

DOI: 10.13376/j.cbls/2017031

文章编号: 1004-0374(2017)03-0223-07



赵永芳, 中国科学院生物物理研究所研究员, 国家自然科学基金优秀青年基金获得者。研究组近年来的主要研究工作包括: (1) 利用单分子技术研究 ABC 转运蛋白的结构和功能的关系; (2) GPCR 信号转导过程中配体及下游信号分子对其构象的调节; (3) 活细胞水平利用单分子技术研究 GPCR 的高聚及其对功能的影响。

ABC转运蛋白结构与转运机制的研究进展

刘艳青, 赵永芳*

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要: 腺苷三磷酸结合盒转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter, ABC 转运蛋白) 是一类跨膜蛋白, 其主要功能是利用 ATP 水解产生的能量将底物进行逆浓度梯度运输。这类跨膜转运蛋白具有保守的功能结构域和多样化的生物学功能, 广泛分布于原核和真核生物中。近几年的研究表明, 人类多种疾病, 如免疫缺陷、癌症等, 都与 ABC 转运蛋白病变相关, 因此这类转运蛋白结构及转运机制的研究受到广泛关注。现对近几年 ABC 转运蛋白结构及其转运机制的研究进展进行讨论。

关键词: ABC 转运蛋白; ATP 水解; 转运机制

中图分类号: Q51 文献标志码: A

Structure and mechanism of ABC transporter

LIU Yan-Qing, ZHAO Yong-Fang*

(Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: ATP-binding cassette (ABC) transporters are a large group of membrane proteins that couple transport of a substrate against a chemical gradient and energized directly by the hydrolysis of ATP. These transporters have conserved functional domains and diverse biological functions and are present in both prokaryotes and eukaryotes. In recent years, many studies have shown that human diseases, such as immune deficiency, cancer etc. are related with pathological changes of ABC transporters, so the structures and mechanisms of these transporters have been intensively studied. Here, we will discuss the research progress of ABC transporters' structures and transport mechanisms.

Key words: ABC transporter; ATP hydrolysis; transport mechanism

收稿日期: 2016-04-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31570835); 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2014CB910402); 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目(31522016)

*通信作者: E-mail: yongfangzhao@sun5.ibp.ac.cn

腺苷三磷酸结合盒转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter, ABC 转运蛋白) 是一类在原核及真核生物中都广泛分布的、具有多种功能的膜蛋白超家族^[1-3], 其主要功能是利用 ATP 水解产生的能量将底物进行逆浓度梯度跨膜运输^[4-6], 其转运的底物种类很多, 包括无机和有机小分子, 如金属离子、糖类、氨基酸、核苷酸和维生素等, 以及大的有机化合物, 如多肽、蛋白质、寡核苷酸、细胞代谢产物和药物等。它们参与许多重要的生理过程, 如营养摄入、细胞解毒、脂质稳态、信号转导、病毒防御以及抗原呈递等^[7]。

早期生化研究结果表明, 细菌体内与营养物质吸收相关的一类多重底物转运蛋白都具有 ATP 水解功能^[2], 且这类蛋白的 ATP 结合区域基本结构都高度保守, 包括磷酸盐结合 loop (P-loop or Walker A motif) 和一小段氨基酸序列“LSGGQ”。具有类似 ATP 结合区域性质的转运蛋白家族就被称作 ABC 转运蛋白^[8]。与此同时, 针对哺乳动物耐药性输出泵 (multi-drug resistance (MDR) export pump) P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 的研究结果显示, P-gp 也含有与 ATP 结合区域相似的结构域, 这一结果表明 ABC 转运蛋白家族不仅存在于原核生物中, 在高等真核生物 (哺乳动物) 中也有类似的同源蛋白^[7]。当前对微生物基因组序列信息的研究结果显示, 在细菌和古生菌的基因组中约有 1%~3% 的基因是编码 ABC 转运蛋白的, 这一结果表明 ABC 转运蛋白家族是目前已知的最大的蛋白家族^[9]。目前在人体内已发现有 48 种 ABC 转运蛋白, 这类蛋白的病变大多数都与人类囊肿性纤维化、高密度脂蛋白缺乏症、肾上腺脑白质失养症以及癌症等疾病相关^[10-11]。

1 ABC转运蛋白的分类

在原核生物中, ABC 转运蛋白定位于质膜上, 其 ATP 的水解发生在细胞质一侧。而在真核生物中, ABC 转运蛋白除定位于质膜以外, 在细胞器膜上也有分布; 而且, 除线粒体和叶绿体膜上的 ABC 转运蛋白其 ATP 水解发生在细胞器基质侧外, 大部分 ABC 转运蛋白的 ATP 水解作用都发生在胞质侧。发生 ATP 水解的一侧通常被称作顺式面 (cis-side), 另一侧则被称作反式面 (trans-side)^[12]。

ABC 转运蛋白可分为内向转运蛋白 (importers) 和外向转运蛋白 (exporters) 两种。importers 又可依据其结构上和生物学机理上的差别分为两种类型: importer I 和 importer II^[13-14]。相关的能量偶联因子

转运蛋白家族 (energy-coupling factor (ECF) transporters, 有时被称作 importer III), 其结构和功能目前已研究地非常清楚^[15-16], 在此就不做赘述。外向转运蛋白将底物从 cis-side 通过膜运向 trans-side, 或在生物膜的内膜和外膜之间进行转运; 而相反, 内向转运蛋白是将底物从 trans-side 运往 cis-side^[12]。原核生物中同时存在 importers 和 exporters 两种 ABC 转运蛋白, 而在真核生物中, 除极少数特例外都是 exporters。

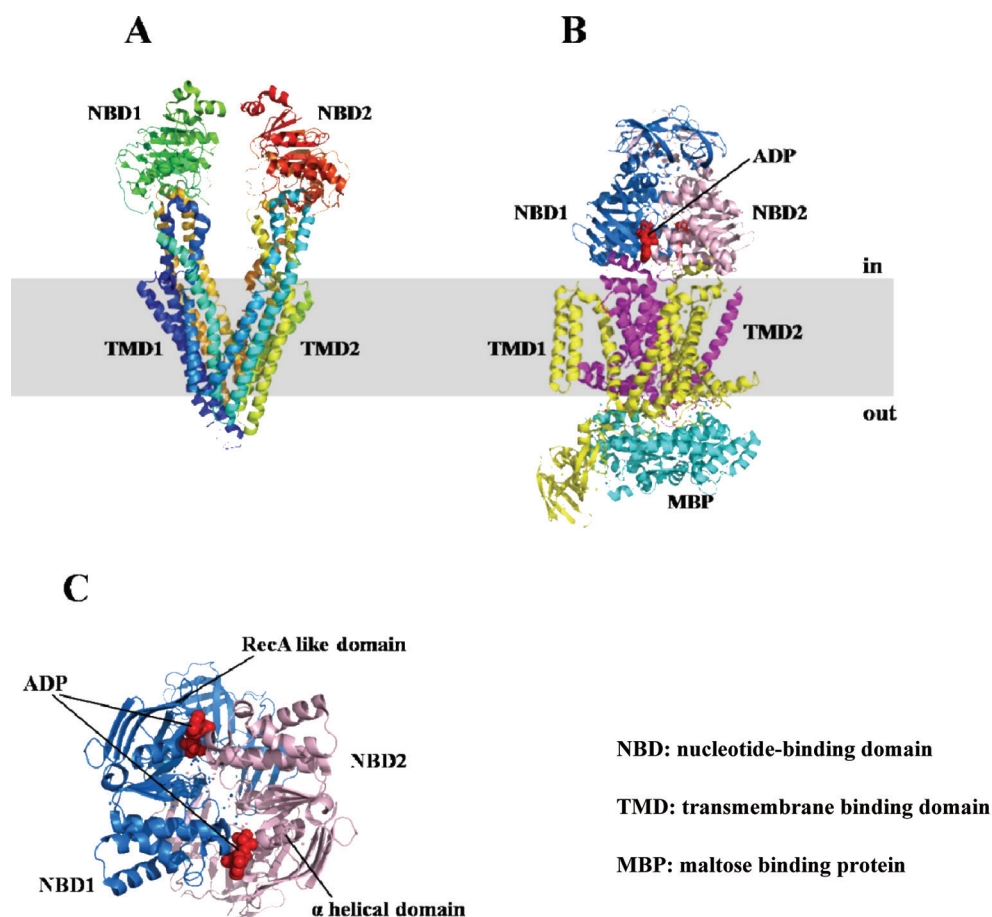
Importers 在原核生物、古细菌及植物中主要用于营养物质的运输, 有些原核致病菌甚至可利用 importers 来躲避宿主细胞的先天性免疫应答机制。因此, 近年来针对 ABC importers 的结构与功能的研究受到广泛的关注^[17]。大多数原核及真核生物的 ABC exporters 都与细胞内“有毒物质”的输出有关, 如癌细胞可借助 exporters 将用于化学疗法的药物排出体外, 且这类 exporters 可识别多种不同的底物。尽管如此, exporters 却都具有一个 12 次跨膜螺旋的核心骨架, 横跨于脂双层之间, 使其 ATP 结合区域与膜之间拉开很大的距离^[18]。

2 ABC转运蛋白的结构组成及性质

从结构上来看, ABC 转运蛋白具有两个核苷酸结合区域 (nucleotide-binding domains, NBDs) 和两个跨膜结合区域 (transmembrane binding domains, TMDs), 如图 1 所示。NBDs 结构和序列在 ABC 转运蛋白家族中高度保守, 包括 Walker A 和 Walker B 序列、ATP 结合基序、H loop 及 Q loop。相反, TMDs 的结构及序列却因其转运底物的不同而具有多样性。两个 NBDs 用于结合并水解 ATP, 为转运提供能量。TMDs 主要参与底物的识别并通过转运通过脂双层膜^[19]。在原核生物中, 4 个区域可以是相同或不同的两种亚基组合, 或是不同 NBDs 和不同 TMDs 之间的相互融合; 而在真核生物中, 大多数的 ABC 转运蛋白的 4 个功能区域都是由一条多肽链折叠而成的。

除 NBDs 和 TMDs 外, 原核生物 I 型和 II 型 importers 还具有底物结合区域 (SBDs) 或底物结合蛋白 (SBPs), 用于从反式侧捕捉底物并将其传递给 TMDs^[20-21]。ECF 转运蛋白和 exporters 不需要 SBPs^[22]。大多数原核及真核生物的 ABC 转运蛋白都具有附加的结构区域或亚基, 如调节域 (regulatory domains, RDs) 或额外的未知功能的 TMDs^[12]。

由于 NBDs 在 ABC 转运蛋白家族中高度的相



A: 内向开口的P-糖蛋白(P-gp)晶体结构(PDB ID: 4M2T); B: 外向开口的麦芽糖转运蛋白(maltose transporter)结合ADP时的晶体结构(PDB ID: 3PUV); C: 麦芽糖转运蛋白NBDs 结构域结合ADPs形成三明治结构。

图1 ABC转运蛋白的基本结构组成

似性和多个保守基序的存在, 该结构域成为判定 ABC 转运蛋白的标志。在原核及真核生物的 exporters 间, NBDs 序列具有高度同源性, 约 30%~50%, 与其相似的三维空间结构和保守的能量偶联机制相吻合。从分离出来的 NBDs 或完整的转运蛋白结构中的 NBDs 的 X 射线晶体结构中也可以看出, 其三维结构是十分保守的。NBDs 由两个子域组成: 结构上与 RecA 蛋白相似(功能不相关)的子域和螺旋形子域(helical sub-domain)^[23]。NBDs 中多个保守基序均具有特殊的功能, 其中最重要的是 P 环(P-loop)结构, 位于类 RecA 蛋白子域; LSGGQ 基序位于螺旋形子域。分离的 NBDs 和 ATP 结合的晶体结构显示, 两个 NBDs 形成对称二聚体, 两个 ATP 分子夹在二聚体的界面, 因此称为“三明治二聚体(sandwich dimer)”。单个 ATP 分子同时与 NBD1 的 P-loop 和 NBD2 的 LSGGQ 基序相结合, 第二个 ATP 也是如此(如图 1C 所示)。ATP 结合时的三明

治二聚体结构与无 ATP 结合时 NBDs 的单体或非生理性二聚体的晶体结构显示, ATP 依赖型的 NBDs 二聚化是驱使 TMDs 构象变化的重要因素之一^[24]。

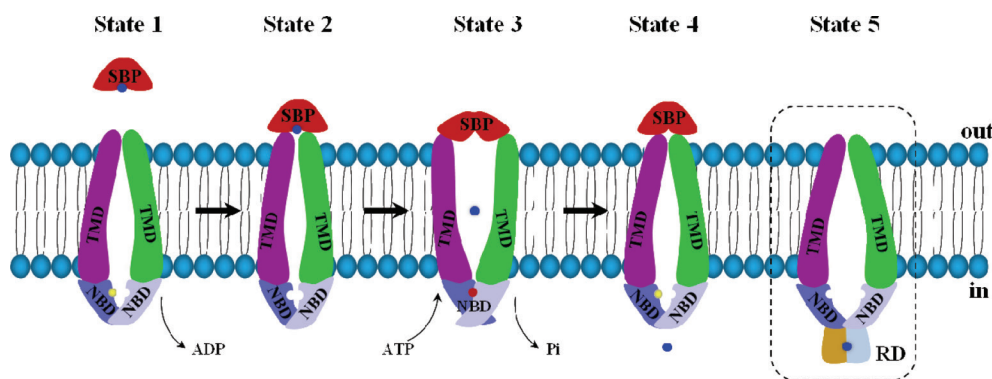
完整的 ABC 转运蛋白两个 TMDs 区域一般共含有 12~20 个跨膜 α 螺旋(大多数 exporters 含有 12 个跨膜螺旋), 其疏水序列形成细胞内向开口(inward facing)或外向开口(outward facing)的跨膜孔隙(transmembrane pore)。与 NBDs 结构不同, 尽管同种类转运蛋白的 TMDs 之间具有相似的拓扑结构, 其基因却存在高度不保守性, 这可能是由其转运底物种类和性质的多样性导致的。跨膜孔隙里的某些氨基酸为转运底物提供结合位点(both importers and exporters), 这一点在大肠杆菌 I 型 importers 中已经研究清楚, 如麦芽糖内向转运蛋白(maltose importer)^[25]; 而对于多药转运蛋白 P-糖蛋白(P-gp)来说, 药物结合腔内的氨基酸位点具有“重叠特异性”, 即其结合位点随转运药物的不同而不同^[26]。

3 ABC转运蛋白的功能机制

目前认为 ABC 转运蛋白采用“交替开放” (alternate access) 和“ATP 开关” (ATP switch) 两种模型的混合方式进行底物转运^[14]。“交替开放”模型认为底物结合位在转运蛋白内向开放及外向开放两种构象中交替变化,转运的方向由这两个构象对底物相对的亲和力决定。

对于内向转运蛋白,其外向开放的构象对底物结合具有较高的亲和力,外向转运蛋白则与之相反。结合 ATP 后,外向转运和内向转运蛋白的 NBDs 二聚体形成紧密的三明治结构,使得 TMDs 重排,进而蛋白由内向开放转变成外向开放的构象(ATP 开关模型)。对于外向转运蛋白,NBDs 关闭足以驱动蛋白转换成外向开放的构象,但内向转运蛋白需

要底物结合的 SBP 来实现构象的转换^[27]。在内向开放与外向开放的构象转换过程中,转运蛋白会发生刚性运动参与的大的结构重排。迄今为止,所有的 ABC 外向转运蛋白都符合“ATP 开关”模型,虽然有部分差异,但显示出非常保守的特性。内向转运蛋白之间则存在非常大的差异。与外向转运蛋白相似,I 型内向转运蛋白通过“交替开放-ATP 开关”模型行使功能,整个过程中发生显著的构象变化(如图 2 所示)。SBP 的结合可以显著激活 I 型内向转运蛋白的 ATP 酶水解活性^[28-29]。虽然 I 型内向转运蛋白与 SBP 的结合非常短暂且亲和力低,但 ATP 及底物的结合能够稳定它们之间的相互作用^[27, 30-32]。II 型内向转运蛋白不能用“交替开放-ATP 开关”模型解释,它们在结构及转运机制上与 I 型内向转运蛋白及外向转运蛋白差异显著。



SBP: 底物结合蛋白; RD (regulatory domain): 调节区域; 蓝色小球代表底物,黄色小球代表ADP,红色小球代表ATP。底物结合蛋白SBP结合底物后与内向转运蛋白的TMD结合,引起TMD与NBD的部分构象变化,激活NBD释放ADP。ATP的结合使TMD构象发生重排,从而蛋白由内向开放转变成外向开放的构象,并使SBP构象打开,将结合的底物释放进入TMD。NBD结合的ATP水解成ADP并最终将底物释放于胞内。当细胞内部底物过量时,调节区域与底物结合并与NBD结合,此时内向转运蛋白处于锁定状态,从而抑制转运蛋白发生构象变化及ATP的水解^[17]。

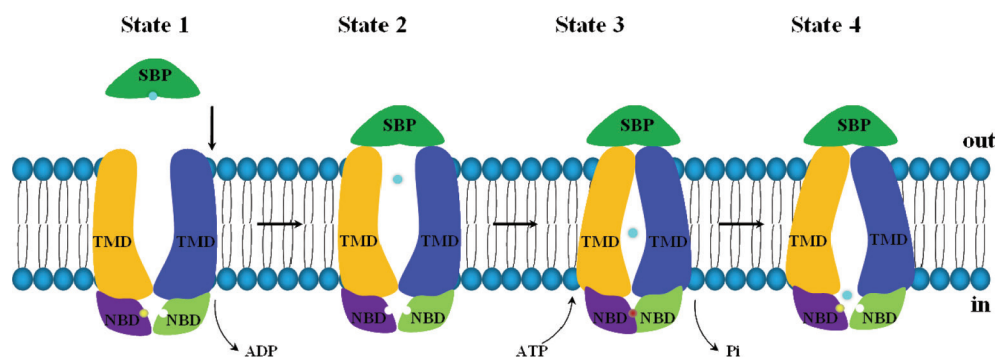
图2 I型ABC内向转运蛋白转运机制模型图

过去人们一直认为 ABC 转运蛋白在结构和转运机理上非常保守,现在人们知道其实不尽然^[14, 17, 33-34]。外向转运蛋白、I 型及 II 型内向转运蛋白的 TMDs 具有不同的三维折叠结构。同时,它们的 SBPs 的折叠结构也不相同^[14, 20, 35-36]。尽管“交替开放”模型能很好地描述外向转运蛋白及 I 型内向转运蛋白,但对 II 型内向转运蛋白并不适合。X 射线晶体的三维结构表明,II 型内向转运蛋白的 TMDs 并不像外向转运蛋白及 I 型内向转运蛋白一样进行大幅度的刚性结构重排。另外,在核苷酸结合及释放过程中,NBDs 张开合拢的尺度比较小,X 射线晶体学及

DEER/EPR 研究表明,II 型内向转运蛋白通过局部区域的开关进行蠕动式工作(如图 3 所示)^[37-38]。

4 ABC转运蛋白与人类疾病的研究

迄今为止,在人类基因组中已发现 48 个 ABC 转运蛋白,根据 ABC 转运蛋白保守区序列的同源性可将其分为 7 个亚型 (ABCA~ABCG)^[10-11]。哺乳动物中的 ABC 转运蛋白与细胞内某些分子,如固醇类、磷脂、金属离子及核苷酸等的输出相关,因此具有非常重要的生物学功能。ABC 转运蛋白的功能紊乱会导致人体一系列疾病的发生。目前已知约



SBP: 底物结合蛋白; 蓝色小球代表底物, 黄色小球代表ADP, 红色小球代表ATP。当底物结合蛋白SBP未结合时, II型ABC内向转运蛋白是外向开口的; 结合有底物的SBP先于ATP与内向转运蛋白的TMD结合; 随后, ATP结合于NBD上并引起TMD与NBD的部分构象变化, 底物释放进入TMD腔内; 最后, ATP水解成ADP并释放Pi, 最终将底物释放于胞内^[17]。

图3 II型ABC内向转运蛋白转运机制模型图

有 20 多种 ABC 转运蛋白与人类疾病相关, 如 ABCA4 与斯特格氏病 (Stargardt disease) 有关, ABCA7 与阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease) 有关, ABCB2/3 的病变会导致免疫缺陷, ABCC7 的病变则会导致囊性纤维症 (cystic fibrosis) 等等^[39-40]。P-gp (ABCB1)、MRP1 (ABCC1) 和 ABCG2 这几类转运蛋白被发现于肿瘤细胞的细胞膜上异常高表达^[41]。P-gp 是目前研究的最彻底的 ABC 转运蛋白, 由人类 *ABCB1* 基因编码, 表达于全身各处, 在小肠、肝脏、肾脏等器官的上皮细胞表面高表达。P-gp 在外源性防御系统中扮演重要角色, 可将有机阳离子、碳水化合物、抗生素及抗癌药物等作为底物运出胞外^[42]。研究表明, MRP1 对某些治疗癌症的药物, 如葱环类、长春花生物碱和喜树碱等药物都有抵抗作用, 因此在临床上对神经母细胞瘤的治疗造成了极大的困扰^[43-44]。ABCG2, 又被称为乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP), 可以使癌细胞抵抗多种药物, 如拓扑替康 (topotecan)、米托蒽醌 (mitox) 和柔红霉素 (daunorubicin) 等^[45]。目前对于 MDR 转运蛋白特异性抑制剂的筛选已投入大量研究且已取得显著进展, 如已发现 P-gp 蛋白的多种抑制剂化合物, 不过这些化合物暂时还未投入使用^[46]。

5 展望

已有的 ABC 转运蛋白的晶体结构为其转运机理的研究提供了宝贵的基础。然而, 目前仍存在很多问题有待于进一步探究。有关去污剂及晶体堆积对 ABC 转运蛋白柔性构象的影响程度尚不清楚。例如某些 ABC 外向转运蛋白的 Apo 结构 (如 MsbA) 表明, 其 NBDs 有非常大的运动 (28~30 Å)

并完全分离。如此大的距离使人们不禁怀疑 ATP 如何结合到完全分离的 NBDs 上。与此相反, II 型内向转运蛋白 BtuCD (维生素 B12 内向转运蛋白) 的 NBDs 在没有结合 ATP 的状态下仅稍微分开, P 环 (P-loop) 与标志序列 (signature motif) 之间距离为 14 Å。ABC 外向转运蛋白及 I 型内向转运蛋白的晶体结构表明, 它们在结合 ATP 后采取向外打开的构象, 而没有结合 ATP 时采取向内打开的构象。与此相反, II 型内向转运蛋白 BtuCD 及 HmuUV 在 Apo 状态下结晶出外向打开的构象, 而在同一条件下 MolBC 结晶出内向打开的构象^[47]。可能这些差异真正反映出了外向转运蛋白、I 型内向转运蛋白与 II 型内向转运蛋白之间在转运机理上的差异, 也可能这些蛋白在生理条件下具有其他构象, 但尚未被结晶出来, 这一问题有待于进一步研究。另外, ABC 转运蛋白在水解 ATP 过程中存在的很多细节问题也有待于进一步研究, 例如在转运底物的过程中, TMDs 发生重排是由 ATP 与 NBDs 结合导致的还是由 ATP 水解释放的能量驱使的, 在转运底物的过程中两个 NBD 之间是否还有联系, 配体 (ATP、SBP、底物) 对构象动态变化的调节作用等等。

单分子 (single molecule) 荧光检测是研究生物事件的一种非常重要的工具。近来, 运用单分子荧光共振能量转移技术 (smFRET) 来实时监测 ABC 转运蛋白在底物转运过程中的构象变化的研究显得尤为重要。目前, 单分子研究结果已表明, P-gp 转运蛋白的 NBDs 保持高度的动态变化^[48-49]。smFRET 技术对单个蛋白分子的实时追踪的性能使得对于 ABC 转运蛋白催化循环中每一步的细微研究成为可能。

近年来,有关抗癌药物的研究也取得重大发现,如大量合成的及天然的抗癌化合物的类似物被挖掘出来^[5]。这类化合物的发现对于ABC转运蛋白结构和功能机制上的研究将发挥重要作用,也将有助于临床上抗癌药物的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Glavinas H, Krajcsi P, Cserepes J, et al. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity. *Curr Drug Deliv*, 2004, 1: 27-42
- [2] Higgins CF. ABC Transporters - from microorganisms to man. *Annu Rev Cell Biol*, 1992, 8: 67-113
- [3] Shukla S, Wu CP, Ambudkar SV. Development of inhibitors of ATP-binding cassette drug transporters - present status and challenges. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4: 205-23
- [4] Borths EL, Locher KP, Lee AT, et al. The structure of *Escherichia coli* BtuF and binding to its cognate ATP binding cassette transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 16642-7
- [5] Kathawala RJ, Gupta P, Ashby CR Jr, et al. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade. *Drug Resist Updat*, 2015, 18: 1-17
- [6] Locher KP. Structure and mechanism of ABC transporters. *Curr Opin Struct Biol*, 2004, 14: 426-31
- [7] Wilkens S. Structure and mechanism of ABC transporters. *F1000Prime Rep*, 2015, 7: 14-14
- [8] Higgins CF, Hiles ID, Salmond GPC, et al. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria. *Nature*, 1986, 323: 448-50
- [9] Tomii K, Kanehisa M. A comparative analysis of ABC transporters in complete microbial genomes. *Genome Res*, 1998, 8: 1048-59
- [10] Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res*, 2001, 42: 1007-17
- [11] Vasiliou V, Vasiliou K, Nebert DW. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Hum Genomics*, 2009, 3: 281-90
- [12] ter Beek J, Guskov A, Slotboom DJ. Structural diversity of ABC transporters. *J Gen Physiol*, 2014, 143: 419-35
- [13] Holland IB, Blight MA. ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans. *J Mol Biol*, 1999, 293: 381-99
- [14] Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 218-27
- [15] Wang T, Fu G, Pan X, et al. Structure of a bacterial energy-coupling factor transporter. *Nature*, 2013, 497: 272-6
- [16] Xu K, Zhang M, Zhao Q, et al. Crystal structure of a folate energy-coupling factor transporter from *Lactobacillus brevis*. *Nature*, 2013, 497: 268-71
- [17] Rice AJ, Park A, Pinkett HW. Diversity in ABC transporters: Type I, II and III importers. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2014, 49: 426-37
- [18] Locher KP. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*, 2009, 364: 239-45
- [19] Verrier PJ, Bird D, Buria B, et al. Plant ABC proteins - a unified nomenclature and updated inventory. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 151-9
- [20] Berntsson RPA, Smits SHJ, Schmitt L, et al. A structural classification of substrate-binding proteins. *FEBS Lett*, 2010, 584: 2606-17
- [21] Quioco FA, Ledvina PS. Atomic structure and specificity of bacterial periplasmic receptors for active transport and chemotaxis: variation of common themes. *Mol Microbiol*, 1996, 20: 17-25
- [22] Rodionov DA, Hebbeln P, Eudes A, et al. A novel class of modular transporters for vitamins in prokaryotes. *J Bacteriol*, 2009, 191: 42-51
- [23] Jones PM, George AM. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61: 682-99
- [24] Chen J, Lu G, Lin J, et al. A tweezers-like motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle. *Mol Cell*, 2003, 12: 651-61
- [25] Chen J. Molecular mechanism of the *Escherichia coli* maltose transporter. *Curr Opin Struct Biol*, 2013, 23: 492-8
- [26] Aller SG, Yu J, Ward A, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science*, 2009, 323: 1718-22
- [27] Orelle C, Ayvaz T, Everly RM, et al. Both maltose-binding protein and ATP are required for nucleotide-binding domain closure in the intact maltose ABC transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 12837-42
- [28] Davidson AL, Shuman HA, Nikaido H. Mechanism of maltose transport in *Escherichia coli*: transmembrane signaling by periplasmic binding-proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 2360-4
- [29] Liu CE, Liu PQ, Ames GFL. Characterization of the adenosine triphosphatase activity of the periplasmic histidine permease, a traffic ATPase (ABC transporter). *J Biol Chem*, 1997, 272: 21883-91
- [30] Austermuhle MI, Hall JA, Klug CS, et al. Maltose-binding protein is open in the catalytic transition state for ATP hydrolysis during maltose transport. *J Biol Chem*, 2004, 279: 28243-50
- [31] Chen J, Sharma S, Quioco FA, et al. Trapping the transition state of an ATP-binding cassette transporter: evidence for a concerted mechanism of maltose transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 1525-30
- [32] Vigonsky E, Ovcharenko E, Lewinson O. Two molybdate/tungstate ABC transporters that interact very differently with their substrate binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 5440-5
- [33] Heuveling J, Frochoux V, Ziolkowska J, et al. Conformational changes of the bacterial type I ATP-binding cassette

- importer HisQMP₂ at distinct steps of the catalytic cycle. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1838: 106-16
- [34] Lewinson O, Lee AT, Locher KP, et al. A distinct mechanism for the ABC transporter BtuCD-BtuF revealed by the dynamics of complex formation. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 332-8
- [35] Tirado-Lee L, Lee A, Rees DC, et al. Classification of a *Haemophilus influenzae* ABC transporter HI1470/71 through its cognate molybdate periplasmic binding protein, MolA. *Structure*, 2011, 19: 1701-10
- [36] Yu J, Ge J, Heuveling J, et al. Structural basis for substrate specificity of an amino acid ABC transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 5243-8
- [37] Joseph B, Jeschke G, Goetz BA, et al. Transmembrane gate movements in the type II ATP-binding cassette (ABC) importer BtuCD-F during nucleotide cycle. *J Biol Chem*, 2011, 286: 41008-17
- [38] Korkhov VM, Mireku SA, Locher KP. Structure of AMP-PNP-bound vitamin B-12 transporter BtuCD-F. *Nature*, 2012, 490: 367-72
- [39] Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 1989, 245: 1066-72
- [40] Theodoulou FL, Kerr ID. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43: 1033-40
- [41] Silverton L, Dean M, Moitra K. Variation and evolution of the ABC transporter genes ABCB1, ABCC1, ABCG2, ABCG5 and ABCG8: implication for pharmacogenetics and disease. *Drug Metabol Drug Interact*, 2011, 26: 169-79
- [42] Ansermot N, Rebsamen M, Chabert J, et al. Influence of *ABCB1* gene polymorphisms and P-glycoprotein activity on cyclosporine pharmacokinetics in peripheral blood mononuclear cells in healthy volunteers. *Drug Metab Lett*, 2008, 2: 76-82
- [43] Pajic M, Norris MD, Cohn SL, et al. The role of the multi-drug resistance-associated protein 1 gene in neuroblastoma biology and clinical outcome. *Cancer Lett*, 2005, 228: 241-6
- [44] Wang LL, Liu YH, Meng LL, et al. Phenotype prediction of non-synonymous single-nucleotide polymorphisms in human ATP-binding cassette transporter genes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2011, 108: 94-114
- [45] Jonker JW, Smit JW, Brinkhuis RF, et al. Role of breast cancer resistance protein in the bioavailability and fetal penetration of topotecan. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92: 1651-6
- [46] Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics*, 2008, 9: 105-27
- [47] Pinkett HW, Lee AT, Lum P, et al. An inward-facing conformation of a putative metal-chelate-type ABC transporter. *Science*, 2007, 315: 373-7
- [48] Verhalen B, Ernst S, Boersch M, et al. Dynamic ligand-induced conformational rearrangements in P-glycoprotein as probed by fluorescence resonance energy transfer spectroscopy. *J Biol Chem*, 2012, 287: 1112-27
- [49] Zarrabi N, Ernst S, Verhalen B, et al. Analyzing conformational dynamics of single P-glycoprotein transporters by Förster resonance energy transfer using hidden Markov models. *Methods*, 2014, 66: 168-79