

DNA-proteinové komplexy

- Komplexy spojené s transkripcí (až 5% genomu)
- Komplexy spojené s duplikací genomu
- Komplexy podílející se na opravě genomu
- Chromatinové strukturní komplexy

GENOM

NPIDB Database of structures of nucleic acid - protein complexes

Home Browse Download Help About Us

Search | PDB: Search

PDB Pfam SCOP GO terms Fuzznuc BLAST

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.

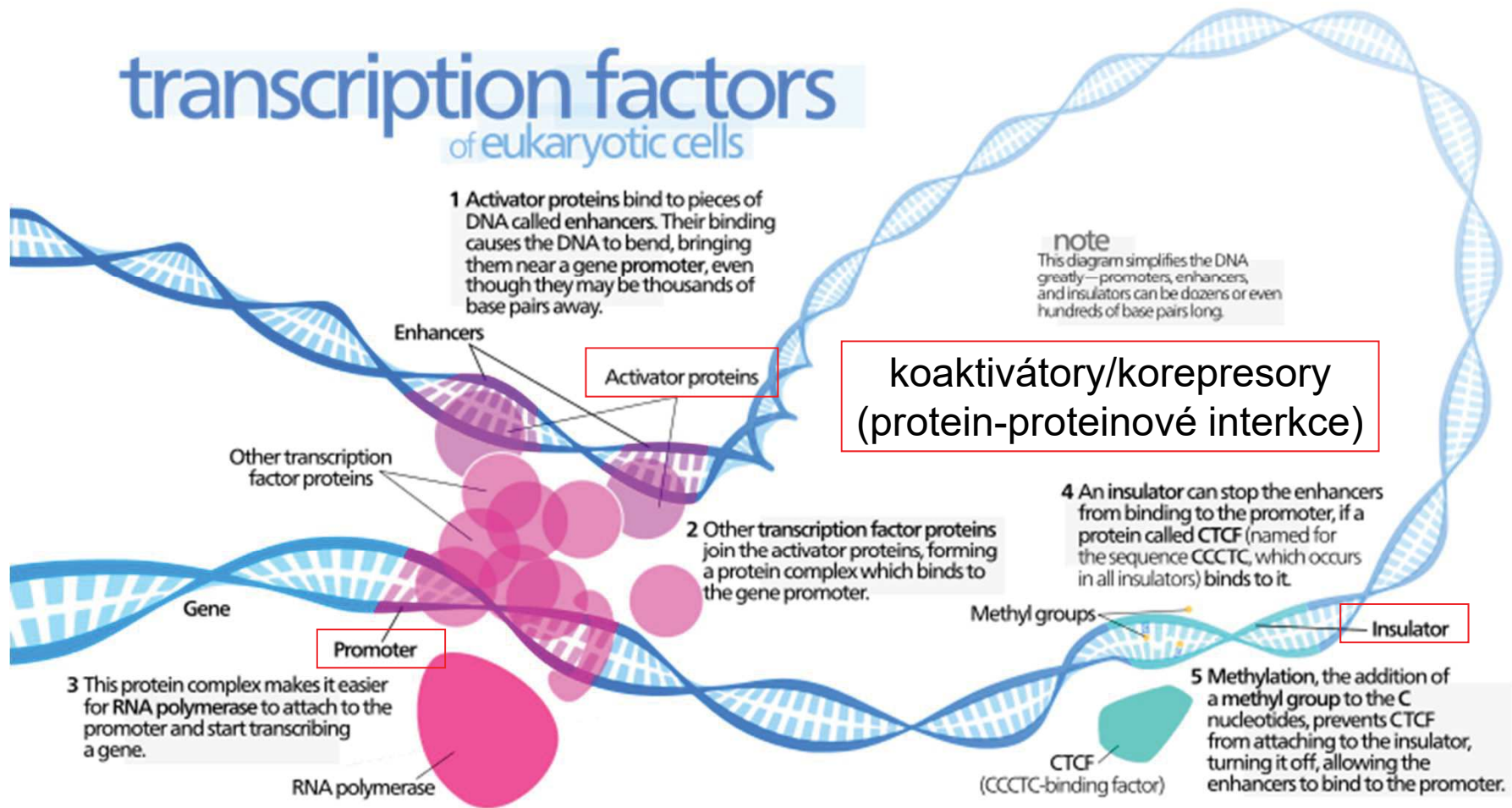
Each individual complex has its own web page, containing general information, links to other resources (e.g., PDBsum and BIPA), a table describing biological units or models, tables describing Pfam and SCOP domains in protein chains, and the list of available actions (including Jmol visualization)

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

2500 struktur v PDB (v roce 2014)

Komplexy spojené s transkripcí

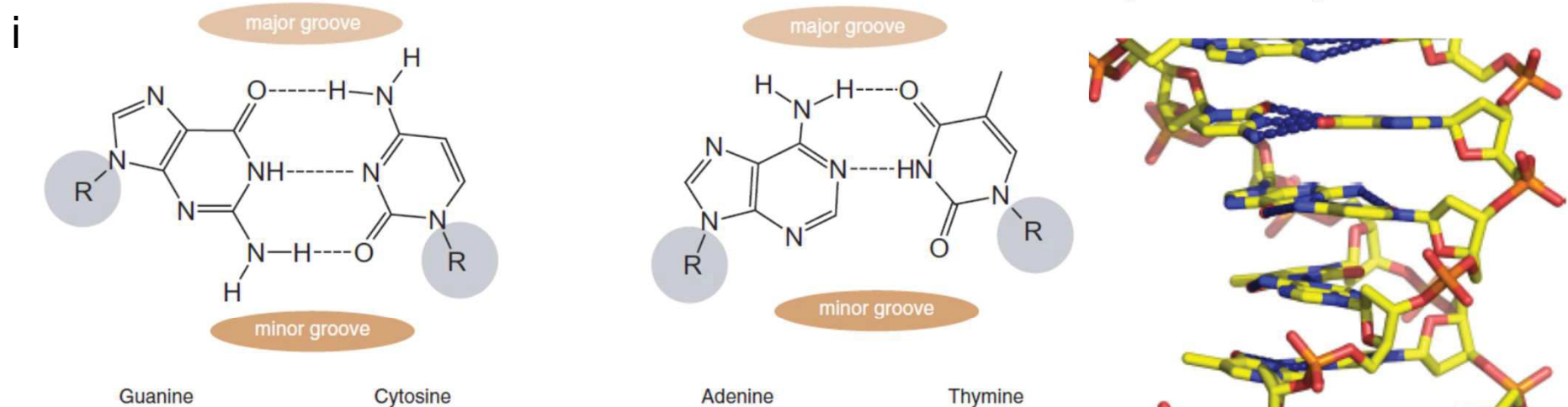
DNA-vazebné motívy špecifických transkripčných faktorů (enhanceosom)
Obecné TFII komplexy a proces transkripce



koaktivátory/korepresory
(protein-proteinové interakce)

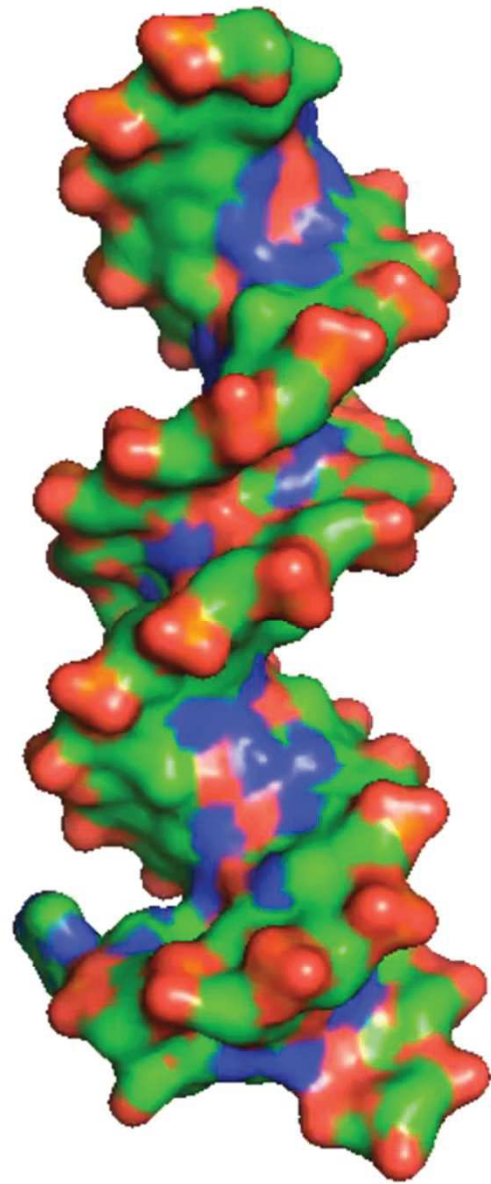
Enhanceosom

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

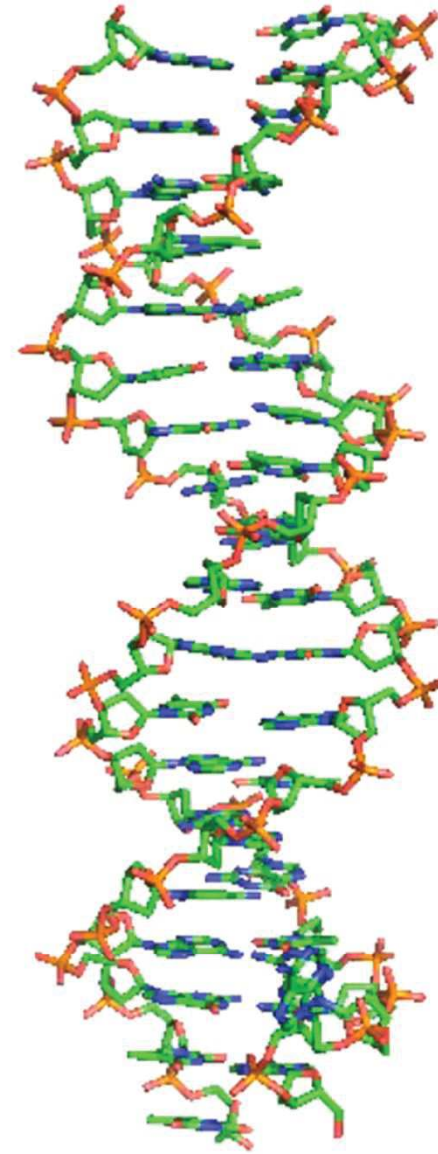


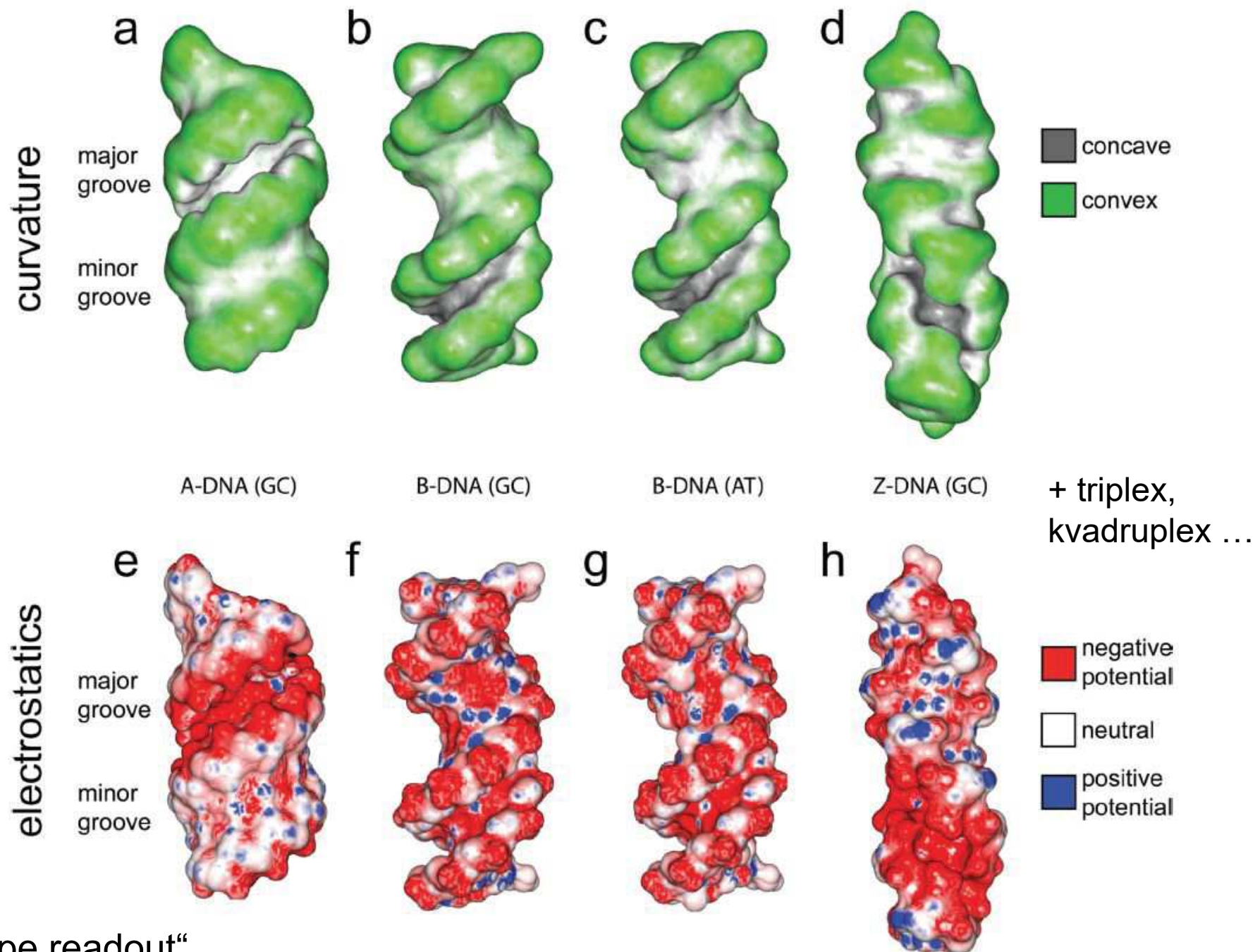
- proteiny interagují s cukrfofátovou kostrou (fosfát) nebo přes žlábký s bazemi (vod. vazba, tvar šroubovice)
- Interakce sekvenčně nespecifické (kostra – histony; strukturně specifické – HMG proteiny) nebo sekvenčně specifické (kostra+žlábký – kombinace: *Bgl*III (AGATCT) a *Bam*HI (GGATCC) kontaktují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

„shape readout“
zakřivení kostry souvisí se sekvencí



B-DNA

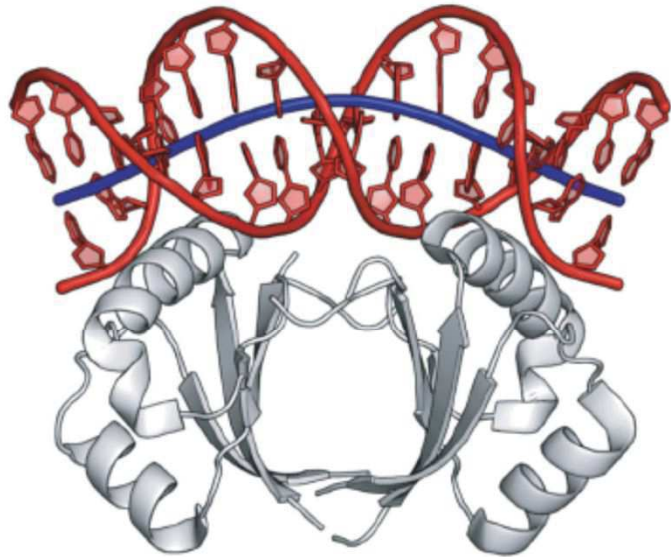




„shape readout“
zakřivení kostry - souvisí se sekvencí a prostředím

Vazba DNA-protein může indukovat změny

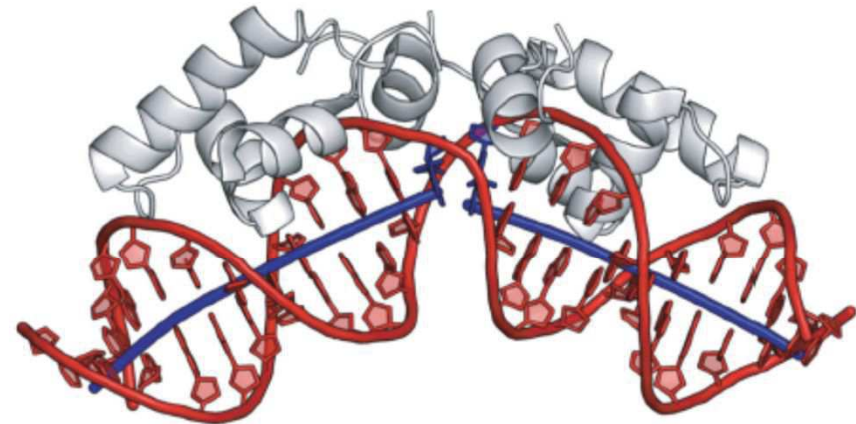
a



Bend

1jj4 (... např. histony)

b



Rohs et al, Annu Rev Bioch, 2010

Kink

2kei, Lac represor
(Leu do malého žlábků)

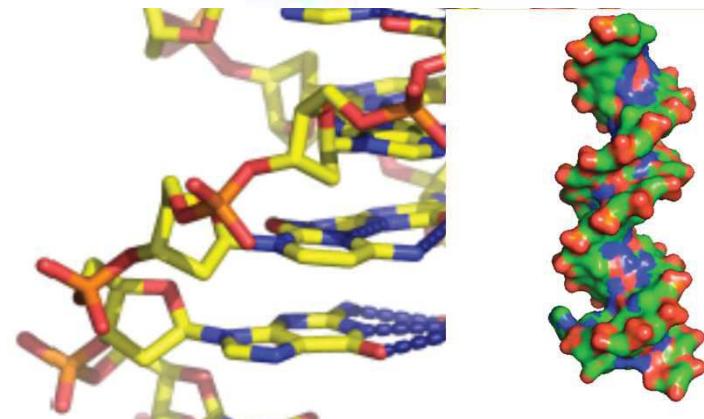
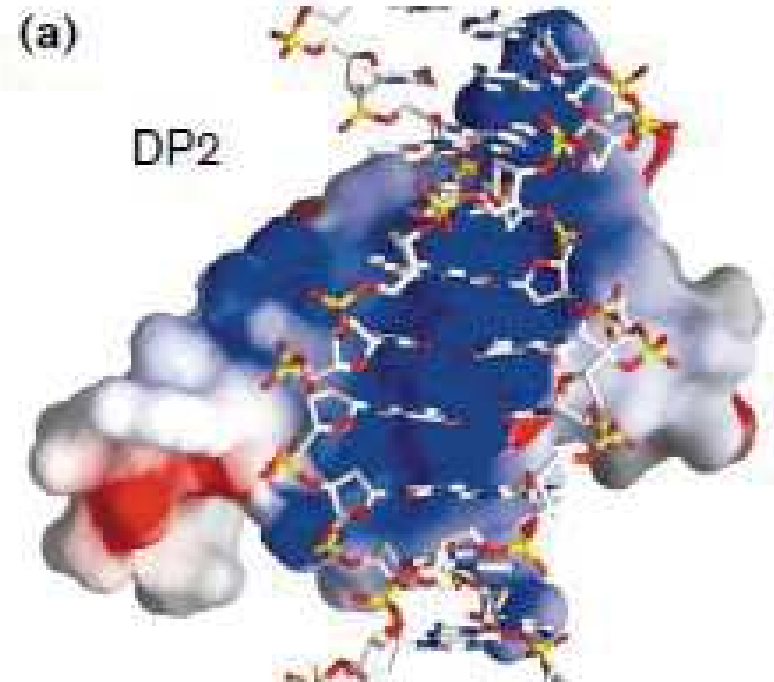
- vazba proteinu může indukovat změny ve struktuře DNA
- vazba DNA na protein často indukuje změny v jeho struktuře
- případně u nestrukturovaných proteinů strukturu indukuje (c-Jun/c-Fos = šroubovice až po navázání dimeru na DNA)

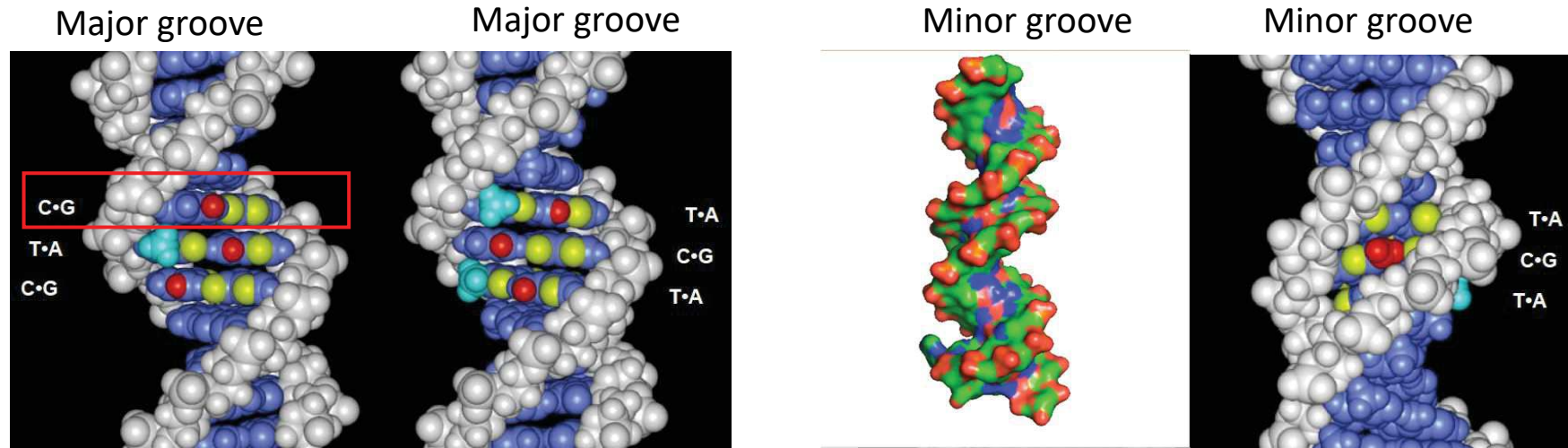
Vazba proteinů s DNA prostřednictvím solných můstků

- 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

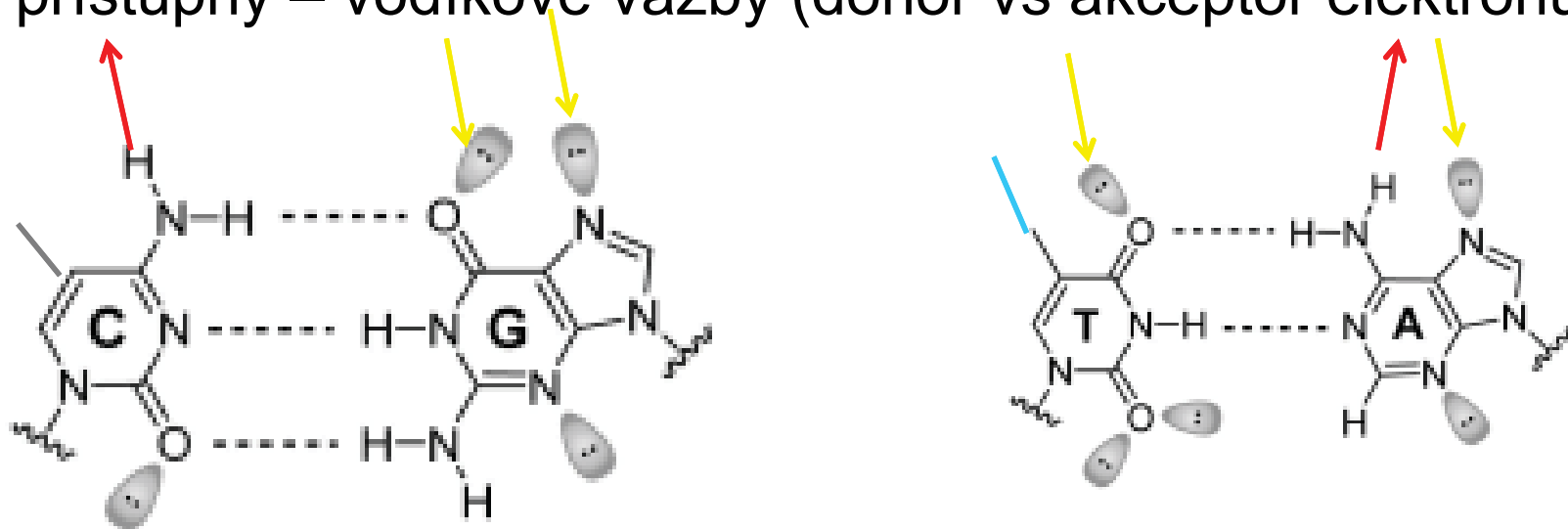
Table 2. The simplified relative charge set defined from CHARMM (10) used in the calculation of the electrostatic potential of atoms in the DNA-binding proteins

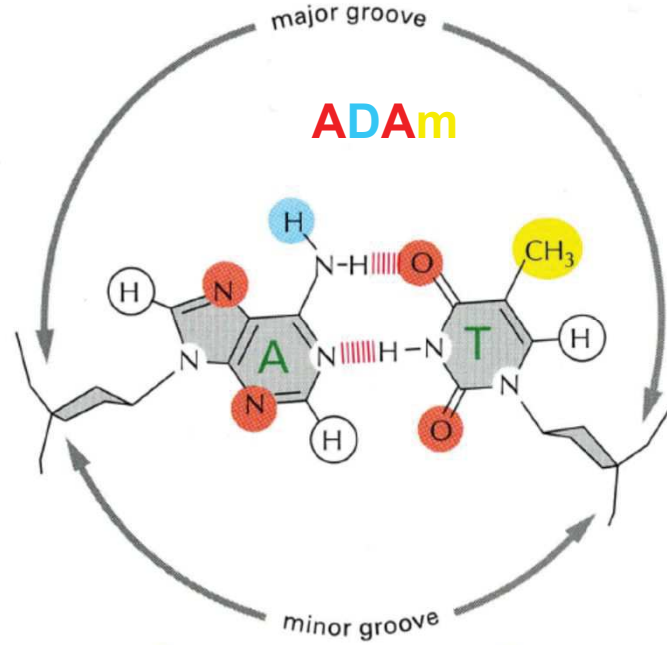
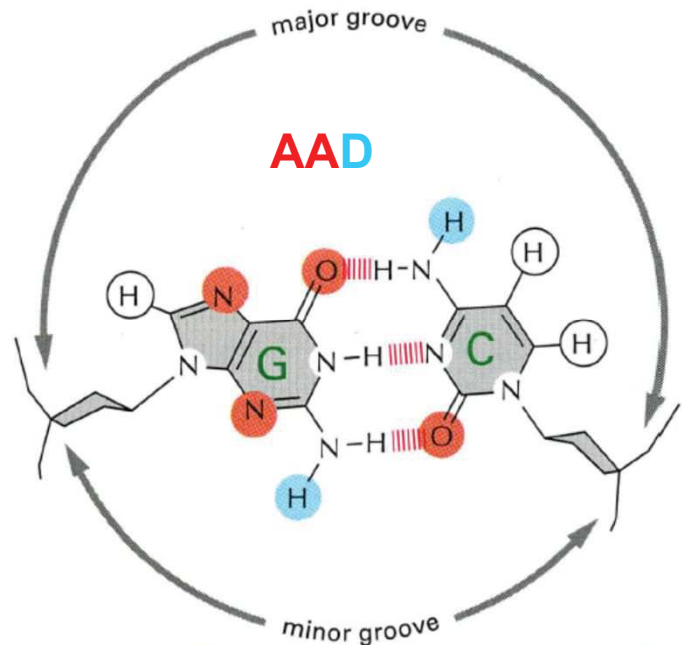
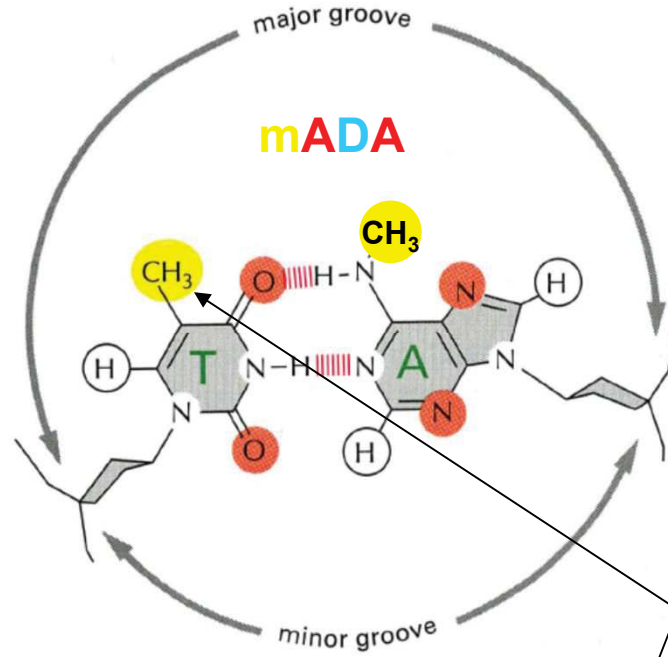
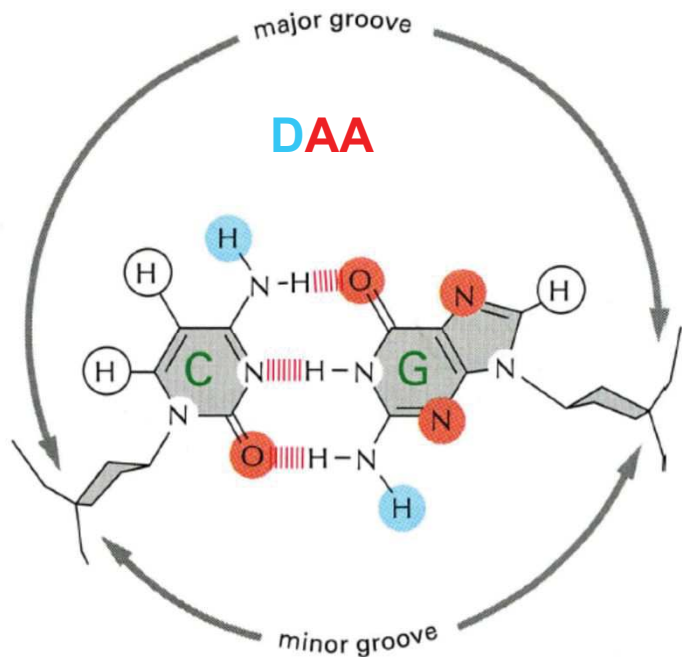
Atom type (PDB entry)	Residue	Relative charge
NZ	Lys	1.00
NH1	Arg	0.50
NH2	Arg	0.50
OE1	Glu	-0.50
OE2	Glu	-0.50
OD1	Asp	-0.50
OD2	Asp	-0.50
OXT	All residues	-1.00
N	All residues	-0.10
CA	All residues	0.10
C	All residues	0.55
O	All residues	-0.55





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**

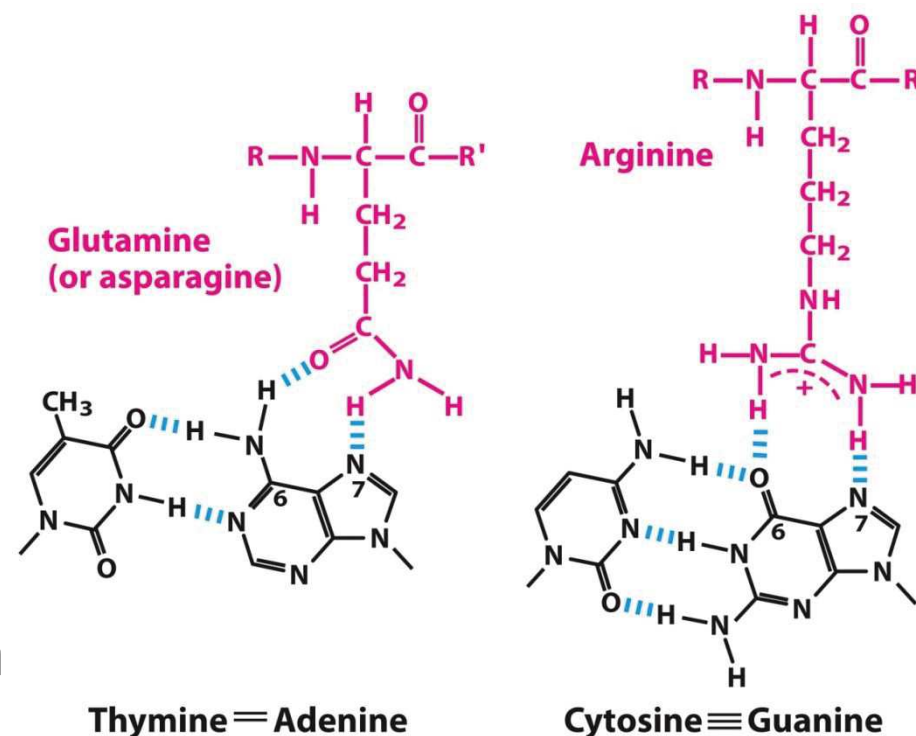
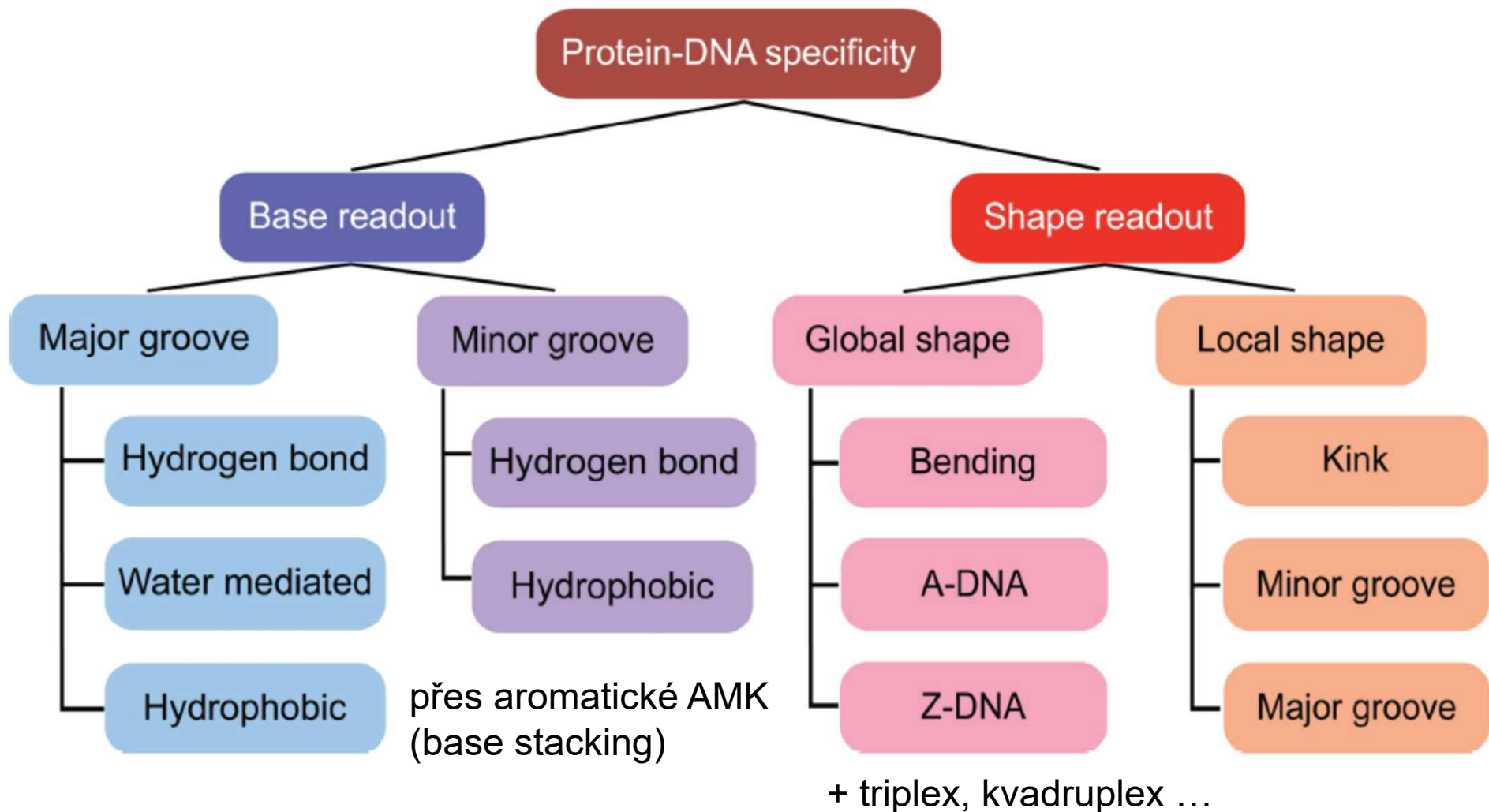


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

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



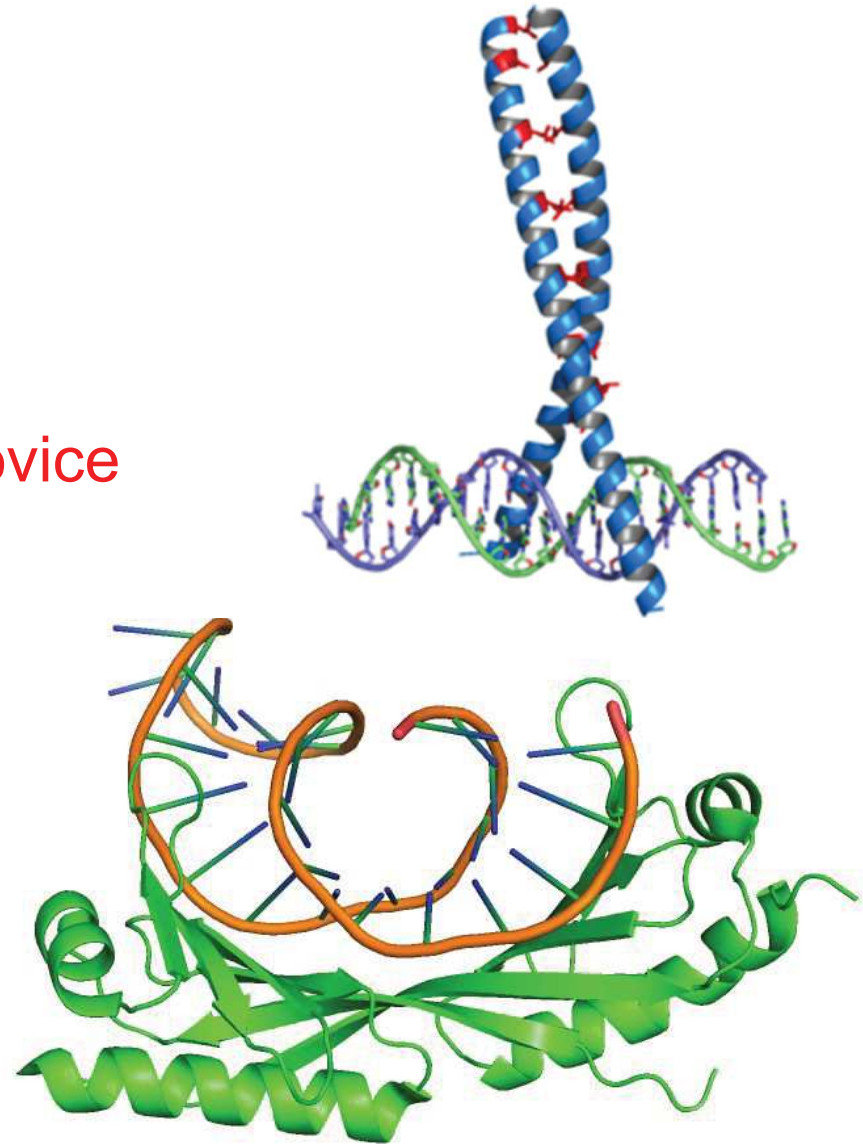
- více jak 70 SCOP superrodin (strukturních motivů)
- dle sekundárních struktur – α -šroubovice (17), β -listy (7), smíšené α/β motivy (48)

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**

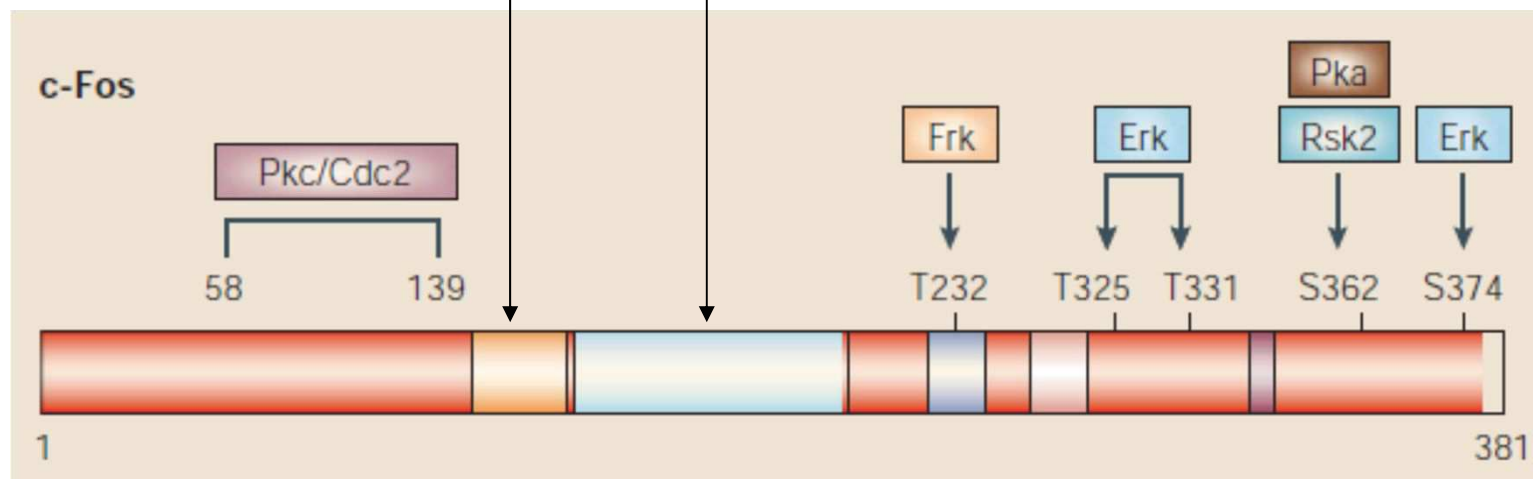
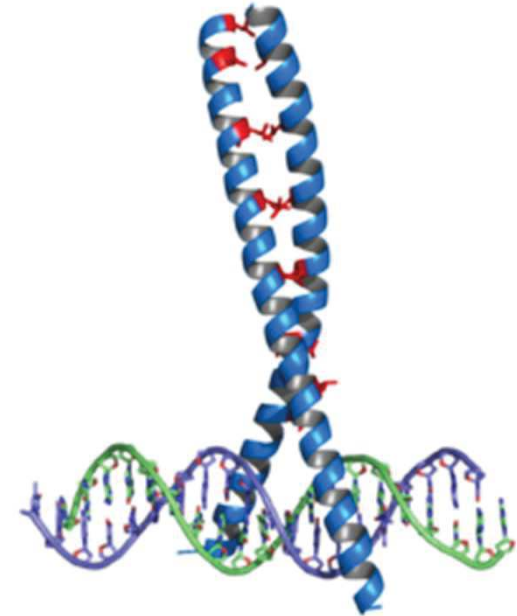
α -šroubovice

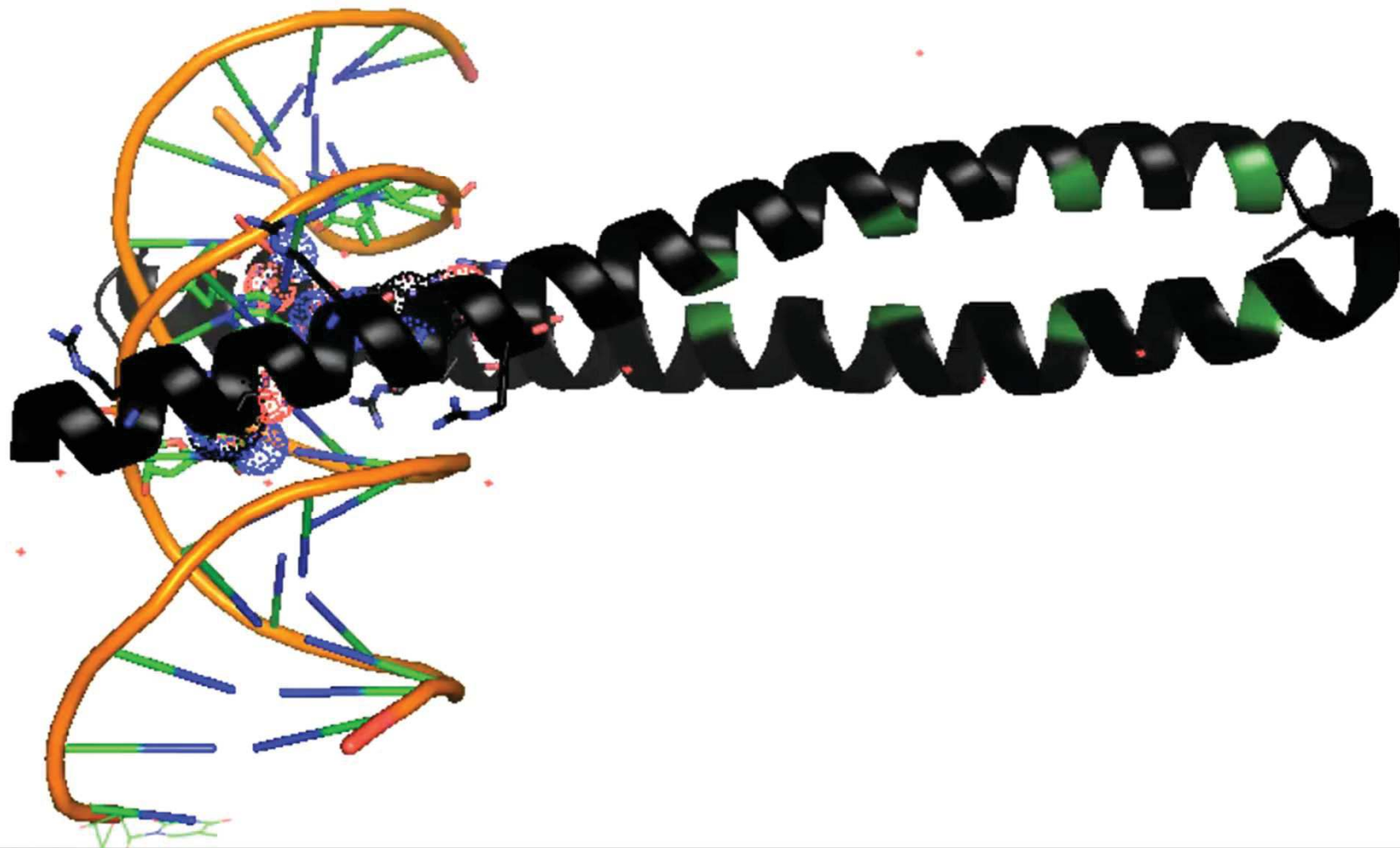
β -listy



Motivy DNA vazebných domén

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



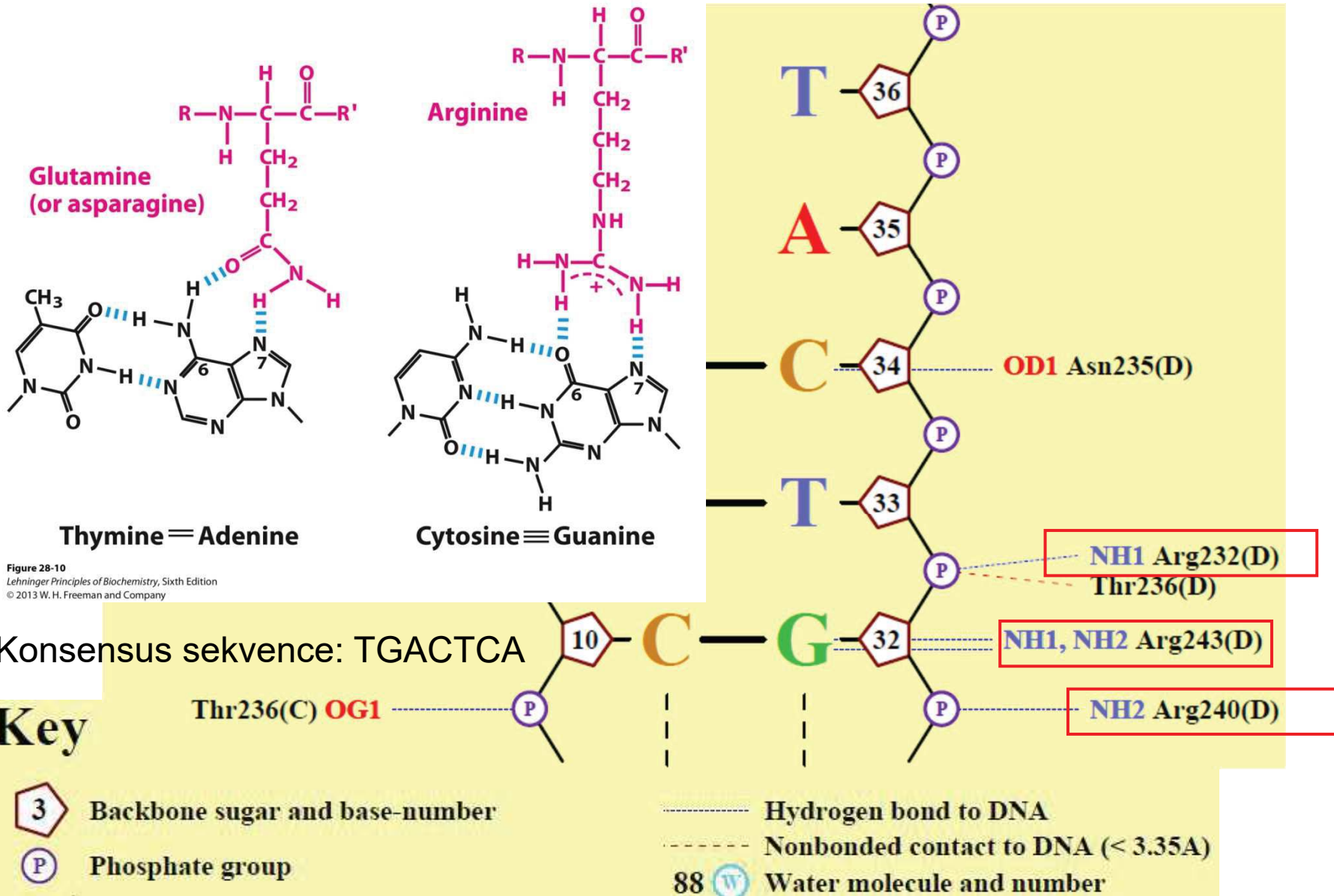


Interakce bazických AMK: Arg(232+240)=PO₄, Arg(243)=Gua

Konsensus sekvence: TGACTCA

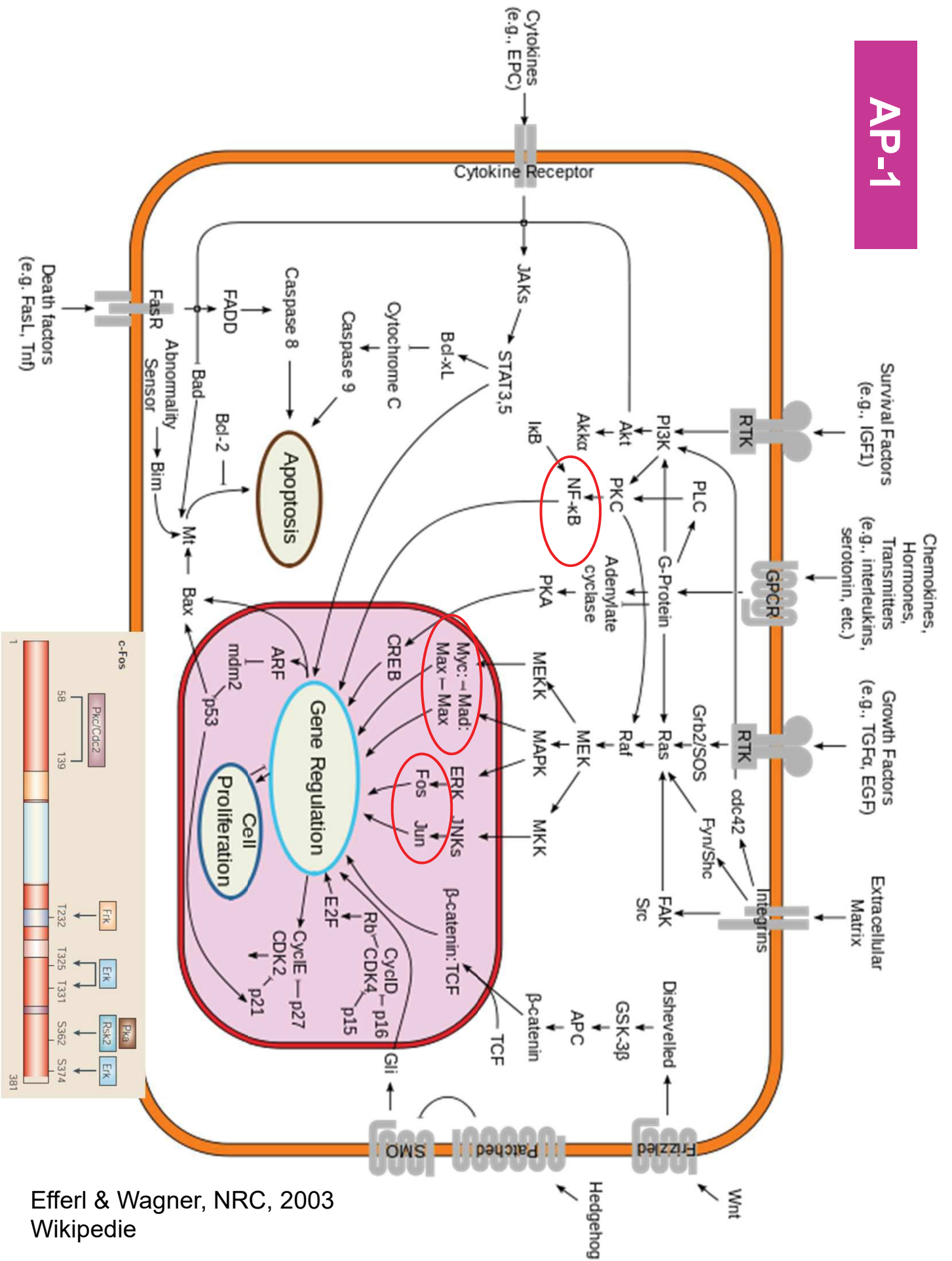
GCN4 – regulace genů pro syntézu AMK

PDB: 1YSA

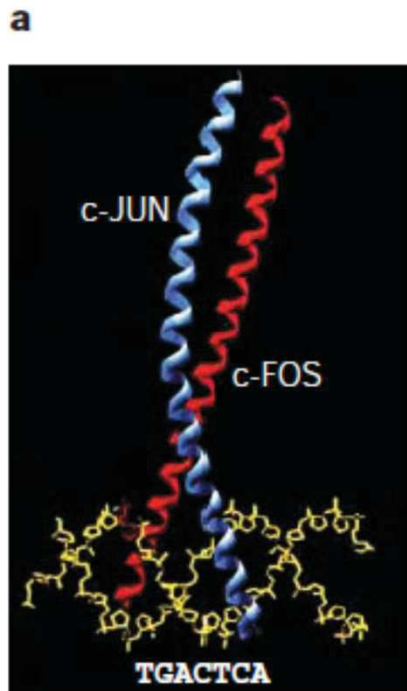


Jones a spol., NAR, 2003

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

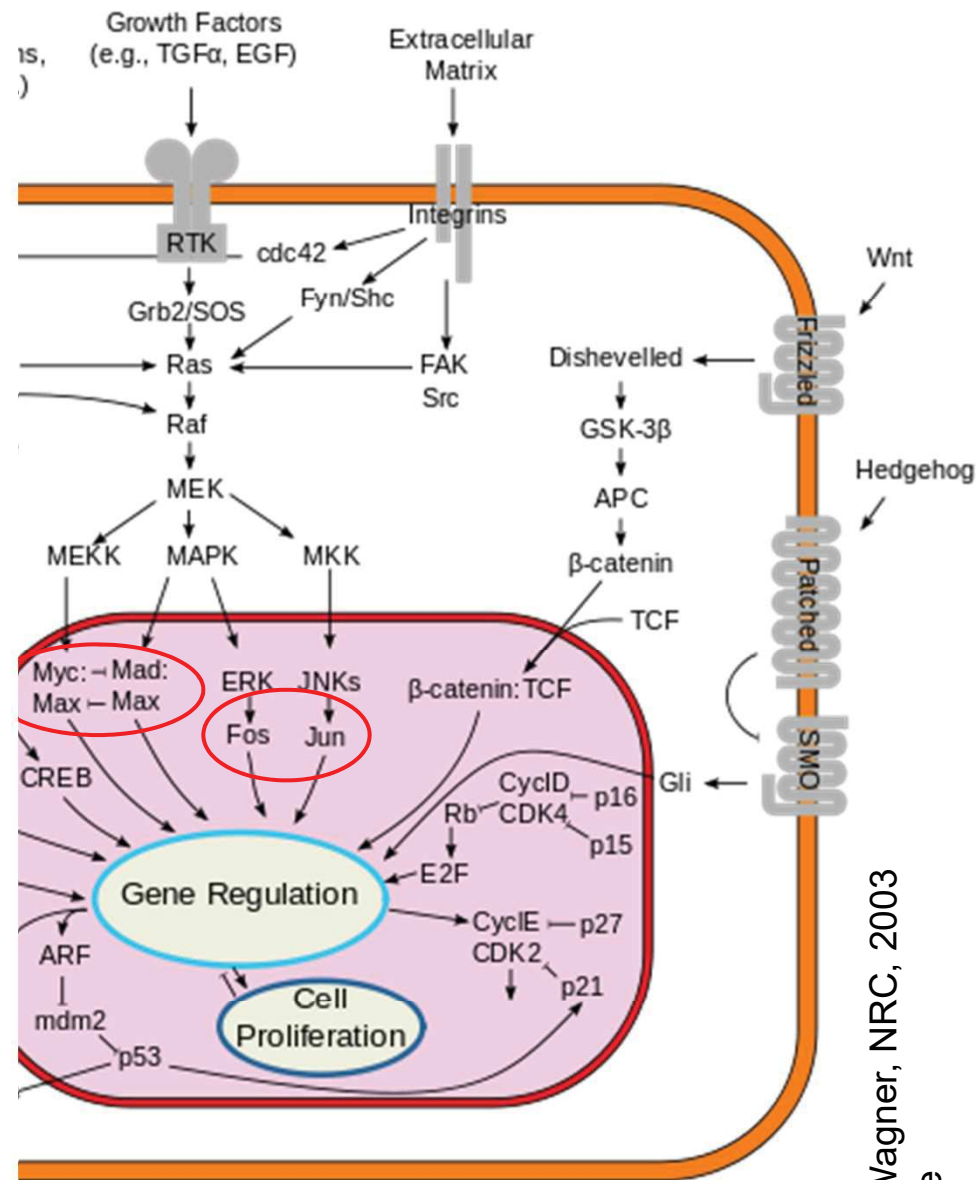
c-JUN	c-JUN	(TRE > CRE)
	JUNB	(TRE > CRE)
	JUND	(TRE > CRE)
	FOSB	(TRE > CRE)
	FRA1	(TRE > CRE)
	FRA2	(TRE > CRE)
	ATFa	(TRE = CRE)
	ATF2	(CRE > TRE)
	ATF3	(CRE > TRE)
	ATF4	(CRE)
	B-ATF	(TRE > CRE)
	c-MAF	(MARE I/II)
	MAFA	(MARE I/II)
	NRL	(TRE-related)
	MAFF/G/K	(MARE I/II)
	NRF1	(ARE)
	NRF2	(ARE)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

(e.g. FasL, Int)

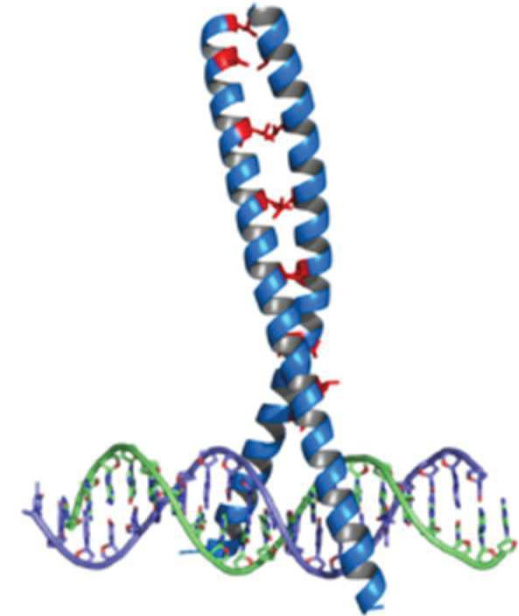
Kombinace – rŭzn specifita/afinita



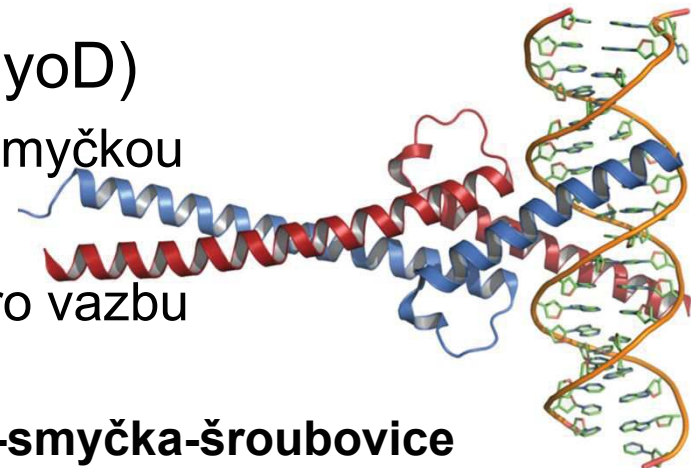
Efferl & Wagner, NRC, 2003
Wikipedie

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



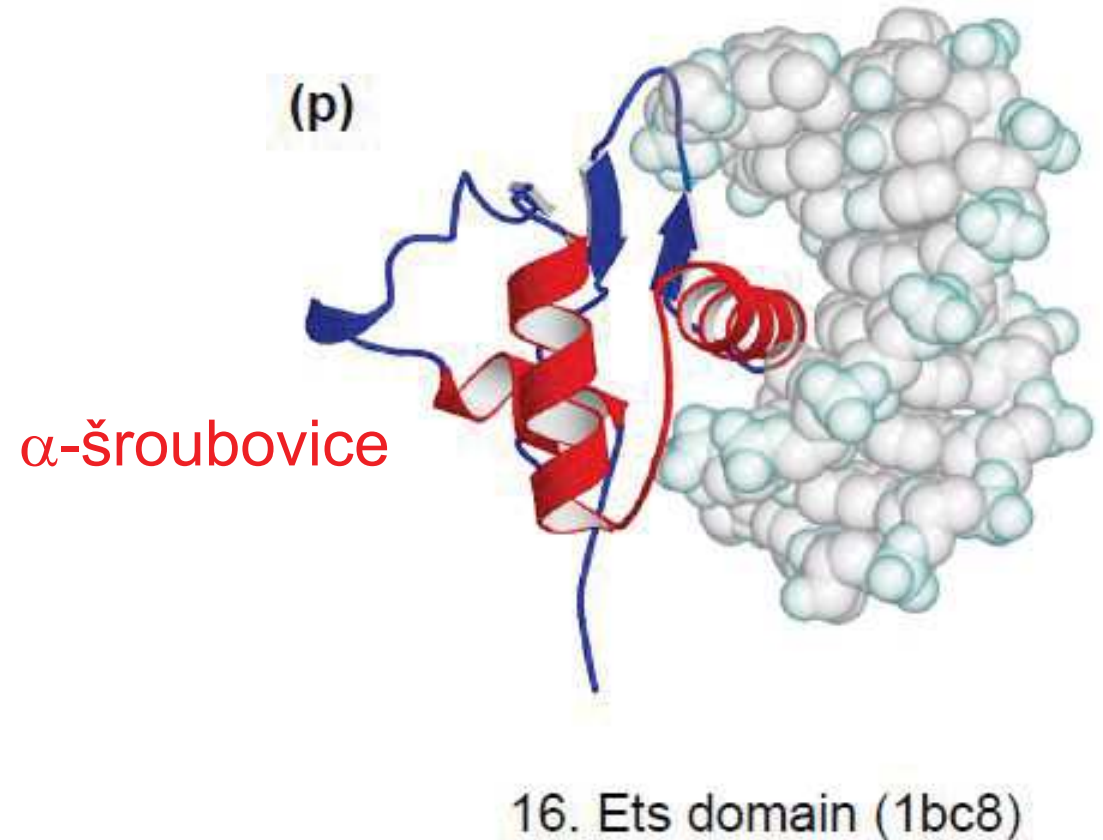
- **Helix-loop-helix** (c-Myc/Max, MyoD)
 - CC a bazické části jsou odděleny smyčkou
 - bazická šroubovice vázána do VŽ
 - smyčka poskytuje větší flexibilitu pro vazbu



šroubovice-smyčka-šroubovice

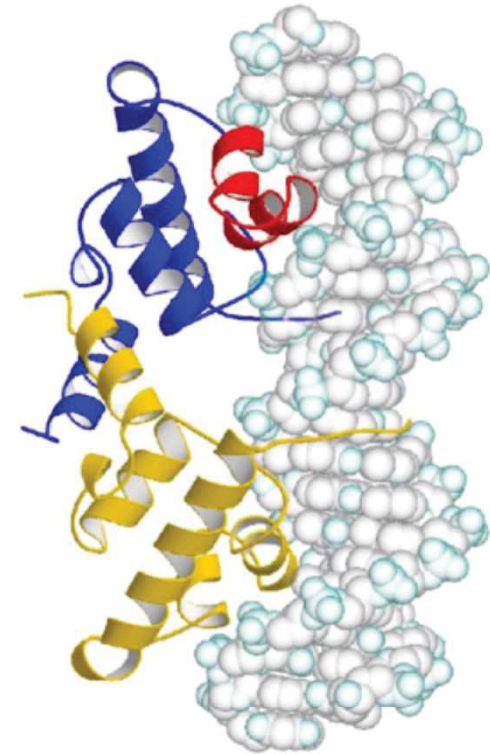
Motivy DNA vazebných domén

- **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

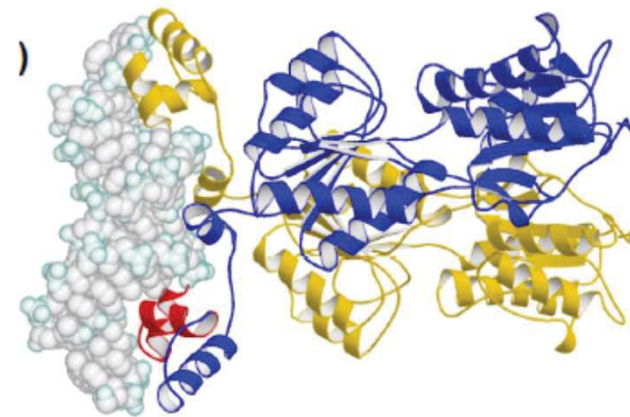


Helix-turn-helix motiv (HTH)

- 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)



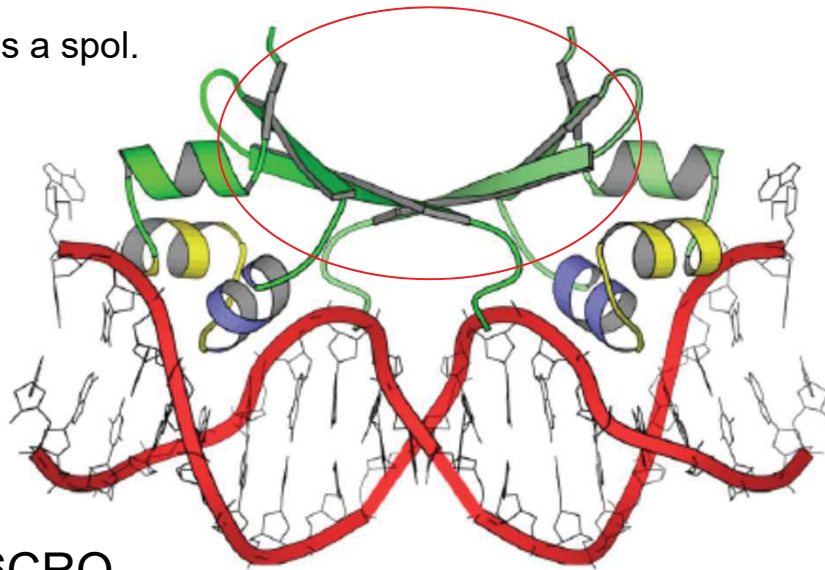
1. Cro and Repressor (1lmb)



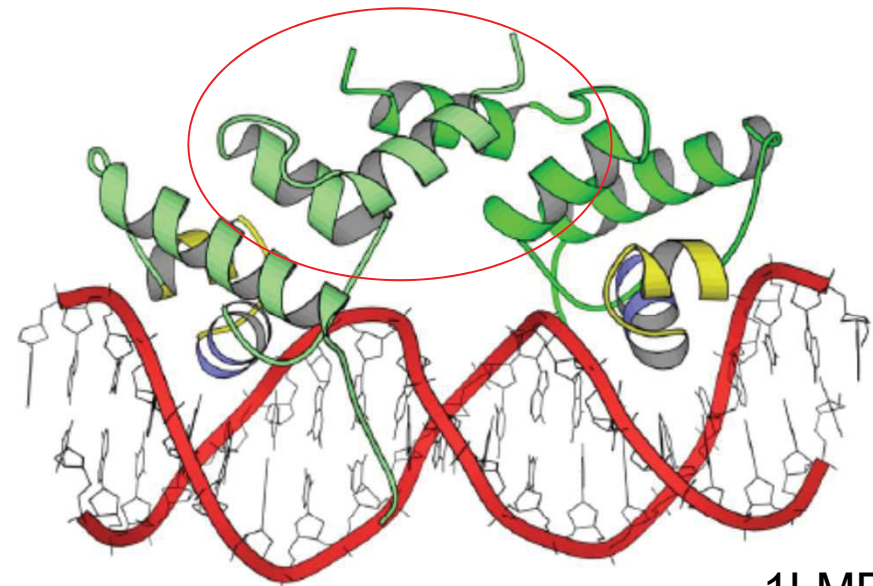
Luscombe et al, Genome Biology, 2000

3. LacI repressor (1wet)

Liljas a spol.



6CRO



1LMB

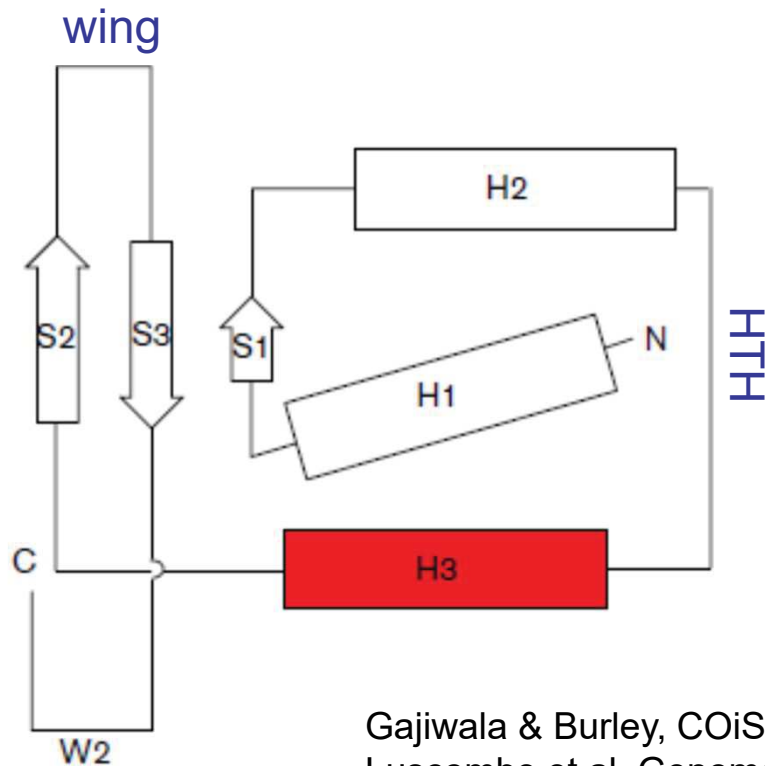
Helix-turn-helix motivy (spojené listy nebo šroubovicemi) –
odstup HTH (34Å) odpovídá jedné otáčce B-DNA

Sekvenčně se různé HTH příliš nepodobají

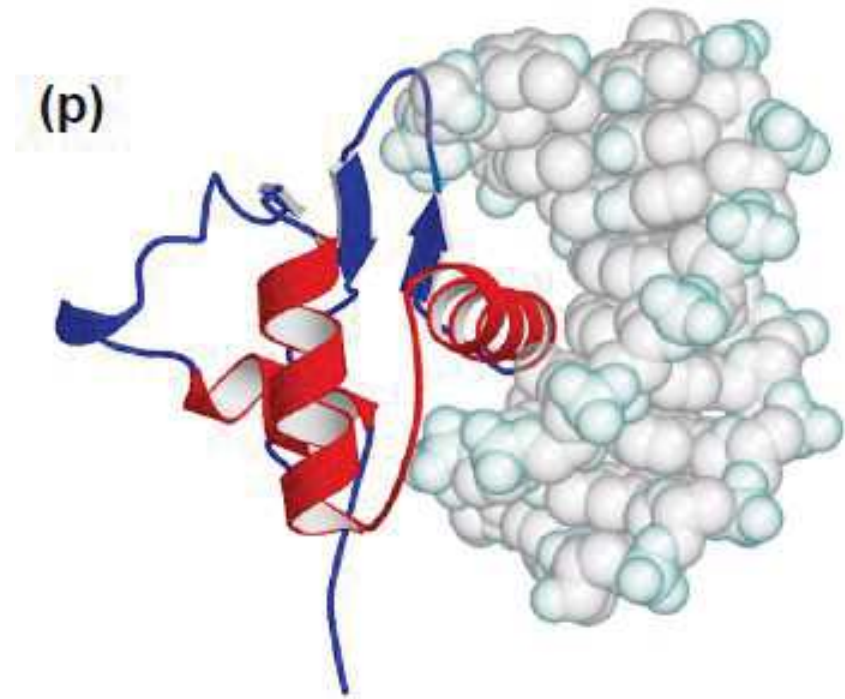
1. variabilita v rozpoznávaných sekvencích DNA
2. variabilita v pozici „recognition“ šroubovice ve velkém žlábků (paralelně k rovině bazí nebo delší šroubovice jsou paralelně k cukr-fosfátové kostře)

„Winged“ helix (okřídlená šroubovice)

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



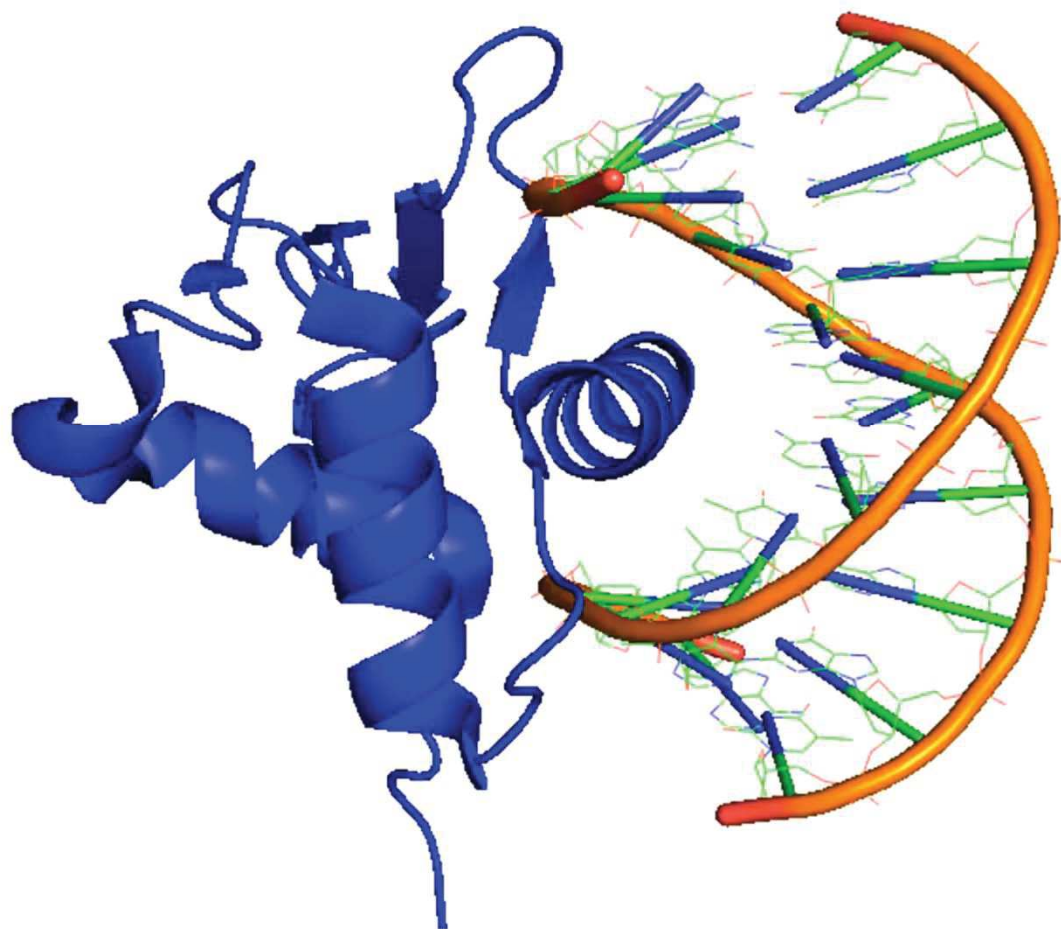
Gajiwala & Burley, COiSB, 2000
Luscombe et al, Genome Biology, 2000



16. Ets domain (1bc8)

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

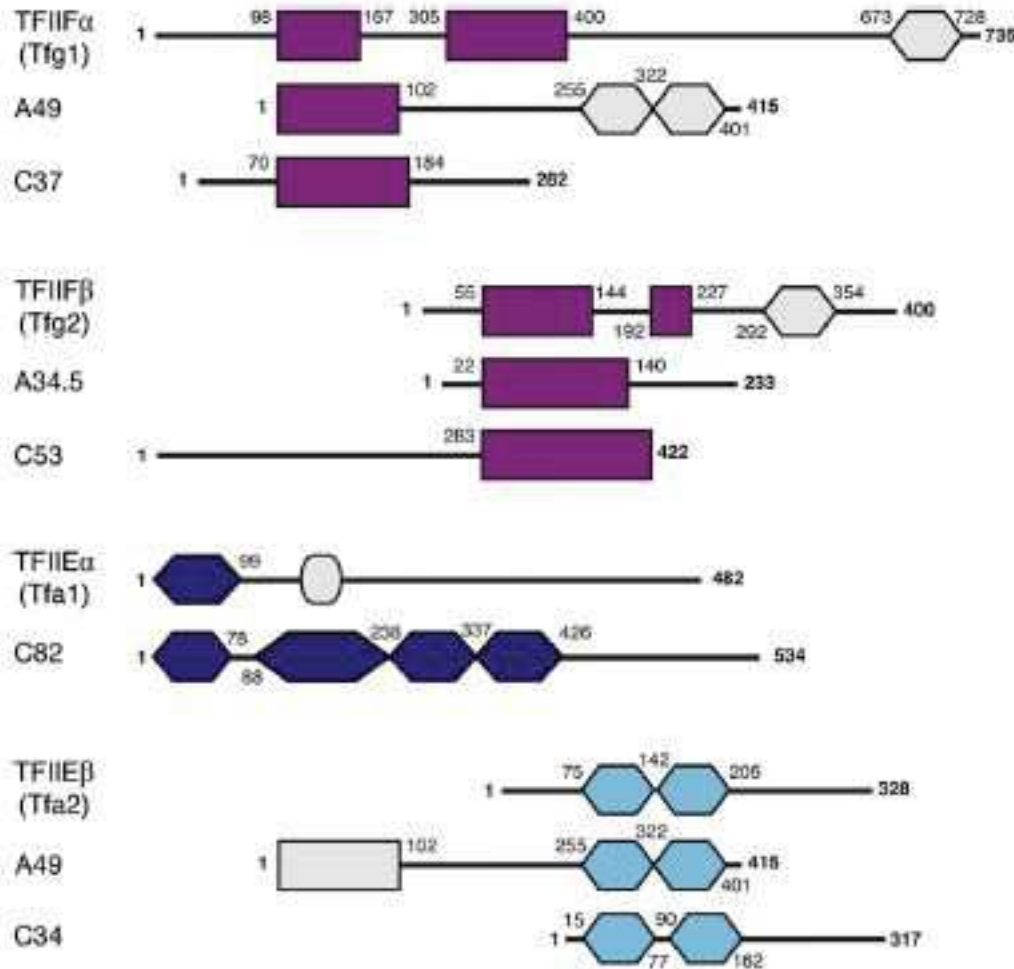
Interakce bazí se šroubovicí (H3) a křídla s cukr-fosfátovou kostrou



PDB: 1BC8

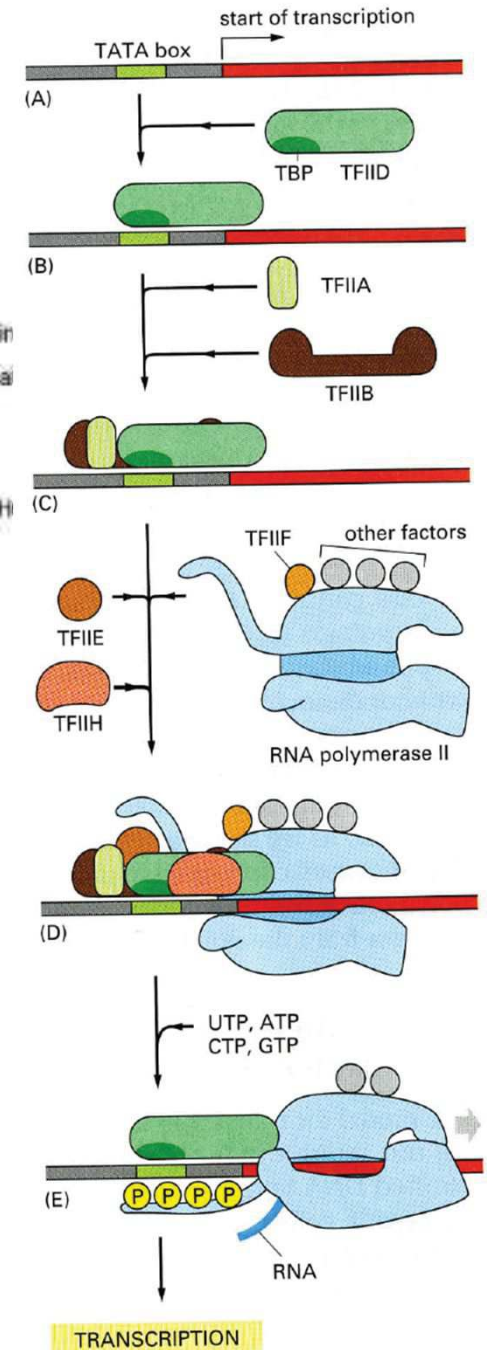
Méně často křídlo ve VŽ a cukr-fosfátová kostra se šroubovicí (hRFX1)

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

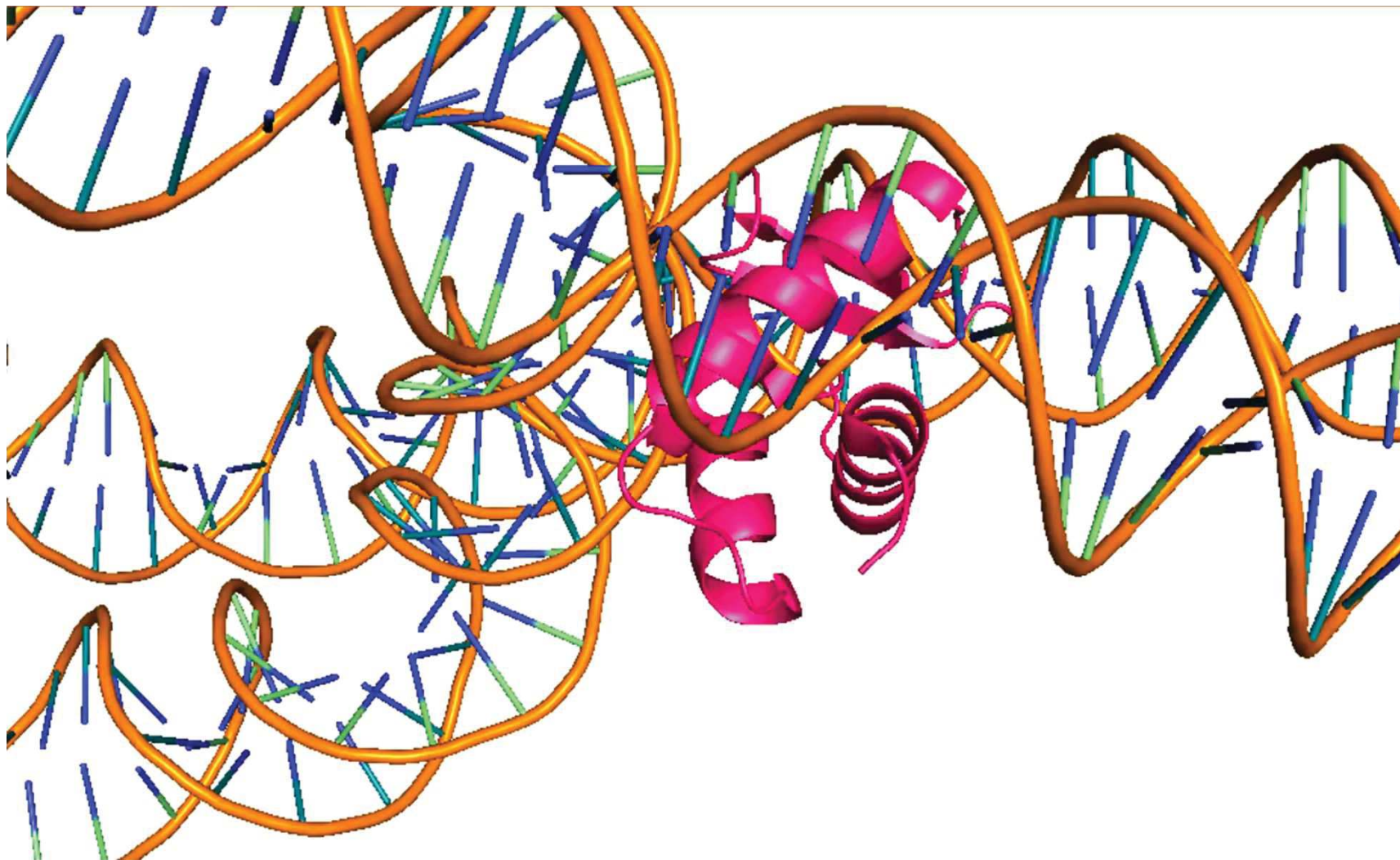


TAF1 (TFIID)

Vanini & Cramer, Mol Cell, 2012

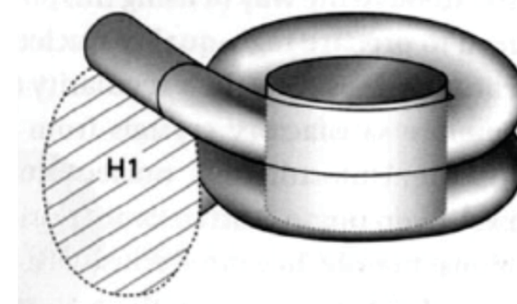


TRANSCRIPTION



PDB: 5NLO

Histon H1/H5 interaguje s DNA vybíhající z nukleosomů (kompaktnější struktura) – WHD doména může vytvářet více kontaktů (H3 šroubovice-MŽ, wing-cukrfosfátová kostra, protein-protein int.)



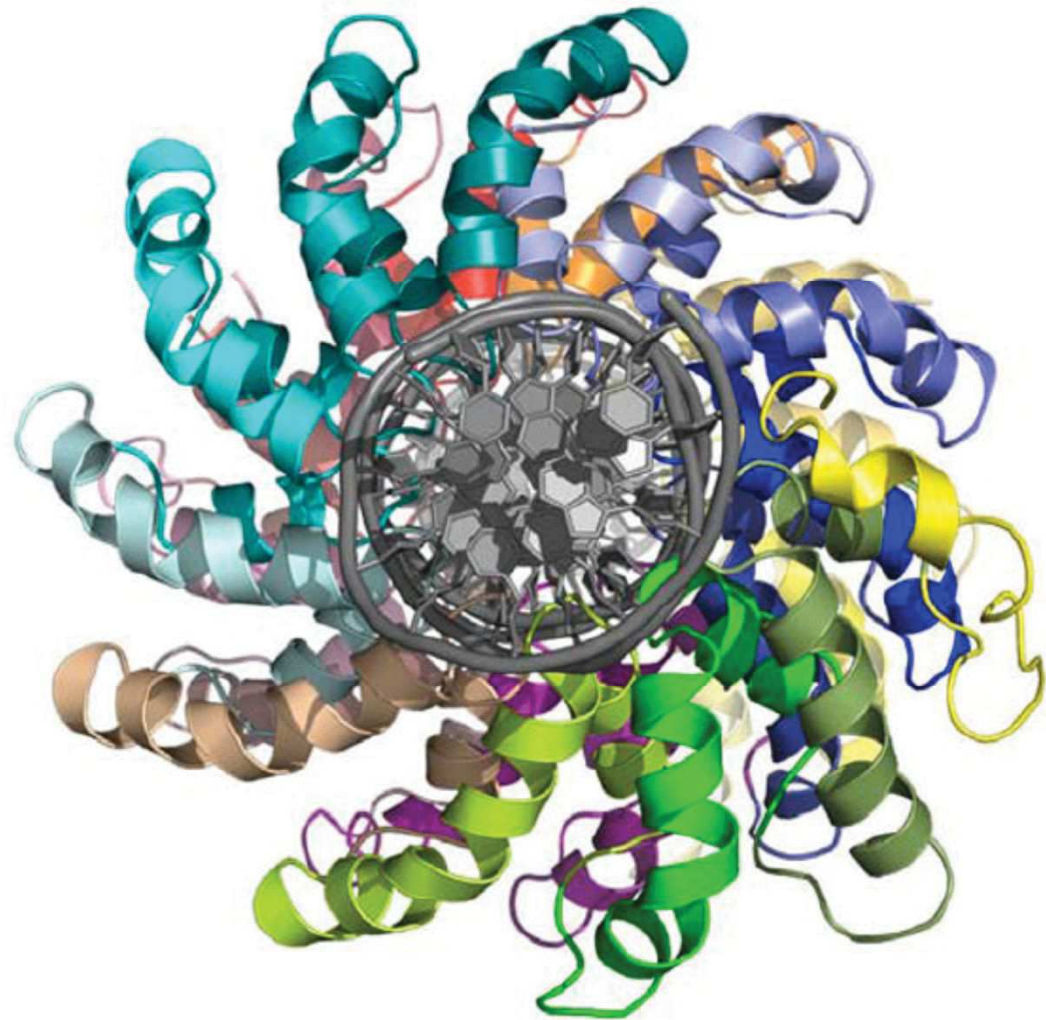
Transcription activator-like effectors (TALE)

Patogenní bakterie injikují do rostlinných buněk
ovlivňují transkripci rostlinných promotorů



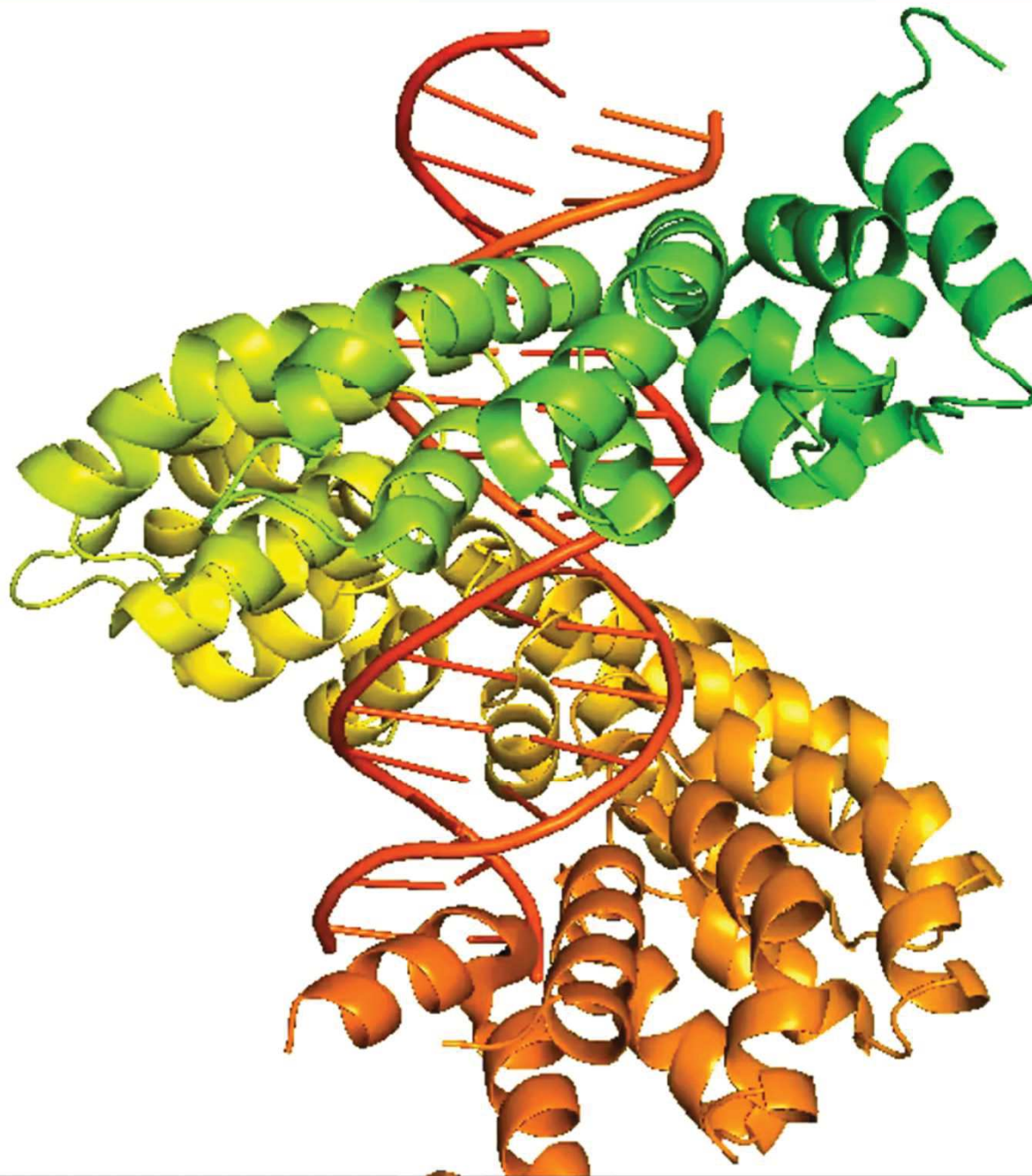
PthXo1

23 repetitivních obrotů DNA ve VŽ



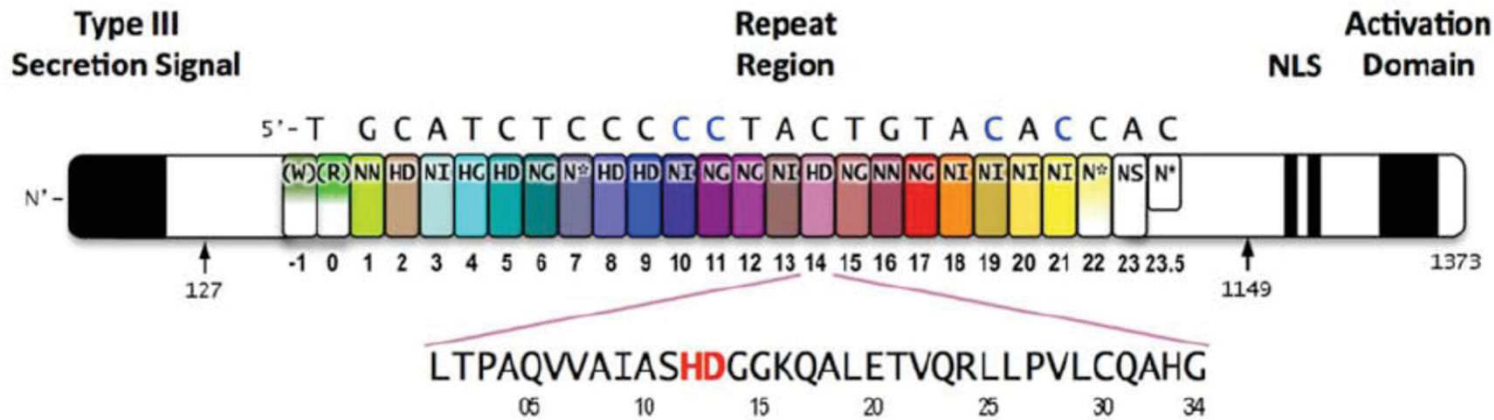
TALEN technologie

Mak et al, Science, 2012

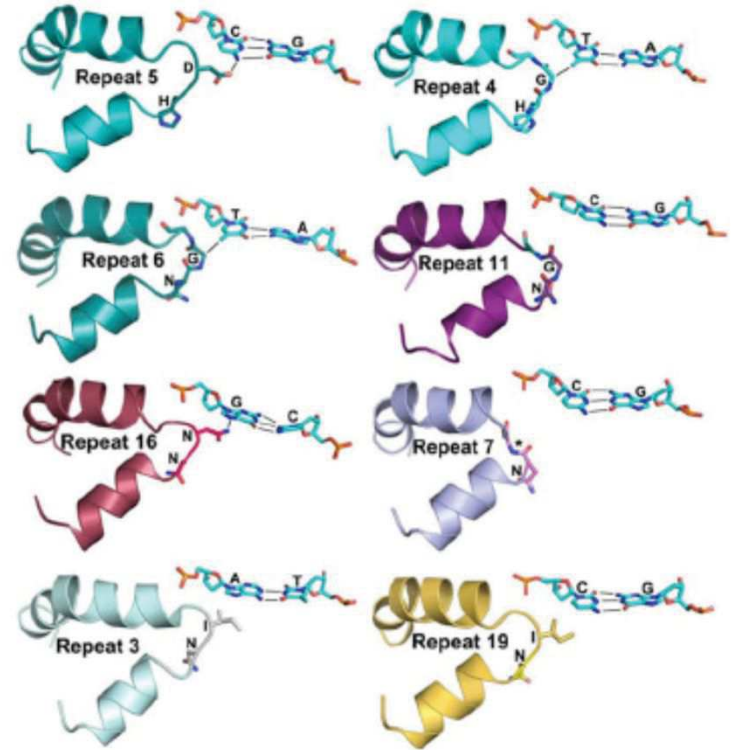
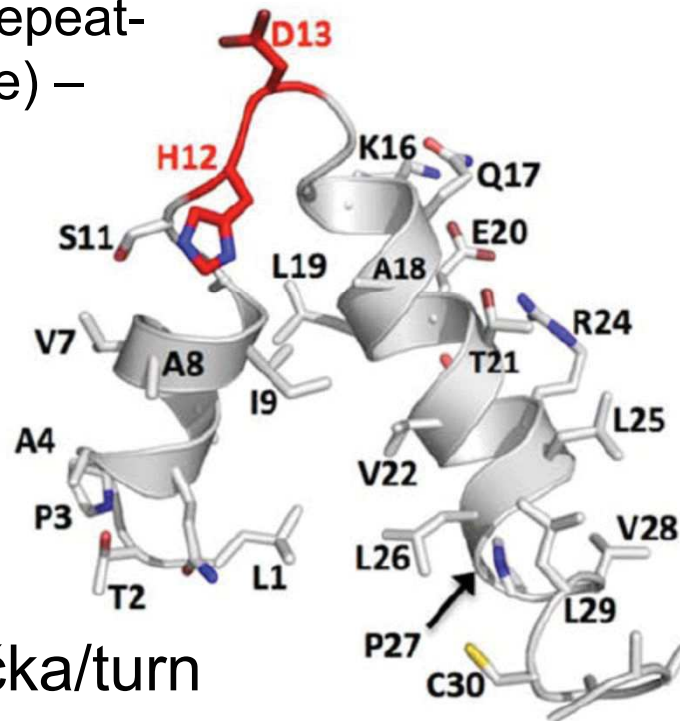


Interaguje otáčka/turn spíše než šroubovice

PDB: 3V6T



Tandemové repetice (34)
 AMK v pozicích 12 a 13
 určují specifitu (repeat-
 variable diresidue) –
 hlavní:
 HD, NG, NI, NN,
 NS, HG, N*

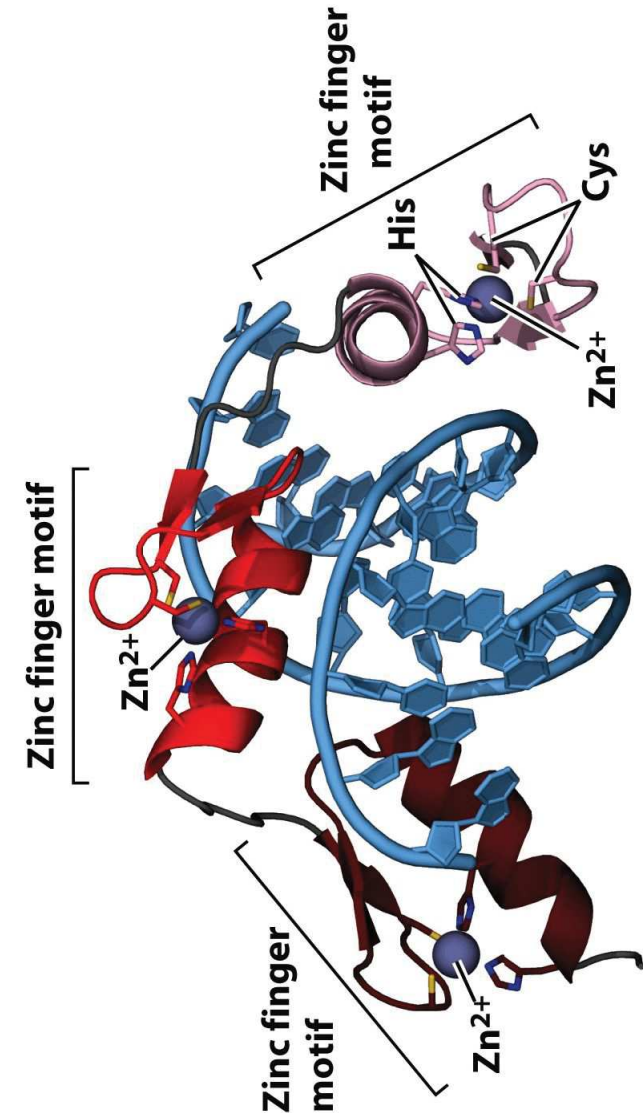


Interaguje otáčka/turn
 spíše než šroubovice

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

α -šroubovice



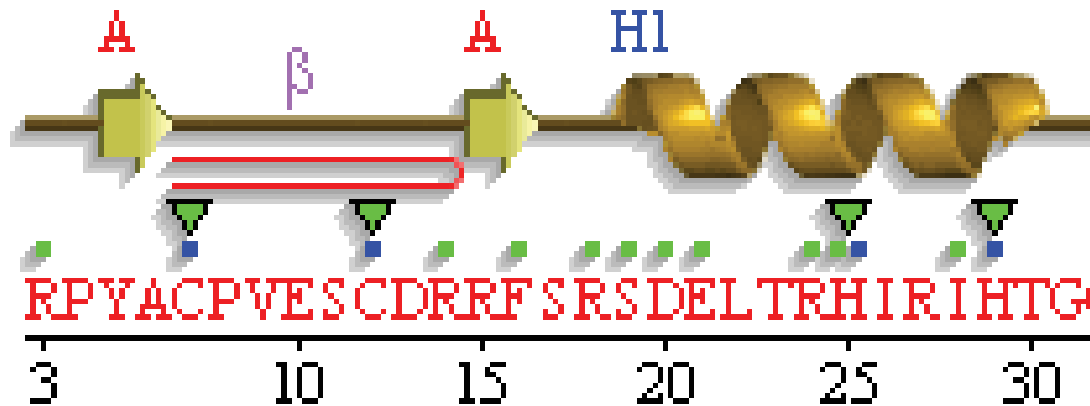
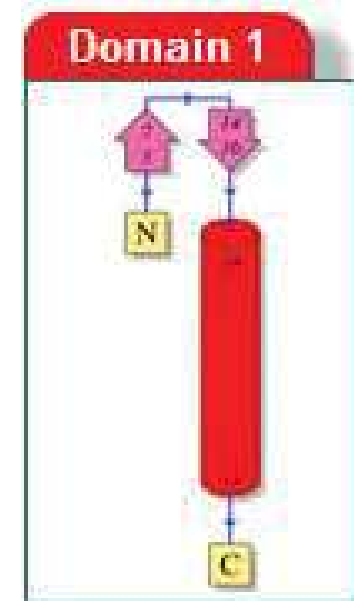
Zinc-finger/Zinkový prst

- 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:

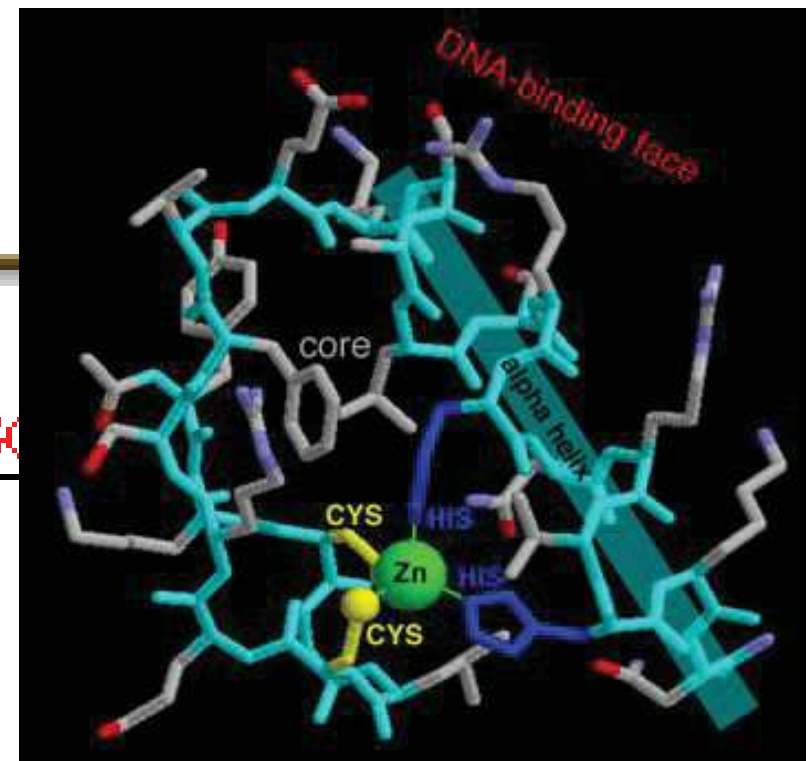
Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His

PDB grafika



Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal

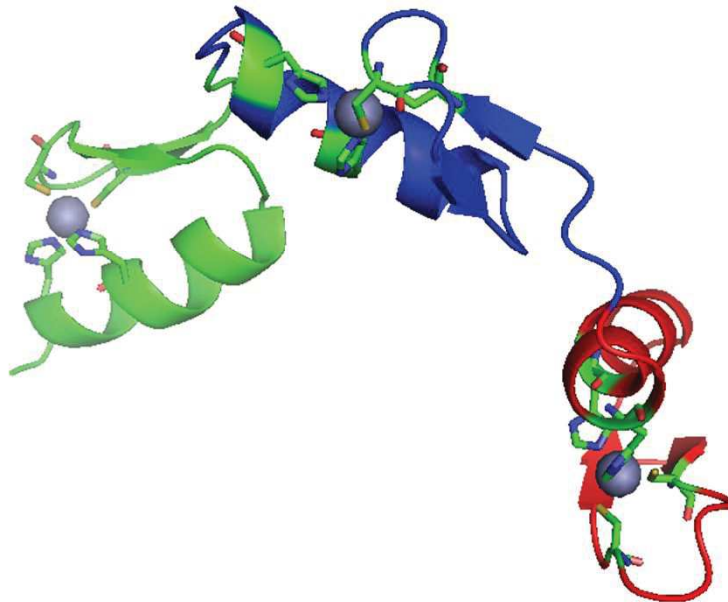
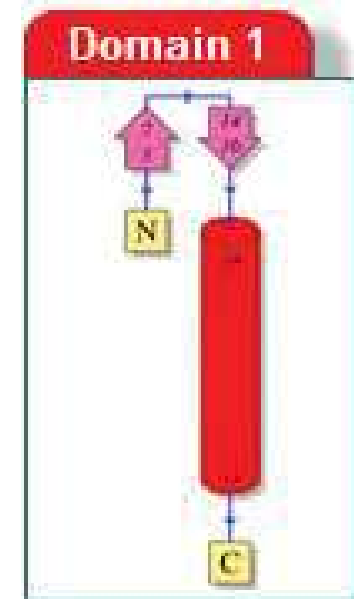


Zinc-finger/Zinkový prst

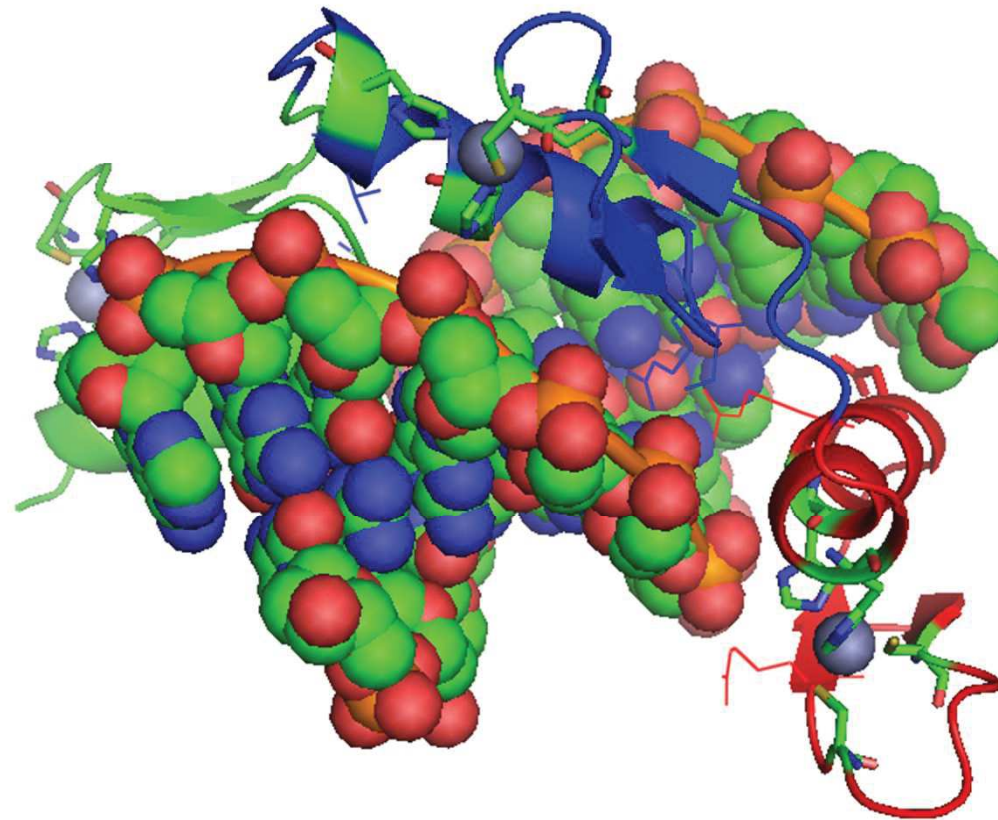
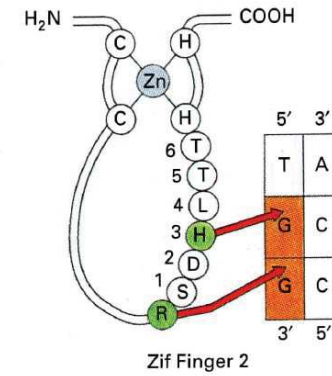
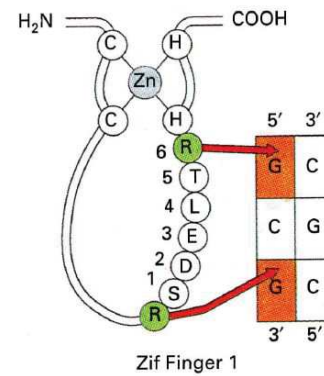
- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - **koordinovaný** 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

C2H2 motiv:

Cys- X_{2-4} -Cys- X_3 -Phe- X_5 -Leu- X_2 -His- X_3 -His

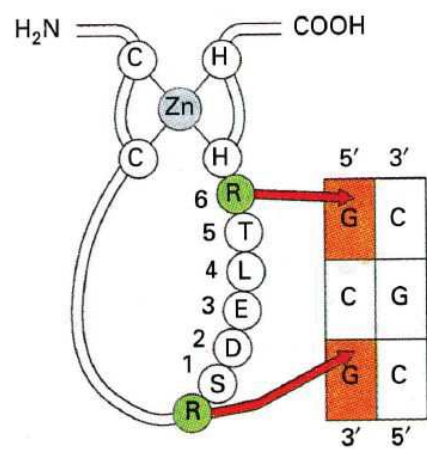


- 3x v Zif268, PDB=1zaa
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ
- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK => sekvenční specifita



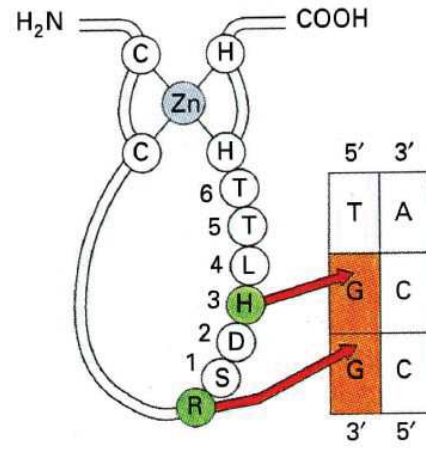
- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity

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



Zif Finger 1

Zif268



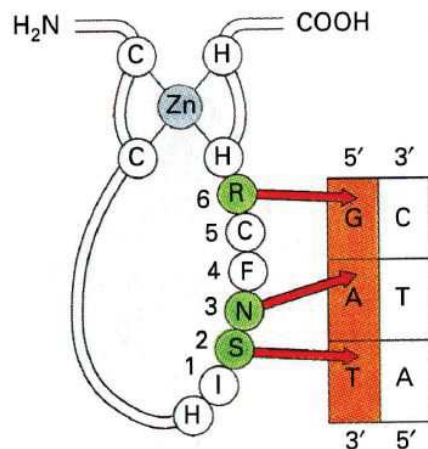
Zif Finger 2

- nejčastější jsou kontakty

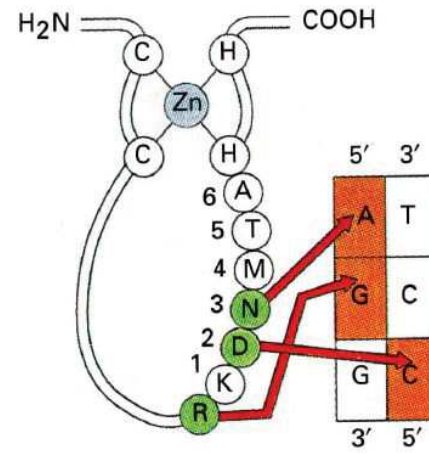
Gua-Arg

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

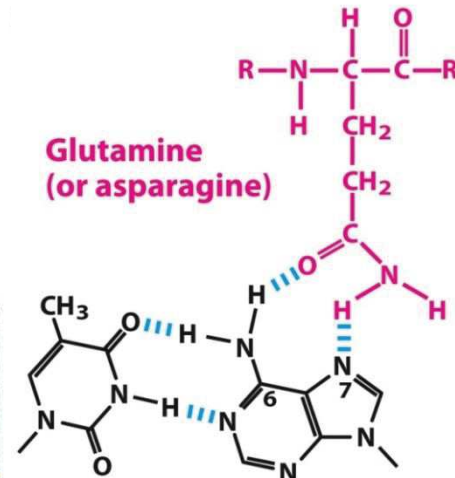
- Ser se může vázat na T či A



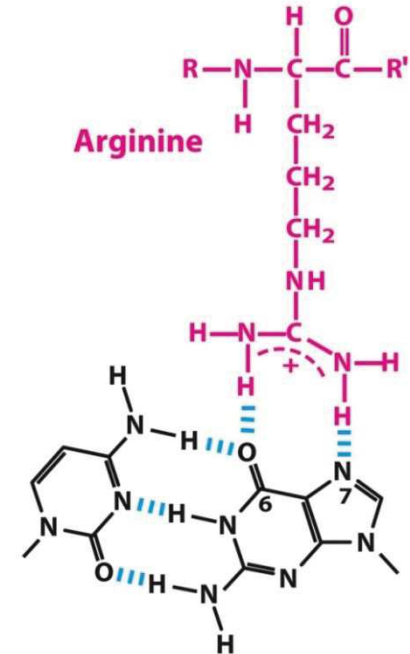
TTK Finger 1



TTK Finger 2



Thymine = Adenine



Cytosine ≡ Guanine

- 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 browser's address bar and tabs are visible at the top. The website's main heading is "Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins", with a subtitle "A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins".

On the left side, there is a sidebar with a "Přidat k oblíbeným položkám" button and a list of "Oblíbené p...". The list includes various scientific resources such as "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", "GENESTIGATOR - shaping biolo...", "Gestation, Incubation, and Longev...", "gold Genomes OnLine Database H...", "GoPubMed", "HADDOCK docking", "HCPIN Database Site", "HMMER", "HotSpot wizard - Enzyme Engine...", and "Human chromosome map".

The main content area features a navigation menu with buttons for "Home Page", "Protein-DNA Form", "Generate Sequence Logo", "Downloads", "Analyze Genomic Sequence", "Help", and "Contact Us". The "Welcome to our new site!" section contains the following text:

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.

To the right of the text is a 3D ribbon diagram of a Cys₂His₂ zinc finger protein structure, showing a blue ribbon with a green sphere representing a zinc ion coordinated by two cysteine and two histidine residues.

Below the protein structure, the URL <http://zf.princeton.edu> is displayed in large black text.

The footer of the page includes the following information:

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

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

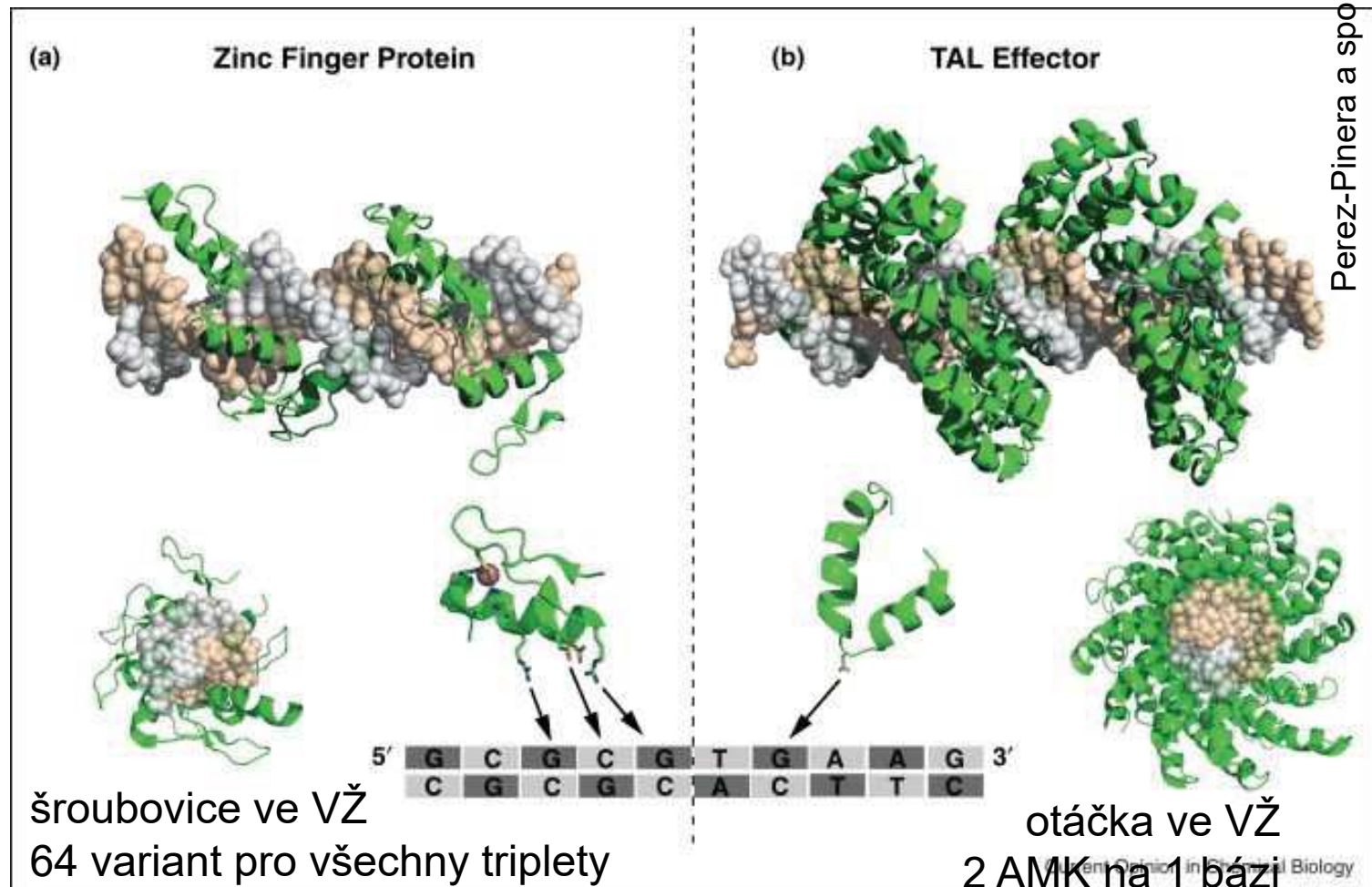
This page has been visited 2369 times since 09-09-2010

At the bottom of the browser window, the Windows taskbar is visible, showing various application icons and the system tray with the time 18:44 and date 10.10.2014.

- 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

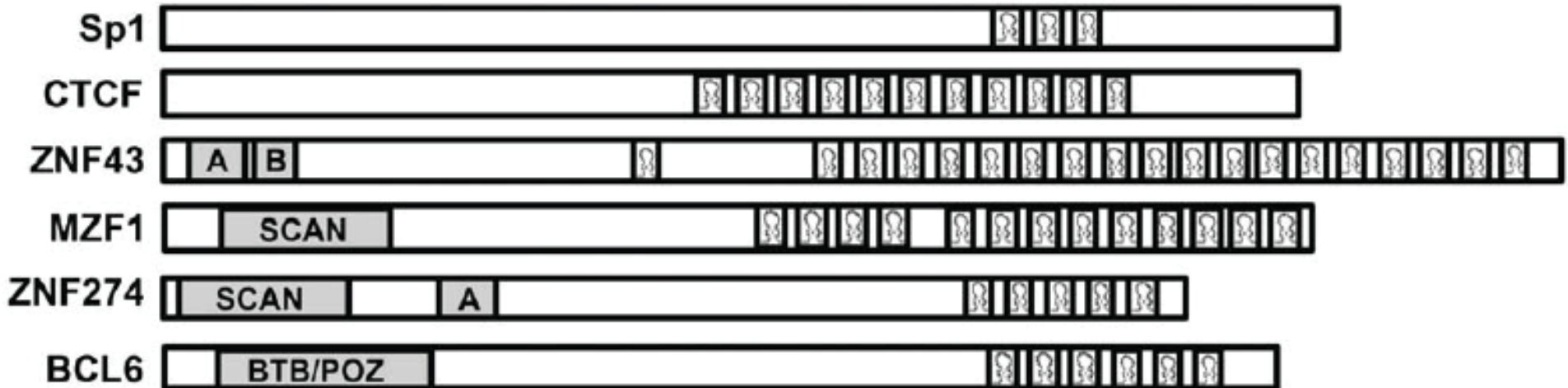
„genome editing“

Transcription activator-like



- CTCF obsahuje 11 zinkových prstů – k vazbě na DNA používá v různých org. různé kombinace ZF

ZF1
 Ts YQCFEFCPYTNHKKRYLLRHMKSHSEERP
 Hs FQCELCSYTCPRRSNLDRHMKSHDTERP
 Dm YSCPHCPYTASKKFLITRHSRSHDVEPS



ZF6
 Ts YQCEVNCNORFTQSNLSKAHKLTHSG.SRPV
 Hs YECYICCHARFTQSGTMKMHILQKHTENVAK.
 Dm YQCDI CKSRFTQSNLSKAHKLTHSVVDKPV

ZF7
 Ts FQCKFCPSSCGRRKTDLRIHVQKLHTA.SAP
 Hs FHCPHCDTVIARKSDLVHLRKHHSYIEQG
 Dm FQCNYPCTTCGRKADLRVHIKHMHTS.DVP

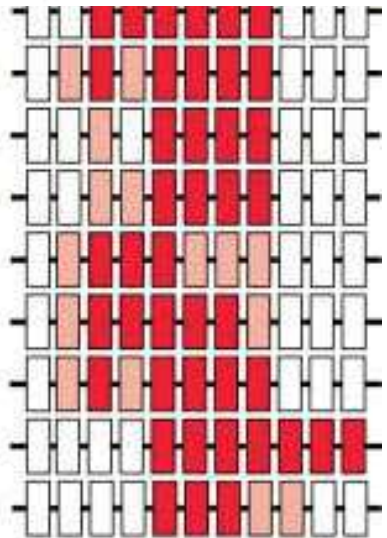
ZF8
 Ts IKCKKCDRTFTDRYTFKLHCKEHDGERC
 Hs KKGRYCDAVFHERYALIQHKSHKNEKR
 Dm MTCRRCGQQLPDRYQYKLHVKSHEGEKC

ZF9
 Ts YQCHLCPYSAMAQRHLEAHTLHSHDKP
 Hs FKDQCDYACRQERHMIMHKRTHTGEKP
 Dm YSCKLCSYASVTQRHLASHMIIHLDEKP

ZF10
 Ts YKQVDCNLSEKOVSLKRVHVESTAAANQ
 Hs YACSHCDKTFRQKQLDMHFVKRYDPNFV
 Dm FHCQCPQAFRQQLLRHMNLVNEEYQ

ZF11
 Ts LNDNLASPSSTSGVSVASASSSSPSSSTPNSS
 Hs FA.....AFVCSKCGKTFRRNTMARHADNCA
 Dm FPEPREKLHKCPSPREFTHKGNLMRHMETHD
 insertion

human GAGCGGAAGAGGAAGTCCACCGCTTTTGAACACGGGA
 8. PLK h/m AGAGGAAGATTTAAGTAAAAGCTTCCTGGAGGAGCCCAA
 TCTCCTTCTAAATTCATTTTCGAAGGACCTCCTCCGCGTT
 9. PIM-1 human CTTTTCCTTCCCGCCACGCTCGGGCGCGTAGAGACCATT
 GAAAAGGAAGGGCGGTCACACCCCGCCCATCTCTGGTAA
 10. PIM-1 mouse GGGGAGAGGGGTGTACCCCGAGGGGGGAGCGGAGGG
 CCECTCTCCCCACATCGGGCGCTCCCGCCCTCGCCTCC
 11. p19ARF mouse GCAGGGCCCGCCCGCCCTCCCGCCCGCCCTCTTGGGA
 CGTCCCGGGCGCGCGCGAGGGGACCCCGGAGAACCCT
 12. DMD4 mouse GGAACGGAGCTACCGCCCGGAGCAGCATACTCCTATATA
 CCTTGCCTCGATGGCGCGCCACCCGCTGTATAGGATATAT
 13. DMD7 mouse CTAATGGACAGACGATGCCCGCTGGGACATACAATAC
 GATTACCTGCTGCTACGGCCAGCCACCGTCTATGTTATG
 14. "144" silen. rat CCTGAGTGCATTTCCCTCATGATCCAAAAGAGGGATAAC
 GGACTCACGTAAAGCGAGTACTAGSTTTTCTCCCTTATTG
 15. APP human TTCCCCGCGGCGCCCTCTAGGGTCTCTCTCGGGTCCGA
 AAGGGCCCGCGCGCGATCCCCAGAGAGCCACCGGCT

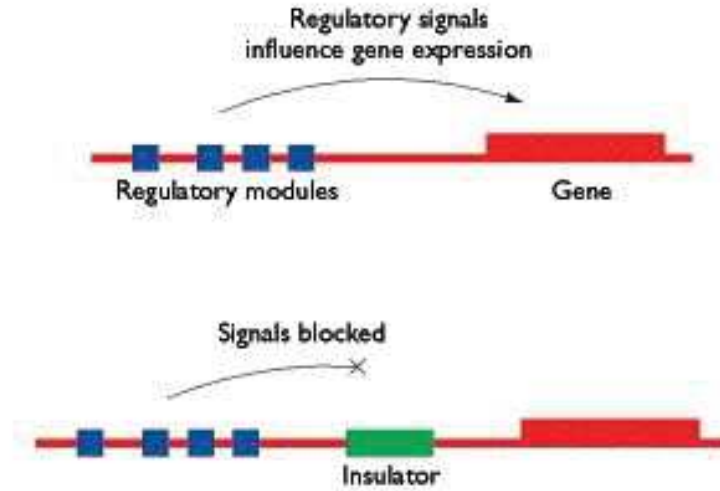


TRENDS in Genetics

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

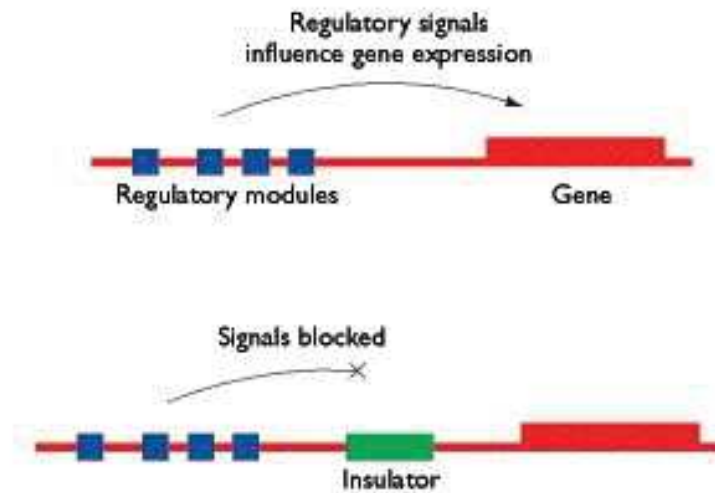
ZF1	Ts YQCEFCPYTNHKRYLLLRHMKSHSEERP Hs FQCELCSYTCPRRSNLDRHMKSHDTERP Dm YSCPHCPYASKKFLITRHSRSDVEPS
ZF2	Ts FKCTVCERCFTNSLQNHINTGTGRP Hs HKCHLCGRAFTVTLRNHLNHTGTGRP Dm FKCSI CERSFRSNVGLQNHINTHMGNKP
ZF3	Ts HQCKGCELAFSTSGELIHRIRYKHTLEKP Hs HKCPDCDMAFVTSGLVRRRYKHTHEKP Dm HKCKLCSAFTSGLVRRTRYKHTKEKP
ZF4	Ts HKCTECSYASVELSKLRHIRSHTGERP Hs FKCSMCDYASVEVSKLKRHIRSHTGERP Dm HKCTECSYASVELTKLRHMTCHTGERP
ZF5	Ts YHCPHCSYASPDITYKLRHLRVHTGEKP Hs FQCSLCSYASRDITYKLRHMRTSGEKP Dm YQCPHCTYASQDMFKLRHMVHTGEKP
ZF6	Ts YQCEVCNQRFTOSNSLKAHKLITHSR.SRPV Hs YBCYICHARFTOSGMTKMHILQKHTENVAK. Dm YQCDICKSRFTOSNSLKAHKLITHSVVDKPV
ZF7	Ts FQCKFCPSSCGRRKTLRLHVQKLHTA.SAP Hs FHCPCDVTIARKSDLGVHLRKHHSYIEQG Dm FQCNYPCTTCGRKADLRVHIKHMHTS.DVP
ZF8	Ts IKCKKCDRTFTDRYTFKLHCKEHDGERC Hs KKCRYCDAVHERYALIQHQSARKNEKR Dm MTQRRCGQQLPDRYQYKLHVKSHEGEKC
ZF9	Ts YQCHLCPYSAMAQRHLEAHTLLHSDKFP Hs FKCDQCDYACRQERHIMHHRKRTGTGEKP Dm YSCKLCSYASVTQRHLASHMILI LDEKP
ZF10	Ts YKQVDCNLSFKOVSLLRHVESTHAAANO Hs YACSHCDKTFROKQLLDMHFKRYHDPNFV Dm FHCDCQCPQAFRQRQLRRHMNLVHNEEYO
ZF11	Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSSSSFSSTSPNSS Hs PA.....AFVCSKCGKTFTRRNTMARHADNCA Dm PPEPREKLHKPSCPREFTHKGNLMRHMETHD

insertion

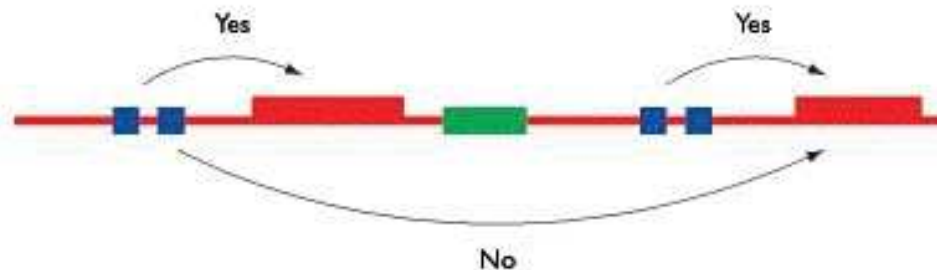
CTCF

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

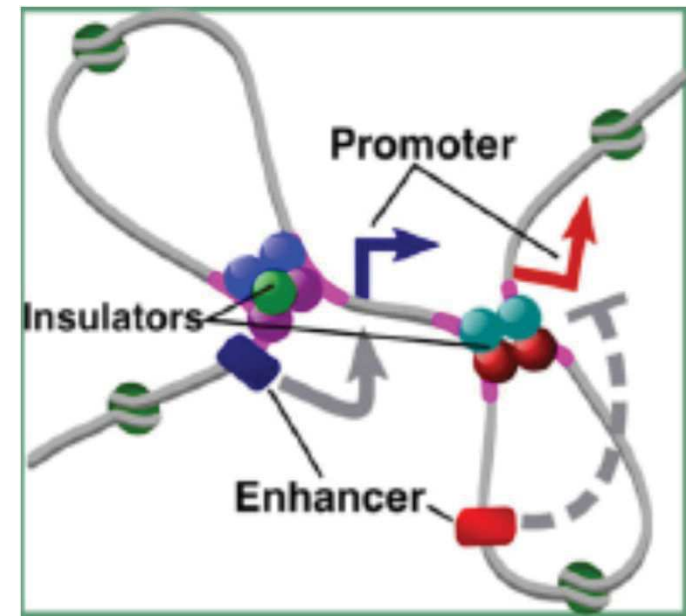
A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



B) Insulators prevent cross-talk between functional domains



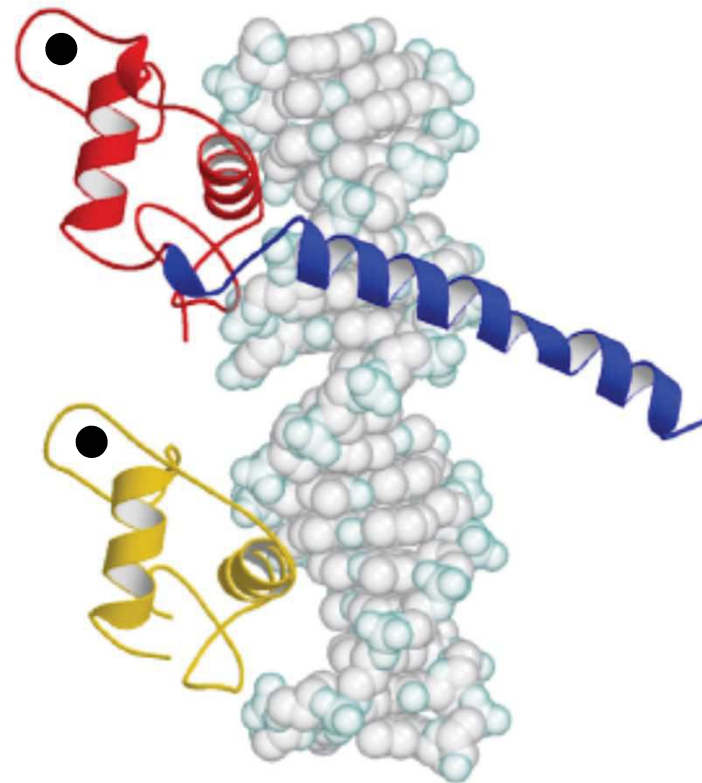
- CTCF interaguje s kohesinem a podílí se na utváření vyšších chromatinových struktur



Hormon receptor family

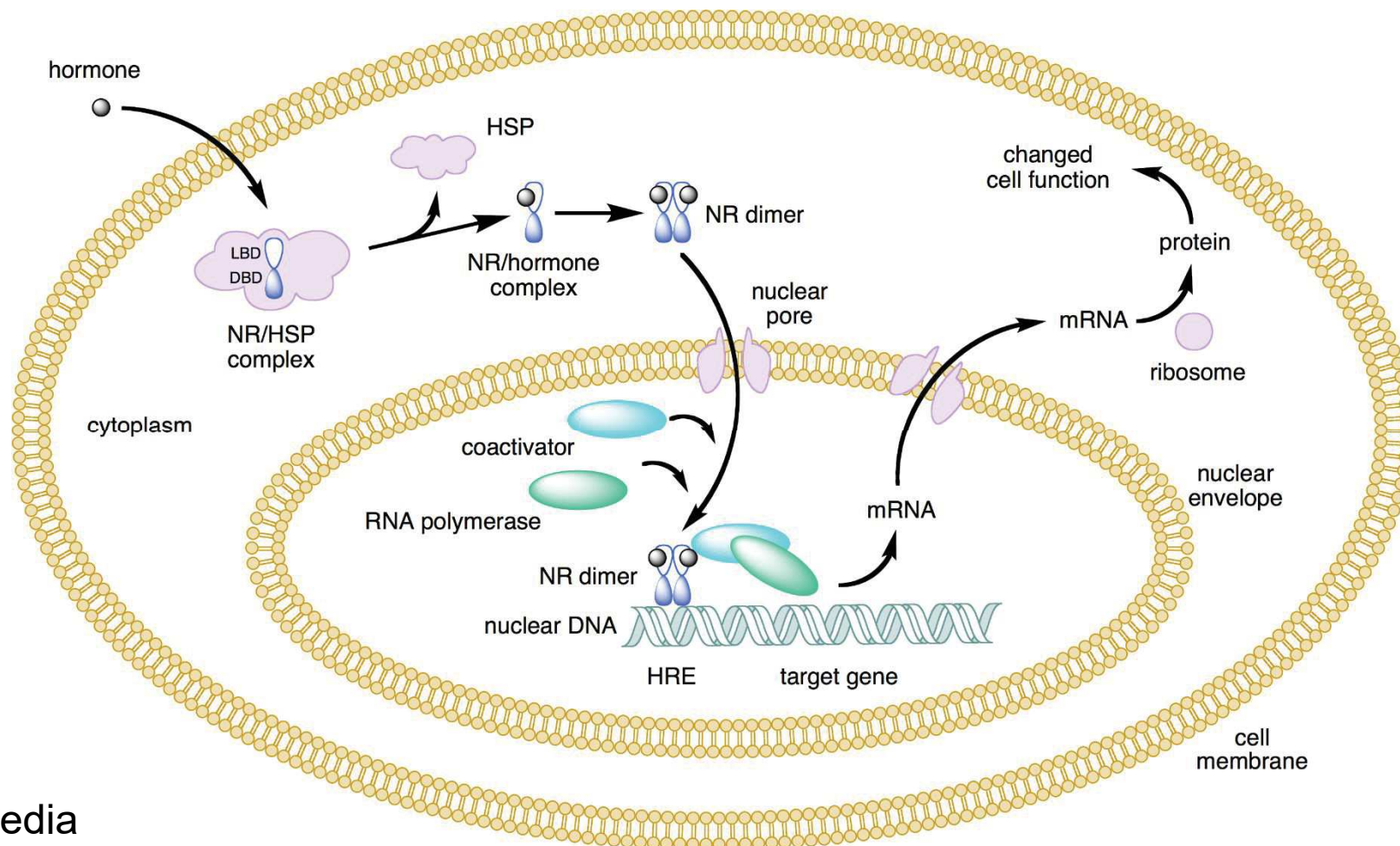
Jaderné receptory – steroidní hormony, thyroidní hormony a retinoidy – navázání ligandu stimuluje translokaci receptoru z cytoplasmy do jádra a vazbu na HRE (*hormon response element* - regulaci transkripce)

- 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)

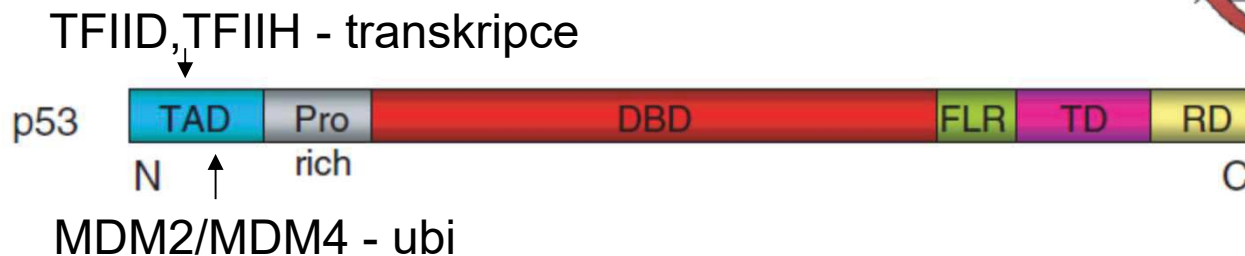
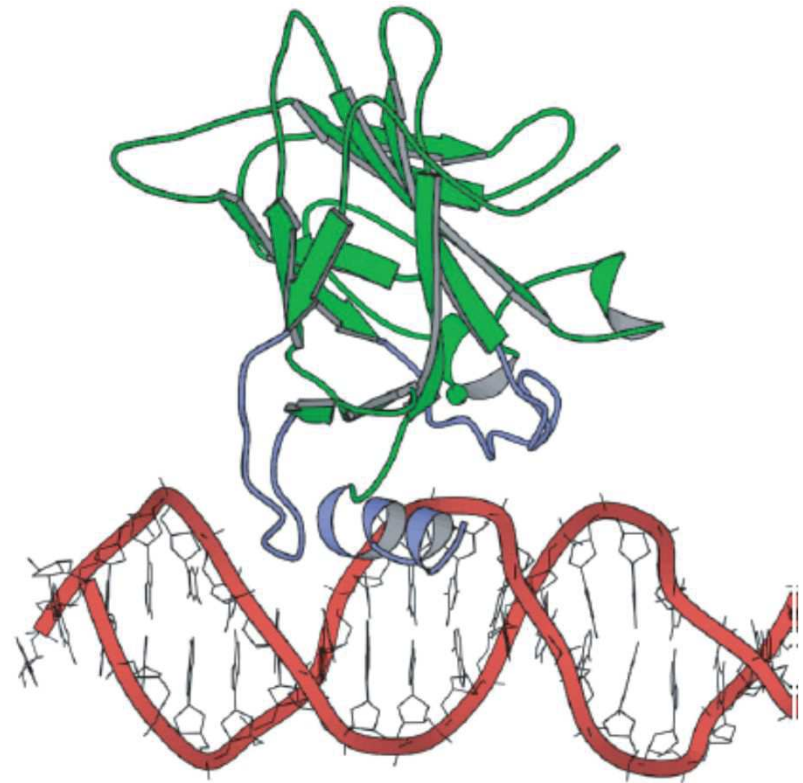
třída I (homodimery, cytoplasma) a třída II (heterodimery, jádro) – vazba ligandu moduluje nejdříve uvolnění faktoru a poté vazbu ko-aktivátorů (dalších transkripčních faktorů nebo chromatinových remodelátorů)



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

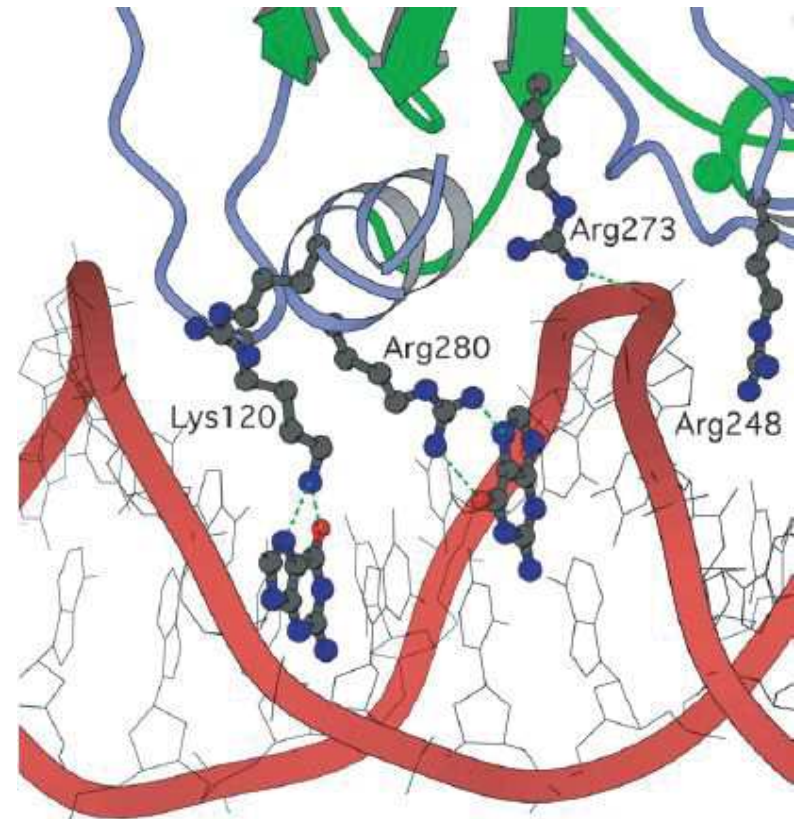


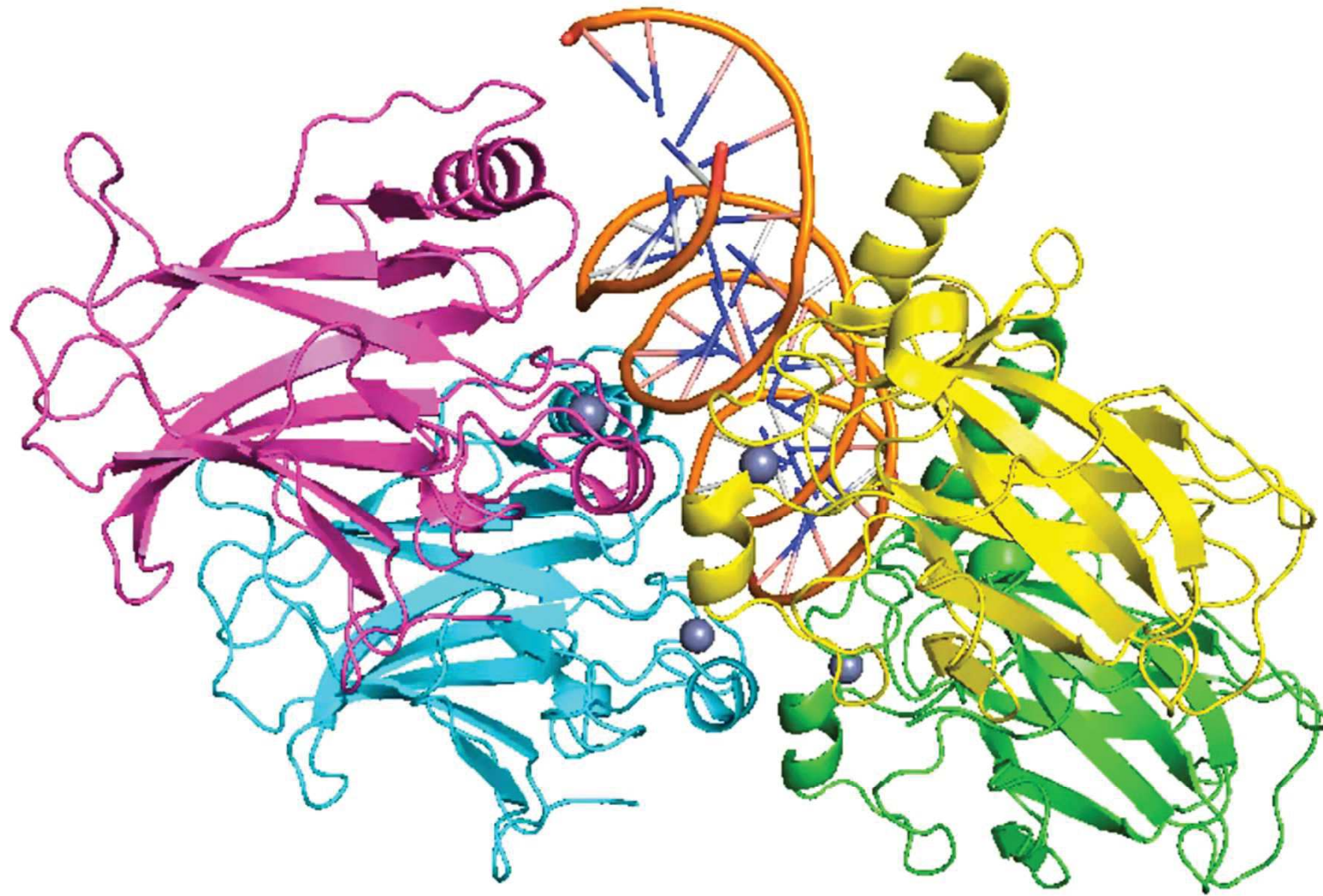
Loop-sheet-helix

- 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)



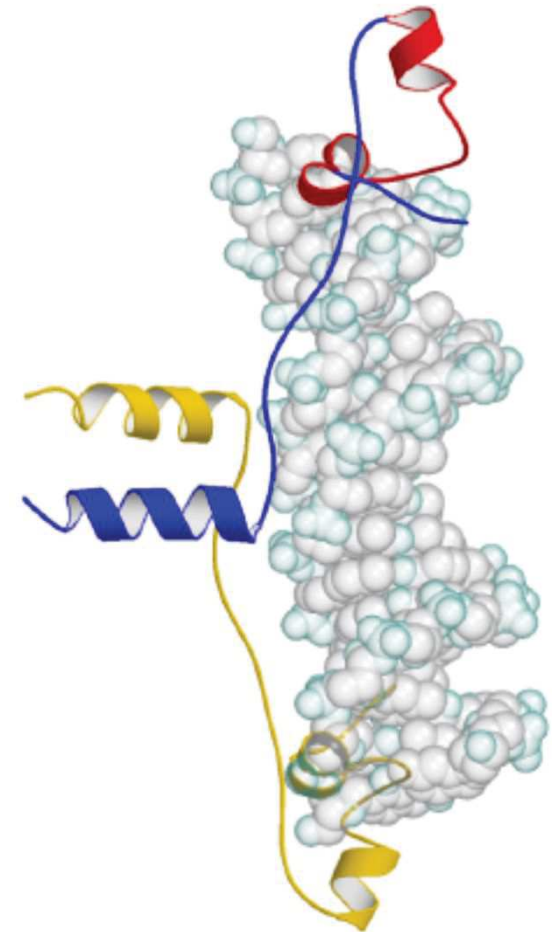


p53 tetramer – DNA, PDB: 3KMD

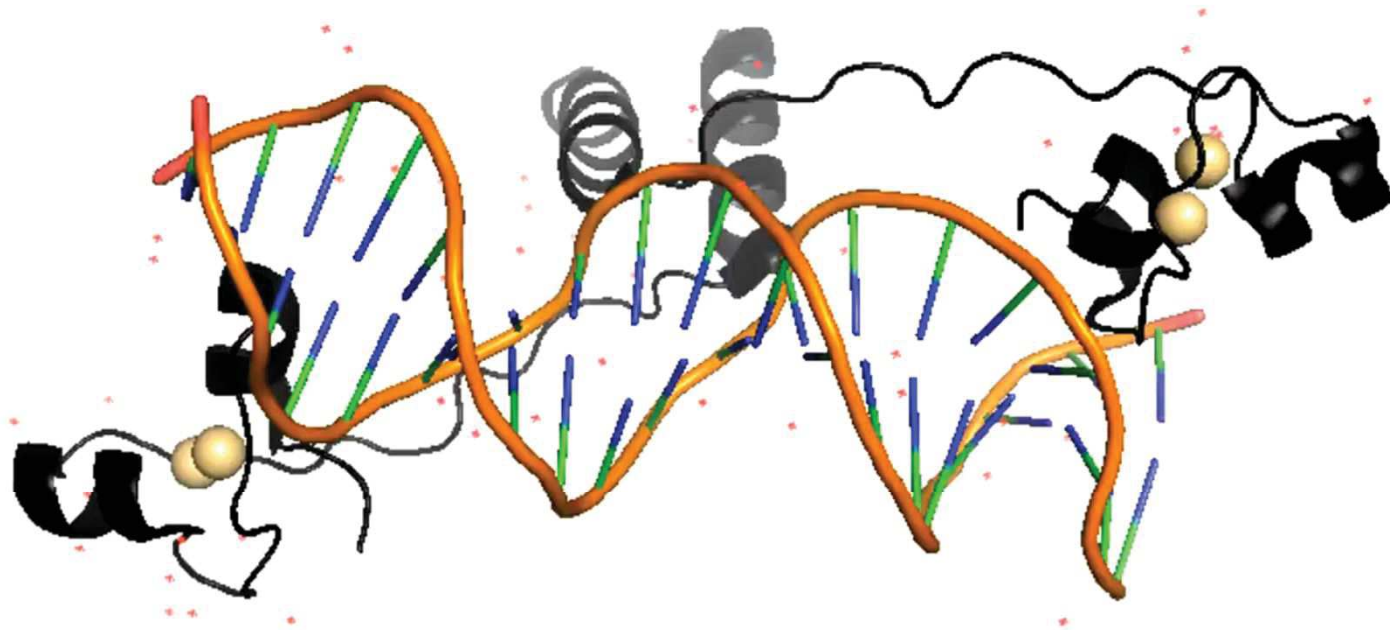
Gal4

- 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



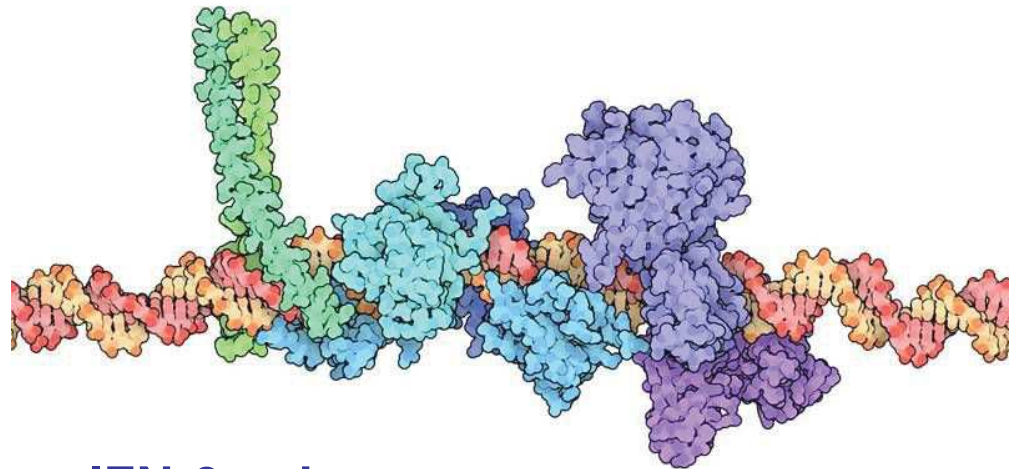
PDB: 1D66

Motivy DNA vazebných domén

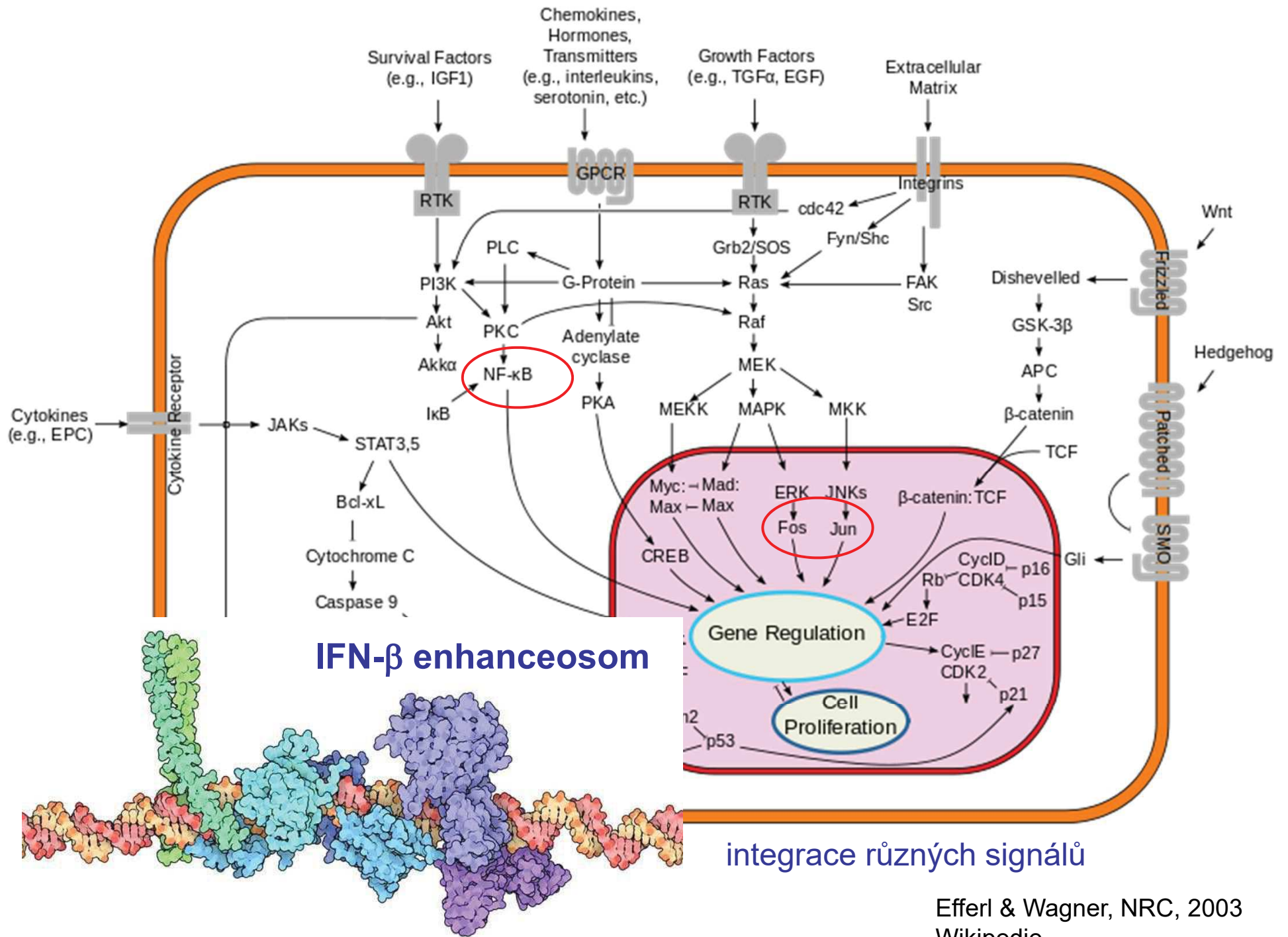
- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4

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

Kombinace více proteinů ...



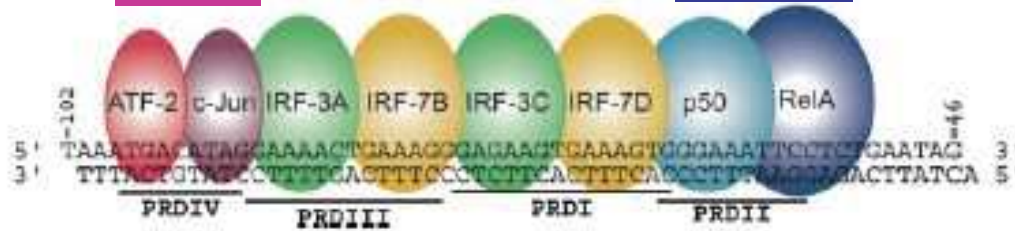
IFN- β enhanceosom



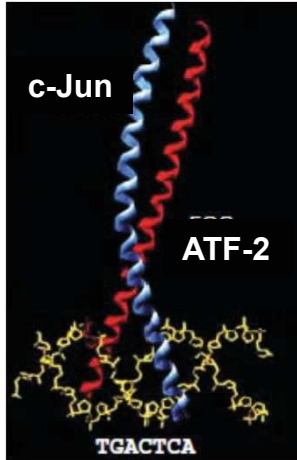
AP-1

NF-κB

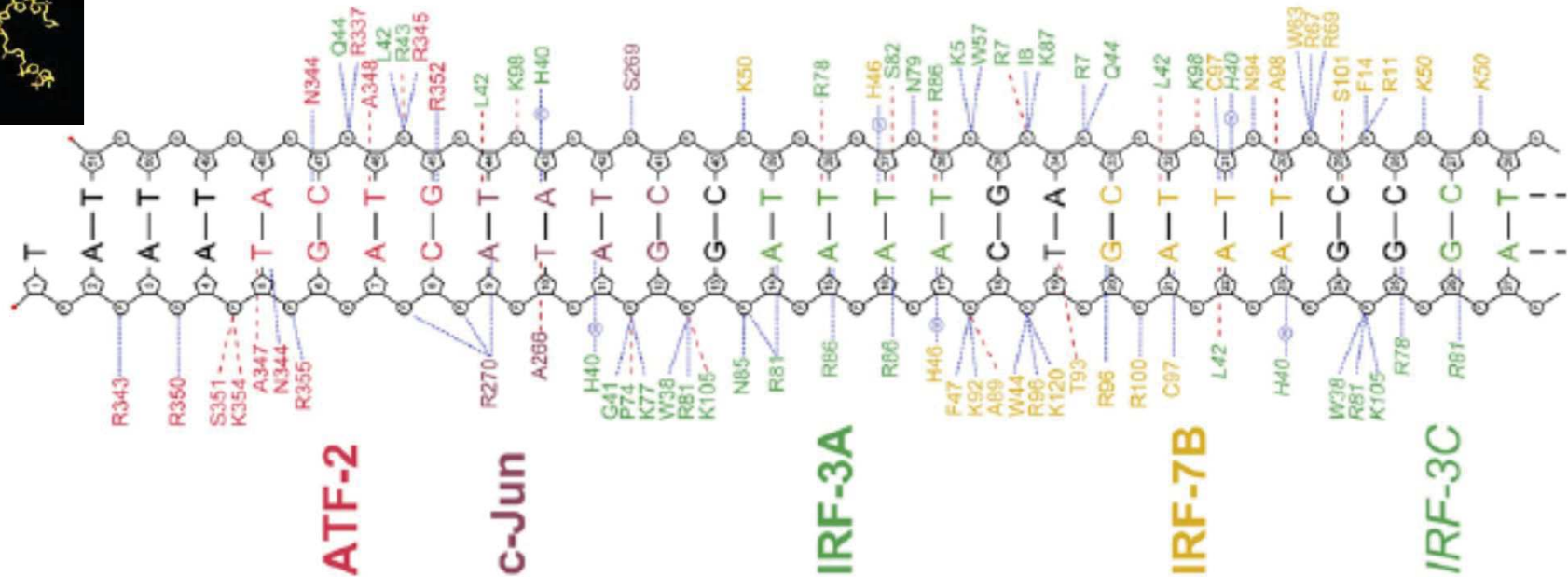
IFN-β enhanceosom



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

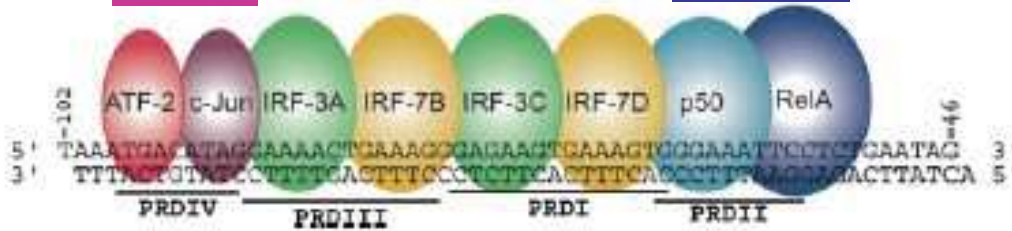
AP-1

Activator Protein = b-ZIP (basic leucine zipper)

AP-1

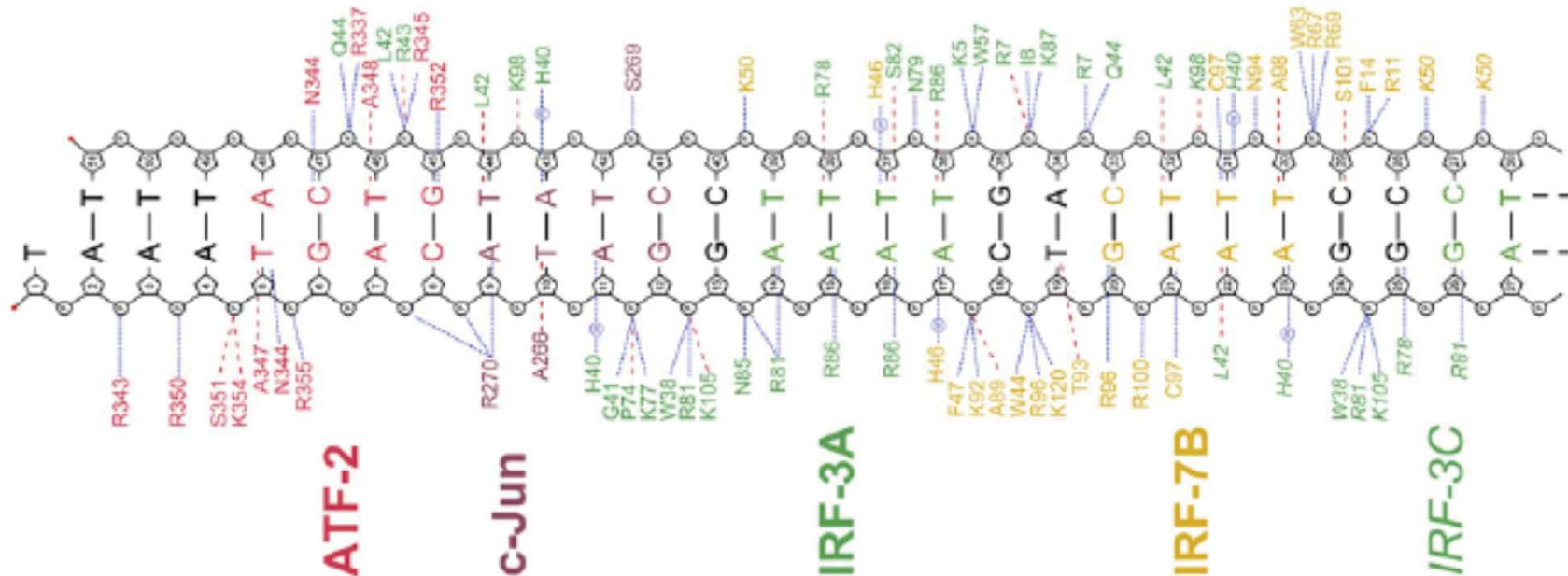
NF-κB

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

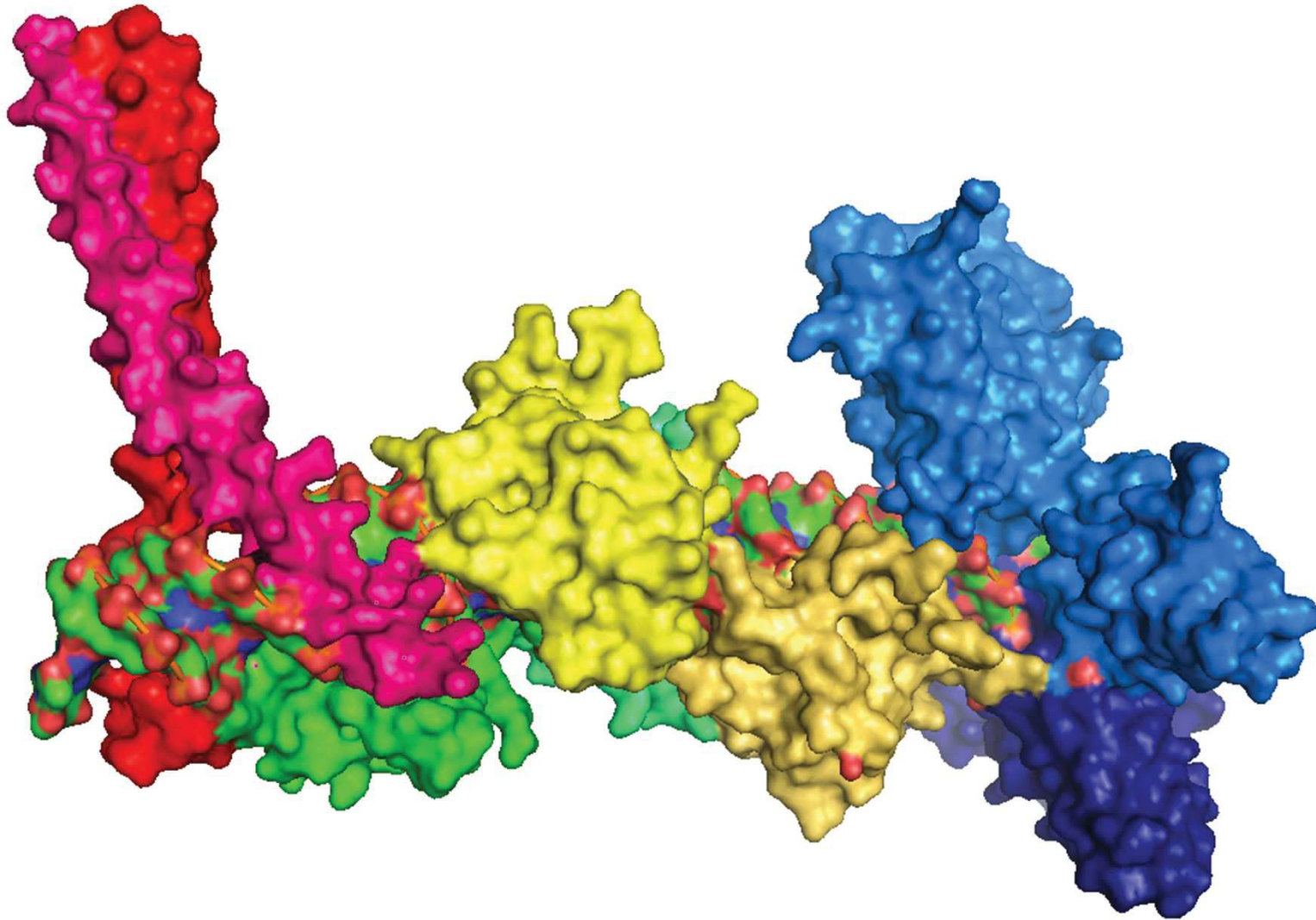
IRF – interferon regulation factor = šroubovice ve velkém žlábků a smyčka (His) kontaktuje base v malém žlábků (var WHD)

IFN- β enhanceosom



AP-1 leucin zipper, IRF – šroubovice a smyčka (směs), NF κ B – komplexní motiv
červené tečky – molekuly vody <http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=122>

IFN- β enhanceosom

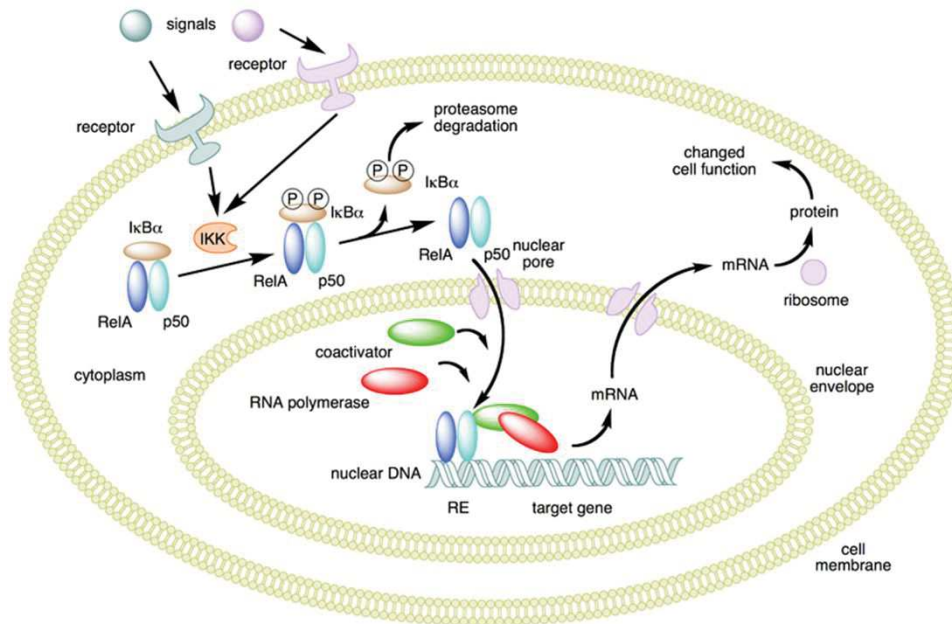
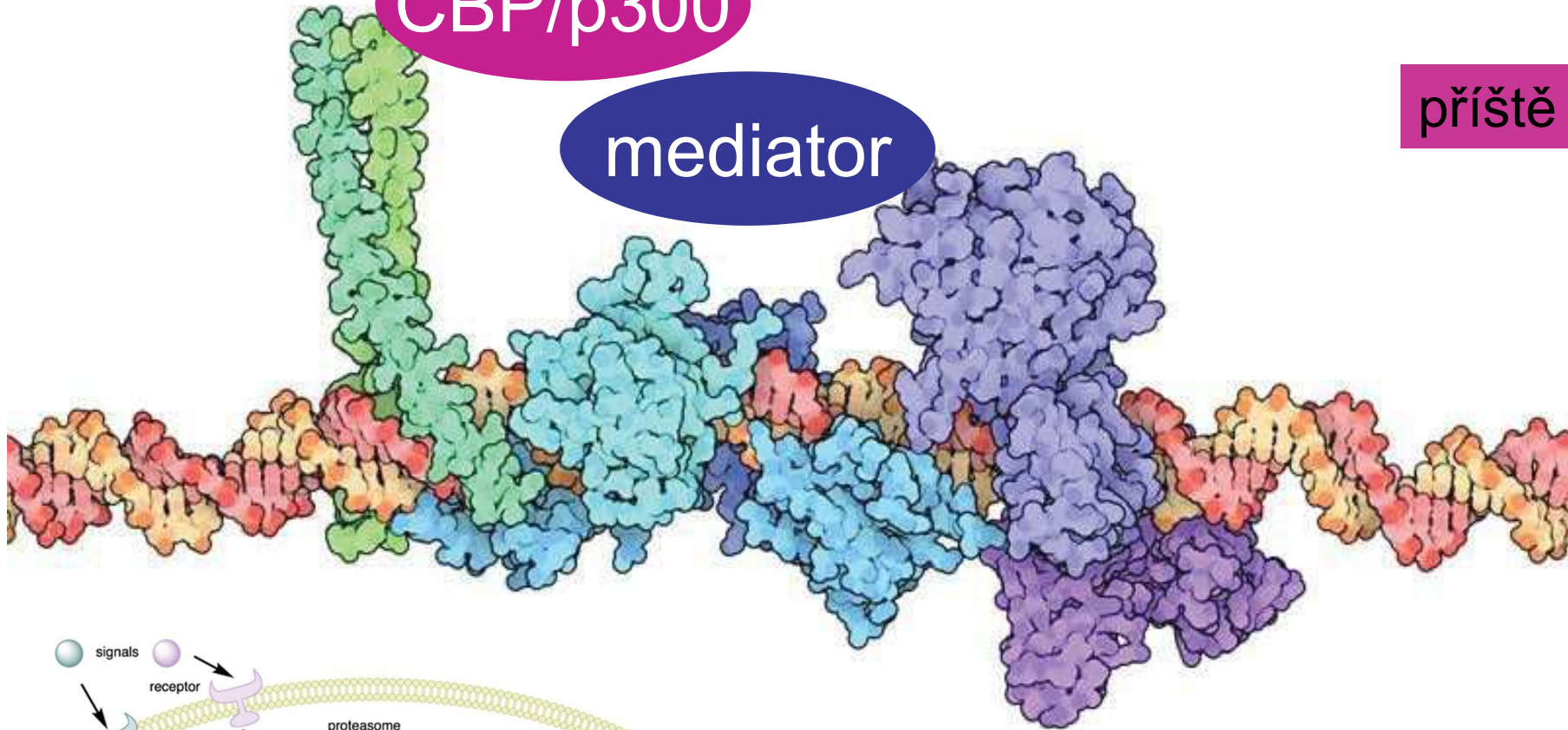


- TF pokrývají 72% povrchu DNA (těsné sbalení DB-domén)

CBP/p300

mediator

příště



- TF obsahují **aktivační doménu** – na AD se váže mediator komplex – integruje/propojí TF (phase separation – ohniska) – zprostředkuje vazbu s RNA polymerasou - iniciaci transkripce - enhanceosom interaguje („přitáhne“) koaktivátory (CBP/p300 histon acetylase), modifikuje chromatinovou strukturu ...

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

