

構造生物学

6. DNA認識

1

DNA結合蛋白質 (アクチベータ, リプレッサー)

HTHモチーフ 8, 9章

Znフィンガー 10章

ロイシンジッパー

2

蛋白質とDNAの結合

鍵 蛋白質のモチーフ
 HTH
 Znフィンガー
 ロイシンジッパー

鍵穴 DNA
 主溝と副溝のエッジ

3

HTHモチーフ

1つの HTH / subunit

第二ヘリックス = 認識

認識ヘリックス間 = 34 Å

4

ファージ成分合成の調整領域

オペレーター領域

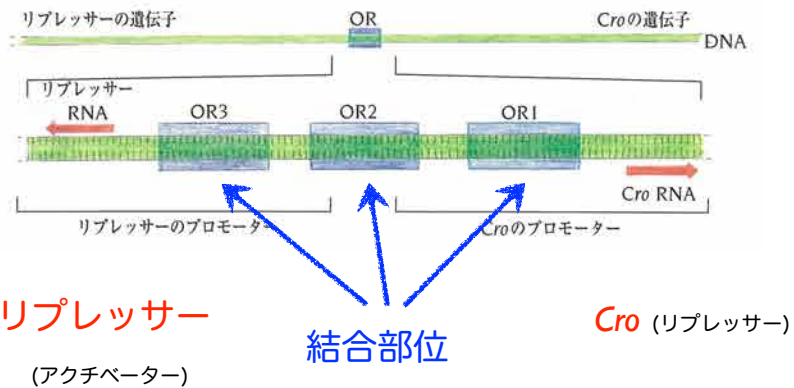


Fig. 8-1

機能：遺伝情報のスイッチ

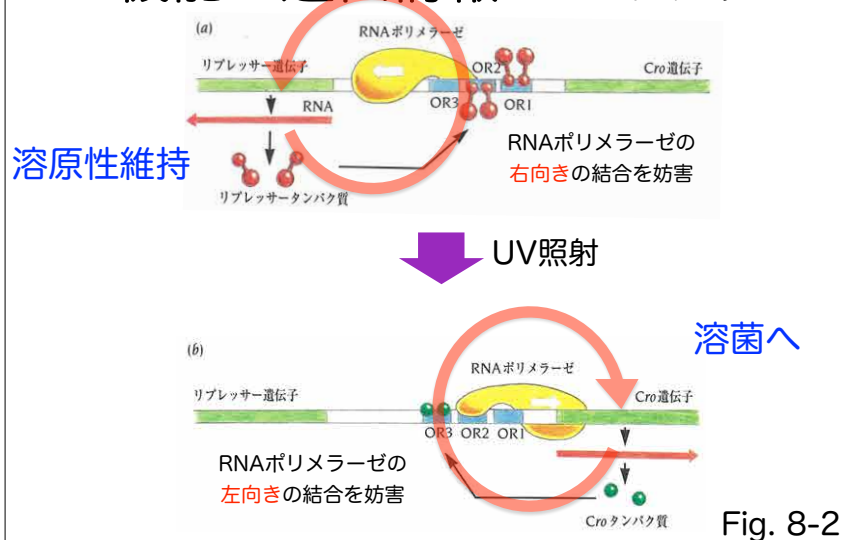


Fig. 8-2

オペレーター部位 結合のメカニズム

状況証拠 1

結合部位の回文配列

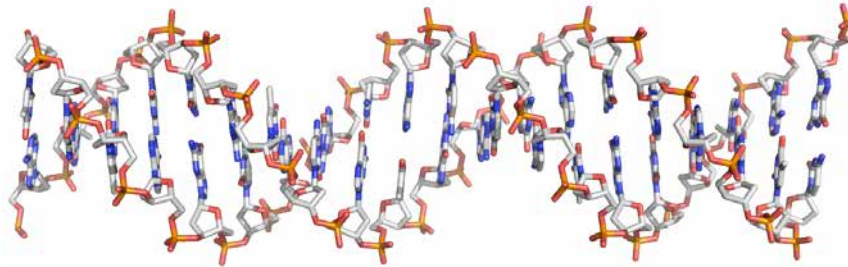
表 8-2 バクテリオファージλのオペレーターの3つのタンパク質結合部位

OR1, OR2, OR3の塩基配列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
OR1	5' T	A	T	C	A	C	C	G	C	A	G	T	G	G	T	A	3'	
	3' A	T	A	G	T	G	G	C	G	T	C	A	C	C	A	T	5'	
OR2	5' T	A	A	C	A	C	C	G	T	G	C	G	T	G	T	T	G	3'
	3' A	T	T	G	T	G	G	C	A	C	G	C	A	C	A	C	5'	
OR3	5' T	A	T	C	A	C	C	G	C	A	A	G	G	G	A	T	A	3'
	3' A	T	A	G	T	G	G	C	G	T	T	C	C	C	T	A	T	5'

DNAの構造 (B型) の復習

主溝間の距離は？



@20merDNA.txt

PDBID:
20merDNA

9

状況証拠2

λファージのCroの構造

$\alpha + \beta$ 型の
二量体

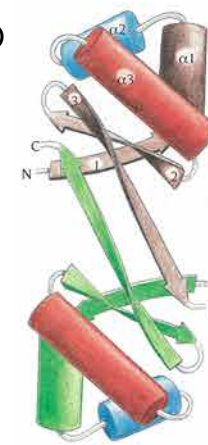


Fig. 8-4

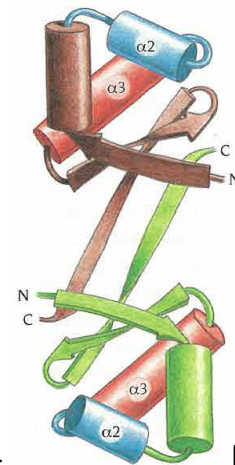


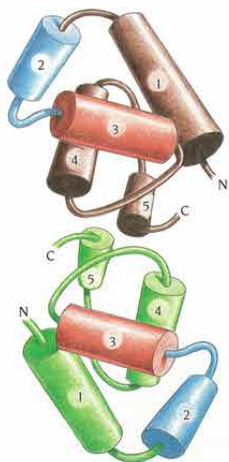
Fig. 8-9

10

状況証拠2'

λファージ・リプレッサーの構造

N末ドメインのみ



二量体
(形成はヘリックスによる)

Fig. 8-11

11

λファージのCroの構造

二量体

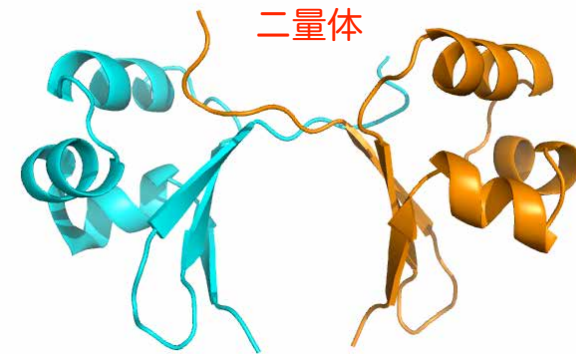


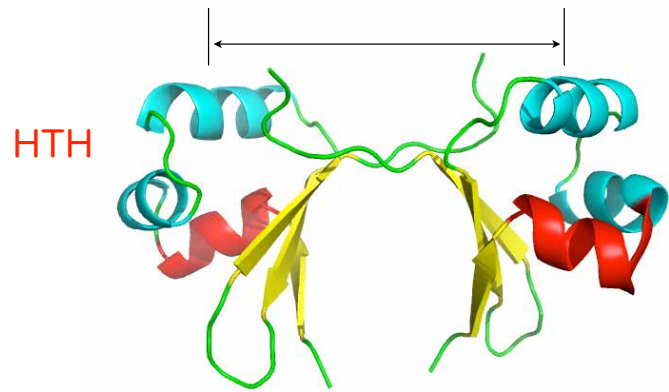
Fig. 8-3, 4, 5

@5cro-1.txt

PDBID: 5CRO

12

λ ファージのCroの構造



@5cro-2.txt

Fig. 8-3, 4, 5
PDBID: 5CRO

13

推定されたDNA結合メカニズ

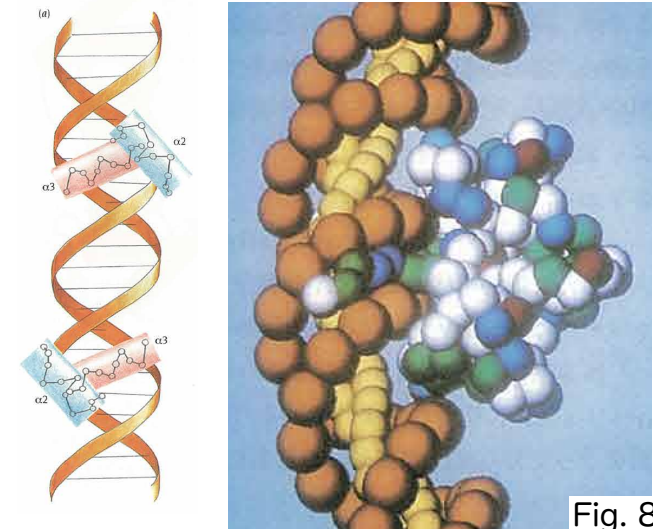


Fig. 8-9

14

実際のDNA結合状態の X線結晶構造解析

434ファージの結合部位

表 8-2 バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-OR3とOL1-OL3)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	G	T	T	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	T	C	A	A	A	C	A	5'	
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	C	A	5'	
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	A	C	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	T	G	A	C	A	5'

OR1 TATACAAGAAAGTTTGTACT
AAGTACAACCTTCTGAT

16

434ファージのリプレッサーとOR1の結合

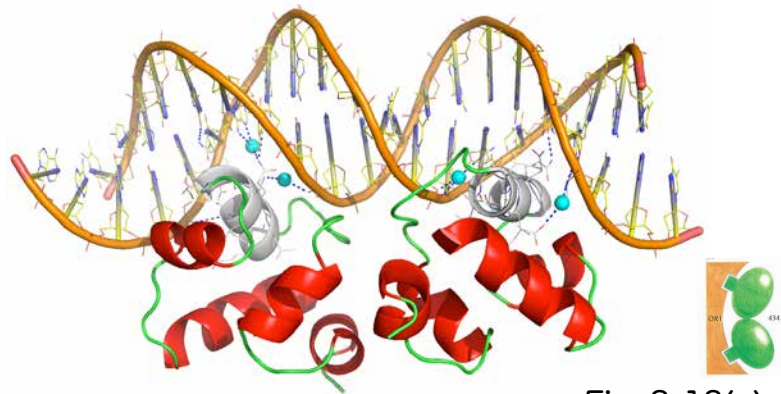


Fig. 8-13(a)
PDBID: 2or1

@2or1-1.txt

17

434ファージのCroとOR1の結合

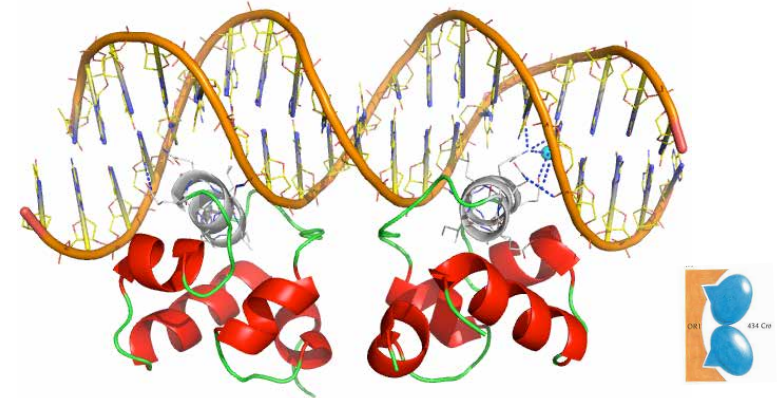


Fig. 8-13(b)
PDBID: 3CRO

@3cro.txt

18

434ファージの結合部位

表 8-2 バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-OR3とOL1-OL3)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	G	T	T	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	C	A	A	A	C	A	5'
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	T	G	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	A	C	5'
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	A	C	T	G	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	G	A	C	A	5'

OR3 TATACAAGAAAACTGTACT
AAGTACAGTTTCTGTAT

434ファージのリプレッサーとOR3の結合

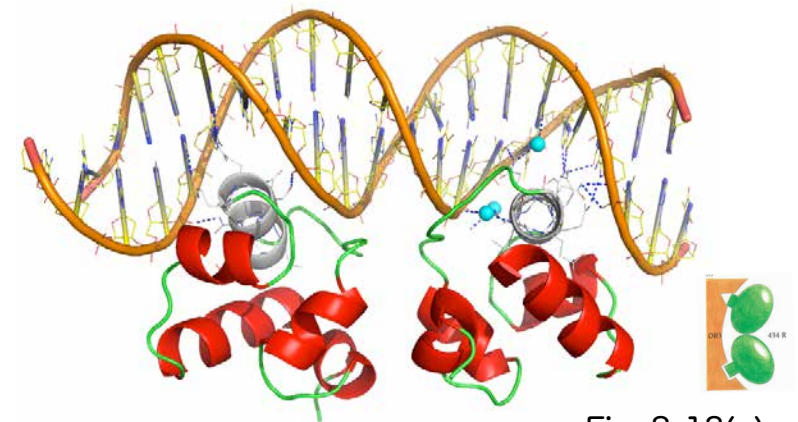


Fig. 8-13(a)
PDBID: 1per

@1per-1.txt

19

20

OR部位への特異的な結合

Gln 28, 29 の重要性

バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-OR3とOL1-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	G	T	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	C	A	A	A	C	5'	
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	A	C	5'	
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	A	C	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	T	G	A	C	A	5'

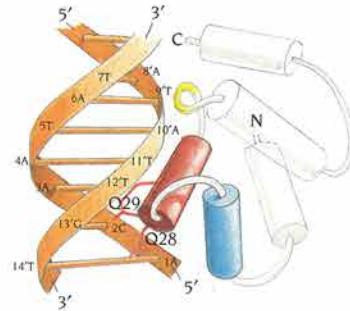


表 8-2

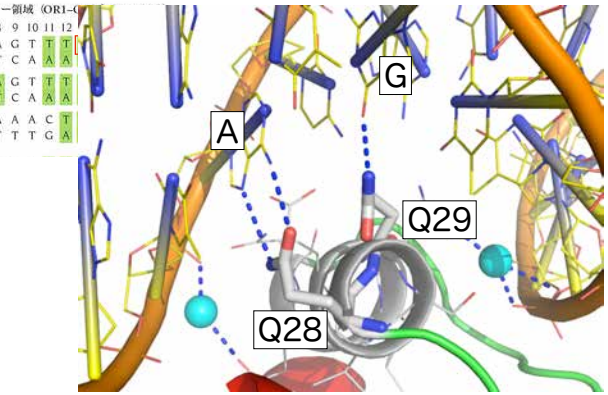
Fig. 8-15

OR共通配列特異的な結合

Gln 28, 29 の重要性

バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-

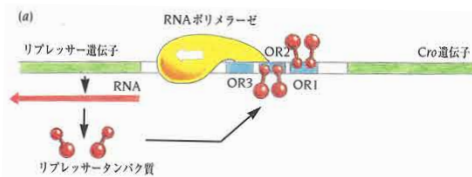
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	G	T	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	C	A	A	5'	
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	5'	
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	A	C	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	T	G	A	5'



@2or1-3.txt

PDBID: 2or1

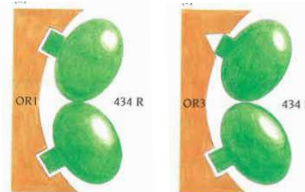
434リプレッサーのオペレータ領域の区別



OR1 > OR3

バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-OR3とOL1-OL3)

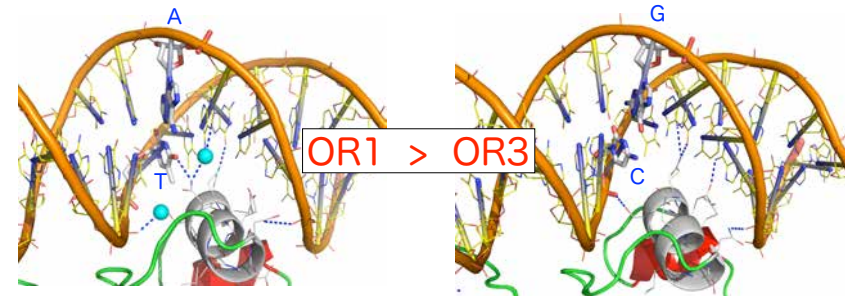
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	G	T	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	C	A	A	A	C	5'	
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	A	C	5'	
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	A	C	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	T	G	A	C	A	5'



434リプレッサーのオペレータ領域の区別

OR1 TATACAAGAAAGTTGTACT
AAGTACAACTTCTTAT

OR3 TATACAAGAAAACTGTACT
AAGTACGATTTTCTTAT



@2or1-2.txt

PDBID: 2or1

@1per-2.txt

PDBID: 1per

中央部の非特異的結合

2.5Å分解能

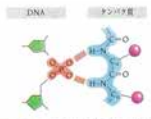
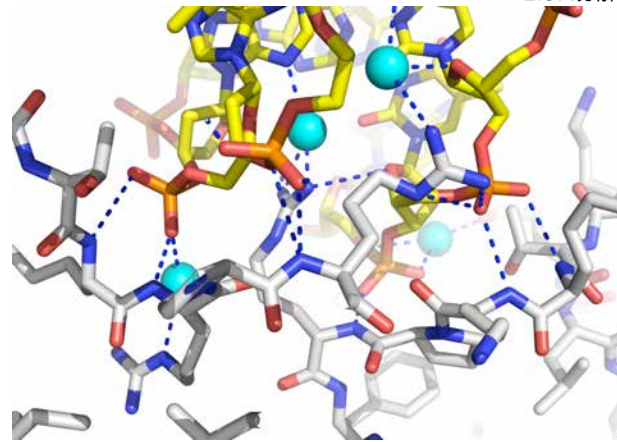


Fig. 8-16



@2or1-4.txt

PDBID: 2or1

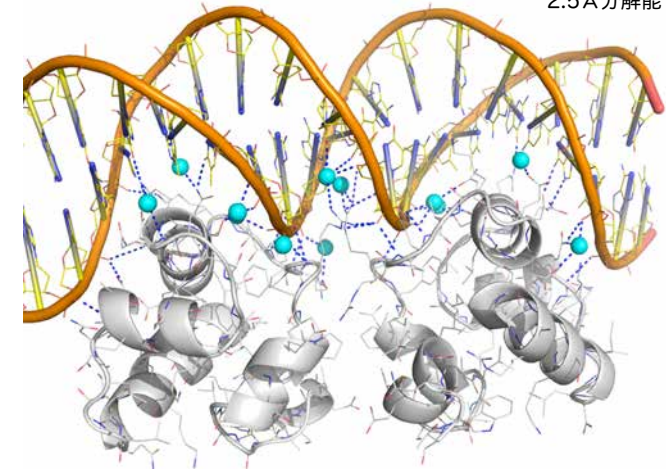
25

中央部の非特異的結合

2.5Å分解能



Fig. 8-17



@2or1-4.txt

PDBID: 2or1

26

3つの特徴

認識ヘリックスによる主溝への結合：HTH

認識ヘリックス間の距離：二量体構造

オペレータ領域の配列認識：

塩基対 4 (A-T)

中央部分の配列 (DNAの歪み)

27

転写制御因子の 結合とDNAの歪み

28

DNAの湾曲

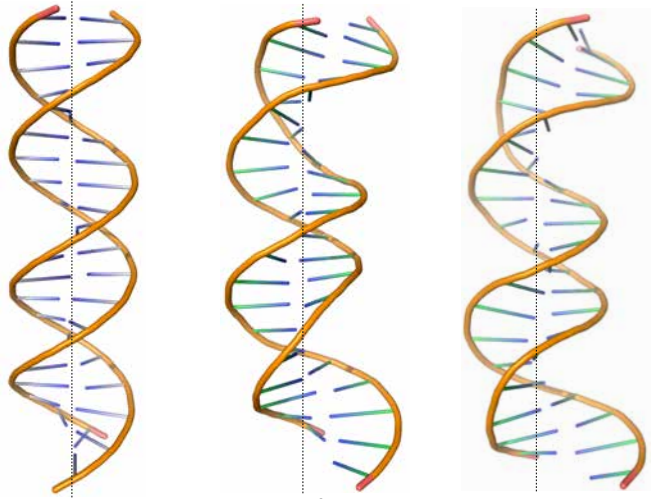


Fig. 8-12

434リプレッサー

Cro

29

結合の アロステリック調節

30

結合のアロステリック調節

*trp*リプレッサー

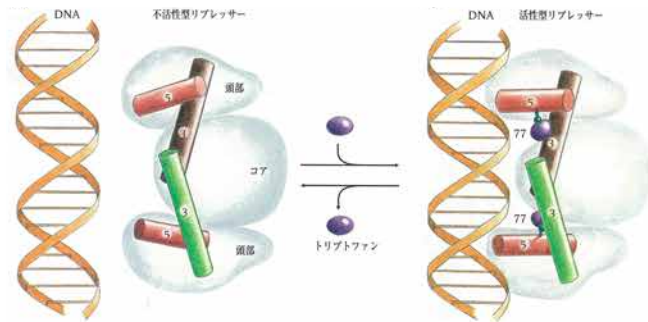
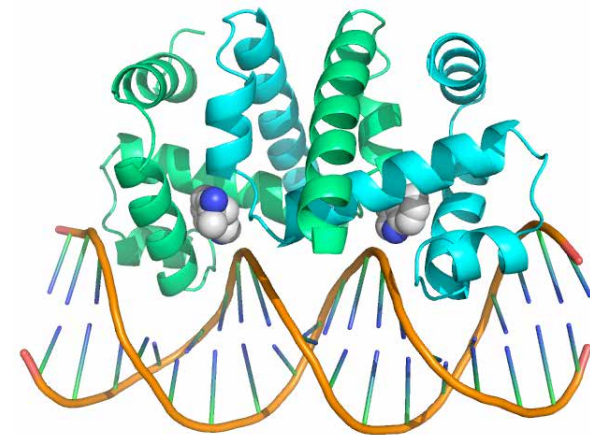


Fig. 8-20

31

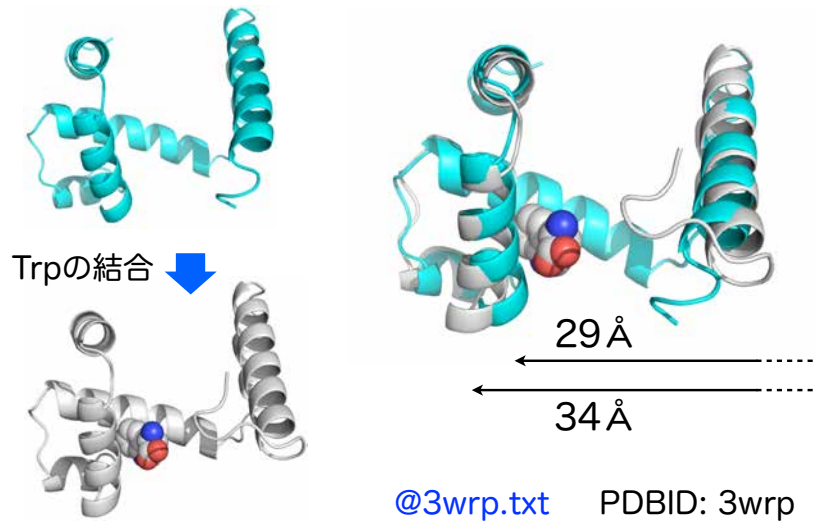
*trp*リプレッサーのDNA結合



PDBID: 1tro

32

Trp結合による *trp* リプレッサーの構造変化



33

Chap. 9, pp 160-164

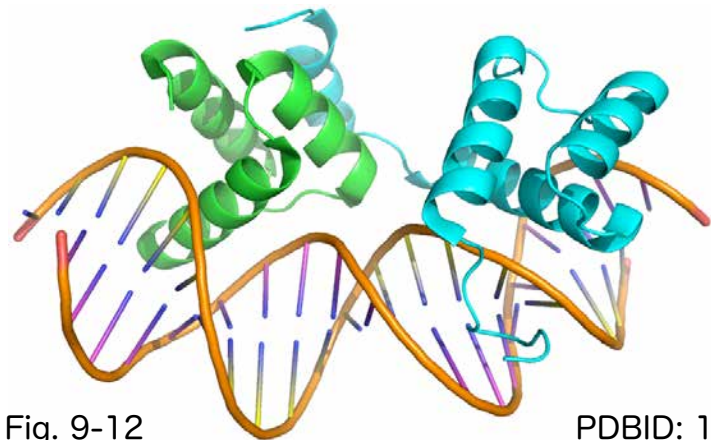
真核生物の

ホメオボックス転写因子

34

ホメオドメインとDNA結合

Mat $\alpha 1$ と Mat $\alpha 2$ のヘテロ二量体



35

結合後のDNAの構造変化 と転写活性

36

DNAの屈曲と転写制御

lacリプレッサー



Fig. 8-22

CAP



Fig. 8-24

lacリプレッサー, CAPによるDNAの屈曲

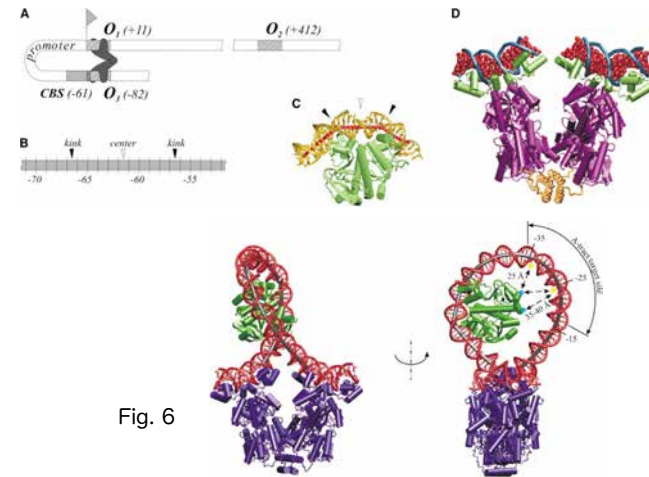
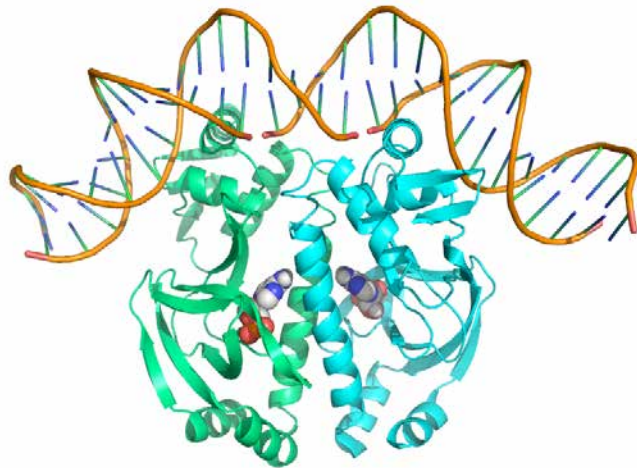


Fig. 1

Fig. 6

Balaeff, A et al., *Structure*, 12, 123-132 (2004)

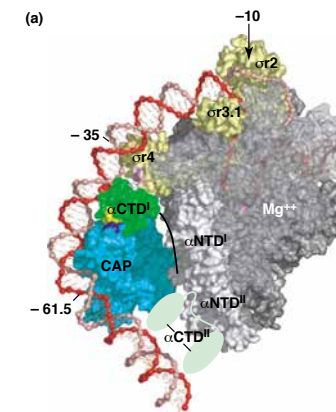
CAPによるDNAの屈曲



@1cgp.txt

PDBID: 1cgp

CAPの結合によるDNAの屈曲と転写



Lawson, CL et al., *Curr Op Struct Biol* 2004, 1-11

課題

バクテリオファージ434の6個のオペレーター領域 (OR1-OR3とOL1-OL3)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
OR1	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	G	T	T	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	C	A	A	A	C	A	5'
OR2	5'	A	C	A	A	G	A	T	A	G	T	T	T	G	T	3'
	3'	T	G	T	T	C	T	A	T	C	A	A	A	C	A	5'
OR3	5'	A	C	A	A	G	A	A	A	A	C	T	G	T	3'	
	3'	T	G	T	T	C	T	T	T	T	G	A	C	A	5'	

今回の範囲では特定のDNA配列を認識して結合するHTHモチーフの蛋白質の構造を見た。一方、リプレッサー等が結合するDNAは、表8-2で見られるように配列の中央部に A-T塩基対を持っている。なぜか？

この部分はリプレッサー等のHTHが直接結合しないが、これらをG-Cに置換すると結合能が低下する。