

## 29【P1】 I -073

クライオ電子顕微鏡によるリボソーム-RRF 複合体の立体構造解析

○加藤 貴之<sup>1</sup>, 米倉 功治<sup>2,3</sup>, 松尾 瞳<sup>1</sup>, 山崎 誠人<sup>1</sup>, 吉田 卓也<sup>1</sup>, 大久保 忠恭<sup>1</sup>, 難波 啓一<sup>2,3</sup>, 小林 祐次<sup>1</sup> (1大阪大院薬, 2大阪大院生命機能, 3ICORP・JST)

【目的】リボソーム再生因子 (RRF) は蛋白質合成の最終段階である“リボソーム再生”に必須の蛋白質である。これまでに様々な菌種由来の RRF の立体構造解析が X 線結晶構造解析及び NMR により行われており、その結果 $\alpha$ -ヘリックスからなるドメイン I と $\beta$ -シートに富むドメイン II で構成されていることが明らかにされている。また 2 つのドメインは L 字型に配置しており、tRNA 類似の立体構造であった。その構造的類似性をもとに、RRF は機能的にも tRNA と同様リボソームの A サイトに結合して P サイトの tRNA を遊離させるモデルが提唱されているが、われわれの行ったフィルターバインディング等の結果からこのモデルの妥当性が疑問視されている。そこで本研究ではリボソーム上での RRF の結合様式を直接明らかにすることを目的にクライオ電子顕微鏡法により立体構造解析を行った。

【実験・結果】リボソーム単体およびリボソーム-RRF 複合体溶液をカーボングリッドにアプライし、液体エタンで急速凍結することで観察用試料を作成した。液体窒素温度にて倍率 5 万倍の電子顕微鏡像を撮影し、プログラム EMAN を用いて単粒子解析による三次元再構成を行った。リボソーム単体は約 4000 枚、複合体は約 9000 枚の像から分解能 20 Å、27 Å の密度マップを得た。得られた複合体および単体の密度マップの差を求めることで RRF の結合位置を同定した。その結果 RRF はリボソーム内部、30S と 50S サブユニット間に位置しており、ドメイン I は 50S サブユニットの A サイト、P サイトと同時に結合し、ドメイン II は A サイト近傍に位置し、外側を向いていた。これはこれまでに行われた生化学的実験結果や、hydroxyl radical cleavage によるマッピングの結果とよく一致しており、RRF は tRNA とは異なる様式でリボソームと結合していることが明らかとなった。