PROTEOMIKA

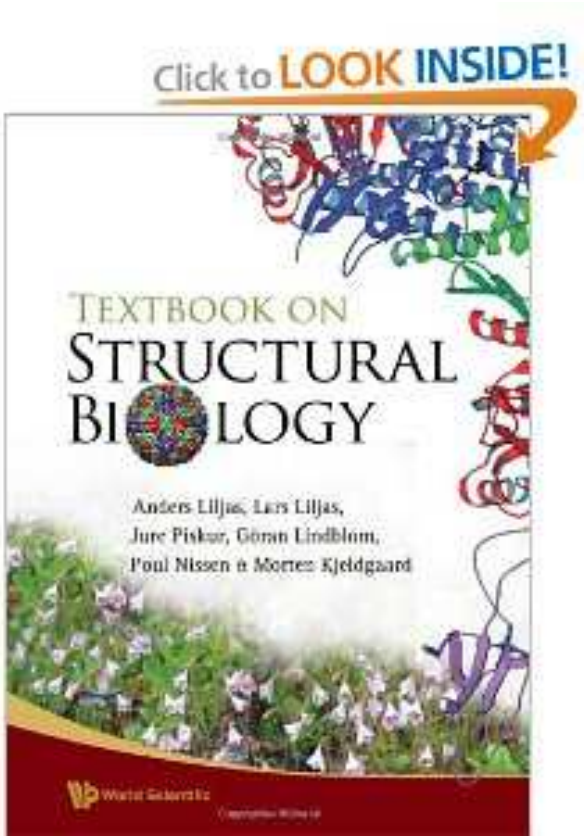
doc. Jan Paleček
jpalecek@sci.muni.cz

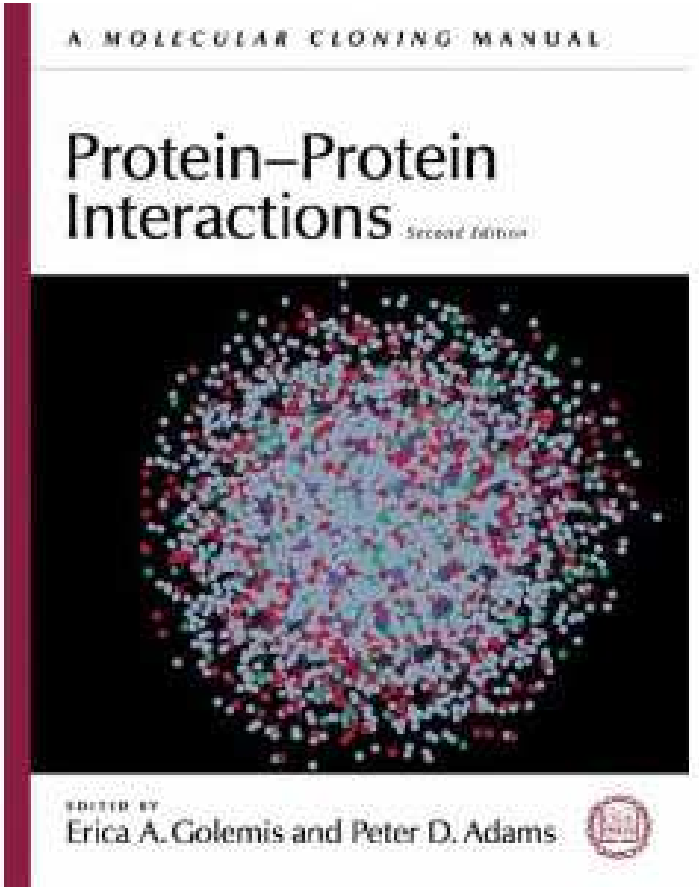
- Protein-proteinové interakce – 21.10.
  - jak spolu proteiny interagují?
  - interaktom
- Proteinové komplexy – 4.11.
  - protein-proteinové interakce a komplexy
  - komplexom, architektura a funkce komplexů

CG030 – Struktura a funkce proteinových komplexů

Informační zdroje

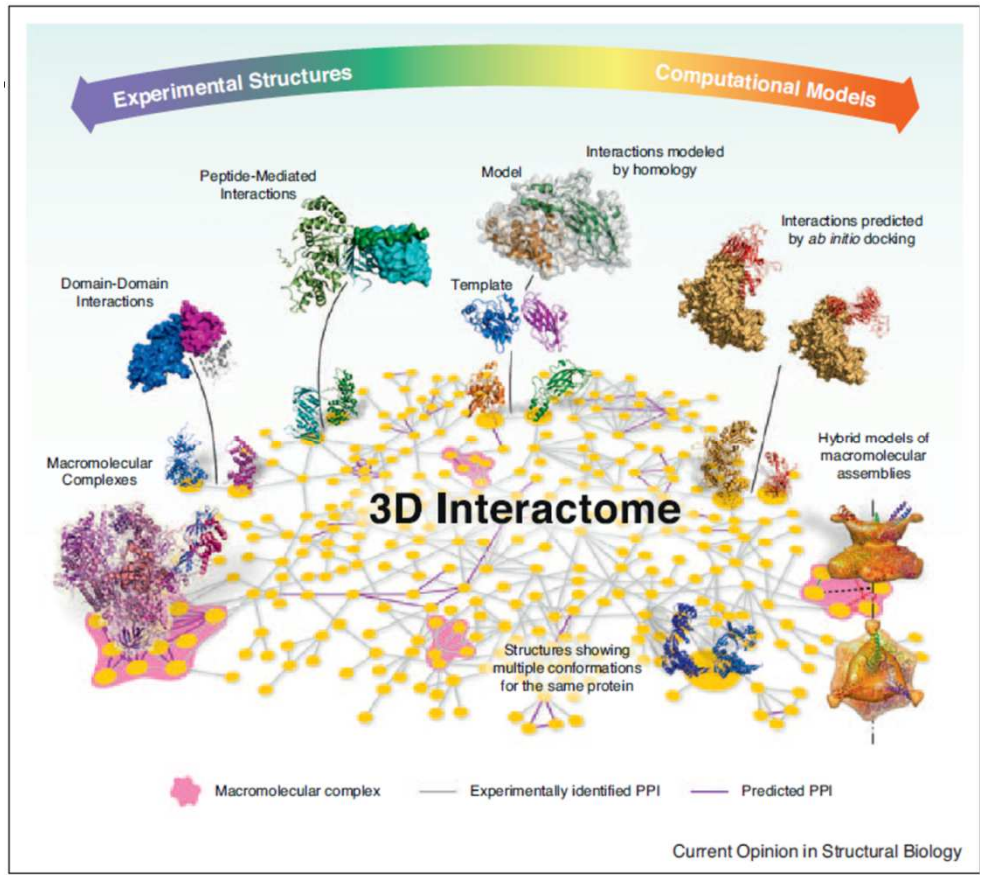
Alberts a spol: Molecular biology of the Cell (2008 …)
Liljas a spol: Structural biology (2009) …
… nejnovější články z časopisů Nature, …

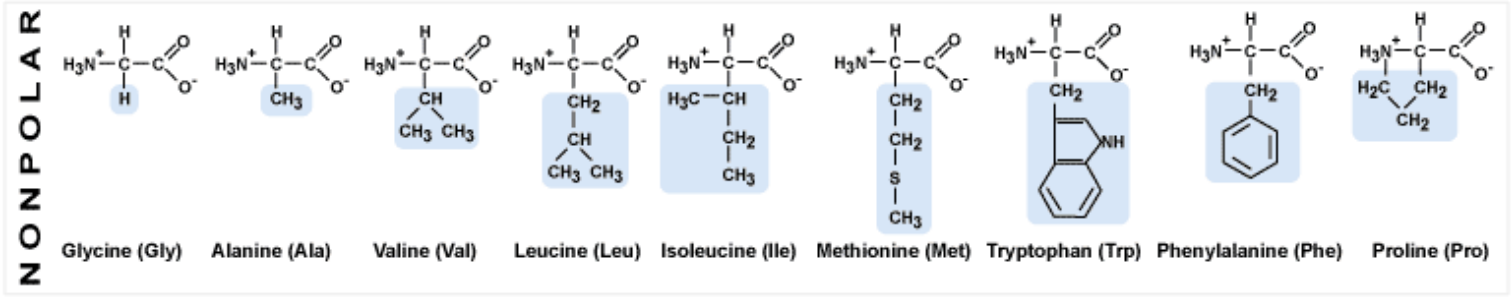


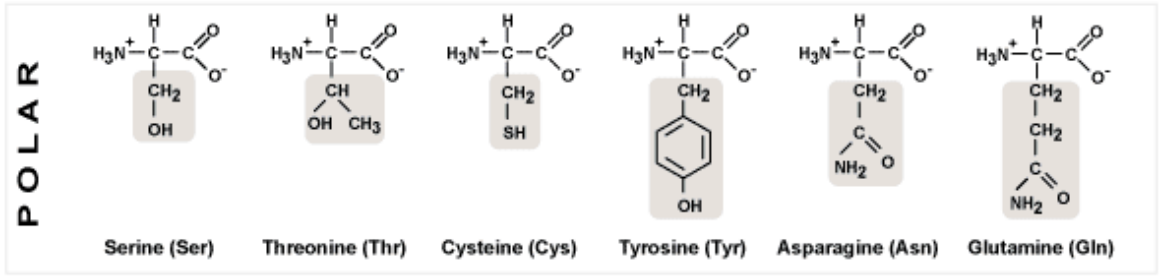


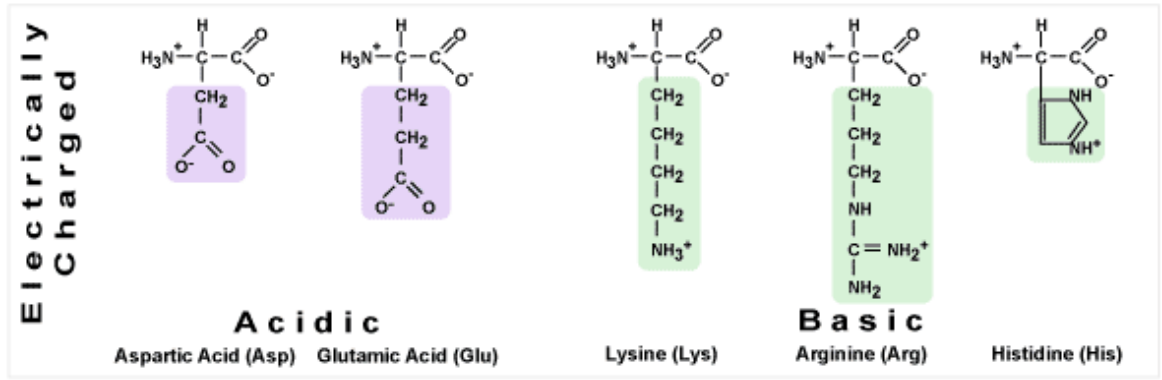
Databáze proteinových struktur: http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do, http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/
Database protein-proteinových interakcí: http://string-db.org/newstring_cgi ... http://www.ebi.ac.uk/intact/?conversationContext=1

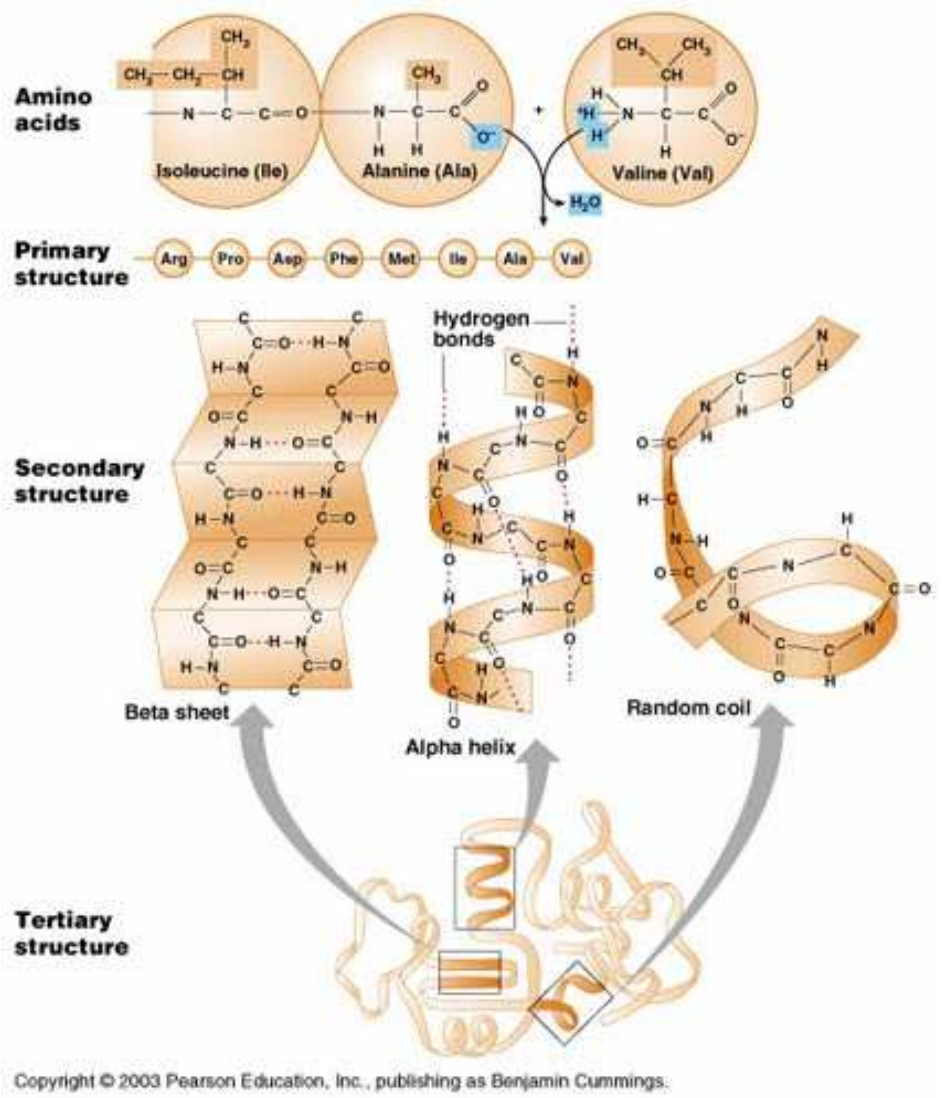
- Protein-proteinové interakce – 21.10.
  - Interakce: od primární po terciární strukturu
  - Typy vazeb …
  - Informatika:
    - databáze struktur, interakcí …
    - docking, predikce …
    - motivy, evoluční aspekty …
  - Interaktom …
    - sítě
    - 3D interaktom











Základní proteinové charakteristiky

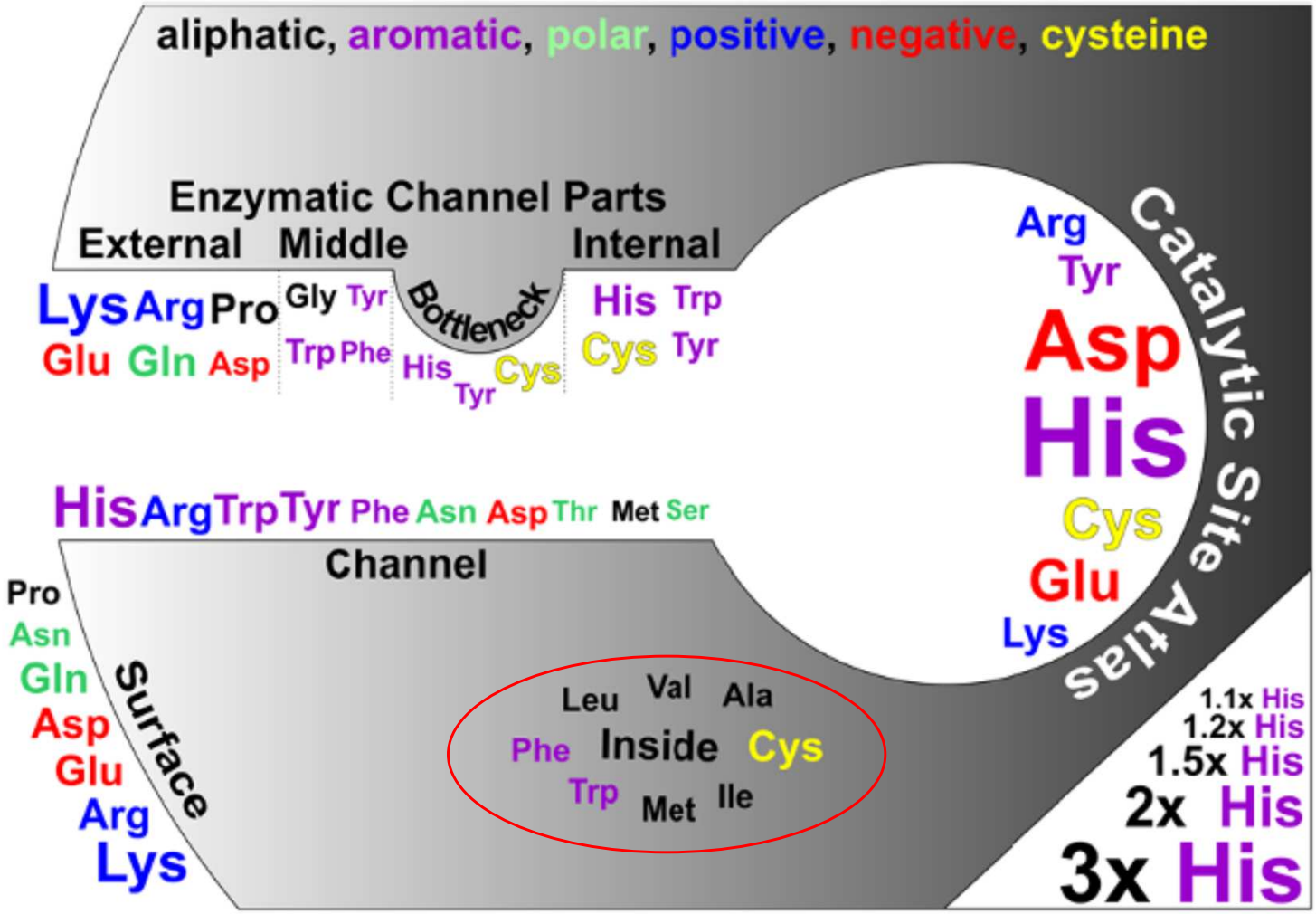
Primární

Sekundární

Terciární

Kvarterní – dva proteiny a více …

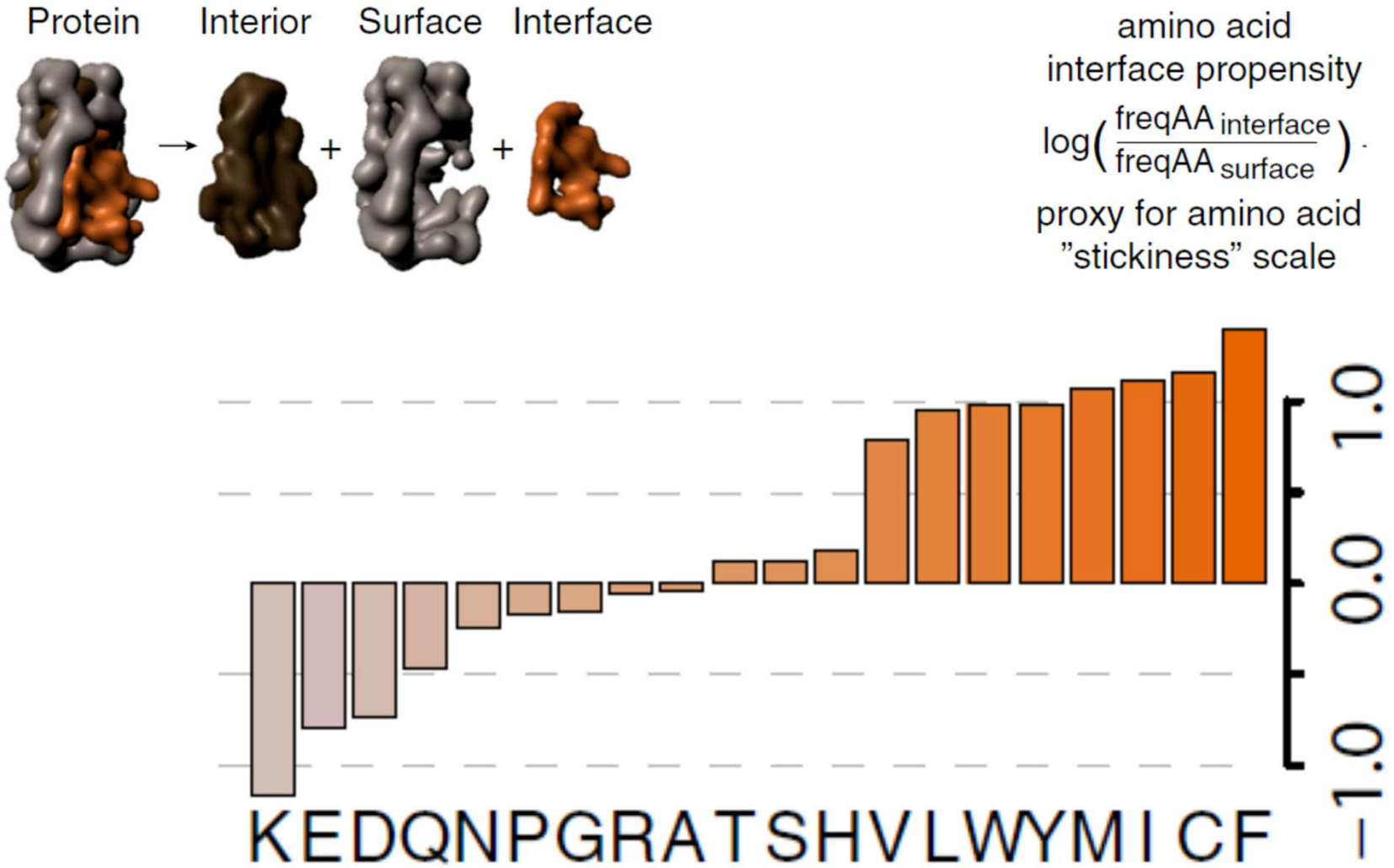
Podíl AMK (primární struktury) na proteinových interakcích



- uvnitř hydrofobní, povrch polární/nabitý (do solventu/vody), ale katalytická centra (tunely) jsou také polární a nabité (katalýza biochemické reakce)

Pravda a spol, BMC Bioinf, 2014

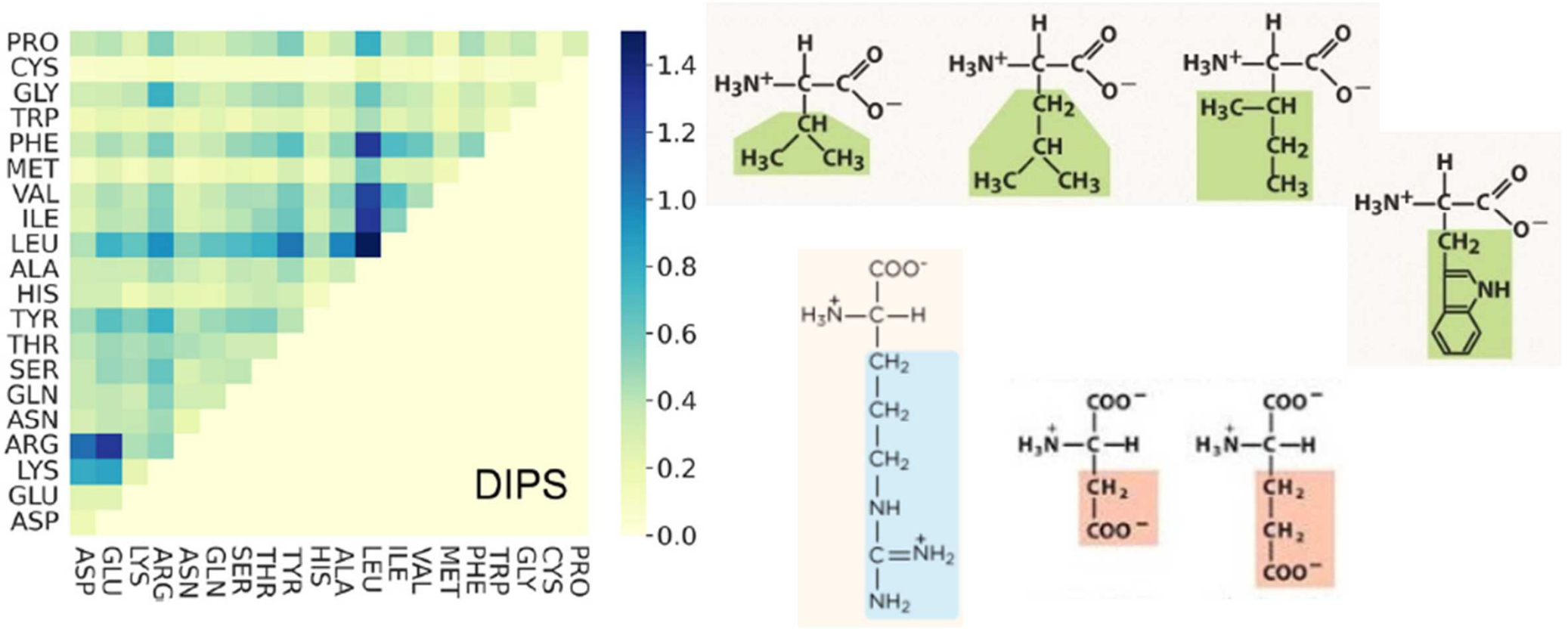
PPI od primární struktury …



Eichborn et al, Genome Inf, 2009
Levy et al.: PNAS, 2012

poměr mezi výskytem AMK na „intaktním“ povrchu a interakčním povrchu – polární a nabité do solventu tj. povrchu - hydrofobní na povrchu nejčastěji vytváří protein-proteinové interakce

PPI od primární struktury …



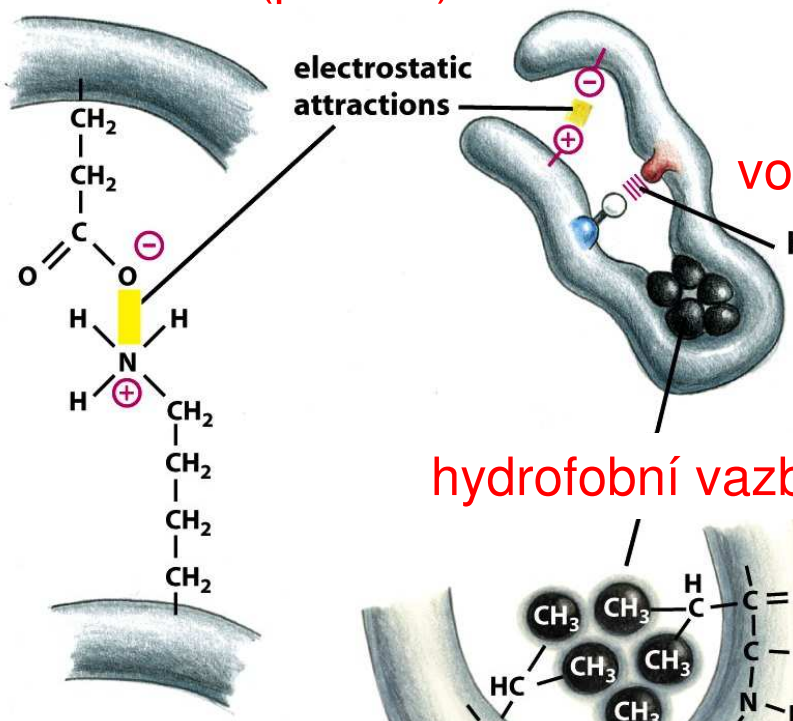
Leu s Ile, Leu, Val a Phe = hydrofobní AMK

Arg(+) s Asp(-) a Glu(-) = nabité AMK

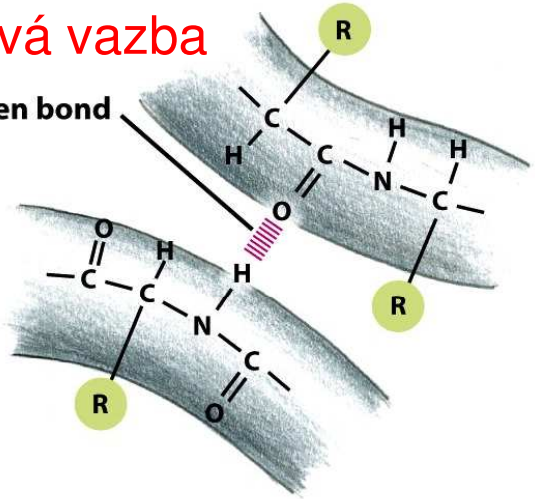
Rui et al, RSC Chem Biol, 2023

Typy vazeb v PPI

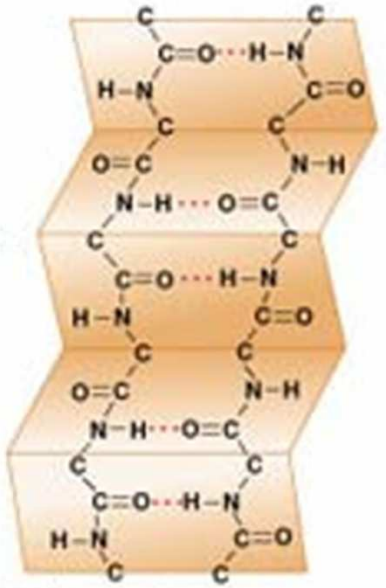
iontová (polární) vazba



vodíková vazba



hydrofobní vazba



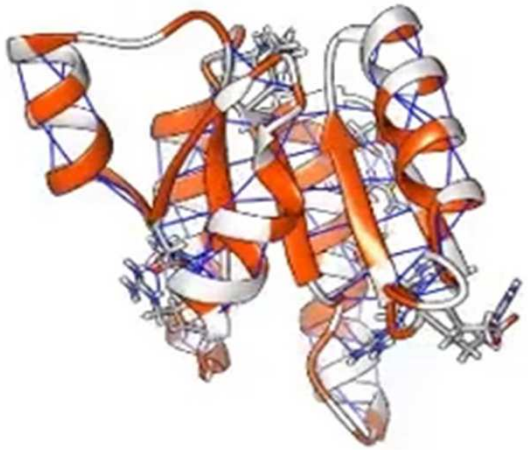
β-listy

www.BANDICAM.com

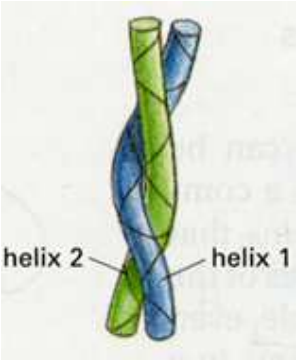
Figure 3-4 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Která z těchto vazeb převažuje v PPI?

Kovalentní vazba = modifikace (nikoli PPI)
vyjímečně např. disulfidické můstky
posttranslační modifikace (ubikvitinylace, SUMOylace)



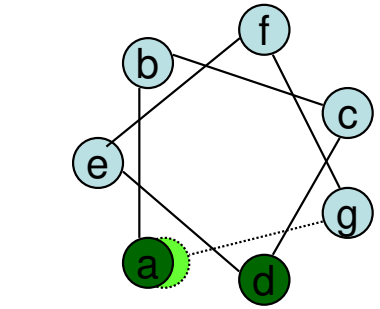
… sekundární struktury …



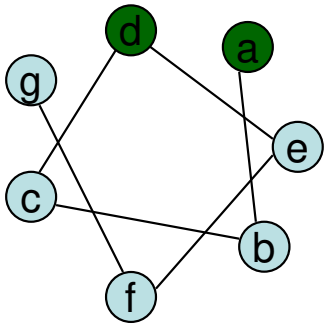
- šroubovice se vůči sobě orientují různým způsobem
- skládání slabých vazeb ovlivňuje sílu a specifitu celkové vazby

coiled-coil struktura

- dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch a tedy silnou vazbu)

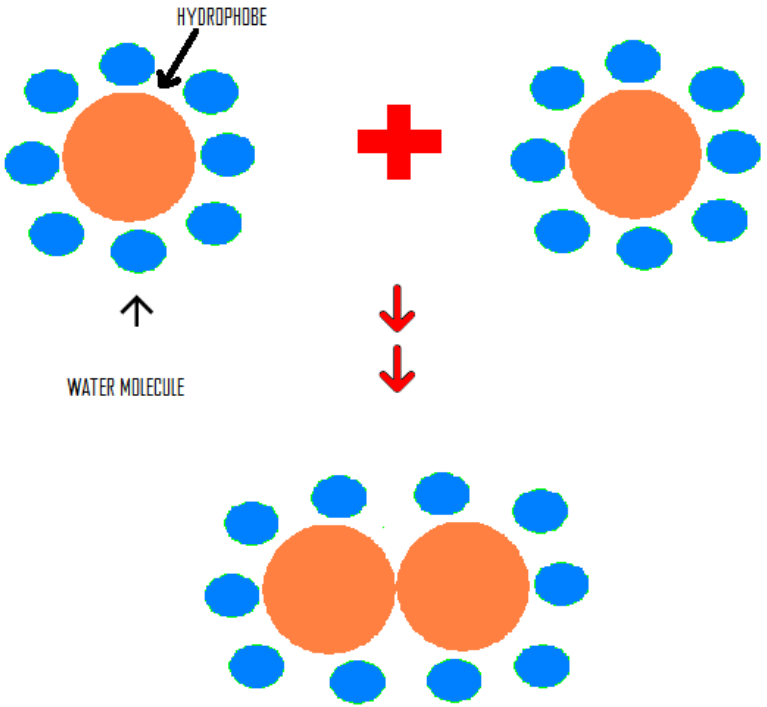


heptadová repetice

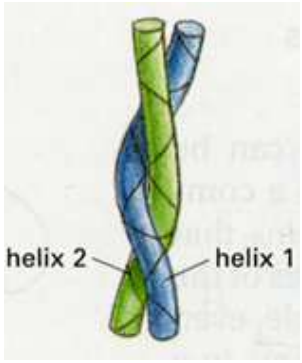


hydrofobní jádro

heptadová repetice

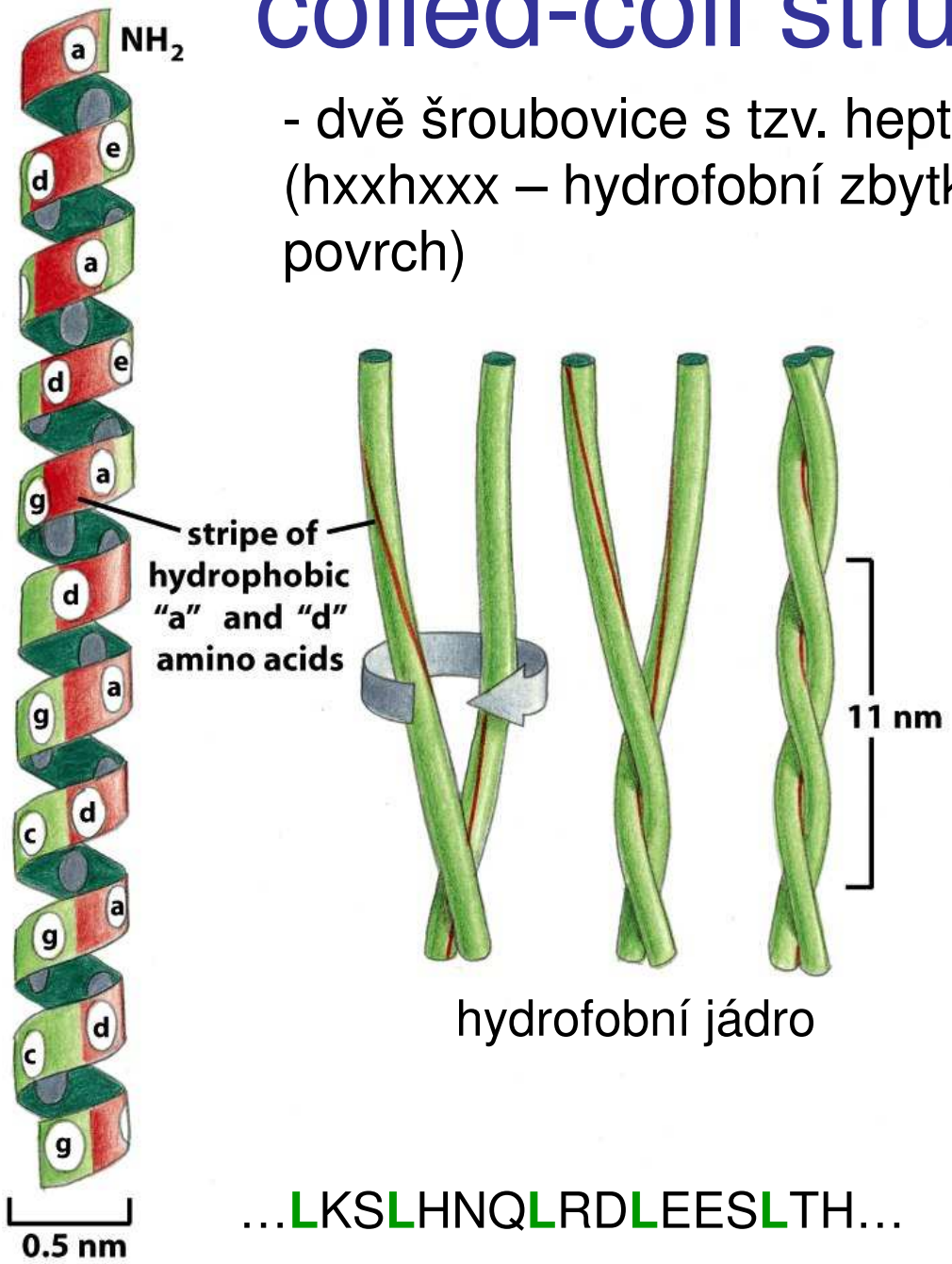


…LKSLHNQLRDLEESLTH…



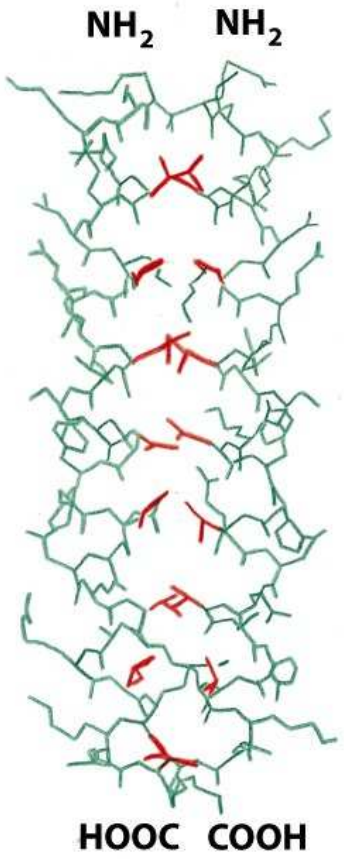
coiled-coil struktura

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



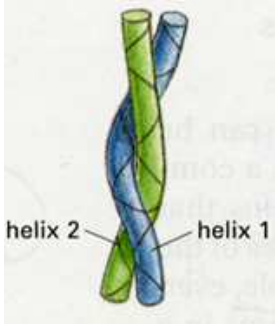
hydrofobní jádro

…LKSLHNQLRDLEESLTH…



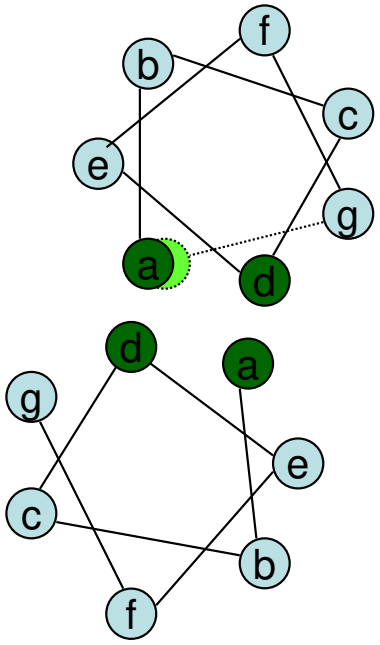
paralelní šroubovice

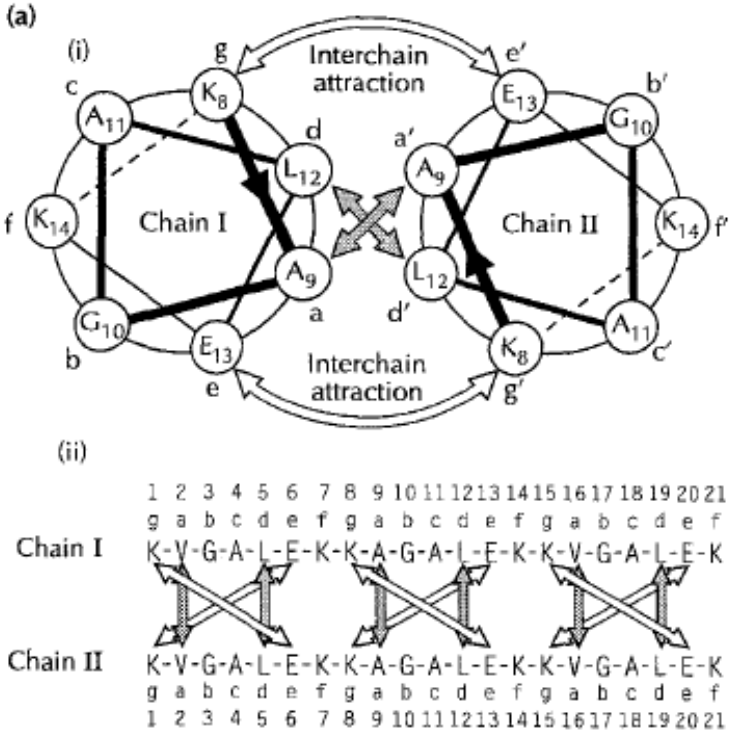
Figure 3-9 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



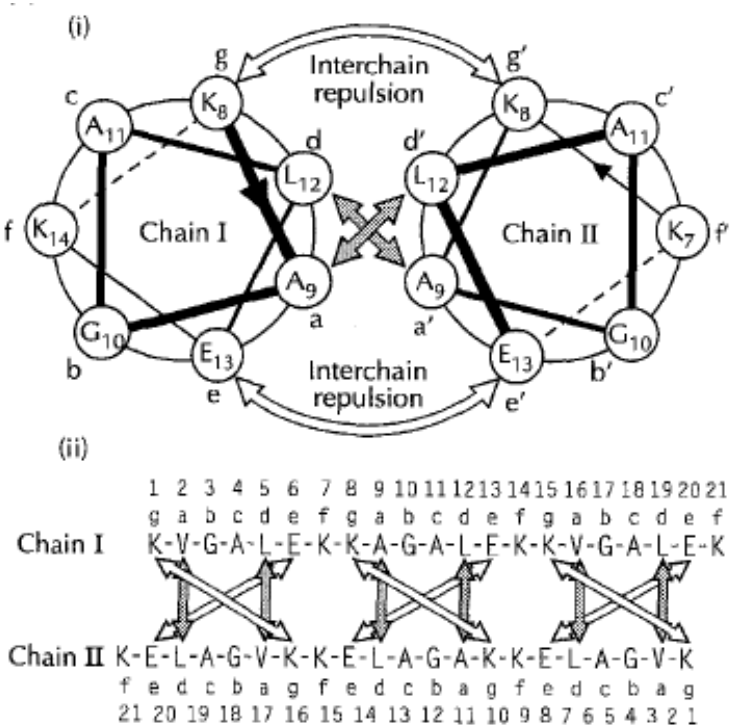
coiled-coil struktura

Síla interakce může být ovlivněna sousedními AMK



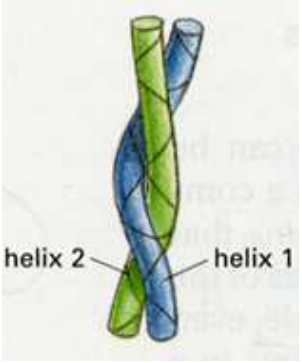


Sousední AMK stabilizují interakce šroubovic



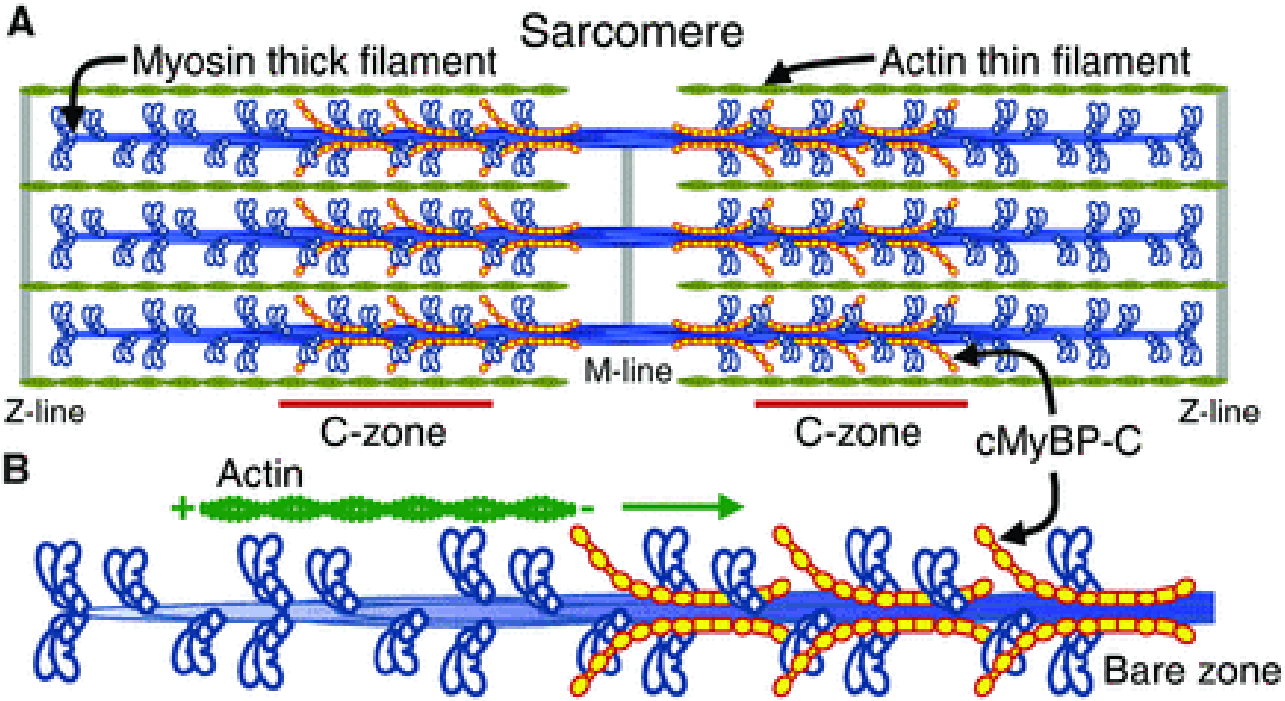
Sousední AMK destabilizují interakce šroubovic

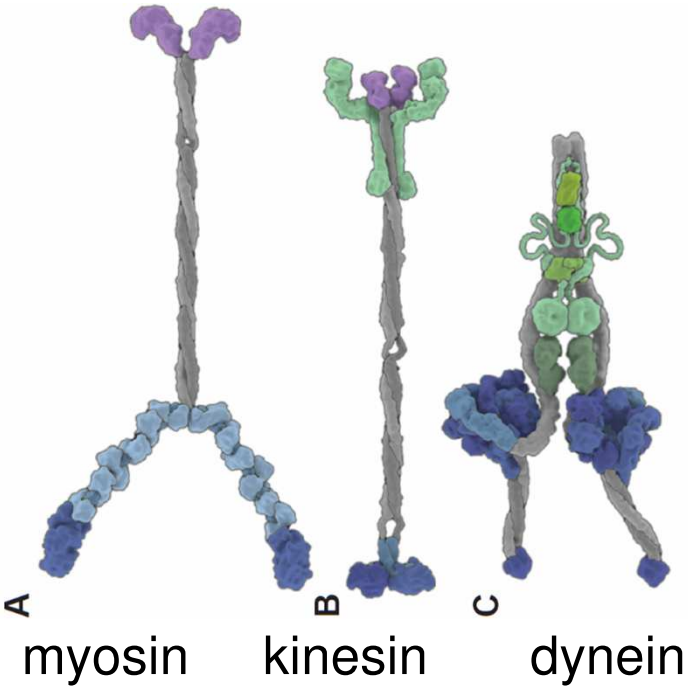
Adamson et al.: CO in Biotech, 1993
Ivanov et al, PLoS One, 2017



coiled-coil struktura

-dlouhé CC (>100AMK) vytváří vláknité struktury (myosin tvoří vlákna - svaly)





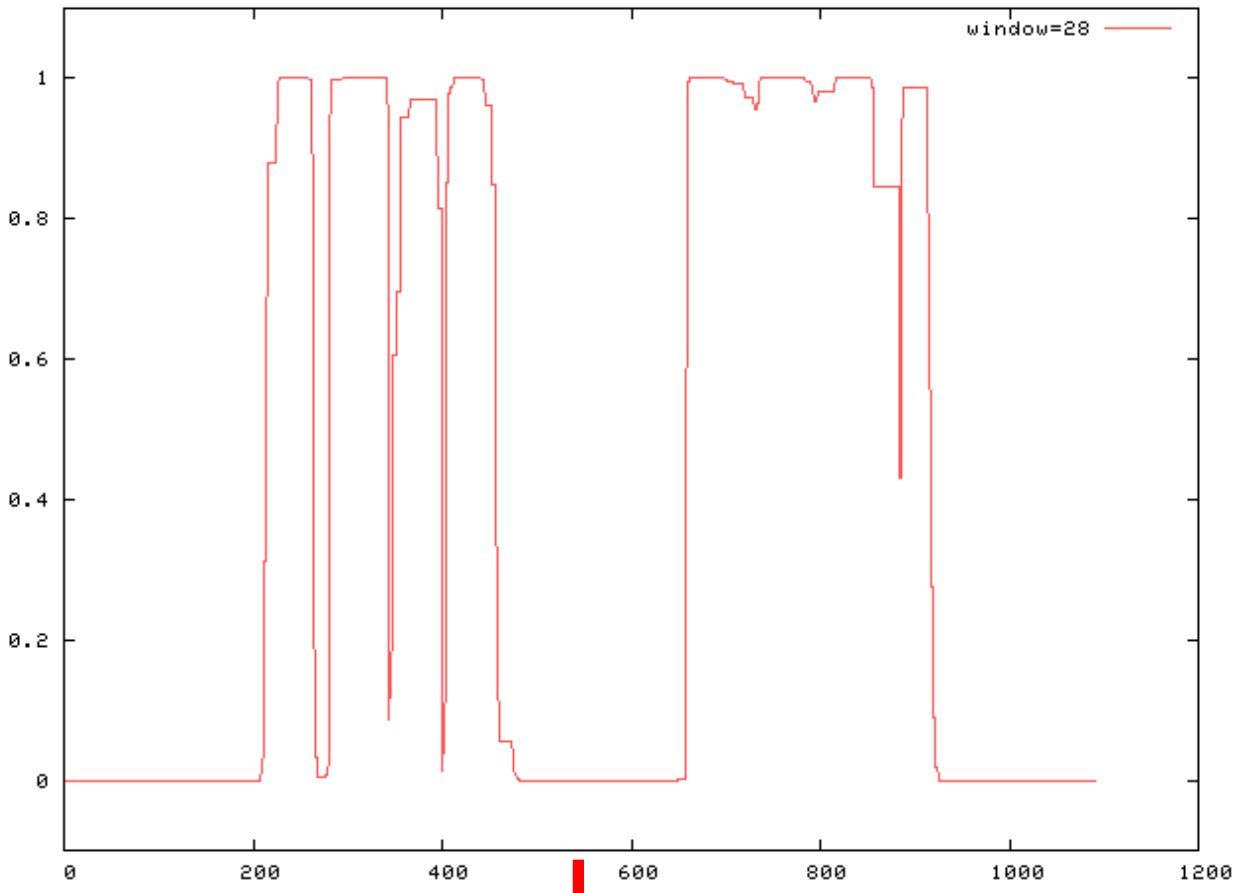
myosin kinesin dynein

- CC v myosinu je intermolekulární (paralelní)

coiled-coil struktura

- program COIL: https://toolkit.tuebingen.mpg.de/tools/deepcoil

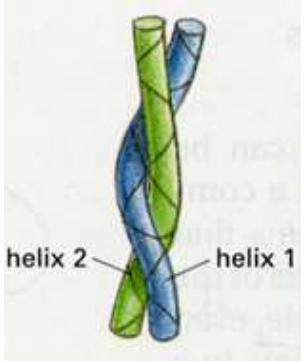
profil SMC6



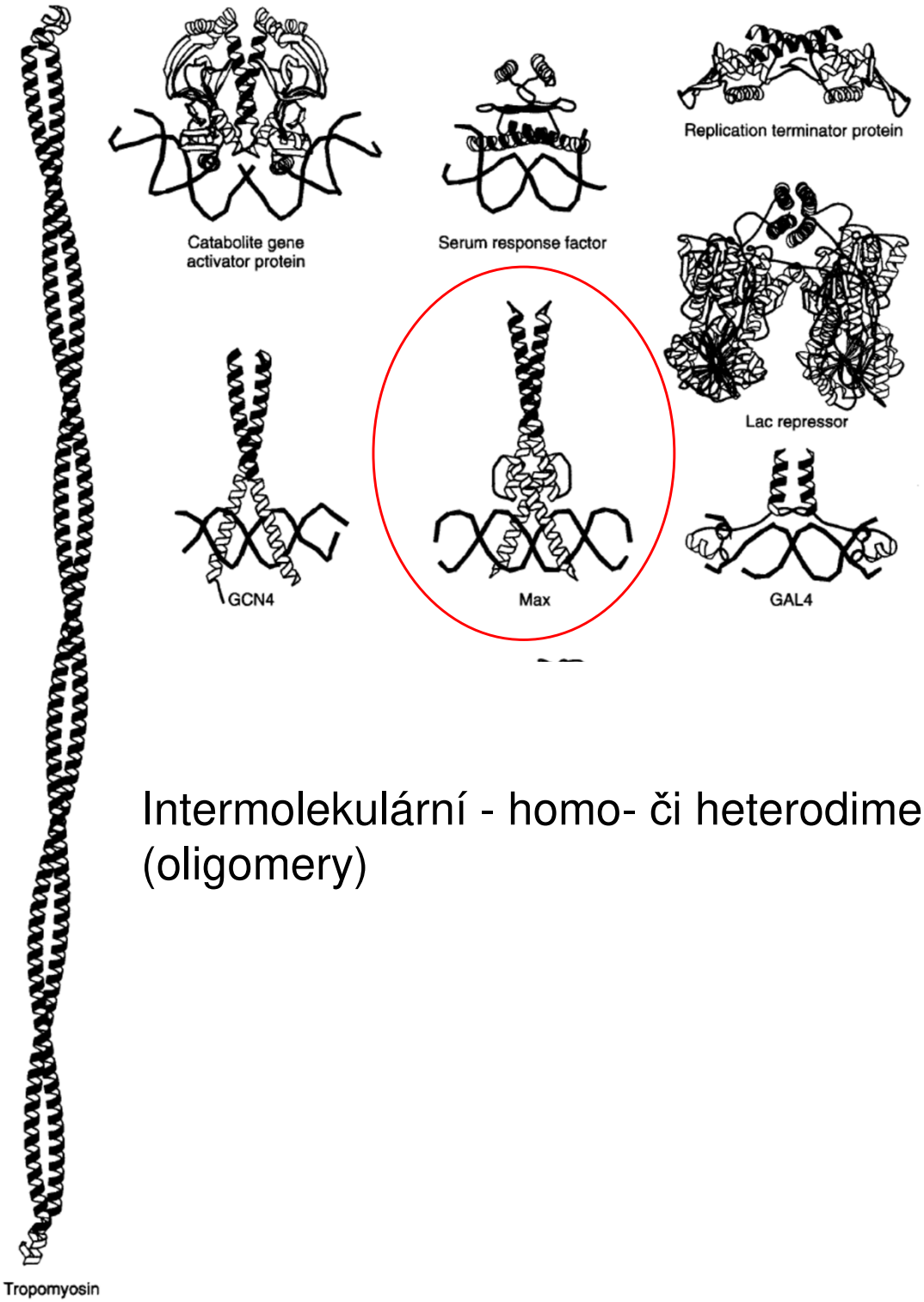
Ludwiczek et al, BioInformatics, 2019

- CC jako jedna ze sekundárních struktur (viz. Dr. Klumpler)

- CC v SMC proteinech jsou intramolekulární (antiparalelní)

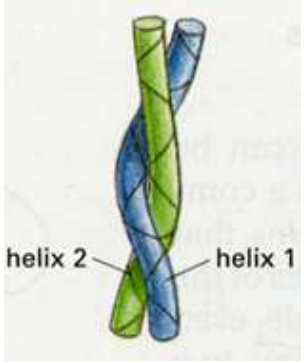


Coiled-coil doména je významným **dimerizačním** modulem u mnoha proteinů (GCN4, Max …)



Intermolekulární - homo- či heterodimery (oligomery)

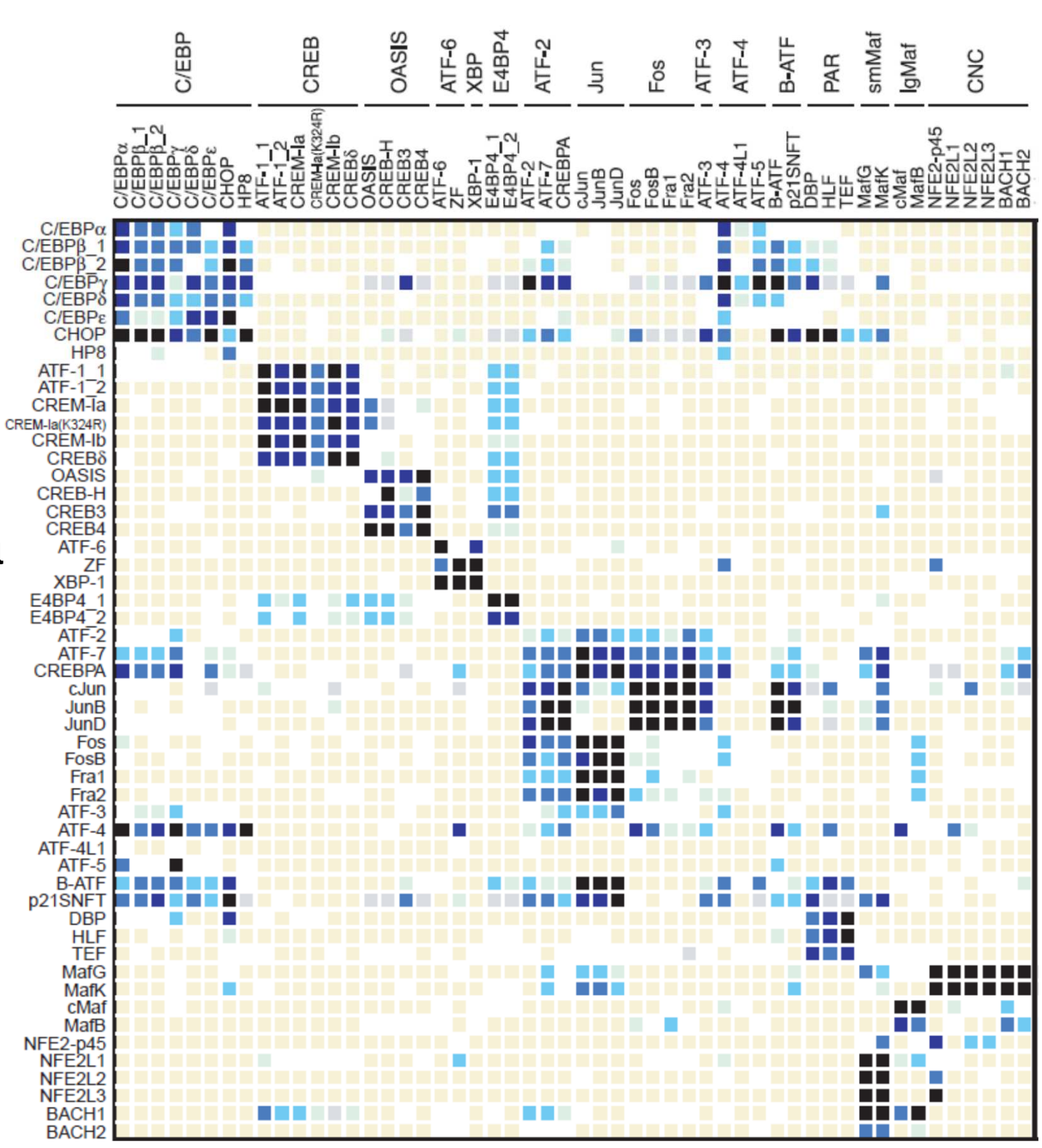
Lupas.: Trends in BS, 1996



Coiled-coil doména je významným **dimerizačním** modulem u mnoha proteinů: bZIP transkripční faktory vytváří homo- i heterodimery

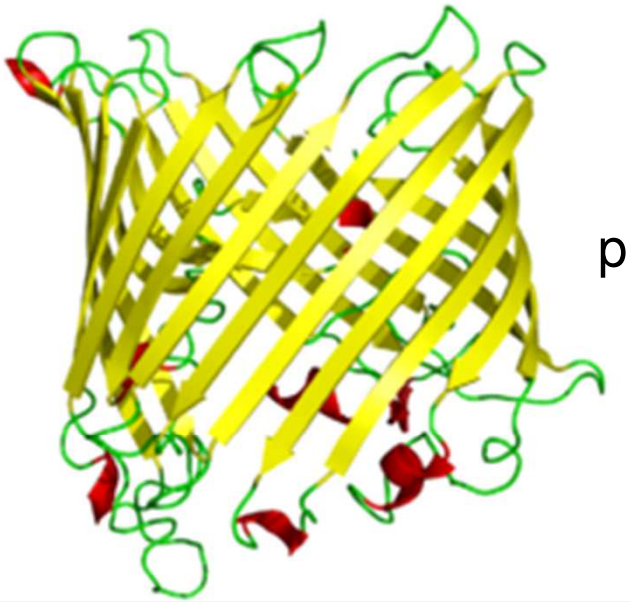
variabilita

Newman, Science, 2003



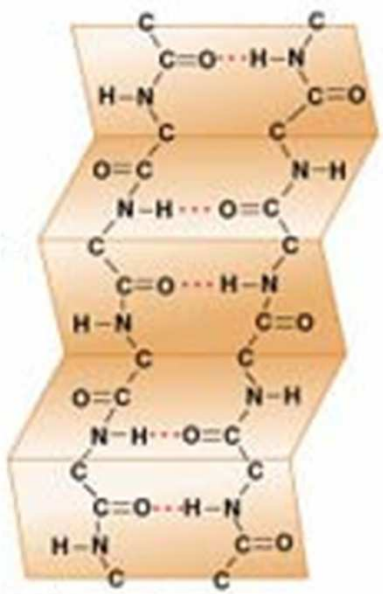
… sekundární struktury …

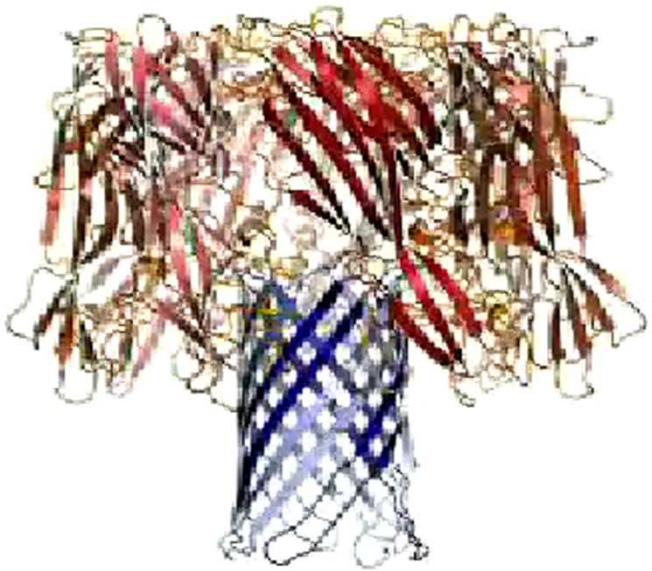
v interakcích β-listů převažují **vodíkové vazby** (peptidového řetězce)

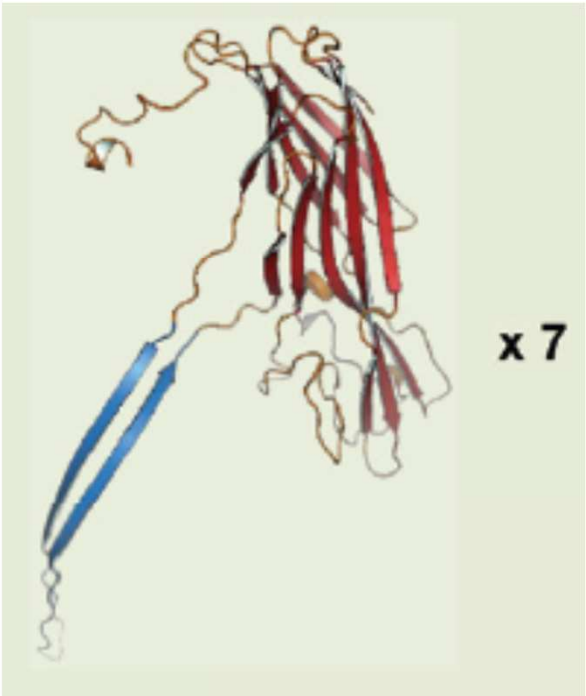


Porin

(1 ORF - polypeptid
prostup mitochondriální
membrány)



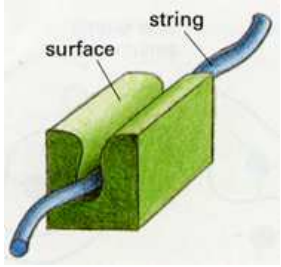




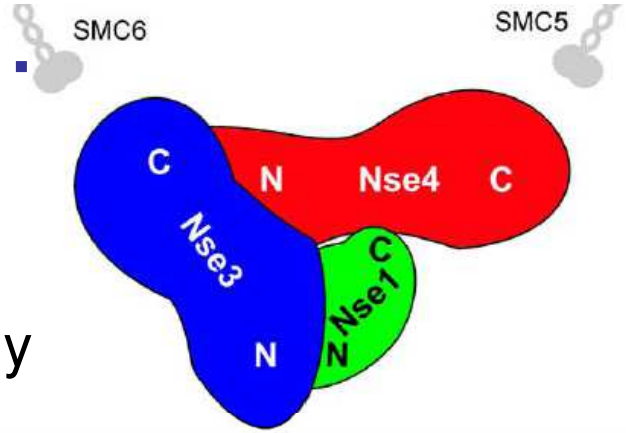
tento „pór“ vzniká interakcí
7 podjednotek

por se používá v NGS
(nanopore) technologii

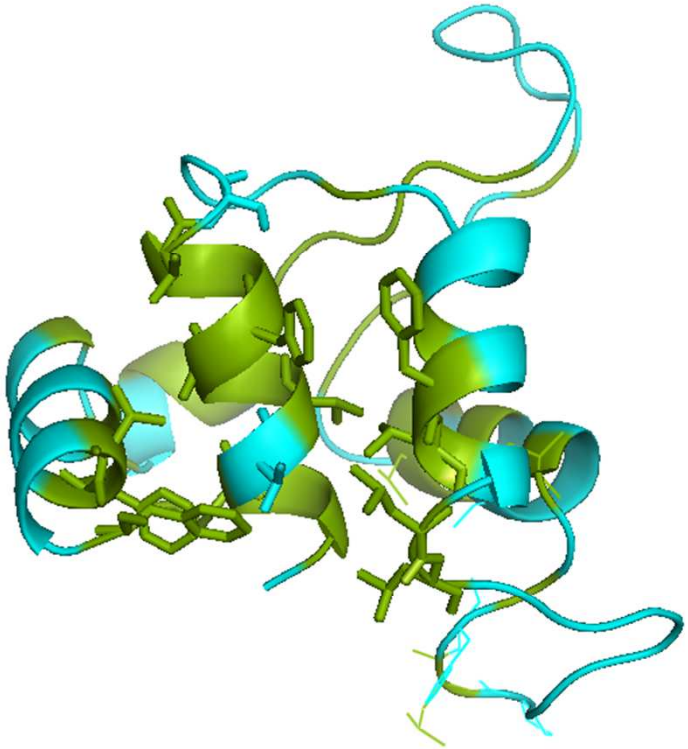
Mueller & Ban, Cell, 2010
Los a spol, MMBR, 2013



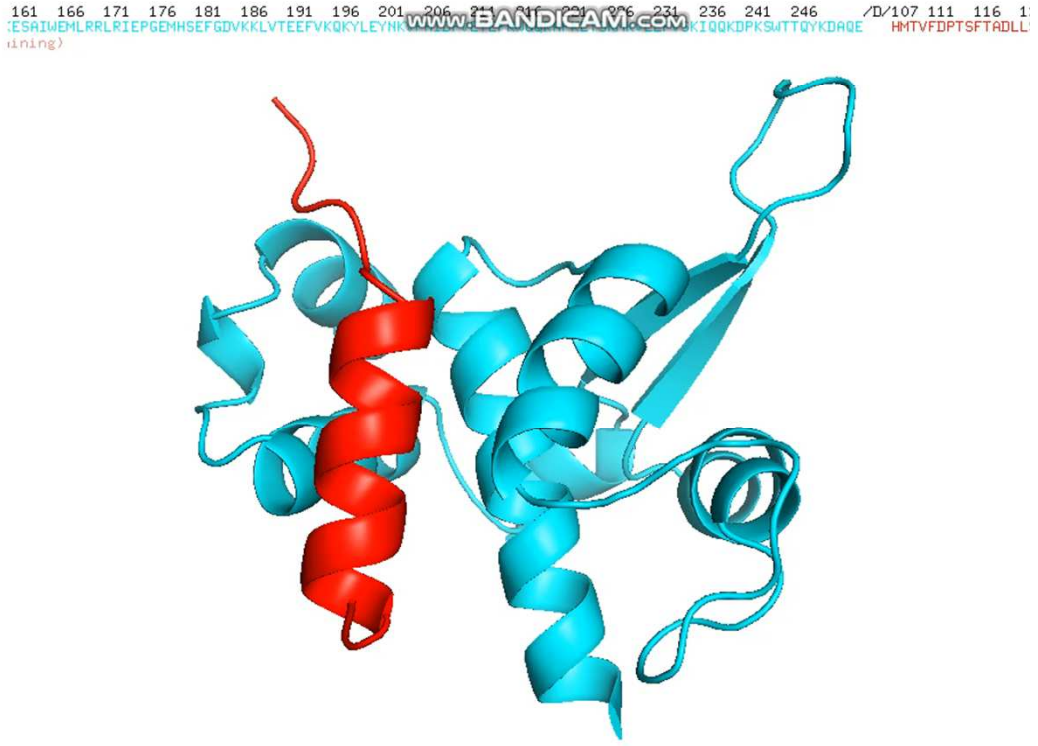
… terciární struktura … kapsa-peptid



sekundární struktury (šroubovice, beta-listy)
interagují pod různými úhly a vytváří různé povrchy



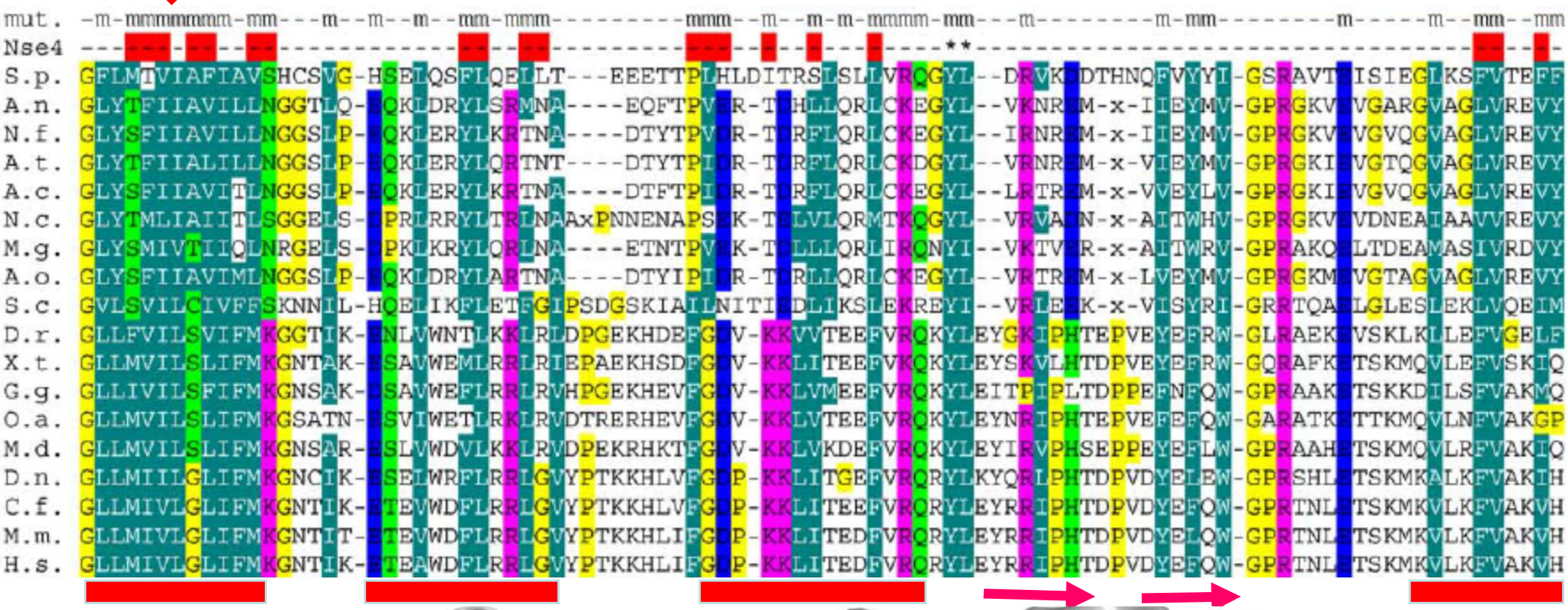
hlubší prohlubně na povrchu mohou tvořit kapsy pro vazbu partnera (šroubovice, peptid)

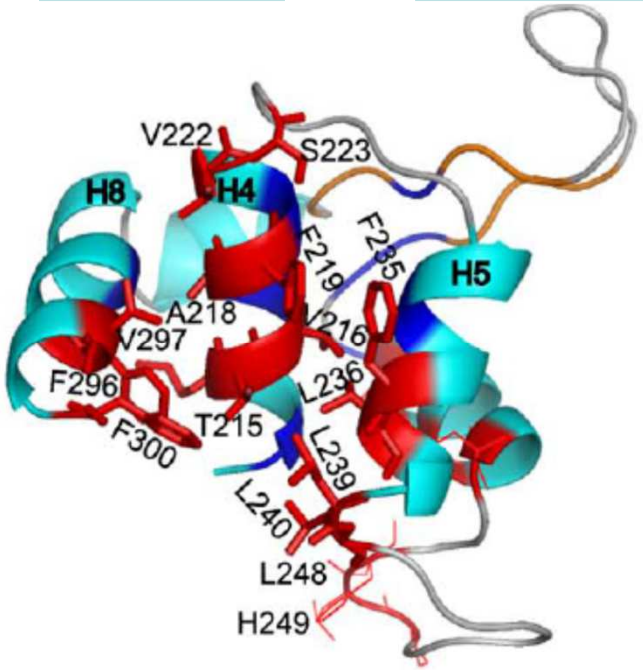


hydrofobní interakce mezi Nse3 a Nse4

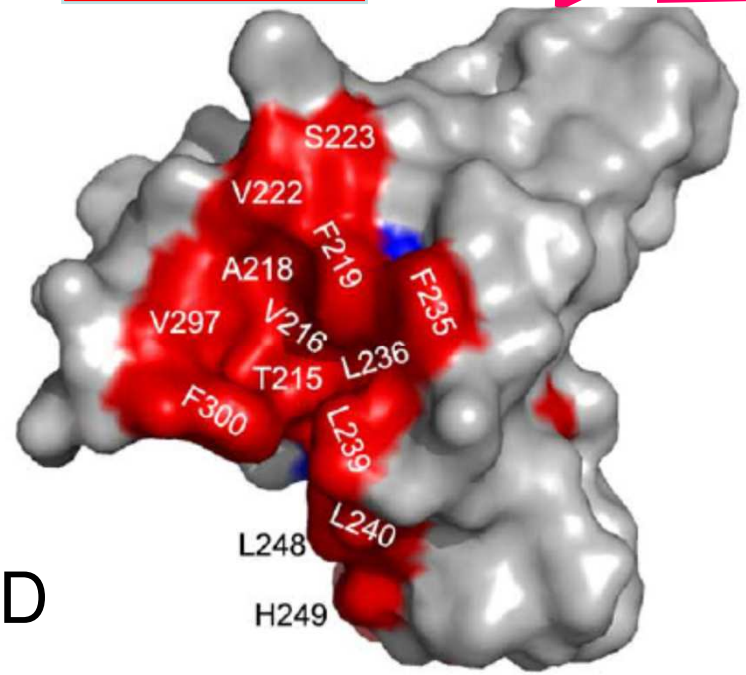
Palecek & Gruber: Structure, 2015; Jo et al, JMB, 2021

Tato hydrofobní šroubovice není transmembránová, ale podílí se na protein-proteinové interakci (NSE3-NSE4)





WHD

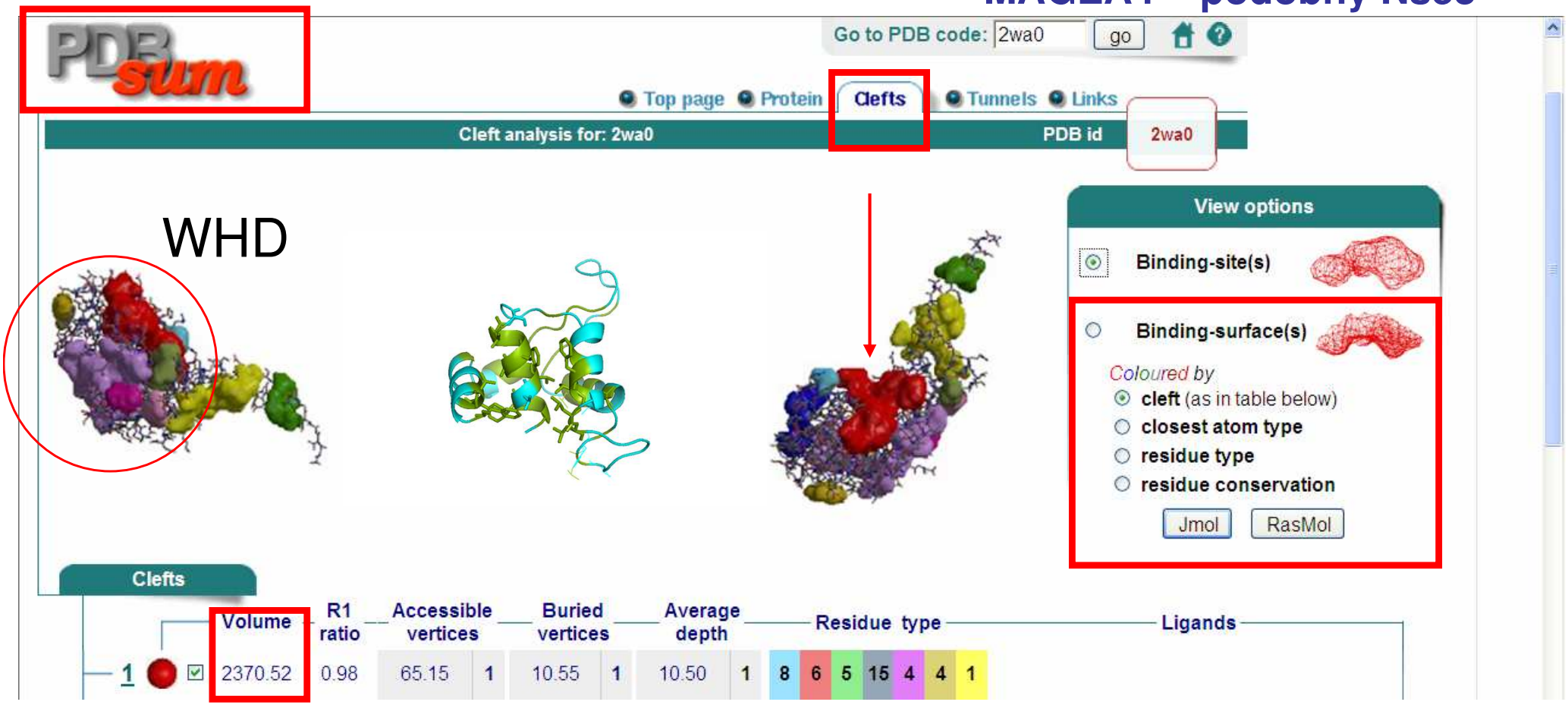


Interakce mapována mutagenezí

Hudson et al.: PLoS One, 2011

v PDBsum můžete hledat kapsy (povrchy vhodné pro vazbu partnera) – musí mít **komplementární tvar a charakter** (terciární)

MAGEA4 – podobný Nse3



největší kapsa

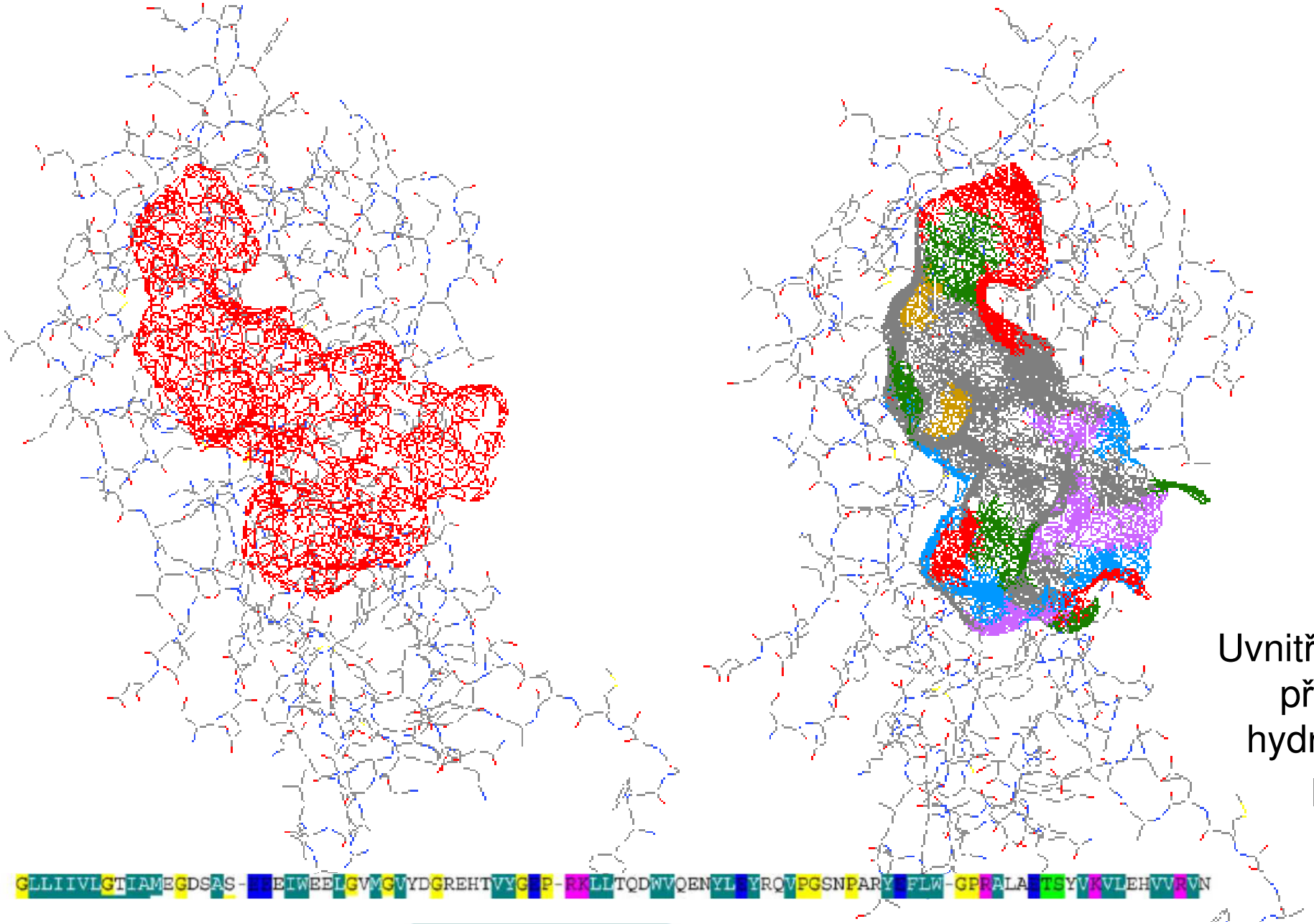
https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=index.html /

Laskowski et al.: Prot Sci, 2018

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

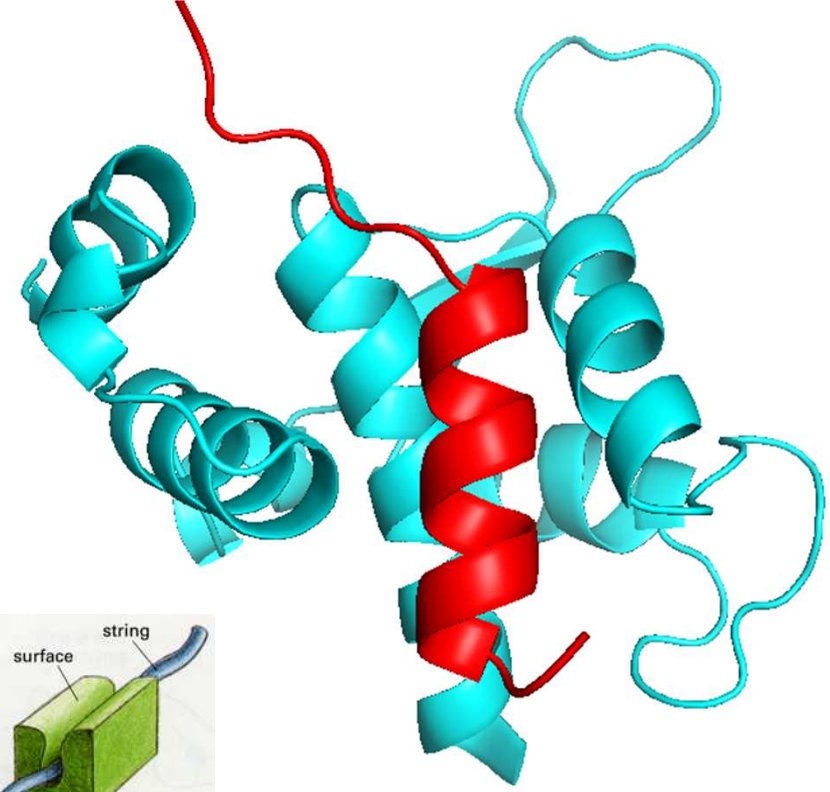
Binding surface



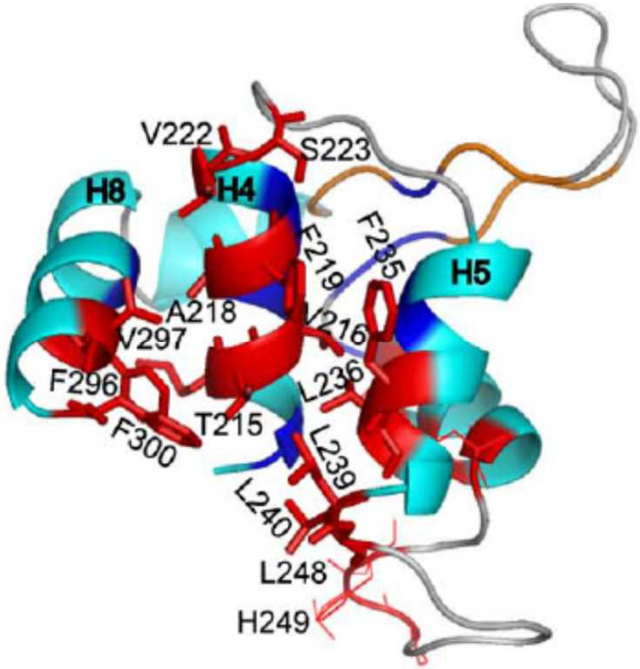
Uvnitř kapsy převládá hydrofobní povrch

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

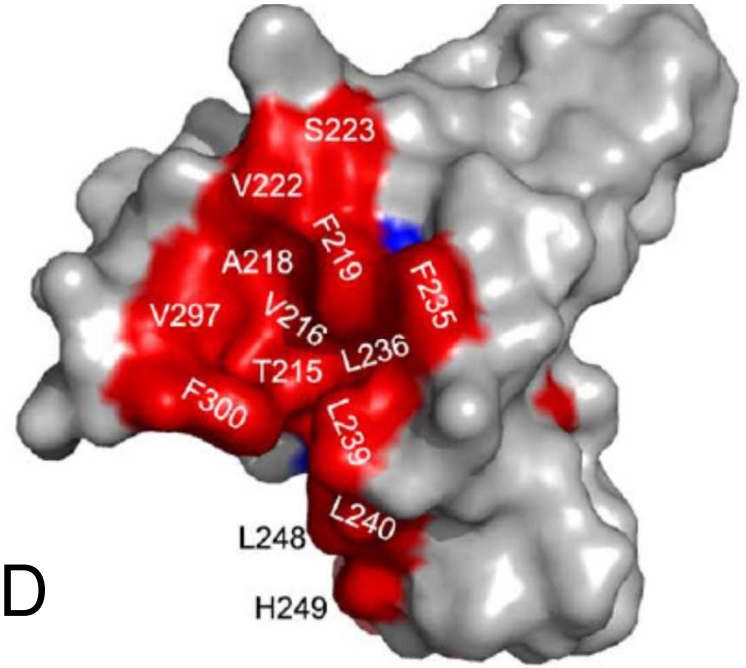
Laskowski et al.: Prot Sci, 2018



Docking

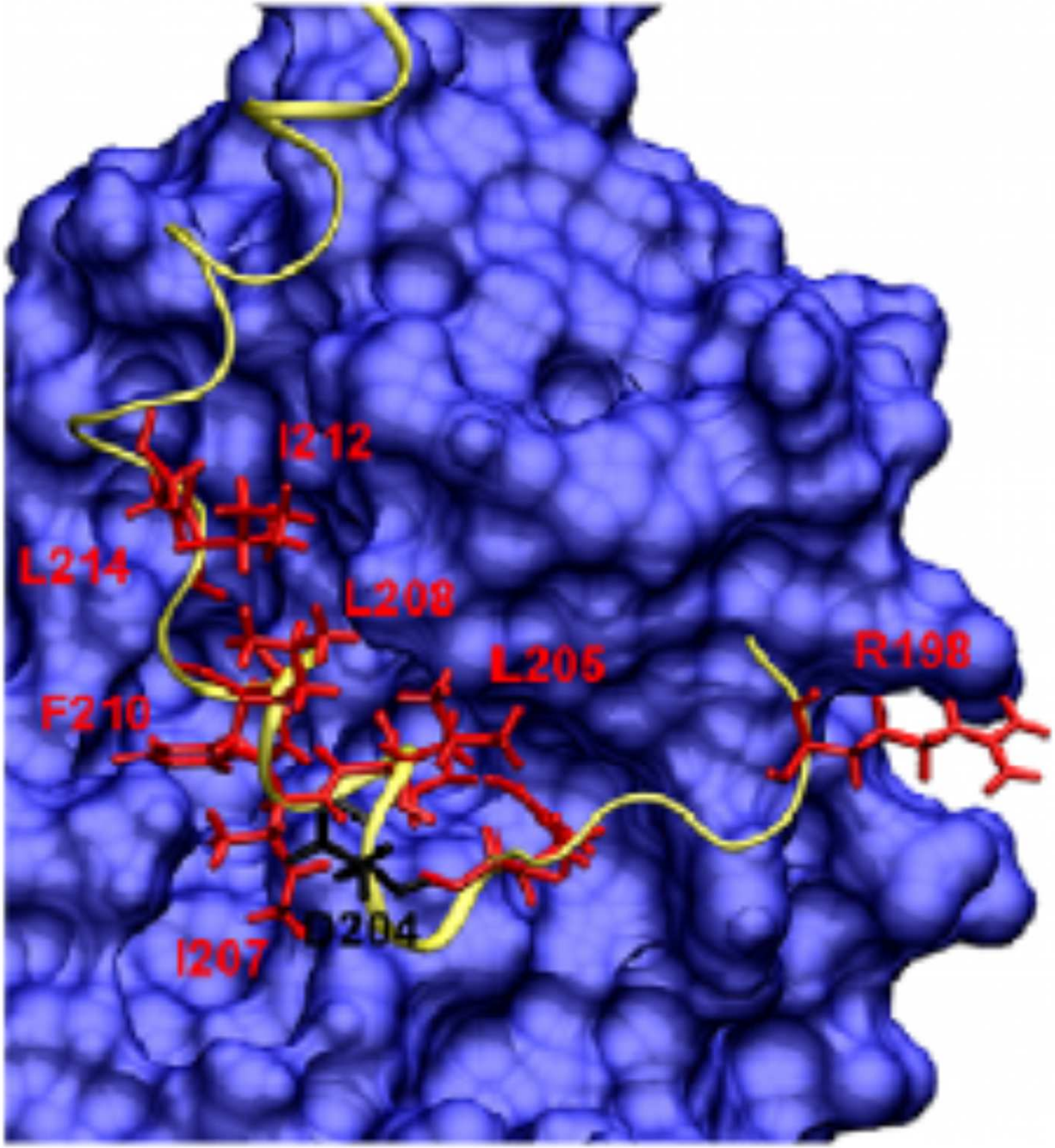


WHD

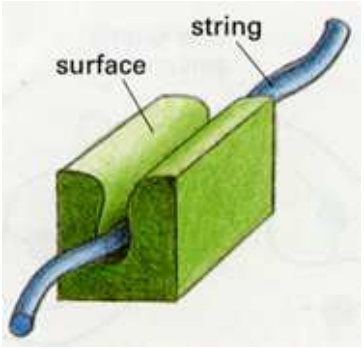


Interakce mapována mutagenezí

Hudson et al.: PLoS One, 2011
Guerineau et al,: PLoS One, 2012



Guerineau et al.: PLoS One, 2012



de novo docking partnera (HEX docking a molekulární dynamika): do hydrofobní kapsy proteinu byl nadockován „jednoduchý“ peptid (*de novo* docking větších povrchů je nespolehlivý)

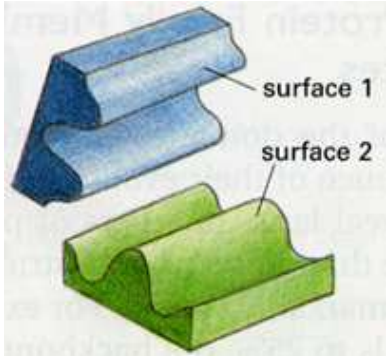


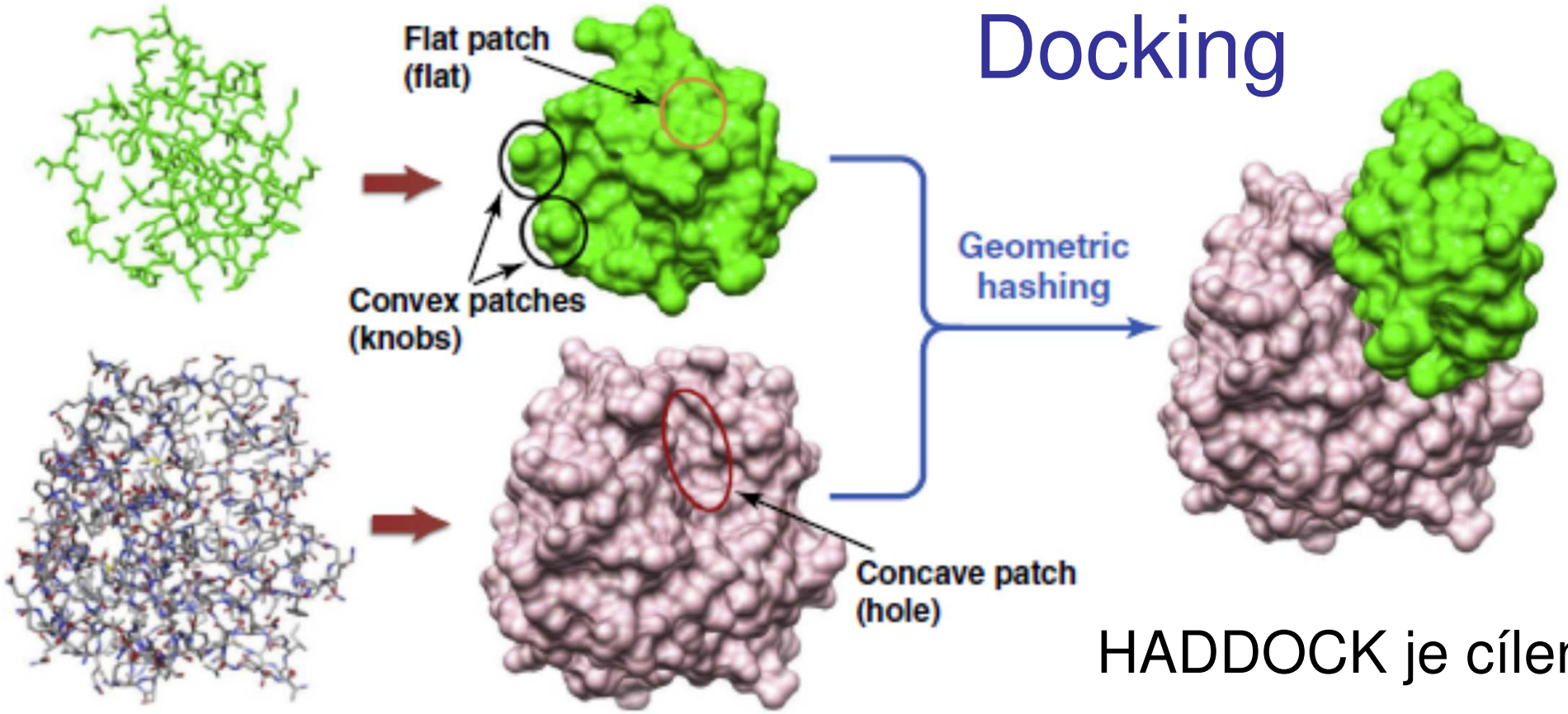
TABLE 1

Search strategies in protein–protein docking

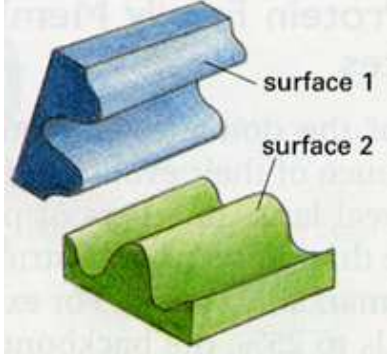
Search algorithms	Examples of docking programs	Refs
Exhaustive global search		
FFT-based search	FTDock, GRAMM, DOT, ZDOCK, MolFit, PIPER, F2DOCK, SDOCK, ASPDock, Cell-Dock	[25–41]
Spherical Fourier transform-based search	HEX, FRODOCK	[45–47]
Direct search in Cartesian space	SOFTDOCK, BIGGER, SKE-DOCK	[49–51]
Local shape feature matching		
Distance geometry algorithm	DOCK	[52]
Geometric hashing	PatchDock, SymmDock, LZerD	[53–56]
Genetic algorithm	GAPDOCK	[57]
Randomized search		
Monte Carlo search	RosettaDock, ICM-DISCO, ATTRACT, HADDOCK	[61–71]
Particle swarm optimization	SwarmDock	[72]
Genetic algorithm	AutoDock	[73]
Post-docking approach		
Using advanced scoring functions	RPScore, ZRANK, PyDock, EMPIRE, DARS, DECK, SIPPER, PIE, MDockPP, etc.	[81–94]
Considering protein flexibility	MultiDock, SmoothDock, RDOCK, FireDock, FiberDock, EigenHex, etc.	[95–104]
Other ranking protocols	SDU, CyClus, CONSRANK, etc.	[105–111]

Huang: DDT, 2014

Docking

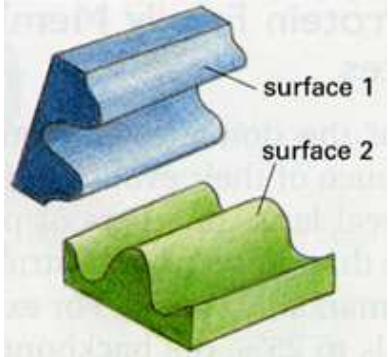


HADDOCK je cílený



DOMÉNY - šroubovice, β-listy … interagují pod různými úhly a vytváří různé vazebné motivy s rozsáhlými vazebnými povrchy

(kokrystal NSE1-NSE3 proteinů)



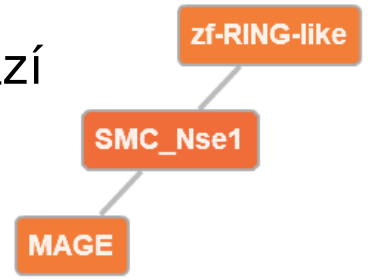
nejlépe lze získat info (vizuální, o typech vazby)
z vyřešených struktur (PDBsum, 3DID - databáze)

(kokrystal NSE1-NSE3 proteinů)

Domain SMC_Nse1 (Pfam: PF07574.11)

GO terms | P | GO:0006281 | DNA repair | C | GO:0030915 | Smc5-Smc6 complex

integrace PDB,
PFAM a GO databází



D F C P | Default color scheme

Interacting domains (2 domains)

MAGE | zf-RING-like

HMM profile interface residues in SMC_Nse1 (2 interfaces)

HMM prof. interface res.	Binding partner(s)
	MAGE
	zf-RING-like

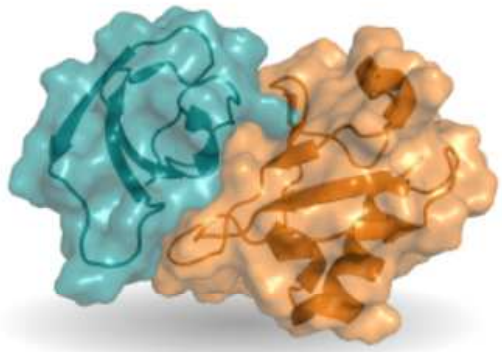
Search motif by name or keyword:

Motif name (e.g. SH2_LIG_0) | Search motif

3did

erences | Statistics | Help | About

https://3did.irbbarcelona.org/

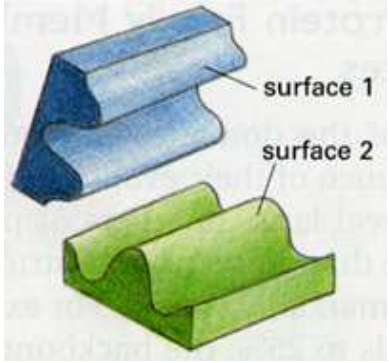


> **Overview** General information on **3did**
> **Getting Started** Help for new users
> **Technical Information** Linking to **3did**
> **Download** data files or MySQL tables

Statistics

Pfam version	30.0
PDB version	2017_06
Domain-domain interactions	11200
Motifs in interactions of known 3D structure	702

3DID kategorizuje doména-doména interakce z PDB (06/2017 – cca 10000 doména-doména komplexů/100000 struktur) – topologie ne detaily



PDBsum – detailní info

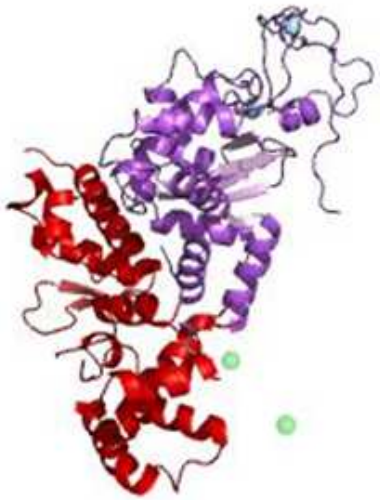
http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=index.html

(kokrystal NSE1-NSE3 proteinů)

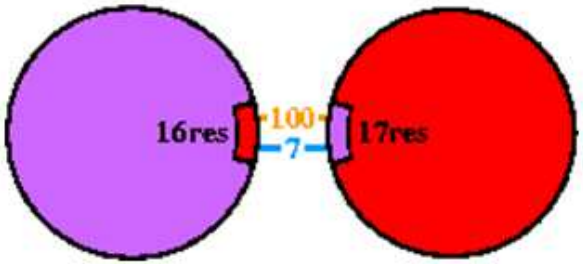
Top page | Protein | Metals | Prot-prot | Clefts | Tunnels | Links

Protein-Protein interface: A}{B | PDB id 3nw0

Protein-protein interface: A}{B
NSE1-NSE3



Chains A and B highlighted
(click to view)



PDF

Postscript version

Key: Salt bridges | Disulphide bonds | Hydrogen bonds | Non-bonded contacts

Jmol

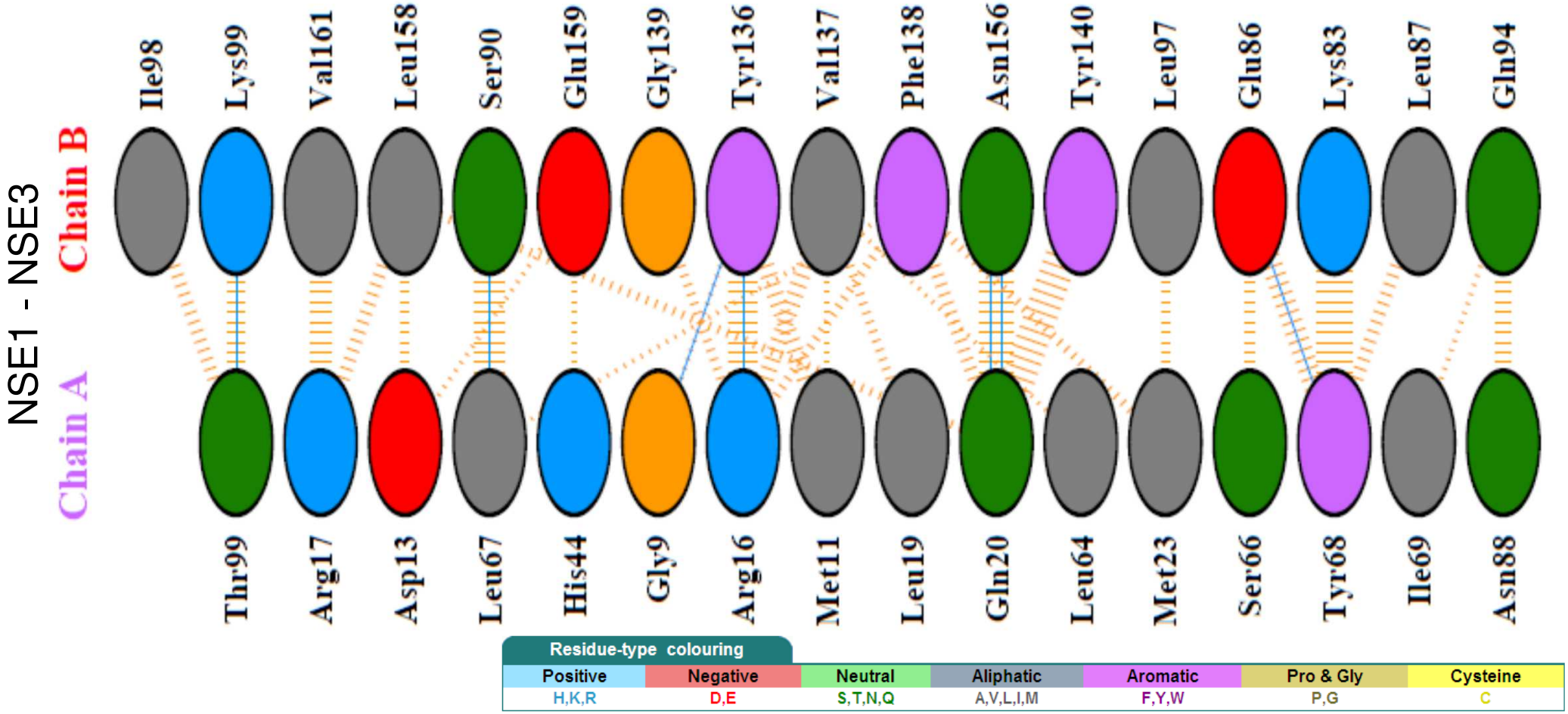
Interfaces

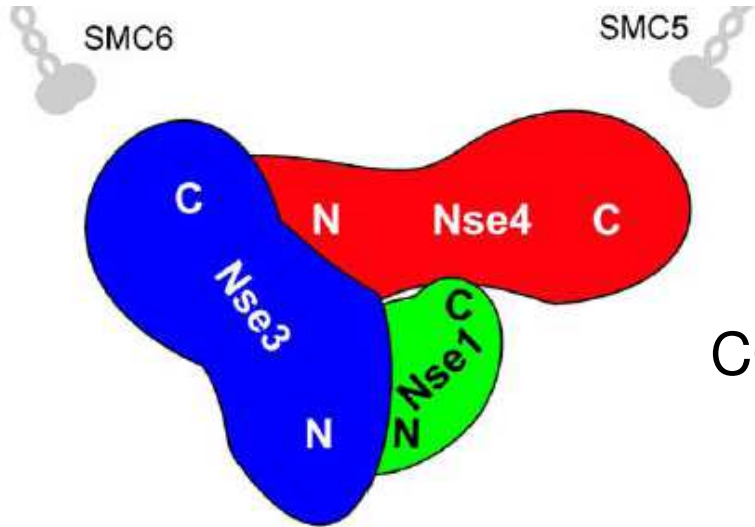
A}{B (16:17 res)

Interface statistics

Chain	No. of interface residues	Interface area (Å^2)	No. of salt bridges	No. of disulphide bonds	No. of hydrogen bonds	No. of non-bonded contacts
A	16	1015	-	-	7	100
B	17	1003				

Silná interakce mezi NSE1 (chain A) a NSE3 (chain B)





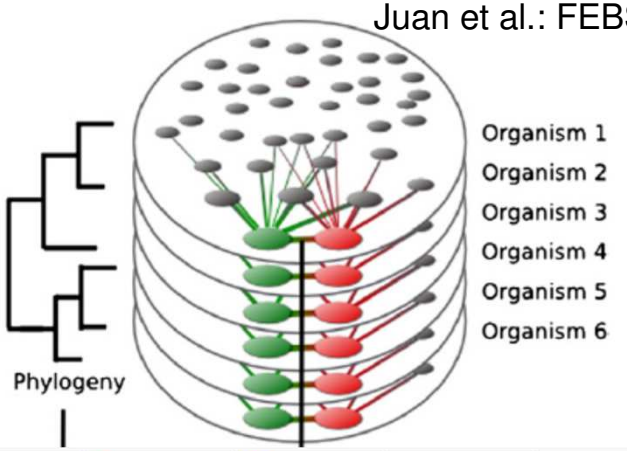
Hydrogen bonds

Non-bonded contacts

COZOID nástroj: http://decibel.fi.muni.cz/cozoid/

```
A1CCH2_ASPCL/14-216     NRAFLQAFM.ARSTMTFAEAKPVLAAIF.SAH.....
A2Q7K6_ASPNC/15-218     NRAFLQAFM.ARSTMTFTQAKPVLAAIF.SIR.....
B8NLA5_ASPFN/14-216     NRAFLQAFM.ARSTMTFAEARPVLAAIF.SVH.....
B6QTR9_TALMQ/14-217     NRAFLQAFM.ARSTMTFDEAKPVLAAIF.SAQ.....
V5FED6_BYSSN/14-236     NRAFLQAFM.ARSTMTFEEAKPVLAAIF.SAHGAQSTIFFDS
S7Z8E9_PENO1/8-209      HRAFLQAFM.ARSTMTFEDAQPVLAAII.SAH.....
B6H9Q9_PENRW/8-210      NRAFLQAFM.ARSCMTFEDAQPILAAIL.TVS.....
H6C926_EXODN/14-207     NRAFLQAFL.ARSVLTLETAKPILAAIS.TFQ.....
U1GD89_ENDPU/11-202     NRAFVQAFL.ARGTLTYETSKPLLASIF.TVH.....
C5GY37_AJEDR/11-207     HRAFLQAFM.ARSTMTYEQAKPVLAAIF.SAR.....
C6H5E2_AJECH/11-203     HRALLQAFM.ARSTMTYEQAKPVLAAIF.TAR.....
```

Juan et al.: FEBS Lett, 2008



http://pfam.xfam.org/family/PF07574#tabview=tab1

A diffusion... Garland Sci... LigPlot+ O...

Najít: plot Předchozí Další Možnosti

EMBL-EBI

PFAM – databáze proteinových motivů

Nse1 motiv

Pfam keyword search Go

Family: *SMC_Nse1* (PF07574)

16 architectures | 522 sequences | 2 interactions | 443 species | 1 structure

- Summary
- Domain organisation
- Clan
- Alignments
- HMM logo
- Trees
- Curation & model
- Species
- Interactions
- Structures

Jump to... enter ID/acc Go

Domain organisation

Below is a listing of the unique domain organisations or architectures in which this domain is found. More...

There are 393 sequences with the following architecture: SMC_Nse1, zf-RING-like
W9YTD0_9EURO [Capronia epimyces CBS 606.96] Uncharacterized protein {ECO:0000313|EMBL:EXJ92910.1} (323 residues)
SMC_Nse1
Show all sequences with this architecture.

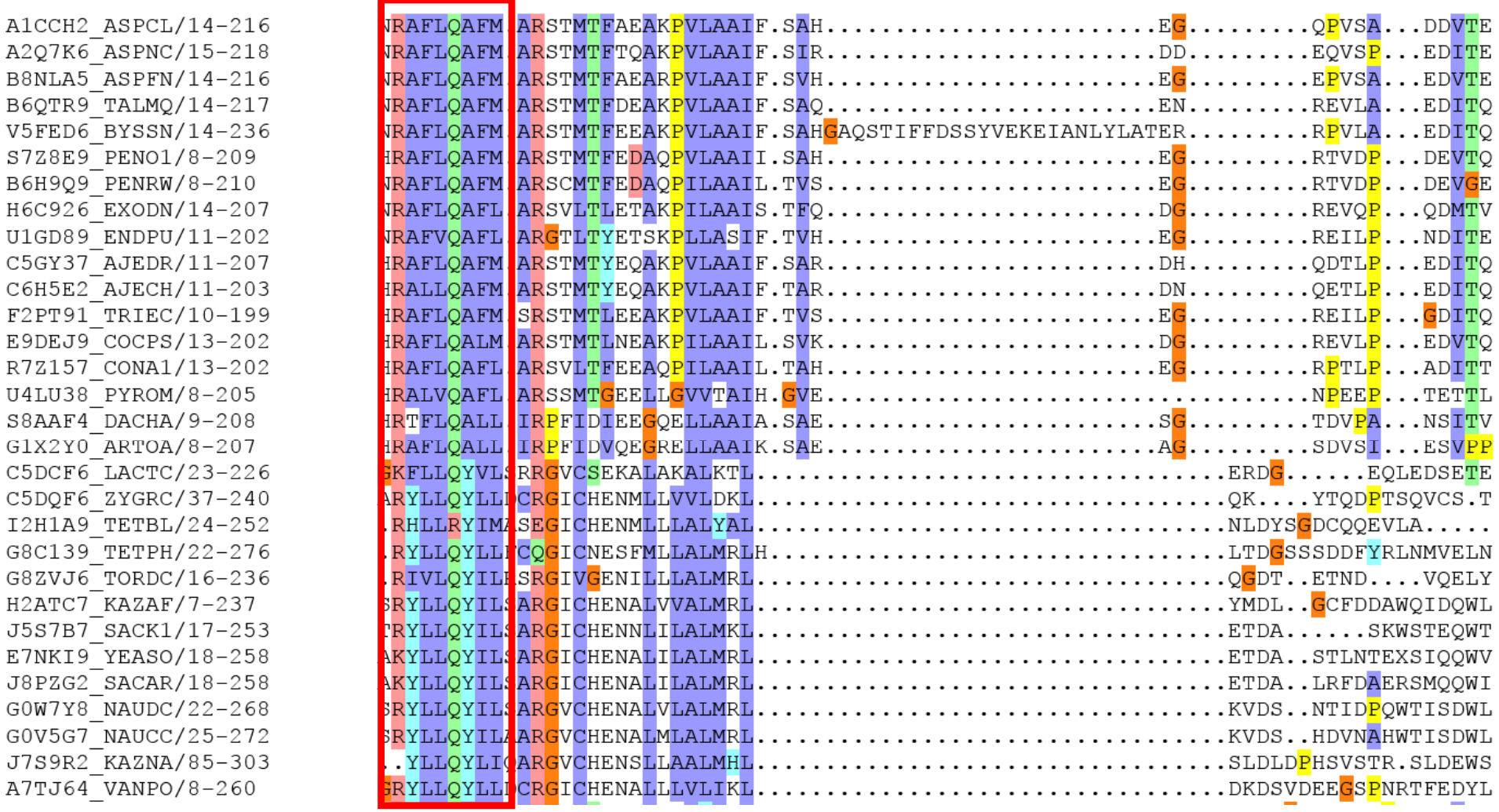
There are 102 sequences with the following architecture: SMC_Nse1
R1GGR5_BOTPV [Botryosphaeria parva (strain UCR-NP2) (Grapevine canker fungus) (Neofusicoccum parvum)] Putative dna repair protein {ECO:0000313|EMBL:EOD47456.1} (255 residues)
SMC_Nse1
Show all sequences with this architecture.

There are 6 sequences with the following architecture: SMC_Nse1 x 2, zf-RING-like
NSE1_XENTR [Xenopus tropicalis (Western clawed frog) (Silurana tropicalis)] Non-structural maintenance of chromosomes element 1 homolog EC=6.3.2.- (270 residues)
Show all sequences with this architecture.

There are 2 sequences with the following architecture: DAO, SMC_Nse1, zf-RING-like
B8MNY1_TALSN [Talaromyces stipitatus (strain ATCC 10500 / CBS 375.48 / QM 6759 / NRRL 1006) (Penicillium stipitatum)] FAD dependent oxidoreductase

160%

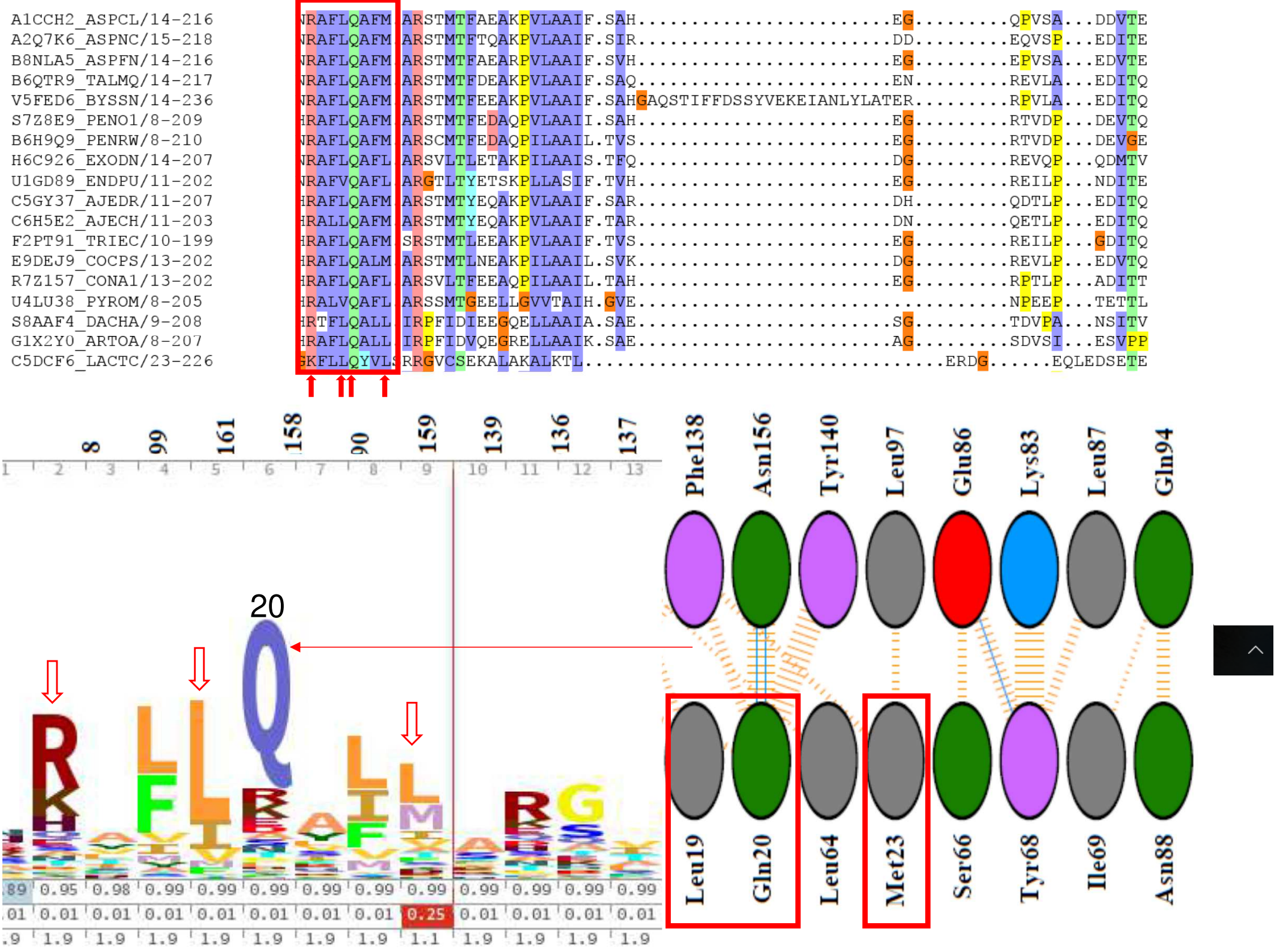
CES 16:38 13.12.2016

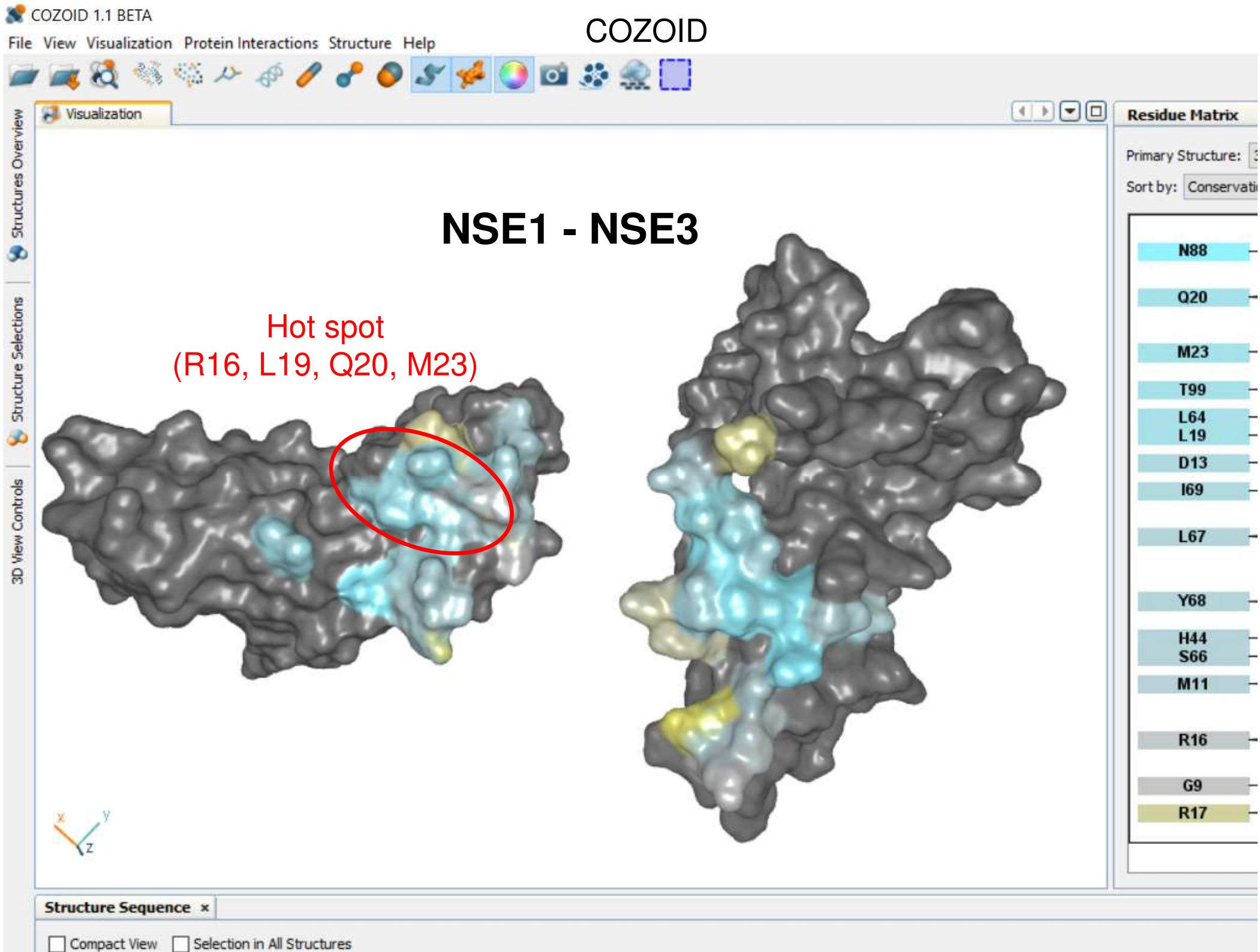


Konzervované AMK svědčí o důležitosti jejich funkce:

- důležité pro proteinovou strukturu
- důležité pro funkci proteinu:
  - enzymy – aktivní centra
  - komplexy – PPI
  - regulační funkce – AMK posttranslačně modifikovaná

A1CCH2_ASPCL/14-216
A2Q7K6_ASPNC/15-218
B8NLA5_ASPFN/14-216
B6QTR9_TALMQ/14-217
V5FED6_BYSSN/14-236
S7Z8E9_PENO1/8-209
B6H9Q9_PENRW/8-210
H6C926_EXODN/14-207
U1GD89_ENDPU/11-202
C5GY37_AJEDR/11-207
C6H5E2_AJECH/11-203
F2PT91_TRIEC/10-199
E9DEJ9_COCPS/13-202
R7Z157_CONA1/13-202
U4LU38_PYROM/8-205
S8AAF4_DACHA/9-208
G1X2Y0_ARTOA/8-207
C5DCF6_LACTC/23-226
Chain B
Chain A
Ile98
Thr99
Lys99
Arg17
Val61
Asp13
Leu158
Leu67
Ser90
His44
Glu159
Gly9
Gly139
Arg16
Tyr136
Met11
Val137
Leu19
Phe138
Gln20
Asn156
Leu64
Tyr140
Met23
Leu97
Ser66
Glu86
Tyr68
Lys83
Ile69
Leu87
Asn88
Gln94


A1CCH2_ASPCL/14-216
A2Q7K6_ASPNC/15-218
B8NLA5_ASPFN/14-216
B6QTR9_TALMQ/14-217
V5FED6_BYSSN/14-236
S7Z8E9_PENO1/8-209
B6H9Q9_PENRW/8-210
H6C926_EXODN/14-207
U1GD89_ENDPU/11-202
C5GY37_AJEDR/11-207
C6H5E2_AJECH/11-203
F2PT91_TRIEC/10-199
E9DEJ9_COCPS/13-202
R7Z157_CONA1/13-202
U4LU38_PYROM/8-205
S8AAF4_DACHA/9-208
G1X2Y0_ARTOA/8-207
C5DCF6_LACTC/23-226
8
99
161
158
90
159
139
136
137
20
Phe138
Asn156
Tyr140
Leu97
Glu86
Lys83
Leu87
Gln94
Leu19
Gln20
Leu64
Met23
Ser66
Tyr68
Ile69
Asn88

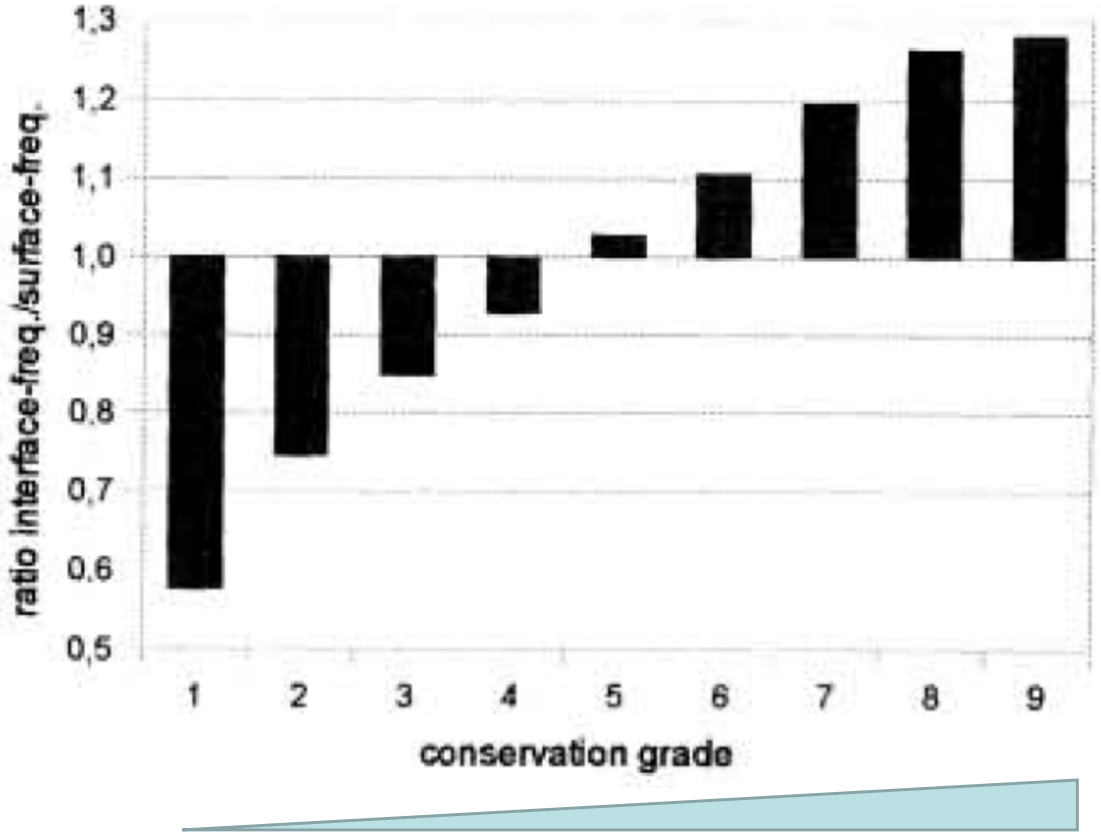

COZOID 1.1 BETA
COZOID
File View Visualization Protein Interactions Structure Help
Visualization
Structures Overview
Structure Selections
3D View Controls
NSE1 - NSE3
Hot spot
(R16, L19, Q20, M23)
Residue Matrix
Primary Structure:
Sort by:
N88
Q20
M23
T99
L64
L19
D13
I69
L67
Y68
H44
S66
M11
R16
G9
R17
Structure Sequence
Compact View
Selection in All Structures

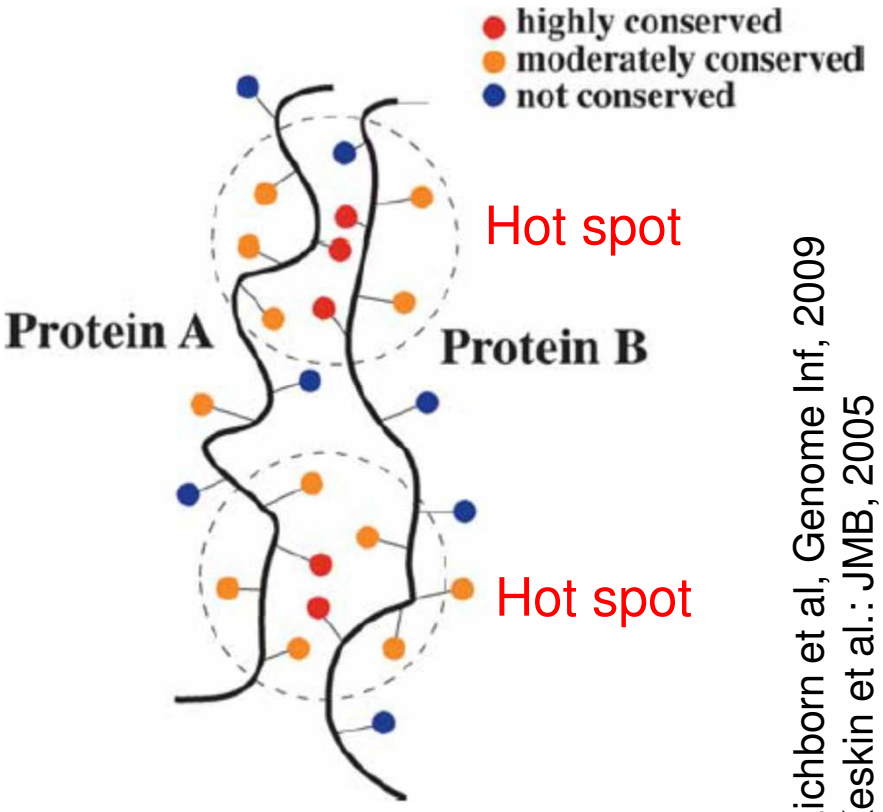
Silné/důležité interakce (komplexy) jsou evolučně konzervované

- jako jsou proteiny (jejich funkce) evolučně konzervované,

tak i jejich interakce jsou evolučně konzervované (zajišťují funkci)

graf – (obecně) povrchové AMK jsou málo konzervované (grade1), zatímco interakční povrchy jsou hodně konzervované (grade9)





Eichborn et al, Genome Inf, 2009
Keskin et al.: JMB, 2005

AlphaFold 3

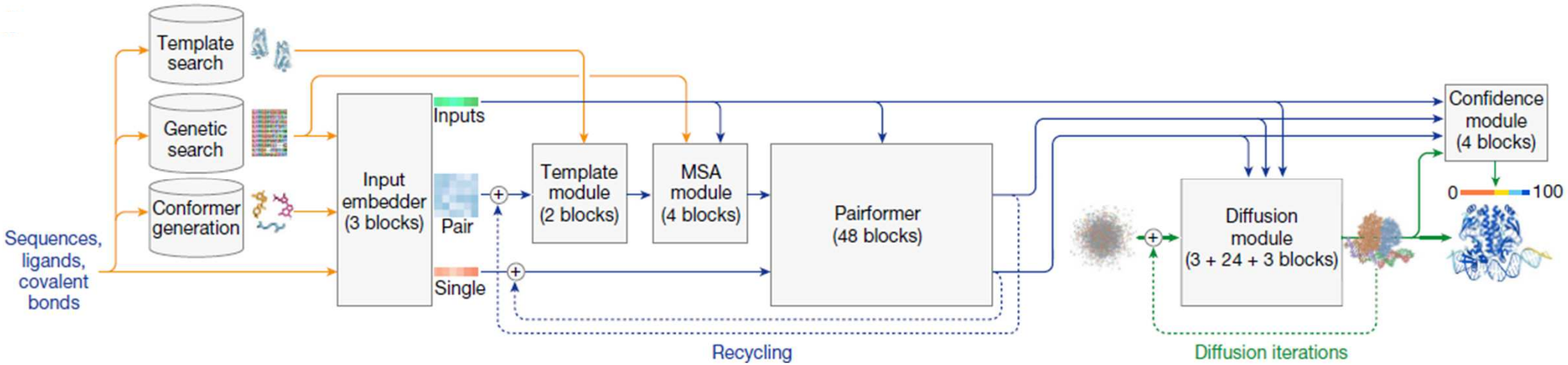
Nobelova cena za chemii 2024

J.M. Jumper

AF2: „váží“ konzervovanost/evoluci AMK a jejich (vzájemnou) pozici ve známých strukturách (vstupy: MSA a PDB)

AF3: interakce – podobně „váží“ koevoluci AMK (více proteinů) a struktury

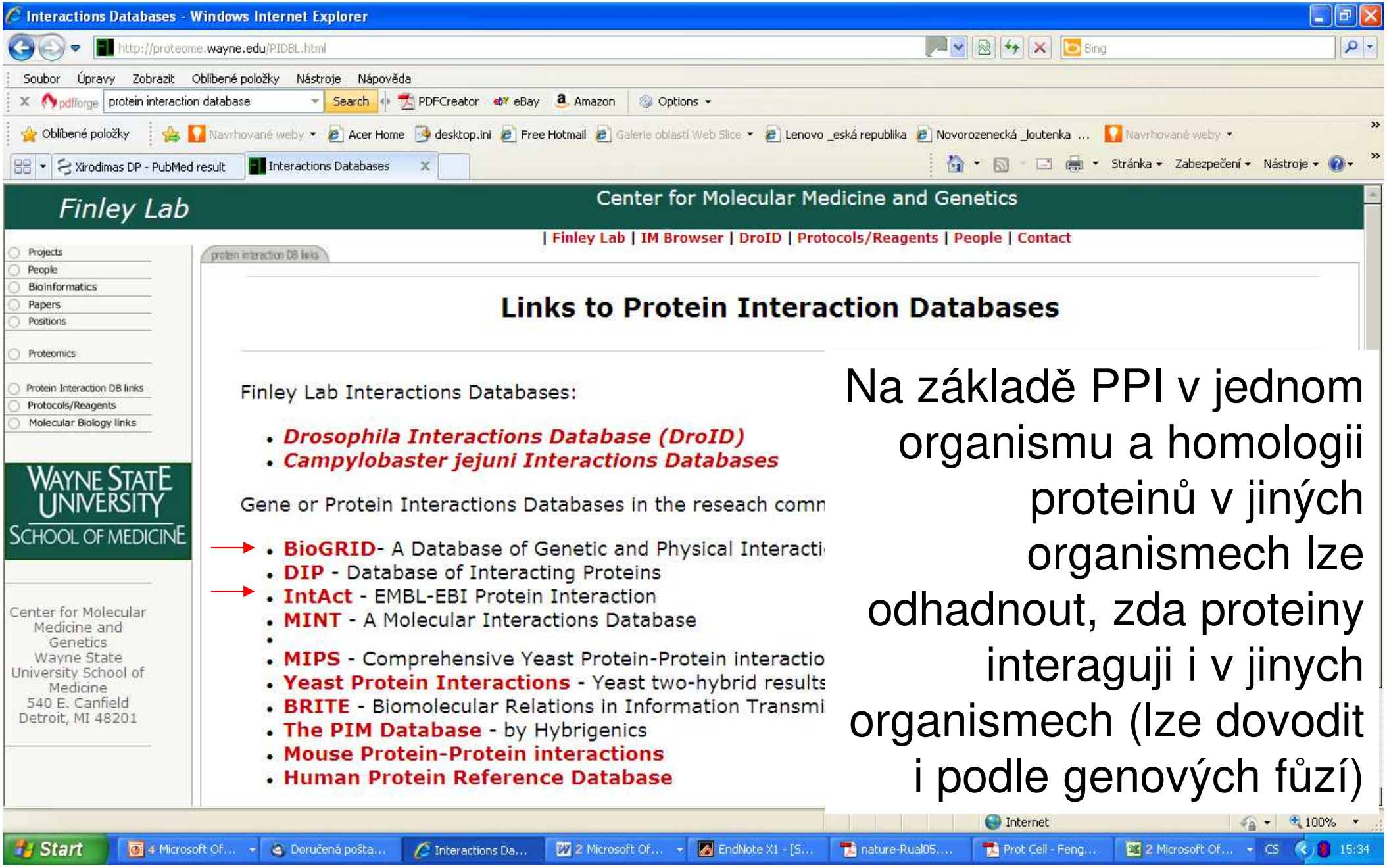
BindCraft: de novo design nových interakčních partnerů (AF2)



Abrams et al., Nature, 2024
Pacesa et al., Nature 2025

https://golgi.sandbox.google.com/

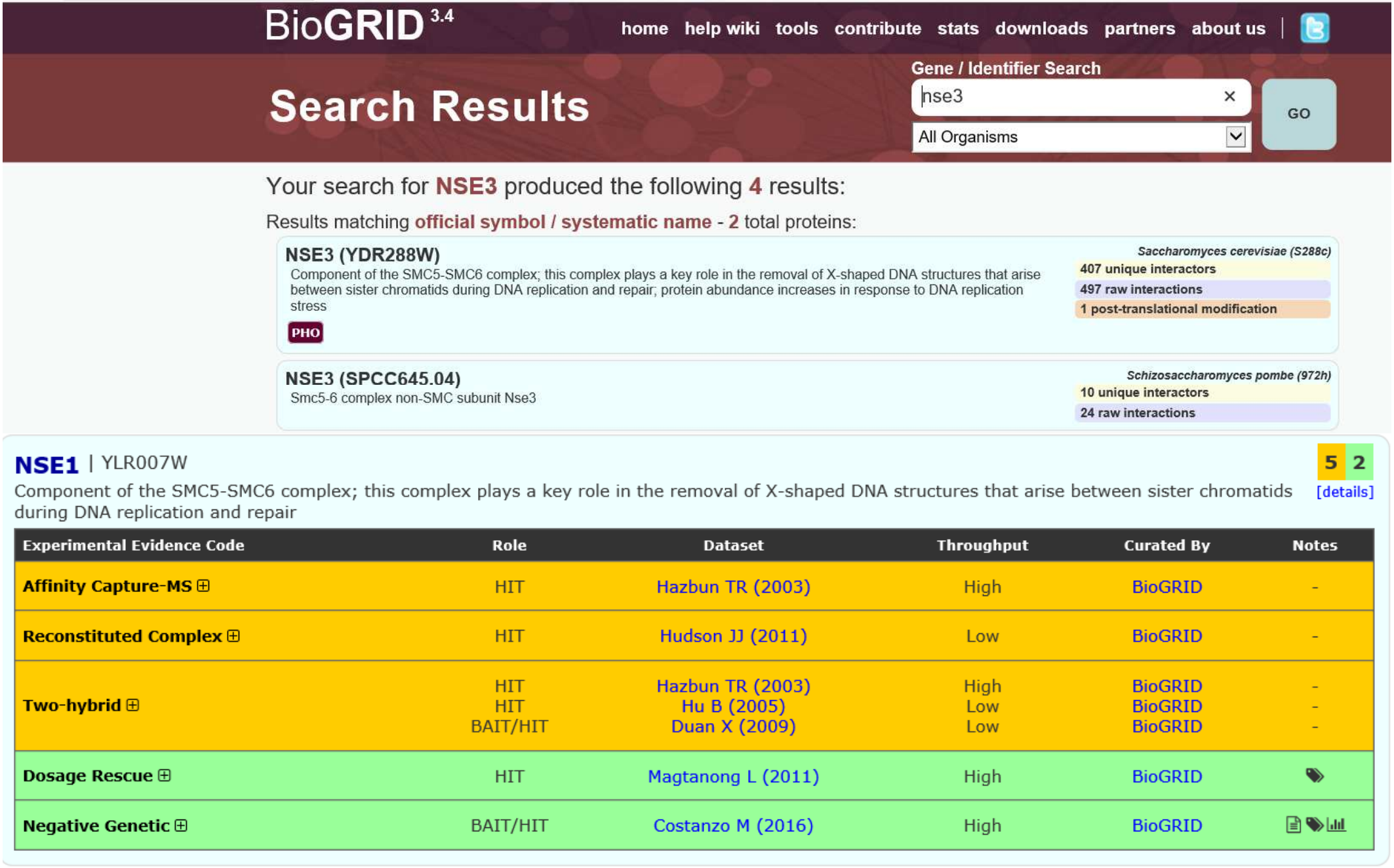
Kde najít další informace o PPI?



Na základě PPI v jednom organismu a homologii proteinů v jiných organismech lze odhadnout, zda proteiny interaguji i v jinych organismech (lze dovodit i podle genových fůzí)

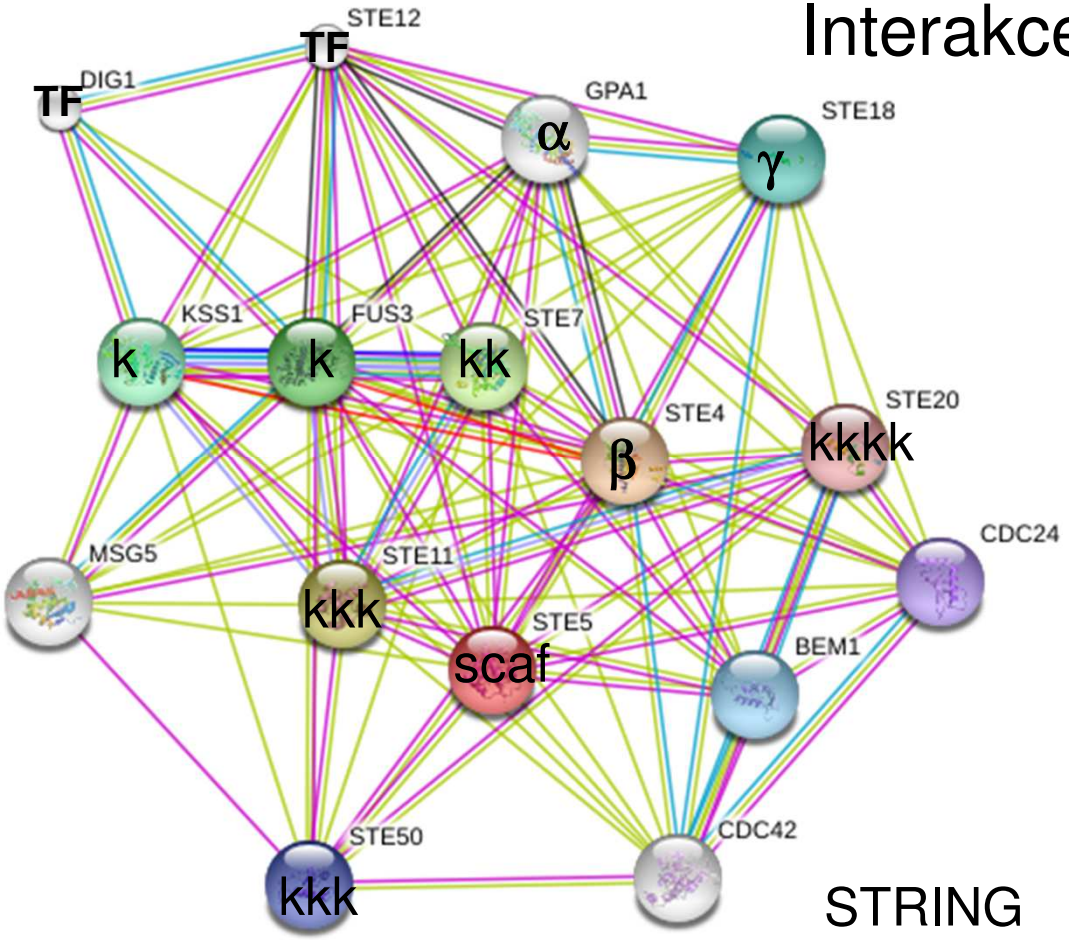
http://proteome.wayne.edu/PIDBL.html

Více Dr. Potěšil



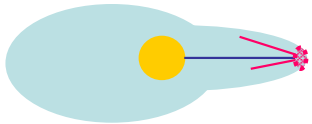
BioGRID – databáze interakcí (včetně genetických) pro různé organismy pučící kvasinky *S. cerevisiae,* poltivé kvasinky *S. pombe,* octomilky *D. melanogaster,* člověka *H. sapiens …*

proteinové sítě – víc než PPI vs dynamika interakcí …

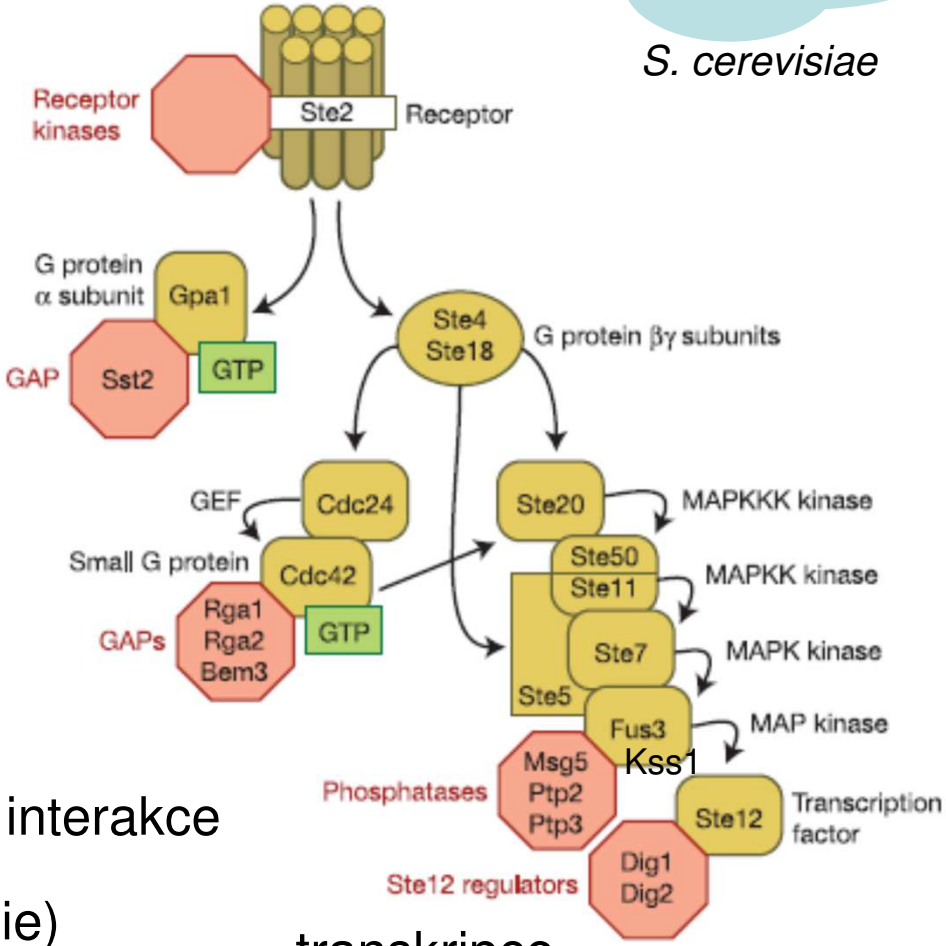


STRING

Interakce x signální dráha



S. cerevisiae



transkripce

Experiments — Y2H, coIP … genetické interakce

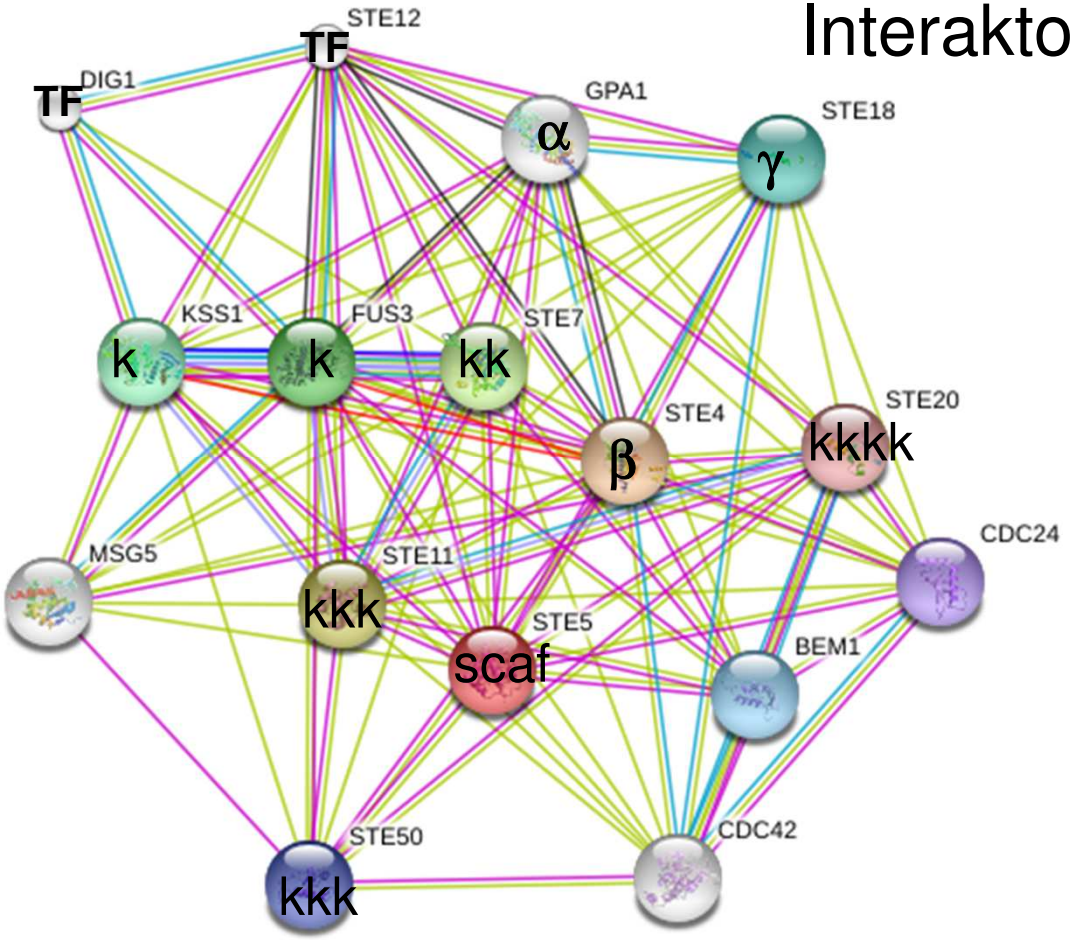
Databases — Funkční vztahy (ontologie)

Textmining

Gene Fusion — Svědčí o potřebě PPI

Coexpression — Potřeba výskytu ve stejném okamžiku a společná translace

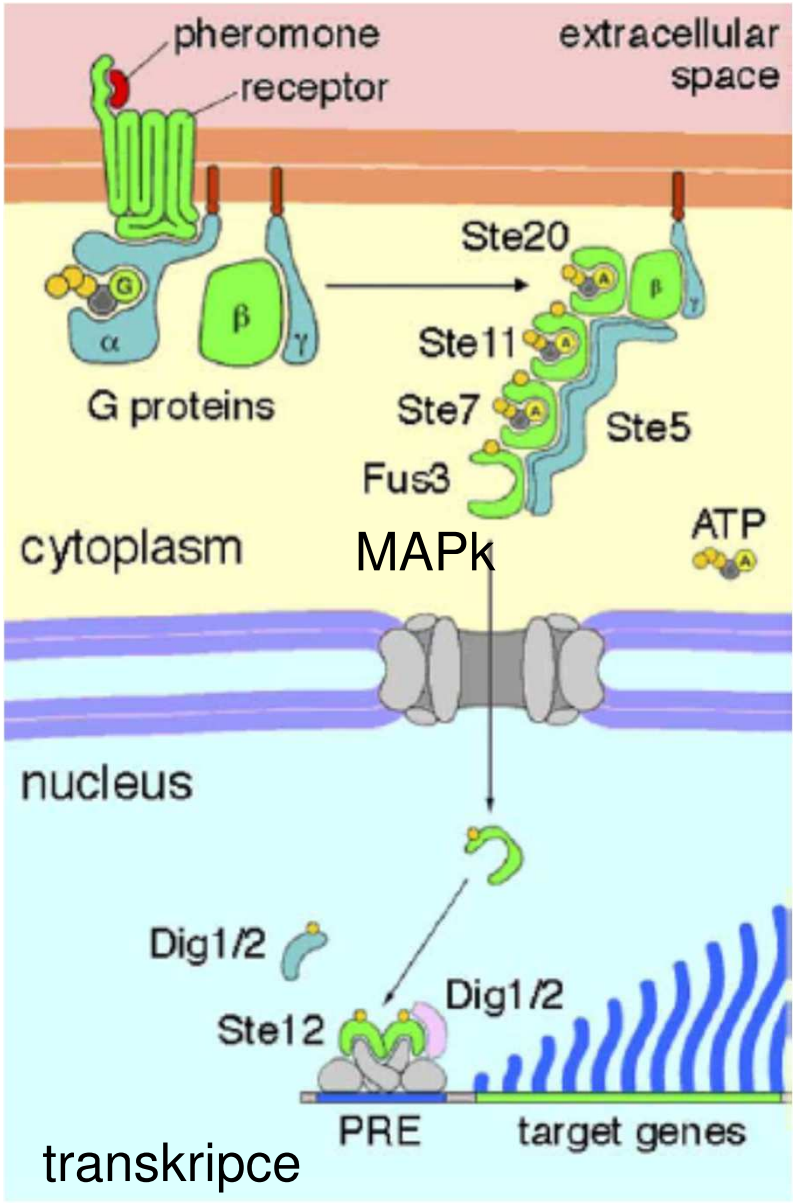
proteinové sítě – schéma vs realita



Experiments
Databases
Textmining
Gene Fusion
Coexpression

Síť neznamená komplex,
ale vztahy
souhrn proteinových:
interakcí **= interaktom**
komplexů **= komplexom**

Interaktom x komplexom

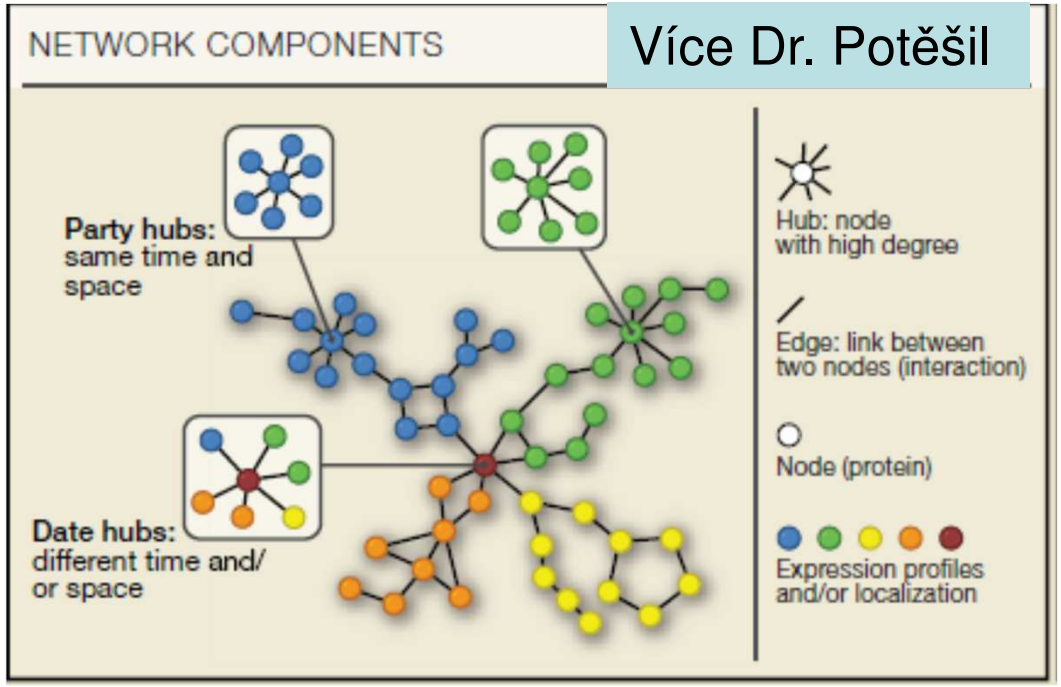


Wang et al., Nature, 2004

Protein-proteinové interakce

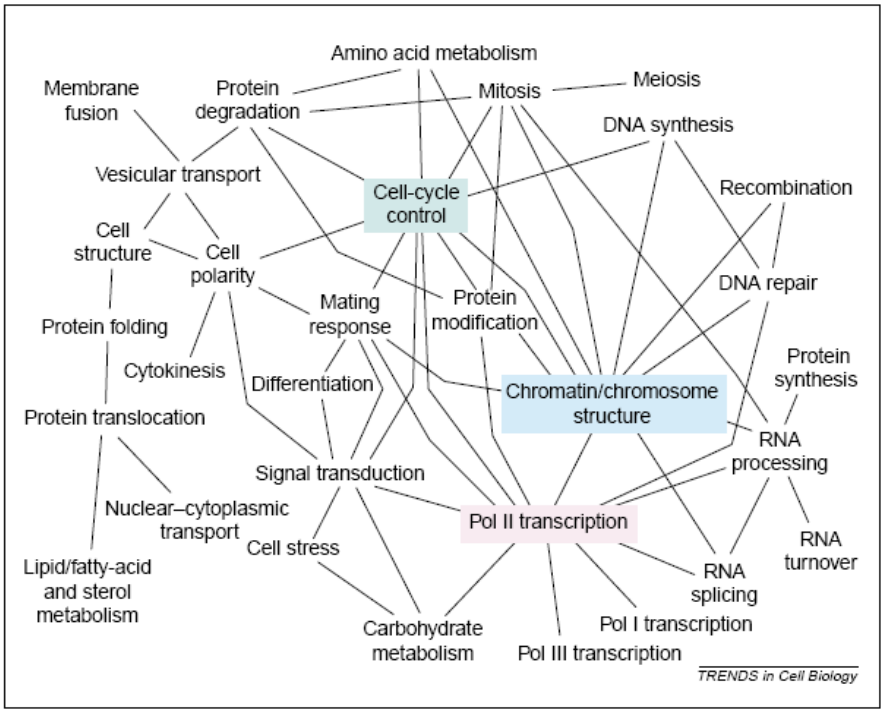
- stabilní (velké plochy, většinou součástí komplexů)
- přechodné/slabé (součást dynamických procesů – předávání signálů, modifikace)
- posttranslační modifikace mohou změnit vazebné vlastnosti povrchu (fosforylace, metylace, SUMOylace)

(modularita díky interakcím domén – různé kombinace domén)



Více Dr. Potěšil

Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011



Network/síť naznačuje funkční vztahy

Tucker et al, TiCB, 2001

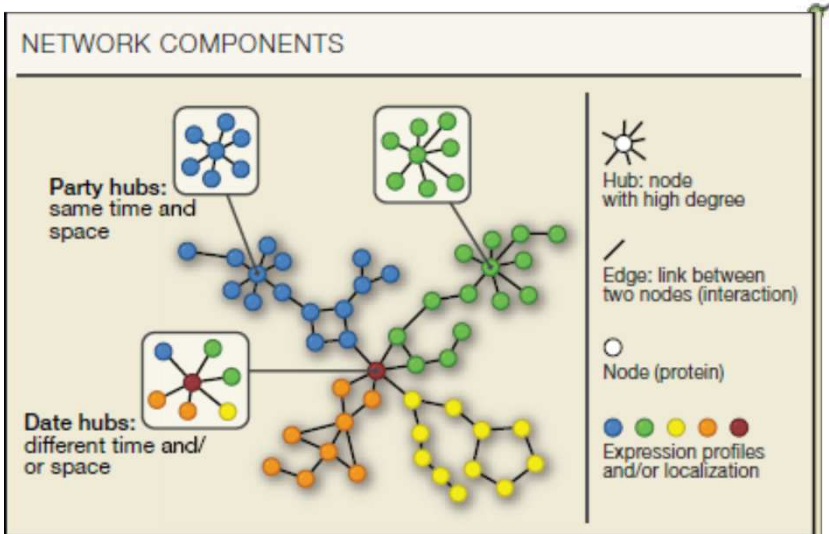
Interaktom x komplexom

Figure 3-83 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Naznačují funkční **vztahy** (např. buněčný cyklus – struktura chromatinu … jsou zprostředkovány PPIs)

více interakcí jedné **domény** = různé povrchy (3D) nebo v různém čase stejný povrch

Modularita – interagují domény (jeden protein více domén – zapojení do více procesů)



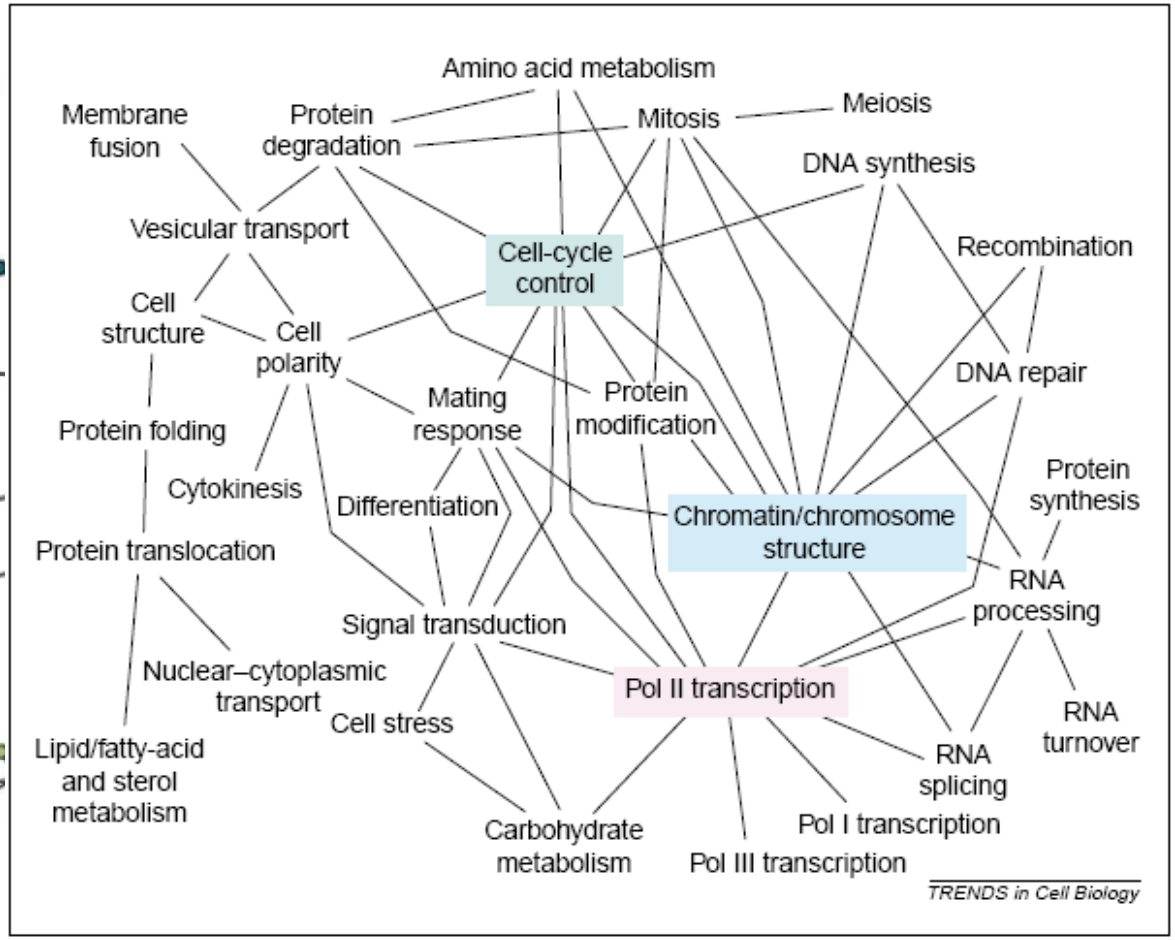
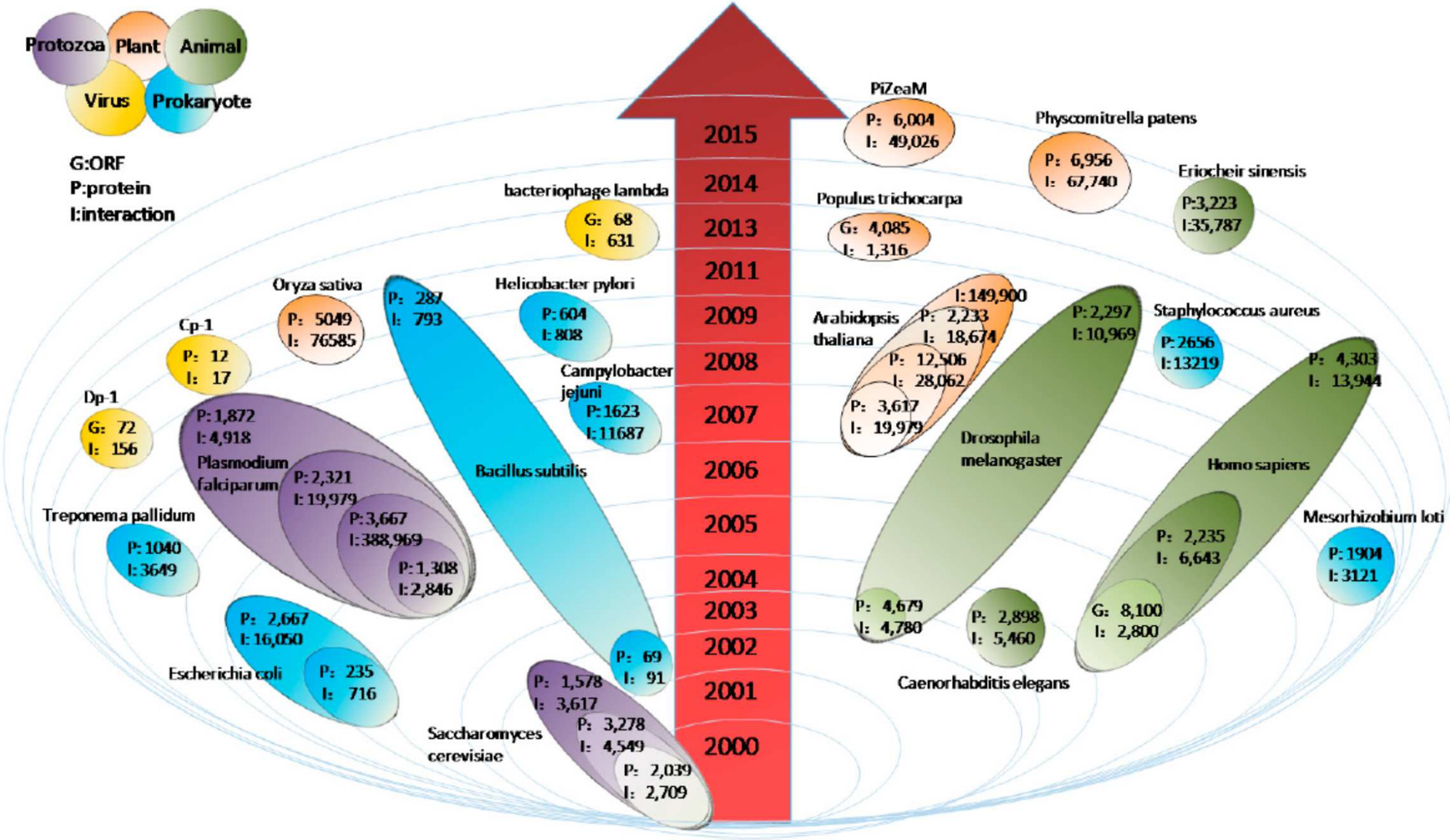


Fig. 2. Functional group interaction map based on Fig. 1 (modified from Ref. 10). Shown are interactions between functional groups of yeast proteins. Each line indicates that there are 15 or more interactions between proteins of the connected groups. Connections with fewer than 15 interactions are not shown because one or a few interactions occur between almost all groups and often tend to be spurious – that is, based on false positives in two-hybrid screens or other assays. Note that only proteins with known function are included and that about one-third of all yeast proteins belong to several classes.

Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011

High-throughput screens – interaktomy organismů



Kvasinkový dvoj-hybridní systém
TAP-tag s MS analýzou

Hao et al, IJMS, 2016

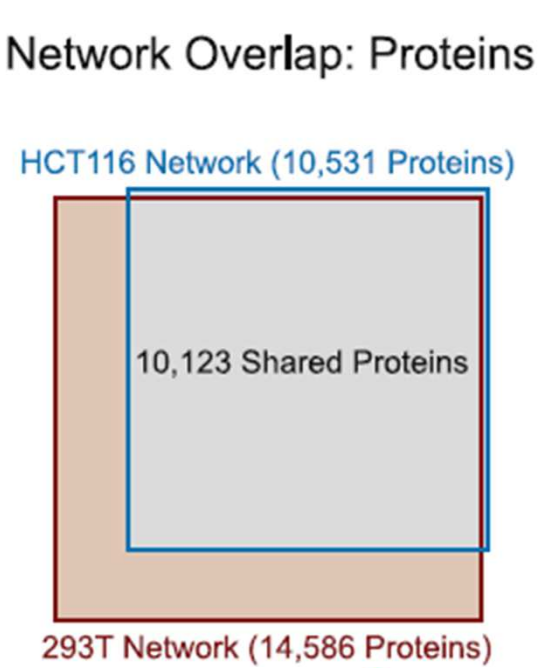
HEK293 (human embryonal kidney) vs HCT116 (human colon cancer)

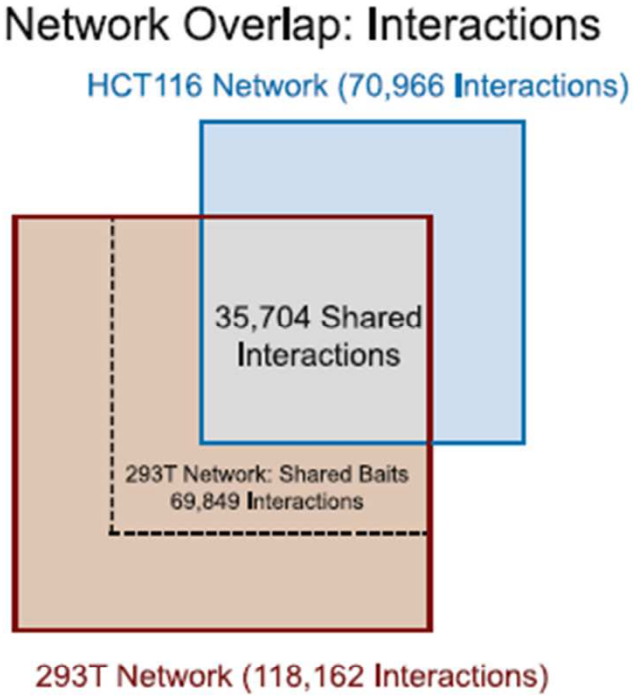
při 70% překryvu proteinů sdílí pouze 50% interakcí

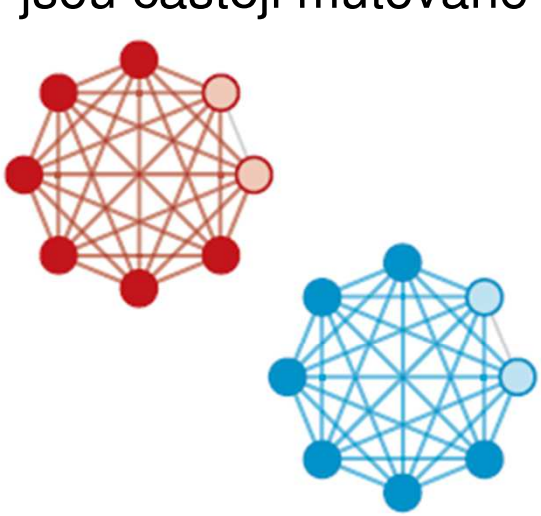
„jádra“ komplexů jsou stejná
liší se „přídavnými“ moduly

klíčové/konzervované komplexy
jsou v obou liniích (jejich exprese
je podobná)

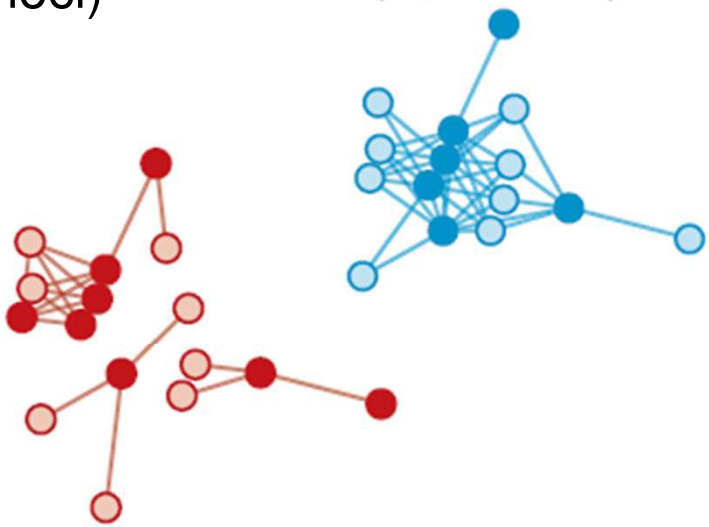
specifické interakce zodpovídají
za rozdílné funkce („fenotypy“)
- jsou častěji mutované (nemoci)





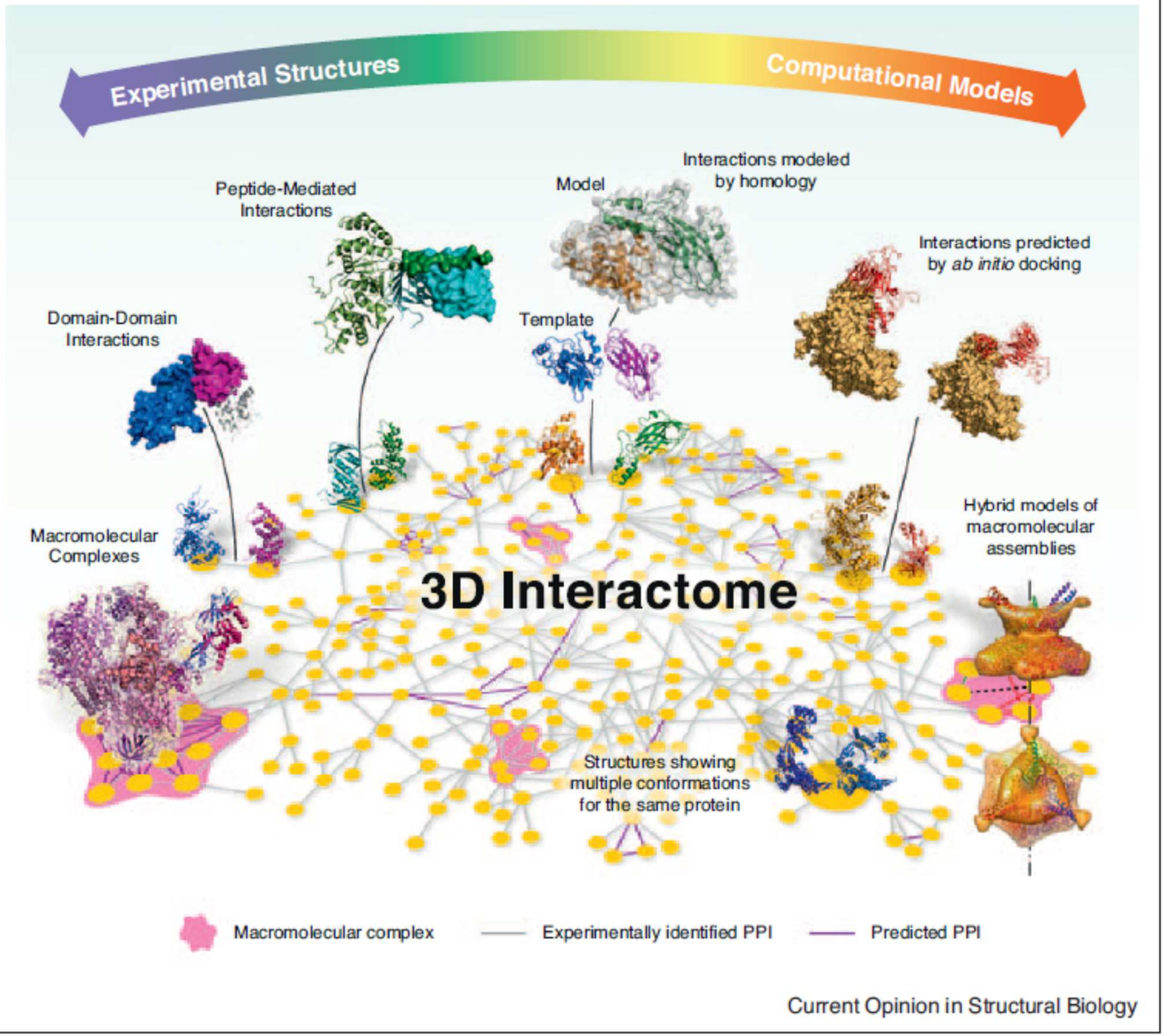


Core Complexes
Are Identical



Network Remodeling
Reflects Specialized Biology

Huttlin et al, Cell, 2021

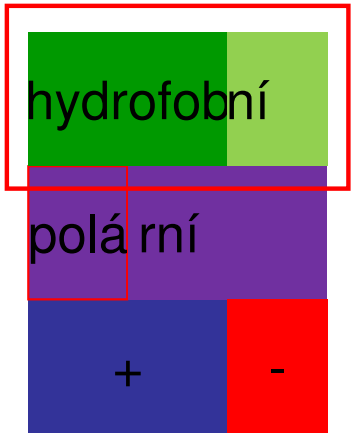


Stein et al, CO in SB, 2011

Souhrn - protein-proteinové interakce

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

primární struktura



sekundární a terciární struktura