

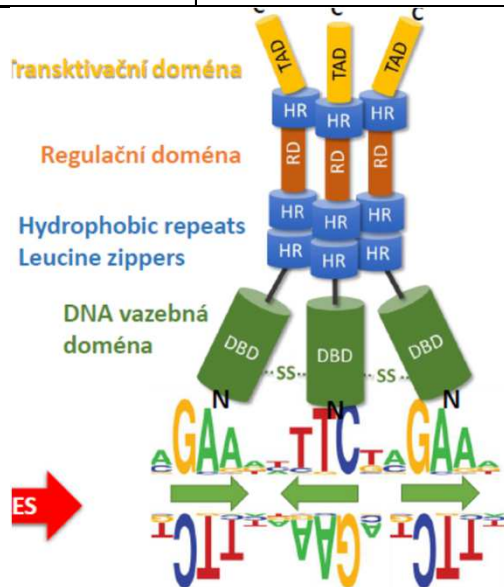
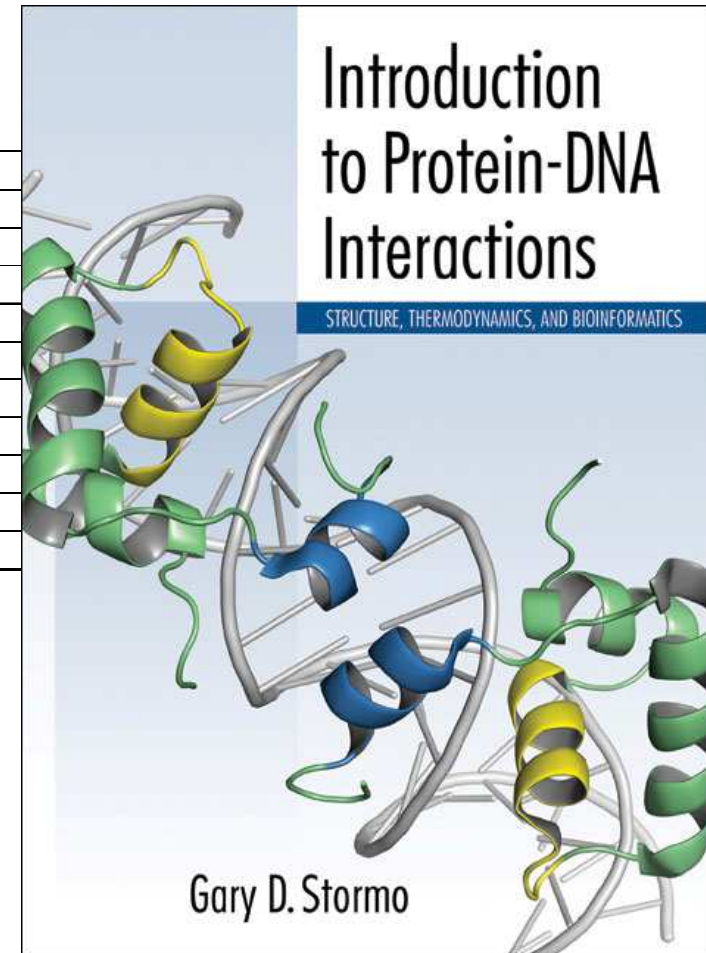
DNA-proteinové komplexy

Komplexy spojené s transkripcí (až 5% genomu)

Komplexy podílející se na opravě DNA

Chromatinové strukturní komplexy

doc. Paleček	Úvod, metody, skládání komplexů
Dr. Muller	Chaperony
Mgr. Adamus	Ubiquitinace, ligasy (cullin, APC), proteasom
doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, vazebné motivy
doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, transkripční komplexy
Mgr. Balkoová	replikace DNA
Dr. Blažek	Cyclin/CDK komplexy v buněčném cyklu a transkripci
Dr. Kolesár	Oprava DNA, homologní rekombinace
doc. Paleček	Chromatinové komplexy
doc. Paleček	Evoluce proteinových komplexů
doc. Paleček	Zkouška - test



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

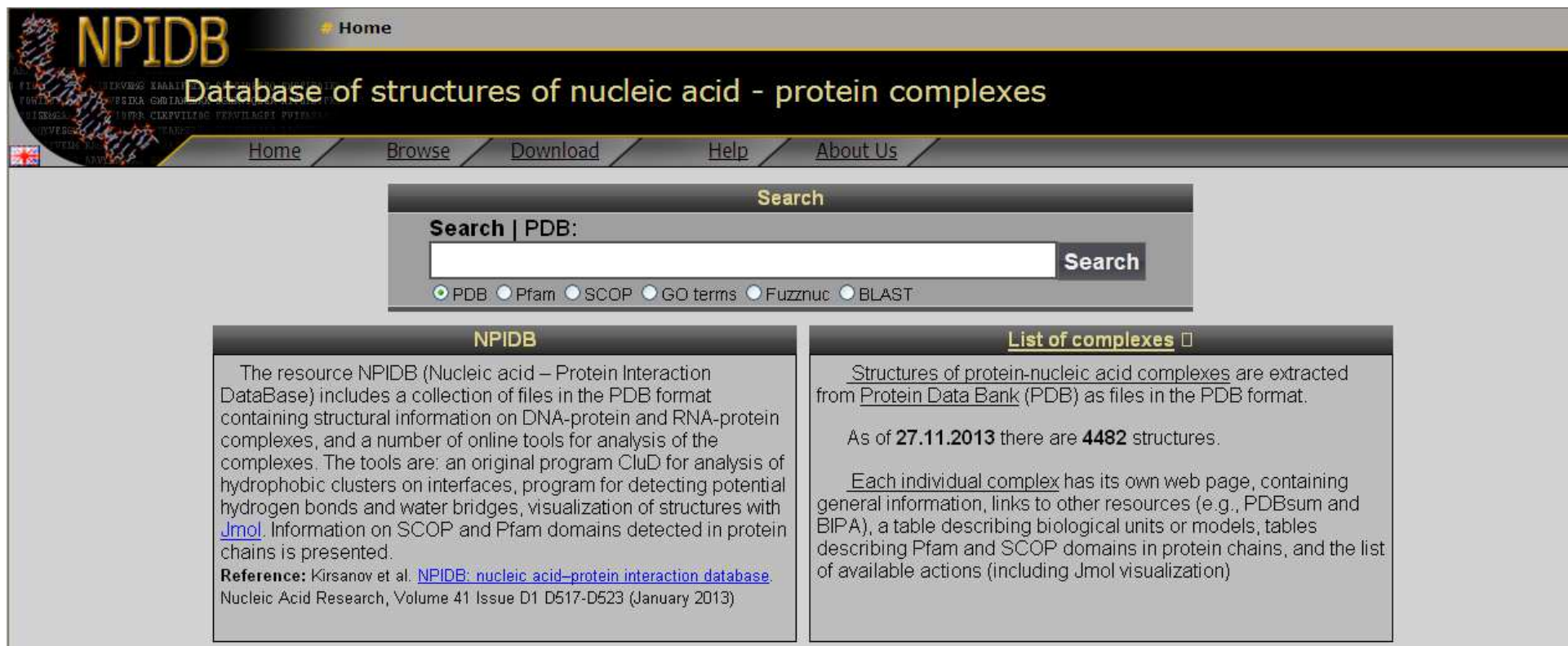
DNA-proteinové komplexy

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 interface. At the top, there is a navigation bar with the NPIDB logo and the text "Database of structures of nucleic acid - protein complexes". Below the navigation bar, there is a search bar with the label "Search | PDB:" and a "Search" button. Below the search bar, there are radio buttons for "PDB", "Pfam", "SCOP", "GO terms", "Fuzznuc", and "BLAST". The main content area is divided into two columns. The left column is titled "NPIDB" and contains a paragraph describing the resource and its tools, followed by a reference. The right column is titled "List of complexes" and contains a paragraph describing the extraction of structures from the PDB and the number of structures as of 27.11.2013, followed by a paragraph describing the information provided for each complex.

NPIDB

The resource NPIDB (Nucleic acid – Protein Interaction DataBase) includes a collection of files in the PDB format containing structural information on DNA-protein and RNA-protein complexes, and a number of online tools for analysis of the complexes. The tools are: an original program CluD for analysis of hydrophobic clusters on interfaces, program for detecting potential hydrogen bonds and water bridges, visualization of structures with [Jmol](#). Information on SCOP and Pfam domains detected in protein chains is presented.

Reference: Kirsanov et al. [NPIDB: nucleic acid–protein interaction database](#). Nucleic Acid Research, Volume 41 Issue D1 D517-D523 (January 2013)

List of complexes

Structures of protein-nucleic acid complexes are extracted from Protein Data Bank (PDB) as files in the PDB format.

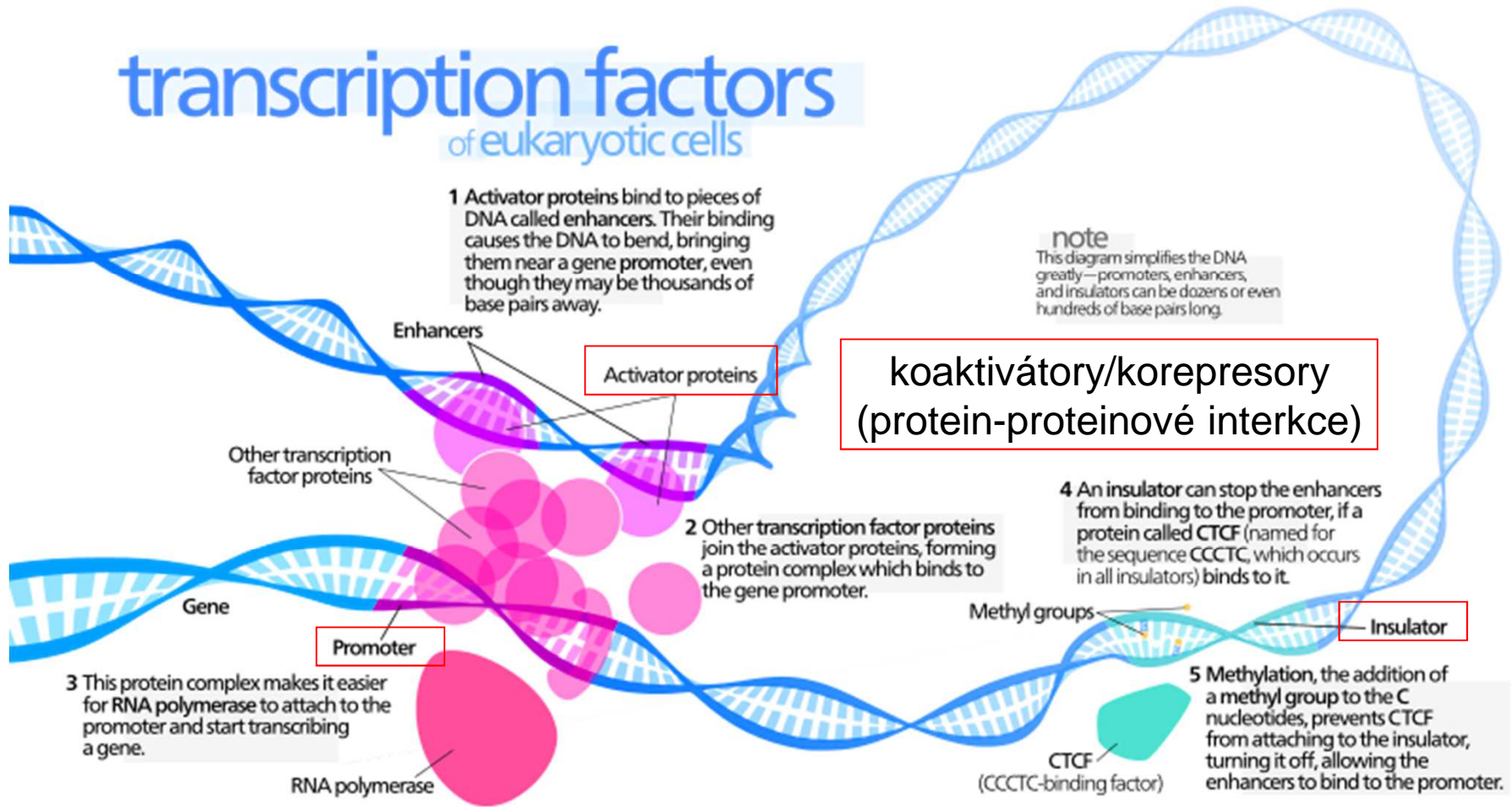
As of **27.11.2013** there are **4482** structures.

Each individual complex has its own web page, containing general information, links to other resources (e.g., PDBsum and BIPA), a table describing biological units or models, tables describing Pfam and SCOP domains in protein chains, and the list of available actions (including Jmol visualization)

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

Komplexy spojené s transkripcí

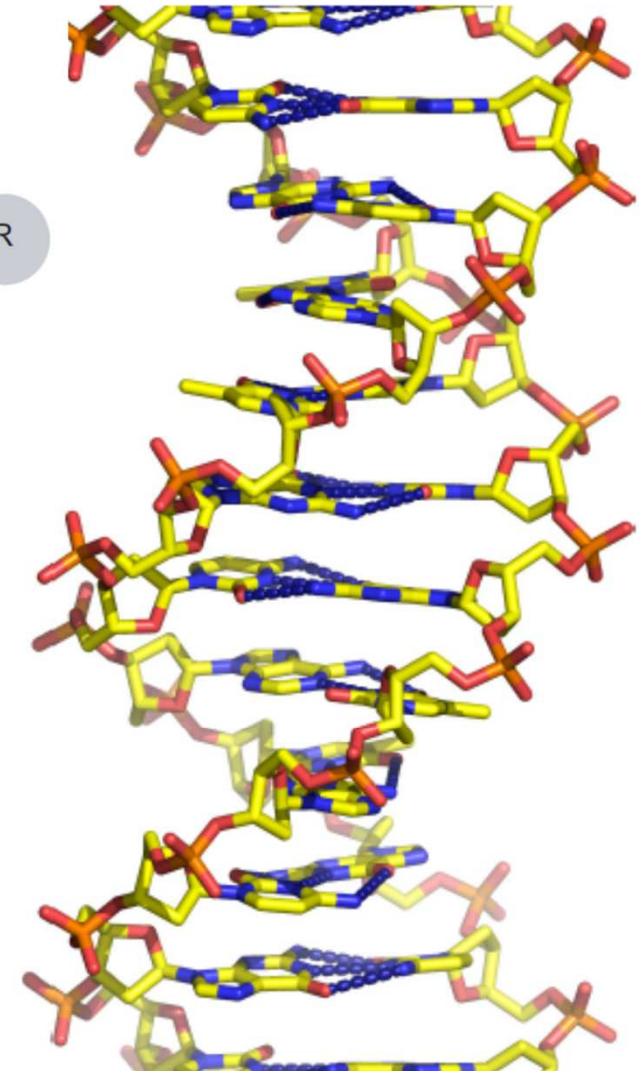
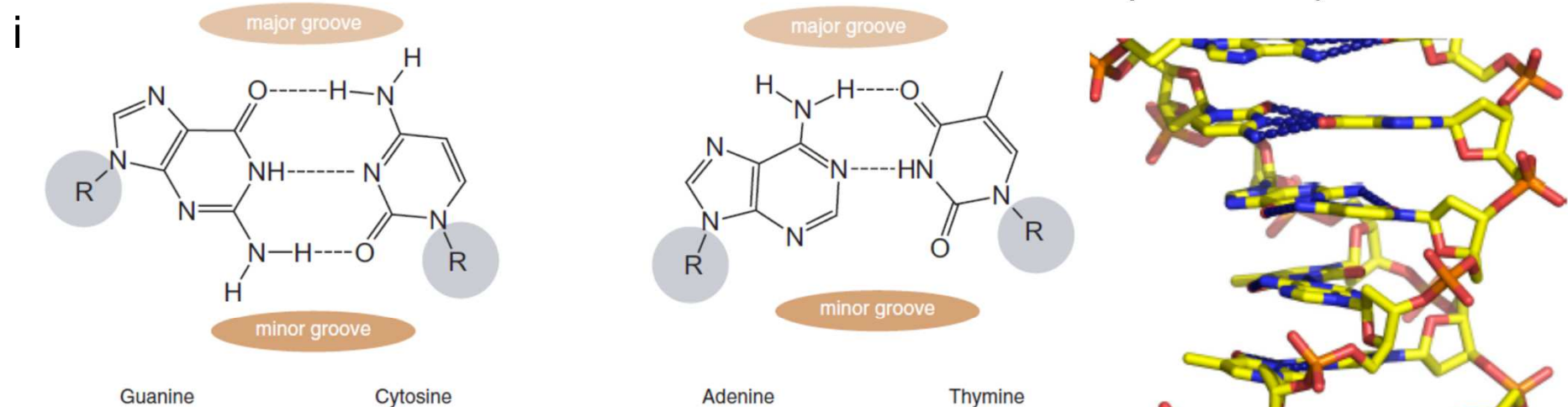
DNA-vazebné motívy špecifických transkripčných faktorů (enhanceosom)
Obecné TFII komplexy a proces transkripce



koaktivátory/korepresory
(protein-proteinové interkce)

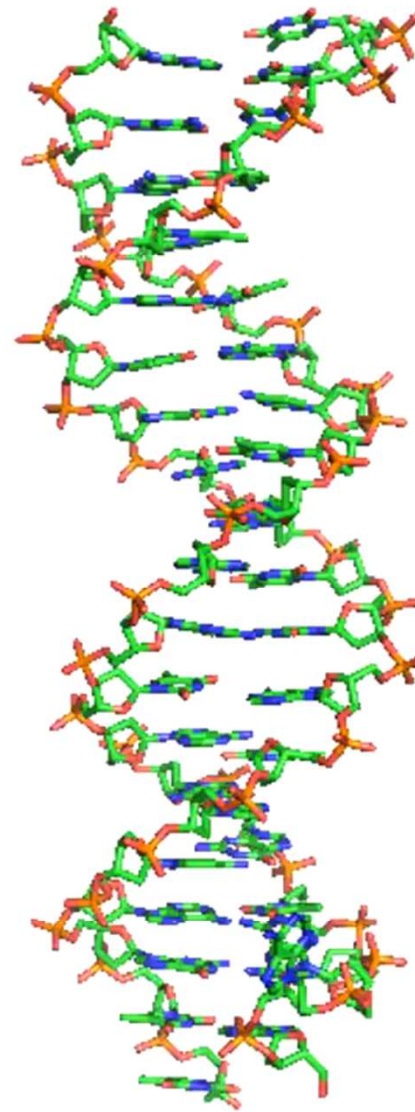
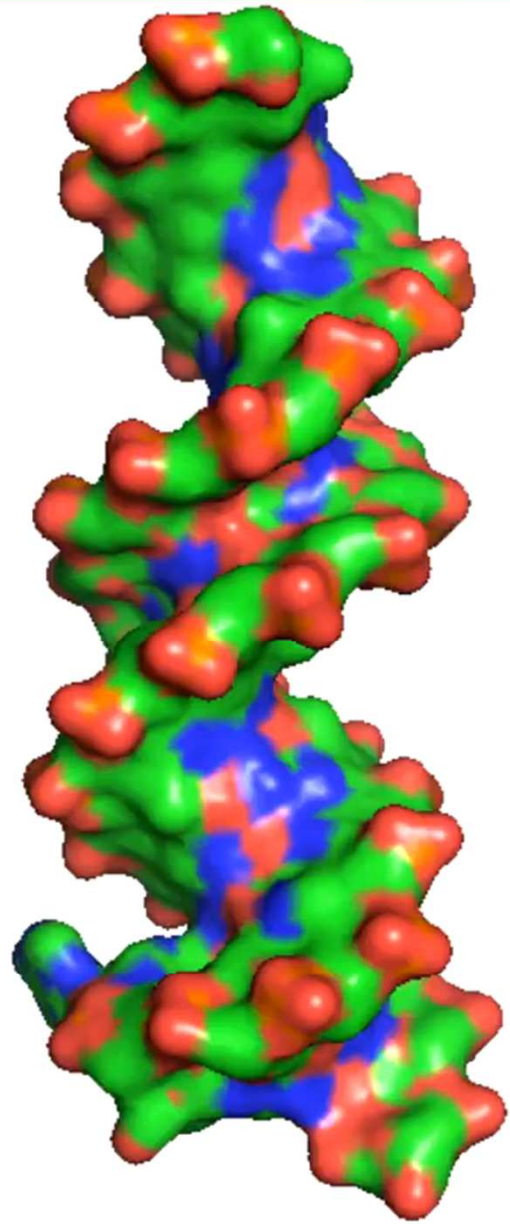
Enhanceosom

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

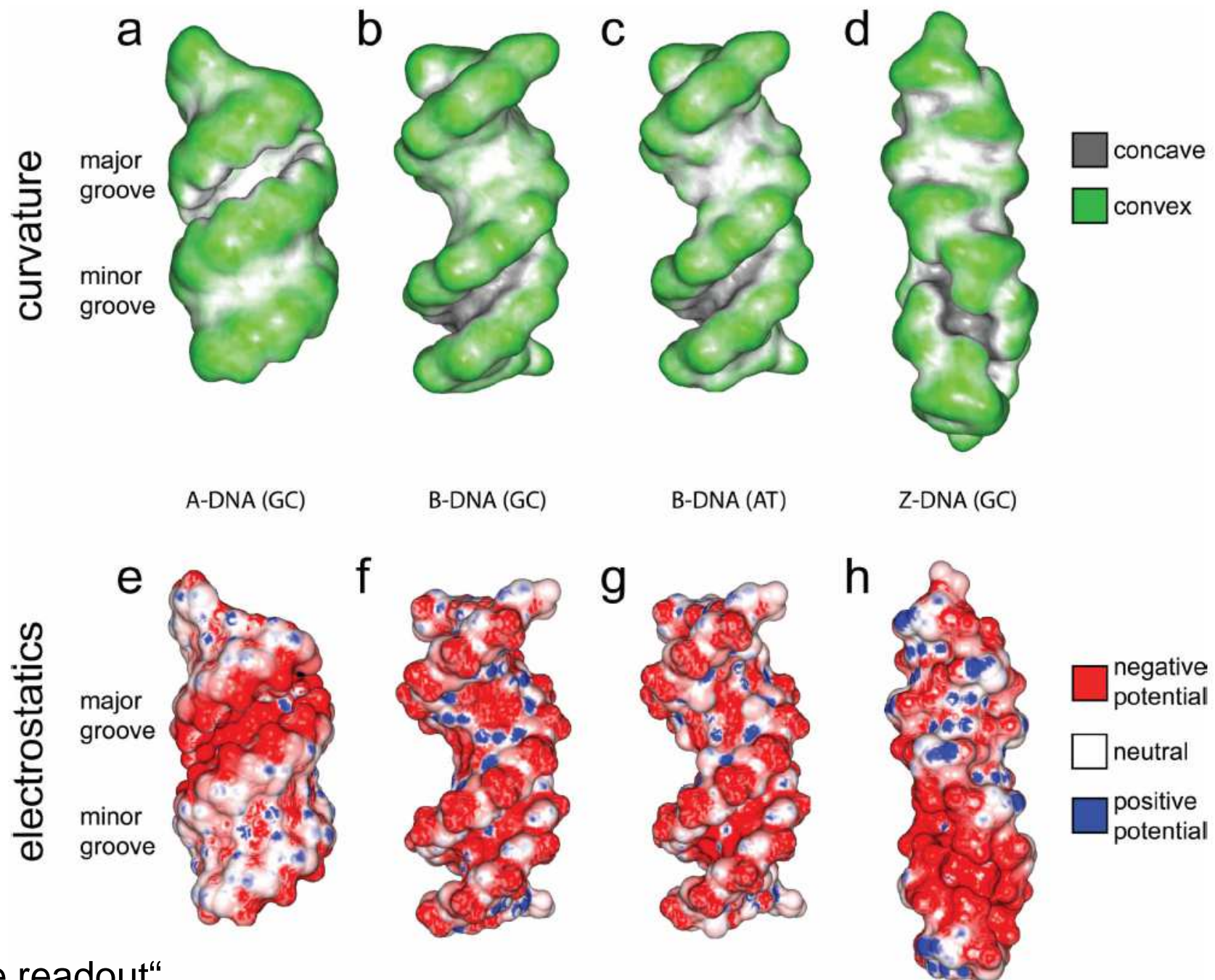


- proteiny interagují s cukrfofátovou kostrou (fosfát) nebo přes žlábký s bazemi (vod. vazba, tvar šroubovice)
- Interakce sekvenčně nespecifické (kostra – histony; strukturně specifické – HMG proteiny) nebo sekvenčně specifické (kostra+žlábký – kombinace: *Bgl*II (AGATCT) a *Bam*HI (GGATCC) kontaktují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

„shape readout“
zakřivení kostry souvisí se sekvencí



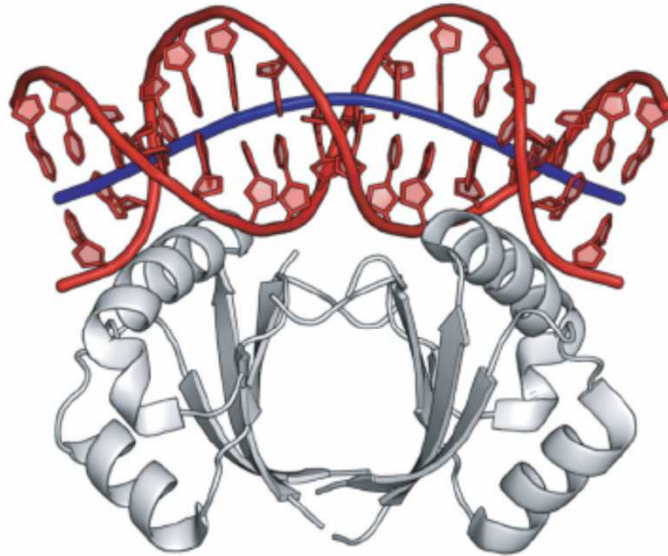
B-DNA



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

Vazba DNA-protein může indukovat změny

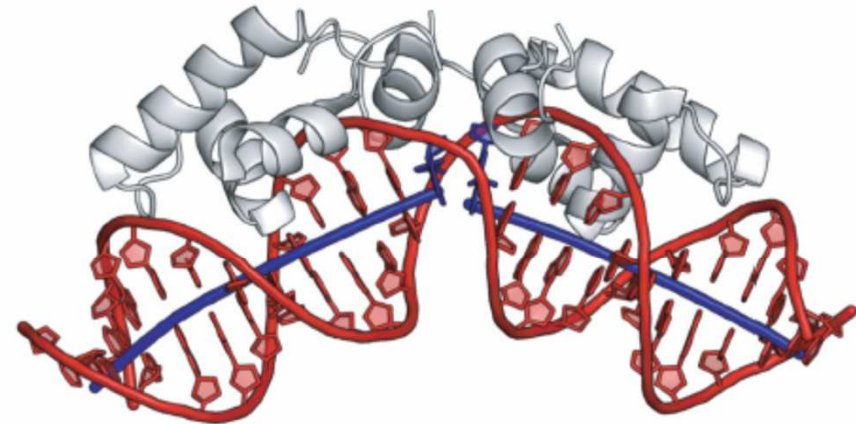
a



Bend

1jj4 (... např. histony)

b



Rohs et al, Annu Rev Bioch, 2010

Kink

2kei, Lac represor
(Leu do malého žlábků)

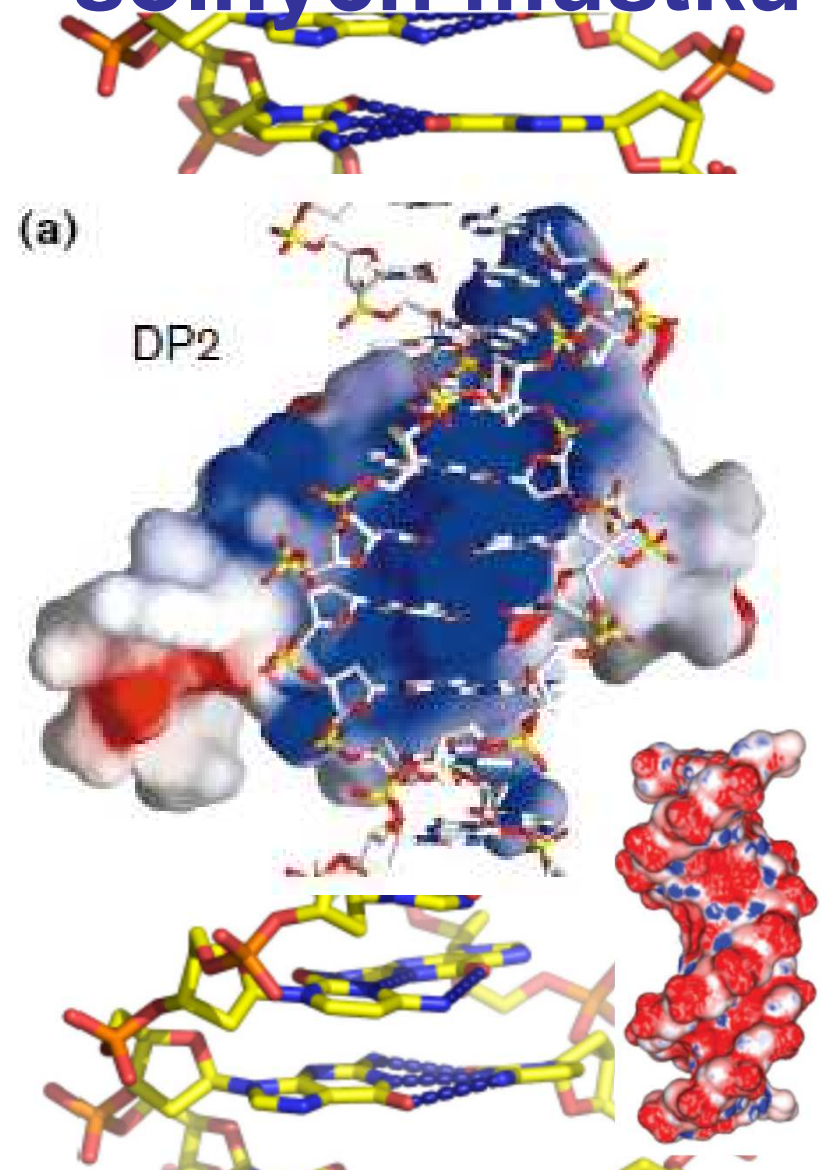
- vazba proteinu může indukovat změny ve struktuře DNA
- vazba DNA na protein často indukuje změny v jeho struktuře
- případně u nestrukturovaných proteinů strukturu indukuje (c-Jun/c-Fos = šroubovice až po navázání dimeru na DNA)

Vazba proteinů s DNA prostřednictvím solných můstků

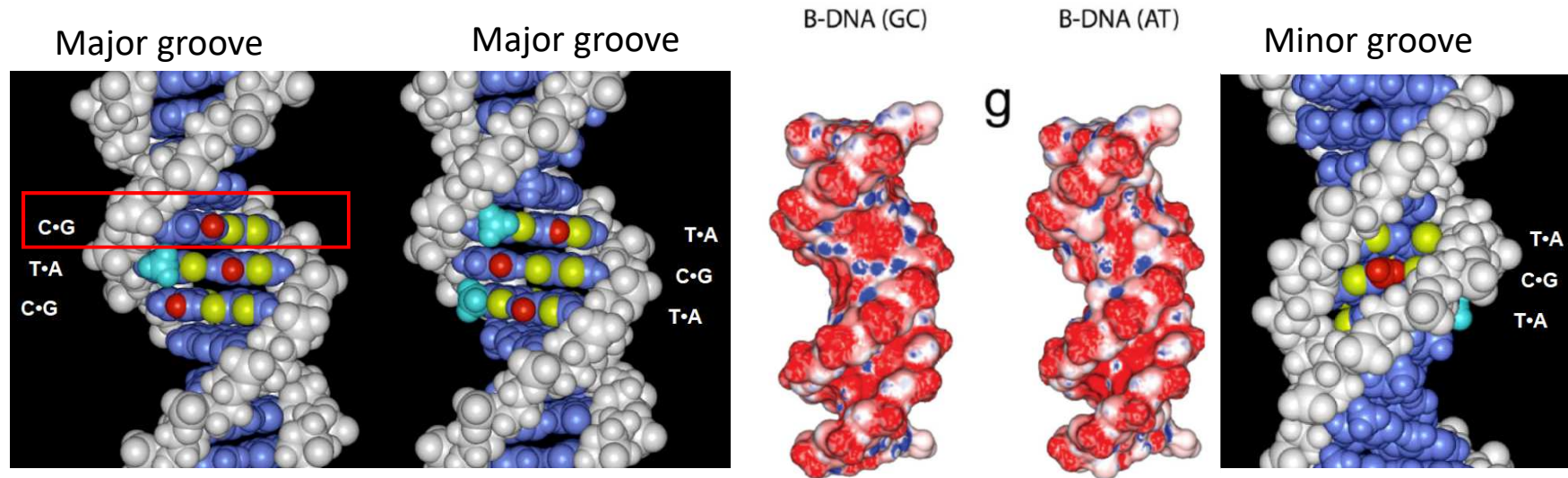
- fosfáty mohou interagovat s **Arg** a **Lys** – solné můstky/salt bridges (pozitivní náboje Arg a Lys vytváří vazbu s negativním nábojem fosfátové skupiny)
- Elektrostatický náboj/povrch naznačuje vazebné schopnosti proteinu

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

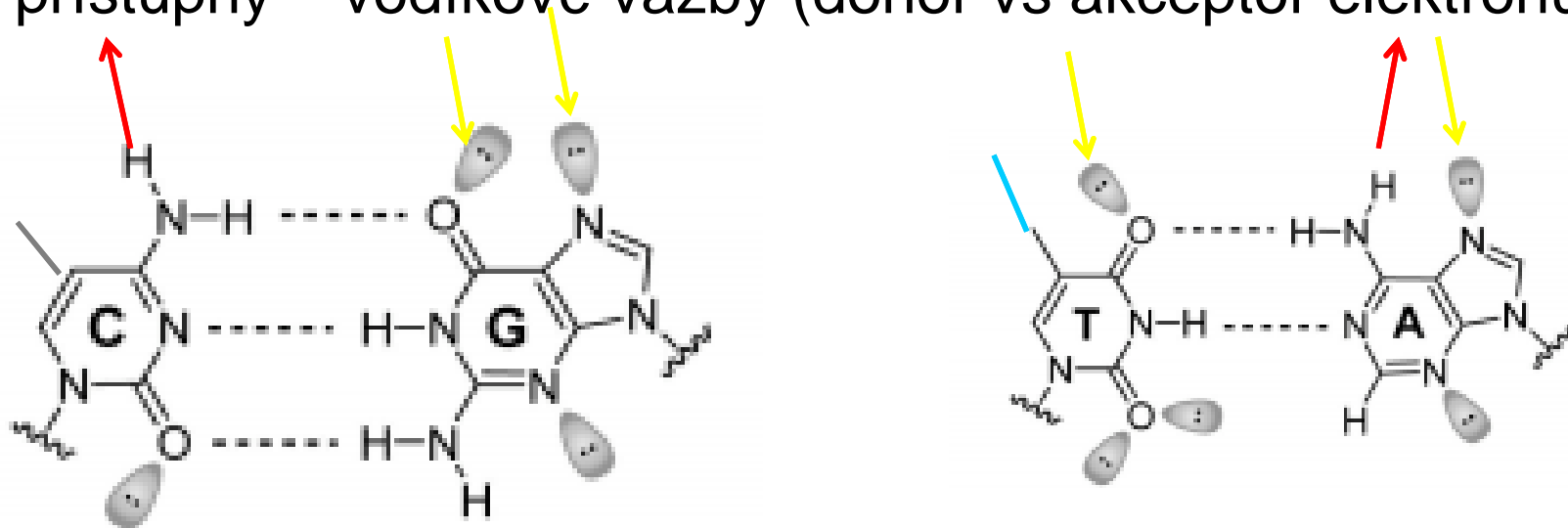
Atom type (PDB entry)	Residue	Relative charge
NZ	Lys	1.00
NH1	Arg	0.50
NH2	Arg	0.50
OE1	Glu	-0.50
OE2	Glu	-0.50
OD1	Asp	-0.50
OD2	Asp	-0.50
OXT	All residues	-1.00
N	All residues	-0.10
CA	All residues	0.10
C	All residues	0.55
O	All residues	-0.55

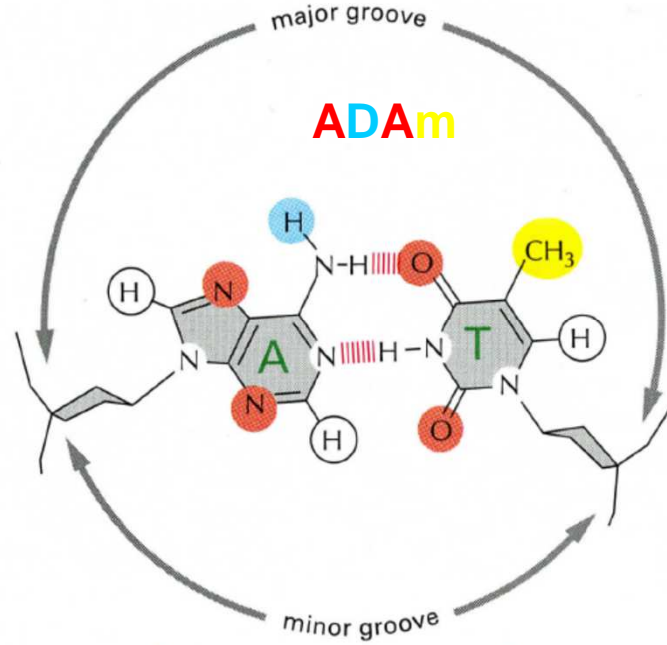
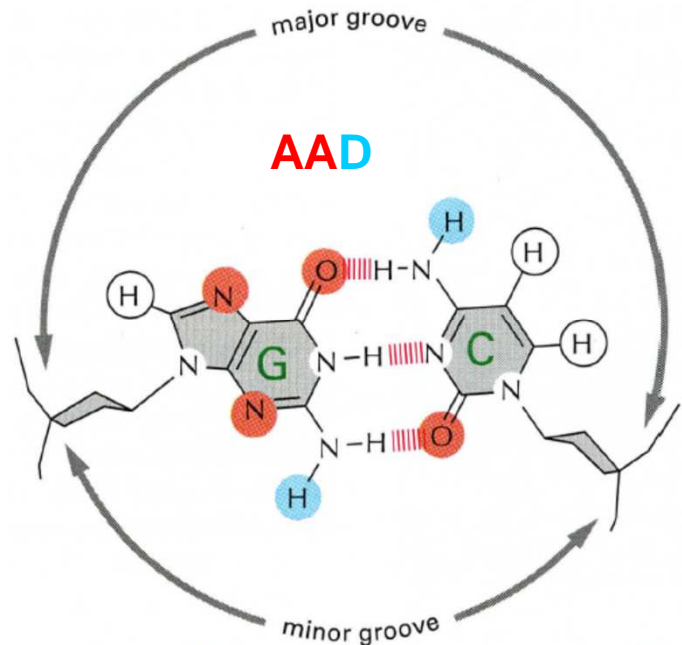
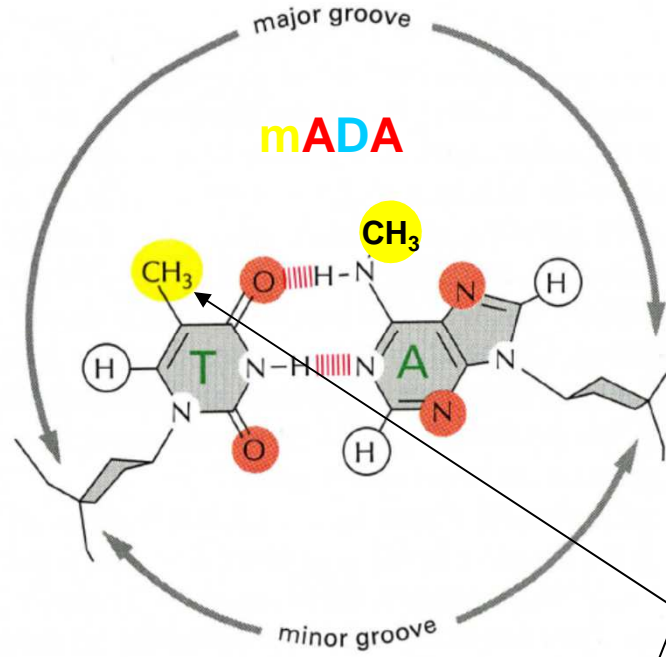
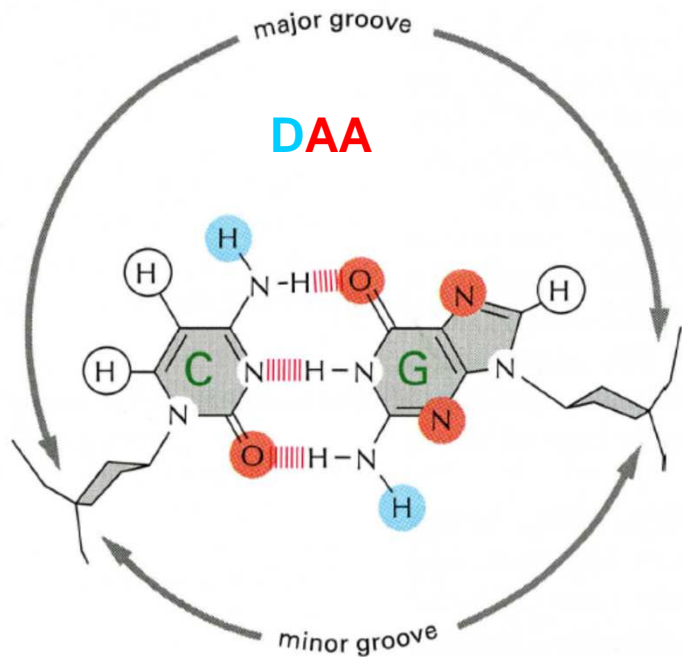


Gajiwala & Burley, COiSB, 2000



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 Ade
(C6NH₂) 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(NH₂) a N-7 mohou tvořit specifické vodíkové vazby s **Gln** a **Asn**
- Gua může tvořit specifické vodíkové vazby s **Arg**

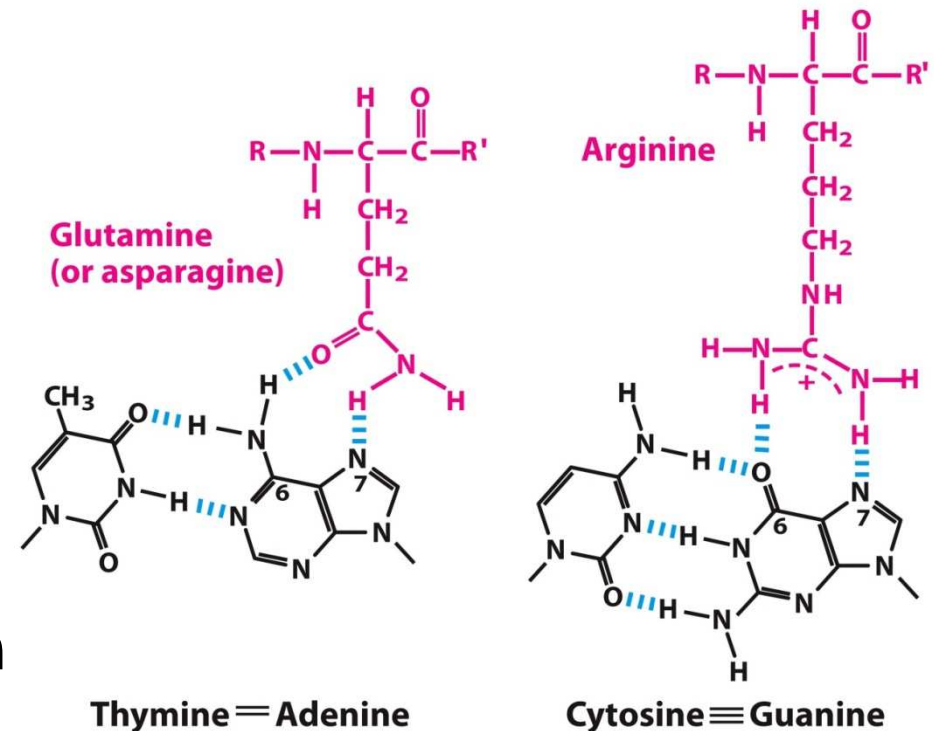
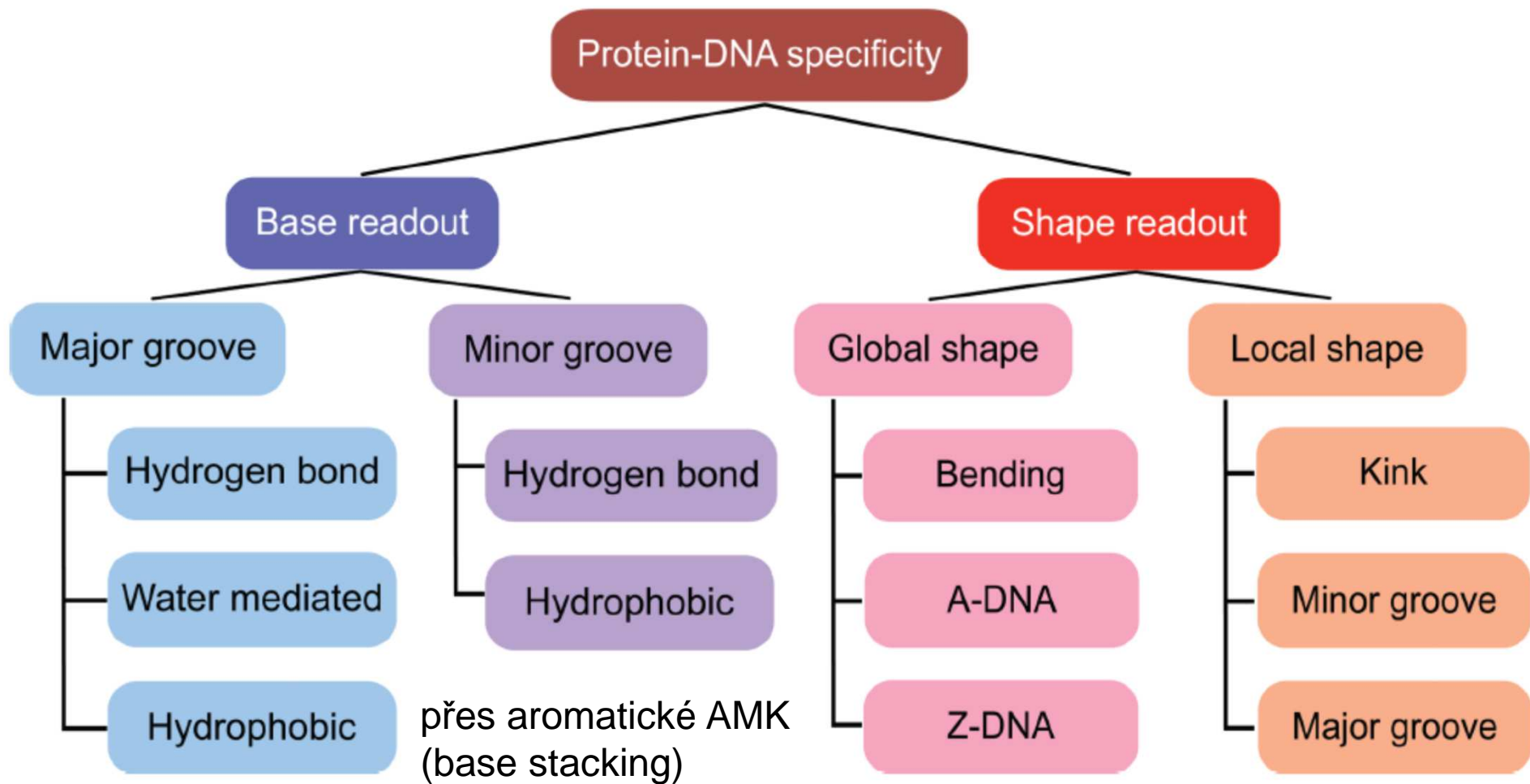


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

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



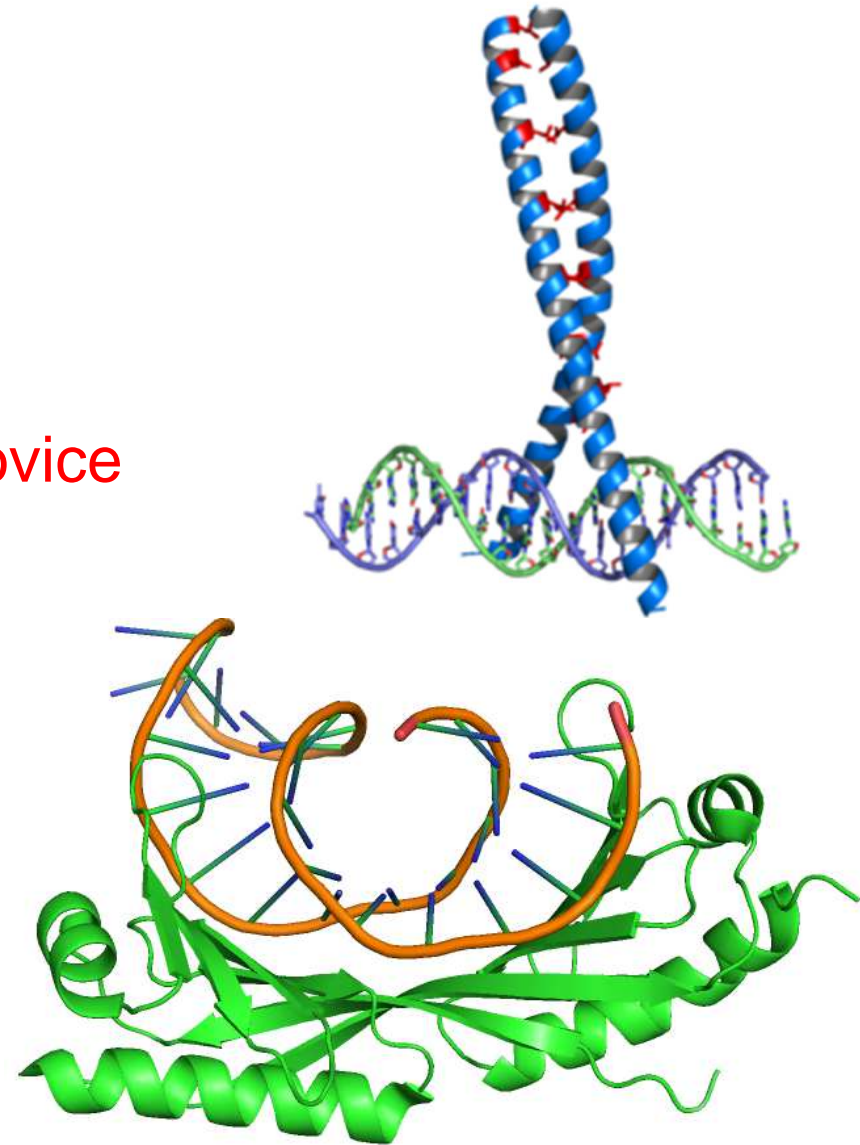
- více jak 70 SCOP superrodin (strukturních motivů)
- dle sekundárních struktur – α -šroubovice (17), β -listy (7), smíšené α/β motivy (48)

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**

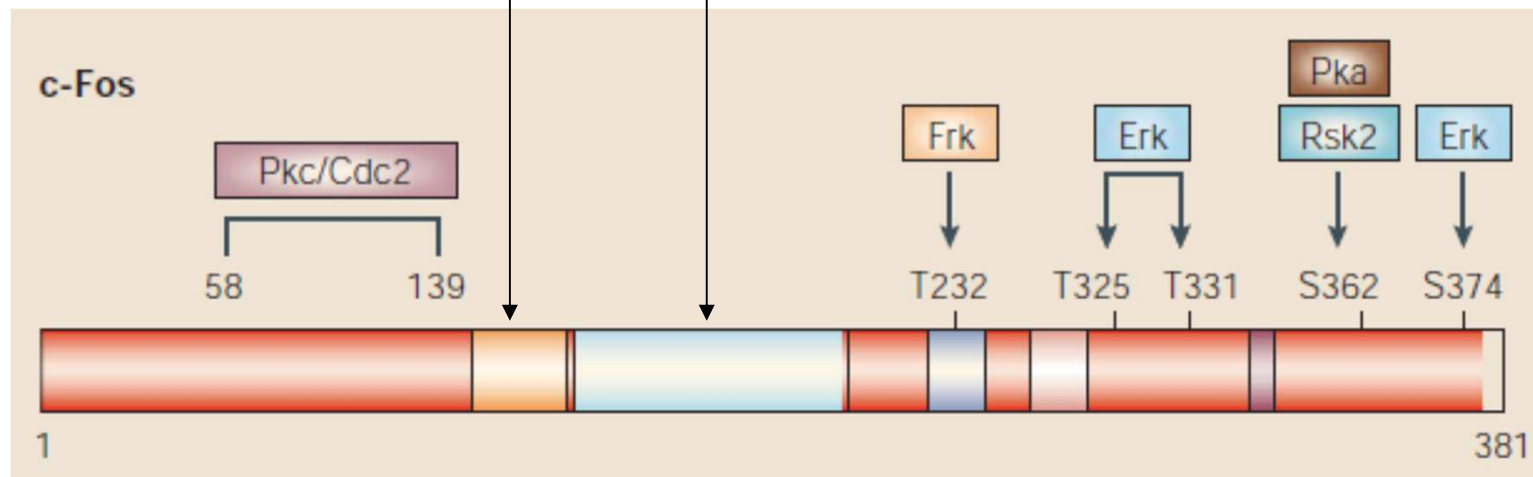
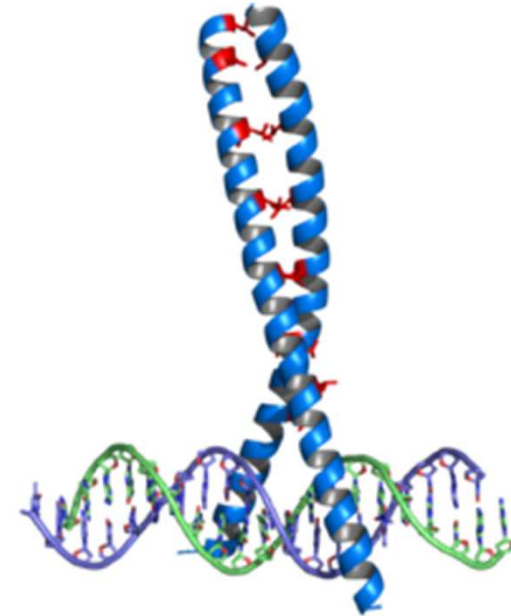
α -šroubovice

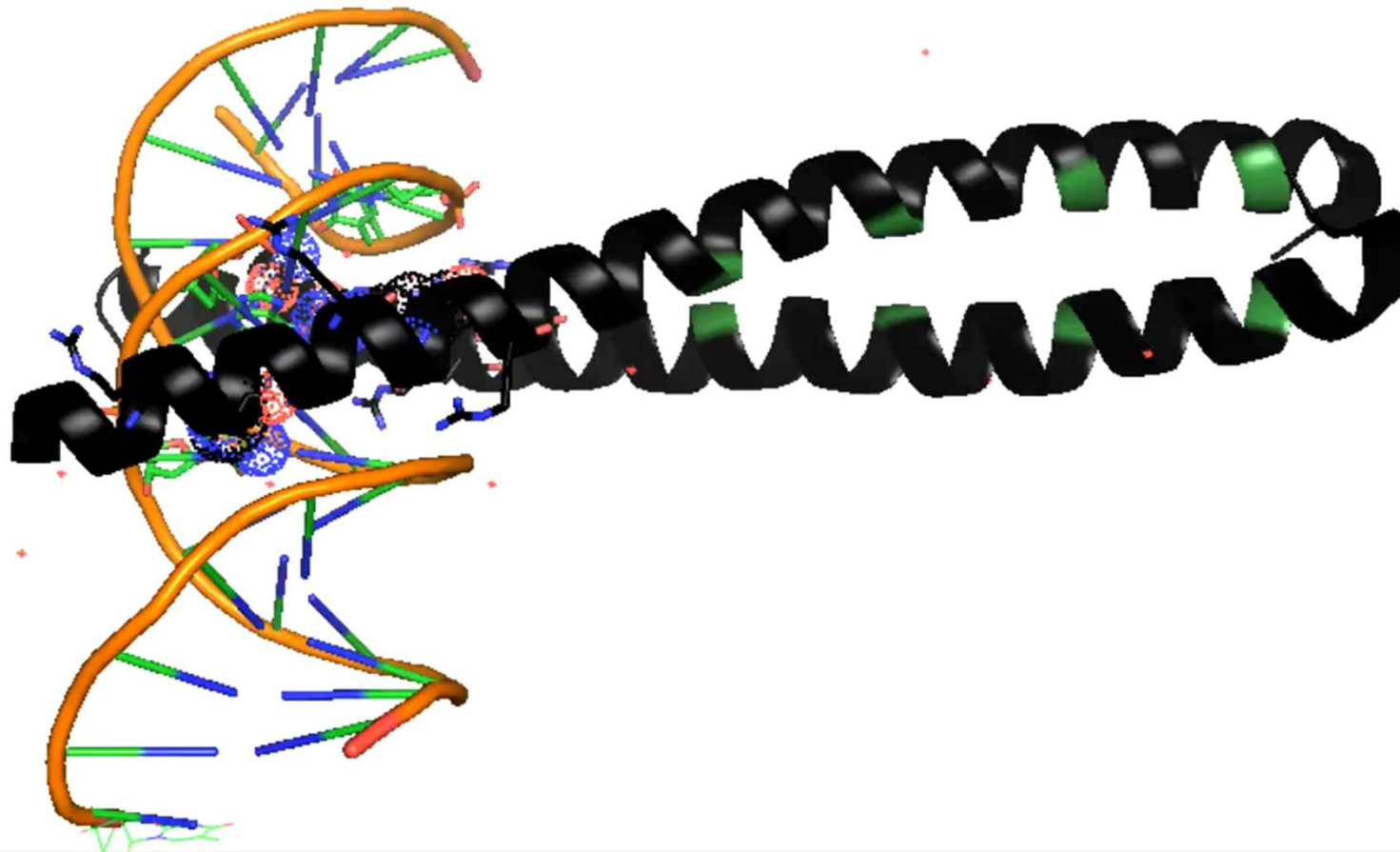
β -listy



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



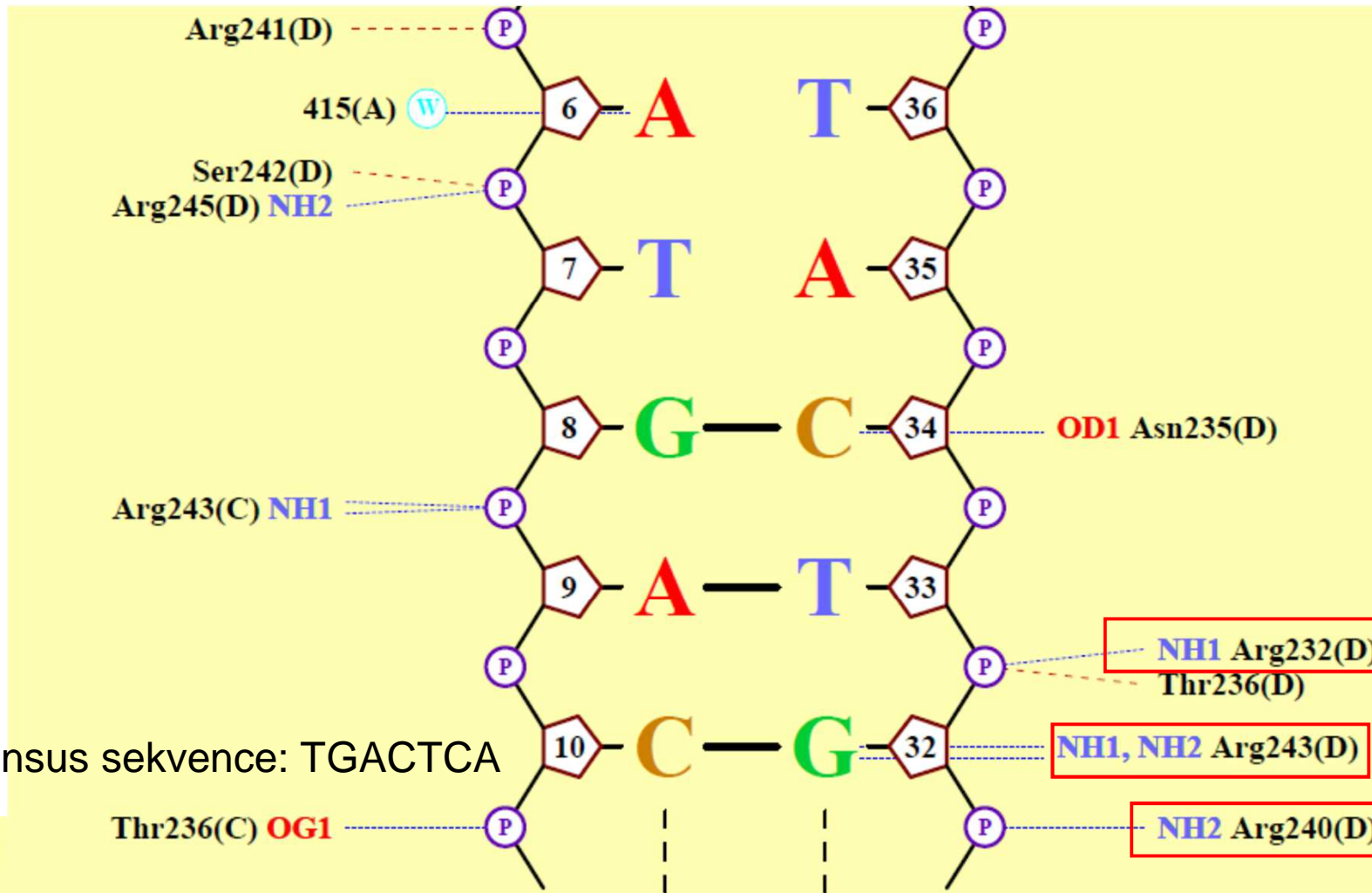


Interakce bazických AMK: Arg(232+240)=PO₄, Arg(243)=Gua

Konsensus sekvence: TGACTCA

GCN4 – regulace genů pro syntézu AMK

PDB: 1YSA



Konsensus sekvenca: TGA**CT**CA

Key




Backbone sugar and base-number



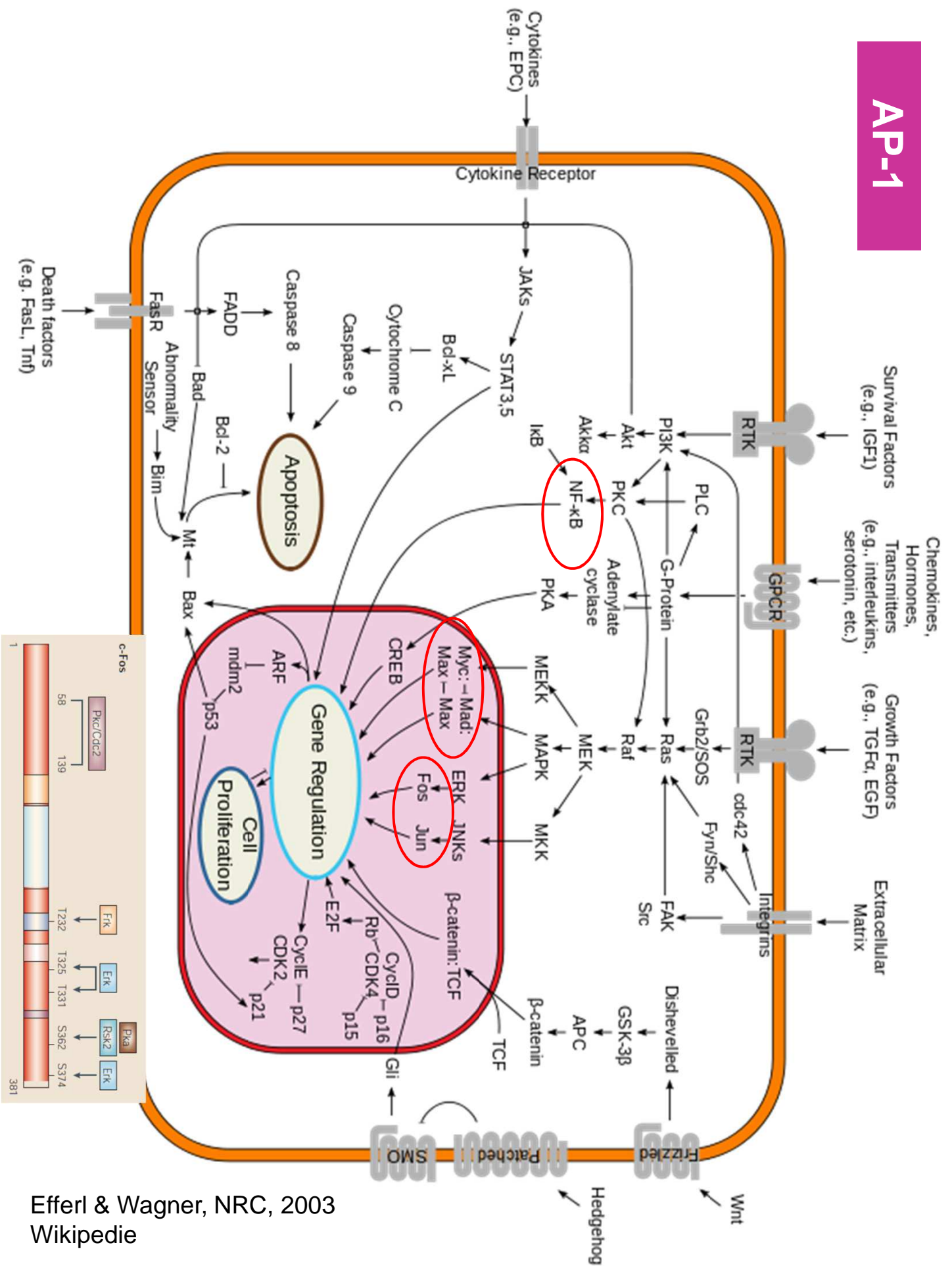
Phosphate group

----- Hydrogen bond to DNA

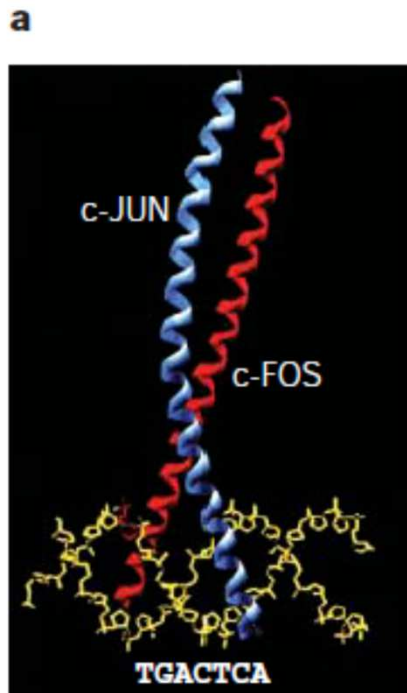
----- Nonbonded contact to DNA (< 3.35Å)

88  Water molecule and number

AP-1



Efferl & Wagner, NRC, 2003
Wikipedie



AP-1

b

TRE: TGACTCA
ACTGAGT

CRE: TGACGTCA
ACTGCAGT

MARE I: TGCTGACTCAGCA
ACGACTGAGTCGT

MARE II: TGCTGACGTCAGCA
ACGACTGCAGTCGT

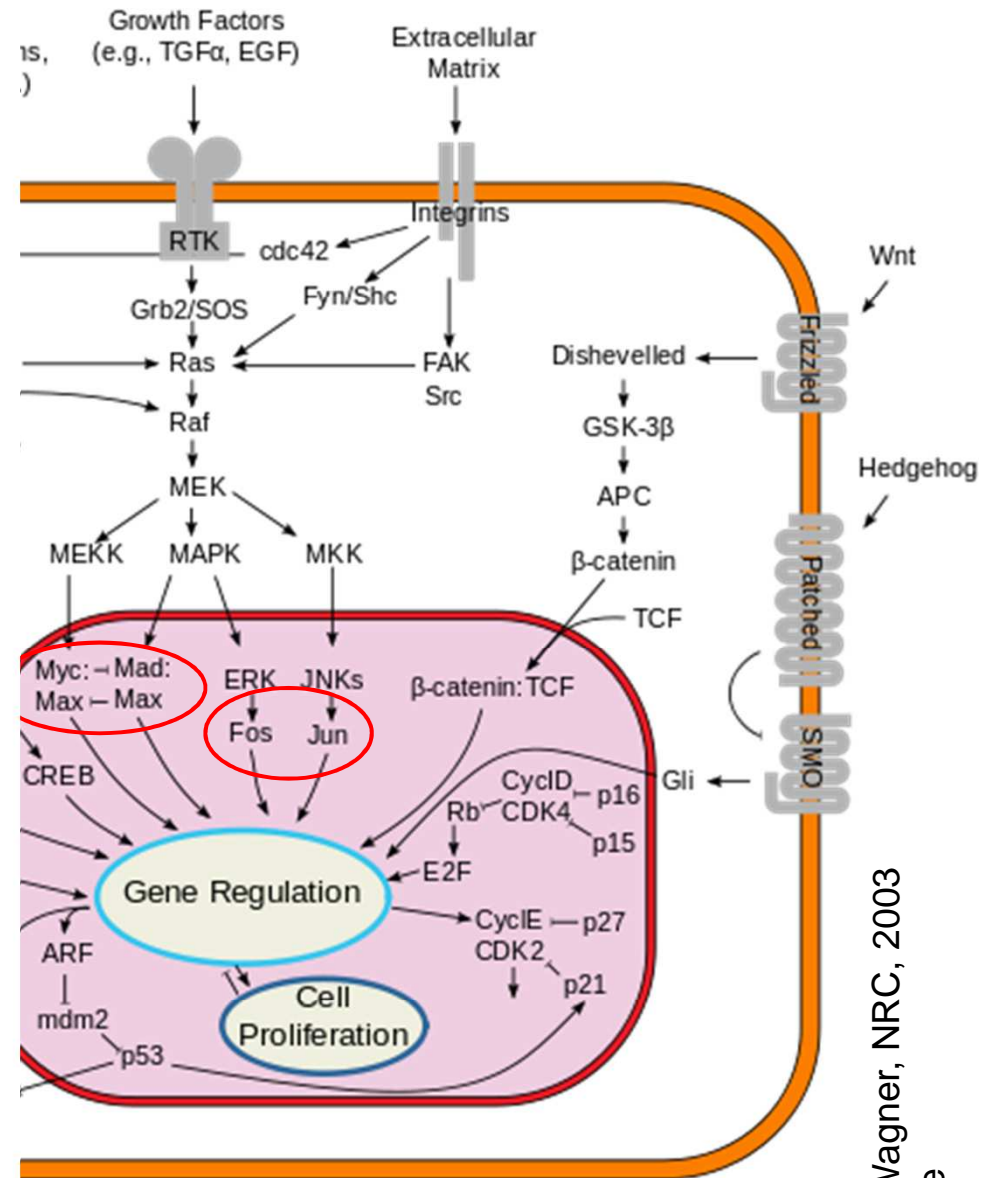
ARE: a/gTGACnnnGC
t/cACTGnnnCG

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

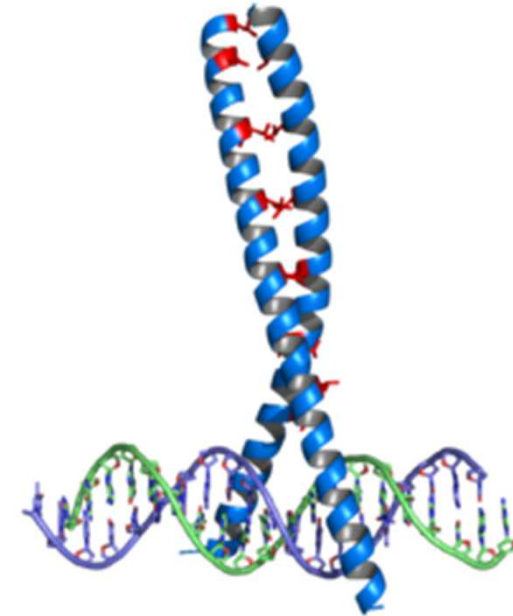
c-FOS	c-JUN	(TRE > CRE)
	JUNB	(TRE > CRE)
	JUND	(TRE > CRE)
	ATFa	(No binding)
	ATF2	(CRE > TRE)
	ATF4	(CRE)
	c-MAF	(MARE I/II)
	MAFA	(MARE I/II)
	MAFB	(MARE I/II)
	NRL	(TRE-related)
	MAFF/G/K	(MARE I/II)
	NRF2	(ARE)
	NFIL6	(TRE)



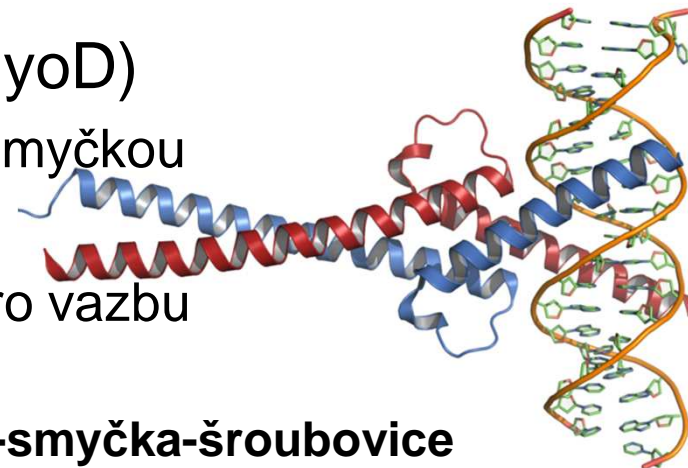
Kombinace – rŭzna specifita/afinita

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



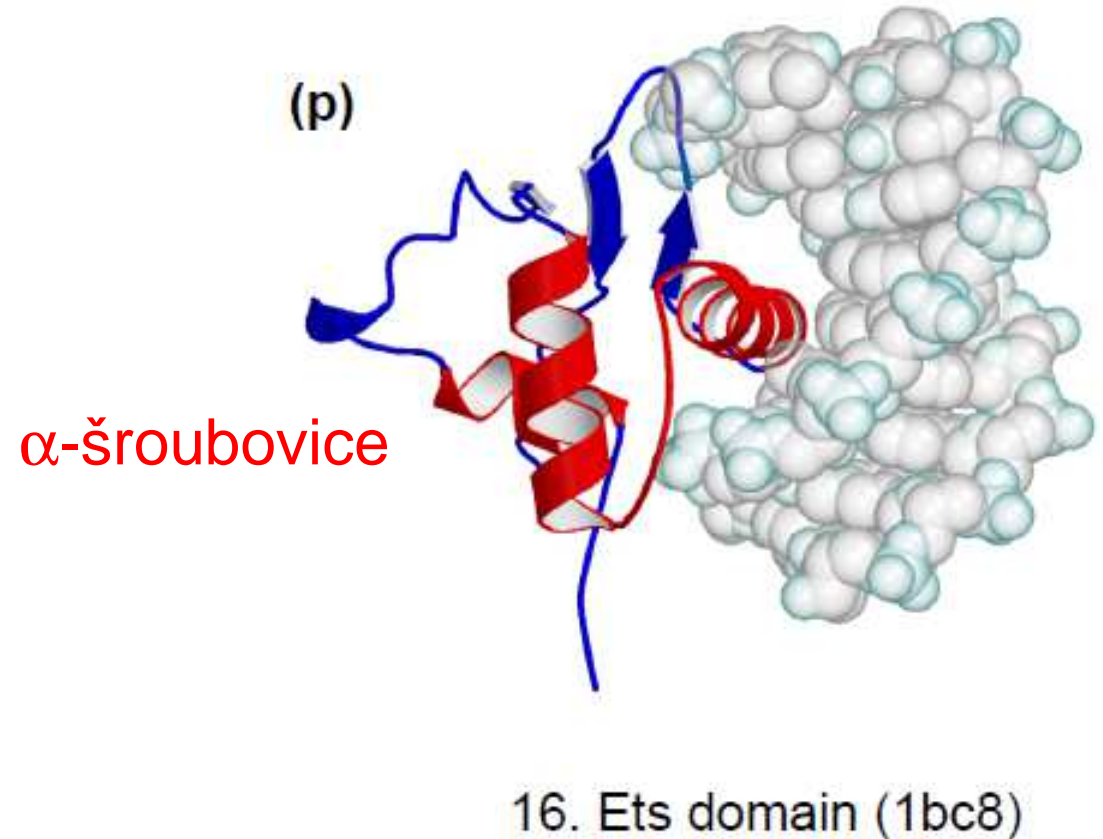
- **Helix-loop-helix** (c-Myc/Max, MyoD)
 - CC a bazické části jsou odděleny smyčkou
 - bazická šroubovice vázána do VŽ
 - smyčka poskytuje větší flexibilitu pro vazbu



šroubovice-smyčka-šroubovice

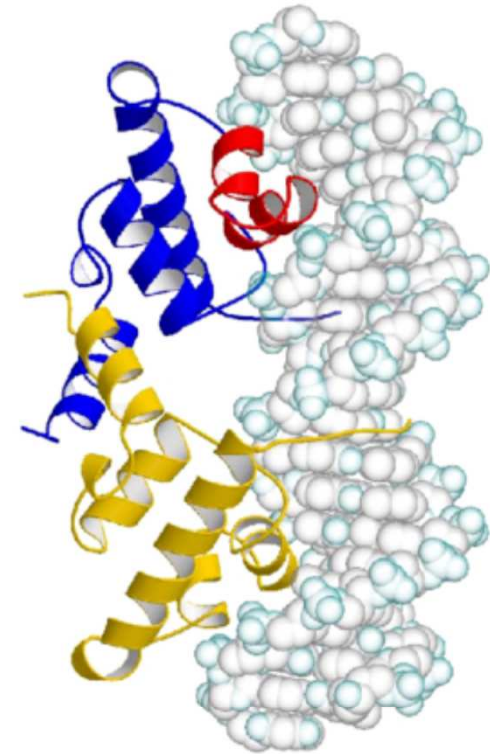
Motivy DNA vazebných domén

- **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

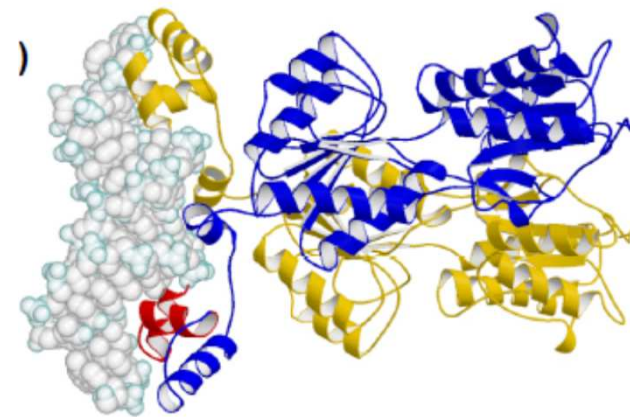


Helix-turn-helix motiv (HTH)

- 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)



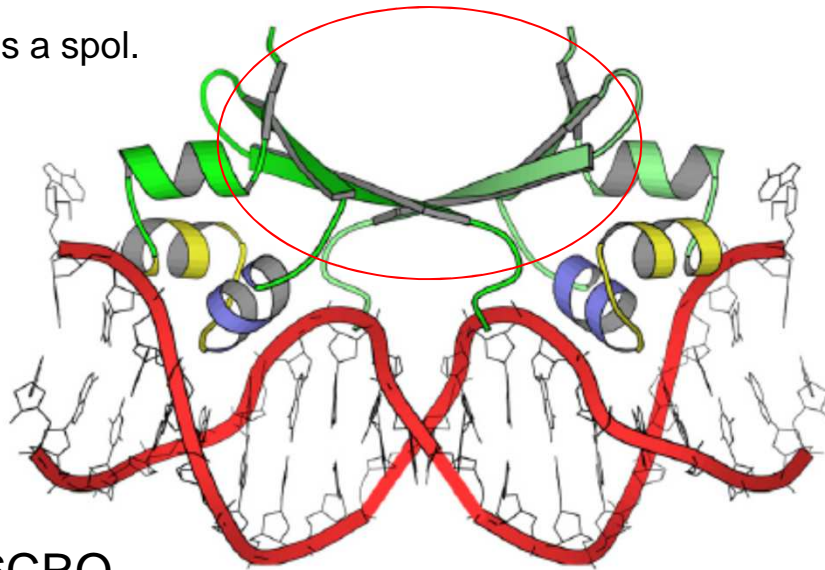
1. Cro and Repressor (1lmb)



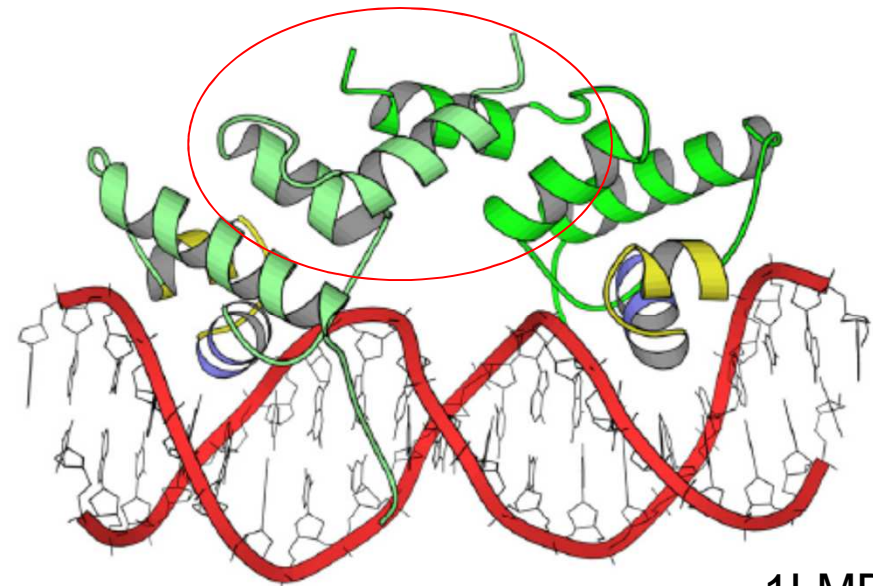
Luscombe et al, Genome Biology, 2000

3. LacI repressor (1wet)

Liljas a spol.



6CRO



1LMB

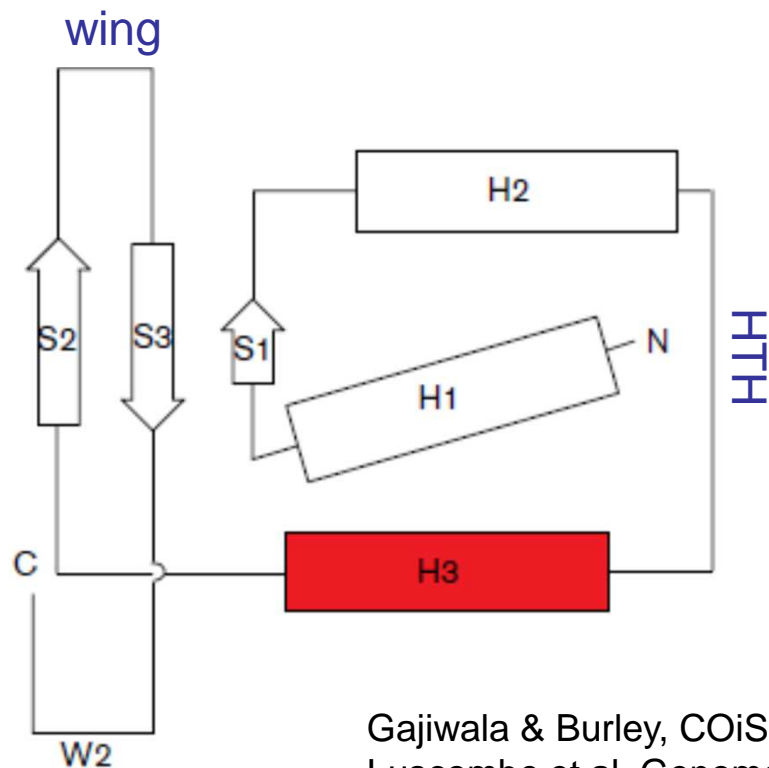
Helix-turn-helix motivy (spojené listy nebo šroubovicemi) –
odstup HTH (34Å) odpovídá jedné otáčce B-DNA

Sekvenčně se různé HTH příliš nepodobají

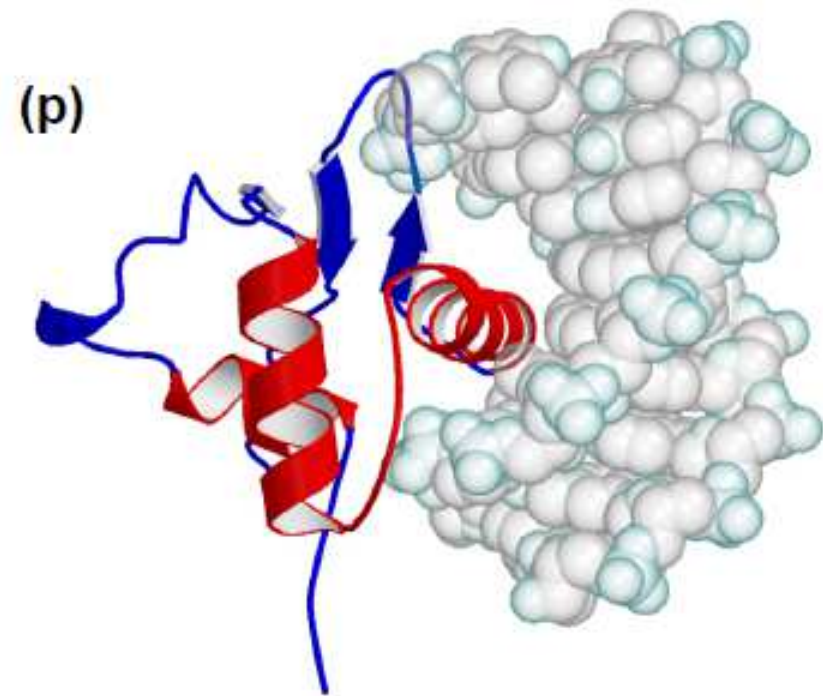
1. variabilita v rozpoznávaných sekvencích DNA
2. variabilita v pozici „recognition“ šroubovice ve velkém žlábků (paralelně k rovině bazí nebo delší šroubovice jsou paralelně k cukr-fosfátové kostře)

„Winged“ helix (okřídlená šroubovice)

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



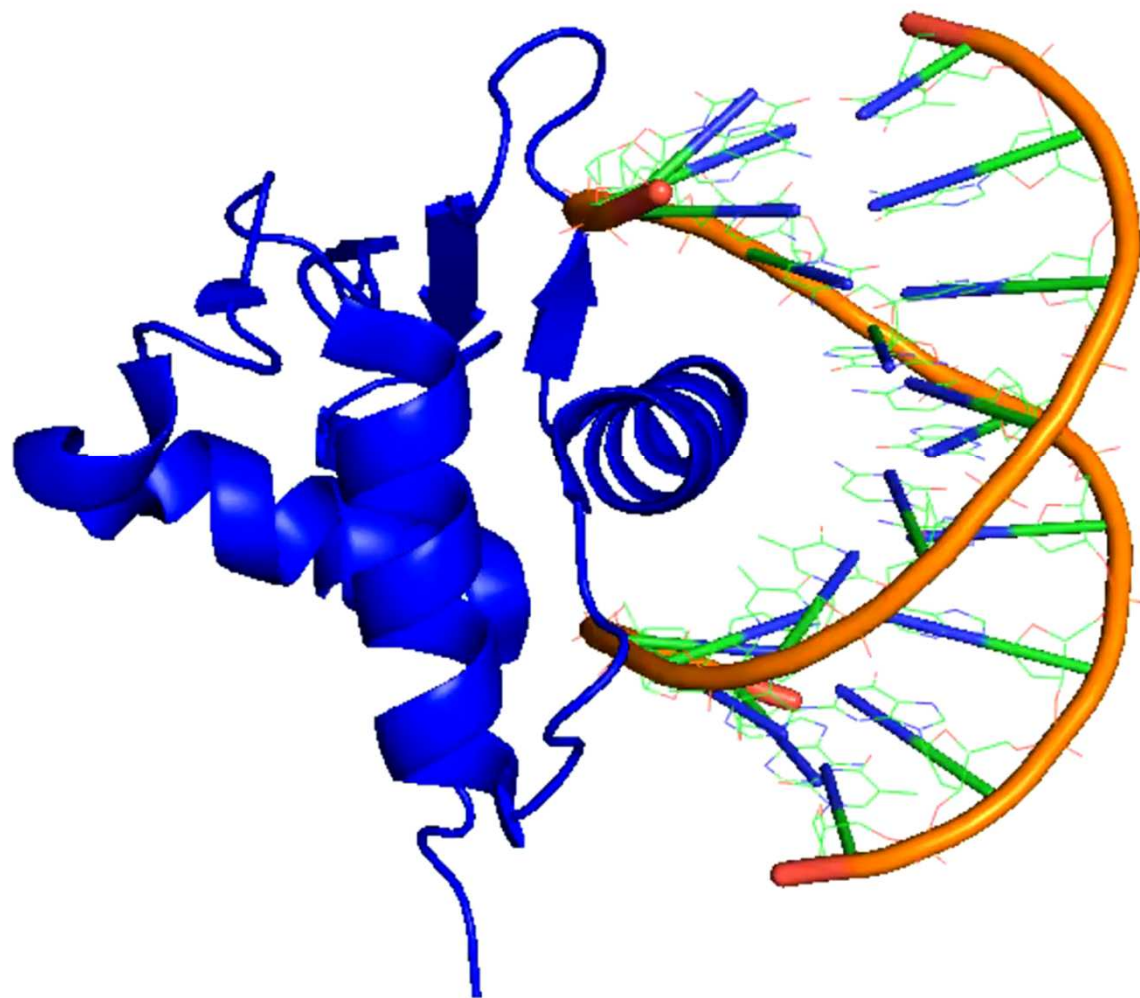
Gajiwala & Burley, COiSB, 2000
Luscombe et al, Genome Biology, 2000



16. Ets domain (1bc8)

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

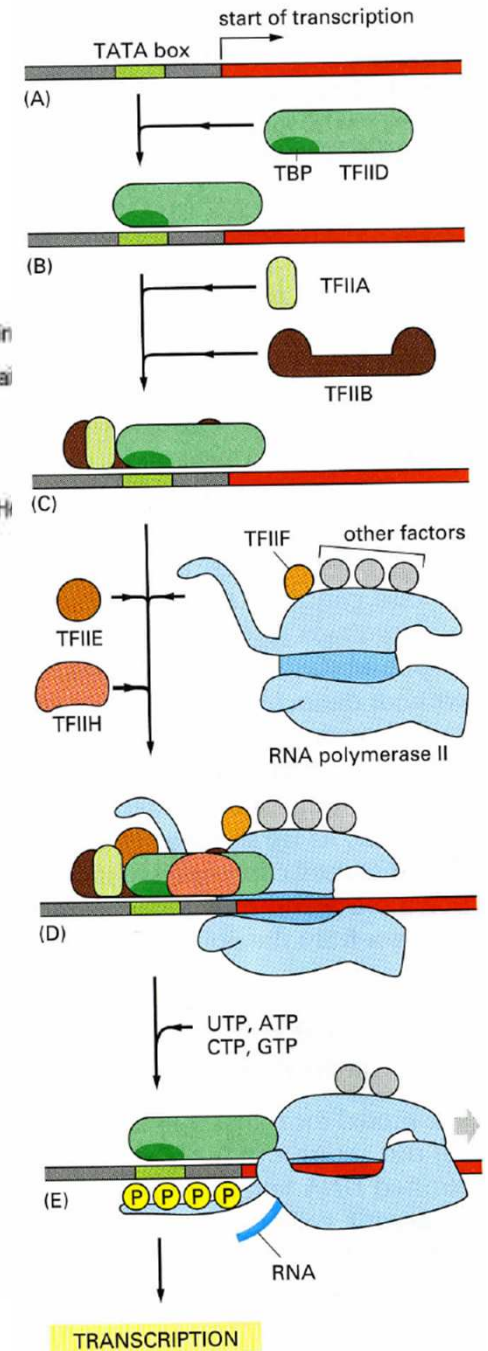
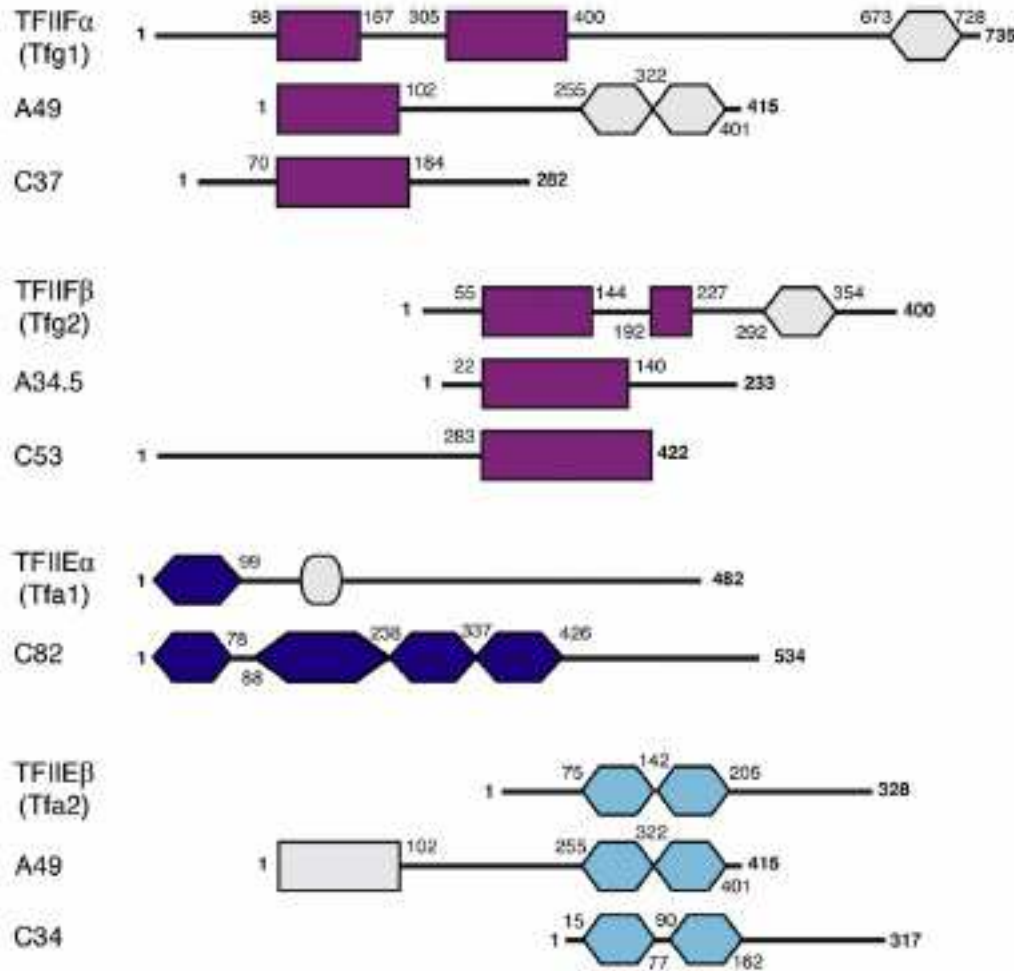
Interakce bazí se šroubovicí (H3) a křídla s cukr-fosfátovou kostrou



PDB: 1BC8

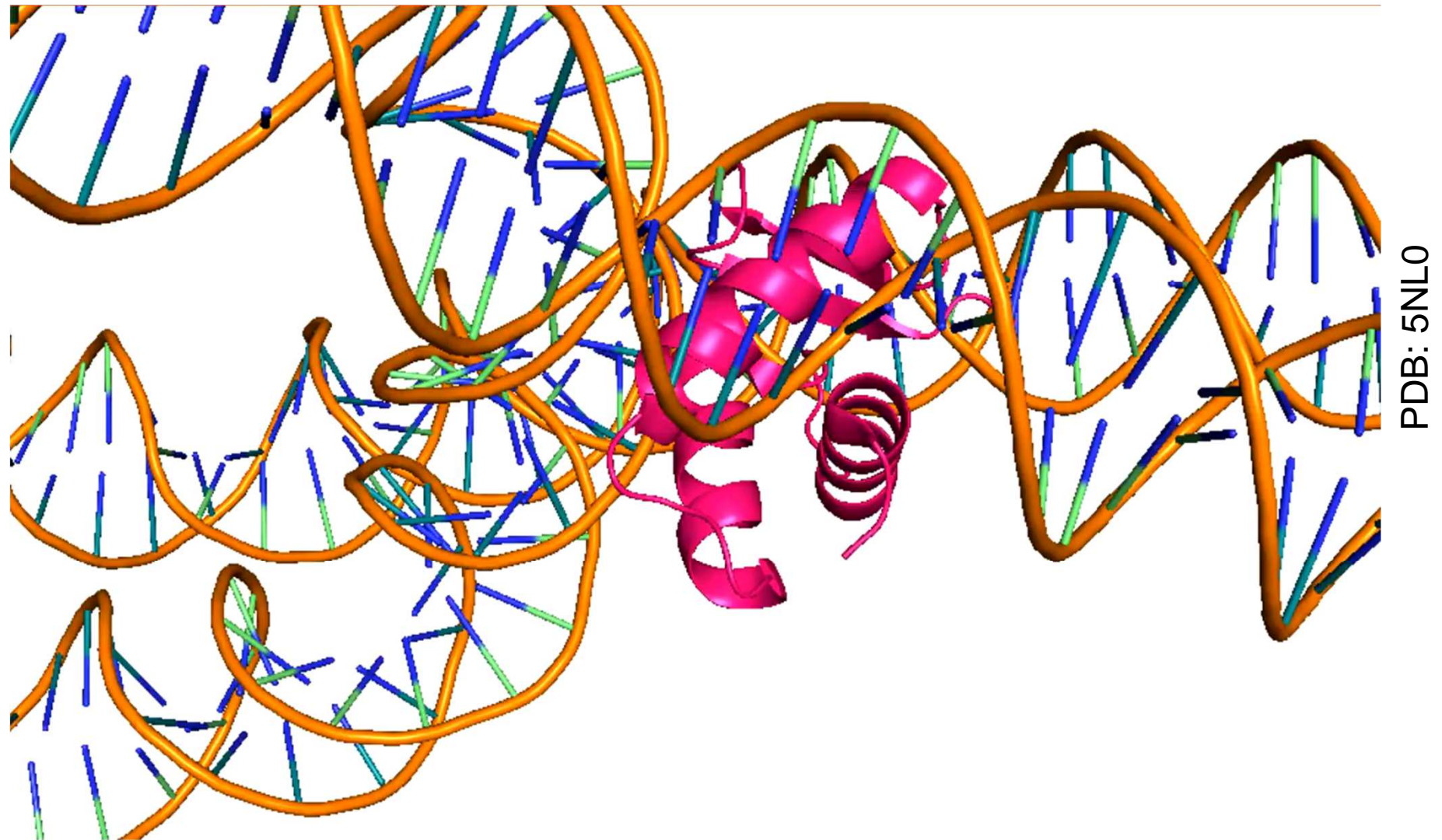
Méně často křídlo ve VŽ a cukr-fosfátová kostra se šroubovicí (hRFX1)

- „winged“ HTH v mnoha specifických transkripčních faktorech, ale také v „general“ TFII faktorech (strukturní úloha)



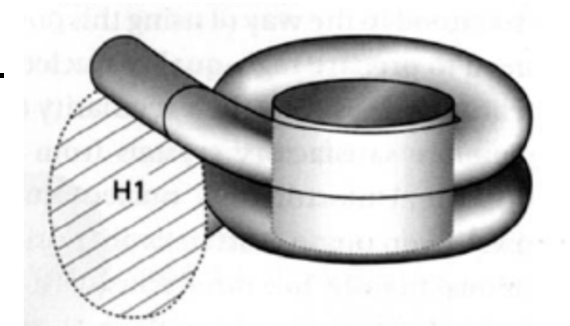
TAF1 (TFIID)

Vanini & Cramer, Mol Cell, 2012



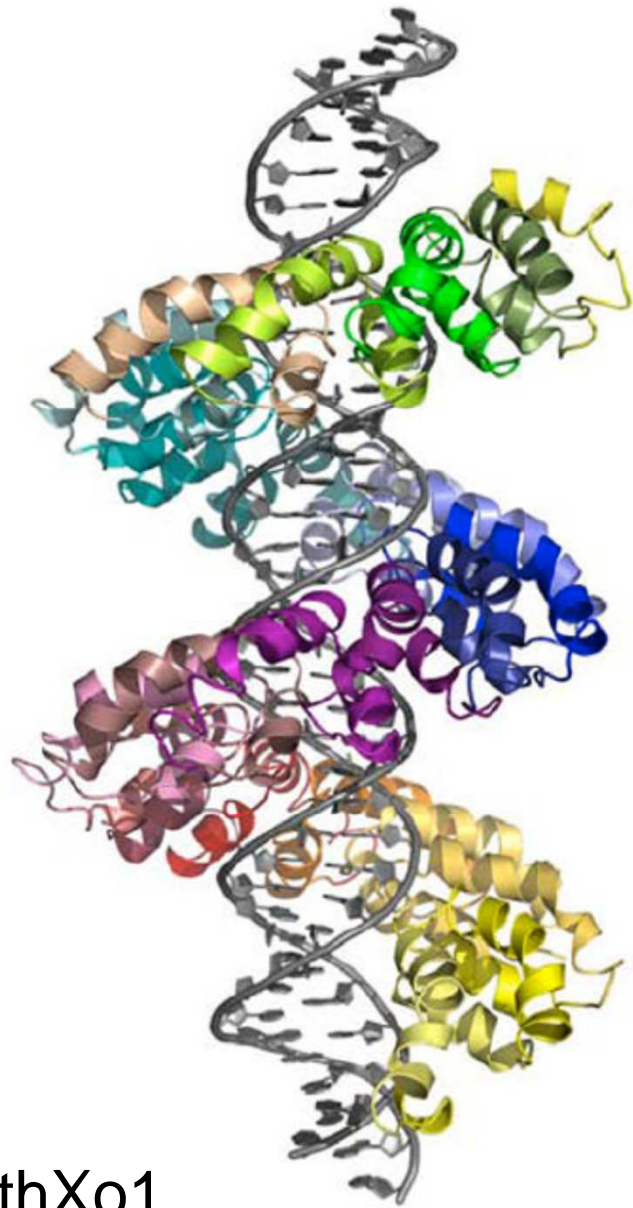
PDB: 5NLO

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.)



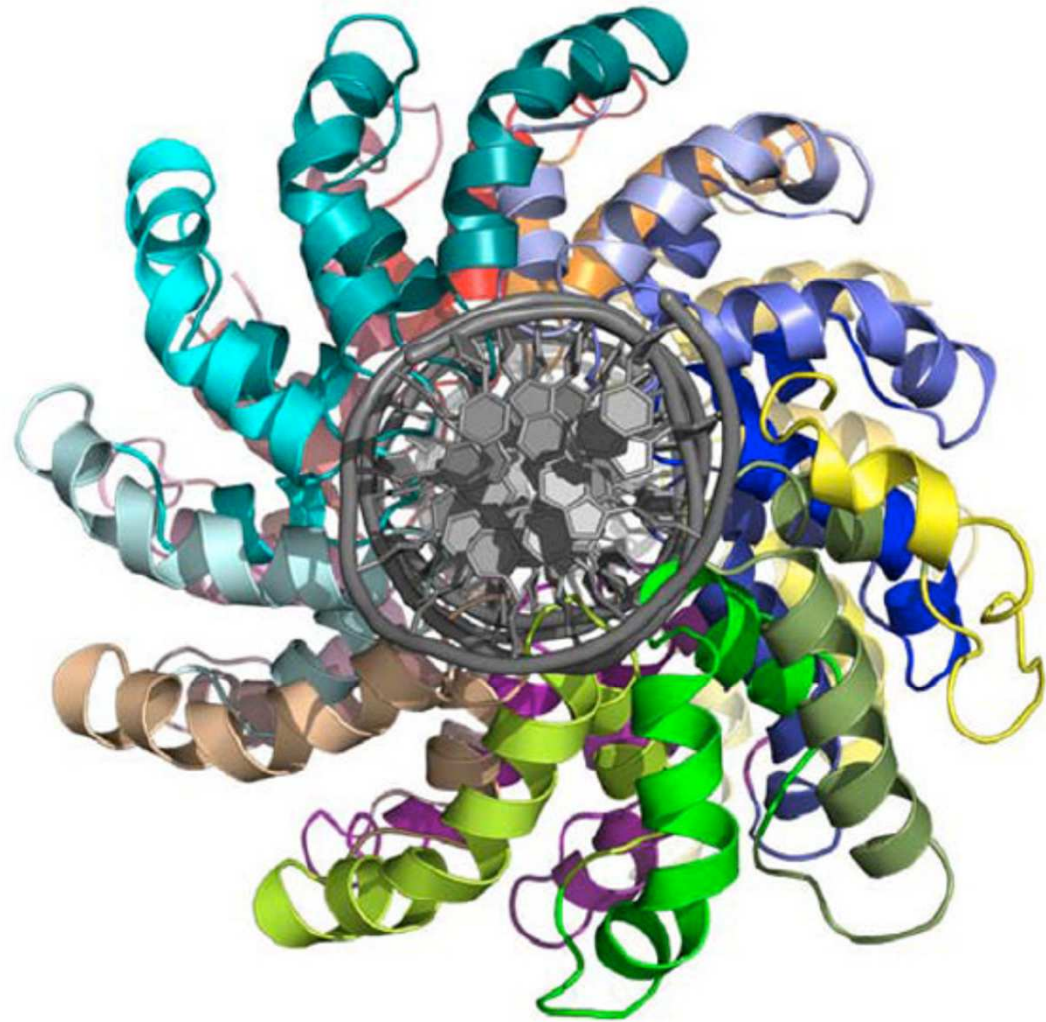
Transcription activator-like effectors (TALE)

Patogenní bakterie injikují do rostlinných buněk
ovlivňují transkripci rostlinných promotorů



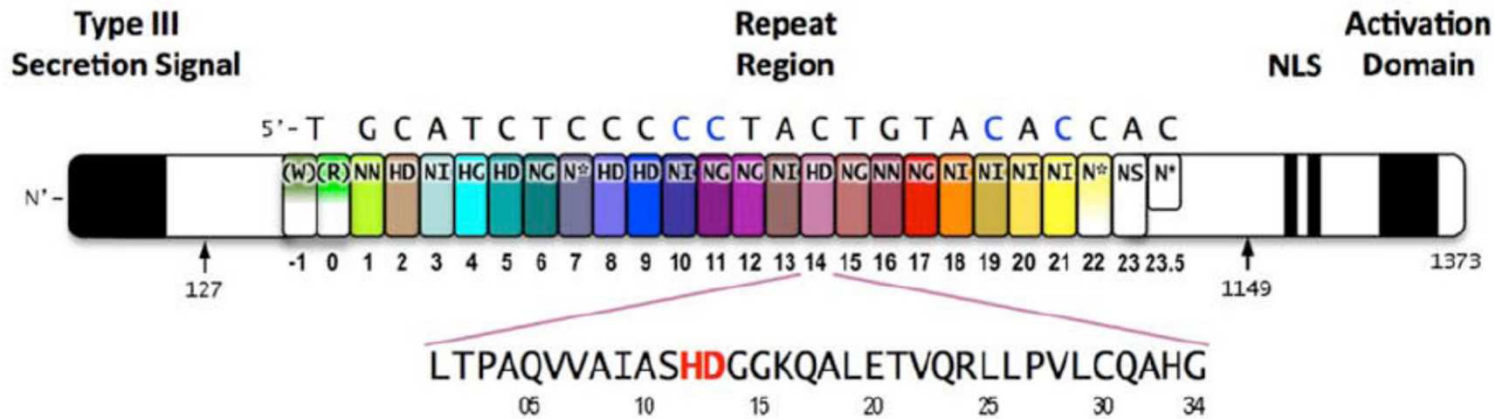
PthXo1

23 repetitivních obrotů DNA ve VŽ

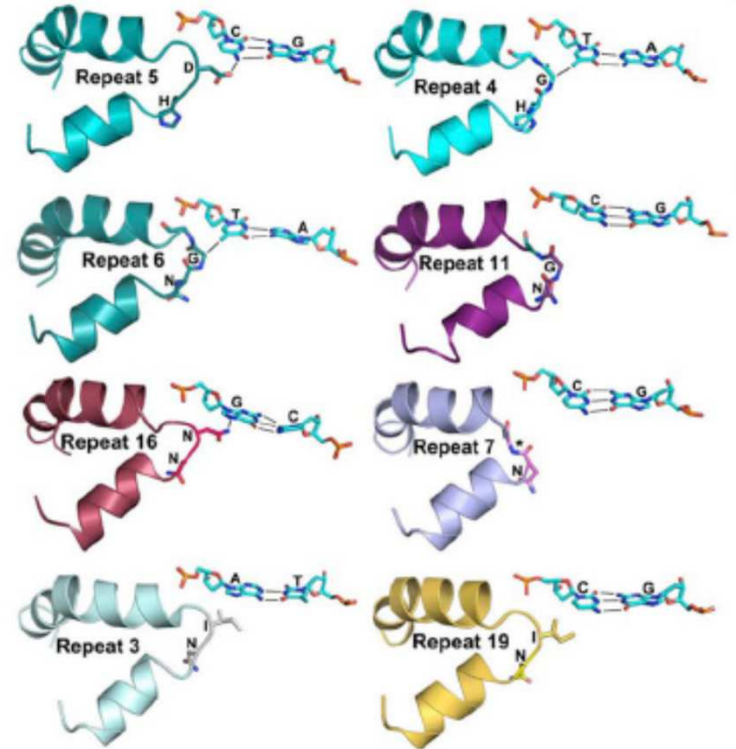
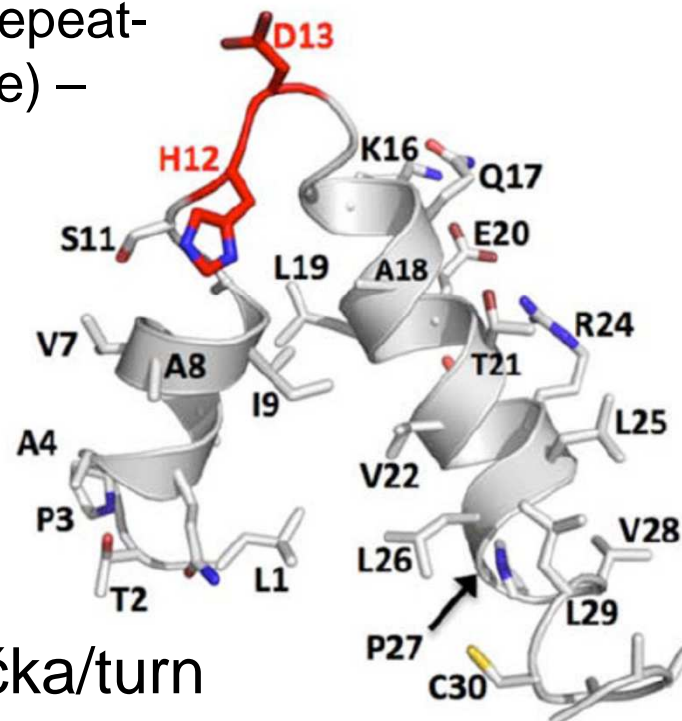


TALEN technologie

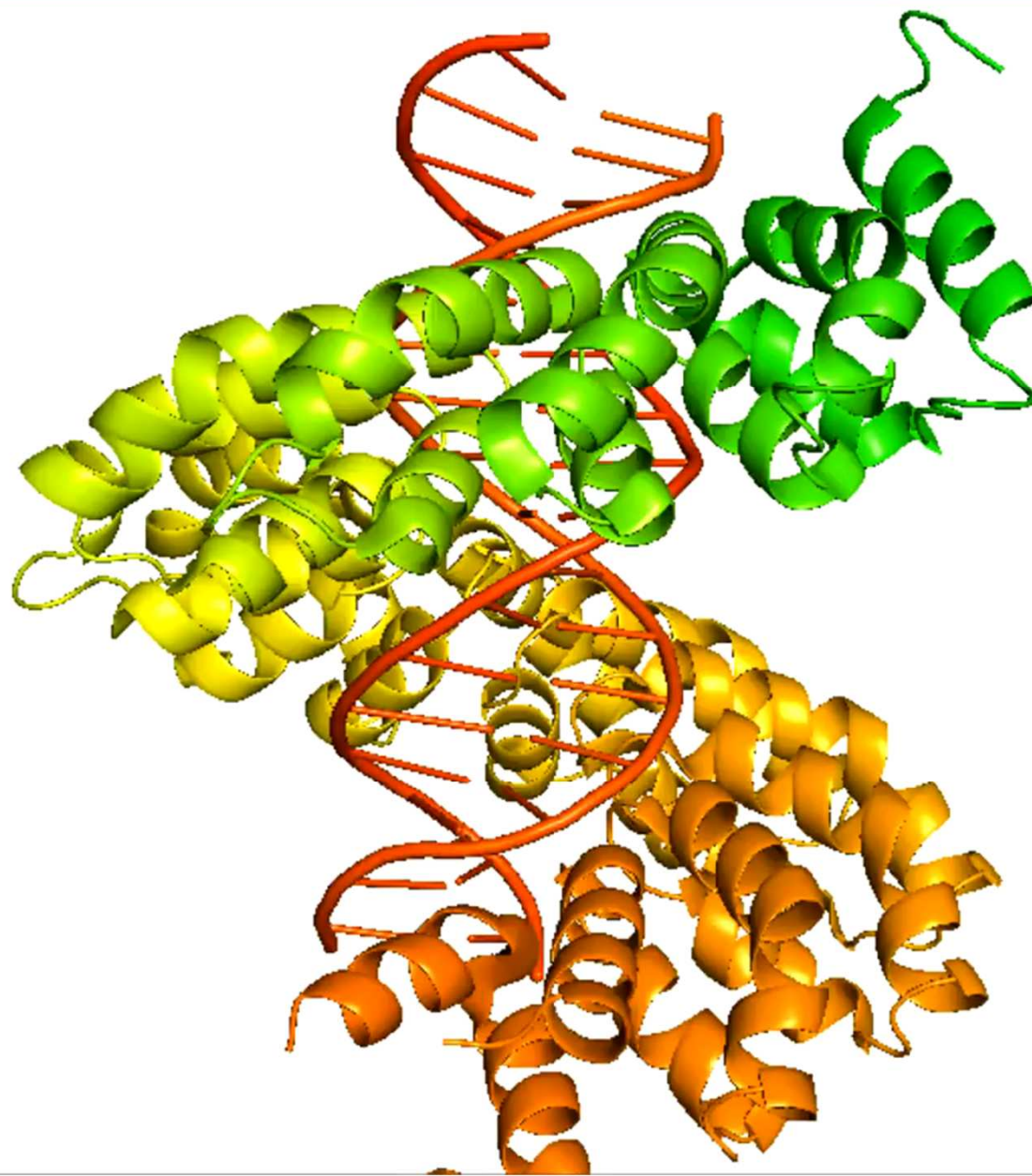
Mak et al, Science, 2012



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

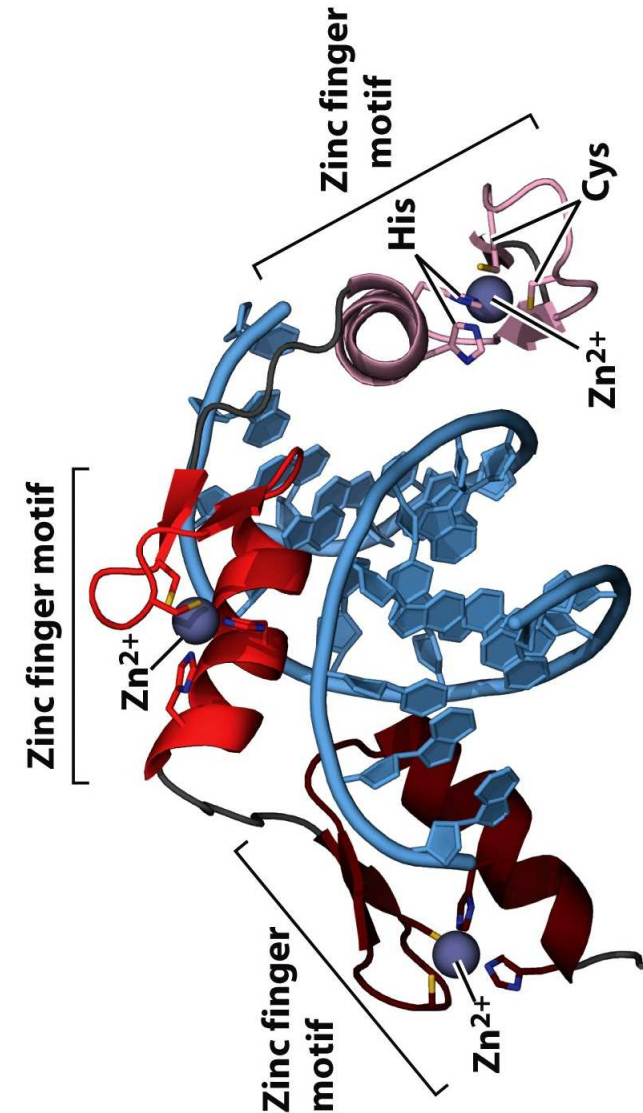


Interaguje otáčka/turn spíše než šroubovice

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

α -šroubovice



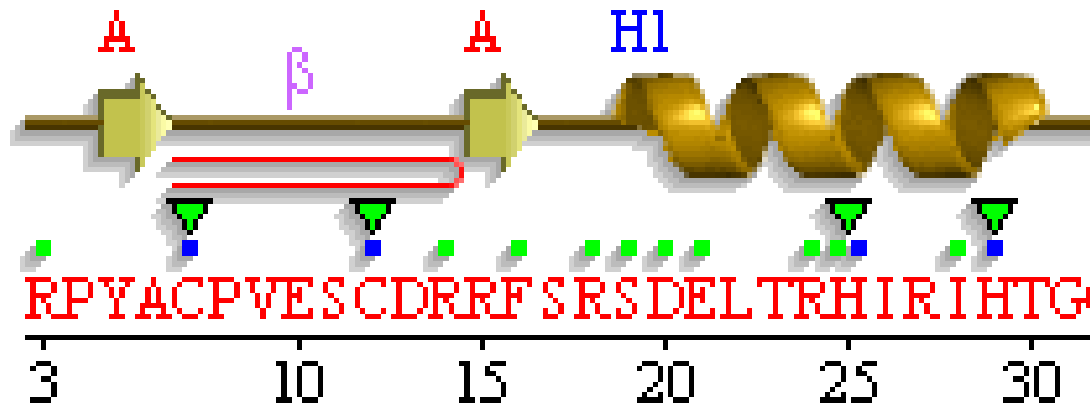
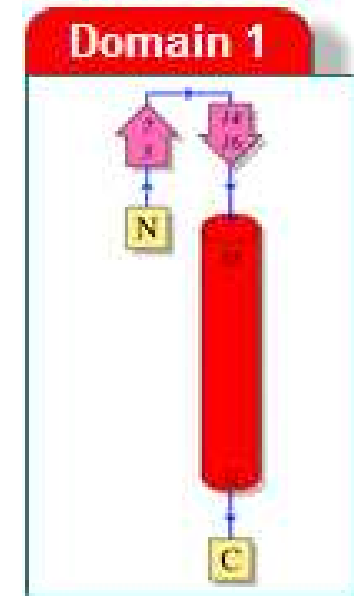
Zinc-finger/Zinkový prst

- 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:

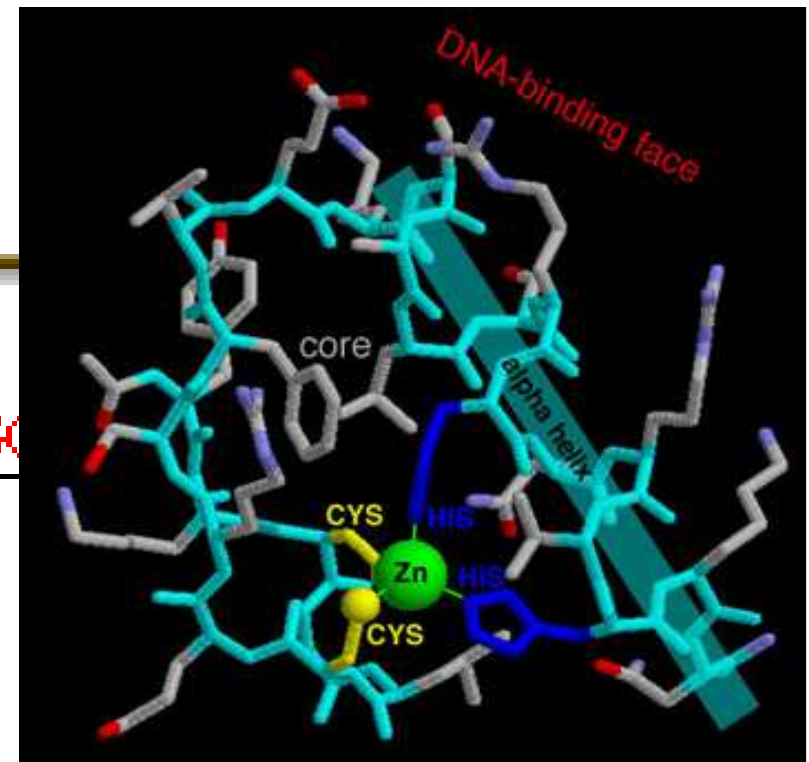
Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His

PDB grafika



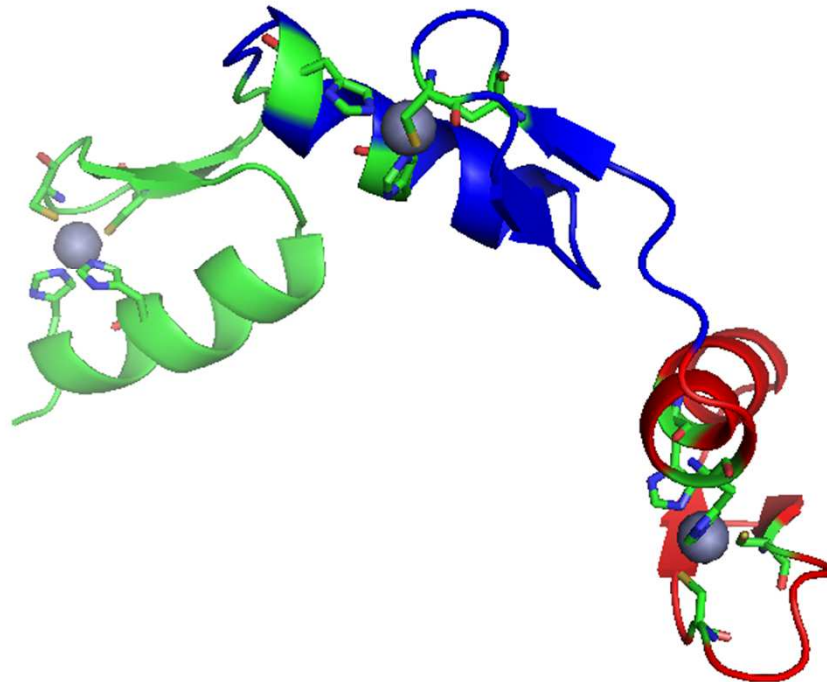
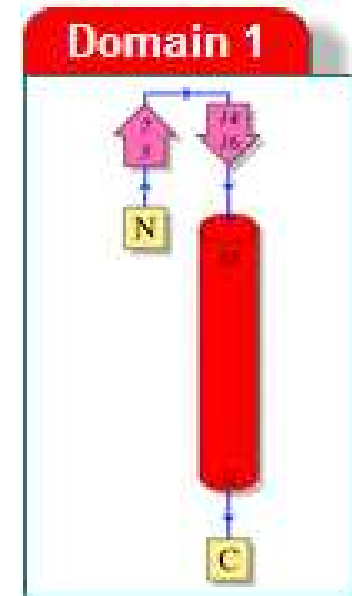
Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal

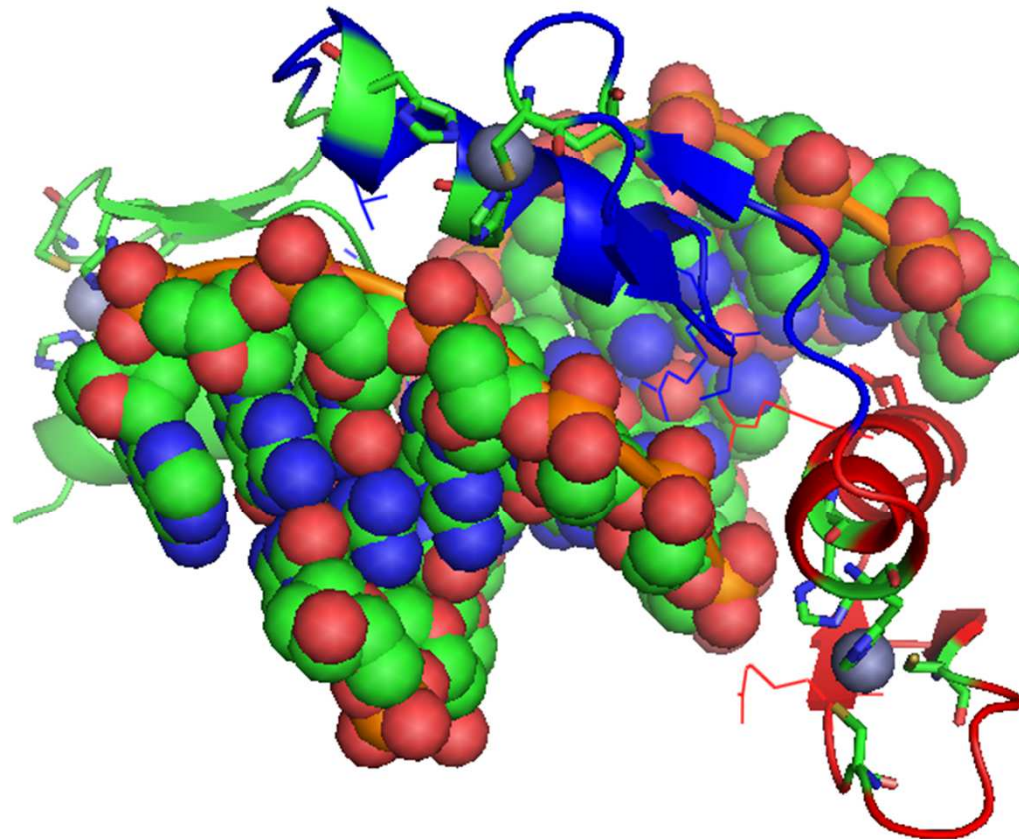
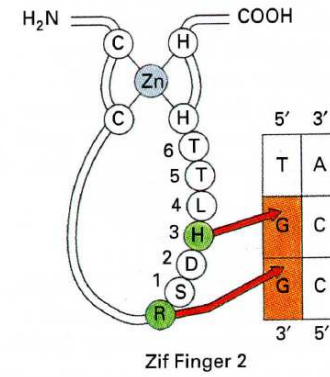
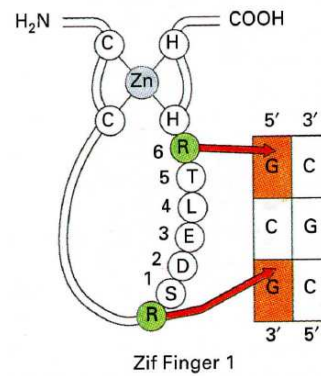


Zinc-finger/Zinkový prst

- 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:

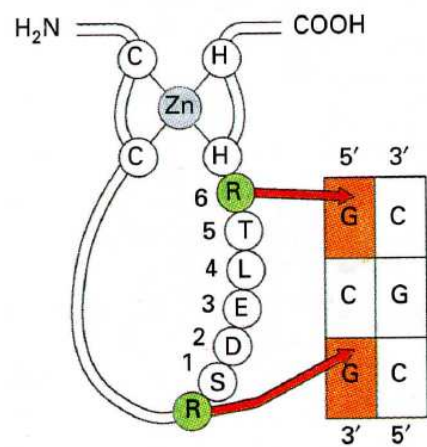


- 3x v Zif268, PDB=1zaa
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ
- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK => sekvenční specifita

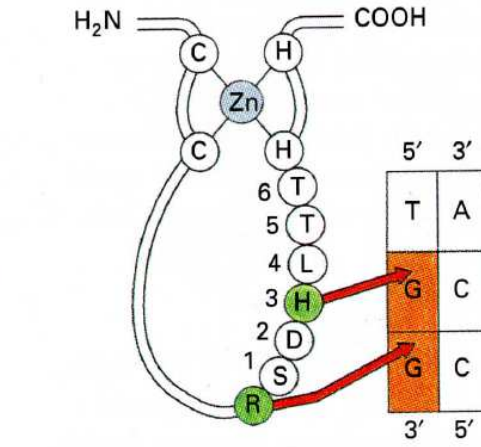


- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity

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



Zif Finger 1



Zif268

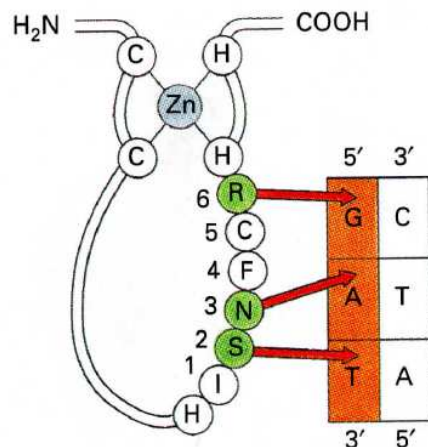
Zif Finger 2

- nejčastější jsou kontakty

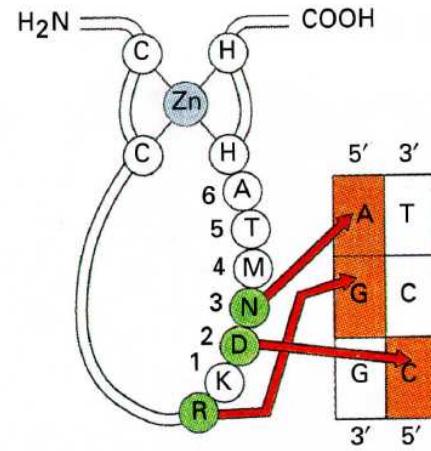
Gua-Arg

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

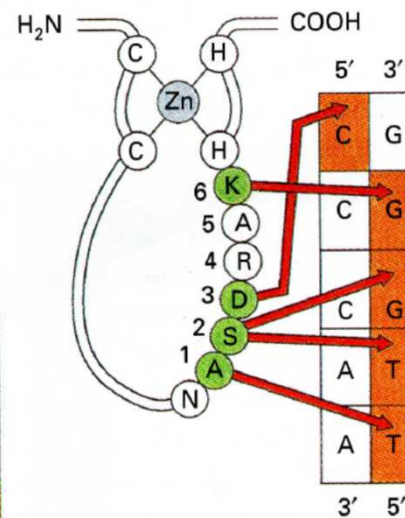
- Ser se může vázat na T či A



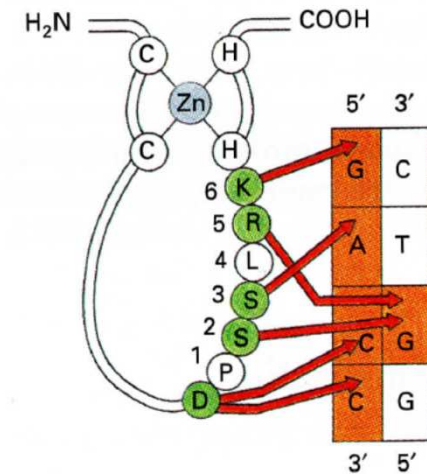
TTK Finger 1



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

The screenshot shows a web browser window with the URL <http://zf.princeton.edu/index.php>. The page title is "Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins" and the subtitle is "A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins". The page features a navigation menu on the left with options like "Home Page", "Protein-DNA Form", "Generate Sequence Logo", "Downloads", "Analyze Genomic Sequence", "Help", and "Contact Us". The main content area includes a "Welcome to our new site!" message, a paragraph explaining the site's purpose, and a 3D ribbon diagram of a zinc finger protein structure. At the bottom, there is a URL <http://zf.princeton.edu>, a funding acknowledgment, a disclaimer, and a visit count.

Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins
A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins

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 contains the generated sequence logo.

<http://zf.princeton.edu>

This research has been supported by NSF CCF-0542187 and NIH GM076275

Disclaimer: Works better with Firefox v2+, Safari v3+ or Opera v9+

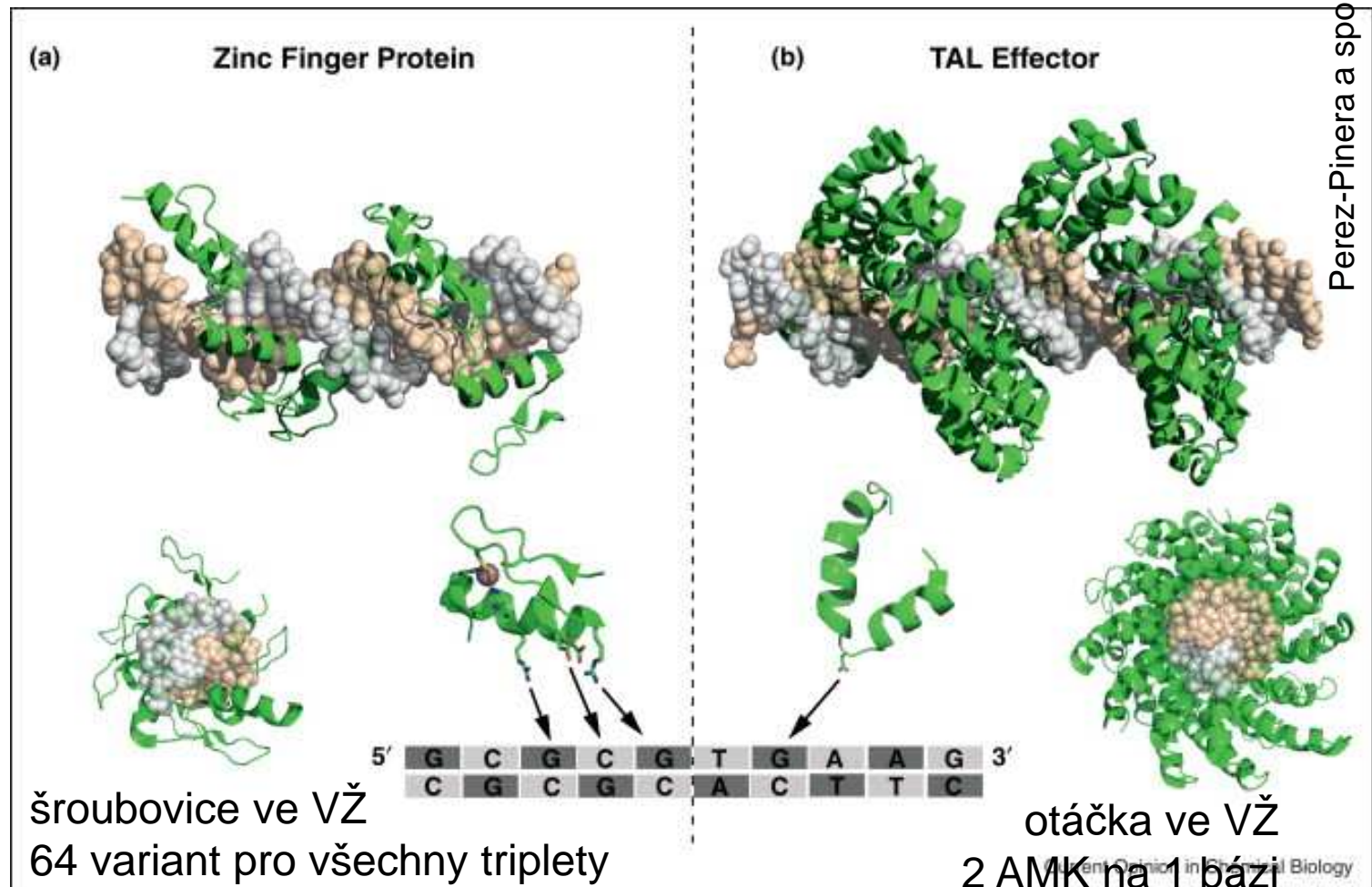
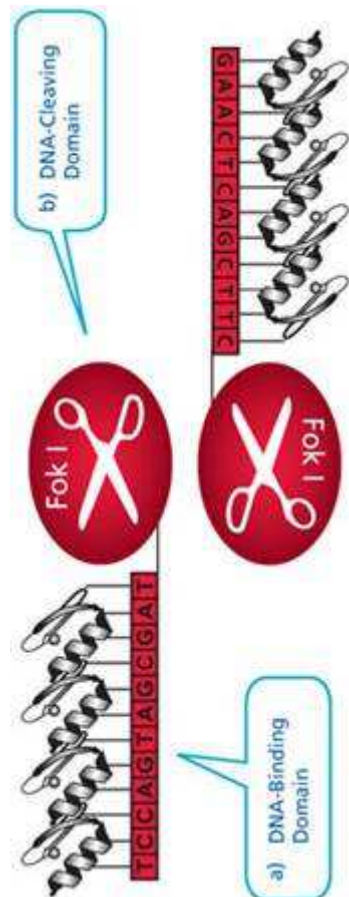
This page has been visited 2369 times since 09-09-2010

Persikov a Singh, NAR, 2014

- 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

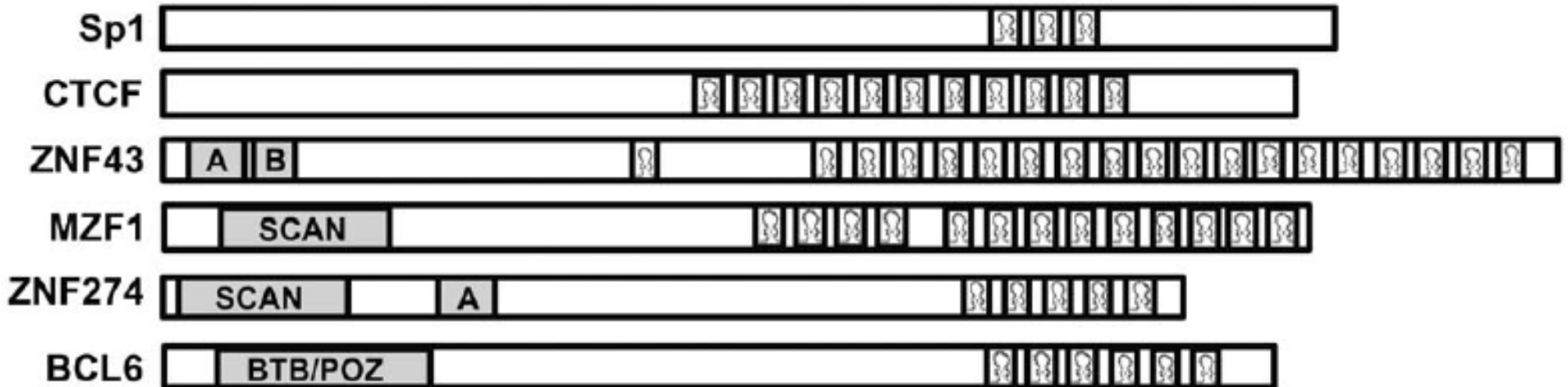
„genome editing“

Transcription activator-like



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

ZF1
 Ts YQCEFCPYTNHRRYLLRHMKSSEERF
 Hs FQCELCSYTCPRRSNDRHMKSDTERP
 Dm YSCPHCPYTKASKKFLITRHSRSDVEPS



ZF6
 Ts YQCEVNCNQRFTQNSLKAHKLTHSG.SRPV
 Hs YECYICHARFTQSGMCMHILQRHTENVAK.
 Dm YQCDI CKSRFTQNSLKAHKLTHSVVDKPV

ZF7
 Ts FQCKFCPSSCGRRKTDLRIVHQKLDHTA.SAP
 Hs FHCYICDVIARKSDLVHLRKHHSYIEQG
 Dm FQCNYPCTTCGRKADLRVHIKHMHTS.DVE

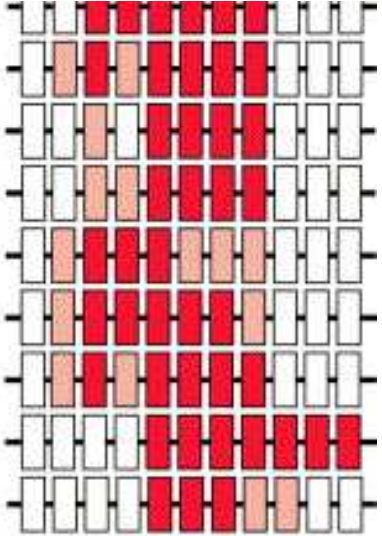
ZF8
 Ts IKKKKCDRTFTDRYTFKLHCKEHDGERC
 Hs KKCRYCDAVFHERYALIQHOKSHKNEKR
 Dm MTCRRCGQLPDRYQYKLVHVKSEGEKC

ZF9
 Ts YQCHLCPYSAMAQRHLEAHTLHSDKPF
 Hs FKDQCDYACRQERHMHKRTHTGKEKP
 Dm YSCKLCSYASVTQRHLASHEMLHLDKEKP

ZF10
 Ts YKQVDCNLSEKQVSLKRRHVESTHAANQ
 Hs YACSHCDKTFROKQLLDMHFKRYHDPNFV
 Dm FHCQCPQAFRQRQLLRHNMNLVNEEYQ

ZF11
 Ts LNDNLASPSSTSGVSVASASSSSSPSSSTPNS
 Hs FA.....AFVCSKCGKTFRRNTMARHADNCA
 Dm PPEPREKLHKCPSCPREFTHKGNLMRHMETHD

human	GAGCGGAAGAGGAAGTCCACCGCGCTTTTGAACACGGGA
8. PLK h/m	AGAGGAAGATTTAAGTAAAAGCTTCCTGGAGGAGGCGCAA TCTCCTTCTAAATTCATTTTCGAAGGACCTCCTCCGCGTT
9. PIM-1 human	CTTTTCCTTCCCGCCACGCTCGGGCGCGTAGAGACCATT GAAAAGGAAGGGCGGTCCACACCCGCCGCATCTCTGATA
10. PIM-1 mouse	GGGGAGAGGGGTGTACCCCGGAGGGCGGAGCGGAGGG CCCTCTCCCCACATCGGCGCTCCCGCCCTCGCCTCC
11. p19ARF mouse	GCAGGGCCCGCCCGCCCTCCCGCTGGGGCCCTCTGGGA CGTCCCGGGCGCGCGCGAGGGGACCCCGGAGAACCCT
12. DMD4 mouse	GGAAACGGAGCTACCGCCCGGCGCAGCATACTCCTATATA CCTTGCCCTCGATGGCGCGCCACCCTCTATAGGATATAT
13. DMD7 mouse	CTAAATGGACAGACGATGCCCGCGGCGGACATACAATAC GATTACCTGCTGCTACCGCGCACCACCGTCTATGTTATG
14. "144" silen. rat	CCTGAGTGCATTTCCCTCATGATCCAAAAGAGGCAATAAC GGACTCACGTAAAGGAGTACTAGGTTTCTCCCTTATTG
15. APP human	TTCCCGCGCGCGCGCGCTAGGGCTCTCTCTCGGGTGGGA AAGGCCCCGCGCGCGCGATCCCAAGAGAGCCACGGCT

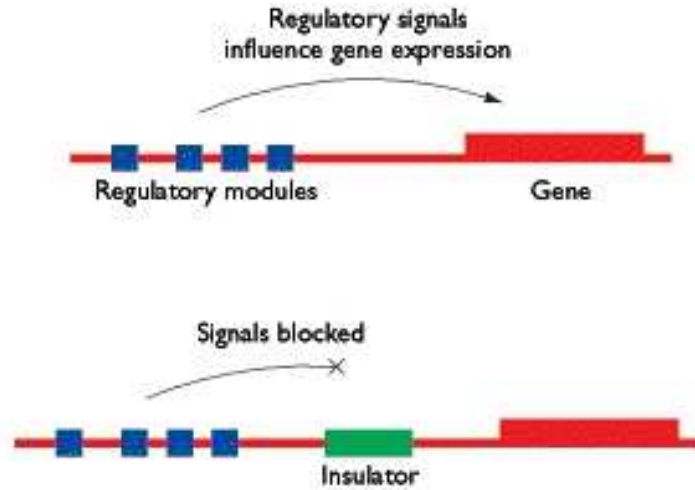


TRENDS in Genetics

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

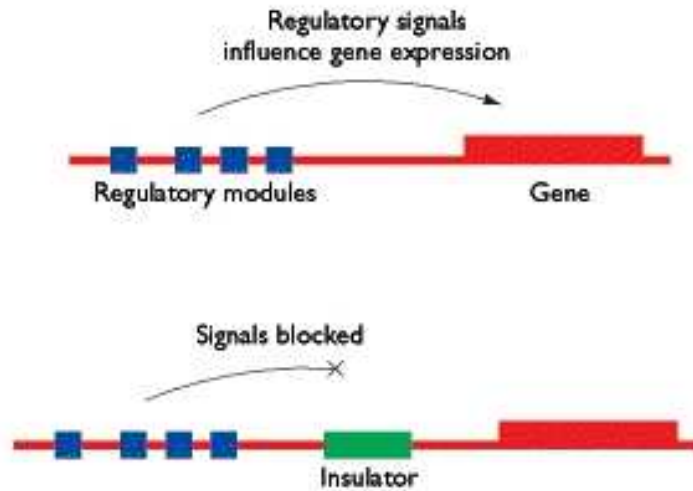
ZF1	Ts YOC ¹⁰ EF ¹⁰ CPY ¹⁰ TNH ¹⁰ KRY ¹⁰ LLR ¹⁰ HMKS ¹⁰ HSE ¹⁰ ERP Hs FOC ¹⁰ EL ¹⁰ CSY ¹⁰ TC ¹⁰ RRS ¹⁰ NLDR ¹⁰ HMKS ¹⁰ HTDERP Dm YSC ¹⁰ PH ¹⁰ CPY ¹⁰ TAS ¹⁰ KKFL ¹⁰ IT ¹⁰ HSRS ¹⁰ H ¹⁰ DVEPS
ZF2	Ts FK ³⁰ CTV ³⁰ CERC ³⁰ FK ³⁰ TNS ³⁰ SLQN ³⁰ HINT ³⁰ HTGTRP Hs HK ³⁰ CHL ³⁰ CGRAF ³⁰ TV ³⁰ TLRN ³⁰ HLNTH ³⁰ HTGTRP Dm FK ³⁰ CSI ³⁰ CERS ³⁰ F ³⁰ RS ³⁰ NVGL ³⁰ QN ³⁰ HINT ³⁰ H ³⁰ MGNKP
ZF3	Ts HO ⁶⁰ CKG ⁶⁰ C ⁶⁰ ELAF ⁶⁰ T ⁶⁰ SGEL ⁶⁰ LI ⁶⁰ H ⁶⁰ IRYK ⁶⁰ HTLEKP Hs HK ⁶⁰ CPD ⁶⁰ CDMA ⁶⁰ FV ⁶⁰ TS ⁶⁰ GEL ⁶⁰ LV ⁶⁰ H ⁶⁰ RRYK ⁶⁰ HTHEKP Dm HK ⁶⁰ CKL ⁶⁰ CES ⁶⁰ AFT ⁶⁰ TS ⁶⁰ GEL ⁶⁰ LV ⁶⁰ H ⁶⁰ TRYK ⁶⁰ HTKEKP
ZF4	Ts HK ⁹⁰ CTE ⁹⁰ CSY ⁹⁰ ASV ⁹⁰ ELS ⁹⁰ KLK ⁹⁰ RH ⁹⁰ IRSH ⁹⁰ HTGERP Hs FK ⁹⁰ SM ⁹⁰ CDY ⁹⁰ ASV ⁹⁰ EV ⁹⁰ SKL ⁹⁰ RRH ⁹⁰ IRSH ⁹⁰ HTGERP Dm HK ⁹⁰ CTE ⁹⁰ CTY ⁹⁰ ASV ⁹⁰ EL ⁹⁰ TK ⁹⁰ LR ⁹⁰ H ⁹⁰ MTC ⁹⁰ HTGERP
ZF5	Ts YH ¹²⁰ CPH ¹²⁰ CSY ¹²⁰ ASP ¹²⁰ DTY ¹²⁰ KLK ¹²⁰ RHL ¹²⁰ RV ¹²⁰ HTGEKP Hs FOC ¹²⁰ SL ¹²⁰ CSY ¹²⁰ ASR ¹²⁰ DTY ¹²⁰ KLK ¹²⁰ RHM ¹²⁰ RT ¹²⁰ HS ¹²⁰ GKEP Dm YOC ¹²⁰ PH ¹²⁰ CTY ¹²⁰ ASQ ¹²⁰ DM ¹²⁰ EKL ¹²⁰ K ¹²⁰ RHM ¹²⁰ VI ¹²⁰ HTGEKK
ZF6	Ts YOC ¹⁵⁰ EV ¹⁵⁰ CNQR ¹⁵⁰ F ¹⁵⁰ TOS ¹⁵⁰ N ¹⁵⁰ SLK ¹⁵⁰ A ¹⁵⁰ HKL ¹⁵⁰ .I ¹⁵⁰ H ¹⁵⁰ SG ¹⁵⁰ .SRP ¹⁵⁰ Hs YEC ¹⁵⁰ YI ¹⁵⁰ CHAR ¹⁵⁰ F ¹⁵⁰ TOS ¹⁵⁰ G ¹⁵⁰ TKM ¹⁵⁰ HL ¹⁵⁰ IQ ¹⁵⁰ HTENVAK ¹⁵⁰ Dm YOC ¹⁵⁰ DI ¹⁵⁰ CKSR ¹⁵⁰ F ¹⁵⁰ TOS ¹⁵⁰ N ¹⁵⁰ SLK ¹⁵⁰ A ¹⁵⁰ HKL ¹⁵⁰ .I ¹⁵⁰ HS ¹⁵⁰ VVDK ¹⁵⁰ VP
ZF7	Ts FOC ¹⁸⁰ K ¹⁸⁰ FC ¹⁸⁰ PS ¹⁸⁰ SC ¹⁸⁰ GR ¹⁸⁰ KT ¹⁸⁰ DL ¹⁸⁰ RI ¹⁸⁰ H ¹⁸⁰ VQ ¹⁸⁰ KL ¹⁸⁰ HTA ¹⁸⁰ .SAP ¹⁸⁰ Hs FHC ¹⁸⁰ PH ¹⁸⁰ CD ¹⁸⁰ TV ¹⁸⁰ IAR ¹⁸⁰ KSD ¹⁸⁰ LG ¹⁸⁰ V ¹⁸⁰ HLR ¹⁸⁰ KO ¹⁸⁰ HSY ¹⁸⁰ IEQG Dm FOC ¹⁸⁰ NY ¹⁸⁰ CPT ¹⁸⁰ T ¹⁸⁰ CGR ¹⁸⁰ KAD ¹⁸⁰ LR ¹⁸⁰ V ¹⁸⁰ IKHM ¹⁸⁰ HTS ¹⁸⁰ .DVP
ZF8	Ts IK ²¹⁰ CKK ²¹⁰ CD ²¹⁰ RT ²¹⁰ FT ²¹⁰ DRY ²¹⁰ TFK ²¹⁰ L ²¹⁰ HCKE ²¹⁰ H ²¹⁰ DGERC Hs KK ²¹⁰ CRY ²¹⁰ CD ²¹⁰ AV ²¹⁰ F ²¹⁰ HERY ²¹⁰ ALIQ ²¹⁰ H ²¹⁰ QKSH ²¹⁰ KNEKR Dm MT ²¹⁰ CR ²¹⁰ R ²¹⁰ CG ²¹⁰ Q ²¹⁰ LP ²¹⁰ DRY ²¹⁰ OYK ²¹⁰ L ²¹⁰ H ²¹⁰ VKS ²¹⁰ HEGK ²¹⁰ CK
ZF9	Ts YOC ²³⁰ HL ²³⁰ CPY ²³⁰ SAMA ²³⁰ QR ²³⁰ HLE ²³⁰ FA ²³⁰ HTLL ²³⁰ H ²³⁰ SDK ²³⁰ P Hs FK ²³⁰ DD ²³⁰ CDY ²³⁰ ACR ²³⁰ QER ²³⁰ HM ²³⁰ HKRT ²³⁰ HTGK ²³⁰ EP Dm YSC ²³⁰ KL ²³⁰ CSY ²³⁰ ASV ²³⁰ TQR ²³⁰ H ²³⁰ LAS ²³⁰ HMLI ²³⁰ HL ²³⁰ DEK ²³⁰ P
ZF10	Ts YK ²⁶⁰ QVD ²⁶⁰ CN ²⁶⁰ LSE ²⁶⁰ FK ²⁶⁰ QV ²⁶⁰ SL ²⁶⁰ LK ²⁶⁰ RH ²⁶⁰ VEST ²⁶⁰ HA ²⁶⁰ AA ²⁶⁰ NQ Hs YAC ²⁶⁰ SH ²⁶⁰ CDK ²⁶⁰ TF ²⁶⁰ RQ ²⁶⁰ KQL ²⁶⁰ LD ²⁶⁰ M ²⁶⁰ HF ²⁶⁰ KRY ²⁶⁰ DPNFV Dm FHC ²⁶⁰ DQ ²⁶⁰ CPQAF ²⁶⁰ RQ ²⁶⁰ LR ²⁶⁰ H ²⁶⁰ MNLV ²⁶⁰ H ²⁶⁰ NEEYQ
ZF11	Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSSSS ²⁹⁰ SS ²⁹⁰ SS ²⁹⁰ TSPN ²⁹⁰ SS Hs PA...AFV ²⁹⁰ CSK ²⁹⁰ CGK ²⁹⁰ TF ²⁹⁰ TRRNTMAR ²⁹⁰ HADNCA Dm PPEPREKLHK ²⁹⁰ CP ²⁹⁰ CP ²⁹⁰ REF ²⁹⁰ TH ²⁹⁰ KG ²⁹⁰ NLM ²⁹⁰ R ²⁹⁰ HMET ²⁹⁰ HD

insertion

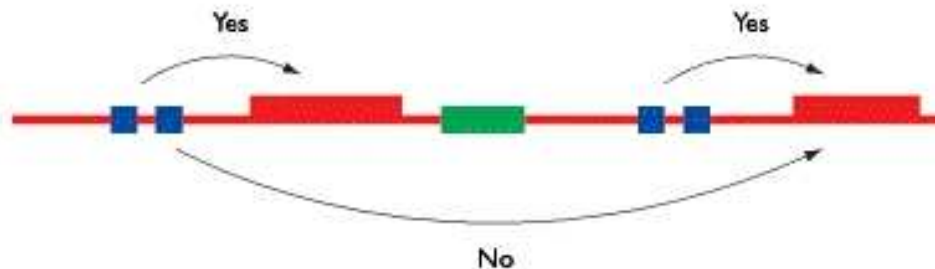
CTCF

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

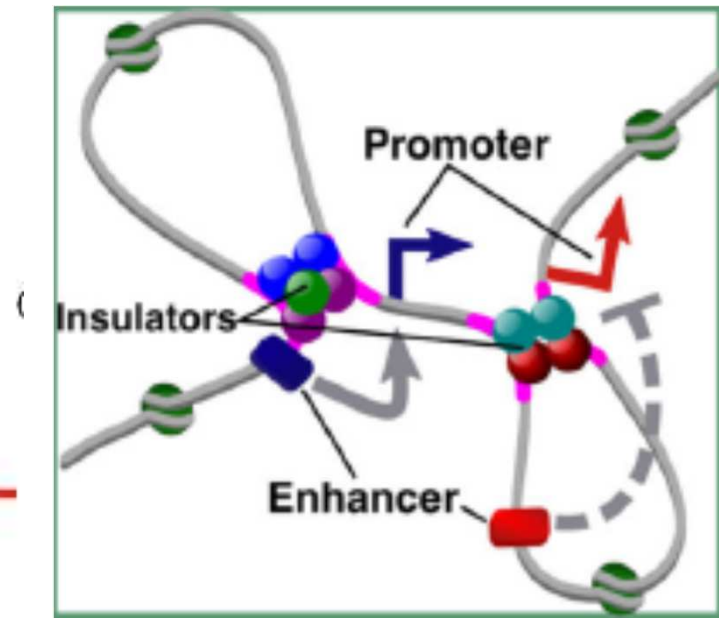
A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



B) Insulators prevent cross-talk between functional domains



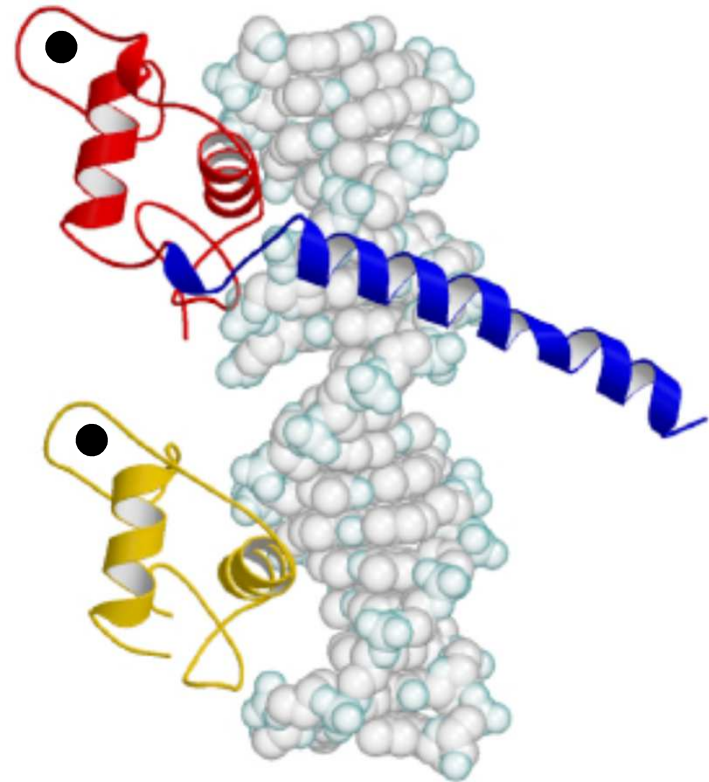
- CTCF interaguje s kohesinem a podílí se na utváření vyšších chromatinových struktur



Hormon receptor family

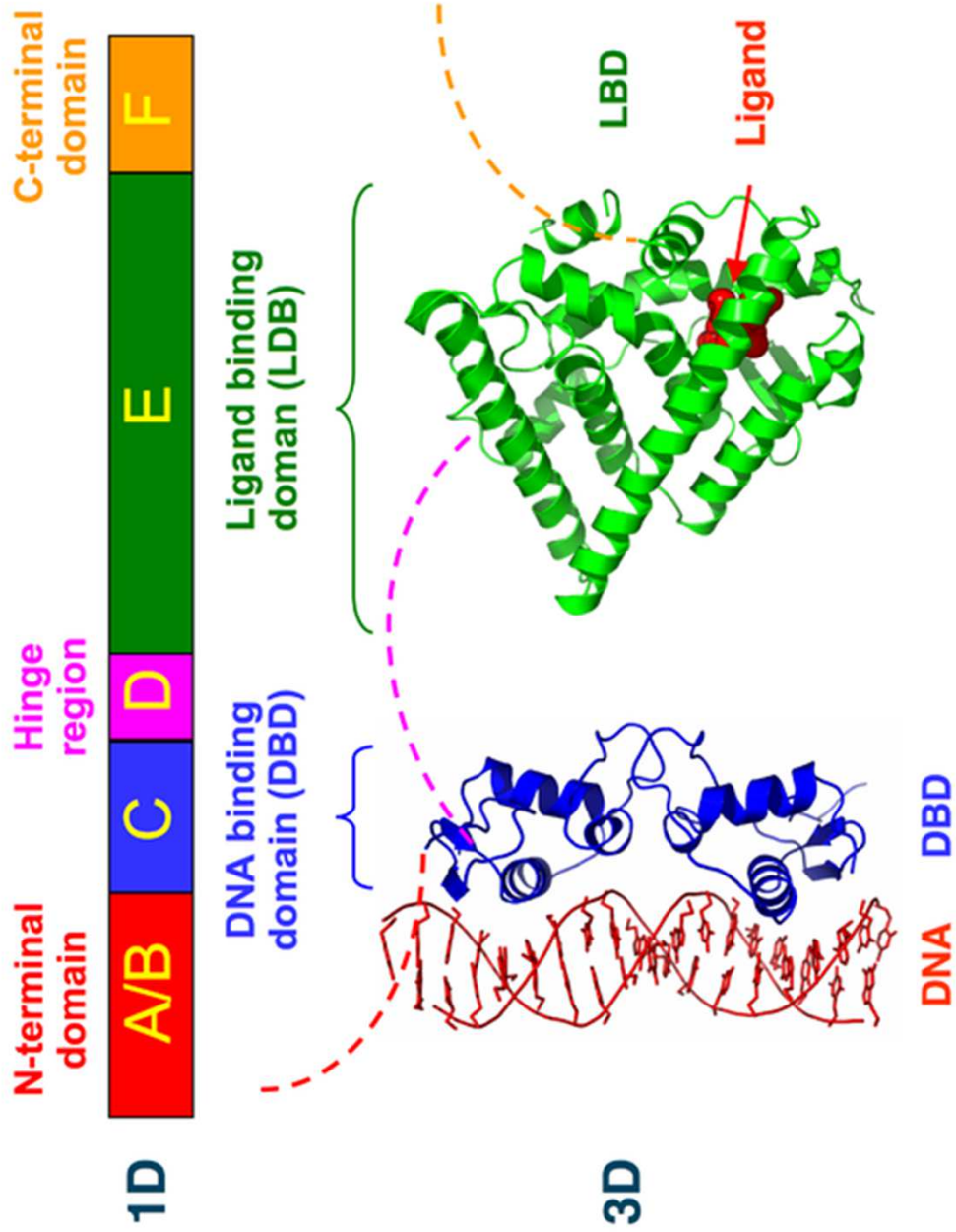
Jaderné receptory – steroidní hormony, thyroïdní hormony a retinoidy – navázání ligandu stimuluje translokaci receptoru z cytoplasmy do jádra a vazbu na HRE (*hormon response element* - regulaci transkripce)

- 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)



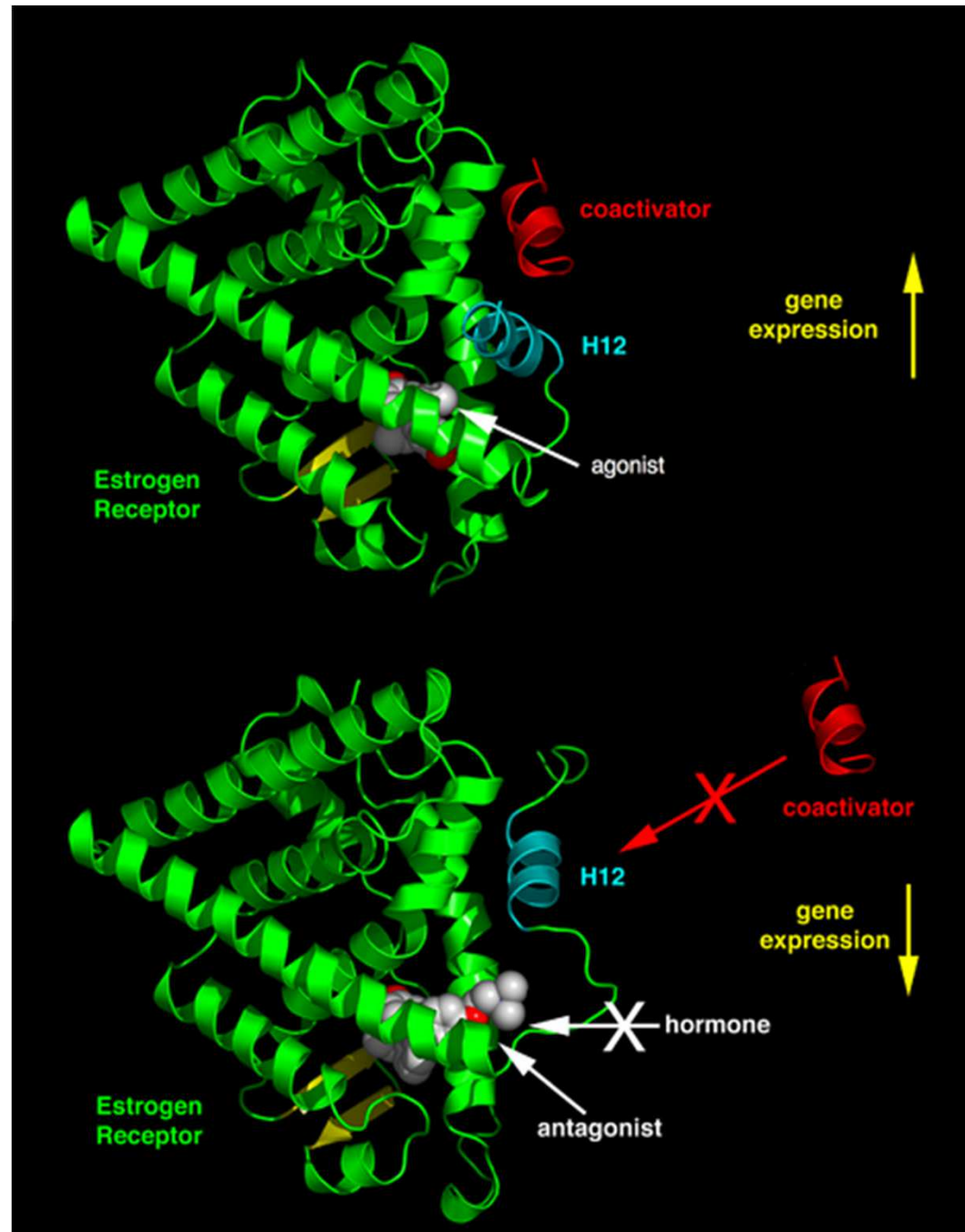
18. Hormone receptor (2nll)

Structural Organization of Nuclear Receptors

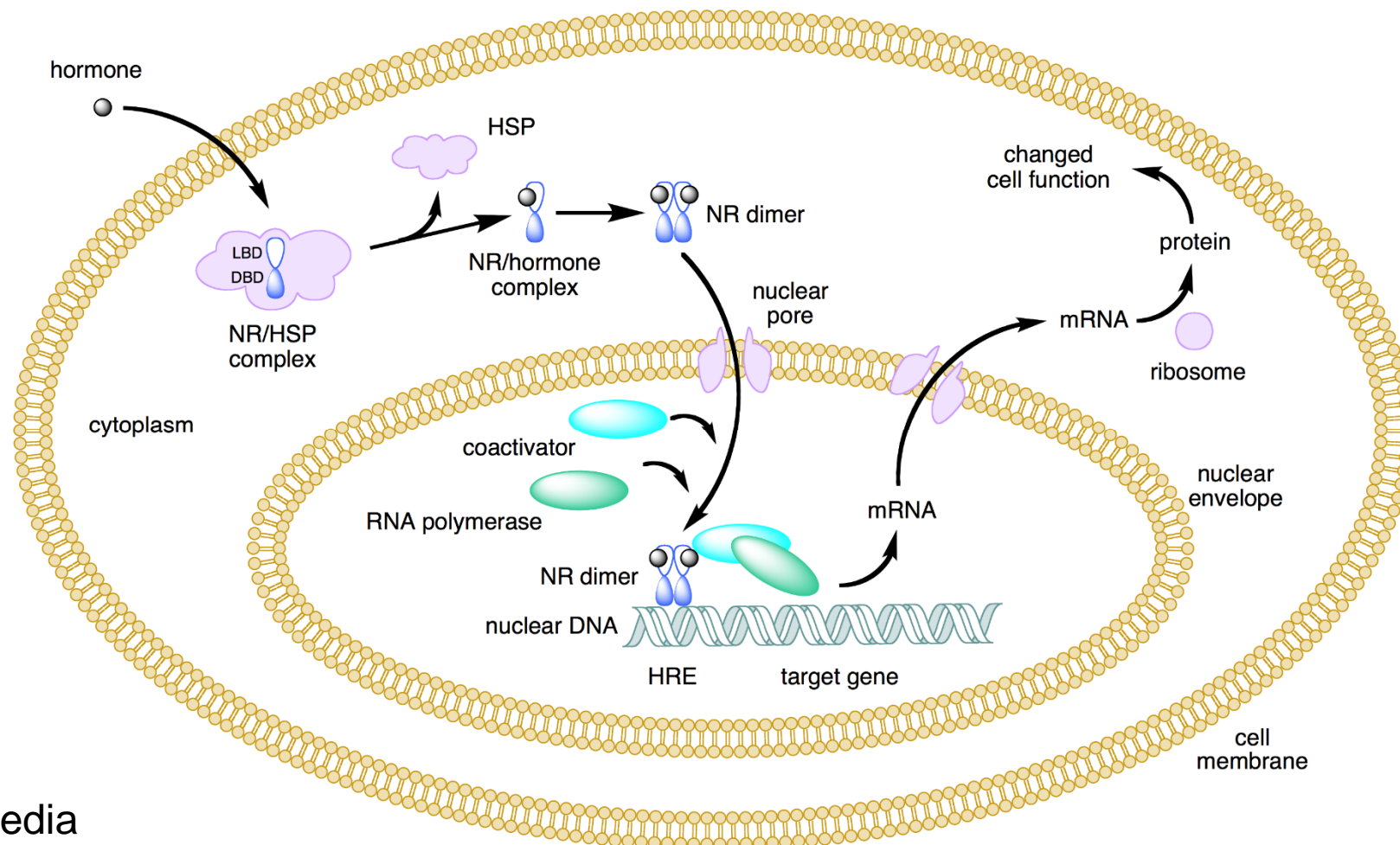


- hormony (estrogen) nebo syntetické látky (diethylstilbestrol) působí jako agonisté a stimulují vazbu koaktivátorů
- antagonisté (synt., hydroxytamoxifen) brání vazbě agonistů a koaktivátorů

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



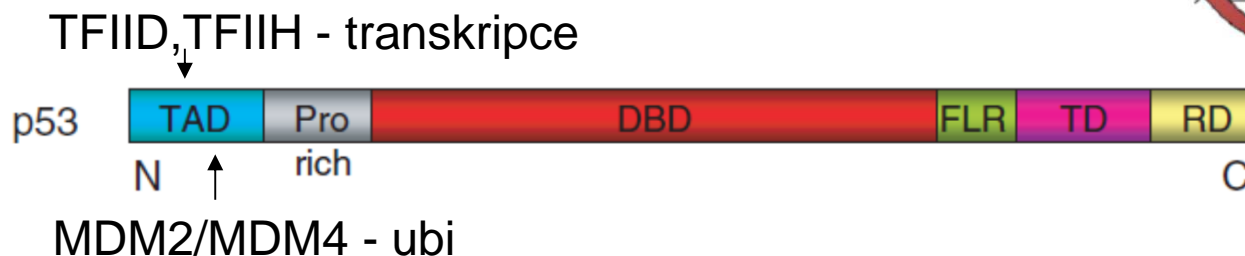
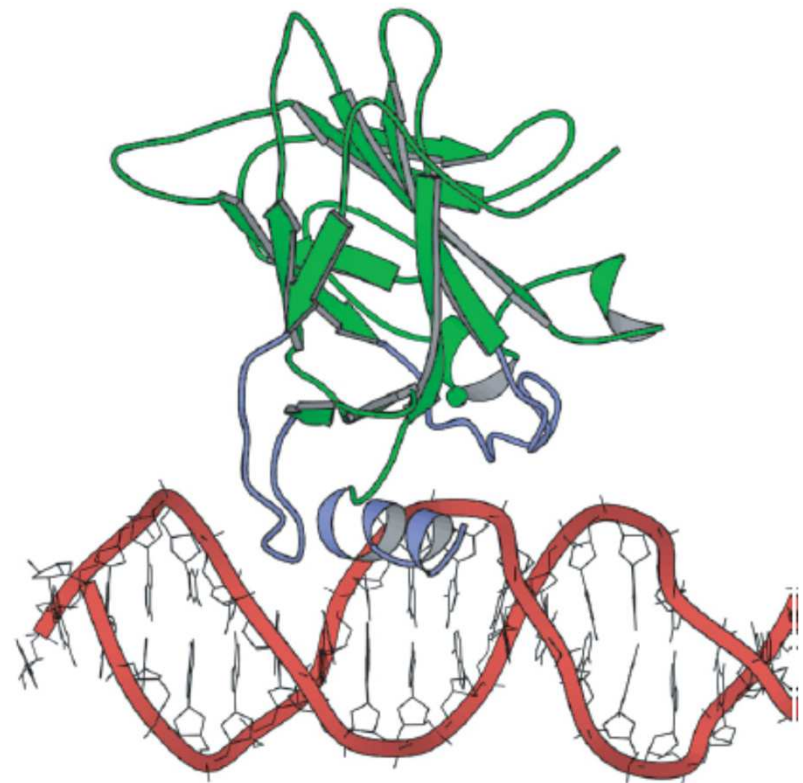
třída I (homodimery, cytoplasma) a třída II (heterodimery, jádro) – vazba ligandu moduluje nejdříve uvolnění faktoru a poté vazbu ko-aktivátorů (dalších transkripčních faktorů nebo chromatinových remodelátorů)



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

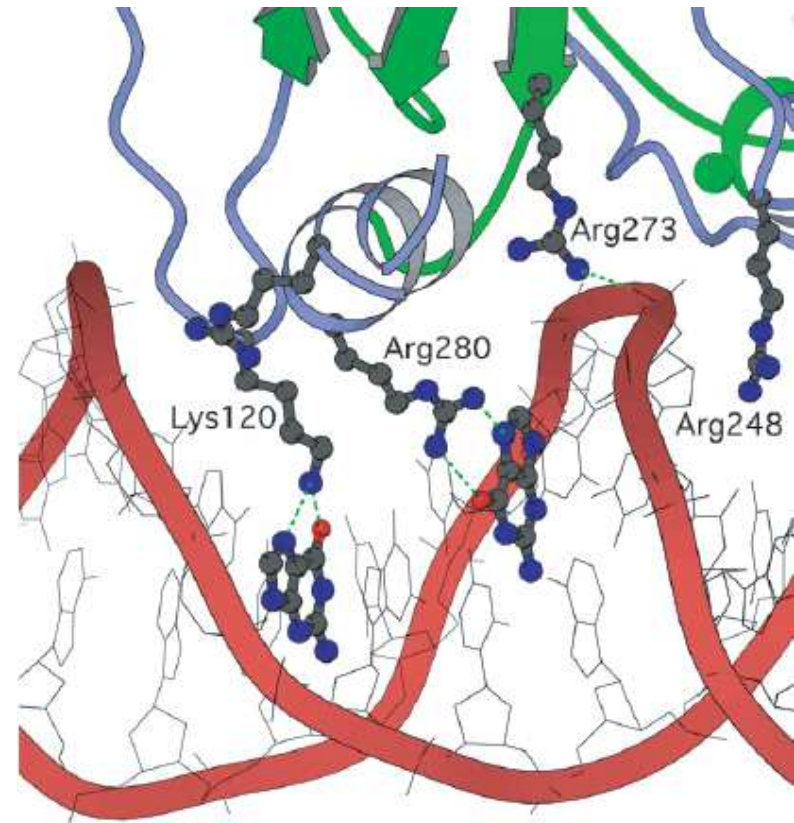


Loop-sheet-helix

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

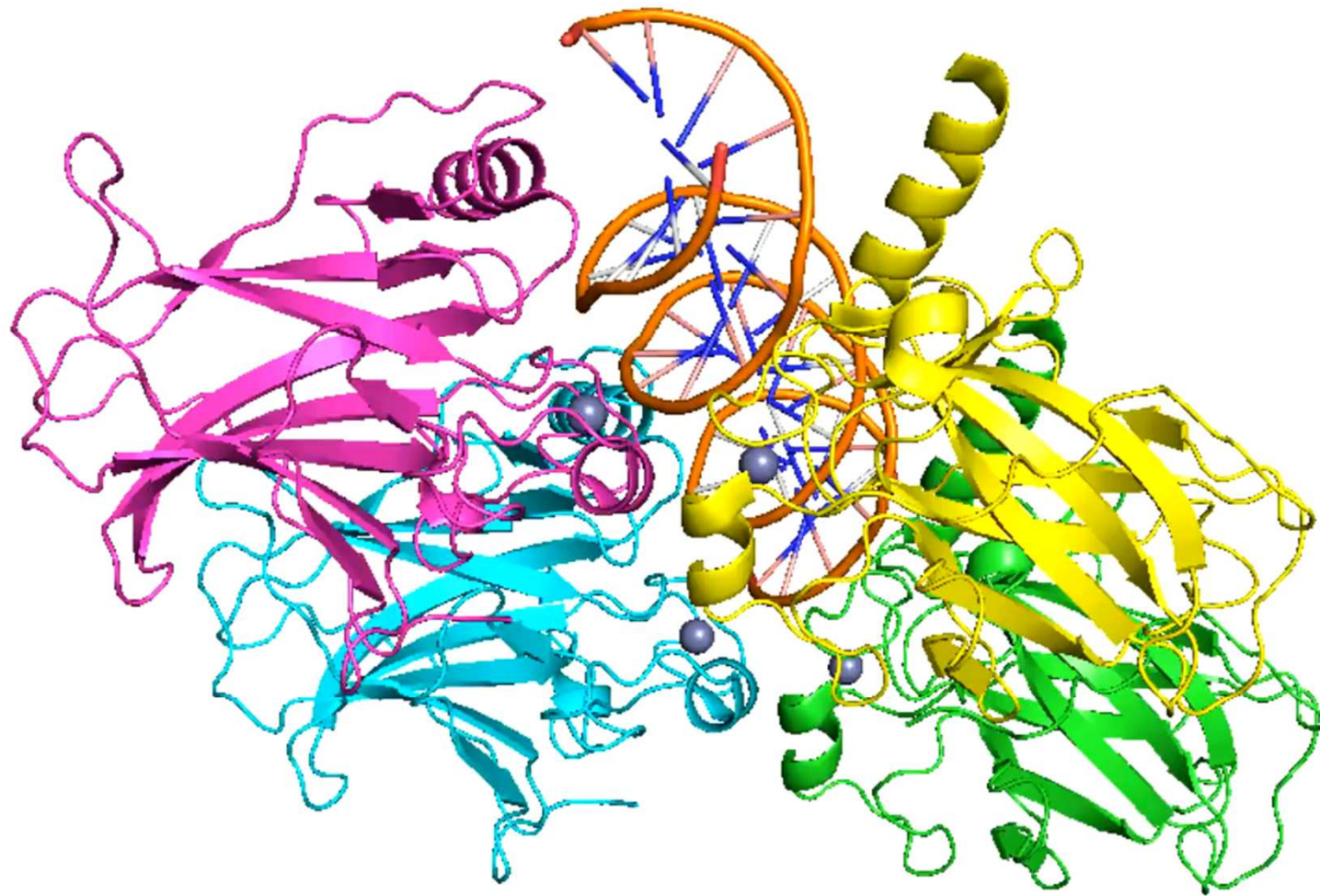
- Konsensus sekvence
PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy
(v promotorech p21, PUMA)
- 95% “nádorových” mutací je v „core“ doméně (R273H)
- Regulace/aktivace modifikací C-koncové domény

Protein se váže jako tetramer (C-koncová doména)



p53



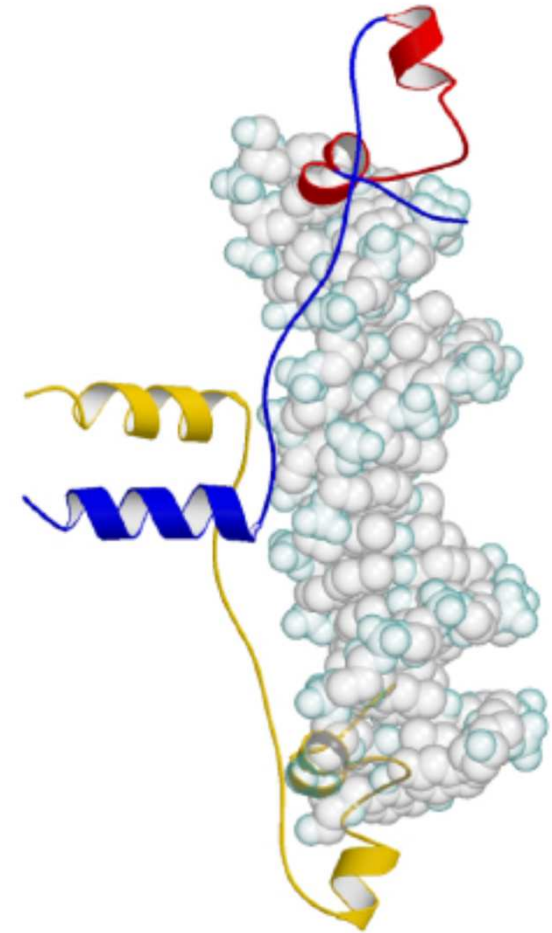


p53 tetramer – DNA, PDB: 3KMD

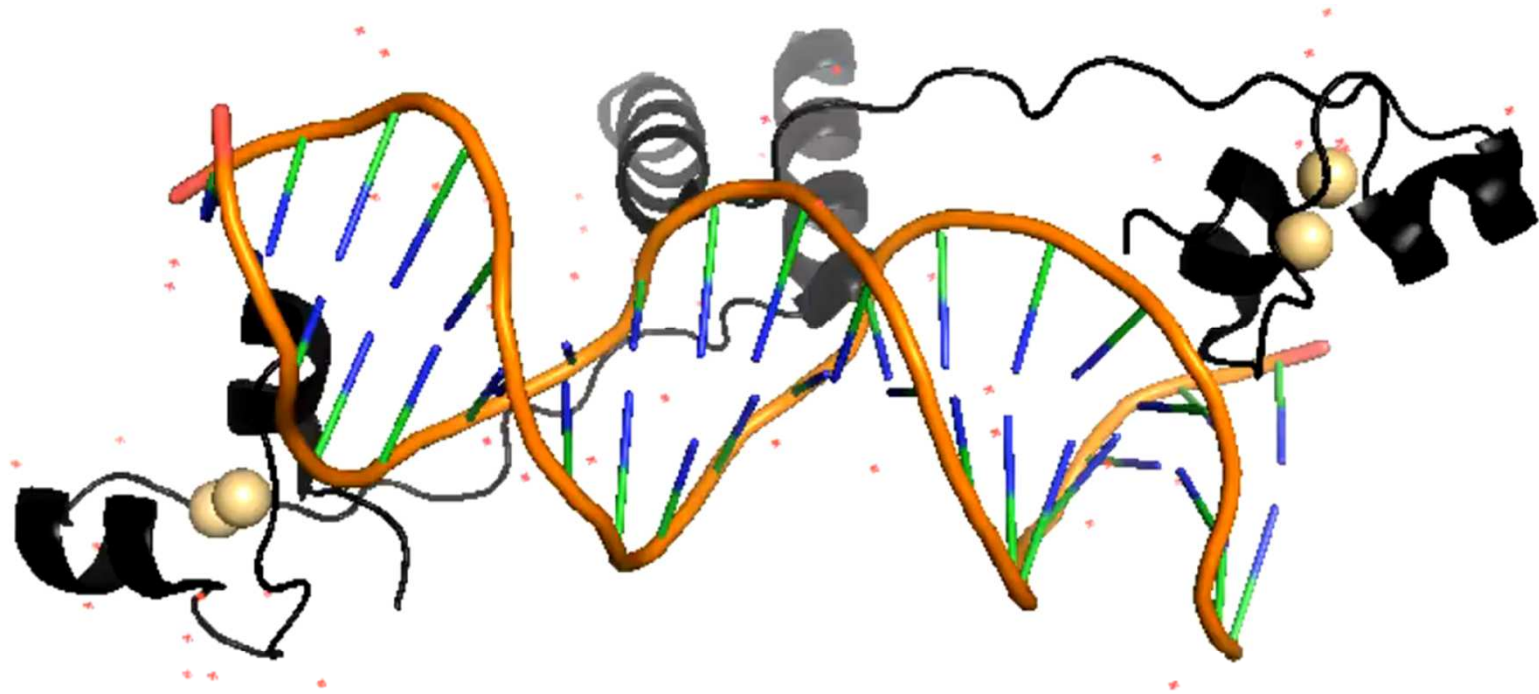
Gal4

- 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. šroubovice ve velkém žlábků a smyčka k 2. šroubovici kontaktuje cukr-fosfátovou kostrou
- Dimerizuje přes krátký CC segment

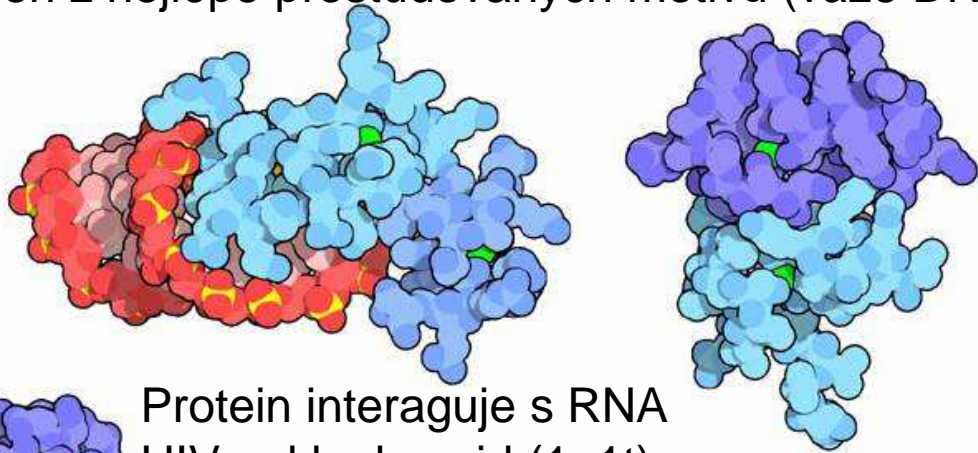


Gal4

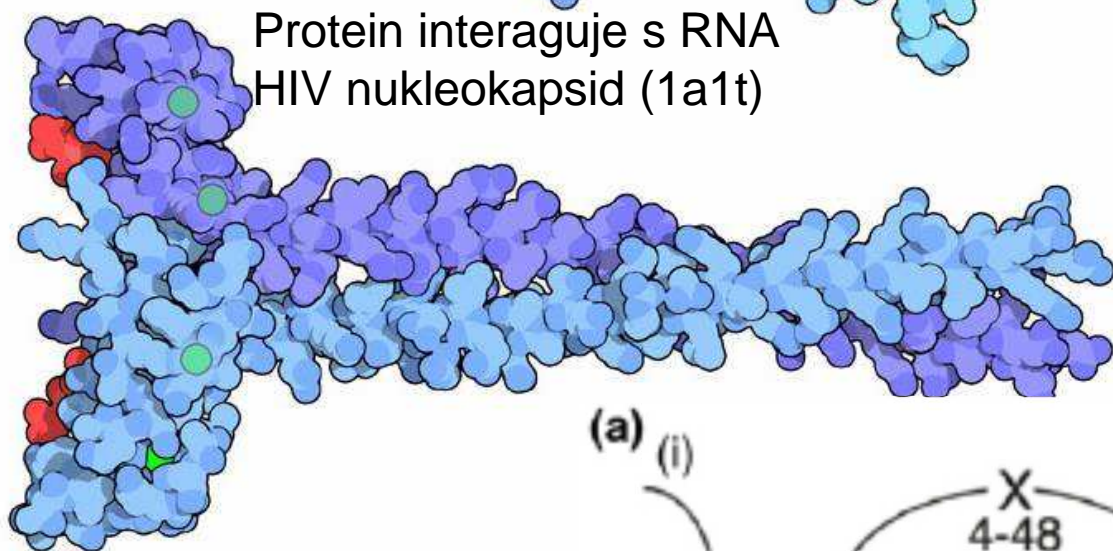


PDB: 1D66

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



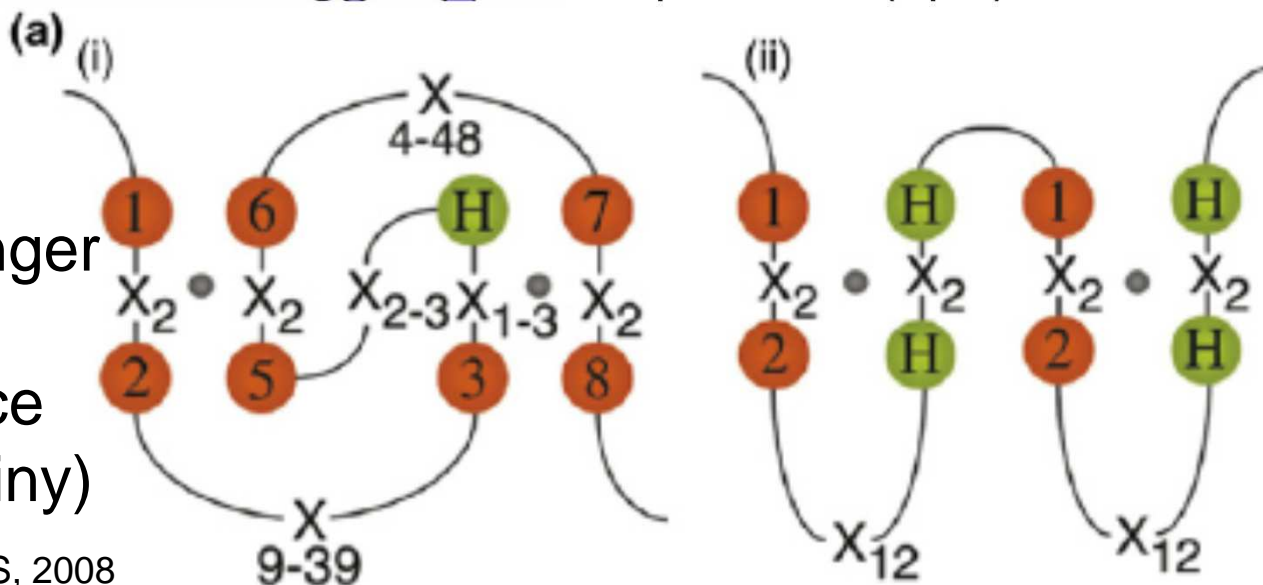
Vazba 2 zinkových prstů – spojuje 2 transkripční faktory (další ZnF vážou DNA): 1y0j



Protein interaguje s RNA
HIV nukleokapsid (1a1t)

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

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

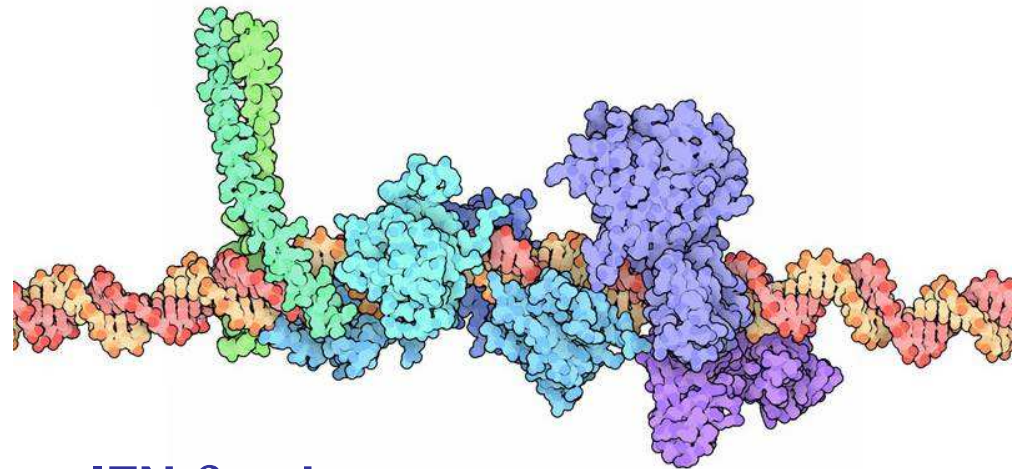


Motivy DNA vazebných domén

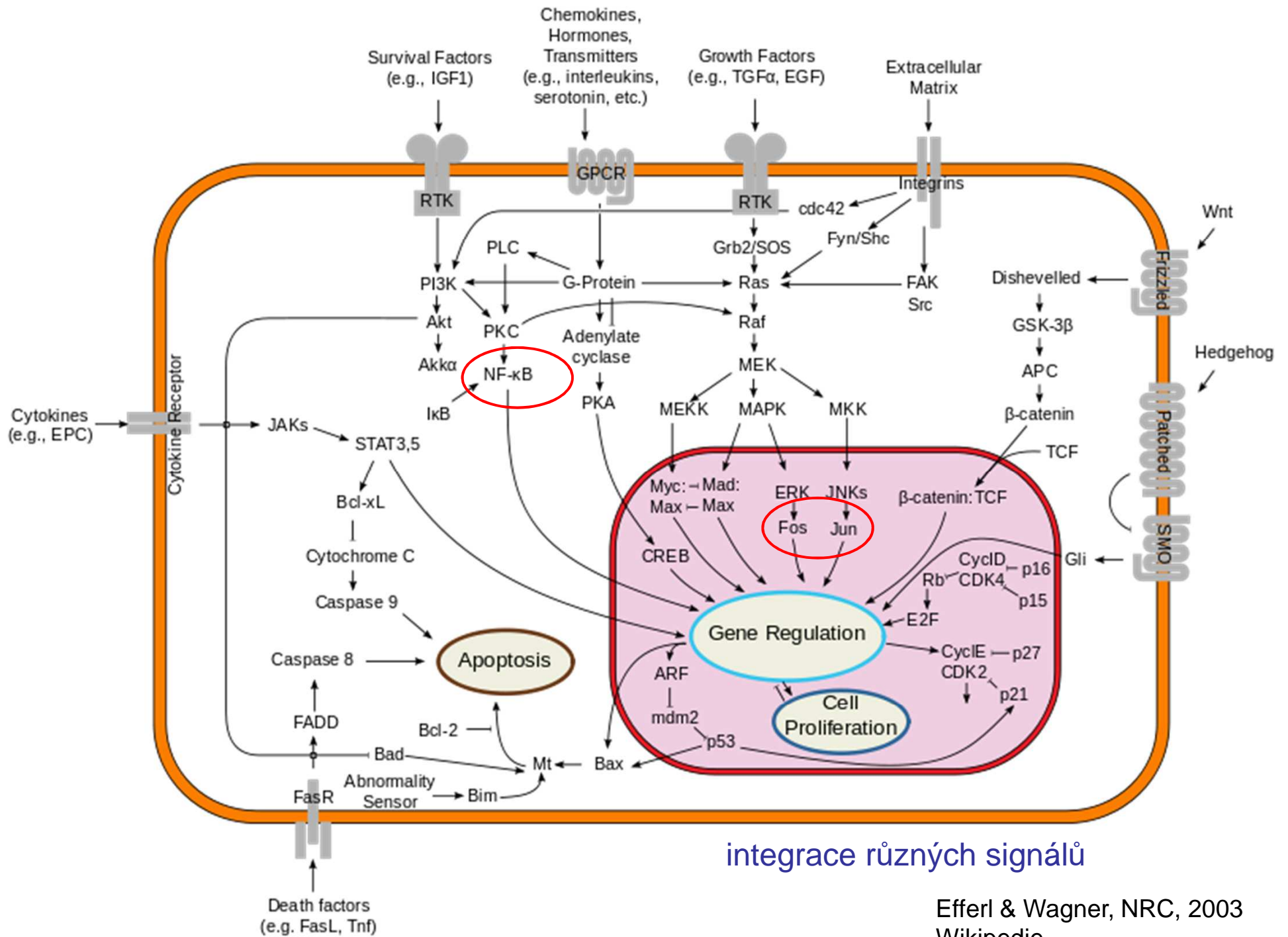
- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4

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

Kombinace více proteinů ...



IFN-β enhanceosom

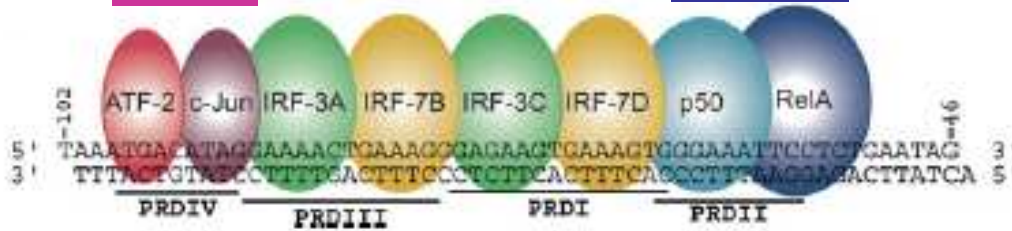


integrace různých signálů

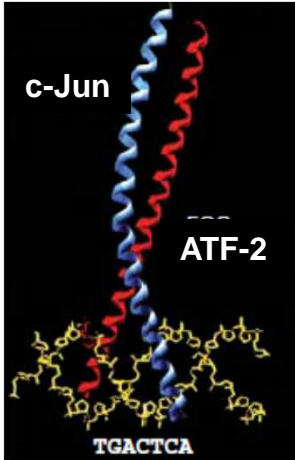
AP-1

NF-κB

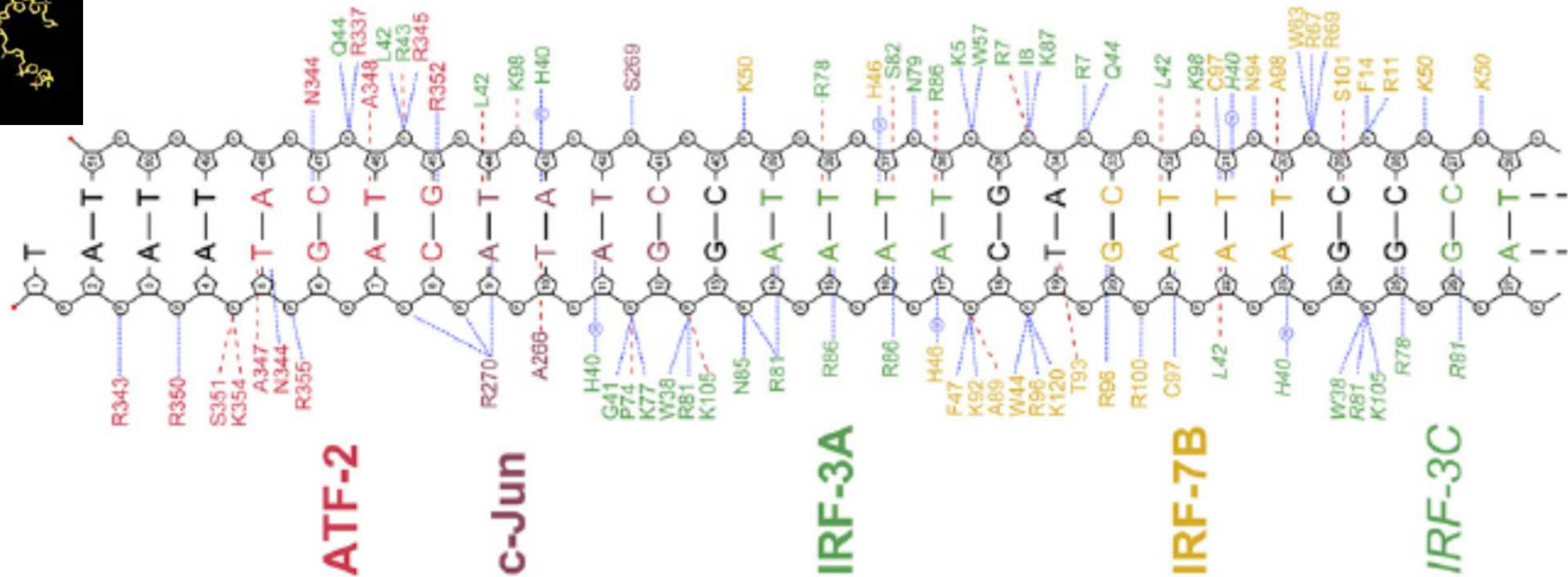
IFN-β enhanceosom



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-κB)



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

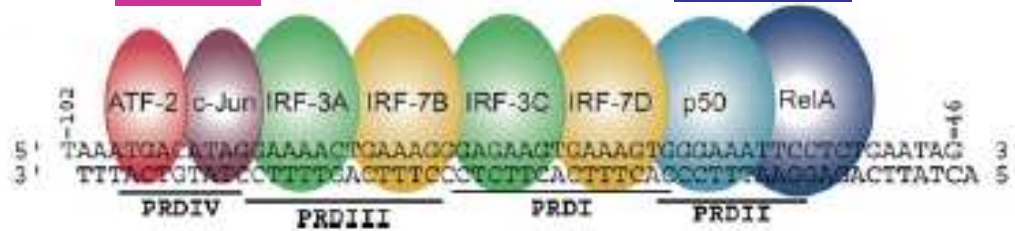
AP-1

Activator Protein = b-ZIP (basic leucine zipper)

AP-1

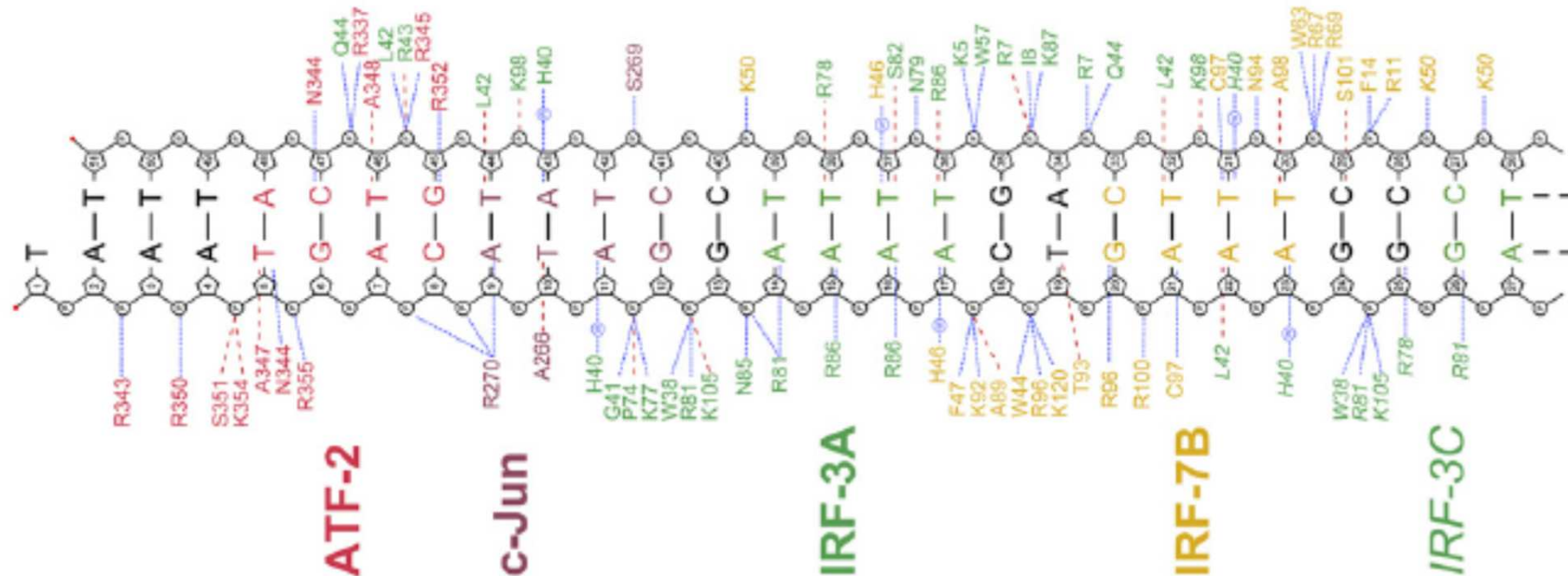
NF-κB

IFN-β enhanceosom



transkripce

- koordinovaná vazba 8 proteinů (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF-κB)
- 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**



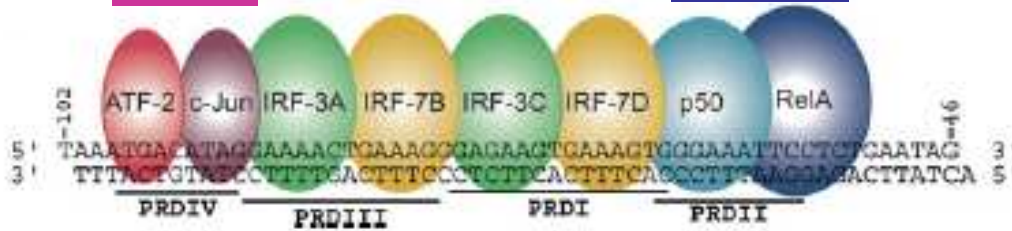
Panne et al, Cell, 2008
 Panne, CO in SB, 2008

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

AP-1

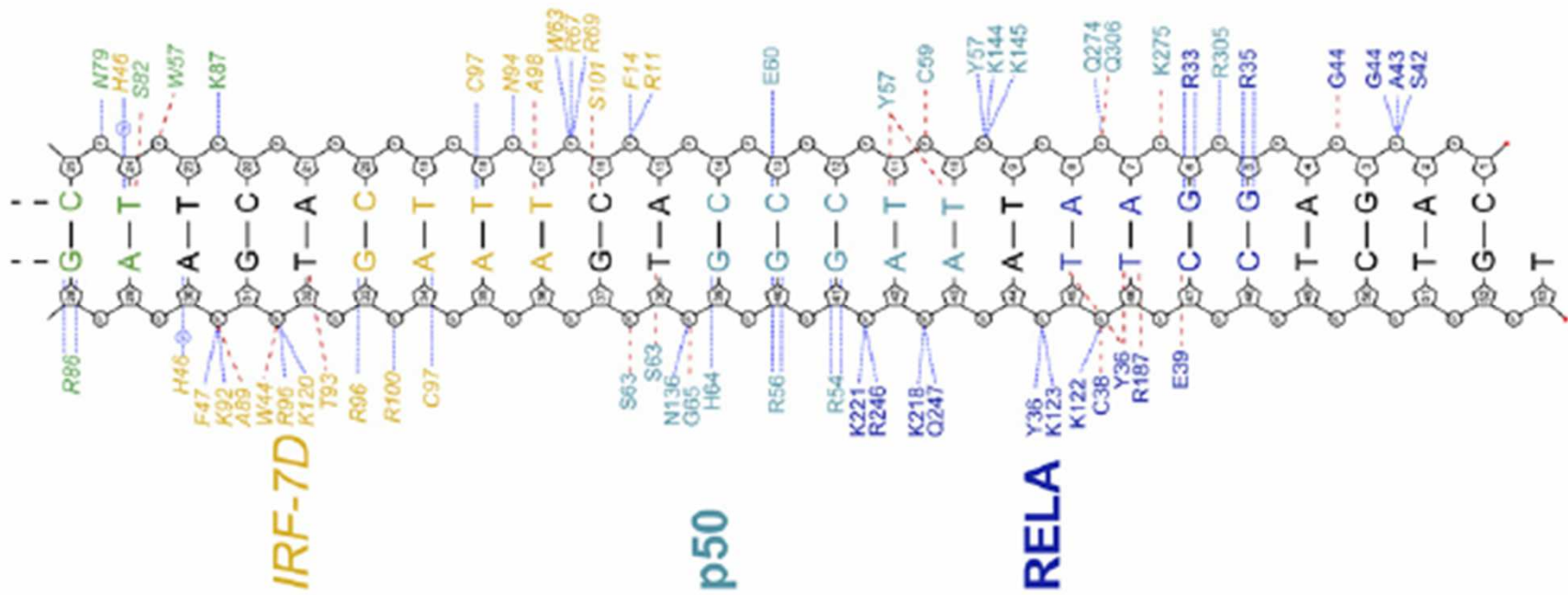
NF-κB

IFN-β enhanceosom



→
transkripce

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



NF-κB

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

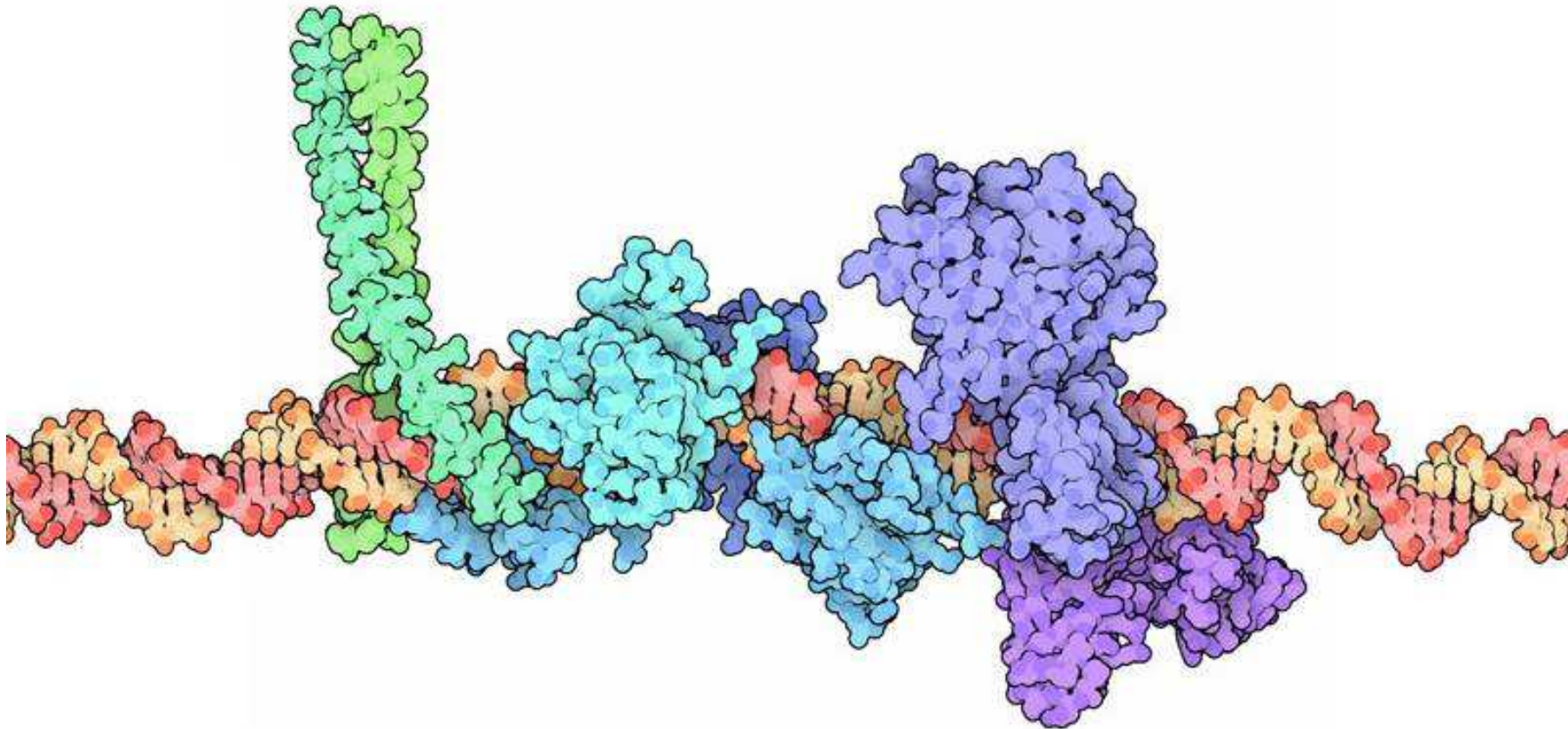
IFN- β enhanceosom



AP-1 leucin zipper, IRF – šroubovice a smyčka (směs), NFkB – komplexní motiv
červené tečky – molekuly vody

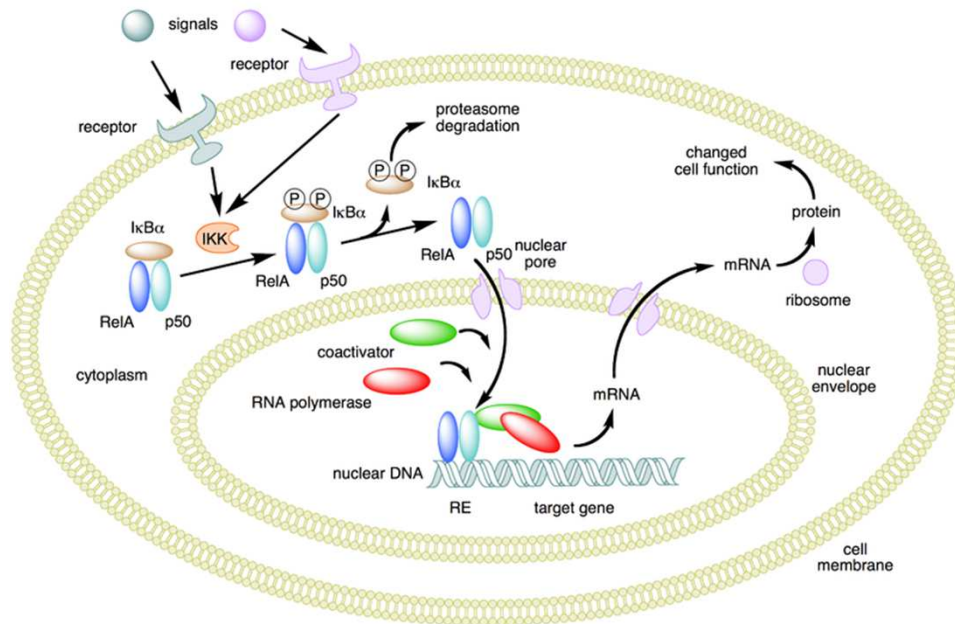
<http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=122>

IFN- β enhanceosom



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

CBP/p300



- enhanceosom interaguje („přitáhne“) koaktivátory (CBP/p300 histon acetylasy), modifikuje chromatinovou strukturu ... umožní vazbu RNA polymerasy a iniciaci transkripce

příště

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

