

2005G291 高度好熱菌リボソーム複合体の結晶構造解析

○上西達也¹, 川添将仁¹, 竹本千重¹, 齋藤由美¹, 関根俊一², 白水美香子¹, Daniel N. Wilson³, Paola Fucini³, 横山茂之^{1,2}
¹理研 ゲノム科学総合研究センター, ²東大・院理・生化
³マックス・プランク分子遺伝学研究所

Era は、真性細菌および真核生物で普遍的に保存されている GTPase であり、代謝や細胞周期および染色体の分配に関与する一方で、リボソームの小(30S)サブユニットに結合し、そのアセンブリの過程で働くと考えられている。しかし、GTPase の活性発現の分子生物学的な解析や、30S サブユニット上での結合部位や結合様式は不明であった。そこで我々は、まず高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 Era の組み換えタンパク質を精製し、その GTPase が 30S サブユニットの存在下で亢進されることを見出した。次に、GTP の非水解アナログである GMPPNP との複合体の結晶構造を決定したところ、既に報告されている大腸菌ホモログのアポ体とは異なり、N 端の GTP 結合ドメイン(G ドメイン)のスイッチ領域が、C 端の K-homology (KH)ドメインの2本の α ヘリックスと、ヌクレオチドの結合を介して緊密に相互作用し、安定なコアを形成していることが明らかになった。一方、KHドメインの RNA 結合モチーフは、Gドメインとの接触面とは異なる側に露出していた。そこで、30S サブユニットと Era の GDP 存在下での複合体について、クライオ電子顕微鏡像を共同研究で解析したところ、Era がこのモチーフを介して、30S サブユニットを構成する 16S リボソーム RNA に結合することが示唆された。さらに、GTP 型の構造のモデリングから、Era の GTPase 活性を促進するリボソームタンパク質の候補として、S2 や S18 が挙げられた。このことは、30S サブユニットのアセンブリの過程で、Era がこれらのタンパク質の 30S サブユニット前駆体への結合を検知し、正常なアセンブリを保証している可能性を示唆する。そこで我々は、より詳細な構造解析を目指し、30S サブユニットと Era の複合体の共結晶を GMPPNP 存在下で作製した。現在、Photon Factory の BL-5A や NW12A を始めとしたビームラインでX線回折実験を行っており、約5 Åの反射を得ているので報告する。