

# 放線菌由来の転写調節因子 AdpA の X 線結晶構造解析 X-ray crystal structure analysis of the global transcription factor AdpA in *Streptomyces griseus*

姚明東, 大塚淳, 永田宏次, 宮園健一, 支月華, 大西康夫, 田之倉優\*

東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Ming Dong Yao, Jun Ohtsuka, Koji Nagata, Ken-ichi Miyazono,

Yuehua Zhi, Yasuo Ohnishi and Masaru Tanokura\*

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi,  
Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

## 1 はじめに

放線菌 *Streptomyces griseus* は特徴的な形態分化を行うこと及び二次代謝によって医薬品などの有用物質を生産することが広く知られている。転写因子 AdpA はその形態分化と二次代謝を司るグローバルな転写因子であり、A-factor 制御カスケードにおいて中心的な役割を担っている。

AdpA は、その二量体化に関与する N 末端側の二量体化ドメインと、C 末端側の 2 つの helix-turn-helix (HTH) モチーフを特徴とする DNA 結合ドメインからなる。AdpA が結合するコンセンサス配列は、5'-TGGCSNGWWY-3' (S: G or C; W: A or T; Y: T or C; and N: any nucleotide) という 10 bp 長の塩基配列である。AdpA は非常に低い塩基認識特異性を持ち、500 以上の遺伝子群の転写調節領域に結合して、それらの遺伝子群の転写を直接制御すると考えられている。

本研究では、AdpA の認識配列特異性が低いという性質が、どのようなメカニズムで実現されているのかを明らかにするため、AdpA の DNA 結合ドメインと DNA との複合体の結晶構造を決定し、AdpA による転写調節機構を原子レベルで解明することを目的とした。

## 2 実験

AdpA の DNA 結合ドメイン(AdpA-DBD)と 10 bp のコンセンサス配列を含む 2 種類の dsDNA (DNA type I と type II)との複合体の結晶について、Photon Factory Advanced Ring NE3Aにて各複合体の X 線回折データを取得し、2.95 Å 分解能の結晶構造を決定した。

## 3 結果および考察

AdpA-DBD の N 末端側の HTH motif に含まれる  $\alpha$  ヘリックスが dsDNA の主溝に深く入り込むように結合し、 $\alpha$  ヘリックスに含まれるアミノ酸残基の側鎖と塩基の間に相互作用が見られた。C 末端側の HTH motif は N 末端側ほど深くは dsDNA の主溝に入り込んでおらず、塩基配列の認識には関わってい

ないことが示唆された。この構造は AraC/XylS ファミリーの転写調節因子の DNA 認識機構に共通にみられる特徴である。

AdpA-DBD-DNA (DNA type I)および AdpA-DBD-DNA (DNA type II)複合体の結晶構造から、10 bp のコンセンサス配列のうち、5'側から 2 番目の G と 4 番目の C のみが、それぞれアミノ酸残基 Arg-262 と Arg-266 によって認識されていることが明らかとなった。AdpA の変異体および dsDNA の変異体を用いた結合解析により、これらのアミノ酸残基と塩基に間の相互作用が、AdpA-DBD と dsDNA の間の強固な複合体形成に必須であることが示された。この結果から、AdpA は 10 bp のコンセンサス配列のうち 2 番目の G と 4 番目の C のみを認識しており、500 以上の遺伝子の転写調節領域を認識することができる と推測された。

## 4 まとめ

AdpA-DBD と標的 DNA の複合体の結晶構造を決定し、AdpA の認識配列特異性が低いという性質を説明する分子認識機構を明らかにした。

## 謝辞

Photon Factory のビームラインスタッフの皆様へたいへんお世話になりました。心より感謝申し上げます。

## 参考文献

Yao, M. D., Ohtsuka, J., Nagata, K., Miyazono, K., Zhi, Y., Ohnishi, Y. and Tanokura, M. (2013). Complex structure of the DNA-binding domain of AdpA, the global transcription factor in *Streptomyces griseus*, and a target duplex DNA reveals the structural basis of its tolerant DNA sequence specificity. *J. Biol. Chem.* **288**, 31019-31029.

\* amtanok@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp