

Title	Structural and functional analysis of cyanobacterial IscA protein homologues : a scaffold protein involved in iron-sulfur cluster biosynthesis
Author(s)	森本, 耕造
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/80
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	もり とも こう ぞう 森 本 耕 造
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 9 2 1 5 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Structural and functional analysis of cyanobacterial IscA protein homologues –a scaffold protein involved in iron-sulfur cluster biosynthesis– (藍色細菌由来 IscA 蛋白質の構造と機能の解析—鉄硫黄クラスター生合成における「足場蛋白質」としての視点から—)
論文審査委員	(主査) 教授 長谷 俊治 (副査) 教授 月原 富武 教授 谷澤 克行 助教授 中井 正人

論 文 内 容 の 要 旨

鉄硫黄クラスターは様々な鉄硫黄蛋白質のコファクターとして、電子伝達反応・触媒反応・遺伝子発現調節等の働きに関与している。鉄硫黄クラスター生合成において、中心的役割を担っているのが足場蛋白質である。すなわち、足場蛋白質上で鉄硫黄クラスターが一過的に形成され、その鉄硫黄クラスターがさまざまなアポ型鉄硫黄蛋白質へ受け渡される。IscA 蛋白質は、CX_nCXC という進化的に保存された 3 つのシステイン残基を含む配列をもつ可溶性蛋白質で、ホモダイマー間に [2Fe-2S] 型鉄硫黄クラスターを一つ持ちうる事が報告されている。この鉄硫黄クラスターはアポ型鉄硫黄蛋白質へ転移する事が示されており、現在 IscA は鉄硫黄クラスター生合成における足場蛋白質の一つと考えられている。

一過的に形成された鉄硫黄クラスターが効率よくアポ型鉄硫黄蛋白質へ転移する、という IscA の足場蛋白質としての機能はどのような構造的基盤に基づいているのであろうか。現在までに、大腸菌由来 IscA のアポ型の結晶構造が報告されている。しかし、保存された 2 つのシステイン残基を含む C 末付近の構造が見えておらず、IscA がどのように鉄硫黄クラスターを保持するかについての構造的知見は得られていない。

藍色細菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 には IscA 蛋白質ホモログとして IscA1 と IscA2 が存在する。われわれはこれまでの研究で、IscA2 が細胞内で機能未知蛋白質 IaiH と複合体として存在することを見出した。IscA2/IaiH 複合体の [2Fe-2S] クラスターは還元剤ジチオナイトの添加に影響を受けないのに対し、IscA2 の [2Fe-2S] クラスターはジチオナイト添加により容易に壊れた。他生物種由来 IscA の鉄硫黄クラスターも還元に不安定であることが知られており、藍色細菌由来 IscA2 のホロ型は一般的な IscA 蛋白質のホロ型と同様な構造的特徴を持つと考えられる。

本研究では、好熱性藍色細菌 *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 由来 IscA2 蛋白質のホロ型の立体構造を X 線結晶解析により決定することにより、IscA が足場蛋白質として働くための構造的基盤を明らかにすることを目指した。

T. elongatus 由来 IscA2 は [2Fe-2S] 型鉄硫黄クラスターを持った状態で精製され、結晶化条件の検討を行ったところ、高塩濃度条件下で結晶化した。結晶に X 線を照射することにより得た約 2.3 Å の回折点よりホロ型 IscA2 の構造を決定した。

本研究より、*T. elongatus* 由来ホロ型 IscA2 は鉄硫黄クラスターをダイマー間に非対称に保持することが明らかとなった。鉄硫黄クラスターの一部が溶媒に露出していることや、片方の分子が構造的に不安定であることなどが、IscA が足場蛋白質として効率よく働くために重要ではないかと考えられる。

論文審査の結果の要旨

学位申請者は、非ヘム鉄と無機硫黄からなる補欠分子族をもつ蛋白質群の鉄硫黄クラスターの生合成の機構を解明することを目的に、藍色細菌由来の IscA 蛋白質の構造と機能を生化学的、構造生物学的アプローチで研究を行った。IscA はそれ自体 [2Fe-2S] クラスターを含む鉄硫黄蛋白質であり、鉄硫黄クラスターの生合成における足場蛋白質と考えられる。藍色細菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 には2種の IscA 蛋白質 (IscA1 と IscA2) が存在し、IscA2 は細胞内で別の蛋白質である IaiH と複合体を形成していること、及びこの複合体形成で IscA2 の [2Fe-2S] クラスターが安定化されることを見出した。さらに、この [2Fe-2S] クラスターの IscA2 蛋白質内での存在様式と足場蛋白質としてはたらく構造要因を明らかにするため、X線結晶構造解析により立体構造を決定した。その結果、ホロ型の IscA2 は4量体構造をとり、2量体あたり1つの [2Fe-2S] クラスターを保持していることが判明した。それに基づき溶液状態での2量体構造を提案し、IscA2 が機能している状態ではクラスターが溶媒に露出して他の蛋白質にクラスターが転移するのに適した構造をとっていることを明らかにした。これら結果は、鉄硫黄クラスターの生合成機構に新たな分子レベルの知見を加えるものである。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。