

核磁気共鳴法を用いた RimM タンパク質の構造と相互作用解析

川添将仁<sup>1</sup>、鈴木咲良<sup>1</sup>、龍口文子<sup>1</sup>、松本英子<sup>1</sup>、上西達也<sup>1</sup>、白水美香子<sup>1</sup>、  
武藤裕<sup>1</sup>、竹本千重<sup>1</sup>、横山茂之<sup>1,2</sup>

Kawazoe M<sup>1</sup>, Suzuki S<sup>1</sup>, Tatsuguchi A<sup>1</sup>, Matsumoto E<sup>1</sup>, Kaminishi T<sup>1</sup>, Shirouzu M<sup>1</sup>,  
Muto Y<sup>1</sup>, Takemoto C<sup>1</sup>, Yokoyama S<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>理研・ゲノム科学総合研究センター, <sup>2</sup>東大院・理)

(<sup>1</sup>RIKEN GSC, <sup>2</sup>Dept. Biophys. Biochem., Grad. Sch. Sci. Tokyo Univ.)

e-mail: [mkawazoe@gsc.riken.jp](mailto:mkawazoe@gsc.riken.jp)

RimM は、2つのリボソームタンパク質(*rps16*, *rpl19*)と tRNA の修飾酵素(*trmD*)と共に、原核生物で広く保存されている *trmD* オペロンにコードされている。原核生物リボソーム小サブユニット (30S) の構成成分 16S ribosomal RNA (rRNA) は、前駆体である 17S RNA を経て産生される (図 1)。RimM が 30S に結合することと、大腸菌の RimM 欠損株では、17S RNA が蓄積することから、RimM は 16S rRNA の成熟に関与していると考えられている。さらに近年、RimM 欠損株の suppressor 変異が 30S の立体構造上特定の部位 (head 領域) に集まっており、そこに含まれるリボソームタンパク質 S19 と結合する事が示され、RimM が 30S の成熟において重要な役割を果たしていることが示唆された(1)。しかし、その相互作用部位などの詳細は、未だ何もわかっていない。我々は、30S の成熟における RimM の作用機序解明を目指して、RimM の構造解析に着手した。

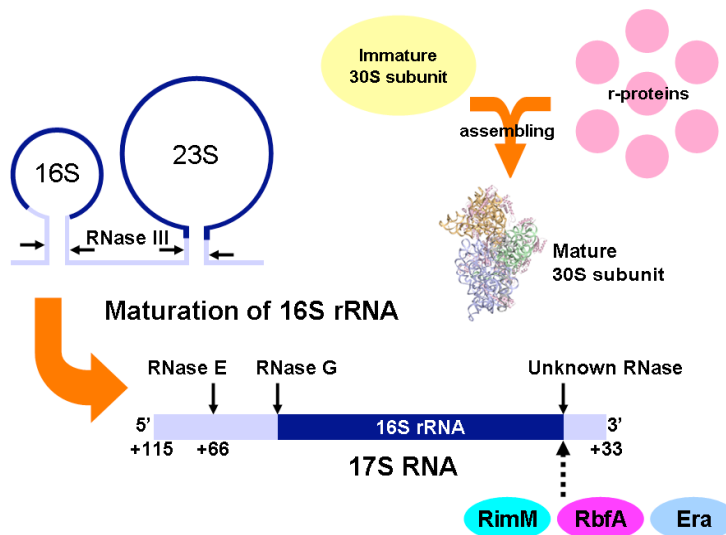


図 1、30S リボソームサブユニットの成熟過程

まず、高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 由来の RimM (162 残基) の核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを測定し、構造解析を行った(2)。その結果、全長の約半分に相当する C 末端側が、3 次元的に一意な構造をとっていないことがわかった。

そこで、構造計算の精度をあげるために N 末端側領域 1-83 および 1-85 残基の 2 つのコンストラクトを試したところ、1-85 残基の方が安定かつ大量に精製できたので、安定同位体 ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) で標識した サンプル を作製し、構造解析を行った。1-80 残基は、6 本の  $\beta$ -sheet が  $\beta 1$ - $\beta 2$ - $\beta 5$ - $\beta 4$ - $\beta 3$ - $\beta 6$ - $\beta 1$  の順で並んだ  $\beta$  バレル構造であり、全長と N 末端側領域の立体構造において単独のドメインを形成していた (RimM N 末端ドメイン; Pfam entry: PF01782)。このドメインは reductase/isomerase/elongation-factor fold (SCOP: 50412) に属し、代表的な例では翻訳伸長因子 EF-G や EF-Tu のドメイン II が挙げられる。さらに、バレル構造の上下には、RimM に特徴的な 2 本の  $\alpha$ -helix が配置されていた。次に、S19 の存在が RimM の構造に与える影響を観察するために、全長の RimM に S19 を徐々に添加した時のシグナルの変化の観測を試みた。しかし、S19 を添加すると複合体形成となって沈殿してしまい、NMR シグナルの観測ができなかった。そこで、あらかじめ RimM-S19 複合体を共精製し、NMR 測定を行った。化学シフトの変化が観測された領域は、S19 との相互作用に直接関与しているか、S19 との複合体形成によって構造変化が引き起こされていると考えられる。

## References

- (1) Lovgren JM., et al. The PRC-barrel domain of the ribosome maturation protein RimM mediates binding to ribosomal protein S19 in the 30S subunits. (2004) *RNA* **10**, 1798-1812.
- (2) Suzuki S., et al. Structural characterization of the ribosome maturation protein, RimM (2007) *J. Bacteriology*