

## 特集：リボソームの機能調節と疾患

## II. リボソーム RNA の転写後修飾とアセンブリー

### II-2 リボソームサブユニットのアセンブリーと rRNA プロセシングの制御

水田 啓子

真核生物のリボソームは、核小体で転写された rRNA 前駆体に約 80 種のリボソームタンパク質が結合すると同時に、rRNA 前駆体がプロセシングを受けるといふ、非常に複雑な過程を経て合成される。その合成の場は、核小体から核質へ、さらに細胞質へと移り、二つのリボソームサブユニットが完成する。この生合成の過程について最新の知見を含めて概説する。また、この過程には数多くの調節タンパク質が関わる。筆者らは、出芽酵母の Ebp2 と Rrs1 が 60S リボソームサブユニット生合成の調節タンパク質として機能するとともに、核膜においてほかの制御に関わることを見いだした。リボソーム生合成調節と細胞内のほかの制御機構との関わり、また、ヒトの Ebp2 と Rrs1 オーソログと疾病との関連についても紹介する。

## 1. はじめに

真核生物のリボソームは 4 種の RNA と約 80 種のタンパク質からなる巨大な複合体であり、その合成には RNA ポリメラーゼ I, II, III すべての系を必要とする。盛んに増殖している細胞、たとえば対数増殖期の出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の細胞は莫大なエネルギーを費やして、1 分間に 2,000 個ものリボソームを合成している<sup>1)</sup>。そのために細胞はリボソーム生合成を厳密に制御する仕組みを備えている。この調節の分子機構を解明することは細胞生物学の重要な課題であり、また、近年「リボソーム病」が次々と発見されているので、その発症機序の解明ならびに治療へとつながることが期待される。本稿では、リボソーム生合成の経路およびその調節について概説し、筆者らが研究してきたリボソーム生合成調節タンパク質 Ebp2

と Rrs1 の機能解析からみえてきた、リボソーム生合成系と細胞内のほかの制御システムとの連携について、さらにヒトの Ebp2, Rrs1 オーソログと疾病との関連について紹介する。

## 2. リボソーム生合成の経路

## 1) 核における rRNA 遺伝子の転写とリボソーム前駆体の組立て

真核生物のリボソームは主に核小体で合成される。核小体は膜に覆われているわけではなく、染色体上にタンデムに並んでいる rRNA 遺伝子 (rDNA) の周りに、リボソームを合成するために必要なタンパク質や RNA、さらに合成途中のリボソーム前駆体などがきわめて高密度に集まって形成されている。出芽酵母の rDNA は第 12 番染色体上に約 150 コピー並んでいる (図 1)。3 種の rRNA [18S, 5.8S, 25S (哺乳類では 28S)] は、長い 35S (哺乳類では 47S) rRNA 前駆体として RNA ポリメラーゼ I によって転写される。この rRNA 前駆体はプロセシング (切断とトリミング) と修飾 (メチル化やシュドウリジン化) を受けると同時に、数多くのリボソームタンパク質の rRNA 前駆体への結合 (アセンブリー) が進行して、リボソームサブ

広島大学大学院生物圏科学研究科 (〒739-8528 東広島市鏡山 1-4-4)

Regulation of ribosome assembly and rRNA processing  
Keiko Mizuta (Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Kagamiyama 1-4-4, Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan)

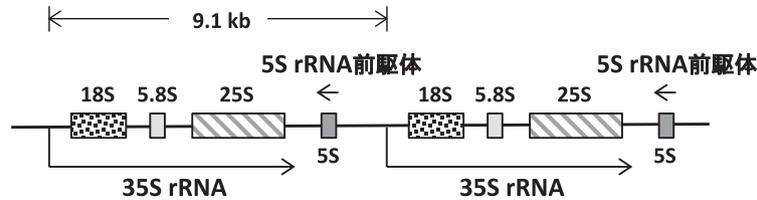


図1 出芽酵母のリボソーム RNA 遺伝子

出芽酵母の第12番染色体上に約150コピーのrRNA遺伝子が並んでいる。18S, 5.8S, 25S rRNAは1本の長い35S rRNA前駆体としてRNAポリメラーゼIによって転写され、5S rRNA前駆体はRNAポリメラーゼIIIによって転写される。

ユニットが組み立てられる。

これらの過程に必要な調節タンパク質—リボソームサブユニット前駆体に結合するが、完成されたリボソームサブユニットには含まれないタンパク質—が出芽酵母において約200種同定されている<sup>2)</sup>。ヒトの細胞から精製された核小体のプロテオーム解析によって、酵母のリボソーム生合成調節タンパク質のオーソログが数多く見いだされている<sup>3)</sup>。

35S rRNAの転写は18S rRNAの5'側から始まり(図1)、転写が完了しないうちに、18S rRNAの領域に、40Sサブユニットを合成するために必要なRNAや調節タンパク質、リボソームタンパク質が結合する<sup>4)</sup>。したがって、40Sサブユニットの組立てが先に始まる。転写が25S rRNAの領域まで進んでくると、60Sサブユニットの合成のために必要なRNAや調節タンパク質、リボソームタンパク質が結合し、90Sリボソーム前駆体が作られる(図2)。このとき、5S rRNAも結合すると推定される。5S rRNA遺伝子は、出芽酵母では第12番染色体に35S rRNA遺伝子と交互に並んでいる(図1)が、哺乳類では47S rRNA遺伝子とは離れた座位にある。5S rRNAはRNAポリメラーゼIIIによって少し長い前駆体として転写され、プロセッシングを受けて成熟する。

90Sリボソーム前駆体に含まれる35S rRNAは20S rRNAと27S rRNAとに切断され、それぞれ40Sと60Sサブユニットの合成系に分かれる(図2)。TAP (tandem affinity purification) 精製と質量分析によって、多くの調節タンパク質がどのステップのサブユニット前駆体に結合しているかが、スナップショットのように次々と同定された<sup>5)</sup>。近年、特定の調節タンパク質を枯渇させたときの、前駆体に結合している調節タンパク質とリボソームタンパク質の詳細な解析によって、各タンパク質が結合する順番が厳密に制御されていることがわかってきた<sup>6)</sup>。また、調節タンパク質が結合するリボソームタンパク質と、それらが関わるrRNA前駆体のプロセッシングのステップとの関係が明確になり、リボソームサブユニットの組立ての過程と構造との関係が説明されるようになってきた。これについては、後述する(4-1)項)。

## 2) 細胞質におけるリボソームサブユニットの完成

大小二つのリボソームサブユニットは、その合成の場を核小体、核質へと移動し、さらに核膜孔を通過して細胞質において完成される(図2)。細胞質に輸送されたリボソームサブユニット前駆体には、輸送のために必要であったタンパク質と、リボソームタンパク質が結合するべき場所を占有している調節タンパク質が結合している。サブユニットの完成のためには、これらのタンパク質がリボソーム前駆体から解離し、リボソームタンパク質と入れ替わる必要がある(図3)。また、5.8S rRNAの最後のトリミングや20S rRNAから18S rRNAへの切断も細胞質で行われる<sup>7)</sup>。

核内で60Sサブユニットに結合した、L24 (Rpl24)と相同性の高いRlp24 (ribosomal-like protein 24)は、細胞質でDrg1 (AAA-ATPase) 依存的にL24と置き換わる。また、P0と二つのP1/P2ヘテロ二量体から構成されるstalkと呼ばれる領域は細菌のL10/L7/L12に相当し、翻訳時にGTPase翻訳因子と相互作用し、それを活性化する領域である。核内で結合していた、P0と相同性の高いMrt4が、細胞質でP0に置き換わって、stalkが形成される<sup>8)</sup>。これによって、GTPaseであるEfl1がリクルートされ活性化される。Efl1はSdo1とともに、Tif6の解離に働き、さらに、サブユニット前駆体の核外輸送に機能したNmd3がLsg1 (GTPase) 依存的に解離する(図3)。Tif6は60Sサブユニット前駆体の合成と核外輸送に機能する調節タンパク質である。これがとどまっている60Sサブユニットは40Sサブユニットと会合できない。Efl1によるGTPの加水分解とTif6の解離をSdo1が共役させる<sup>9)</sup>。シュバツハマン・ダイヤモンド症候群(Shwachman-Diamond syndrome: SDS)は、Sdo1ホモログをコードするSBDS遺伝子の変異による骨髄不全疾患である。Sdo1が機能しないとTif6が解離できず、その結果、大小二つのリボソームサブユニット間の会合に欠陥が生じる。この欠陥はSDS患者由来の細胞においても確認されている<sup>10)</sup>。

一方、核から細胞質に輸送された40Sサブユニット前駆体は、リボソームタンパク質以外の七つのタンパク質を結合している。これらが解離する過程で、60Sサブユニットといったん会合するという興味深いモデルが最近提出さ

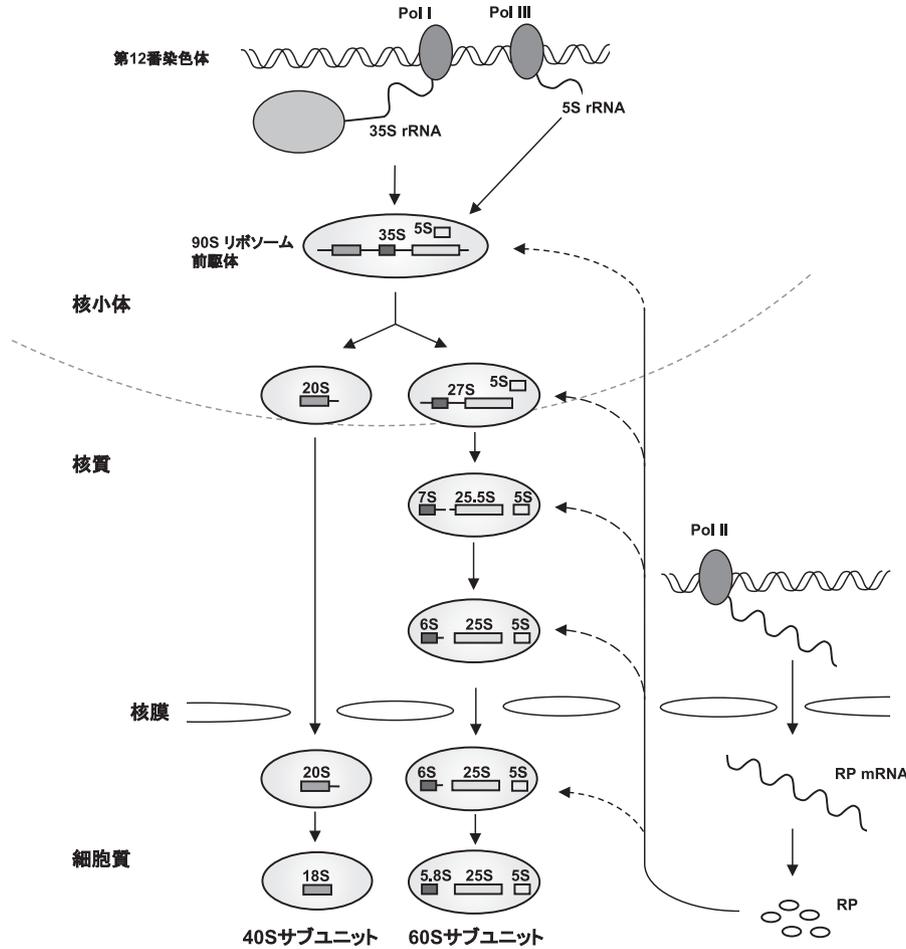


図2 出芽酵母細胞におけるリボソーム生合成過程の概略  
 35S rRNA 前駆体にリボソームタンパク質 (RP) や調節タンパク質が結合して 90S リボソーム前駆体粒子を形成する。さらに多くの調節タンパク質が出入りしながら、RP が次々と結合し、rRNA がプロセッシングを受けて成熟していく。二つのリボソームサブユニット (60S と 40S) 前駆体は核膜孔を通して細胞質に出ていき、翻訳可能なサブユニットへと成熟する。図中には調節タンパク質を示していない。

れた。細胞質で Ltv1 が解離して S10 (Rps10) と入れ替わり、翻訳開始因子 eIF5B (Fun12) の GTPase 活性によって、40S 前駆体と 60S (あるいはその前駆体) とが会合する。ATPase 依存的に、40S 前駆体に結合していた五つのタンパク質が解離する。大小二つのサブユニットは互いに解離し、最後に Pno1 が解離して S26 (Rps26) と入れ替わるというモデルである<sup>11,12)</sup>(図3)。

細胞質におけるリボソームサブユニットの成熟がこれほど複雑なのは、単にサブユニットの完成というだけではなく、未熟な状態での翻訳開始を防ぎ、さらに、二つのサブユニット間の会合や GTPase の結合部位などの確認をしていると考えられる<sup>12)</sup>。

### 3. 二つのリボソームサブユニットの生合成系の比較

#### 1) 分泌遮断時のシグナル伝達と 60S サブユニット生合成系

筆者らは、リボソームタンパク質遺伝子の転写を制御している因子を探索することを目的として、制限温度でリボソームタンパク質遺伝子の転写が著しく抑制されている出芽酵母の温度感受性変異株を取得した。それらはすべて分泌経路(メンブレントラフィック)に欠陥を持つ変異株であった<sup>13,14)</sup>。そこで、小胞体から細胞膜への輸送経路の各ステップにおけるさまざまな温度感受性変異株について調べたところ、調べたすべての変異株において、制限温度でリボソームタンパク質遺伝子の転写が著しく抑制されており、また、rDNA の転写も顕著に抑制されていた。解糖系遺伝子などには影響がなく、リボソーム構成成分の遺伝子に特異的であった<sup>13)</sup>。

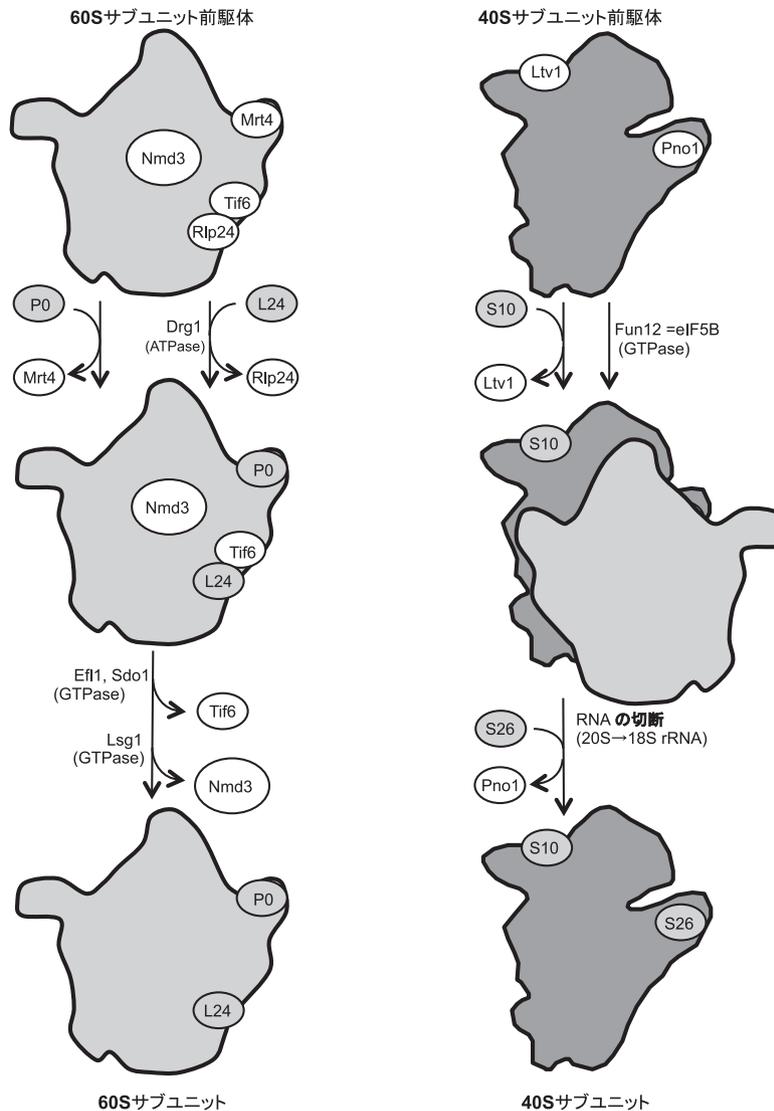


図3 出芽酵母の細胞質における二つのリボソームサブユニットの成熟過程  
核から細胞質に輸送されたリボソームサブユニット前駆体には、いくつかの調節タンパク質（白色で示す）が結合している。それらが解離し、リボソームタンパク質（灰色で示す）が結合して、二つのサブユニットが完成する。図には示していないが、5.8S rRNAの最後の成熟も細胞質で行われ、また、P0にP1/P2ヘテロ二量体が結合してstalkが形成される。40S前駆体に結合している調節タンパク質についてはその一部のみを示した。

このシグナル伝達に欠陥のある変異株、すなわち、分泌経路を遮断してもリボソーム構成成分遺伝子群の転写抑制が起こらなくなっている変異株を取得し、その原因遺伝子を *RRS1* (regulator of ribosome synthesis) と命名した<sup>15)</sup>。 *RRS1* の産物は分泌経路が正常なときには、60S リボソームサブユニットの組立てに必須な調節タンパク質であった。その後、同様に本シグナル伝達に関わる遺伝子として、60S 合成に関わる遺伝子が同定された。40S 合成系に欠陥があってもシグナル伝達には影響を及ぼすことがないことから、本シグナルは60S リボソームサブユニットの合成系を介して伝達されると考えているが<sup>15~17)</sup>、その詳

細な機構は不明である。

## 2) 寿命と60Sサブユニット生合成系

出芽酵母は出芽を繰り返すことによって老化する。一つの細胞が出芽(分裂)できる回数には限度があり、これが酵母の分裂寿命である。リボソームタンパク質が欠乏すると、酵母の分裂寿命が延びることが報告されている<sup>18)</sup>。出芽酵母において79種のリボソームタンパク質のうち、59種は二つの重複した遺伝子によってコードされているので、その一方の遺伝子を破壊しても酵母は生育することができる。破壊株セットのうち、寿命が有意に延びたのはす

べて60Sサブユニットのタンパク質(14種)をコードする遺伝子の破壊株であり、40Sサブユニットのタンパク質をコードする遺伝子については寿命が延びる破壊株は見つからなかった。また、翻訳の阻害剤シクロヘキシミドは寿命には影響を及ぼさなかった。

60Sリボソームサブユニット合成が阻害されたときのみ寿命が延びる機構については不明な点が多く残されている。3-1)項で述べた、分泌経路遮断からリボソーム構成成分遺伝子群の転写抑制へのシグナル伝達が、60Sリボソームサブユニット合成系を介するというモデルと合わせて考えると、60Sリボソームサブユニット合成系が正常かどうかをどのような仕方で細胞が感知しているのか、興味深い課題が残されている。

### 3) 二つのリボソームサブユニット量の調節

筆者らはリボソーム生合成調節タンパク質について、温度感受性変異株あるいは条件的に発現抑制させる系を用いて、その機能を解析してきた。60Sサブユニットが合成されなくなると、当然細胞内の60Sサブユニットの量が減少し、余剰の40Sサブユニットの蓄積が観察されるが、その蓄積は推定される量よりはるかに少なかった。rRNAについて調べてみると、25S rRNAがまず減少し、少し遅れて18S rRNAの減少が認められた<sup>15,19,20</sup>。一方、40Sサブユニット生合成に関わる調節タンパク質を枯渇させると、驚くほど60Sサブユニットが蓄積していた<sup>21</sup>。片方のサブユニットが減少したときの、余剰のサブユニット量を管理するシステムが、大小二つのリボソームサブユニット間で異なるようである。

#### 4. リボソーム生合成調節タンパク質 Ebp2 と Rrs1

##### 1) Ebp2 と Rrs1 のリボソーム生合成調節における機能

前述のように、筆者らは分泌経路遮断によるシグナル伝達に欠陥のある変異株として *rrs1* を単離した。さらに、Rrs1 と相互作用するタンパク質として Ebp2 を同定した。Ebp2 あるいは Rrs1 を条件的に枯渇させたとき、また、温度感受性変異株を制限温度にシフトさせたときの表現型を調べることによってこれらの機能を解析した。ショ糖密度勾配超遠心分離によるポリソームパターン解析では、いずれも、80Sモノソームとポリソームの減少、40Sの蓄積(前述したように、多量ではない)、ハーフマー(mRNAの開始コドンに40Sサブユニットが結合し60Sサブユニットが結合していない状態)の出現など、60S生合成に欠陥のある特徴的なパターンを示した。また、rRNA前駆体は転写されてすぐにメチル化修飾を受けるので、<sup>3</sup>Hメチオニンで標識すること(パルス・チェイス実験)によって、rRNA前駆体のプロセシングの過程を追跡することができる。いずれも、25S rRNA前駆体のプロセシングに遅

れが観察され、また、成熟した25S rRNAの量も顕著に減少していた<sup>15,19,22,23</sup>。さらにプライマー伸長反応によって、Ebp2を枯渇させると27SA<sub>2</sub>と27SA<sub>3</sub>が、Rrs1を枯渇させると27SB<sub>L</sub>と27SB<sub>S</sub>がそれぞれ蓄積する<sup>20,24</sup>ことを示した。この結果から、rRNA前駆体のプロセシングに関しては、Ebp2が働いてからRrs1が働くと推定される。27SB<sub>L</sub>と27SB<sub>S</sub>の違いは、それらに含まれる5.8S rRNAの5'末端の違いによるものであり、短い27SB<sub>S</sub>の方が主要な中間体である(図4A)。

Rrs1とEbp2がほかの調節タンパク質とどのように協調してリボソーム生合成において機能するかについて解析した。その結果、Rrs1はRpf2と複合体を形成して、リボソームタンパク質L11(Rpl11)とL5(Rpl5)-5S rRNAをリクルートする役割を担っていると推定した<sup>25,26</sup>。L11とL5は60Sの中央突起に位置する構成因子であり(図4B)、哺乳類細胞においては、p53の安定化やmycの活性化に関わる重要な役割を担っている<sup>27,28</sup>。

一方、Ebp2はBrx1と密接に連携しながら機能する<sup>24</sup>。また、調節タンパク質Pwp1-TAPの精製により、調節タンパク質Ebp2、Brx1、Nop12およびリボソームタンパク質L8とL15が同定されている<sup>29</sup>。L8とL15は60Sリボソームサブユニットの5.8S rRNAの3'末端付近に、互いに隣り合って位置しており、40Sサブユニットと向き合う側に存在する<sup>30</sup>(図4B)。5.8S rRNAの5'末端を決定する、27SA<sub>3</sub>からのプロセシングに必要とされる「A3因子」と呼ばれる一群のタンパク質(Rlp7、Nop15、Nop7、Erb1、Ytm1、Nsa3/Cic1)はL17、L26、L35、L37をリボソーム前駆体に安定にアセンブリーさせるのにも機能する<sup>31</sup>。興味深いことに、これらのリボソームタンパク質は、L8とL15の領域とちょうど同じ領域の外側(40Sと向き合っていない側)に位置する(図4B)。これらの知見から、調節タンパク質とリボソームタンパク質が協調して次々とリボソーム前駆体上の位置を変えながら一連のrRNAプロセシングを行っていくと推定される。

##### 2) Ebp2 と Rrs1 の核膜における機能

筆者らは、主に核小体に局在するEbp2とRrs1の一部が核膜にも局在することを見いだした。これらは核内膜を貫通するSUNドメインタンパク質Mps3との相互作用を介して核膜につなぎ止められている<sup>32</sup>。SUNドメインタンパク質は真核生物の間で保存されている。出芽酵母以外の多くの生物において、SUNドメインタンパク質はパートナーとなるKASHドメインタンパク質とセットで核の内外をつなぎ、さらに細胞骨格と連携することによって、核のダイナミクスに大きく関与することが示されている。

出芽酵母では、Mps3は染色体の末端構造であるテロメアに結合するタンパク質との相互作用を介して、テロメア

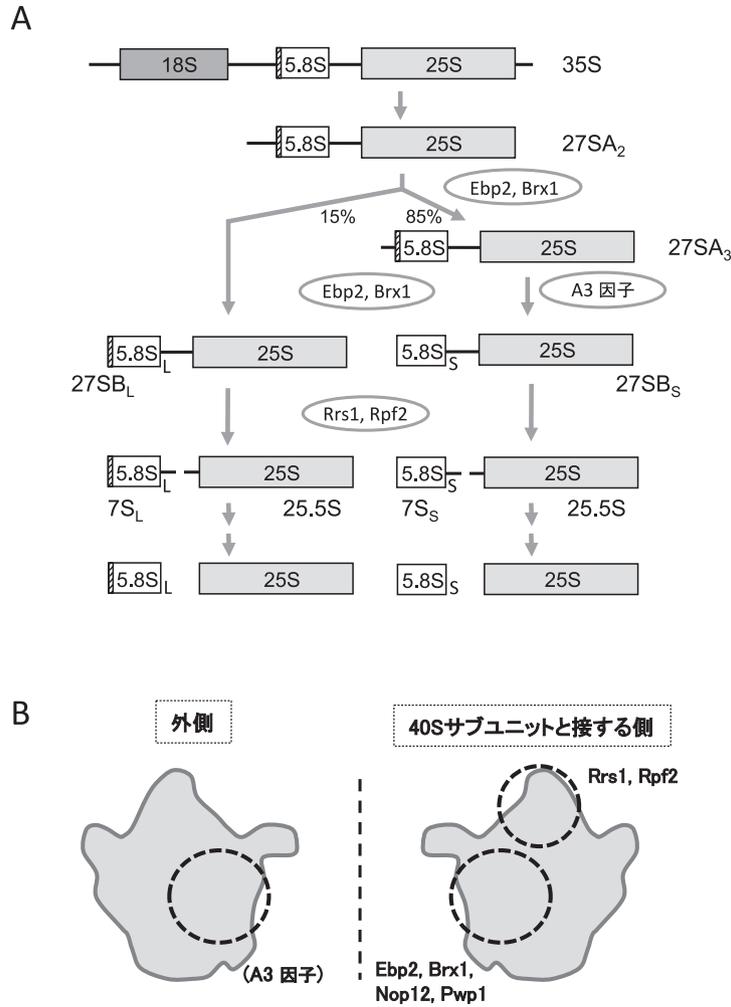


図4 出芽酵母における60Sリボソームサブユニットの生合成の過程と構造との関係

(A) 出芽酵母のrRNA前駆体のプロセッシングの過程と関与する調節タンパク質。(B) 出芽酵母の60Sリボソームサブユニット生合成過程における調節タンパク質が結合すると推定される領域。

を束ねてクラスターを形成し、核膜につなぎ止める役割を担っている<sup>33,34)</sup>。テロメアのクラスターは有糸分裂期に部分的に解離し、G1期に再形成され、さらにS期ではそれが維持される。温度感受性 *ebp2* 変異株と *rrs1* 変異株を制限温度にシフトすると、テロメアを核膜につなぎ止めることには欠陥は認められなかったが、S期におけるテロメアクラスターの維持に欠陥を生じた。また、テロメア近傍の領域は、遺伝子が存在しても転写されない、サイレントな状態になっているが、そのサイレンシングも弱められていることがわかった<sup>32)</sup>(図5A)。

また、Ebp2とRrs1が核膜から消失すると、核形態が扁平になることから、これらは核形態の維持にも必要であると示唆される。動物細胞の核膜は、ラミンタンパク質から構成されラミナと呼ばれる細かい網目構造によって裏打ちされている。核膜は核形態を維持するだけでなく、染色体

の安定性や遺伝子発現の制御に重要な役割を担っている。ヒトではその欠陥によりさまざまな重篤な病気が引き起こされることが知られている<sup>35)</sup>。その一つ、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア (Hutchinson-Gilford progeria) 症候群はラミン遺伝子の変異によって起きる早老症である。酵母ではこのラミナ構造がないので、核内膜の内側に存在するEbp2やRrs1などのタンパク質がこれに近い役割を果たしているのかもしれないと想像している<sup>36)</sup>。

### 3) ヒトのRrs1とハンチントン病

ヒトのRrs1は間期に核小体に局在することが観察されており<sup>37)</sup>、また、HeLa細胞から精製された核小体画分に含まれている<sup>3)</sup>ことから、リボソーム生合成に機能すると推察される。有糸分裂期には、Rrs1は染色体上へと移行するが、そのとき、染色体の整列などの動態に重要な役割

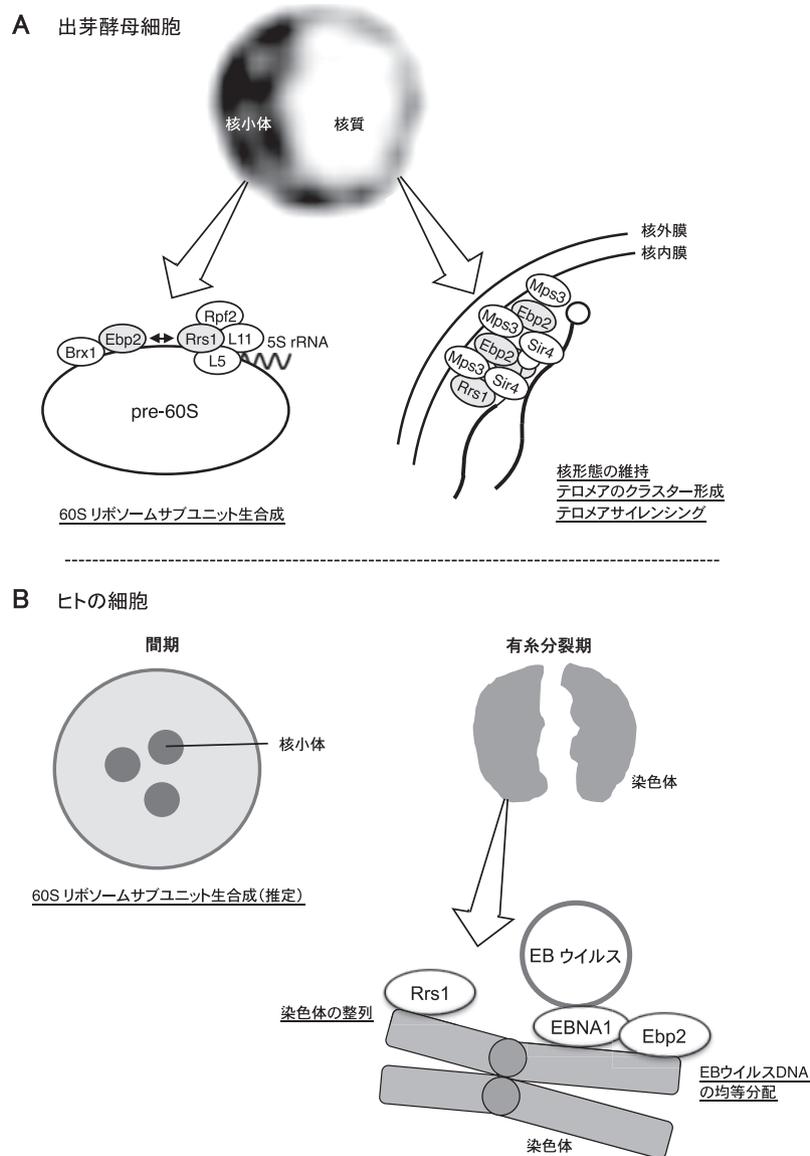


図5 リボソーム生成調節タンパク質 Ebp2 と Rrs1 の出芽酵母とヒトにおける局在と機能

(A) 出芽酵母の Ebp2 と Rrs1 は、核小体において 60S リボソームサブユニットの生成に機能し、核膜において核形態の維持やテロメアのクラスター形成、サイレンシングに機能する。Sir4 はテロメア結合タンパク質。(B) ヒトの細胞において、Ebp2 と Rrs1 は間期に核小体に局在することから、60S リボソームサブユニットの生成に機能することが推定される。有糸分裂期に Ebp2 と Rrs1 は染色体上に移行する。Ebp2 は EB ウイルス由来のタンパク質 EBNA1 と相互作用して EB ウイルス DNA の均等分配に必要であること、Rrs1 は染色体の整列に重要な役割を果たすことが報告されている。

を果たしていることが報告されている<sup>37)</sup>(図 5B)。

また、ヒトの Rrs1 についてハンチントン (Huntington) 病との関連が報告されている。ハンチントン病は、Huntingtin タンパク質をコードする遺伝子の第 1 エクソンにある、グルタミンをコードする CAG の繰り返し配列が異常に長くなるのが原因で発症する、優性の遺伝性神経変性疾患である。伸長したポリグルタミンを持つ Huntingtin タ

ンパク質は凝集し、中枢神経細胞内に蓄積する。ハンチントン病は、主として成人に発症する。その発症過程を解析するために、111 コピーの CAG の繰り返し配列によるポリグルタミンを持つ Huntingtin タンパク質を発現するモデルマウスが作製された。発症過程のごく初期に、小胞体ストレスが惹起こされ、それによって Rrs1 の発現が顕著に、かつ特異的に亢進すること、さらにそれらが持続すること

が示された<sup>38,39)</sup>。患者の脳細胞においても、小胞体ストレスおよび *RRS1* の発現亢進が認められている<sup>38,39)</sup>。しかしその発症機序との関連については不明である。

#### 4) ヒトの Ebp2 と Epstein-Barr (EB) ウイルスの潜伏感染

Ebp2 の名前の由来は EBNA1-binding protein 2 であり、EB ウイルスのコードする抗原タンパク質の一つである EBNA1 (Epstein-Barr virus nuclear antigen 1) と結合するタンパク質として見いだされた<sup>40)</sup>。ヒトの Ebp2 も Rrs1 と同様、間期には核小体に局在し、精製された核小体画分に含まれている<sup>3)</sup>ことから、ヒトにおいてもリボソーム生合成に機能すると推察される (図 5B)。

EB ウイルスはヘルペスウイルス科に属し、バーキットリンパ腫から発見された、最初のヒトがんウイルスである。EB ウイルスは主に潜伏感染し、日本人ではほとんどの成人が感染しているといわれている。潜伏感染した EB ウイルスは、バーキットリンパ腫やホジキン病、臓器移植後のリンパ腫などリンパ系のがん、上咽頭がん、胃がんなどに関与する。

潜伏感染した EB ウイルスのゲノムは、宿主細胞の染色体に組込まれないで、約 170 kb の二本鎖環状 DNA (エピソーム) として細胞核内に維持される。このとき、ウイルス遺伝子のうち一部のみが発現するが、EB ウイルス DNA の複製と分配に必要な EBNA1 は普遍的に発現している。EBNA1 が結合する EB ウイルス DNA のシス配列 *oriP* は、複製に必要な DS 配列と、均等分配に必要な FR 配列の、いずれも EBNA1 の結合部位を多数含む二つの領域から構成されている。EB ウイルスのゲノム DNA は、宿主細胞の細胞周期と連動して、1 細胞周期につき 1 回だけ複製され、さらに、均等に分配される<sup>41)</sup>。EBNA1 は複製と分配、両方の機構に重要な役割を果たしている<sup>42,43)</sup>。

EB ウイルスの分配機構を調べるために、出芽酵母におけるモデル系が構築され、EBNA1 とヒト Ebp2 を補うことにより、酵母細胞内で FR 配列を持つプラスミド DNA が複製され、有糸分裂期に均等に分配されることが示された<sup>44)</sup>。また、ヒト Ebp2 と相互作用する領域—グリシンとアルギニンに富んだ 325~376 番目のアミノ酸配列—を欠いた EBNA1 は、*oriP* を含むプラスミドの複製には機能するが、それを維持することができない、すなわち均等分配に欠陥があることが、ヒトの細胞においても<sup>40)</sup>、酵母細胞においても<sup>44)</sup>示された。さらに、Ebp2 も EBNA1 も有糸分裂期の染色体上に局在すること<sup>45)</sup>、EBNA1 ( $\Delta 325-376$ ) は染色体上に局在しないこと<sup>45)</sup>から、有糸分裂期に染色体上に移行する Ebp2 が EBNA1 と結合して、染色体 DNA に EB ウイルス DNA が結合するのに関与することが示唆された。しかしその後、EBNA1 がヒト Ebp2 よりも有糸分裂期の早い時期に染色体に結合することが観察された<sup>46)</sup>。

ヒト Ebp2 を介して EBNA1 が染色体上に局在するというよりは、ヒト Ebp2 は EBNA1 を染色体上に安定に保持させる、あるいは、染色体への結合には必要ではないが、均等分配に必要であると推定される (図 5B)。一方、ヒトの細胞において EBNA1 とヒト Ebp2 が間期に核小体で結合しているという観察もあるが、EBNA1 のリボソーム生合成への影響についてはまったく見解がない<sup>47)</sup>。

#### 5. おわりに

リボソーム生合成については、約 10 年前に多くの調節タンパク質が生合成過程のどのステップに含まれるのかがスナップショットのように明らかにされた。近年の解析技術の進歩により、プロセシングの各ステップの rRNA 前駆体に結合しているリボソームタンパク質と調節タンパク質が同定され、また結合する順番も決定されつつある。リボソーム生合成過程がムービーとして表現される日がやってくることを期待している。また、リボソーム生合成調節タンパク質、さらには生合成系にはまだまだ多くの隠された機能があるように思われる。これらが詳細に解明され、病気の治療や予防に役立つことを願っている。

#### 文 献

- 1) Warner, J.R. (1999) *Trends Biochem. Sci.*, 24, 437-440.
- 2) Kressler, D., Hurt, E., & Baßler, J. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, 1803, 673-683.
- 3) Scherl, A., Couté, Y., Déon, C., Callé, A., Kindbeiter, K., Sanchez, J.C., Greco, A., Hochstrasser, D., & Diaz, J.J. (2002) *Mol. Biol. Cell*, 13, 4100-4109.
- 4) Dragon, F., Gallagher, J.E., Compagnone-Post, P.A., Mitchell, B.M., Porwancher, K.A., Wehner, K.A., Wormsley, S., Settlege, R.E., Shabanowitz, J., Osheim, Y., Beyer, A.L., Hunt, D.F., & Baserga, S.J. (2002) *Nature*, 417, 967-970.
- 5) Henras, A.K., Soudet, J., Gêrus, M., Lebaron, S., Caizergues-Ferrer, M., Mouglin, A., & Henry, Y. (2008) *Cell. Mol. Life Sci.*, 65, 2334-2359.
- 6) Gamalinda, M., Jakovljevic, J., Babiano, R., Talkish, J., de la Cruz, J., & Woolford, J.L. Jr. (2013) *Nucleic Acids Res.*, 41, 1965-1983.
- 7) Thomson, E. & Tollervey, D. (2010) *Mol. Cell. Biol.*, 30, 976-984.
- 8) Lo, K.Y., Li, Z., Wang, F., Marcotte, E.M., & Johnson, A.W. (2009) *J. Cell Biol.*, 186, 849-862.
- 9) Finch, A.J., Hilcenko, C., Basse, N., Drynan, L.F., Goyenechea, B., Menne, T.F., González-Fernández, A., Simpson, P., D'Santos, C.S., Arends, M.J., Donadieu, J., Bellanné-Chantelot, C., Costanzo, M., Boone, C., McKenzie, A.N., Freund, S.M., & Warren, A.J. (2011) *Genes Dev.*, 25, 917-929.
- 10) Burwick, N., Coats, S.A., Nakamura, T., & Shimamura, A. (2012) *Blood*, 120, 5143-5152.
- 11) Lebaron, S., Schneider, C., van Nues, R.W., Swiatkowska, A., Walsh, D., Böttcher, B., Granneman, S., Watkins, N.J., & Tollervey, D. (2012) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 744-753.
- 12) Strunk, B.S., Novak, M.N., Young, C.L., & Karbstein, K.

- (2012) *Cell*, **150**, 111–121.
- 13) Mizuta, K. & Warner, J.R. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 2493–2502.
- 14) Li, B. & Warner, J.R. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 16813–16819.
- 15) Tsuno, A., Miyoshi, K., Tsujii, R., Miyakawa, T., & Mizuta, K. (2000) *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 2066–2074.
- 16) Miyoshi, K., Tsujii, R., Yoshida, H., Maki, Y., Wada, A., Matsui, Y., Toh-e, A., & Mizuta, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 18334–18339.
- 17) Zhao, Y., Sohn, J.H., & Warner, J.R. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 699–707.
- 18) Steffen, K.K., MacKay, V.L., Kerr, E.O., Tsuchiya, M., Hu, D., Fox, L.A., Dang, N., Johnston, E.D., Oakes, J.A., Tchao, B.N., Pak, D.N., Fields, S., Kennedy, B.K., & Kaerberlein, M. (2008) *Cell*, **133**, 292–302.
- 19) Tsujii, R., Miyoshi, K., Tsuno, A., Matsui, Y., Toh-e, A., Miyakawa, T., & Mizuta, K. (2000) *Genes Cells*, **5**, 543–553.
- 20) Morita, D., Miyoshi, K., Matsui, Y., Toh-e, A., Shinkawa, H., Miyakawa, T., & Mizuta, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 28780–28786.
- 21) Shirai, C., Takai, T., Nariai, M., Horigome, C., & Mizuta, K. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 25353–25358.
- 22) Miyoshi, K., Shirai, C., Horigome, C., Takenami, K., Kawasaki, J., & Mizuta, K. (2004) *FEBS Lett.*, **565**, 106–110.
- 23) Horigome, C., Okada, T., Matsuki, K., & Mizuta, K. (2008) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 1080–1086.
- 24) Shimoji, K., Jakovljevic, J., Tsuchihashi, K., Umeki, Y., Wan, K., Kawasaki, S., Talkish, J., Woolford, J.L. Jr., & Mizuta, K. (2012) *Nucleic Acids Res.*, **40**, 4574–4588.
- 25) Nariai, M., Tanaka, T., Okada, T., Shirai, C., Horigome, C., & Mizuta, K. (2005) *Nucleic Acids Res.*, **33**, 4553–4562.
- 26) Zhang, J., Harnpicharnchai, P., Jakovljevic, J., Tang, L., Guo, Y., Oeffinger, M., Rout, M.P., Hiley, S.L., Hughes, T., & Woolford, J.L., Jr. (2007) *Genes Dev.*, **21**, 2580–2592.
- 27) Chakraborty, A., Uechi, T., & Kenmochi, N. (2011) *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **2**, 507–522.
- 28) 水田啓子 (2013) 化学と生物, **51**, 609–614.
- 29) Zhang, W., Morris, Q.D., Chang, R., Shai, O., Bakowski, M. A., Mitsakakis, N., Mohammad, N., Robinson, M.D., Zirngibl, R., Somogyi, E., Laurin, N., Eftekharpour, E., Sat, E., Grigull, J., Pan, Q., Peng, W.T., Krogan, N., Greenblatt, J., Fehlings, M., van der Kooy, D., Aubin, J., Bruneau, B.G., Rossant, J., Blencowe, B.J., Frey, B.J., & Hughes, T.R. (2004) *J. Biol.*, **3**, e21.
- 30) Ben-Shem, A., Jenner, L., Yusupova, G., & Yusupov, M. (2010) *Science*, **330**, 1203–1209.
- 31) Sahasranaman, A., Dembowski, J., Strahler, J., Andrews, P., Maddock, J., & Woolford, J.L. Jr. (2011) *EMBO J.*, **30**, 4020–4032.
- 32) Horigome, C., Okada, T., Shimazu, K., Gasser, S.M., & Mizuta, K. (2011) *EMBO J.*, **30**, 3799–3811.
- 33) Antoniacci, L.M., Kenna, M.A., & Skibbens, R.V. (2007) *Cell Cycle*, **6**, 75–79.
- 34) Bupp, J.M., Martin, A.E., Stensrud, E.S., & Jaspersen, S.L. (2007) *J. Cell Biol.*, **179**, 845–854.
- 35) Schreiber, K.H. & Kennedy, B.K. (2013) *Cell*, **152**, 1365–1375.
- 36) Horigome, C. & Mizuta, K. (2012) *Nucleus*, **3**, 22–28.
- 37) Gambe, A.E., Matsunaga, S., Takata, H., Ono-Maniwa, R., Baba, A., Uchiyama, S., & Fukui, K. (2009) *FEBS Lett.*, **583**, 1951–1956.
- 38) Carnemolla, A., Fossale, E., Agostoni, E., Michelazzi, S., Calligaris, R., De Maso, L., Del Sal, G., MacDonald, M.E., & Persichetti, F. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 18167–18173.
- 39) Fossale, E., Wheeler, V.C., Vrbanac, V., Lebel, L.A., Teed, A., Mysore, J.S., Gusella, J.F., MacDonald, M.E., & Persichetti, F. (2002) *Hum. Mol. Genet.*, **11**, 2233–2241.
- 40) Shire, K., Ceccarelli, D.F., Avolio-Hunter, T.M., & Frappier, L. (1999) *J. Virol.*, **73**, 2587–2595.
- 41) Yates, J.L. & Guan, N. (1991) *J. Virol.*, **65**, 483–488.
- 42) Kanda, T., Kamiya, M., Maruo, S., Iwakiri, D., & Takada, K. (2007) *J. Cell Sci.*, **120**, 1529–1539.
- 43) Yates, J.L., Warren, N., & Sugden, B. (1985) *Nature*, **313**, 812–815.
- 44) Kapoor, P., Shire, K., & Frappier, L. (2001) *EMBO J.*, **20**, 222–230.
- 45) Wu, H., Ceccarelli, D.F., & Frappier, L. (2000) *EMBO Rep.*, **1**, 140–144.
- 46) Nayyar, V.K., Shire, K., & Frappier, L. (2009) *J. Cell Sci.*, **122**, 4341–4350.
- 47) Jourdan, N., Jobart-Malfait, A., Dos Reis, G., Quignon, F., Piolot, T., Klein, C., Tramier, M., Coppey-Moisan, M., & Marechal, V. (2012) *J. Virol.*, **86**, 5314–5329.
-