



Doctoral Thesis

Structural studies of an archaeal ABC transporter specific for tungstate / molybdate

Author(s):

Hollenstein, Kaspar

Publication Date:

2007

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005477106> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 17367

**Structural Studies of an Archaeal ABC Transporter
Specific for Tungstate / Molybdate**

A dissertation submitted to
ETH Zurich

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

KASPAR HOLLENSTEIN

Dipl. Natw. ETH Zürich

born 02.01.1978

citizen of
Mosnang SG, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Kaspar Locher, examiner
Prof. Dr. Fritz Winkler, co-examiner

2007

Summary

ATP-binding cassette (ABC) transporters are ubiquitous integral membrane proteins that couple the binding and hydrolysis of ATP to the extrusion and uptake of a wide variety of solutes across membranes of prokaryotic and eukaryotic cells. While bacterial binding protein-dependant ABC importers are essential for the uptake of nutrients, ABC exporters catalyze the extrusion of toxic compounds, thus contributing to antibiotic resistance of pathogenic microbes. In humans, clinically relevant exporters are implicated in multidrug resistance of cancers and various other diseases. The availability of structural data of entire ABC transporters has shed light on the molecular architecture of ABC transporters and has paved the way to the elucidation of their mechanism of action. However, the means by which ATP-driven conformational changes are coupled to the transport reaction still remain to be elucidated.

Here, I report the high-resolution crystal structure of an archaeal ABC importer (*Archaeoglobus fulgidus* ModBC) specific for molybdate and/or tungstate in complex with its cognate periplasmic binding protein (ModA). Although transport has not been demonstrated biochemically, the function of ModBC is suggested by the similarity of the primary sequences to bona fide molybdate transporters and by trapping of a complex between ModBC and the molybdate / tungstate binding protein ModA in the presence of ATP and ortho-vanadate. Twelve transmembrane helices of the ModB subunits provide an inward-facing conformation, with a translocation pathway closed off towards the periplasm by an external gate. The ATP-binding ModC subunits show a nucleotide-free, open conformation, while the attached binding protein aligns the substrate with the translocation pathway. Comparison with the recently determined structure of the multidrug ABC exporter Sav1866, which revealed an outward-facing conformation coupled to the ATP-bound state, suggests an alternating access and release mechanism common to ABC importers and exporters. Whereas binding of ATP appears to trigger an outward-facing conformation, dissociation of the hydrolysis products may promote an inward-facing conformation, thereby allowing the substrate to cross the membrane.

Zusammenfassung

ABC Transporter sind integrale Membranproteine, die das Binden und die Hydrolyse von ATP and den Import und Export einer grossen Zahl verschiedener Stoffe koppeln. In Prokaryoten sind bindeprotein-abhängige ABC Importer verantwortlich für die Aufnahme von essentiellen Nährstoffen, während ABC Exporter die Ausschleusung von toxischen Substanzen katalysieren, was zu Antibiotikaresistenz von mikrobiellen Pathogenen führen kann. Klinisch relevante humane Vertreter sind verantwortlich für diverse Krankheiten und, in Krebszellen, für die Resistenz gegenüber mehreren Chemotherapeutika. Die Verfügbarkeit von Strukturen kompletter ABC Transporter hat zur Aufklärung der molekularen Architektur dieser Transporterfamilie geführt und den Weg zum Verständnis des Transportmechanismus geebnet. Dennoch bleibt es weitgehend unklar, wie ATP-abhängige Konformationsänderungen an die Transportreaktion gekoppelt werden.

In dieser Arbeit wird die hochaufgelöste Kristallstruktur eines prokaryotischen ABC Importers (*Archaeoglobus fulgidus* ModBC), spezifisch für Molybdat und / oder Wolframat, im Komplex mit seinem Bindeprotein (ModA) beschrieben. Obwohl der Transport von Molybdat nicht experimentell nachgewiesen wurde, ist die Funktion von ModBC aufgrund der Sequenzähnlichkeit mit bekannten Molybdat-Transportern höchst wahrscheinlich, und wird gestützt durch die Tatsache, dass in Gegenwart von ATP und ortho-Vanadat ein Komplex mit dem Molybdat- / Wolframat-Bindeprotein ModA isoliert werden konnte. Zwölf Transmembran-Helices der ModB-Untereinheiten bilden einen Translokationskanal, der gegen das Zellinnere hin geöffnet und vom Periplasma abgetrennt ist. Die ATP-bindenden ModC-Untereinheiten zeigen eine nukleotidfreie, offene Konformation, und das Bindeprotein sitzt so auf dem Transporter, dass das Substrat direkt über den Translokationskanal zu liegen kommt. Der Vergleich mit der unlängst gelösten Struktur des ABC Exporters Sav1866, der eine nach aussen geöffnete, ATP-gebundene Konformation zeigt, deutet auf einen den Importern und Exportern gemeinen Mechanismus hin. Während das Binden von ATP ein nach aussen Öffnen des Translokationskanals auslöst, führt die Dissoziation der Hydrolyseprodukte zu einem nach innen geöffneten Zustand. Dies erlaubt es dem Substrat, von einer Seite der Membran zur anderen zu gelangen.