

講演番号：2E32a09

講演日時、会場：3月27日 10:38～ E 校舎 32 会場

基質結合タンパク質依存的 ABC トランスポーターによる多糖認識

Polysaccharide recognition by bacterial solute-binding protein dependent ABC transporter

○丸山 如江¹、立石 彬¹、金子 あい²、三上 文三²、橋本 渉²、村田 幸作¹ (¹摂南大理工、²京大院農)

○ Yukie MARUYAMA¹, Akira TATEISHI¹, Ai KANEKO², Bunzo MIKAMI², Wataru HASHIMOTO², Kousaku MURATA¹ (¹Setsunan Univ., ²Kyoto Univ.)

【背景と目的】アルギン酸は2種類のウロン酸 (β -D-マンヌロン酸、 α -L-グルロン酸) からなる直鎖型多糖であり、近年褐藻由来アルギン酸はバイオ燃料の原料として注目されている。アルギン酸資化性のグラム陰性 *Sphingomonas* 属細菌 A1 株は、ペリプラズム局在性の基質結合タンパク質 (AlgQ1 あるいは AlgQ2: 配列同一性 75%) を介して、内膜の ABC トランスポーター (AlgM1M2SS: 4 量体) によりアルギン酸を細胞質内に取り込む。AlgM1M2 が内膜を貫通するタンパク質であり、AlgSS が ATPase 活性を示す。取り込まれたアルギン酸は細胞質内で分解、代謝される。A1 株のアルギン酸取込み機構を明らかにすることを目指し、これまでに、アルギン酸輸送 ABC トランスポーターと AlgQ2 複合体 (AlgM1M2SS/AlgQ2) の結晶構造を明らかにした。AlgQ2 の基質結合クレフトの約半分が膜貫通ドメイン AlgM2 に覆われており、その相互作用の結果、約 30 Å のトンネル構造が形成され、その奥にアルギン酸オリゴ糖が結合している。このような構造的特徴は、既知の低分子輸送型 ABC トランスポーター/基質結合タンパク質の複合体構造では見られない。そこで、「多糖を捕捉した結合タンパク質がトランスポーターへと基質を受け渡すために、トンネル構造が必要である」との仮説を検証するため、種々の鎖長のアルギン酸オリゴ糖を用いて、結合タンパク質あるいは複合体との糖結合様式を解析した。

【方法と結果】高分子アルギン酸をリアーゼ酵素で低分子化し、分解物から 7 糖を精製した。また、AlgQ1 を組換え大腸菌から精製した。アルギン酸 7 糖存在下で AlgQ1 の結晶を調製し、分解能 1.7 Å で結晶構造を決定した。AlgQ1 の N ドメインと C ドメインの間に形成されたクレフトに、マンヌロン酸 5 残基に相当する電子密度が認められた。このことから、AlgQ1 はアルギン酸 7 糖のうち、非還元末端糖から 5 糖を強く認識するサブサイト構造をもつことが明らかになった。次いで、AlgQ1、AlgQ2 (PDB ID、1J1N)、AlgM1M2SS/AlgQ2 (PDB ID、4TQU) の各結晶構造に対する種々の鎖長のアルギン酸オリゴ糖の結合様式を、ドッキングシミュレーションプログラム Autodock を用いて解析した。アルギン酸 16 糖と AlgM1M2SS/AlgQ2 との結合様式では、非還元末端側の 6 糖はトンネル構造内に位置し、7 糖目以降は、AlgQ2 と膜貫通ドメイン AlgM1 の間に形成されたクレフトに構造自由度の高い状態で存在していた。【考察】基質結合タンパク質と膜貫通ドメインとの相互作用によって生じるアルギン酸輸送系に特徴的な基質結合トンネルは、基質結合タンパク質から ABC トランスポーターへの多糖受け渡しのために重要な構造と考えられる。

Sphingomonas, alginate, ABC transporter