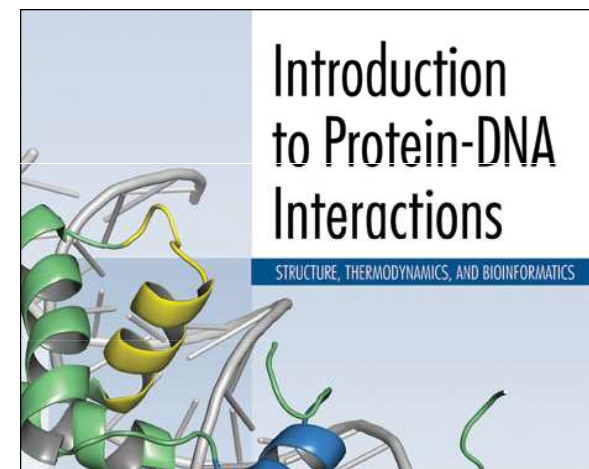


27.02.2020	10-11.30 hod	A2-2.11	doc. Paleček	Úvod, analýza komplexů
05.03.2020	10-11.30 hod	A2-2.11	doc. Paleček	Úvod, PPI, skládání komplexů
12.03.2020	PDF		Dr. Muller	Chaperony
19.03.2020	PDF		Mgr. Adamus	Ubiquitinace, ligasy (cullin, APC), proteasom
26.03.2020	PDF		Mgr. Balkoová	replikace DNA
	komentovaná PPT		doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, vazebné motivy
	komentovaná PPT		doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, transkripční komplexy
	komentovaná PPT		Dr. Šebesta	Oprava DNA, homologní rekombinace
	komentovaná PPT		doc. Paleček	Chromatinové komplexy
	komentovaná PPT		doc. Paleček	Evoluce proteinových komplexů
do 15.05.2020			doc. Paleček	konzultace přes SKYPE nebo MS Teams
po 15.05.2020			doc. Paleček	Zkouška - test

(DNA-)proteinové komplexy



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



DNA-proteinové komplexy

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

G
E
N
O
M

NPIDB Home

Database of structures of nucleic acid - protein complexes

Home Browse Download Help About Us

Search

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.

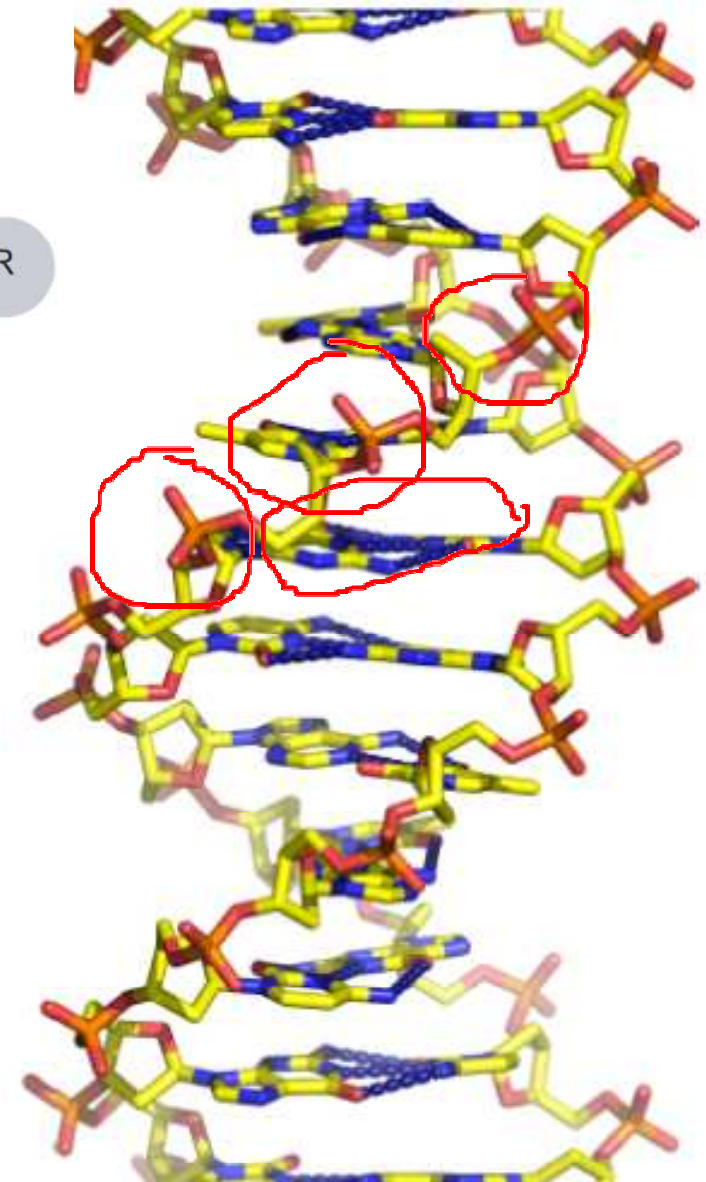
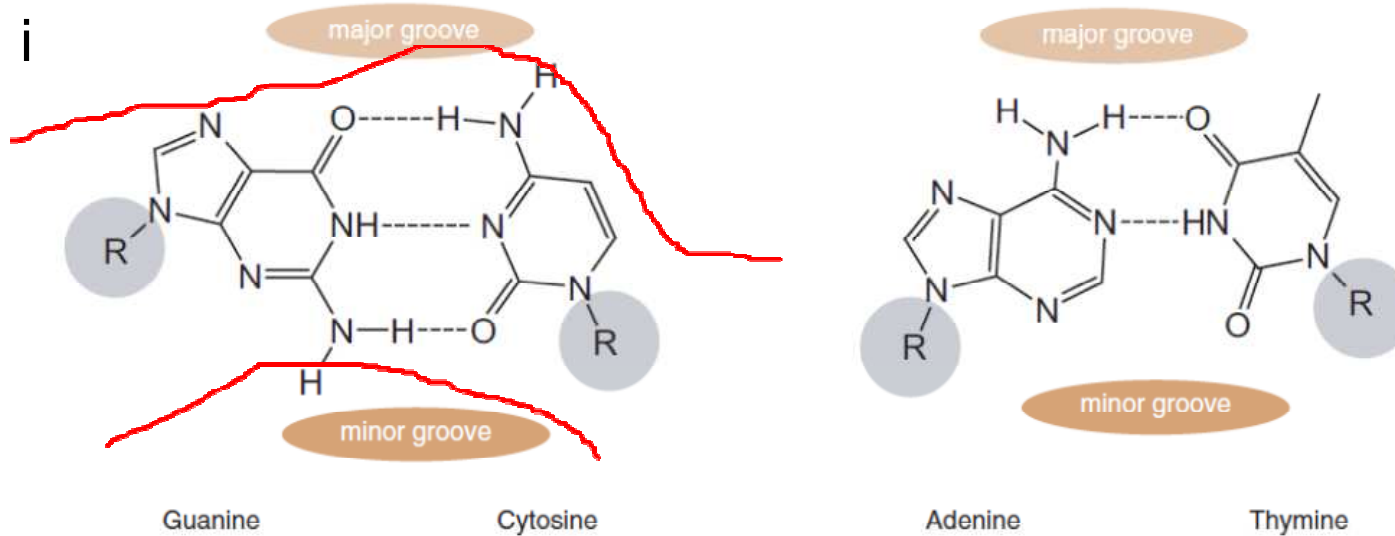
Each individual complex has its own web page, containing general information, links to other resources (e.g., PDBsum and BIPA), a table describing biological units or models, tables describing Pfam and SCOP domains in protein chains, and the list of available actions (including Jmol visualization)

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

2500 struktur v PDB (v roce 2014)

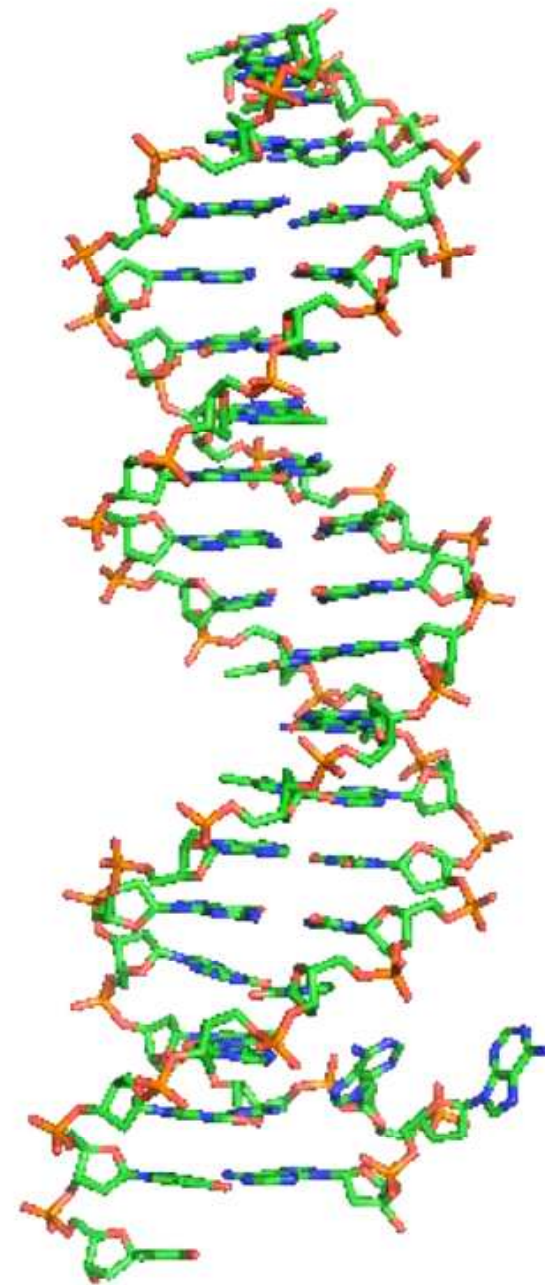
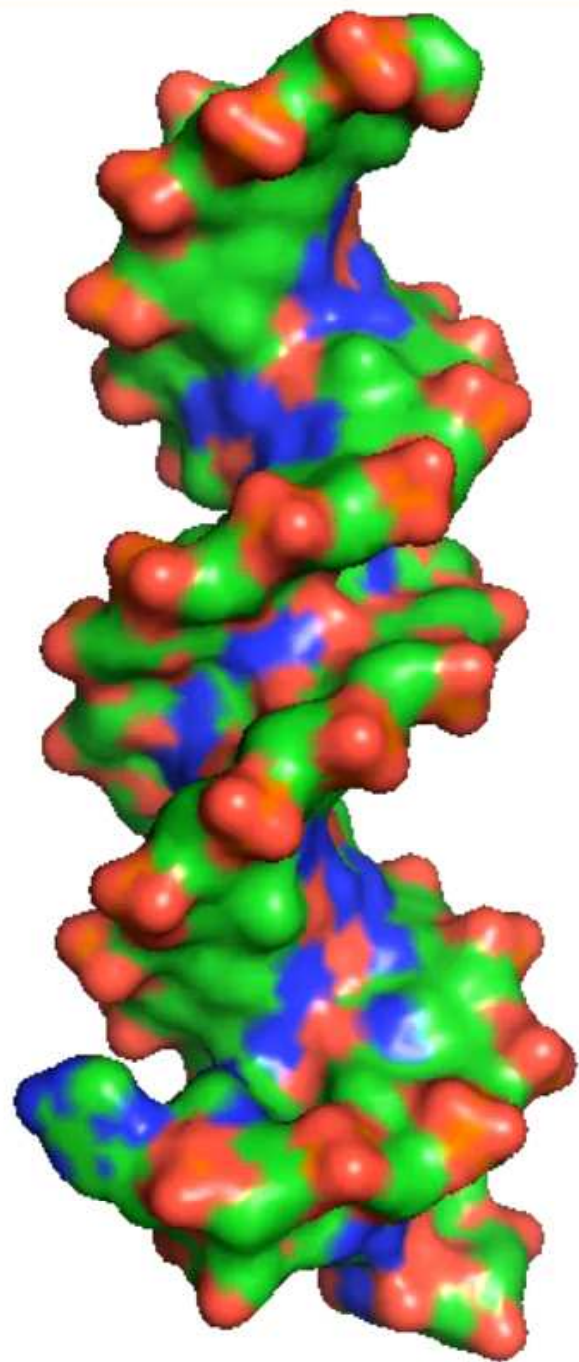


Tvarová a nábojová specifita DNA determinuje typy DNA-vazebných domén (oproti velké rozmanitosti protein-proteinových i



- 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 ...)

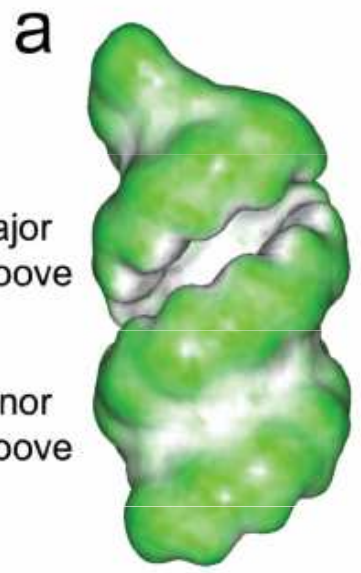
„shape readout“
zakřivení kostry souvisí se sekvencí



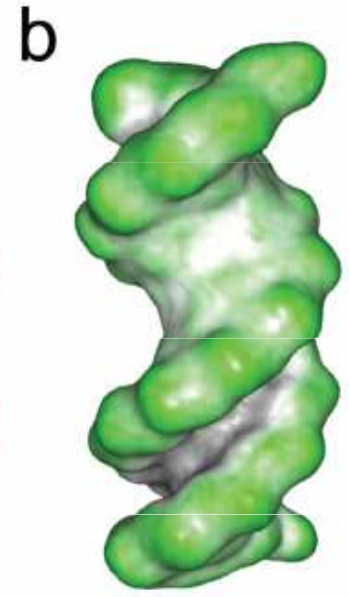
B-DNA

curvature

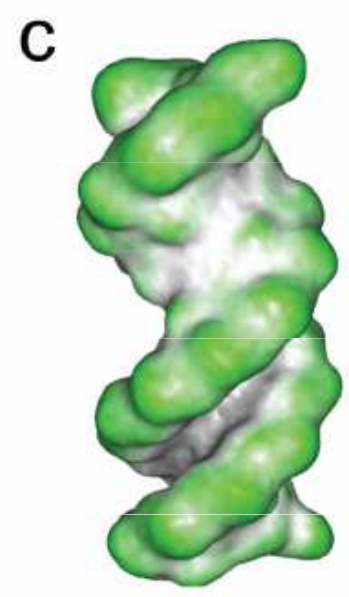
major groove
minor groove



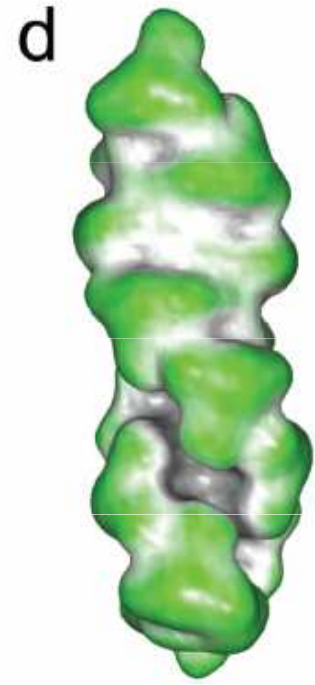
A-DNA (GC)



B-DNA (GC)



B-DNA (AT)



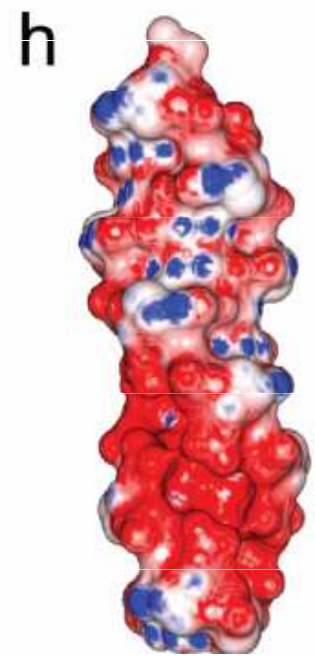
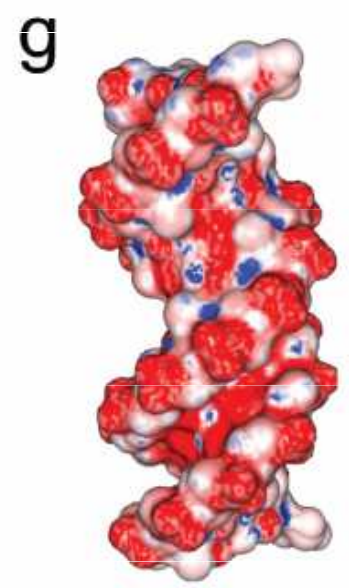
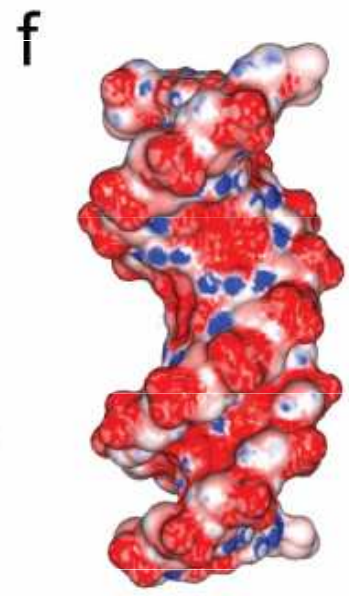
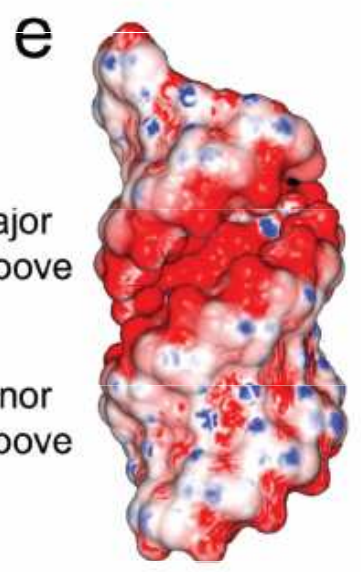
Z-DNA (GC)

■ concave
■ convex

+ triplex,
kvadruplex ...

electrostatics

major groove
minor groove



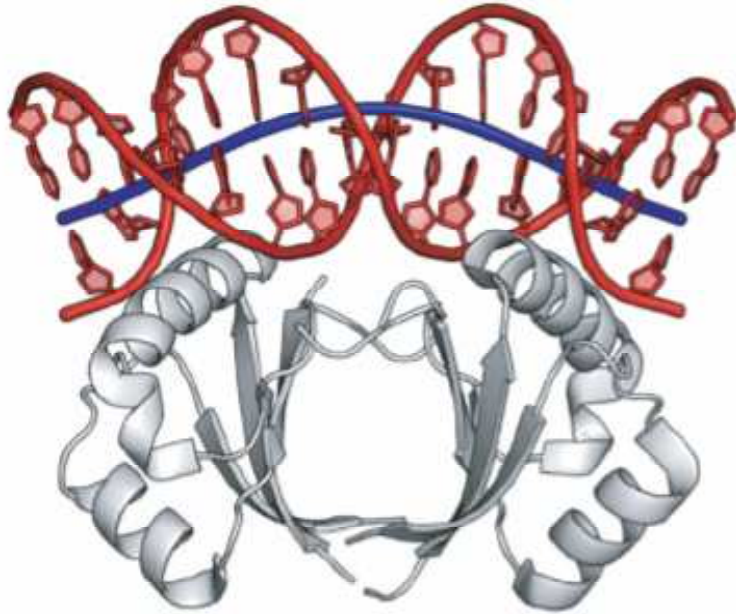
■ negative potential
□ neutral
■ positive potential

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



Vazba DNA-protein může indukovat změny

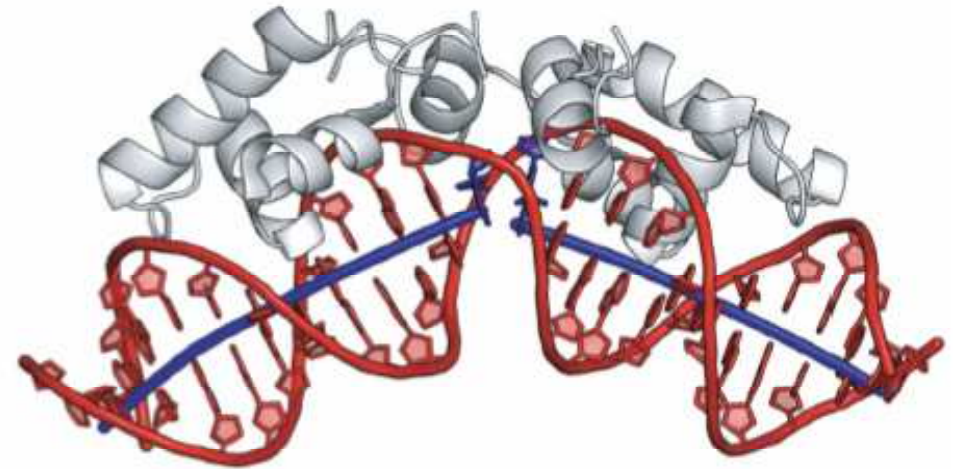
a



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)

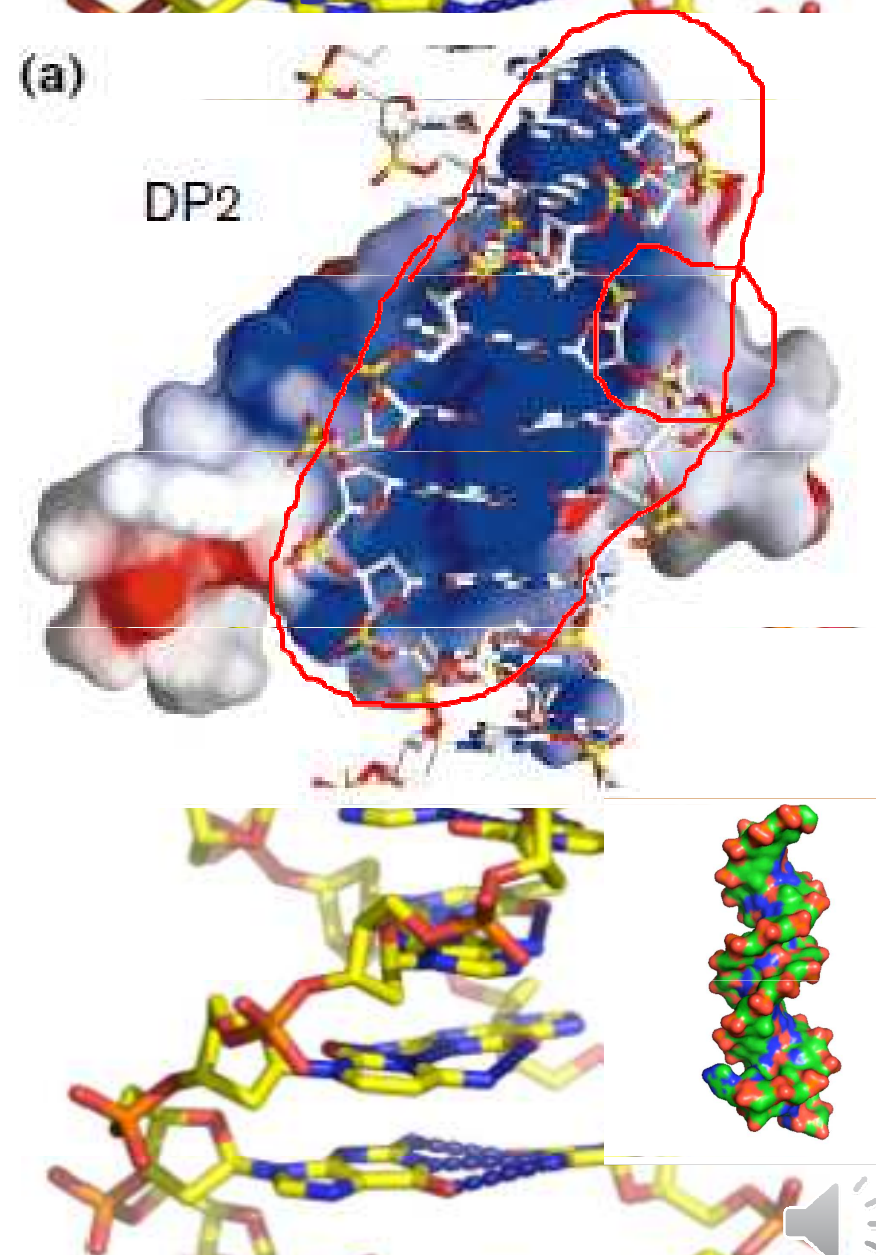


Vazba proteinů s DNA prostřednictvím solných můstků

- 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

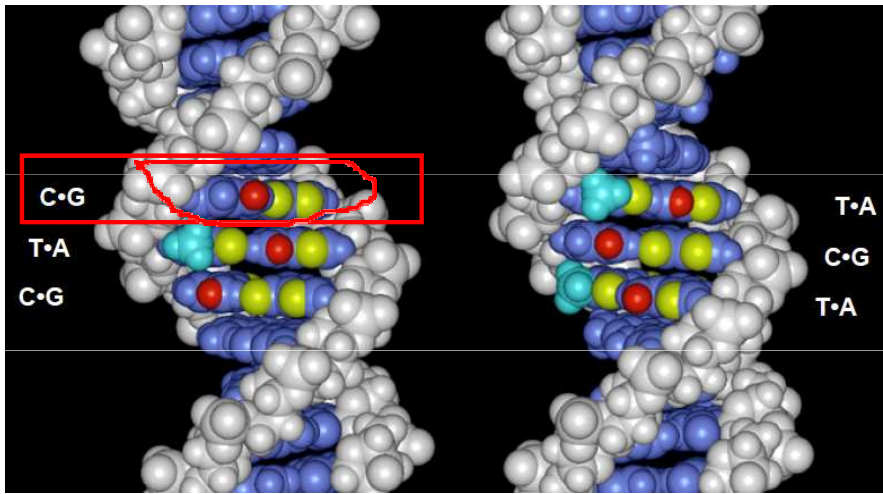
Table 2. The simplified relative charge set defined from CHARMM (10) used in the calculation of the electrostatic potential of atoms in the DNA-binding proteins

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



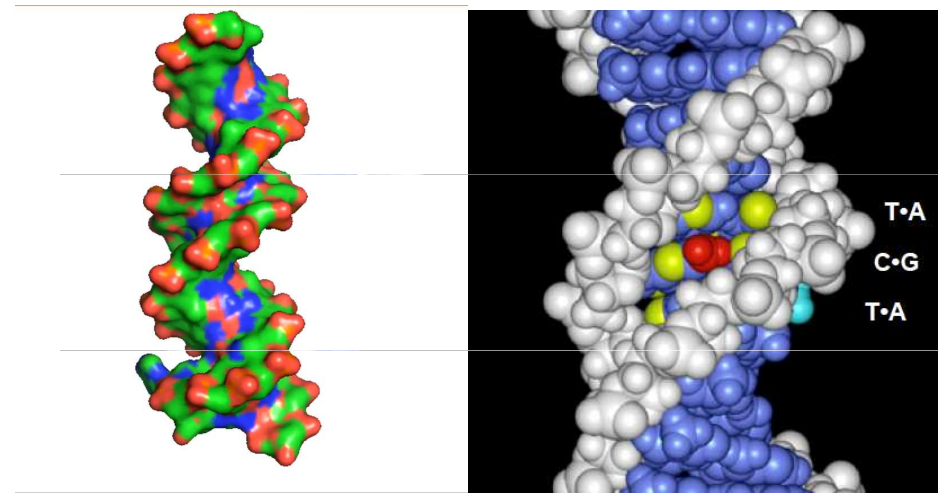
Major groove

Major groove

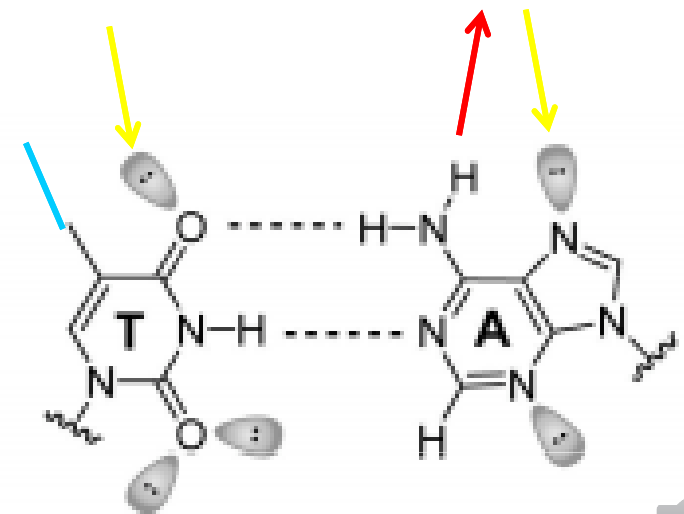
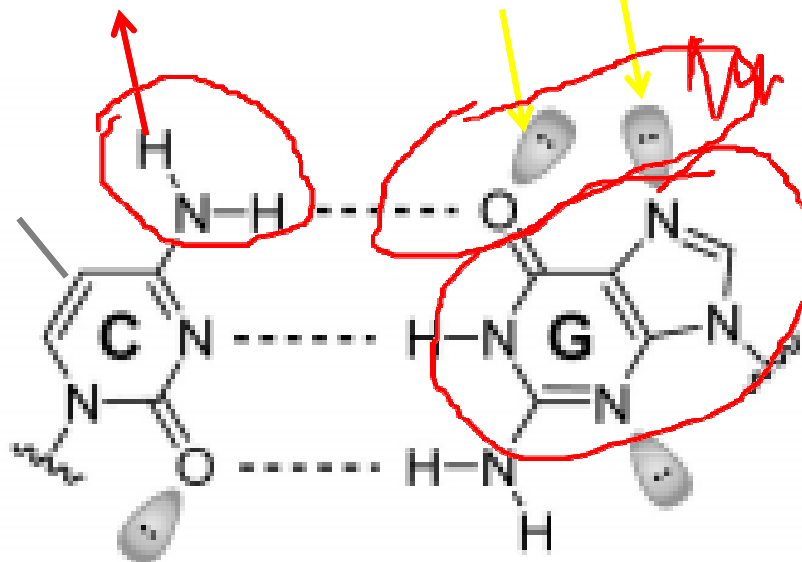


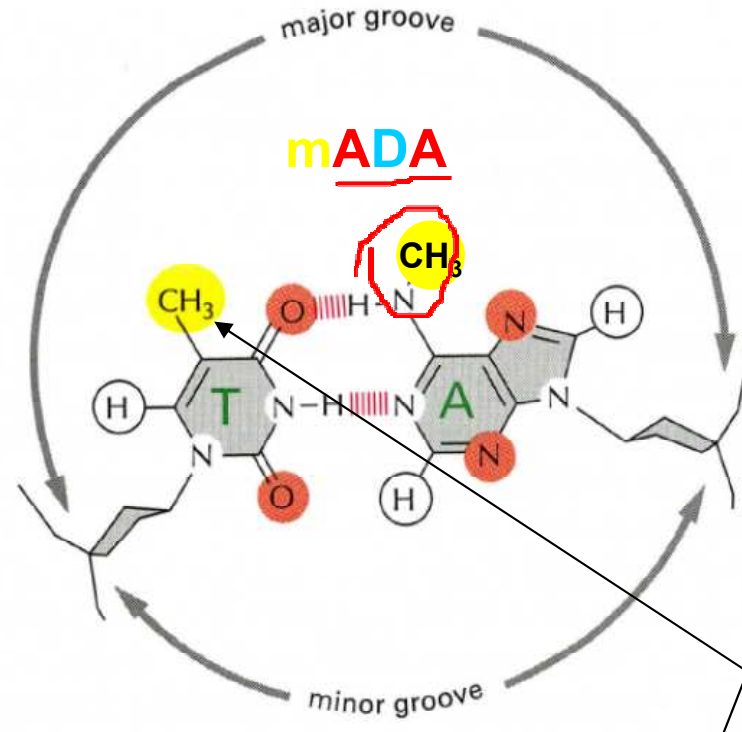
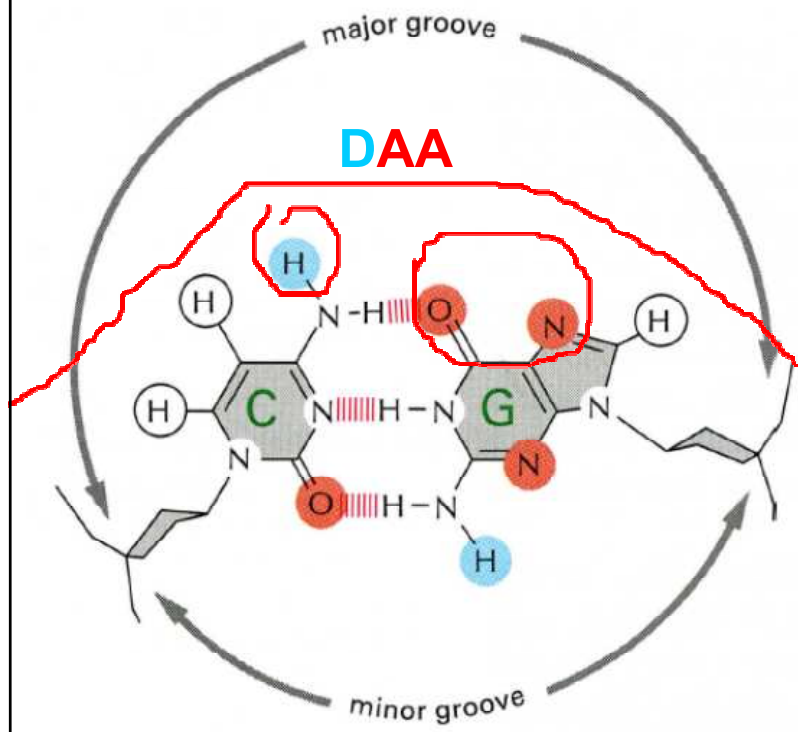
Minor groove

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)

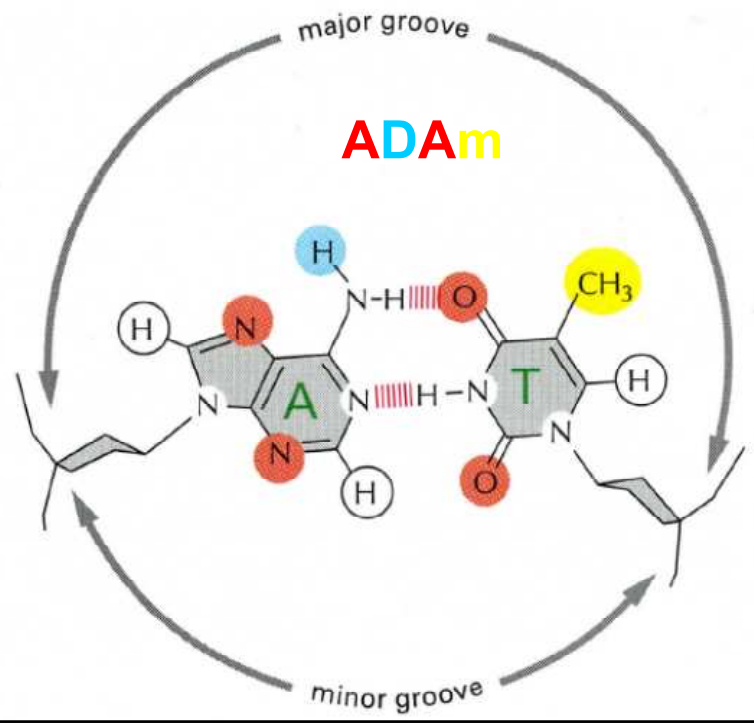
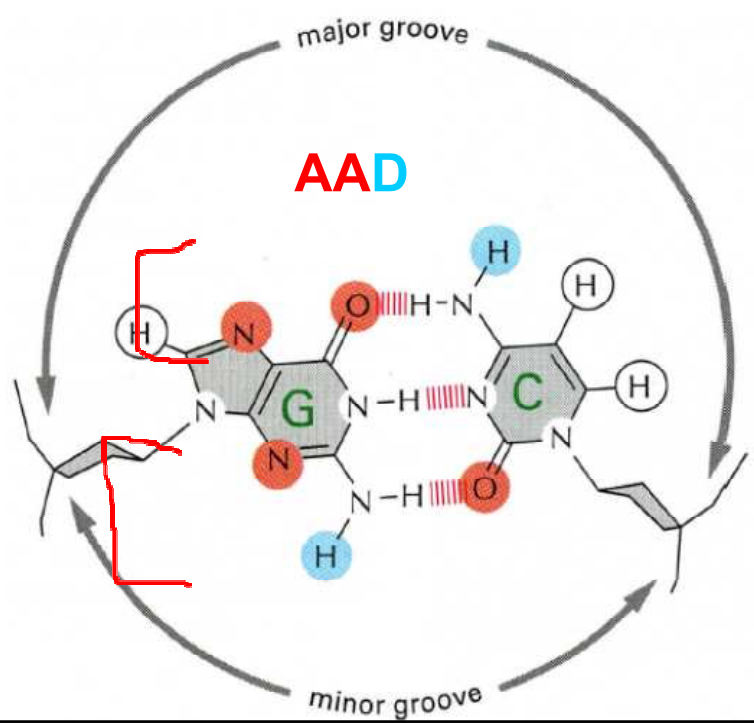




Jak odliší
protein různé
páry bází?

“base readout”

Pozice donor vs
akceptor
+ metyl skupina



Metylace 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**

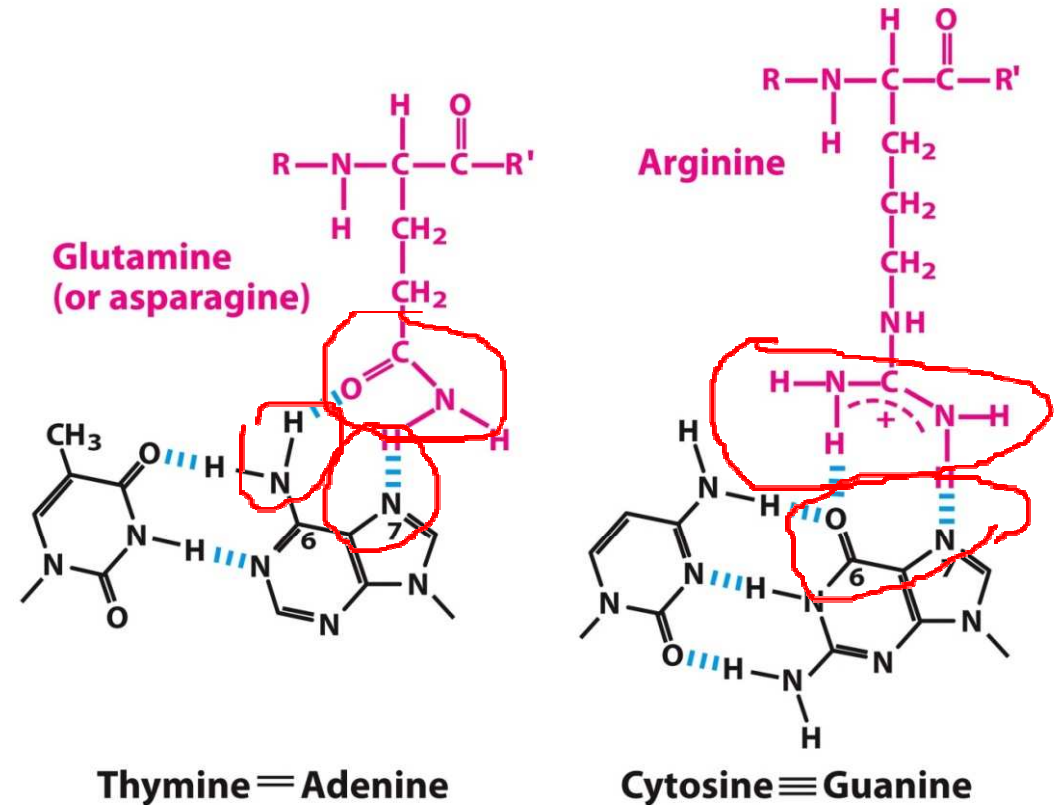
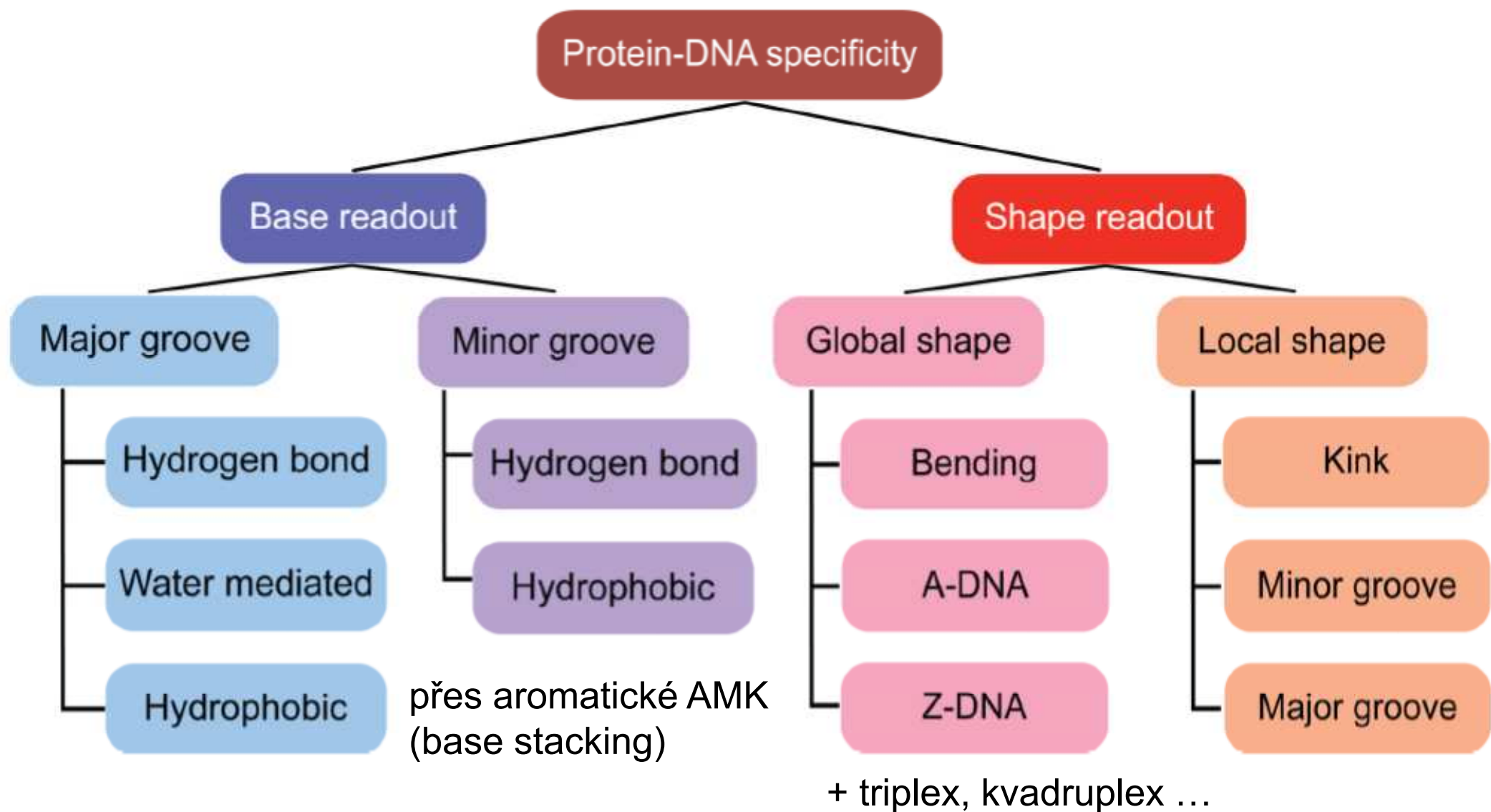


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

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



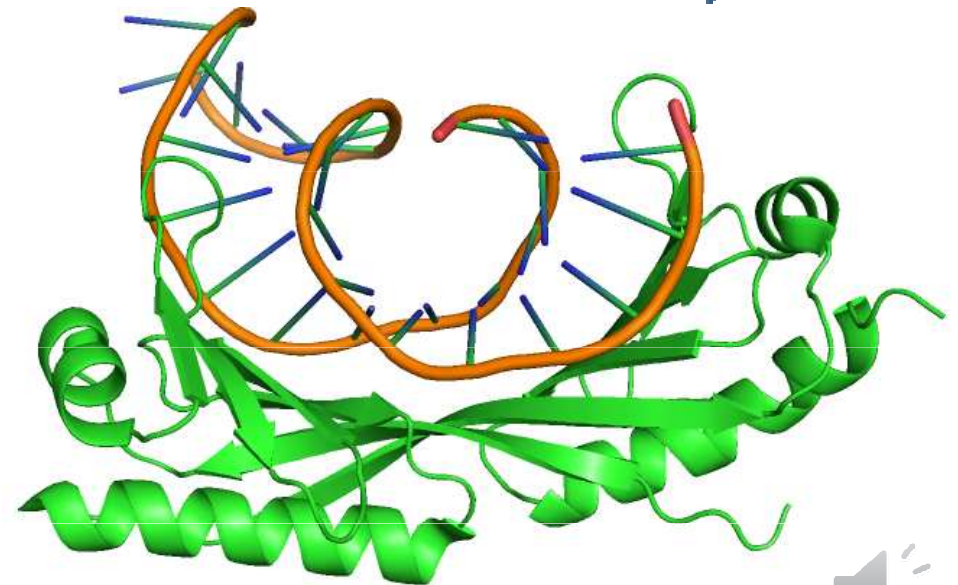
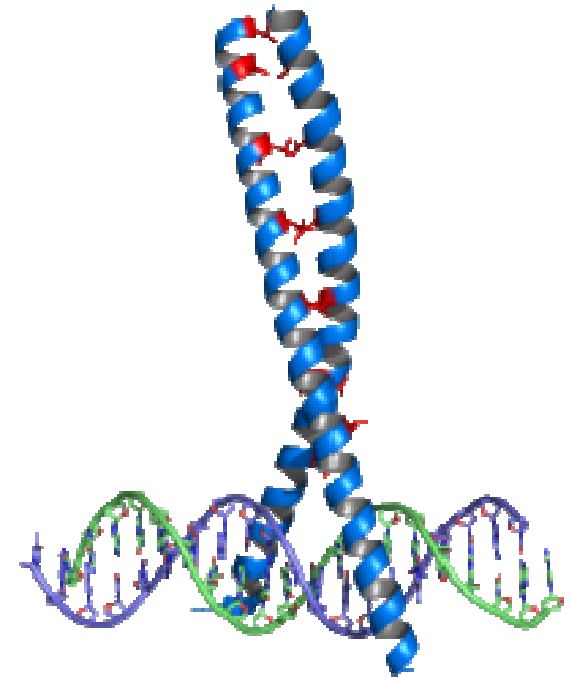
- více jak 70 SCOP superrodin (strukturních motivů)
- dle sekundárních struktur – α -šroubovice (17), β -listy (7), smíšené α/β motivy (48)



Motivy DNA vazebných domén

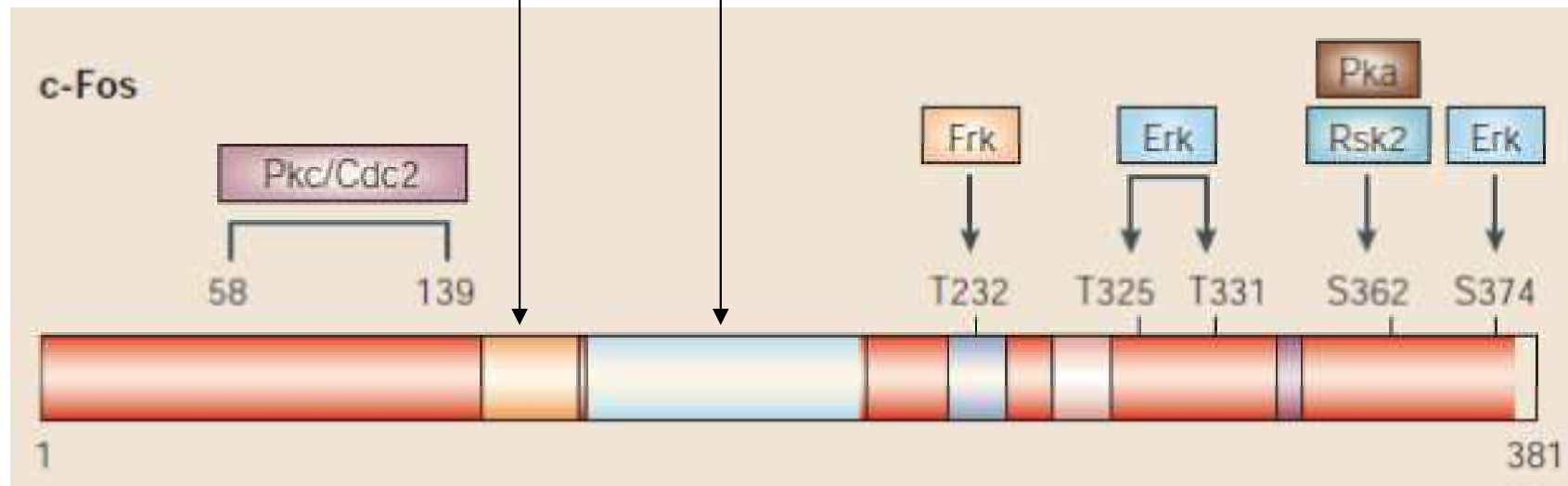
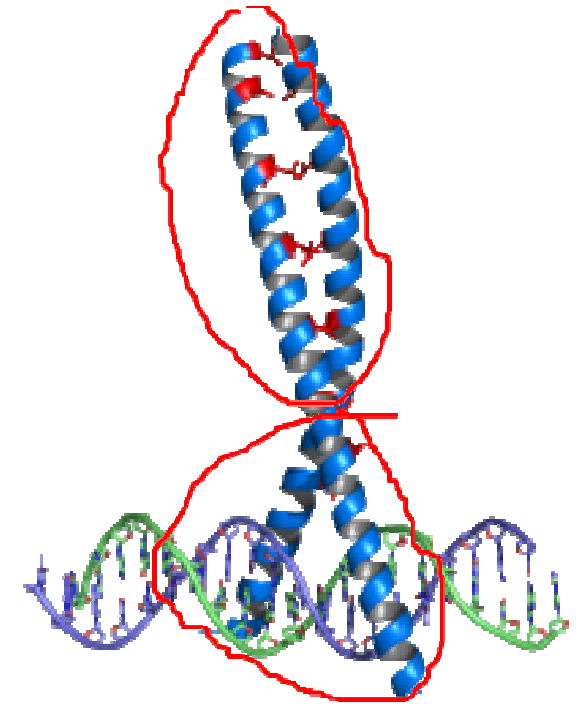
- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4
- **Histon, HMG-box**
- **β -sheet motivy**

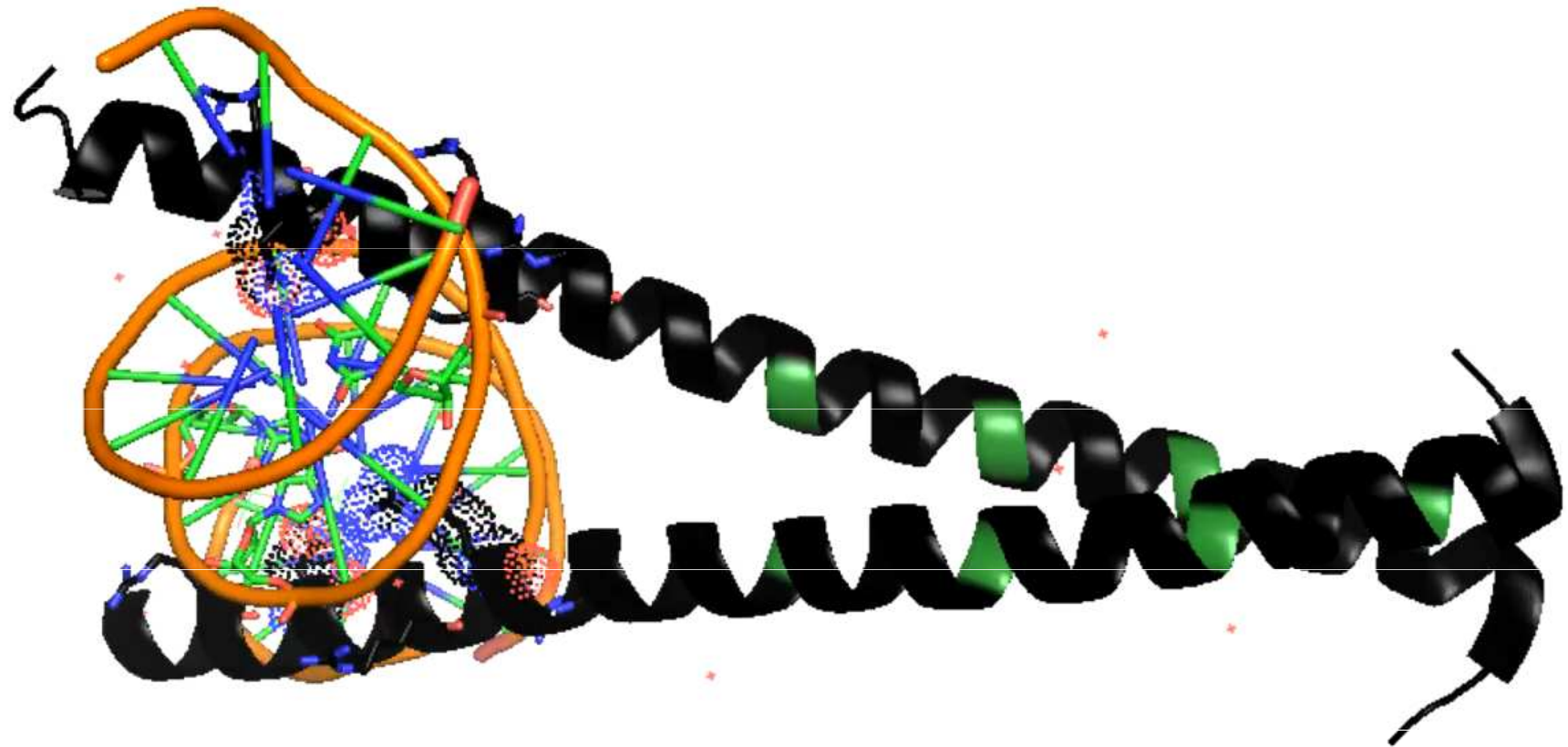
α -šroubovice



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: 1TSA 

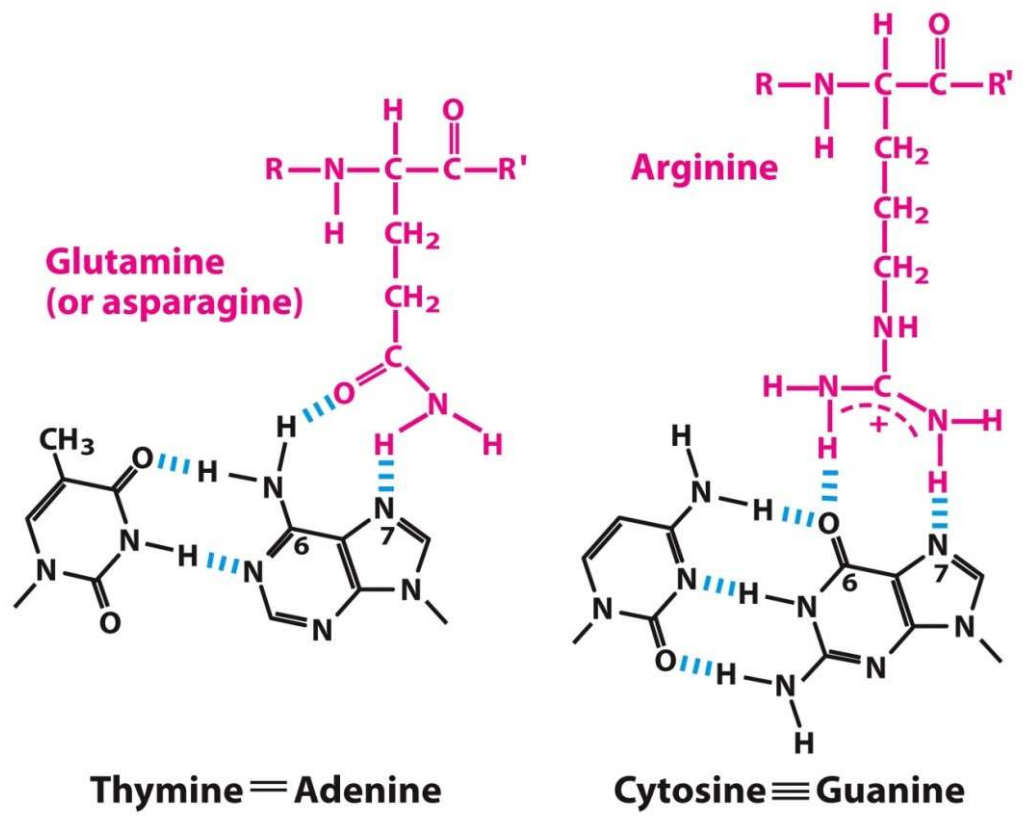


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Konsensus sekvenca: TGACTCA

Key



Backbone sugar and base-number

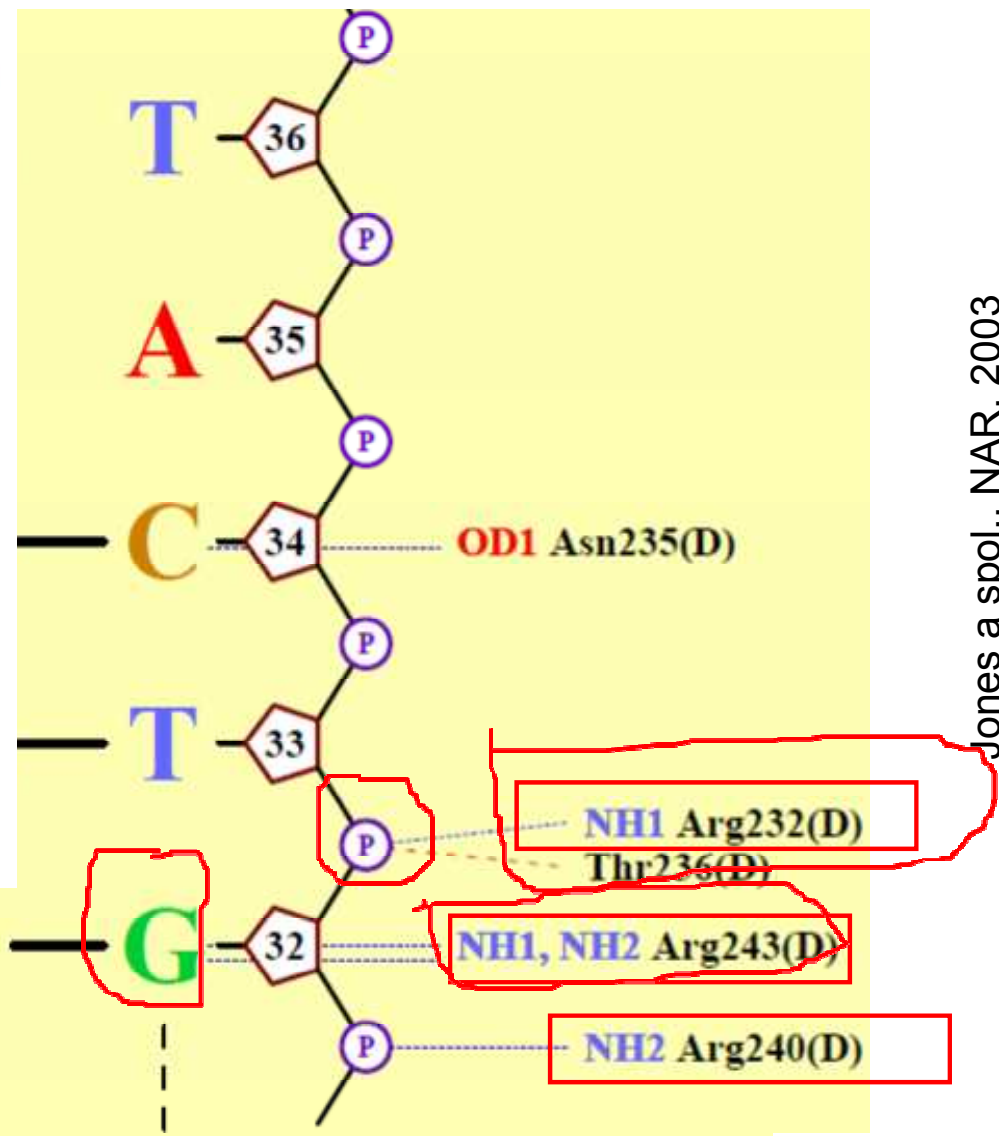


Phosphate group

Hydrogen bond to DNA

Nonbonded contact to DNA (< 3.35Å)

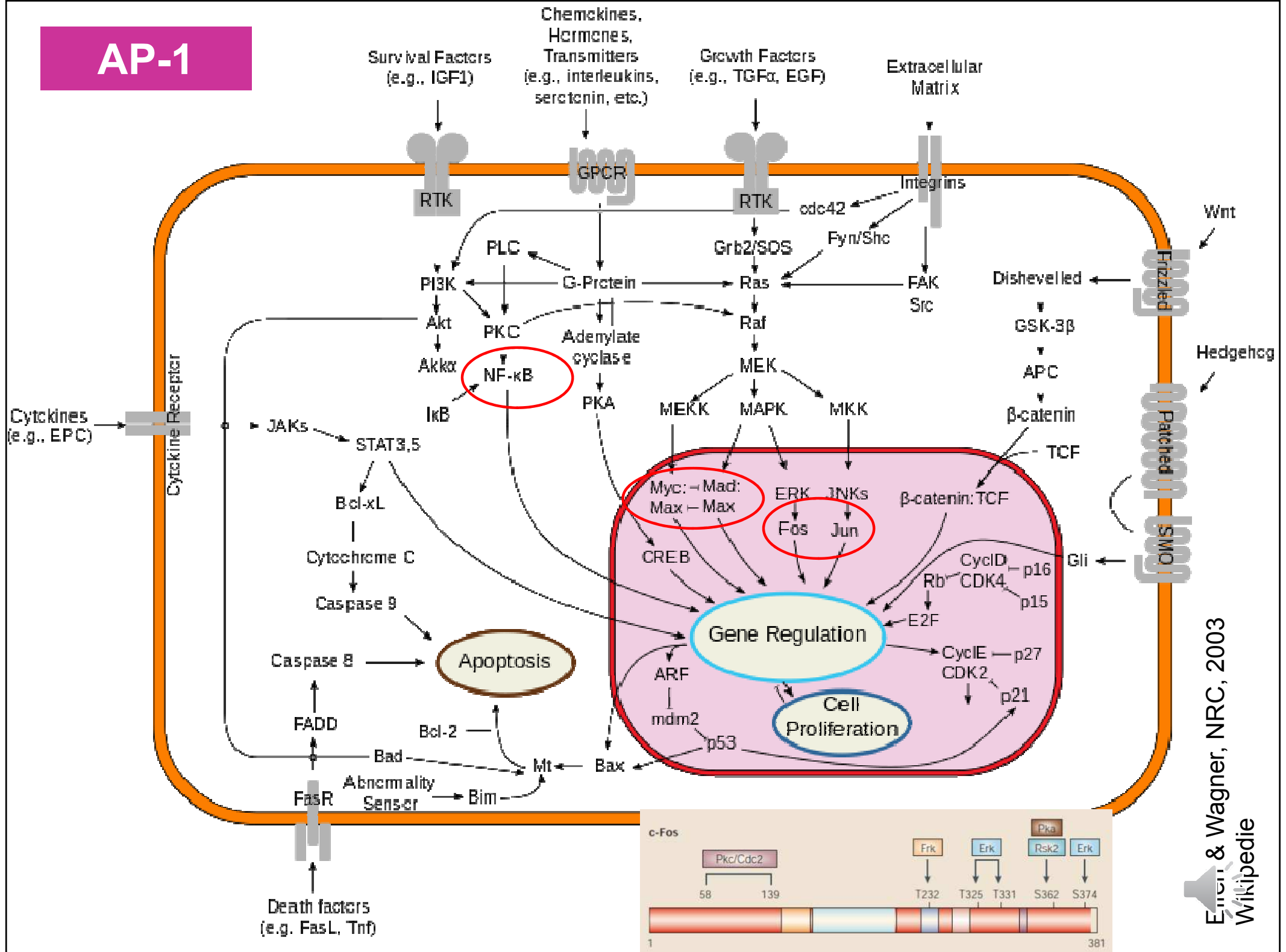
88 Water molecule and number

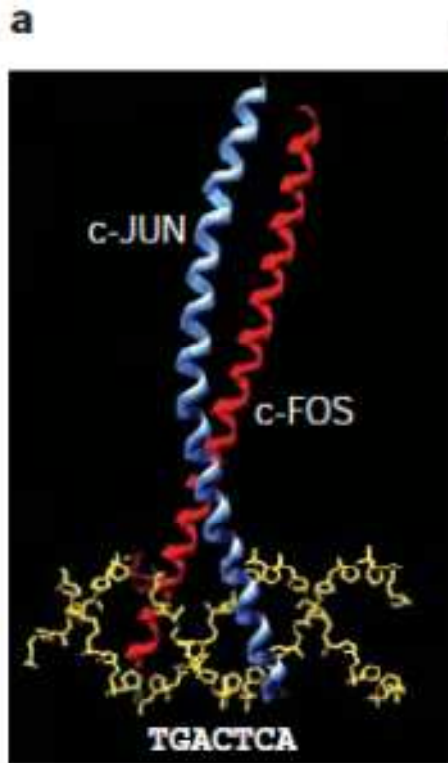


Jones a spol., NAR, 2003

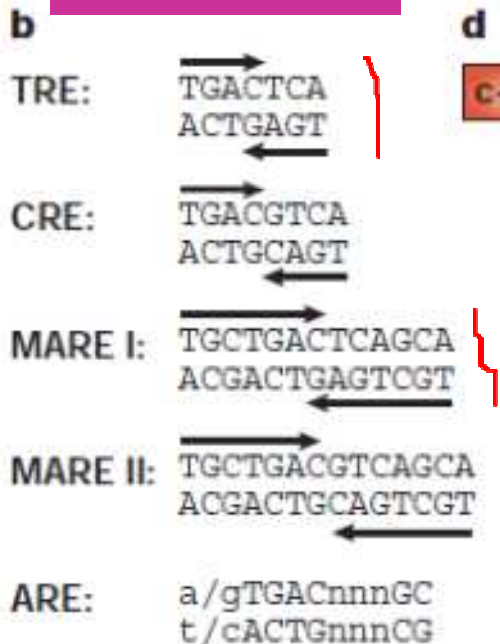


AP-1





AP-1



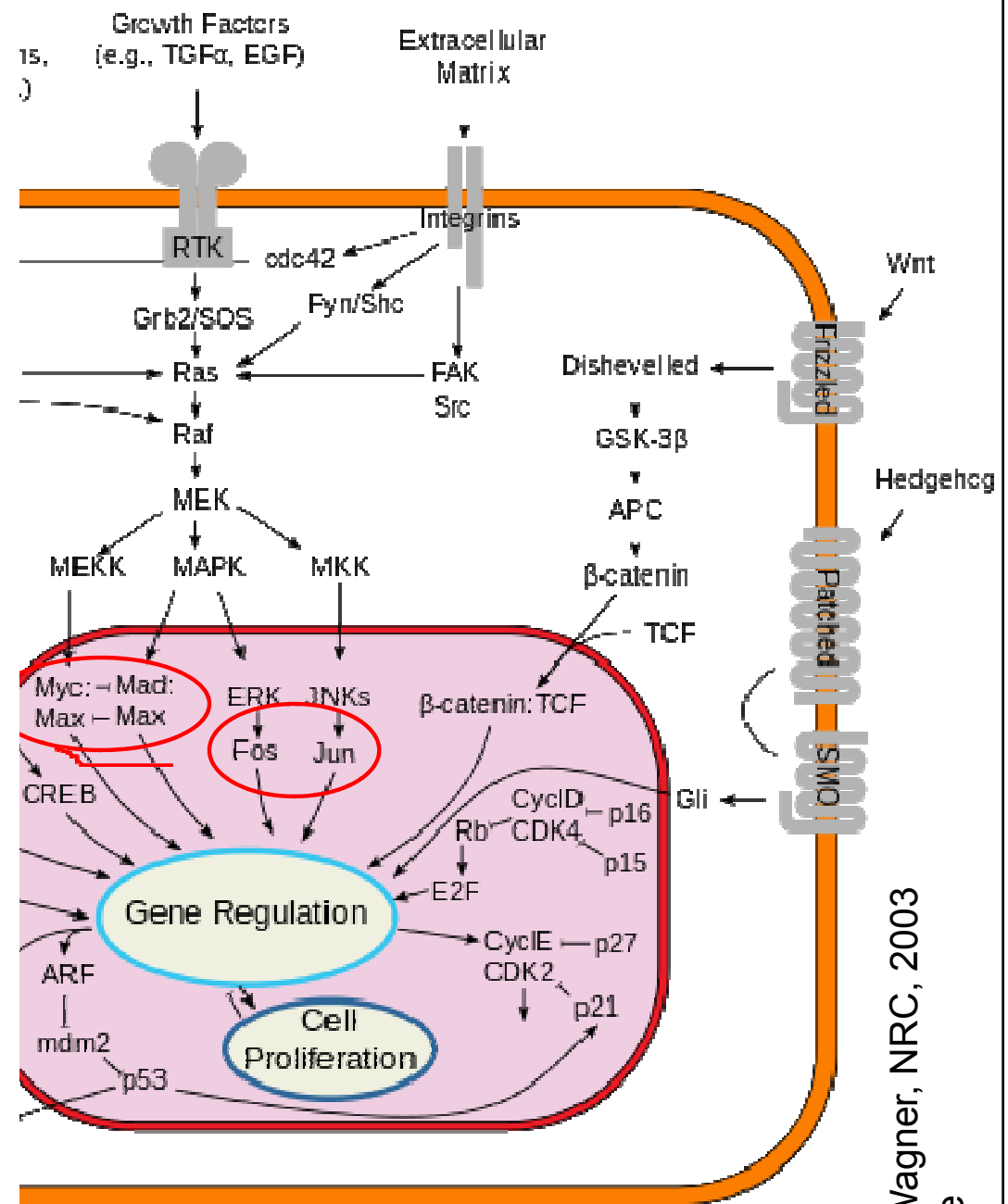
(e.g. FasL, INT)

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

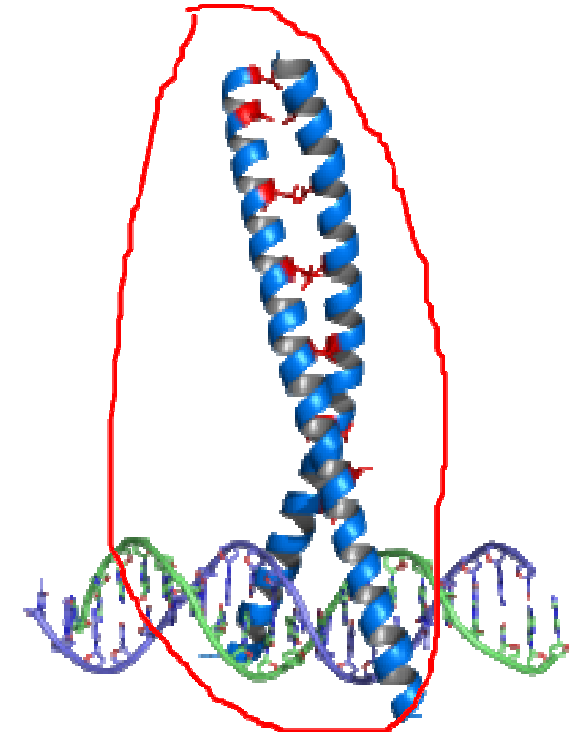
c-FOS	c-JUN	(TRE > CRE)
	JUNB	(TRE > CRE)
	JUND	(TRE > CRE)
	ATFa	(No binding)
	ATF2	(CRE > TRE)
	ATF4	(CRE)
	c-MAF	(MARE I/II)
	MAFA	(MARE I/II)
	MAFB	(MARE I/II)
	NRL	(TRE-related)
	MAFF/G/K	(MARE I/II)
	NRF2	(ARE)
	NFIL6	(TRE)



Kombinace – různá specifita/afinita

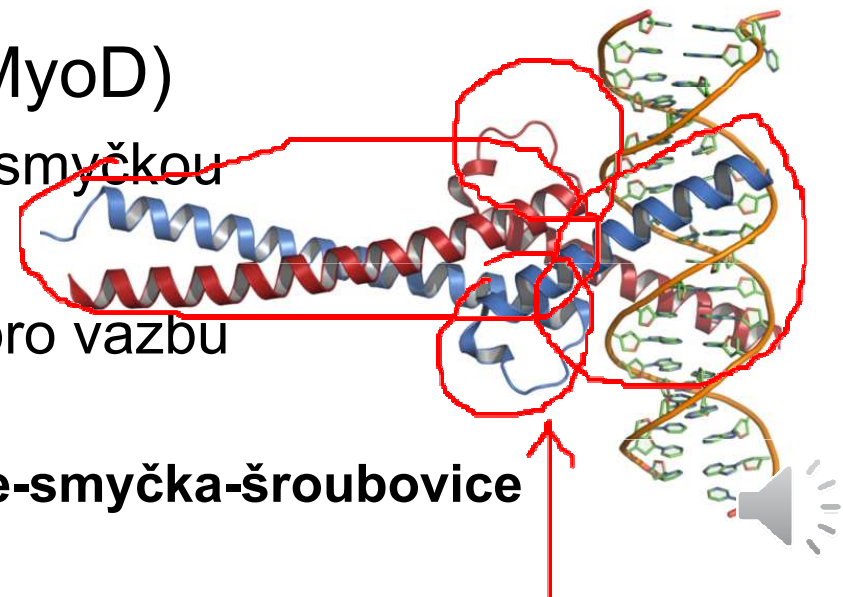
Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ** (dle způsobu dimerizace)
 - **Leucinový zip** (tzv. bZIP = basic – transcr. fact. yGCN4, c-Jun/c-Fos)
 - 2 α -helixy (2 x 60 AMK)
 - coiled-coil (30AMK, Leu, C-term)
 - basická 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

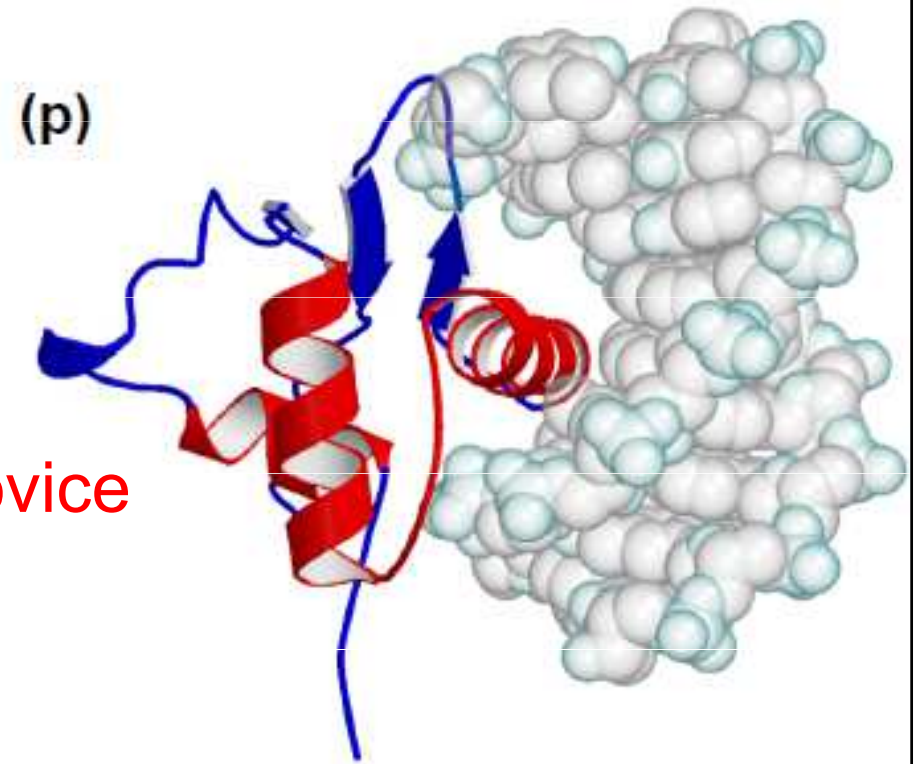
- **Helix-otáčka-helix**

- HTH
- Winged helix
- TALE

- **Zinkový prst**

- $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
- Hormon-receptor
- Loop-sheet-helix
- Gal4

α -šroubovice

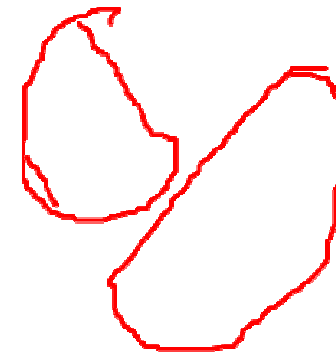
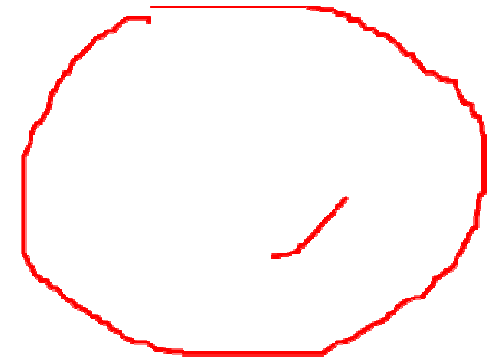


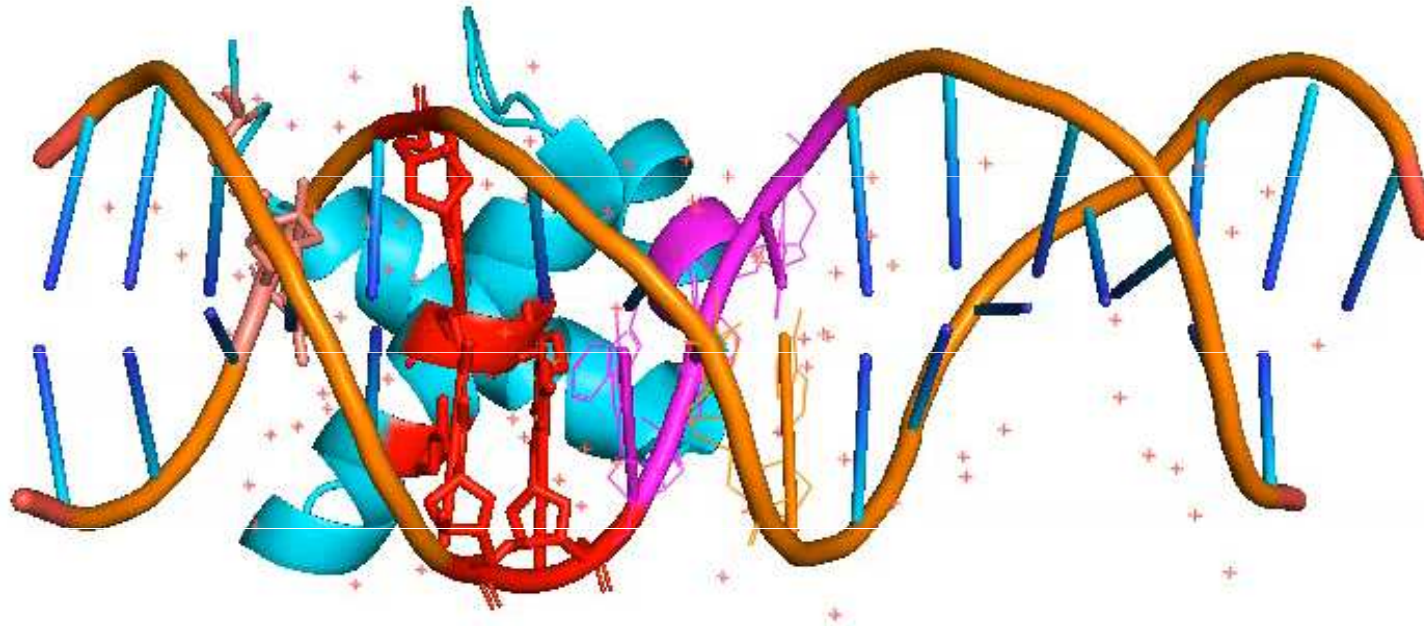
16. Ets domain (1bc8)



Helix-turn-helix motiv (HTH)

- Obsahuje ~ 20 AMK ve dvou šroubovicích vzájemně kolmých
 - α -helix pro vazbu na DNA („recognition“) - β -obrátká – 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)





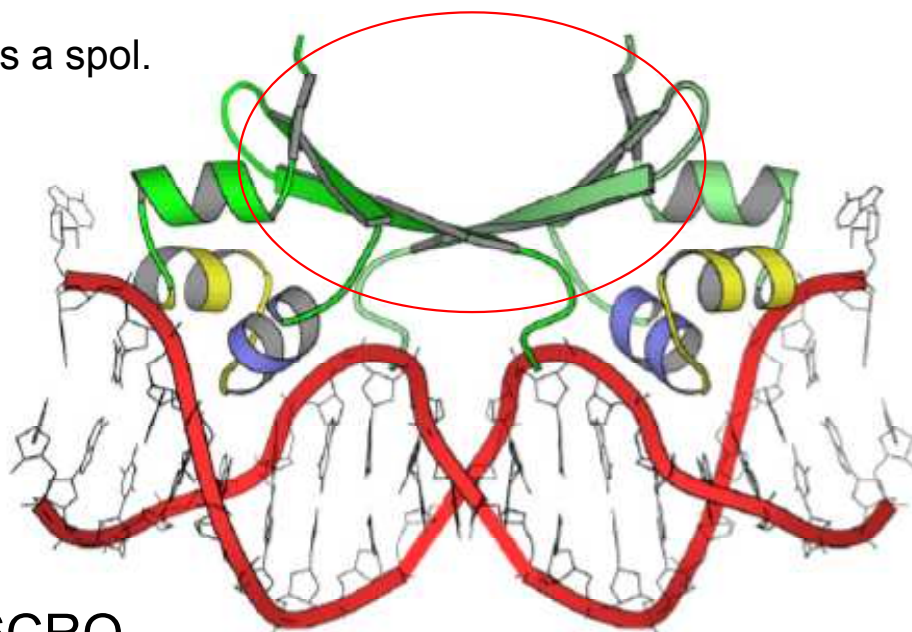
AMK motiv: **KDRWR**

DNA sekvence: **TTAGGG** (komplementární: **CCCTAA**)

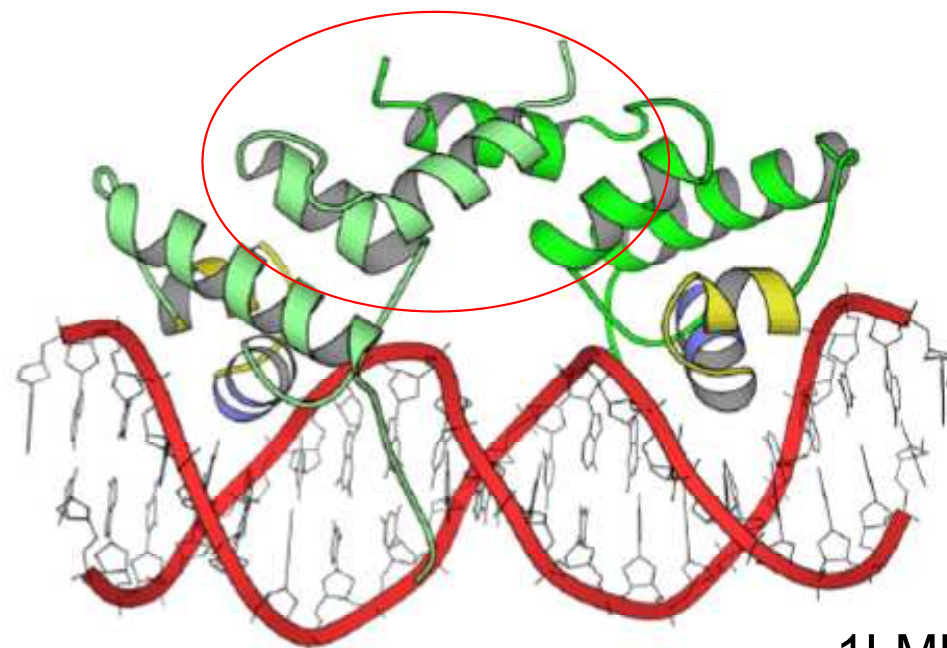
TRF2 (myb) doména – vazba na telomery (Shelterin komplex)

PDB: 1W0U 

Liljas a spol.



6CRO



1LMB

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

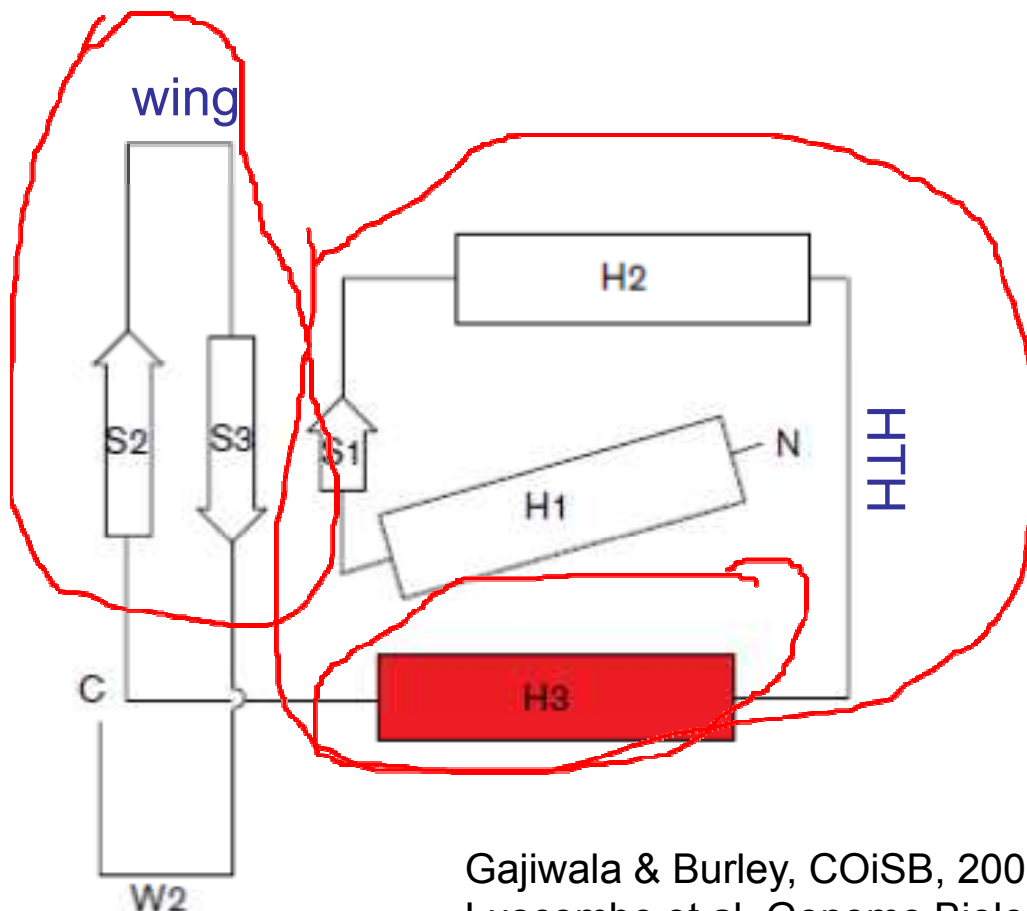
Sekvenčně se různé HTH příliš nepodobají

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)



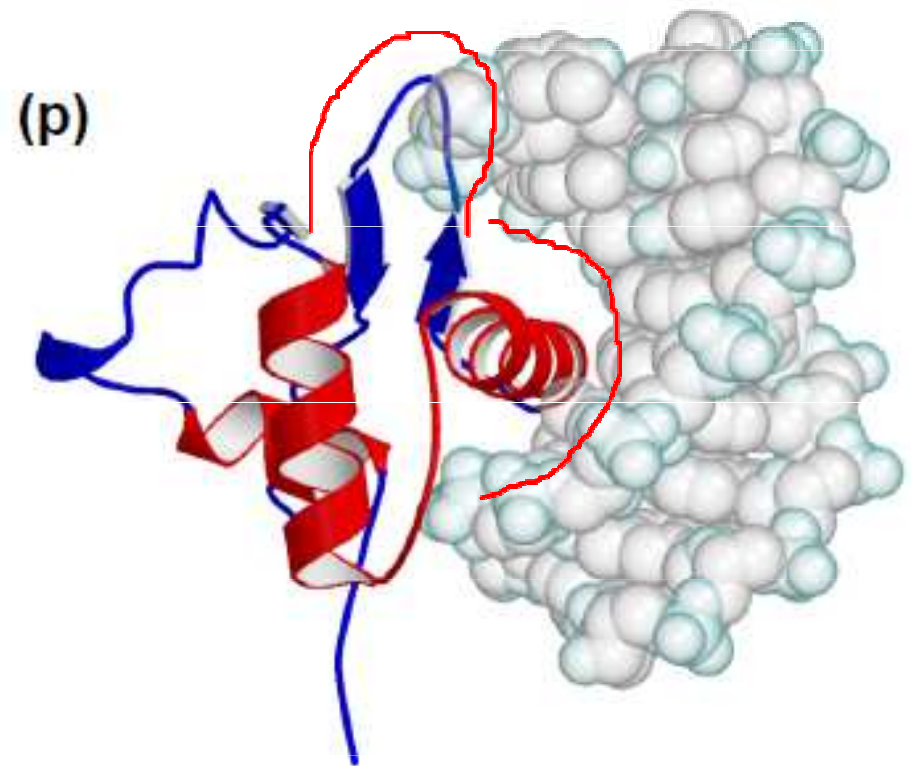
„Winged“ helix (okřídlená šroubovice)

- „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



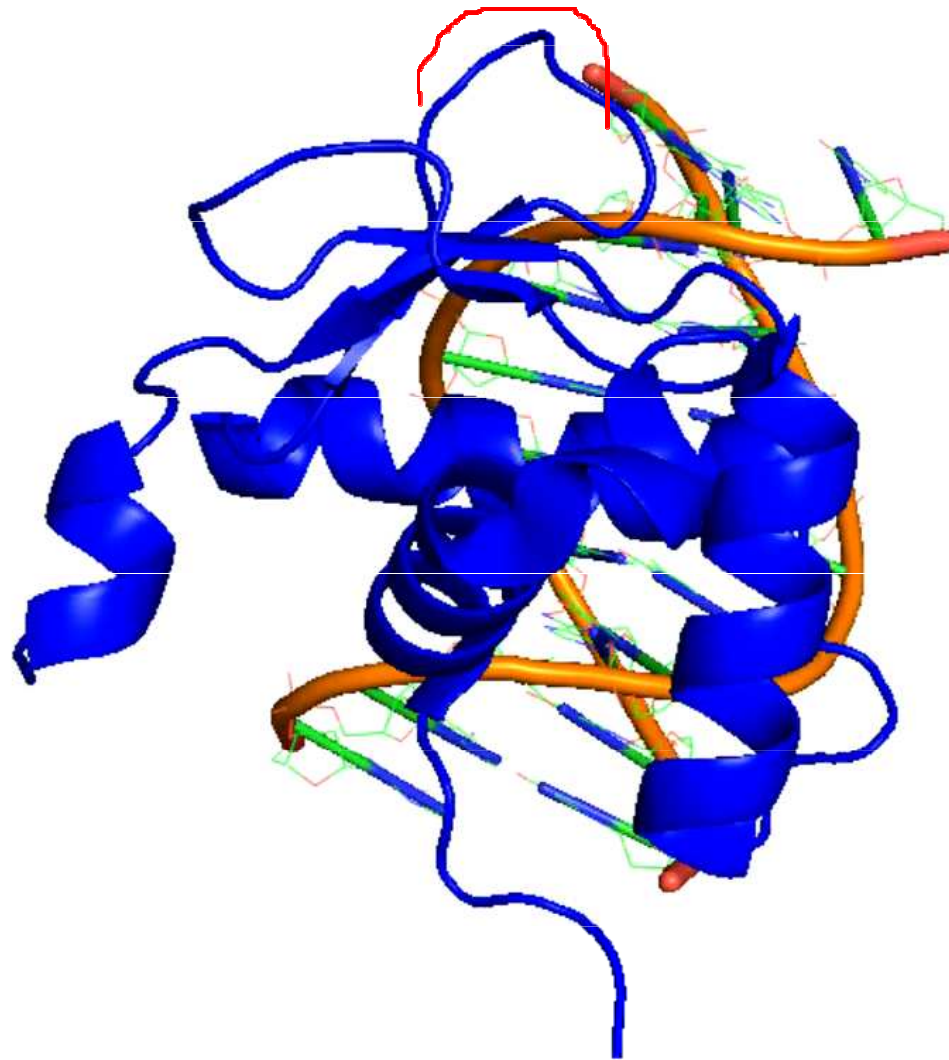
(p)

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



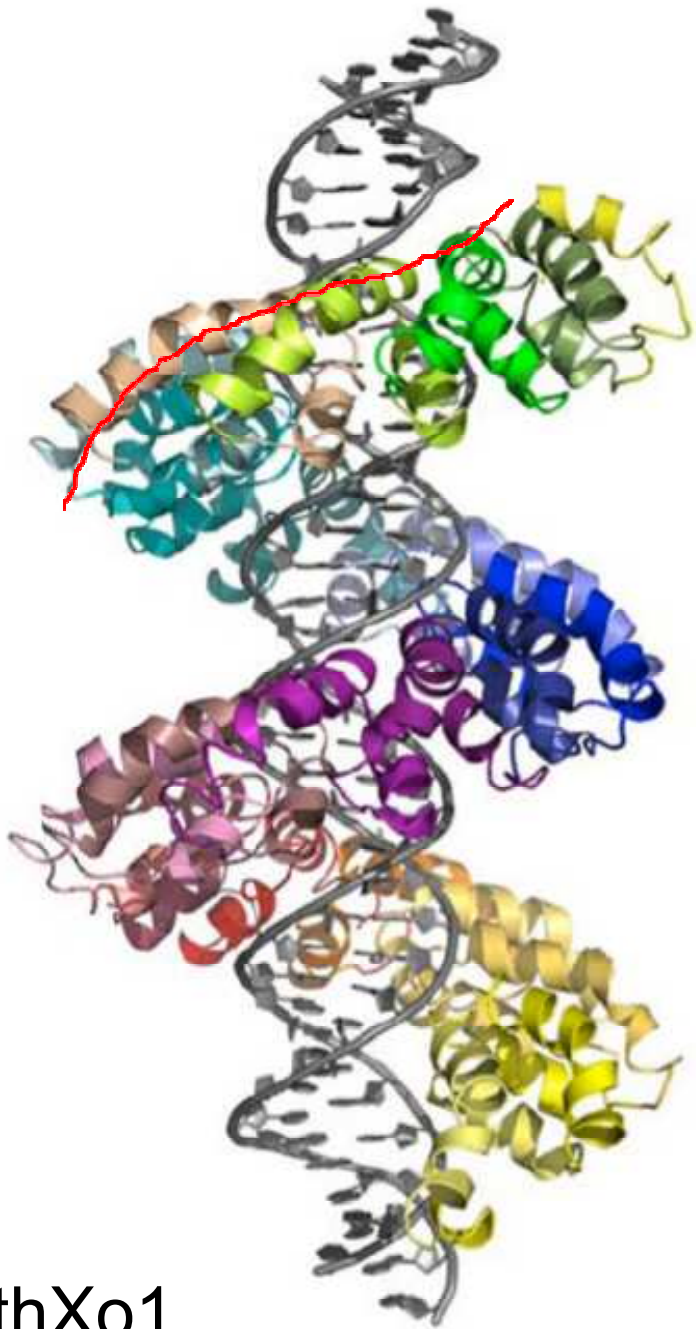
PDB: 1BC8, SAP-1

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



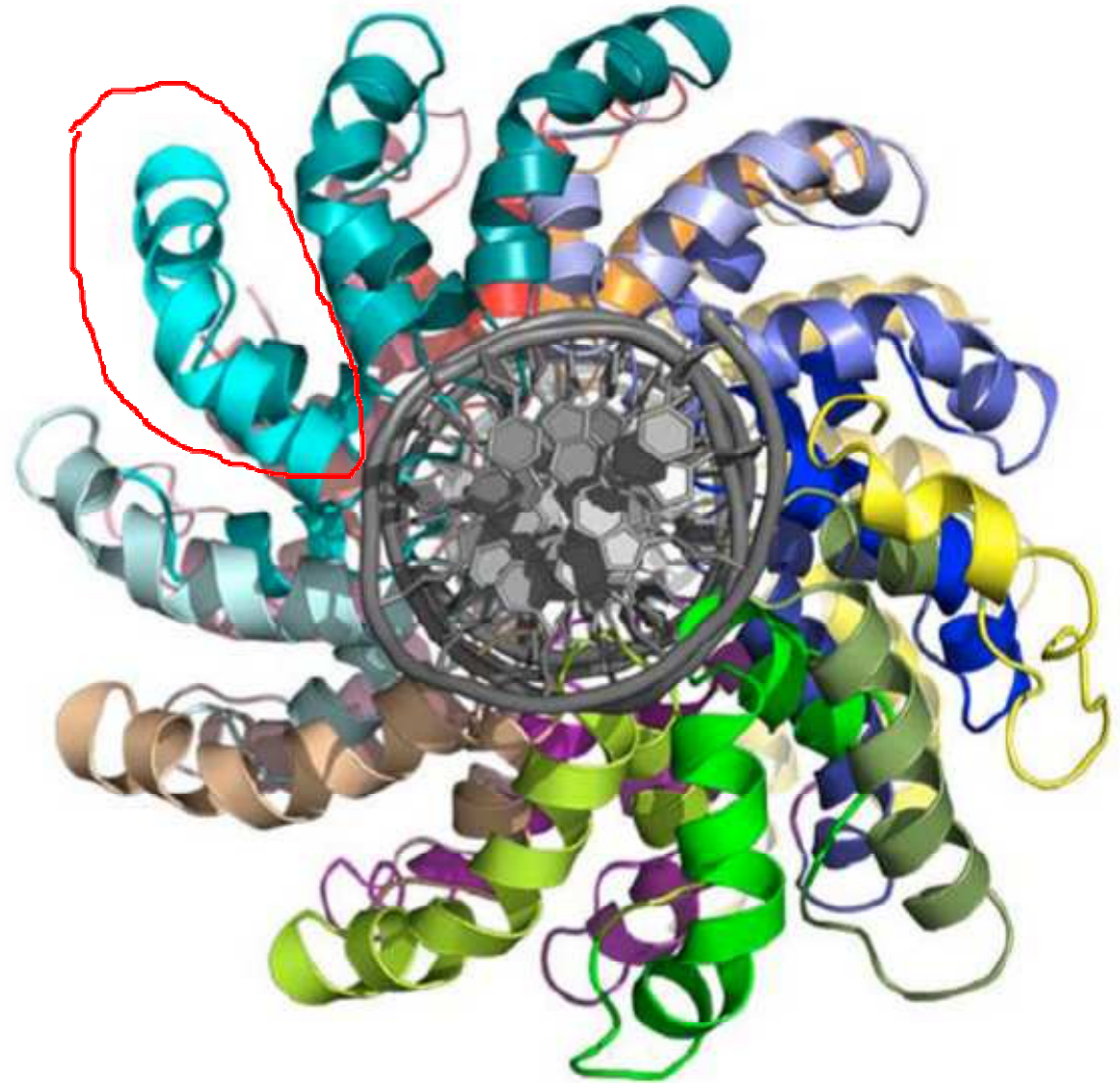
Transcription activator-like effectors (TALE)

Patogenní bakterie injikují do rostlinných buněk
ovlivňují transkripci rostlinných promotorů



PthXo1

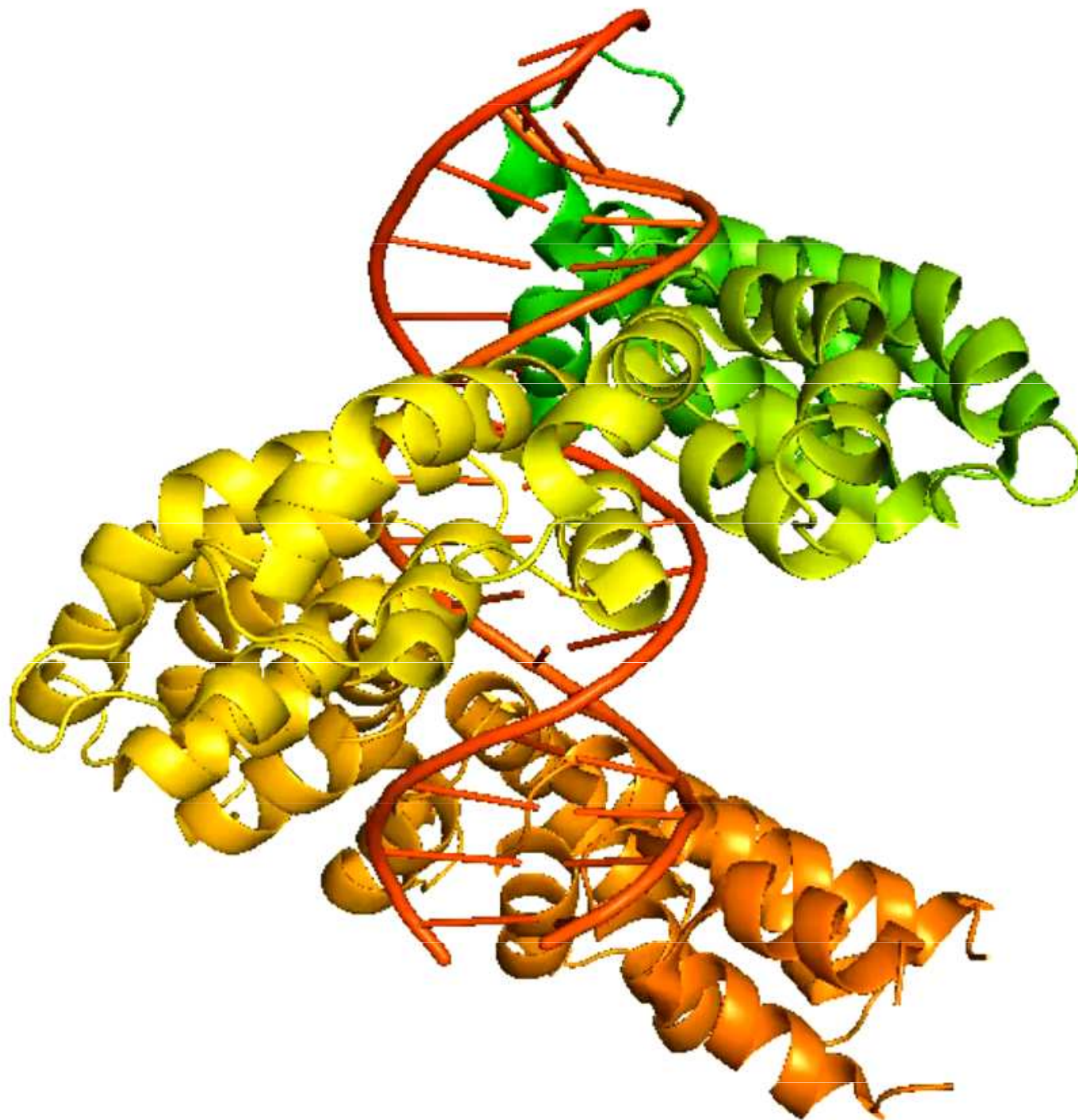
23 repetitivních DNA ve VŽ



TALEN technologie

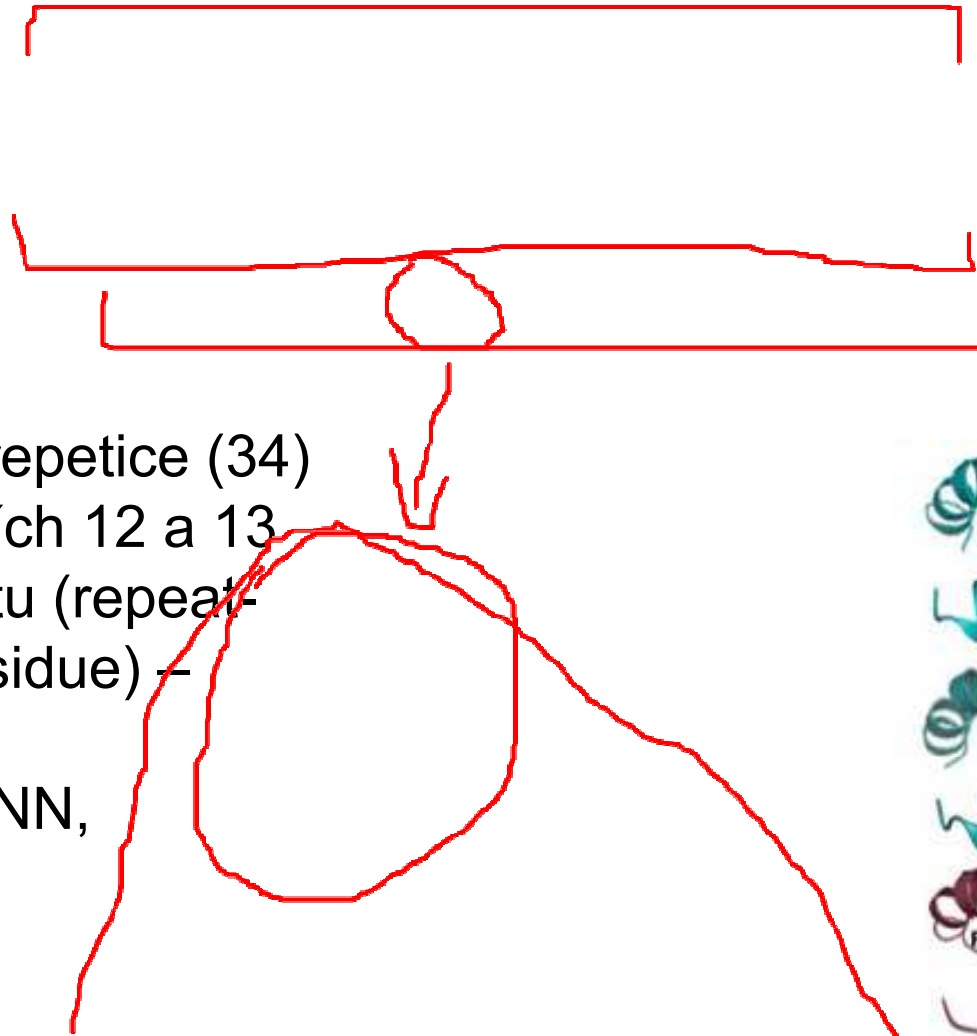
Mak et al, Science, 2012



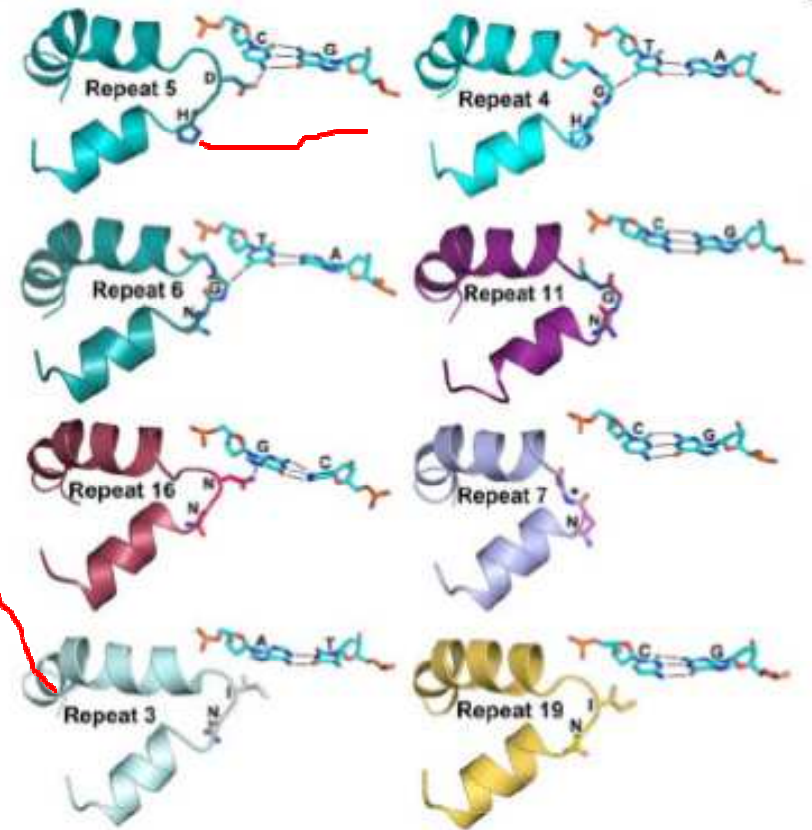


Interaguje otáčka/turn spíše než šroubovice, PDB: 3V6T





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



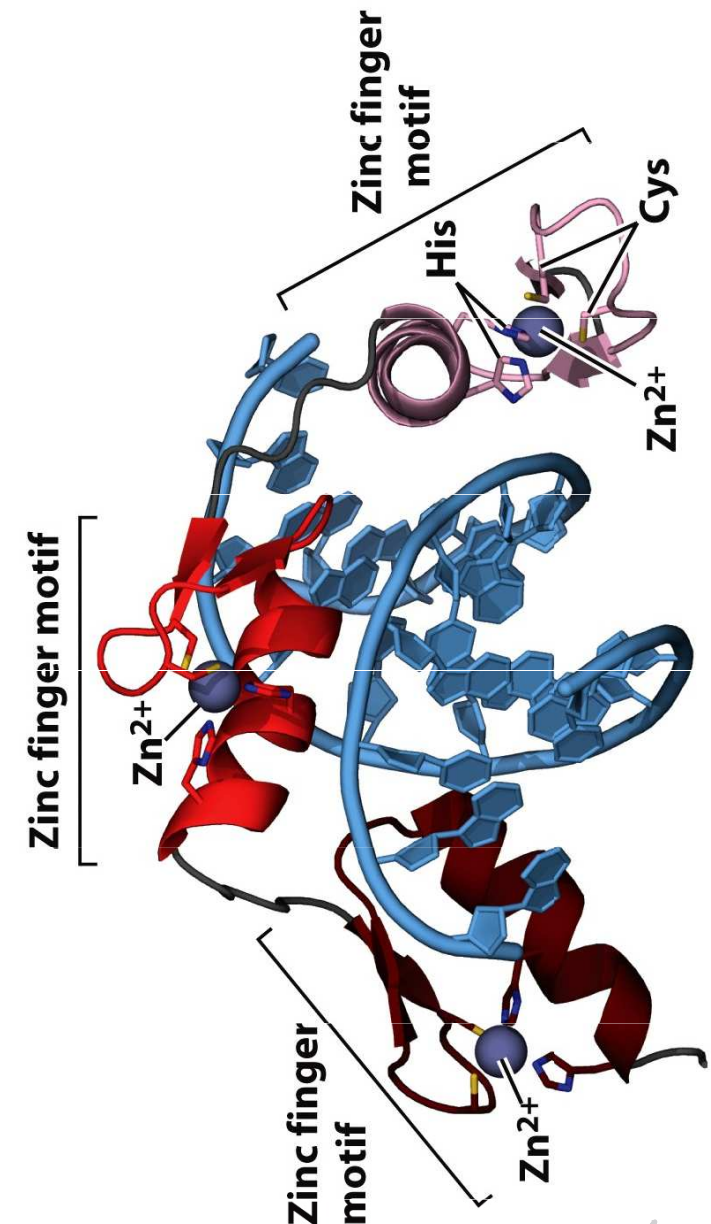
Interaguje otáčka/turn
 spíše než šroubovice



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

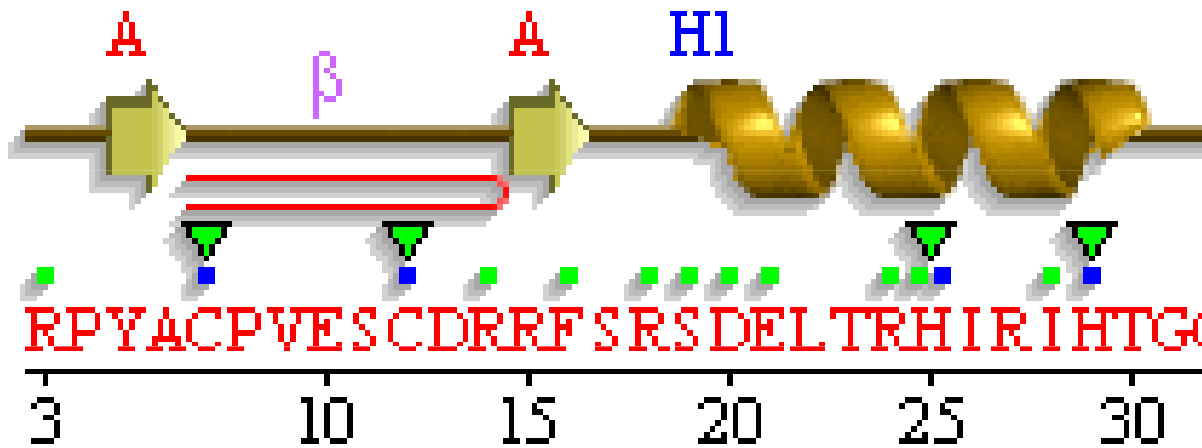
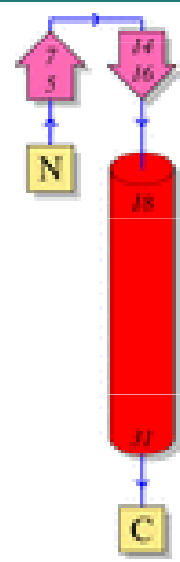
- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - **koordinovaný** 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

C2H2 motiv:

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

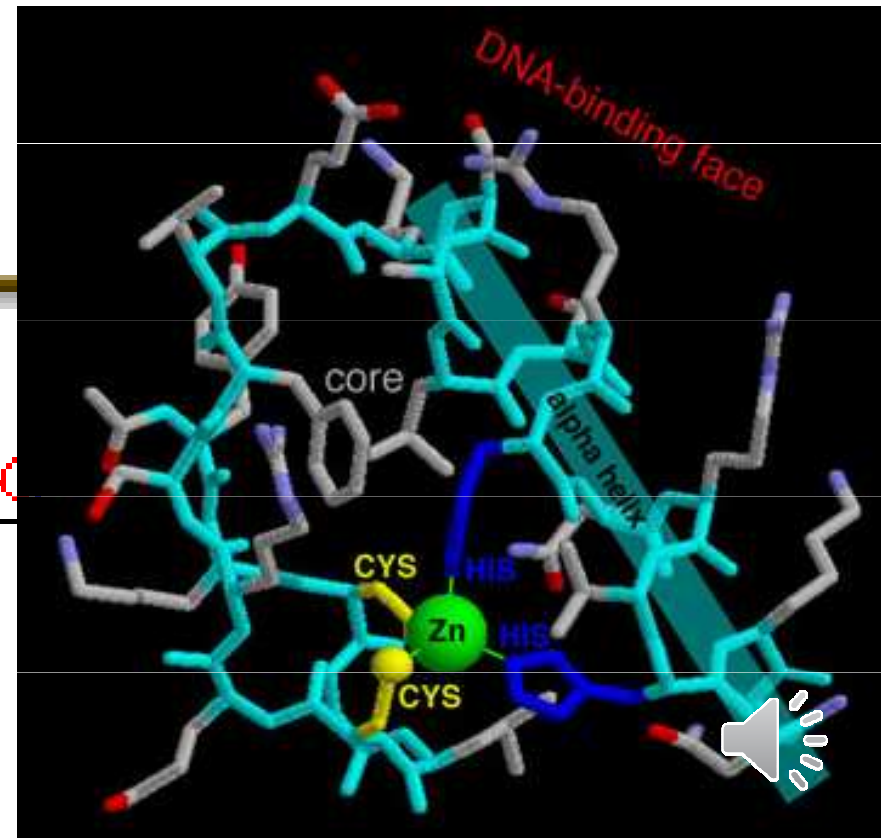
PDB grafika

Domain 1



Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal

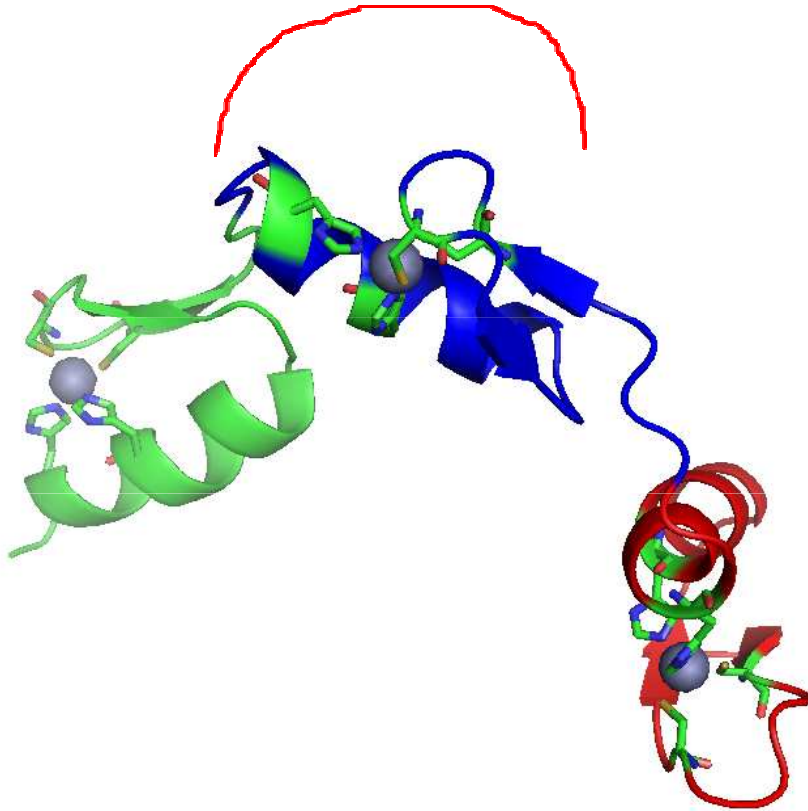


Zinc-finger/Zinkový prst

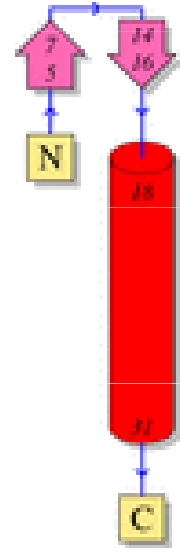
- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - **koordinovaný** 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

C2H2 motiv:

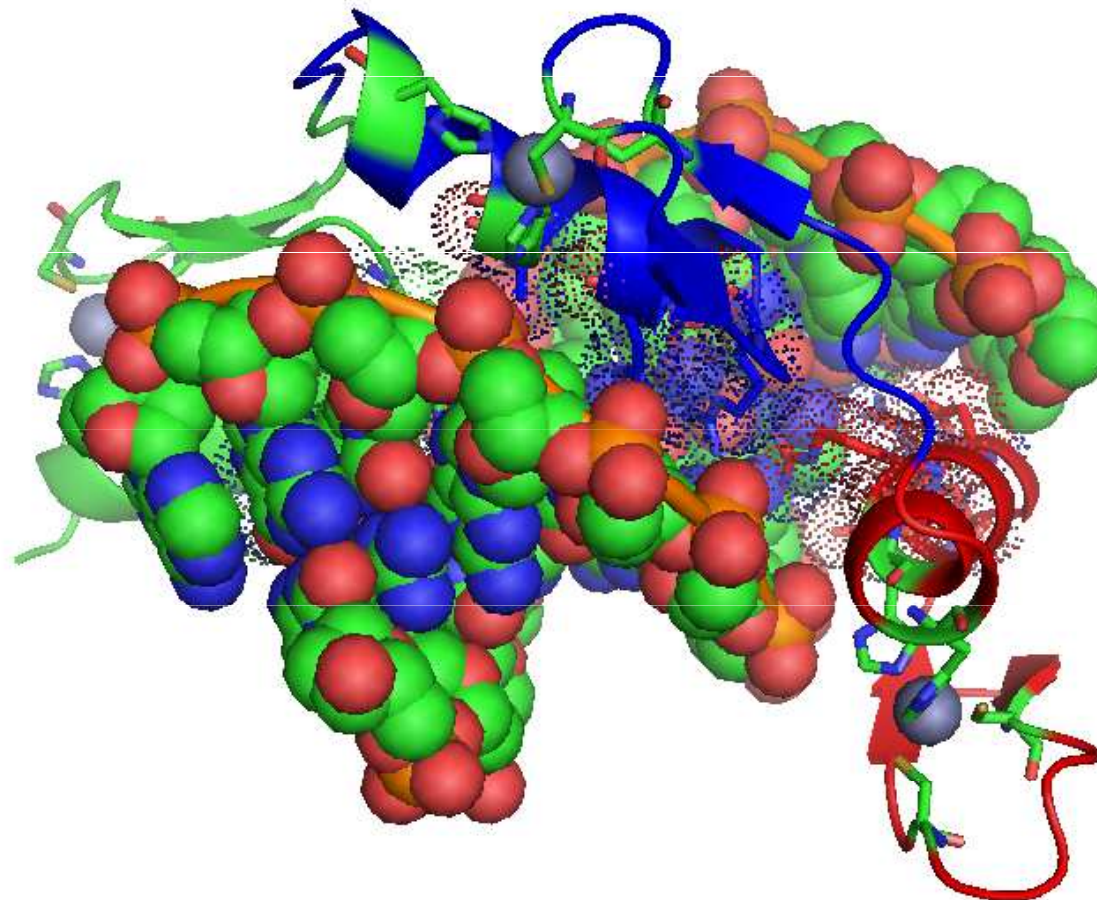
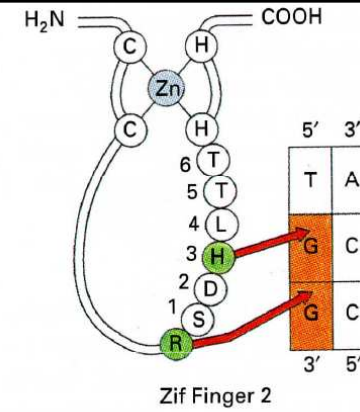
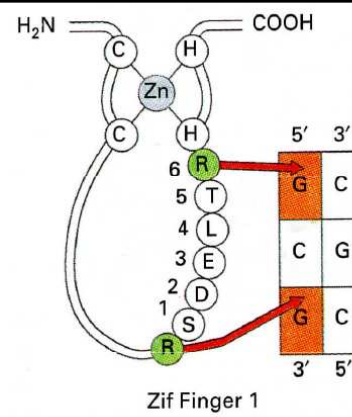
Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His



Domain 1

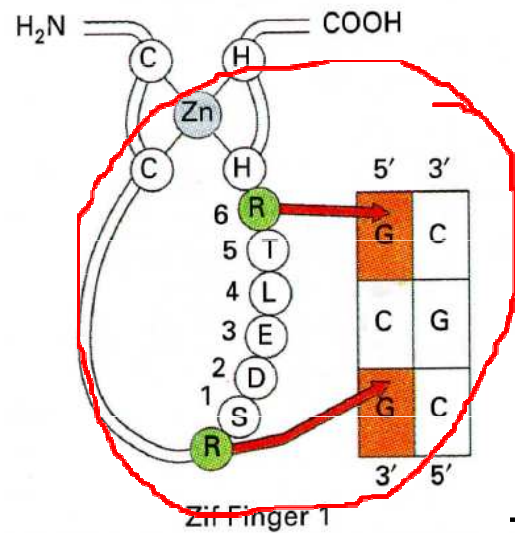


- 3x v Zif268, PDB=1zaa
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ
- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK => sekvenční specifita

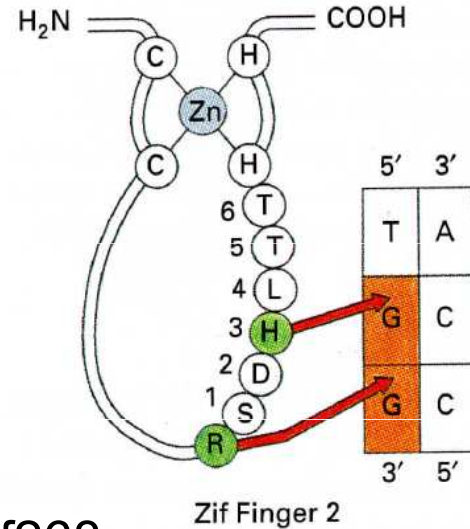


- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity

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

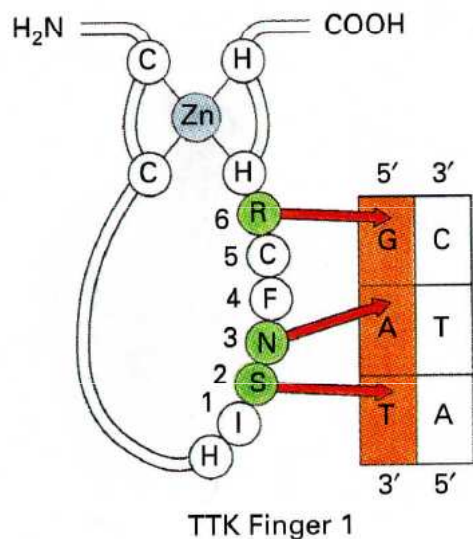


Zif268

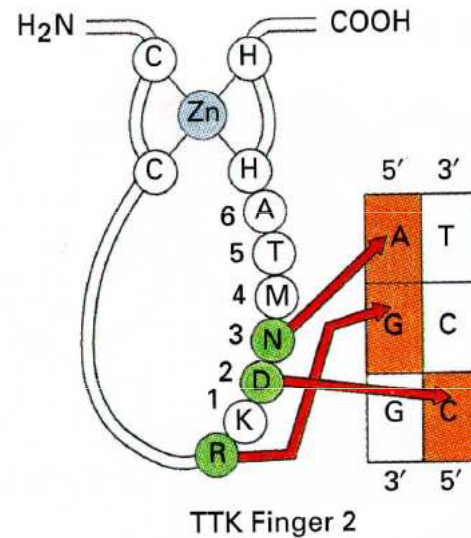


Zif Finger 2

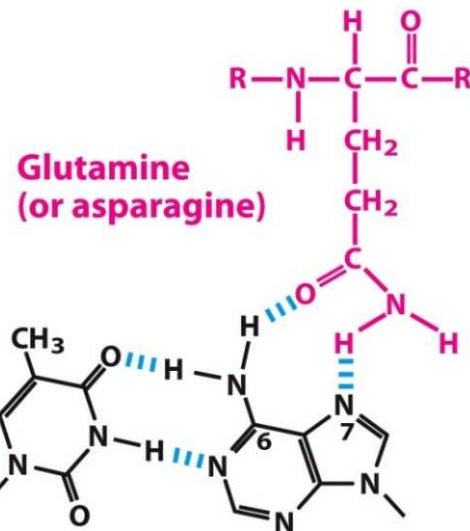
- nejčastější jsou kontakty Gua-Arg
- Gua se může vázat i na His, Lys, Ser
- Ser se může vázat na T či A



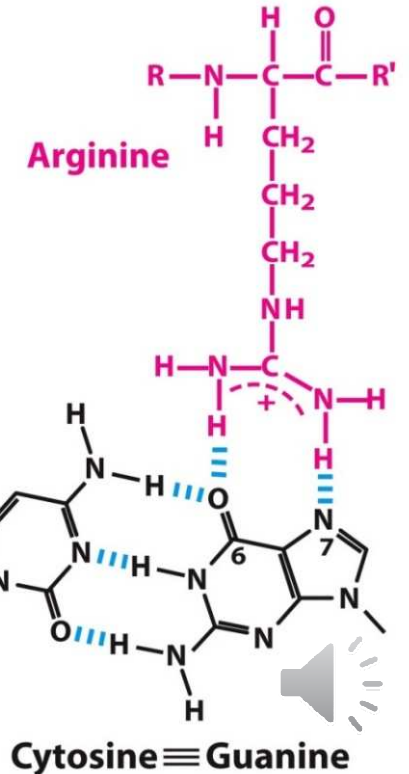
TTK Finger 1



TTK Finger 2



Thymine = Adenine



- 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

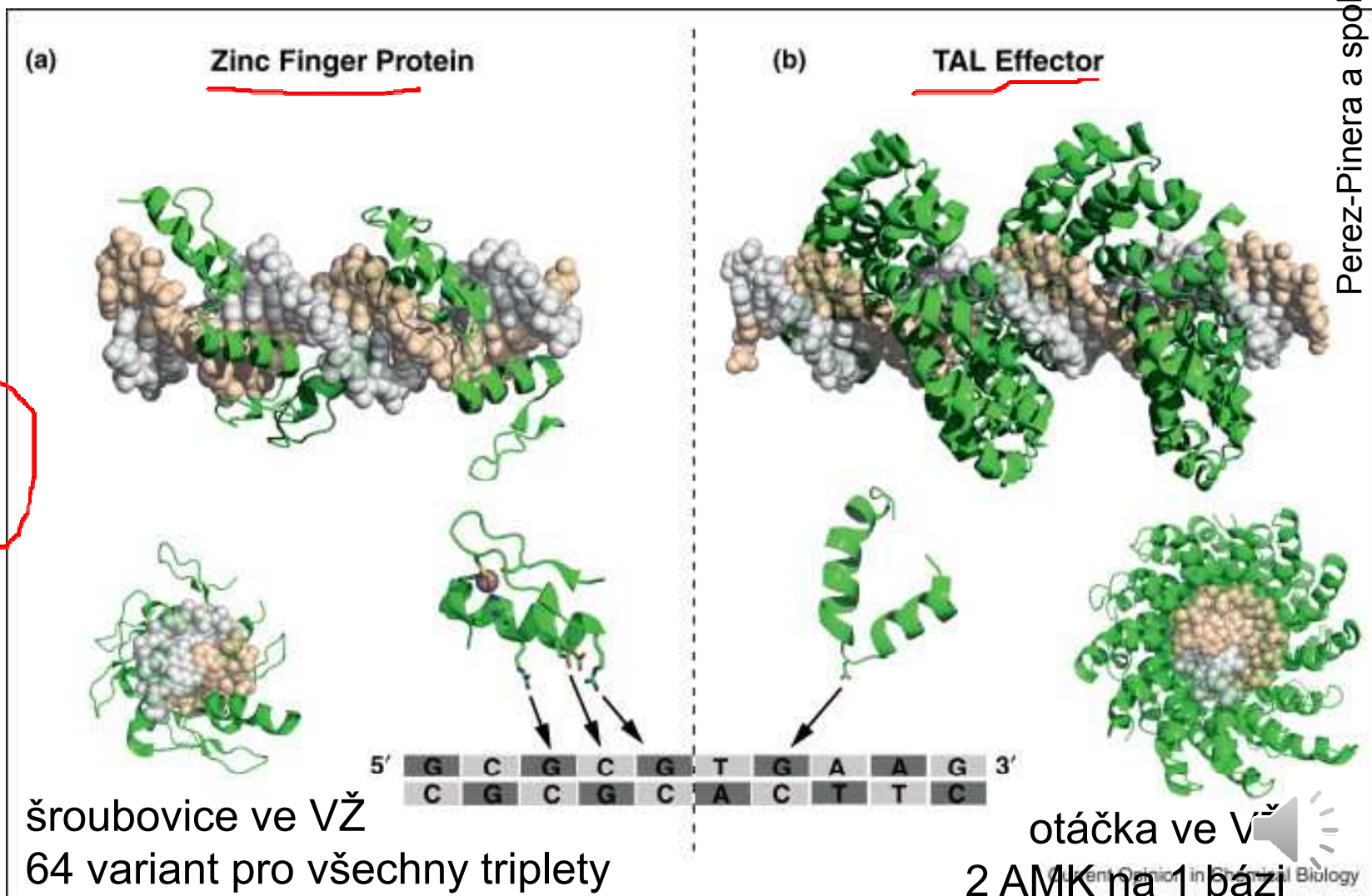
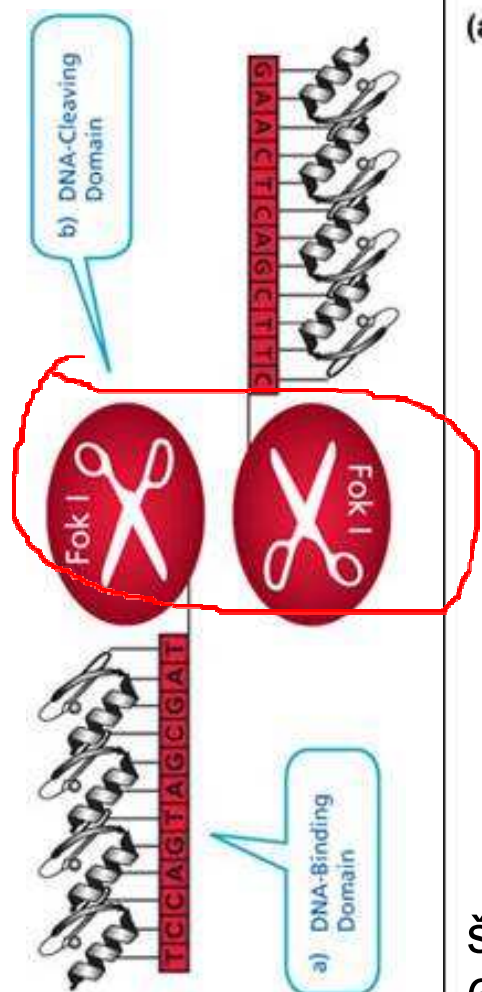
The screenshot displays a web browser window with the following content:

- Browser Tabs:** http://zf.princeton.edu/index.php, UCSF Chimera Home Page, ClusPro 2.0: protein-protein do..., Predicting DNA Recognitio..., De novo prediction of DNA-bi...
- Navigation Menu (Left):** Home Page, Protein-DNA Form, Generate Sequence Logo, Downloads, Analyze Genomic Sequence, Help, Contact Us.
- Main Content:**
 - Section Header:** Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins
 - Subtitle:** A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins
 - Welcome to our new site!**
 - 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.
 - Text:** 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.
- Image:** A 3D ribbon diagram of a zinc finger protein structure, showing a blue ribbon and a green sphere representing a zinc ion coordinated by two cysteine and two histidine residues.
- URL:** <http://zf.princeton.edu>
- Footer:**
 - 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*

- 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

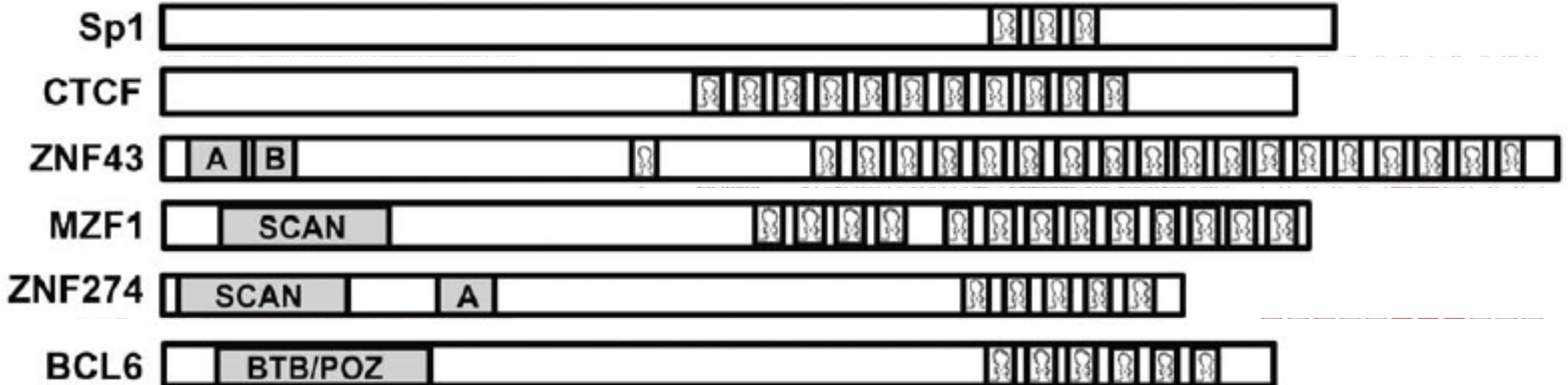
„genome editing“

Transcription activator-like



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

ZF1
 Ts YQCEFC¹⁰PYTNH²⁰KRYLLRHMKSHSEERP
 Hs FQCELCSYTCPRRSNLD²⁰RHMKSH²⁰TDERP
 Dm YSCPHCPYTAS²⁰KRFLITRHSRSHDVEPS



ZF6
 Ts YQCEV¹CNQRFT²QNSLKA³HKL.IHSG.SRPV
 Hs YECYI¹CHARFT²QSGTMKMHILQKH³TENVAK.
 Dm YQCDI¹CKSRFT²QNSLKA³HKL.IHSVVDKPV
 -1 2 3 6

ZF7
 Ts FQCKFC¹⁸⁰PS¹⁸⁵SCGR¹⁹⁰KTDLRIHVQKLHTA.SAP
 Hs FHCPC¹⁸⁰DTVIAR¹⁸⁵KS¹⁹⁰DLGVHLRKH¹⁹⁵HSYIEQG
 Dm FQCNY¹⁸⁰CPTTCGR¹⁸⁵KADLRVHIKHMHTS.DVP
 -1 2 3 6

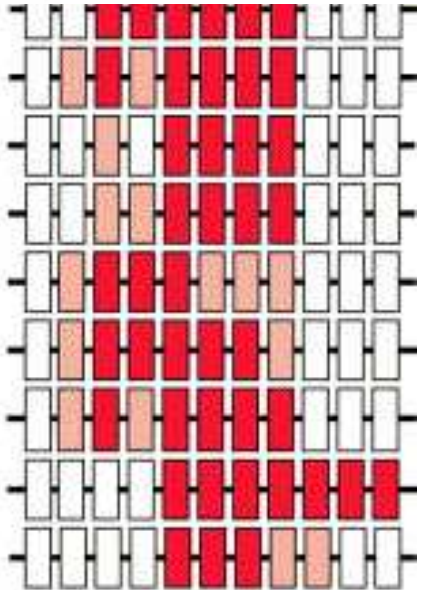
ZF8
 Ts IKCKK²¹⁰CDRTFTDRY²¹⁵TFKLHCKEHDGERC
 Hs KKCRY²¹⁰CDAVEHERY²¹⁵VALIQHKSHKNEKR
 Dm MTCRR²¹⁰CGQQLPDRY²¹⁵QYKLVKSHHEGEKC
 -1 2 3 6

ZF9
 Ts YQCHL²³⁰CPYSAMA²³⁵QRHLEAHTLLHHS²⁴⁰DKP
 Hs FKCD²³⁰QCDYACRQERHMIHKRHTTGEKP
 Dm YSCKL²³⁰CSYASVTORHLASHMLIH²³⁵LDEKP
 -1 2 3 6

ZF10
 Ts YKCV²⁶⁰DCNLSFK²⁶⁵QVSLKRV²⁷⁰HESTHAAANQ
 Hs YACSH²⁶⁰CDKTFR²⁶⁵KKOLLDMHF²⁷⁰KRYHDPNFV
 Dm FHCDO²⁶⁰CPQAFR²⁶⁵ROLRLRRHMNLVHNEEYQ
 -1 2 3 6

ZF11
 Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSSSSSFSSTSPNSS
 Hs PA.....AFV²⁹⁰CSK²⁹⁵CGKTF³⁰⁰TRRNTMARHADNCA
 Dm PPEPREKLHK²⁹⁰PS²⁹⁵CPREF³⁰⁰THKGNLMRHMETHD
 insertion
 -1 2 3 6

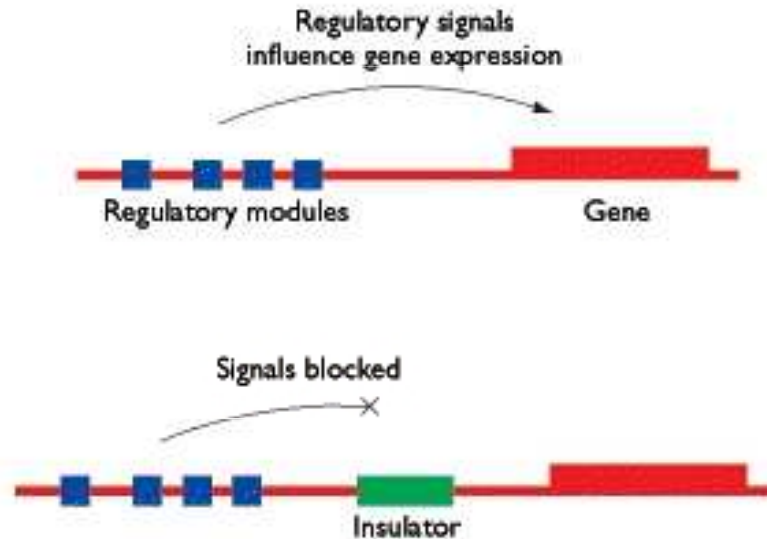
human	GAGCGGAAGAGGAAGTCCACCGCGTTTTGAAACACGGA
8. PLK h/m	AGAGGAAGATTTAAGTAAAAGCTTCCTCGAAGGCGCAA TCTCCTTCTAAATTCATTTTCGAAGGACCTCCTCCGCGTT
9. PIM-1 human	CTTTTCCTTCCCGCCACSTCGGGCGCGTAGAGACCATT GAAAAGGAAGGGCGGTCACACCCCGCCGATCTCTGGTAA
10. PIM-1 mouse	GGGGAGAGGGGTGTAGCCCGGAGGGGCGAGCGGAGGG CCCCTCTCCACATCGGGCGCTCCCGCGCTCGGCTCC
11. p19ARF mouse	GCAGGGCCCGCGCGCTCCCGCTGGGCGCTCTTGGGA CGTCCCGGGCGCGCGGGAGGGGACCCCGGAGAACCT
12. DMD4 mouse	GGAACGGAGCTACCGCGCGGACAGCATACTCCTATATA CCTTGCCCTCGATGGCGGCCACCTCTCTATAGGATATAT
13. DMD7 mouse	CTAAATGGACAGACGATGCCCGCGCTGCAATACAATAC GATTTACCTGTCTGCTACCGCGAGCACCCTCATGTTATG
14. "144" silen. rat	CCTGAGTGCATTTCCTCATGATCCAAAAGAGGGATAAAC GGACTCACGTAAGGGAGTACTAGGTTTTCTCCTTATTG
15. APP human	TTCCCCGGCGCGCGCGCTAGGGCTCTCTCGGGTGCCGA AAGGGCCCGCGCGCGATCCCCAGAGAGGCCACGGCT



TRENDS in Genetics

CTCF

A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



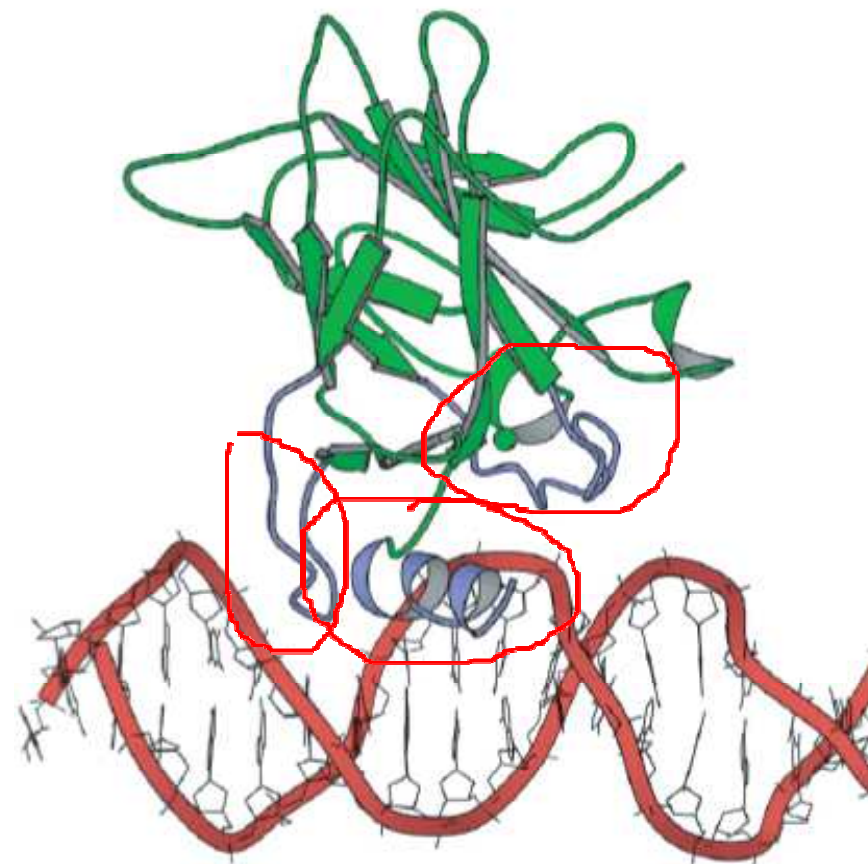
- CTCF (zkratka z CCCTC factor)
- izolátor/insulator brání transkripci
- váže se mezi transkripční aktivátory a obecné transkripční faktory

ZF1	<pre> Ts YQCEF CPYTNH KRYLLLRHMKSHSEERP Hs FQCEL CSYTCPRRSLNDRHMKSHDTERP Dm YSCPH CPYTASKKFLITRHSRSHDVEPS -1 2 3 6 </pre>
ZF2	<pre> Ts FKCTV CERCFK NSSLQNHINTHTGTRP Hs HKCHL CGRAFRTVLLRNHLNHTGTRP Dm FKCSI CERSFRSNVGLQNHINTHMGNKP -1 2 3 6 </pre>
ZF3	<pre> Ts HQCKG CELAFT TSGELIRHIRYKH TLEKP Hs HKCPD CDMAFV TSGELVRRRHKHTHEKP Dm HKCKL CESAF TSGELVRRHTRYKH TKEKP -1 2 3 6 </pre>
ZF4	<pre> Ts HKCTE CSYASV ELSKLRH HIRSH TGERP Hs FKCSM CDYASV VSKLRRH HIRSH TGERP Dm HKCTE CTYASV ELTKLRRH MTCHT GERP -1 2 3 6 </pre>
ZF5	<pre> Ts YHCPH CSYASP DTYKLRH LRVHTGEKP Hs FQCSL CSYASR DTYKLRH MRHTS GEKP Dm YQCPH CTYASQ DMFKLKRH MVIHTGEKP -1 2 3 6 </pre>
ZF6	<pre> Ts YQCEV CNQRF TQSNSLKAHKL . IHSG .SRPV Hs YECYI CHARF TQSGTMMKMHILQKH TENVAK Dm YQCDI CKSRF TQSNSLKAHKL . IHSVVDKPV -1 2 3 6 </pre>
ZF7	<pre> Ts FQCKF CPSSCGR KTDLRIHVQKLHTA .SAP Hs FHCPH CDTVIARKSDLGVHLRKHQHSYIEQG Dm FQCNYPCTTCGRKADLRVHIKHMHTS .DVP -1 2 3 6 </pre>
ZF8	<pre> Ts IKCKK CDRTF TDRYTFKLHCKEHDGERC Hs KKCRY CDAVFHERVALIQHKSHKNEKR Dm MTCRR CGQQLPDRYQKLVKSHHEGK -1 2 3 6 </pre>
ZF9	<pre> Ts YQCHL CPYSAMAQRHLEAHTLLHSDKP Hs FKCDQ CDYACRQERHMIMHKRHTGTEKP Dm YSCKL CSYASV TORHLASHMLIHLDEKP -1 2 3 6 </pre>
ZF10	<pre> Ts YKCVDCNLSFKVSLKRVHVESTHAAANQ Hs YACSH CDKTFROKOLLDMFKRYHDPNFV Dm FHCDQ CPOAFROROLLRRHMNLVHNEEYO -1 2 3 6 </pre>
ZF11	<pre> Ts LNDNLASPSTSGVSVASASSS...TSPNSS Hs PA.....AFVSKGKTFTRRNTM...ADNCA Dm PPEPREKLHKPSCPREFTHKGNLMR...METHD -1 2 3 6 insertion </pre>

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

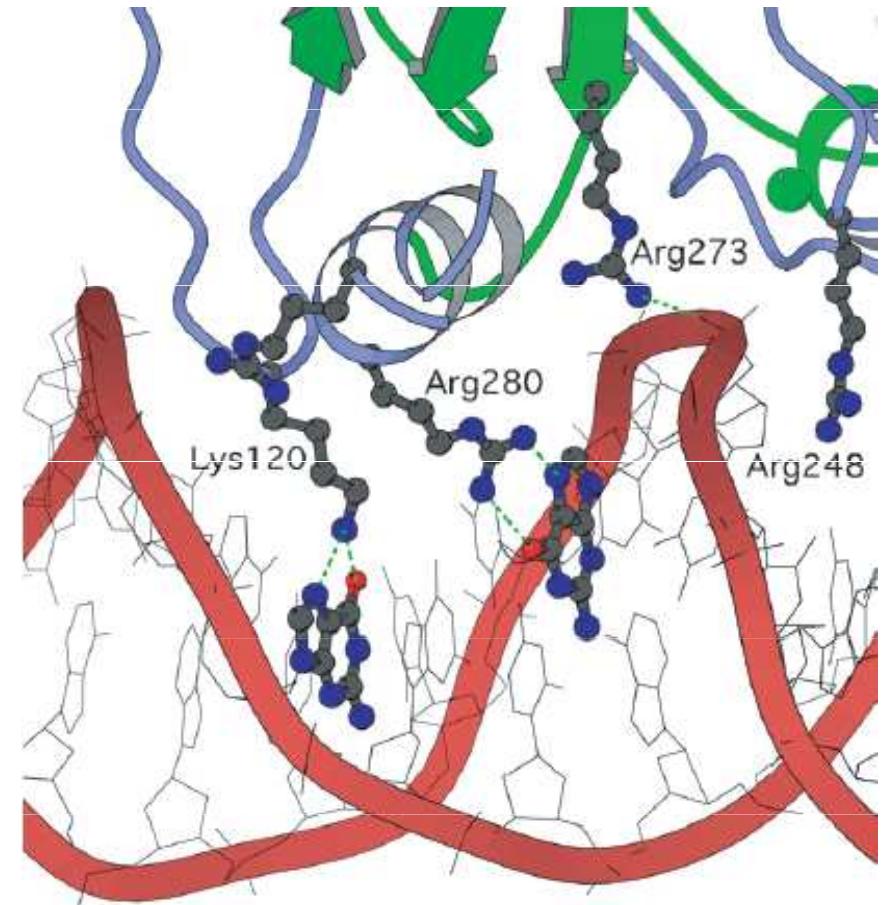


Loop-sheet-helix

- 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)





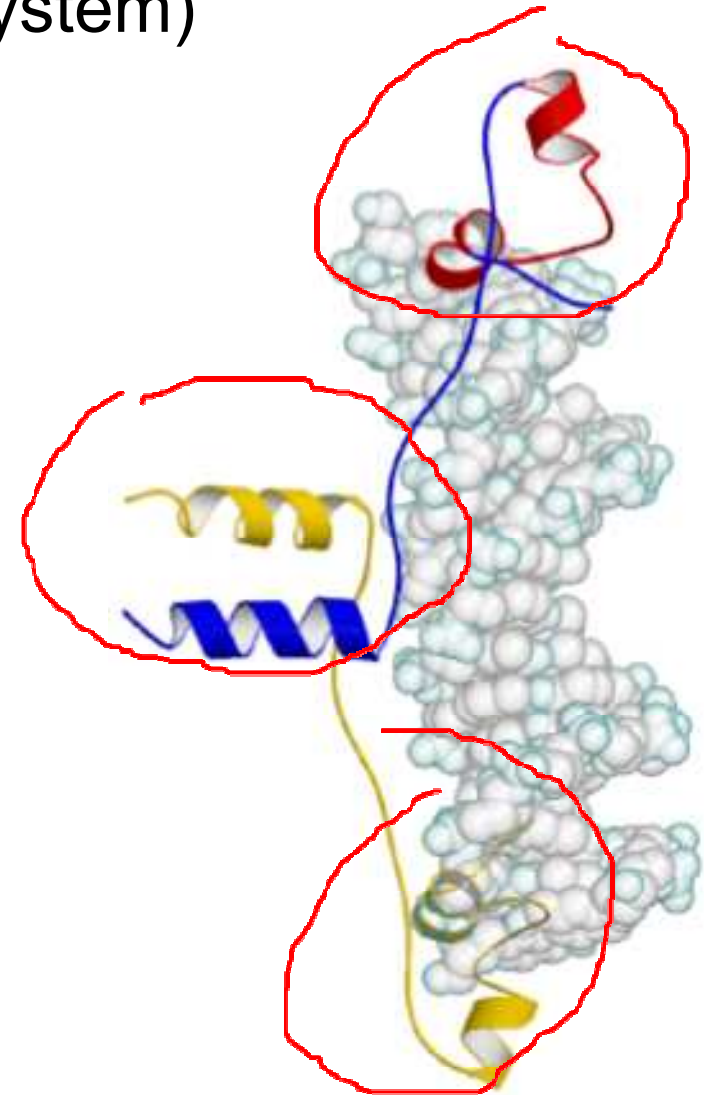
p53 tetramer – DNA, PDB: 3KMD



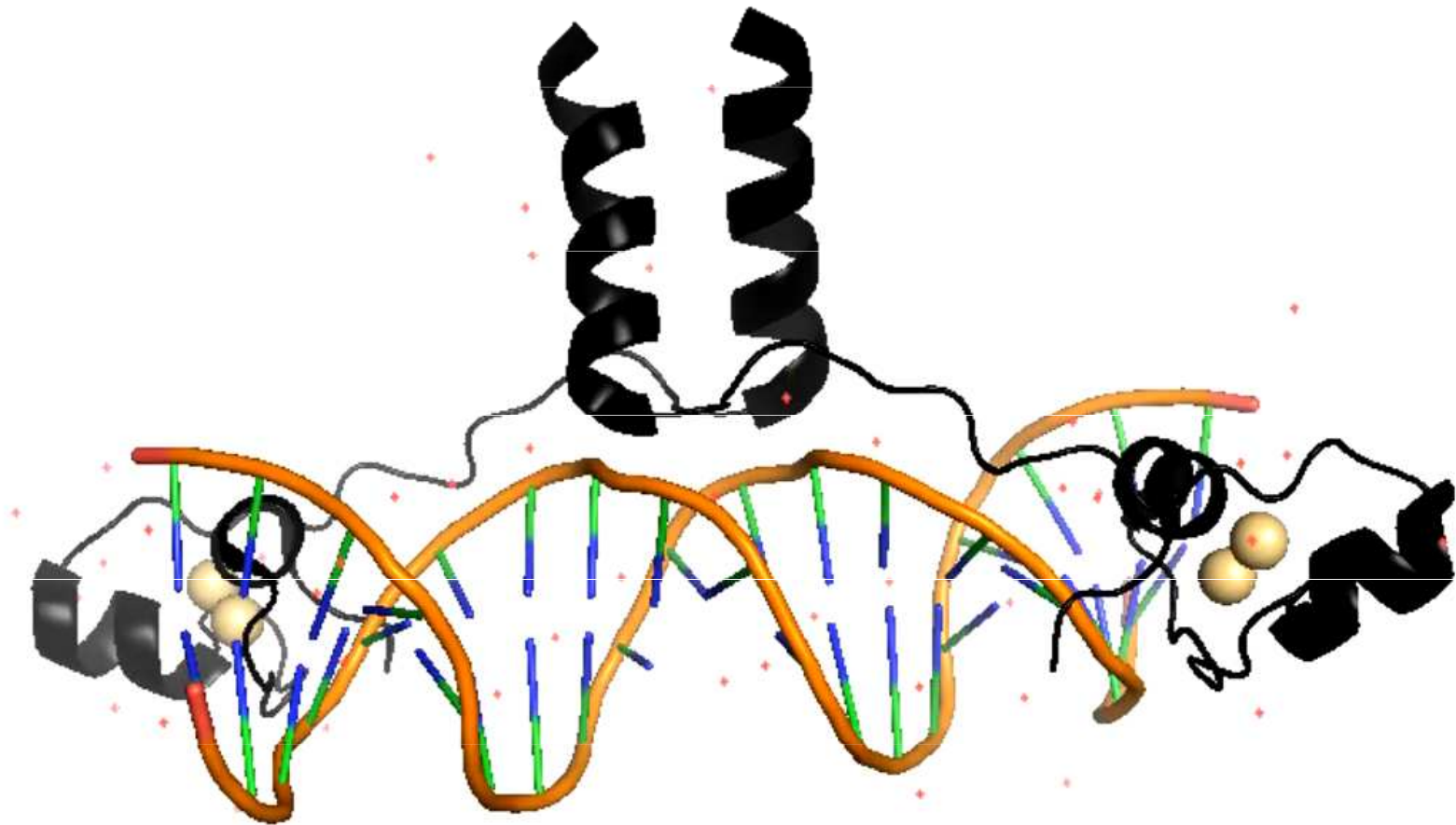
Gal4

- 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 žlábkku a smyčka k 2. šroubovici kontaktuje cukr-fosfátovou kostrou
- Dimerizuje přes krátký CC segment



Gal4



PDB: 1D66



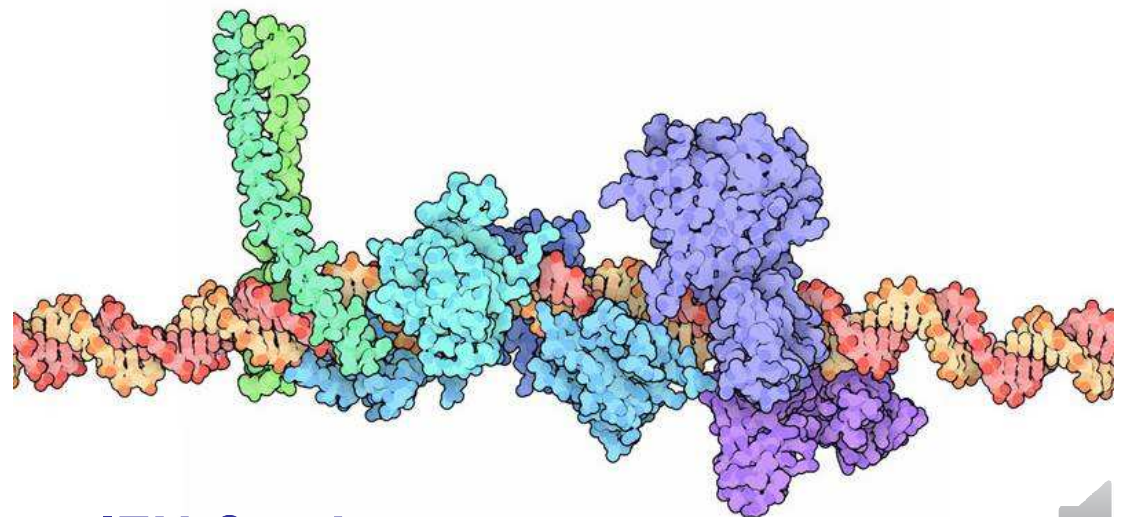
Motivy DNA vazebných domén

- **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

Transkripce ...

Kombinace více proteinů ...

Vliv chromatinu ...



IFN- β enhanceosom

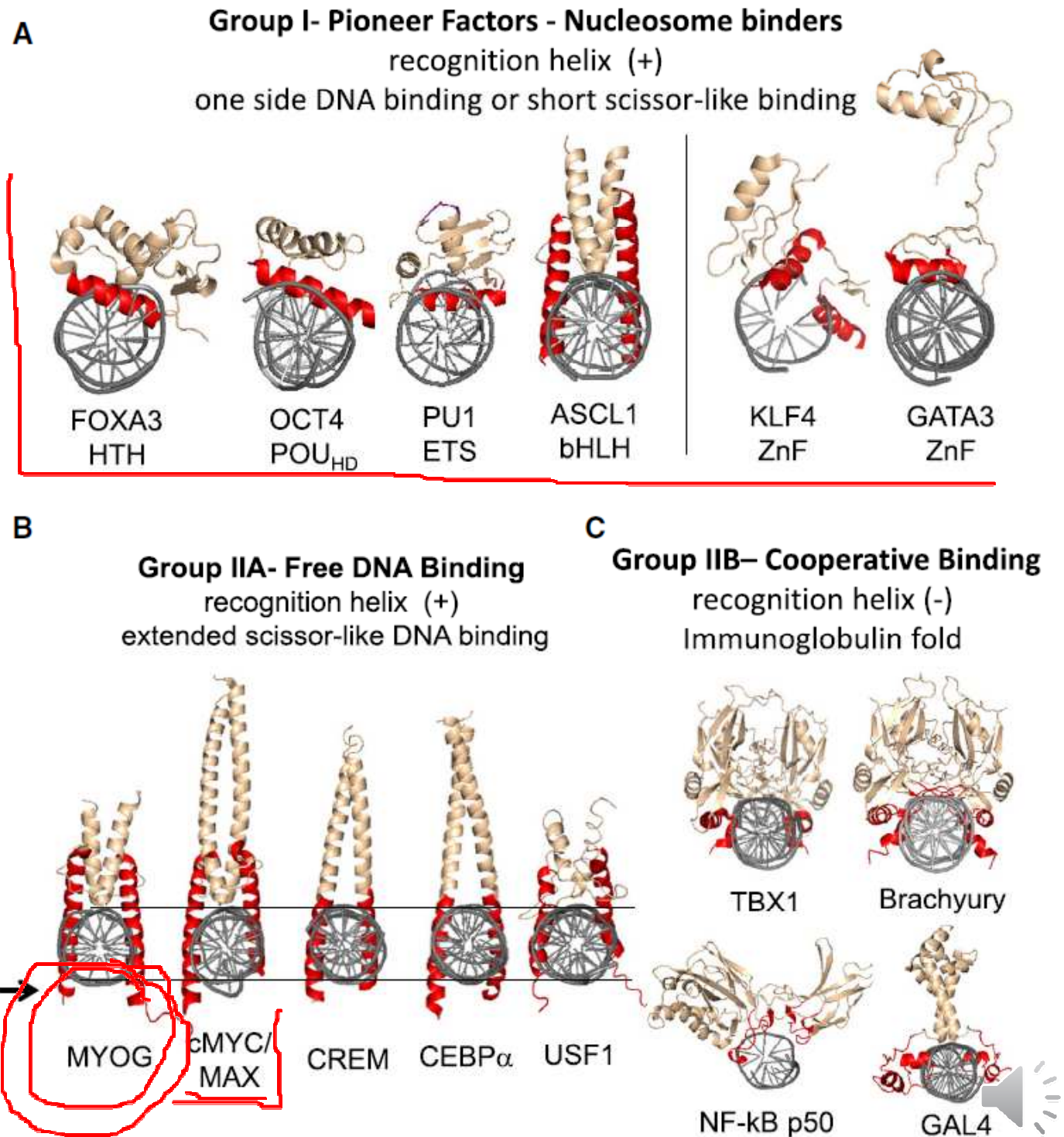


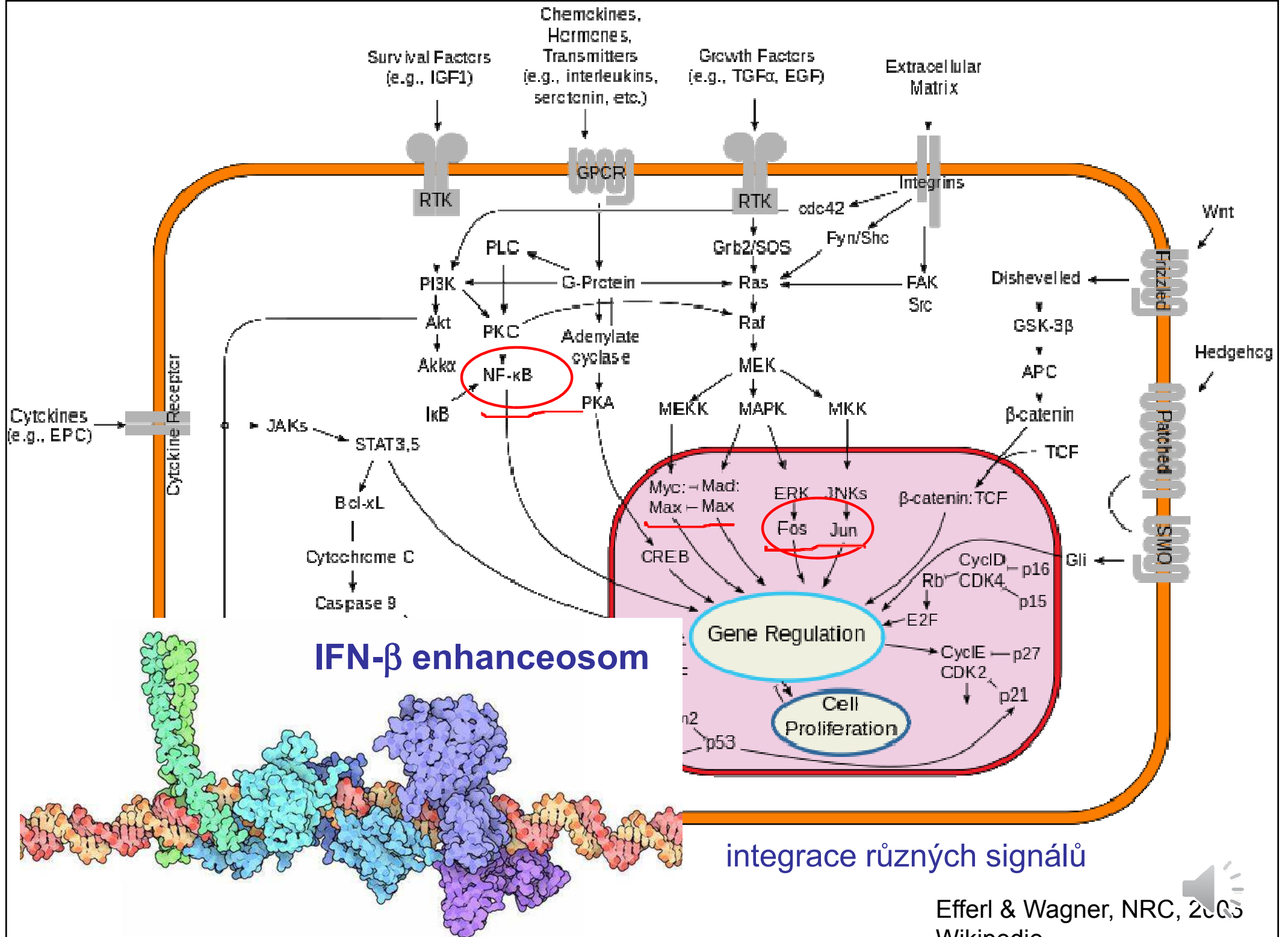
Pioneer TF

- váže se silně i v přítomnosti histonového oktameru (Group I) – krátké šroubovice

- Group II TF se vážou slaběji v přítomnosti histonového oktameru (ze sterických důvodů) – delší šroubovice a složitější vazebné motivy

Pioneer TF se váže první a pomáhá dalším TF s vazbou ...





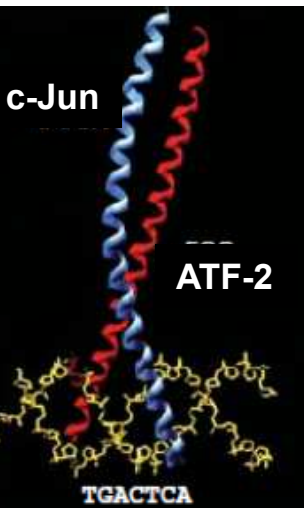
AP-1

NF-κB

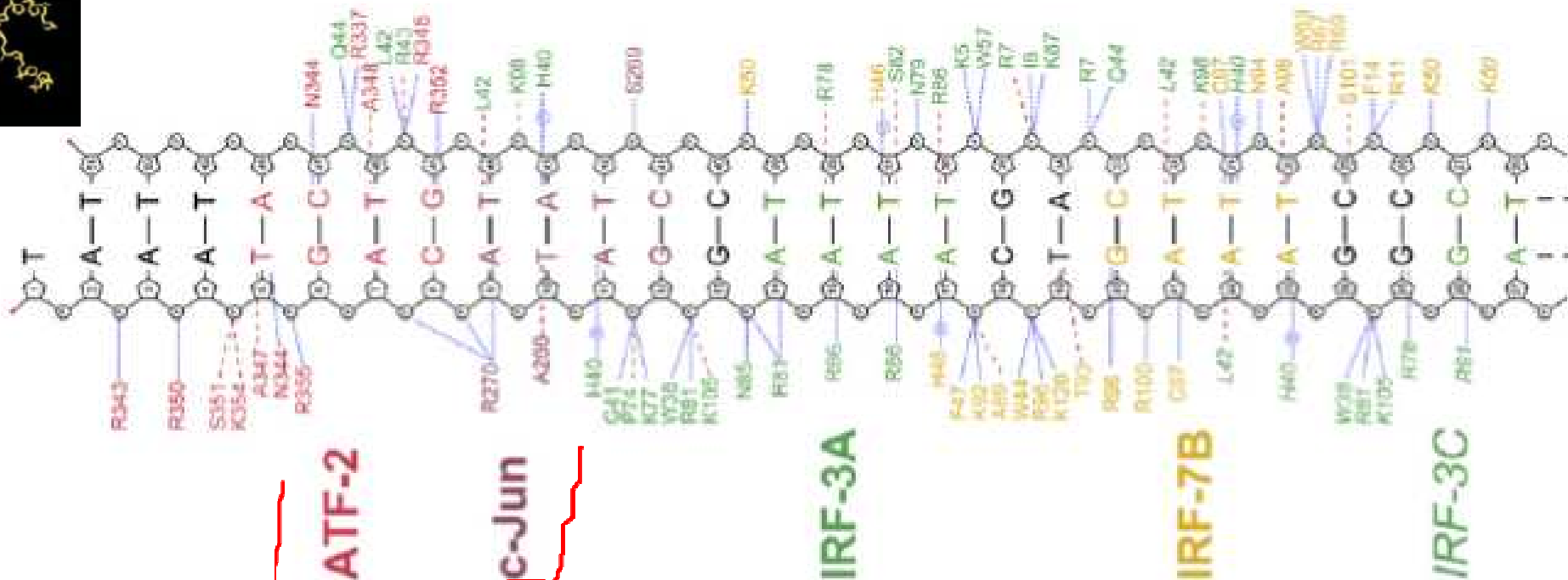
IFN-β enhanceosom



transkripce



- jeden z nejlépe popsaných enhancerů u vyšších eukaryot – induk. viry
- sekvence -102 až -47 bází 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

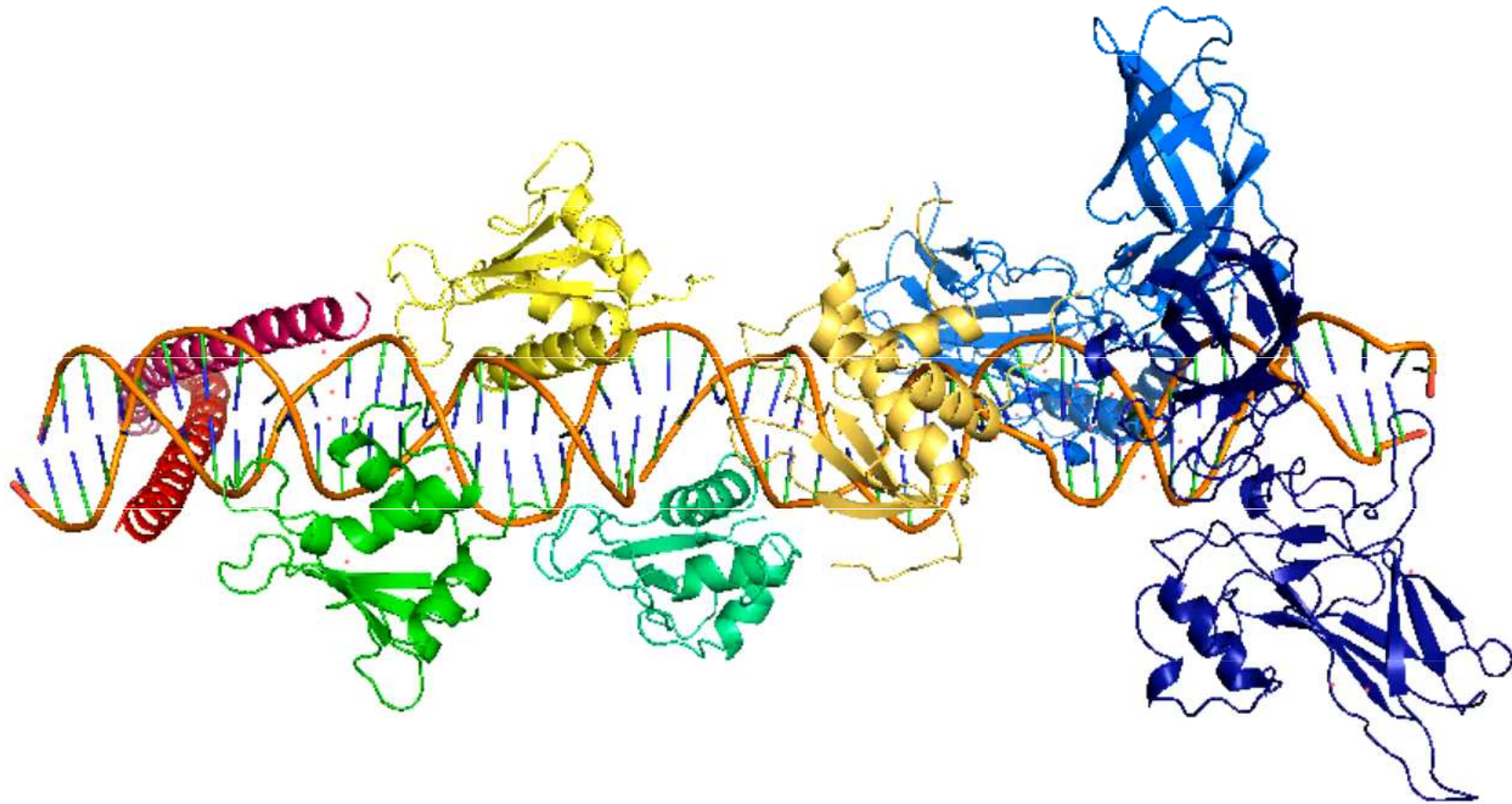
Activator Protein = b-ZIP (basic leucine zipper)



IFN- β enhanceosom

```
5' TAAATGACATAGGAAAACCTGAAAAGGGAGAAGTGAAGGTGGGAAATTCCTCTG 3'
3' TTTACTGTATCCTTTTGAAGTTCCCTCTCACTTTCACCCCTTTAAGGAGACA 5'
```

ATF-2 IRF-3A IRF-3C p50
c-Jun IRF-7B IRF-7D RelA

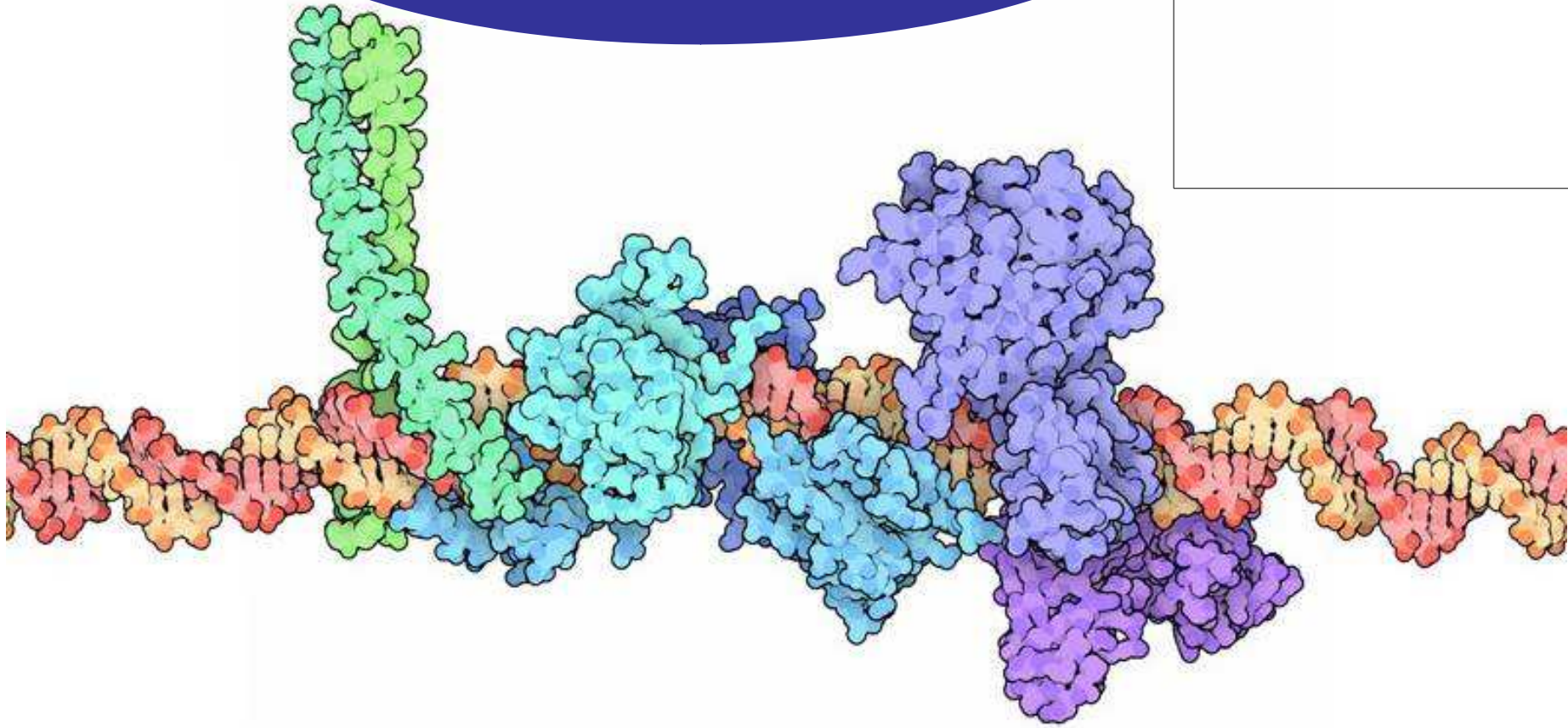


AP-1 leucin zipper, IRF – podobný WHD (směs), NFkB – komplexní motiv
červené tečky – molekuly vody

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



mediator



- TF obsahují **aktivační doménu** – na AD se váže mediator komplex –
integruje/propojí TF – zprostředkuje vazbu s RNA polymerasou - iniciaci transkripce



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

