

- Úvod - Analýza proteinu
 - Domény
 - fold-struktura (ss, 3D – homolog v PDB? – I-TASSER)
 - Interakce (IntAct, BioGRID)
 - Komplexy
 - Funkce
 - Lokalizace
 - evoluce
 - Konkrétní nová data – článek
 - V PyMolu připravit 3D movie
- Ujasnit si souvislosti, rozšířit si znalosti, aplikovat poznatky z přednášek ...

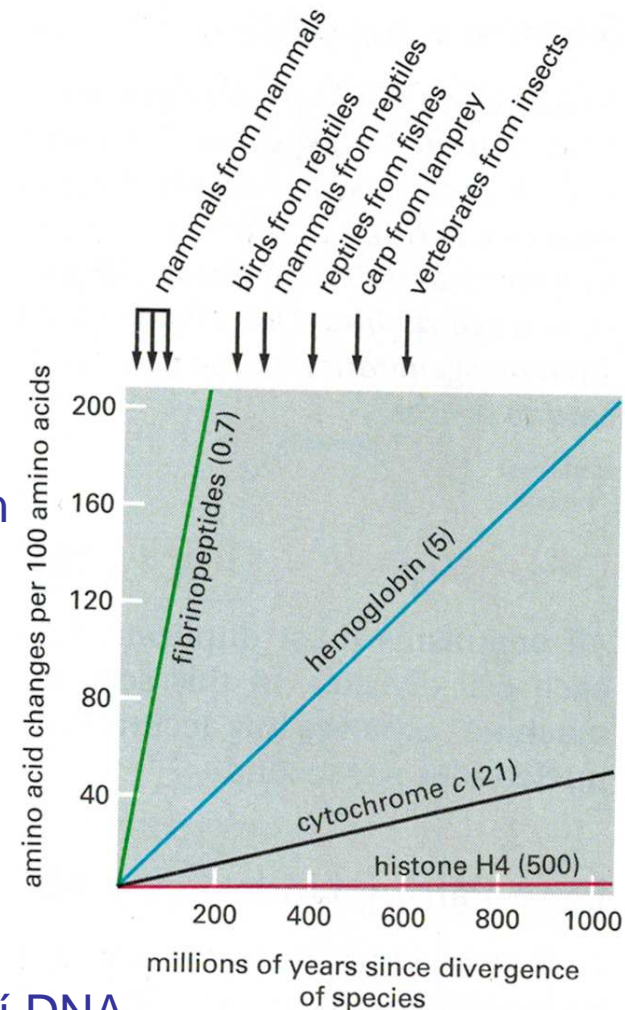
- srovnání genomů/proteomů ukazuje (podobně jako morfologie) na změnu („evoluci“) proteinů v čase
- divergence druhů koreluje do určité míry s konzervací/divergencí DNA/proteinových sekvencí

Prof. Lehmann

- DNA je replikována s relativně vysokou přesností (1 změna na 10^9 nukleotidů – cca 4000 _{TNR12} písmen na A4 stranu – 8000 _{TNR12} na list – 500 listů/balík – cca 250 balíků)
- poškození DNA dalšími vlivy ...

Dr. Špirek – poškození DNA

- frekvence mutací DNA je +/- stejná, ale různé proteiny jsou různě změněné – (např. 6 ze 7 změn v cytochromu C jej poškodí; kvasinkový a lidský ubiquitin se liší třemi AMK)
- takto konzervované proteiny jsou lehce identifikovatelné v různých organismech a mají „homologní“ (**ortologní**) funkci



- přesný fylogenetický vztah (strom) mezi člověkem a primáty bylo možné určit až dle sekvenací - velmi příbuzné sekvence DNA/proteinů mezi člověkem a primáty díky „krátké“ době, po kterou mohlo k mutacím docházet (jsou zachovány i nukleotidy ve 3. pozici synonymních kodonů - odhad 1/400AMK protein za 200,000 let)

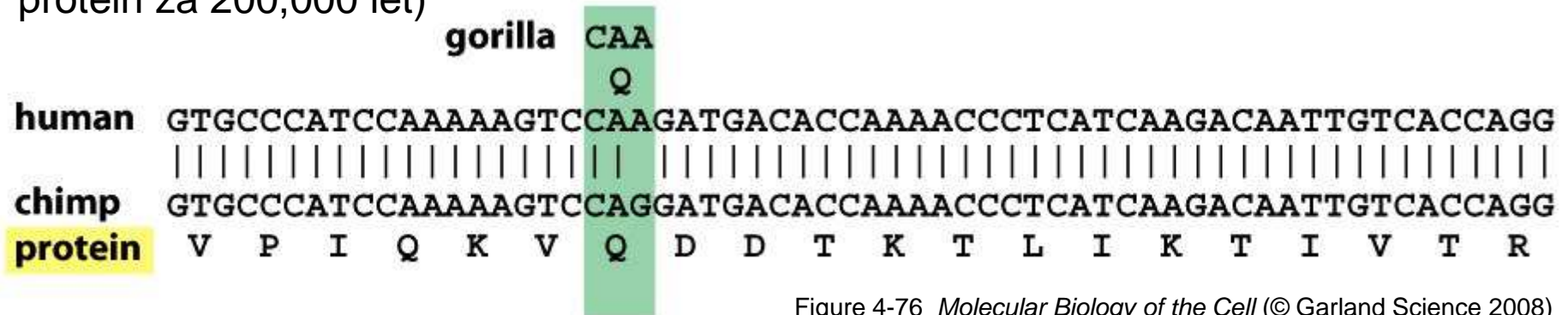
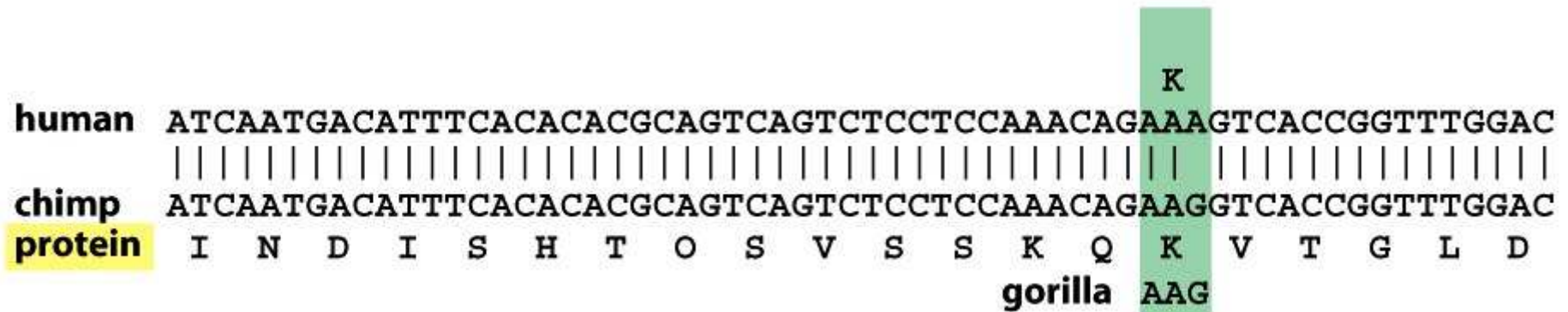


Figure 4-76 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



- velkou druhovou rozdílnost nezpůsobuje mnoho mutací v proteinech (nemohlo jich tolik vzniknout) – jiná regulace

- pro vzdálenější organismy (člověk a myš) je sekvence odlišnější (DNA je odlišnější než proteiny – pro 1AMK více kodonů; intron je odlišnější než exon – intr. nekóduje protein, proto menší selekční tlak)

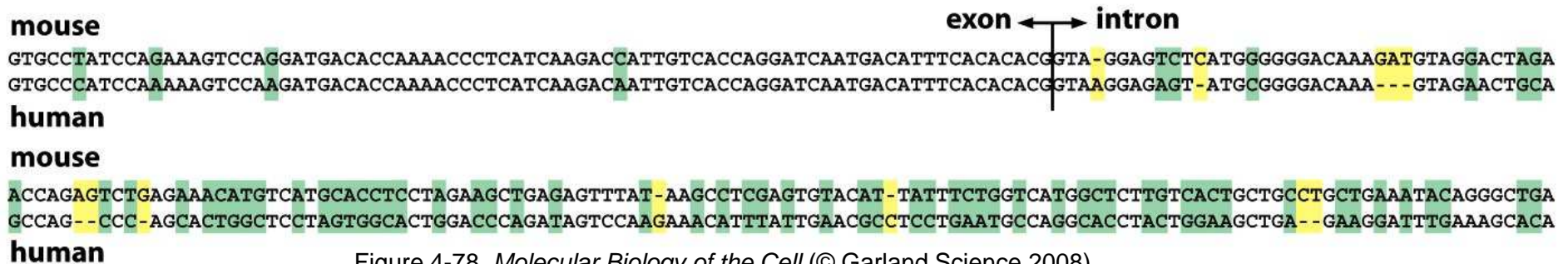


Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- odlišnosti druhů je tedy dána spíše rozdílné regulaci (nekódujícím sekvencím) tj. rozdílem v expresi proteinů než rozdílem v sekvenci proteinů (tj. rozdílnou funkcí proteinů)

- rozdílná exprese tj. rozdílné proteomy v buňkách podmiňují odlišnost buněk v organismu (svaly, játra ...) i odlišnost buněk v čase a prostoru (morfogeneze – odlišný vzhled ... mozek => menší problém když se modifikuje/zmutuje program morfogeneze než když zmutuje protein => vliv na funkci)

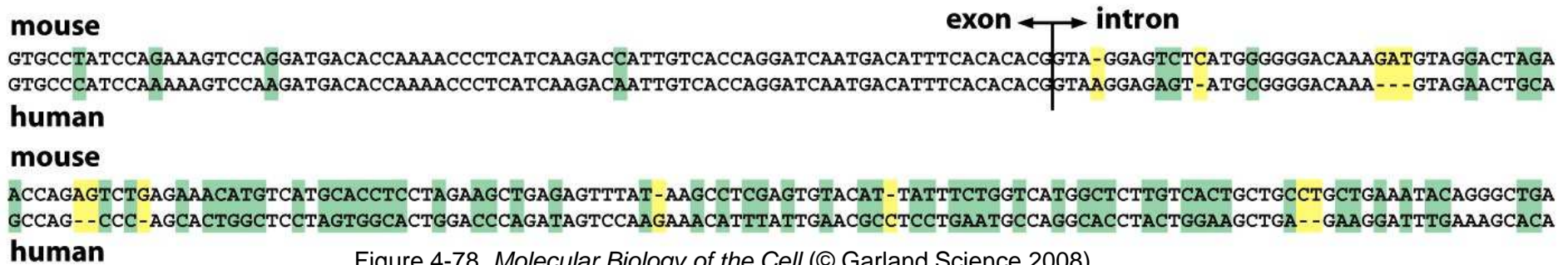


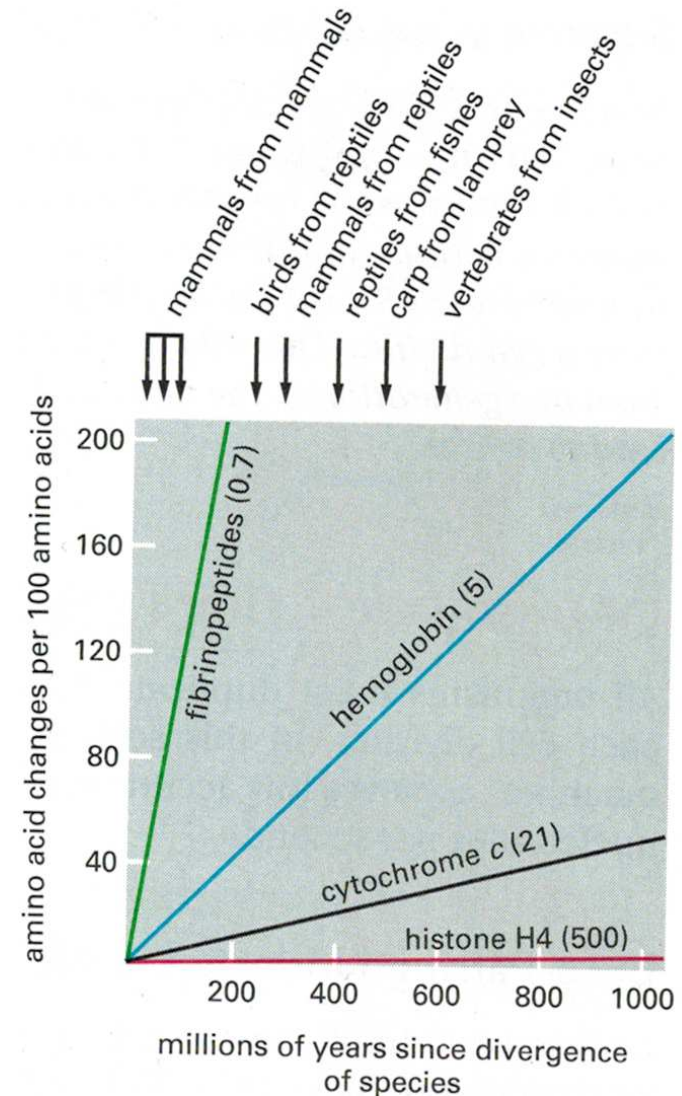
Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- čím důležitější funkce proteinu pro organismus (od nejzákladnějších po specializované) tím více je konzervovaná sekvence proteinu respektive jeho domén (velká podobnost i mezi odlišnými organismy – např. některé lidské proteiny funkčně zastoupily zmutované kvasinkové proteiny = Y2H cytotrap)
- konzervace je důsledkem „purifikační selekce“ (eliminace buněk/jedinců s mutacemi v esenciálních/důležitých funkcích – většinou proteinech)
- mutace u pacientů s různými syndromy (zmíněny kohesinopatie, syndromy s disfunkcí DNA opravných proteinů)

- nejpomaleji se mění proteiny, které jsou zapojeny do nejvíce interakcí s dalšími proteiny (limitována, jak struktura, tak povrch)
- není příliš prostoru pro změny - např. ubikvitin, DNA polymerázy, histony, ribosomální proteiny, ... („drží“ základní systém)

- konzervované proteiny jsou stabilní, optimální pro svoji funkci (enzymatickou aktivitu, pro interakce s partnery ... ko-evoluují celé komplexy)

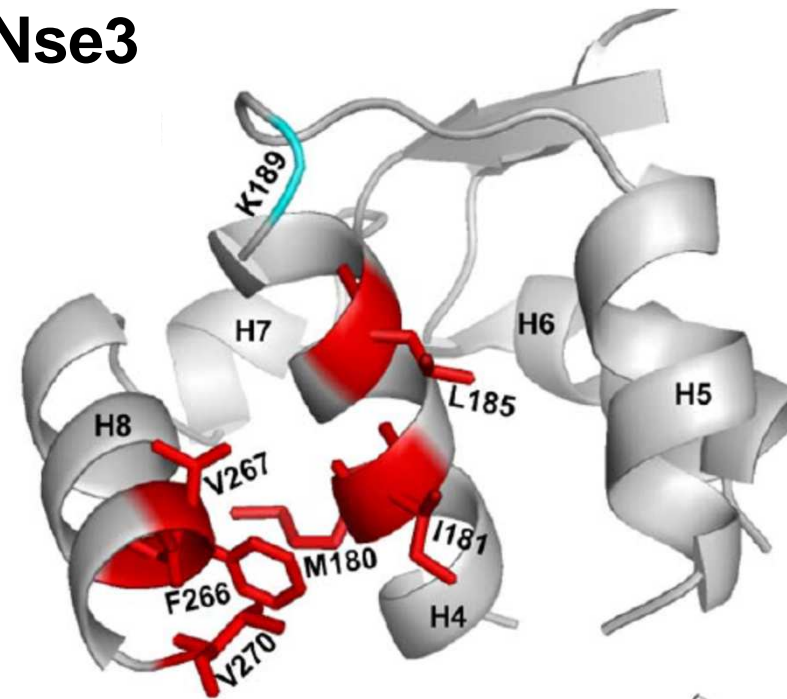
- selekční tlak na stabilitu a funkci - nutnost zachování funkce neposkytuje příliš prostoru pro evoluci/rozvoj nových vlastností (ale neznamená ani selekci na „nejstabilnější“ či „nejaktivnější“ = určitá volnost)



Silná konzervace v blízkých organismech

- mutace specifické AMK na Ala zruší Nse3-Nse4 interakci
- „mutace“/změny těchto AMK na podobné (hydrofobní) AMK tyto interakce neruší

Nse3



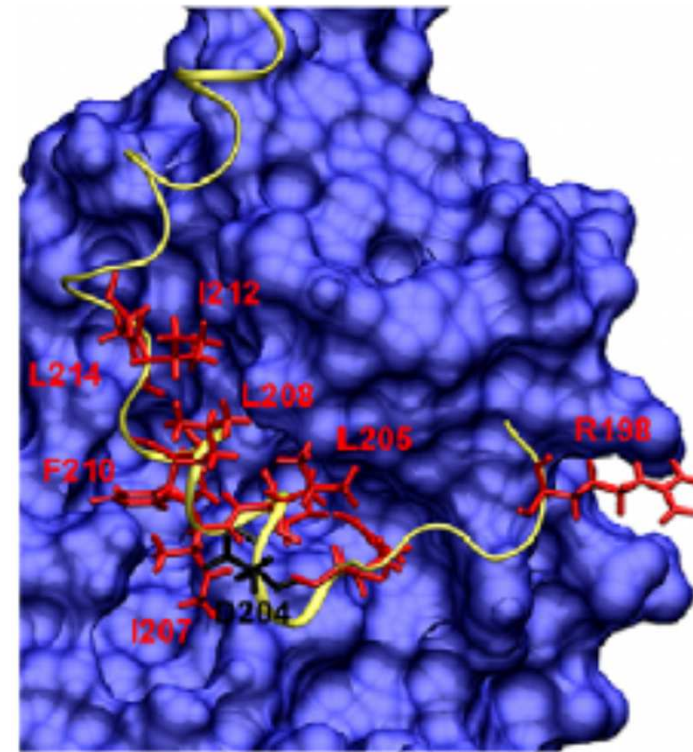
Hudson et al, PLoS One, 2011

...RYBY, OBOŽIVELNÍCI, PTÁCI ...

N.v.	GLLMLVLSVILM	SxxxxN	YTSLWHFL	KKMGL	EPKKE	HEVFGDP	--EKLI	ACEFT	ROGYL	ERRK	VTGG	---	EATE	EYSW	---	GSRS	NKE	---	LT	KR	KV	LE	FV	SV																																				
D.r.	GLLFVILSVIFM	KGGTIK	ENLVWNTL	KKLR	LD	PGEKH	DEFGDV	--KKLV	TEFVR	QKYL	EY	GKIP	HTE	---	FVEY	EFRW	---	GL	RA	EK	---	VSK	LK	LL	EF	VG																																		
T.n.	GLLFVILSVIFM	KGGAVR	DSVVMN	LKKLR	VQ	GERHP	EFGEV	--KR	VME	EFVR	QRYL	EC	NRIP	HTE	---	PLE	HE	FR	---	Q	R	A	D	T	---	V	S	K	T	K	I	L	E	F	M	A																								
X.t.	GLLMIVLSLIFM	KGNTAK	ESAVW	EMLRRL	RI	EPAEK	HSDFGDV	--KK	LIT	EEFVR	QKYL	EY	SKVL	HTE	---	PVEY	EFRW	---	G	Q	R	A	F	K	---	T	S	K	M	Q	V	L	E	F	V	S																								
G.g.	GLLIVILSFIFM	KGNSAK	DSAVW	EFLRRL	RV	HPGEK	HEVFGDV	--KK	LVM	EEFVR	QKYL	EI	TP	IP	LTD	---	PP	E	N	F	Q	---	G	P	R	A	A	K	---	T	S	K	K	D	I	L	S	F	V	A																				
O.a.	GLLMIVLSLIFM	KGSATN	ESVIW	EFLRRL	RVD	TRER	HEVFGDV	--KK	LVT	EEFVR	QKYL	EY	NRIP	HTE	---	FVE	E	F	Q	---	G	A	R	A	T	K	---	T	T	K	M	Q	V	L	N	F	V	A																						
M.d.	GLLMIVLSLIFM	KGNSAR	ESLVW	DVLRRL	RVD	PEKR	HKTFGDV	--KK	LK	DEFVR	QKYL	EY	IR	VPH	S	---	PP	E	Y	E	F	L	---	G	P	R	A	A	H	---	T	S	K	M	Q	V	L	R	F	V	A																			
E.e.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
S	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
MAcr	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
B.t.	GLLMIVLGLIFM	KGNSIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVHPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
EVc.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVSP	TKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
C.f.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
C	GLLMIVLGLIFM	KGNTIT	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
Mmag1	GLLMIVLGLIFM	KGNTIT	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
Ml	GLLMIVLGLIFM	KGNTVK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHF	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
P.a.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
P.t.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	VW	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A	
H.s.	GLLMIVLGLIFM	KGNTIK	ETE	A	W	D	FLRRL	GVYPTKKHL	I	F	G	D	---	KK	LIT	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A

Slabší konzervace ve vzdálených organismech

- „mutace“/změny těchto AMK na odlišné (polární Thr nebo posun motivu o 1AMK na konci)
- interakční partner se ovšem také „mění“
- „mutace“/změny zřejmě koevolvuji
- teorie kompenzačních mutací ...

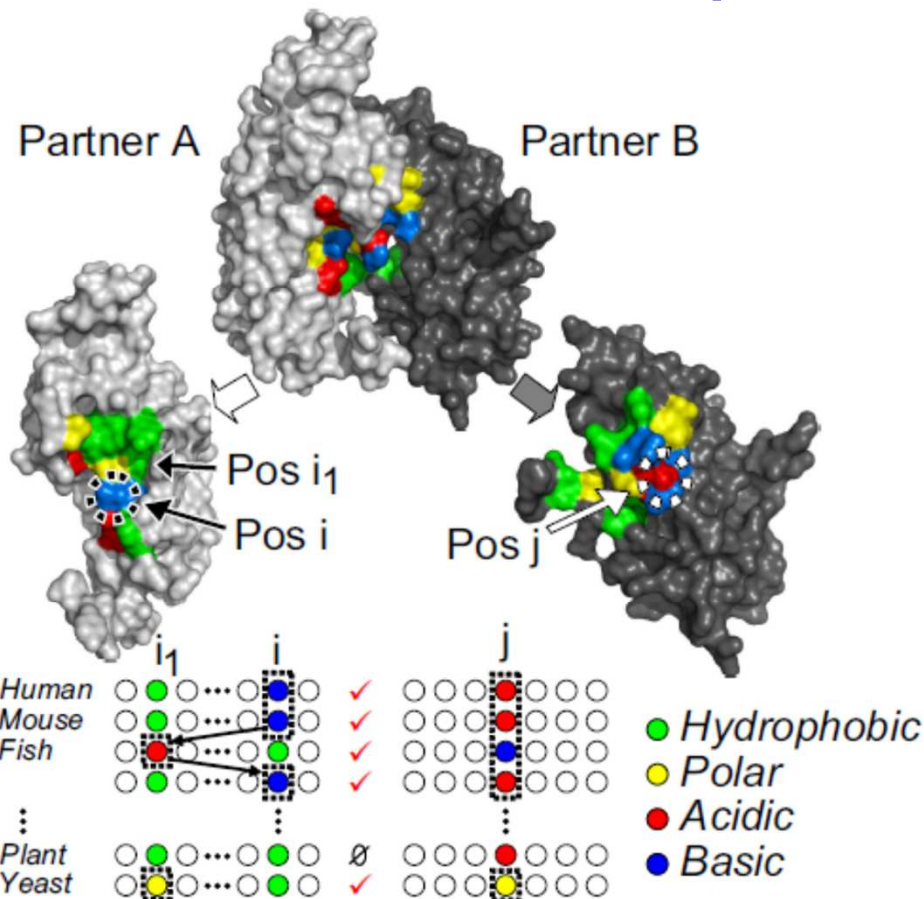


Guerineau et al, PLoS One, 2012

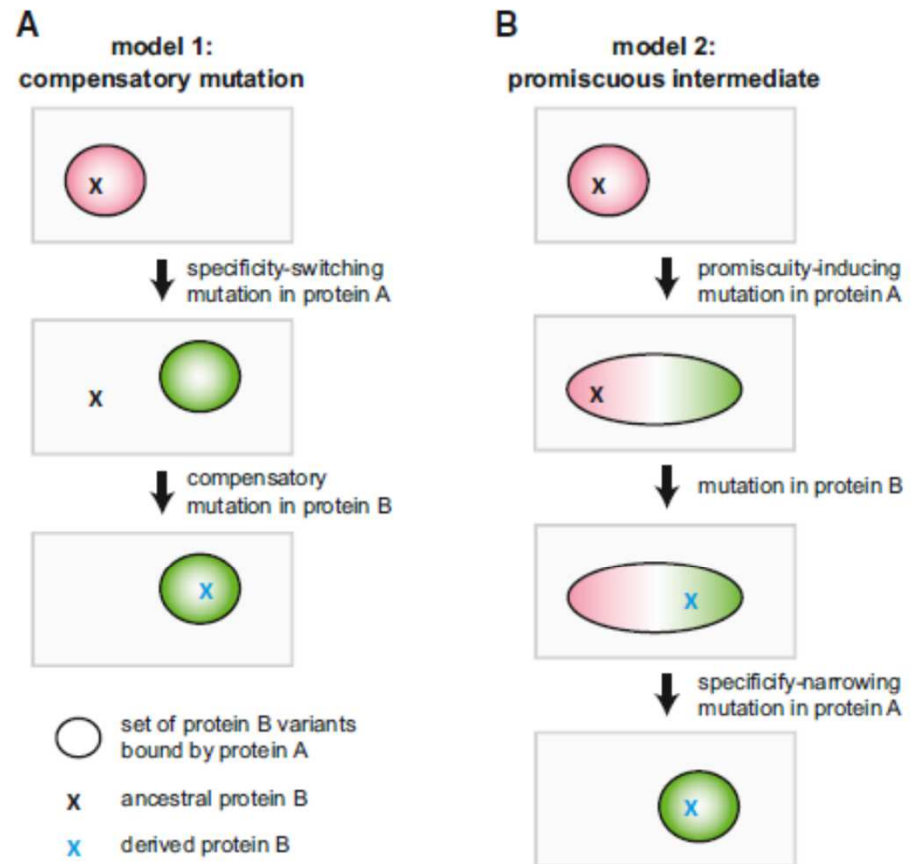
KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK

S. p.	GFLMTVIAFIIV	SHC	SVG	HSE	IQS	FLQ	ELLT	---	E	ETTP	LHLD	-ITR	S	SLV	ROGYL	--	D	R	V	K	D	D	T	---	H	N	Q	F	V	Y	Y	I	---	G	S	R	A	V	T	E	I	S	-	I	E	G	L	K	S	F	V	T	E	F	F																																	
Ani.	GLYTFIIAVILL	NGG	TLQ	E	K	I	D	R	Y	L	S	R	M	N	A	---	E	Q	F	T	P	V	E	R	---	T	H	L	Q	R	L	C	K	E	G	Y	L	---	V	K	N	R	E	M	D	G	-	G	D	E	I	I	E	Y	M	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	G	-	A	R	G	V	A	G	L	V	R	E	V	Y									
Pyr.	ALYTTVIAFIIL	SGG	IIP	E	G	K	I	D	R	A	L	R	R	M	N	A	---	D	Q	T	T	P	L	G	T	---	K	K	T	L	A	A	M	V	K	D	G	Y	I	---	V	K	V	K	D	V	S	G	G	T	E	E	T	I	D	Y	I	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	G	-	G	E	G	V	A	Q	F	I	R	A	V	Y							
N. f.	GLYSFIIAVILL	NGG	SLP	E	K	L	E	R	Y	L	K	R	T	N	A	---	D	T	Y	T	P	V	D	R	---	T	D	R	F	L	Q	R	L	C	K	E	G	Y	L	---	I	R	N	R	E	M	D	G	-	G	E	E	I	I	E	Y	M	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	G	-	V	Q	G	V	A	G	L	V	R	E	V	Y							
Ate.	GLYTFIIALILL	NGG	SLP	E	K	L	E	R	Y	L	Q	R	T	N	T	---	D	T	Y	T	P	I	D	R	---	T	D	R	F	L	Q	R	L	C	K	D	G	Y	L	---	V	R	N	R	E	M	D	S	-	G	E	E	V	I	E	Y	M	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	T	Q	G	V	A	G	L	V	R	E	V	Y							
Acl.	GLYSFIIAVITL	NGG	SLP	E	K	L	E	R	Y	L	K	R	T	N	A	---	D	T	F	T	P	I	D	R	---	T	D	R	F	L	Q	R	L	C	K	E	G	Y	L	---	L	R	T	R	E	M	D	G	-	G	E	E	V	W	E	Y	L	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	V	Q	G	V	A	G	L	V	R	E	V	Y							
C. i.	ALYTFIISLITL	SGG	SLA	E	K	L	D	R	Y	L	R	R	V	N	A	---	D	T	Y	T	P	L	D	R	---	T	E	K	L	A	R	L	C	K	D	G	Y	L	---	V	R	N	R	D	V	D	G	-	G	E	E	V	W	E	Y	L	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	T	E	G	V	A	G	L	T	R	E	V	Y								
P. a.	ALYTTIISLITI	SGG	E	L	S	-	D	T	R	L	R	R	L	A	R	L	N	A	A	E	Y	M	P	S	M	N	P	N	D	P	x	-	T	D	V	V	L	Q	R	M	I	K	H	G	Y	L	---	V	R	M	V	D	N	R	G	x	D	D	D	S	T	T	W	H	V	---	G	P	R	G	K	A	E	V	P	-	K	E	S	I	A	G	E	V	R	T	I	Y
N. c.	GLYTMLIAIITL	SGG	E	L	S	-	D	P	R	L	R	R	Y	L	T	R	L	N	A	A	x	P	M	N	A	P	S	E	K	-	T	E	L	V	L	Q	R	M	T	K	Q	G	Y	L	---	V	R	V	A	D	N	x	A	G	D	D	D	A	T	T	W	H	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	D	-	N	E	A	I	A	A	V	R	E	V	Y			
M. r.	GLYSMIVTIIQL	N	R	G	E	L	S	-	D	P	K	L	K	R	Y	L	Q	R	L	N	A	---	E	T	N	T	P	V	E	K	-	T	E	L	L	L	Q	R	L	I	R	Q	N	Y	I	---	V	K	T	V	E	R	N	x	-	D	D	A	T	T	W	R	V	---	G	P	R	A	K	Q	E	L	T	-	D	E	A	M	A	S	I	V	R	D	V	Y		
O B R A T.	GLLMVLVSVILM	S	x	x	x	N	-	Y	T	S	L	W	H	F	L	K	K	M	G	L	E	P	K	K	E	H	E	V	F	G	D	P	-	E	K	L	I	A	Q	E	F	T	R	O	G	Y	L	E	R	R	K	V	T	G	G	E	-	E	A	T	F	E	Y	S	W	---	G	S	R	S	N	K	E	---	L	T	K	R	K	V	L	E	F	V	S			
	GLLFVILSVIFM	K	G	G	T	I	K	-	E	N	L	V	W	N	T	L	K	K	L	R	L	D	P	G	E	K	H	D	E	F	G	D	V	-	K	K	V	V	T	E	E	F	V	R	O	K	Y	L	E	Y	G	K	I	P	H	T	E	-	P	V	E	Y	E	F	R	W	---	G	L	R	A	E	K	E	---	V	S	K	L	K	L	L	E	F	V	G		
	GLLFVILSVIFM	K	G	G	A	V	R	-	D	S	V	W	N	I	L	K	K	L	R	V	Q	P	G	E	R	H	P	E	F	G	E	V	-	K	R	V	V	M	E	E	F	V	R	O	R	Y	L	E	C	N	R	I	P	H	T	E	-	P	L	E	H	E	F	R	W	---	G	Q	R	A	D	T	E	---	V	S	K	T	K	I	L	E	F	M				
	GLLMVILSLIFM	K	G	N	T	A	K	-	E	S	A	V	W	E	M	L	R	R	L	R	I	E	P	A	B	K	H	S	D	F	G	D	V	-	K	K	L	I	T	E	E	F	V	K	O	K	Y	L	E	Y	S	K	V	L	H	T	D	-	P	V	E	Y	E	F	R	W	---	G	Q	R	A	F	K	E	---	T	S	K	M	Q	V	L	E	F	V			
	GLLIVILSFIFM	K	G	N	S	A	K	-	D	S	A	V	W	E	F	L	R	R	L	R	V	H	P	G	E	K	H	E	V	F	G	D	V	-	K	K	L	V	M	E	E	F	V	R	O	K	Y	L	E	I	T	P	I	P	L	T	D	-	P	P	E	F	N	F	Q	W	---	G	P	R	A	A	K	E	---	T	S	K	K	D	I	L	S	F	V			
	GLLMVILSLIFM	K	G	S	A	T	N	-	E	S	V	I	W	E	T	L	R	K	L	R	V	D	T	R	E	R	H	E	V	F	G	D	V	-	K	K	L	V	T	E	E	F	V	R	O	K	Y	L	E	Y	N	R	I	P	H	T	E	-	P	V	E	F	E	F	Q	W	---	G	A	R	A	T	K	E	---	T	T	K	M	Q	V	L	N	F	V			
GLLMVILSLIFM	K	G	N	S	A	R	-	E	S	L	V	W	D	V	L	K	K	L	R	V	D	P	E	K	R	H	K	T	F	G	D	V	-	K	K	L	V	K	D	E	F	V	R	O	K	Y	L	E	Y	I	R	V	P	H	S	E	-	P	P	E	Y	E	F	L	W	---	G	P	R	A	A	H	E	---	T	S	K	M	Q	V	L	R	F	V				
GLLMIVLGLIFM	K	G	N	T	I	K	-	E	T	E	V	W	D	F	L	R	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	-	K	K	L	I	T	E	E	F	V	R	O	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	-	P	V	D	Y	L	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V					

Vazební partneři ko-evoluují



Madaoui et al, PNAS, 2007

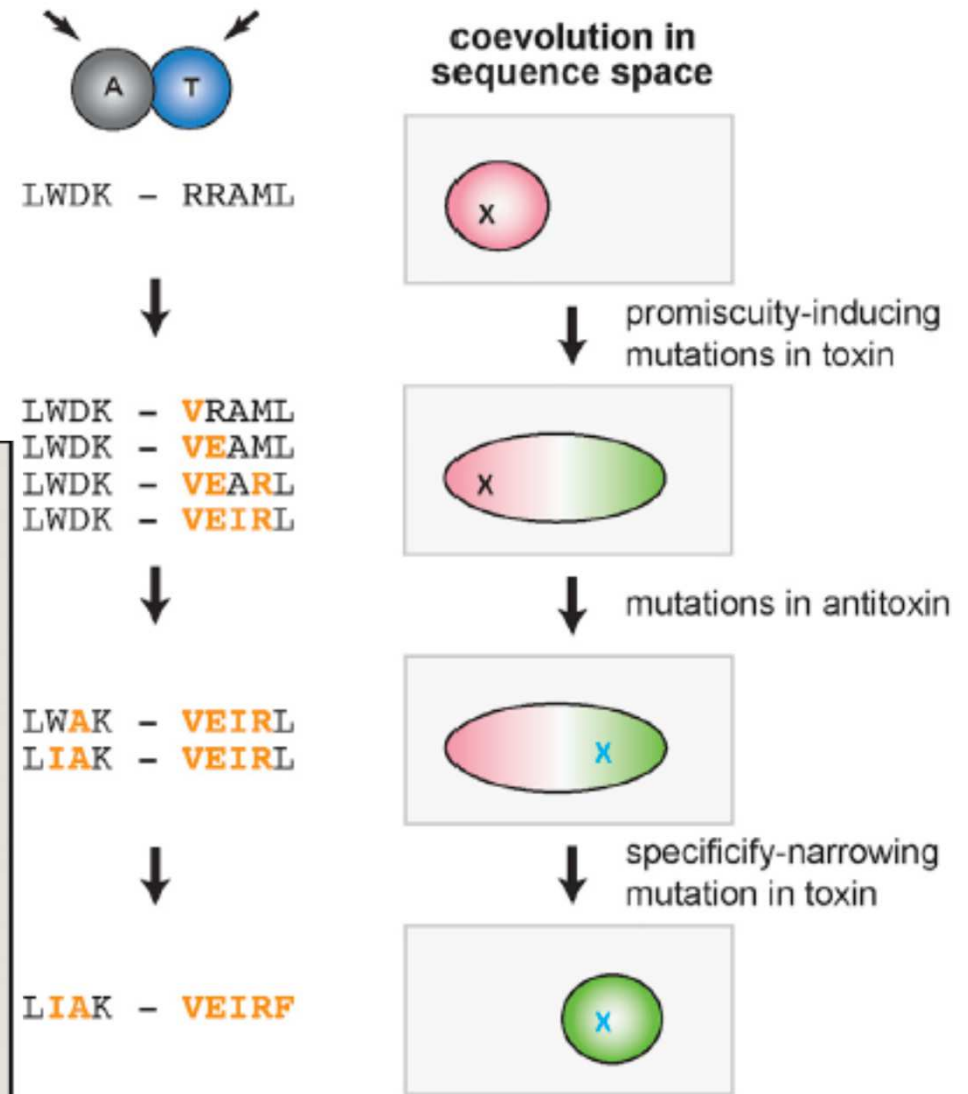
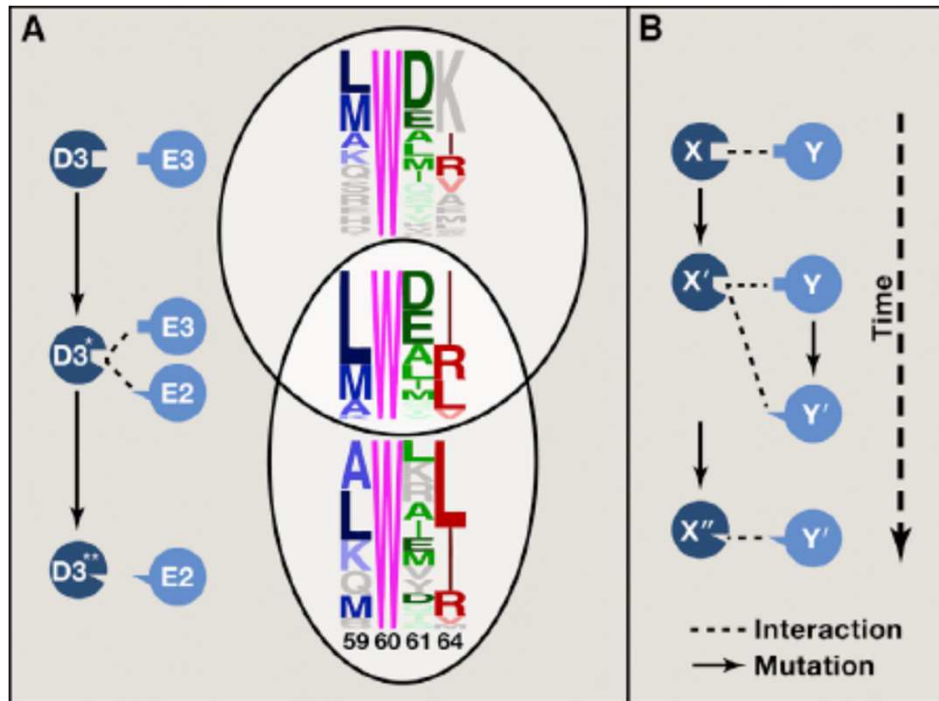


Aakre et al, Cell, 2016

- nutnost zachování funkce nesevďčí o „compensatory mutation“ (mutace v jednom z proteinů přímo kompenzována mutací v partnerském proteinu) – „kompenzace“ přichází postupně přes „promiscuous intermediate“ mutace

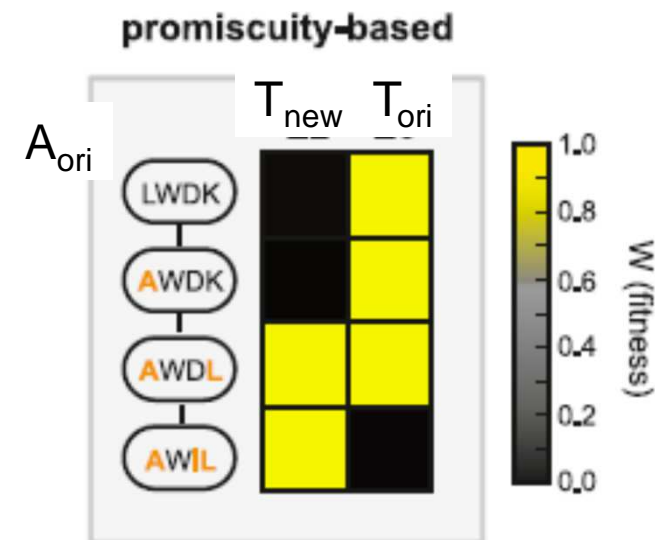
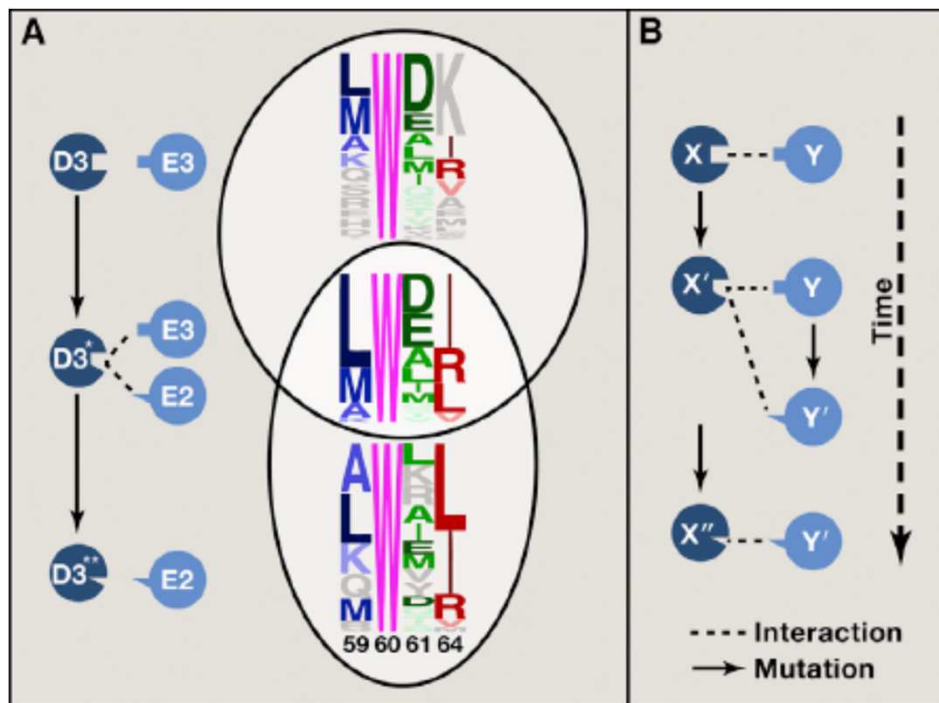
Vazební partneři ko-evoluují

- „promiscuous intermediate“
mutace jednoho proteinu
mohou být doprovázeny
„promiscuous“ mutacemi
druhého proteinu
(nedochází ke ztrátě PPI)



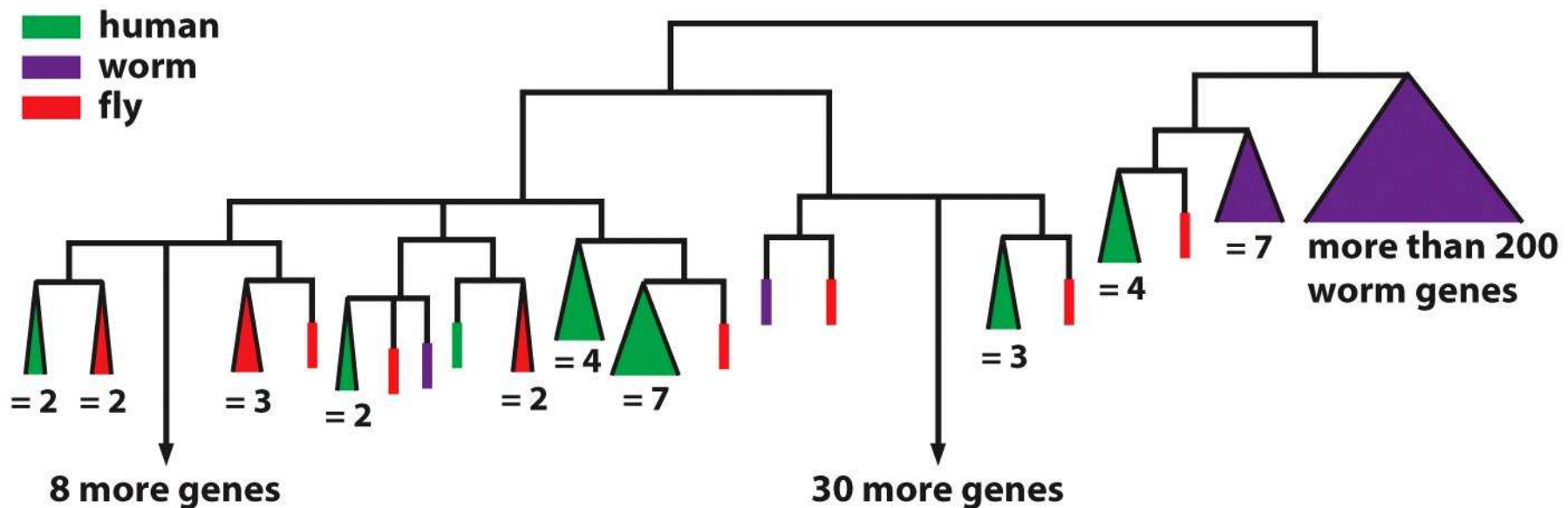
Vazební partneři ko-evoluují

- u „promiscuous intermediate“ mutací nedochází ke ztrátě PPI
- „promiscuous intermediate“ může interagovat i s duplikovaným proteinem (např. tkáňově specifickým – specifický komplex)
- později se může „oddělit“ a vytvořit nový komplex (paralelní ko-evoluce = drift)



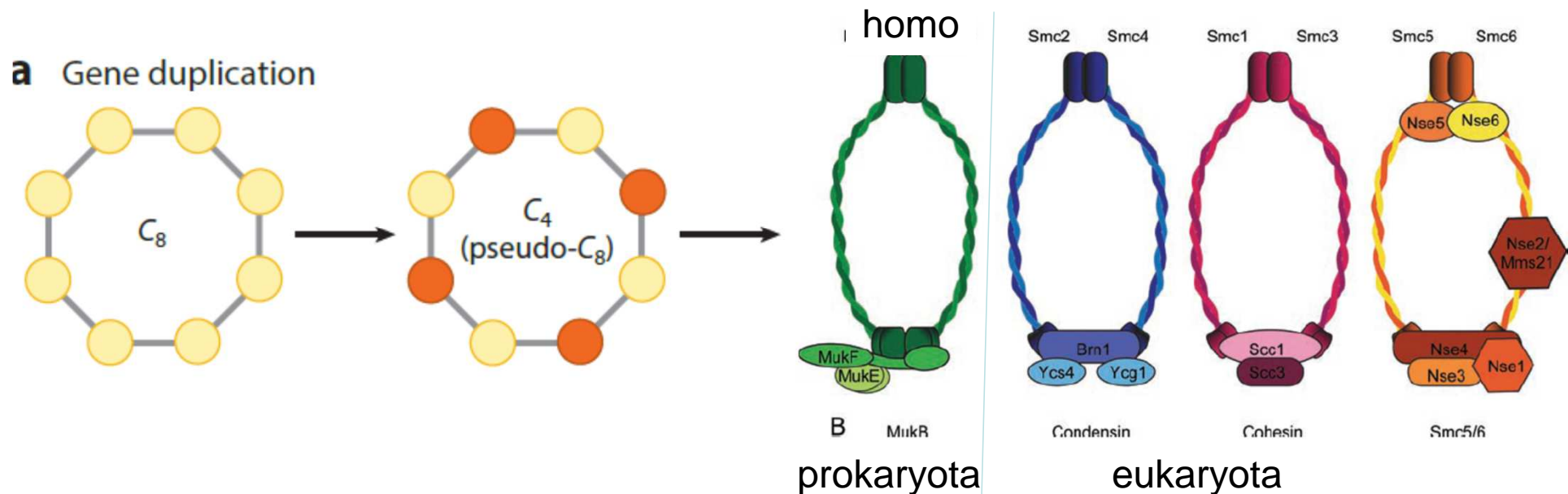
Vznik proteinových rodin

- selekční tlak na stabilitu a funkci - nutnost zachování funkce neposkytuje příliš prostoru pro evoluci/rozvoj nových vlastností
- pro rozvoj nových vlastností, nových druhů - spíše než druhově specifické mutace proteinů lze vidět **expansi různých genových/proteinových rodin** v různých živočišných druzích



(příklad superrodiny jaderných hormonálních receptorů)

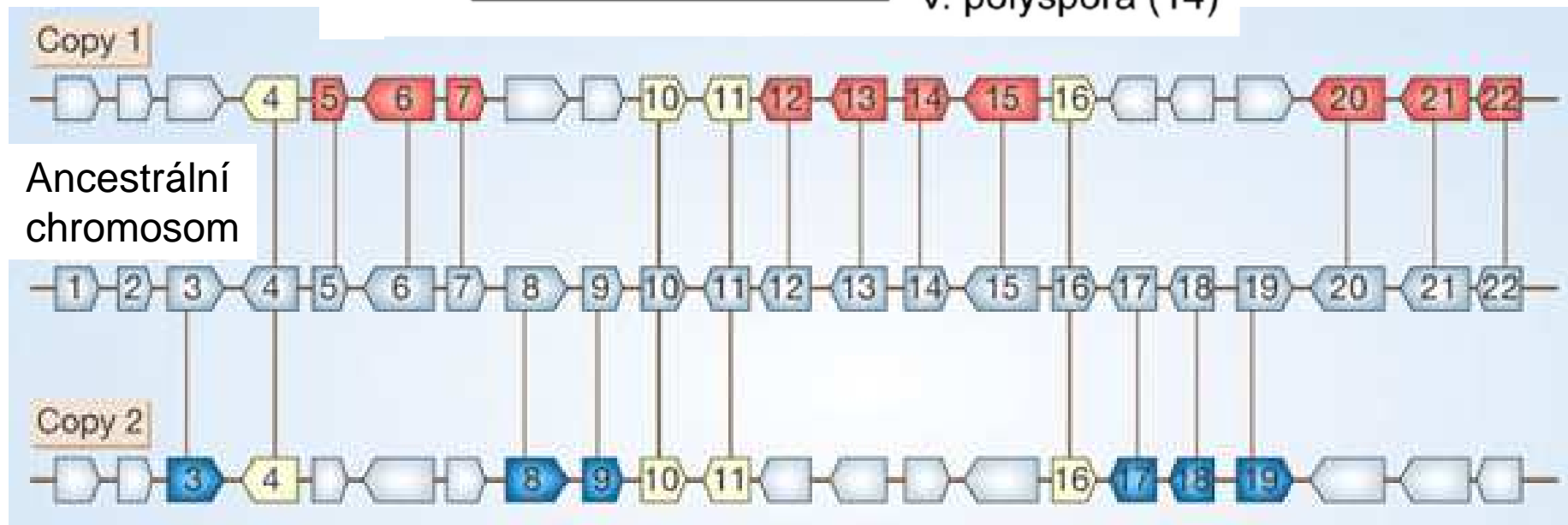
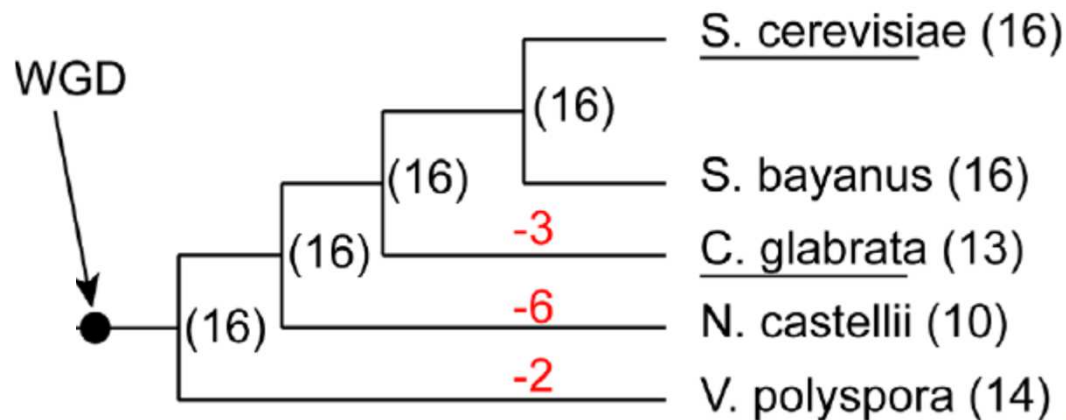
- **duplikace a divergence** jsou hlavními tahouny evolučních procesů (všechny geny/proteiny jsou „potomky“ několika ancestrálních genů/proteinů (foldů), které existovaly v nejčasnějších živých formách (nyní cca 1000 foldů na >100000 struktur v PDB, odhad je cca 2000 foldů))



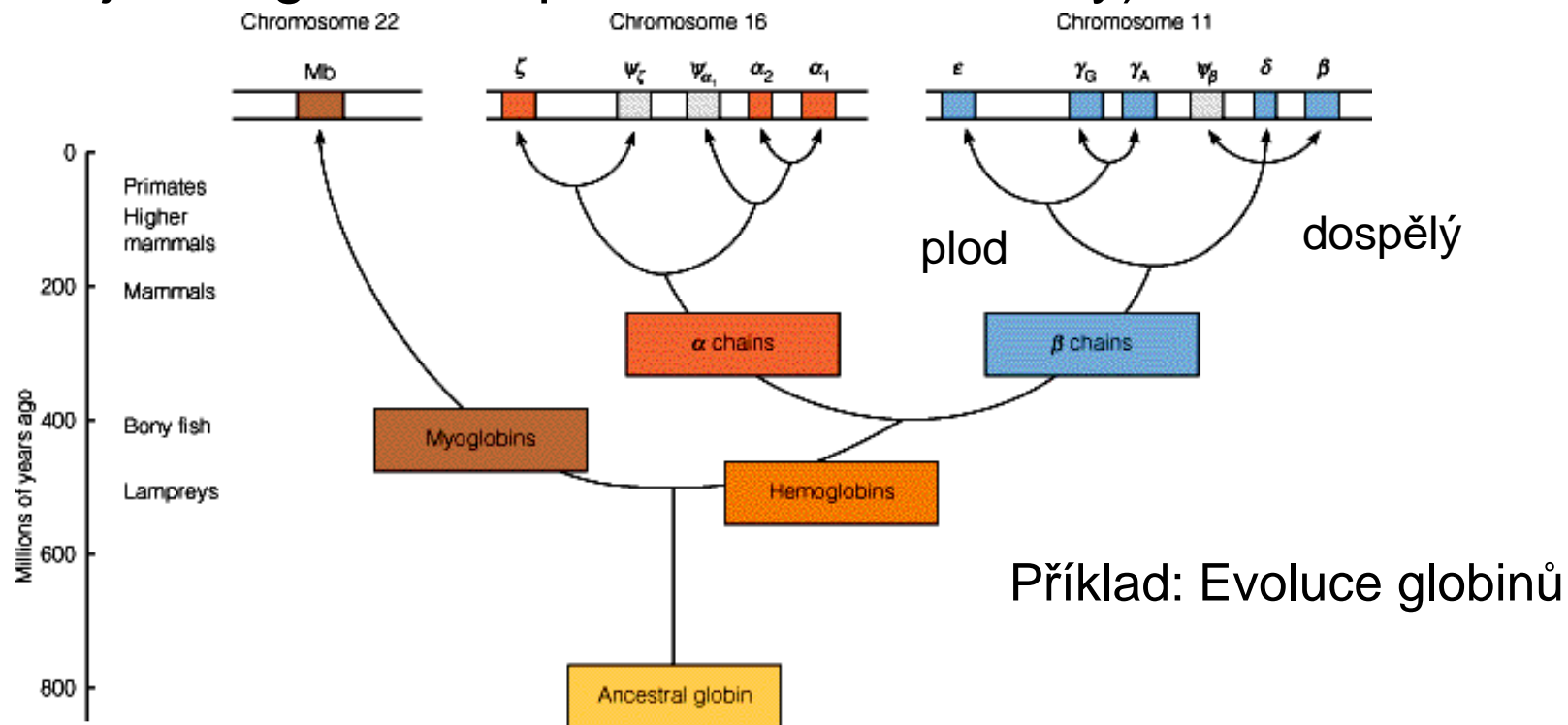
- po **duplikaci** jsou oba proteiny stejné a vytváří stejný homomerní komplex – později jeden protein diverguje a vzniká heteromer

Celogenomová duplikace u kvasinek

cca 30% genomu *S.c.* vzniklo duplikacemi => došlo k **celogenomové duplikaci** (WGD) => a poté došlo k přeskupování a redukci segmentů (i chromosomů) – polyploidie u kyttek ...



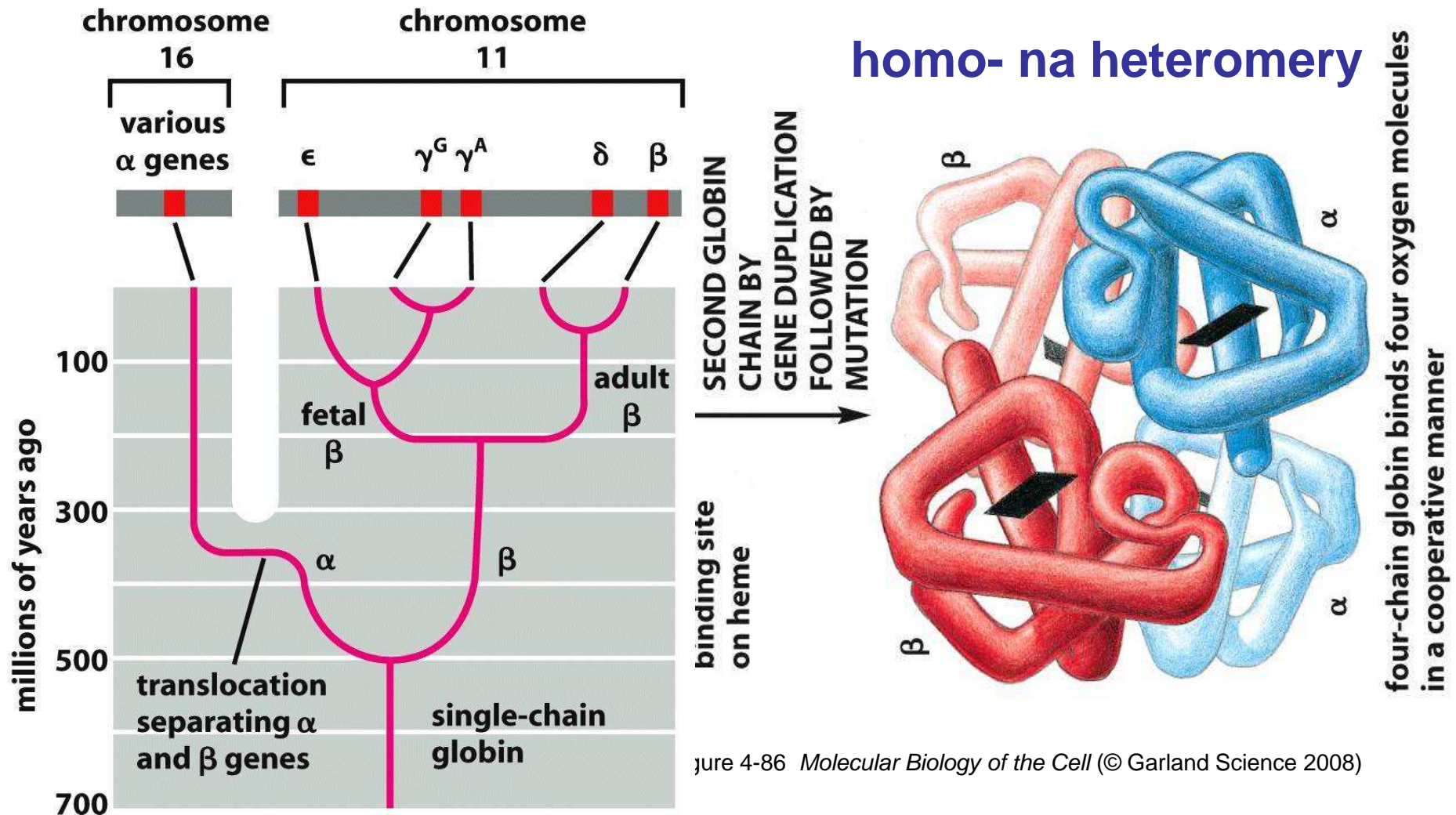
- duplikace – **reverzní transkripční** a integrací DNA (pouze individuální geny nebo pouze domény = exony)
- na počátku stejné sekvence = stejné funkce (pod jinými **promotory** – jiný lokus tzn. jiné „okolí“ zaintegrované „mRNA“ tzn. jiná regulace exprese – „nové“ buňky)



- následují **mutace** – inaktivující tj. pseudogeny (ustaví hladinu proteinu zpět na původní) nebo nefunkční (zatěžují expresní-chaperonový aparát – snaha odstranit)

Evoluce rodiny globinů (duplikace)

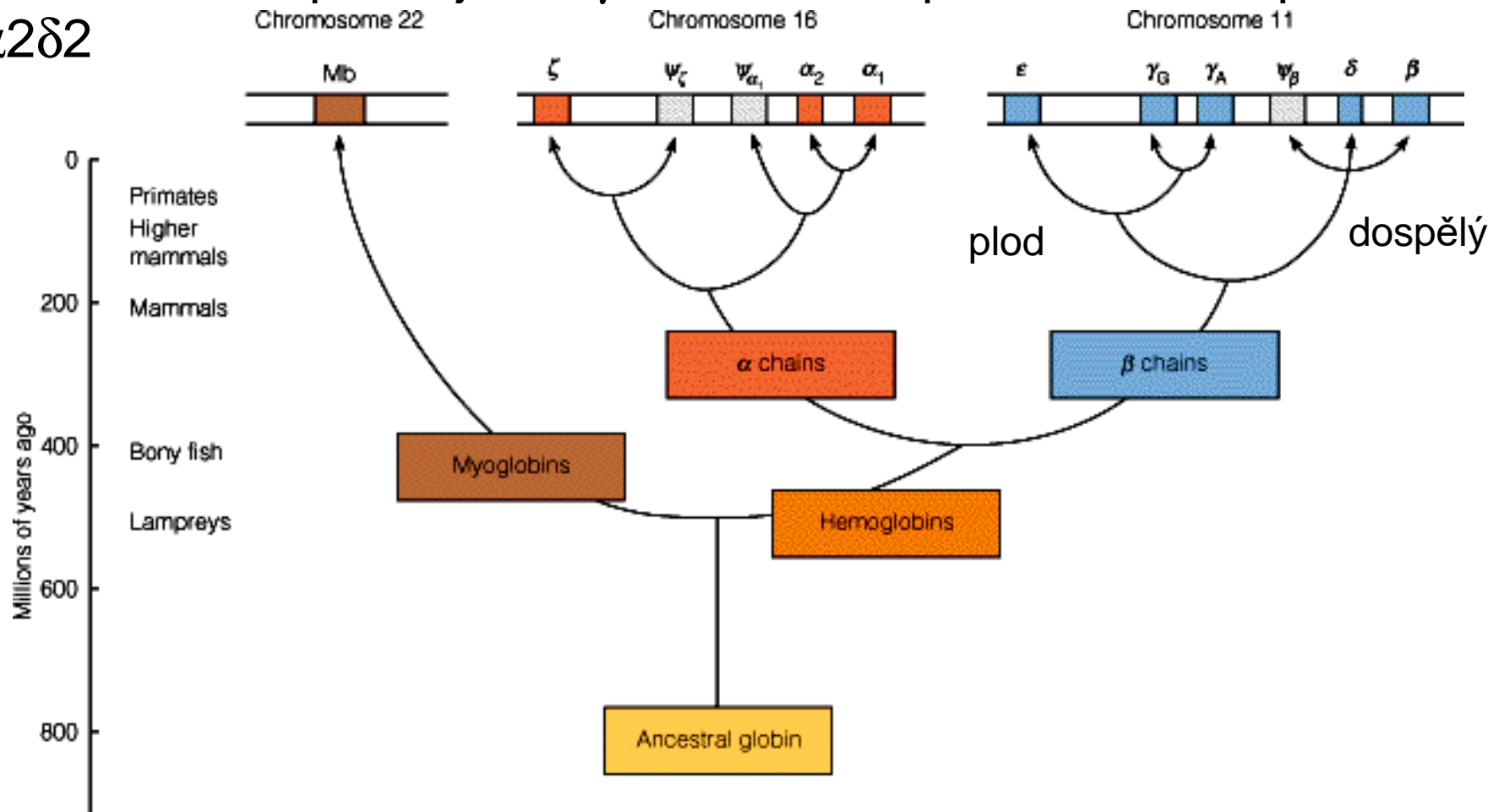
- červy, hmyz a primitivní ryby mají jeden globin (150AMK)



- vyšší obratlovci mají α - a β -globin (tvoří $\alpha_2\beta_2$ komplex – účinnější přenos kyslíku) – vyvinul se u vyšších ryb (500Mya)

Evoluce rodiny globinů (duplikace)

- u savců se dále duplikoval β -globin (**paralog**) - exprimován specificky v embryu – má vyšší afinitu ke kyslíku a napomáhá přenosu kyslíku z krve matky do krve plodu
- dále se duplikoval a specializoval se na časná vývojová stádia $\alpha_2\varepsilon_2$ a pozdější $\alpha_2\gamma_2$ - k další duplikaci došlo u primátů $\alpha_2\delta_2$



- následují **mutace** – modifikující původní protein na novou variantu (podobná funkce)

Příklad: histony - histon fold + odlišné sekvence (odlišně PTM) odlišné funkce (stále v rámci nukleosomů/chromatinu)

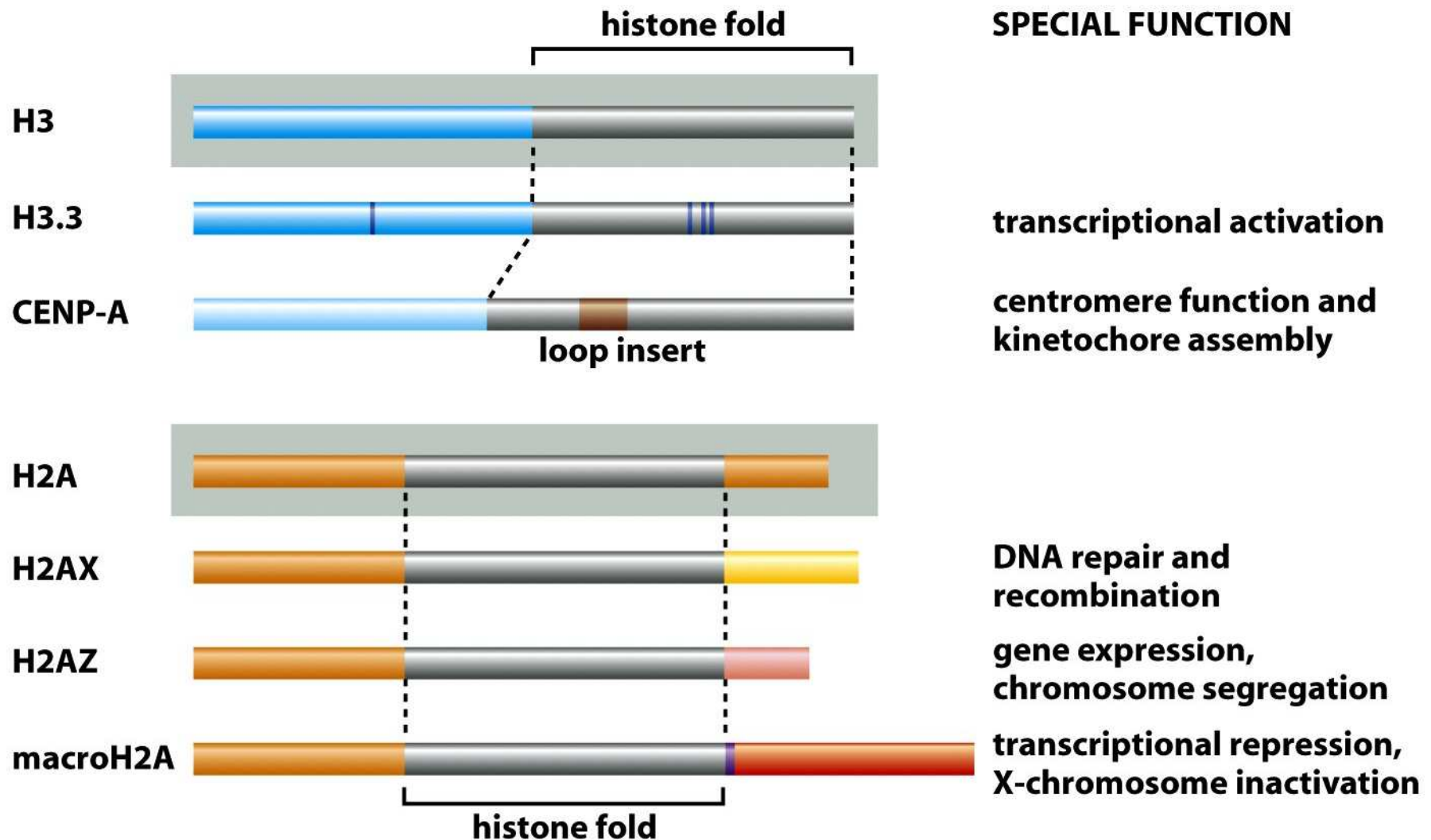


Figure 4-41 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

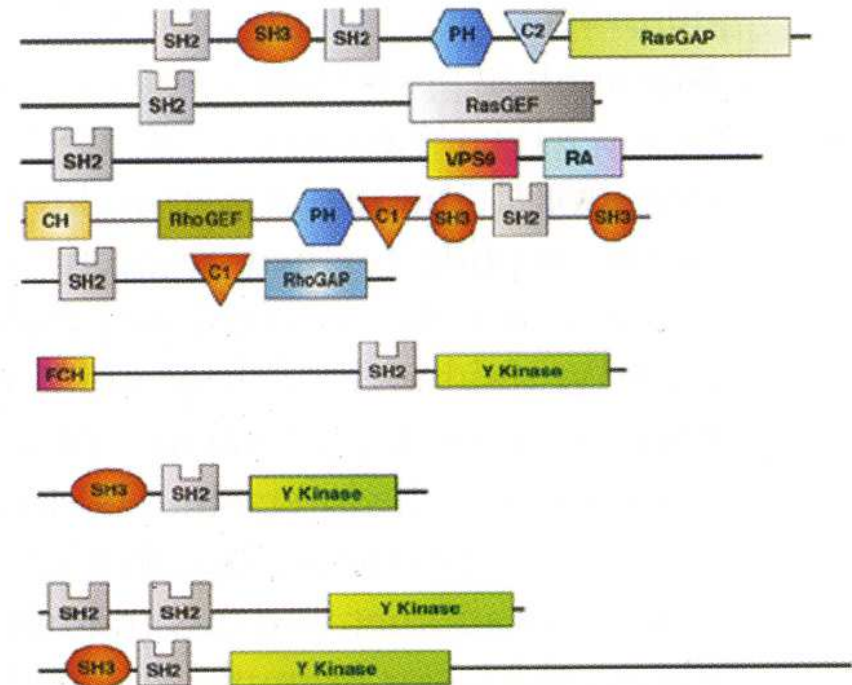
- duplikace celého genu nebo pouze **domény** – většina domén v proteinech obratlovců pochází/existuje v bezobratlých – 7% lidských proteinů/domén je specifických pro obratlovce)
- opakování domén (imunoglobuliny apod.) nebo spojování různých domén
- fúze domén naznačuje funkční příbuznost nebo dokonce přítomnost v komplexu (v organismu s nefúzovanými doménami - ChimeraDB)

Small GTPase
Signaling

Ras-GAP
Nsp1,2,3
Rin1
Vav1,2,3
Chimerin

Kinases

Fps, Fer
Src, Csk, Ctk/Hyl,
Fgr, Fyn, Yes, Hck,
Lck, Lyn, Blk, Frk,
Brk, DJ697K14.1
Zap70, Syk
c-Abl, Arg/Abl2



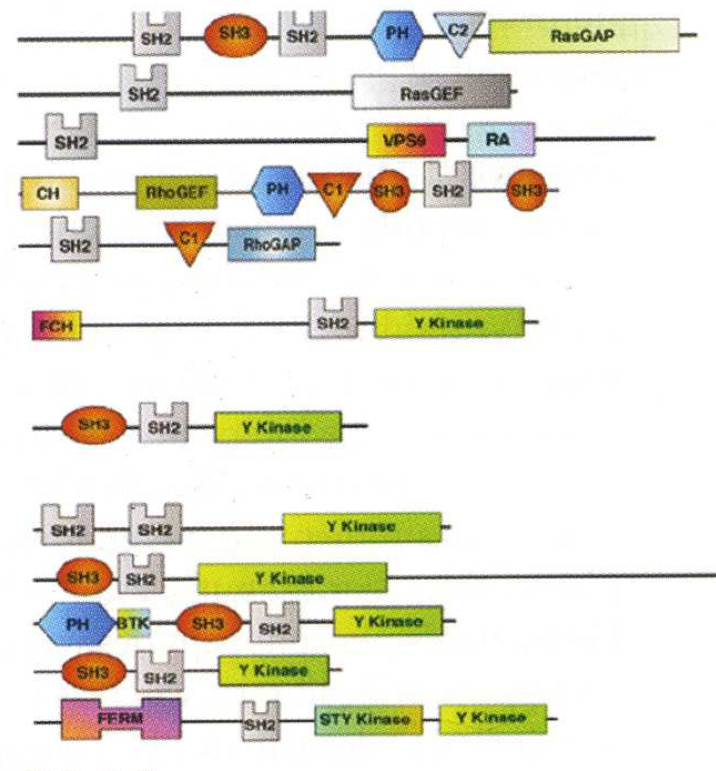
- duplikace **domény** (většinou koreluje s exonem)
- hranice domény jsou většinou kódovány **introny** – bez intronů by bylo obtížnější přesně vybrat pouze „doménovou“ část sekvence
- duplikací a „**shuffling**“ **domén** – poskládají se nové geny/proteiny – vytváří nová funkční/fyzická provázání (interakce => „networks“)

Small GTPase
Signaling

Ras-GAP
Nsp1,2,3
Rin1
Vav1,2,3
Chimerin

Kinases

Fps, Fer
Src, Csk, Ctk/Hyl,
Fgr, Fyn, Yes, Hck,
Lck, Lyn, BIK, Frk,
Brk, DJ697K14.1
Zap70, Syk
c-Abl, Arg/Abl2
Btk, Tec, Itk, Bmx
Txk
Jak1,2,3, Tyk2



- duplikací a „shuffling“ domén – poskládají se nové geny/proteiny
- nová doména (protein) není pod tlakem „funkčním“, ale zůstává pod tlakem „strukturním“ a „interakčním“

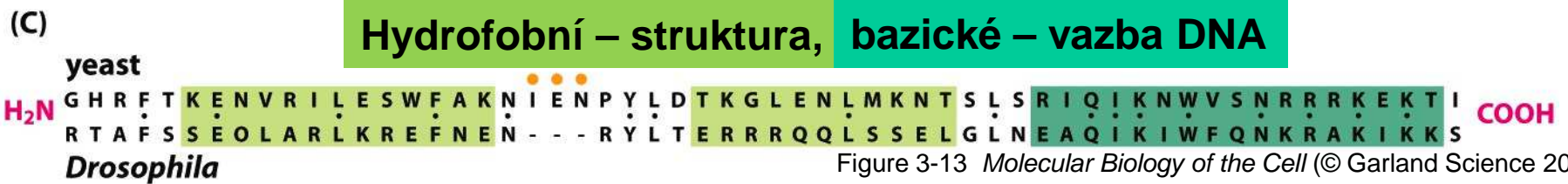
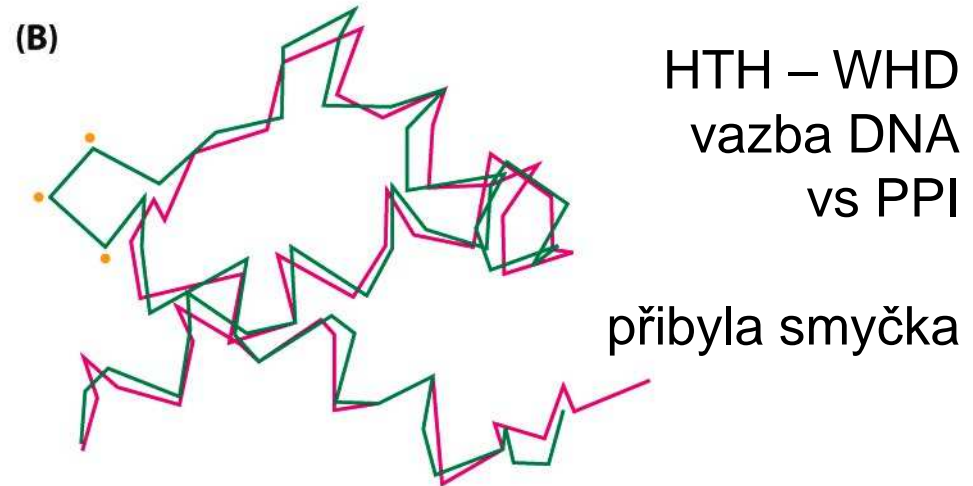
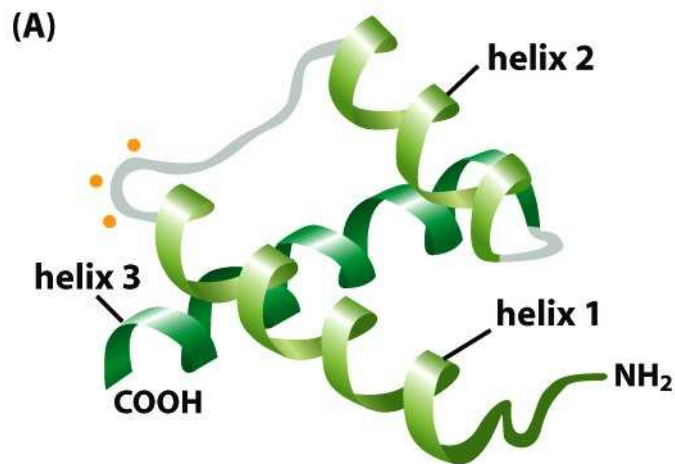
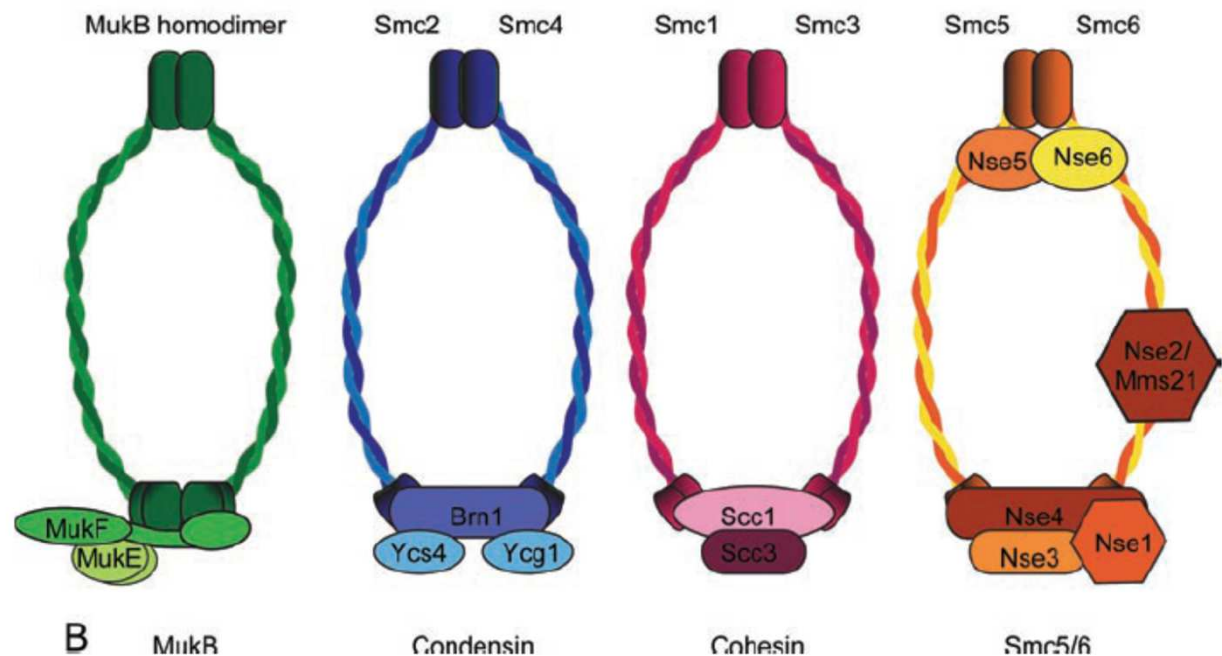


Figure 3-13 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

- zůstává hydrofobní profil (hydrofobní AMK jsou uvnitř a drží strukturu domény) – mění se povrch (můžete hledat „paralogy“ i podle 3D struktury, sekvence <25% ident. – funkce ? odlišná)

- „staré“ proteiny jsou konzervovány „strukturně“ a „funkčně“ – funkčně znamená většinou „konzervaci“ interakcí (většinou PPI)
- nová doména (protein) je pod tlakem „strukturním“ („misfold“ = degradace) – je ale i pod tlakem „povrchovým“ tj. tendencí povrchů interagovat (zvláště hydrofobní povrchy – hydrofobní povrch je rozeznáván chaperony a bez interakčního partnera degradován)
- z toho plyne tendence duplikovaných proteinů vytvářet podobné komplexy (podobné interakce)

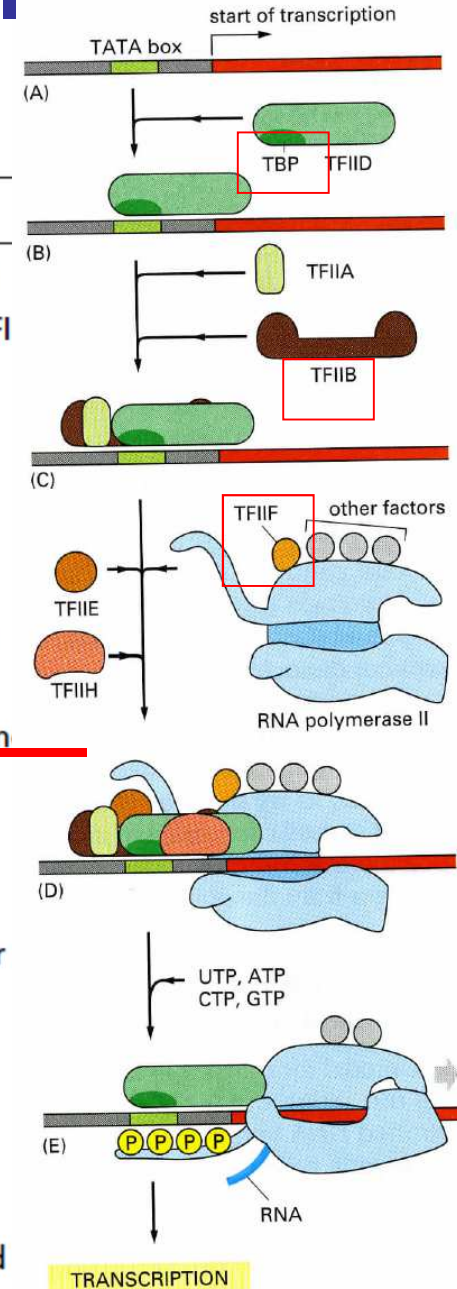


RNA pol II a podobnosti s pol I a III

TABLE 1 Components of the human general transcription machinery

Factor	Protein composition	Function
TFIIA	p35 (α), p19 (β), and p12 (γ)	Antirepressor; stabilizes TBP-TATA complex; coactivator
TFIIB	p33	Start site selection; stabilize TBP-TATA complex; pol II/TFI
TFIID	TBP + TAFs (TAF1-TAF14)	Core promoter-binding factor Coactivator Protein kinase Ubiquitin-activating/conjugating activity Histone acetyltransferase
TFIIE	p56 (α) and p34 (β)	Recruits TFIIH Facilitates formation of an initiation-competent pol II Involved in promoter clearance
TFIIF	RAP30 and RAP74	<u>Binds pol II and facilitates pol II recruitment to the prom</u> Recruits TFIIE and TFIIH Functions with TFIIB and pol II in start site selection Facilitates pol II promoter escape Enhances the efficiency of pol II elongation
TFIIH	P89/XPB, p80/XPD, p62, p52, p44, p40/CDK7, p38/Cyclin H, p34, p32/MAT1, and p8/TFB5	ATPase activity for transcription initiation and promoter Helicase activity for promoter opening Transcription-coupled nucleotide excision repair Kinase activity for phosphorylating pol II CTD E3 ubiquitin ligase activity
pol II	RPB1-RPB12	<u>Transcription initiation, elongation, termination</u> Recruitment of mRNA capping enzymes Transcription-coupled recruitment of splicing and 3' end CTD phosphorylation, glycosylation, and ubiquitination

TBP-všechny 3 pol



RNA polymerasy

Pol I = 12 + A49/34.5

Pol II = 12 podjednotek (Tabulka)

Pol III = 12 + C37/53 + C82/34/31

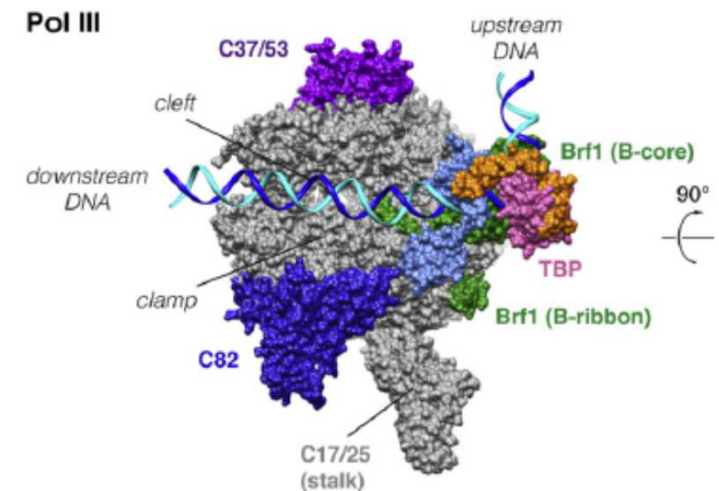
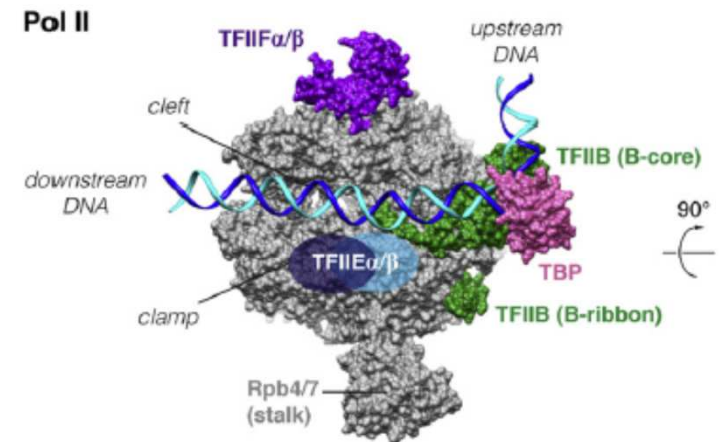
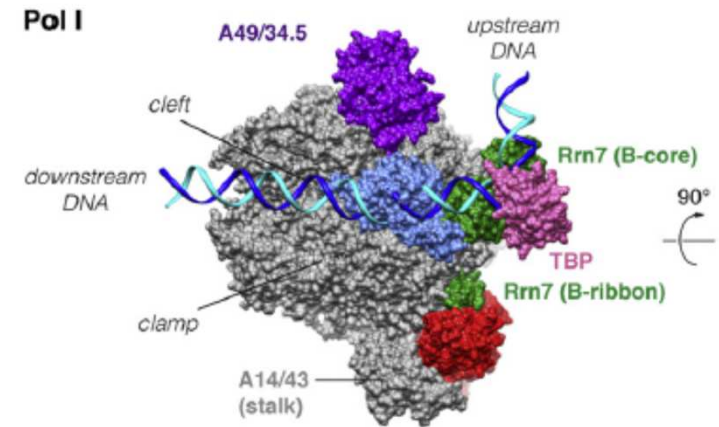
TBP
TFIIB

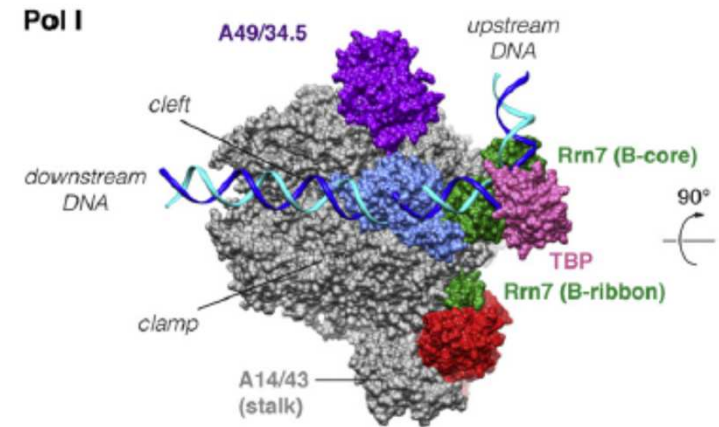
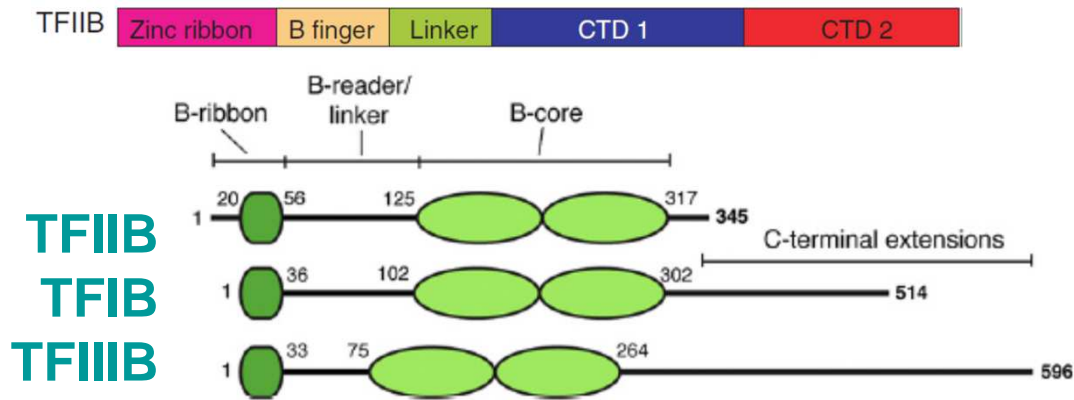
Table 1. Yeast RNA Polymerase Subunits and Initiation Factor Homologies

Pol II	Pol I	Pol III	Function
Polymerase Core			
Rpb1	A190	C160	Active center
Rpb2	A135	C128	Active center
Rpb3	AC40	AC40	
Rpb11	AC19	AC19	
Rpb9	A12.2 N ribbon	C11 N ribbon	RNA cleavage
TFIIS C-ribbon ^a	A12.2 C ribbon	C11 C ribbon	RNA cleavage
Rpb5	Rpb5	Rpb5	
Rpb6	Rpb6	Rpb6	
Rpb8	Rpb8	Rpb8	
Rpb10	Rpb10	Rpb10	
Rpb12	Rpb12	Rpb12	
Polymerase Stalk			
Rpb4	A14	C17	Initiation complex formation
Rpb7	A43	C25	Initiation complex formation

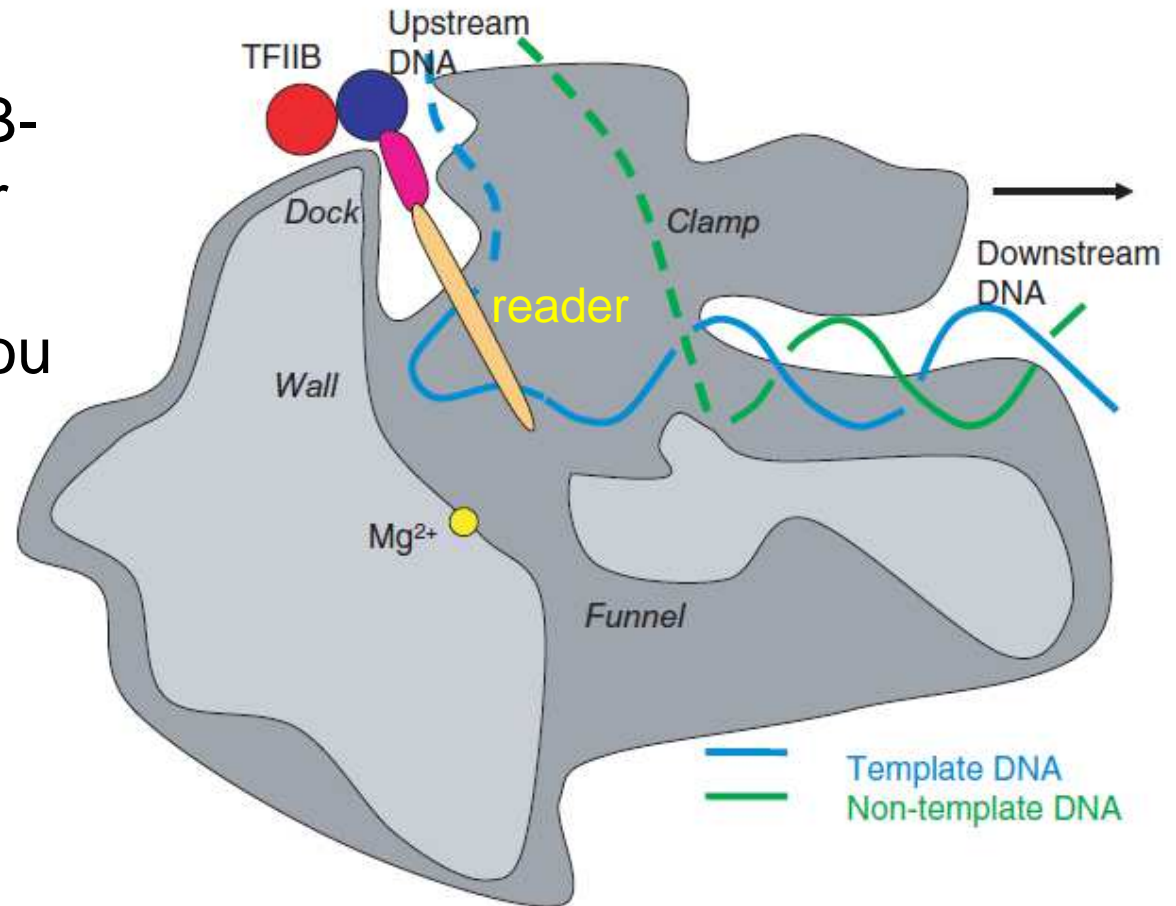
Vannini & Cramer, Mol Cell, 2012

Hoffmann et al, Nature, 2015

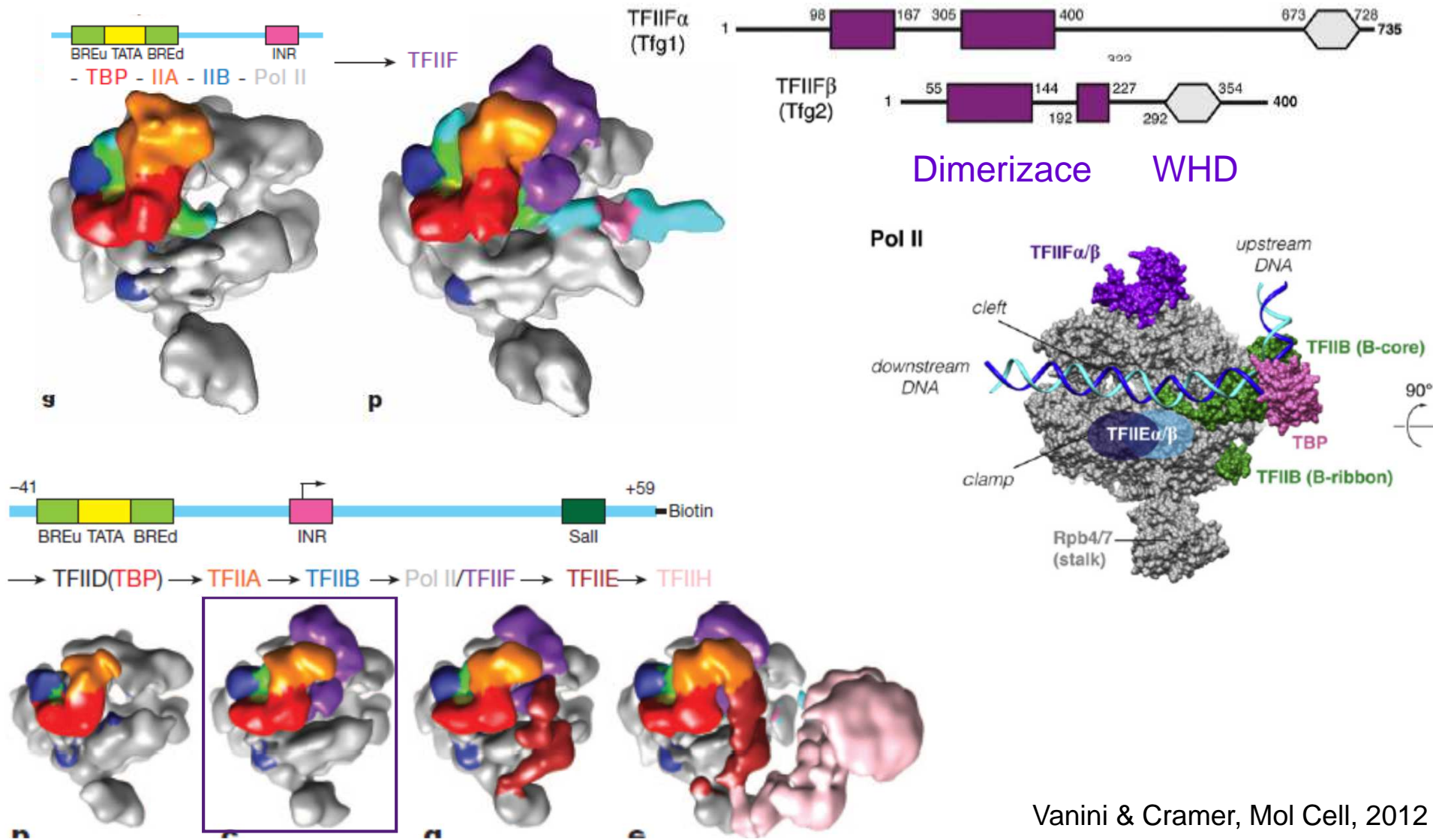




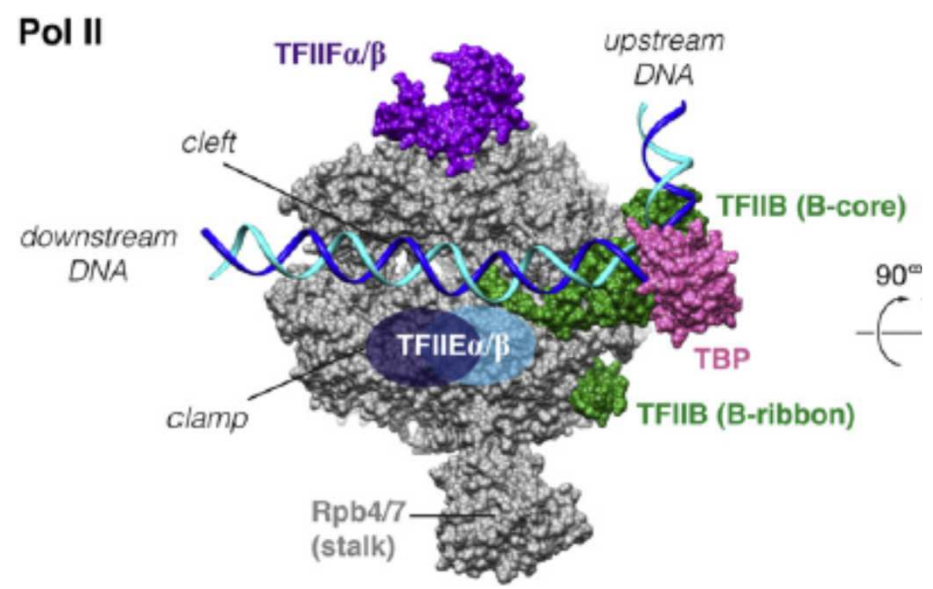
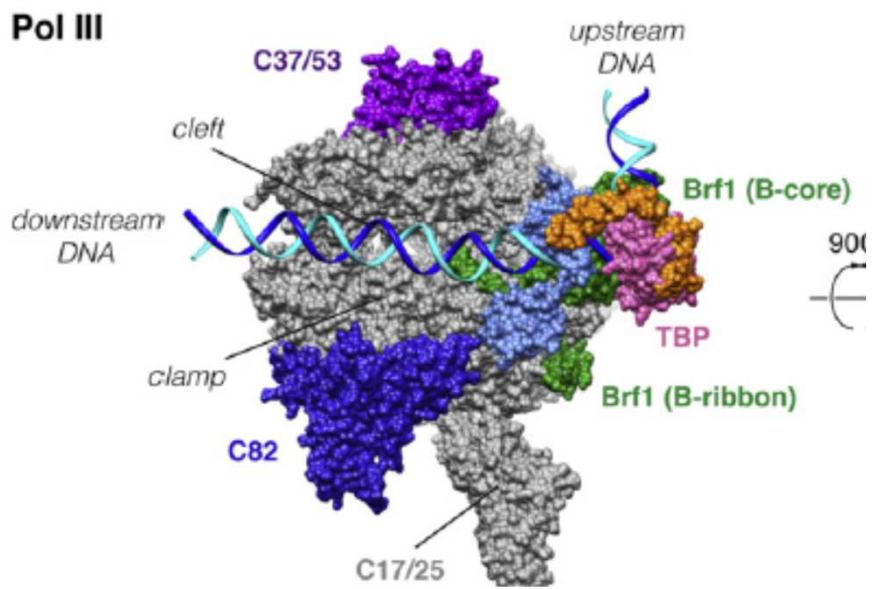
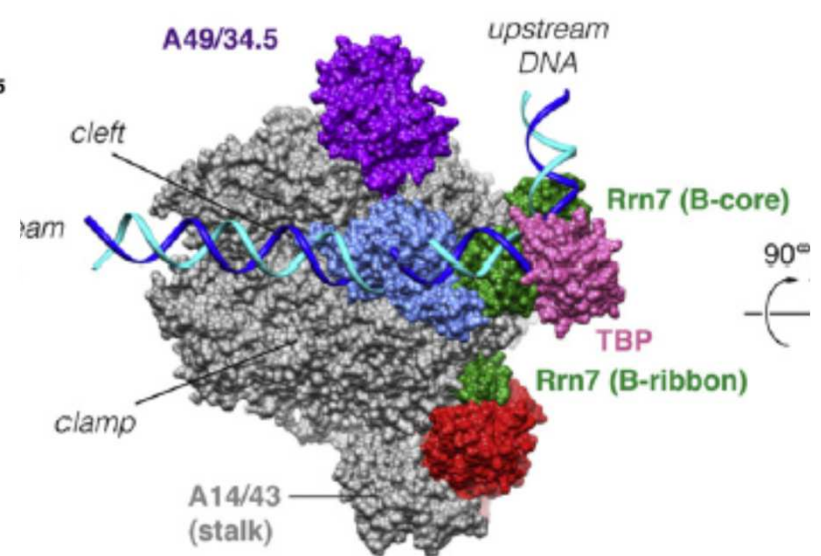
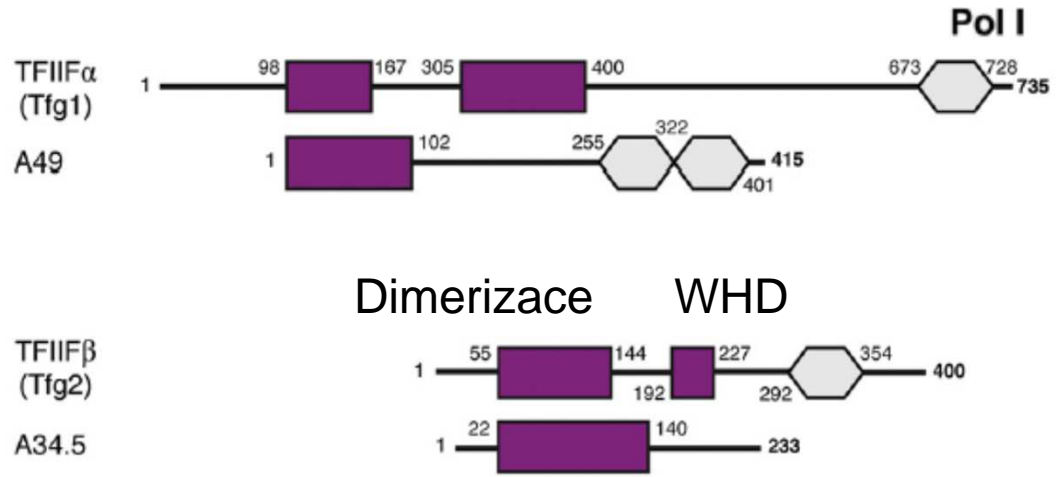
- Zn-ribbon s dock, B-finger/reader RNA tunel, B-core/CTD1 s wall, B-linker s CC clamp
- podobné natolik, že vážou TBP + ribbon a linker mohou být zaměněny pro kteroukoli polymerásu – zatímco reader je specifický pro určitou polymerásu

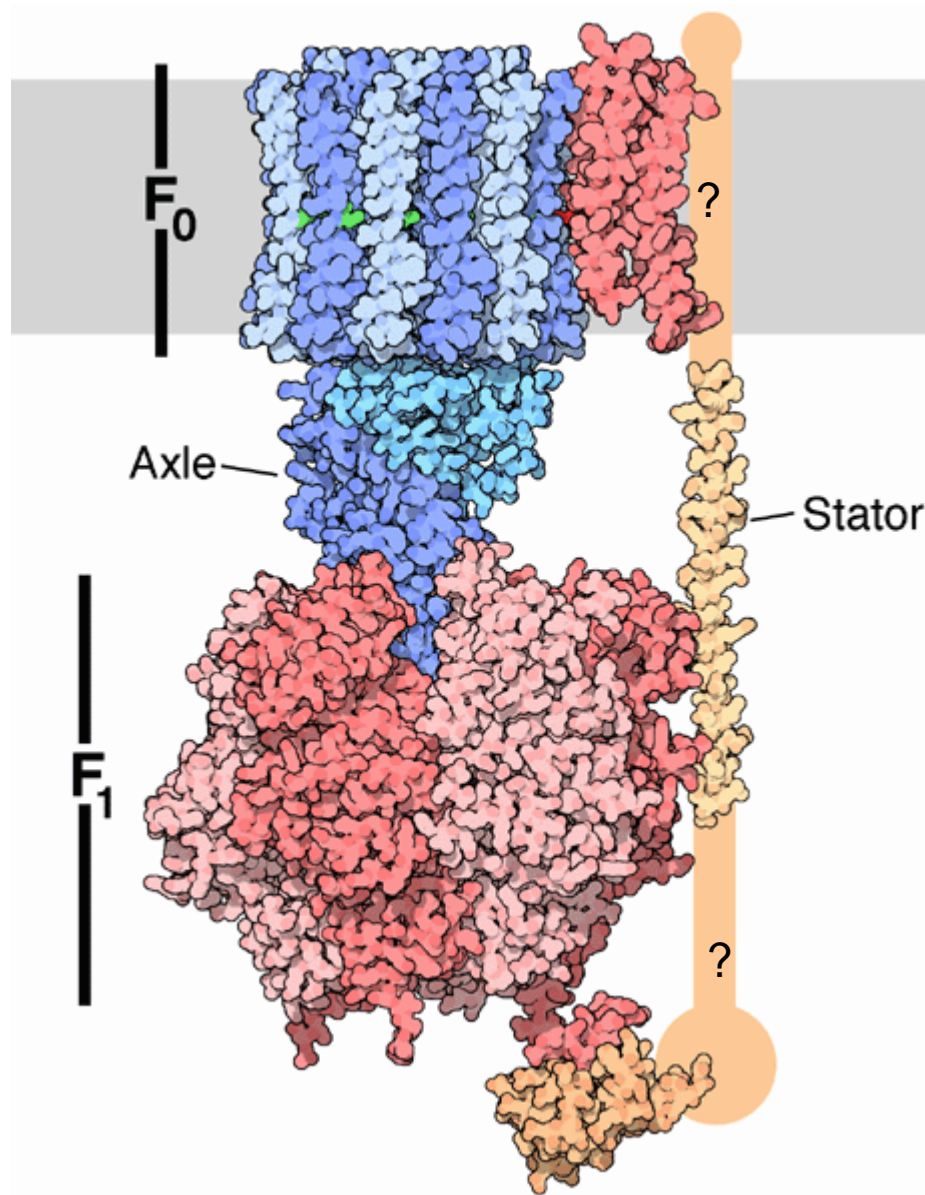


- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft RNA pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- dimerizace a WHD (váže přímo DNA: BRE_{downstream})

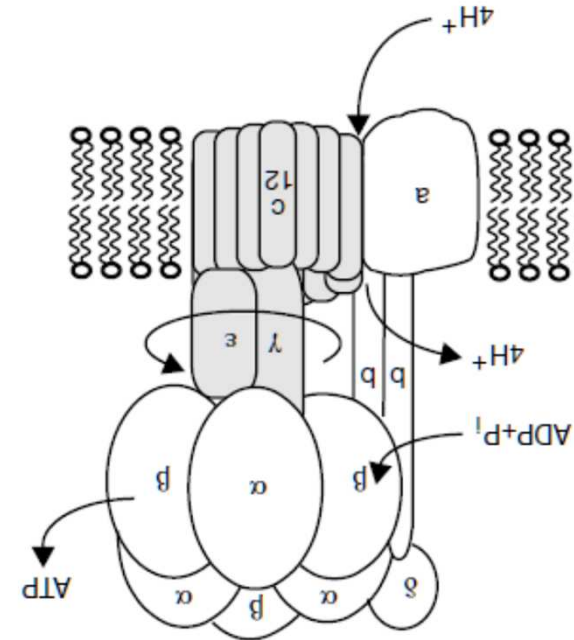


- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft RNA pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- dimerizace a WHD (váže přímo DNA: BRE_{downstream})



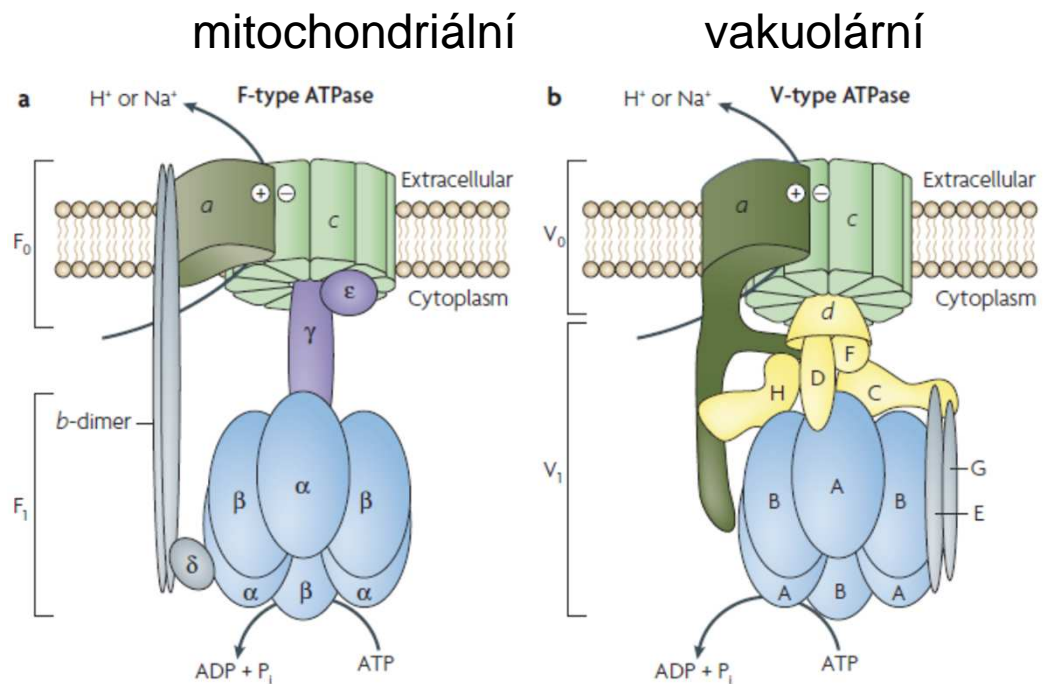


Molekula měsíce v prosinci 2005
 Rastogi & Girvin, Nature, 1999



F₀ je protonový motor (uložen v membráně) poháněný tokem vodíkových iontů (z dýchacího řetězce) přes membránu. Tento rotor je spojen s druhým F₁ chemickým motorem poháněným ATP (nebo vyrábějícím ATP). Oba motory jsou spojeny statorem.

„ATP syntasa je jedním z divů molekulárního světa“. Je to dvojitý molekulární motor – „nanostroj“ – vyrábějící většinu ATP (energie).



podobné proteinové komplexy – tzv. AAA ATPasy jsou součástí jiných komplexů (v jiných procesech):

- v opravě poškozené DNA: Rad51, RecA
- „denaturace“ DNA: helikázy
- sekreční systém (T3SS injectisom)
- pohon bičků ...

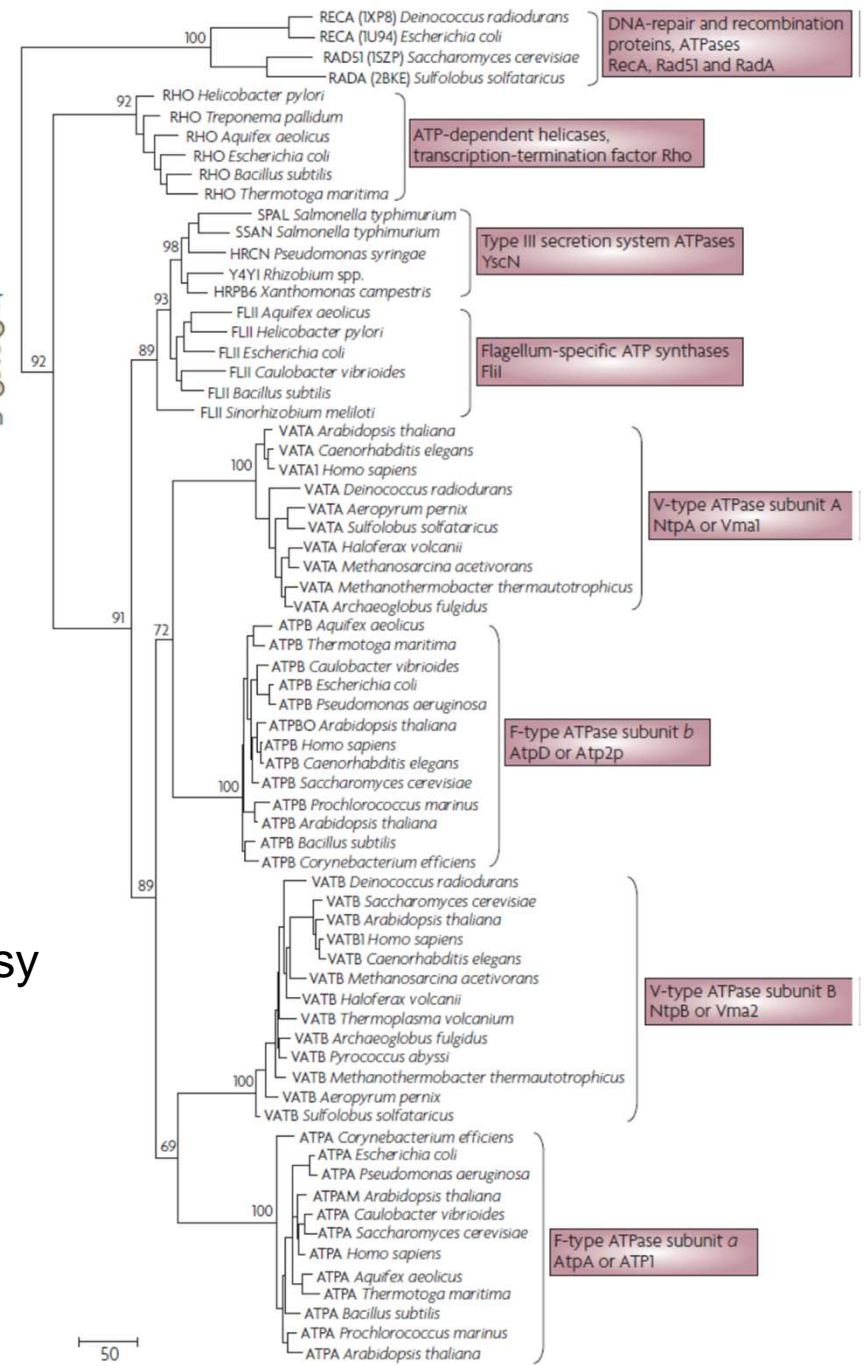
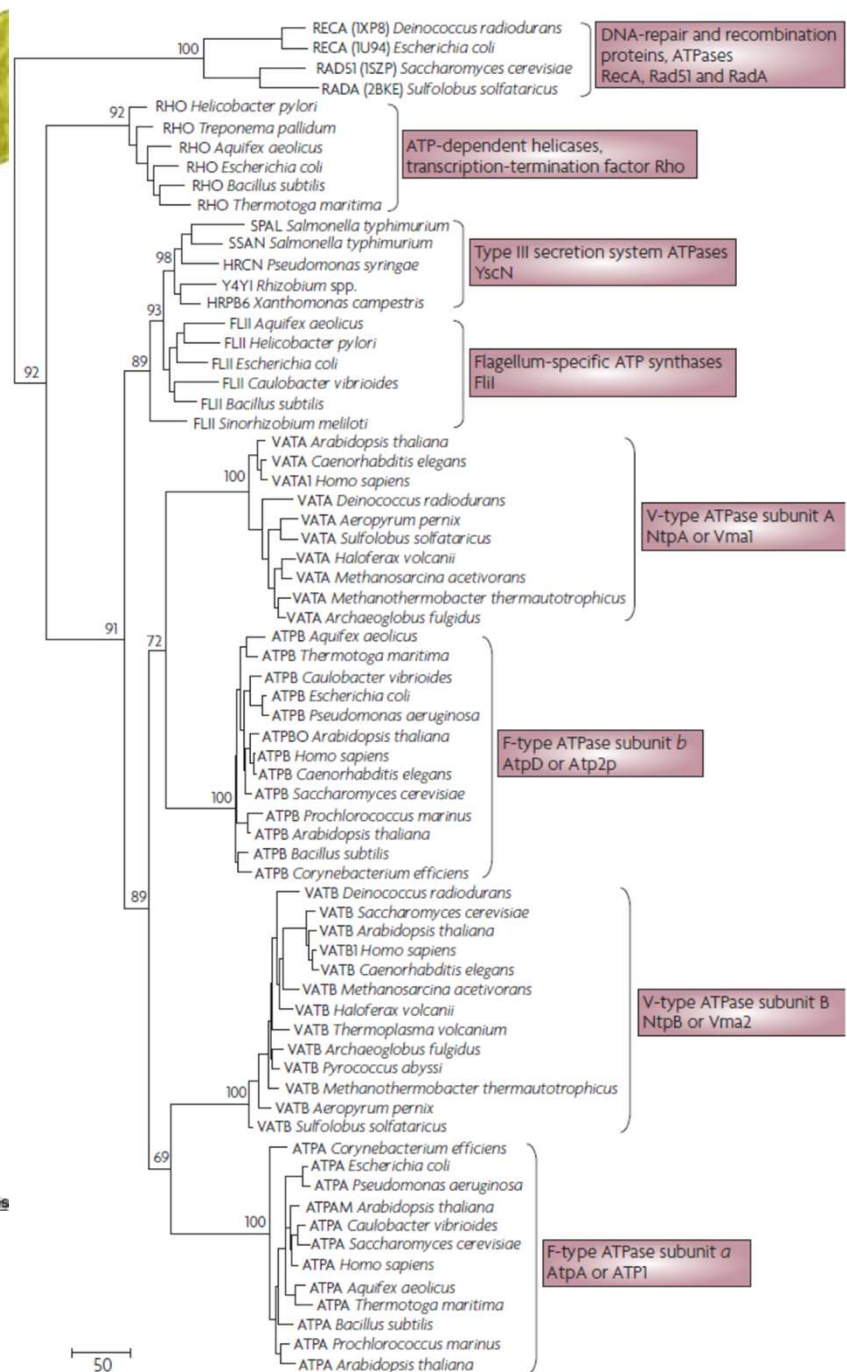
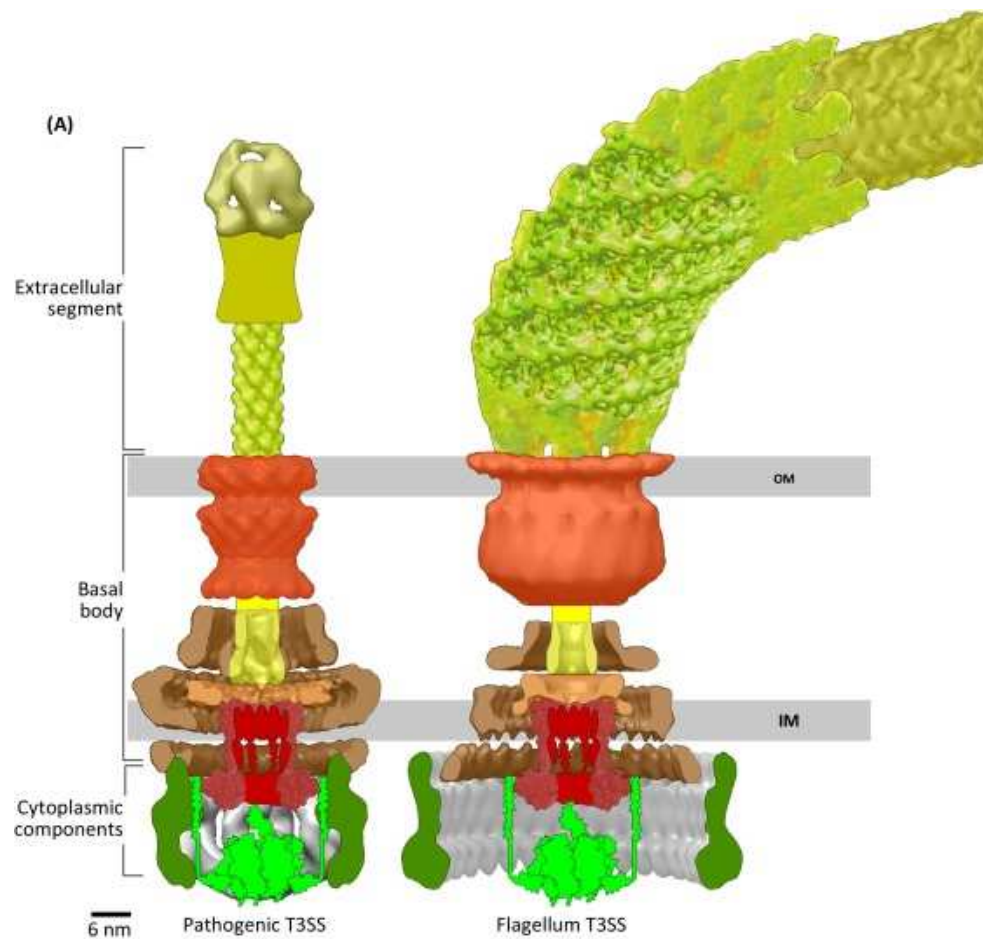


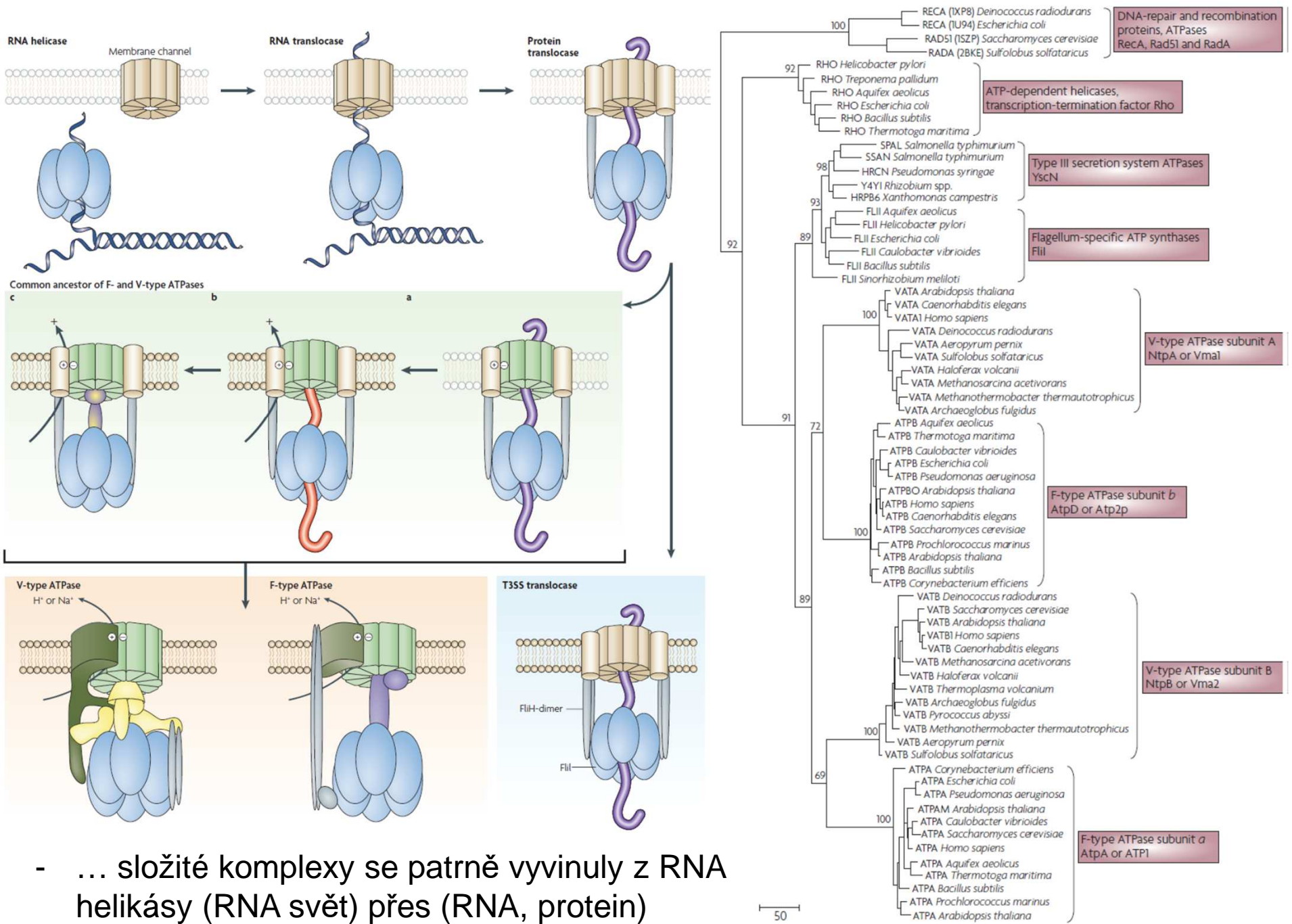
Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from GenBank (for the RecA family, four



- ATPasové pumpy ...
- sekreční systém (T3SS injectisom)
- pohon bičičků ...

Mulkiđjanian et al, NRM, 2007

Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from GenBank (for the RecA family, four



- ... složité komplexy se patrně vyvinuly z RNA helikázy (RNA svět) přes (RNA, protein) translokázy, ATPasové pumpy ...

Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from GenBank (for the RecA family, four

Souhrn

Průběh evoluce je ovlivněn mnoha faktory

- Selekcční tlaky udržující funkční a stabilní (dříve vytvořené) komplexy
- Mutace modifikující proteiny/komplexy (drift) jsou eliminovány u esenciálních (originálních) proteinů
- Zatímco duplikované mohou podléhat mutacím „volněji“
- Duplikace a neofunkcionalizace (mutace) je hnací silou vzniku nových komplexů – funkcí – buněk - organismů