

## 29【P1】 I -074

大腸菌由来 DNA 修復蛋白質 Ada の Cys38 メチル化による機能スイッチ機構の解明  
○瀧之脇 浩人<sup>1</sup>, 松田 安弘<sup>1</sup>, 吉田 卓也<sup>1</sup>, 小林 祐次<sup>1</sup>, 大久保 忠恭<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 阪大院薬)

【目的】大腸菌 DNA 修復蛋白質 Ada の N 末ドメイン(N-Ada16k)は損傷を受けた DNA のメチル基を自身の Cys38 に転移することによって DNA 損傷を修復する。そして Cys38 がメチル化された N-Ada16k (meC38 N-Ada16k)は転写制御因子に機能をスイッチし DNA 修復に関わる *ada*, *alkA*, *aidB* 遺伝子のプロモーター領域に DNA 配列特異的に結合し転写の活性化及び抑制を行う。我々はこの機能スイッチ機構を原子レベルで解明するために N-Ada16k 並びに meC38 N-Ada16k の NMR による立体構造解を行い、DNA との複合体実験を行った。

【方法】<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N ダブルラベル化して精製した N-Ada16k 並びに meC38 N-Ada16k を用いて二次元及び三次元 NMR スペクトルを測定し、立体構造解析を行った。

【結果及び考察】約 1500 個の NOE を用いた立体構造計算の結果、N-Ada16k と meC38 N-Ada16k は中央にフレキシブルなループが存在した 2 ドメイン構造を形成していること、6 つの  $\alpha$ -ヘリックスと 4 つのストランドから成る 1 つの  $\beta$ -シートを持つことが明らかとなった。また N 末側の構造モチーフは新規のトポロジーであること、C 末側の 4 本のヘリックスに転写制御因子に普遍的に見出されるヘリックスターンヘリックス構造が存在することを見出した。また、両者間での立体構造比較を行ったところ、N 末側、特に Cys38 近傍の  $\beta$ -シート付近が局所的に変化しており、C 末領域にはほとんど構造変化がないことが明らかとなった。Cys38 のメチル基選択的な NMR 実験から、meC38 N-Ada16k では付加されたメチル基による蛋白質内部への hydrophobic core の形成が確認された。以上のことから Ada 蛋白質の Cys38 メチル化による機能スイッチ機構を考察する。