

鉄トランスポーター三者複合体の結晶構造解析に基づいた鉄イオン認識 および鉄輸送機構の解明

Crystal structure analysis of the complex of ferric-ion ABC transporter TtFbpBC and binding protein TtFbpA

王世鵬、大塚 淳、永田 宏次、田之倉 優*

東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Shipeng Wang, Jun Ohtsuka, Koji Nagata and Masaru Tanokura

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi,
Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

細胞は細胞膜によって外界から隔てられており、外界からの刺激は細胞膜に埋め込まれた膜タンパク質により受容される。そのため、膜タンパク質は細胞外からの刺激を細胞内に伝える役割を担っており、生体にとって重要な機能をもったものが多い。

本研究では、高度好熱菌の鉄輸送タンパク質三者複合体(TtFbpA-TtFbpB-TtFbpC)を構造解析の対象とする。TtFbpB は鉄輸送体の膜貫通サブユニットであり、516 アミノ酸残基から成る分子量約 55k の 12 回膜貫通型膜タンパク質で、同じオペロン上に存在するペリプラズム側の基質結合サブユニット TtFbpA (分子量 36 k)、細胞質内の ATP 結合サブユニット TtFbpC (38 k)と複合体を形成し、ATP 結合カセット輸送体(ABC 輸送体)として機能すると推測されている。鉄輸送体の結晶構造解析はまだ報告されていない。各サブユニットごとの結晶構造解析だけでなく、TtFbpB-TtFbpC 二者複合体、TtFbpA-TtFbpB-TtFbpC 三者複合体の結晶構造を決定することにより、鉄輸送機構の解明が期待される。なお、TtFbpA-TtFbpB-TtFbpC は推定鉄輸送体として注釈がつけられているが、TtFbpA が鉄原子を結合する機能を有することを、タンパク質調製および ICP 発光分光分析法(ICP-AES)によって実証済みである。

基質結合サブユニット TtFbpA や膜貫通サブユニット TtFbpB とアミノ酸配列相同性のある遺伝子を探索したところ、植物や原核生物からは多数見つけたが、哺乳類からは見つからなかった。鉄が酸素運搬や電子伝達、エネルギー生産など、生体において極めて重要な金属原子であることを考えると、基質結合サブユニット TtFbpA および膜貫通サブユニット TtFbpB の結晶構造は抗菌剤や除草剤の開発に役立つと期待される。

2 実験

TtFbpA、TtFbpB-TtFbpC、TtFbpA-TtFbpB-TtFbpC 結晶の X 線回折実験を BL-5A, 17A, AR-NE3A, NW12A にて行った。TtFbpA native 結晶について最

高分解能 1.8 Å の X 線回折データを AR-NW12A にて収集した。

3 結果および考察

分子置換法によって TtFbpA の結晶構造を決定したところ、6 配位という新規鉄結合様式が見出された[1]。過去に報告された TtFbpA の 5 配位の鉄結合様式を考え併せると、細胞外の環境変化に応じて鉄結合様式を変える機構が存在すると推測している。

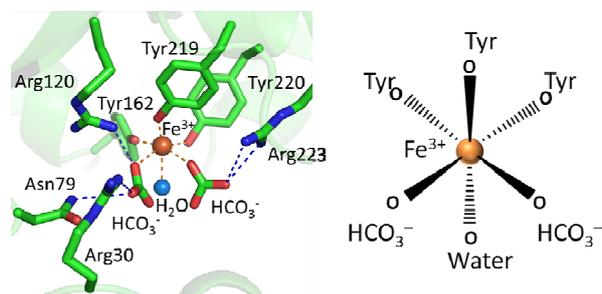


図 1 : TtFbpA による新規鉄結合様式

4 まとめ

TtFbpA の結晶構造を決定し、新規の鉄結合様式を有することを明らかにした。目標とする TtFbpA-TtFbpB-TtFbpC 複合体結晶の構造解析にはまだ結びついていないが、実験は着実に進んでいる。今後、この複合体の良質結晶を得ることに集中し、立体構造解析を成功させたい。

謝辞

Photon Factory ビームラインスタッフの皆様にお世話になりました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] S. Wang, M. Ogata, S. Horita, J. Ohtsuka, K. Nagata and M. Tanokura, *Acta Crystallogr.* **D70**, 196-202 (2014).

* amtanok@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp