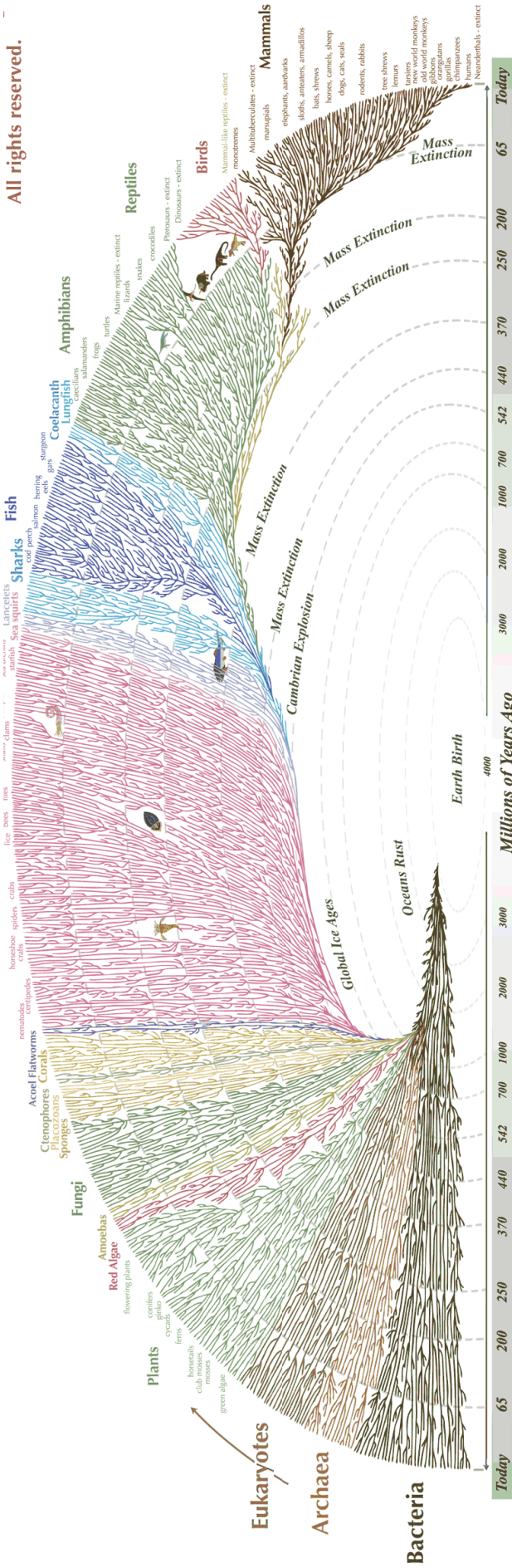


- Úvod - Analýza proteinu
 - Domény
 - fold-struktura (ss, 3D – homolog v PDB?)
 - Interakce (IntAct, BioGRID)
 - evoluce
 - Komplexy
 - Funkce
 - Lokalizace
 - Konkrétní nová data – článek
 - V PyMolu připravit 3D movie (např. TinyTake – Mango Apps)
- Ujasnit si souvislosti, rozšířit si znalosti, aplikovat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

PhD studenti anglicky

All rights reserved.



All the major and many of the minor living branches of life are shown on this diagram, but only a few of those that have gone extinct are shown. Example: Dinosaurs - extinct

In The Beginning God Created . . .

| | | | | | | |
|--|--|--|---|--|--|---|
| <p>God seperated the waters above from the waters below</p> | <p>God created the land creatures</p> | <p>God created the birds of the air and the fish of the sea</p> | <p>He made the sun and the moon to be SIGNS for Sacred Times</p> | <p>God gathered the Sea together and caused dry land to appear. He caused seed bearing vegetation to appear too</p> | <p>God seperated the waters above from the waters below</p> | <p>God rested on the seventh day</p> |
| <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> | <p>There was evening and morning</p> |
| <p>Day 1</p> | <p>Day 2</p> | <p>Day 3</p> | <p>Day 4</p> | <p>Day 5</p> | <p>Day 6</p> | <p>Day 7</p> |

© 2008 Leonard Hoiberg. All rights reserved. eugenius.com

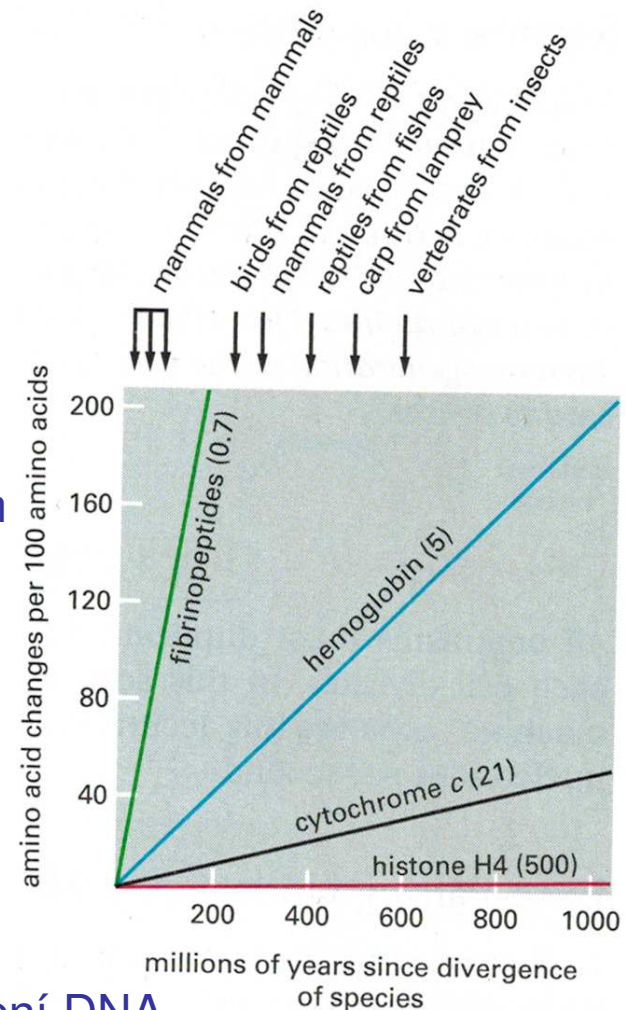
- srovnání genomů/proteomů ukazuje (podobně jako morfologie) na změnu („evoluci“) proteinů v čase
- divergence druhů koreluje do značné míry s konzervací/divergencí DNA/proteinových sekvencí

Prof. Lehmann

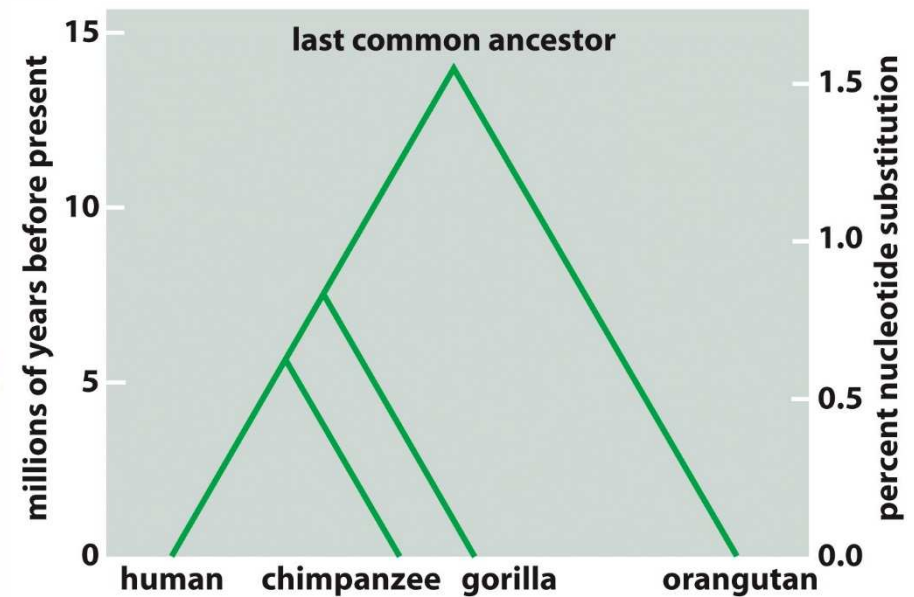
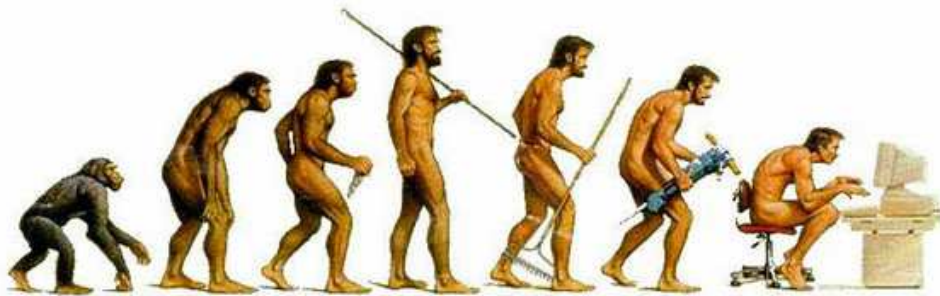
- DNA je replikována s relativně vysokou přesností (1 změna na 10^9 nukleotidů – cca 4000 _{TNR12} písmen na A4 stranu – 8000 _{TNR12} na list – 500 listů/balík – cca 250 balíků)
- poškození DNA dalšími vlivy ...

Dr. Šebesta – 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



- velmi příbuzné sekvence DNA/proteinů mezi člověkem a šimpanzem (nejbližší člověku) díky „krátké“ době, po kterou mohlo k mutacím docházet – jsou zachovány i nukleotidy ve 3. pozici synonymních kodonů (kodony specifikující stejnou AMK) – není dáno selekcí, ale krátkou dobou



- přesný fylogenetický vztah (strom) mezi člověkem a primáty bylo možné určit až dle sekvenací (ne podle morfologických znaků apod.)

- pro vzdálenější organismy (člověk a myš) je sekvence odlišnější (DNA je odlišnější než proteiny – pro 1AMK více kodonů; regulační sekvence ... intron je odlišnější než kódující exon – intr. nekóduje protein) zde již působil selekční tlak

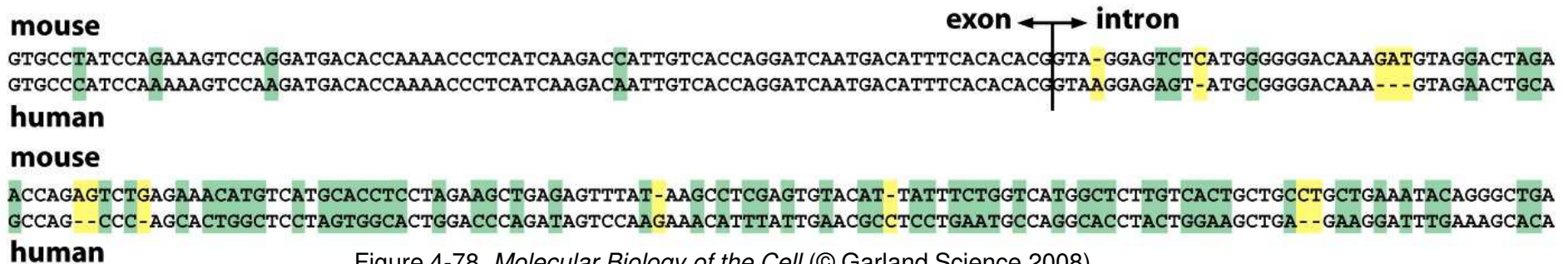


Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- odlišnost druhů je tedy dána spíše rozdílnou regulací (nekódujícími sekvencemi) 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)

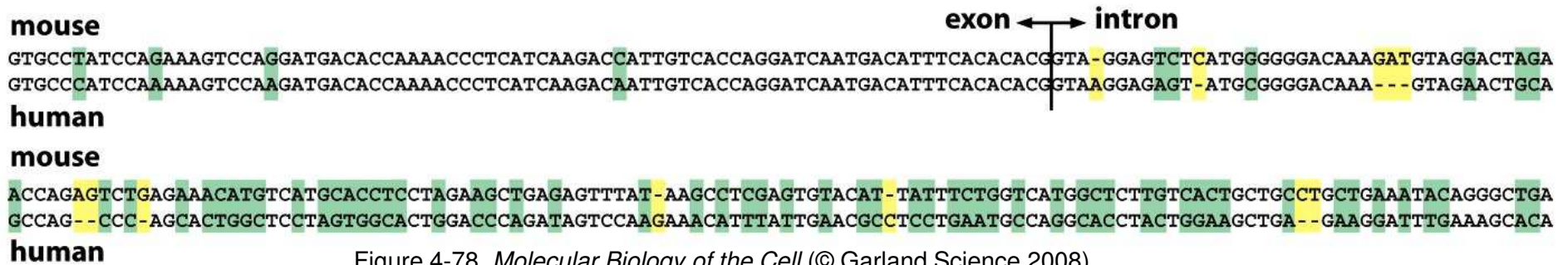


Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

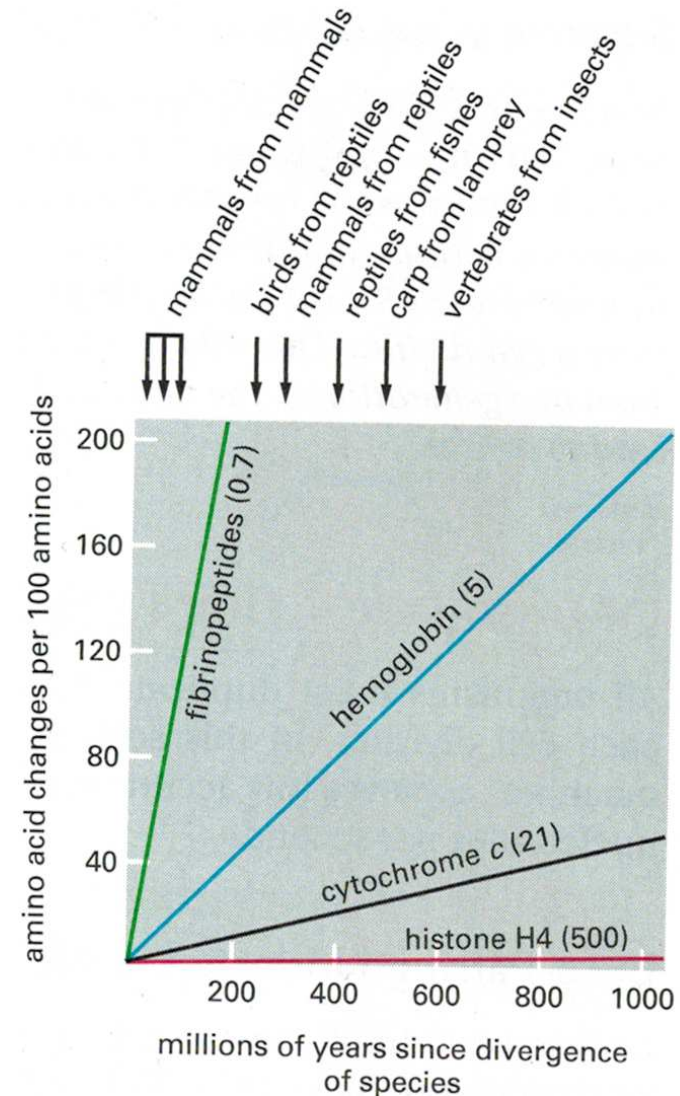
- čím důležitější funkce proteinu pro organismus (od nejzákladnějších po specializované) tím více je konzervovaná sekvence proteinu respektive jeho domén (velká podobnost i mezi odlišnými organismy – např. některé lidské proteiny funkčně zastoupily zmutované kvasinkové proteiny = Y2H cytotrap)
- konzervace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

- nejpomaleji se mění proteiny, které jsou zapojeny do nejvíce interakcí s dalšími proteiny (limitována, jak struktura, tak povrch)

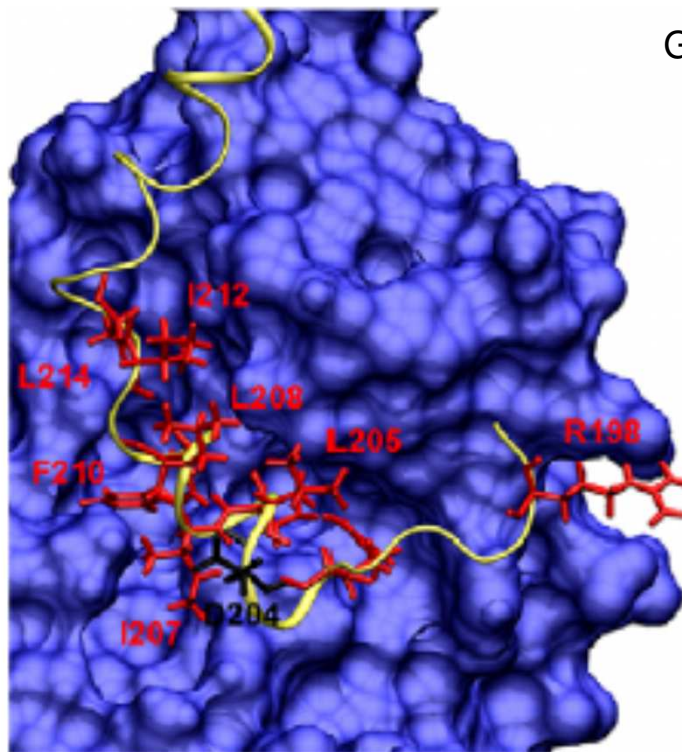
- není příliš prostoru pro změny - např. ubikvitin, DNA polymerázy, histony, ribosomální proteiny, ... („drží“ základní systém)

- 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)

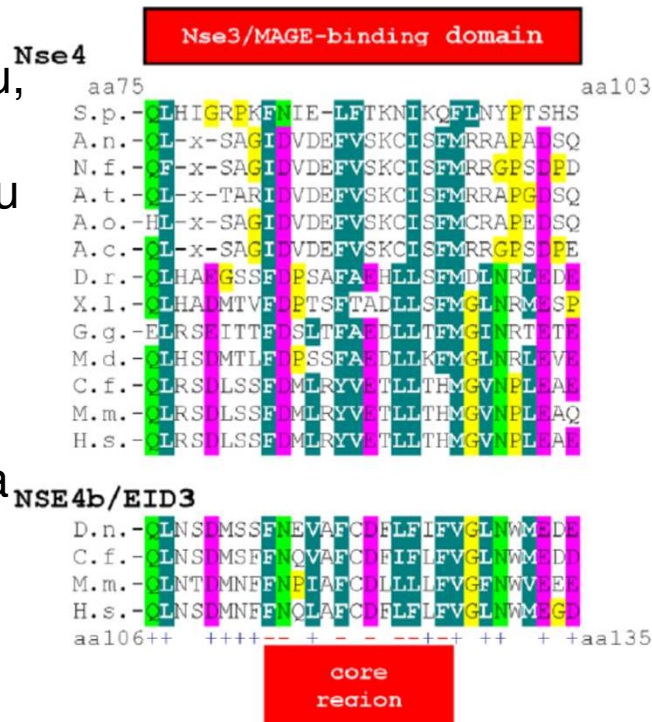


Guerineau et al, PLoS One, 2012



- selekční tlak na strukturu, na povrch = interakce
- mutace, které neruší jsou **neutrální** (protein je částečně modifikován)
- modifikace je kompenzována (i později) mutací partnera
- změní se v čase a v budoucnu může přinést novou vlastnost

NSE4 subfamilies



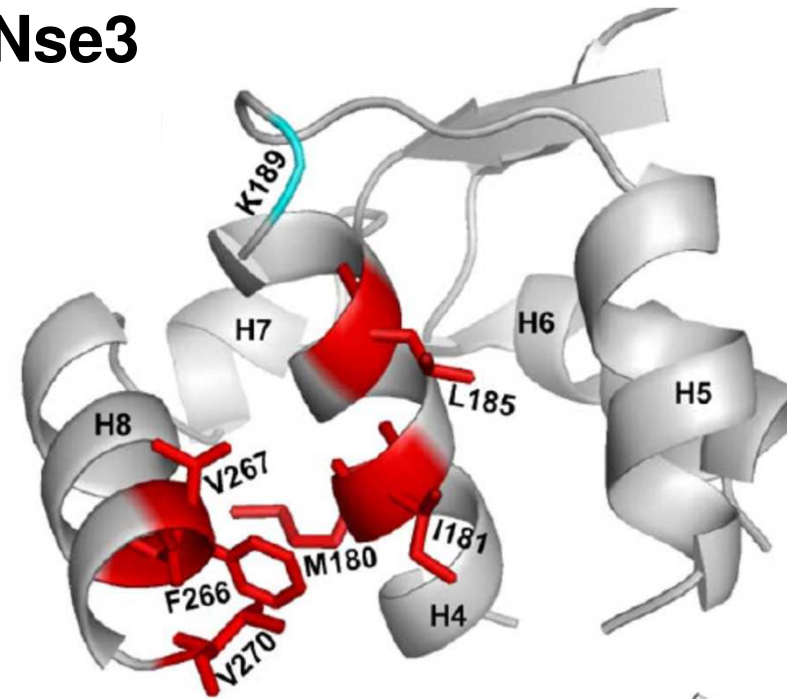
KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|---|------|------|------|---|------|---|------|-----|---|-----|---|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|-----|---|---|---|---|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|-----|---|---|-----|-----|---|-----|-----|-----|---|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|-----|-----|---|
| S. p. | GFLMTVIAFIIV | SHC | SVG | HSE | IQS | FLQ | ELLT | --- | E | ETTP | LHLD | -ITR | S | SLLV | R | OGYL | --- | 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 | T | LQ | 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. | ALYTTVIAFIII | SGG | I | I | P | E | G | K | I | D | R | A | L | R | R | M | N | A | --- | D | Q | T | P | L | G | T | --- | K | D | K | 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 | S | L | P | E | Q | 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 | S | L | P | E | Q | K | L | E | R | Y | L | Q | R | T | N | A | --- | 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 | | |
| Ac1. | GLYSFIIAVITL | NGG | S | L | P | E | Q | 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 | S | L | A | E | Q | 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 | O | 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. g. | 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 | 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 | --- | 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 | --- | | |
| B | 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 | --- | 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 | --- | |
| R | 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 | --- | 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 | A | --- | | |
| A | 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 | --- | K | K | L | I | T | E | E | F | V | K | O | K | Y | L | E | 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 | S | --- | | |
| T. | 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 | --- | 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 | A | --- | |
| O | 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 | --- | 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 | A | --- | |
| B | 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 | --- | 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 | A | --- | |
| A | 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 | L | I | F | G | D | --- | K | K | L | I | T | E | E | F | V | R | O | R | Y | L | E | Y | R | R | I | P | H | T | D | --- | E | V | D | Y | E | L | Q | W | --- | G | P | R | T | N | L | E | --- | T | S | K | M | K | V | L | K | F | V | A | --- | | |

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

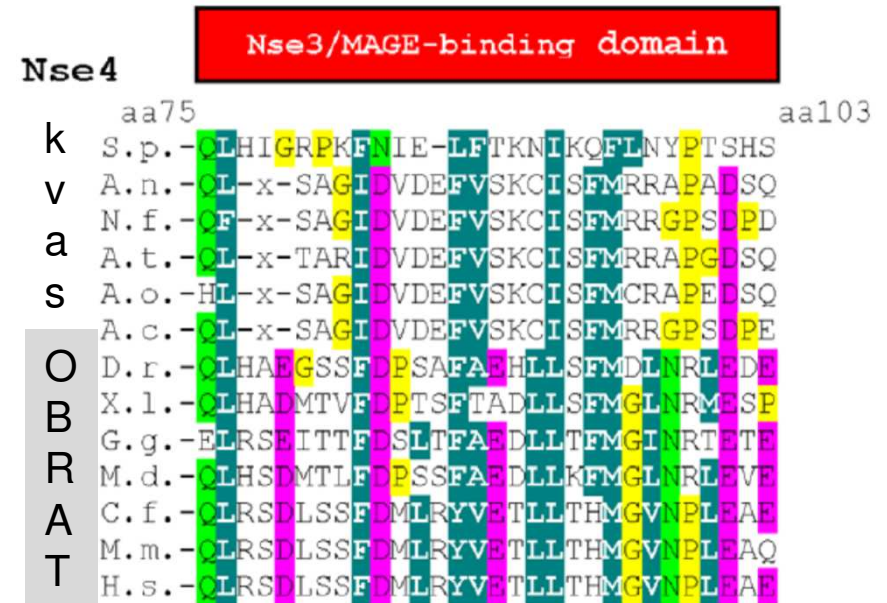
...RYBY, OBOŽIVELNÍCI, PTÁCI ...

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------|--------|----------|-------|-------|---------|--------|--------|--------|-------|------|--------|------|-------|------|------|-----|-----|----|----|----|----|---|
| N.v. | GLLMLVLSVILM | SxxxxN | YTSLWHFL | KKMGL | EPKKE | HEVFGDP | --EKLI | ACEFTR | GGYLER | RRKVT | GGGE | --EATE | EYSW | --GSR | SNKE | ---- | LT | KR | KV | LE | FV | SV | |
| D.r. | GLLFVILSVIFM | KG | GTIK | ENL | VWNTL | KKLR | LD | PGE | KHDEF | GDV | --KK | VVTE | EFVR | QKYL | EY | GKIP | HTE | --E | V | E | F | R | W |
| T.n. | GLLFVILSVIFM | KG | GAVR | DS | VWNTL | KKLR | VQP | GER | HEP | EGEV | --K | R | V | M | E | F | V | R | Q | R | Y | L | E |
| X.t. | GLLMIVLSLIFM | KG | N | TAK | ES | AV | W | E | M | L | R | R | L | R | I | E | P | A | E | K | H | S | D |
| G.g. | GLLIVILSFIFM | KG | NSAK | DS | AV | W | E | F | L | R | R | L | R | V | H | P | G | E | K | H | E | V | F |
| O.a. | GLLMIVLSLIFM | KG | S | A | T | N | ES | W | E | T | L | R | K | L | R | V | D | T | R | E | R | E | V |
| M.d. | GLLMIVLSLIFM | KG | NSAR | ES | L | V | W | D | V | L | K | L | R | V | D | P | E | K | R | H | K | T | F |
| E.e. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| S | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| Q.p. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| M.cr | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| A | GLLMIVLGLIFM | KG | N | S | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | H | P | T | K | K | H |
| B.t. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| E.v. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| V.c. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| C.f. | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| C | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| H | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| M | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| M | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| M | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| P | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| P | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| H | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |
| H | GLLMIVLGLIFM | KG | N | T | I | K | E | T | E | W | D | F | L | R | L | G | V | P | T | K | K | H | L |

Slabší konzervace ve vzdálených organismech

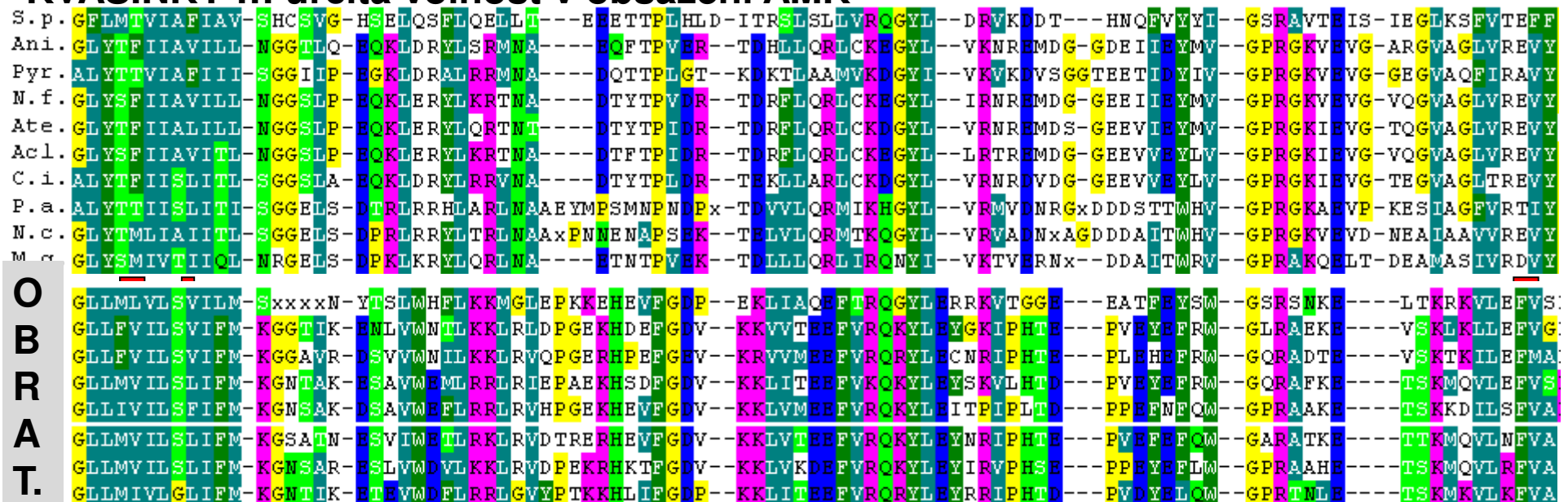
- „mutace“/změny těchto AMK na odlišné (polární Thr nebo posun motivu o 1AMK na konci)
- interakční partner se ovšem také „mění“
- „mutace“/změny zřejmě koevolvuji

NSE4 subfamilies



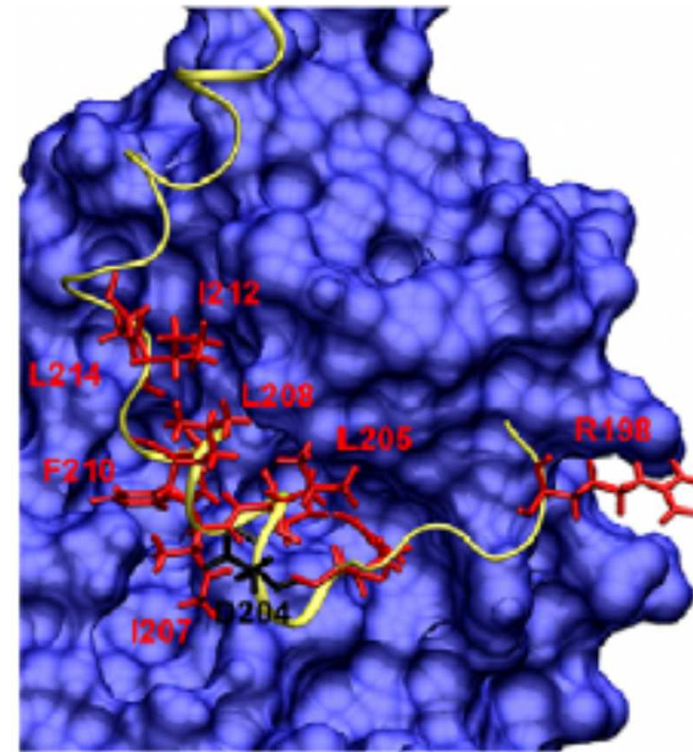
Guerineau et al, PLoS One, 2012

KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK



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 ...**

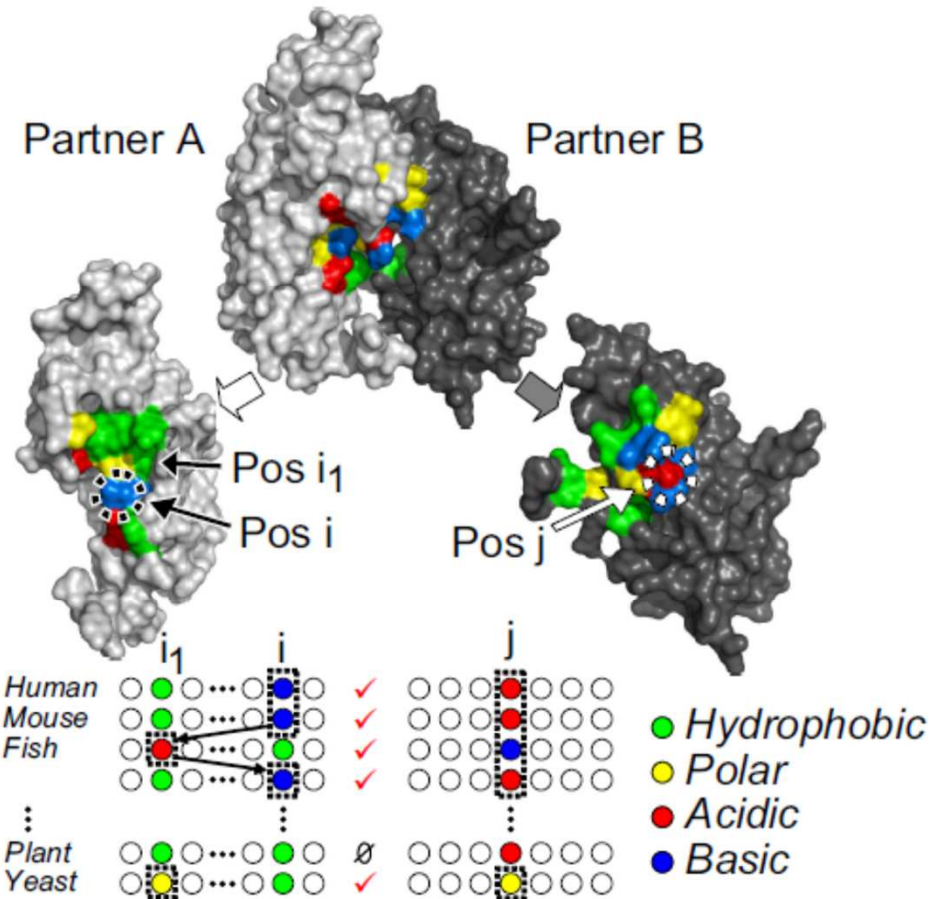


Guerineau et al, PLoS One, 2012

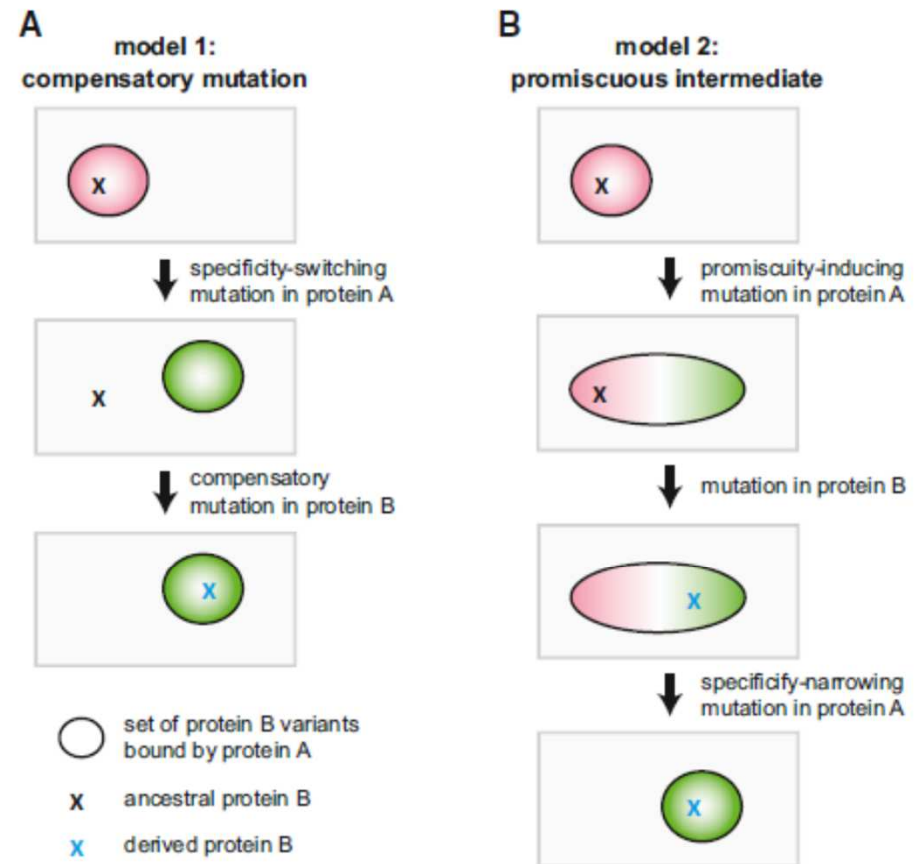
KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|---|------|------|------|---|-----|-------|----|---|-----|-----|-----|---|-----|---|-----|---|---|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|-----|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|-----|-----|-----|---|-----|-----|---|---|---|---|-----|---|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 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 | T | L | Q | 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. | ALYTTVIAFIII | SGG | I | I | P | - | E | G | K | I | D | R | A | L | R | M | N | A | --- | D | Q | 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 | S | L | P | - | E | Q | 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 | S | L | P | - | E | Q | K | L | E | R | Y | L | Q | R | T | N | A | --- | 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 | S | L | P | - | E | Q | 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 | S | L | A | - | E | Q | 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 | W | 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 | 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 | 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-evolují



Madaoui et al, PNAS, 2007

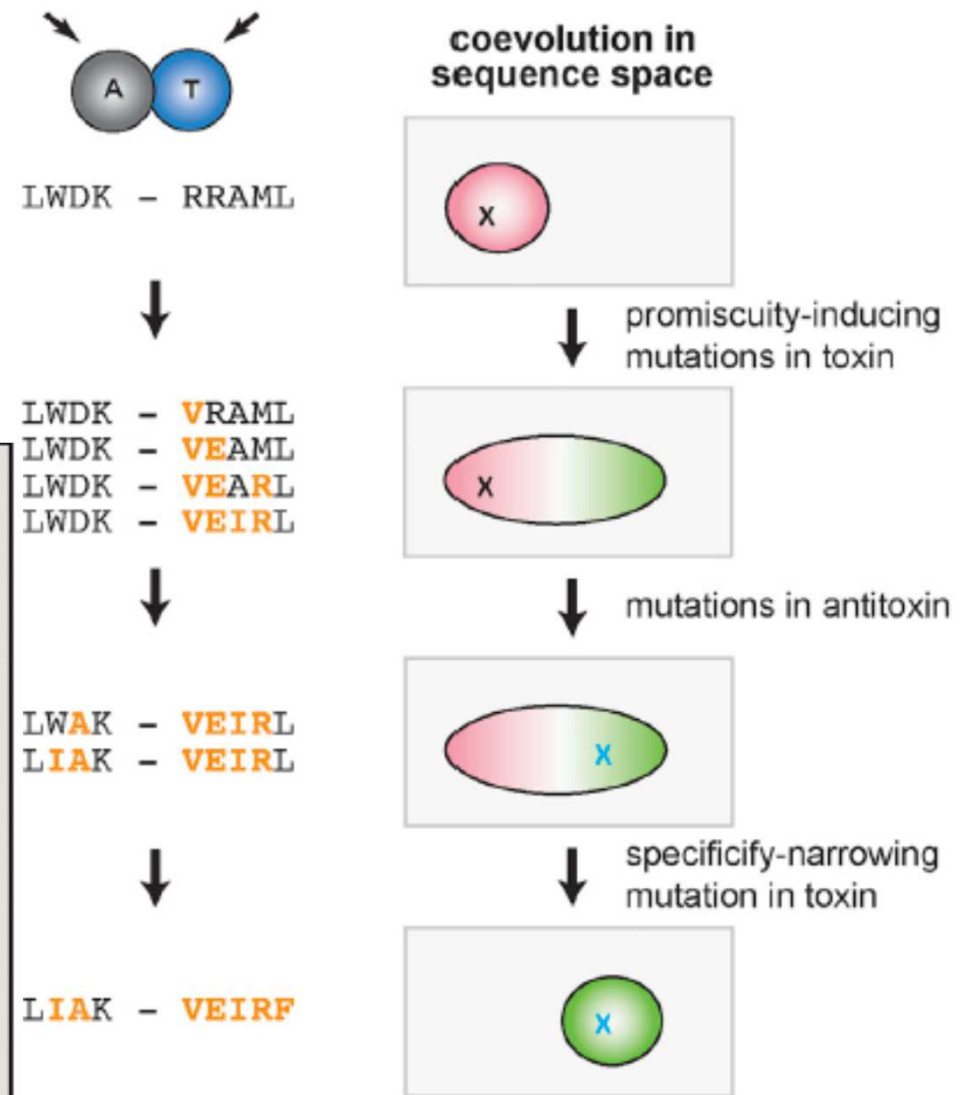
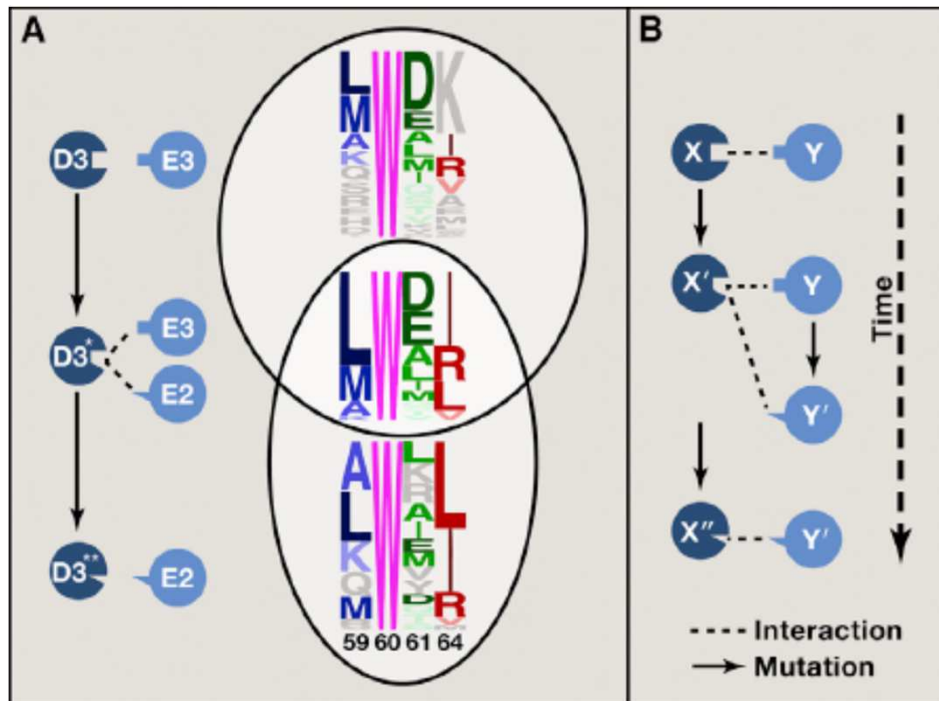


Aakre et al, Cell, 2016

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

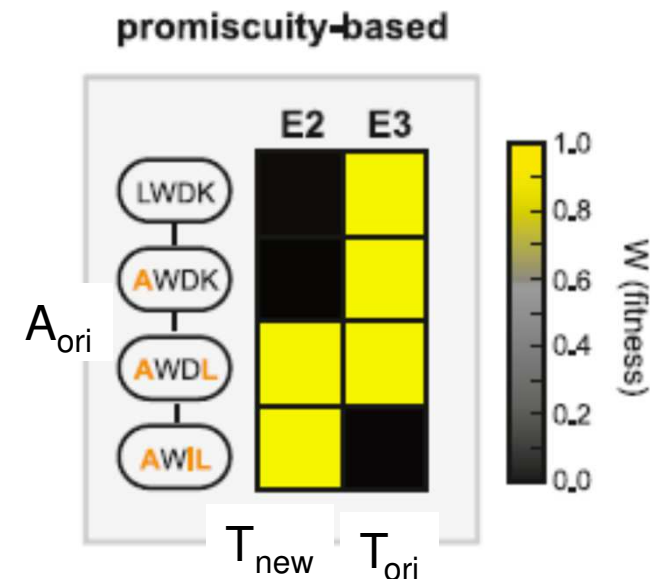
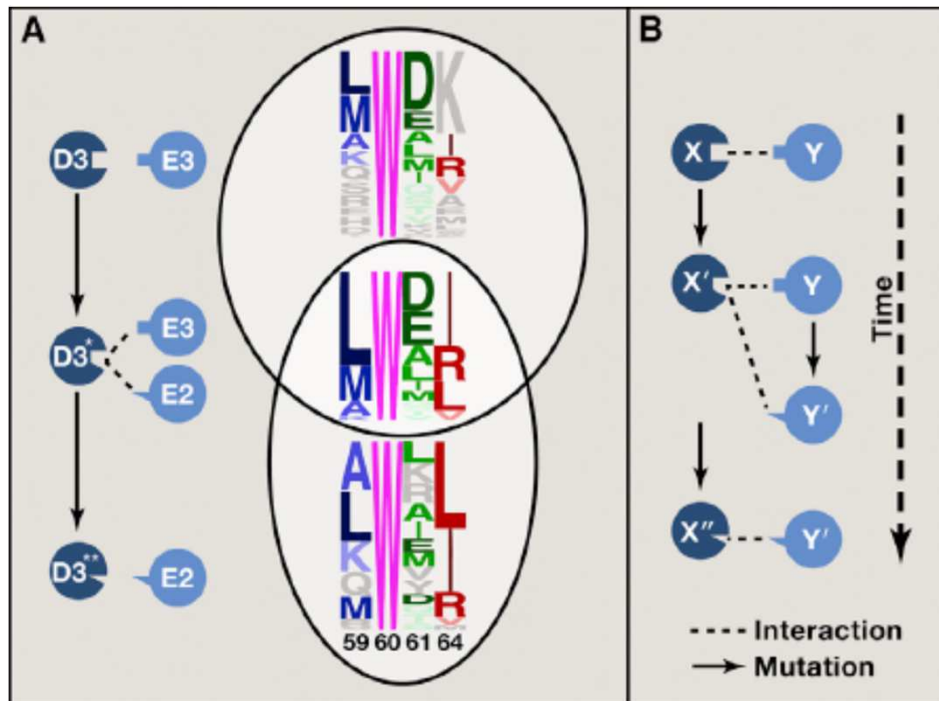
Vazební partneři ko-evoluují

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



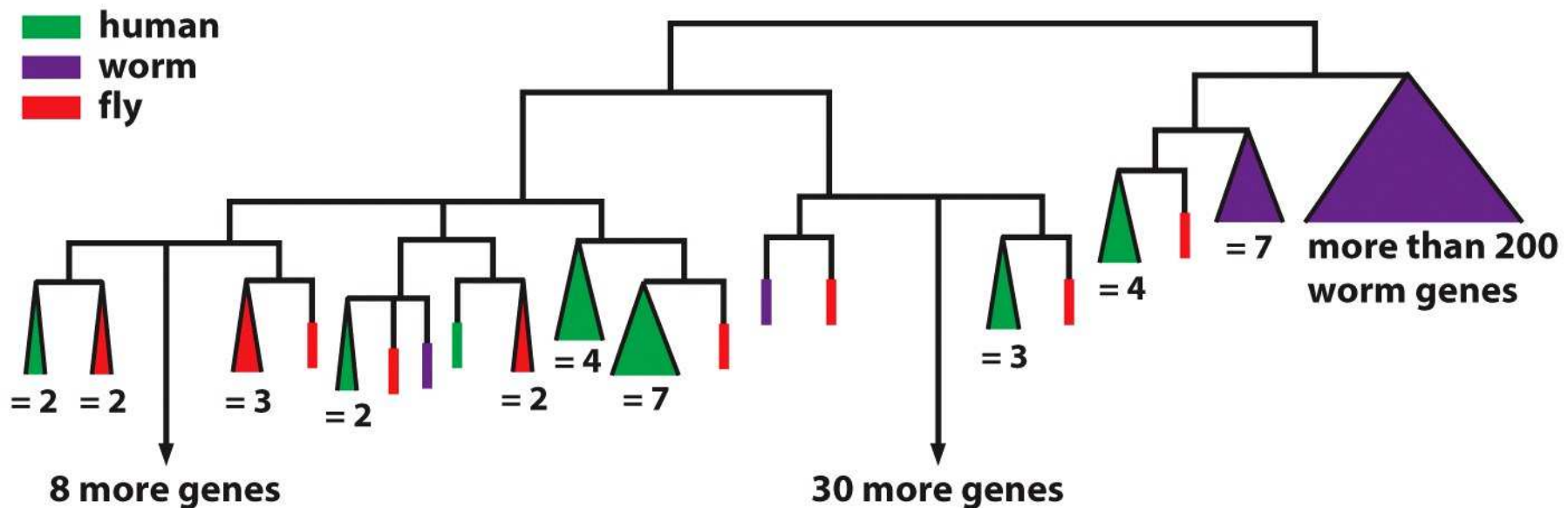
Vazební partneři ko-evoluují

- 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)



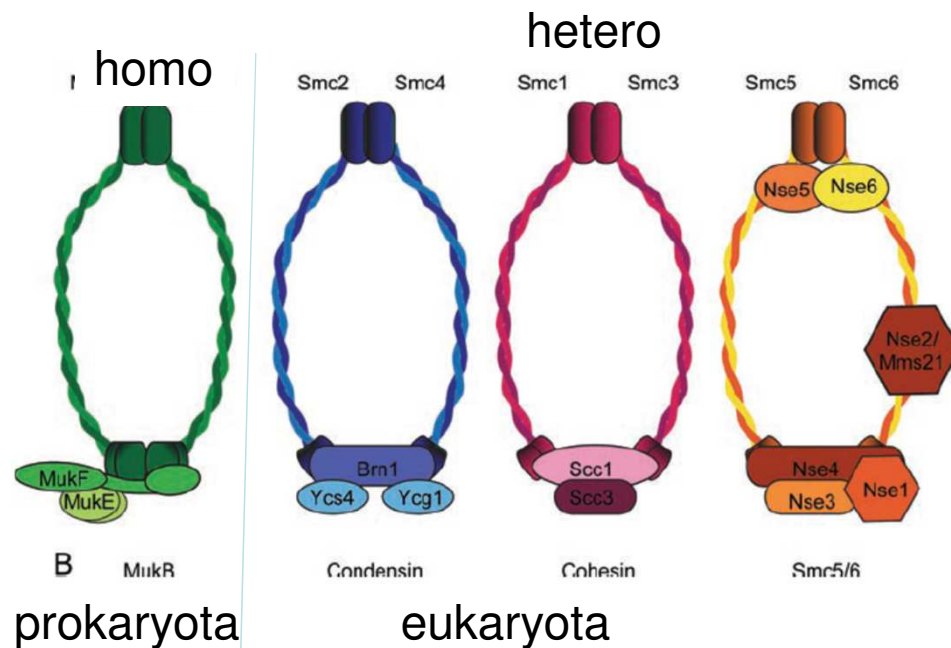
Vznik proteinových rodin

- 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)

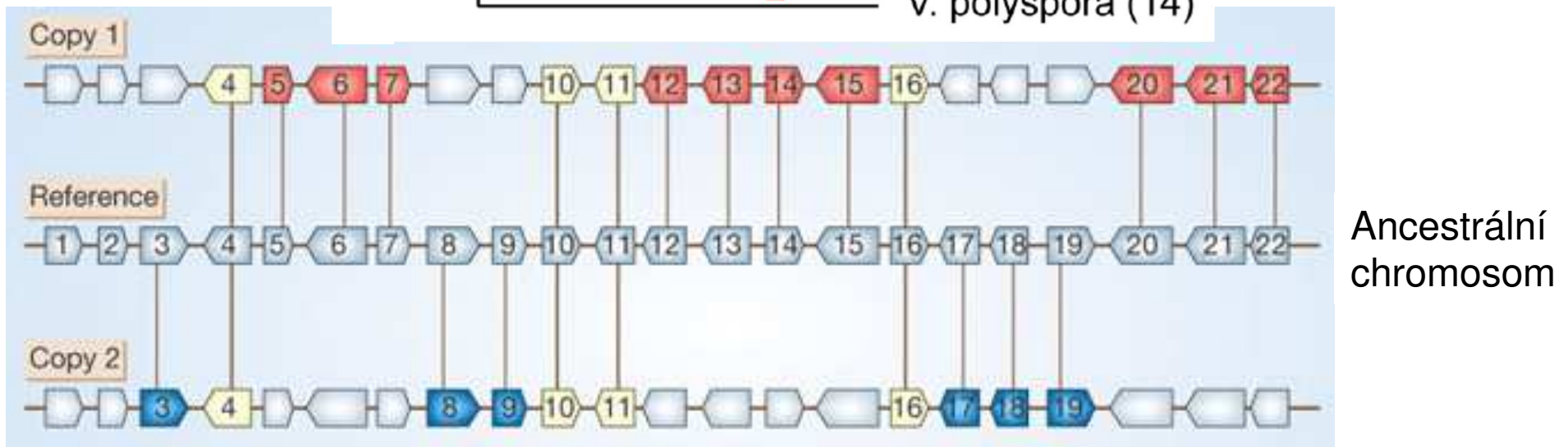
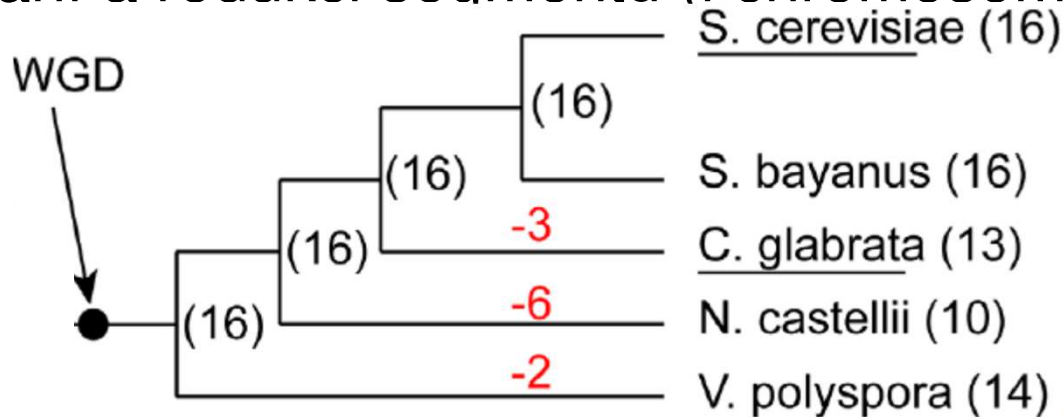
- **duplikace a divergence** jsou hlavními tahouny evolučních procesů (všechny geny/proteiny jsou „potomky“ několika ancestrálních genů/proteinů (foldů), které existovaly v nejčasnějších živých formách (nyní cca 1000 foldů na >100000 struktur v PDB, odhad je cca 2000 foldů))



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

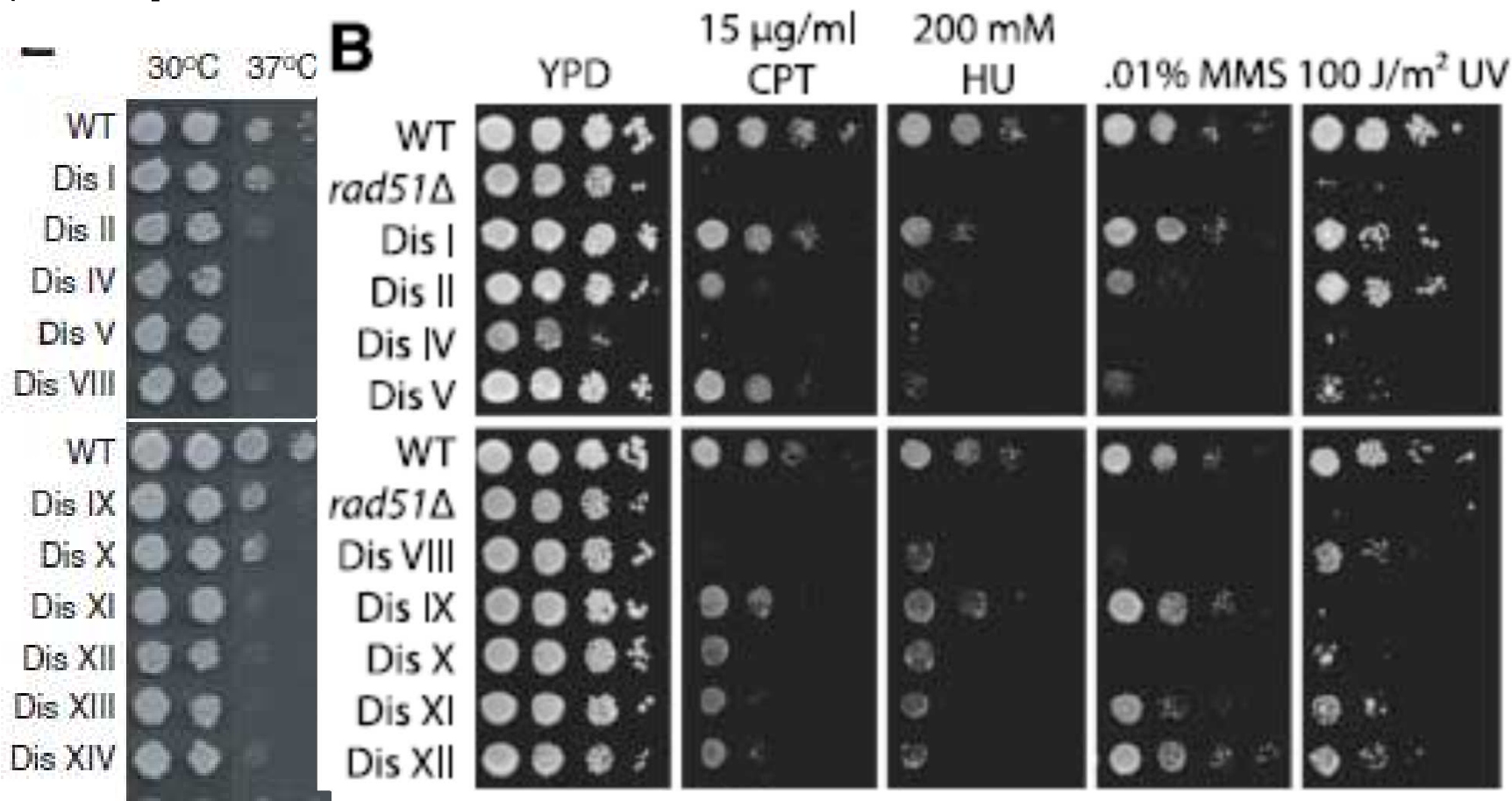
Celogenomová duplikace u kvasinek

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 ...



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

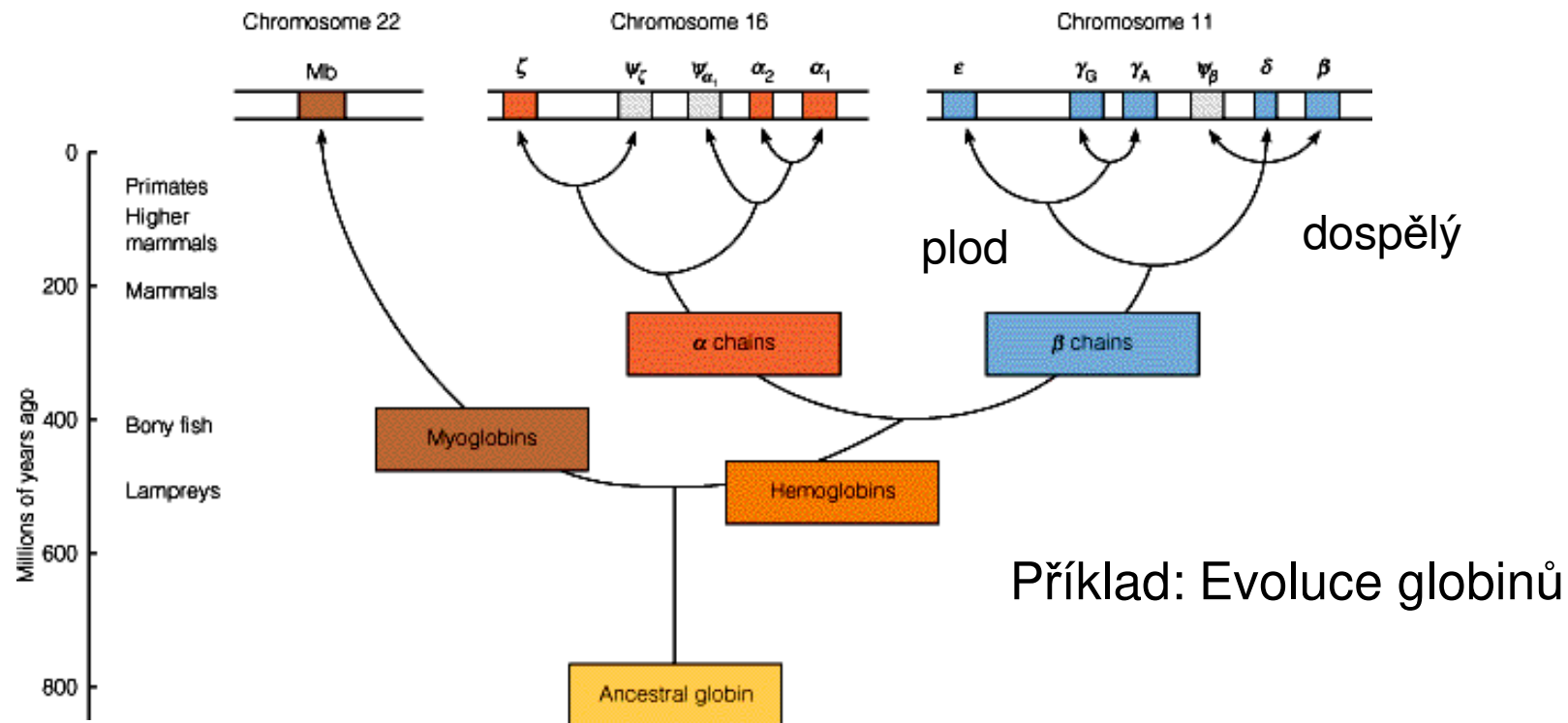
-duplikace ALE ... – na počátku stejné sekvence = stejné funkce - vyšší hladina proteinu/ů může být toxická
(aneuploidie – kvasinky s 1 chromosomem navíc, nádorové buňky)



Shelzer et al, Science (2011)

- nadbytek proteinů (např. transkripčních faktorů) nebo nerovnováha podjednotek komplexů znamená disregulaci některých procesů

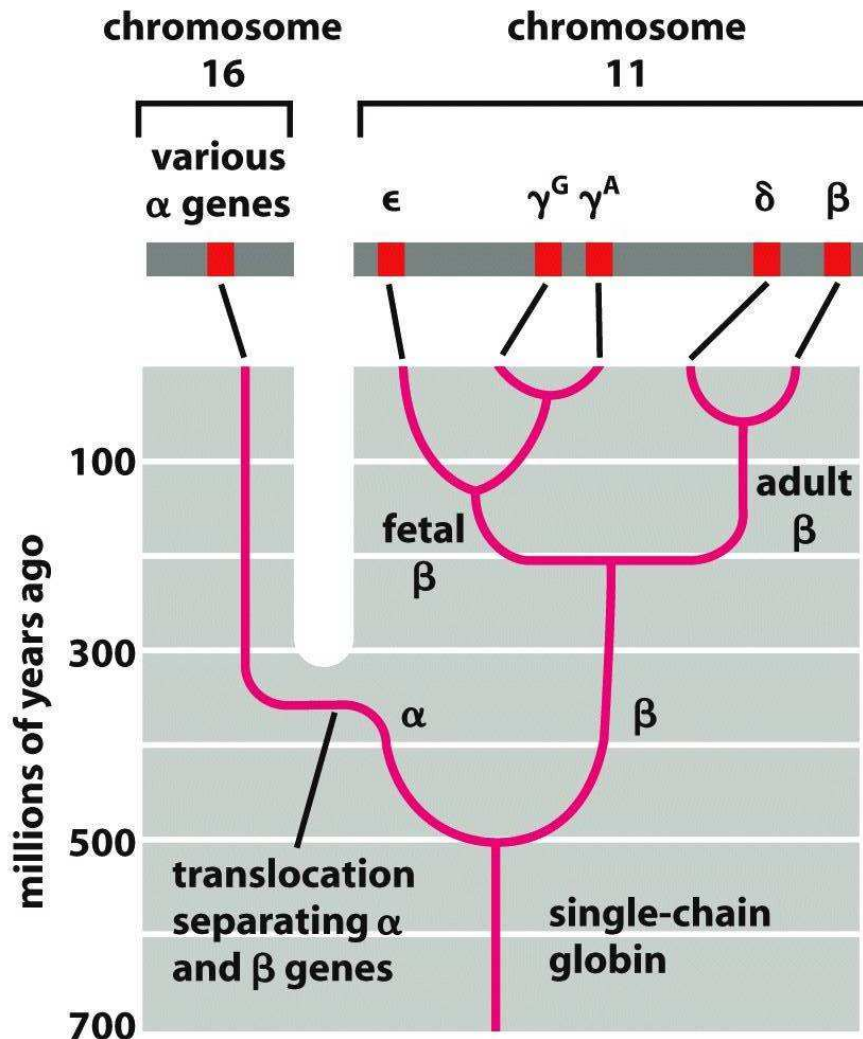
- duplikace – **reverzní transkripcí** (u živočichů) a integrací DNA (pouze individuální geny nebo pouze domény = exony) nebo replikační chyba s následnou chybnou opravou DSB



- na počátku stejné sekvence = stejné funkce (pod jinými **promotory** – jiný lokus tzn. jiné „okolí“ zaintegrované „mRNA“ tzn. jiná regulace exprese – „nové“ buňky)
(např. rozdíl v genomu člověka a šimpanze je především v duplikaci 30Mbp – cca 50kbp segmenty - nikoli v jednotlivých mutacích tj. SNPs)

Evoluce rodiny globinů (duplikace)

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



homo- na heteromery

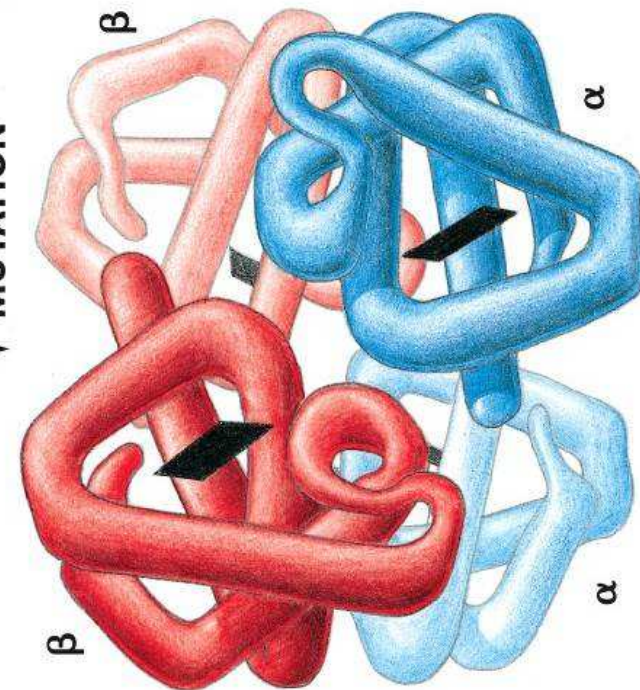
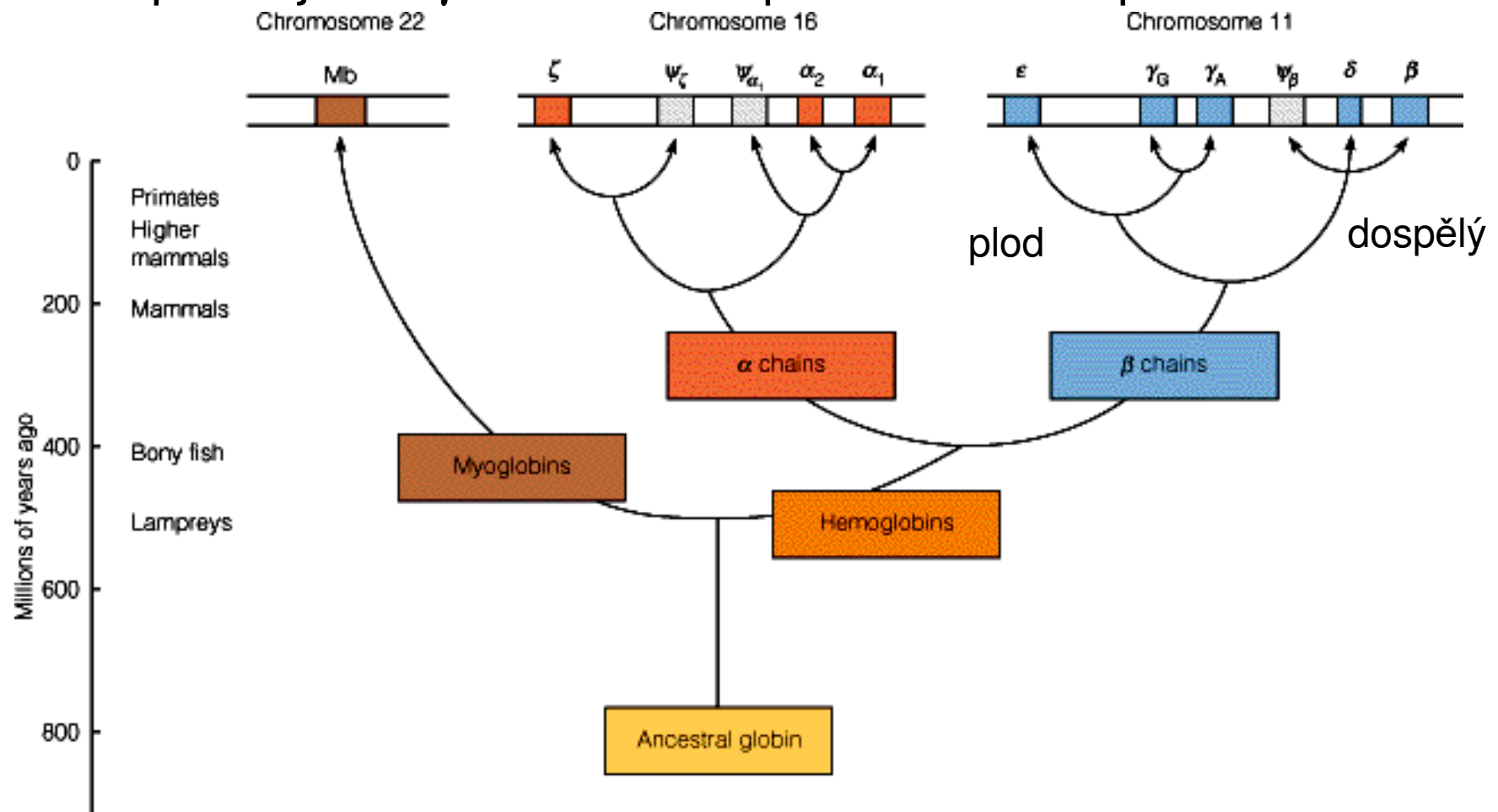


Figure 4-86 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

- 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 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 (původní „histon“) + odlišné sekvence (odlišně PTM) odlišné funkce (stále v rámci nukleosomů/chromatinu)

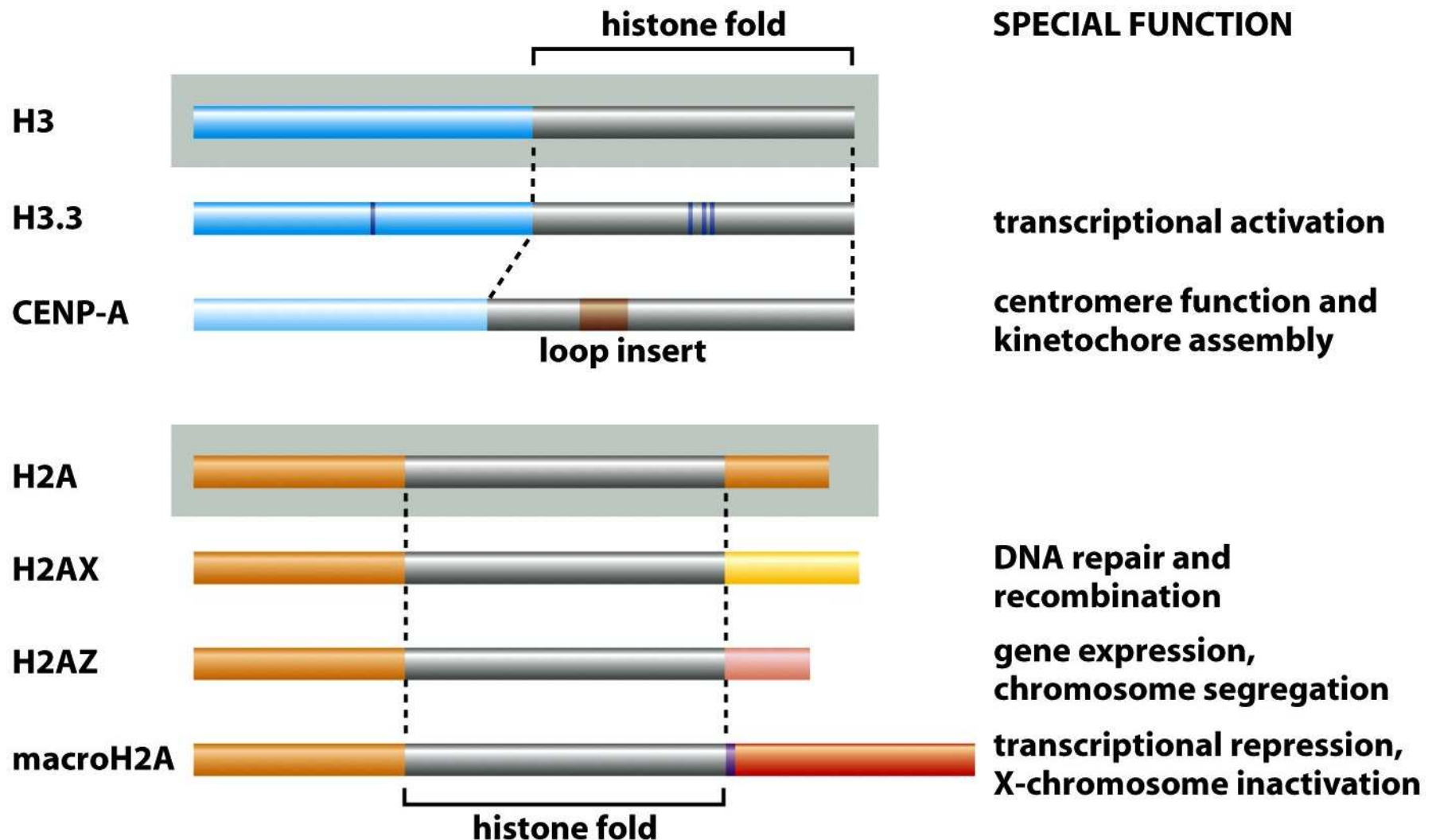


Figure 4-41 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

- histony > NF-Y transkripce (ohyb) > TAF (strukturní TFIID)

- duplikace celého genu nebo pouze **domény** – většina domén v proteinech obratlovců pochází/existuje v bezobratlých – pouze 7% lidských proteinů/domén je specifických pro obratlovce)

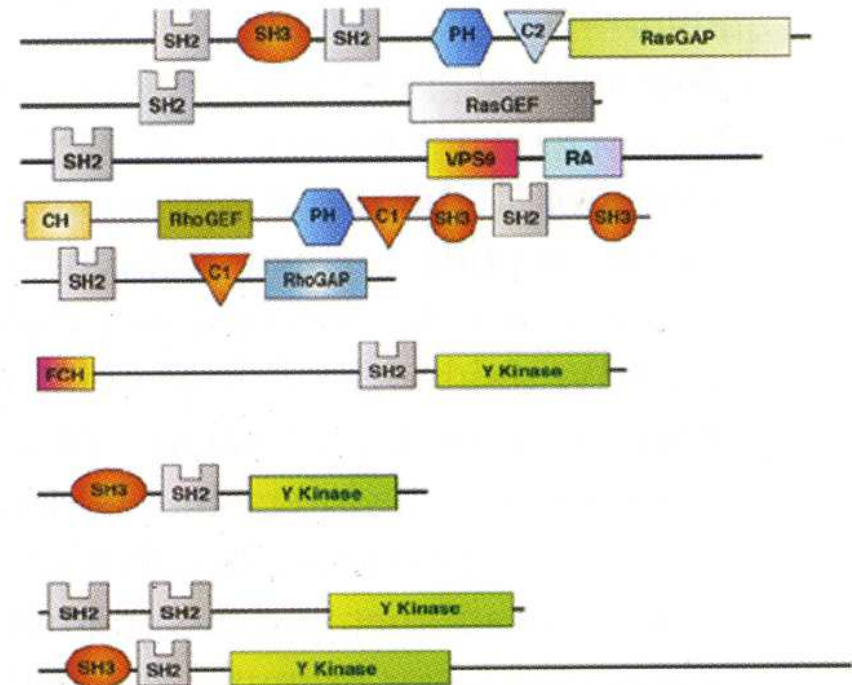
- fúze domén naznačuje funkční příbuznost nebo dokonce přítomnost v komplexu (v organismu s nefúzovanými doménami - ChimeraDB)

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



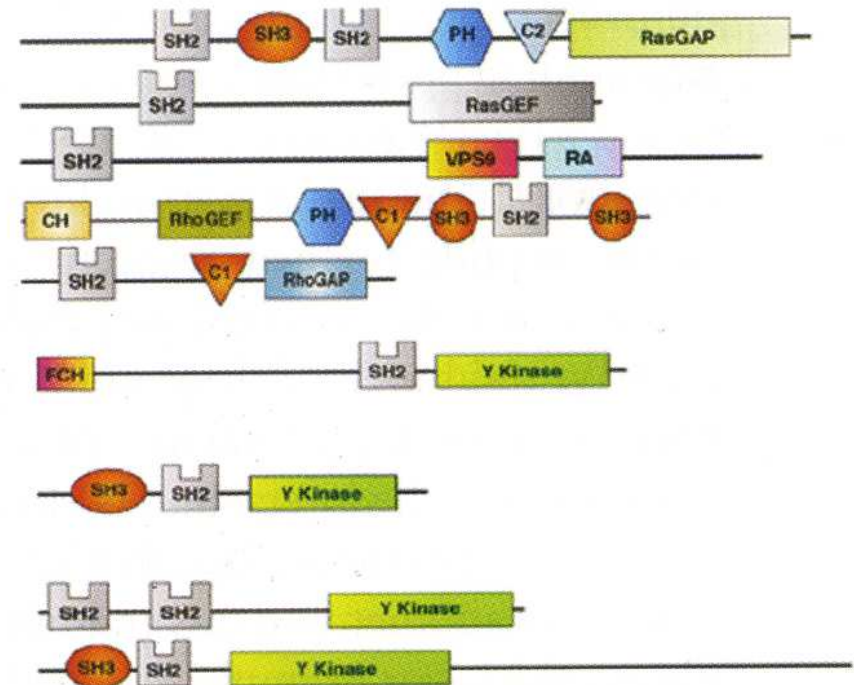
- duplikace **domény** (většinou koreluje s exonem)
- hranice domény jsou většinou kódovány **introny** – bez intronů by bylo obtížnější přesně vybrat pouze „doménovou“ část sekvence
- duplikací a „**shuffling**“ **domén** – poskládají se nové geny/proteiny – vytváří nová funkční/fyzická provázání (interakce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

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



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

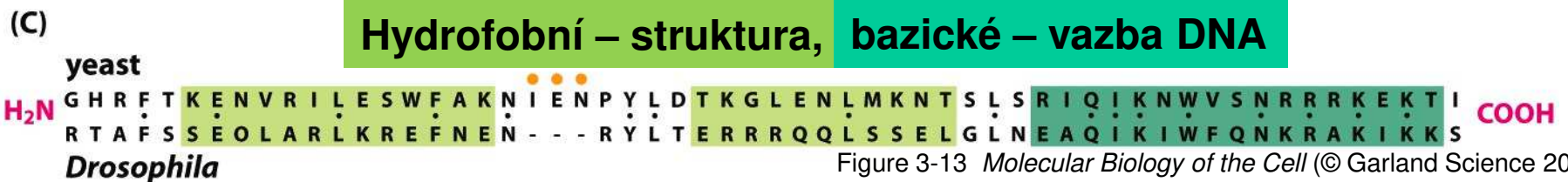
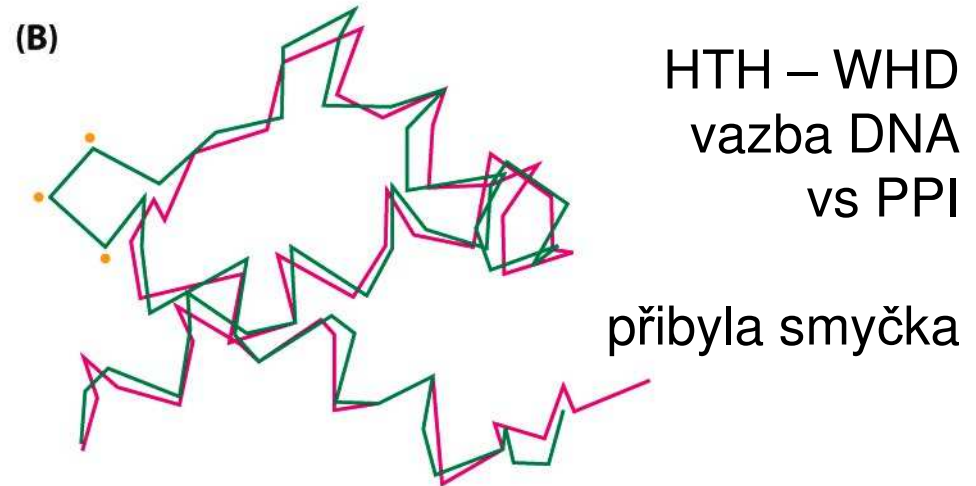
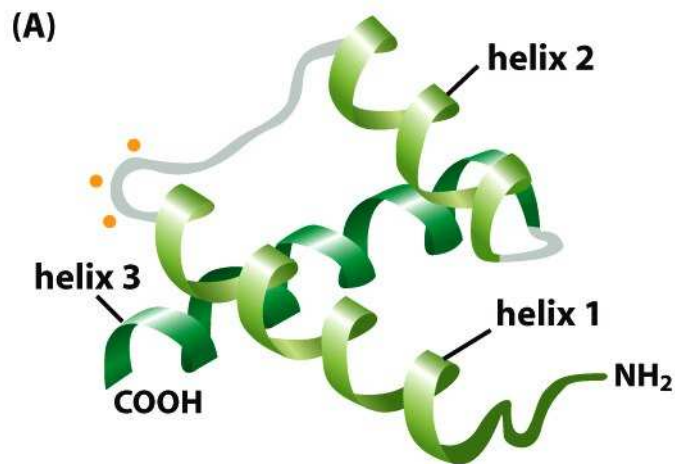
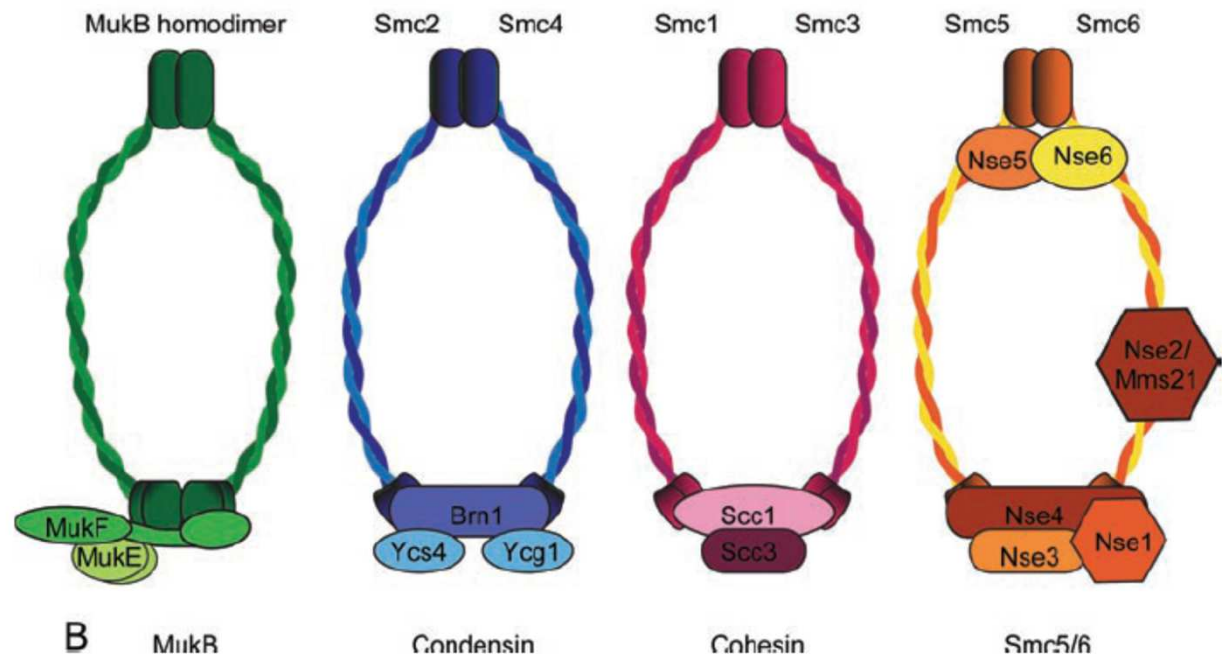


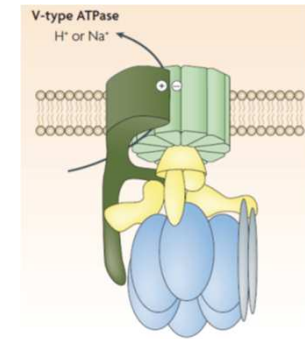
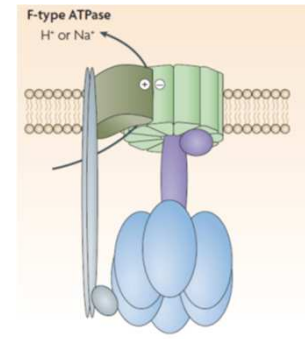
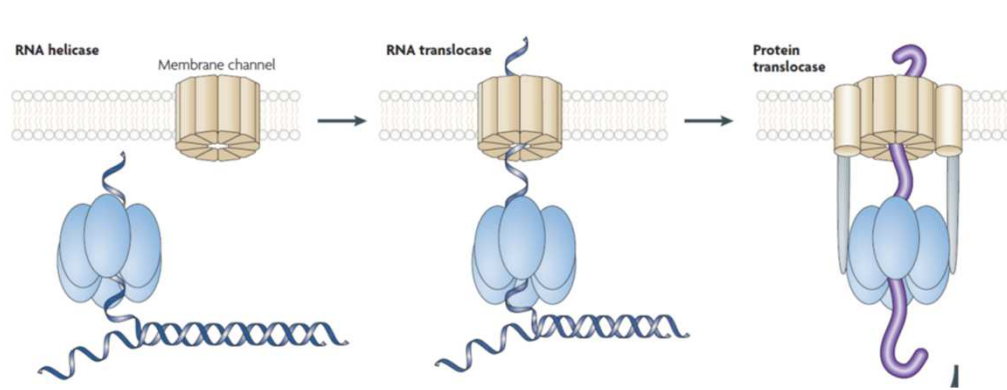
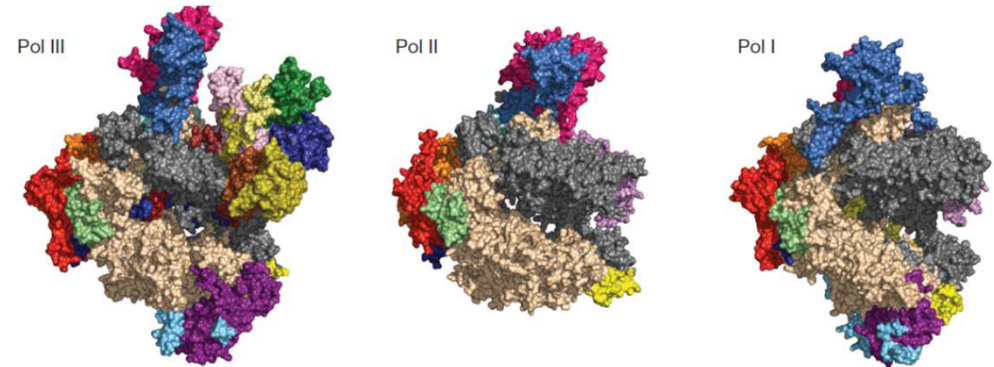
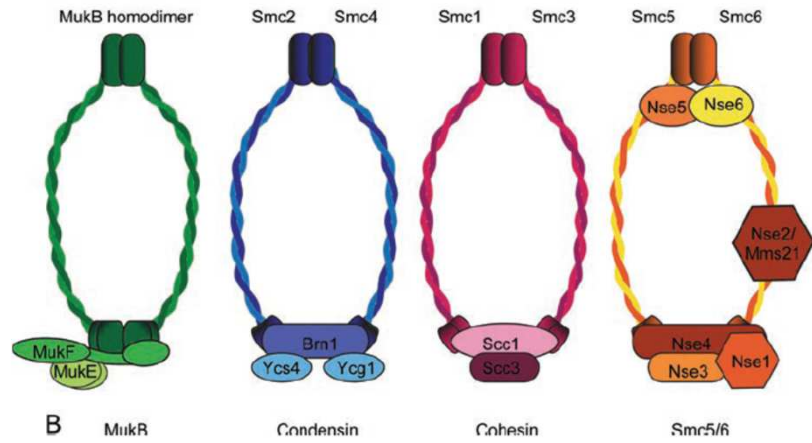
Figure 3-13 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- 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) (viz ko-evoluce)

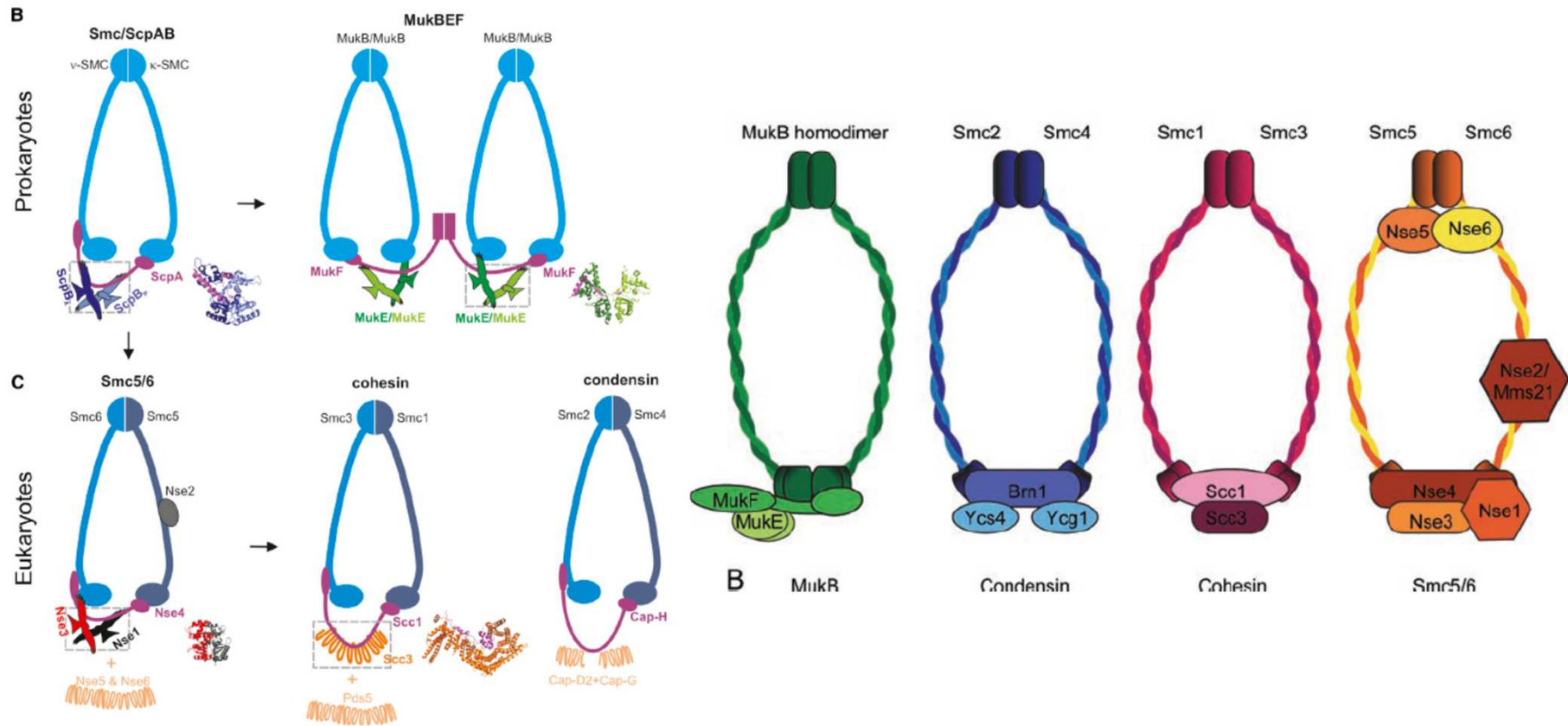


Příklady evoluce komplexů



Evoluce SMC komplexů

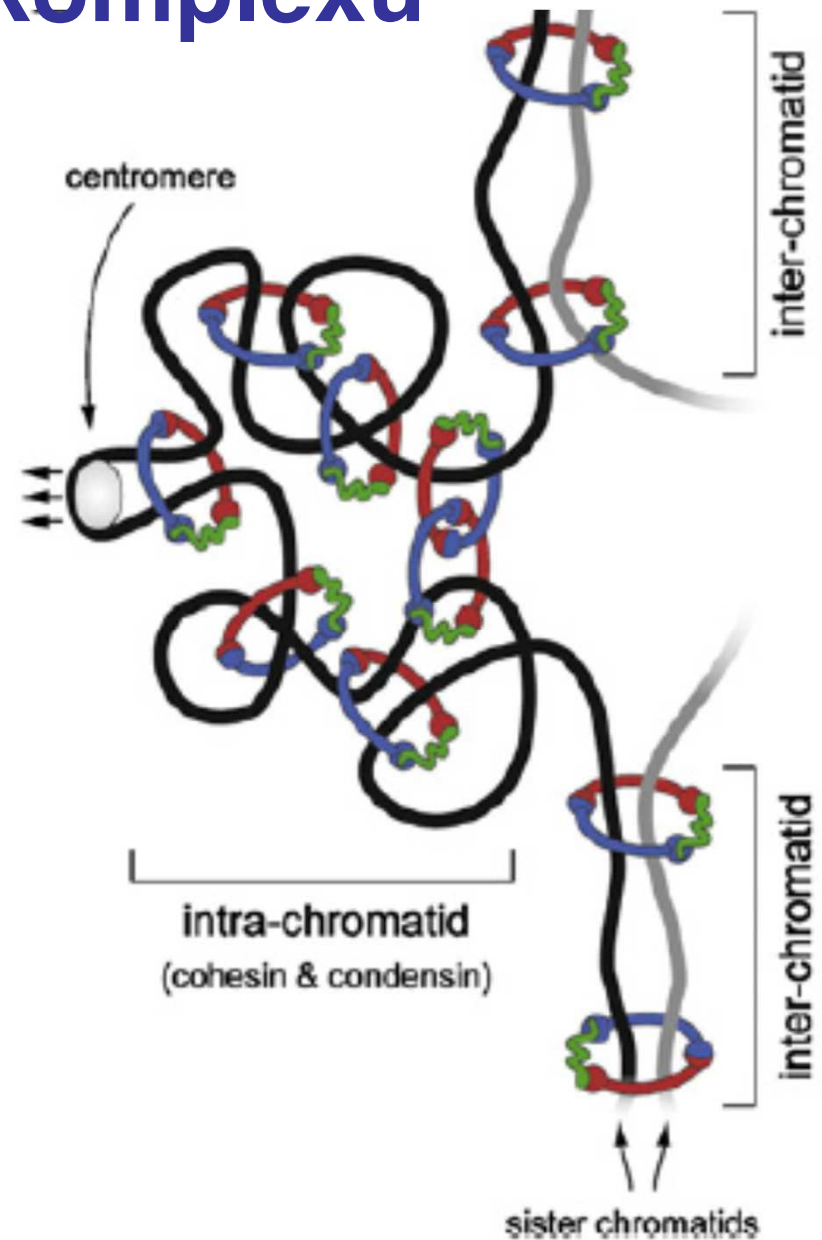
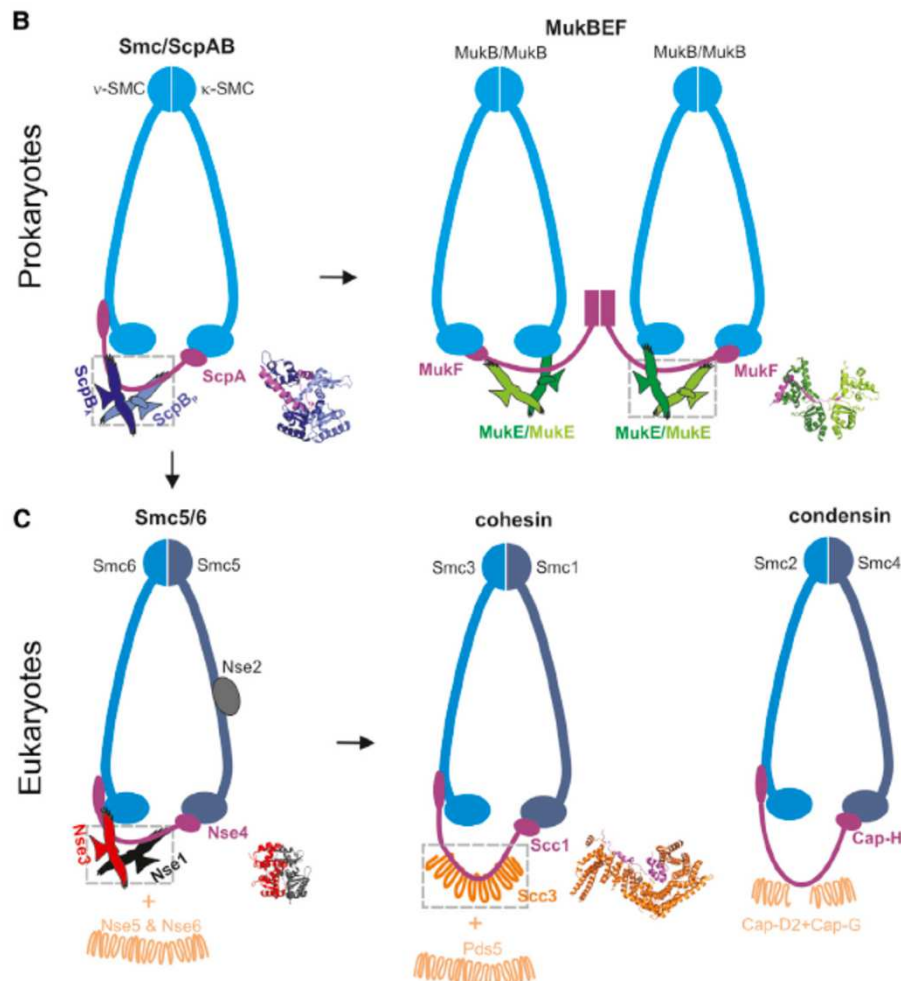
- bakterie mají po jednom komplexu složeném z homodimeru SMC/MukB a 2 Nse



- eukaryota mají 3 SMC komplexy – SMC heterodimery + kleisin (další podjednotky nepříliš konzervované) - (příklad využití konzervovaného motivu a alterace částí systému/komplexu)

Evoluce SMC komplexů

- konzervovaný motiv (kroužek)
- SMC heterodimery + kleisin



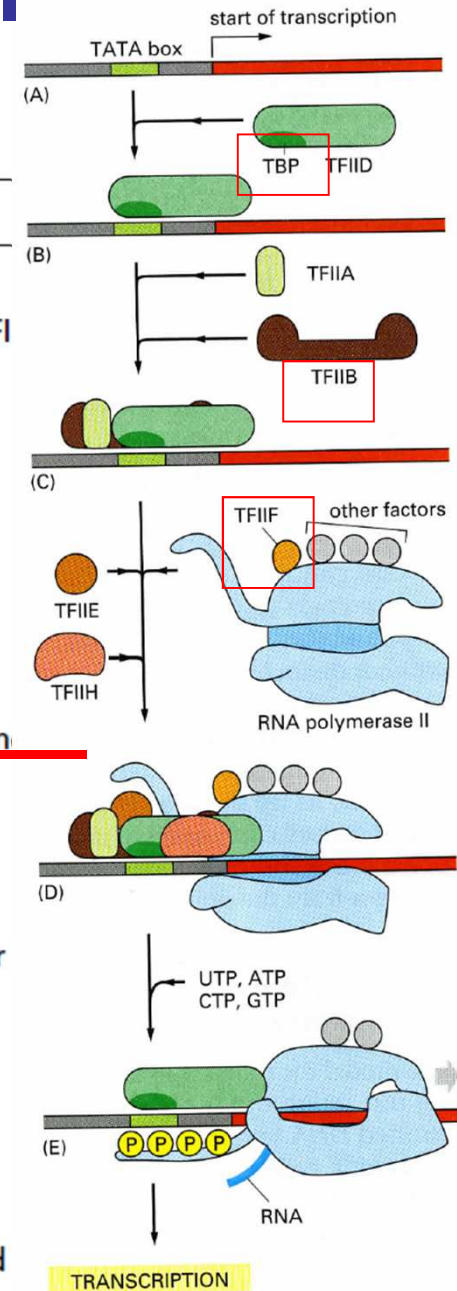
- alterace – kohese x kondensace
(Nse podjednotky, faktory ovlivňující loading = místo, čas ...)

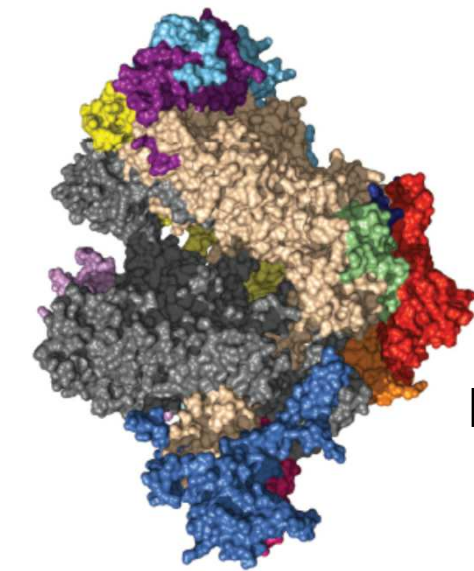
RNA pol II a podobnosti s pol I a III

TABLE 1 Components of the human general transcription machinery

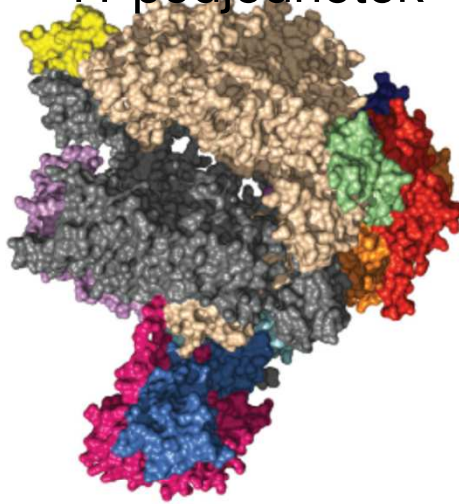
| Factor | Protein composition | Function |
|--------|---|---|
| TFIIA | p35 (α), p19 (β), and p12 (γ) | Antirepressor; stabilizes TBP-TATA complex; coactivator |
| TFIIB | p33 | Start site selection; stabilize TBP-TATA complex; pol II/TFI |
| TFIID | TBP + TAFs (TAF1-TAF14) | Core promoter-binding factor 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

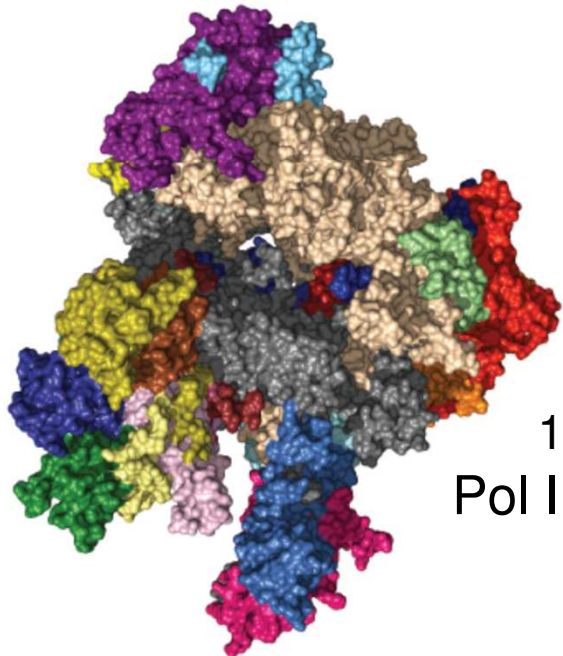




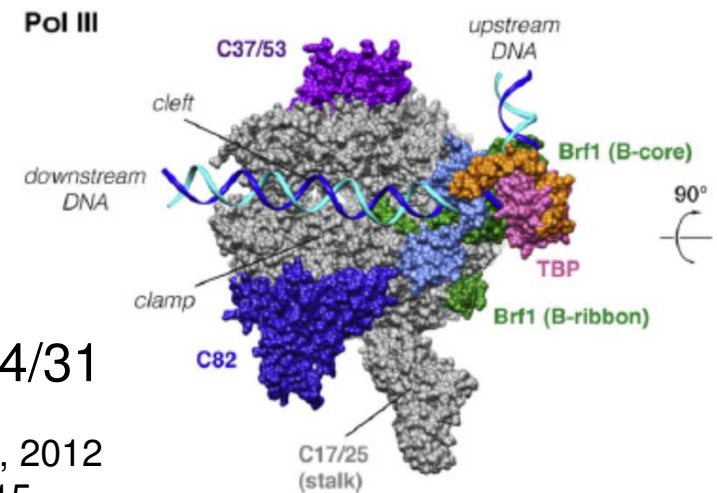
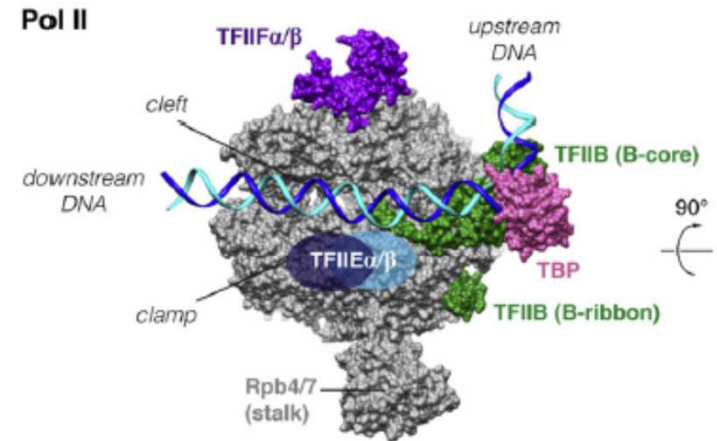
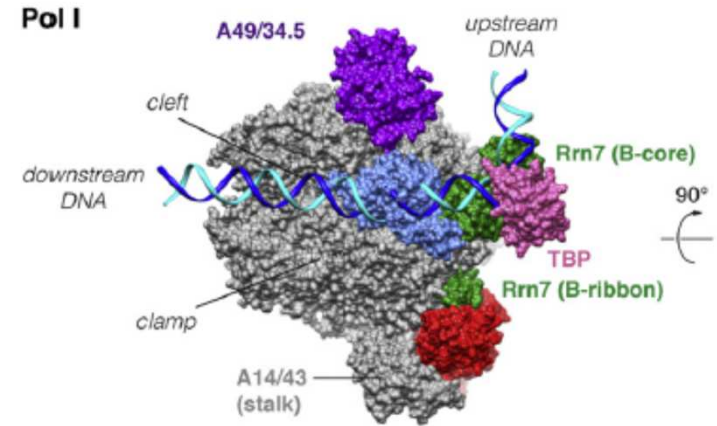
13
 Pol I = 11 + A49/34.5



11
 Pol II = 11 podjednotek



16
 Pol III = 11 + C37/53 + C82/34/31



Vannini & Cramer, Mol Cell, 2012
 Hoffmann et al, Nature, 2015

RNA polymerasy

Pol I = 11 + A49/34.5

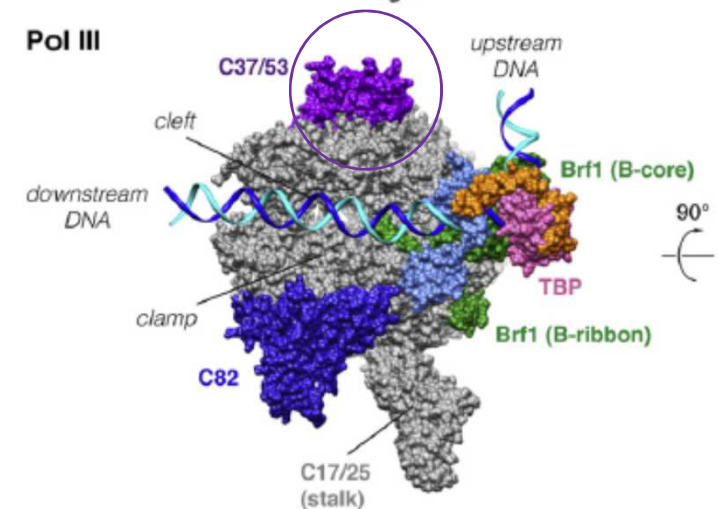
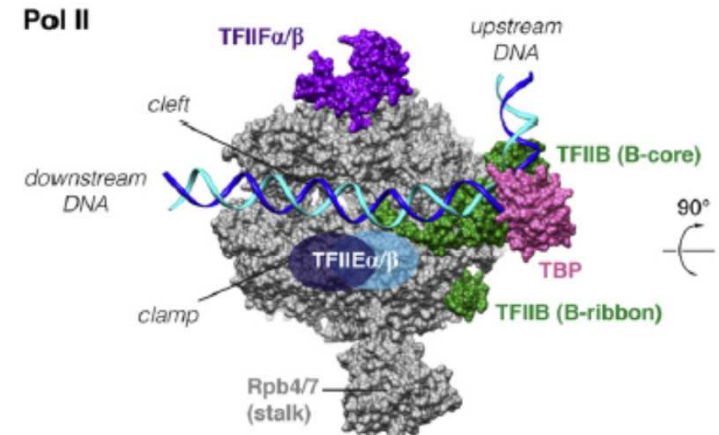
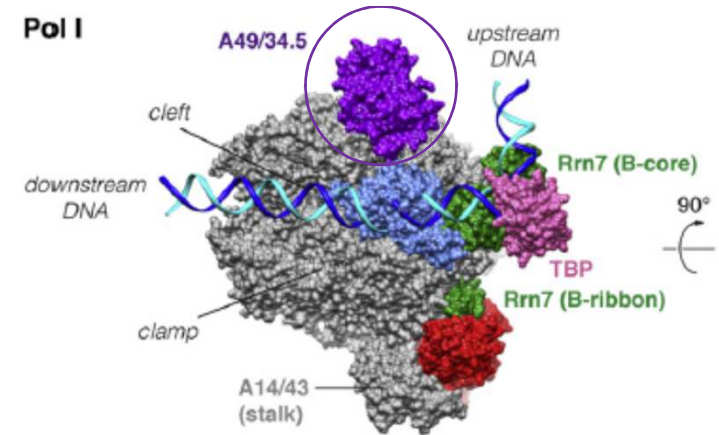
Pol II = 11 podjednotek (Tabulka)

Pol III = 11 + C37/53 + C82/34/31

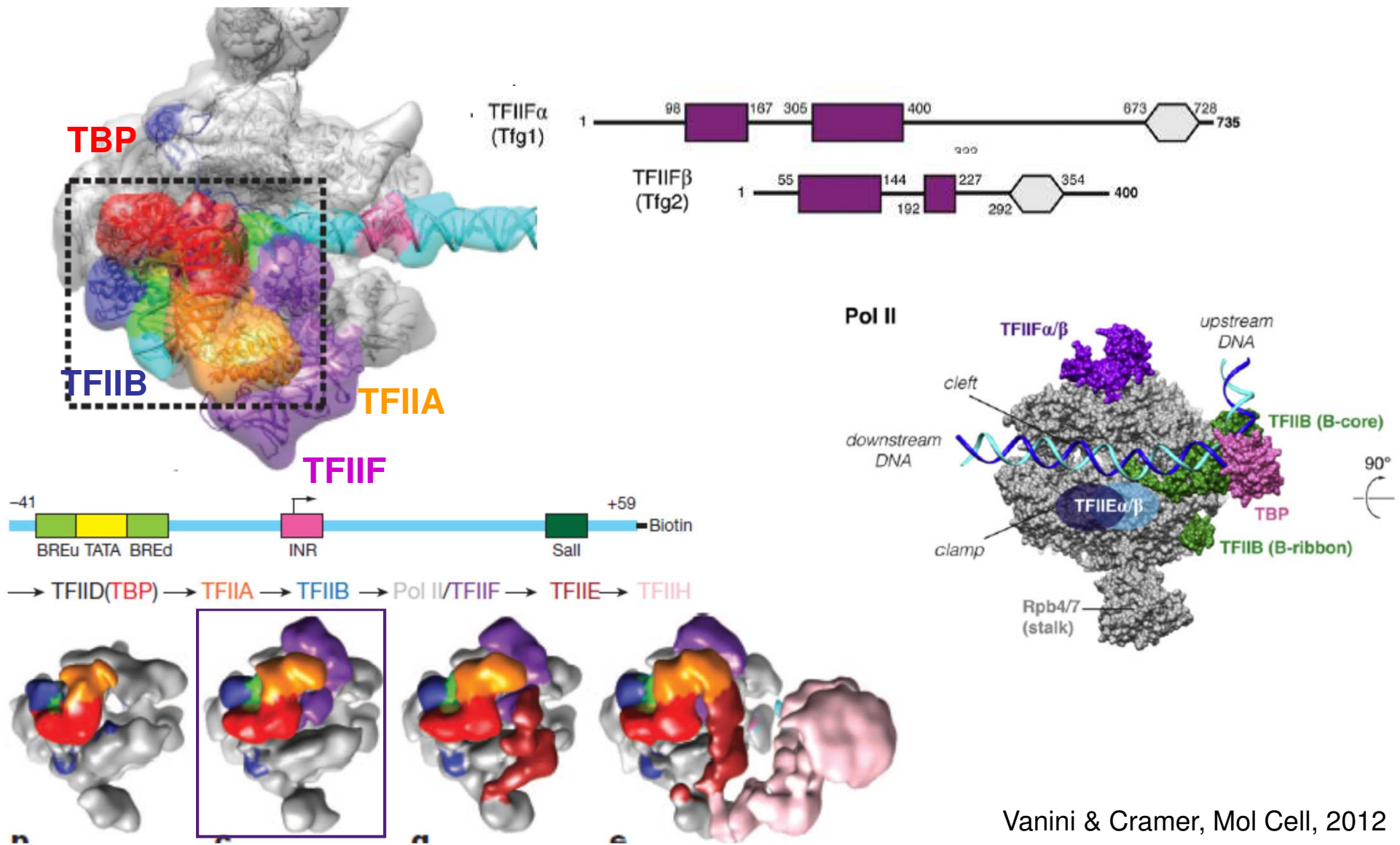
TFIIF
TBP
TFIIB
TFIIE

Table 1. Yeast RNA Polymerase Subunits and Initiation Factor Homologies

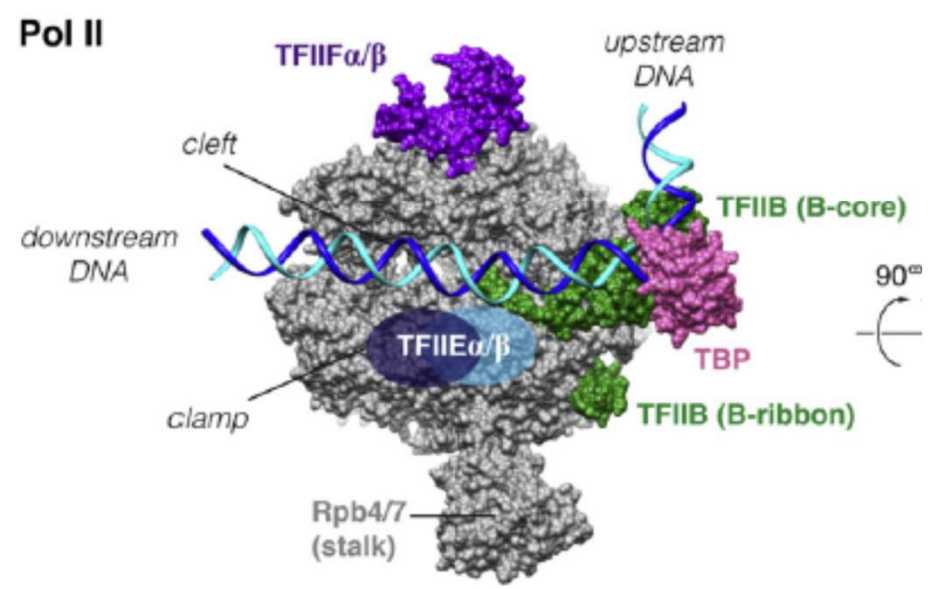
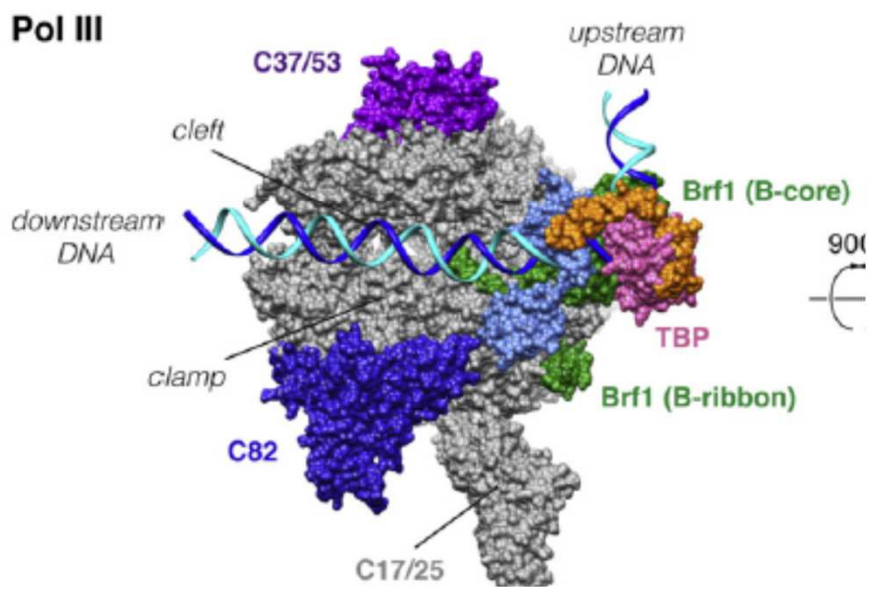
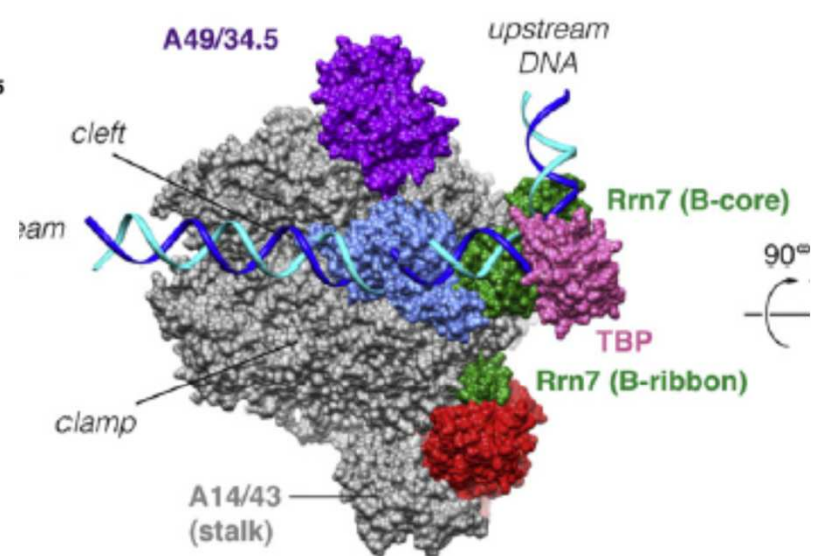
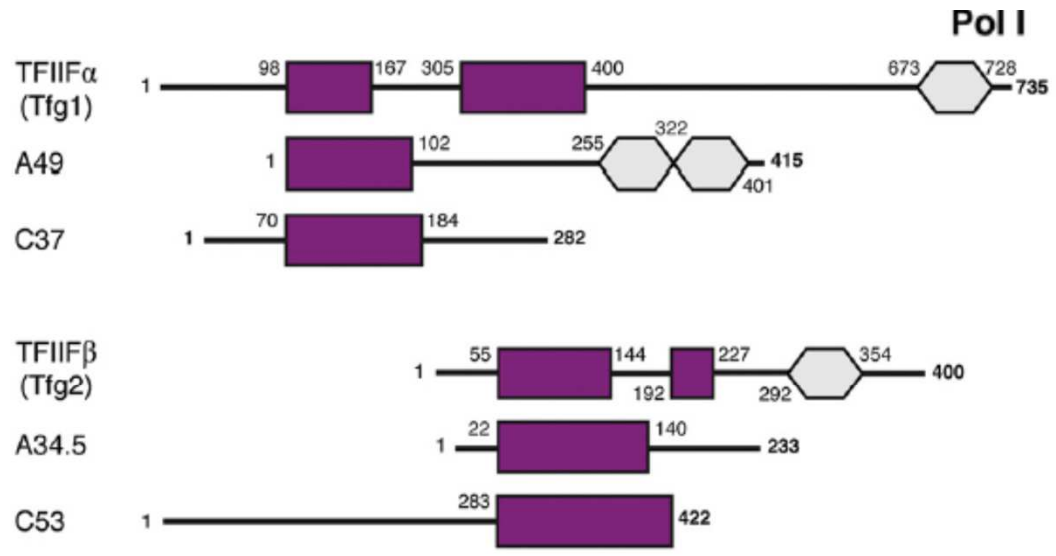
| Pol II | Pol I | Pol III | Function |
|-----------------------------|----------------|--------------|------------------------------|
| Polymerase Core | | | |
| Rpb1 | A190 | C160 | Active center |
| Rpb2 | A135 | C128 | Active center |
| Rpb3 | AC40 | AC40 | |
| Rpb11 | AC19 | AC19 | |
| Rpb9 | A12.2 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 |



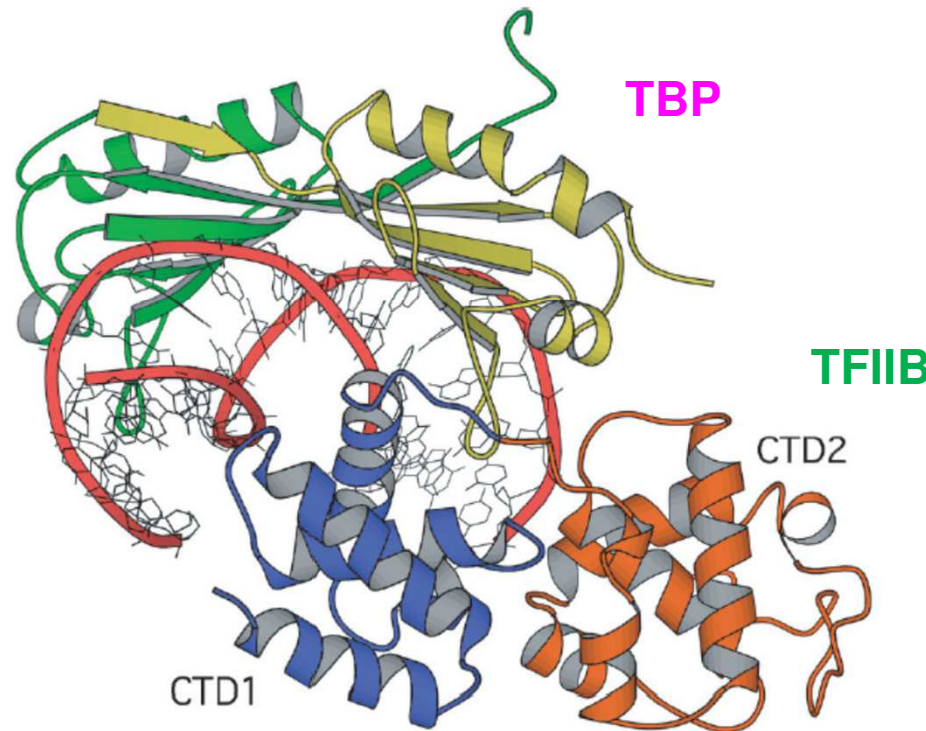
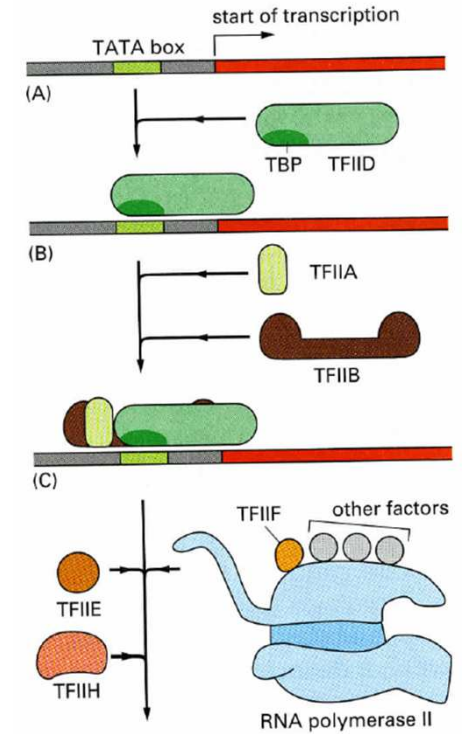
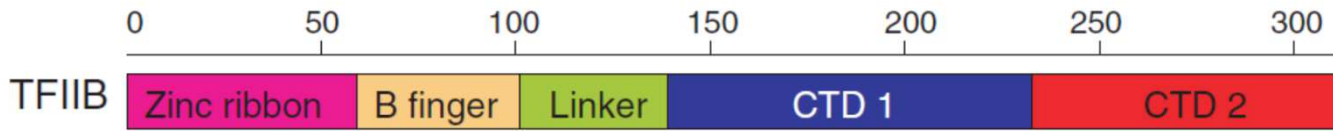
- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- v pol I a III jsou paralogy TFIIF součástí komplexu polymerázy



- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- v pol I a III jsou paralogy TFIIF součástí komplexu polymerázy



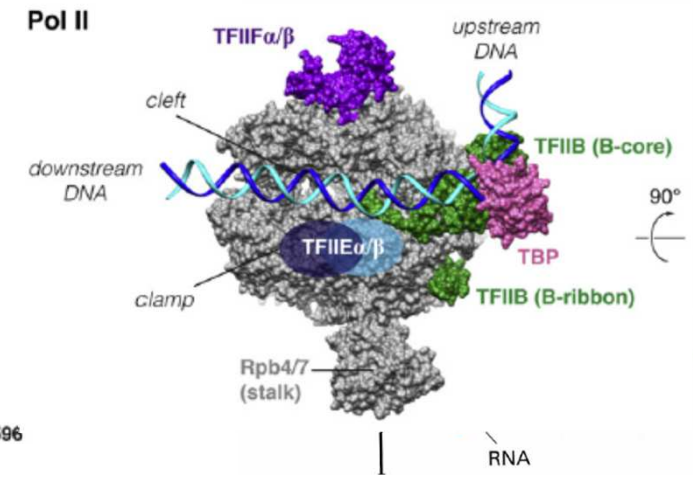
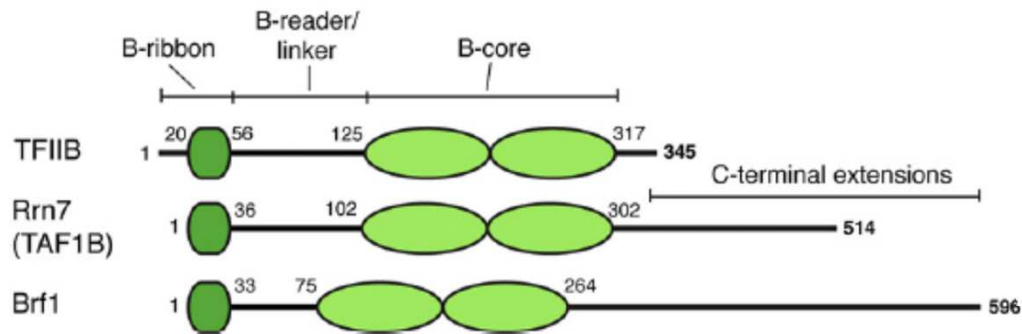
- **TFIIB** (C-konec) váže TBP a 6-7bp up- a downstream od ohybu DNA přes cukrfosfátovou kostru (kolem TATA boxu)

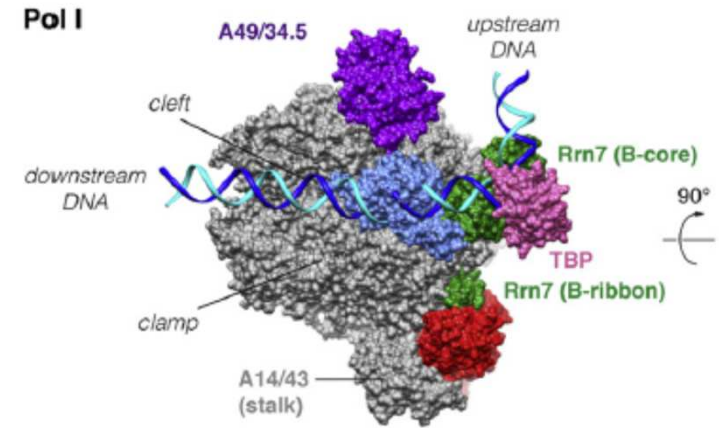
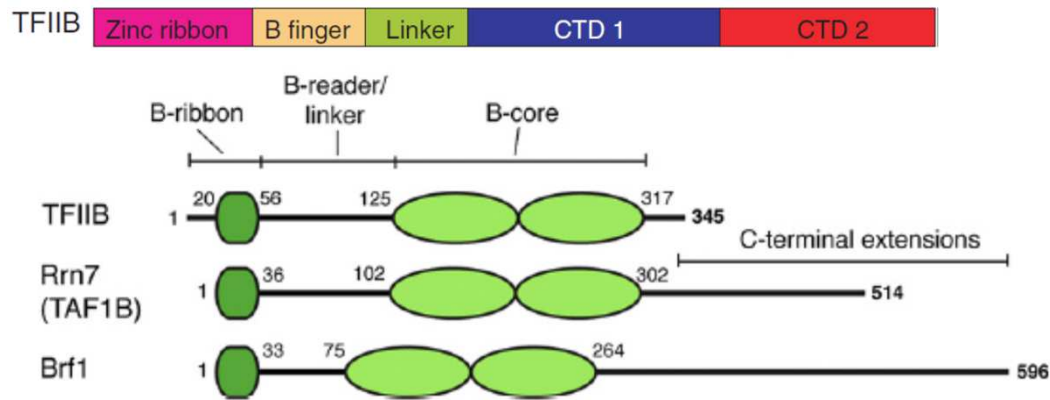


1VOL
Nikolov et al, Nature, 1995

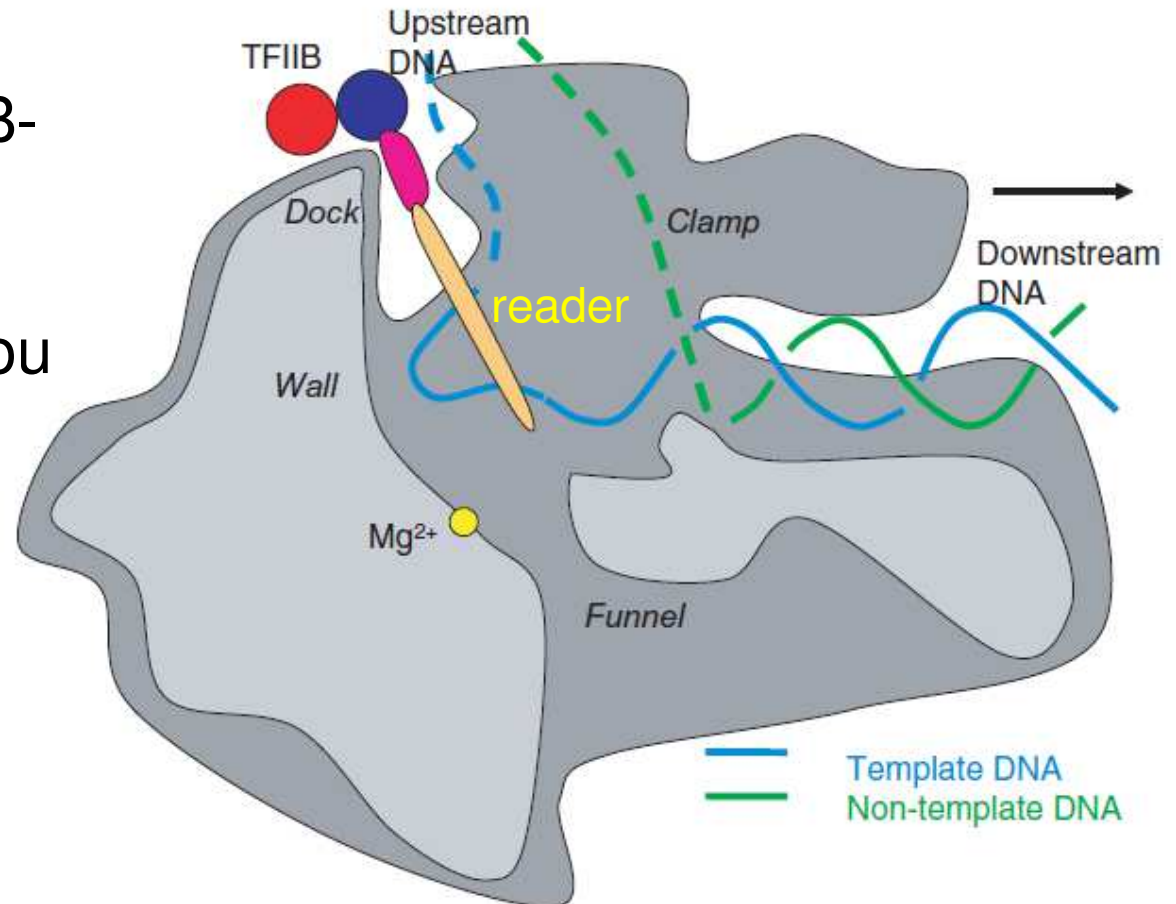
Vannini & Cramer, Mol Cell, 2012

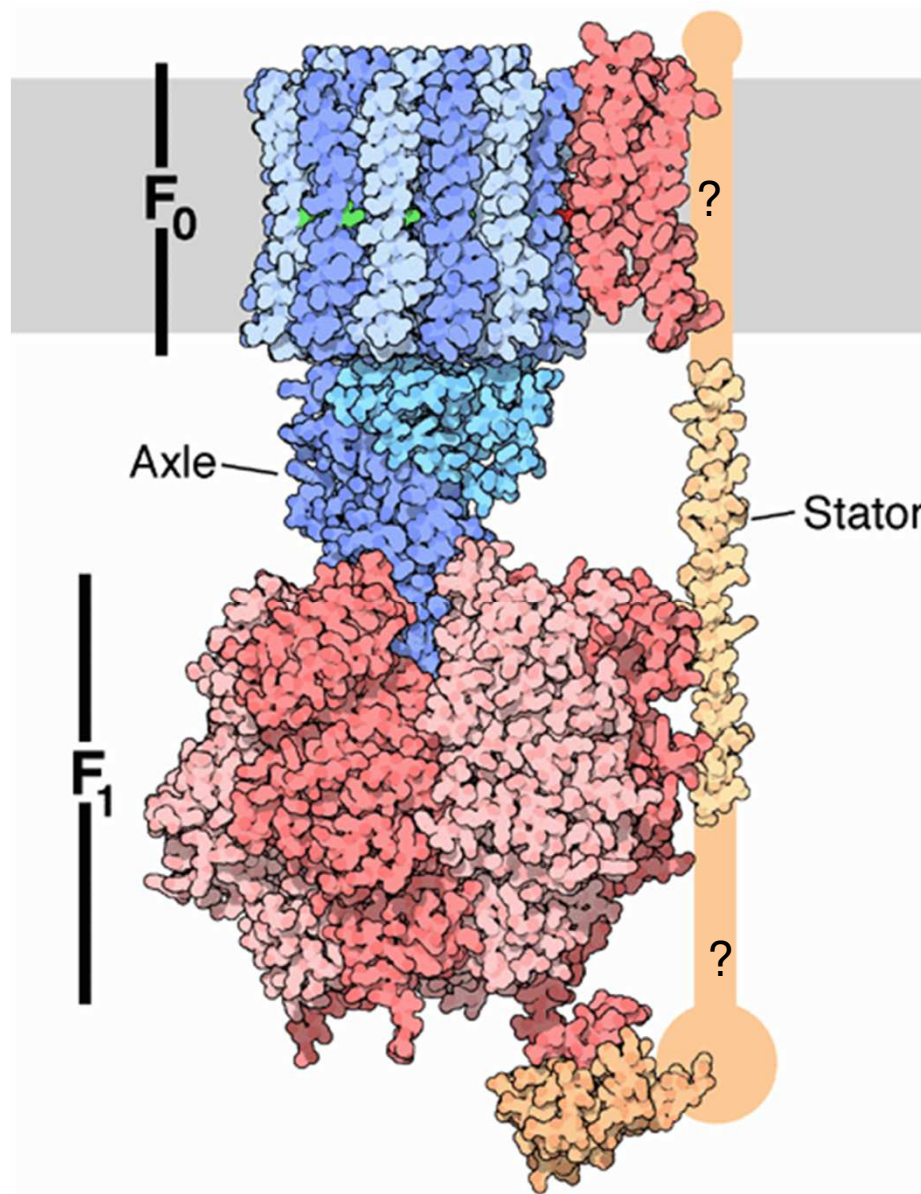
TFIIB
TFIB
TFIIB



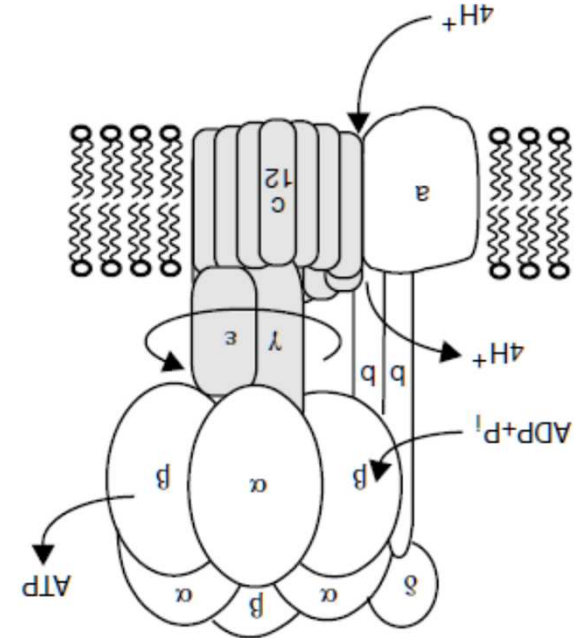


- Zn-ribbon s dock, B-finger/reader RNA tunel, B-core/CTD1 s wall, B-finger/reader s CC clamp
- podobné natolik, že vážou stejné TBP a mohou být zaměněny pro kteroukoli polymerásu – zatímco **reader** je specifický pro určitou polymerásu



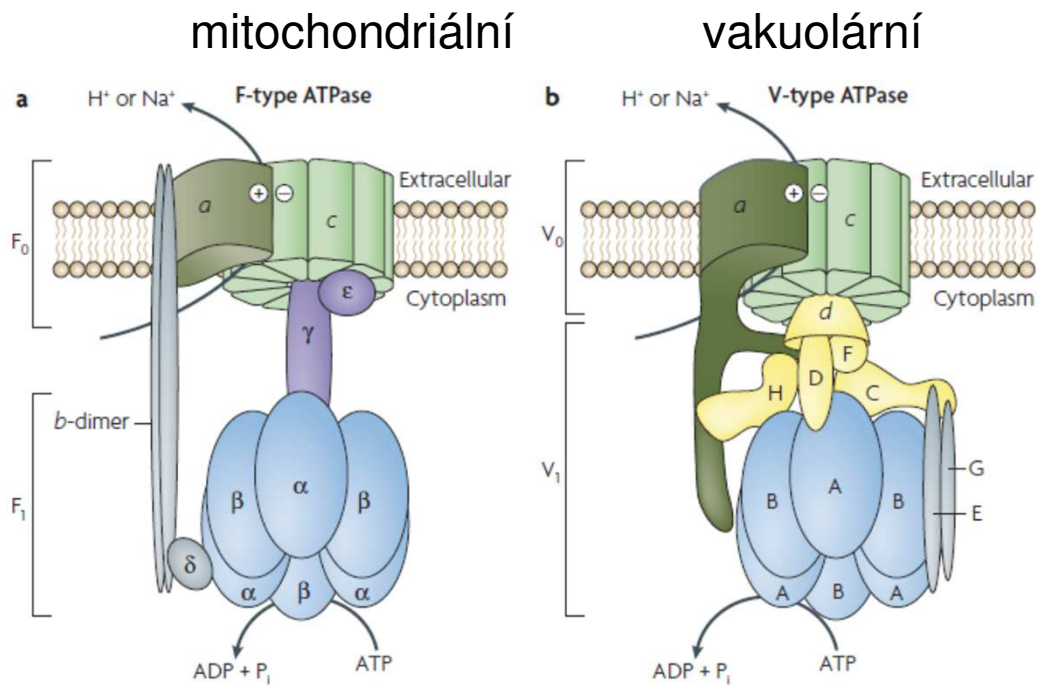


Molekula měsíce v prosinci 2005
Rastogi & Girvin, Nature, 1999



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).



vytváří ATP

vytváří pH gradient

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

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

Mulkiđjanian et al, NRM, 2007

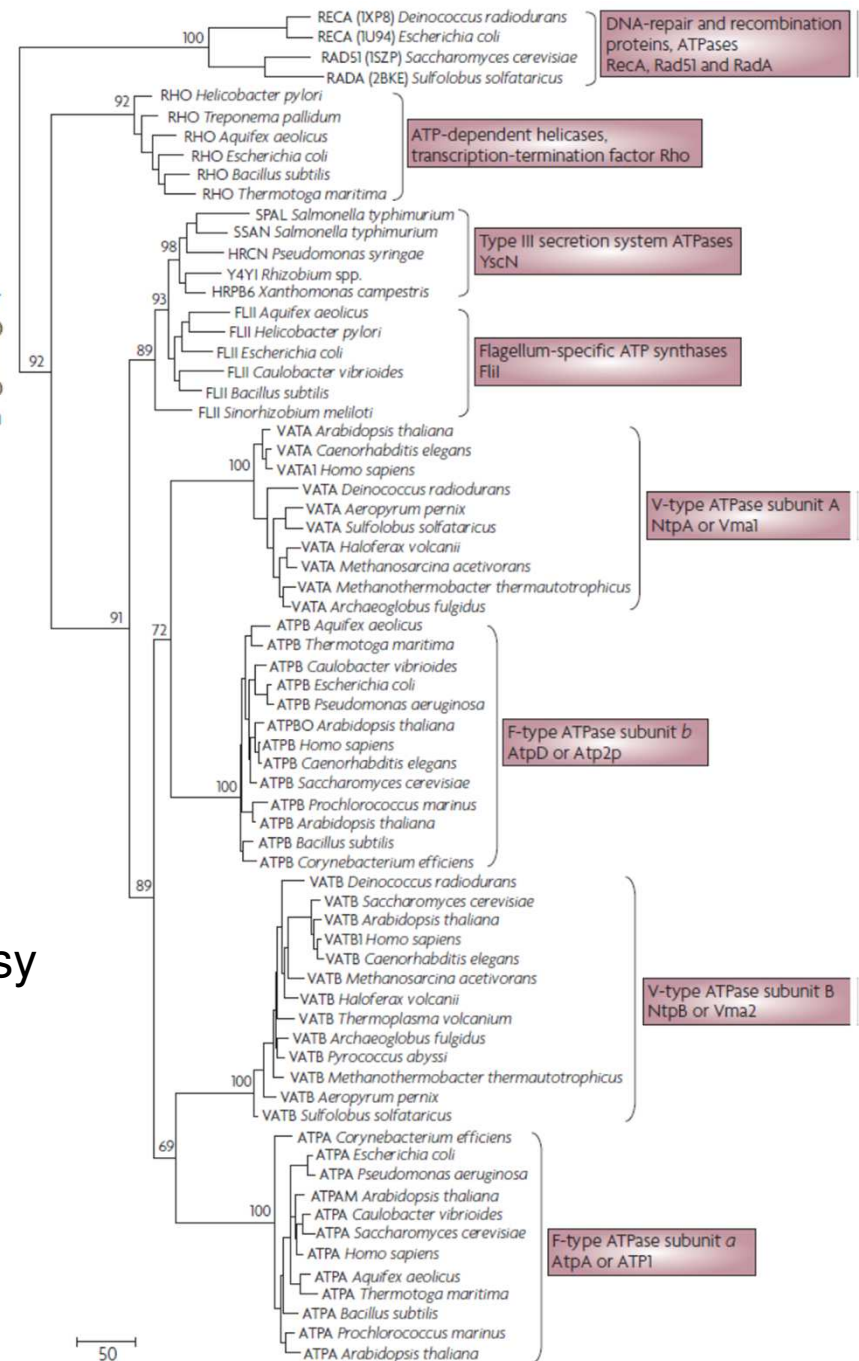
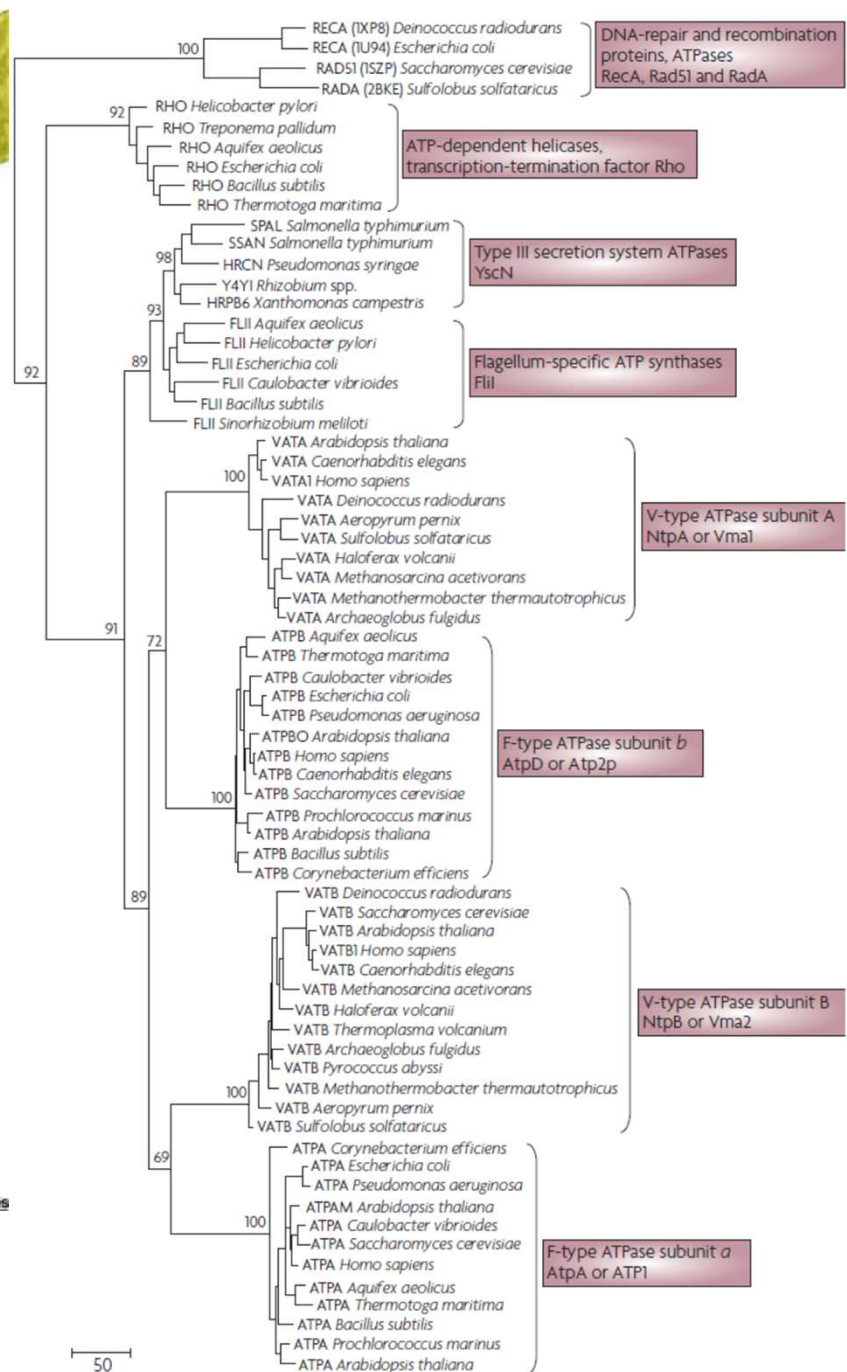
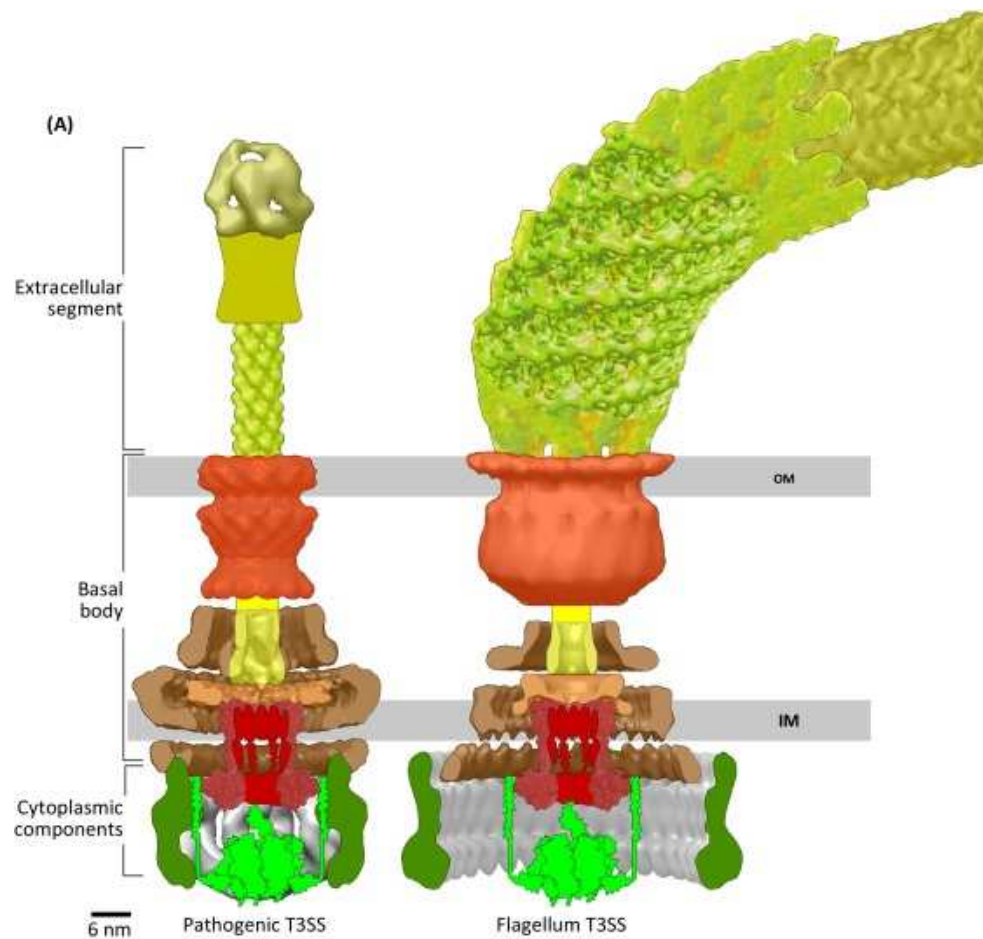


Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from [GenBank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) (for the RecA family, four

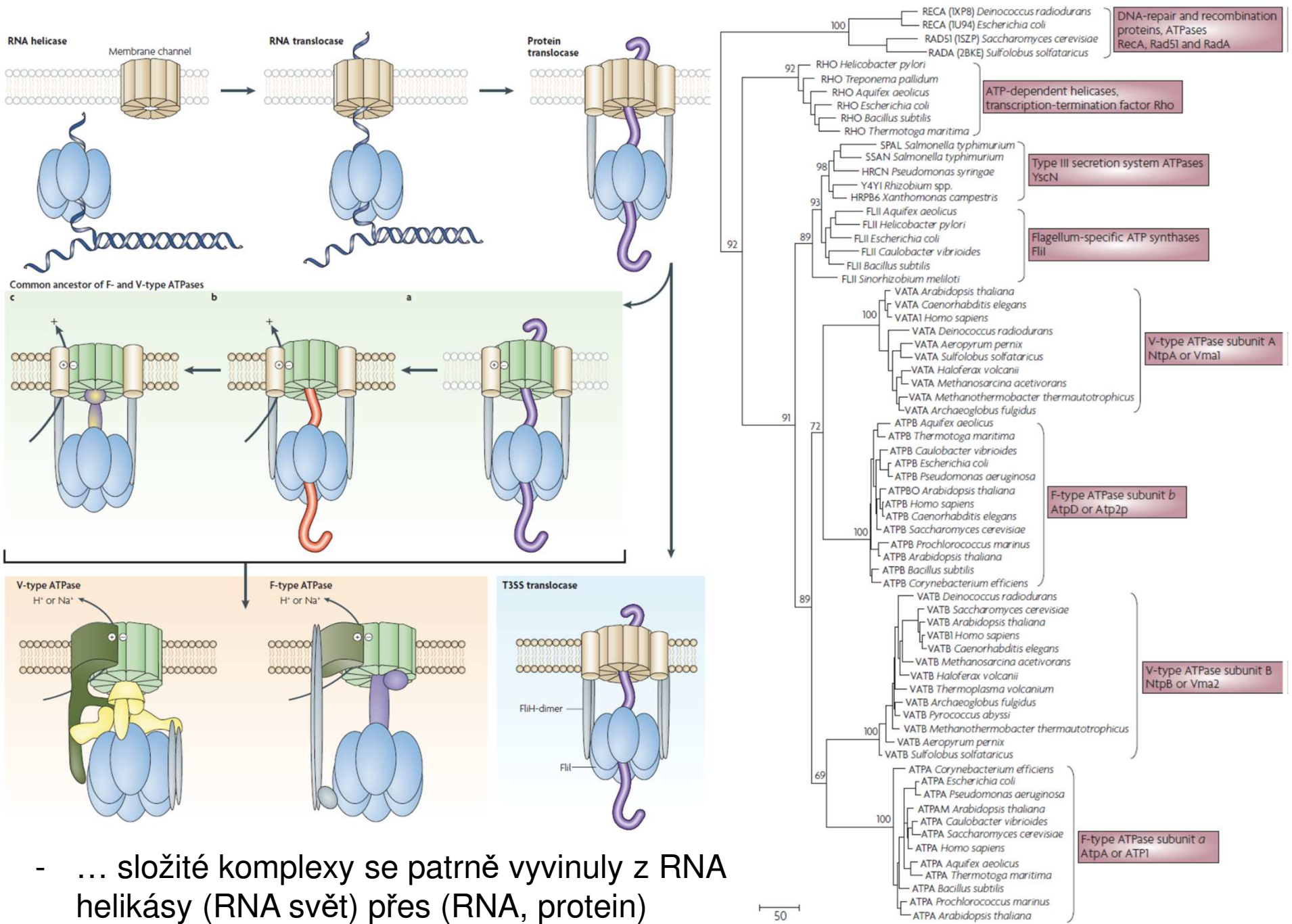


Trends in Biochemical Sciences

- 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

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

Souhrn

Průběh evoluce je ovlivněn mnoha faktory

- Selektivní tlaky udržující funkční a stabilní (dříve vytvořené) komplexy
- Mutace modifikující proteiny/komplexy (drift)
- Duplikace a neofunkcionalizace (mutace) je hnací silou vzniku nových komplexů – funkcí – buněk - organismů

Praktické implikace (pro zkoušku)

- analýza sekvenční podobnosti (stupeň konzervace)
 - napoví o přítomnosti domén (alignment – podobné AMK, doplnit analýzou sek. a terc. struktury)
 - projekce podobnosti do 3D modelu (ConSurf, PatchFinder) - konzervovaná struktura tj. vnitřní AMK držící fold (u ortologů i paralogů)
 - konzervované PPI kontaktní zóny na povrchu proteinu (povrchové AMK jsou konzervované pouze u ortologů – ne u paralogů - pokud jsou v alignmentu i paralogy, pak podobnost nevidíte)