

枯草菌の鉄硫黄クラスター生合成マシナリーの 硫黄転移酵素複合体 SufS-SufU の X 線結晶構造解析

X-ray crystal structure analysis of sulfur-transferring SufS-SufU complex involved in iron-sulfur cluster biogenesis in *Bacillus subtilis*

藤城貴史^{1,*}, 高橋康弘^{1,**}

¹埼玉大学, 〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

Takashi FUJISHIRO^{1,*} and Yasuhiro TAKAHASHI^{1,**}

¹Saitama University, 255 Shimo-ohkubo, Sakura-ku, Saitama, 338-8570, Japan

1 はじめに

鉄硫黄クラスターは、鉄と無機硫黄から成る必須金属コファクターである。生体内では鉄硫黄クラスター生合成マシナリーと呼ばれる酵素群によって生合成されている。現在までに、3種の生合成マシナリーが同定され、それぞれ ISC、SUF、NIF マシナリーと呼ばれている。近年、枯草菌などのグラム陽性細菌において、ISC と SUF のキメラ型である鉄硫黄クラスター生合成マシナリー (SUF-like マシナリー) が同定され注目を集めている。この SUF-like マシナリーは、SUF マシナリーの構成成分 (SufB, SufC, SufD, SufS) と ISC マシナリーの構成成分 IscU のホモログである SufU の5種類のタンパク質から構成される。SUF-like マシナリーに特徴的なタンパク質である SufU は、IscU と相同だが、その機能や補因子は異なり、SufU が Zn を持ち硫黄転移に関与する一方、IscU は鉄硫黄クラスター生合成の足場タンパク質として機能することが報告されてきた。しかしながら、なぜ SufU と IscU と異なる機能を持つのか、またどのように SufU が SufS と協調して、鉄硫黄クラスターの材料となる無機硫黄を獲得/運搬するのか、その分子メカニズムは明らかとされていなかった。そこで、本研究では、SufS-SufU 複合体、および、その硫黄転移反応中間体の X 線結晶構造解析を行い、SufS-SufU の硫黄転移反応の分子メカニズムの解明を行った。

2 実験

枯草菌 SufS と SufU は大腸菌組換え体として大量発現、精製し、SufS:SufU=1:1 で混合して SufS-SufU 複合体を調整した。シッティングドロップ蒸気拡散法により結晶化を行い、得られた結晶の X 線回折実験は、AR-NE3A で、Zn の異常分散を示す波長 (1.282 Å) で行った。SufS および、SufU 単体を search model とした分子置換法により位相決定を行い、coot と refmac5、Phenix により構造精密化を行った。

3 結果および考察

SufS-SufU 複合体は分解能 2.3 Å で構造決定に成功し、1 非対称単位あたり SufS 2 分子、SufU 2 分子の (SufS)₂-(SufU)₂ 型の複合体であった (図 1)。

SufU の亜鉛結合部位が SufS の活性部位である PLP に向けた配置で複合化し、驚くべきことに、SufU の亜鉛の配位子である Cys41 が、SufS-SufU 複合化によって SufS の His342 へと置換していた。その結果、SufU の Cys41 が SufS の PLP により近接し、SufS により基質である L-cysteine が活性化され、その無機硫黄を効率的に SufU の Cys41 へ渡せるような構造と成っていた。実際に、硫黄転移反応中間体の構造解析では、Cys41 が反応によって硫黄を受け取った Persulfide の形となっており、硫黄転移の経路、触媒機構を明らかとすることができた。

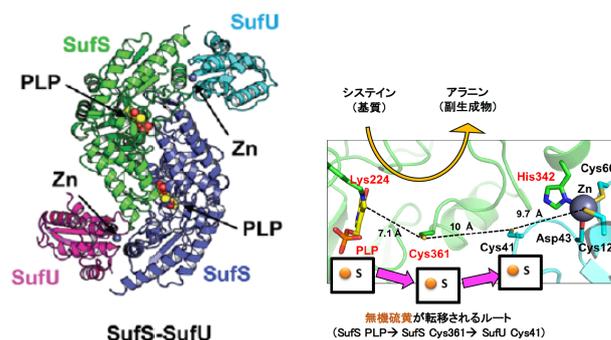


図 1 : SufS-SufU 複合体の構造と硫黄転移の経路

4 まとめ

本研究により、枯草菌の SufS-SufU 複合体による SufU の亜鉛の配位子置換をトリガーとするユニークな硫黄転移機構を分子レベルで明らかとした。

謝辞

本研究は、JSPS 若手研究(B)(17K14510 to TF)、基盤研究(B) (15H04472 to YT)、住友財団環境研究助成 (163037 to TF) のサポートにより行われました。御礼申し上げます。

参考文献

[1] T. Fujishiro, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 18464–18467 (2017).

*tfujishiro@mail.saitama-u.ac.jp

**ytaka@mail.saitama-u.ac.jp