

アルテミアサリーナのリボソームに関する研究

第3報：2次元電気泳動法によるシストとノープリウスの
リボソーム蛋白質の比較およびリボソームの機能の検討

新潟大学医学部生化学第一教室（主任：緒方規矩雄教授）

剣 持 直 哉

Studies on Ribosomes of *Artemia salina*

Report III: Comparison of ribosomal proteins by using two-dimensional gel electrophoresis and ribosomal functions between cyst and nauplius

Naoya KENMOCHI

Department of Biochemistry, Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Kikuo OGATA)

Ribosomal proteins from cysts and nauplius of *Artemia salina* were analysed by three kinds of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. Acidic-SDS gel system (1st-pH4.4, 2nd-presence of SDS) was used to compare the acidic ribosomal proteins of the cyst and nauplius. The acidic 24-kilodalton protein (AX) of *Artemia* cysts proved to disappear in ribosomes of the nauplius. Basic-acidic (1st-pH8.6, 2nd-pH4.6) and basic-SDS (1st-pH8.6, 2nd-presence of SDS) gel systems were used to compare the ribosomal basic proteins and some changes were observed between the cyst and nauplius on S6, S14 and L24. The phosphorylation of S6 protein was increased in the nauplius. This suggests that *Artemia* S6 may relate to ribosomal activity of protein synthesis. Two basic ribosomal proteins (S14, L24) of the cyst were modified and their positions on two-dimensional gels were shifted in the nauplius ribosomes. Ribosomal activities for the formation of 80S initiation complex with globin mRNAs and poly (U)-dependent polyphenylalanine synthesis were compared. There was no significant difference between the cyst and nauplius ribosomes.

Key words: *Artemia salina*, cyst, nauplius, ribosomal protein.

アルテミアサリーナ, シスト, ノープリウス, リボソーム蛋白質

Reprint request to: Naoya Kenmochi,
Facilities for Comparative Medicine &
Animal Experimentation, Niigata
University School of Medicine

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部附属動物実験施設

剣 持 直 哉

略 語 表

EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
DOC	: デオキシコール酸ナトリウム
DTT	: ジチオスレイトール
SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
poly (U)	: ポリウリジル酸
S100	: ミクロソーム上清
TCA	: トリクロル酢酸

アルテミアサリーナは特殊な成長過程を持っている。すなわち、受精した卵は卵胞中で成長し原腸胚のステージに入るが、この時点で二つの成長過程が可能で、そのまま卵胞中で成長し自由に泳ぎ回るノープリウス（ふ化後最初の幼生形）になる場合と、原腸胚のステージで休止状態に入り硬い殻の中に閉じこもることもできる。この休止状態のシストは、乾燥させておけば再び水分を与えない限り休止状態のまま保存できる。

休止状態のシストは蛋白質合成活性を持たないが、ノープリウスになる時どんな変化が起こって蛋白質合成を開始するのか、蛋白質合成に必要な成分である、リボソーム^{1) 2)}、mRNA^{3) - 5)}、開始因子 (eIF-2⁶⁾)、延長因子 (EF-1^{7) 8)}、EF-2⁹⁾)、アミノアシル tRNA 合成酵素¹⁰⁾ 等について多くの研究がなされてきた。リボソームに関しては、シストにも大量に存在しているが、ほとんどモノソームとして存在しており、水分を与えることにより成長期にはいと5分以内にポリソームを形成し始め、15分で蛋白質合成を開始する^{1) 2)}。このような急激な変化の原因として mRNA の活性の変化が考えられており^{3) - 5)}、特にポリ(A)mRNA の活性が成長期で6倍も上がるという報告³⁾もあるが、どのような機構が存在しているのかいまだ結論は得られていない。

一つの考え方は、mRNA が蛋白質によってマスクされてインホーモソームを形成しているという Spirin の考え方¹¹⁾であるが、アルテミアサリーナでもこのような mRNP の存在が報告されている¹²⁾。またツメガエル卵母細胞では、外から mRNA を注入するとその mRNA は比較的効率よく翻訳されるが、それが内因性の mRNA の翻訳を犠牲にして行われる¹³⁾。即ち mRNA が翻訳を開始するのに必要な因子があり、卵母細胞中でそれが限られているという Lingrel と Woodland の考え方¹⁴⁾で、その因子はおそらく mRNA に翻訳される資格を与えるように働くものであるとして“リクルート因子”と呼ばれたが、本態は不明である。その他、卵母細胞では母性 mRNA が外因性の mRNA

とは異なり、にわかには翻訳され得ない形で細胞質の特別な領域 (compartment) に隔離されているという考え方¹⁵⁾もある。

しかしリボソームに何らかの変化が生じ、mRNA や mRNP との相互作用が損なわれている可能性も否定できないため、本研究ではアルテミアサリーナのシストとノープリウスのリボソーム蛋白質を、3種類の2次元電気泳動法で比較し、また両リボソームの蛋白質合成開始複合体形成能とペプチド鎖延長反応活性について比較した。

実 験 方 法

1. アルテミアサリーナのリボソームの調製

ノープリウスの調製は Moens と Kondo の方法¹⁶⁾に従い、15g のシストを 2% NaClO 溶液で10分間洗った後、約 5 liter の 0.6M NaCl, 0.01M KCl, 0.01M MgCl₂ を含む溶液中で24時間、室温 (25°C) にてふ化させ、赤外線ランプで光をあててノープリウスを集めることにより、シストから分離収集した。集めたノープリウスは蒸留水で洗った後、50ml の緩衝液 A (9mM MgCl₂, 70mM KCl, 0.1mM EDTA, 10mM メルカプトエタノール, 35mM Tris-HCl pH7.5) 中で、乳鉢を用いて低温室内 (4°C) にてすりつぶした。このホモジネートを 10,000×g, 15分間, 4°C にて遠心した後、上清を 30,000×g で30分間遠心し S-30¹⁶⁾を得た。S-30 を 1% DOC と 1% トリトン X-100 で30分間処理した後、2M ショ糖を含む緩衝液 A に重層し、250,000×g, 16時間遠心して、総リボソームを沈殿として得た。得られた総リボソーム (約 3mg) を 0.4ml の緩衝液 A で溶解後、25mM KCl, 5mM MgCl₂, 50mM Tris-HCl pH 7.5 を含む凸型ショ糖密度勾配中で、27,000回転/分, 220分間, 日立の RPS27 ローターにて遠心し、リボソームパターンを ISCO の密度勾配分画分析装置で測定し、モノソーム部分を除きダイマー以上の大きさのポリソームを集めた。集めたポリソーム分画は、250,000×g で16時間遠心し沈殿にして回収した。このポリソームを Blobel と Sabatini の方法¹⁷⁾により、ピューロマイシン-高 KCl 処理し 80S リボソームを単離した。

シストからの 80S リボソームの調製は、以前の著者らの報告¹⁸⁾に従って行い、得られたリボソームは 0.5M KCl にて洗浄した後使用した。

2. リボソーム蛋白質の電気泳動

シストとノープリウスのリボソーム蛋白質を比較する

ために、3種類の2次元アクリルアミドゲル電気泳動法による分析を行った。酸性蛋白質を比較するために、1次元 pH 4.4 尿素、2次元 SDS 存在下で行い¹⁹⁾、また塩基性蛋白質を比較するために、1次元 pH 8.6 尿素、2次元 pH 4.6 尿素²⁰⁾ と1次元 pH 8.6 尿素、2次元 SDS 存在下¹⁸⁾ で泳動した。

3. 80S 開始複合体形成反応

シストとノープリウスから得たリボソームを、Takahashi と Ogata の方法²¹⁾ によりグロビン mRNA と 80S 開始複合体を形成させ、その効率を比較した。

20mM Hepes-KOH pH 7.3, 50mM KCl, 1mM DTT, 4mM Mg(OAc)₂, 1mM ATP, 0.4mM GTP, 20mM クレアチンリン酸, 3.75units クレアチンキナーゼ, アミノ酸混液 (各々 50 μ M), pH5 酵素 (約 100 μ g の蛋白質と 5 μ g の tRNA を含む)²²⁾, 10pmol のシストまたはノープリウスより調製した 80S リボソーム, ウサギ網状赤血球より得た開始因子の分画 I と II (各々約 120 μ g の蛋白質量)²³⁾ から成る反応液 0.1ml に、ペプチド鎖延長反応を阻害するためにスパルソマイシンを 0.1mM の濃度になるように加え、30°C で10分間保温後、Commerford の方法²⁴⁾ により ¹²⁵I で標識したグロビン mRNA (3×10^4 cpm/0.02 μ g) と、場合によってはキャリアーのグロビン mRNA (10 pmol, 2.2 μ g) を加え、さらに 30°C で15分間保温した。グロビン mRNA は Takahashi と Ogata の方法²³⁾ に従い、ウサギ網状赤血球より得た。次にこの 80S 開始複合体を、40mM Tris-HCl pH 7.5, 70mM KCl, 7mM MgCl₂ を含む 15-30%の直線シヨ糖密度勾配中で 50,000回転/分, 80分間, 4°C にて、日立の RPS 50 ローターを用いて遠心した後分画し、各分画の 260nm の吸収を日立の分光光度計にて、放射活性をガンマカウンター (Packard 5260) にて測定した。

4. poly(U) 依存ポリフェニルアラニン合成

シストとノープリウスのリボソームのペプチド鎖延長反応の効率を比較するために、Terao と Ogata の方法²⁵⁾ により両者の poly(U) 依存のポリフェニルアラニン合成活性を調べた。poly(U) は Sigma 社より [¹⁴C] フェニルアラニン (522 mCi/mmol) は Amersham 社より得た。

0.25M シヨ糖, 50mM KCl, 10mM MgCl₂, 20mM Tris-HCl pH 7.6, 1mM ATP, 0.25mM GTP, 10mM グルタチオン, 0.005% クレアチンキナーゼ, 10mM クレアチンリン酸, 50 μ g poly(U), 0.1 μ Ci [¹⁴C] フェニルアラニン, 30 μ l ラット肝 S100 (約

0.6mg の蛋白量), 0.2, 0.4 または 0.6 A₂₆₀ 単位の 80S リボソームを含む反応液 0.3ml を 37°C で 30分間保温した後、10% TCA を 0.3ml 加え反応を停止し、90°C で 10分間加熱後の不溶性成分をニトロセルロースフィルター上に集め、5% TCA で洗浄後、乾燥させ放射活性を液体シンチレーションカウンター (Beckman LS 3155 T) にて測定した。

結 果

1. リボソームパターンの比較

シストとノープリウスのリボソームがポリソームを形成しているかどうかを調べるために、両者のリボソームパターンを比較した (図 1)。シストでは多くの研究者が認めているようにモノソームしか存在しなかったが (図 1A), シストを室温で24時間放置したふ化後の総リボソームには、かなりの量のポリソームが形成されていることがわかる (図 1B)。このモノソームを除いたポリソーム分画だけを集め、ピューロマイシン-高 KCl 処理し、ノープリウスからの 80S リボソームとして用いた。ポリソームの形成に関して Golub と Clegg は、シストを 30°C で保温すると 5分以内にポリソームを形成し始め 15分以内に蛋白質合成を始めると報告²⁾ して

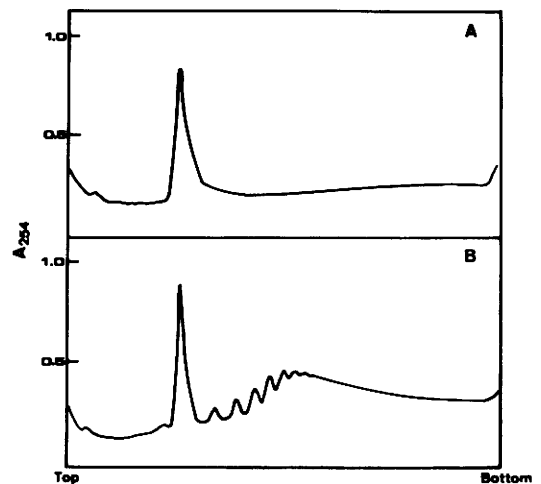


図 1 シストとノープリウスのリボソームパターンの比較

25mM KCl, 5mM MgCl₂, 50mM Tris-HCl pH 7.5 を含む10-46%の凸型シヨ糖密度勾配中で 2°C, 27,000rpm, 220分間, 日立の RPS27 ローターにて遠心した後, ISCO の密度勾配分画分析装置で A₂₅₄ を書かせた。

A : 1.2A₂₆₀ 単位のシストのリボソーム

B : 5A₂₆₀ 単位のノープリウスの総リボソーム

いる。

2. 2次元電気泳動パターンの比較

シストとノープリウスのリボソームの酸性蛋白質を比較するために、両者の 80S リボソームより調製した蛋白質を、1次元 pH4.4, 2次元 SDS 存在下で電気泳動を行った(図2)。この条件下では塩基性蛋白質の分離はあまりよくないが、酸性蛋白質はよく同定できる。シストの分子量 24,000 の酸性蛋白質 AX がノープリウスではまったく存在しないのがわかる(図2 A,B)。他の酸性蛋白質は全然変化を受けていないのに、この蛋白質だけがノープリウスにおいて消失していることがわかった。結果は示さなかったが、シストのリボソームを大小亜粒子に解離させた後、各々の蛋白質を電気泳動した結果より、AX は小亜粒子に存在することがわかった。シストのリボソームは 0.5M KCl で洗っているの、この酸性蛋白質 AX はリボソーム蛋白質と考えられるが、リボソームに非常に強く結合している非リボソーム蛋白質である可能性も否定できない。

塩基性のリボソーム蛋白質を比較するために、1次元 pH8.6, 2次元 pH4.6 尿素(図3 A,B)と1次元 pH8.6, 2次元 SDS 存在下(図3 C,D)の2種類の電気泳動を行った。シストとノープリウスを比較した場合、全体的

な電気泳動パターンにさほど大きな違いは見られないが、個々の蛋白質を比較した場合 S6, S14, L24 の3つの蛋白質において若干の違いが見られる。S6 は真核細胞のリボソーム蛋白質の中で磷酸化を受ける蛋白質であるが、ノープリウスにおいて、この S6 の位置から原点よりスポットが見られることから、磷酸化を受けていることがわかる(図3 B)。シストのリボソーム蛋白質も調製によっては、まれに磷酸化スポットを認めることもあるが、ノープリウスの場合再現性よく磷酸化されている。Takeshima と Nakano は、ウニの未受精卵と受精卵のリボソーム蛋白質を比較して、アルテミアの S6 に相当する S7 が受精卵で磷酸化を受けていると報告²⁶⁾している。S14 はシストでは明確なスポットであるが(図3 A,C)、ノープリウスでは同じ位置にスポットはなく、そこよりやや塩基性よりに不明瞭なスポットが出現している。図3 D において、2次元目の SDS 存在下における泳動度が変わらないことより、この蛋白質は分子量的には変化を受けていないことがわかる。また L24 については、ノープリウスでシストの場合よりやや酸性側に新たなスポットが出現していて(図3 B)、2次元目を SDS ゲルで比較すると分子量的にも若干小さくなっているようである(図3 D)。しかしシストの S14, L24

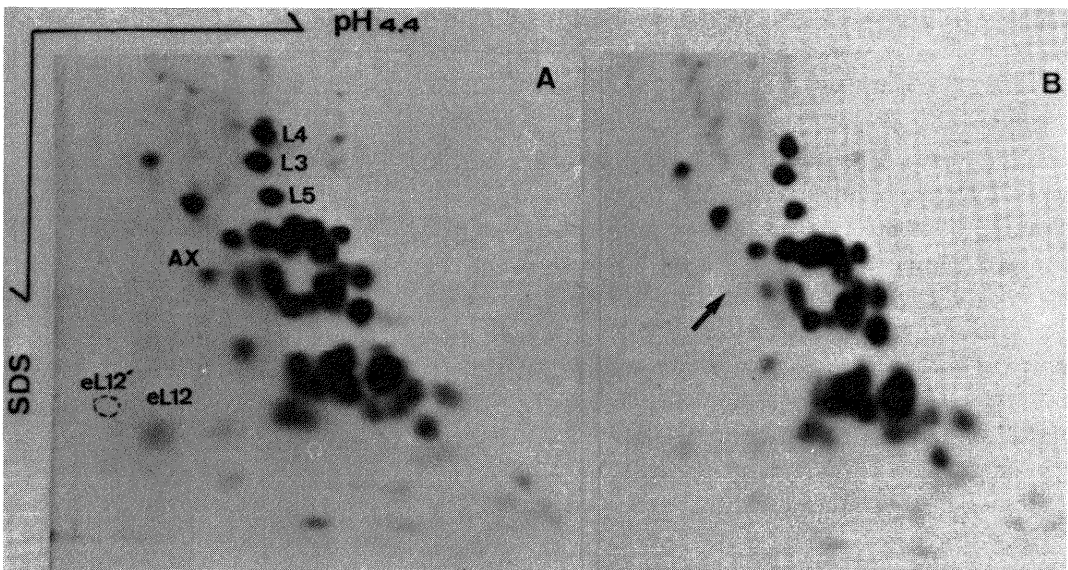


図2 1次元 pH 4.4-2次元 SDS 存在下のゲルシステムによる、リボソーム蛋白質の2次元電気泳動パターンの比較

A: シストのリボソーム蛋白質 (60 μ g)

B: ノープリウスのリボソーム蛋白質 (60 μ g)

矢印はシストのリボソーム蛋白質 AX の位置を示す。

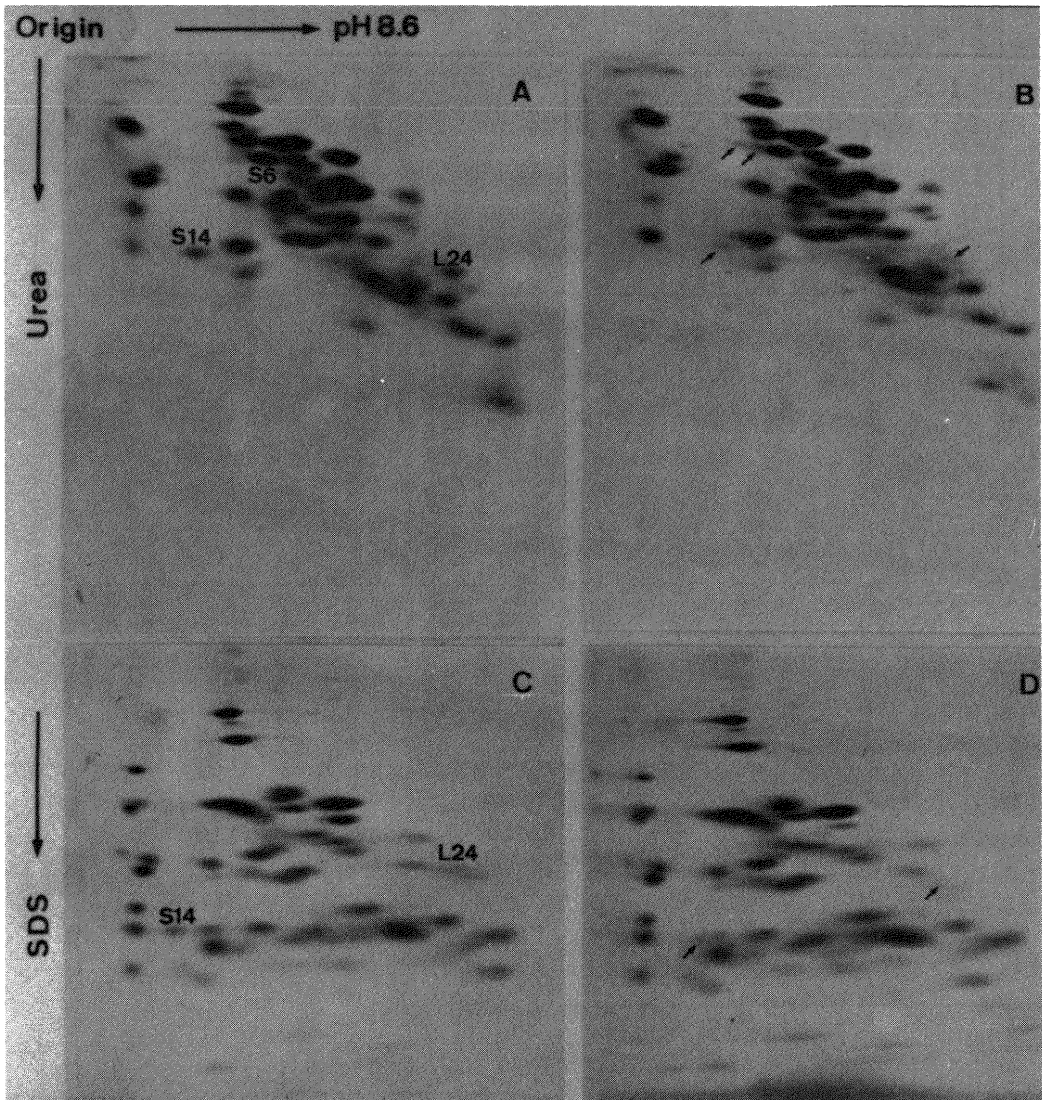


図3 塩基性リボソーム蛋白質の2次元電気泳動法による比較

A, B: 1次元 pH 8.6-2 次元 pH 4.6 の尿素ゲルシステム

C, D: 1次元 pH 8.6-2 次元 SDS 存在下のゲルシステム

A, C: シストのリボソーム蛋白質 (60 μ g)

B, D: ノープリウスのリボソーム蛋白質 (60 μ g)

矢印はシストのスポットに比べて変化のあるスポットを示す。

とノープリウスでシフトして出現した蛋白質が互いに相当するものであるかどうかは、ペプチドマップ等による詳細な検討を必要とする。

3. 80S 開始複合体の形成能

シストとノープリウスのリボソームの機能に差があるかどうかを検討するために、まず最初にリボソーム上で

の蛋白質合成の開始反応の効率に違いがあるかどうか調べた。すなわちリボソームに、開始反応に必要な因子²¹⁾と¹²⁵Iで標識したグロビン mRNA を反応させ、遠心により 80S 領域にくる mRNA の放射活性を比較した(図4)。対照として開始因子非存在下での結果(図4A,D)を示した。また、リボソームと標識された

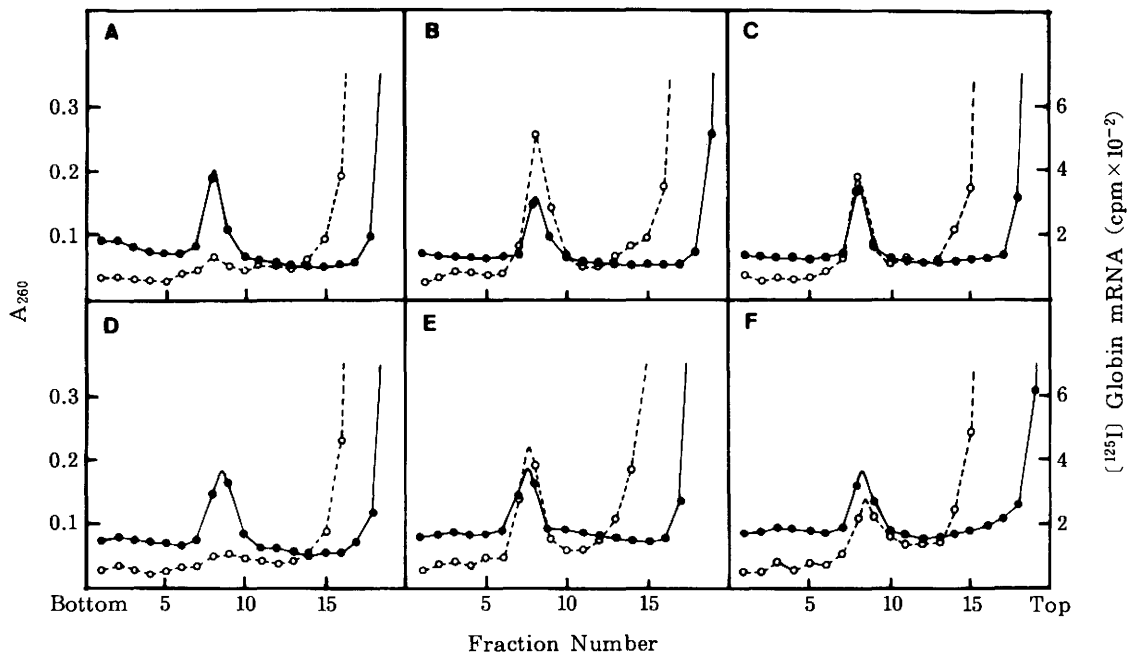


図4 ^{125}I で標識したグロビン mRNA による 80S 開始複合体形成能の比較

Takahashi と Ogata の方法²¹⁾により, ^{125}I で標識したグロビン mRNA と 80S 開始複合体を形成させた後, 15~30%の直線シヨ糖密度勾配中で 50,000rpm, 80分間, 4°C にて日立の RPS50 ローターを用いて遠心した後分画し, 各分画の 260nm の吸収と放射活性を比較した.

A, B, C : シストから調製したリボソーム (10pmol) を用いた場合

D, E, F : ノープリウスから調製したリボソーム (10pmol) を用いた場合

A, D : 開始因子非存在下

B, E : キャリアーのグロビン mRNA 非存在下

C, F : キャリアーのグロビン mRNA (10pmol) 存在下

●—● : 260nm の吸収

○—○ : ^{125}I の放射活性

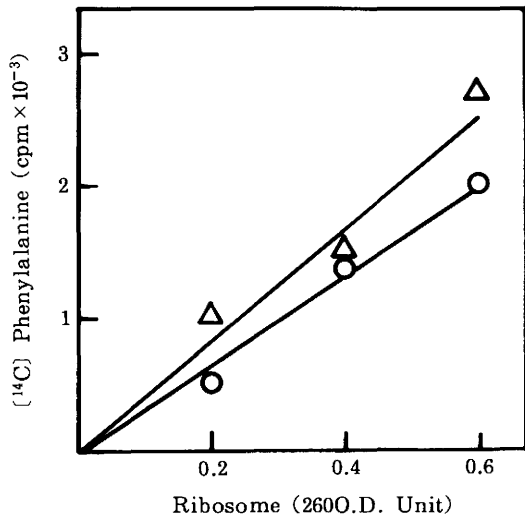


図5 poly(U) 依存のポリフェニルアラニン合成活性能の比較

Terao と Ogata の方法²⁵⁾により, リボソームの poly(U) 依存のポリフェニルアラニン合成活性能を ^{14}C フェニルアラニンの取り込み量により比較した. 各々 0.2, 0.4, 0.6 A_{260} 単位のリボソーム量を用いた.

○—○ : シストから調製したリボソームを用いた場合

△—△ : ノープリウスから調製したリボソームを用いた場合

mRNA との結合が非特異的でないことを確かめるために、標識していないグロビン mRNA をリボソームと等モル加えた (図 4 C,F)。開始因子非存在下では、両者のリボソーム共に 80S 開始複合体は形成されず、開始因子に特異的に複合体を形成していることがわかる (図 4 B,E)。またキャリアーの mRNA を加えてリボソームとのモル比を等しくした場合、シストでもノープリウスに匹敵する量の 80S 開始複合体を形成していた (図 4 C,F)。このことよりシストとノープリウスのリボソームは、外から加えた外来の裸の mRNA について 80S 蛋白質合成開始複合体の形成能は変わらないと考えられた。

4. poly(U) 依存ポリフェニルアラニン合成活性

蛋白質合成の 80S 開始複合体形成能に両者リボソーム間にはほとんど差がないことがわかったので、次にポリペプチド鎖延長反応に差があるかどうかを調べるために、poly(U) 依存のポリフェニルアラニン合成能を比較した。図 5 に示したように、両者の [^{14}C] フェニルアラニンの取り込み量はほぼ同程度であることより、シストとノープリウス共に、リボソームのポリペプチド鎖延長反応に関する活性はほとんど変わらないと考えられた。

考 察

Hultin と Morris の報告¹⁾と同様に、アルテミアサリーナのシストはポリソームを全く含まず、リボソームはすべてモノソームとして存在していることがわかった (図 1 A)。このシストを室温で食塩水等に浸すだけでポリソームが形成されること、すなわち休止状態が解かれて蛋白質合成が開始するということは非常に興味あることである。本研究はこの現象をリボソームの側面から調べることを試みた。

シストとノープリウスのリボソーム蛋白質の 2 次元電気泳動による解析により、4 種類の蛋白質 S6, S14, L24, AX が変化を受けていることがわかった。S6 の磷酸化に関しては、今までにラット肝を始め Hela 細胞やマウスの 3T3 細胞等で多くのグループによって精力的に研究されてきた^{27) - 30)}。最近、培養細胞に血清やインシュリンまたは成長因子を加えて増殖を盛にした場合、S6 のセリン残基が多重的に磷酸化されることが報告されている^{31) - 34)}。また S6 は、ラット肝リボソームで大小亜粒子の境界面にあり L24 と隣接していることや³⁵⁾、mRNA と相互作用があること等³⁶⁾が我々の研究室で明らかになっており、その磷酸化により

mRNA との相互作用が変化することも考えられる。実際 Burkhard と Traugh により、それを示唆する結果も得られている³⁷⁾。本研究でも、蛋白質合成が開始されたノープリウスの S6 のほうが、シストに比べて磷酸化を受けやすいという結果を得ている点、上述のことと考え合わせると、S6 の磷酸化は蛋白質合成活性と何らかの関係を持つ可能性が考えられる。しかしエーストのリボソーム蛋白質では S6 に相当する S10 蛋白質の磷酸化は、成長に必要ではないという結果³⁸⁾も得られており、尚今後の研究が待たれる。

酸性蛋白質 AX に関しては、これがノープリウスの場合に欠けている点に興味を持たれる。AX は 0.5M KCl で洗浄したシストのリボソームにも存在することから、リボソーム構成成分と考えられるが、リボソームを大小亜粒子に解離させその蛋白質を分析した場合、小亜粒子に存在するが量的に非常に少なくなることから、リボソーム蛋白質でない可能性もある。その場合、シストの 80S リボソームに非常に強く結合している蛋白質があり、これがノープリウスで外れてくると考えられる。このことより、これはシストで蛋白質合成を負に調節している蛋白質である可能性が考えられる。尚これに関連して、*Tetrahymena thermophila* が熱ショックを受けたとき、熱ショック蛋白質以外の大部分の蛋白質合成が停止するが、このとき分子量 22,000 の蛋白質がリボソームの小亜粒子に結合していること、またこれを低温下にもどすと、蛋白質合成の開始と共にリボソームから外れてくることが報告されている³⁹⁾。AX も小亜粒子に存在することが認められており、分子量も 24,000 であることから類似性も考えられ興味ある所見であるが、尚今後の研究による分野であろう。

塩基性蛋白質 S14 と L24 は、シストとノープリウスを比較した場合、その蛋白質スポットの位置が 2 次元電気泳動ゲル上で若干移動していることがわかった。しかしノープリウスにおいてシフトして新たに現れたスポットが、シストの蛋白質に対応するものであるかどうかは断定できない。Takeshima と Nakano は、ウニの受精卵と未受精卵のリボソーム蛋白質を比較して、4 種類の蛋白質 S16, S19, L19, L31 が修飾を受けて 2 次元電気泳動ゲル上で位置が移動し、蛋白質 S7 が磷酸化を受けると報告している²⁶⁾。彼等は、これらの変化は受精後 30 分以内に起き、この時間ではまだ新しく合成された rRNA やリボソーム蛋白質がそれほど多くないと考えられるため、翻訳後に起こる修飾による変化ではないかと推測し、蛋白質の修飾は翻訳そのものを調節

するのではなく、活性のあるリボソーム構造を形成するためのものと推論した。アルテミアサリーナの場合に起こるリボソーム蛋白質の変化も、そのような役割を担っている可能性はあるが、結論は尚今後の研究を必要とする。

リボソームの機能に関して、蛋白質合成開始反応とペプチド鎖延長反応の2点について、アルテミアサリーナのふ化前後で比較したが顕著な差は認められなかった。なぜシストにおいて蛋白質合成が行われていないかという点に関して、mRNA が蛋白質と複合体 (mRNP) を形成することによりマスクされて、翻訳が起こらないという Spirin の考え方¹¹⁾ が最も妥当と考えられる。事実アルテミアサリーナのシストの場合、mRNA が mRNP 複合体として存在することや¹²⁾、この mRNP では小麦胚の無細胞系において翻訳が起こらないことが知られている⁴⁰⁾。また、この複合体中に低分子 RNA があり、この RNA が mRNA の翻訳を阻害するということが報告されているが⁴¹⁾、最近この mRNP にある阻害物質が精製されて、この物質は 85 ± 2 スクレオチドの RNA と分子量 64,000 の蛋白質からなり、複合体の大きさは 5-6S で分子量が $84,000 \pm 6,000$ であることが報告され、阻害はこの低分子 RNA によるが、RNP のほうが遊離の RNA より阻害効率が良いということが示された⁴²⁾。しかしこの RNA 或いは RNP での阻害の様式や、これがシストからノープリウスになったときにどのようにして除かれて行くのか、また前述の AX との関係等について今後の問題として残されている。

要 約

アルテミアサリーナのシストのリボソーム蛋白質と、ノープリウスのリボソームより得たリボソーム蛋白質を3種類の2次元電気泳動法で比較し、また両リボソームの蛋白質合成開始複合体形成能とペプチド鎖延長反応活性について比較した。リボソームの酸性蛋白質を比較するために、1次元 pH4.4-2次元 SDS 存在下で電気泳動を行った結果、シストに存在する分子量 24,000 の酸性蛋白質 AX が、ノープリウスのリボソームには全く存在しなかった。また塩基性蛋白質を比較するために、1次元 pH8.6-2次元 pH4.6 尿素と1次元 pH8.6-2次元 SDS 存在下の2種類の電気泳動を行った結果、S6, S14, L24 の3つの蛋白質に若干の変化が見られた。S6 はノープリウスにおいて磷酸化を受け易くなっており、このことは S6 の磷酸化がアルテミアサリー

ナにおいても、リボソームの蛋白質合成活性と何らかの関係を持つ可能性があることを示唆している。シストの S14 と L24 はノープリウスにおいて修飾を受け、2次元ゲル上での位置がシフトしていた。リボソームの、グロビン mRNA との 80S 開始複合体形成能と poly(U) 依存のポリフェニルアラニン合成能を比較したが、シストとノープリウス間であまり差は認められなかった。

稿を終わるに臨み、御指導、御校閲を賜った緒方規矩雄教授に深謝いたします。実験面で御協力いただいた生化学第一教室の高橋由明博士に感謝いたします。また研究の遂行を御支援して下さい、動物実験施設の佐藤徳光助教授に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Hultin, T. and Morris, J. E.: Dev. Biol. 17: 143~164, 1968.
- 2) Golub, A. and Clegg, J.S.: Dev. Biol. 17: 644~656, 1968.
- 3) Sierra, J.M., Filipowicz, W. and Ochoa, S.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 69: 181~189, 1976.
- 4) Pierandrei-Amaldi, P., Felicetti, L. and Campioni, N.: Dev. Biol. 59: 49~61, 1977.
- 5) Pierandrei-Amaldi, P. and Campioni, N.: Biochim. Biochem. Acta 655: 359~365, 1981.
- 6) Macrae, T.H., Roychowdhury, M., Woodley, C.L., and Wahba, J.A.: Eur. J. Biochem. 100: 67~76, 1979.
- 7) Slobin, L.I., and Möller, W.: Eur. J. Biochem. 69: 351~366, 1976.
- 8) Roobol, K. and Möller, W.: Molec. Biol. Rep. 7: 197~202, 1981.
- 9) Yablonka-Reuveni, Z., Fontaine, J.J. and Warner, A.H.: Can. J. Biochem. Cell Biol. 61: 833~839, 1983.
- 10) Bagshow, J.C., Finamore, F.J. and Novelli, G.D.: Dev. Biol. 23: 23~35, 1970.
- 11) Spirin, A.S.: Curr. Top. Dev. Biol. 1: 1~38, 1966.
- 12) Slegers, H., De Herdt, E. and Kondo, M.: Eur. J. Biochem. 117: 111~120, 1981.
- 13) Laskey, R.A., Mills, A.D., Gurdon, J.B. and Partington, G.A.: Cell, 11: 345~351,

- 1977.
- 14) Lingrel, J.B. and Woodland, H.R.: *Eur. J. Biochem.* **47**: 47~56, 1974.
- 15) 塩川光一郎: 蛋白質 核酸 酵素, **29**, 405~429, 1984.
- 16) Moens, L. and Kondo, M.: *Dev. Biol.* **49**: 457~469, 1976.
- 17) Blobel, G. and Sabatini, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**: 390~394, 1971.
- 18) Kenmochi, N., Tsurugi, K. and Ogata, K.: *J. Biochem.* **89**: 1293~1308, 1981.
- 19) Uchiumi, T., Kikuchi, M., Terao, K. and Ogata, K.: *J. Biol. Chem.* **260**: 5675~5682, 1985.
- 20) Lastick, S.M. and McConkey, E.H.: *J. Biol. Chem.* **251**: 2867~2875, 1976.
- 21) Takahashi, Y. and Ogata, K.: *Eur. J. Biochem.* **152**: 279~286, 1985.
- 22) Nohara, H. and Ogata, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **31**: 142~148, 1959.
- 23) Takahashi, Y. and Ogata, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **697**: 101~112, 1982.
- 24) Commerford, S.L.: *Biochemistry*, **10**: 1993~2000, 1971.
- 25) Terao, K. and Ogata, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **254**: 278~295, 1971.
- 26) Takeshima, K. and Nakano, E.: *Eur. J. Biochem.* **137**: 437~443, 1983.
- 27) Gressner, A.M. and Wool, I. G.: *J. Biol. Chem.* **249**: 6917~6925, 1974.
- 28) Leader, D.P., Rankine, A.D. and Coia, A. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**: 966~974, 1976.
- 29) Lastick, S.M., Nielsen, P.J. and McConkey, E.H.: *Mol. Gen. Genet.* **152**: 223~230, 1977.
- 30) Thomas, G., Siegmann, M. and Gordon, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 3952~3956, 1979.
- 31) Smith, C.J., Wejksnora, P.J., Warner, J.R., Rubin, C.S. and Rosen, O.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 2725~2729, 1979.
- 32) Haselbacher, G.K., Humbel, R.E. and Thomas, G.: *FEBS Lett.* **100**: 185~190, 1979.
- 33) Lastick, S.M. and McConkey, E.H.: *J. Biol. Chem.* **256**: 583~585, 1981.
- 34) Thomas, G., Martin-Perez, J., Siegmann, M. and Otto, A.M.: *Cell*, **30**: 235~242, 1982.
- 35) Uchiumi, T., Kikuchi, M. and Ogata, K.: *J. Biol. Chem.* **261**: 9663~9667, 1986.
- 36) Takahashi, Y. and Ogata, K.: *J. Biochem.* **90**: 1549~1552, 1981.
- 37) Burkhard, S.J. and Traugh, J.A.: *J. Biol. Chem.* **258**: 14003~14008, 1983.
- 38) Kruse, C., Johnson, S.P. and Warner, J.R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 7515~7519, 1985.
- 39) McMullin, T.W. and Hallberg, R.L.: *Mol. Cell. Biol.* **6**: 2527~2535, 1986.
- 40) Grosfeld, H. and Littauer, U.Z.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **67**: 176~181, 1975.
- 41) Slegers, H., Mettrie, R. and Kondo, M.: *FEBS Lett.* **80**: 390~394, 1977.
- 42) Piot, E., Backhovens, H. and Slegers, H.: *FEBS Lett.* **175**: 16~20, 1984.

(昭和62年1月30日受付)