



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

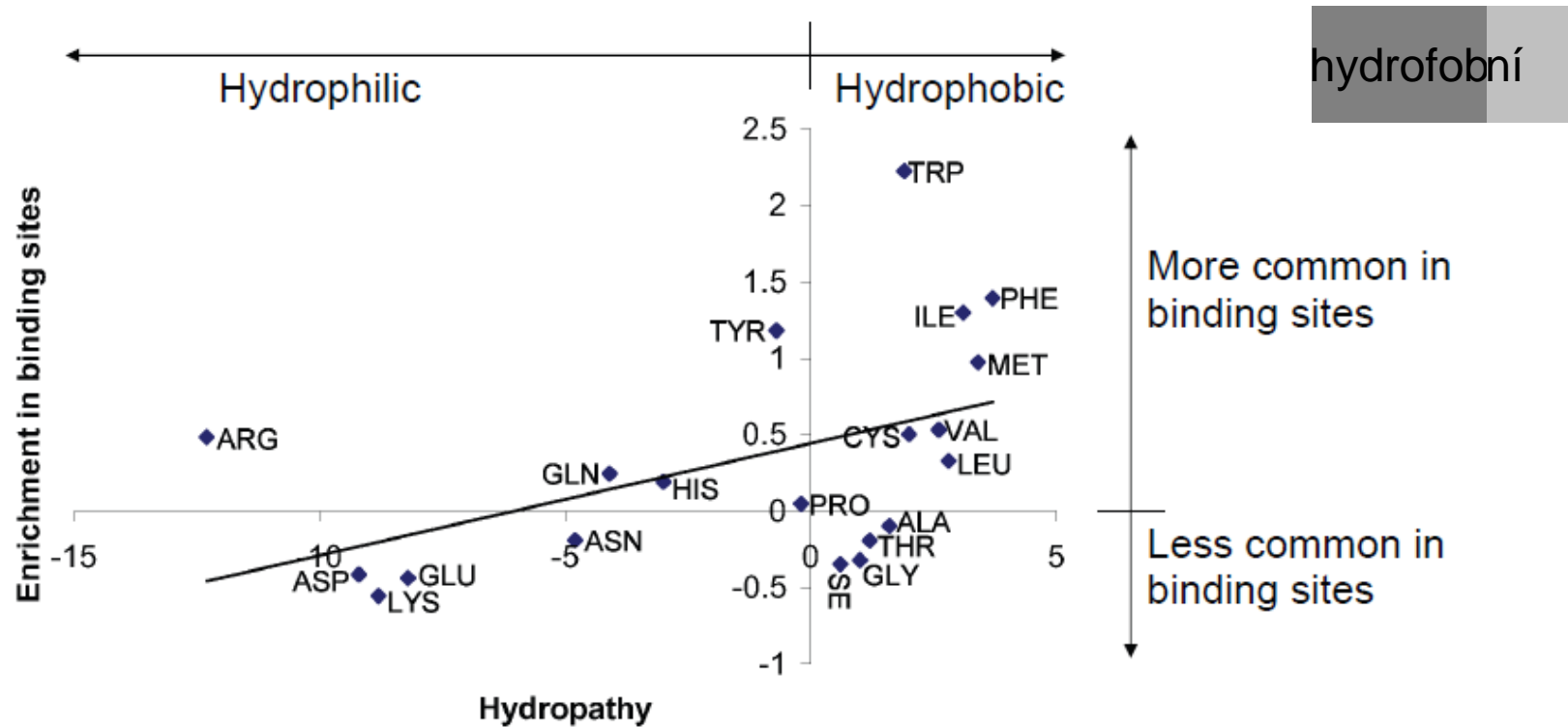
TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM  
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

- **Proteinové interakce – 14.10.**
  - jak spolu proteiny interagují?
  - interaktom
- **Proteinové komplexy – 21.10.**
  - Komplexom
  - architektura a funkce komplexů

**CG030 – Proteinové komplexy (v jarním semestru)**

**Doc. Jan Paleček**

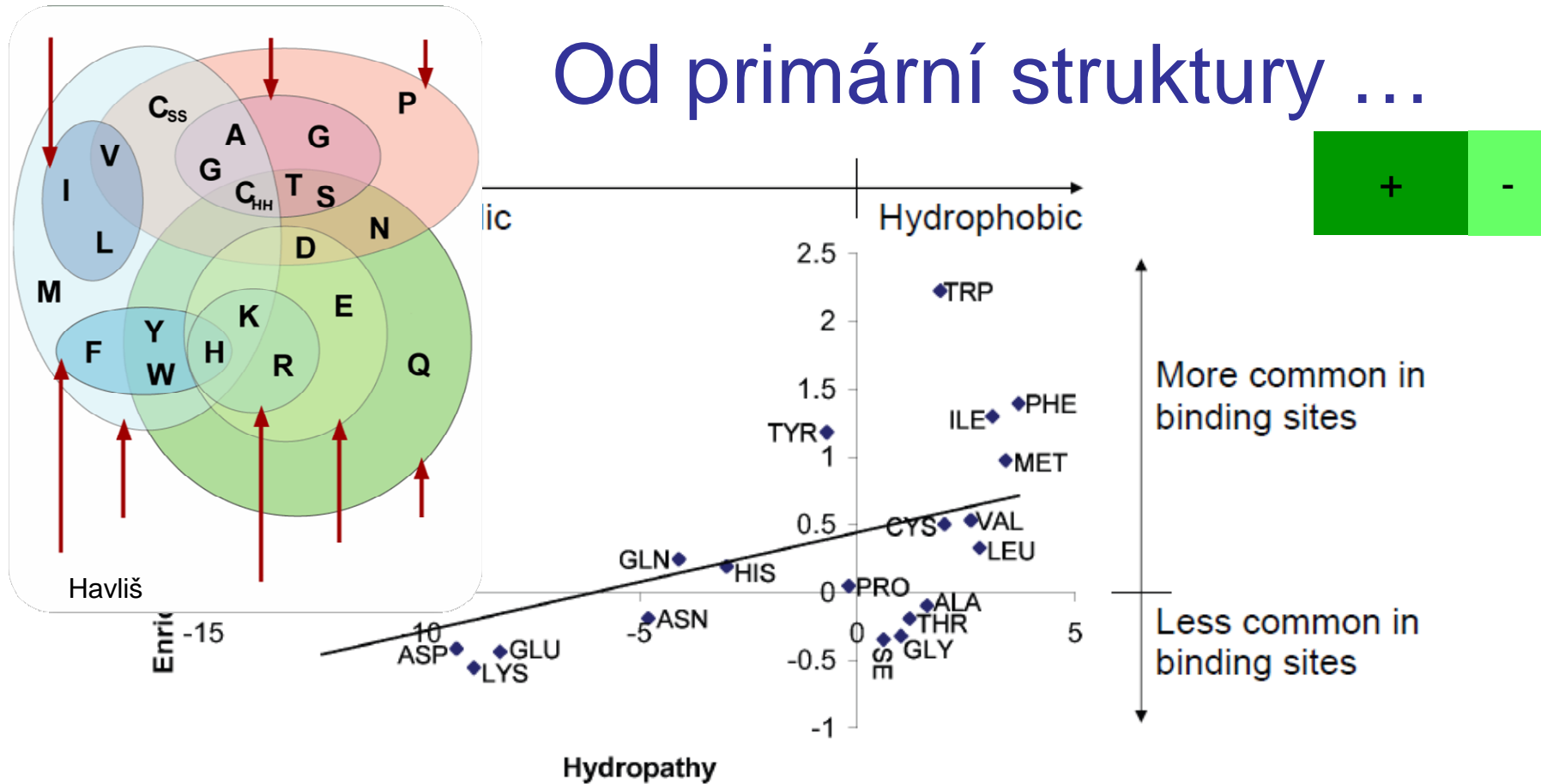
# Od primární struktury ...



Hydrophobic atoms are more likely to bind another protein, but this is only a weak correlation

- **hydrofobní zbytky** jsou tlačeny dovnitř proteinu (ve vodném prostředí se chovají jako „mastnota“ ve vodě) – pro proteiny s hydrofobním povrchem je tedy „výhodnější“ se přes takový povrch navázat na stejně „mastného“ partnera

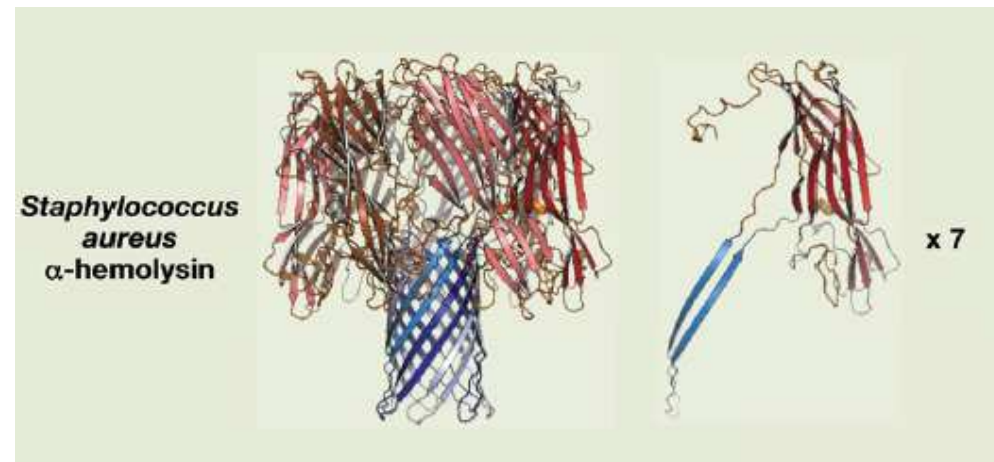
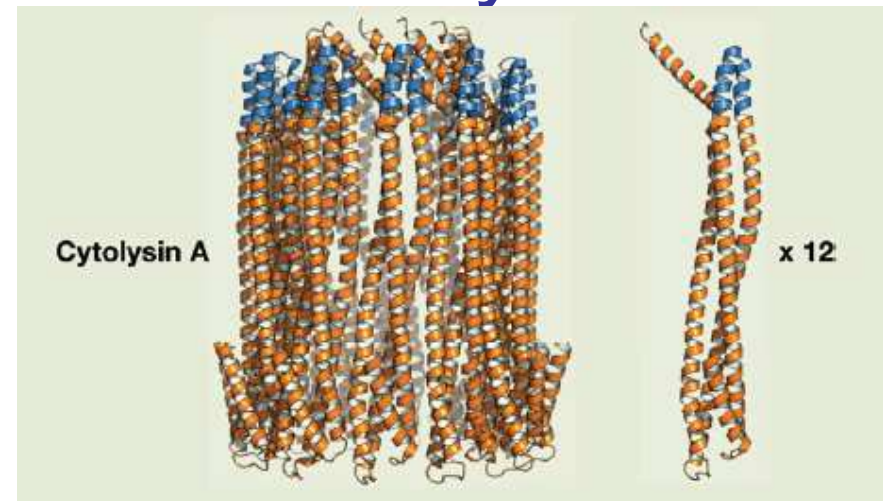
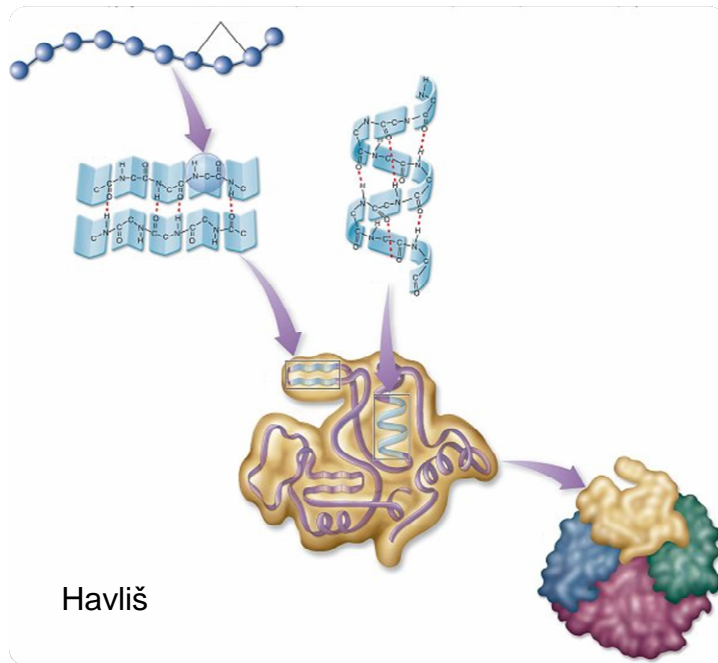
# Od primární struktury ...



Hydrophobic atoms are more likely to bind another protein, but this is only a weak correlation

- **Nabité a polární AMK** vytváří nekovalentní vazby – postraní řetězce AMK vytváří stejné typy nekovalentních chemických vazeb jako při skládání proteinu (polární) – peptidová vazba („kostra“) může tvořit vodíkové můstky (mezi listy)

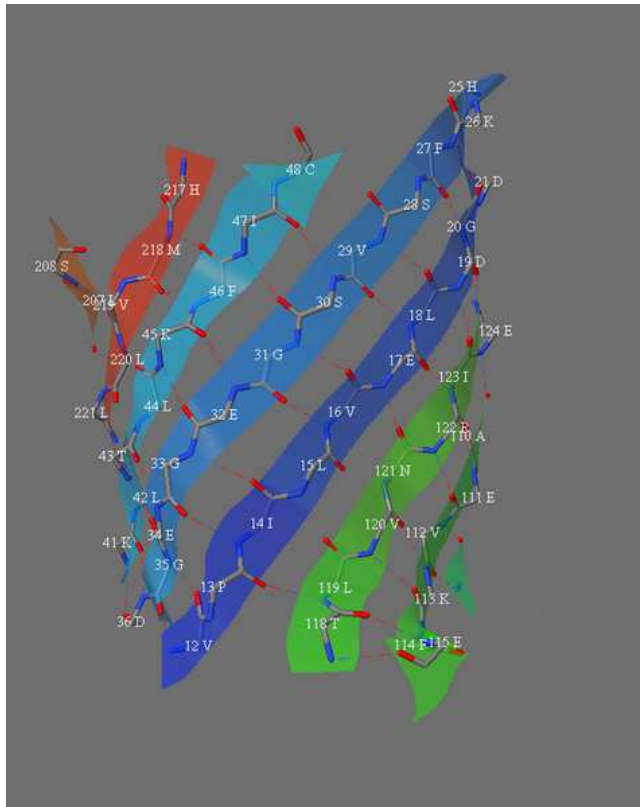
## ... sekundární struktury ...



- **šroubovice, listy, smyčky** ... se podílí na protein-proteinových interakcích PPI podobným způsobem jako při formování konformace proteinu – podobné sterické faktory

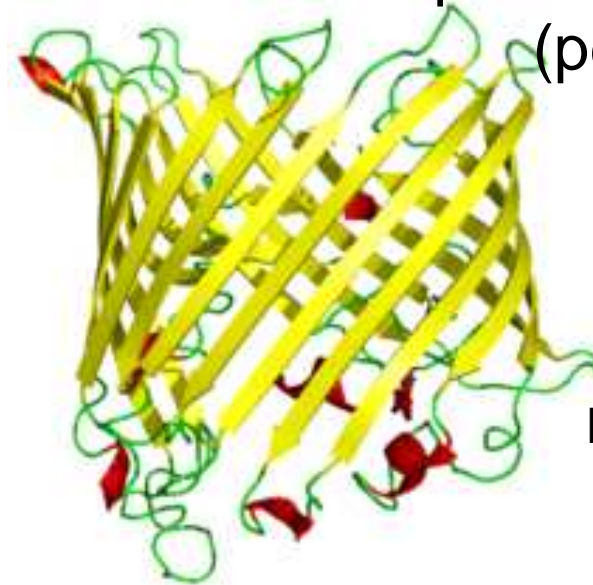
# ... sekundární struktury ...

V interakcích beta-listů převažují vodíkové vazby (peptidového řetězce)

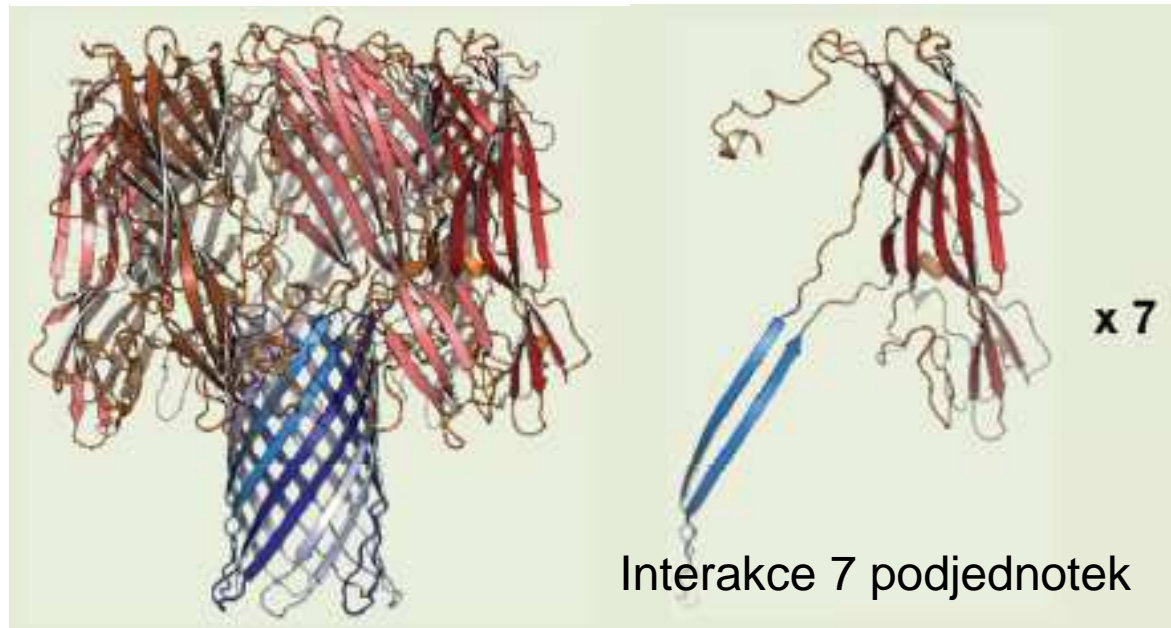


**Toxiny** – podjednotky se skládají tj. vytváří pór až v místě působení (neublíží původní buňce)

Mueller & Ban, Cell, 2010; 1QOY



**Porin**  
(1 polypeptid  
prostup mitochondriální  
membrány)



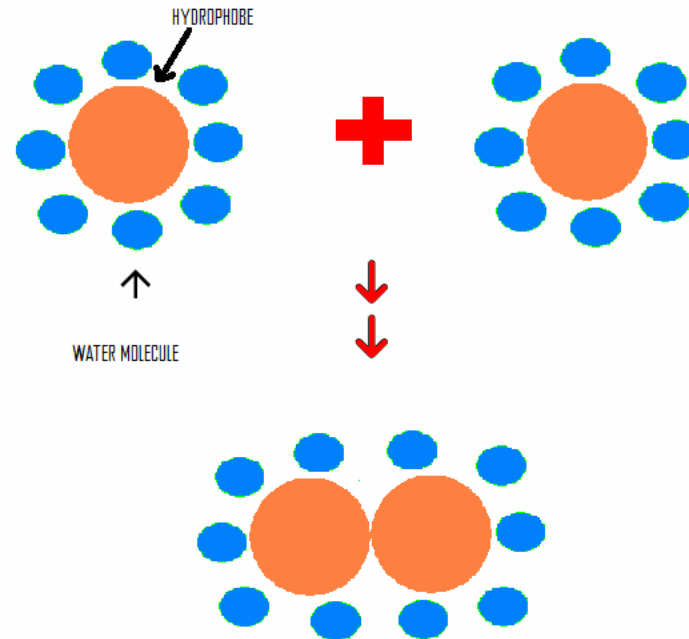
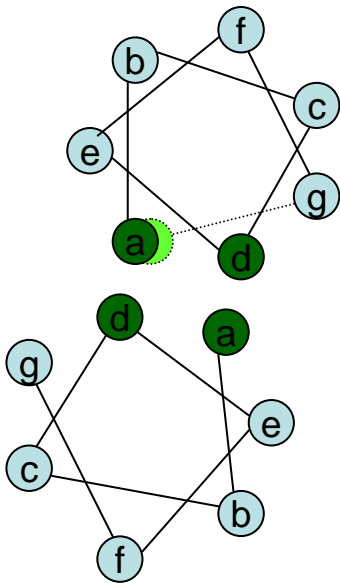
Interakce 7 podjednotek

## ... sekundární struktury ...

- listy ... šroubovice se vůči sobě orientují určitým způsobem
- skládání slabých vazeb ovlivňuje sílu a specifitu celkové vazby

## coiled-coil struktura

- Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)

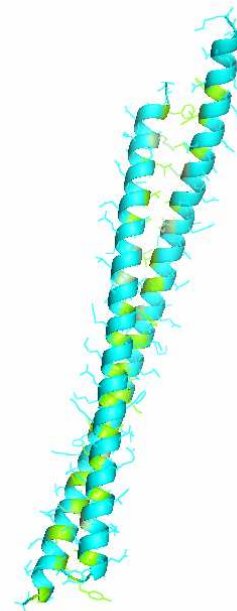
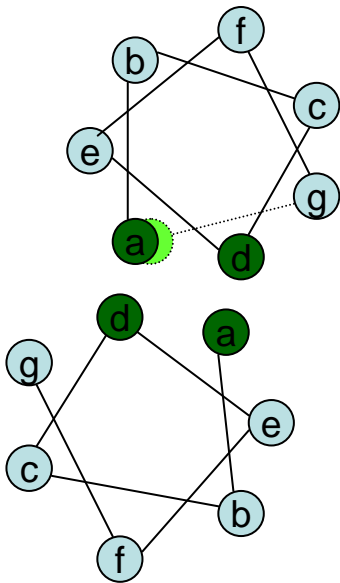


## ... sekundární struktury ...

- listy ... šroubovice se vůči sobě orientují určitým způsobem
- skládání slabých vazeb ovlivňuje sílu a specifitu celkové vazby

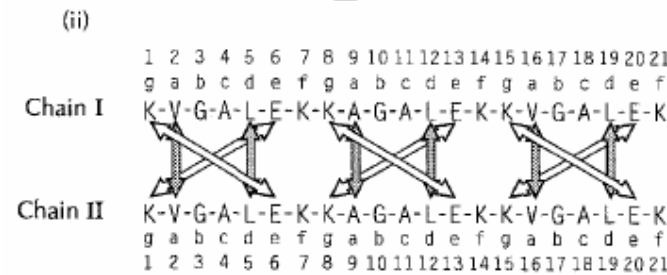
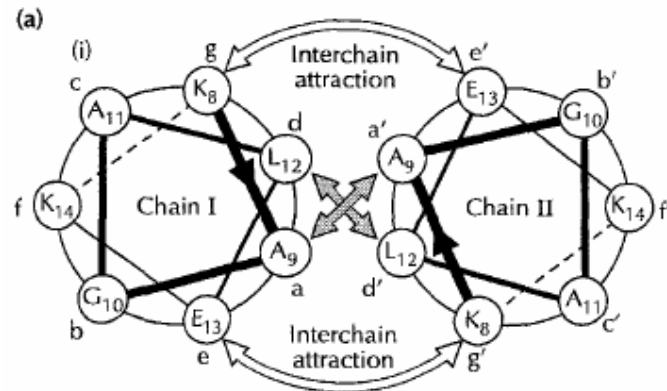
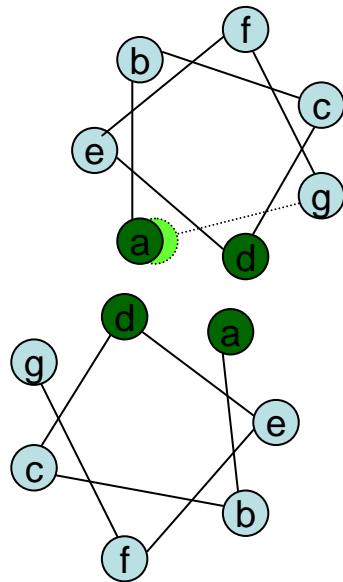
## coiled-coil struktura

- Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)



# Coiled-coil struktura

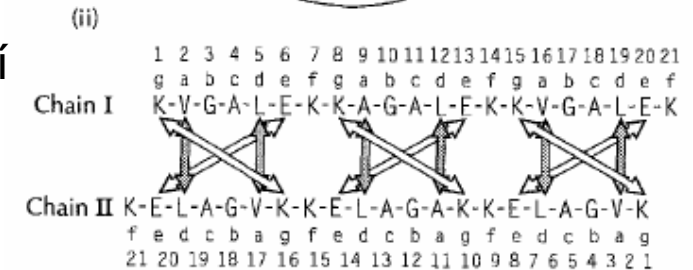
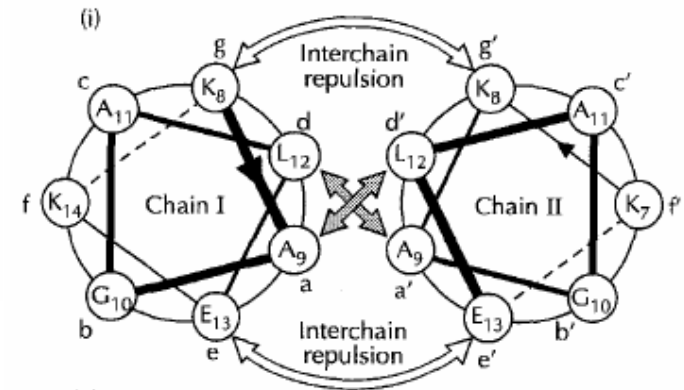
Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)



Sousední AMK destabilizují interakce šroubovic

Adamson et al.: COinBiotech, 1993

Sousední AMK stabilizují interakce šroubovic

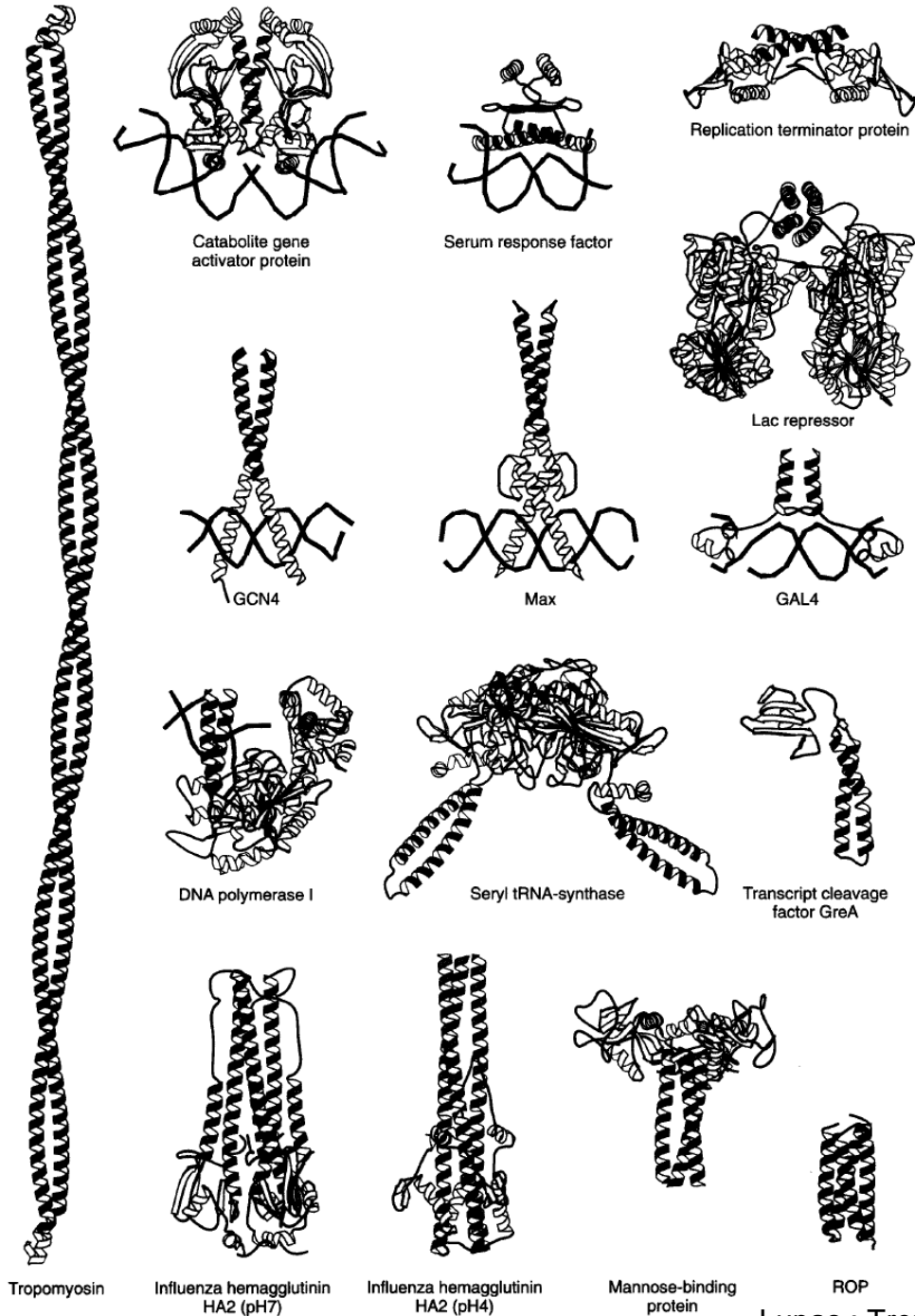




**Coiled-coil**  
doména je  
významným  
**dimerizačním**  
modulem u mnoha  
proteinů (GCN4,  
Max ...)

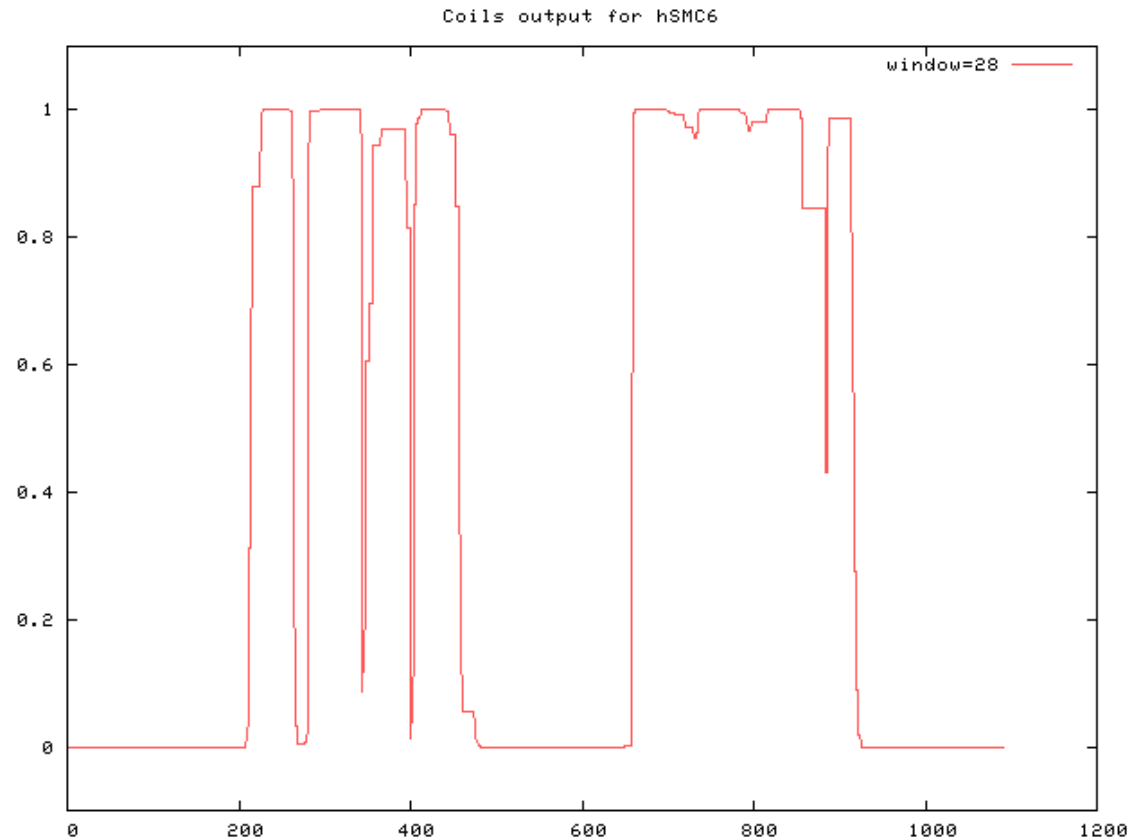
Intermolekulární -  
homo- či  
heterodimery

jsou hlavním  
modulem pro  
**vláknité struktury**



# Coiled-coil struktura

- program COIL: [http://www.ch.embnet.org/software/COILS\\_form.html](http://www.ch.embnet.org/software/COILS_form.html)



- CC v SMC proteinech jsou intramolekulární



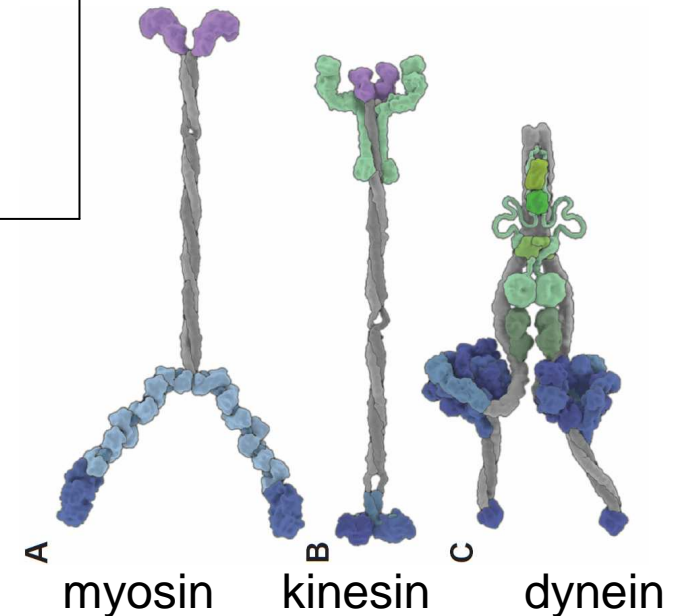
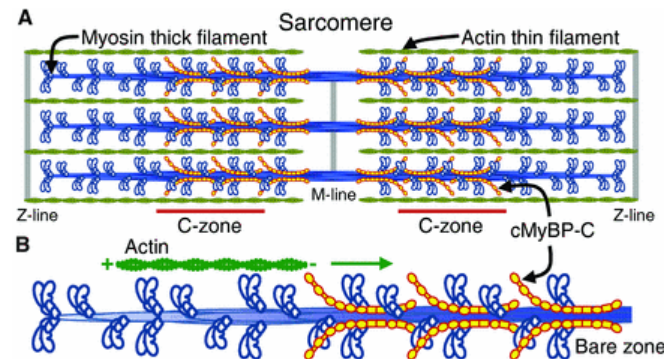
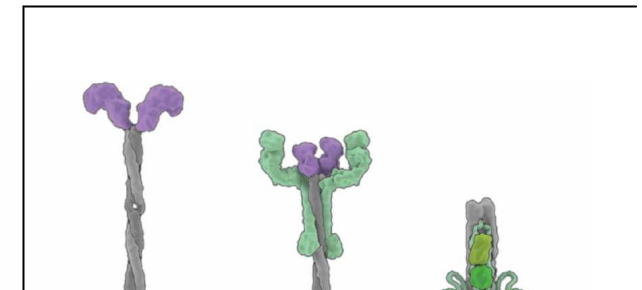
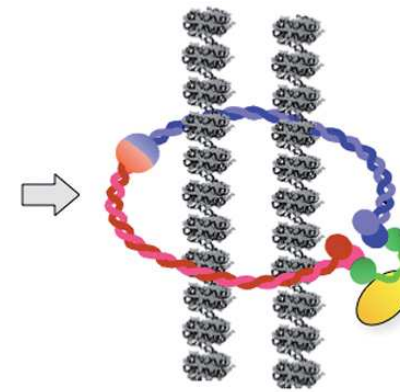
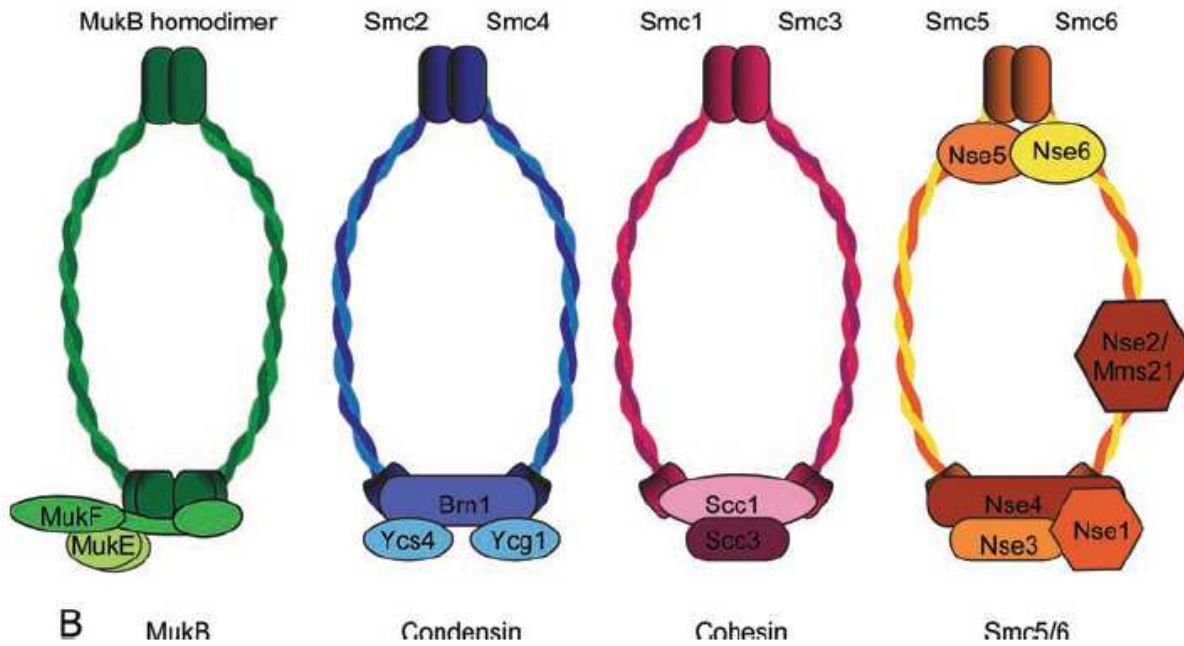
Intermolekulární – proteinové interakce



Intramolekulární – v rámci foldingu

# Coiled-coil struktura

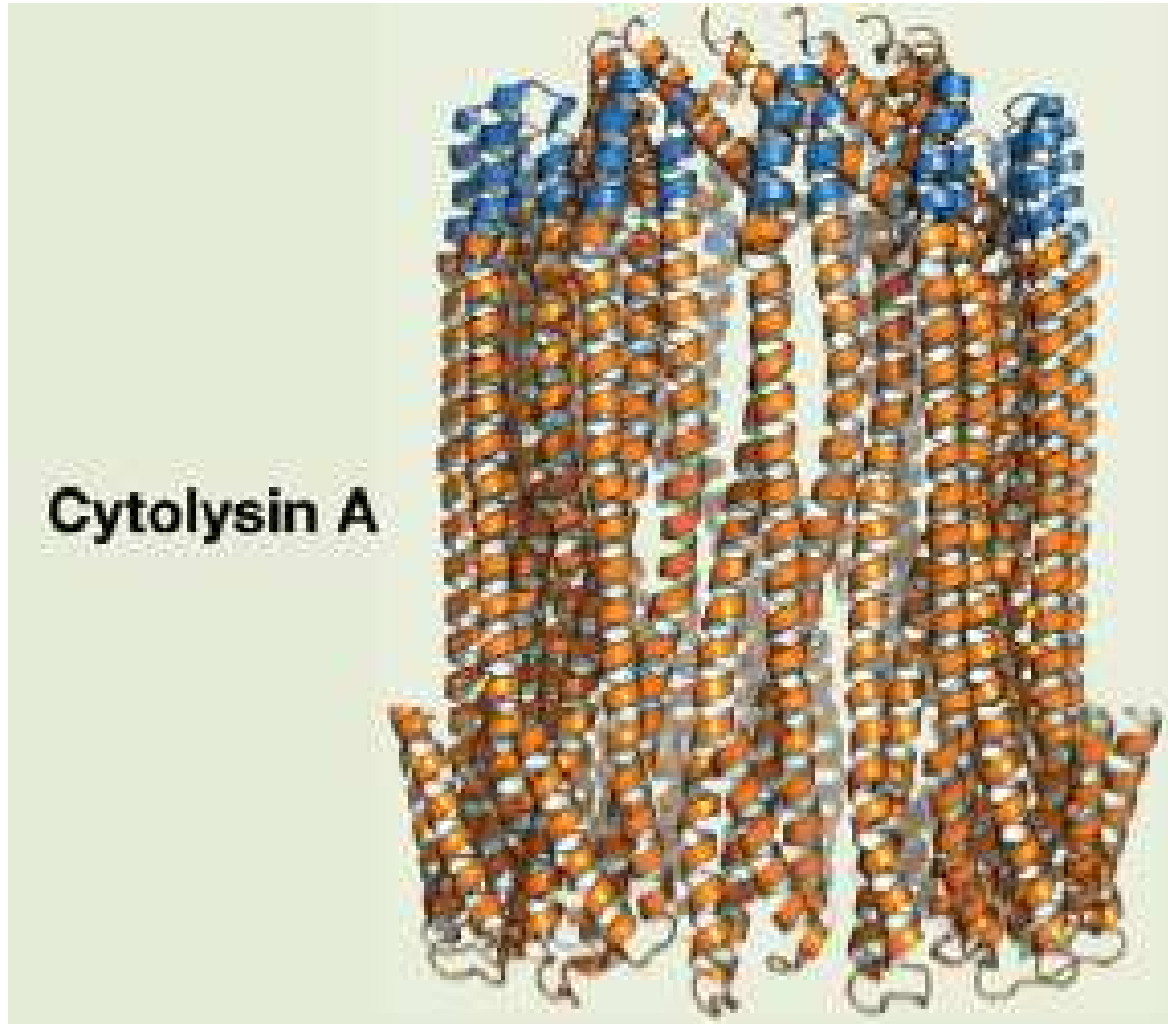
-dlouhé CC (>100AMK) vytváří vláknité struktury (myosin, SMC ... )



# Interakce šroubovic



Influenza hemagglutinin



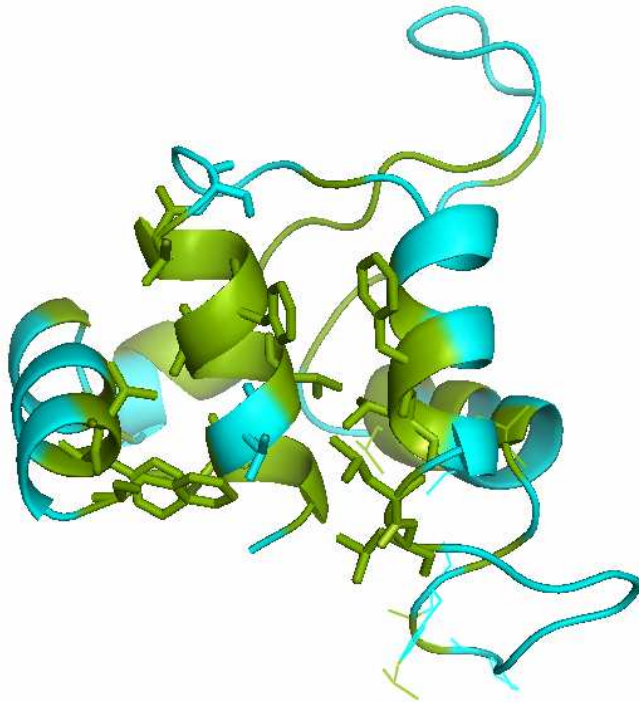
Cytolysin A

Cytolysin vytváří póry v membránách cizích buněk

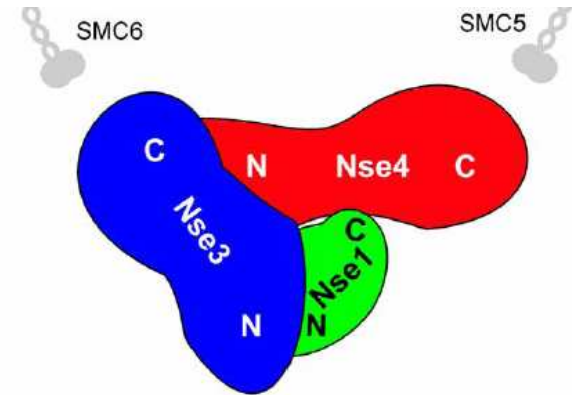
Šroubovice se pod určitým úhlem dotýkají - obtáčejí Mueller & Ban, Cell, 2010; 1QOY, 2WCD

## ... terciární struktura ...

- Ostatní interakce lze definovat pouze obecně: proteiny musí mít **komplementární tvar i charakter**



Slabá hydrofobní interakce mezi Nse3 a Nse4



- šroubovice se váže do hydrofobní kapsy
- malá změna povrchu může změnit interakční schopnosti (mutace hydrofobních/zelených zbytků vazbu narušila)
- WHD (winged-helix doména)
- více povrchů - malá změna povrchu může změnit interakční schopnosti (nabitě K, R = vazba na DNA vs hydrofobní = PPI)



- Nalézt a definovat interakční povrchy lze obtížně (ze sekvence-primární) : proteiny musí mít **komplementární tvar a charakter** (terciární)– hledáme kapsy (více míst)

MAGEA4

Cleft analysis for: 2wa0

View options

- Binding-site(s)
- Binding-surface(s)

Coloured by

- cleft (as in table below)
- closest atom type
- residue type
- residue conservation

Jmol RasMol

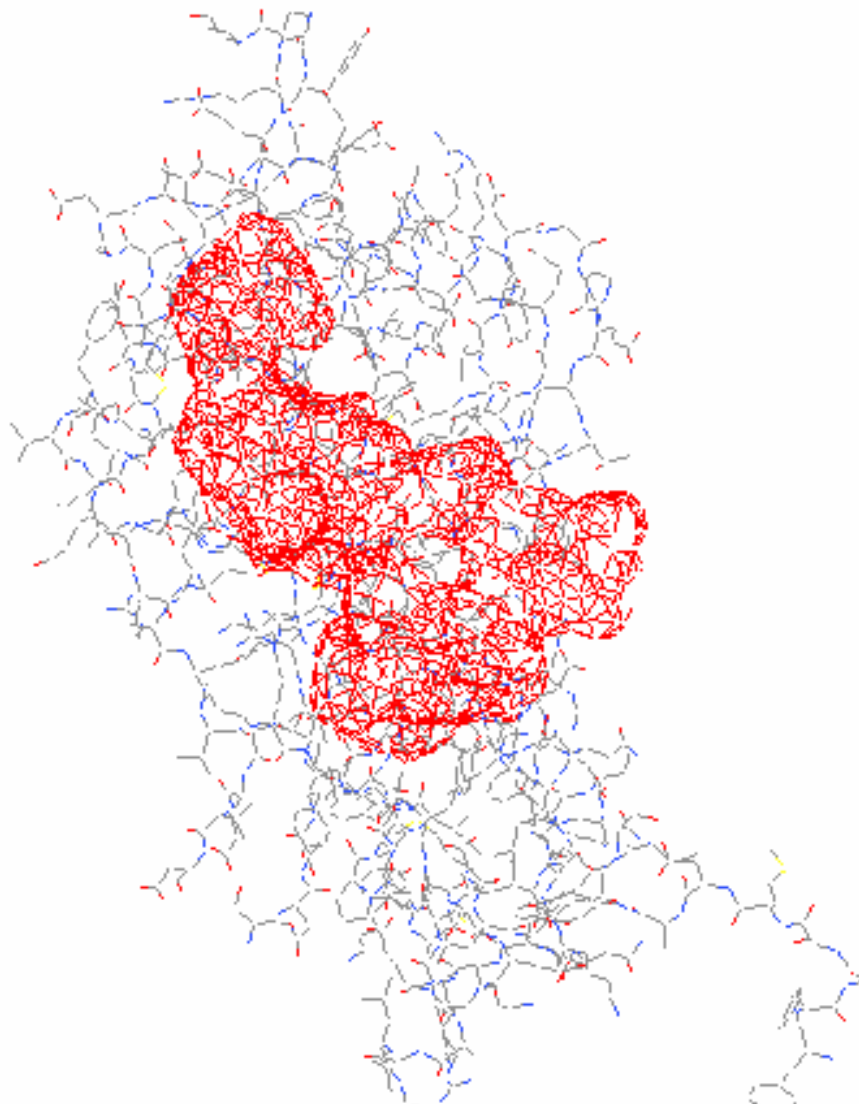
Clefts	Volume	R1 ratio	Accessible vertices	Buried vertices	Average depth	Residue type	Ligands			
1	2370.52	0.98	65.15	1	10.55	1	10.50	1	8 6 5 15 4 4 1	

největší kapsa

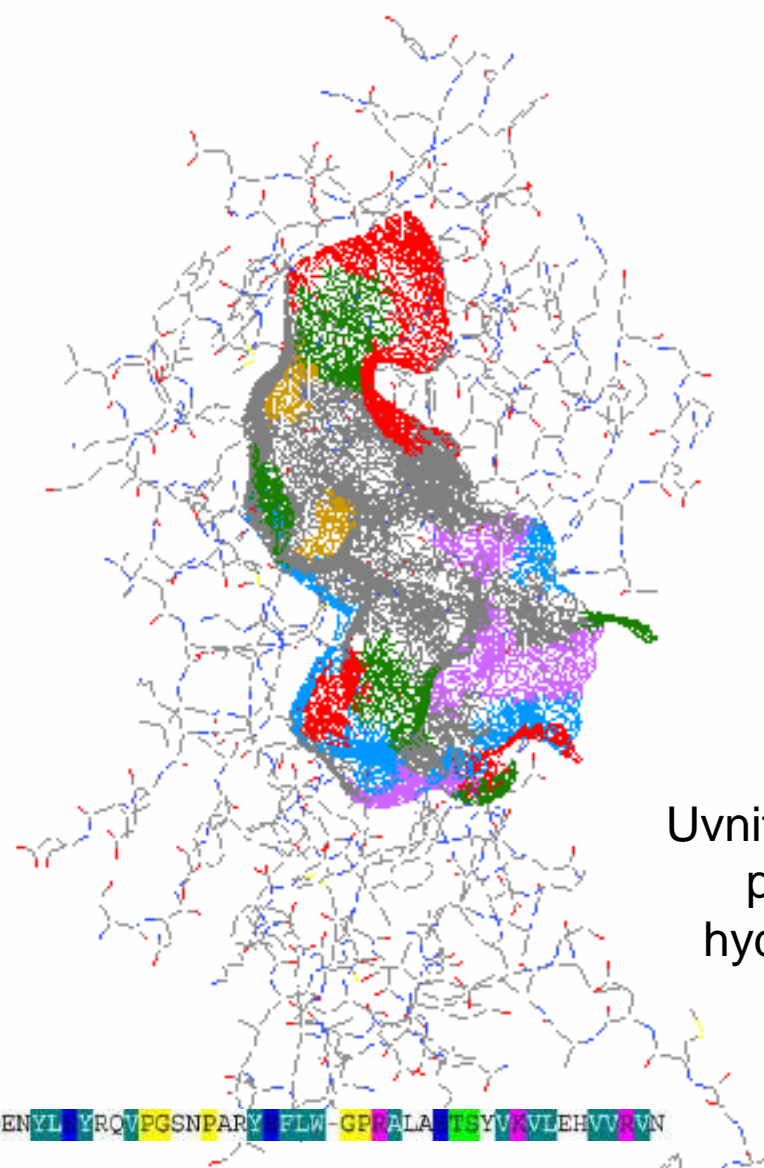
<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/>

Residue-type colouring						
Positive	Negative	Neutral	Aliphatic	Aromatic	Pro & Gly	Cysteine
H,K,R	D,E	S,T,N,Q	A,V,L,I,M	F,Y,W	P,G	C

Binding site



Binding surface

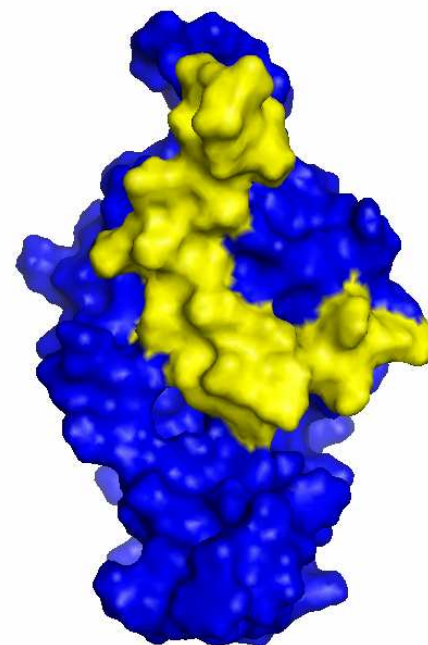
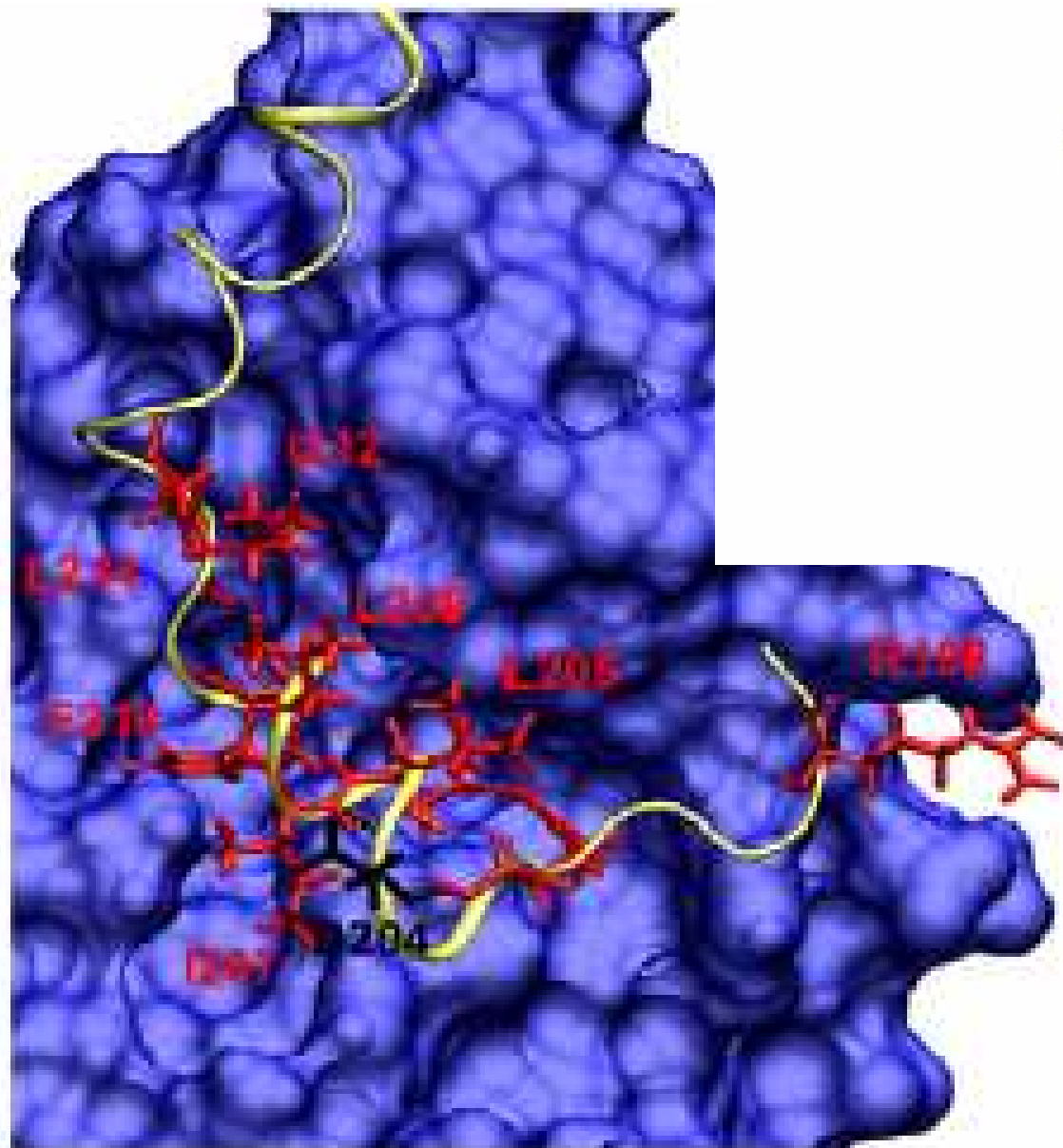


Uvnitř kapsy  
převládá  
hydrofobní  
povrch

A4 GLLIIVLGTIAMEGDSAS - EIWEEELGVMGVYDGREHTVYGP - RRLLTQDWVQENYL YRQWPGSNPARY FLW - GPALA TSYVAVLEHVAVN

Residue-type colouring						
Positive	Negative	Neutral	Aliphatic	Aromatic	Pro & Gly	Cysteine
H,K,R	D,E	S,T,N,Q	A,V,L,I,M	F,Y,W	P,G	C





Docking partnera (molekulární dynamika): do hydrofobní kapsy namodelovaného proteinu MAGE(C2) byl nadockován hydrofobní peptid (EID2-model) (-složitější docking je nespolehlivý)

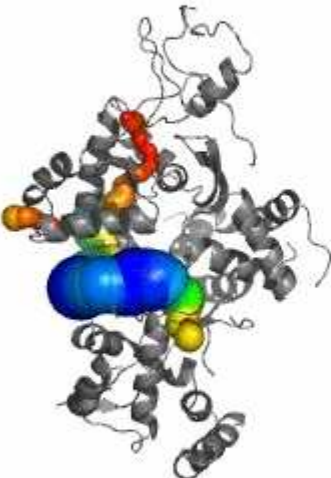
- Nalézt a definovat interakční povrchy lze obtížně: proteiny musí mít **komplementární tvar a charakter** – hledáme kapsy nebo tunely

**PDBsum** Go to PDB code:

[Top page](#)
[Protein](#)
[Metals](#)
[Prot-prot](#)
[Clefs](#)
[Tunnels](#)
[Links](#)

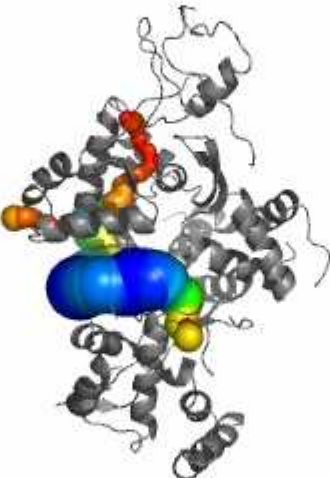
Tunnel analysis for: 3nw0 calculated with MOLE 2.0 PDB id

Tunnels calculated on whole structure



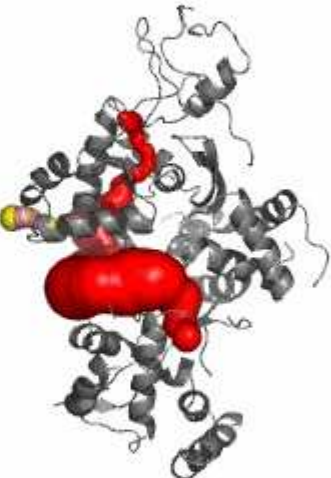
3 tunnels, coloured by tunnel radius

Tunnels calculated excluding ligands



3 tunnels, coloured by tunnel radius

Tunnels calculated excluding ligands




3 tunnels, coloured as in list below


**View options**

[MOLEonline 2.0](#)


manipulation and visualization with HETATM:



without HETATM:

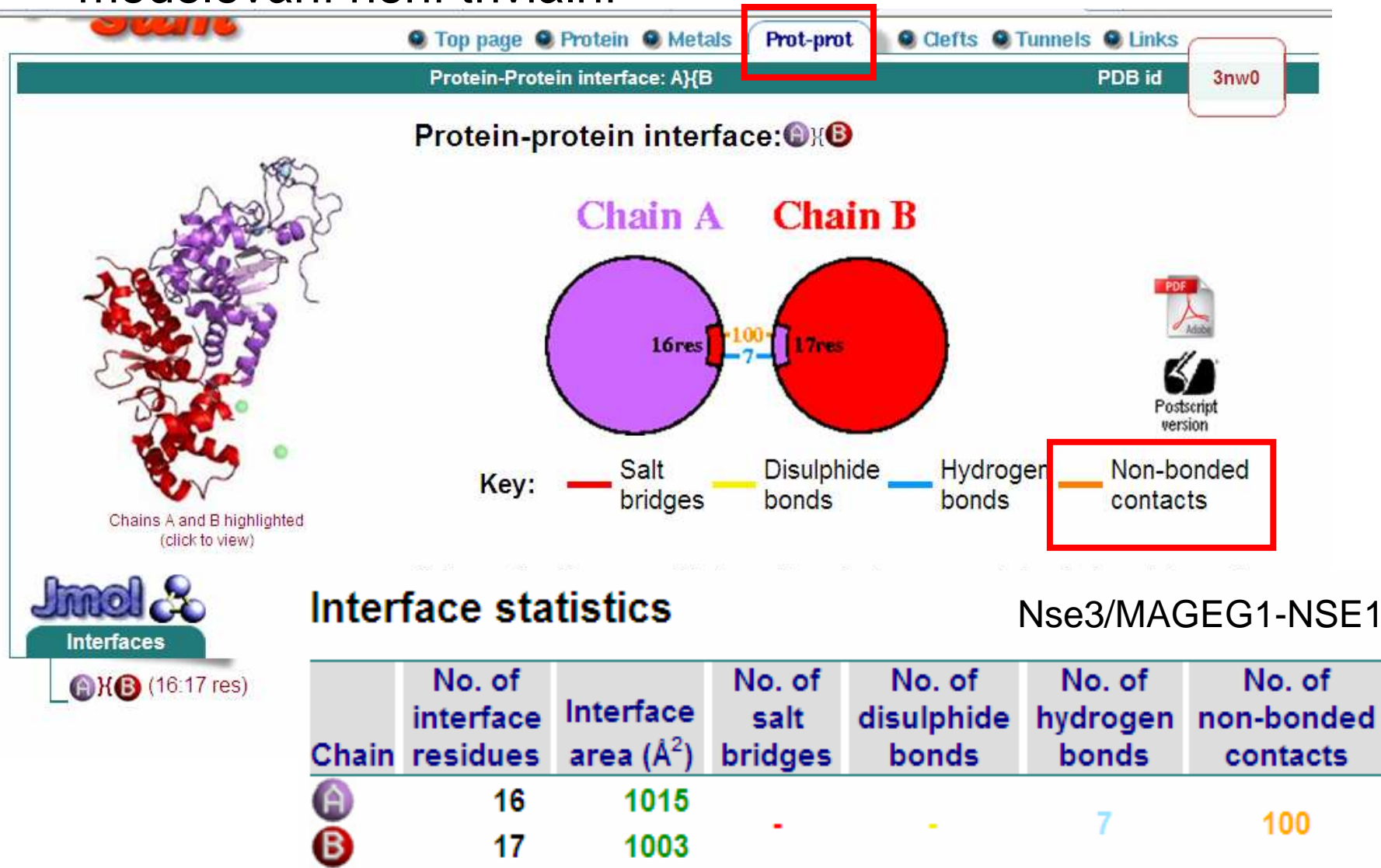


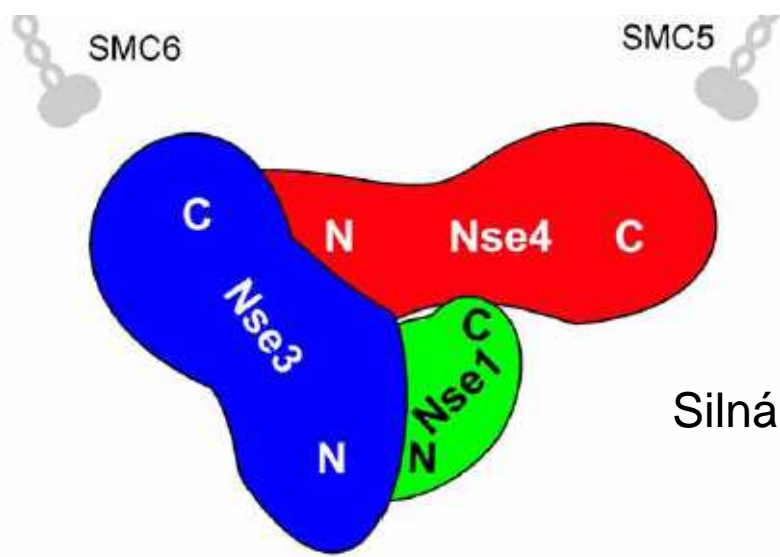
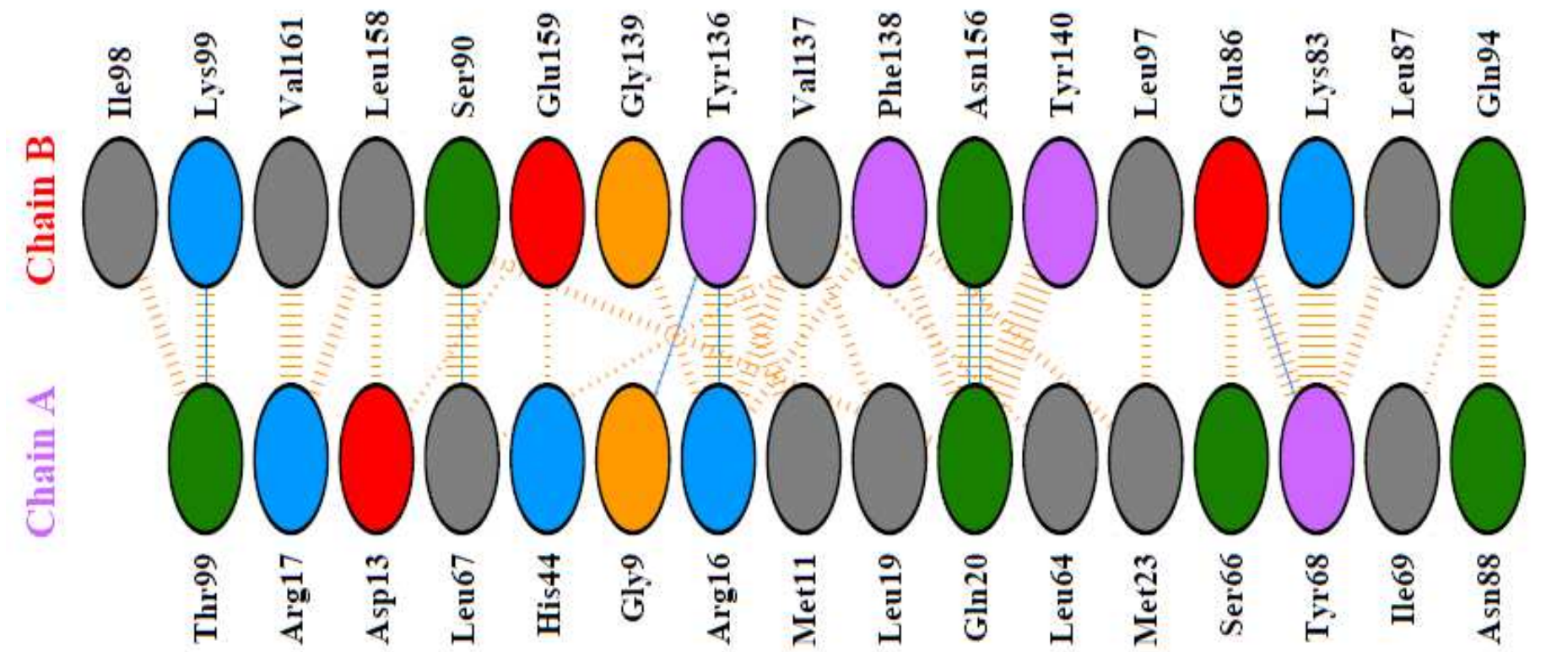
Nse3/MAGEG1-NSE1

Tunnels		Radius	Length	Hydropathy	Hydrophobicity	Polarity	Mutability	Residue type	Ligands
1		1.27	110.6	-0.05	0.06	14.4	83	10 4 3 18 2 1 0	

<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/>

# Máte-li štěstí - kokrystal homologů (málo v PDB) modelování není triviální



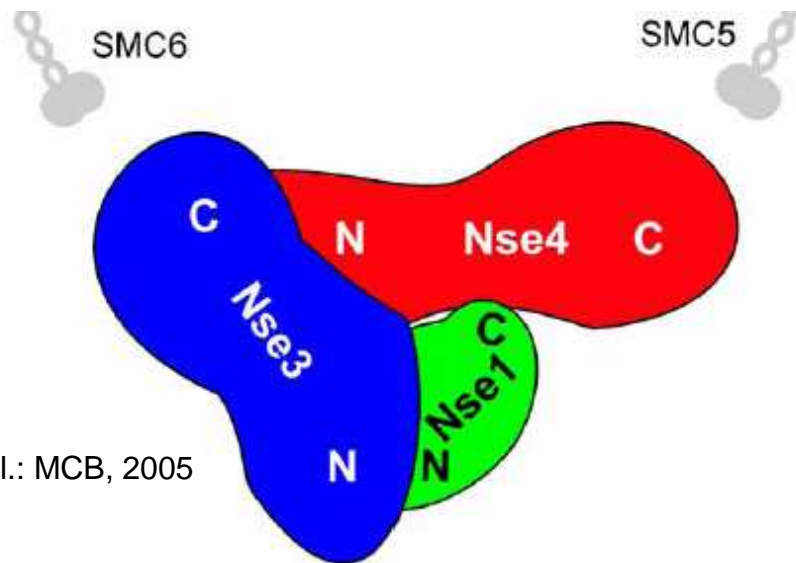
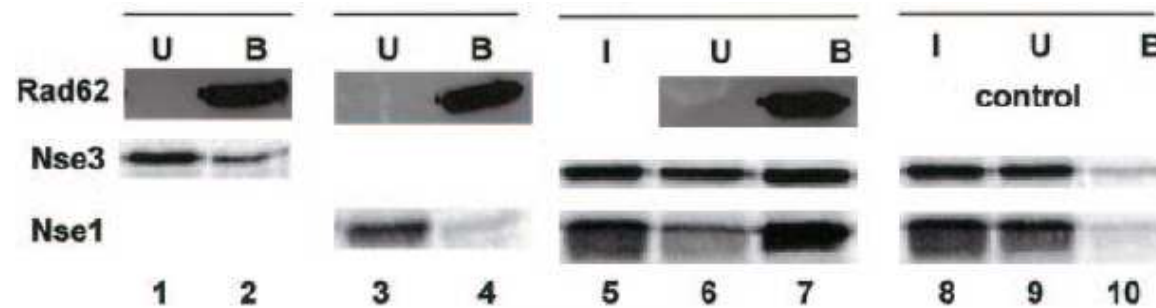


Disulphide bonds — Hydrogen bonds — Non-bonded contacts

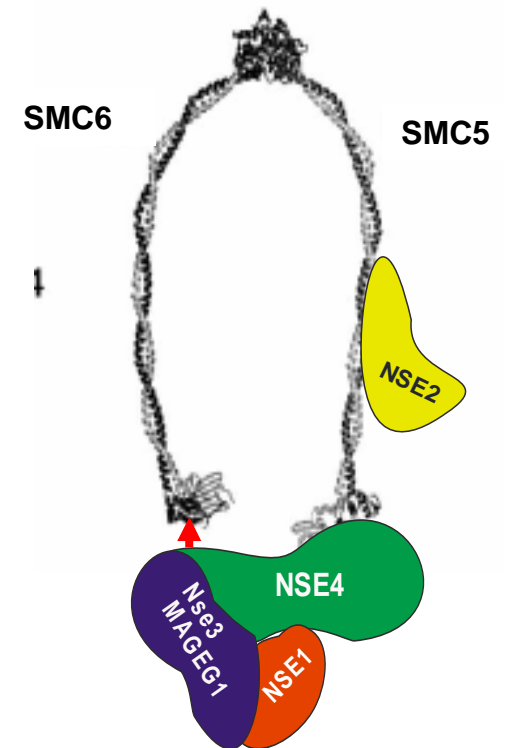
Silná interakce mezi Nse1 (chain A) a Nse3 (chain B)

## ... kvarterní struktura

- více povrchů jednoho proteinu interaguje s více partnery
- vzájemné interakce více proteinů vytváří větší povrchy a vzájemně se stabilizují – vzniká pevný komplex

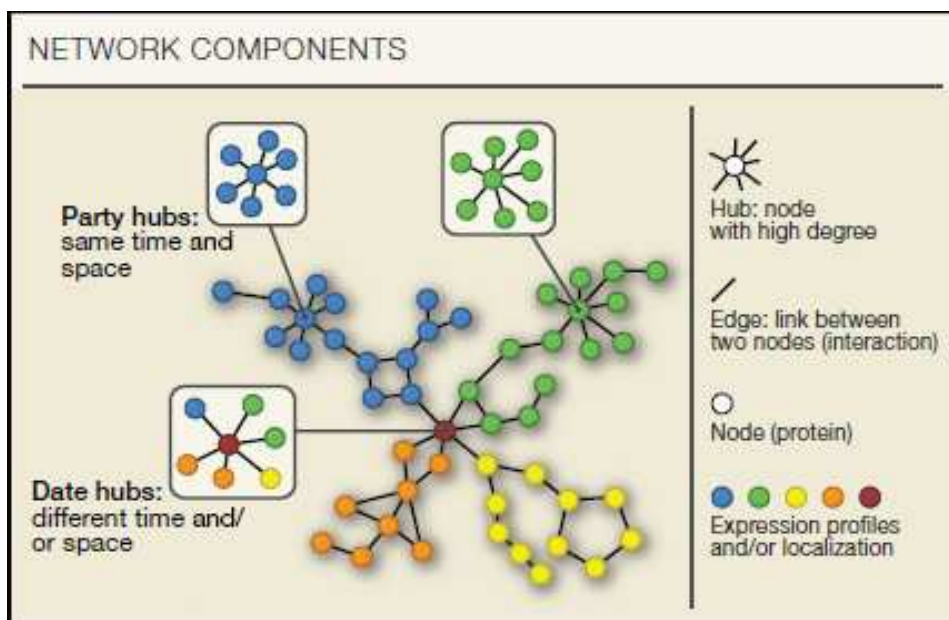


Sergeant et al.: MCB, 2005

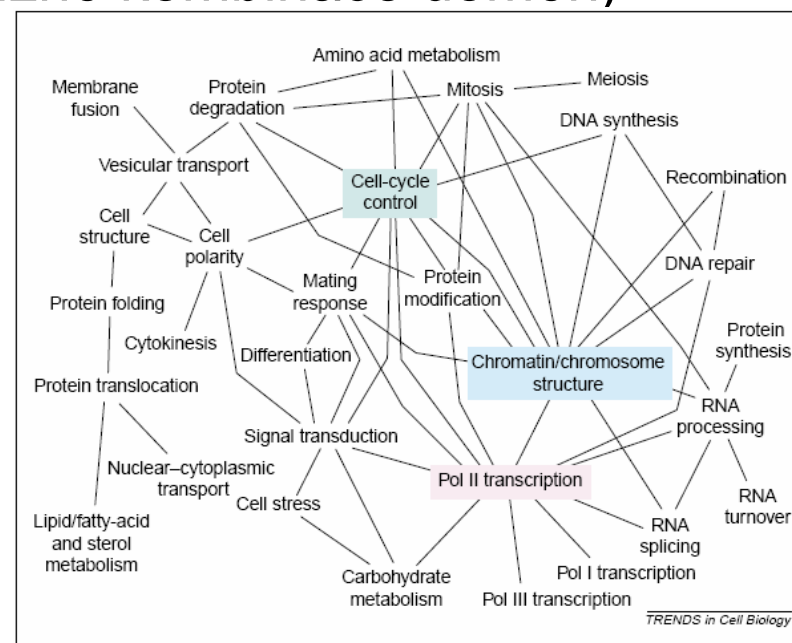


# Protein-proteinové interakce

- stabilní (velké plochy, většinou součástí komplexů)
- přechodné/slabé (součást dynamických procesů – předávání signálů, modifikace)
- posttranslační modifikace mohou změnit vazebné vlastnosti povrchu (fosforylace, metylace, SUMO)
- souhrn protein-proteinových interakcí = interaktom  
(modularita díky interakcím domén – různé kombinace domén)



Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011



Network/síť naznačuje funkční vztahy  
Tucker et al, TiCB, 2001

„ ... Molecular interactions can occur between molecules belonging to different biochemical families (proteins, nucleic acids, lipids, carbohydrates, etc.) and also within a given family. Whenever such molecules are connected by physical interactions, they form molecular interaction networks that are generally classified by the nature of the compounds involved. Most commonly, *interactome* refers to protein–protein interaction (PPI) network (PIN) or subsets thereof. For instance, the Sirt-1 protein interactome 3 is the network involving Sirt-1 and its surrounding proteins. Another extensively studied type of interactome is the protein–DNA interactome, also called a gene-regulatory network, a network formed by transcription factors, chromatin regulatory proteins, and their target genes. Even metabolic networks can be considered as molecular interaction networks: metabolites, i.e. chemical compounds in a cell, are converted into each other by enzymes, which have to bind their substrates physically. In fact, all interactome types are interconnected. For instance, protein interactomes contain many enzymes which in turn form biochemical networks. Similarly, gene regulatory networks overlap substantially with protein interaction networks and signaling networks...”

# Informační zdroje PPI

The screenshot shows a Windows Internet Explorer browser window displaying the website <http://proteome.wayne.edu/PIDBL.html>. The page is titled "Links to Protein Interaction Databases" and is part of the "Finley Lab" website, which is the "Center for Molecular Medicine and Genetics".

The page content is organized as follows:

- Header:** "Finley Lab" and "Center for Molecular Medicine and Genetics". Navigation links include "Finley Lab", "IM Browser", "DroID", "Protocols/Reagents", "People", and "Contact".
- Left Sidebar:** A menu with radio buttons for "Projects", "People", "Bioinformatics", "Papers", "Positions", "Proteomics", "Protein Interaction DB links", "Protocols/Reagents", and "Molecular Biology links". Below the menu is the "WAYNE STATE UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE" logo and contact information for the Center for Molecular Medicine and Genetics.
- Main Content:**
  - protein interaction DB links** (tab)
  - Links to Protein Interaction Databases** (title)
  - Finley Lab Interactions Databases:**
    - *Drosophila Interactions Database (DroID)*
    - *Campylobacter jejuni Interactions Databases*
  - Gene or Protein Interactions Databases in the reseach community:**
    - • **BioGRID**- A Database of Genetic and Physical Interactions
    - **DIP** - Database of Interacting Proteins
    - • **IntAct** - EMBL-EBI Protein Interaction
    - **MINT** - A Molecular Interactions Database
    - **MIPS** - Comprehensive Yeast Protein-Protein interactions
    - **Yeast Protein Interactions** - Yeast two-hybrid results from Fields' group
    - **BRITE** - Biomolecular Relations in Information Transmission and Expression
    - **The PIM Database** - by Hybrigenics
    - **Mouse Protein-Protein interactions**
    - **Human Protein Reference Database**

The browser's taskbar at the bottom shows several open applications, including Microsoft Office, EndNote X1, and a nature journal article.

<http://proteome.wayne.edu/PIDBL.html>



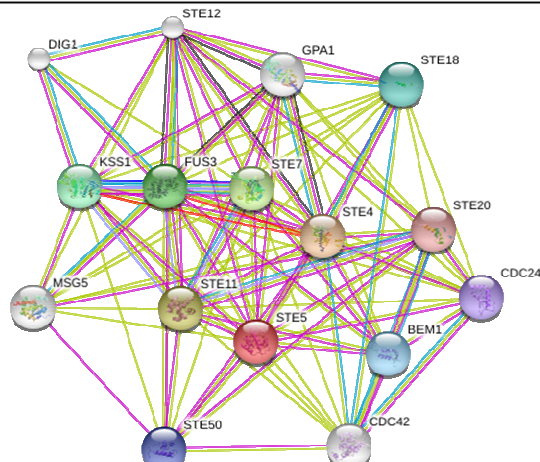
# Informační zdroje PPI

**Table 2.** Databases Available for Searching and/or Downloading Data Related to Protein Interactions

Database	Proteins/Domains	Type	Number of Interactions
DIP <sup>a</sup> , LiveDIP	P	E,S	55,733
BIND <sup>a</sup>	P	E,C,S	83,517
MPact/MIPS <sup>a</sup>	P	E,C,F	15,488 (4,300) <sup>b</sup>
STRING	P ←	E,P,F	730,000 (proteins)
MINT <sup>a</sup>	P	E,C	71,854
IntAct <sup>a</sup>	P ←	E,C	68,165
BioGRID <sup>a</sup>	P ←	E,C	116,000 (30,000) <sup>b</sup>
HPRD	P	E,C	33,710
ProtCom	P,D	S,H	1,770
3did, Interprets	D	S,H	3,304
Pibase, ModBase	D	S,H	2,387
CBM	D	S	2,784
SCOPPI	D	S	3,358
iPfam	D	S	3,019
InterDom	D	P	30,037
DIMA	D	F,S	—
Prolinks	P	F	—

**Table 3.** URLs and Primary Citations for Protein Interaction-Related Databases

Database	URL/FTP
DIP [102], LiveDIP[103]	<a href="http://dip.doe-mbi.ucla.edu">http://dip.doe-mbi.ucla.edu</a>
BIND [105]	<a href="http://bind.ca">http://bind.ca</a>
MPact/MIPS [97]	<a href="http://mips.gsf.de/services/ppi">http://mips.gsf.de/services/ppi</a>
STRING [119]	<a href="http://string.embl.de">http://string.embl.de</a>
MINT [120]	<a href="http://mint.bio.uniroma2.it/mint">http://mint.bio.uniroma2.it/mint</a>
IntAct [121]	<a href="http://www.ebi.ac.uk/intact">http://www.ebi.ac.uk/intact</a>
BioGRID [122]	<a href="http://www.thebiogrid.org">http://www.thebiogrid.org</a>
HPRD [123]	<a href="http://www.hprd.org">http://www.hprd.org</a>
ProtCom [124]	<a href="http://www.ces.clemson.edu/compbio/ProtCom">http://www.ces.clemson.edu/compbio/ProtCom</a>
3did [108], Interprets[125]	<a href="http://gatealoy.pcb.ub.es/3did/">http://gatealoy.pcb.ub.es/3did/</a>
Pibase [107], ModBase [126]	<a href="http://alto.compbio.ucsf.edu/pibase">http://alto.compbio.ucsf.edu/pibase</a>
CBM [26]	<a href="ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/cbm">ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/cbm</a>
SCOPPI [111]	<a href="http://www.scoppi.org/">http://www.scoppi.org/</a>
iPfam [127]	<a href="http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/iPfam">http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/iPfam</a>
InterDom [128]	<a href="http://interdom.lit.org.sg">http://interdom.lit.org.sg</a>
DIMA [129]	<a href="http://mips.gsf.de/genre/proj/dima/index.html">http://mips.gsf.de/genre/proj/dima/index.html</a>
Prolinks [104]	<a href="http://prolinks.doe-mbi.ucla.edu/cgi-bin/functionator/pronav/">http://prolinks.doe-mbi.ucla.edu/cgi-bin/functionator/pronav/</a>

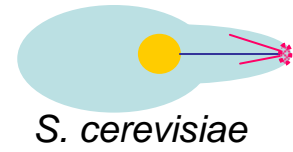
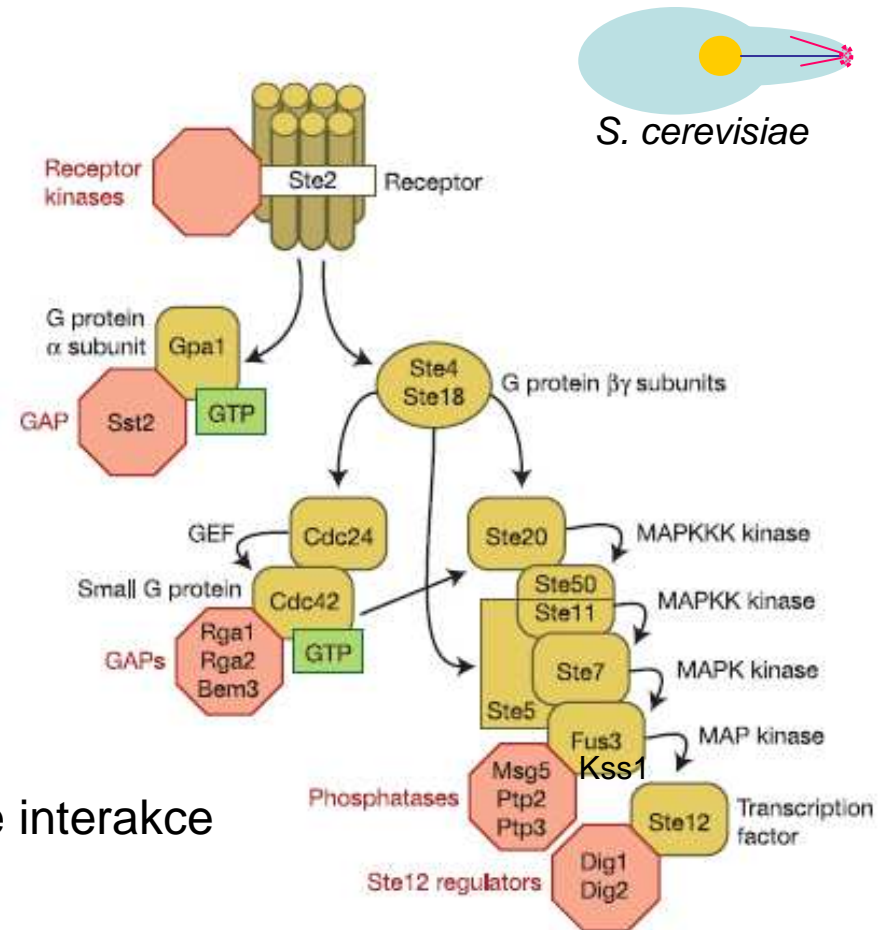
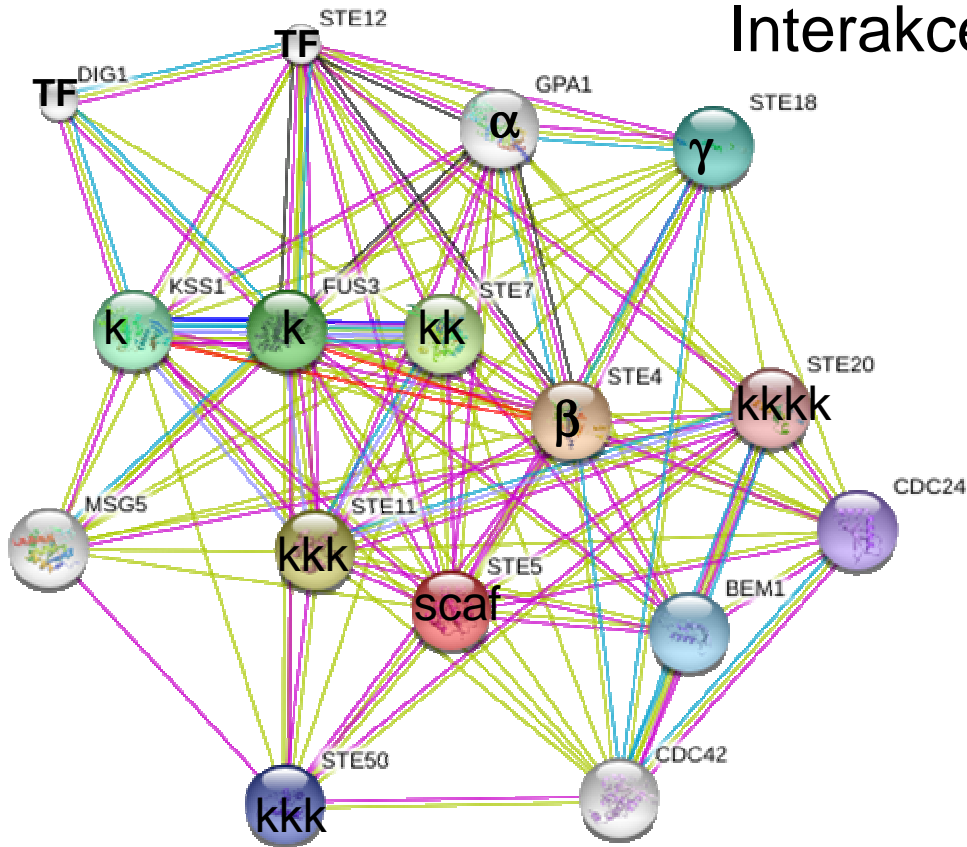


STRING  
PPI sítě (PINs)

Shoemaker and Panchenko, PLoS Comp Biol, 2007

# proteinové sítě – chybí info o posloupnosti, síle ... interakcí

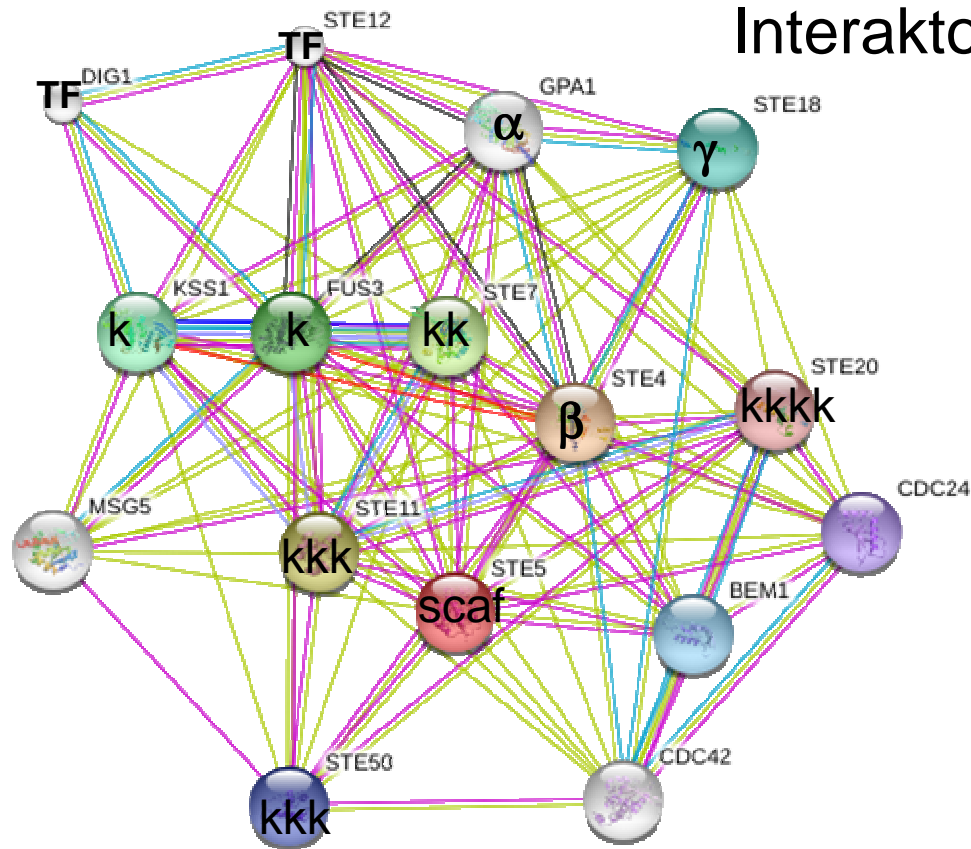
## Interakce x signální dráha



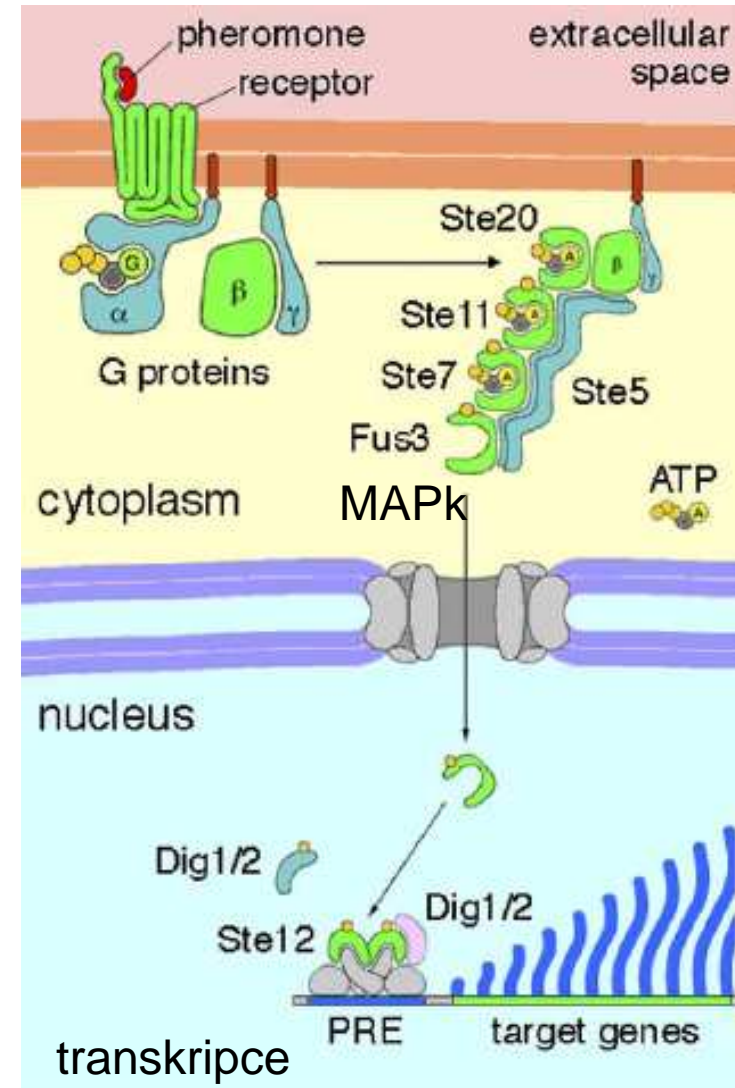
- Experiments Y2H, colP ... genetické interakce
- Databases
- Textmining STRING
- Gene Fusion <http://string-db.org>
- Coexpression transkripce

# proteinové sítě – chybí info o lokalizaci, komplexech ...

## Interaktom x komplexom



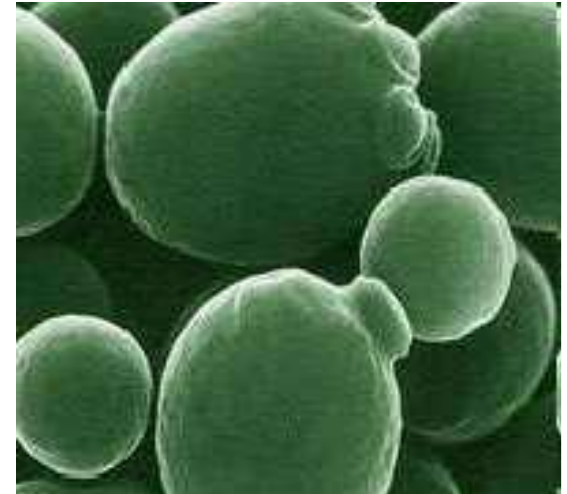
- Experiments Y2H, coIP ...
- Databases
- Textmining STRING
- Gene Fusion <http://string-db.org>
- Coexpression



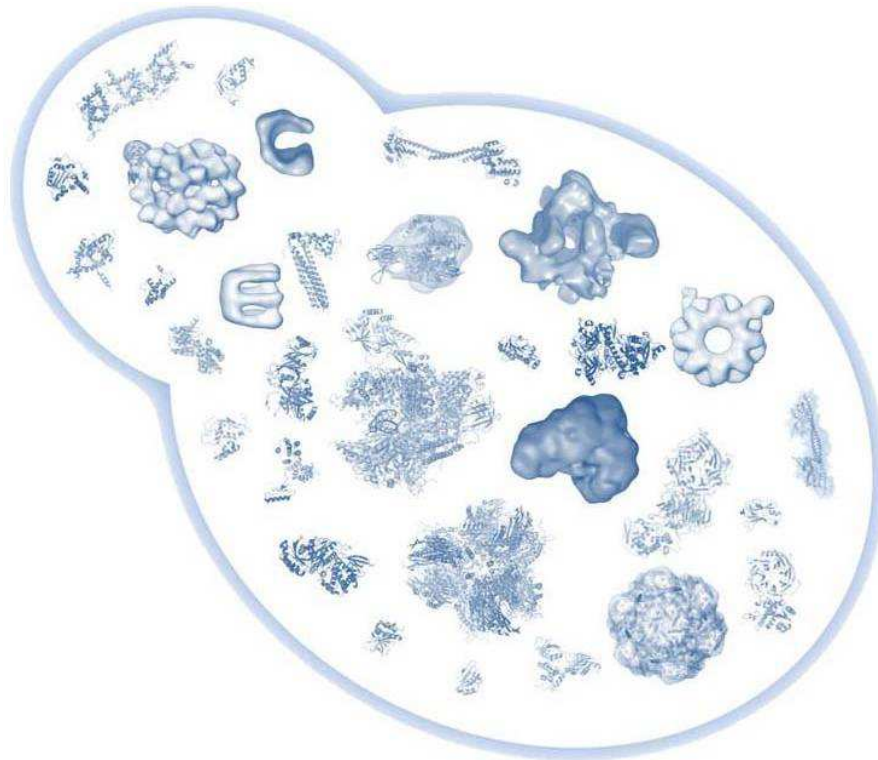
Wang et al., Nature, 2004



- informace o interakcích a komplexech napovídají o molekulárních mechanismech buněčných procesů
- „high-throughput“ screeny - interaktom *S. cerevisiae* >30 000 interakcí (~6000 proteinů)
- „průměrný“ protein interaguje s pěti-deseti proteinovými partnery



#### Modelový organismus *S. cerevisiae*

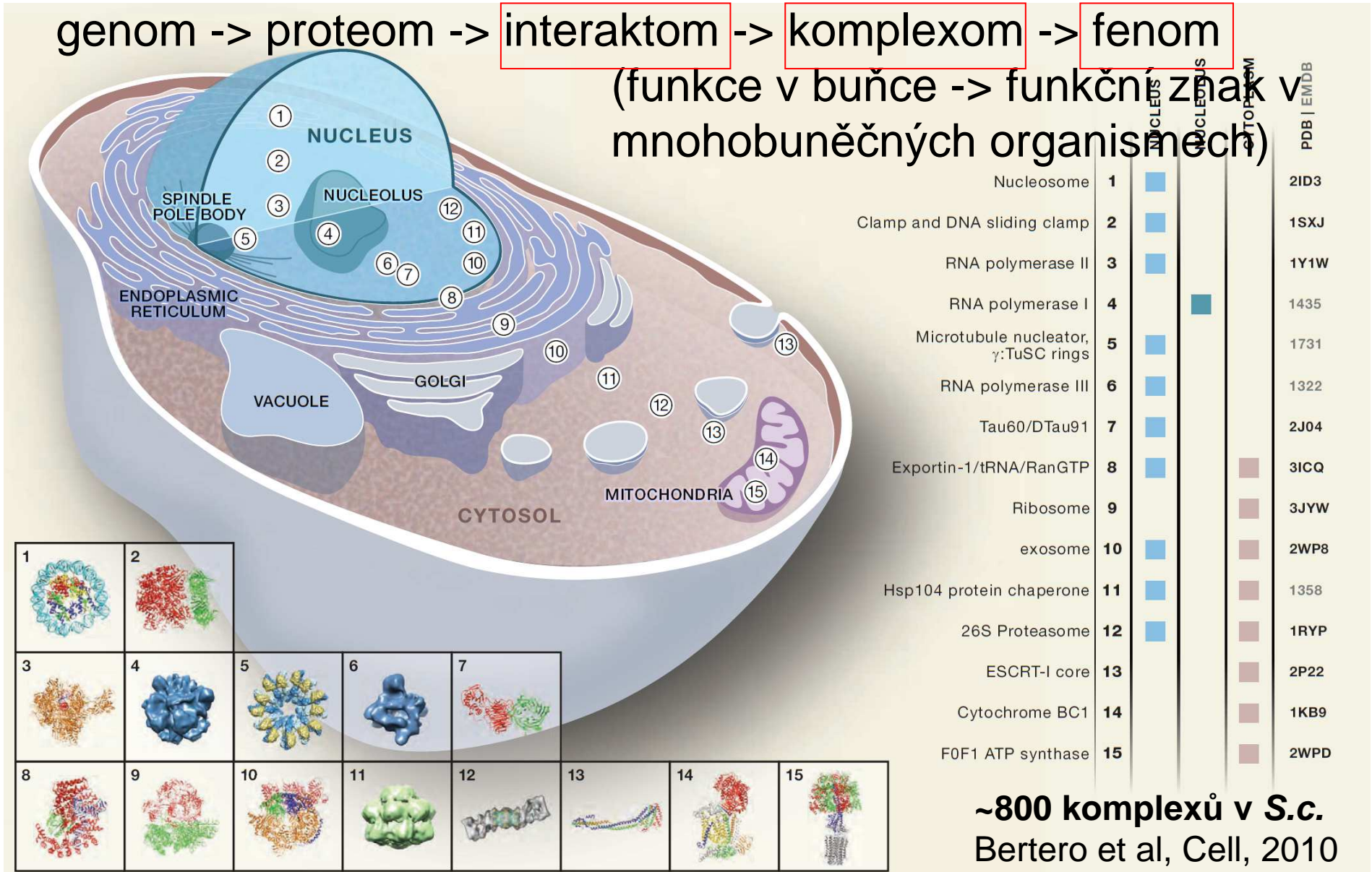


- Proteomické studie *S. cerevisiae* prokázala cca 800 různých komplexů v kvasinkové buňce
- „typický“ komplex obsahuje pět-deset podjednotek
- proteomický přístup - v rámci 6. FP bylo vytvořeno konsorcium 3D Repertoire (<http://www.3drepertoire.org>), které se pokouší vyřešit strukturu všech komplexů *S. cerevisiae*

gen -> protein -> interakce -> komplex -> superkomplex ...  
 (molekulární stroj) -> kompartment -> buňka ...

genom -> proteom -> interaktom -> komplexom -> fenom

(funkce v buňce -> funkční znak v mnohobuněčných organismech)



**~800 komplexů v S.c.**  
 Bertero et al, Cell, 2010

# Souhrn - protein-proteinové interakce

- proteiny jsou troj-rozměrné - mají různé tvary a více domén => mají mnoho vazebných míst na povrchu => komplexy a "sítě"
- části proteinů/domény interagují s doménami partnerů
  - domény mají určitou strukturu, která do značné míry determinuje tvar jejího povrchu, ale ...
  - charakter (hydrofobicitu, polaritu, náboj) povrchu určují postraní řetězce aminokyselin směřující do solventu, takže ...
  - interakce proteinu je determinována povrchem, který musí mít tvar i charakter komplementární s interakčním partnerem (typy interakcí: ...)

