

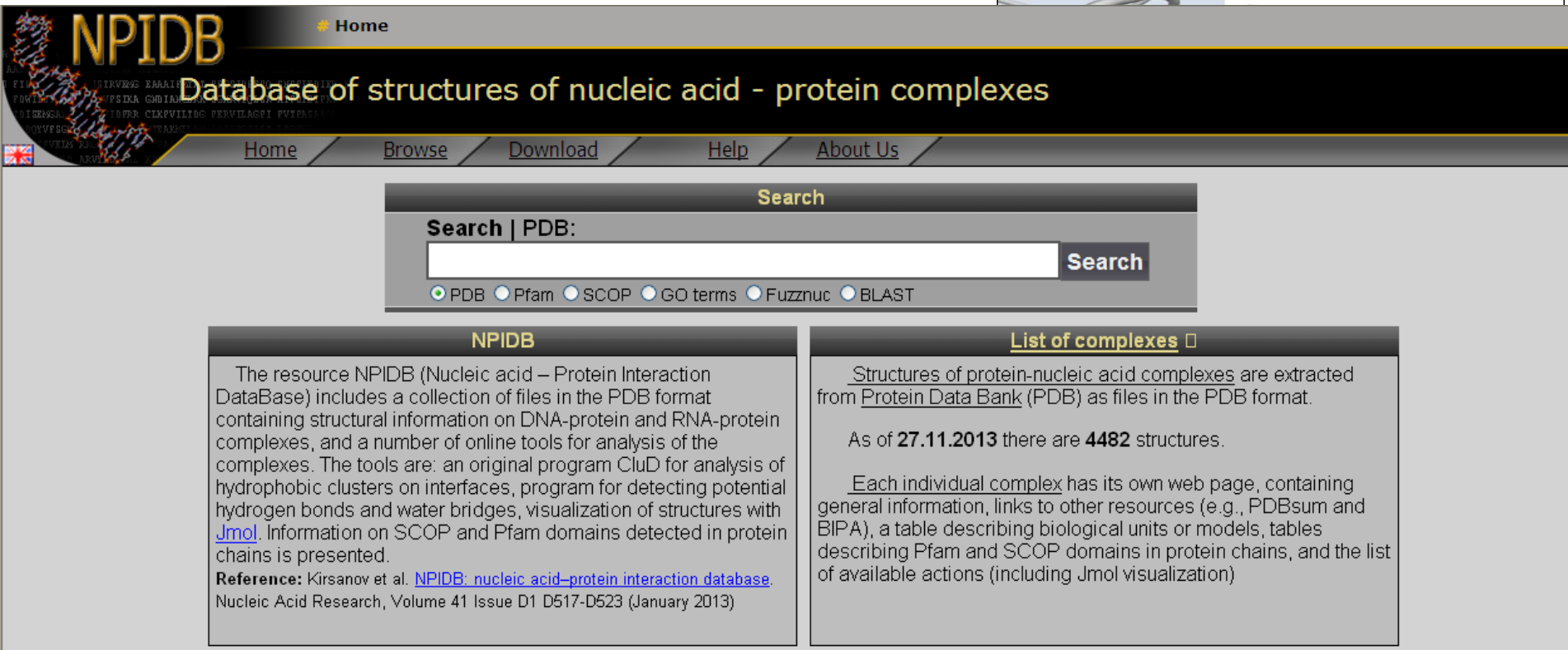
DNA-proteinové komplexy

Komplexy spojené s transkripcí (až 5% genomu)

Komplexy podílející se na opravě DNA

Chromatinové strukturní komplexy

2500 struktur v PDB (v roce 2014)



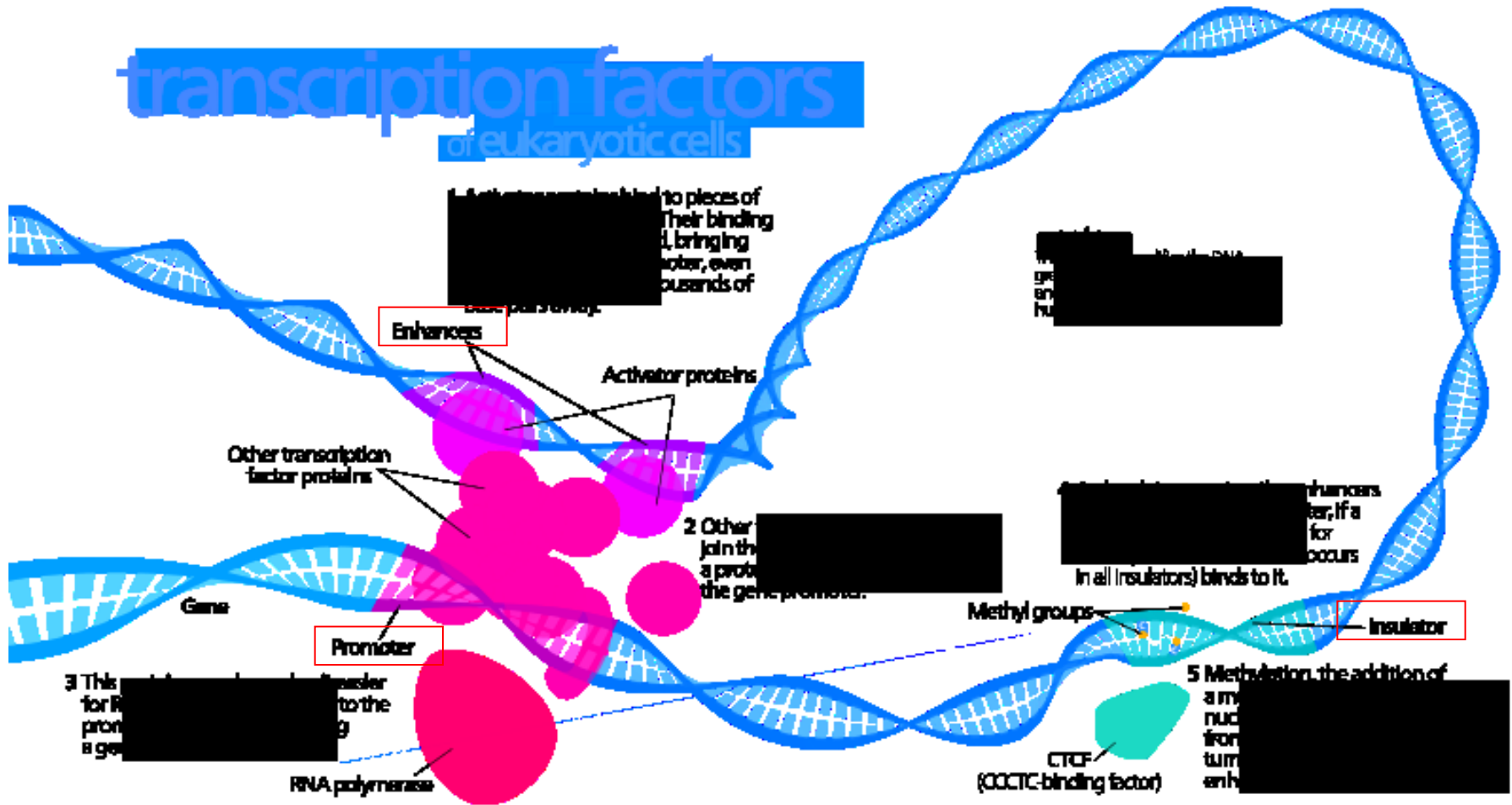
The screenshot shows the NPIDB website. At the top left is the NPIDB logo with a DNA helix. The main header reads "Database of structures of nucleic acid - protein complexes". Below this is a navigation menu with links for Home, Browse, Download, Help, and About Us. A search bar is prominently displayed, labeled "Search | PDB:", with a search button and radio buttons for PDB, Pfam, SCOP, GO terms, Fuzznuc, and BLAST. Below the search bar are two columns of text. The left column, titled "NPIDB", describes the database's content and tools, and includes a reference to Kirsanov et al. (2013). The right column, titled "List of complexes", explains that structures are extracted from the PDB and provides the count of 4482 structures as of 27.11.2013, along with a description of the information available for each complex.

<http://npidb.belozersky.msu.ru/>

Bi7015 - Chemické vlastnosti, struktura a interakce nukleových kyselin (doc. Fojta a prof. Palecek)

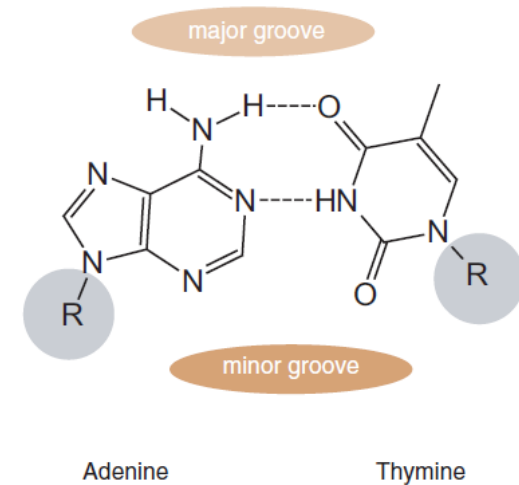
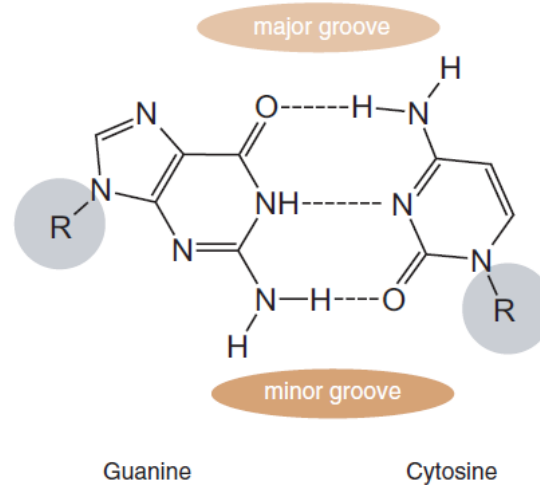
Komplexy spojené s transkripcí

DNA-vazebné motivy specifických transkripčních faktorů (enhanceosom)
Obecné TFII komplexy a proces transkripce

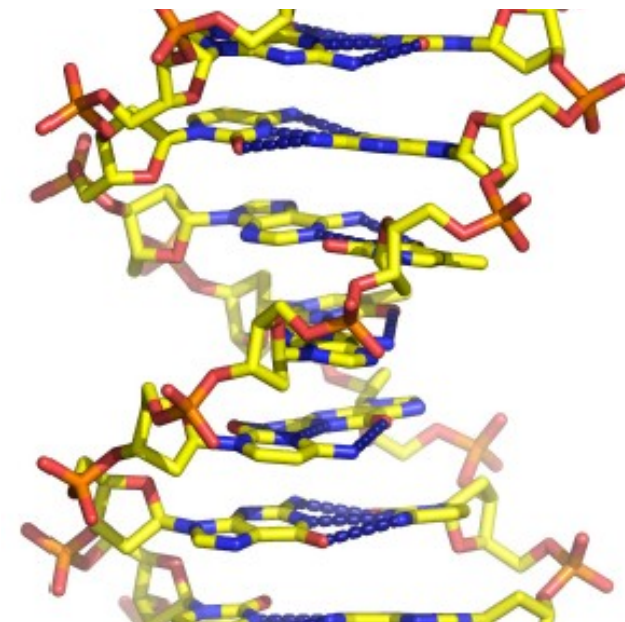


Enhanceosom

Tvarová a nábojová specifita DNA determinuje typy DNA-vazebných domén (oproti velké rozmanitosti protein-proteinových interakčních domén)



- proteiny interagují s cukrfosfátovou kostrou (fosfát) nebo přes žlábký s bazemi
- Interakce sekvenčně nespecifické (kostra – histony; strukturně specifické - HMG proteiny) nebo sekvenčně specifické (kostra+žlábký – kombinace: *Bgl*II (AGATCT) a *Bam*HI (GGATCC) kontaktují stejné báze a „čtou“ zakřivení okolní DNA ...)



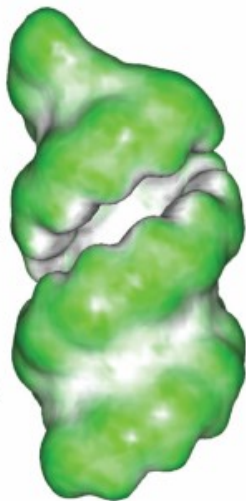
„shape readout“
zakřivení kostry souvisí se sekvencí

curvature

major groove

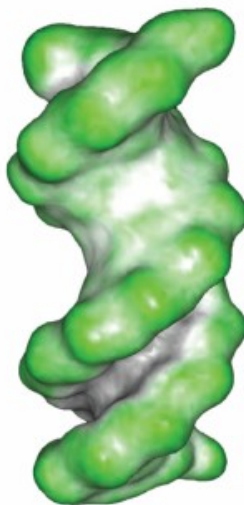
minor groove

a



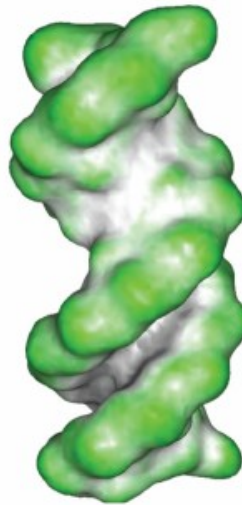
A-DNA (GC)

b



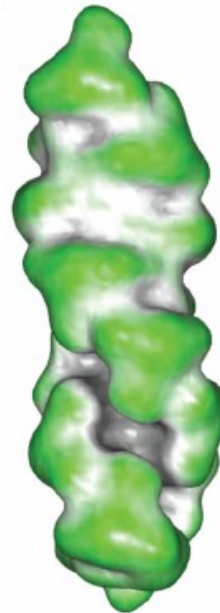
B-DNA (GC)

c

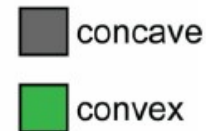


B-DNA (AT)

d



Z-DNA (GC)

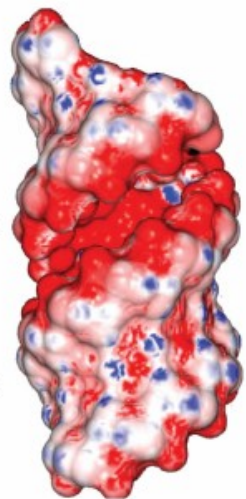


electrostatics

major groove

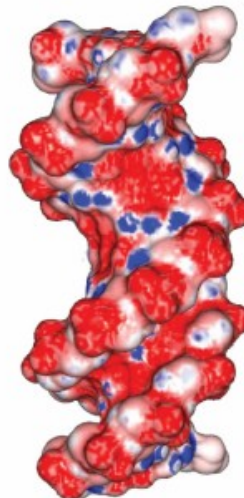
minor groove

e



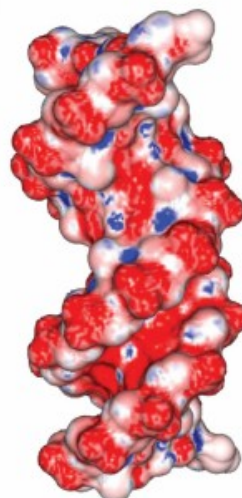
A-DNA (GC)

f



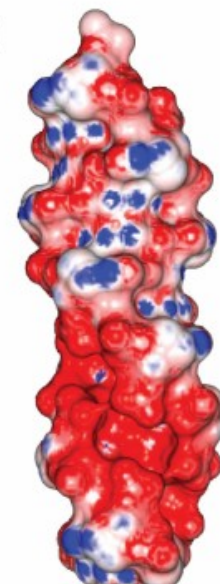
B-DNA (GC)

g

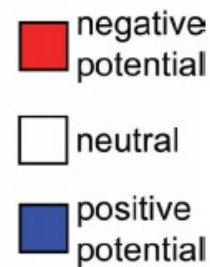


B-DNA (AT)

h



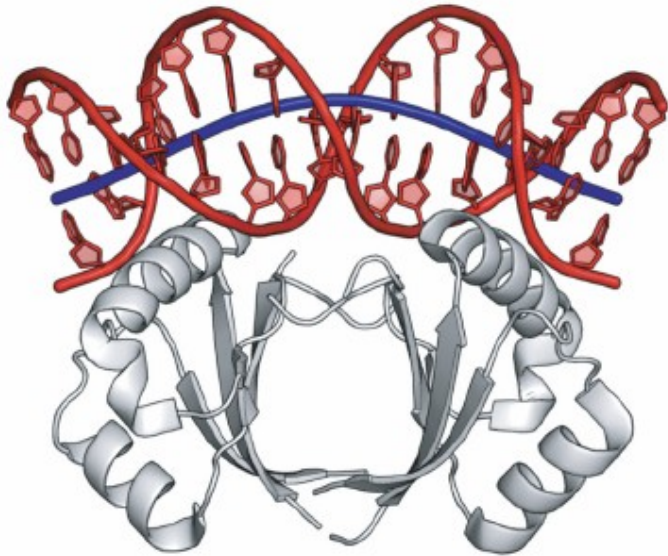
Z-DNA (GC)



„shape readout“
zakřivení kostry - souvisí se sekvencí a prostředím

Vazba DNA-protein může indukovat změny

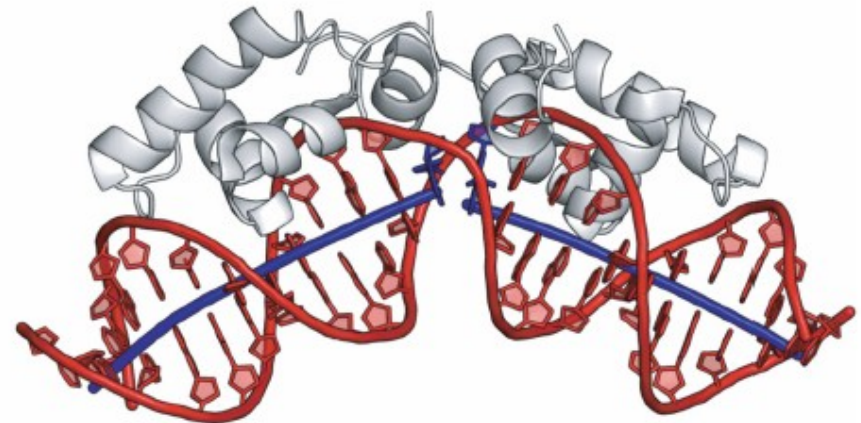
a



Bend

1jj4 (... např. histony)

b



Rohs et al, Annu Rev Bioch, 2010

Kink

2kei, Lac represor
(Leu do malého žlábků)

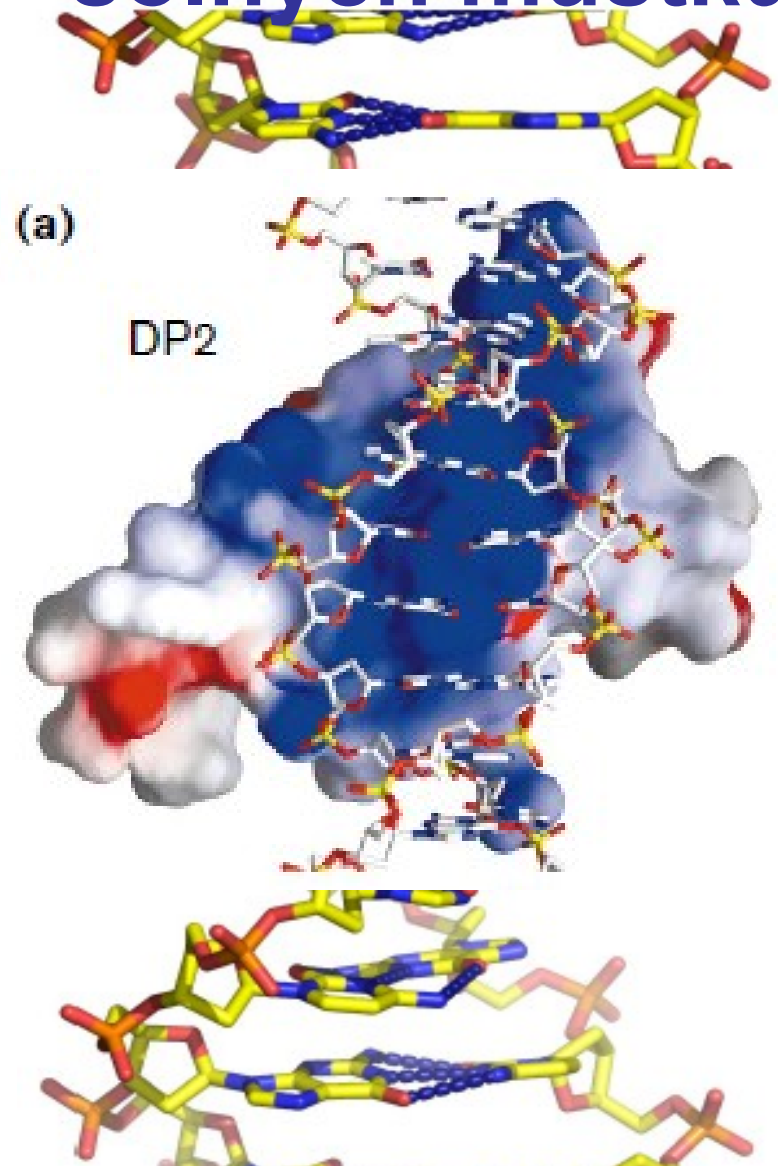
- vazba proteinu může indukovat změny ve struktuře DNA
- vazba DNA na protein často indukuje změny v jeho struktuře
- případně u nestrukturovaných proteinů strukturu indukuje (c-Jun/c-Fos = šroubovice až po navázání dimeru na DNA)

Vazba proteinů s DNA prostřednictvím solných můstků

- fosfáty mohou interagovat s **Arg** a **Lys** – solné můstky/salt bridges (pozitivní náboje Arg a Lys vytváří vazbu s negativním nábojem fosfátové skupiny)
- Elektrostatický náboj/povrch naznačuje vazebné schopnosti proteinu

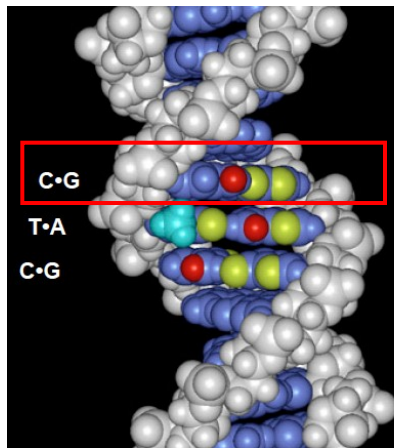
Table 2. The simplified relative charge set defined from CHARMM (10) used in the calculation of the electrostatic potential of atoms in the DNA-binding proteins

Atom type (PDB entry)	Residue	Relative charge
NZ	Lys	1.00
NH1	Arg	0.50
NH2	Arg	0.50
OE1	Glu	-0.50
OE2	Glu	-0.50
OD1	Asp	-0.50
OD2	Asp	-0.50
OXT	All residues	-1.00
N	All residues	-0.10
CA	All residues	0.10
C	All residues	0.55
O	All residues	-0.55

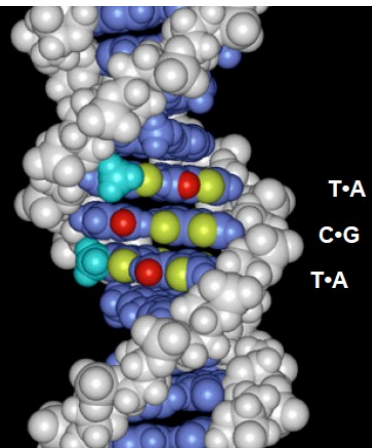


Gajiwala & Burley, COiSB, 2000

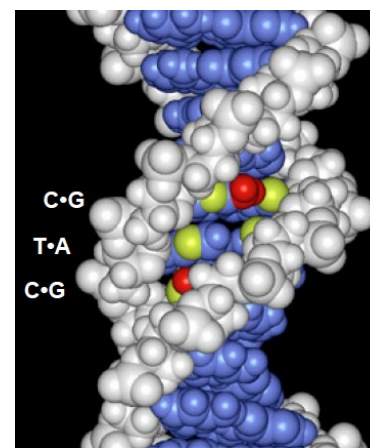
Major groove



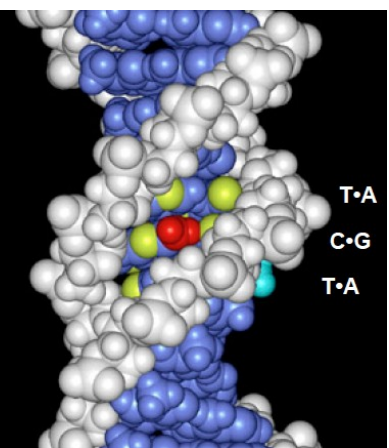
Major groove



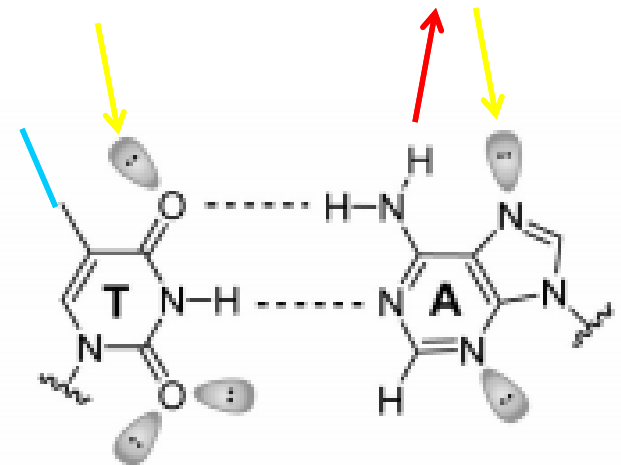
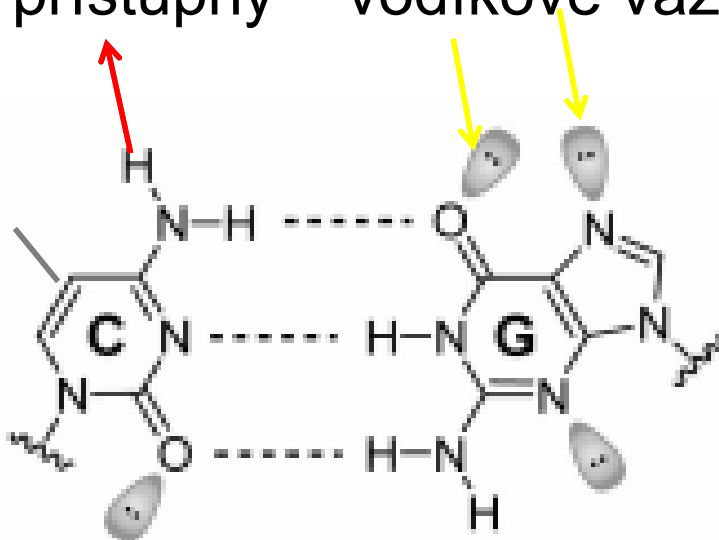
Minor groove

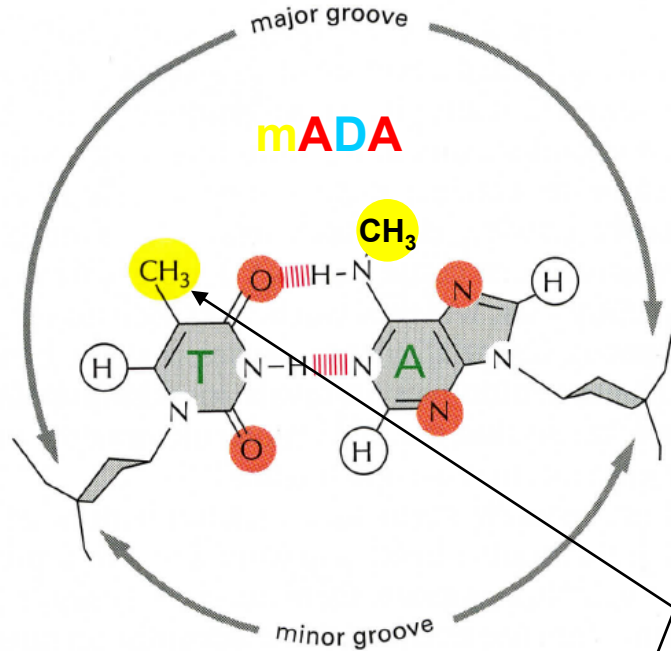
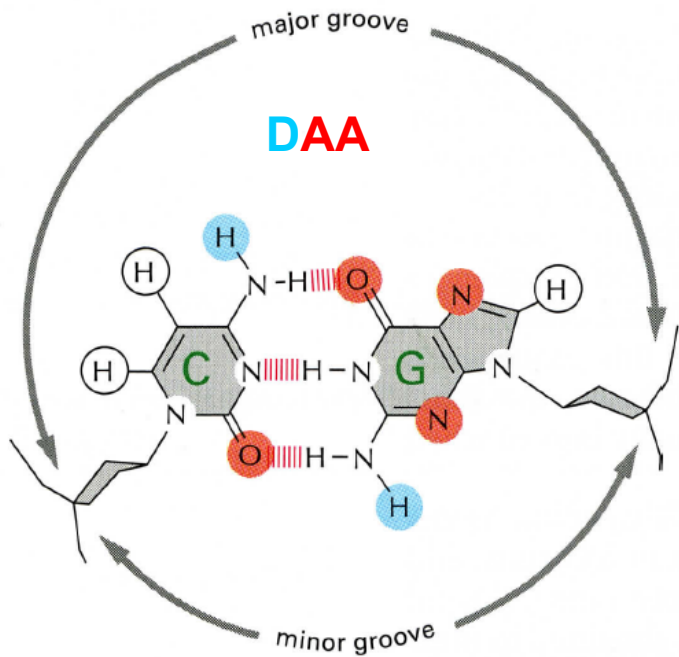


Minor groove



sekvenčně-specifický protein kontaktuje báze („direct“ readout) – skrze velký nebo malý žlábek – **velký žlábek** je lépe přístupný – vodíkové vazby (donor vs akceptor elektronu)

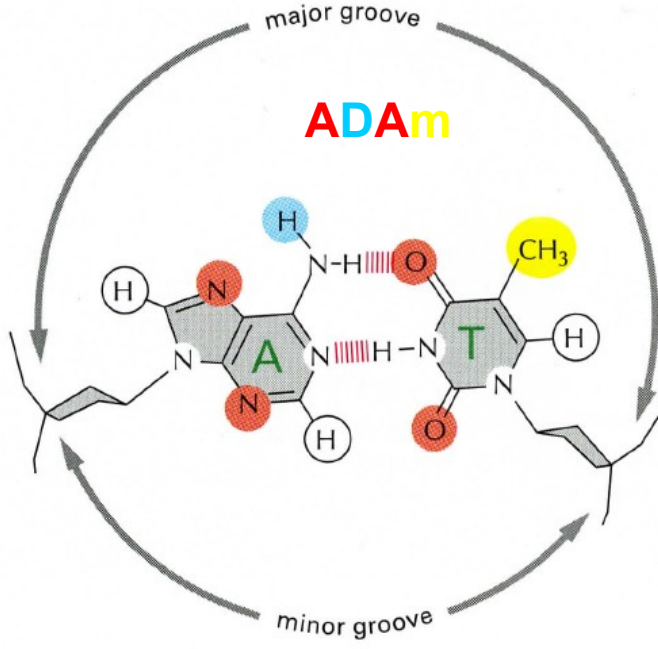
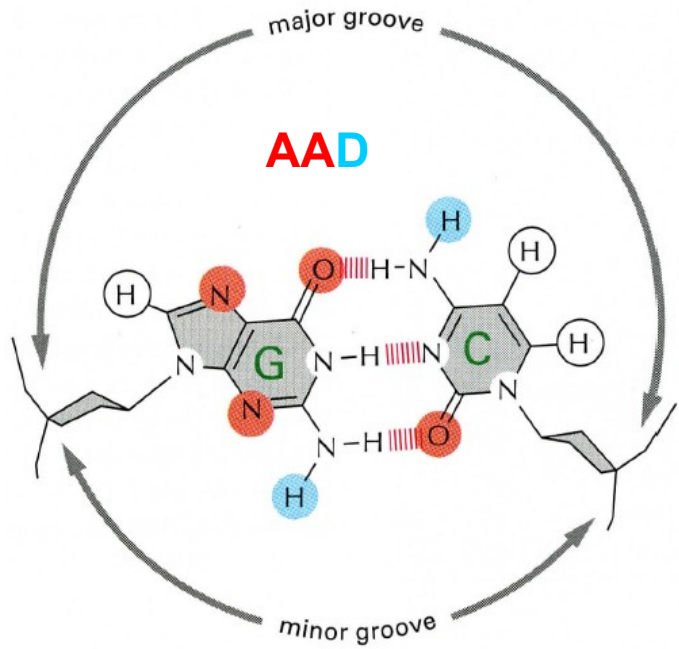




Jak odliší
protein různé
páry bází?




“base readout”

Pozice donor vs
akceptor
+ metyl skupina



Metylace A(6) u
bakterií změna!

KEY:

-  = H-bond acceptor
-  = H-bond donor
-  = hydrogen atom
-  = methyl group

Vazba proteinů s DNA prostřednictvím vodíkových vazeb

- Velký žlábek má velikost odpovídající rozměrům α -šroubovice a má exponované H-vazebné skupiny
- Ade zbytky C-6 a N-7 mohou tvořit specifické vodíkové vazby s **Gln** a **Asn**
- Cyt-Gua pár může tvořit specifické vodíkové vazby s **Arg**

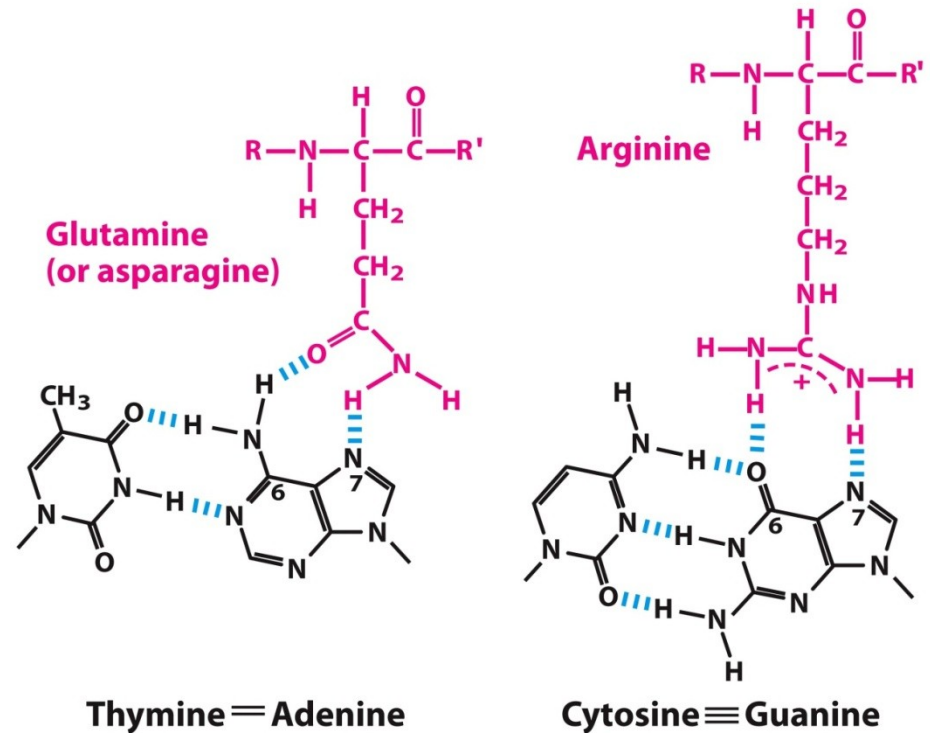
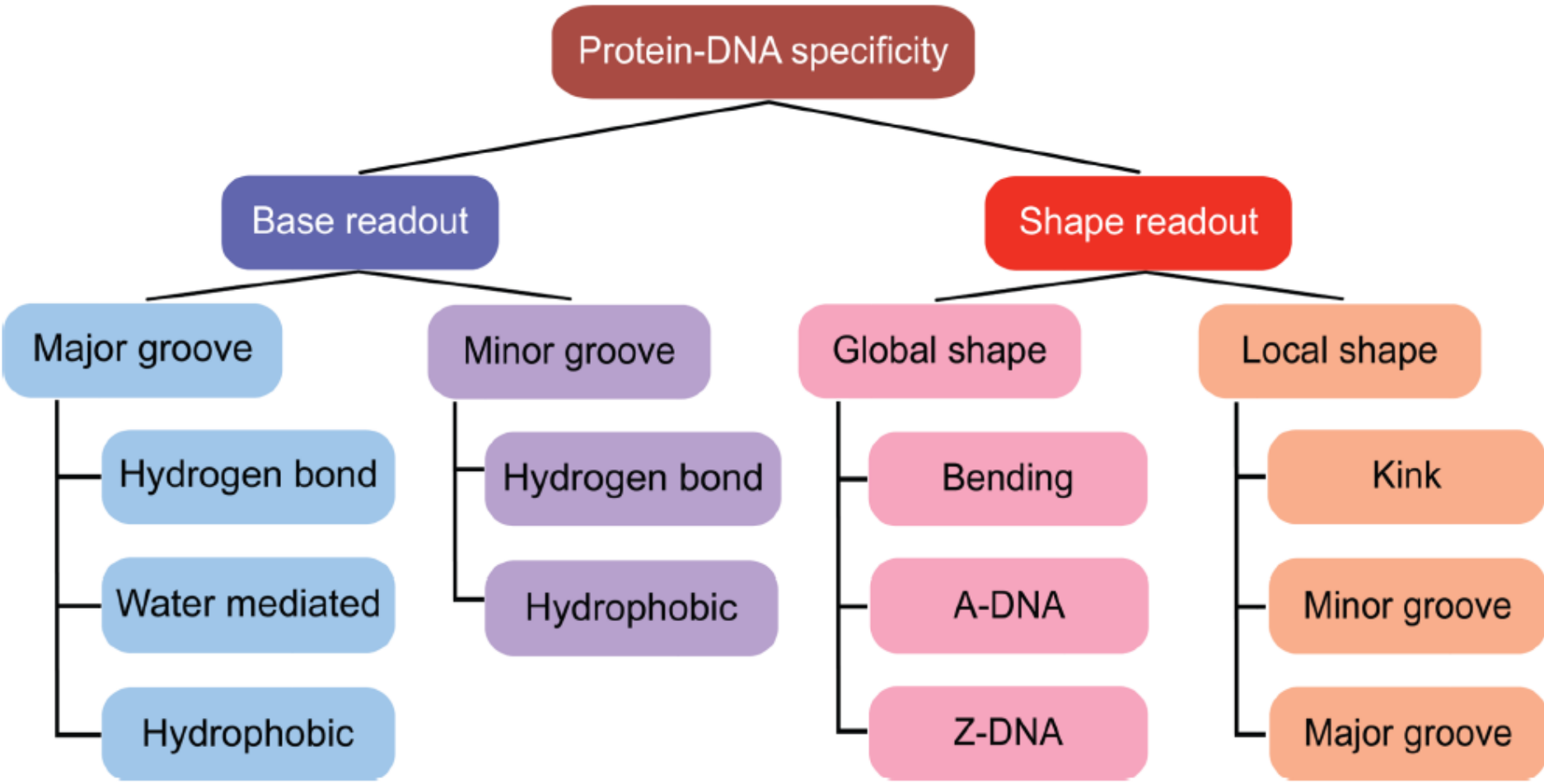


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Silná vazba, sekvenčně specifická - afinita nM – μ M
Slabá vazba, strukturně specifická - afinita μ M – mM

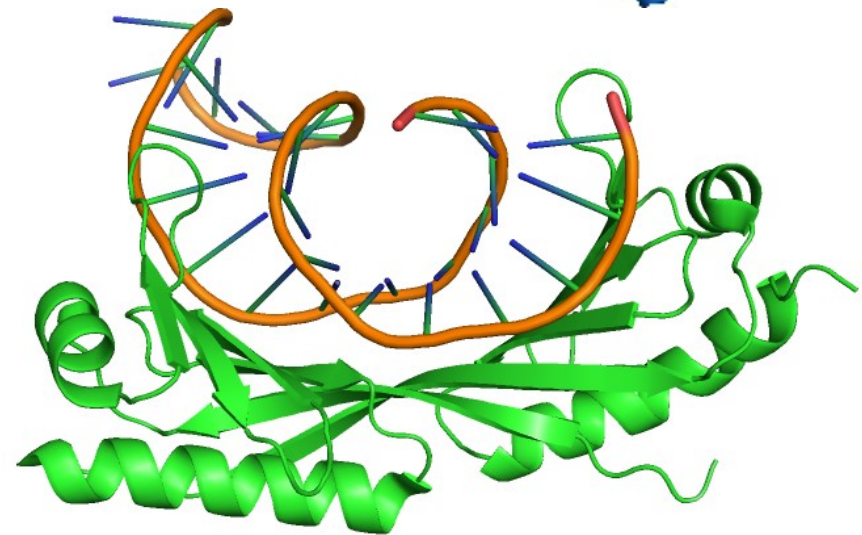
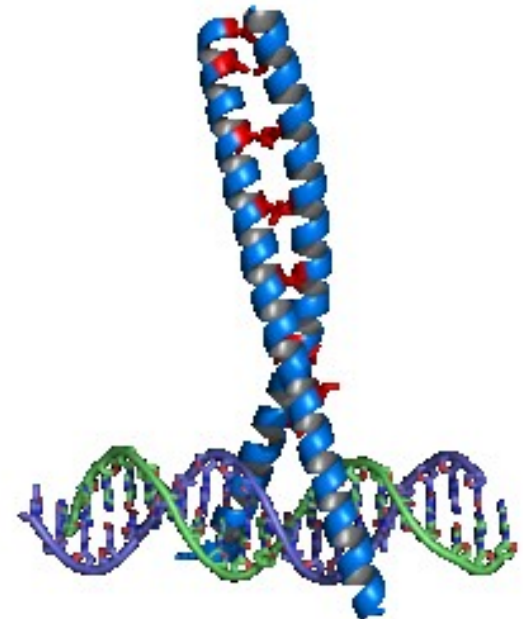


- více jak 70 SCOP superrodin (strukturních motivů)
- dle sekundárních struktur – α -šroubovice (17), β -listy (7), smíšené α/β motivy (48)

Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4
- **Histon, HMG-box**
- **β -sheet motivy**

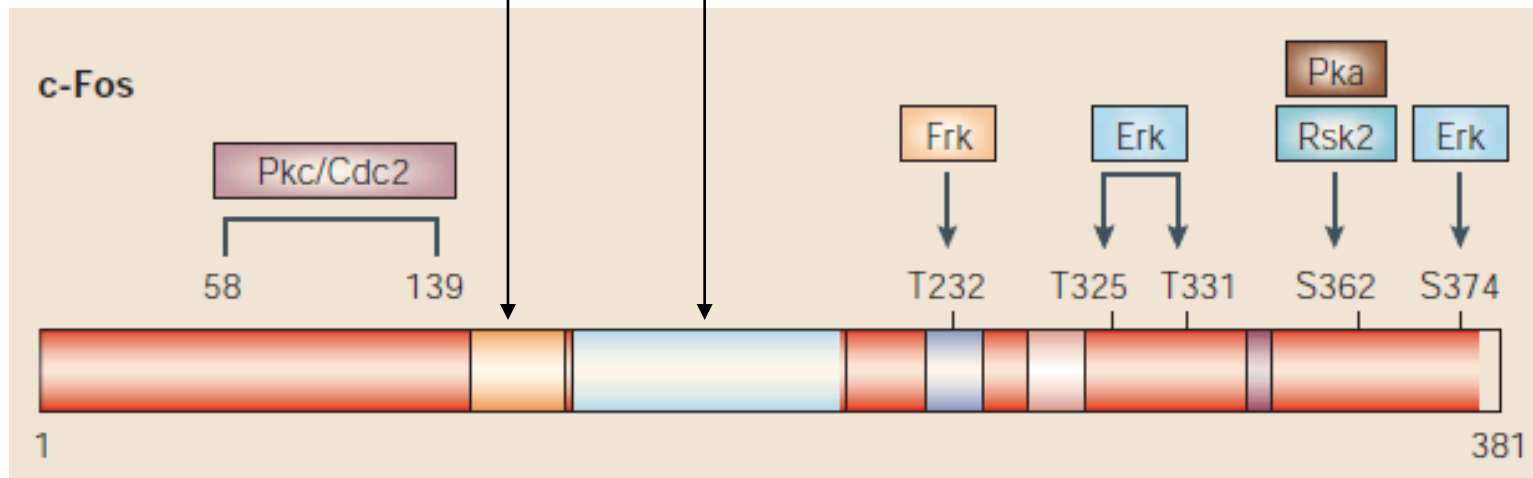
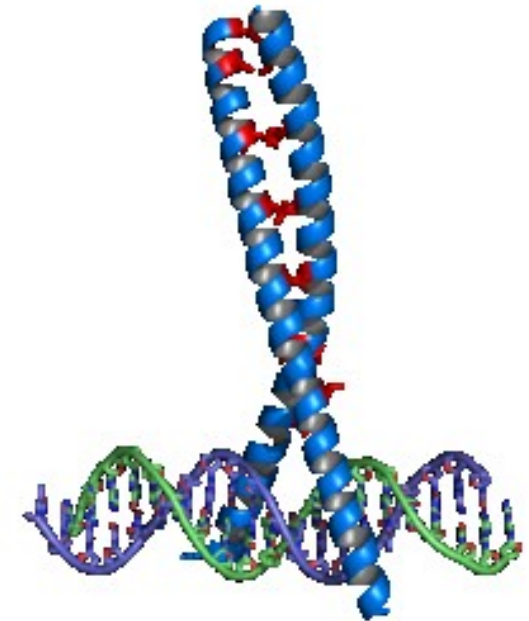
α -šroubovice



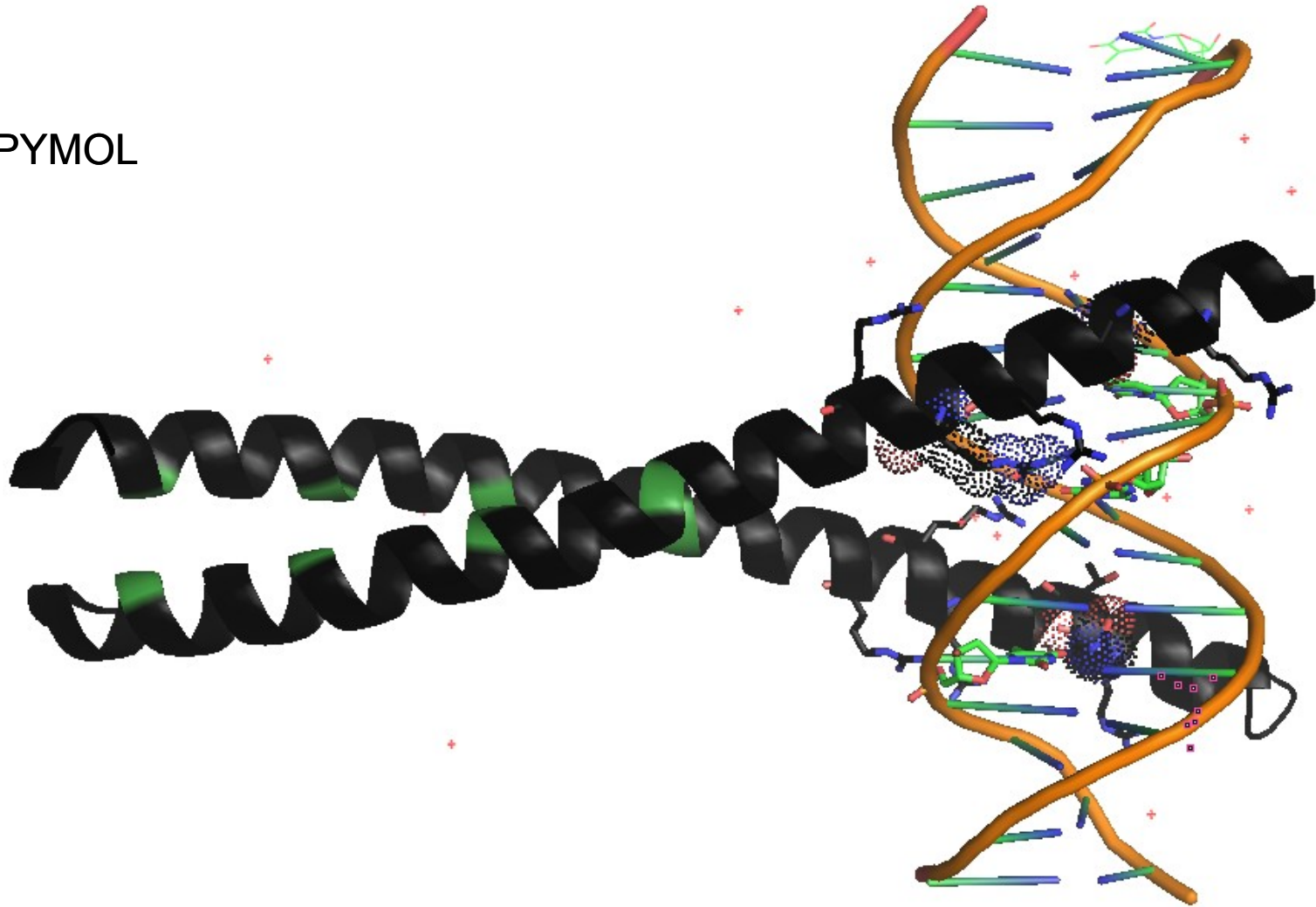
β -listy

Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ** (dle způsobu dimerizace)
 - **Leucinový zip** (tzv. bZIP = basic)
(transcr. fact. γ GCN4, c-Jun/c-Fos=AP-1)
 - 2 α -helixy (2 x 60 AMK)
 - coiled-coil (>30AMK, Leu, C-term)
 - bazická část (N-terminus, navazuje na CC)
 - bazická šroubovice vázána do VŽ



PYMOL



Interakce bazických AMK: Arg(232+240)=PO₄, Arg(243)=Gua
Konsensus sekvence: TGACTCA
GCN4 – regulace genů pro syntézu AMK

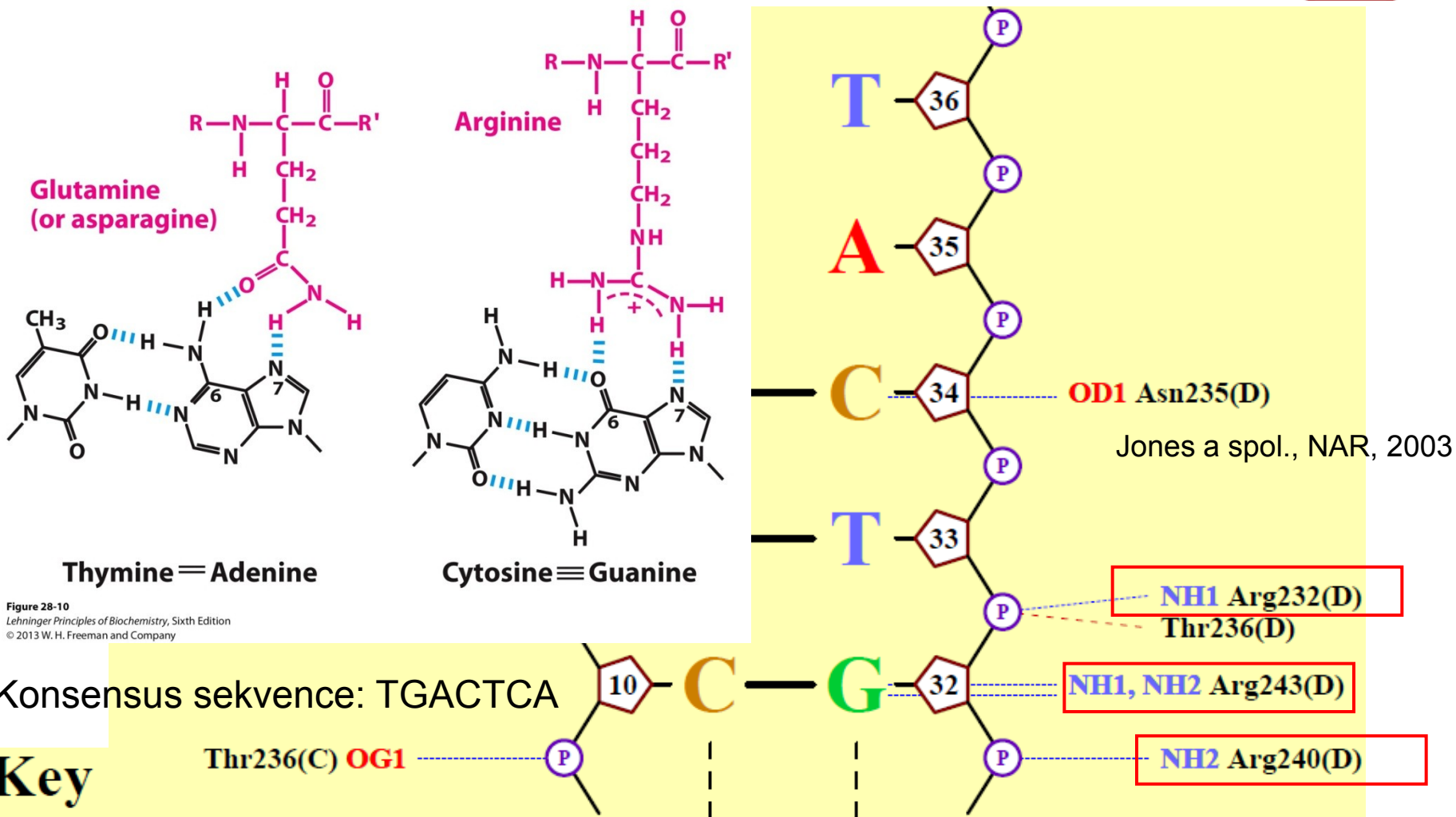
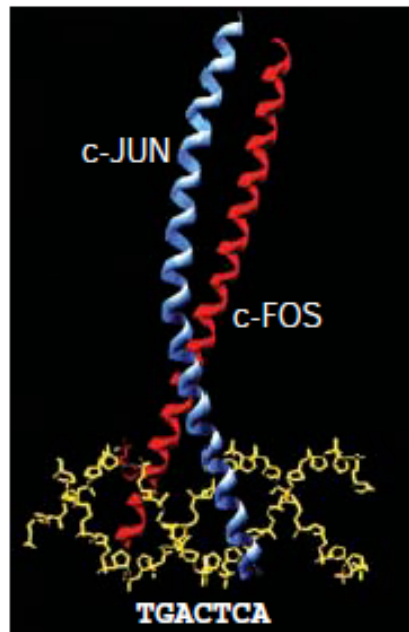
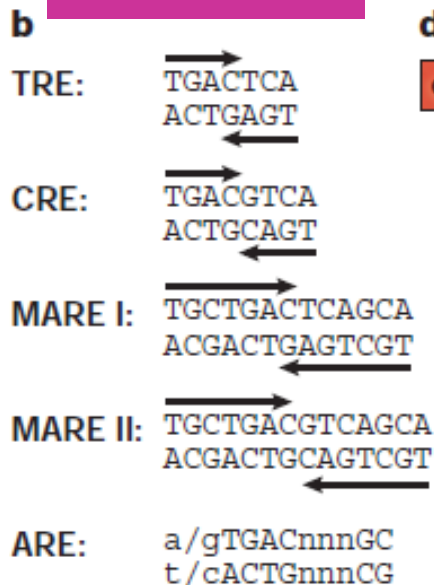


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

AP-1



AP-1



(e.g. FosL, Trf)

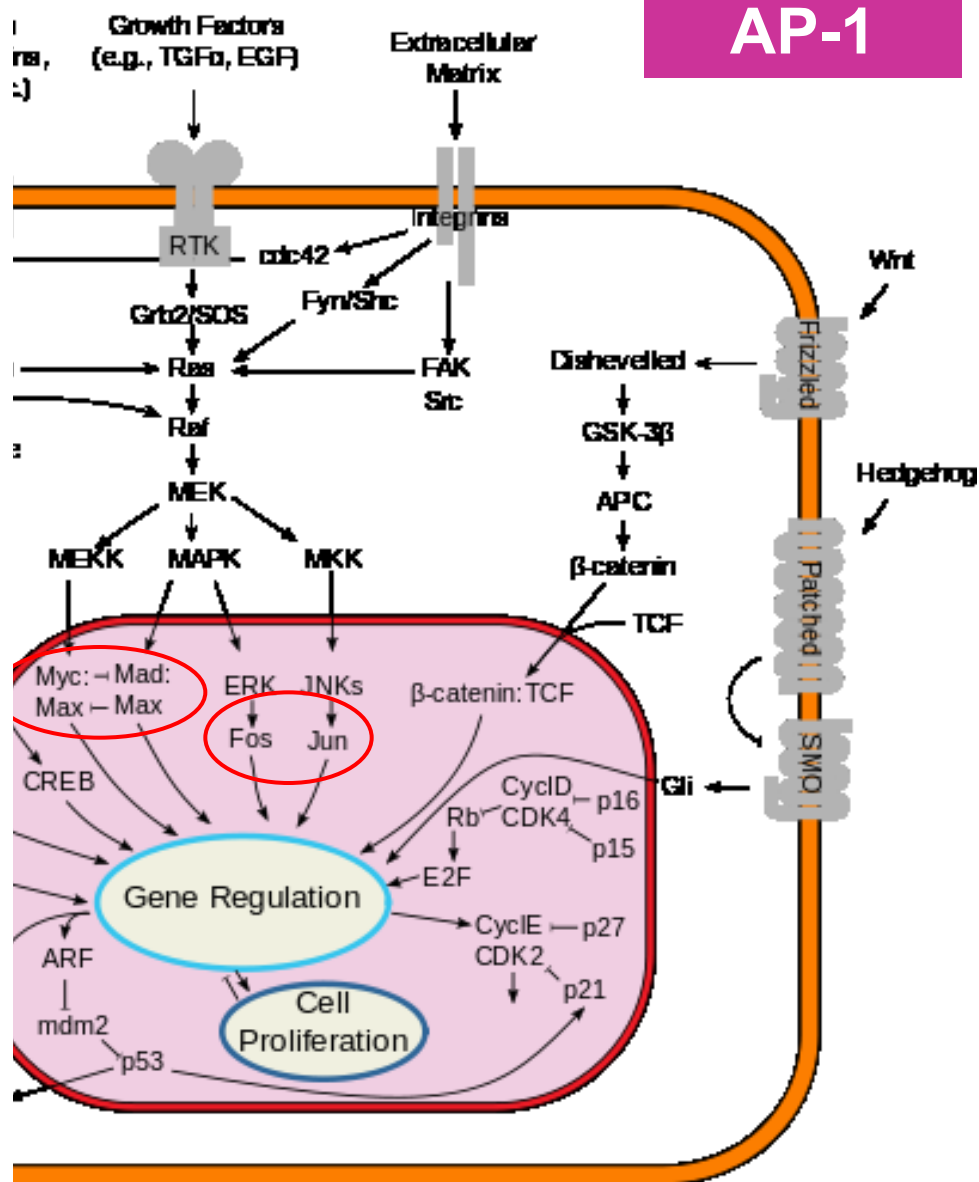
c homo/hetero

c-JUN		
c-JUN	(TRE > CRE)	
JUNB	(TRE > CRE)	
JUND	(TRE > CRE)	
FOSB	(TRE > CRE)	
FRA1	(TRE > CRE)	
FRA2	(TRE > CRE)	
ATFa	(TRE = CRE)	
ATF2	(CRE > TRE)	
ATF3	(CRE > TRE)	
ATF4	(CRE)	
B-ATF	(TRE > CRE)	
c-MAF	(MARE I/II)	
MAFA	(MARE I/II)	
NRL	(TRE-related)	
MAFF/G/K	(MARE I/II)	
NRF1	(ARE)	
NRF2	(ARE)	
NFIL-6	(TRE)	

d heterodimery

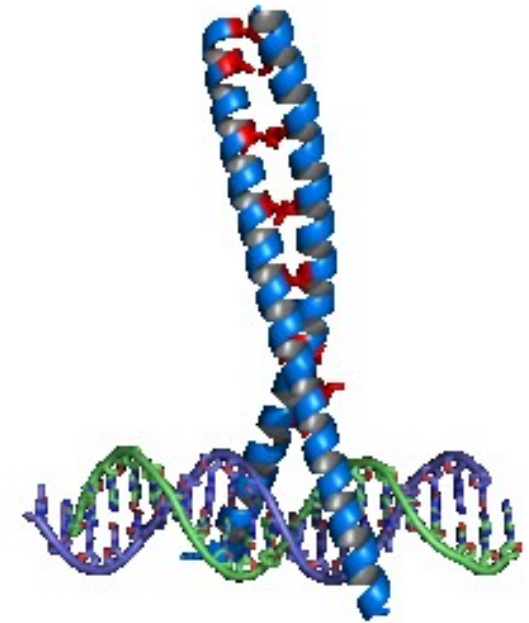
c-FOS		
c-JUN	(TRE > CRE)	
JUNB	(TRE > CRE)	
JUND	(TRE > CRE)	
ATFa	(No binding)	
ATF2	(CRE > TRE)	
ATF4	(CRE)	
c-MAF	(MARE I/II)	
MAFA	(MARE I/II)	
MAFB	(MARE I/II)	
NRL	(TRE-related)	
MAFF/G/K	(MARE I/II)	
NRF2	(ARE)	
NFIL6	(TRE)	

kombinace

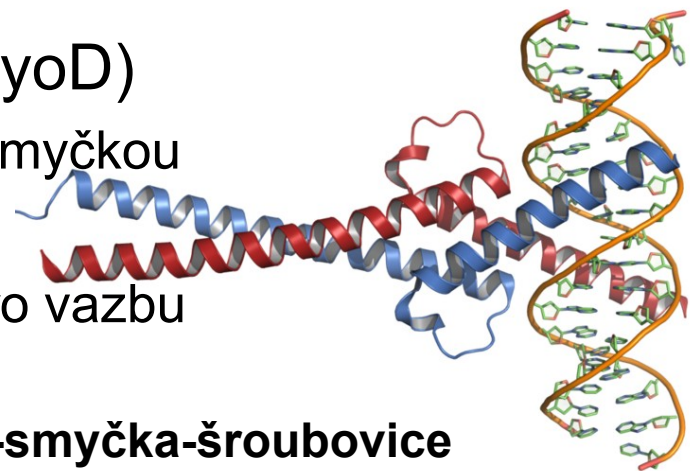


Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ** (dle způsobu dimerizace)
 - **Leucinový zip** (tzv. bZIP = basic – transcr. fact. γ GCN4, c-Jun/c-Fos)
 - 2 α -helixy (2 x 60 AMK)
 - coiled-coil (30AMK, Leu, C-term)
 - bazická část (N-terminus, navazuje na CC)
 - bazická šroubovice vázána do VŽ



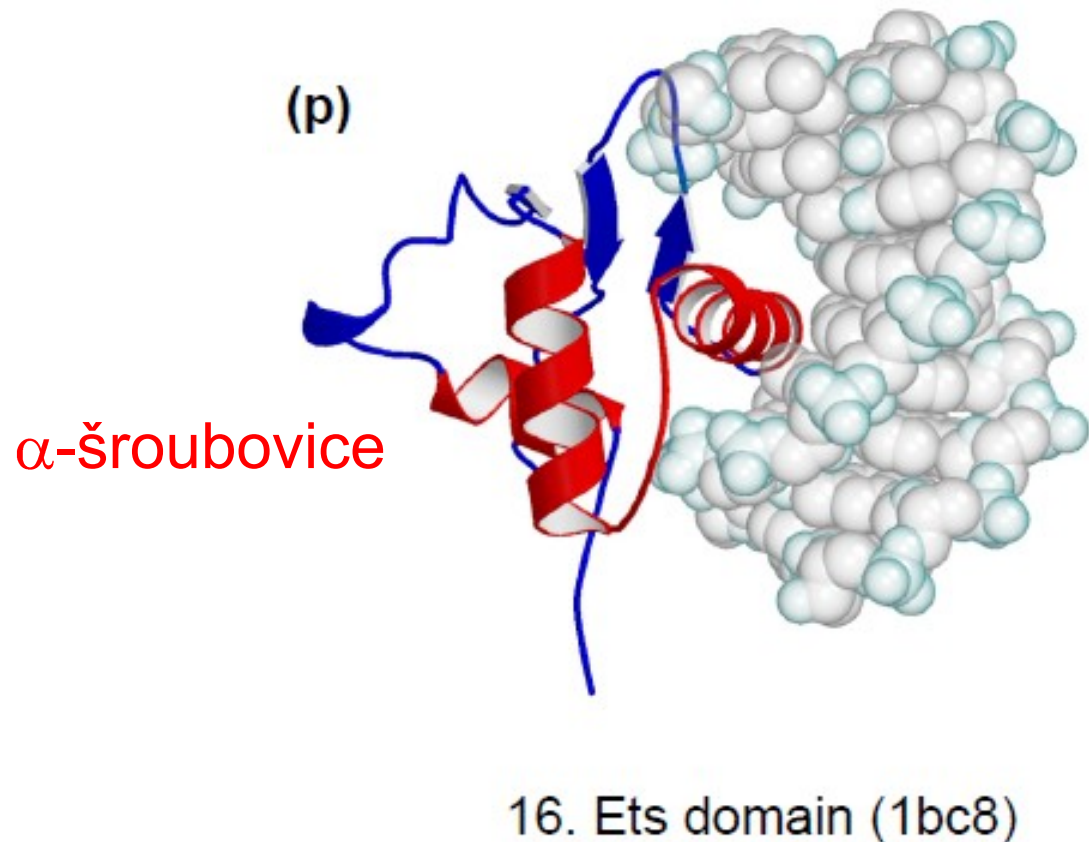
- **Helix-loop-helix** (c-Myc/Max, MyoD)
 - CC a bazické části jsou odděleny smyčkou
 - bazická šroubovice vázána do VŽ
 - smyčka poskytuje větší flexibilitu pro vazbu



šroubovice-smyčka-šroubovice

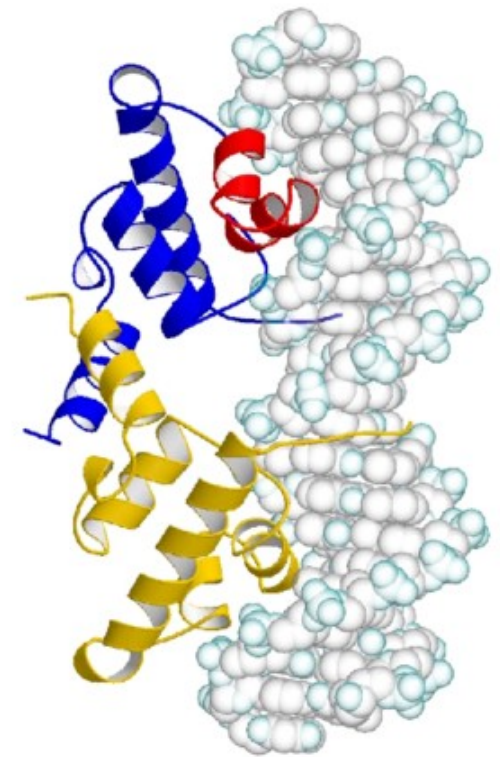
Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4

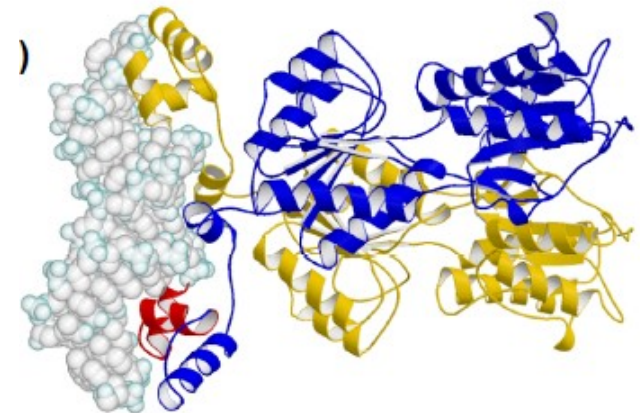


Helix-turn-helix motiv (HTH)

- Obsahuje ~ 20 AMK ve dvou šroubovicích vzájemně kolmých
 - α -helix pro vazbu na DNA („recognition“) - β -obrátka – druhá šroubovice
 - Sekvenčně-specifická vazba prostřednictvím „recognition“ šroubovice a velkého žlábků
 - nejčastější motiv u prokaryot - homodimery vážou palindrom. sekvence
 - HTH motiv se obvykle vyskytuje ve svazku 3-6 šroubovic (stabilizovaných hydrofobním jádrem)
 - motiv může být buď součástí hlavního proteinu (Cro) nebo z něj může pouze vybíhat (LacI)



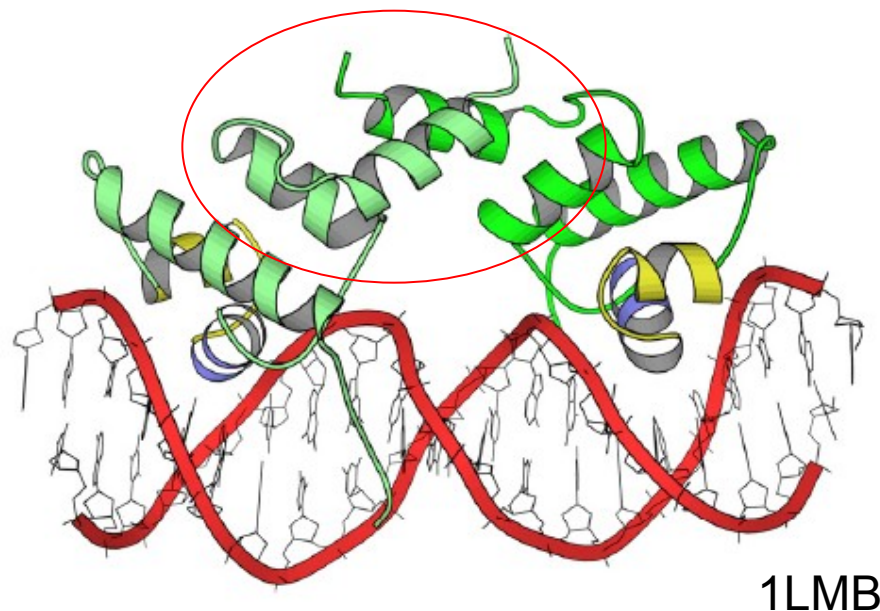
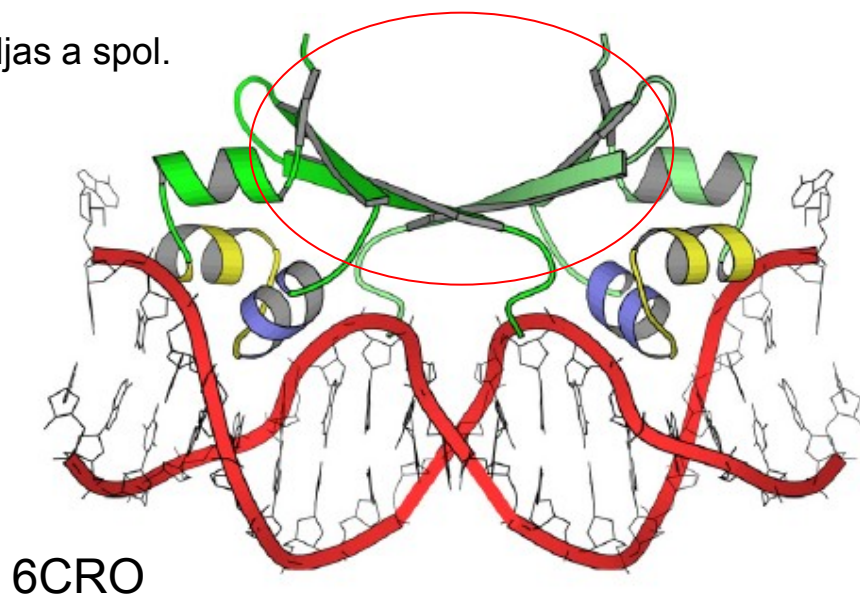
1. Cro and Repressor (1lmb)



Luscombe et al, Genome Biology, 2000

3. LacI repressor (1wet)

Liljas a spol.



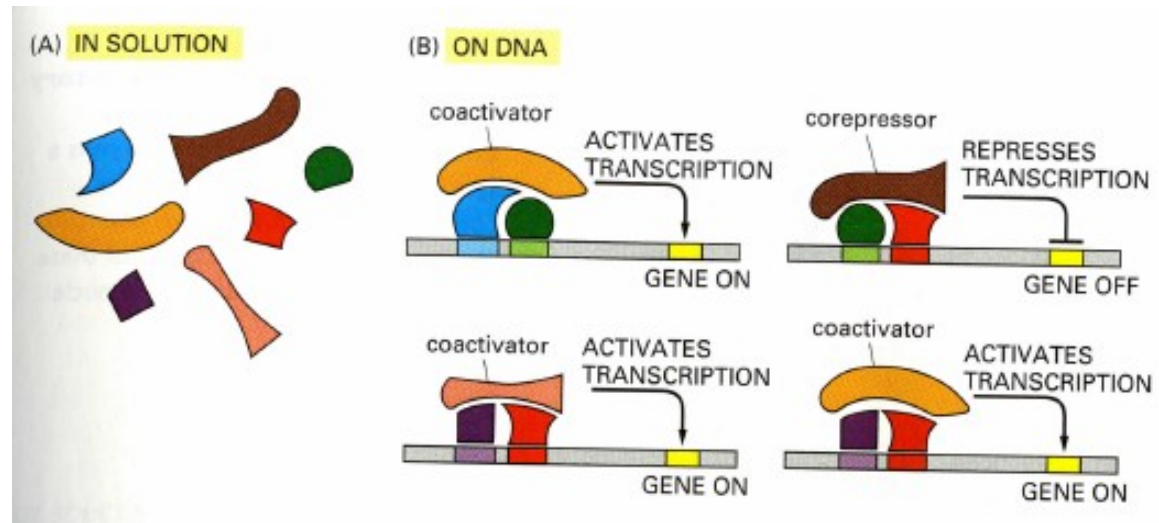
Helix-turn-helix motivy (spojené listy nebo šroubovicemi) –
odstup HTH (34Å) odpovídá jedné otáčce B-DNA





Sekvenčně se různé HTH příliš nepodobají

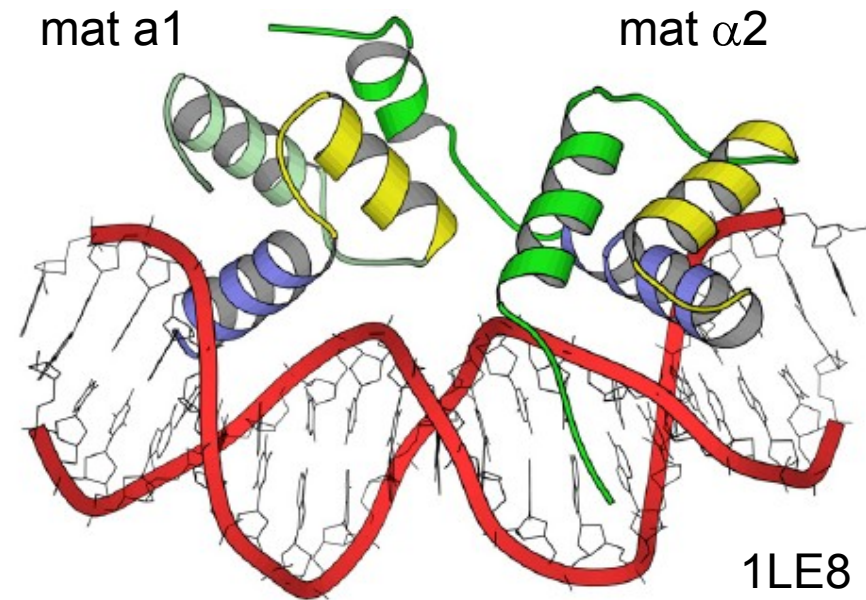
1. variabilita v rozpoznávaných sekvencích DNA
2. variabilita v pozici „recognition“ šroubovice ve velkém žlábků (paralelně k rovině bazí nebo delší šroubovice jsou paralelně k cukr-fosfátové kostře)

Regulace transkripce v kvasinkových buňkách

Eukaryontní heterodimery vážou nesymetrické cílové sekvence (větší variabilita sekvencí, více proteinových kombinací)

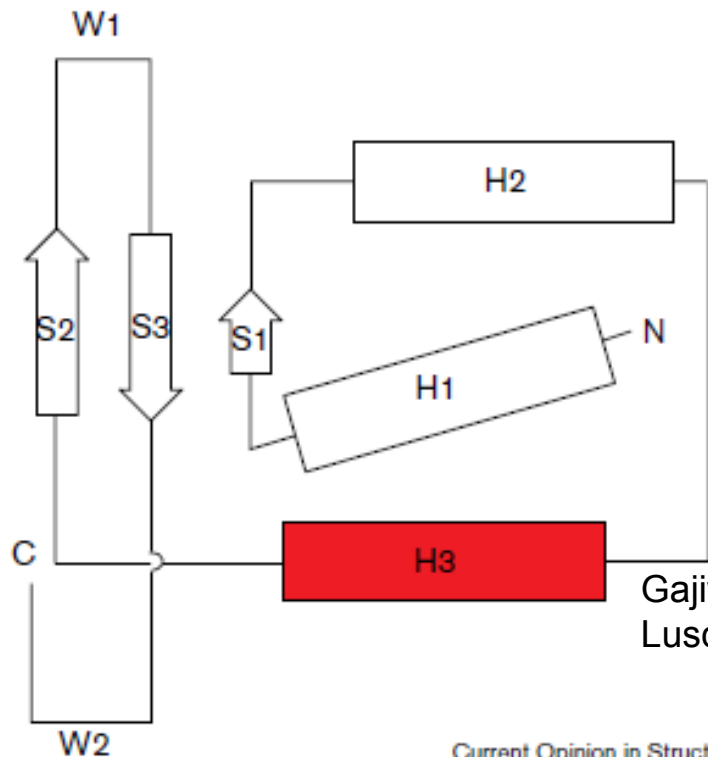


Typ buňky	Geny kontrolované MAT lokusem	
α haploid	 aSG	OFF
	 haploid SG	ON
diploid	 aSG	OFF
	 haploid SG	OFF



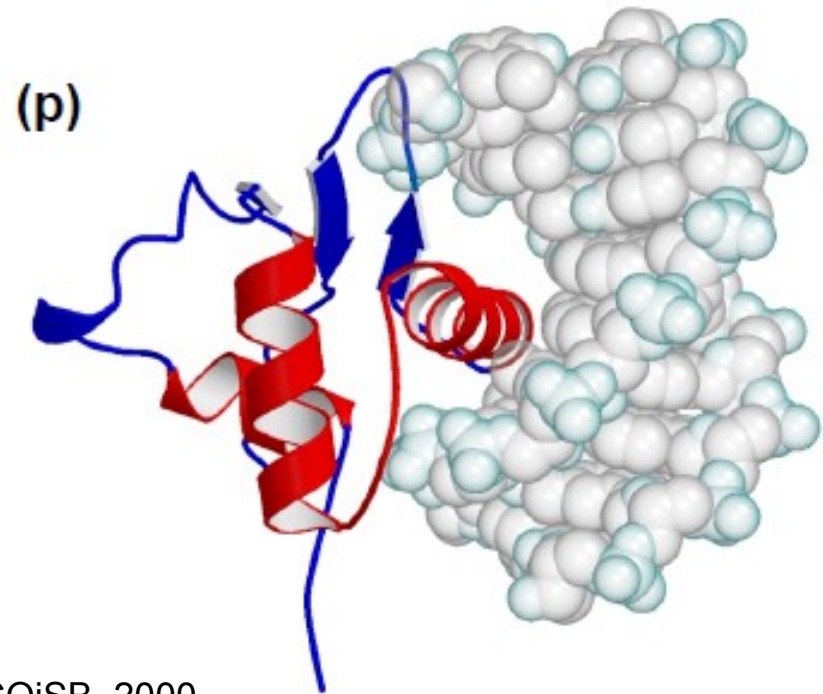
„Winged“ helix (okřídlená šroubovice)

- „winged“ HTH obsahuje „recognition“ šroubovici (**H3**) a β -listy, které poskytují další kontakty s DNA



Gajiwala & Burley, COiSB, 2000
Luscombe et al, Genome Biology, 2000

Current Opinion in Structural Biology

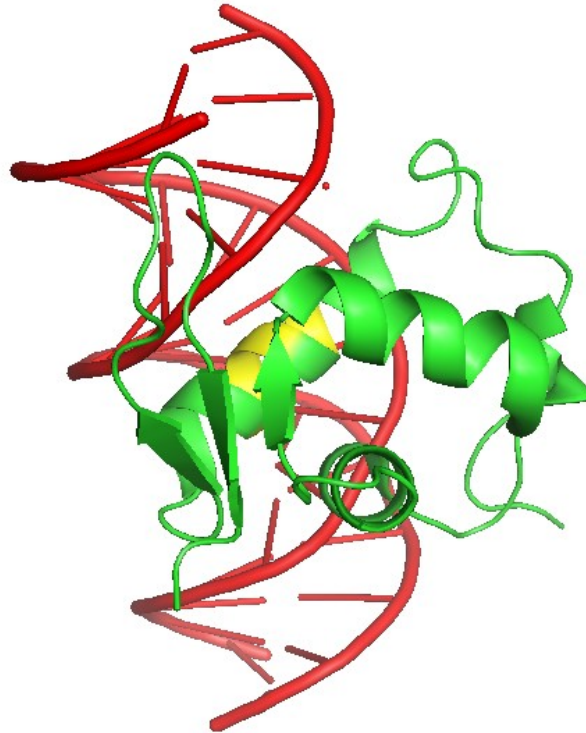


16. Ets domain (1bc8)

Méně často křídlo ve VŽ a cukr-fosfátová kostra se šroubovicí (hRFX1)

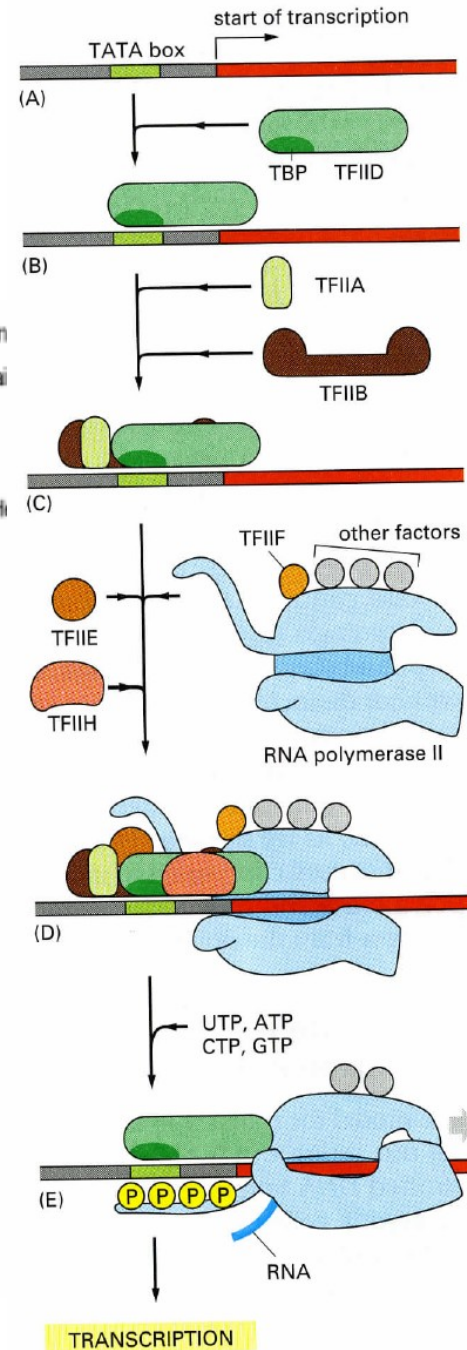
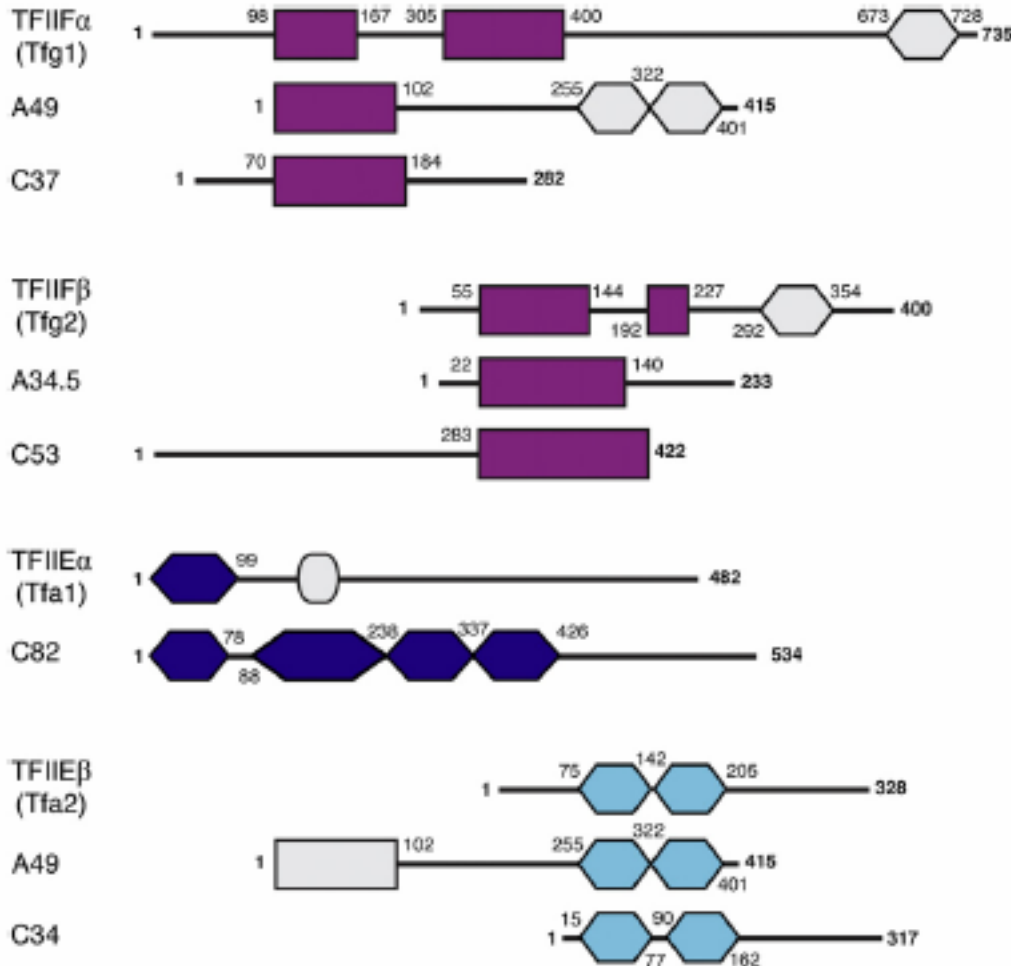
Interakce bazí se šroubovicí (H3) a křídla s cukr-fosfátovou kostrou

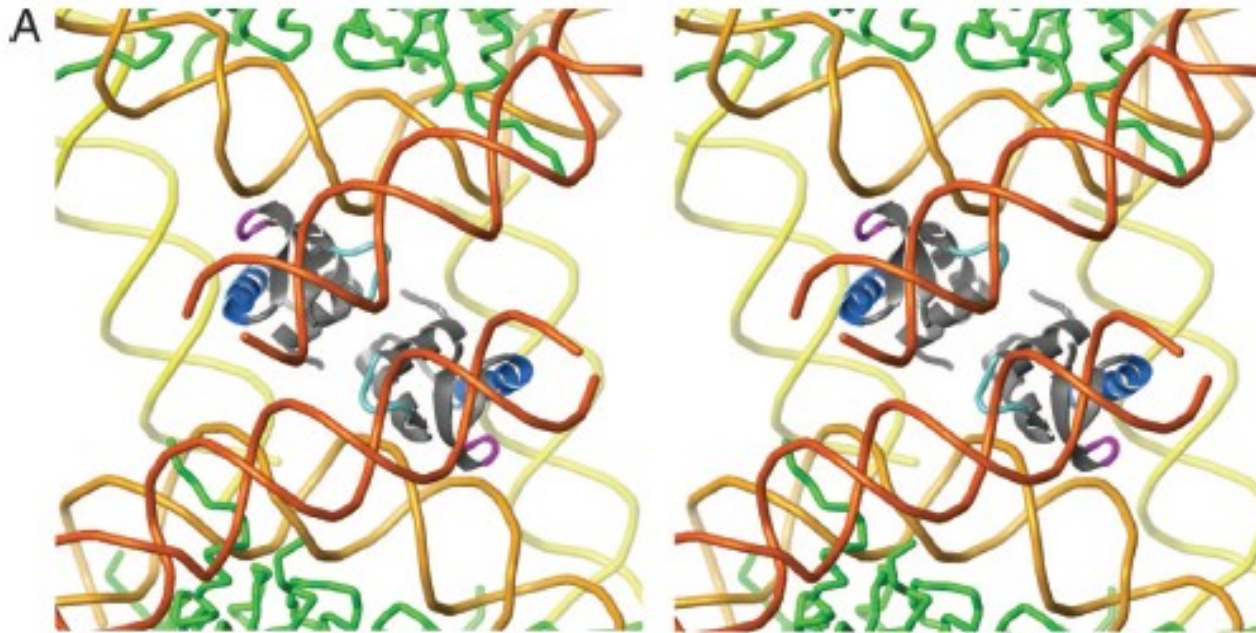
PYMOL



Méně často křídlo ve VŽ a cukr-fosfátová kostra se šroubovicí (hRFX1)

- „winged“ HTH v mnoha specifických transkripčních faktorech ale také v „general“ TFII faktorech

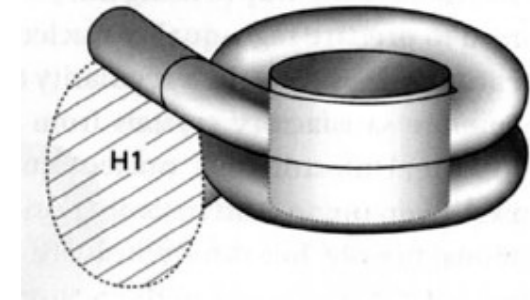
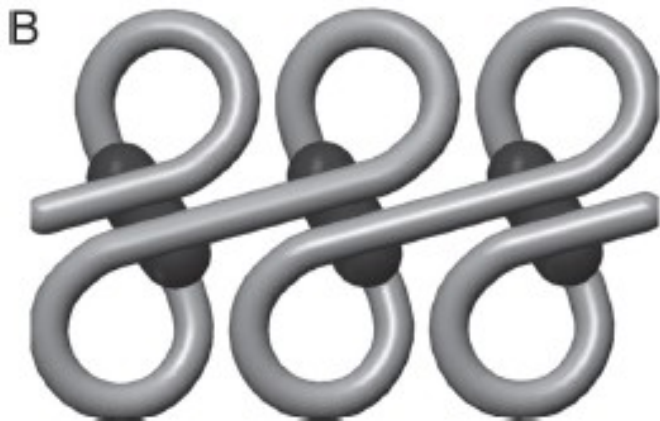




stereoskopický obrázek
docking (pouze model)

Skládání nukleosomů
do kompaktnějších
struktur

Fan & Roberts, PNAS, 2006

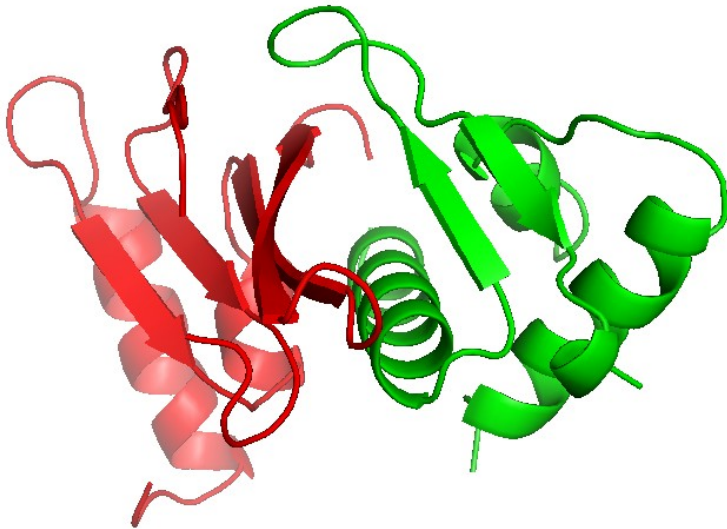


J. Fajkus

Histon H1/H5 interaguje s DNA (nukleosomem) a vytváří dimery (nukl. diady) – WHD doména může vytvářet více kontaktů (H3 šroubovice-MŽ, wing-cukrfosfátová kostra, protein-protein int.)

(„winged“ HTH obsahuje „recognition“ šroubovici (**H3**) a β -listy)
 - WHD (i další struktury) poskytují pouze „kostru“ a záleží na postraních řetězcích jaká DNA nebo protein se naváže

PYMOL



```

-EHLVVTF1FLAVLELMKNQLVLI2EQE---HN----FSDIYI
LMYFITAFVALLV3INNQIIDIEQ4T---SF----DDELYI
-IEIVGRFLALLELYRTRAVAF5EQS---EP----LGALQV
-LHLIYIFLAI6LELYKDAKINIDN-----GEITK
-LGVVVTFMAILELVKEQMVELV7QN---EA----FGAIHV
-SAVAATFVA8TLELAKQGVLDLRQD---GG---VYAPITV
-ADVVC9AFVAILEAAKTHLVHISQ10P---EF----FGPITL
-YELIVRLLAILELVKIGKLILV11G-----DDRIRR
)TDRVGVFWALLFLCSQ12GKVELAQE---GSL---YAPLRL
-PDAVGVFWALLFLAAQSKVDLQ13QT---DF---YQPLQV
-EEVIVSFWAMLEL14LKRRAIVVEQT---ML----FGPILI
QMAVIYNFLSILELLALQKIQL15HLG---EG---FNNFWI
-KDLVQ16QFMALLYLDYESKVR17LFQE---KP---FEDITV
-PTLV18DYYVSVLHLA19FRKKVEIROE---EF---YGDVEI
-KILARTFLYLLFLENM20GK21VEMIQE---EP---FGEILV
-EDRVRYFIPSLYLANDGKAELIQE---KL---FGELII
-RERAVFFLYSMFLFRDGRISLSQE---EP---NGDILI
-KQAAAKFY22SFLVLKKQQAIELTQE---EP---YSDIIA
-KQAAQ23KFYSLVLKKFKVLHIDQS---AP---YADITI
-KVAAAKFY24SLCLKKNQCIDIEQK---EP---YGDIMI
-EEAVQLFFDVLVLATKDVISVKQD---VA---IQNEITL
CREASRGFFDILSLATEGCIGLSQ25T---EA---FGNIKI
-KLAARMFFETLVLKSRGLIDMQ26OD---RP---YGDIAL
-RNAARTFVDVLALASKQYVSAQQA---LG---SDEVQV
-YEKGR27LFLSLLNLI28GS29GVVQGRQK---NP---YSDIEC
    
```

Scc1 kleisin interaguje s SMC1 proteinem prostřednictvím hydrofobních vazeb

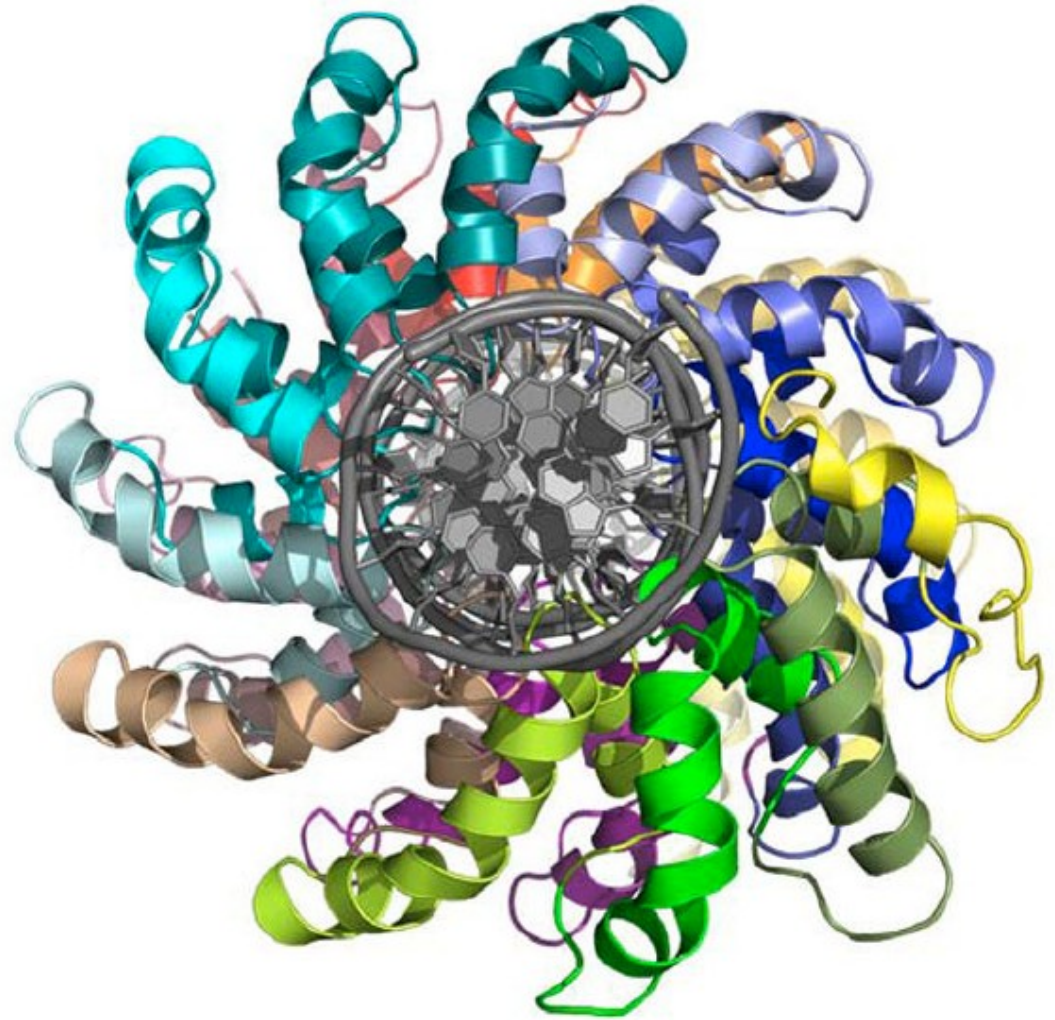
Transcription activator-like effectors (TALE)

Patogenní bakterie injikují do rostlinných buněk
ovlivňují transkripci rostlinných promotorů



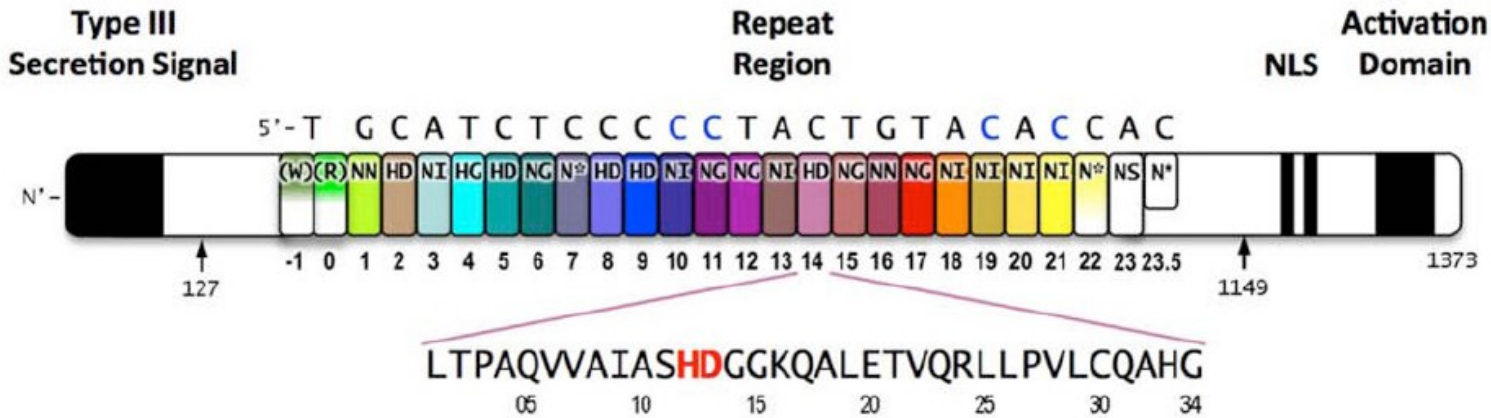
PthXo1

23 repetitivních obrotů DNA ve VŽ



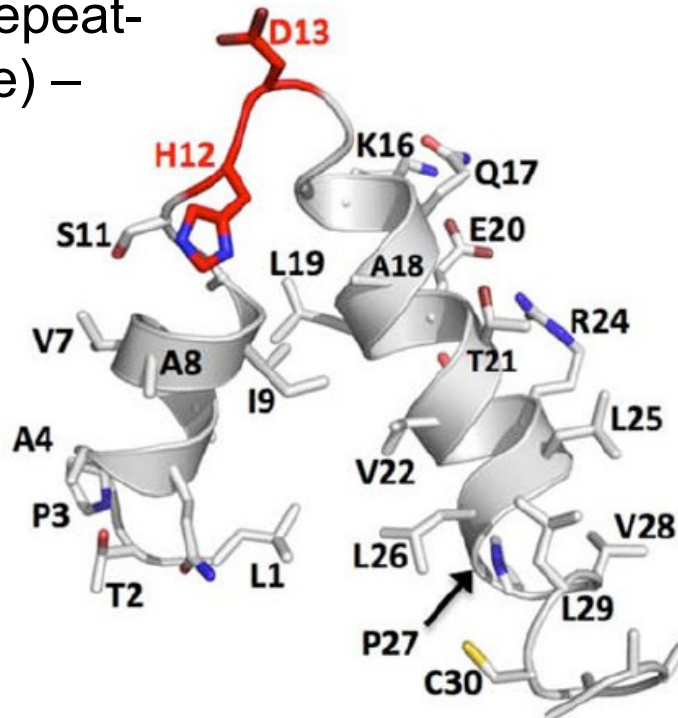
TALEN technologie

Mak et al, Science, 2012



Tandemové repetice (34)
 AMK v pozicích 12 a 13
 určují specifitu (repeat-
 variable diresidue) –
 hlavní:

HD, NG, NI, NN,
 NS, HG, N*



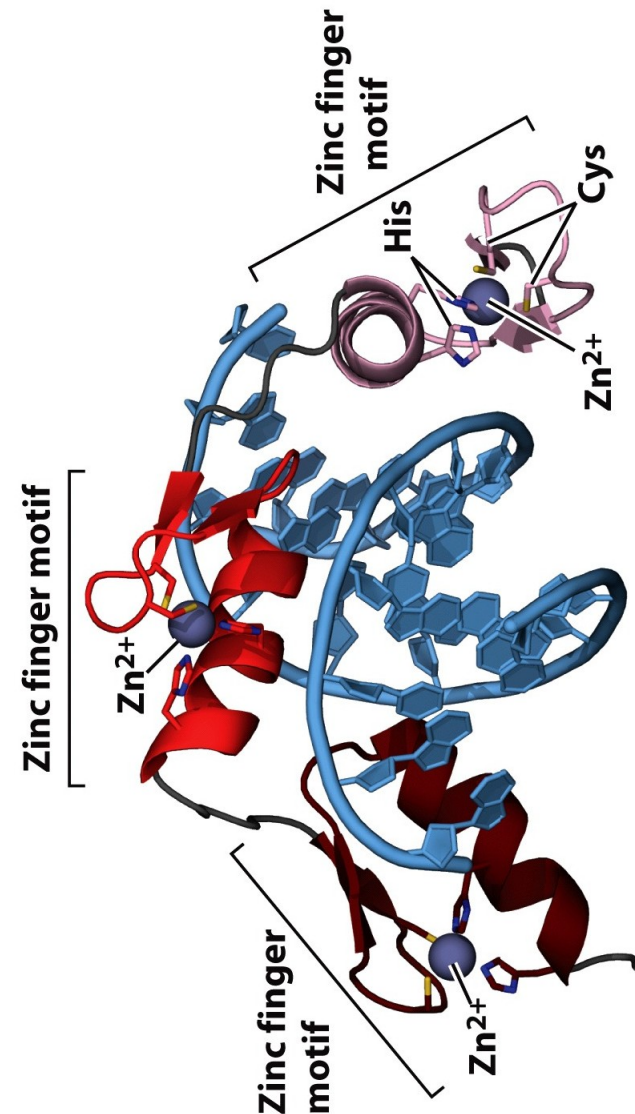
Interaguje otáčka/turn
 spíše než šroubovice

Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4
- **Histon, HMG-box**
- **β -sheet motivy**

α -šroubovice

β -listy

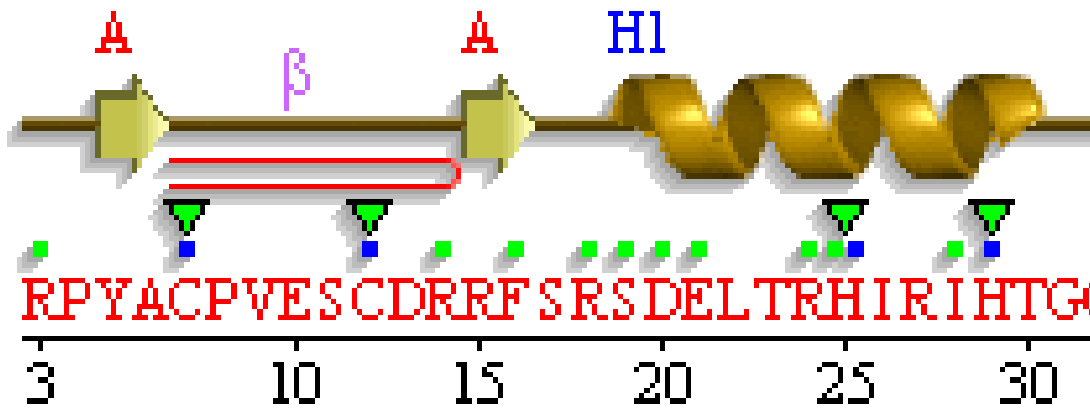
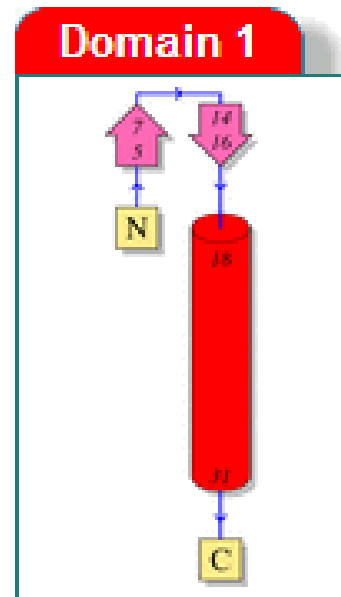


Zinc-finger/Zinkový prst

- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - koordinovaný 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

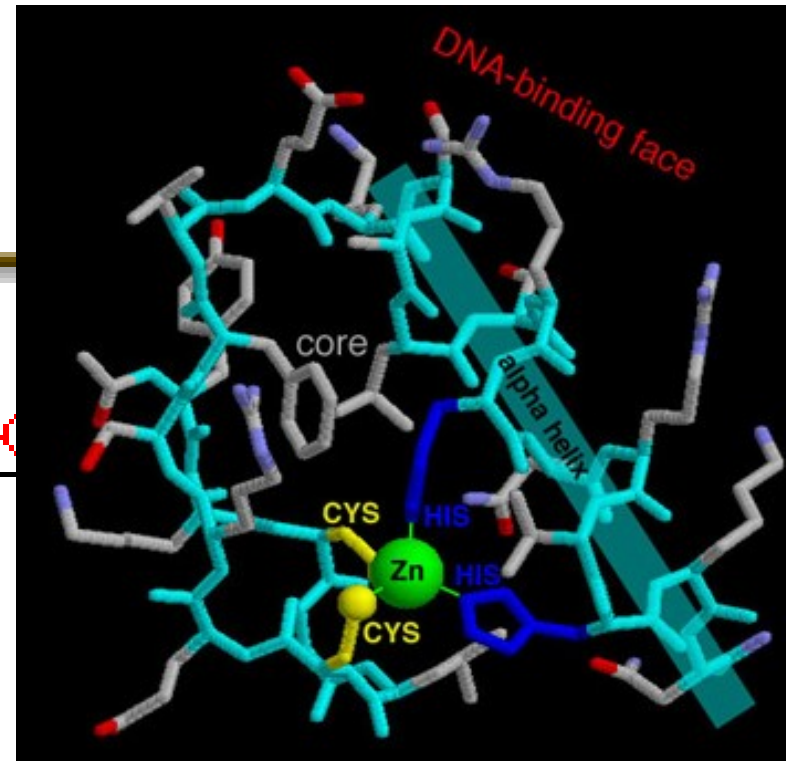
C2H2 motiv:

Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His

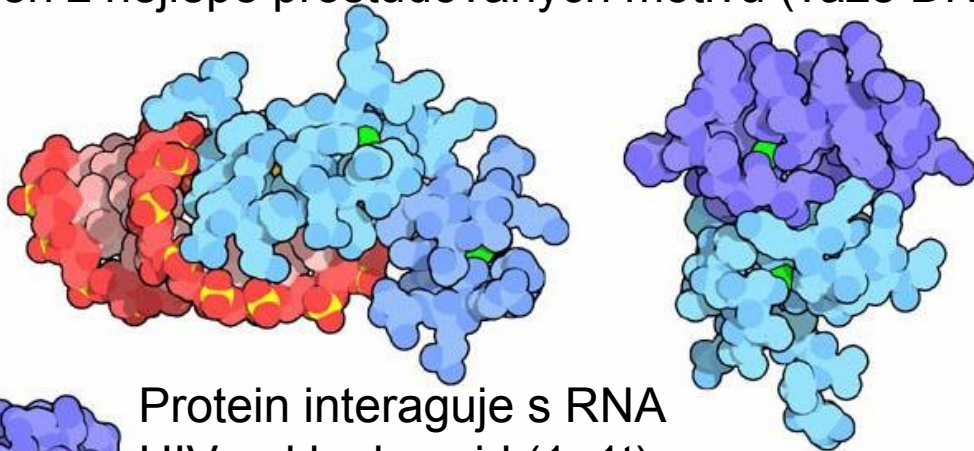


Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal

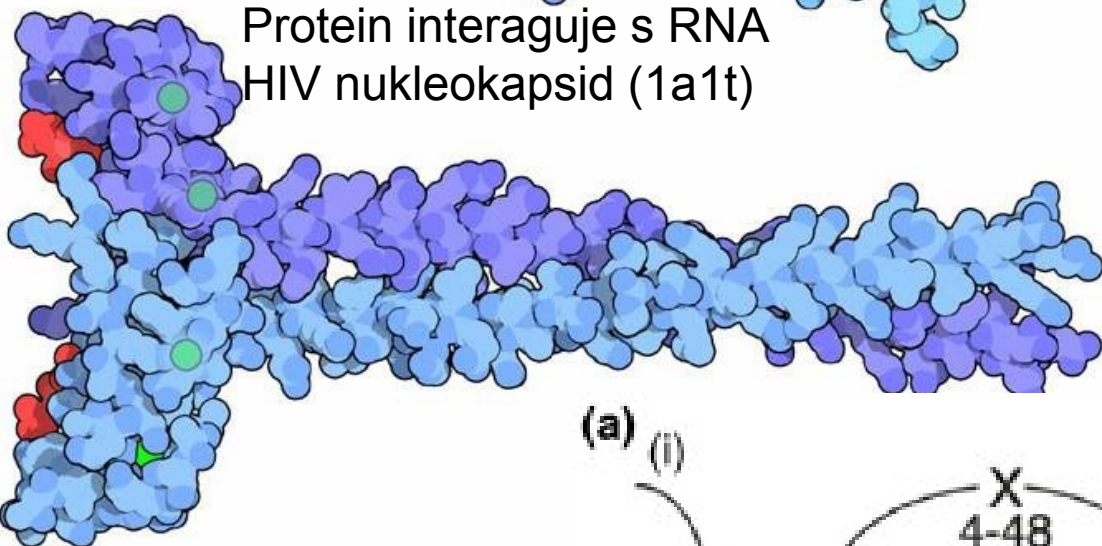


- jeden z nejlépe prostudovaných motivů (váže DNA, RNA i v jiných typech proteinů)



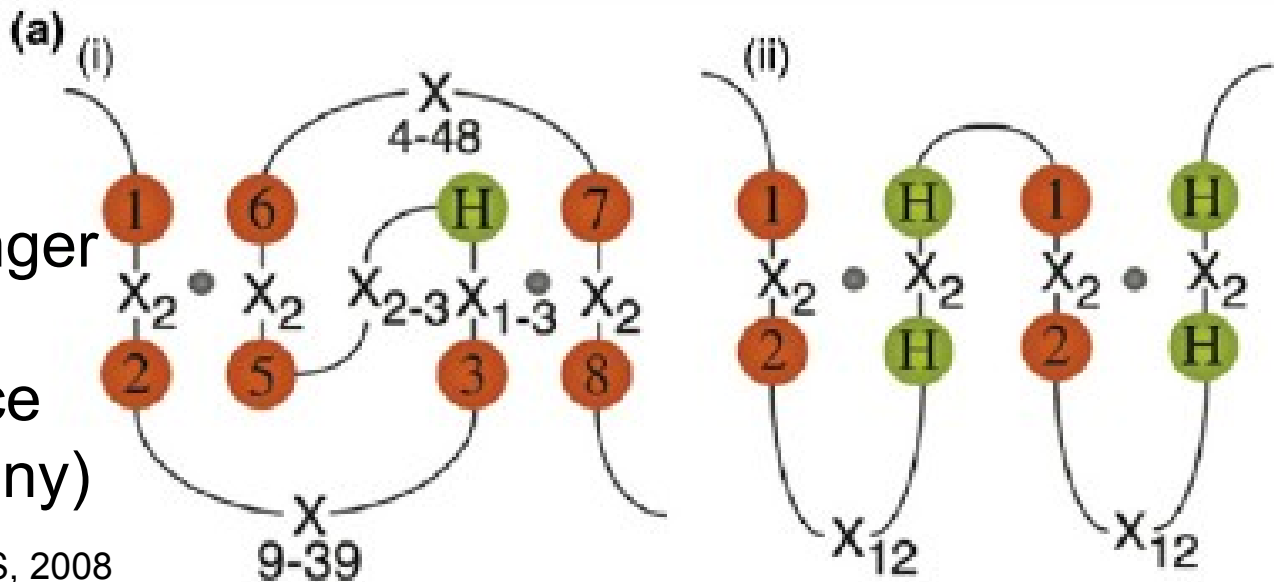
Vazba 2 zinkových prstů –
spojuje 2 transkripční faktory
(další ZnF vážou DNA): 1y0j

Protein interaguje s RNA
HIV nukleokapsid (1a1t)



EEA1 protein se váže na
specifický lipid obsažený v
endosomech – esenciální pro
transport molekul do buněčných
kompartentů (1ioc)

Rozdíl mezi Zinc-finger
a RING-finger
doménami (interakce
mezi E2 a E3 proteiny)

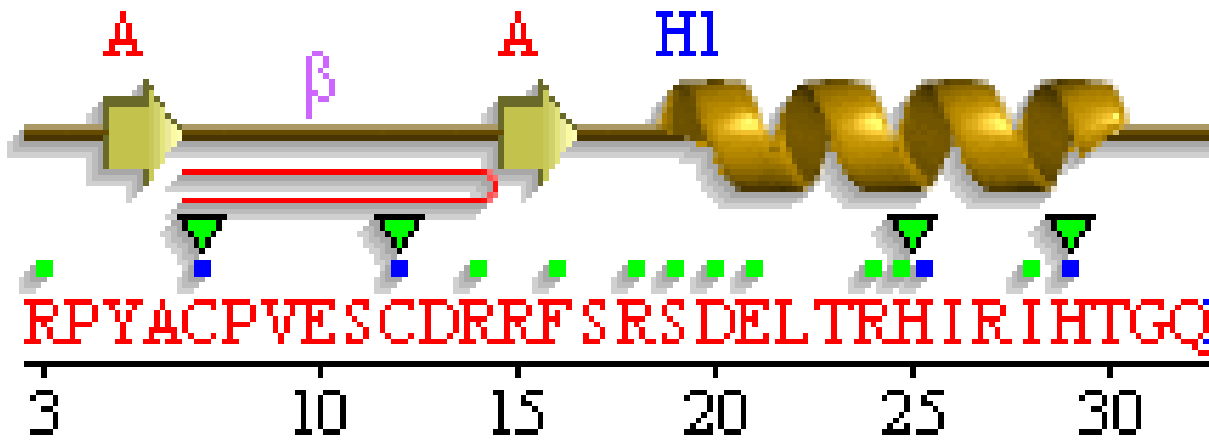
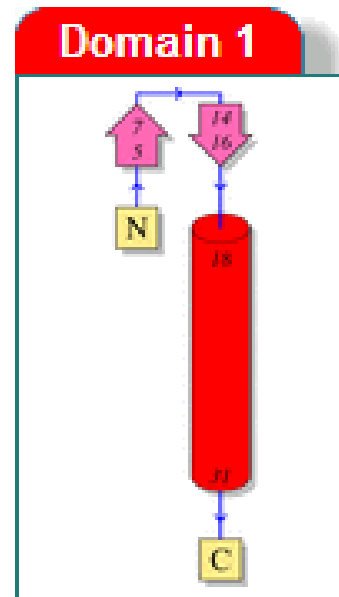


Zinc-finger/Zinkový prst

- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - koordinovaný 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

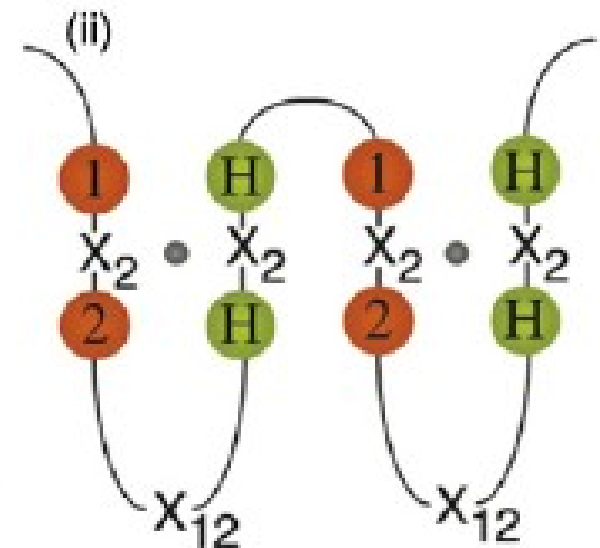
C2H2 motiv:

Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His



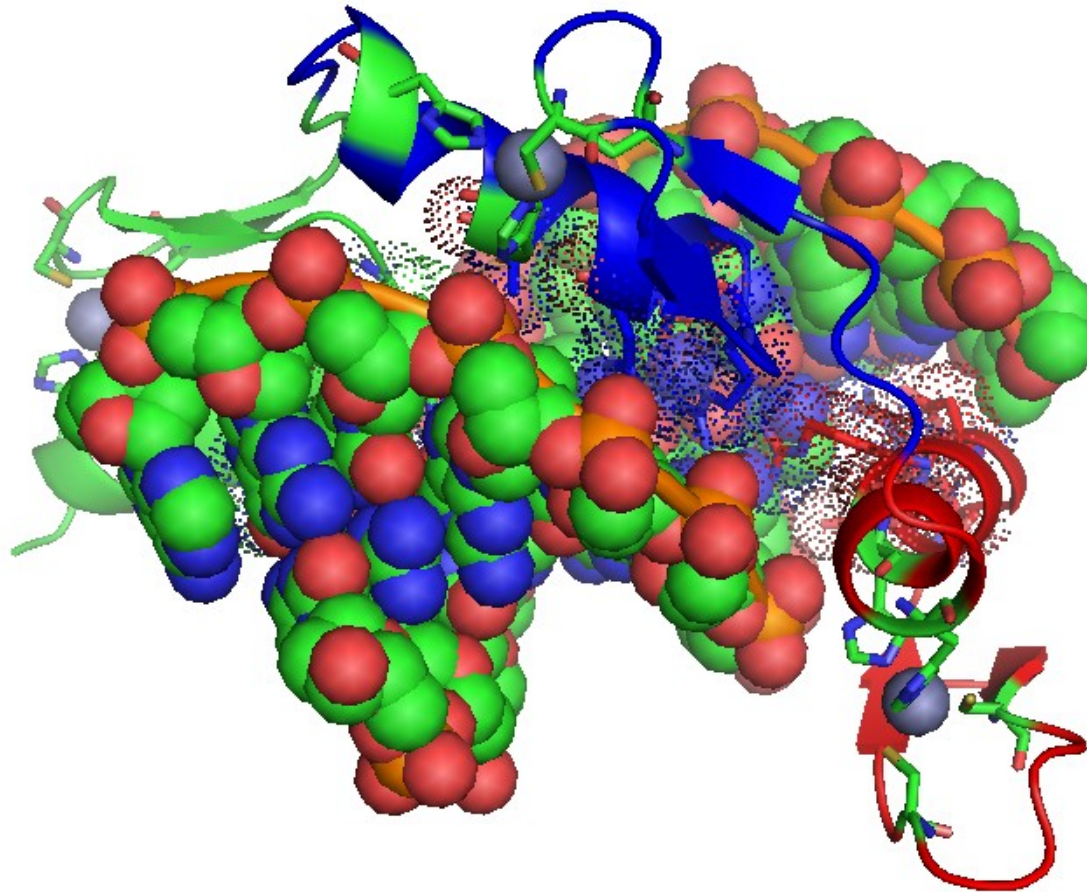
Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal



- vazba na DNA je relativně slabá, takže se typicky vyskytuje tandemově několik domén za sebou (3x v Zif268)
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ

PYMOL



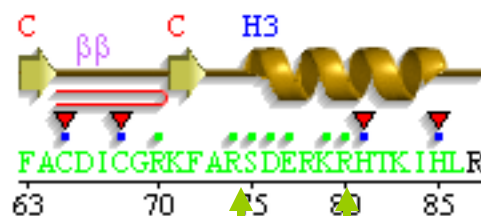
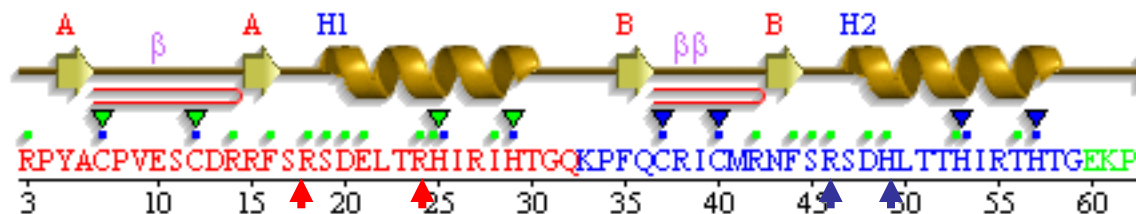
1ZAA, Zif268

- vazba na DNA je relativně slabá, takže se typicky vyskytuje tandemově několik domén za sebou (3x v Zif268)
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ
- AMK na pozici 0 – 6; variacemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity



Protein chain C highlighted
(click to view)

- 1 CATH 3.30.160.60 = Alpha Beta 2-Layer Sandwich
- 2 CATH 3.30.160.60 = Alpha Beta 2-Layer Sandwich
- 3 CATH 3.30.160.60 = Alpha Beta 2-Layer Sandwich



Jmol Strap

Motifs

- Secondary structure
- Wiring diagram

Mnoho kontaktů je nepřímých přes molekuly vody

- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity

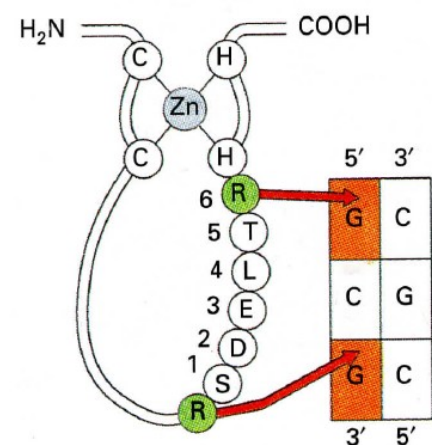
- α -šroubovice váže 2, 3 nebo 4 sousední páry bazí

- nejčastější jsou kontakty

Arg-Gua

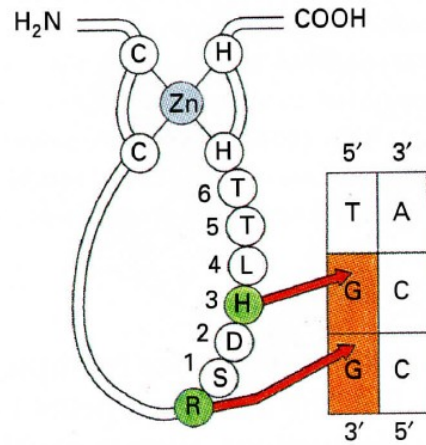
- Gua se může vázat i na His, Lys, Ser

- Ser se může vázat na T či A

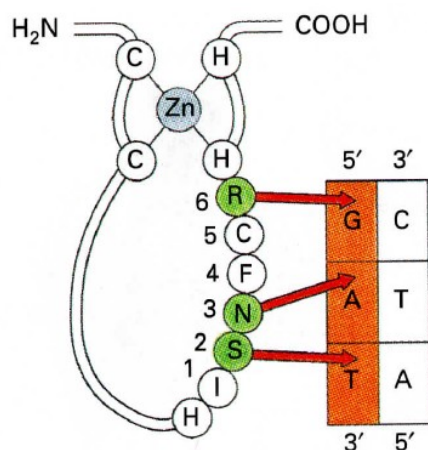


Zif Finger 1

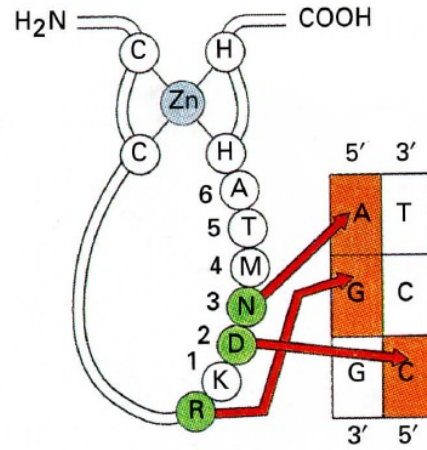
Zif268



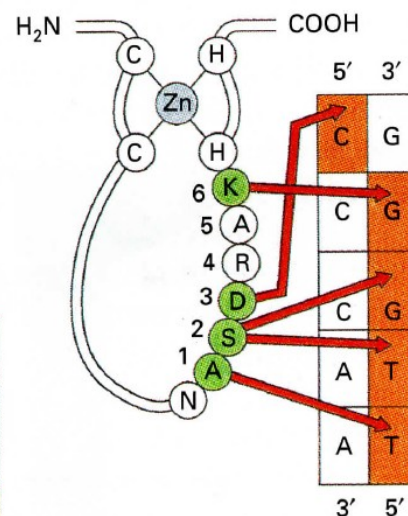
Zif Finger 2



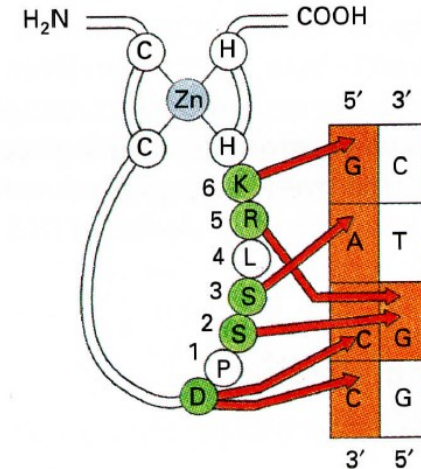
TTK Finger 1



TTK Finger 2



GLI Finger 4

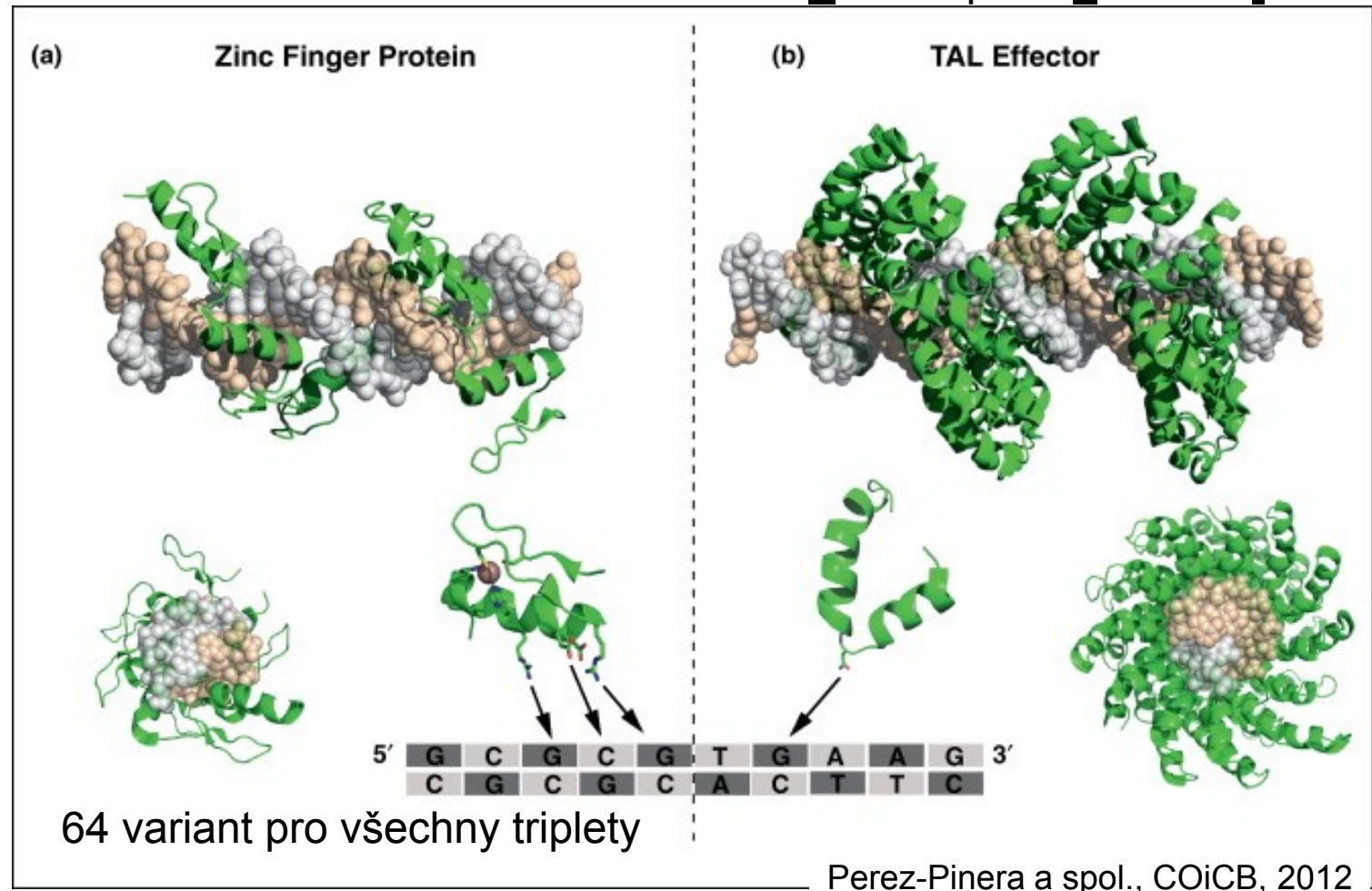


GLI Finger 5

- Dobře charakterizované DNA-proteinové kontakty – je známá specifita ZFs pro všech 64 možných kombinací 3 sousedních bp
- Lze pro specifickou sekvenci DNA poskládat ZFs – nová technologie „zinc nuclease“ pro genové manipulace

„genome editing“

Transcription activator-like



- Pridat k oblíbeným položkám
- Oblíbené p... Informační ... Historie
- Encyclopedia of Life Sciences
 - Ensembl release Homo sapiens Ex...
 - Entrez-PubMed
 - Essential Uncharacterized ORFs - Y...
 - EST Profile - microarray
 - EUROSCARF
 - ExPASy - ProtParam tool
 - ExPASy - ScanProsite
 - ExPASy - Tools
 - ExPASy Molecular Biology Server
 - Forsburg lab S. pombe Technology
 - Fralalyzer
 - FreeFullPDF.com
 - FUGUE Profile Lib Search
 - GCG-instructions
 - GCUA seqoverall optimal
 - gene
 - GeneCards
 - GeneDB
 - Genesilico Metaserver - meta2
 - Genesilico
 - GENEVESTIGATOR - shaping biolo...
 - Gestation, Incubation, and Loncev...

Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins

A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins

[Home Page](#)

[Protein-DNA Form](#)

[Generate Sequence Logo](#)

[Downloads](#)

[Analyze Genomic Sequence](#)

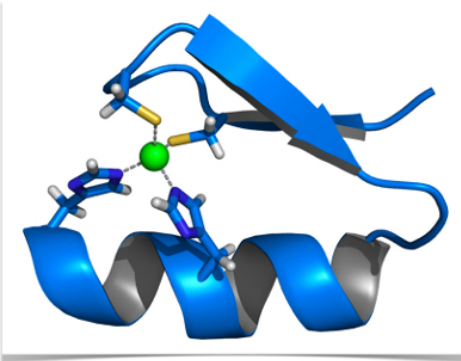
[Help](#)

[Contact Us](#)

Welcome to our new site!

For a given C₂H₂ zinc finger protein, we predict a position weight matrix representing its DNA binding specificity and display it as a sequence logo. This result can be used further to search genomic sequences for putative binding sites.

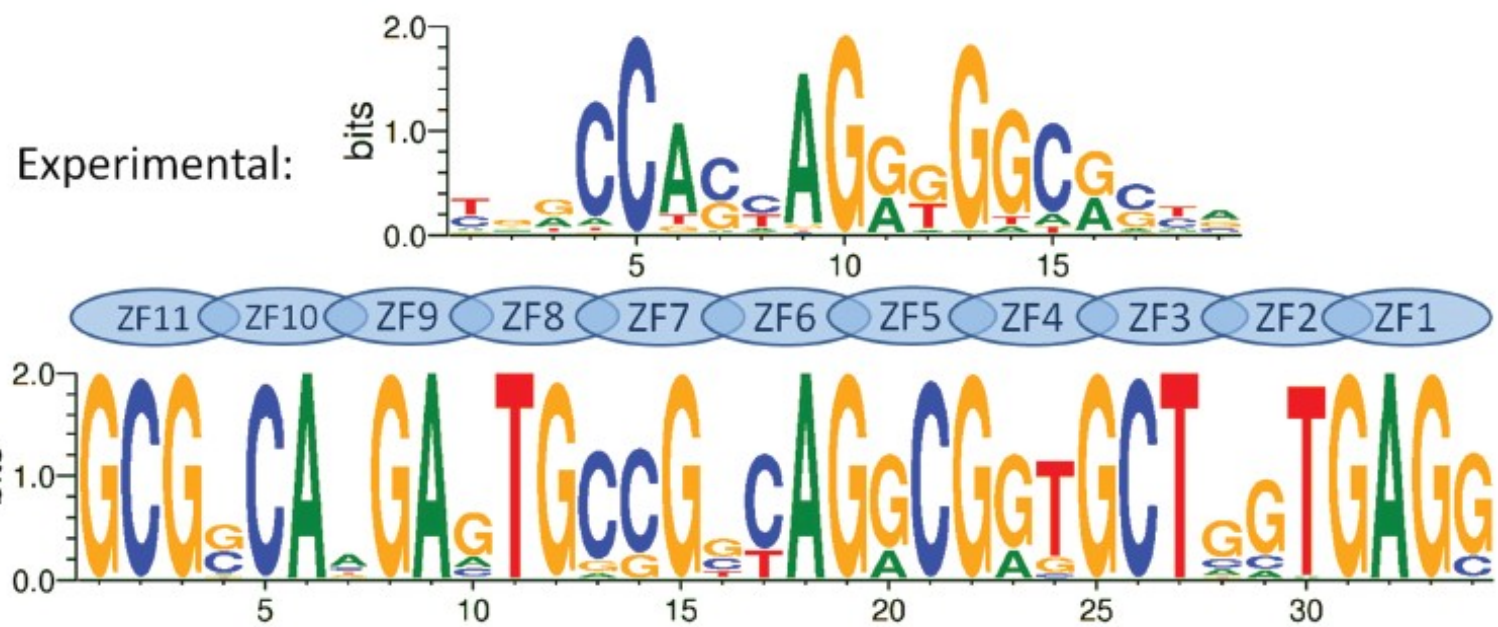
This site serves as an interface between a user's input and a set of prediction algorithms that are able to create the mentioned logos. It consists of a protein input screen, followed by the selection of the desired set of fingers, and the algorithm to be used. The results are delivered through a simple HTML page that



<http://zf.princeton.edu>

B

CTCF



- obsahuje 11 zinkových prstů – k vazbě na DNA používá různé kombinace ZF

ZF1
 Ts YQCEFCPYTNHKRYLLLRHMKSHSEERP
 Hs FCCELCSYTCPRRSNLDLRHMKSHDTERP
 Dm YSCPHCPYTASKKFLITRHSRSHDVEPS



ZF6
 Ts YQCEVNCNRFQTOSNSLKAHKL.IHSG.SRPV
 Hs YECYICHARFTOSGFMKMHILQRHTENVAK.
 Dm YQCDICCSRFTOSNSLKAHKL.IHSVVDKPV

human GAGCGGAAGAGGAAGTCCACCGGCTTTTGAACACGGA
 8. PLK h/m AGAGGAAGATTTAAGTAAAAGCTTCCTGGAGGAGGCGCAA
 TCTCCTTCTAAATTTCATTTTCGAAGGACCTCCTCGCGT

ZF7
 Ts FQCKFCPSGCRKTDLR.IHVQKLDHTA.SAP
 Hs FHCPCDVTVIARKSDLGVHLRKHHSYIEQG
 Dm FQCNYPCTTCGRKALR.VHIKHMHTS.DVP

9. PIM-1 human CTTTTCTTCCCGCCAGCTCGGGCGCGTAGAGACCATT
 GAAAAGGAAGGGCGGTCCAGCACCCCGCATCTCTGGTAA
 10. PIM-1 mouse GGGGAGAGGGGTGTACCCCGCGAGGGGCGGAGCGGAGGG
 CCCCTCTCCCCACATCGGCGCTCCCGCCTCGCCTCC

ZF8
 Ts IKCKKCDRTFTDRYTFKLHCKEHDGERC
 Hs KKCRYCDAVEHERYALIQHOKSHKNEKR
 Dm MTCRRCGQLPDRYQYKLVHSHVKSHEGEKC

11. p19ARF mouse GCAGGGCCCAGCCCGCTCCCGCTGGGCGCTCTTGGGA
 CGTCCCGGGCGCGCGGAGGGGGACCCCGGAGAACCCT
 12. DMD4 mouse GGAACGGAGCTACCGCGCGGCGCAGCATACTCCTATATA
 CCTTGCTCGATGGCGGCCACCCGTCGTATAGGATATAT

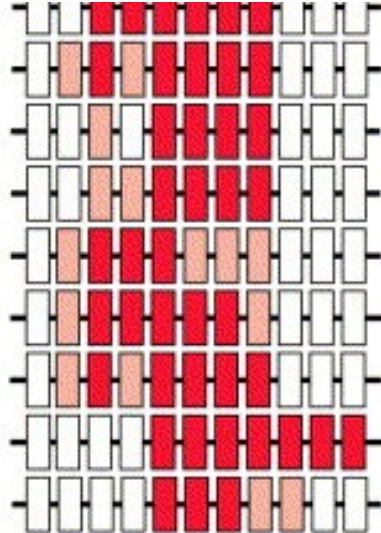
ZF9
 Ts YQCHLCPYSAMAQRHLEAHTLLHSDKFP
 Hs FKCDQCDYACRQERHLMIMHKRTHTGEKPF
 Dm YSCKLCSYASVTRHLLASHMLIHLDEKPF

13. DMD7 mouse CTAATGGACAGACGATGCCCGCTGGGCGCAGTACAATAC
 GATTTACCTGTCTGCTACGGCGCACCACCGTCATGTTATG

ZF10
 Ts YKQVDNLSFKQVSLKRRHVESTHAAANO
 Hs YACSHCDKTFROKLLDMHFKRYHDPNFV
 Dm FHCDQCPQAFRORQLLRHNMNLVHNEEYQ

14. "144" silen. rat CCTGAGTGCATTTCCCTCATGATCCAAAAGAGGGAATAAC
 GGACTCACGTAAAGGAGTACTAGGTTTCTCCCTTATTG
 15. APP human TTCCCCGCGCGCGCCCTAGGGCTCTCTCTCGGGTGCCGA
 AAGGGCCCGCGCGCGCGATCCCCAGAGAGGCCACCGCT

ZF11
 Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSSSFSSTSPNSS
 Hs PA.....AFVCSKCGKTFTRRNTMARHADNCA
 Dm PPEPREKLHKCPSCPREFTHKGNLMRHMETHD
 insertion

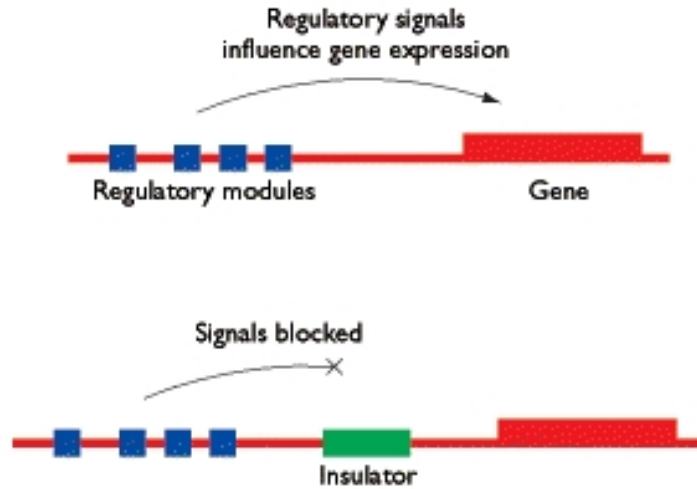


TRENDS in Genetics

Ohlsson a spol., TiG, 2001

CTCF

A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



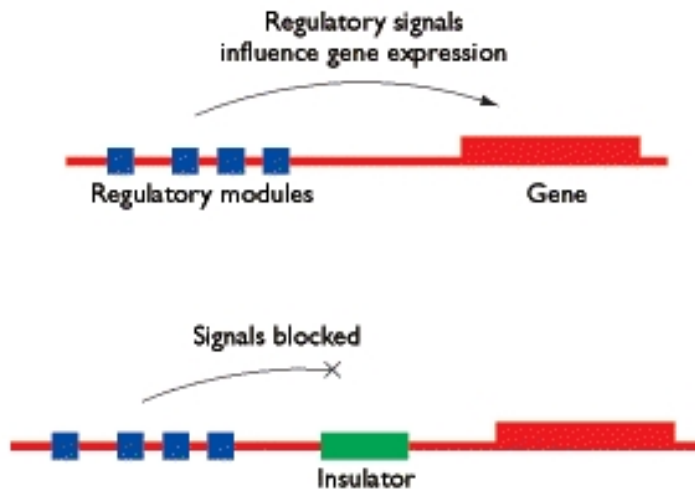
- CTCF (zkratka z CCCTC factor)
- izolátor/insulator brání transkripci
- váže se mezi transkripční aktivátory a obecné transkripční faktory

ZF1	<pre> 10 20 Ts YQCEF CPYTNH KRYLLR HMKS HSEERP Hs FOCEL CSYTCP RRSNLD RHMKS HTERP Dm YSCPH CPYTASK KFLITR HSRS HDVEPS -1 2 3 6 </pre>
ZF2	<pre> 30 40 50 Ts FKCTV CERC FKINSS LONH INTHTGTRP Hs HKCHL CGRAF RTVTL LRNLN HTHTGTRP Dm FKCSI CERSFR SNVGL ONHINT HMGNKP -1 2 3 6 </pre>
ZF3	<pre> 60 70 80 Ts HQCKG CELAFT TSGEL IRI RYKHTLEKP Hs HKCPD CDMAF VTS GELVR HRRYKHTHEKP Dm HKCKL CESAF TS GELVR HTRYKHTKEKP -1 2 3 6 </pre>
ZF4	<pre> 90 100 110 Ts HKCTE CSYASV ELSK LKRHIRS HTGERP Hs FKCPD CDYASV EVSK LKRHIRS HTGERP Dm HKCTE CTYASV ELTK LRHMTC HTGERP -1 2 3 6 </pre>
ZF5	<pre> 120 130 140 Ts YHCPH CSYASP DTYK LKRLR HTGEEKP Hs FOCSI CSYASR DTYK LKRMR HTSGEKP Dm YQCPH CTYASQ DMFK LRHMVI HTGEEK -1 2 3 6 </pre>
ZF6	<pre> 150 160 170 Ts YQCEV CNORFT OSNS LKAHKL IHSG.SRPV Hs YECYI CHARPT OSGT MKMHI LQKHTENVAK. Dm YQCDI CKSRFT OSNS LKAHKL IHSVVDKPV -1 2 3 6 </pre>
ZF7	<pre> 180 190 200 Ts FOCKF CPSSCG RKTD LRHVQKLH TA.SAP Hs FHCPH CDTVI ARKSD LGVHLRQHSYIEQG Dm FQONY CPTTCGR KADLRVHIKHMHTS.DVP -1 2 3 6 </pre>
ZF8	<pre> 210 220 Ts IKCKK CDRTFT DRYTFKLHCKE HDGERC Hs KKCRY CDAVE HERYALIQH QSKHKNEKR Dm MTCRR CGQQLP DRYQYKLVKSH EGEKC -1 2 3 6 </pre>
ZF9	<pre> 230 240 250 Ts YQCHL CPYSAMA QRHLEAHTLLH HSDKPF Hs FKCDQ CDYACR QERHMIHKRTHTGEEKP Dm YSCKL CSYASV TQRHLASHMLIHLDEKP -1 2 3 6 </pre>
ZF10	<pre> 260 270 280 Ts YKQVD CNLSFK VSLKRVESTHAAANO Hs YASHC DKTFROKOLLDMHF KRYDPNFV Dm FHCDQ CQAFRQ RQLLRHMNLVHNEEYQ -1 2 3 6 </pre>
ZF11	<pre> 290 300 310 Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSSSSPSTSPNSS Hs PA.....AFVCSKCGKTFRRNTMARHADNCA Dm PPEPREKLHKPSCPREFTHKGNLMRHMETHD -1 2 3 6 insertion </pre>

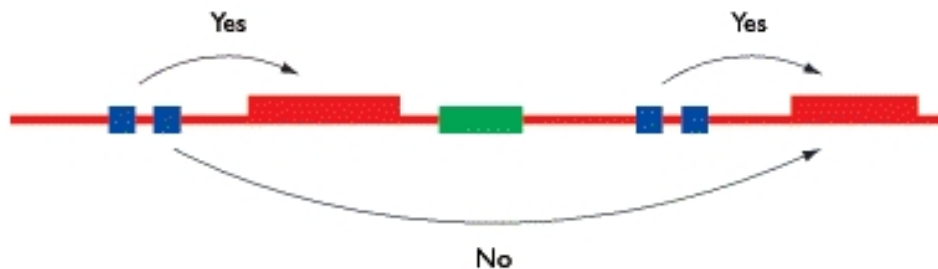
CTCF

Izolátory chrání vzájemnou nezávislost sousedních domén, nedochází k vzájemnému rušení (B).

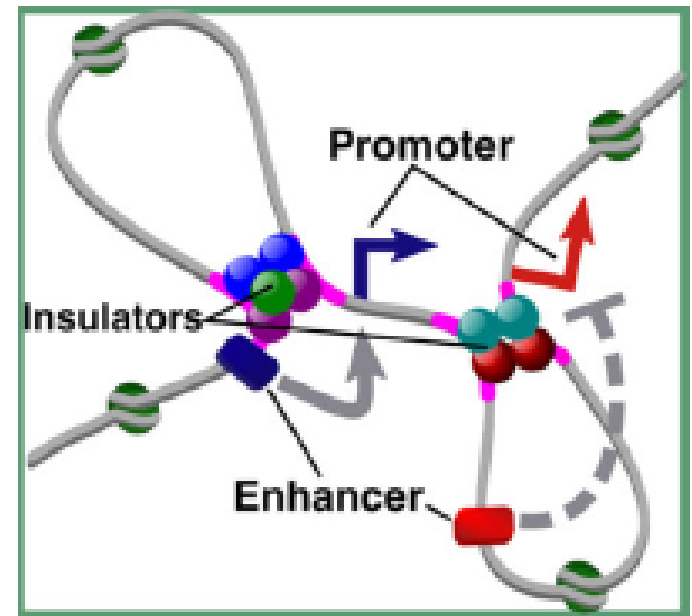
A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



B) Insulators prevent cross-talk between functional domains



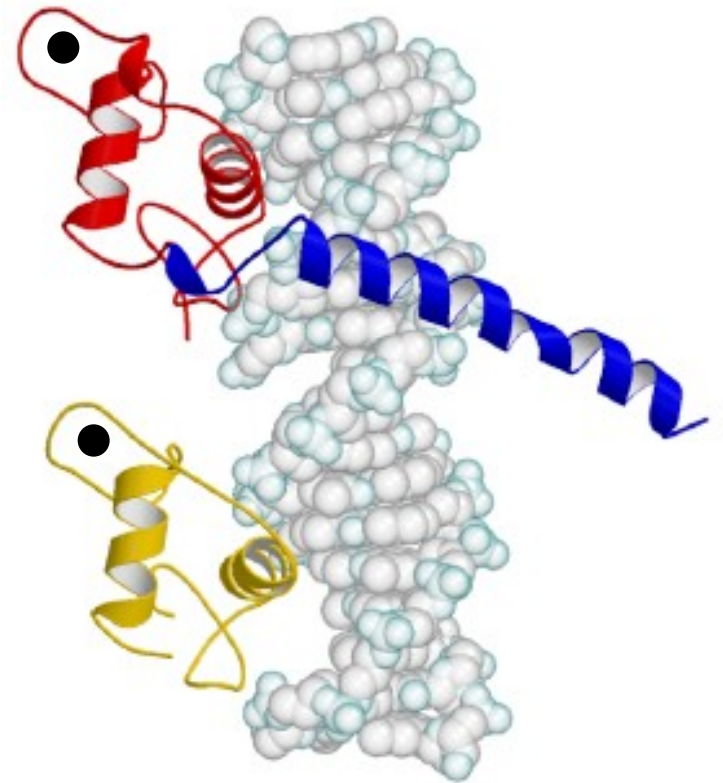
- CTCF funguje též jako kótva pro nukleosomy
- interaguje s kohesinem a podílí se na utváření vyšších chromatinových struktur



Hormon receptor family

Jaderné receptory – steroidní hormony, thyroïdní hormony a retinoidy – navázání ligandu stimuluje translokaci receptoru z cytoplasmy do jádra a vazbu na HRE (*hormon response element* - regulaci transkripce)

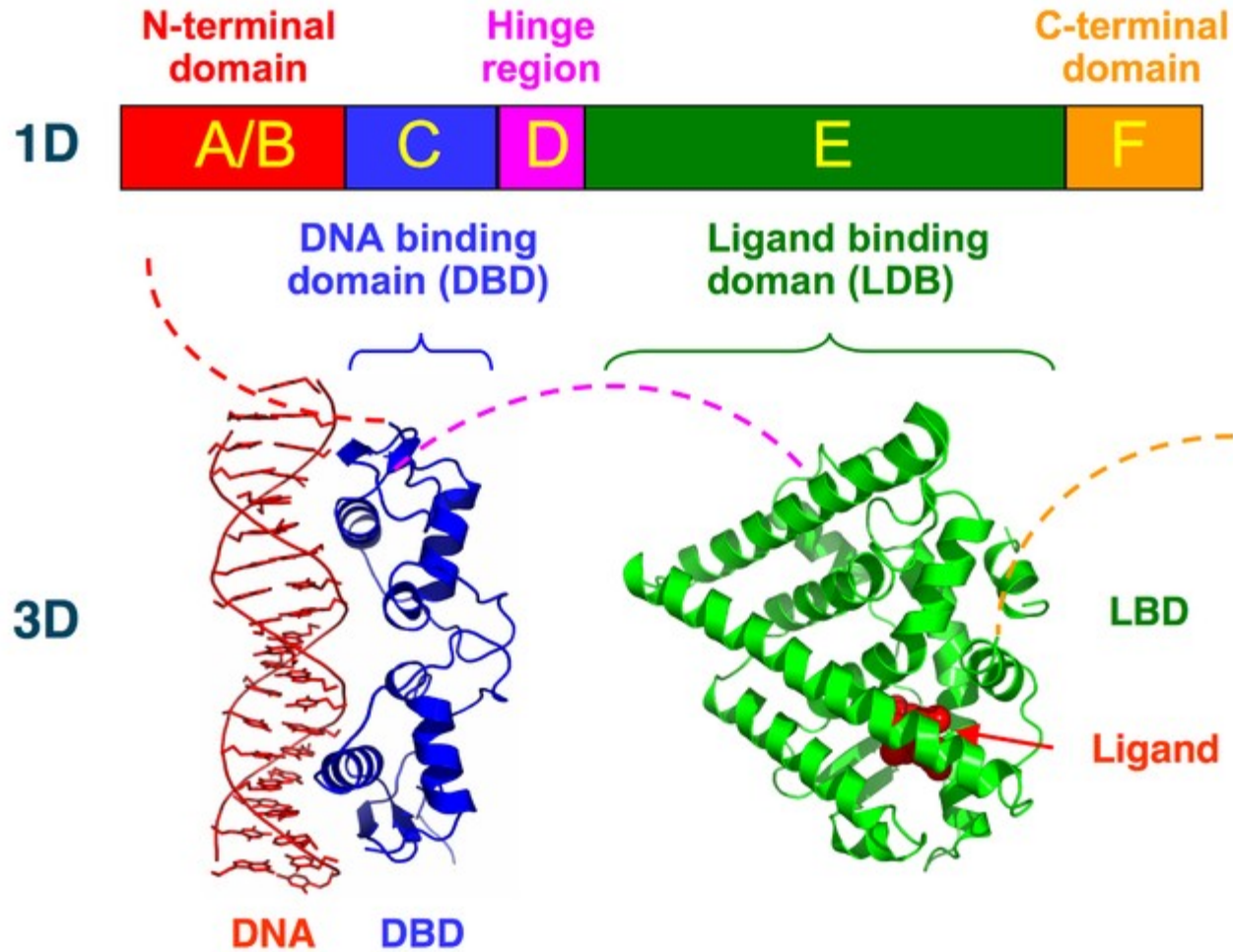
- α -šroubovice-smyčka(loop)- α -šroubovice (kolmé)
- 4 Cys koordinují Zn
- 1. helix ve velkém žlábků a smyčka s druhým helixem kontaktují cukr-fosfátovou kostru
- doména dimerizuje (přes smyčku)



18. Hormone receptor (2nll)

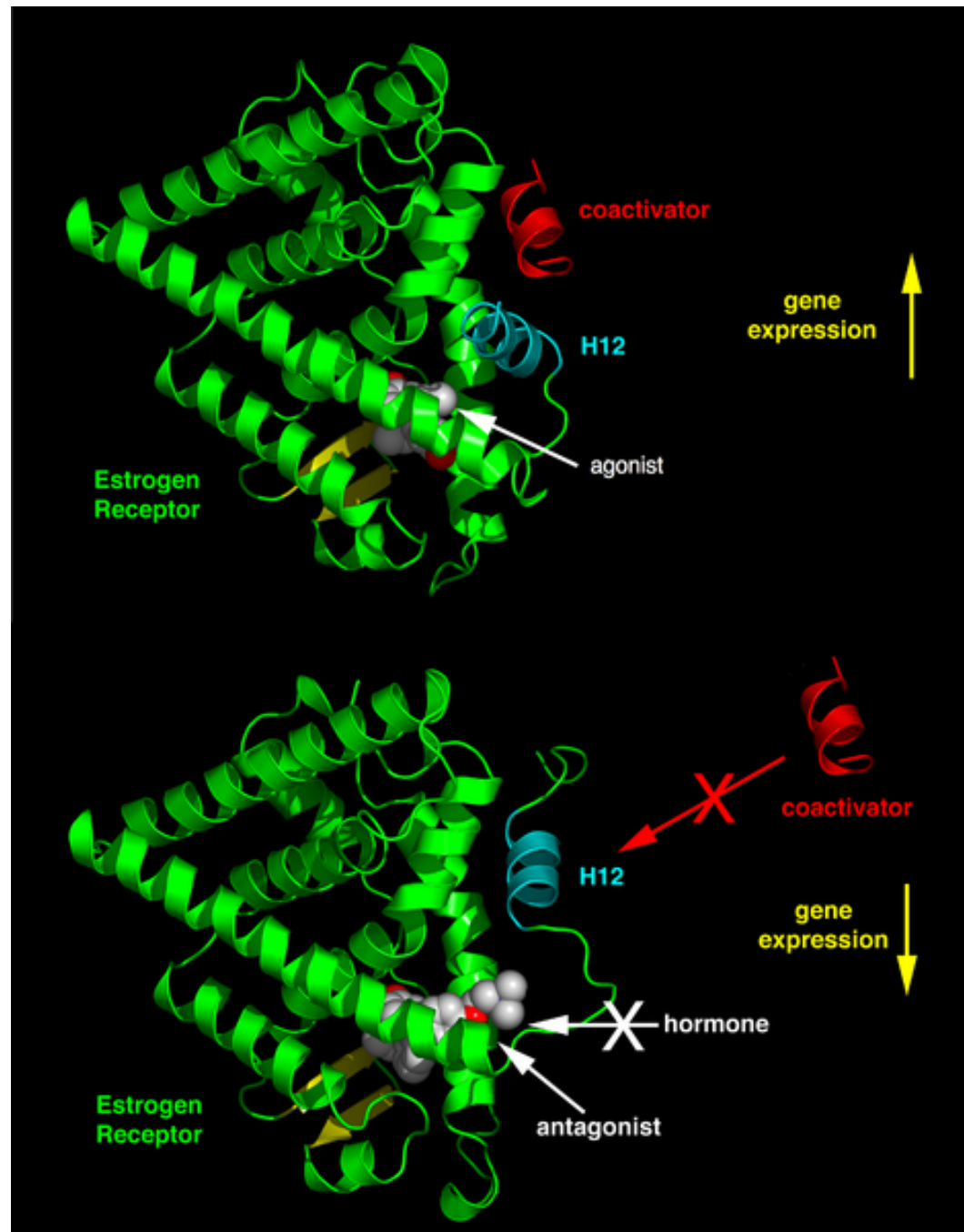
navázání ligandu stimuluje vazbu k DNA

Structural Organization of Nuclear Receptors

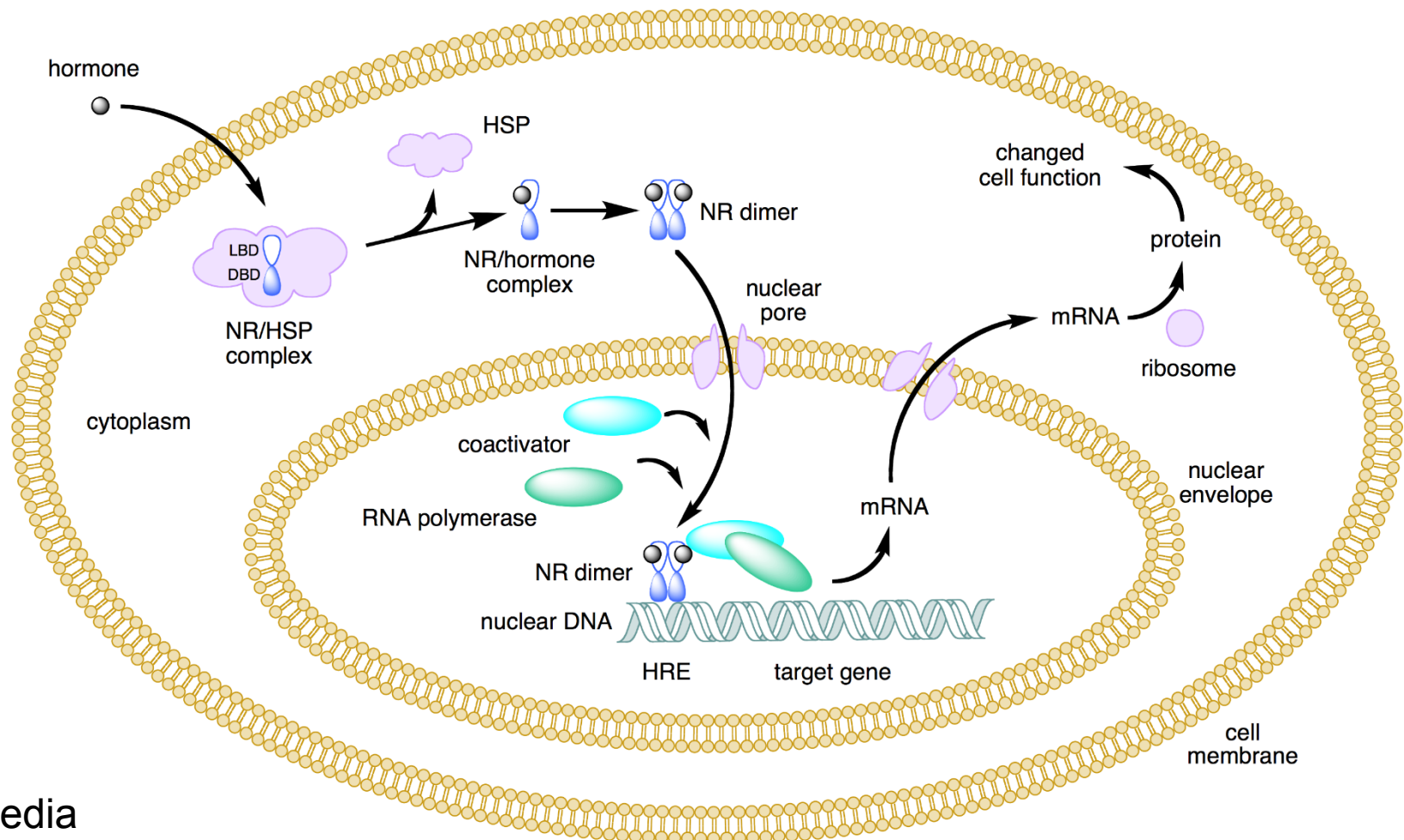


- hormony (estrogen) nebo syntetické látky (diethylstilbestrol) působí jako agonisté a stimulují vazbu koaktivátorů
- antagonisté (synt., hydroxytamoxifen) brání vazbě agonistů a koaktivátorů

http://en.wikipedia.org/wiki/Nuclear_receptor - seznam receptorů a jejich ligandů



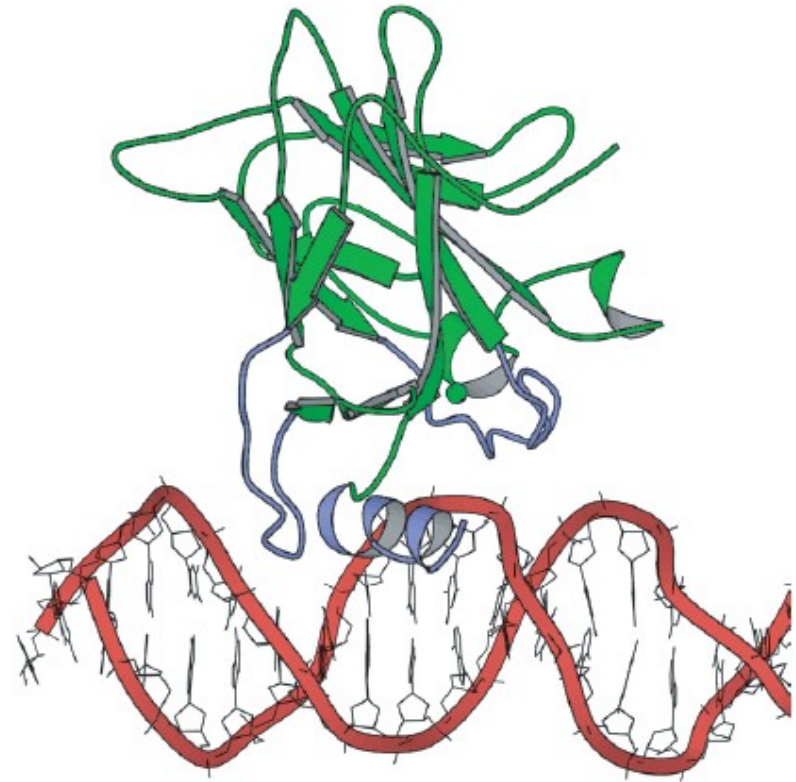
třída I (homodimery, cytoplasma) a třída II (heterodimery, jádro) – vazba ligandu také moduluje vazbu ko-aktivátorů (dalších transkripčních faktorů nebo chromatinových remodelátorů/např. histon acetylasy – acetylace uvolní nukleosom)



Loop-sheet-helix

- core/DNA-vazebná doména p53 – transkripční faktor důležitý pro regulaci buněčného cyklu, apoptozy a opravy poškozené DNA (nádorový supresor)

- smyčky vycházející mimo hlavní core doménu – vyčnívá β -list a α -šroubovice
- 3 Cys a 1His koordinují Zn
- helix ve velkém žlábkku a smyčka v malém žlábkku
- Aktivace transkripce skrze kyselou TA doménu



TFIID,TFIIH - transkripce



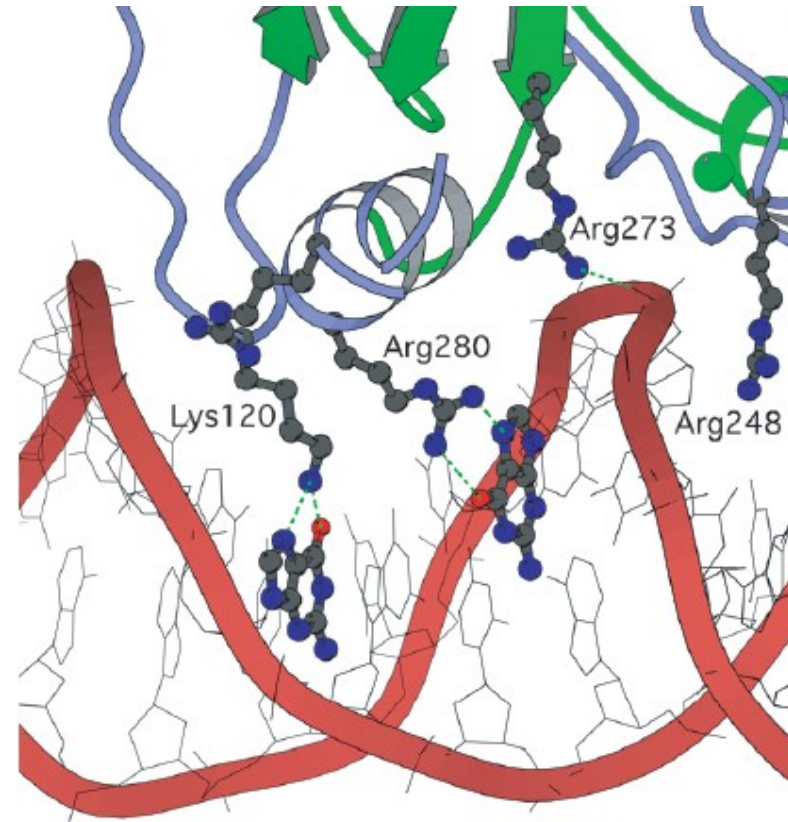
MDM2/MDM4 - ubi

Loop-sheet-helix

- core/DNA-vazebná doména p53 – transkripční faktor důležitý pro regulaci buněčného cyklu, apoptozy a opravy poškozené DNA (nádorový supresor)

- Konsensus sekvence
PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy
(v promotorech p21, PUMA)
- 95% “nádorových” mutací je v „core“ doméně (R273H)
- Regulace/aktivace modifikací C-koncové domény

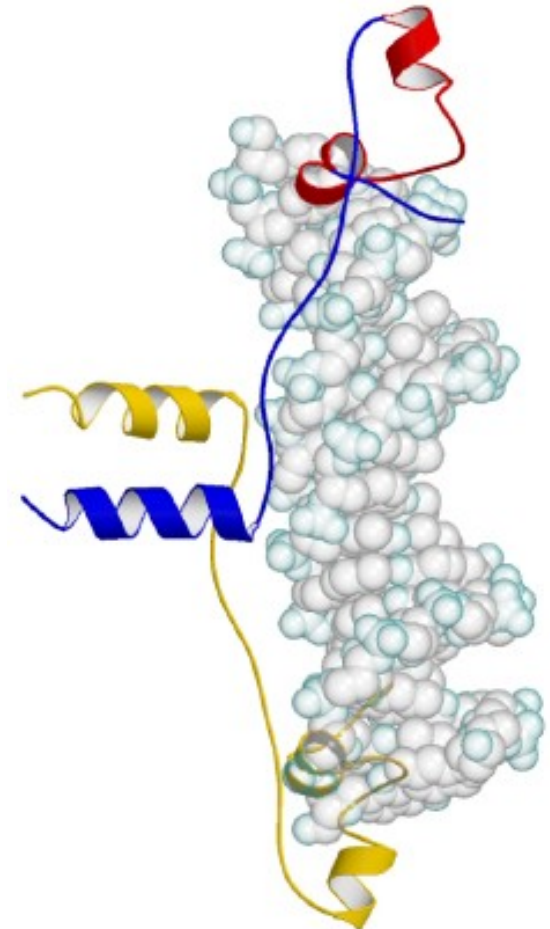
Protein se váže jako tetramer
(C-koncová doména)



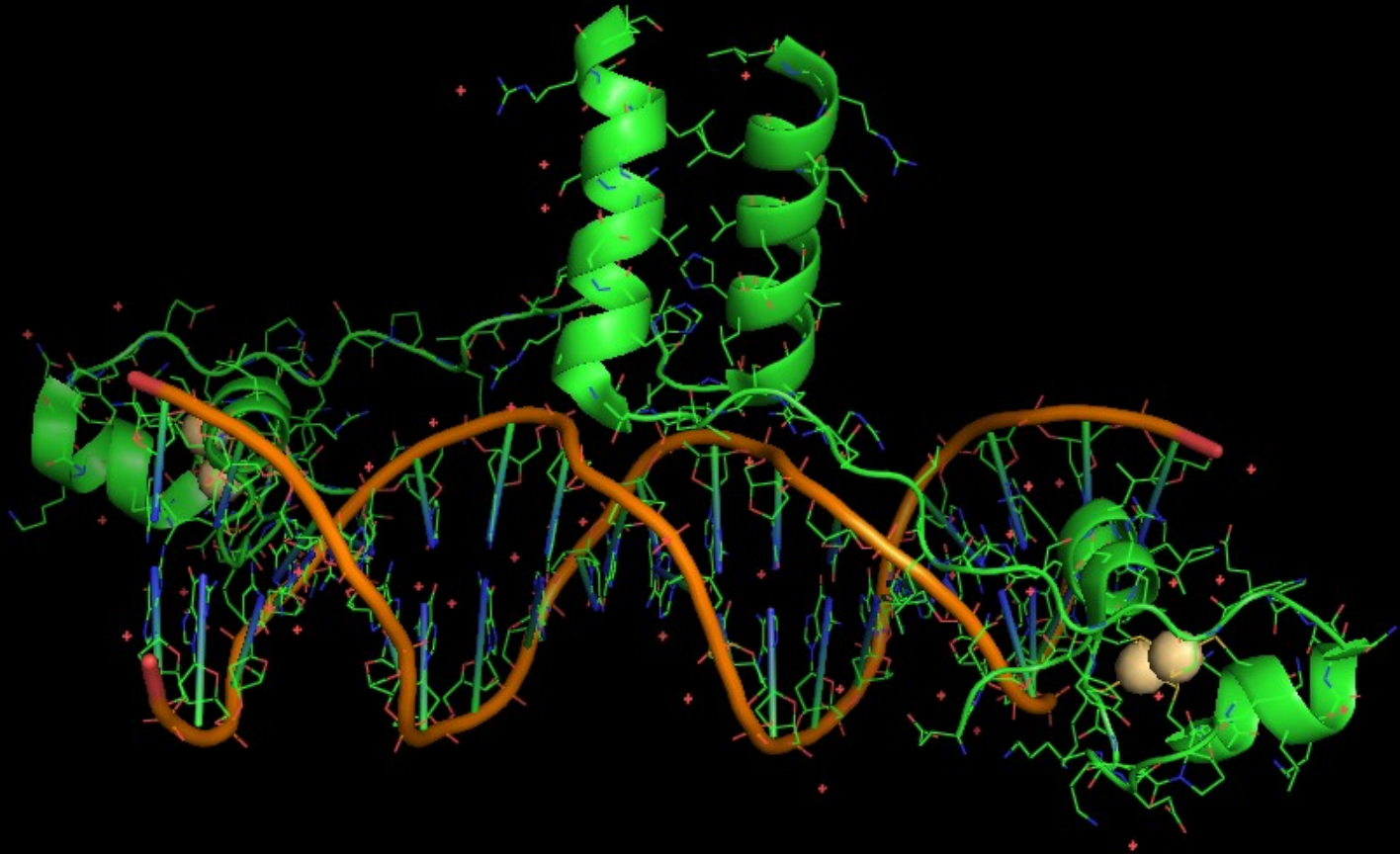
Gal4

- transkripční faktor reguluje v kvasinkách metabolismus galaktosy (kvasinkový dvou-hybridní systém)

- 2 α -šroubovice
- 6 Cys koordinuje 2 Zn (2 Cys sdílené 2 Zn)
- 1. helix ve velkém žlábků a 2. kontakt s cukr-fosfátovou kostrou
- Dimerizuje přes krátký CC segment



Gal4

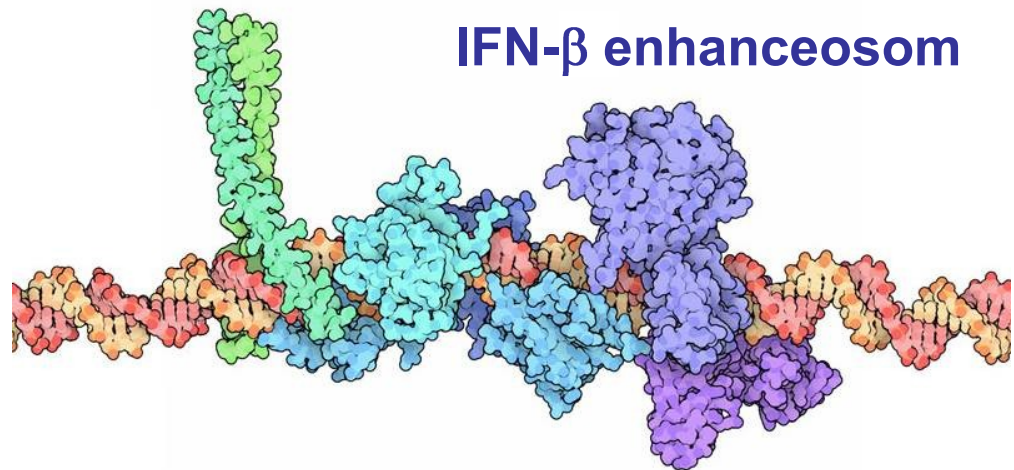


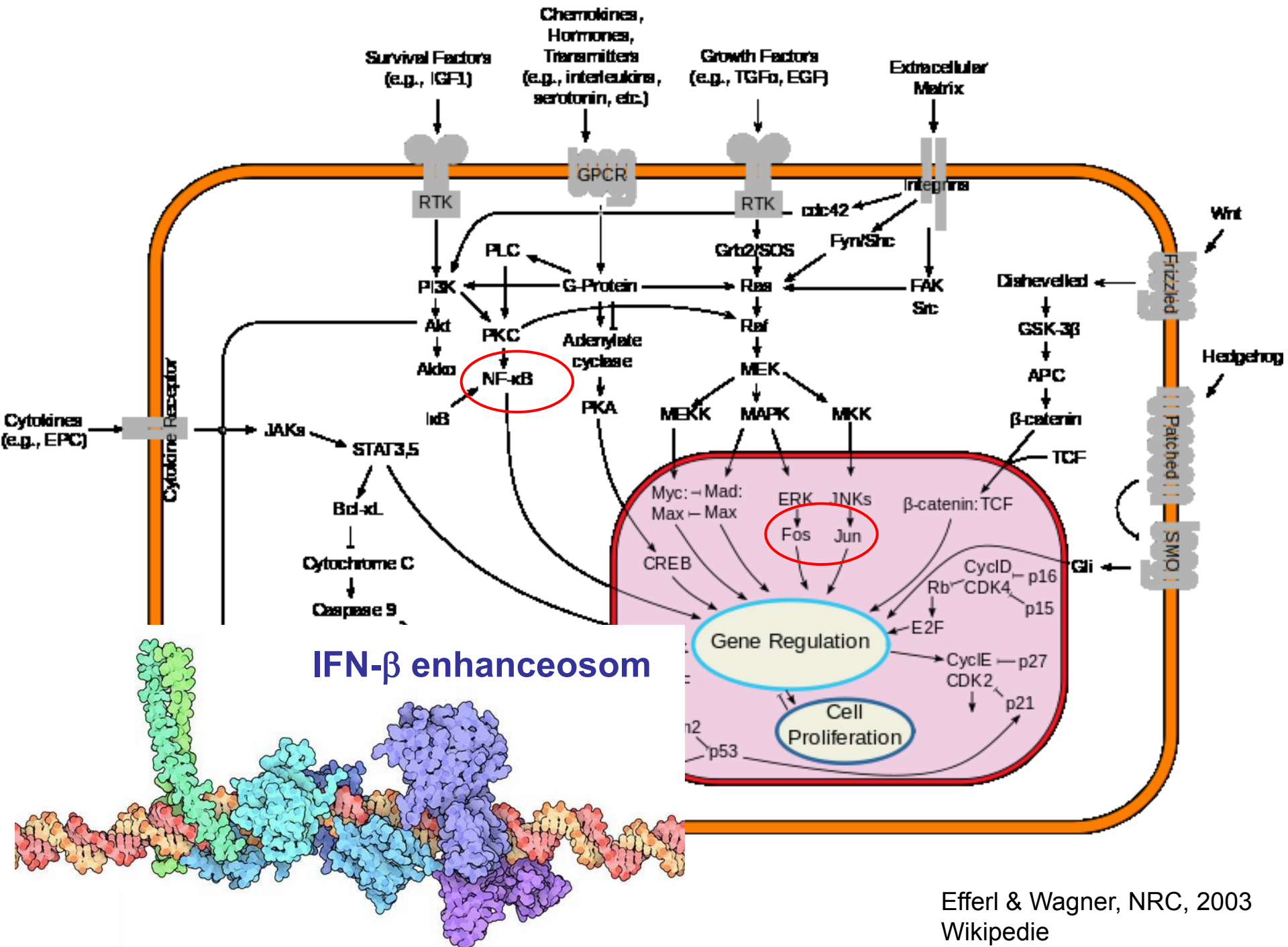
Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4

**Kombinace motivů (šroubovice, Zn ...)
... nejčastěji VŽ a šroubovice**

Kombinace více proteinů ...



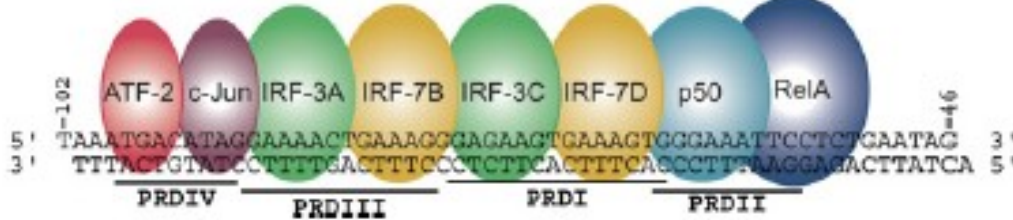


IFN- β enhanceosom

AP-1

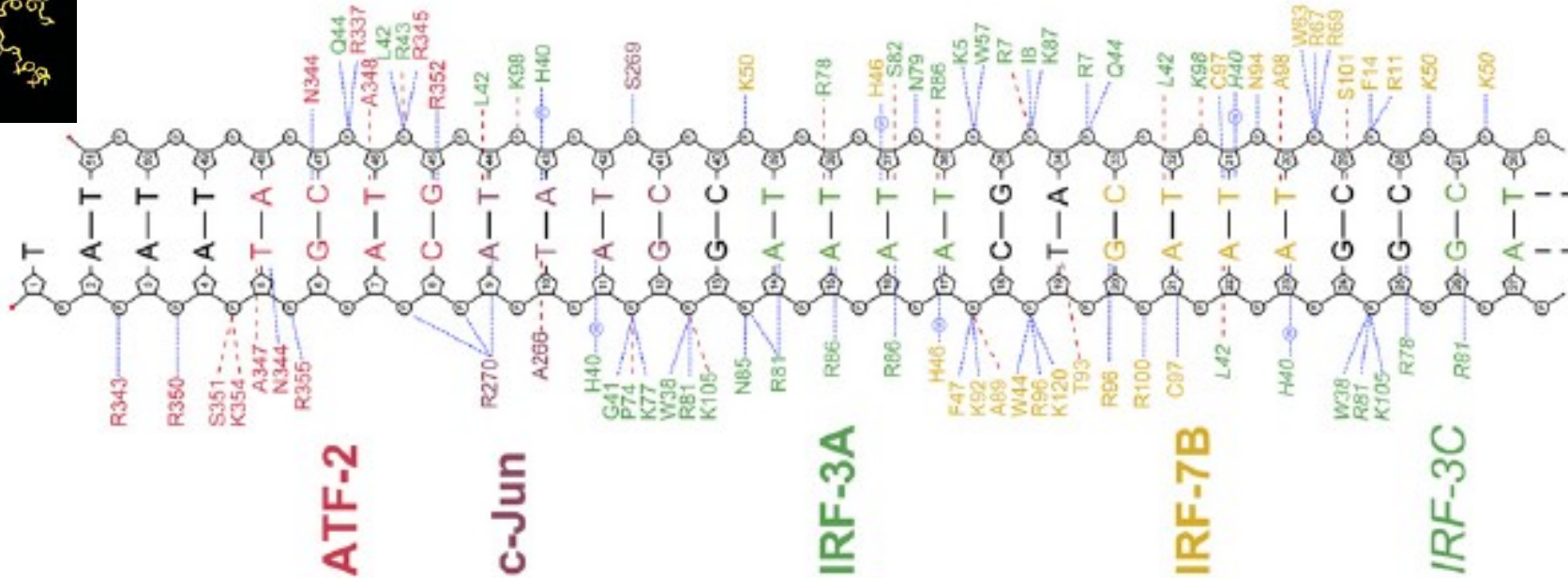
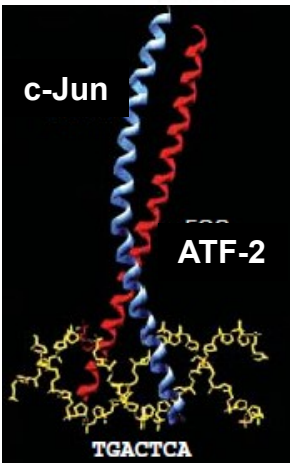
NF- κ B

IFN- β enhanceosom



transkripce

- jeden z nejlépe popsaných enhancerů u vyšších eukaryot – induk. viry
- sekvence -102 až -47 básí upstream od počátku transkripce
- TF pokrývají 72% povrchu DNA (těsné sbalení DB-domén) – málo PPI
- nicméně vazba 8 proteinů je koordinovaná (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF- κ B)



Panne et al, Cell, 2008
Panne, CO in SB, 2008

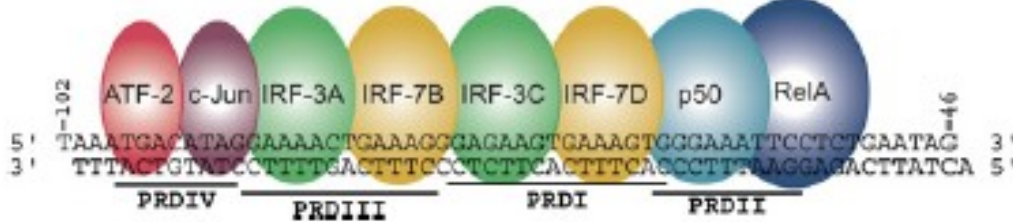
AP-1

Activator Protein = b-ZIP (basic leucine zipper)

AP-1

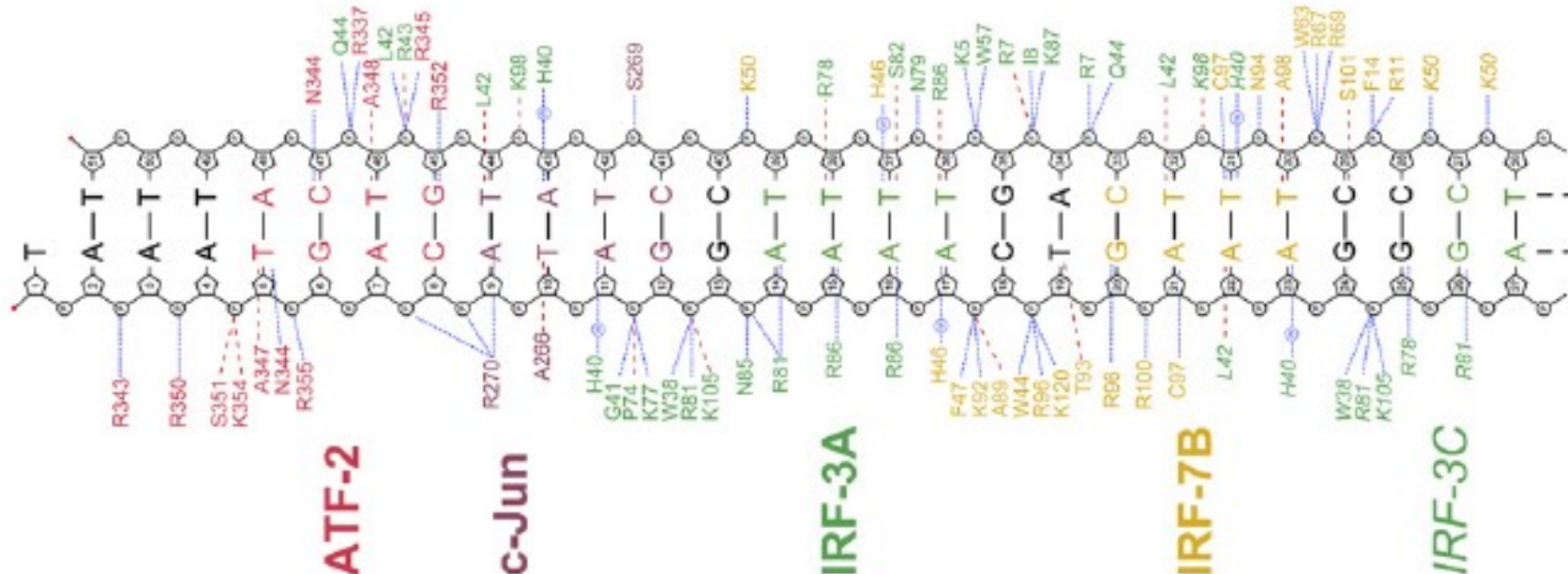
NF- κ B

IFN- β enhanceosom



transkripce

- koordinovaná vazba 8 proteinů (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF- κ B)
- AP-1 slabě interaguje s IRF proteinem, ale IRF proteiny mezi sebou nemají žádný kontakt
- šroubovice IRF-3 ve VŽ ohýbá DNA, což **stimuluje** vazbu dalšího IRF
- ohyby se po 1/2 otočce kompenzují, takže DNA je v tomto úseku **ROVNÁ**



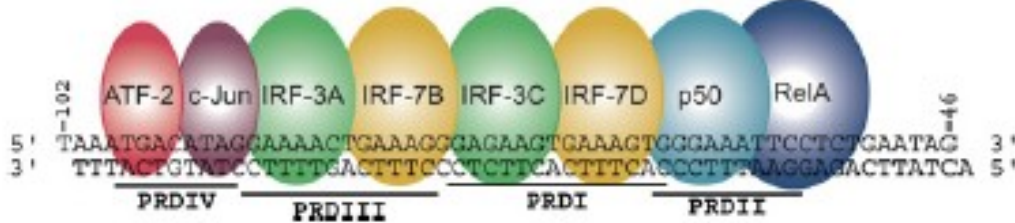
Panne et al, Cell, 2008
Panne, CO in SB, 2008

IRF – interferon regulation factor = šroubovice ve velkém žlábků a smyčka (His) kontaktuje base v malém žlábků

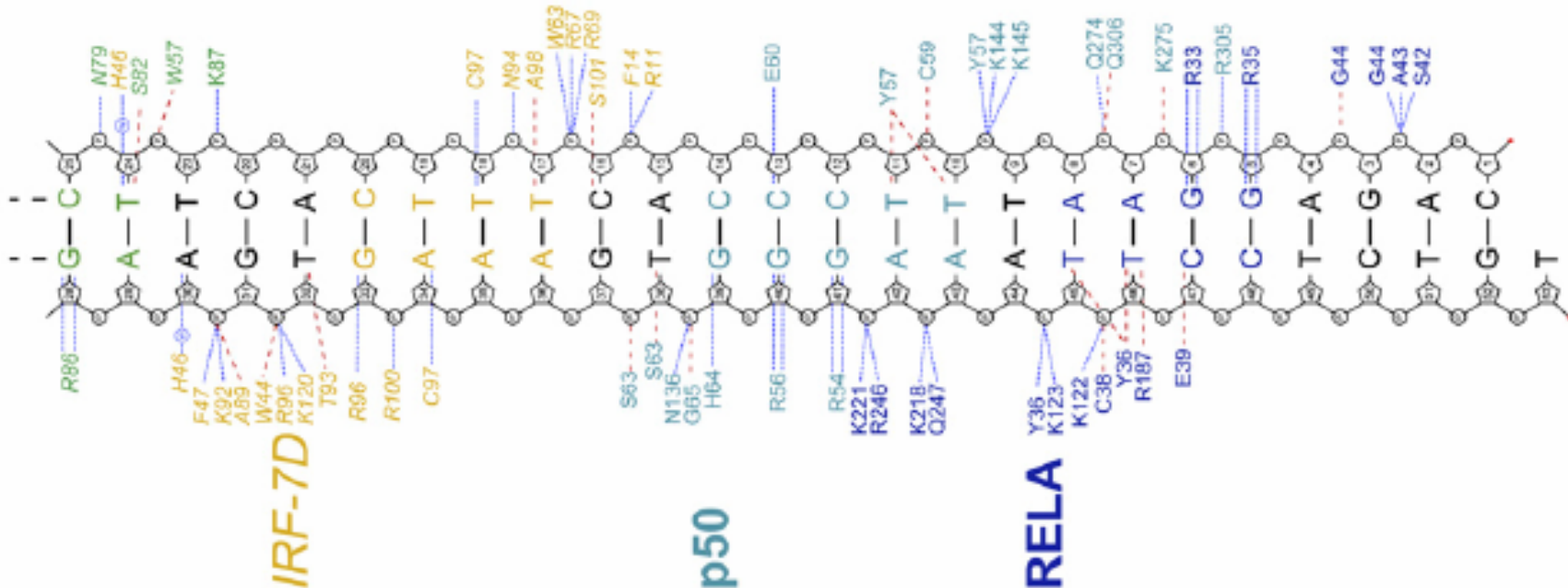
AP-1

NF- κ B

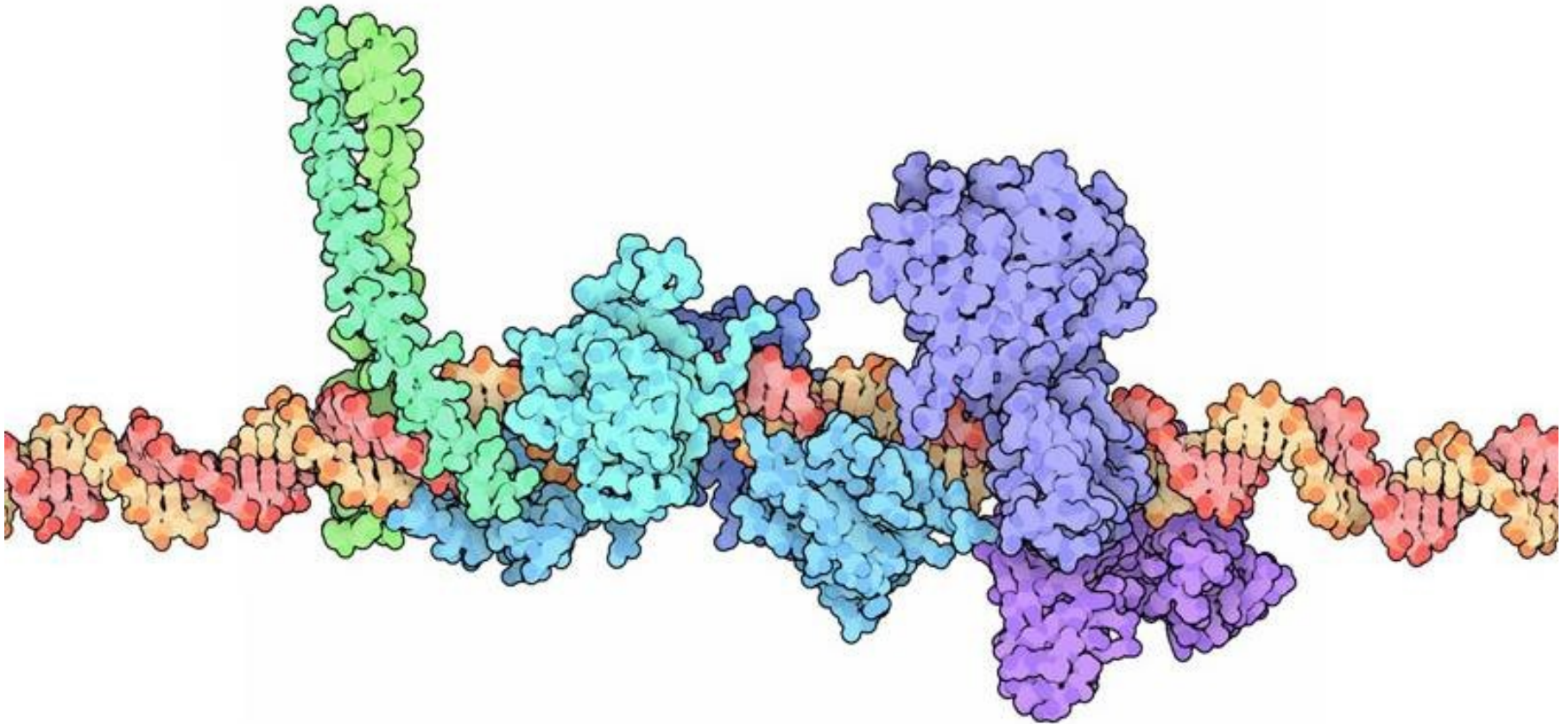
IFN- β enhanceosom



- koordinovaná vazba 8 proteinů (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF- κ B)
- p50/REL-A dimerizují (β -listy) - p50 slabě interaguje s IRF-7
- vazba do VŽ ...

NF- κ B

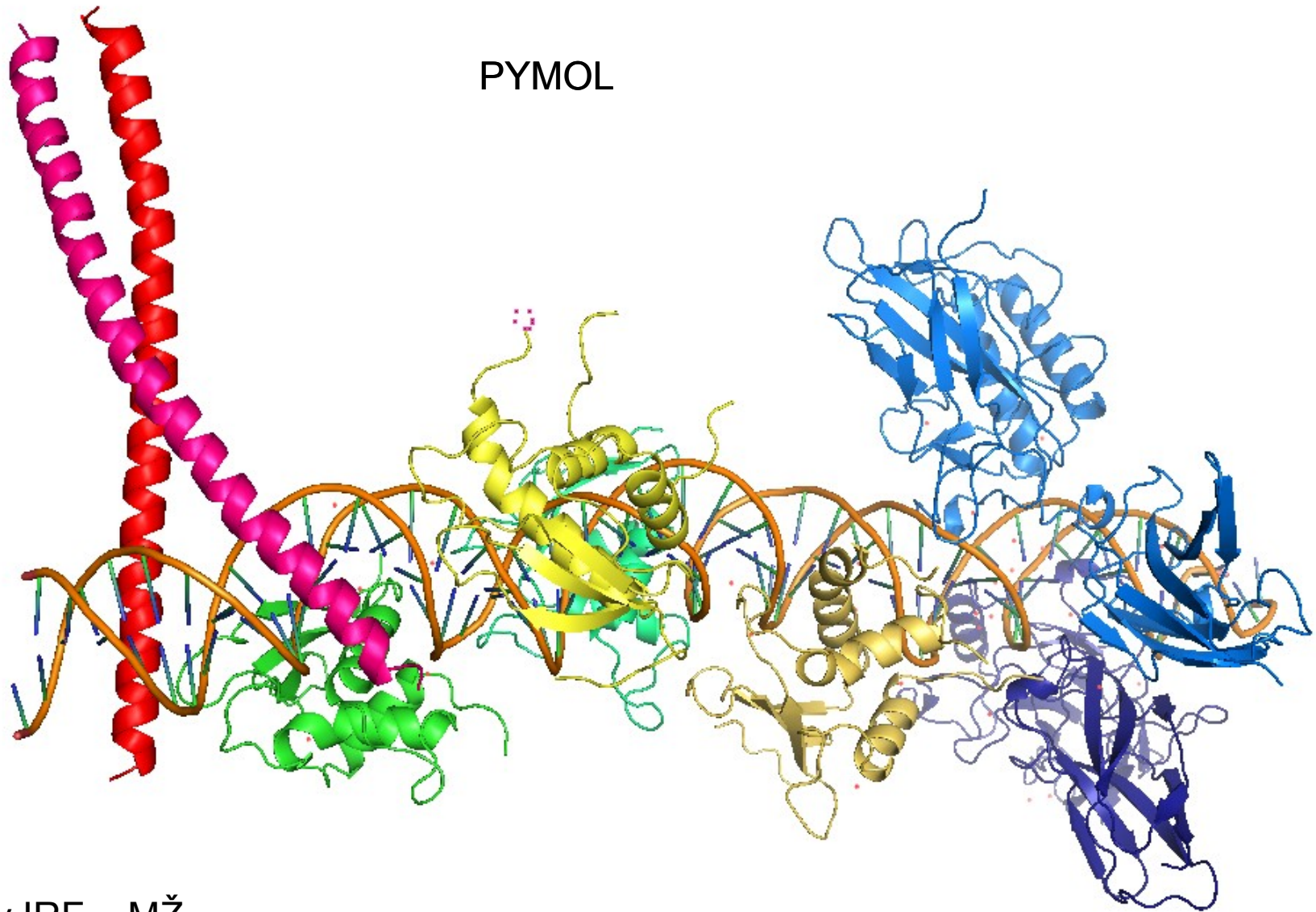
IFN- β enhanceosom



- TF pokrývají 72% povrchu DNA (těsné sbalení DB-domén)

IFN- β enhanceosom

102
-51
5' TAAATGACATAGGAAAAGTAAAAGGGAGAAAGTAAAAGTGGGAAAATTCCTCTG 3'
3' TTTACTGTATCCTTTTGAAGTTCCCTCTTCACTTTCAACCTTTAAGGAGACA 5'
ATF-2 IRF-3A IRF-3C p50
c-Jun IRF-7B IRF-7D RelA

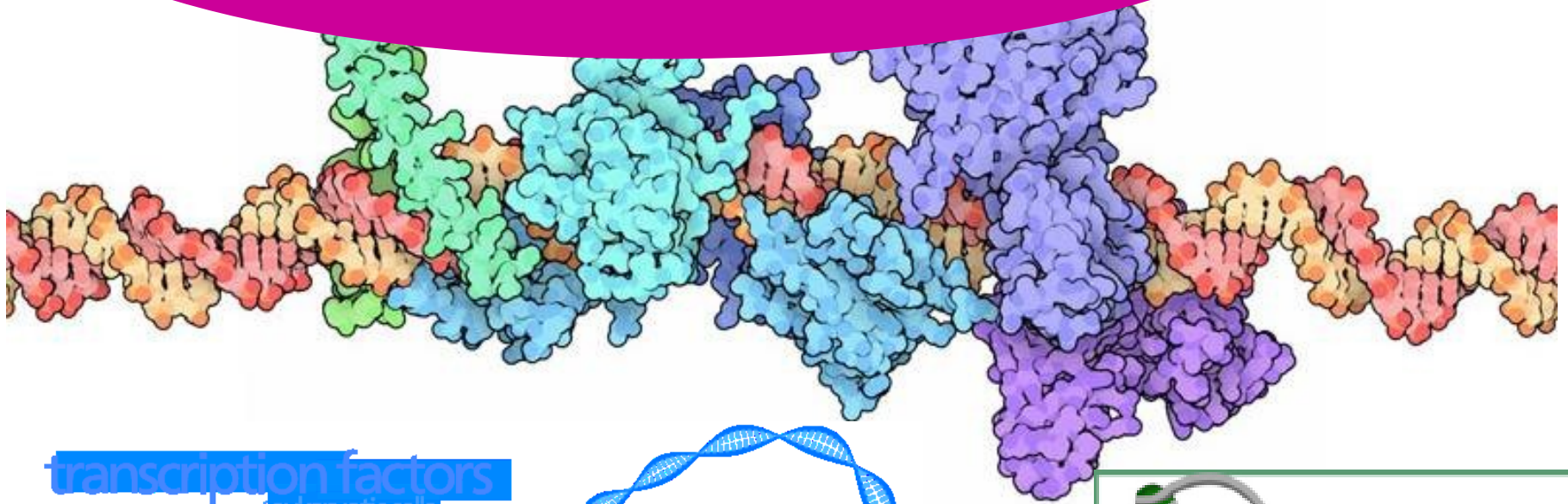


smyčky IRF – MŽ

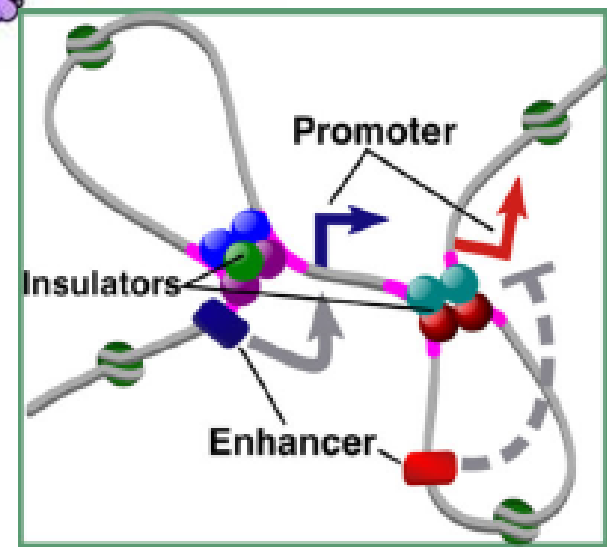
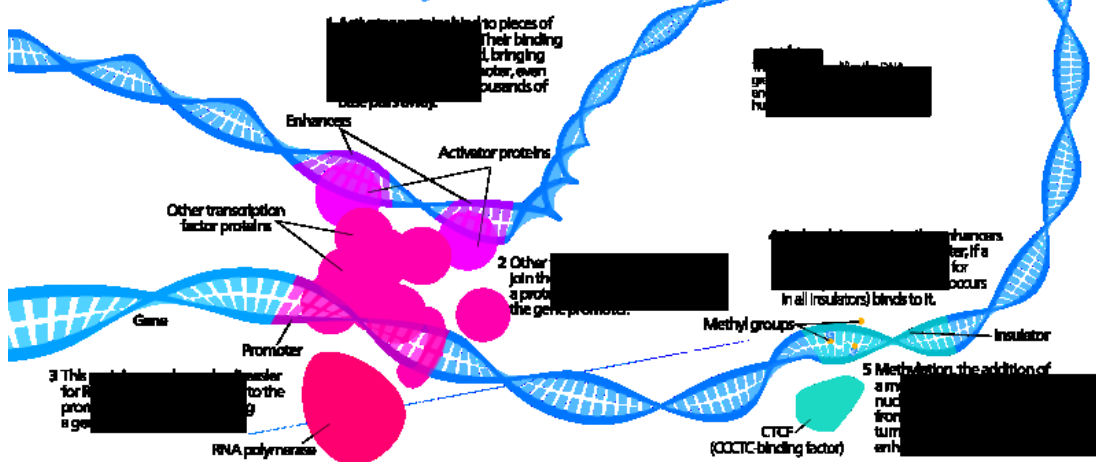
červené tečky – molekuly vody

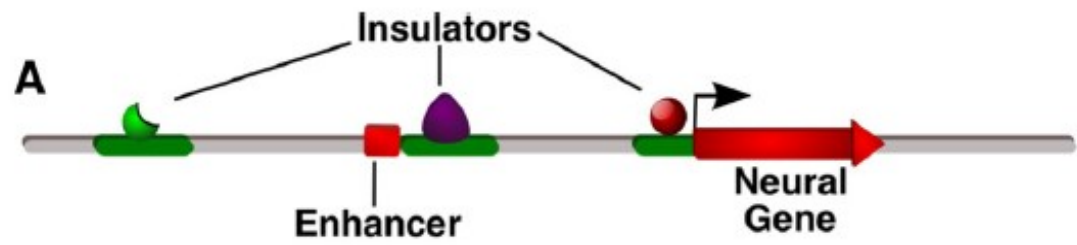
<http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=122>

CBP/p300

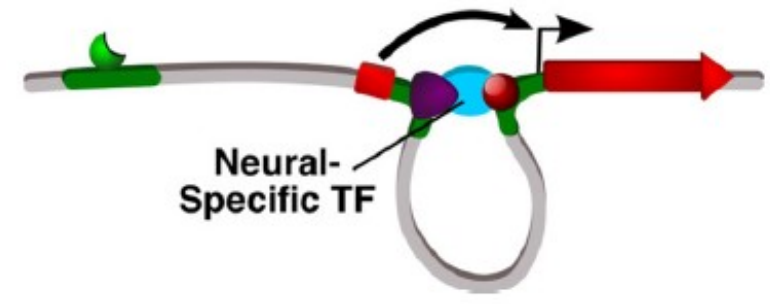


transcription factors of eukaryotic cells

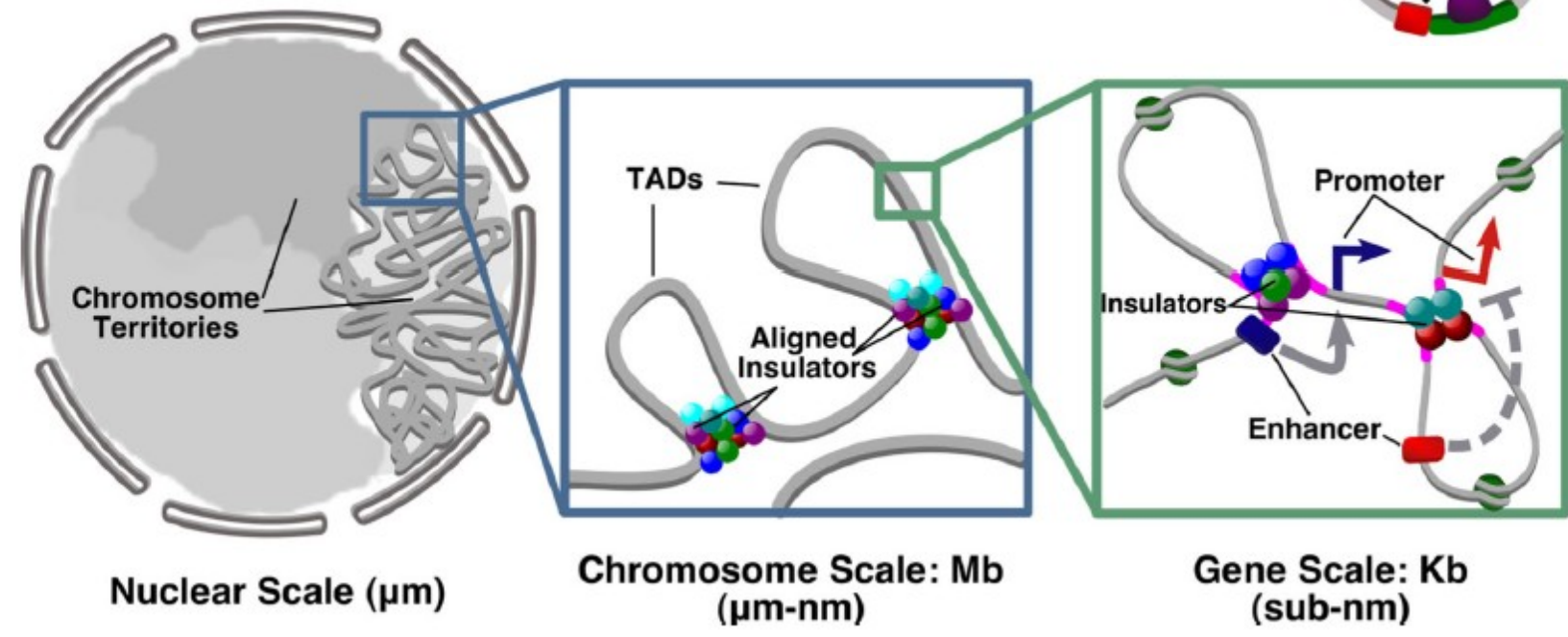
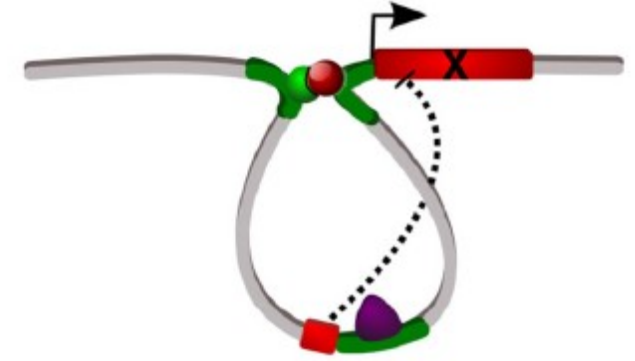




Neural Tissue



Non-Neural Tissue



Souhrn:

- vazba většiny TF pomocí šroubovice ve velkém žlábkku (leucinový zip, HTH, zink-finger ...)
- transkripční komplexy (enhanceosom ...)

Příště:

- Histon, HMG-box
- β -sheet motivy
- enhanceosom ... a počátek transkripce

