trans-translation) と名づけた<sup>14)</sup>。このモデルは (筆者らの結果も含めて) *Nature* 誌と *Science* 誌のニュース記事で紹介され<sup>16,17)</sup>, ほぼ事実として一人歩きしている感があるが, まだ不明確な点があることは心に留めておかねばならない。モデルの概要は次のとおりである。

mRNA の翻訳は開始コドンで始まり終止コドンに達するとペプチド解離因子 (release factor; RF) が働いて完成されたペプチドはリボソームから解離する。もし, 何らかの原因で翻訳中の mRNA が途中で切断された場合, 翻訳はリボソーム上にペプチジル tRNA を残した状態で停止する。終止コドンがないために RF は働かず, できかけのペプチドはリボソーム上に凍結される。そのような状態のリボソームにアラニンをチャージした tmRNA がアミノアシル tRNA のように入り, ペプチジル tRNA からそのペプチドを受け取ったのち, mRNA を追い出して自身が mRNA として働く。10 個のアミノ酸 (タグ) を翻訳したのち, それ自身の終止コドンを用いてペプチドをリボソームから解離させる。

このタグペプチドは C 末端に特異的なプロテアーゼ (ClpAP, ClpXP など) の基質 (ターゲット) になるため, タグをもったペプチドは速やかに分解される。つまり, tmRNA のかかわるトランス・トランスレーション反応の意味は, mRNA がこわれてでき損なった (途中で翻訳が止まった) ペプチドに印をつけて分解する機構だということである<sup>14)</sup>。さらにこの反応の生理的意義は, 立ち往生したりリボソームをリサイクルさせることにもあると考えられる。

それと同時に, このモデルは 2 つの mRNA の切替えにより 1 つのキメラペプチドを合成するというきわめてユニークな翻訳機構を提示している。そして前述した筆者らの実験はこのトランス・トランスレーション反応を *in vitro* で再現したものと見える。ポリ(U) は

終止コドンのない不完全な mRNA とみなせるから、ポリ(U) の 3' 末端まで翻訳が進むとペプチド合成はリボソーム上で立ち往生する。するとアラニル tmRNA が代わりにリボソームに入ってタグ合成をひき起こすとすればうまく説明できる。このモデルの説得力がある点は、どこにもコードされていないタグの最初のアラニンをうまく説明できることである。

いずれにしても筆者らの結果は、少なくとも *in vitro* において tmRNA が tRNA および mRNA としての機能を果たすことを直接示すものであった。さらに *in vitro* のタグ合成系の確立はこのユニークな翻訳反応の分子メカニズムを解析する有効な手段となった。たとえば変異型 tmRNA を作製しその活性の変化を調べることが可能である。tmRNA の 2 つの機能の関連をみるために、tmRNA の tRNA 様構造のうちアクセプターステム第 3 塩基対の G-U 対を A-U 対に変化させた変異体 tmRNA を作製した。この RNA はもはやアラニンを結合することができず tRNA としての機能を失うが、それだけではなく *in vitro* のタグ合成系でも mRNA として働くことはできなかった。この結果は、tmRNA が mRNA として機能するためには tRNA としての機能が必須であることを示す<sup>15)</sup> のみならず、tmRNA に結合したアラニンこそが中断されたペプチドとタグとの連結部位に挿入されたアラニンの起源であることを示唆するものである。これらの実験結果はいずれもトランス・トランスレーションモデルを強く支持するものである。

## V. リボソームとの相互作用

tmRNA が mRNA として働くためには、当然リボソームとの特異的な相互作用が必要である。事実、細胞抽出液をショ糖密度勾配遠心で分け、ノーザンハイブリダイゼーションで tmRNA の分布をみると、大腸菌では約半分、枯草菌では大部分の tmRNA が 70S リボソーム粒子画分に存在することがわかる<sup>3,18)</sup>。大腸菌での tmRNA はゲノムあたり約 1,000 コピー存在することから、2~3% のリボソーム (リボソームはゲノムあたり数万個ある) がこの RNA を結合した状態であることを意味する。

ポリ(U) を用いた *in vitro* のタグ合成系の反応液をショ糖密度勾配遠心で解析すると、図 3 のように外か

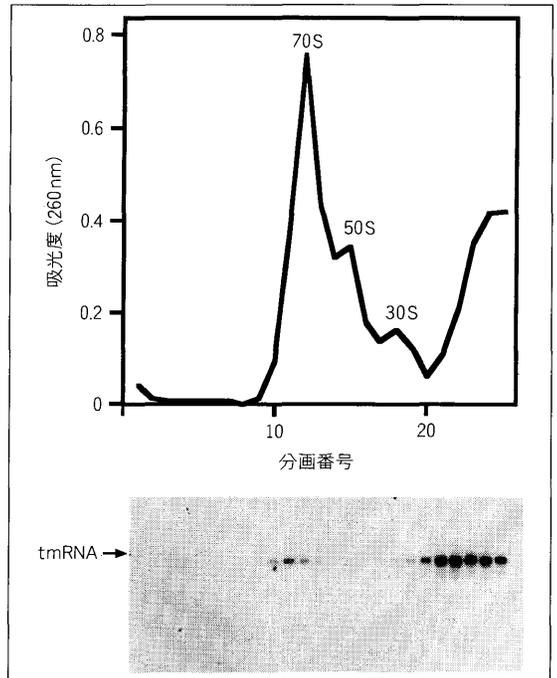


図 3 tmRNA のリボソームへの結合

大腸菌の *in vitro* タグ合成反応溶液をショ糖密度勾配遠心法により分画し (上図)、各画分から RNA を抽出してアガロースゲル電気泳動で分け、ノーザンハイブリダイゼーション法で tmRNA の分布を見た (下図)。tmRNA の一部が 70S リボソーム画分に結合していることがわかる。

ら加えた tmRNA の一部が 70S リボソームに結合している<sup>15)</sup>。結合しているのは約 10S の完全長の tmRNA だけなので、タグ合成に際して tmRNA のタグコード領域が切り出されたり、ポリ(U) との間にトランス・スプライシングによる RNA どうしが結合した産物があるわけではないことがわかる。また前述のアラニン受容活性能を欠いた tmRNA はリボソームに結合することができない。これは通常の翻訳系においてアミノアシル化した tRNA のみがペプチド延長因子 EF-Tu と GTP との三重複合体 (ternary complex) を形成することでリボソームに入ることが可能になることと類似している。三重複合体の形成に必要な tRNA 上の構造はアクセプターステムと TΨC アームであることが知られており<sup>19)</sup>、これに相当する構造はすべての tmRNA に存在することから、tmRNA もまたアラニンを受容することではじめて EF-Tu と GTP とで三重複合体を形成しリボソームに結合するというシナリオが予想される。

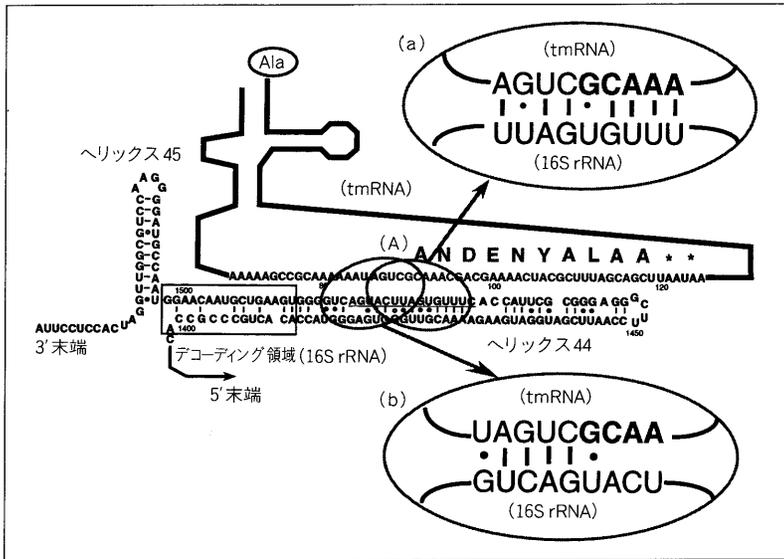


図 4 tmRNA と 16S rRNA との間の可能な塩基対  
大腸菌 tmRNA のタグコード領域 (太字) 付近の配列と 16S rRNA の 3' 末端側の配列を示す。両者の可能な塩基対を円内に拡大して示す。太字はタグコード配列。

tRNA の場合、前述の EF-Tu を介した相互作用に加えてアンチコドンと mRNA のコドンとの特異的相互作用がリボソームへの結合に必要となる。これに対して tmRNA の場合は、アンチコドンに相当する構造はないと考えられているし、A 部位に mRNA も存在しない。したがって、リボソームに入るためには、エネルギー的にも tmRNA とリボソームとの間にコドン・アンチコドン相互作用に代わる何らかの相互作用がなければならぬ計算になる。

筆者らは tmRNA のタグをコードする初めの 5 塩基を含む 9 塩基の配列が 16S rRNA

の 3' 末端に近い、ちょうど 16S デコーディング領域とよばれるコドン・アンチコドン対合が起こる場所のすぐ 3' 側下流と相補的であることを見つけた(図 4)<sup>20,21)</sup>。tmRNA 上のこの部位はまた 16S rRNA 上の上記のすぐ上流の部位とも 6 個の塩基対をつくりうる。この部分は anti-downstream box とよばれるいくつかの mRNA の開始コドンの下流にある downstream box と塩基対を形成することで翻訳開始のエンハンサーとしての働きをもつと考えられている<sup>22)</sup>。現在突然変異を入れた tmRNA を作製し、この部位が実際に rRNA と塩基対を組むことがその機能にとって重要であるかどうかの検証を行なっている。

## VI. トランス・トランスレーションと tmRNA の 2 つの機能

図 5 に現在筆者らが考えているトランス・トランスレーションの過程を模式的に示す<sup>20,21)</sup>。① 終止コドン を失った mRNA の翻訳がその 3' 末端に達するとリボソーム P 部位にペプチジル tRNA を残した形で凍結される。そのような状態は、何らかの事故で mRNA が途中で切断された場合にも起きうるが、細菌の mRNA は早い速度で回転(turn-over)していることから、mRNA

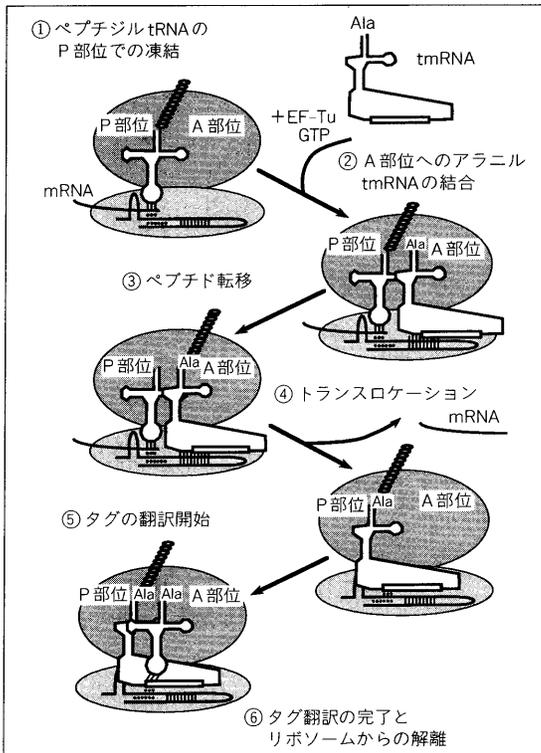


図 5 トランス・トランスレーションモデル  
[文献 20,21 より改変]



験(塩基特異的な化学処理, RNase 処理に対する感受性を調べる)から塩基対を形成している塩基を特定する, という2つの方法を組み合わせた結果からモデル化したものである。一方, WilliamsとBartelは大腸菌の近縁種(グラム陰性菌)約10種のtmRNA遺伝子の配列を比較する方法で独自のモデルを提唱した<sup>4)</sup>。2つのモデルは一部を除き全体として驚くほど共通していて, 基本的に2次構造は図6のようなものだと考えてよさそうである。tmRNAは全体として2つの部分に分けられる。ひとつは5'末端と3'末端が長い範囲にわたって塩基対を形成している部分で, 末端がtRNAとして働く(仮にtRNA様ドメインとよぶ)。もう一つは中間部のループを形成している部分で, ここにmRNAとして働く配列(mRNA様ドメイン)が存在する。

このモデルで特徴的なのは5'末端と3'末端が塩基対を組むtRNA様ドメインにはさまれた中間部のループ構造で, 4個のシュードノット(pseudoknot)構造があり, それがタグをコードする領域を取り巻く形に配置されていることである(それぞれをPK1, PK2, PK3, PK4とよぶ)。PK1構造は翻訳切替部位のすぐ上流にあり, mRNAとしての機能に直接関与していることが予想される。これまで知られている異常な翻訳, たとえばフレームシフト(frameshift)やリボソームジャンプ(ribosome jump)が起きるとき, その前後にシュードノット構造がある場合が多い<sup>26)</sup>。こうした複雑な構造がどのように機能と関連するかは興味ある問題である。tRNA様ドメインとタグコード領域を除いたtmRNAの半分以上をしめる中間部が4個のシュードノット構造からなっていることも興味深い。この領域が2つの機能ドメインを結びつける単なるコネクターなのか, あるいはそれらの機能に直接関与するものなのかについてはまだ明らかではない。またtmRNAは温度勾配ゲルを用いた実験において常温(42°C)前後でかなり大きな構造変化を起こすことが示唆されている<sup>7)</sup>。トランス・トランスレーションの各過程でtmRNAがいくつかの高次構造変化を起こすことがそれぞれの機能発現に必要であるという可能性は十分考えられる。

機能構造上とくに重要なのは, mRNAの切替えが起きてタグの翻訳が始まる位置が何によって決定されているのかという問題である。大腸菌の場合, 5'末端から90番目のGがその開始点になるが, 正確にその塩基から読み始められるための決定要因はtmRNA上にない

ればならない。それがタグコード領域の前後の配列なのか(たとえ先に述べた16S rRNAとの塩基対), あるいはシュードノットやステム・ループなどの構造体であるのか, またその相互作用の本体は何であるかが今後の研究の焦点となるであろう。さらに, この相互作用をするにあたって第3の因子が関与するという可能性も考えられる。すでにtmRNA-リボソーム間のクロスリンク実験なども行なわれており, 近い将来, 両者間の相互作用の実体が明らかにされるであろう。筆者らもタグの翻訳において通常とは異なった読み枠を読むと考えられる変異型tmRNAを得ており, その機構解明が翻訳開始の位置決定の問題を解く鍵になるのではないかと期待している。

まとめ これまで述べたように, tmRNAは次の3つの観点からたいへんユニークなものだといえる。

第1に, RNA機能から見ると, tRNAとmRNAの機能を同一分子内にあわせもつRNAという点で独特である。このような2つの機能をもつことが示されたRNAはこれが初めてであり, transfer-messenger RNAまたはtmRNAとよばれるゆえんである。

第2に, 翻訳という観点からみると, 1つのポリペプチド鎖が2つの別々のmRNAの切替えでつくられるという, まったく新しいタイプの翻訳機構(トランス・トランスレーション)である。これまでmRNAの不規則な翻訳機構は, たとえばフレームシフトやリボソームジャンプなどが知られていたが, それらとも異なった新しい機構であり, キメラのペプチドをつくるという点で独特である。

第3に, 前述のようにタグペプチドは特異のプロテアーゼの標的であり, したがってこの系は翻訳が中断された蛋白質にタグという印をつけてそれを壊すという, たいへん巧みな新しい蛋白質分解機構である。蛋白質分解機構としては真核生物に普遍的に見られるユビキチン・プロテアソーム系が知られており, ペプチドにユビキチンが結合することがプロテアソームによる分解の目印になるという点で類似している。

tmRNAまたはその遺伝子はこれまで30種以上の真正細菌から見つかっていて, すべてにおいて大腸菌とほぼ対応するあたりにタグペプチドをコードするとみられる配列が存在する。そのアミノ酸配列はC末端が

すべてアラニンであることや全体的に疎水性の高いアミノ酸に富むことなどの点で生物種の間で保存されている。このことからタグ合成は少なくとも真正細菌には普遍的な機構だと考えられる。

最後に、tmRNA の機能は以上に述べたトランス・トランスレーションだけなのであろうかという問題が残る。実は tmRNA が見つかったからトランス・トランスレーションのモデルが出るまでの間に、この RNA に関連してさまざまな興味深い現象が報告されてきている。大腸菌の *ssrA* 欠損変異は常温での増殖には影響しないが<sup>3</sup>、高温での増殖や移動性(motility)を損なうし<sup>5)</sup>、 $\lambda$ -P22 ファージ(大腸菌  $\lambda$  ファージとサルモネラ菌の P22 ファージのハイブリッド)の増殖を抑える<sup>27)</sup>。また Alp プロテアーゼ(Lon プロテアーゼの働きを代行する仮想的な酵素)の合成または活性に阻害的に働く<sup>28)</sup>。

一方、tmRNA はリプレッサーをはじめいくつかの DNA 結合蛋白質と相互作用することによりその働きを調節するという報告もある<sup>29)</sup>。さらに tmRNA は塩基やアミノ酸合成の中間体として重要な PRPP(phosphoribosyl pyrophosphate) を合成する酵素の温度感受性変異や、そのほかいくつかの温度感受性変異を相補することも報告されている<sup>30)</sup>。以上のような現象は先に述べたタグ合成とトランス・トランスレーション、あるいは蛋白質分解機構と結びつけて解釈することは必ずしも容易ではない。トランス・トランスレーション反応がペプチド分解以外の機能をもつ、あるいはタグペプチド自身が別の生理活性をもつという可能性も考えられる。また tmRNA がトランス・トランスレーション以外の機構に関与する可能性も考慮する必要があるであろう。

最近インターネットで tmRNA についての 2 つのホームページが相次いで開かれており、そこから最新の情報、シークエンスデータなどを知ることができる。

●tmRNA Website (Whitehead Institute, M. I. T, Cambridge/MA)

●tmRNA Database (University of Texas Health Center at Tyler)

いずれも The RNA World at IMB Jena. (<http://www.imb-jena.de/RNA.html>) から接続できる。

## 文 献

- 1) Ray, B. K., Apirion, D. : *Mol. Gen. Genet.*, **74**, 25-32 (1979)
- 2) Chauhan, A. K., Apirion, D. : *Mol. Microbiol.*, **3**, 1481-1485 (1989)
- 3) Ushida, C., Himeno, H., Watanabe, T., Muto, A. : *Nucl. Acids Res.*, **22**, 3392-3396 (1994)
- 4) Williams, K. P., Bartel, D. P. : *RNA*, **2**, 1306-1310 (1996)
- 5) Komine, Y., Kitabatake, M., Yokogawa, T., Nishikawa, K., Inokuchi, H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 9223-9227 (1994)
- 6) Tyagi, J. S., Kinger, A. K. : *Nucl. Acids Res.*, **20**, 138 (1991)
- 7) Felden, B., Himeno, H., Muto, A., McCutcheon, J., Atkins, J. F., Gesteland, R. F. : *RNA*, **3**, 89-103 (1997)
- 8) Felden, B., Hanawa, K., Atkins, J. F., Himeno, H., Muto, A., Gesteland, R. F., McCloskey, J., Crain, P. F. : *EMBO J.*, **17**, 3188-3196 (1998)
- 9) McClain, W. H., Foss, K. : *Science*, **240**, 793-796 (1988)
- 10) Hou, Y.-M., Schimmel, P. : *Nature*, **333**, 140-145 (1988)
- 11) Shi, J.-P., Schimmel, P. : *J. Biol. Chem.*, **266**, 2705-2708 (1991)
- 12) Francklyn, C., Schimmel, P. : *Nature*, **337**, 478-481 (1989)
- 13) Tu, G.-F., Reid, G. E., Zhang, J.-G., Moritz, R. L., Simpson, R. J. : *J. Biol. Chem.*, **270**, 9322-9326 (1995)
- 14) Keiler, K. C., Waller, P. R. H., Sauer, R. T. : *Science*, **271**, 990-993 (1996)
- 15) Himeno, H., Sato, M., Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C., Muto, A. : *J. Mol. Biol.*, **268**, 803-808 (1997)
- 16) Atkins, J. F., Gesteland, R. F. : *Nature*, **379**, 769-770 (1996)
- 17) Jentsch, S. : *Science*, **271**, 855-856 (1996)
- 18) Komine, Y., Kitabatake, M., Inokuchi, H. : *J. Biochem.*, **119**, 463-467 (1996)
- 19) Nissen, P., Kjeldgaard, M., Thirup, S., Polekhina, G., Reshetnikova, L., Clark, B. F. C., Nyborg, J. : *Science*, **270**, 1464-1472 (1995)
- 20) Muto, A., Sato, M., Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C., Himeno, H. : *Biochimie*, **78**, 985-991 (1996)
- 21) Muto, A., Ushida, C., Himeno, H. : *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 25-29 (1998)
- 22) Sprengart, M. L., Fuchs, E., Porter, A. G. : *EMBO J.*, **15**, 665-674 (1996)
- 23) Cashel, M., Rudd, K. E. : *in Escherichia coli and*

- Salmonella typhimurium* : Cellular and Molecular Biology (vol. 2) (ed. Ingram, J. et al.), pp. 1410-1438, American Society of Microbiology, Washington (1987)
- 24) Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C., Himeno, H., Muto, A. : *FEBS Lett.*, **399**, 223-226 (1996)
- 25) Felden, B., Himeno, H., Muto, A., Atkins, J. F., Gesteland, R. F. : *Biochimie*, **78**, 979-983 (1996)
- 26) Atkins, J. F., Gesteland, R. F. : *in* tRNA : Structure, Biosynthesis and Function (ed. Söll, D., RajBhandary, U.), pp. 471-483, American Society for Microbiology, Washington (1995)
- 27) Retallack, D. M., Johnson, L. L., Friedman, D. I. J. : *J. Bacteriol.*, **176**, 2082-2089 (1994)
- 28) Kirby, J. E., Trempey, J. E., Gottesman, S. : *J. Bacteriol.*, **176**, 2068-2081 (1994)
- 29) Retallack, D. M., Friedman, D. I. J. : *Cell*, **83**, 227-235 (1994)
- 30) Ando, H., Kitabatake, M., Inokuchi, H. : *Genes Genet. Syst.*, **71**, 47-50 (1996)

### お知らせ

#### 千里ライフサイエンス技術講習会 第16回 生体画像の取得と応用 II

日時：平成10年10月6日(火) 13:00~17:00

場所：千里ライフサイエンスセンタービル6階 (地下鉄御堂筋線千里中央駅北改札口すぐ)

内容：①顕微鏡による生体観察の基礎と応用，②生体分子の1分子イメージング・ナノ操作——分子機械の動作原理，③生体の高速蛍光イメージング装置

講師：①山岸聖明・阿部勝行 (オリンパス光学工業)，②柳田敏雄 (阪大・医)，③宇都宮弘美 (オリンパス販売)

受講料：3,000円 定員：30名 (先着順)

申込方法：氏名，勤務先，所属，役職，所在地，郵便・電話・FAX番号を明記のうえ，郵便またはFAXで下

記宛お申込みください。受講料は申込後には住友銀行本店公務部普通預金 No. 6262 財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛お振込ください。なお振込者名の前に G16 とご記入ください。確認しだい，領収書兼参加証を送付いたします。

申込先：〒565-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル8階

(財)千里ライフサイエンス振興財団 技術講習会係

Tel. 06-873-2001 FAX 06-873-2002

### お知らせ

#### 英国祭 UK98 日英科学シンポジウム 酸化ストレスと生体抗酸化系の制御

日時：1998年11月10日(火)・11日(水)

場所：筑波大学大学会館特別会議室

プログラム：

【Plenary Lecture】B. Halliwell (King's College London)

【Antioxidant Enzymes】N. Taniguchi (Osaka Univ.)/T. Kondo (Nagasaki Univ.)/J. D. Hayes (Univ. Dundee)/M. Yamamoto (Univ. Tsukuba)

【Stress Proteins】G. E. Mann (King's College London)/T. Ishii (Univ. Tsukuba), R. Tyrrell (Univ. Bath)/S. M. Keyse (ICRF)

【Redox Regulation】J. Yodoi (Kyoto Univ.)/J. Gutteridge (Royal Brompton & Harefield NHS

Trust)/M. Inoue (Osaka City Univ.)

ポスター発表：シンポジウムの期間中，ポスターセッションを行いません。演題を募集いたしますので，希望者は，A4判用紙1枚に英語で演題，氏名，所属，要旨(200語以内)を記入して下記までお送りください。

ポスター発表申込締切：平成10年10月15日(木)

参加費：無料(懇親会費5,000円)

申込・問合せ先：〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

筑波大学基礎医学系生化学 坂内二郎・佐藤英世

Tel. 0298-53-3282 FAX 0298-53-3039

E-mail: hideyo-s@md.tsukuba.ac.jp