

クライオ電子顕微鏡によるコレラ菌 Na⁺輸送性 NADH-ユビキノン酸化還元酵素の構造解明

Cryo-EM structures of Na⁺-pumping NADH-ubiquinone oxidoreductase from *Vibrio cholerae*

○石川 萌¹、岸川 淳一²、榎谷 貴洋¹、村井 正俊¹、北隅 優希¹、バトラー L. ニコル³、加藤 貴之²、バルケラ ブランカ³、三芳 秀人¹ (¹京大農、²阪大蛋白研、³レンセラー工科大生物科学)

○Moe ISHIKAWA¹, Jun-ichi KISHIKAWA², Takahiro MASUYA¹, Masatoshi MURAI¹, Yuki KITAZUMI¹, Nicole Butler L.³, Takayuki KATO², Blanca Barquera³, Hideto MIYOSHI¹ (¹Kyoto Univ., ²Osaka Univ., ³RPI)

Na⁺輸送性 NADH-ユビキノン酸化還元酵素 (Na⁺-NQR) は、基質の酸化還元と共役して Na⁺を輸送する膜タンパク質複合体である (図 1)。本酵素はコレラ菌などの病原性細菌の生育に必須であり、ミトコンドリアに存在する H⁺輸送性 NADH-ユビキノン酸化還元酵素 (複合体-I) とは進化的にも構造的にも全く異なるため、選択性に優れた抗菌剤の創薬標的として期待できる。コレラ菌 Na⁺-NQR の X 線結晶構造が報告されていたものの、キノンや阻害剤は共結晶化されていなかったため、分子レベルでの作用機序は未解明のままである¹。本研究では、クライオ電子顕微鏡を用いて Na⁺-NQR の精密立体構造の獲得を目指した。

その結果、阻害剤非結合型、aurachinD-42 結合型、korormicin 結合型の 3 つの構造を高解像度で取得することができた²。これにより、いくつかのコファクターについて結晶構造から得られていた情報を修正した。さらに、NqrB サブユニットの N 末端領域に結合した阻害剤を精密にモデル化できた。この結合モデルは、阻害剤プローブを用いた我々の化学修飾実験の結果を完全に支持した。

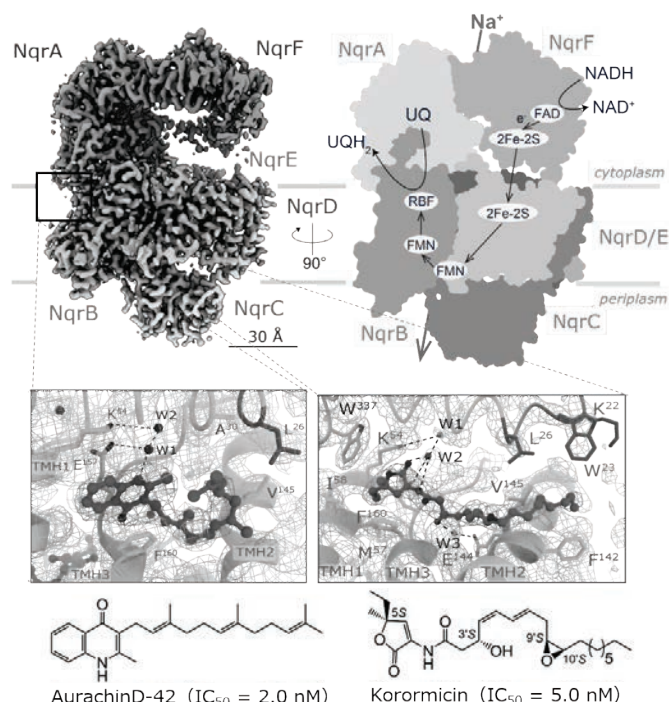


図 1. Na⁺-NQR の cryo-EM 構造と阻害剤結合形式

The Na⁺-pumping NADH-ubiquinone (UQ) oxidoreductase (Na⁺-NQR) couples electron transfer from NADH to UQ with Na⁺-pumping, playing an essential role in energy consumption of pathogenic bacteria. Here, we present high-resolution (2.5–3.1 Å) structures of *V. cholerae* Na⁺-NQR in three different conditions determined by single-particle cryo-electron microscopy (EM) with or without bound inhibitors. The structures allowed us to correct the information about several cofactors, which were obtained by the X-ray structure. Moreover, the two different inhibitors bound to the N-terminal region of the NqrB subunit could be fully modeled. The inhibitor-bound structures corroborated our previous findings obtained by different chemistry-based experiments.

1. Steuber et al. (2014) *Nature* 526, 62-68. 2. Kishikawa, Ishikawa, Masuya et al. (2022) *Nat. Commun.* 13, 40822.

Na⁺-NQR, Cryo-EM, inhibitor

発表責任者：石川萌 (ishikawa.moe.83u@st.kyoto-u.ac.jp)