

7 Anhang

7.1 Zum ATPase-Assay

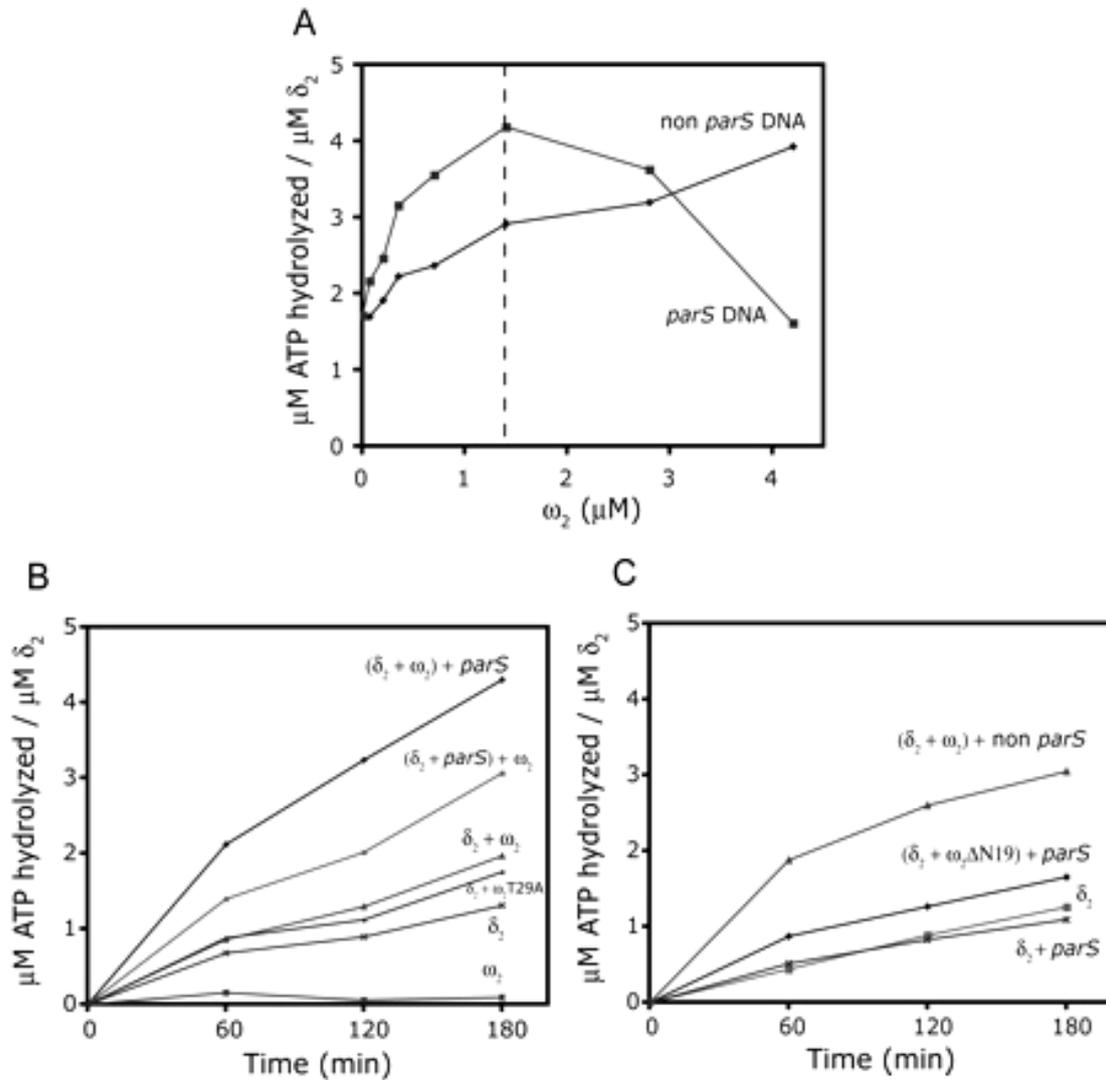


Abb. I (F. Pratto, pers. Mitteilung) ATPase-Aktivität von δ_2 in Gegenwart von ω_2 , *parS*-DNA und non-*parS*-DNA. **A**) δ_2 zeigt eine schwache basale ATPase-Aktivität, welche in Gegenwart von *parS*-DNA mit der Erhöhung der ω_2 -Konzentration (bis $\sim 1,5 \mu\text{M}$) ansteigt. Die ATPase-Aktivität von δ_2 reduziert sich um ca. 50 %, wenn die Reaktion in Gegenwart von der non-*parS*-DNA durchgeführt wird. **B**) Die ATPase-Aktivität von δ_2 allein, nach der Prä-Inkubation mit ω_2 , $\omega_2\text{T29A}$ [$\delta_2 + \omega_2$] oder [$\delta_2 + \omega_2\text{T29A}$], oder nach der Zugabe vom ω_2 -präformierten δ_2 -*parS*-Komplex [$(\delta_2 + \textit{parS}) + \omega_2$]. **C**) Die ATPase-Aktivität von δ_2 allein, nach der Prä-Inkubation mit ω_2 in Gegenwart von nicht-spezifischer DNA [$(\delta_2 + \omega_2) + \textit{non parS}$] oder nach der Prä-Inkubation mit $\omega_2\Delta\text{N19}$ und *parS*-DNA [$(\delta_2 + \omega_2\Delta\text{N19}) + \textit{parS}$] oder ohne ω_2 [$\delta_2 + \textit{parS}$].

7.2 Primärsequenz-Vergleich von δ

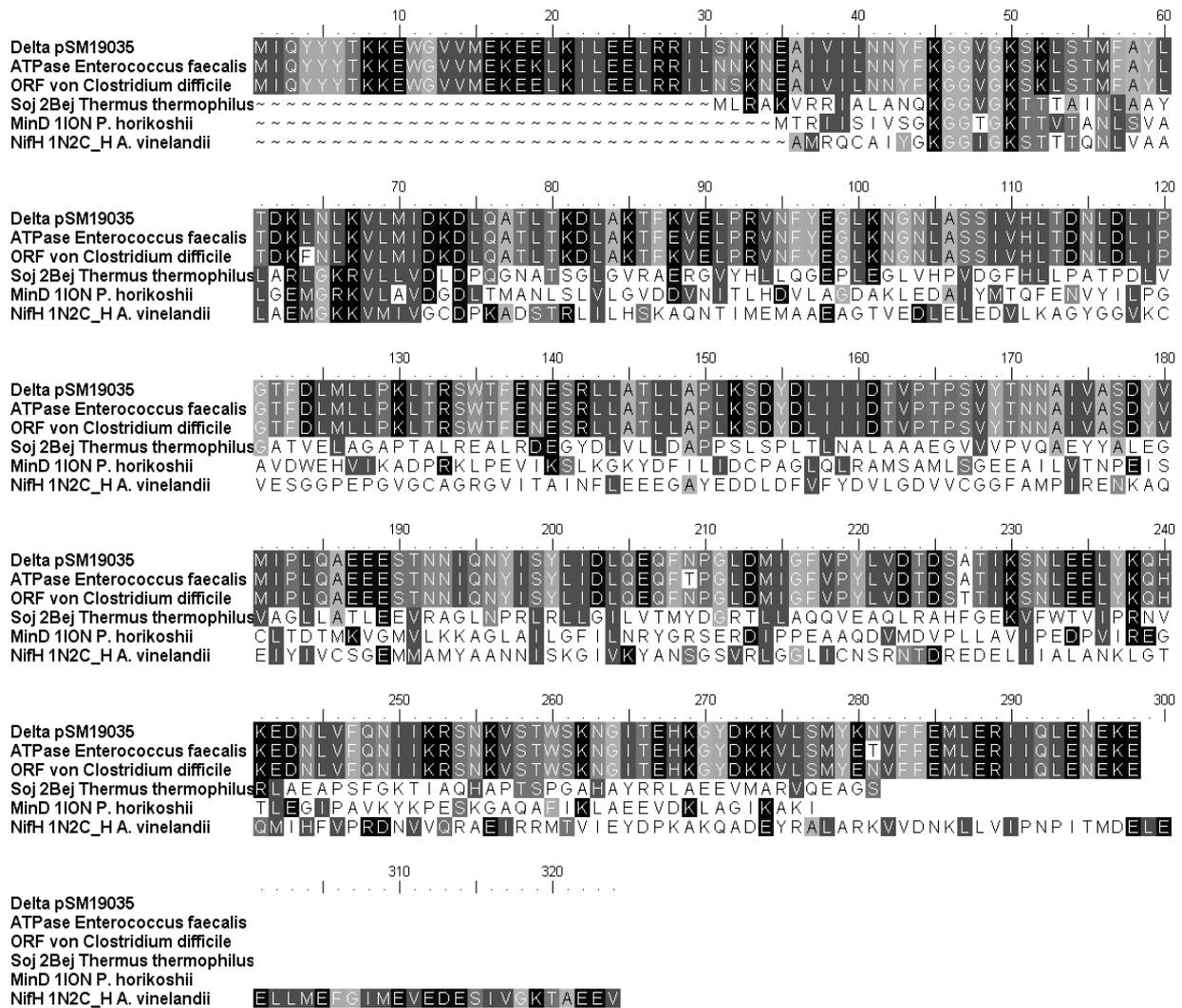


Abb. II Primärsequenzvergleich (BLAST-Search) von ORF- δ (Delta) mit den ORF von *Enterococcus faecalis* und *Clostridium difficile* (fast identische AS-Sequenz) und den strukturell bekannten Parahomologen Proteinen wie Soj von *Thermus thermophilus*, MinD von *Pyrococcus horikoshii* und NifH von *Azotobacter vinelandii*. Die in Graustufen markierten Bereiche stellen identische Aminosäuren des jeweiligen Proteins dar, während die nicht markierten (weißer Hintergrund) Bereiche auf die nicht überlagerten Stellen deuten.

7.3 Gel-Shift-Assay (von F. Pratto)

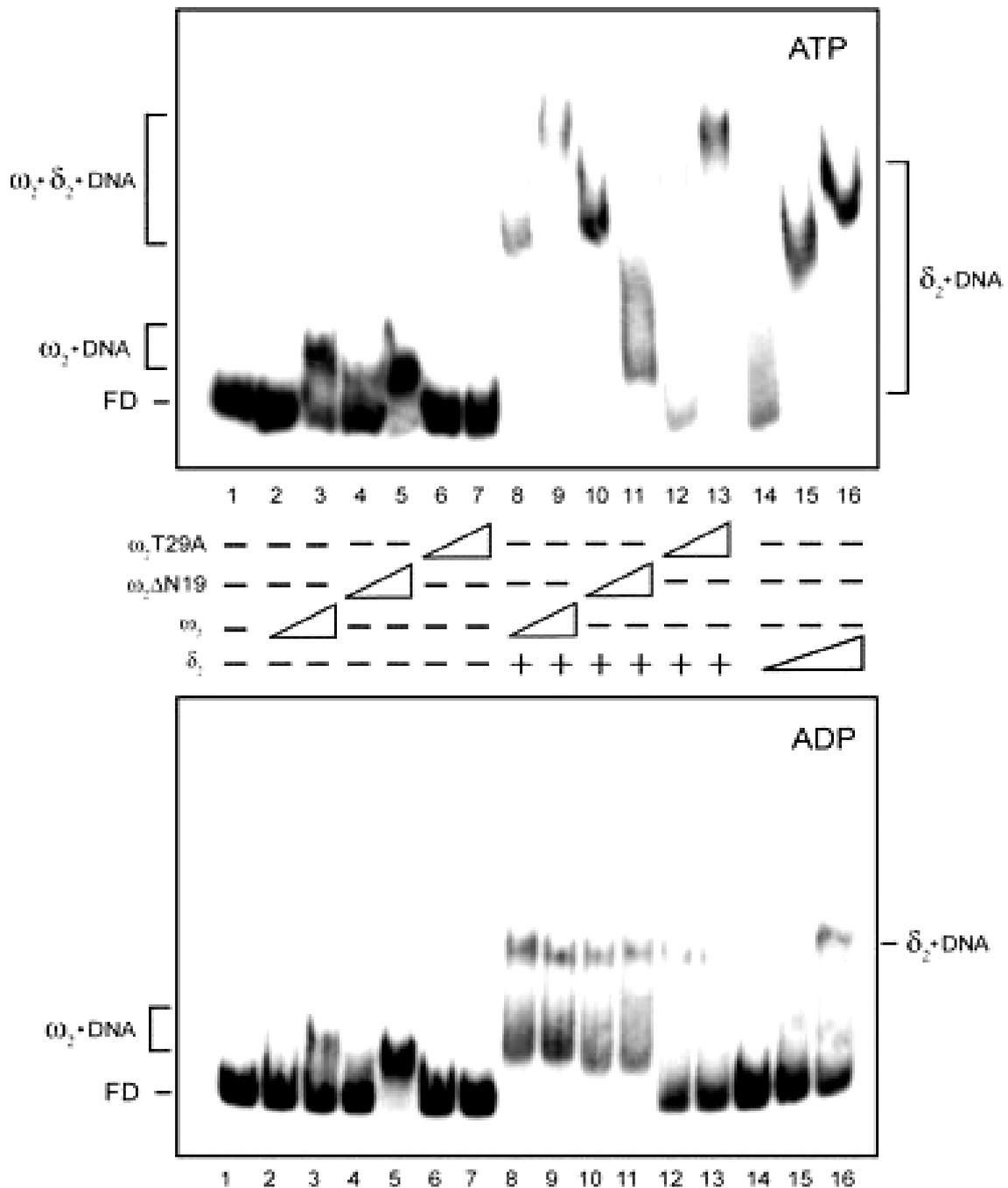


Abb. III (F. Pratto, pers. Mitteilung) Gel-Shift-Assays der δ_2 - ω_2 -*parS*-DNA-Interaktion in Gegenwart von 0,05 mM ATP (oben) oder 0,05 mM ADP (unten). In dem oberen 4 %en nicht-denaturierenden SDS-PAGE wurden die unterschiedlichen ω -Proteine (ω_2 , $\omega_2\Delta N19$ und ω_2 T29A) in ihrer Interaktion mit 0,2 nM *parS*-DNA (423-bp [α - 32 P]-*Hind*III-*Kpn*I) und δ_2 -Protein überprüft. Die rechtwinkligen Dreiecke symbolisieren die steigende ω_2 - und δ_2 -Konzentration (2 und 4 μ M für ω_2 ; 1, 2 und 4 μ M für δ_2) des jeweiligen Proteins. In dem unteren Gel wurden alle Proteine in Gegenwart von ADP getestet.

7.4 Kristallkontakte in der Monomer-Monomer-Grenzfläche

Tabelle I Kontakte in der Monomer-Monomer-Grenzfläche der Struktur $[\delta\text{-ATP}\gamma/\text{Mg}^{2+}]_2$. Gelistet sind die Wasserstoffbrücken und hydrophobe Kontakte zwischen dem P-Loop der Kette A' und dem der Kette B' sowie zwischen H6 und H9 der Kette A' und H6 und H9 der Kette B' des Komplexes $[\delta\text{-ATP}\gamma/\text{Mg}^{2+}]_2$. Die mit „***“ gekennzeichneten H-Brücken haben einen Abstand $>3.3 \text{ \AA}$.

AS-Rest	Kette (A) Atom	AS-Rest	Kette (B) Atom	Distanz [\AA]
P-Loop-Phe44	O	P-Loop-Gln76	NH2	3.44 ***
P-Loop-Gly46	N	P-Loop-Gln76	O1	2.86
P-Loop-Gln76	O1	P-Loop-Gly46	N	2.86
P-Loop-Gln76	N2	P-Loop-Phe44	O	3.44 ***
H6-Lys130	NZ	H9-Asp203	O1	3.21
H6-Arg133	NH1	H9-Asp203	O1	3.20
H6-Arg133	NH1	H9-Asp203	O2	3.04
H6-Arg133	NH2	H9-Asp203	O2	2.85
H9-Asp203	O1	H6-Arg133	NH1	3.20
H9-Asp203	O2	H6-Arg133	NH1	3.04
H9-Asp203	O2	H6-Arg133	NH2	2.85
H9-Asp203	O1	H6-Lys130	NZ	3.21