

農学博士野村真康君の「リボゾーム再構成に関する研究」 に対する授賞審査要旨

リボゾームは生細胞内において蛋白質の生合成を営んでいる細胞生理学上重要な顆粒であって、リボ核酸と蛋白質からなっていることは十数年前から知られていたが、顆粒の大きさは10⁶モルのマグネシウムイオンの存在下では70S (SはSwedbergの沈降系数)の沈降速度を示すこと、マグネシウムイオンの濃度を下げると30Sと50Sの二種の顆粒に分れること、及び両粒子共に六五%のリボ核酸と三五%の蛋白質を含んでいること以外は、蛋白質の種類もその生理機能も殆ど不明であった。研究の困難な理由は、リボゾームが複雑なリボ核酸蛋白質で、その蛋白質の種類も多く、それらの分離精製が著しく困難であること、また分離したリボ核酸及び蛋白質からの活性リボゾームの再構成が出来なかったこと等である。

野村真康君は過去約一〇年間この困難な問題と取り組み、独創的で且つ精緻な研究方法を駆使して着々成果を収め、遂に30S粒子よりリボ核酸及び各構成蛋白質を分離し、且つそれらを組み合わせることによって30S粒子の再構成に成功し、それによって個々の蛋白質についてその機能・役割を明らかにする道を開くことが出来た。

野村君は先ず50S粒子及び30S粒子を塩化セシウムの溶液中で遠心分離すると両粒子は蛋白質の一部を分離して、それぞれのS及び23Sの中核顆粒(core particle)になること、また塩濃度を下げると分離した蛋白質は再び結合してよとの50S及び30Sの粒子に再構成され、蛋白質生合成能も回復することを発見した。次で野村君は研究の主力を

30S 粒子の構造と機能の解明に集中した。

大腸菌のリボゾームの 80S 粒子から 30S 粒子に変化する際に分離される蛋白質は七種類であったが、30S 粒子には更に多種類の蛋白質が結合していることを知った。七種類の蛋白質をカラムクロマトグラフィーによってそれぞれ分離し、その一種類ずつを除いて 16S の core particle に加えた場合に 30S 粒子が構成されるか否かを調べた結果、三種類の蛋白質は再構成に不可欠でその一種類を欠いても再構成は起らないこと、他の四種の蛋白質はその中一種を欠いた場合には、再構成は起るが活性は再現されないか、或いは再現されても不完全であった。そして全活性を示すには七種の蛋白質全部が必要であることを知った。

次いで 30S 粒子をフェノールで処理すると全部の蛋白質が離れて 16S の RNA を分離することが出来た。また前に述べた方法で得た 23S の core particle を塩化リシウムと尿素を含む溶液で処理することで 16S の RNA と蛋白質 (core protein) に分離することが出来、この core protein も十余種類に分離することに成功した。次に 16S の RNA と core protein を再結合せしめる研究を行い、従来の常識とは異なって、温度を四〇度近くに上げること、〇、三七という高いイオン強度の下ではじめて再構成が行われることを発見した。こうして再構成の条件が明らかになった後は、二一種の蛋白質は 30S 粒子から直接分離したのもでも 16S の RNA と最適条件下で混合することにより、30S 粒子を再構成することが可能になった。こうして再構成された粒子は蛋白質合成能をもっている。

上述のようにして 30S 粒子の再構成が可能になったので野村君等の研究はその各成分蛋白質のそれぞれの機能を

究明することに向けられた。

先ず 16S RNA の特異性の問題であるが、大腸菌のリボゾームの 50S 粒子から得られる 23S RNA を酵母のリボゾームからとった 16S RNA は大腸菌の 16S RNA の代りにはならぬが、*Azotobacter vinelandii* や *Bac. Stearothermophilus* の 16S RNA は大腸菌のリボゾームの 30S 粒子からとった蛋白質と結合して生理活性のある 30S 粒子を形成することを認めた。また逆の組み合わせで六活性のある 30S 粒子を構成出来るので 16S RNA は類似のバクテリアではよく似た構造と機能をもっていることが推定された。

30S 粒子の蛋白質については二一種類の蛋白質を分離することに成功したので、各蛋白質についてその機能を検べることが可能になった。例えば大腸菌においてはストレプトマイシンに敏感な菌と耐性菌とについて比較すると、30S 粒子中の P_{10} と命名された蛋白質によって耐性の有無が決定されることがわかった。即ちリボゾームの 30S 粒子による試験管内での蛋白質合成が感受性の菌からとったリボゾームではストレプトマイシンによって阻害されるが、耐性菌のリボゾームでは阻害されないという事実を利用し、30S 粒子の再構成に際して両種の菌から得られる P_{10} の蛋白質だけを交換するとストレプトマイシンに対する感受性と耐性が互に変化することをたしかめた。この事実は分子遺伝学上極めて注目すべきことである。

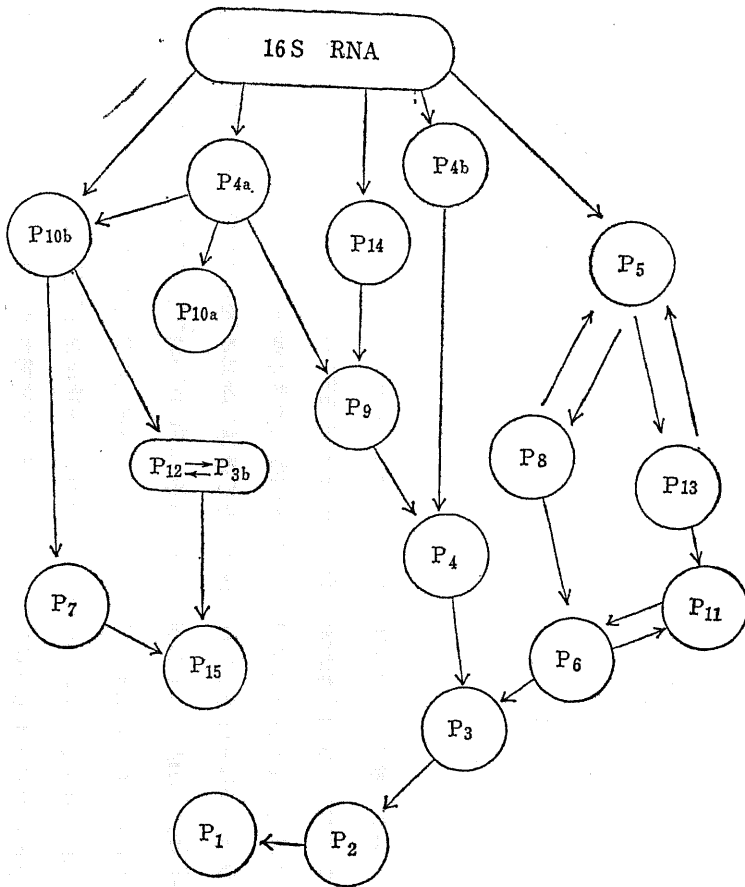
また P_{4a} , P_{4b} , P_5 , P_8 及び P_9 と命名された蛋白質は何れの一種を欠いても 30S 粒子の再構成は起らず、 P_3 , P_4 , P_6 , P_7 , P_{11} , P_{13} 等の蛋白質は何れか一種を欠くと 30S よりも多少小さい粒子をつくるが、その粒子は活性を示さぬ。 P_2 , P_{10a} , P_{10b} , P_{12} , P_{14} , P_{15} 等の蛋白質は一種を欠いても活性ある粒子を形成するが、その活性は種々

の点で本来のものとは異なっているので、その性質を利用して各成分の機能を検べることが出来る。

また野村君はリボゾーム粒子の再構成には四〇度C附近の温度が最適であることから考え、低温に対して感受性の強い菌種にはリボゾーム生成能が害されている変異種があるのではないかと推定し、二〇度Cでは増殖出来ないが四〇度Cでは増殖する変異種を選び出し、多くのリボゾーム形成能変異種を見出すことが出来た。例えばSAD-38と命名された変異種は二〇度Cでは21Sと32Sの粒子をつくるのみで、30S及び50Sの完全な粒子をつくることが出来ないで、蛋白質の生合成を行ない得ないのである。これらの事実は今後リボゾームの研究に遺伝学的手法を導入することを可能にしたものであって今後分子生物学への寄与は更に大きく期待される。

更に野村君とその共同研究者等は16S RNAと二二種の構成蛋白質から30S粒子がどのようにして構成されるかという最も困難な問題に着手した。16S RNAに分離された蛋白質を順次加えて生成する粒子とその生理的活性を逐一検べるといふ丹念な研究を繰り返えし、各蛋白質は総てが16S RNAに直接結合するものでなく、蛋白質相互の間にも種々の程度に相互作用のあることが明らかにされた。その関係はおよそ次図のように模式的に表わすことが出来た。

以上述べたように野村君は生細胞で蛋白質の生合成を行なっているリボゾームの構造と機能という極めて困難な課題と取り組み、その分解と再構成の方法を完成し、更に遺伝学的方法をもリボゾームの研究に導入し、分子生物学の分野に画期的進歩をもたらしたものである。この研究は従来多くの人々が研究を試みながら成功しなかったもので、野村君は自ら発見した現象から出発して種々の独創的な手法を開発し、この難問題の解決を大きく前進せしめると同



リボゾームの 30S 粒子における 16S RNA と蛋白質
 とが集合するための相関関係を示す模式図。
 矢印は相互作用の方向を示す。また↔は特に強い相互作用
 のあることを示している。

時を將來更に広範囲な研究を進める道を開いたものといふべきであらう。その業績は國際的にも極めて高く評価されるべきである。その他の微生物化学的問題についても多くの研究を発表している。

1' 田原 久雄 博士

I. Papers before finishing Ph. D.

1. M. Nomura: The Decomposition of L-(+)-tartarate by the Microorganism. Part 1. J. Agr. Chem. Soc., Japan, 27, 46-50 (1953).
2. M. Nomura: The Decomposition of L-(+)-tartarate by the Microorganism. Part 2. On the Anaerobic Decomposition of L-tartarate in the Presence of Radioactive Bicarbonate. J. Agr. Chem. Soc., Japan, 27, 554-558 (1953).
3. M. Nomura: The Decomposition of L-(+)-tartarate by the Microorganism. Part 3. On the Anaerobic Metabolism of Phosphoglycerate and Oxalacetate as a Possible Intermediate in the Anaerobic Decomposition of Tartarate by *Pseudomonas incognita* Strain 3L. J. Agr. Chem. Soc., Japan, 27, 860-866 (1953).
4. M. Nomura, H. Takahashi and K. Sakaguchi: Ethylene oxide- α , β -dicarboxylic Acid (Fumaricglycidic Acid) Production by Microbes. Part 6. The Fermentation by *Monilia formosa* in the Presence of Radioactive Carbon Dioxide. J. Agr. Chem. Soc. Japan, 28, 376-382 (1954).
5. M. Nomura and J. Hosoda: Action of an Autolytic Enzyme of *Bacillus subtilis* on the Cell Wall. Nature, 177, 1037 (1956).
6. M. Nomura and J. Hosoda: Nature of the Primary Action of the Autolysin of *Bacillus subtilis*. J. Bact., 72, 573-581 (1956).
7. M. Nomura, B. Maruo and S. Akabori: Studies on Amylase Formation by *Bacillus subtilis*. 1. Effect

- of High Concentration of Polyethylene Glycol on Amylase Formation by *Bacillus subtilis*. J. Biochem., Japan, **43**, 143-152 (1956).
8. M. Nomura and H. Yoshikawa: Stimulation of Amylase Formation by a Ribonucleic Acid Preparation from *Bacillus subtilis*. Biochim. Biophys. Acta, **31**, 125-134 (1959).
 - 9a. S. Nishimura and M. Nomura: Ribonuclease of *Bacillus subtilis*. Biochim. Biophys. Acta, **30**, 430-431 (1958).
 - 9b. T. Wada, M. Nomura, H. Mitsui, B. Marnu, H. Tamiya and S. Akabori: Biosynthesis of C¹⁴-Labeled Amino Acids by *Chlorella Ellipsoidae*. J. Gen. Appl. Microbiol., Vol.1, No.2, 142-151 (1955).
- II. Papers during the Postdoctoral Training.
10. M. Nomura and J. D. Watson: Ribonucleoprotein Particles within Chloromycetin-Inhibited *Escherichia coli*. J. Mol. Biol., **1**, 204-217 (1959).
 11. M. Nomura, Benjamin D. Hall and S. Spiegelman: Characterization of RNA Synthesized in *Escherichia coli* after Bacteriophage T2 Infection. J. Mol. Biol., **2**, 306-326 (1960).
 12. M. Nomura and S. Benzer: The Nature of the "Deletion" Mutants in the rII Region of Phage T4. J. Mol. Biol., **3**, 684-692 (1961).
 13. M. Nomura: DNA Synthesized in *Escherichia coli* K12 (λ) after Infection with an rII Mutant of Bacteriophage T4. Virology, **14**, 164-166 (1961).
- III. Papers after taking the Assistant Professorship.
14. M. Nomura, K. Okamoto and K. Asano: RNA Metabolism in *Escherichia coli* Infected with Bacteriophage T4: Inhibition of Host Ribosomal and Soluble RNA Synthesis by Phage and Effect of Chloromycetin. J. Mol. Biol., **4**, 376-387 (1962).

15. C. G. Kurland, M. Nomura and J. D. Watson: The Physical Properties of the Chloromycetin Particles. *J. Mol. Biol.*, **4**, 388-394 (1962).
16. M. Nomura and M. Nakamura: Reversibility of Inhibition of Nucleic Acid and Protein Synthesis by Colicin K. *Biochem. & Biophys. Research Comm.*, **7**, 306-309 (1962).
17. K. Okamoto, Y. Sugino and M. Nomura: Synthesis and Turnover of Phage Messenger RNA in *E. coli* Infected with Bacteriophage T4 in the Presence of Chloromycetin. *J. Mol. Biol.*, **5**, 527-534 (1962).
18. M. Nomura, K. Matsubara, K. Okamoto and R. Fujimura: Inhibition of Host Nucleic Acid and Protein Synthesis by Bacteriophage T4: Its Relation to the Physical and Functional Integrity of Host Chromosomes. *J. Mol. Biol.*, **5**, 535-549 (1962).
19. M. Nomura: Mode of Action of Colicines. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **28**, 315-324 (1963).
20. M. Meselson, M. Nomura, S. Brenner, C. Davern and D. Schlessinger: Conservation of Ribosomes during Bacterial Growth. *J. Mol. Biol.*, **9**, 696-711 (1964).
21. K. Hosokawa and M. Nomura: Incomplete Ribosomes Produced in Chloramphenicol- and Puromycin-inhibited *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.*, **12**, 225-241 (1965).
22. M. Nomura and I. Hosokawa: Biosynthesis of Ribosomes: Rate of Choramphenical Particles and of Pulse-labeled RNA in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.*, **12**, 242-265 (1965).
23. M. Nomura: Mechanism of Action of Colicines. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **52**, 1514-1521 (1964).
24. M. Kohiyama and M. Nomura: DNA Synthesis and Induction of Colicine E2 as Studied with a Temperature-Sensitive Mutant of Colicinogenic *E. coli* Strain. In "Symposium on Bacteriocine", Zentr. Bakteriolog. Parasitenk., **196**, 211-215 (1965).

25. M. Nomura and A. Maeda: Mechanism of Action of Colicines. In "Symposium on Bacteriocine", Zentr. Bakteriol. Parasitenk., 196, 216-239 (1965).
26. A. Maeda and M. Nomura: Interaction of Colicines with Bacterial Cells. I. Studies with Radioactive Colicines. J. Bact., 91, 685-(1966).
27. M. Strobel and M. Nomura: Restriction of the Growth of Bacteriophage BF23 by Colicine I (Col I-P9) Factor. Virology, 28, 763-764 (1966).
28. M. Nomura, C. Witten, N. Mantei and H. Echols: Inhibition of Host Nucleic Acid Synthesis by Bacteriophage T4: Effect of Chloramphenicol at Various Multiplicities of Infection. J. Mol. Biol., 17, 273-278 (1966).
29. K. Hosokawa, R. K. Fujimura and M. Nomura: Reconstitution of Functionally Active Ribosomes from Inactive Subparticles and Proteins. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 55, 198-204 (1966).
30. P. Traub, K. Hosokawa and M. Nomura: Streptomycin Sensitivity and the Structural Components of the 30S Ribosomes of *Escherichia coli*. J. Mol. Biol., 19, 211-214 (1966).
31. P. Traub, M. Nomura and L. Tu: Physical and Functional Heterogeneity of Ribosomal Proteins. J. Mol. Biol., 19, 215-218 (1966).
32. M. Nomura and P. Traub: Structure and Function of Ribosomes and Subribosomal Particles. Proc., Symp. on Organizational Biosynthesis, edited by H. J. Vogel, J. O. Lampen and V. Bryson, Academic Press, N. Y., p. 459 (1967).
33. J. Konisky and M. Nomura: Interaction of Colicins with Bacterial Cells II. Specific Alteration of *Escherichia coli* Ribosomes Induced by Colicin E3 *in vivo*. J. Mol. Biol., 26, 181-195 (1967).
34. M. Nomura: Colicins and Related Bacteriocins. Ann. Rev. Microbiol., 21, 257-284 (1967).

35. M. Nomura and C.V. Lowry: Phage f2 RNA-directed Binding of Formylmethionyl-tRNA to Ribosomes and the Role of 30S Ribosomal Subunits in Initiation of Protein Synthesis. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **58**, 946-953 (1967).
36. M. Nomura, C. V. Lowry and C. Guthrie: The Initiation of Protein Synthesis: Joining of the 50S Ribosomal Subunit to the Initiation Complex. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **58**, 1487-1493 (1967).
37. M. Nomura: Colicins. In "Antibiotics, I. Mode of Action", edited by David Gottlieb and Paul D. Shaw, Springer-Verlag, Berlin, pp.696-704 (1967).
38. M. Nomura and C. Witten: Interaction of Colicins with Bacterial Cells. III. Colicin-tolerant Mutations in *Escherichia coli*. J. Act., **94**, 1093-1111 (1967).
39. R. Levisohn, J. Konisky and M. Nomura: Interaction of Colicins with Bacterial Cells IV. Immunity Breakdown Studied with Colicins Ia and Ib. J. Bact., **96**, 811-821 (1968).
40. P. Traub and M. Nomura: Structure and Function of *Escherichia coli* Ribosomes I. Partial Fractionation of the Functionally Active Ribosomal Proteins and Reconstitution of Artificial Subribosomal Particles. J. Mol. Biol., **34**, 575-593 (1968).
41. P. Traub, D. Söll and M. Nomura: Structure and Function of *Escherichia coli* II. Translational Fidelity and Efficiency in Protein Synthesis of a Protein-deficient Subribosomal Particle. J. Mol. Biol., **34**, 595-608 (1968).
42. M. Nomura and P. Traub: Structure and Function of *Escherichia coli* Ribosomes III. Stoichiometry and Rate of the Reconstitution of Ribosomes from Subribosomal Particles and Split Proteins. J. Mol. Biol., **34**, 609-619 (1968).
43. P. Traub, K. Hosokawa, G.R. Craven and M. Nomura: Structure and Function of *E. coli* Ribosomes,

- IV. Isolation and Characterization of Functionally Active Ribosomal Proteins. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **58**, 2430-2436 (1967).
44. M. Nomura: The Role of 30S Ribosomal Subunits in Initiation of Protein Synthesis. In "4. Wissenschaftliche Konferenz der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte", Berlin, 1967. Springer-Verlag, N.Y., pp.50-58 (1968).
45. P. Traub and M. Nomura: Structure and Function of Ribosomes: Studies on Dissociation and Reconstitution of Ribosomal Particles. In "4. Wissenschaftliche Konferenz der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte", Berlin, 1967. Springer-Verlag, N.Y., pp.59-68 (1968).
46. P. Traub and M. Nomura: Structure and Function of *E. coli* Ribosomes, V. Reconstitution of Functionally Active 30S Ribosomal Particles from RNA and Proteins. Proc. Nat. Acad. Sci, USA, **59**, 777-784 (1968).
47. P. Traub and M. Nomura: Streptomycin Resistance Mutation in *Escherichia coli*: Altered Ribosomal Protein. Science, **160**, 198-199 (1968).
48. M. Nomura, P. Traub and H. Bechmann: Hybrid 30S Ribosomal Particles Reconstituted from Components of Different Bacterial Origins. Nature, **219**, 793-799 (1968).
49. C. Guthrie and M. Nomura: Initiation of Protein Synthesis, A Critical Test of the 30S Subunit Model. Nature, **219**, 232-235 (1968).
50. P. Traub and M. Nomura: Structure and Function of *Escherichia coli* Ribosomes, V. Mechanism of Assembly of 30S Ribosomes Studied in vitro. J. Mol. Biol., **40**, 391-413 (1969).
51. M. Ozaki, S. Mizushima and M. Nomura: Identification and Functional Characterization of the Protein Controlled by the Streptomycin-resistance Locus in *E. coli*. Nature, **222**, 333-339(1969). (This paper

also Structure and Function of *E. coli* Ribosomes, VII)

52. C. Guthrie, H. Nashimoto and M. Nomura: Structure and Function of *E. coli* Ribosomes. VIII. Cold Sensitive Mutants Defective in Ribosome Assembly. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **63**, 384-391 (1969).
53. M. Nomura, S. Mizushima, M. Ozaki, P. Traub and C.V. Lowry: Structure and Function of Ribosome and their Molecular Components. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **34**, 49-61 (1969).
54. P. Traub and M. Nomura: Studies on the Assembly of Ribosomes *in vitro*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **34**, 63-67 (1969).
55. C. Guthrie, H. Nashimoto and M. Nomura: Studies on the Assembly of Ribosomes *in vivo*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **34**, 69-75 (1969).
56. M. Nomura, P. Traub, C. Guthrie and H. Nashimoto: The Assembly of Ribosomes. J. Cell. Physio., **74**, 241-251 (1969).
57. A. Bollen, J. Davies, M. Ozaki and S. Mizushima: Ribosomal Protein Confering Sensitivity to the Antibiotic Spectinomycin in *Escherichia coli*. Science, **165**, 85-86 (1969).
58. M. Nomura: Ribosomes. Scientific American, **221**, 28-35 (1969).
59. S. Mizushima and M. Nomura: Assembly Mapping of 30S Ribosomal Proteins from *E. coli*. Nature, **226**, 1214-1218 (1970).
60. M. Nomura: The Bacterial Ribosome. Bact. Rev., **34**, 228-277 (1970).
61. M. Nomura and V.A. Erdmann: Reconstitution of 50S Ribosomal Subunits from Dissociated Molecular Components. Nature, **228**, 744-748 (1970). (This paper also Structure and Function of *E. coli* Ribosomes, X)
62. H. Nashimoto and M. Nomura: Structure and Function of Bacterial Ribosomes XI. Dependence of 50S

Ribosomal Assembly on Simultaneous Assembly of 30S Subunits. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **67**, 1440-1447 (1970).

63. M. Nomura: The Assembly of Ribosomes. FEBS Symposium, **21**, 57-60 (1970).
64. M. Nomura: Assembly of Ribosomes. In "The Neurosciences Second Study Program", edited by Francis O. Schmitt, The Rockefeller University Press, N.Y., pp. 913-920 (1970).
65. C.M. Bowman, J.E. Dahlberg, T. Ikemura, J. Konisky and M. Nomura: Specific Inactivation of 16S Ribosomal RNA Induced by Colicin E3 *in vivo*. Proc. Nat. Acad. Sci., **68**, 964 (1971).
66. P. Traub, S. Mizushima, C.V. Lowry and M. Nomura: Reconstitution of Ribosomes from Subribosomal Components. In "Methods in Enzymology, Vol. XX, Part C, pp.391-407, Academic Press (1971)(Edited by Kivie Moldave and Lawrence Grossman).
67. C.V. Lowry and J.E. Dahlberg: Structural Differences between the 16S Ribosomal RNA of *E. coli* and its Precursor. Nature (New Biology) **232**, 52 (1971).