

金属イオン輸送性 P_{1B}-type ATPase の同定と機能解析**Functional characterization of metal transporting P_{1B}-type ATPase from *Thermus thermophilus* HB8**桑原直之¹, 鹿内弦¹, 小田隆¹, 橋本博¹, 中川紀子^{2,3}, 佐藤衛¹, 倉光成紀^{2,3}, 清水敏之¹Naoyuki Kuwabara¹, Gen Shikauchi¹, Takashi Oda¹, Hiroshi Hashimoto¹, NorikoNakagawa^{2,3}, Mamoru Sato¹, Seiki Kuramitsu^{2,3}, Toshiyuki Shimizu¹(¹ 横浜市大・国際総合, ² 阪大・院理, ³ 理研・播磨研)(¹ Int. Grad. Sch. of Arts and Sci., Yokohama city univ., ² Dept. Biol. Sci., Osaka Univ.,³ RIKEN Harima Inst. /SP-ring 8 Center.)

e-mail: kuwanao@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp

銅、亜鉛、鉄などの金属イオンは電子伝達系など多くの酵素で活性に必須な因子であるが、細胞内に高濃度存在すると毒性を示す。そのため細胞は細胞内金属イオン濃度を厳密に制御しなければならない。P_{1B}-type ATPase は重金属イオン (Cu⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺) を細胞内外へ輸送する P-type ATPase のサブファミリーであり、細胞内金属イオン濃度制御に重要な役割を持っている膜タンパク質である。これら膜タンパク質は細菌、古細菌、高等動植物に至るまで広く存在し、ヒトにおいては Menkes 病、Wilson 病の原因遺伝子として ATP7A、ATP7B が知られている。P_{1B}-type ATPase は膜貫通領域内以外に基質結合能を持つ細胞質ドメインを持つことや膜貫通領域の構造が他の P-type ATPase と異なるという特徴を持つ。Ca²⁺-ATPase、Na⁺/K⁺-ATPase などの P₂-type ATPase は非常によく研究がなされているが、P_{1B}-type ATPase では未解明な部分が多い。そこで我々は *Thermus thermophilus* HB8 に存在する P_{1B}-type ATPase を用い、その構造機能相関に注目して研究を行っている。*T. thermophilus* HB8 には 3 つの P_{1B}-type ATPase が存在すると一次配列から推定されている。今回そのうち TTHA1733 (TtCopB) に注目し、その基質特異性、生化学的性質を調べた。

その結果 TtCopB は Cu²⁺に対して強い ATPase 活性を持ち、そのホモログである *Archaeoglobus fulgidus* 由来の AfCopB と比較して 30 倍程度活性高いことを明らかにした。また AfCopB は Cu²⁺以外に Cu⁺に対する活性を持つが、TtCopB ではほとんど活性を持たなかった。このことから TtCopB は Cu²⁺のみに対して高い活性を持つ P_{1B}-type ATPase であることが明らかになった。

また Ca²⁺-ATPase、Na⁺/K⁺-ATPase などの P₂-type ATPase は四量体として機能していることが報告されているが TtCopB は四量体を形成しておらず、2-3 量体を形成していることがゲルろ過クロマトグラフィーの結果から示唆された。また可溶化に用いている界面活性剤を検討した結果、単量体へ解離している状態では ATPase 活性が失われることが示唆された。また、P_{1B}-type ATPase (AfCopA) の二次元結晶構造においても二量体を形成していることが示されており [1]、TtCopB を含む P_{1B}-type ATPase は 2 量体が機能単位であると推定される。

Reference

[1] Wu CC, Rice WJ, Stokes DL. (2008) *Structure*, **16**, 976-985