マテリアル先端リサーチインフラ利用報告書
ARIM User's Report

【Release：2025.07.16】　【Update：2025.07.16】

課題データ / Project Data

課題番号 Project Issue Number	22MS1004
利用課題名 Title	EPRによる2つの[2Fe-2S]クラスターから[3Fe-4S]クラスターへの構造変換反応の捕捉
利用した実施機関 Support Institute	自然科学研究機構 分子科学研究所 / IMS
機関外・機関内の利用 External or Internal Use	外部利用/External Use
ARIM半導体基盤PF関連課題 Related to ARIM-SETI	指定なし / No Designation
横断技術領域 Cross-Technology Area	物質・材料合成プロセス/Molecule & Material Synthesis 計測・分析/Advanced Characterization
重要技術領域 Important Technology Area	マテリアルの高度循環のための技術/Advanced materials recycling technologies 次世代バイオマテリアル/Next-generation biomaterials
キーワード Keywords	鉄硫黄クラスター, 生合成

利用者と利用形態 / User and Support Type

利用者名（課題申請者） User Name (Project Applicant)	藤城 貴史
所属名 Affiliation	埼玉大学理工学研究科生命科学部門分子生物学領域
共同利用者氏名 Names of Collaborators Excluding Supporters in the Hub and Spoke Institutes	
ARIM実施機関支援担当者 Names of Supporters in the Hub and Spoke Institutes	藤原 基靖,伊木 志成子
利用形態 Support Type	機器利用/Equipment Utilization

利用した主な設備 / Equipment Used in This Project

利用した主な設備 Equipment ID & Name	MS-216：電子スピン共鳴（E500）

報告書データ / Report

概要（目的・用途・実施内容） Abstract (Aim, Use Applications and Contents)	鉄硫黄クラスターは、鉄イオンと硫化物イオンから構成される金属補因子であり、構造や元素組成の違いにより、主に[2Fe-2S]、[3Fe-4S]、[4Fe-4S]型が多く用いられる。これらの鉄硫黄クラスターは、どれも、細胞内で生合成系マシナリーによって生合成されており、最も研究されてきたISCマシナリーにおいては、IscSとIscUが必須成分として働く。[2Fe-2S]型の生合成は、IscS-IscU複合体、[4Fe-4S]型の生合成はIscU二量体がそれぞれ機能して合成されることが、多くの研究で示される一方で、[3Fe-4S]型の生合成は全く不明である。1つの仮説として、IscU二量体は[2Fe-2S]を2つ保持して1つの[4Fe-4S]を合成することから、もしこの過程で何かしら別の成分がIscU二量体に関与しFeイオンが1つ抜ければ、[3Fe-4S]型が合成できるのではと考えた。そこで、本研究では、様々な添加剤をIscU二量体に加えた場合に、[3Fe-4S]型が生成するかどうかについて、EPRスペクトル測定による[3Fe-4S]型特有のシグナルの観測を用いた分析により調べた。
実験 Experimental	精製したIscU二量体に対し、ISCマシナリーのIscS以外の構成成分(例：IscA）、酸化剤（例：H_2O_2)、キレート剤（例：EDTA）などを添加し反応させた。またIscUの金属結合部位周辺のアミノ酸をアラニンに置換したIscU変異型を調製した。鉄硫黄クラスター由来の茶色が維持された系において、4mm石英EPRチューブに封入し、12K または20Kの極低温で、3000 G–4000 GでのX-band EPRスペクトルを測定した。測定にはCryoStat E910を装着したBruker E500を用いた。
結果と考察 Results and Discussion	添加剤を加えた系では、どの場合にも茶色が退職し、鉄硫黄クラスターが安定に保持できないことがわかり、EPRスペクトル測定は実施できなかった。一方、活性部位のいくつかの残基をアラニン単置換したIscU変異型の場合では、1つのアラニン置換変異型IscUが鉄硫黄クラスター由来の茶色を呈し、そのEPRスペクトルは弱いながらも酸化型[3Fe-4S]クラスター由来と思われるEPRスペクトルを示した。よって、この変異導入箇所およびその周辺が[3Fe-4S]の形成に何かしら重要な役割を示すことが示唆されたが、実際に構造上どのような仕組みでこの[3Fe-4S]の形成が起きたかは、他の測定も組み合わせて考察する必要があると考えられる。
図・表・数式 Figures, Tables and Equations	
その他・特記事項（参考文献・謝辞等） Remarks(References and Acknowledgements)	

成果発表・成果利用 / Publication and Patents

DOI（論文・プロシーディング） DOI (Publication and Proceedings)	
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文[1] Oral Presentations etc.	K. Kunichika, R. Nakamura, T. Fujishiro, Y. Takahashi, "Structural basis for biosynthesis of a [4Fe-4S] cluster from two [2Fe-2S] clusters on the IscU enzyme in ISC machinery" AsBIC10, Nov. 28th - Dec. 3rd. 2022, Kobe, Japan (poster, presented on 2022/11/29)
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文[2] Oral Presentations etc.	槇千智、室賀 直来・寺畑 拓也・島田 侑希乃・國近 航平・中村 亮裕・ 藤城 貴史・高橋 康弘「鉄硫黄クラスター生合成に関わるSUF、SUF-like、ISC系の硫黄供給システムの酸化ストレス耐性の比較」, 第９５回日本生化学会大会 2022年11/9-11/11, 11/9ポスター発表、名古屋国際会議場
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文[3] Oral Presentations etc.	Kouhei Kunichika, Ryosuke Nakamura, Takashi Fujishiro, Yasuhiro Takahashi " Structural insights into biosynthesis of a [4Fe-4S] cluster via coupling of two adjacent [2Fe–2S] clusters in the IscU enzyme"2022/9/26-2022/9/28 錯体化学会第７２回討論会、博多、2022/9/26ポスター発表

特許出願件数 Number of Patent Applications	0件
特許登録件数 Number of Registered Patents	0件