

**Michelle Kammel**

2011–2016 Biochemiestudium an der Universität Halle. 2016–2018 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Leibniz Institut für Pflanzenbiochemie Halle. Ab 2018 Promotion in der Gruppe von Prof. Dr. G. Sawers (Mikrobiologie) der Universität Halle. Seit 2023 PostDoc in selbiger Gruppe.

VAAM-Promotionspreis 2024

Das Membranprotein FocA reguliert den Formiat-Metabolismus

MICHELLE KAMMEL

INSTITUT FÜR BIOLOGIE/MIKROBIOLOGIE, UNIVERSITÄT HALLE

DOI: 10.1007/s12268-024-2216-8
© Die Autorin 2024

■ Eine präzise Kontrolle des Transports von Molekülen wie Ionen über biologische Membranen ist essenziell, um pH-Wert, Energie- und Redoxgleichgewicht zu regulieren. Dies gewährleisten Membranproteine, etwa Ionenkanäle und sekundär aktive Transporter.

Eine ubiquitär verbreitete Familie, die monovalente Anionen transloziert, ist die der Formiat-Nitrit-Transporter (FNT). Als erster Vertreter wurde 1994 in *Escherichia coli* das Formiat-translozierende Kanalprotein FocA (*formate channel A*) identifiziert [1]. Obwohl FocA durch strukturelle sowie elektrophysiologische Analysen charakterisiert wurde, ist die Klassifizierung als Ionenkanal oder Transporter umstritten.

FocA ist ein bedeutsames Protein des Formiat-Stoffwechsels (**Abb. 1A**). Unter anaeroben Bedingungen konservieren Enterobakterien wie *E. coli* Energie durch die gemischte Säuregärung. Das Schlüsselenzym – die Pyruvat-Formiat-Lyase (PFL) – katalysiert die Bildung von Acetyl-CoA und Formiat. Eine zunehmende Ansäuerung des Zytoplasmas wird verhindert, indem Formiat-Ionen bzw.

Ameisensäure über FocA ins Periplasma transloziert werden. In Abhängigkeit vom pH-Wert werden Formiat-Ionen wieder in die Zelle aufgenommen und vom Formiat-Hydrogenlyase-Komplex (FHL) zu CO₂ und H₂ umgesetzt. Die Untersuchung zugrunde liegender Mechanismen dieses bidirektionalen Transportverhaltens und regulierender Faktoren waren daher die zentralen Fragestellungen meiner Promotionsarbeit in der Arbeitsgruppe von Gary Sawers.

FocA weist zwei Aminosäurereste im zentralen Teil der Translokationspore auf, die in 99 % aller FNTs zu finden sind: T91, das auf der flexiblen Ω-Schleufe liegt, und H209 auf der S-Schleufe (**Abb. 1B**). In der offenen Konformation der Pore interagieren die Seitenketten über eine Wasserstoffbrücke. Die Passage der Anionen durch den hydrophoben Teil der Translokationspore wird mittels transienter Protonierung durch das zentrale Histidin gewährleistet. Ich konnte zeigen, dass Aminosäuren mit Hydroxyl-Funktion an Position 91 und H209 essenziell für die bidirektionale Translokation sind, deren Mechanismen sich je nach Translokationsrichtung unterscheiden und mit Protonen-Ko-Trans-

port gekoppelt sind [2, 3]. FocA_{H209N/Q} hingegen ist ein unidirektionaler Efflux-Kanal, was in Zusammenhang damit steht, dass H209 in einigen pathogenen Mikroorganismen wie *Entamoeba histolytica* durch Asparagin substituiert ist [2].

Aus meinen Analysen geht außerdem hervor, dass eine direkte Wechselwirkung von PFL mit dem FocA-N-Terminus die Formiat-spezifische Translokation reguliert und es ausgehend von diesem Proteinbereich zur Konformationsänderung der Ω-Schleufe kommt.

Zusammenfassend postuliere ich ein Modell, bei dem der Ameisensäure-Efflux wie ein Kanal, getrieben durch den auswärtsgerichteten Formiat-Gradienten, funktioniert und die mit aktiven Transportern vergleichbare Ameisensäure-Aufnahme durch einen nach innen gerichteten Protonen-Gradienten getrieben wird. FocA ist daher Ionen-Kanal und sekundärer Transporter und kann so die pH- und Formiat-Homöostase des Organismus sicherstellen. ■

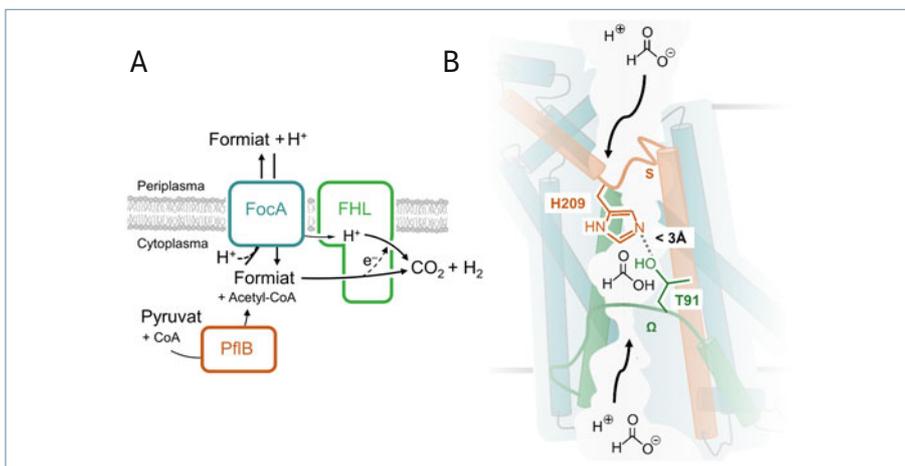
Literatur

- [1] Suppmann B, Sawers G (1994) Isolation and characterization of hypophosphate-resistant mutants of *Escherichia coli*: identification of the FocA protein, encoded by the pfl operon, as a putative formate transporter. *Mol Microbiol* 11: 965–982
[2] Kammel M, Trebbin O, Pinske C et al. (2022). A single amino acid exchange converts FocA into a unidirectional efflux channel for formate. *Microbiology* 168: 001132
[3] Kammel M, Trebbin O, Sawers RG (2022) Interplay between the Conserved Pore Residues Thr-91 and His-209 Controls Formate Translocation through the FocA Channel. *Microbial Physiol* 32: 95–107

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Michelle Kammel
Institut für Biologie/Mikrobiologie
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Kurt-Mothes-Straße 3
D-06120 Halle (Saale)
michelle.kammel@mikrobiologie.uni-halle.de



▲ **Abb. 1:** Proteine des Formiat-Metabolismus. **A**, Interaktion des Formiat-produzierenden (PflB), -translozierenden (FocA) und -umsetzenden (FHL) Proteins. **B**, Struktur eines FocA-Protomers in der offenen Konformation (pdb: 3KLY). Hervorgehoben sind die Ω- und S-Schleufe, welche die α-Helices 2a und 2b bzw. 5a und 5b verbinden, sowie H209 und T91, die über Wasserstoffbrückenbindung miteinander interagieren.