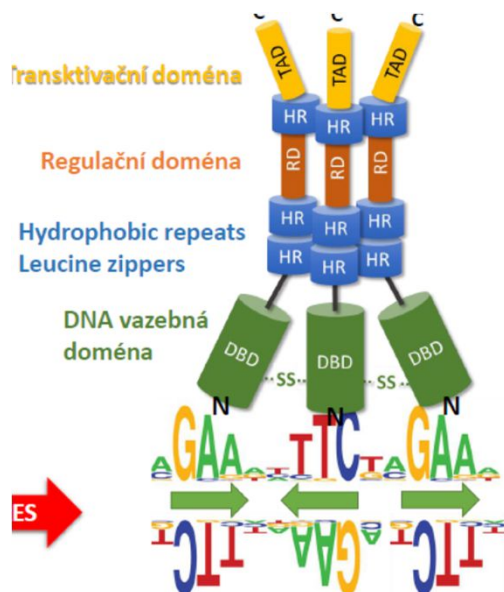
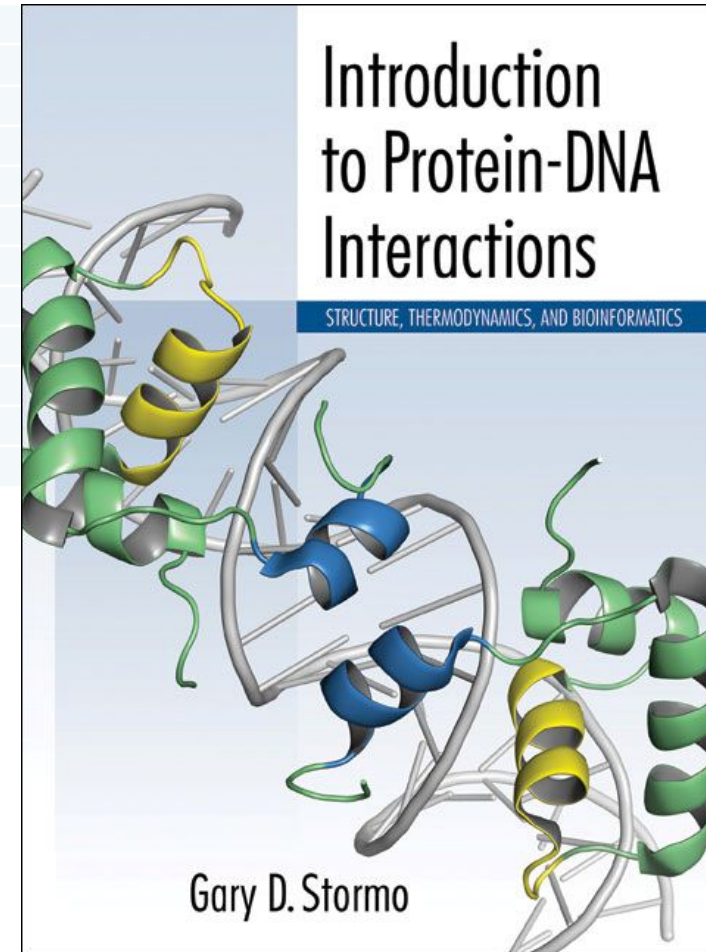


DNA-proteinové komplexy

doc. Paleček	Úvod, analýza komplexů
doc. Paleček	Úvod, PPI, skládání komplexů
Dr. Muller	Chaperony
Mgr. Adamus	Ubiquitinace, ligasy (cullin, APC), proteasom
doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, vazebné motivy
doc. Paleček	DNA-proteinové interakce, transkripční komplexy
Mgr. Balkoová	replikace DNA
Dr. Šebesta	Oprava DNA, homologní rekombinace
Dr. Blažek	Cyclin/CDK komplexy v buněčném cyklu a transkripci
doc. Paleček	Chromatinové komplexy
doc. Paleček	Evoluce proteinových komplexů
doc. Paleček	Zkouška - test



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

DNA-proteinové komplexy

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

G
E
N
O
M

NPIDB Home

Database of structures of nucleic acid - protein complexes

Home Browse Download Help About Us

Search

Search | PDB:

Search

PDB Pfam SCOP GO terms Fuzznuc BLAST

NPIDB

The resource NPIDB (Nucleic acid – Protein Interaction DataBase) includes a collection of files in the PDB format containing structural information on DNA-protein and RNA-protein complexes, and a number of online tools for analysis of the complexes. The tools are: an original program CluD for analysis of hydrophobic clusters on interfaces, program for detecting potential hydrogen bonds and water bridges, visualization of structures with [Jmol](#). Information on SCOP and Pfam domains detected in protein chains is presented.

Reference: Kirsanov et al. [NPIDB: nucleic acid–protein interaction database](#). Nucleic Acid Research, Volume 41 Issue D1 D517-D523 (January 2013)

List of complexes □

Structures of protein-nucleic acid complexes are extracted from [Protein Data Bank \(PDB\)](#) as files in the PDB format.

As of **27.11.2013** there are **4482** structures.

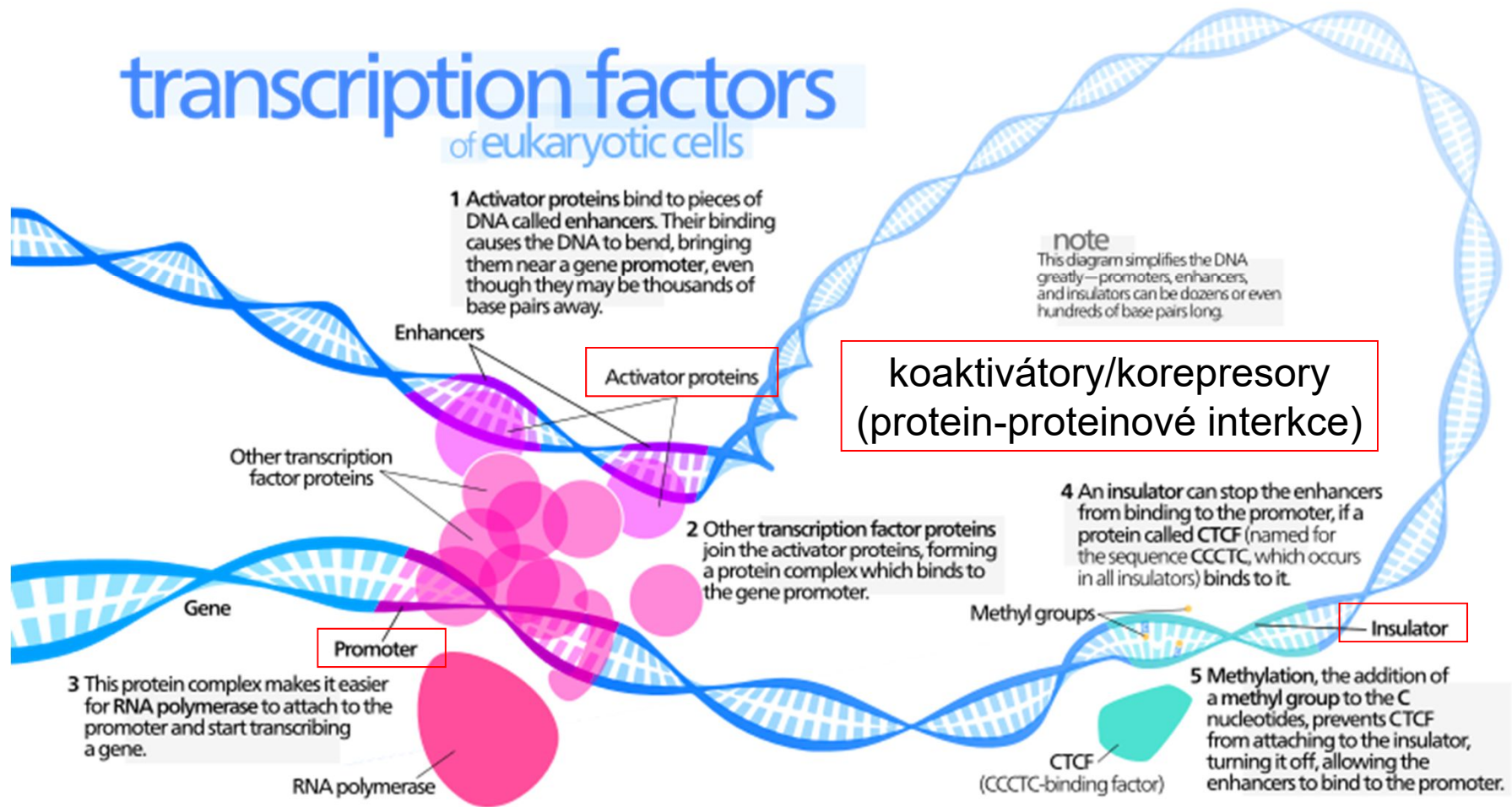
[Each individual complex](#) has its own web page, containing general information, links to other resources (e.g., PDBsum and BIPA), a table describing biological units or models, tables describing Pfam and SCOP domains in protein chains, and the list of available actions (including Jmol visualization)

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

2500 struktur v PDB (v roce 2014)

Komplexy spojené s transkripcí

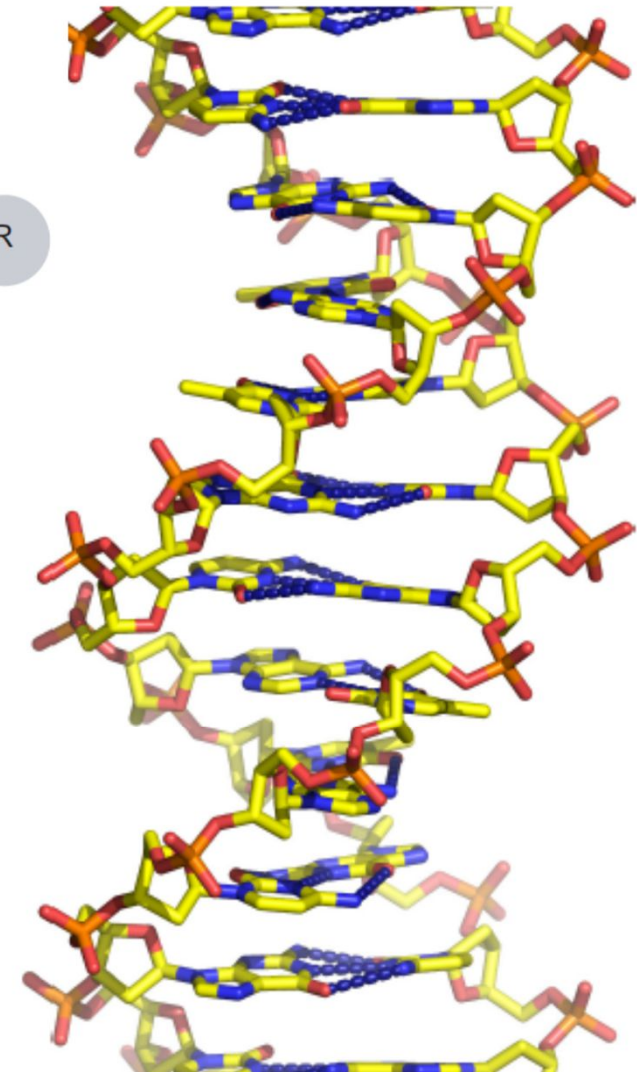
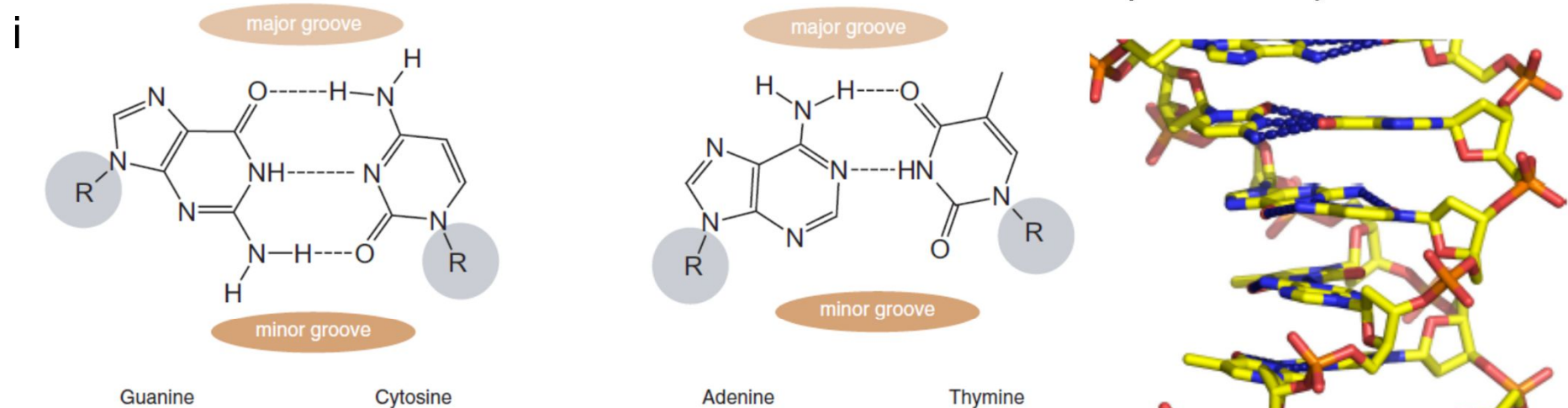
DNA-vazebné motívy špecifických transkripčných faktorů (enhanceosom)
Obecné TFII komplexy a proces transkripce



koaktivátory/korepresory
(protein-proteinové interkce)

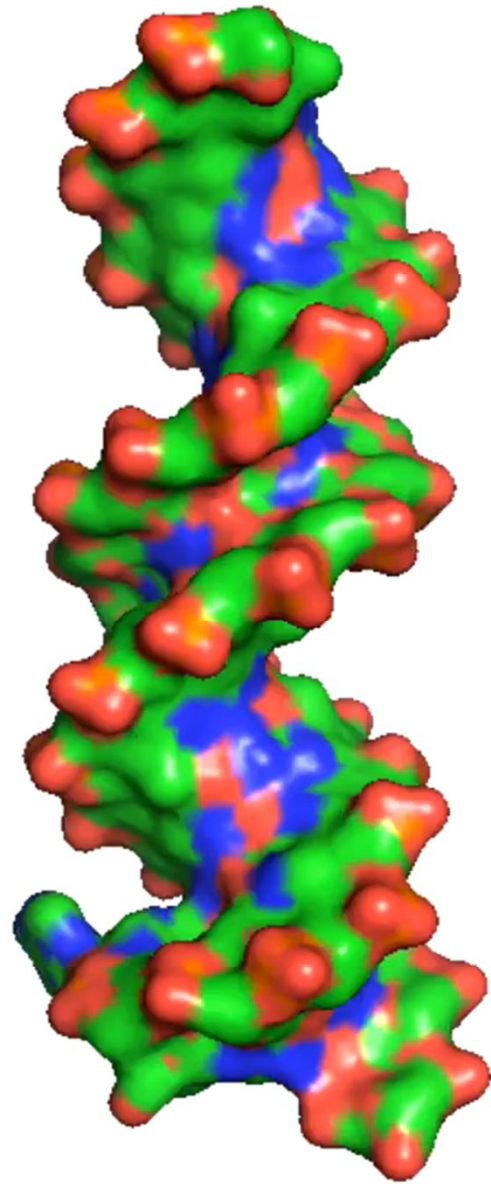
Enhanceosom

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

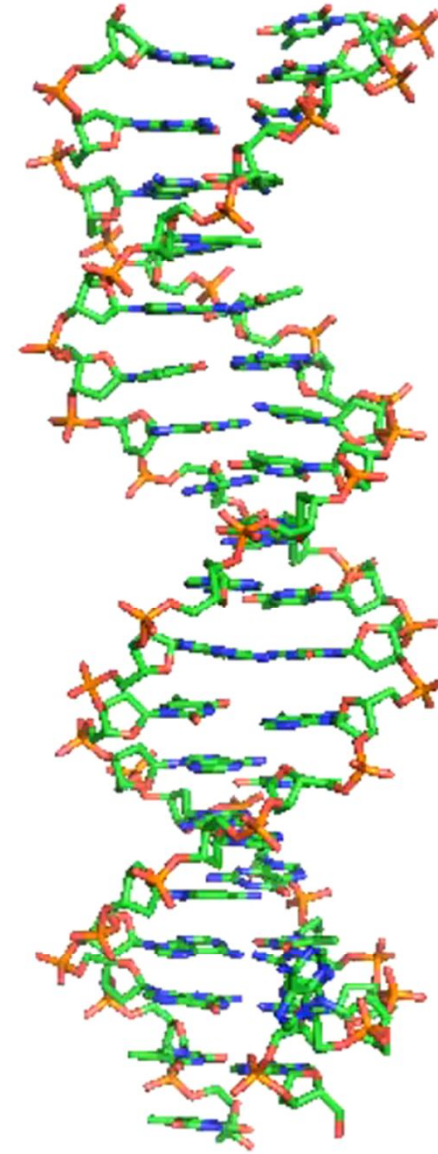


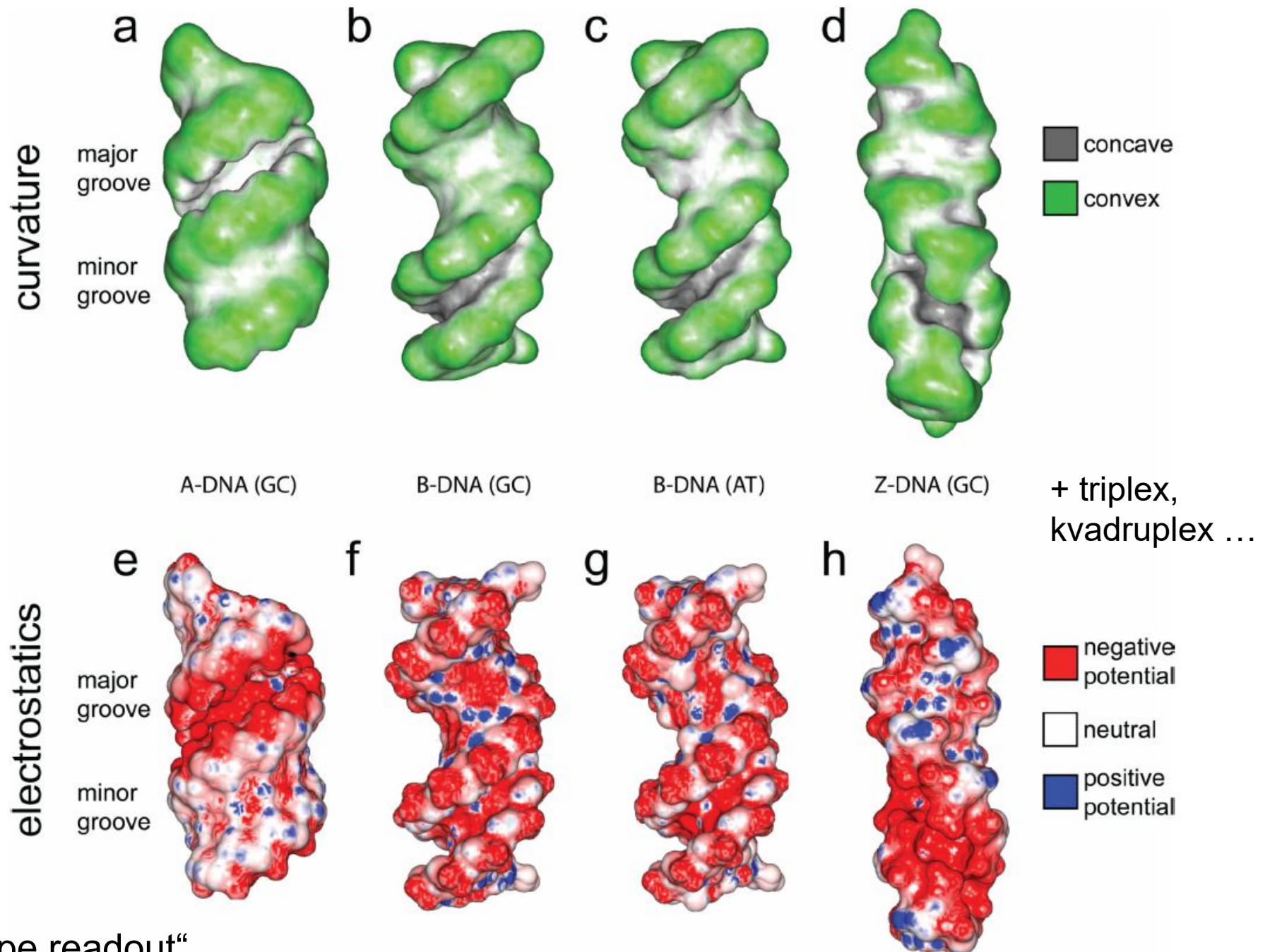
- proteiny interagují s cukrfofátovou kostrou (fosfát) nebo přes žlábký s bazemi (vod. vazba, tvar šroubovice)
- Interakce sekvenčně nespecifické (kostra – histony; strukturně specifické – HMG proteiny) nebo sekvenčně specifické (kostra+žlábký – kombinace: *Bgl*II (AGATCT) a *Bam*HI (GGATCC) kontaktují stejné báze a „čtou“ zakřivení okolní DNA ...)

„shape readout“
zakřivení kostry souvisí se sekvencí



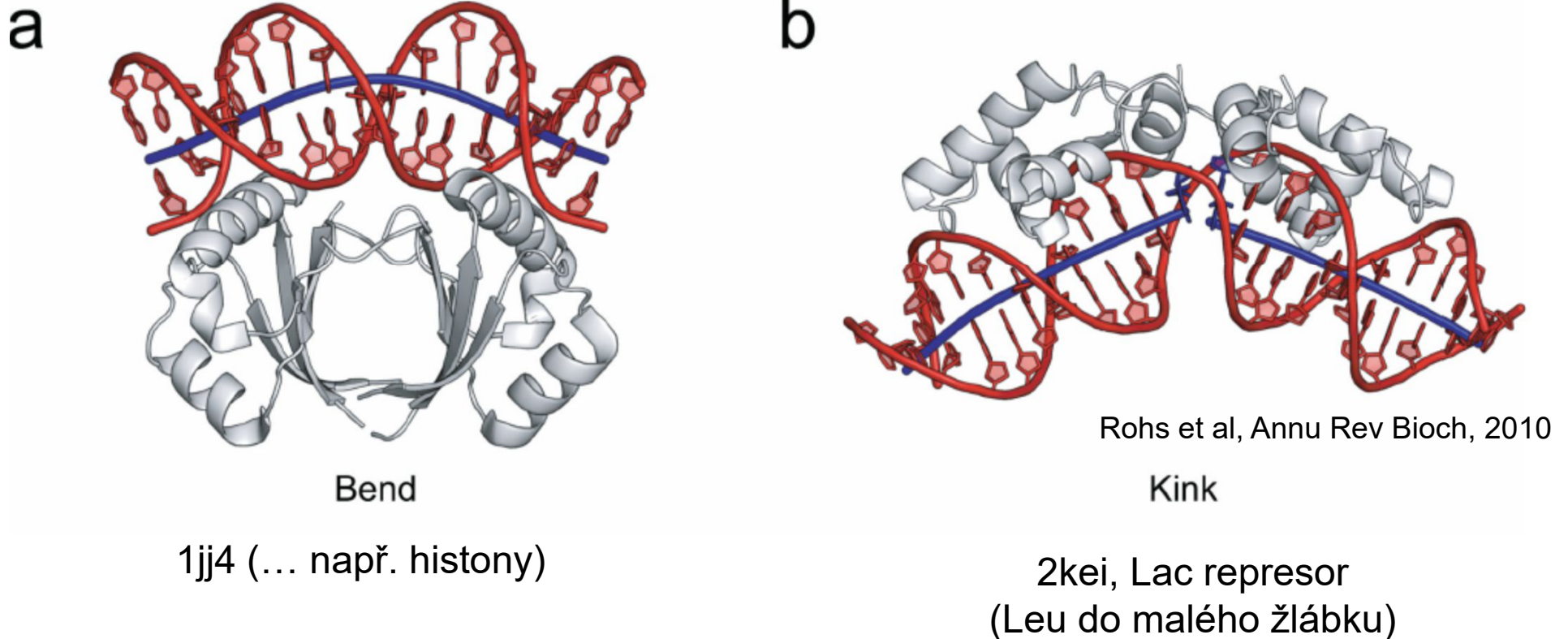
B-DNA





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

Vazba DNA-protein může indukovat změny



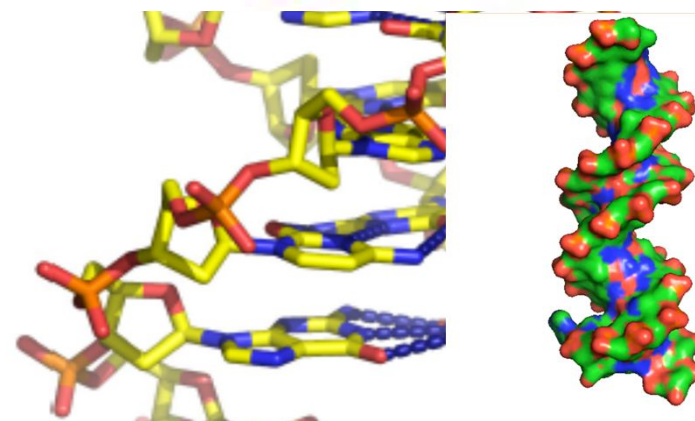
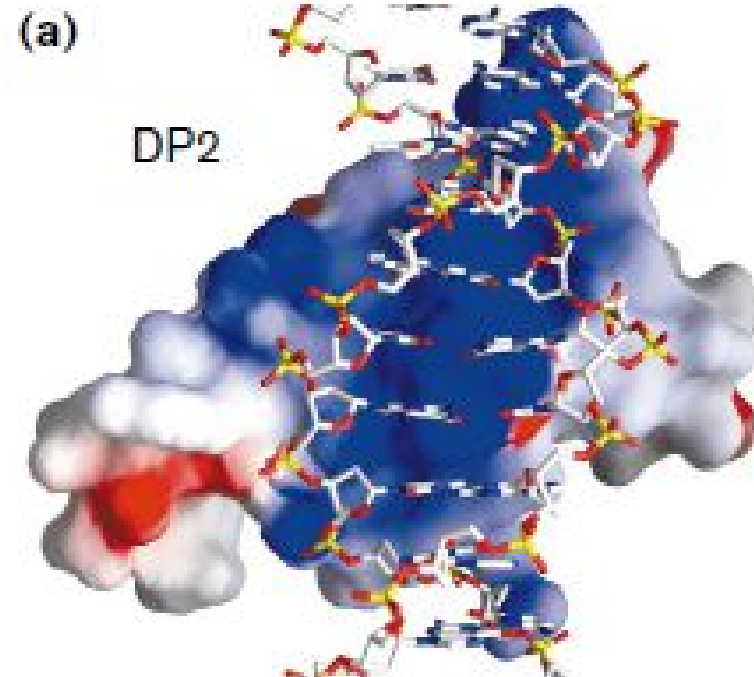
- vazba proteinu může indukovat změny ve struktuře DNA
- vazba DNA na protein často indukuje změny v jeho struktuře
- případně u nestrukturovaných proteinů strukturu indukuje (c-Jun/c-Fos = šroubovice až po navázání dimeru na DNA)

Vazba proteinů s DNA prostřednictvím solných můstků

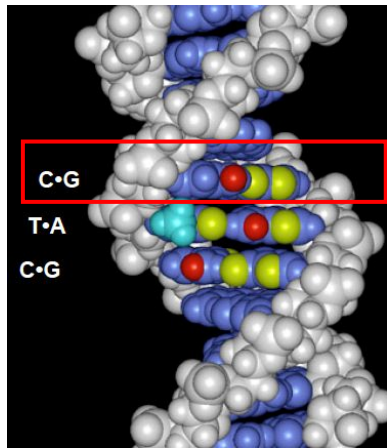
- fosfáty mohou interagovat s **Arg** a **Lys** – solné můstky/salt bridges (pozitivní náboje Arg a Lys vytváří vazbu s negativním nábojem fosfátové skupiny)
- Elektrostatický náboj/povrch naznačuje vazebné schopnosti proteinu

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

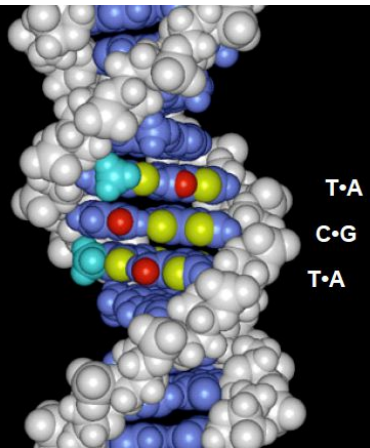
Atom type (PDB entry)	Residue	Relative charge
NZ	Lys	1.00
NH1	Arg	0.50
NH2	Arg	0.50
OE1	Glu	-0.50
OE2	Glu	-0.50
OD1	Asp	-0.50
OD2	Asp	-0.50
OXT	All residues	-1.00
N	All residues	-0.10
CA	All residues	0.10
C	All residues	0.55
O	All residues	-0.55



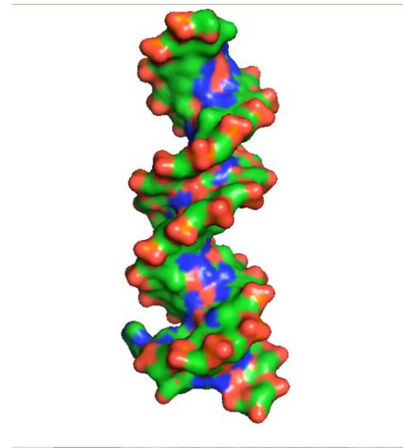
Major groove



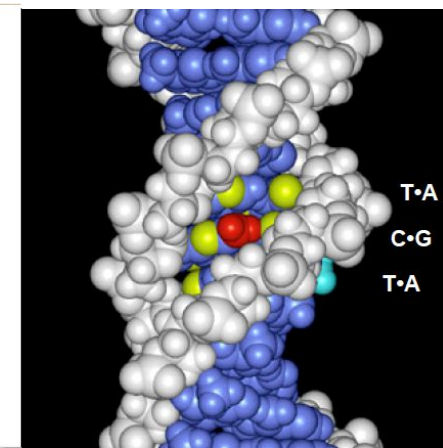
Major groove



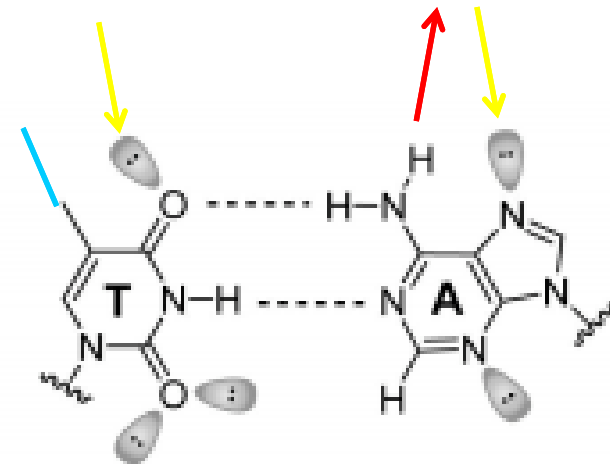
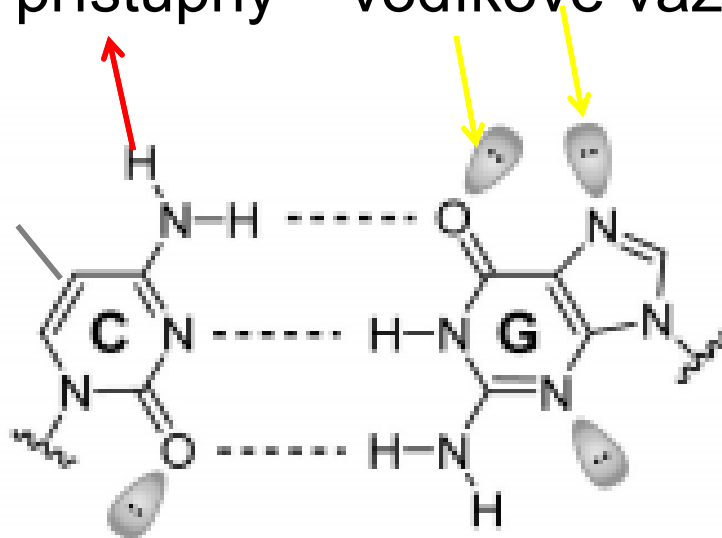
Minor groove

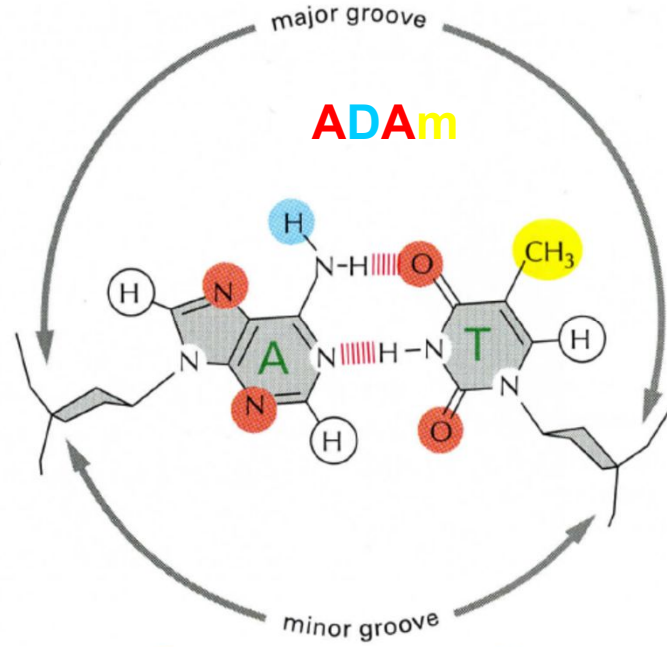
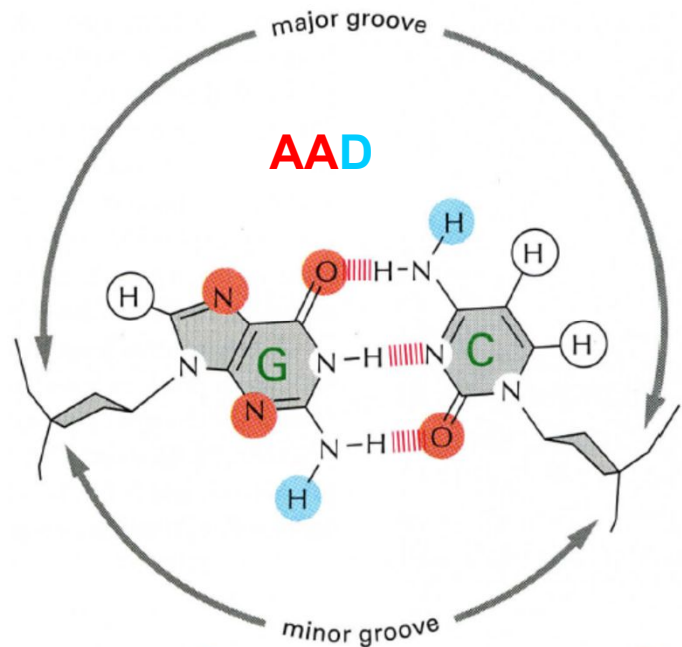
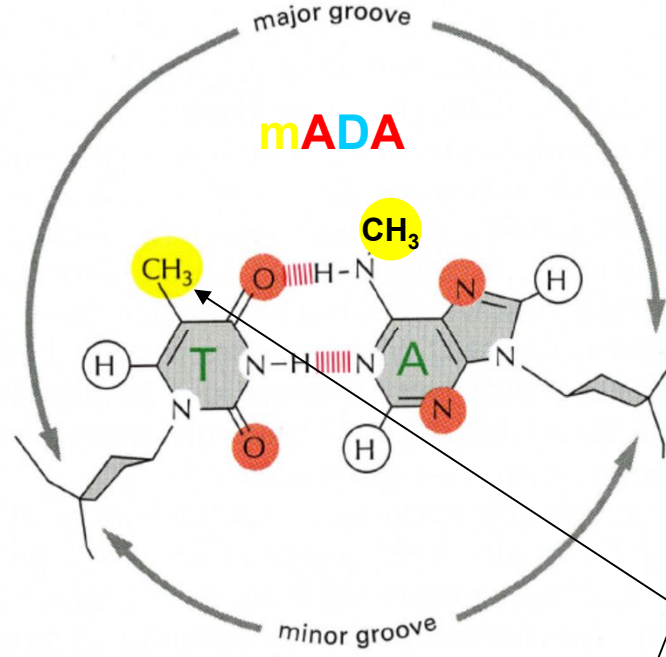
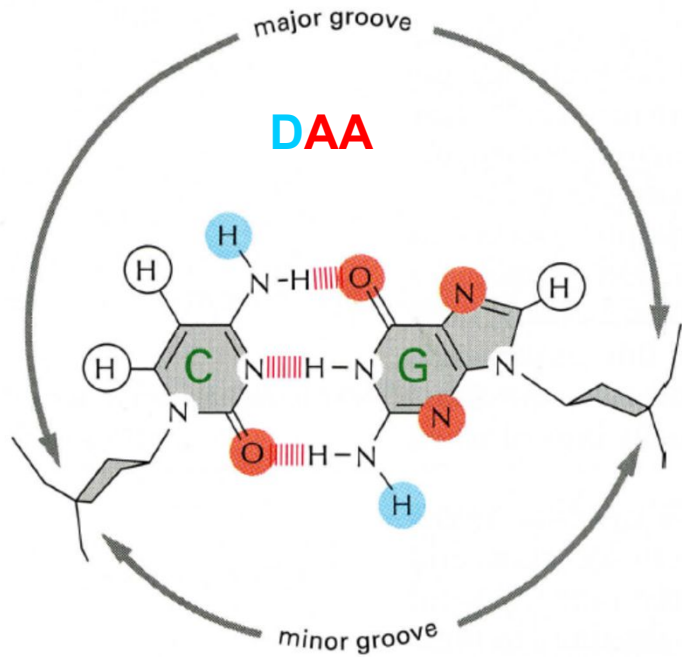


Minor groove



sekvenčně-specifický protein kontaktuje báze („direct“ readout) – skrze velký nebo malý žlábek – **velký žlábek** je lépe přístupný – vodíkové vazby (donor vs akceptor elektronu)









Jak odliší
protein různé
páry bází?

“base readout”

Pozice donor vs
akceptor
+ metyl skupina

Metylace Ade
(C6NH₂) u bakterií
změna!

KEY:

-  = H-bond acceptor
-  = H-bond donor
-  = hydrogen atom
-  = methyl group

Vazba proteinů s DNA prostřednictvím vodíkových vazeb

- **Velký žlábek** má velikost odpovídající rozměrům α -šroubovice a má exponované H-vazebné skupiny
- Ade zbytky C-6(NH₂) a N-7 mohou tvořit specifické vodíkové vazby s **Gln** a **Asn**
- Gua může tvořit specifické vodíkové vazby s **Arg**

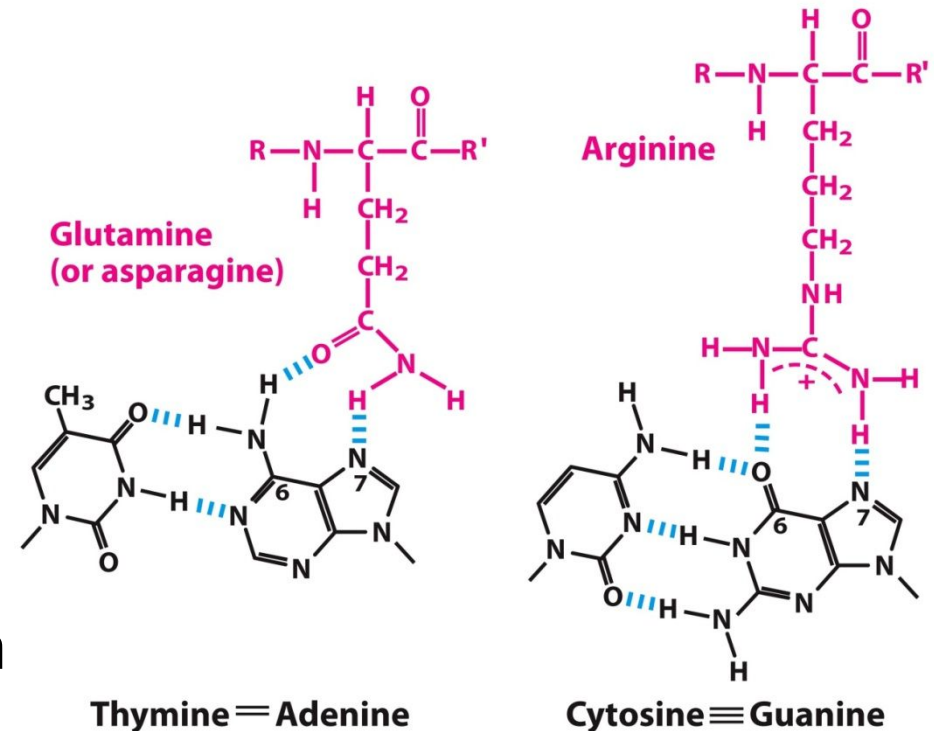
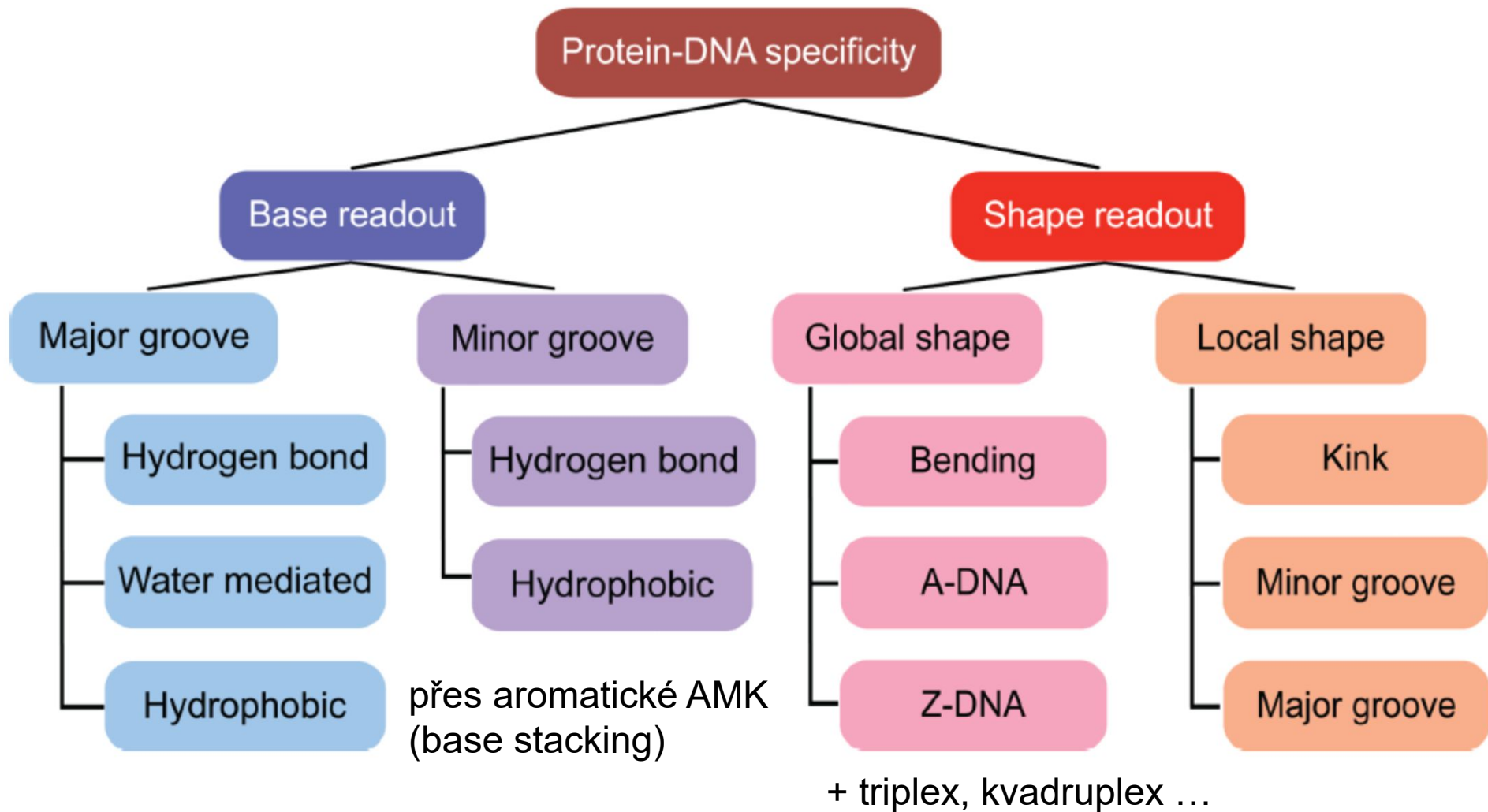


Figure 28-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

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



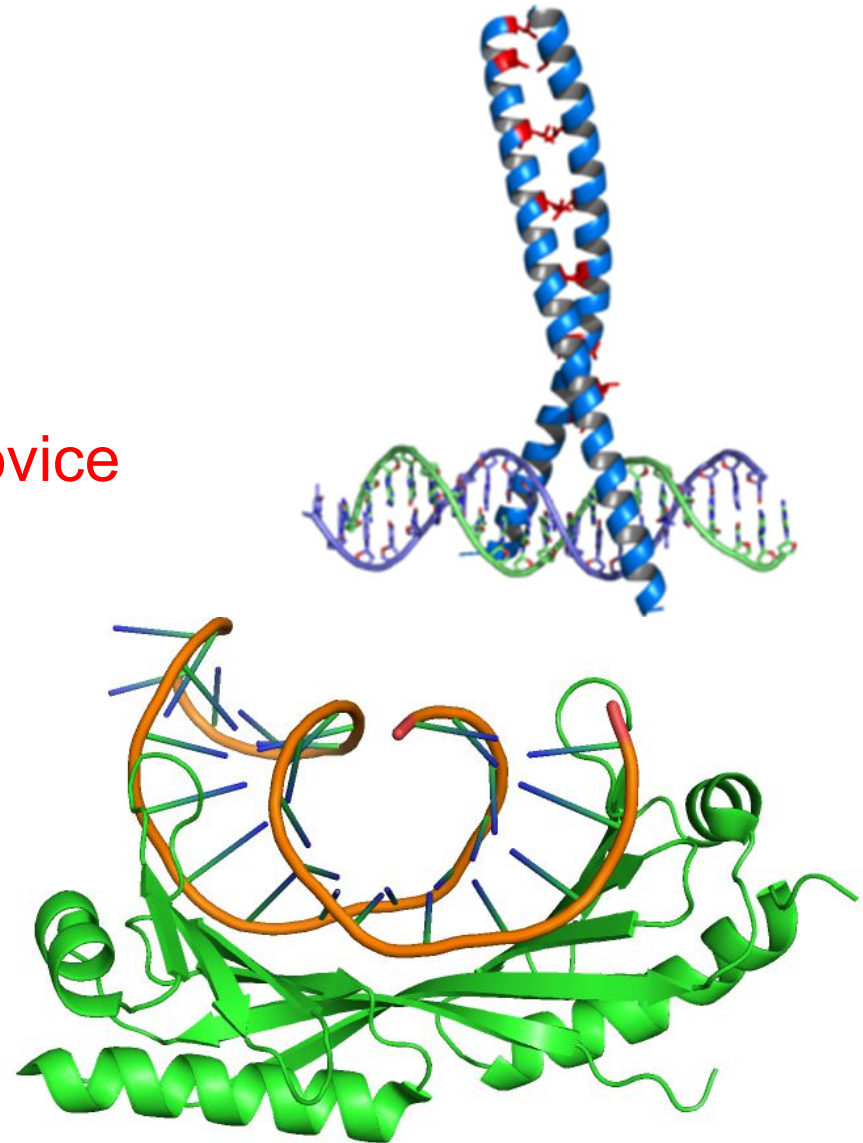
- více jak 70 SCOP superrodin (strukturních motivů)
- dle sekundárních struktur – α -šroubovice (17), β -listy (7), smíšené α/β motivy (48)

Motivy DNA vazebných domén

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

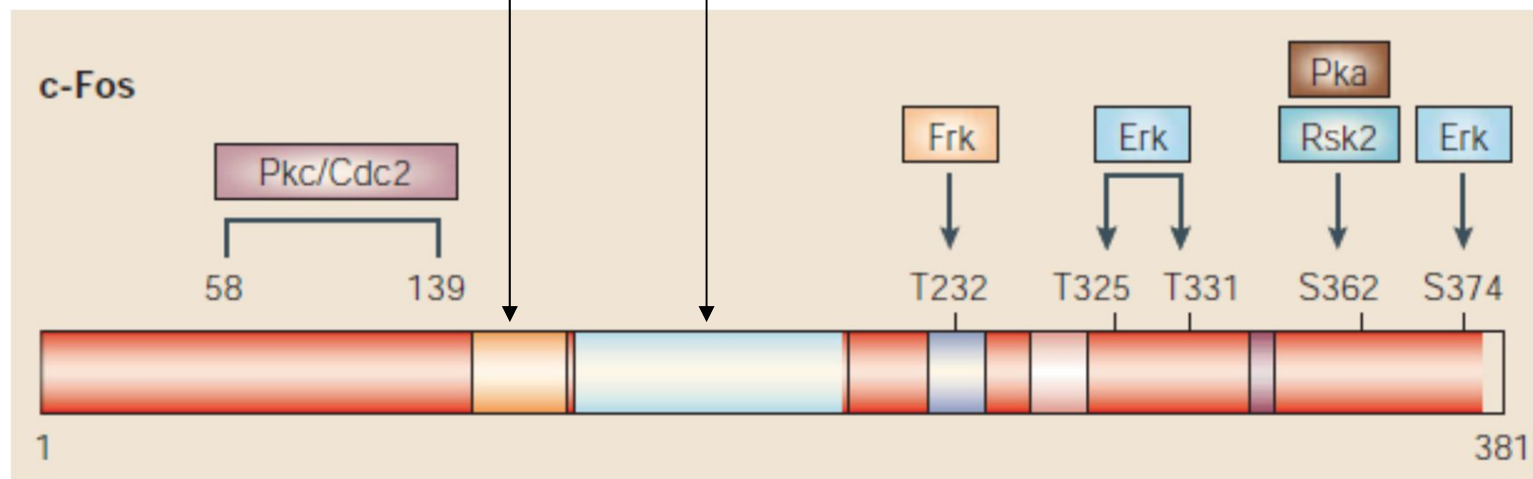
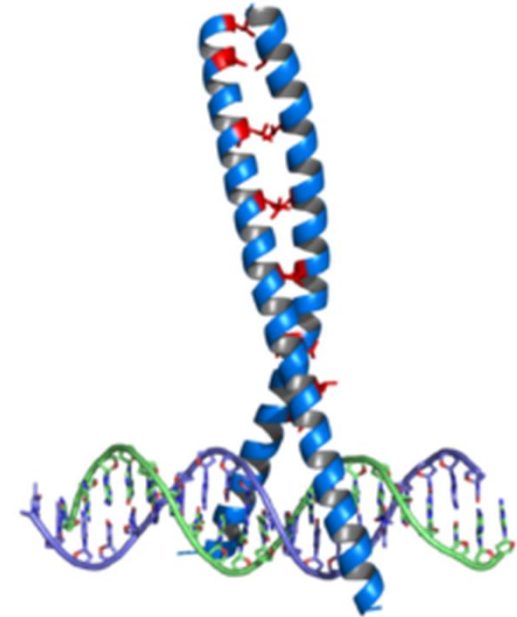
α -šroubovice

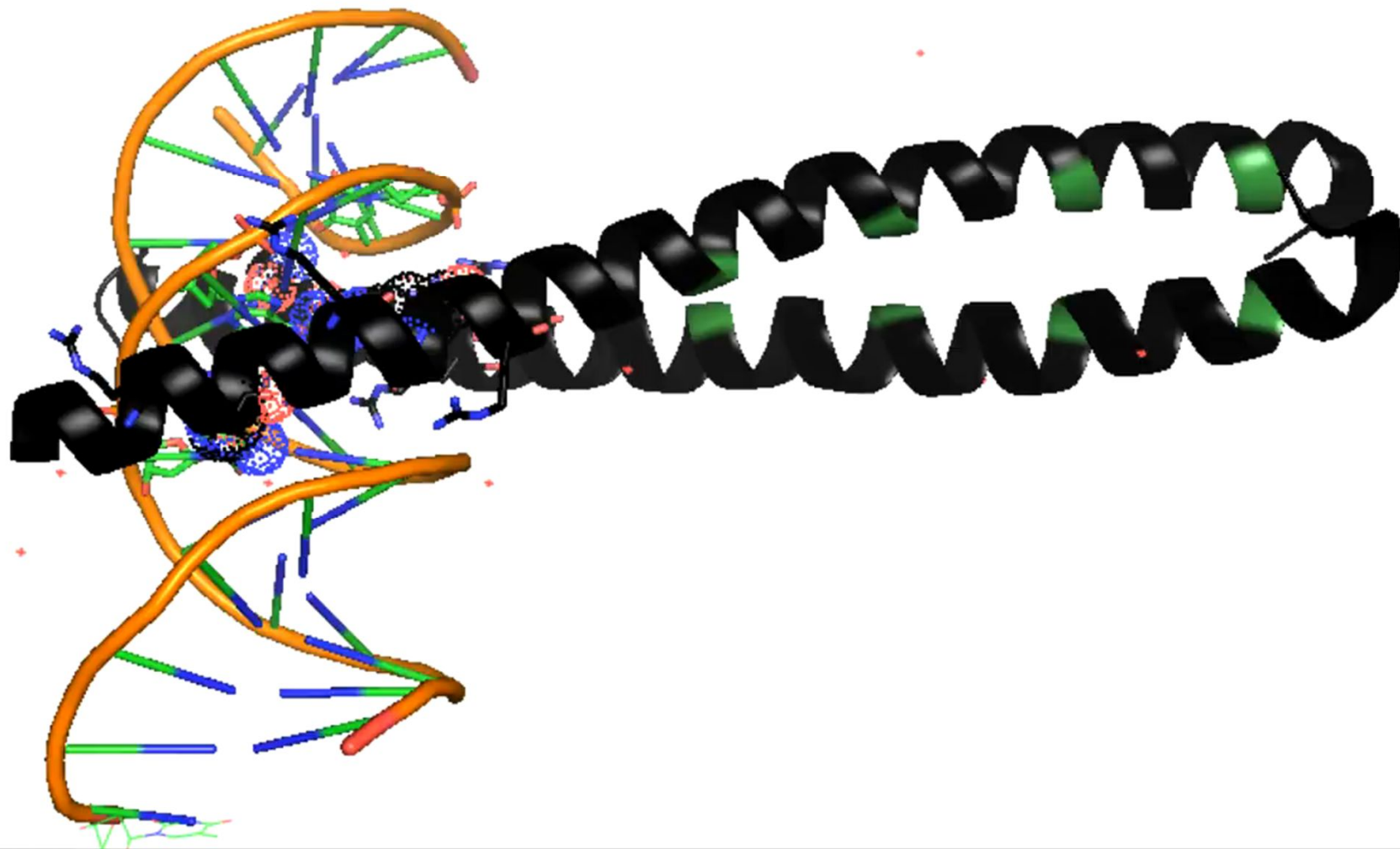
β -listy



Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ** (dle způsobu dimerizace)
 - **Leucinový zip** (tzv. bZIP = basic)
(transkr. fakt. γ GCN4, c-Jun/c-Fos=AP-1)
 - 2 α -šroubovice
 - coiled-coil (>30AMK, Leu, C-term)
 - bazická část (N-terminus, navazuje na CC)
 - bazická šroubovice vázána do VŽ



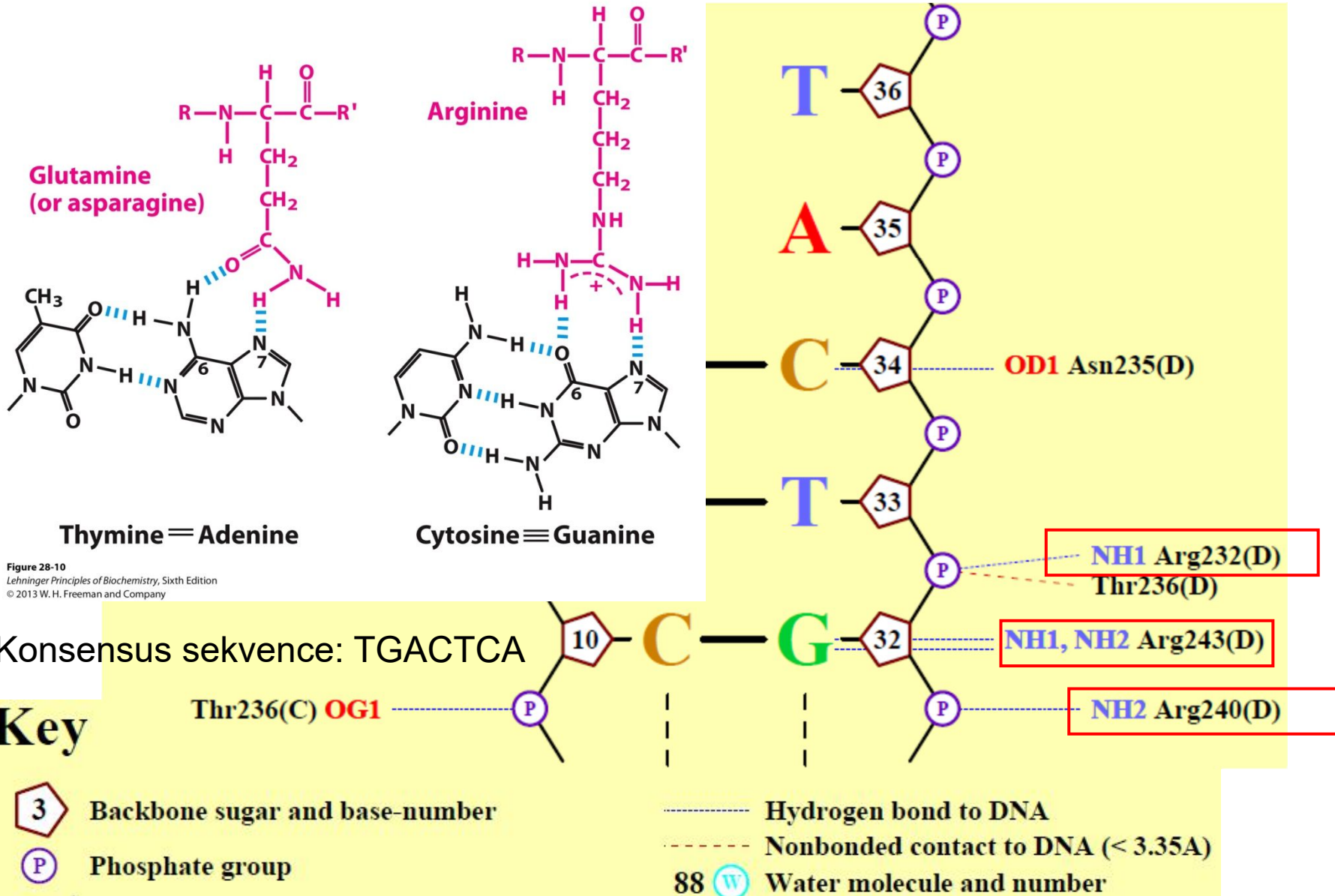


Interakce bazických AMK: Arg(232+240)=PO₄, Arg(243)=Gua

Konsensus sekvence: TGACTCA

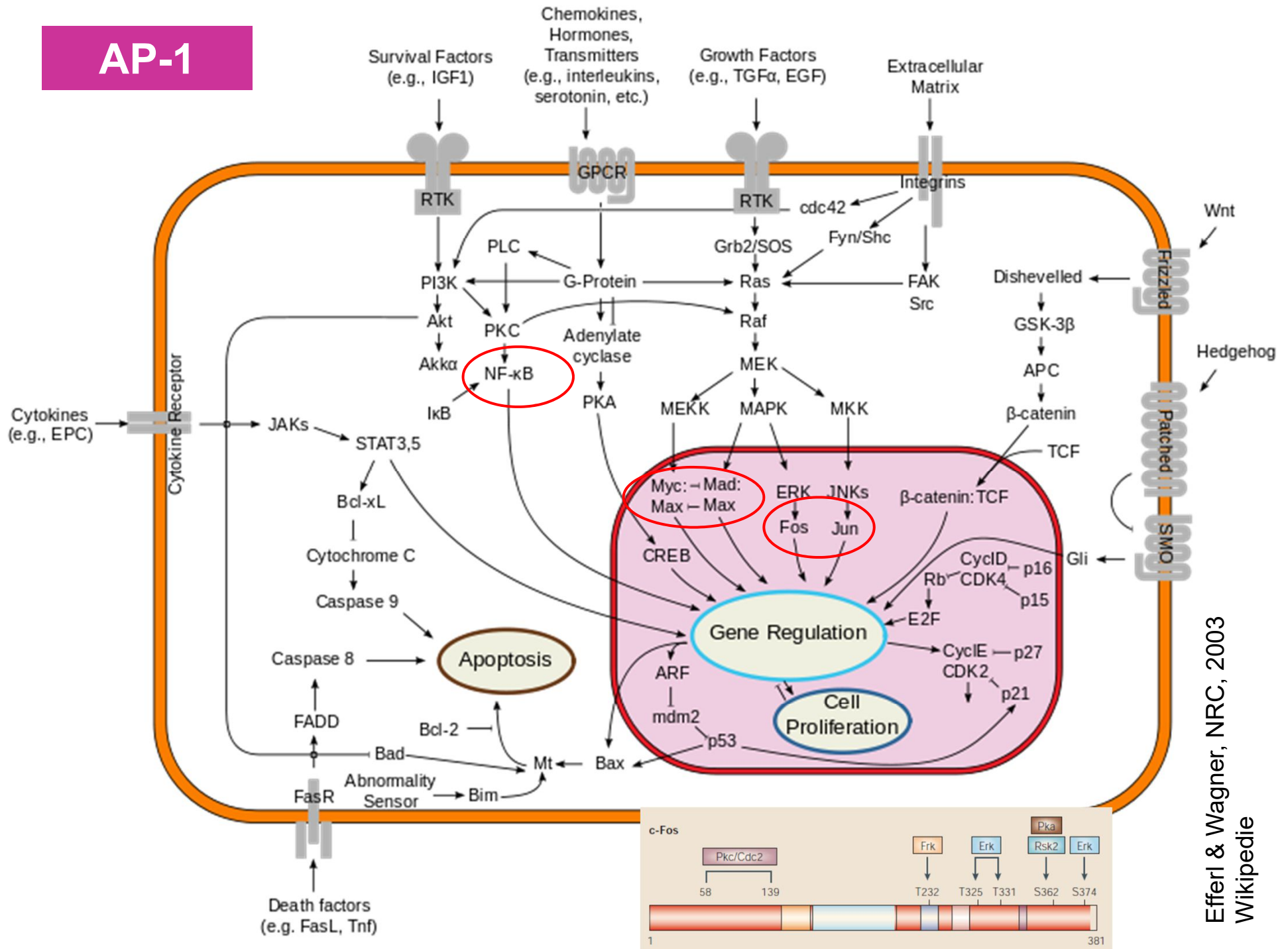
GCN4 – regulace genů pro syntézu AMK

PDB: 1YSA

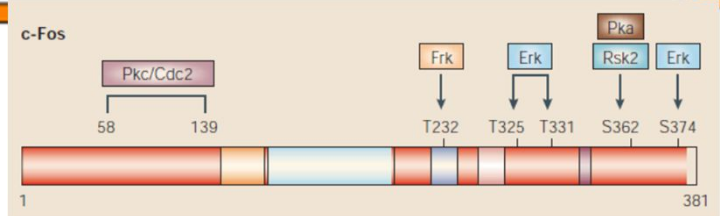


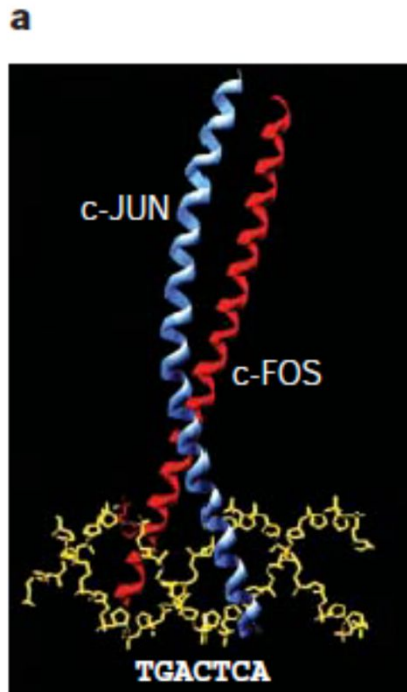
Jones a spol., NAR, 2003

AP-1

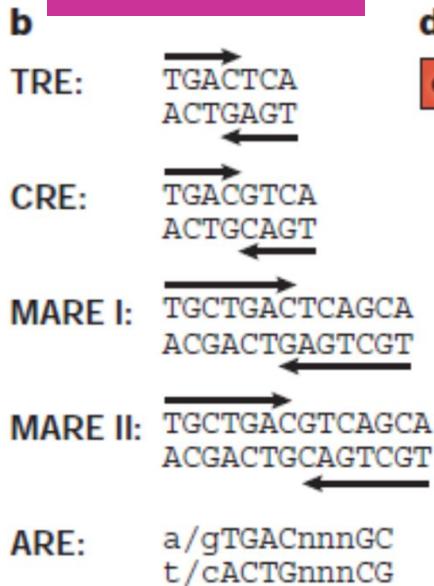


Efferl & Wagner, NRC, 2003
Wikipedie





AP-1



c homo/hetero

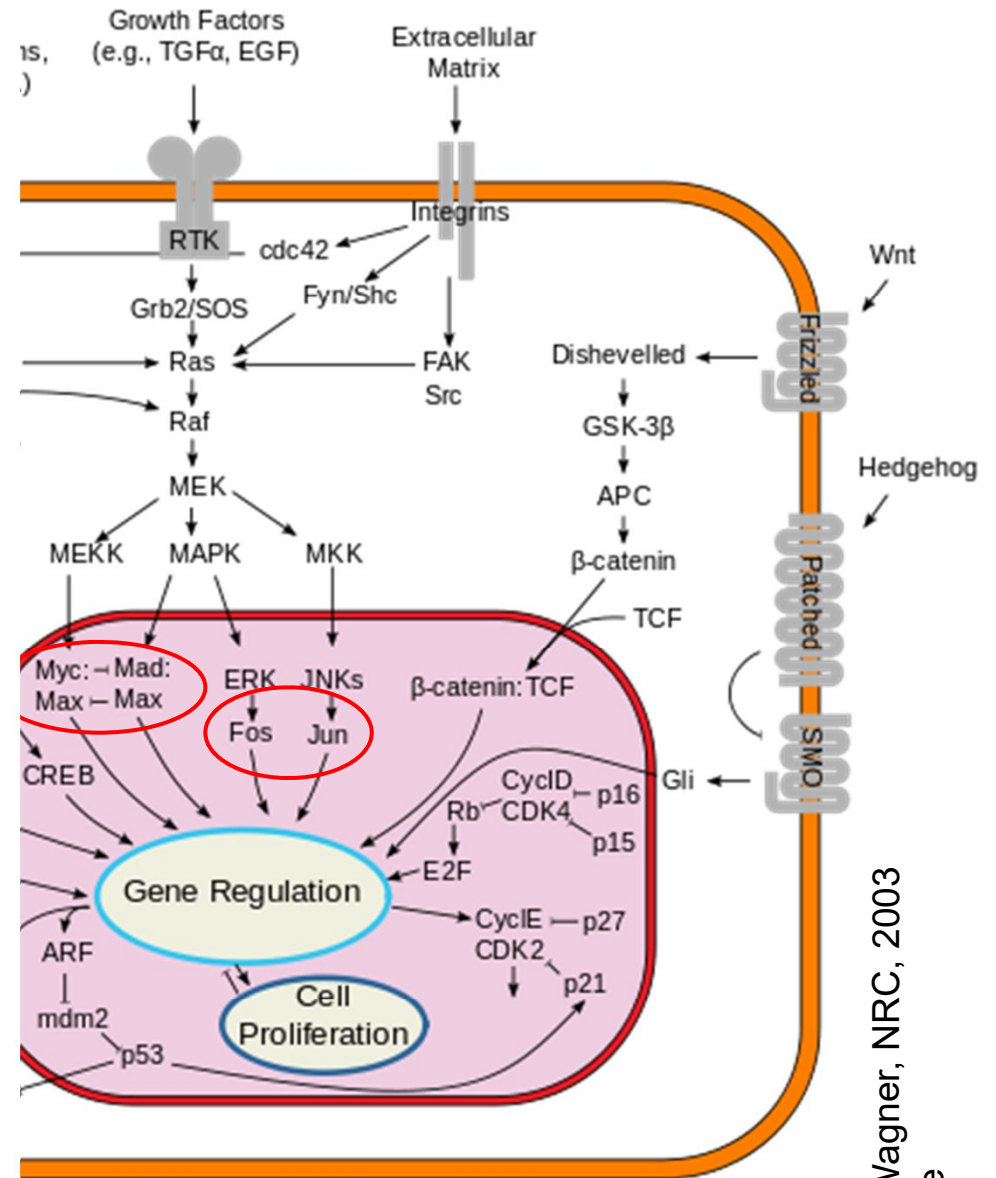
c-JUN	c-JUN	(TRE > CRE)
	JUNB	(TRE > CRE)
	JUND	(TRE > CRE)
	FOSB	(TRE > CRE)
	FRA1	(TRE > CRE)
	FRA2	(TRE > CRE)
	ATFa	(TRE = CRE)
	ATF2	(CRE > TRE)
	ATF3	(CRE > TRE)
	ATF4	(CRE)
	B-ATF	(TRE > CRE)
	c-MAF	(MARE I/II)
	MAFA	(MARE I/II)
	NRL	(TRE-related)
	MAFF/G/K	(MARE I/II)
	NRF1	(ARE)
	NRF2	(ARE)
	NFIL-6	(TRE)

d heterodimery

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

(e.g. FasL, Int)

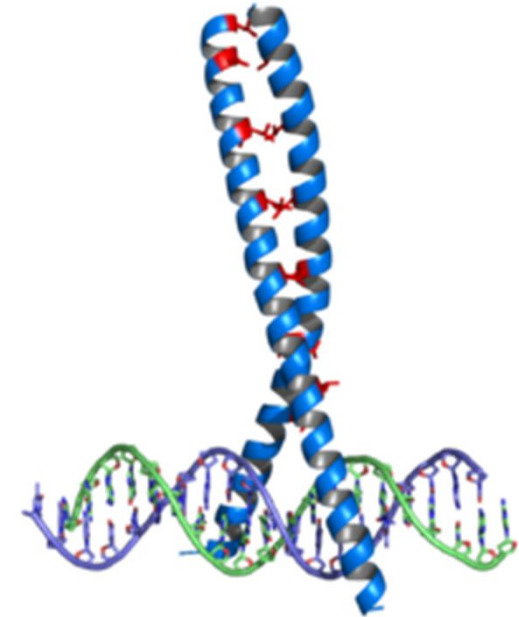
Kombinace – rŭzn specifita/afinita



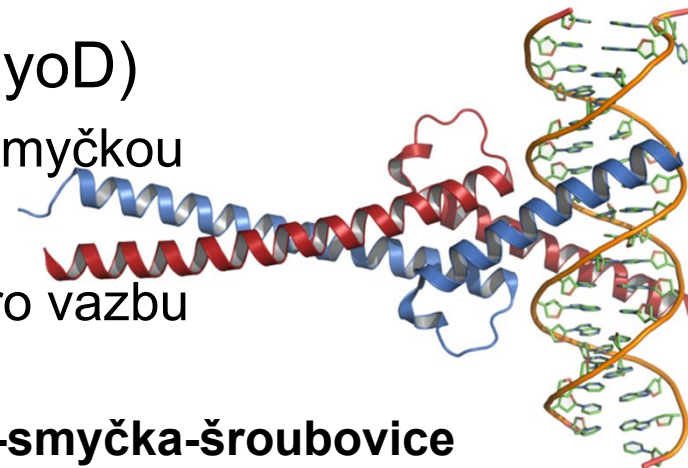
Efferl & Wagner, NRC, 2003
Wikipedie

Motivy DNA vazebných domén

- **Zipper typ** (dle způsobu dimerizace)
 - **Leucinový zip** (tzv. bZIP = basic – transcr. fact. yGCN4, c-Jun/c-Fos)
 - 2 α -helixy (2 x 60 AMK)
 - coiled-coil (30AMK, Leu, C-term)
 - bazická část (N-terminus, navazuje na CC)
 - bazická šroubovice vázána do VŽ



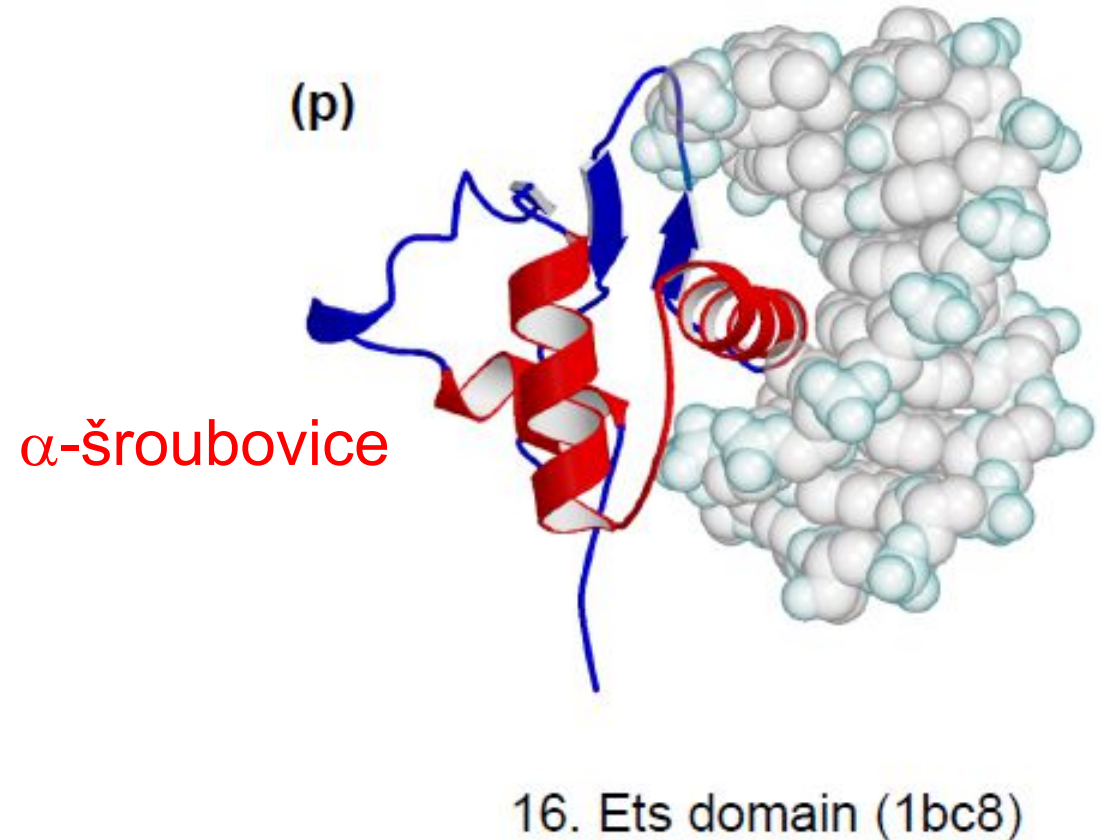
- **Helix-loop-helix** (c-Myc/Max, MyoD)
 - CC a bazické části jsou odděleny smyčkou
 - bazická šroubovice vázána do VŽ
 - smyčka poskytuje větší flexibilitu pro vazbu



šroubovice-smyčka-šroubovice

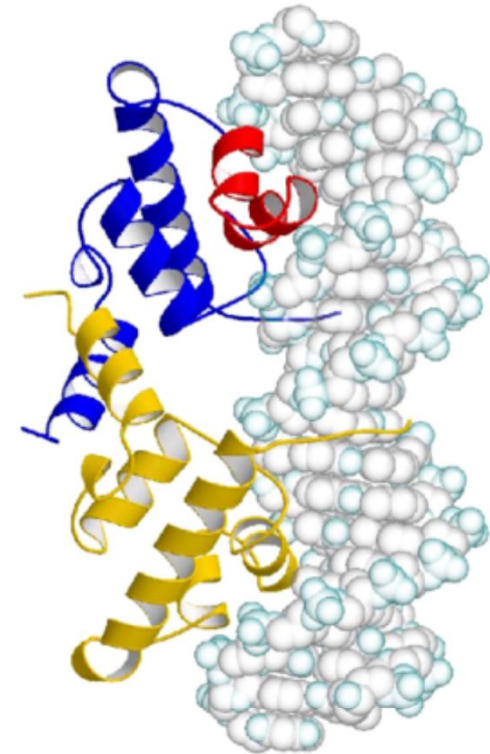
Motivy DNA vazebných domén

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

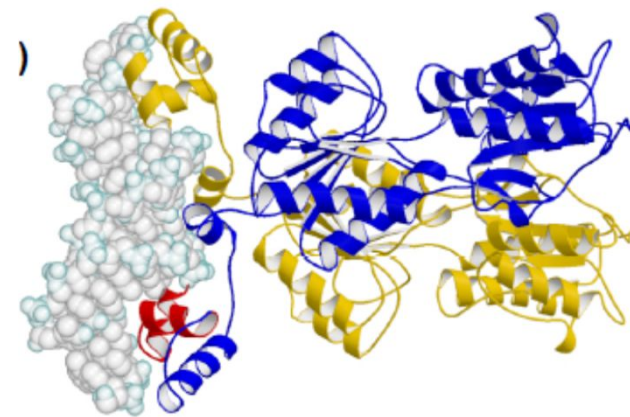


Helix-turn-helix motiv (HTH)

- Obsahuje ~ 20 AMK ve dvou šroubovicích vzájemně kolmých
 - α -helix pro vazbu na DNA („recognition“) - β -obrátka – druhá šroubovice
 - Sekvenčně-specifická vazba prostřednictvím „recognition“ šroubovice a velkého žlábků
 - nejčastější motiv u prokaryot - homodimery vážou palindrom. sekvence
 - HTH motiv se obvykle vyskytuje ve svazku 3-6 šroubovic (stabilizovaných hydrofobním jádrem)
 - motiv může být buď součástí hlavního proteinu (Cro) nebo z něj může pouze vybíhat (LacI)



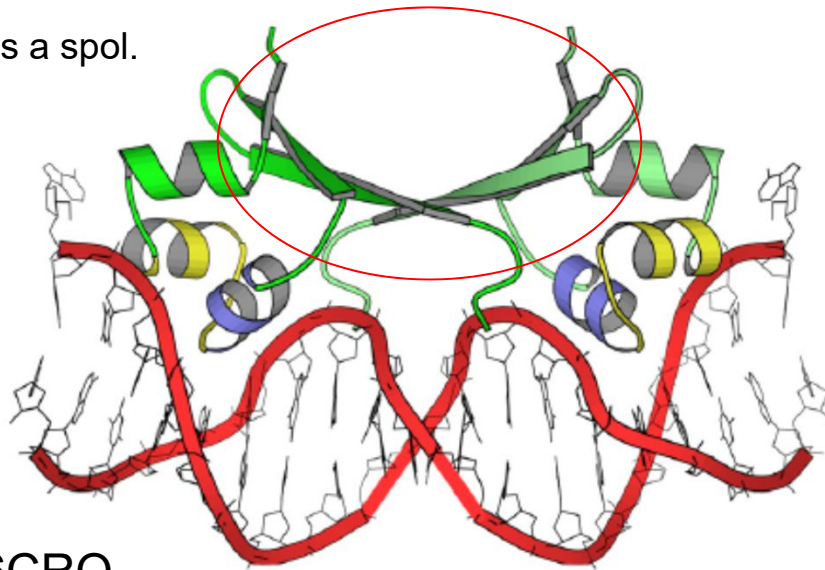
1. Cro and Repressor (1lmb)



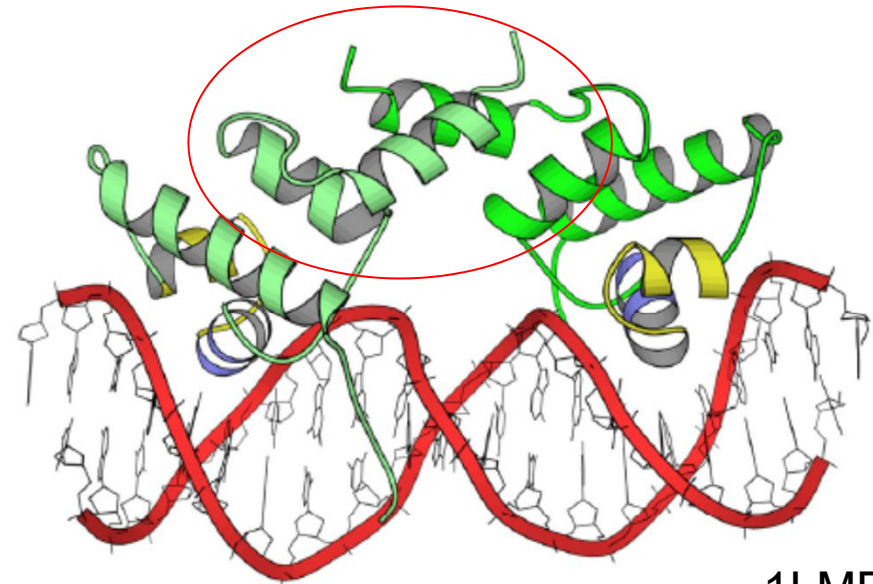
Luscombe et al, Genome Biology, 2000

3. LacI repressor (1wet)

Liljas a spol.



6CRO



1LMB

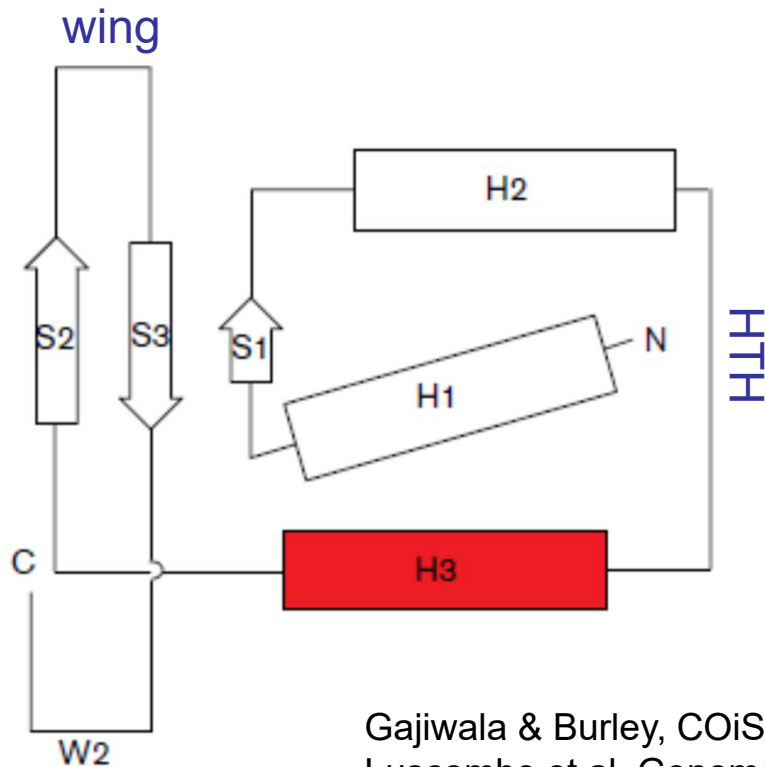
Helix-turn-helix motivy (spojené listy nebo šroubovicemi) –
odstup HTH (34Å) odpovídá jedné otáčce B-DNA

Sekvenčně se různé HTH příliš nepodobají

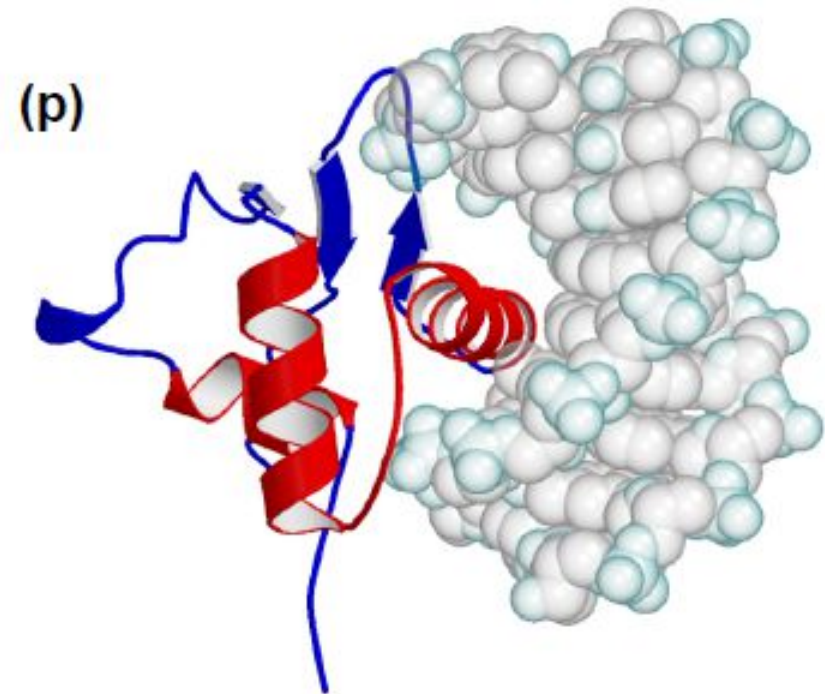
1. variabilita v rozpoznávaných sekvencích DNA
2. variabilita v pozici „recognition“ šroubovice ve velkém žlábků (paralelně k rovině bazí nebo delší šroubovice jsou paralelně k cukr-fosfátové kostře)

„Winged“ helix (okřídlená šroubovice)

- „winged“ HTH obsahuje „recognition“ šroubovici (**H3**) a β -listy, které poskytují další kontakty s DNA (smíšený α/β typ)



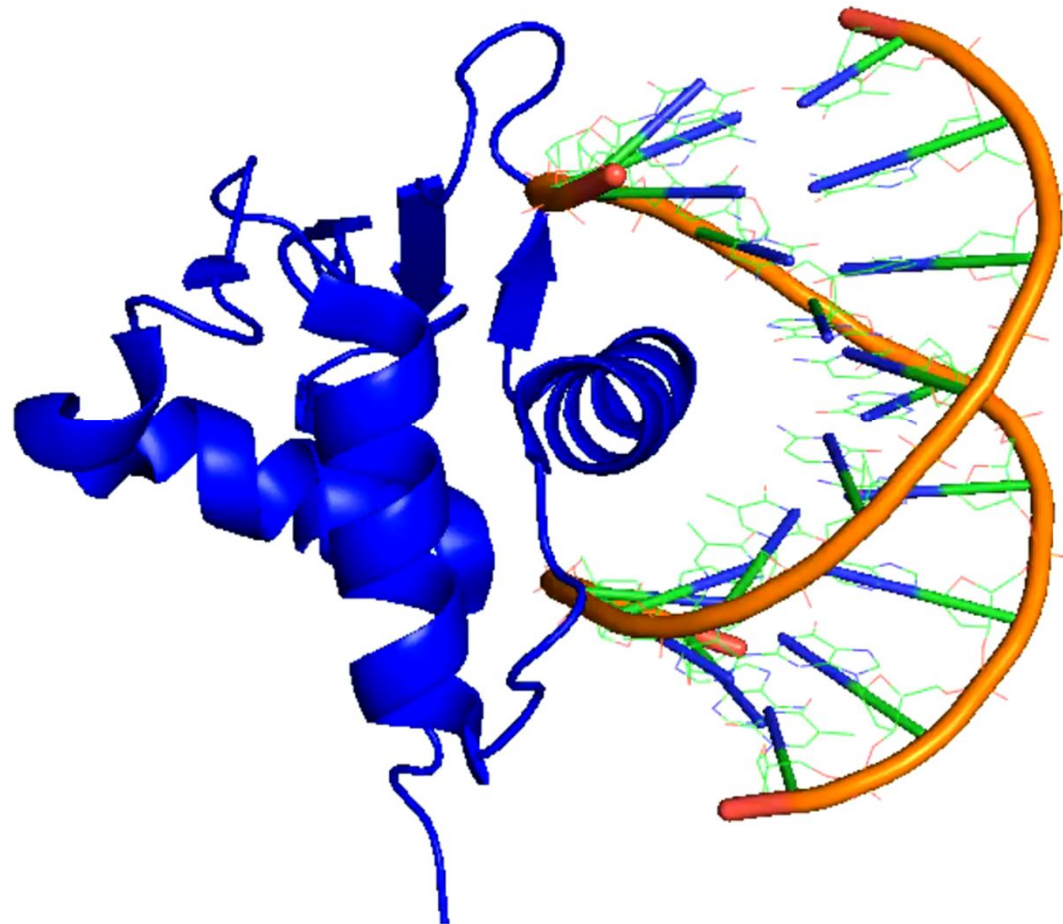
Gajiwala & Burley, COiSB, 2000
Luscombe et al, Genome Biology, 2000



16. Ets domain (1bc8)

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

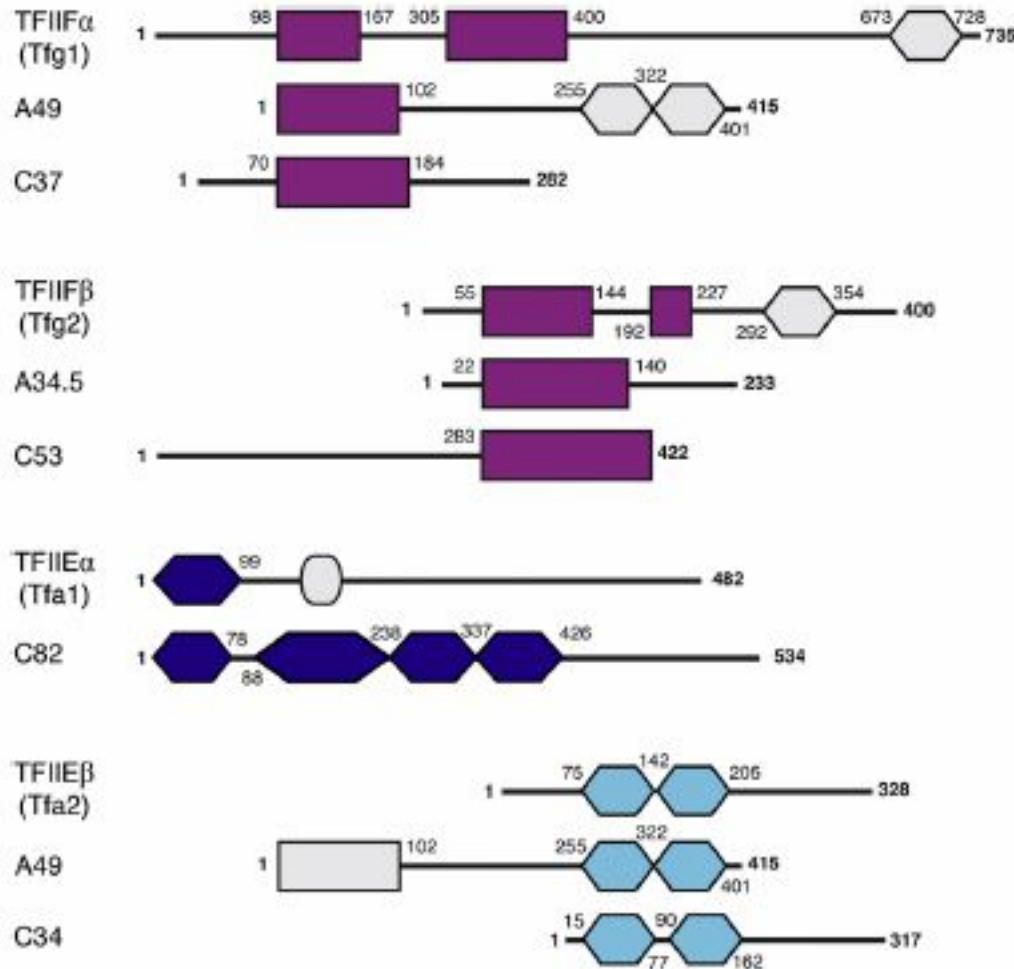
Interakce bazí se šroubovicí (H3) a křídla s cukr-fosfátovou kostrou



PDB: 1BC8

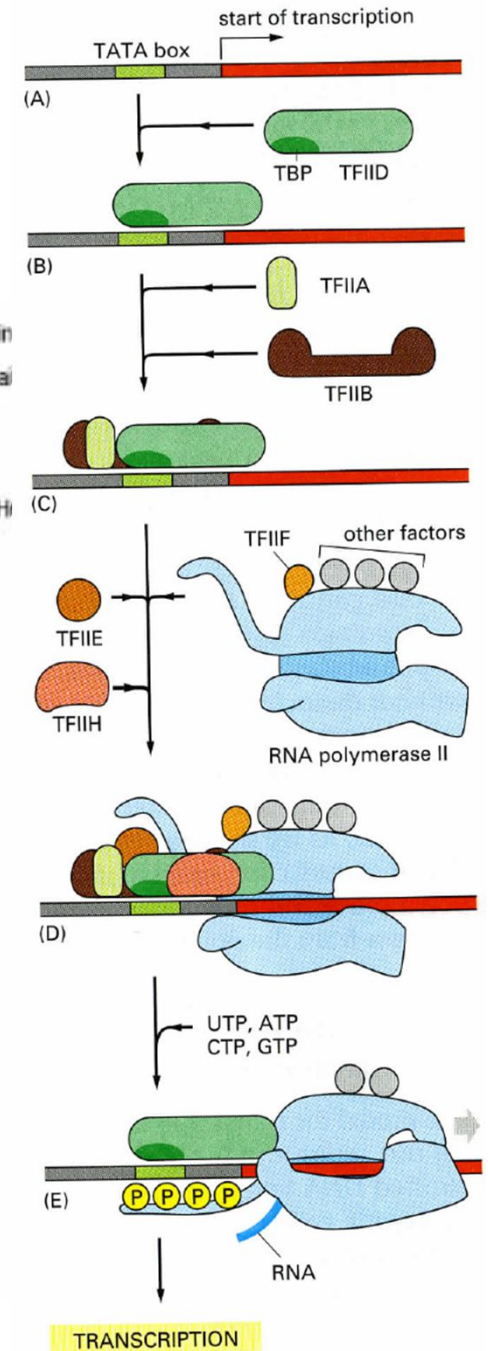
Méně často křídlo ve VŽ a cukr-fosfátová kostra se šroubovicí (hRFX1)

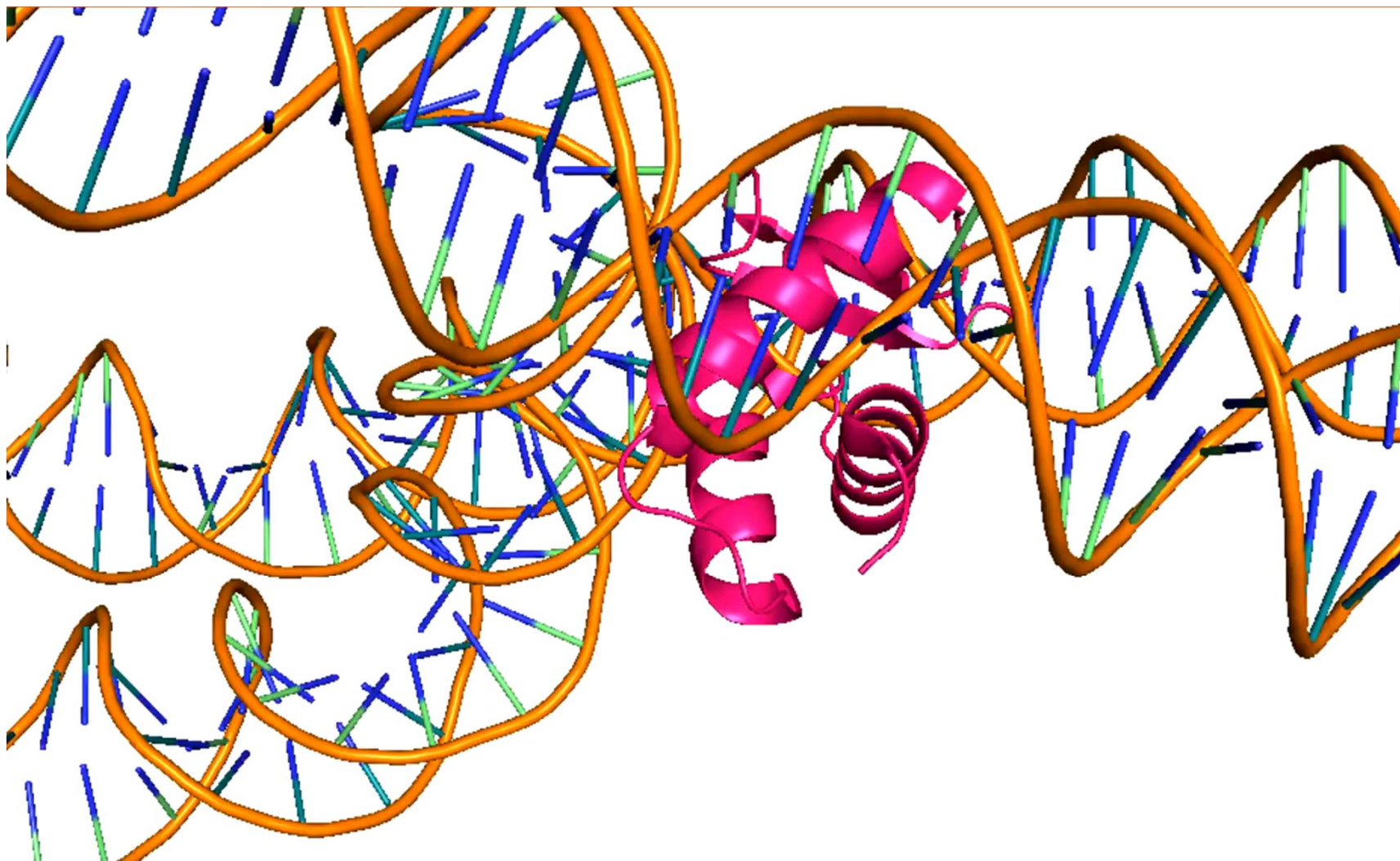
- „winged“ HTH v mnoha specifických transkripčních faktorech, ale také v „general“ TFII faktorech (strukturní úloha)



TAF1 (TFIID)

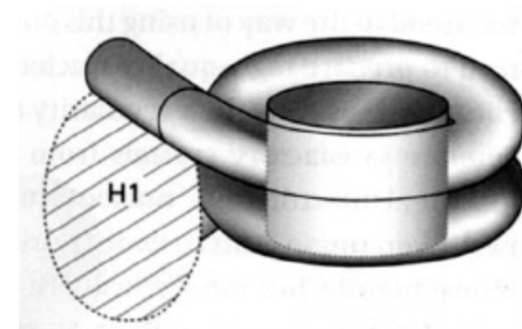
Vanini & Cramer, Mol Cell, 2012





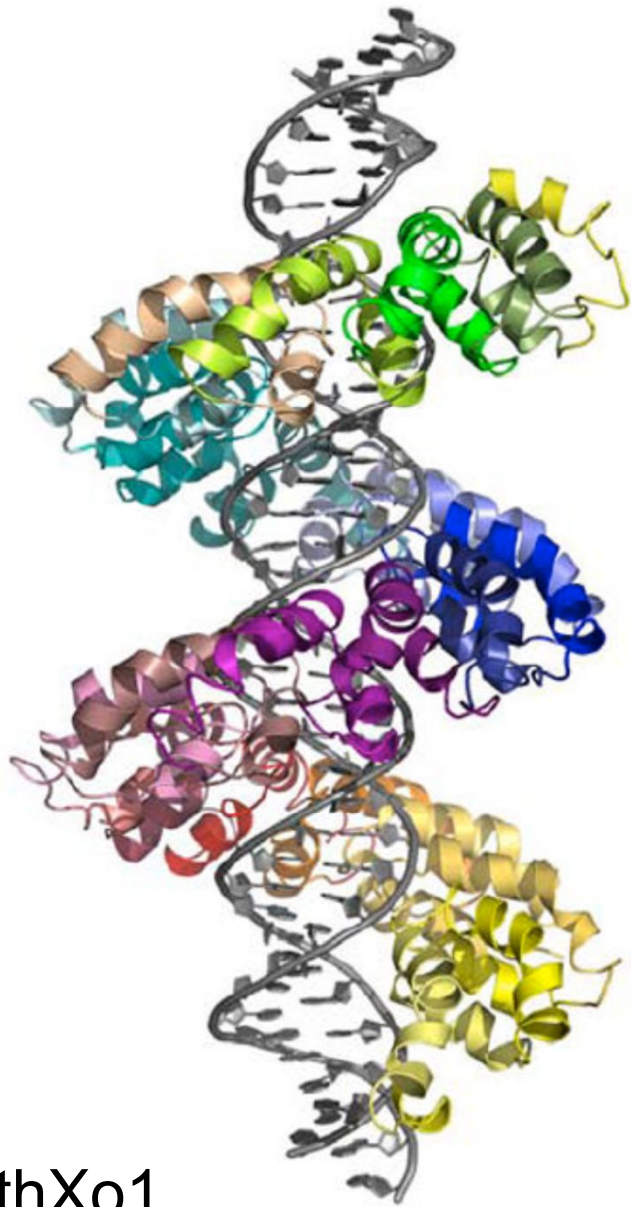
PDB: 5NLO

Histon H1/H5 interaguje s DNA vybíhající z nukleosomů (kompaktnější struktura) – WHD doména může vytvářet více kontaktů (H3 šroubovice-MŽ, wing-cukrfosfátová kostra, protein-protein int.)



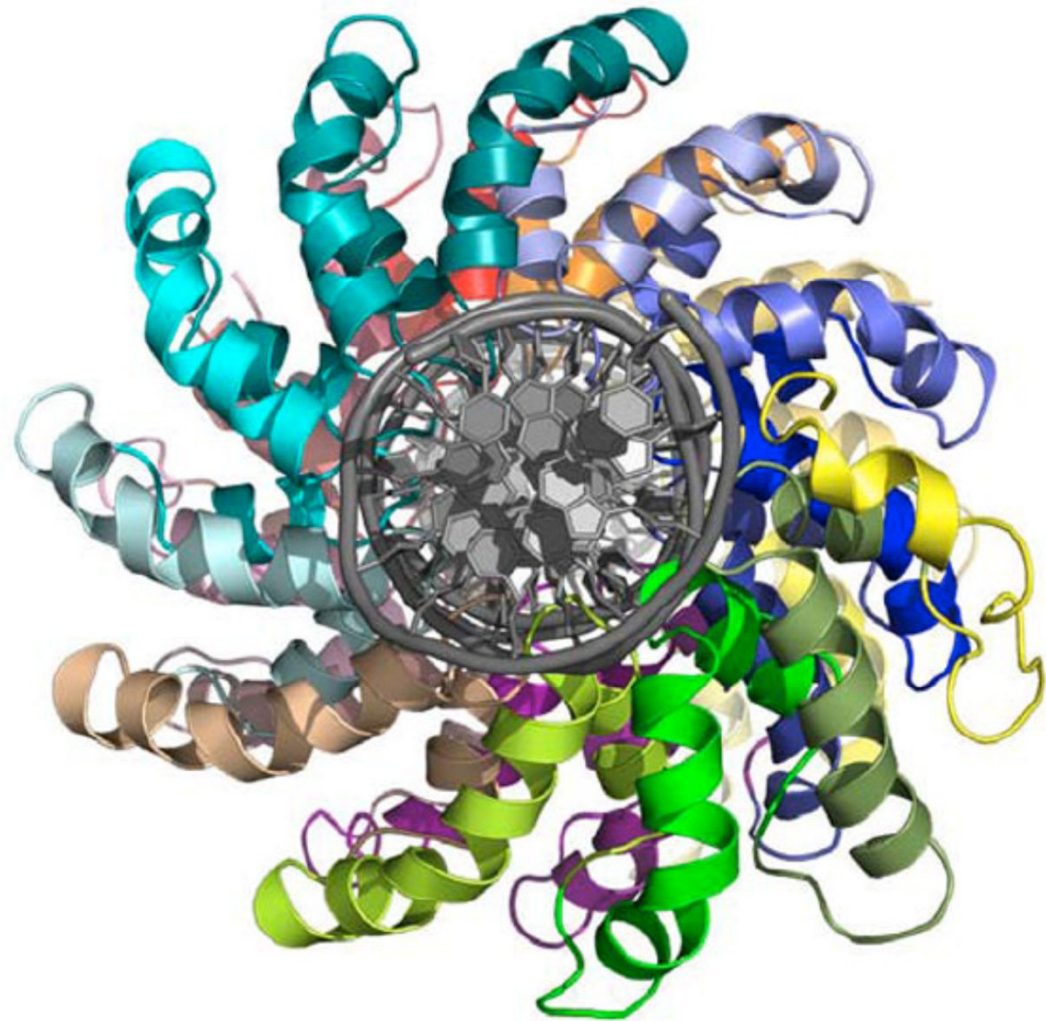
Transcription activator-like effectors (TALE)

Patogenní bakterie injikují do rostlinných buněk
ovlivňují transkripci rostlinných promotorů



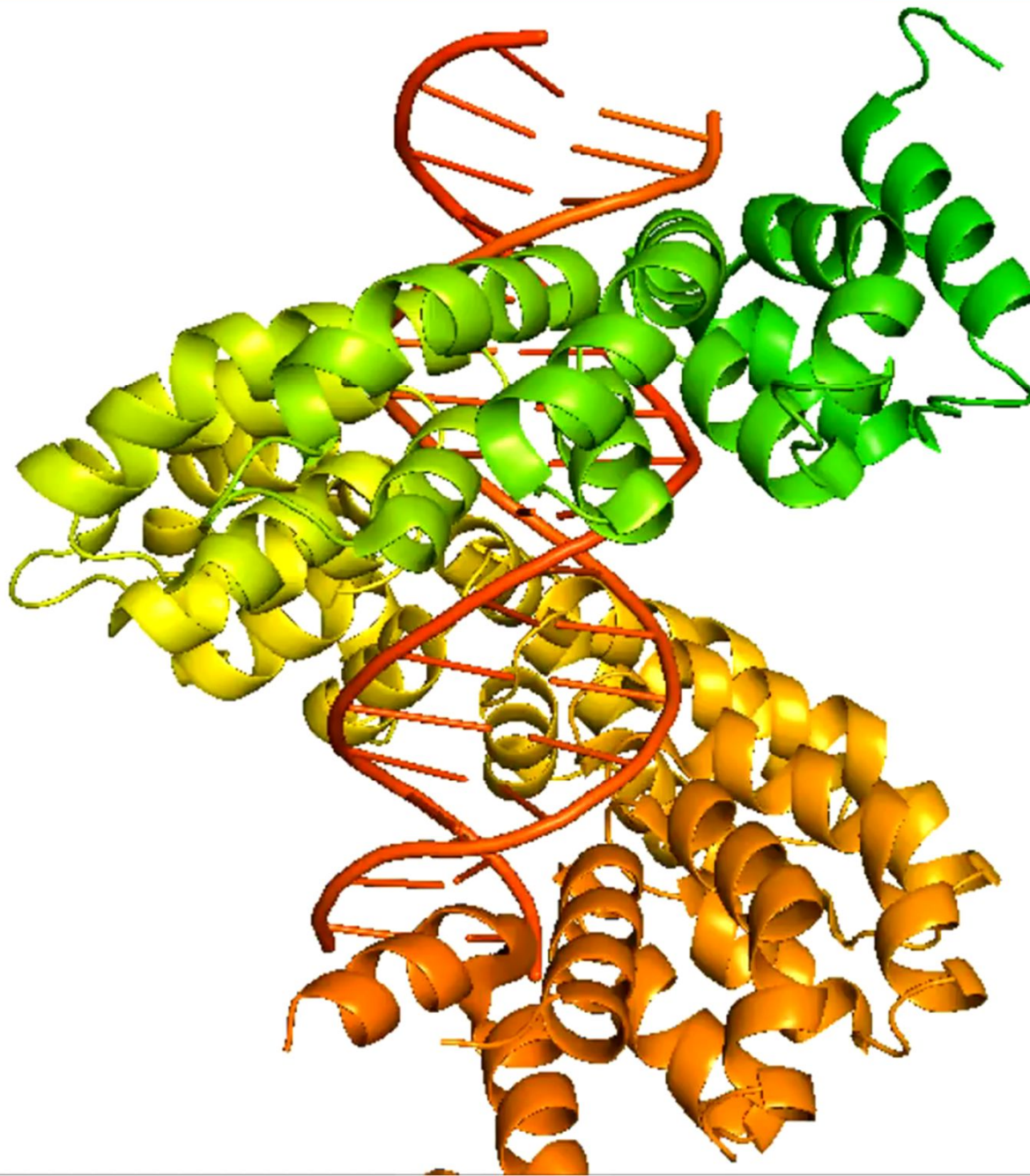
PthXo1

23 repetitivních obrotů DNA ve VŽ



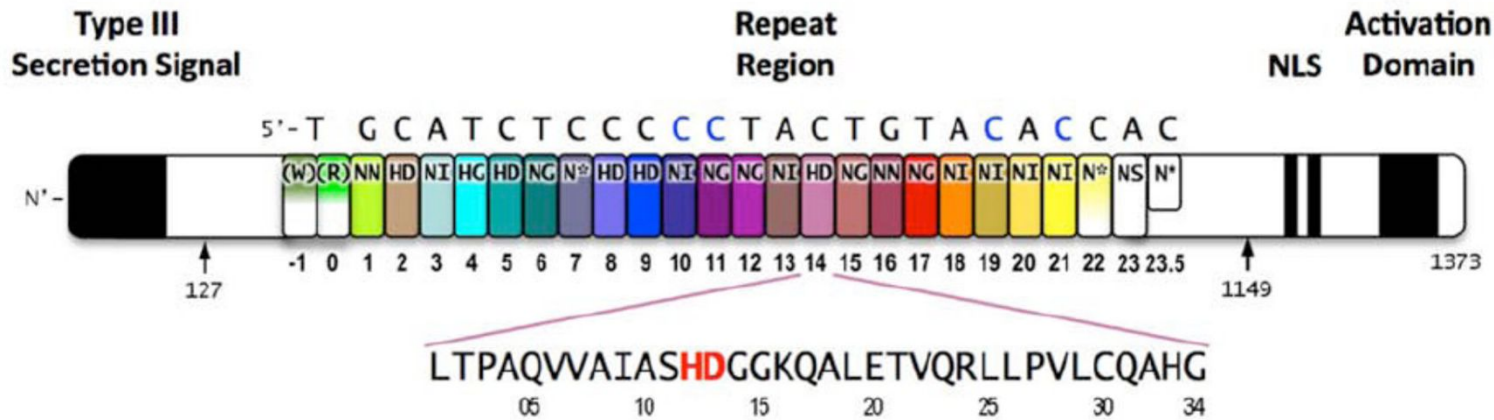
TALEN technologie

Mak et al, Science, 2012

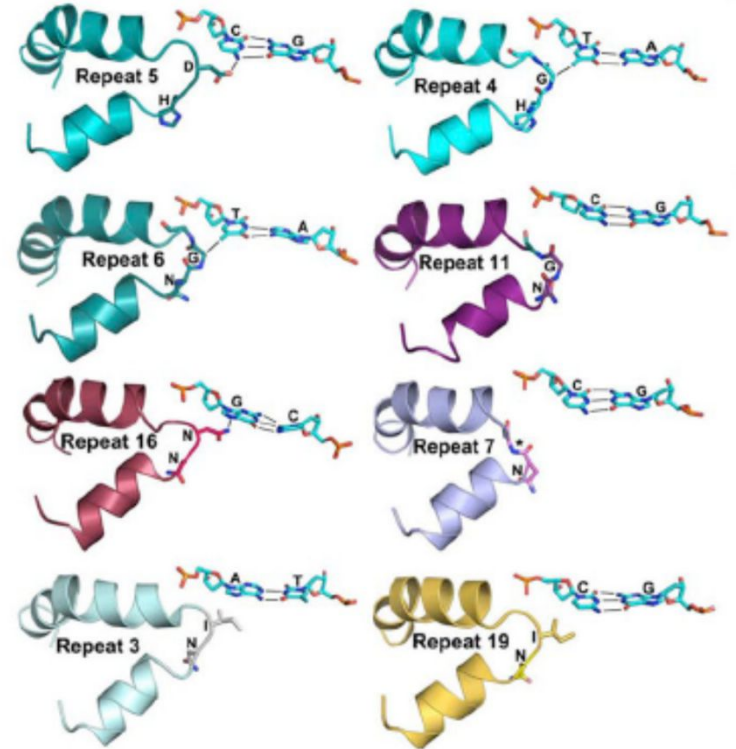
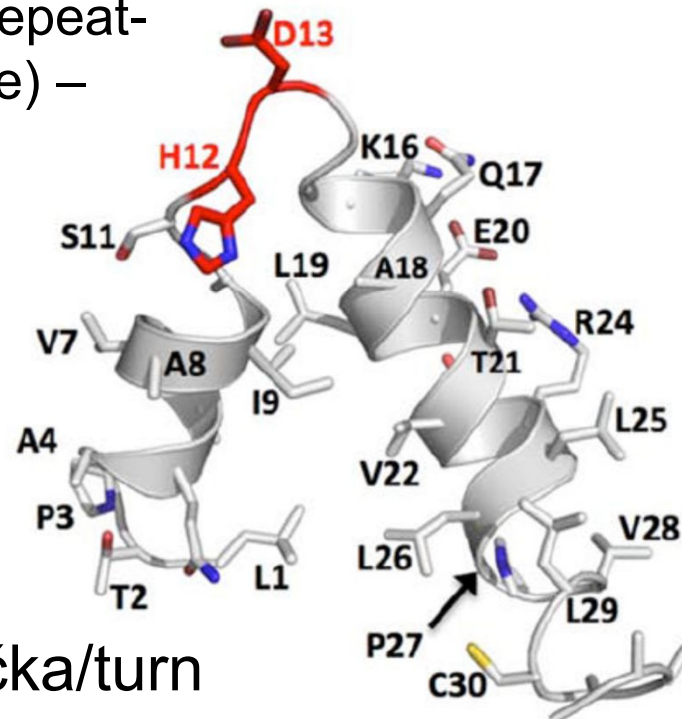


Interaguje otáčka/turn spíše než šroubovice

PDB: 3V6T



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

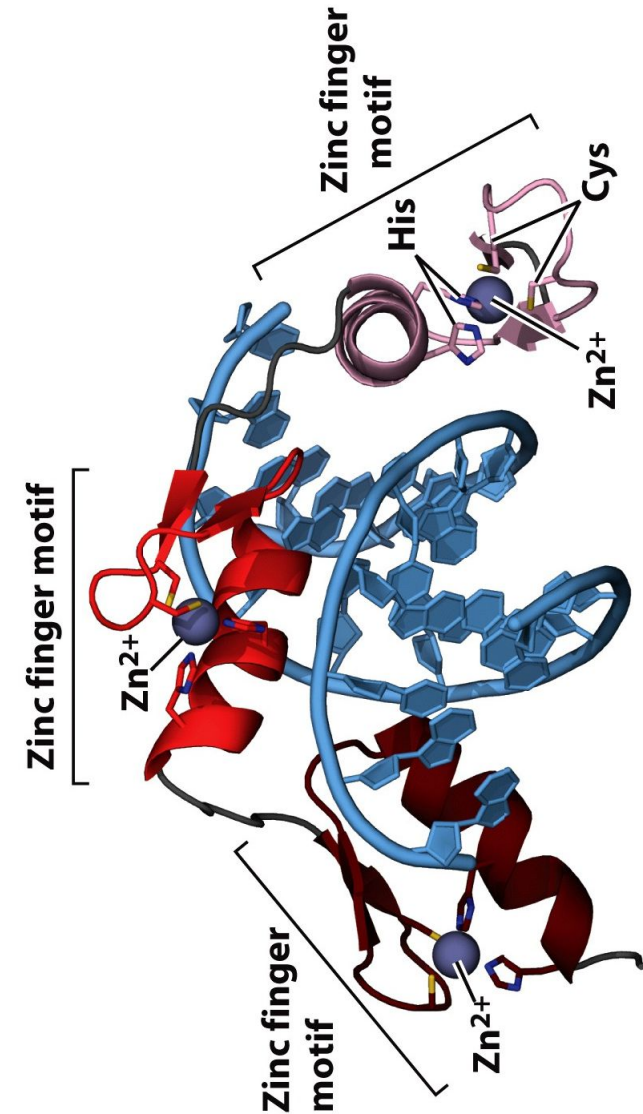


Interaguje otáčka/turn
 spíše než šroubovice

Motivy DNA vazebných domén

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

α -šroubovice



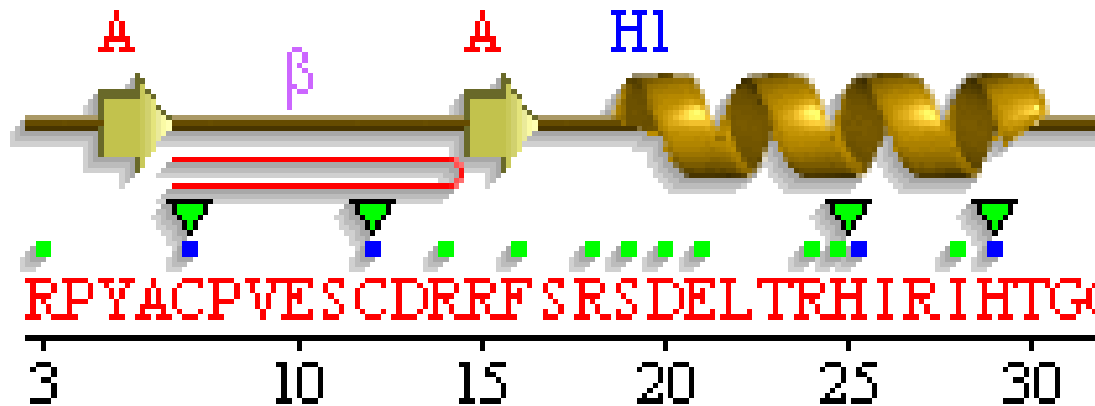
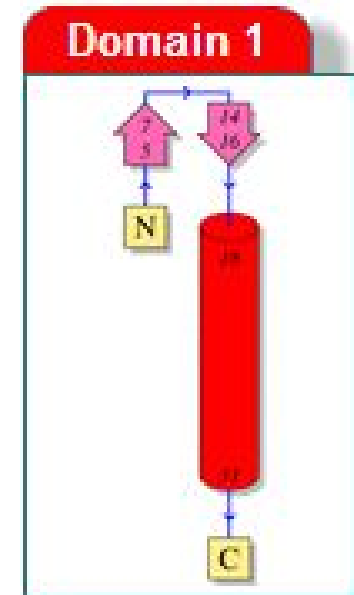
Zinc-finger/Zinkový prst

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

C2H2 motiv:

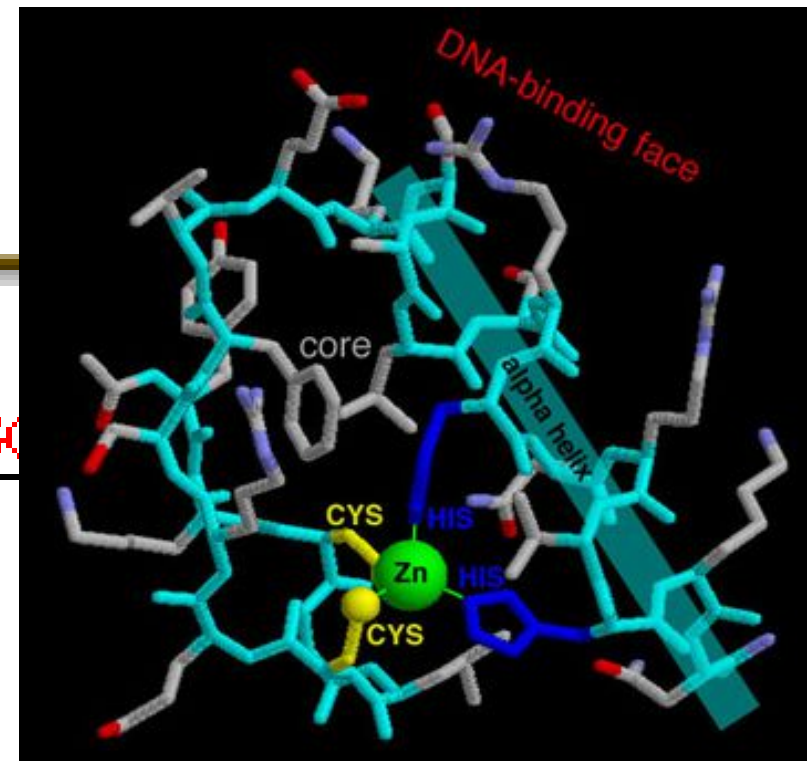
Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-His-X₃-His

PDB grafika



Motifs: β beta turn beta hairpin

Residue contacts: to DNA/RNA to metal

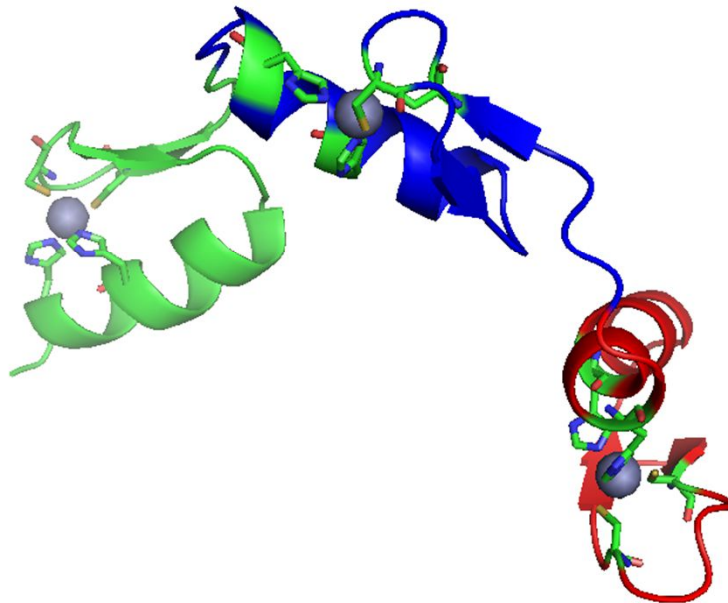
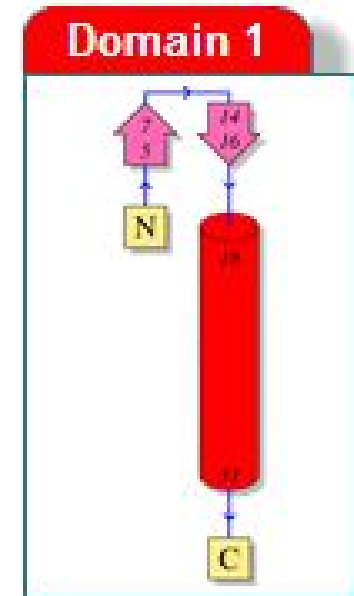


Zinc-finger/Zinkový prst

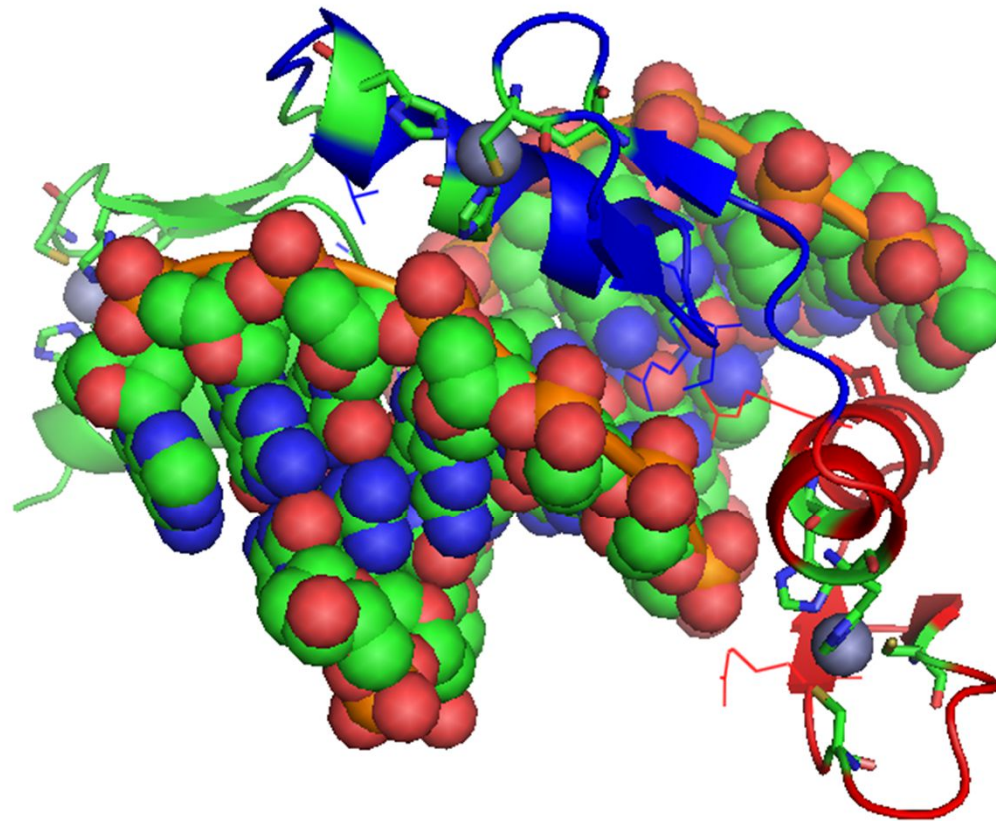
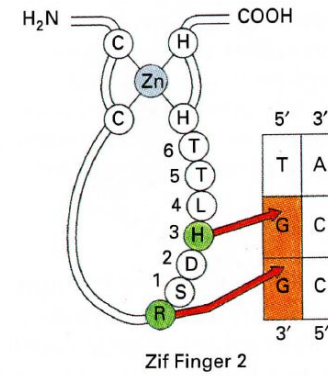
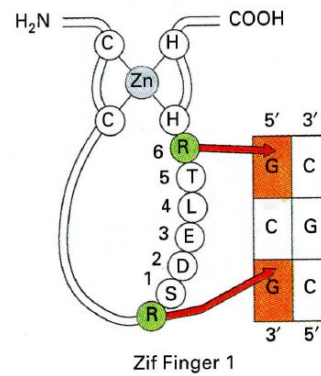
- cca 30 AMK ve dvou krátkých antiparalelních β -listech a α -šroubovici
- smyčka („hairpin“) stabilizovaná („crosslinked“) Zn^{2+} - **koordinovaný** 4xCys nebo 2xCys + 2xHis (tetraedrická struktura)

C2H2 motiv:

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

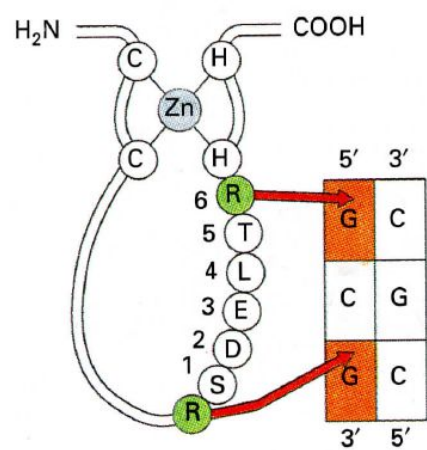


- 3x v Zif268, PDB=1zaa
- α -šroubovice se váže do VŽ – v tandemu obtáčí VŽ
- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK => sekvenční specifita

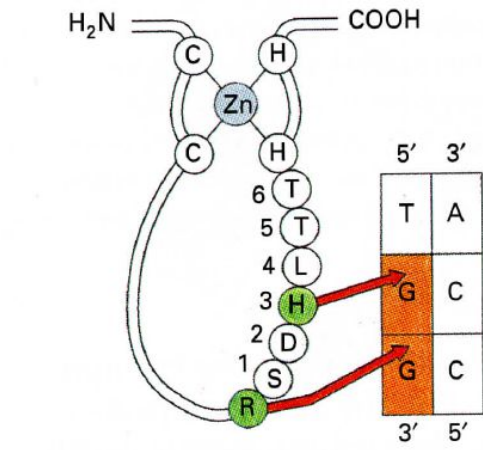


- AMK na pozici 0 – 6; variancemi AMK v těchto pozicích lze dosáhnout různé sekvenční specifity

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



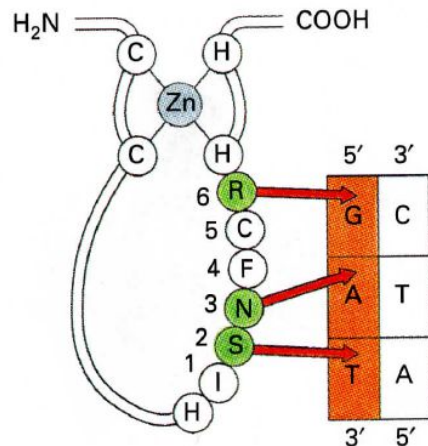
Zif Finger 1



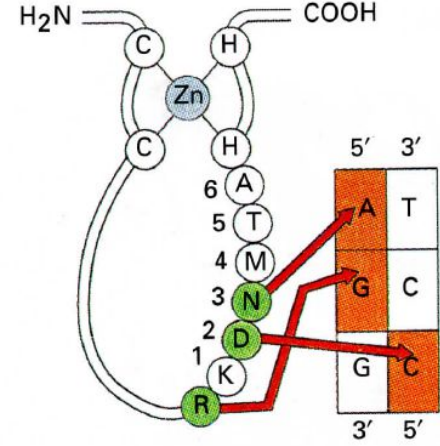
Zif268

Zif Finger 2

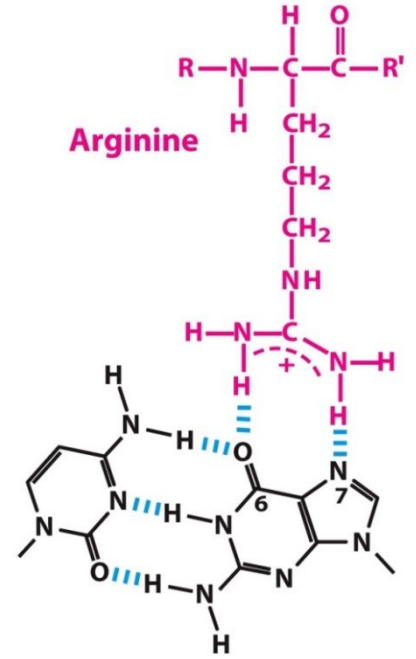
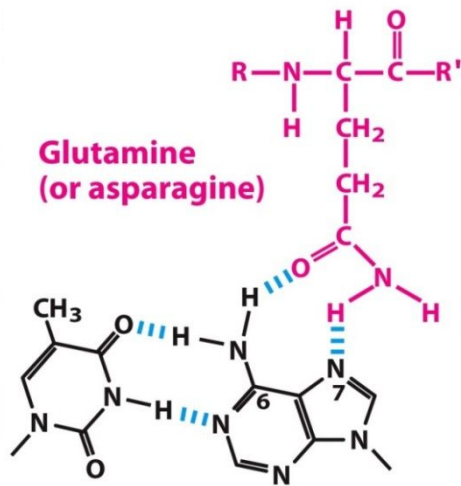
- nejčastější jsou kontakty Gua-Arg
- Gua se může vázat i na His, Lys, Ser
- Ser se může vázat na T či A



TTK Finger 1



TTK Finger 2



Thymine = Adenine

Cytosine ≡ Guanine

- Dobře charakterizované DNA-proteinové kontakty – je známá specifita ZFs pro všech 64 možných kombinací 3 sousedních bp
- Lze pro specifickou sekvenci DNA poskládat ZFs – nová technologie „zinc nuclease“ pro genové manipulace

Predicting DNA-binding Specificities for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins
A DNA binding site predictor for Cys₂His₂ Zinc Finger Proteins

Home Page
Protein-DNA Form
Generate Sequence Logo
Downloads
Analyze Genomic Sequence
Help
Contact Us

Welcome to our new site!

For a given C₂H₂ zinc finger protein, we predict a position weight matrix representing its DNA binding specificity and display it as a sequence logo. This result can be used further to search genomic sequences for putative binding sites.



This site serves as an interface between a user's input and a set of prediction algorithms that are able to create the mentioned logos. It consists of a protein input screen, followed by the selection of the desired set of fingers, and the algorithm to be used. The results are delivered through a simple HTML page that contains the generated sequence logo.

<http://zf.princeton.edu>

This research has been supported by NSF CCF-0542187 and NIH GM076275

Disclaimer: Works better with Firefox v2+, Safari v3+ or Opera v9+

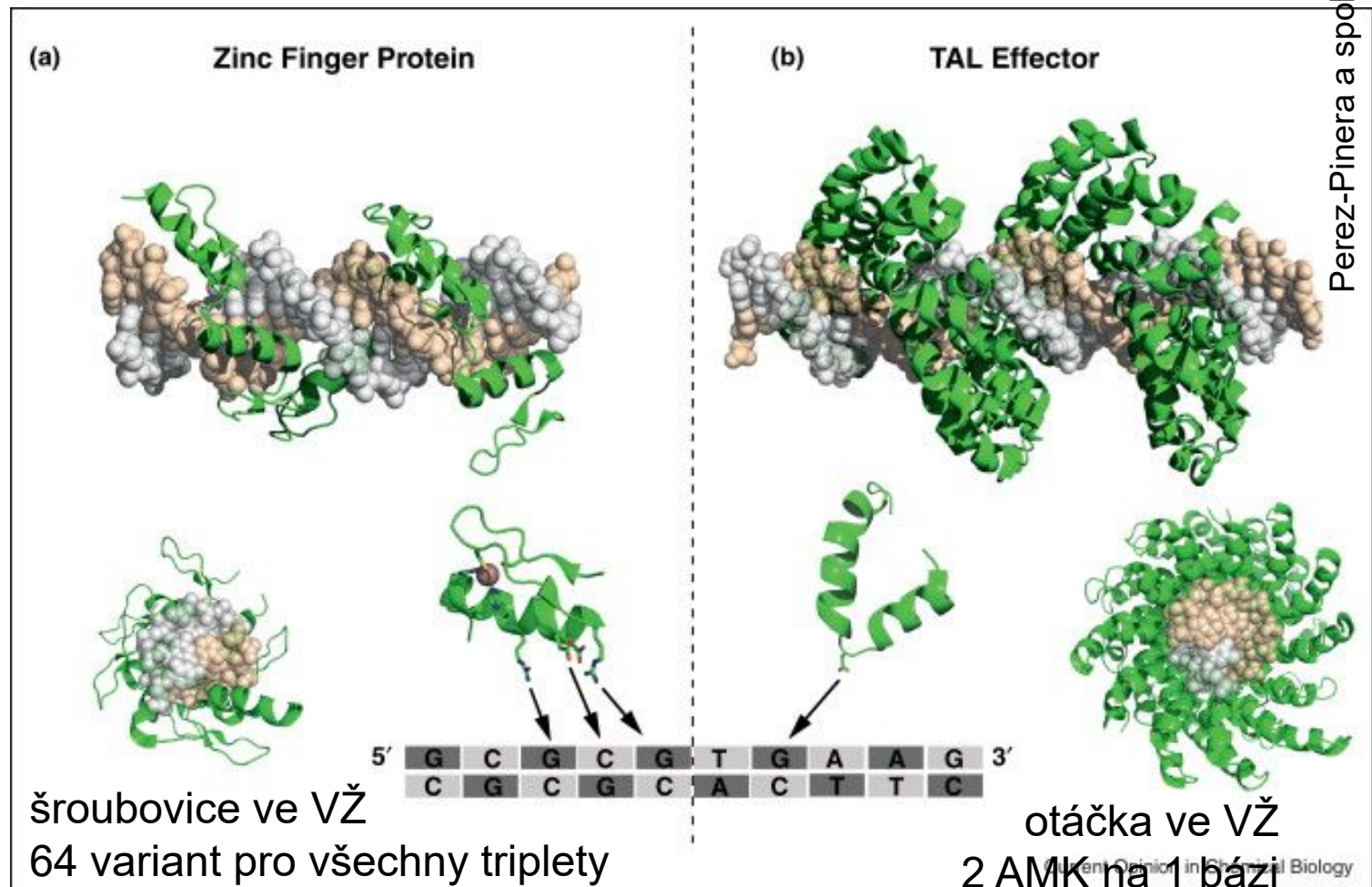
This page has been visited 2369 times since 09-09-2010

Persikov a Singh, NAR, 2014

- Dobře charakterizované DNA-proteinové kontakty – je známá specifita ZFs pro všech 64 možných kombinací 3 sousedních bp
- Lze pro specifickou sekvenci DNA poskládat ZFs – nová technologie „zinc nuclease“ pro genové manipulace

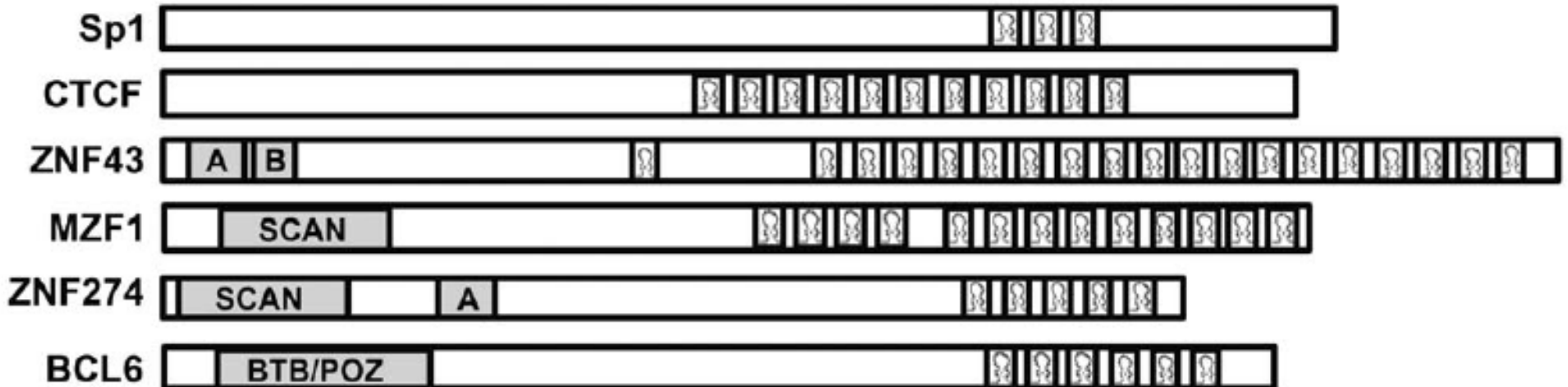
„genome editing“

Transcription activator-like



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

ZF1
 Ts YQCEFCPYTNHRRYLLRHMKSSEERP
 Hs FQCELCSYTCPRRSNLDLRRHMKSHDTERP
 Dm YSCPHCPYTASKKFLITRHSRSHDVEPS



ZF6
 Ts YQCEVNCNORFTQNSLKAHKLTHSG.SRPV
 Hs YECYICHRFTQSGTMKMHILQRTENVAK.
 Dm YQCDICKSRTQNSLKAHKLTHSVVDKPV

ZF7
 Ts FQCKFCPSSCGRKTDLRIHVQKLRHTA.SAP
 Hs FHCYICDVIARNSDLGVHLRKHHSYIEQG
 Dm FQCNICPTTCGRKADLRVHIKHMHTS.DVP

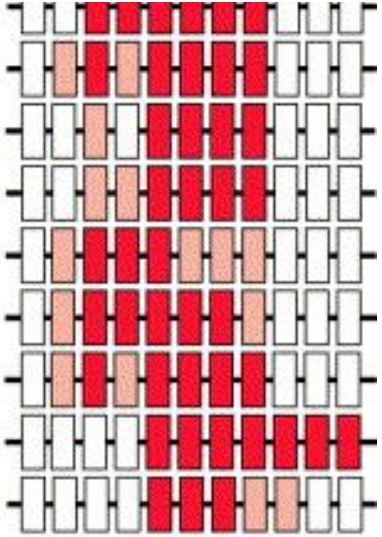
ZF8
 Ts IKCKKCDRTFTDRYTFKLHCKEHDGERC
 Hs KKCRYCDAVHERYALIQHOKSHKNEKR
 Dm MTCRRCGQLPDRYQYKLVHVKSHGEKCK

ZF9
 Ts YQCHLCPYSAMAQRHLEAHTLHSDKPF
 Hs FKCDQCDYACRQERHMHKRTHTGKPK
 Dm YSCKLCSYASVTQRHLASHMLIHLDEKPF

ZF10
 Ts YKQVDCNLSEKQVSLKRRHVESTHAANQ
 Hs YACSHCDKTFRQKQLLDMHFKRYHDPNFV
 Dm FHCQCPQAFRQQLLRHNMNLVNEEYQ

ZF11
 Ts LNDNLASPSSTSGVSVASASSSSPSSTSPNSS
 Hs FA.....AFVCSKCGKTFRRNTMARHADNCA
 Dm PPEPREKLHKCPSPREFTHKGNLMRRHMETHD
 insertion

human	GAGCGGAAGAGGAAGTCCACCGCTTTTGAACACGGA
8. PLK h/m	AGAGGAAGATTTAAGTAAAAGCTTCCTGGAGGAGCCCAA TCTCCTTCTAAATTCATTTTCGAAGGACCTCCTCCGCGTT
9. PIM-1 human	CTTTTCCTTCCCGCCACGCTCGGGCGCGTAGAGACCATT GAAAAGGAAGGGCGGTCACACCCGCCCATCTCTGGTAA
10. PIM-1 mouse	GGGGAGAGGGGTGTACCGCGAGGGGGCGAGCGGAGGG CCCTCTCCCCACATCGGCGCTCCCCCGCCTCGCCTCC
11. p19ARF mouse	GCAGGGCCCGCCCGCCTCCCCCTGGGGCCCTCTTGGGA CGTCCCGGGCGCGCGCGAGGGGACCCCGGAGAACCCT
12. DMD4 mouse	GGAAACGGAGCTACCGCCCGGCGCAGCATACTCCTATATA CCTTGCCTCGATGGCGCGCCACCCGTCGTATAGGATATAT
13. DMD7 mouse	CTAAATGGACAGACGATGCCCGGTGGGCGCATAAATAC GATTACCTGTCTGCTACGGGCACCACCGTCATGTTATG
14. "144" silen. rat	CCTGAGTGCATTTCCCTCATGATCCAAAAGAGGGATAAC GGACTCACGTAAAGGGAGTACTAGGTTTTCTCCCTTATG
15. APP human	TTCCCCGGCGCGCCCTTAGGGTCTCTCTCGGGTGCCGA AAGGGCCCCGCGCGCGATCCCCAGAGAGGCCACGGCT



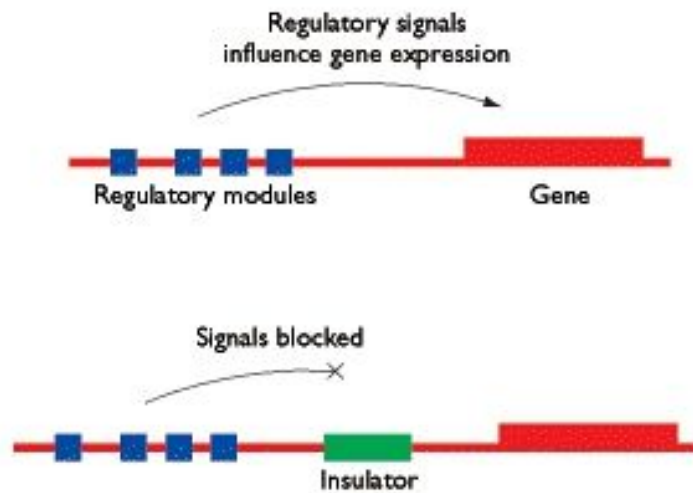
TRENDS in Genetics

Ohlsson a spol., TiG, 2001

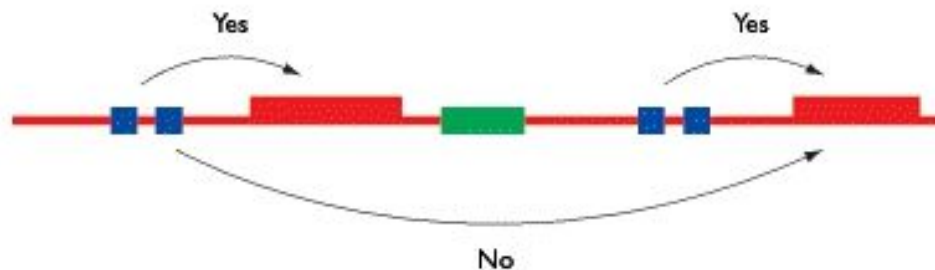
CTCF

Izolátory chrání vzájemnou nezávislost sousedních domén, nedochází k vzájemnému rušení (B).

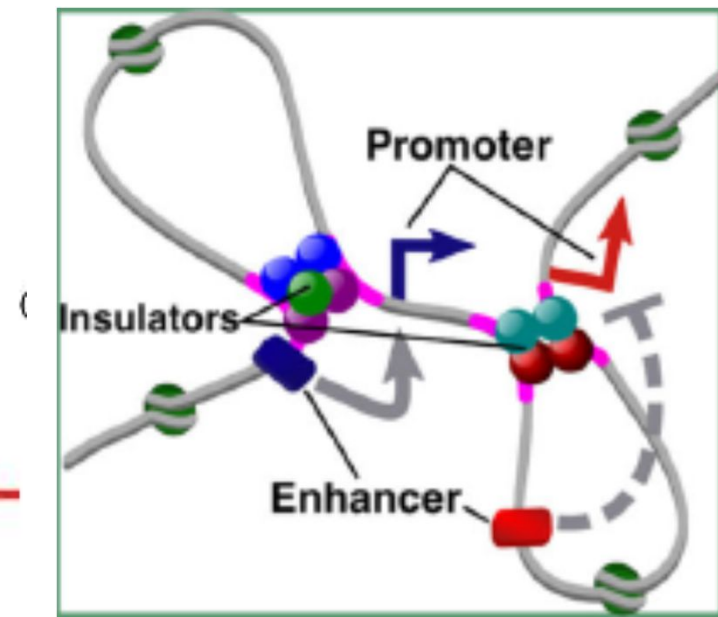
A) Insulators block the regulatory signals that control gene expression



B) Insulators prevent cross-talk between functional domains



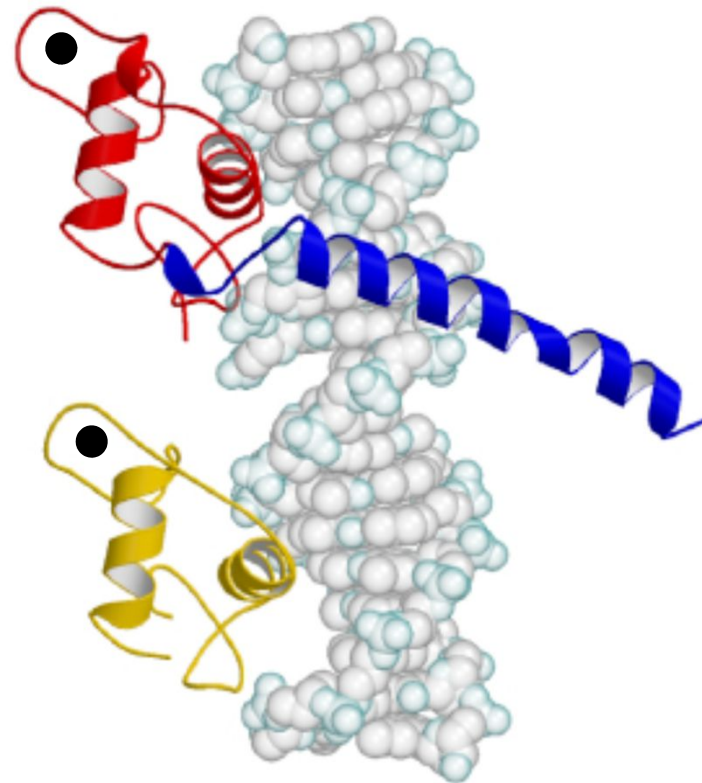
- CTCF interaguje s kohesinem a podílí se na utváření vyšších chromatinových struktur



Hormon receptor family

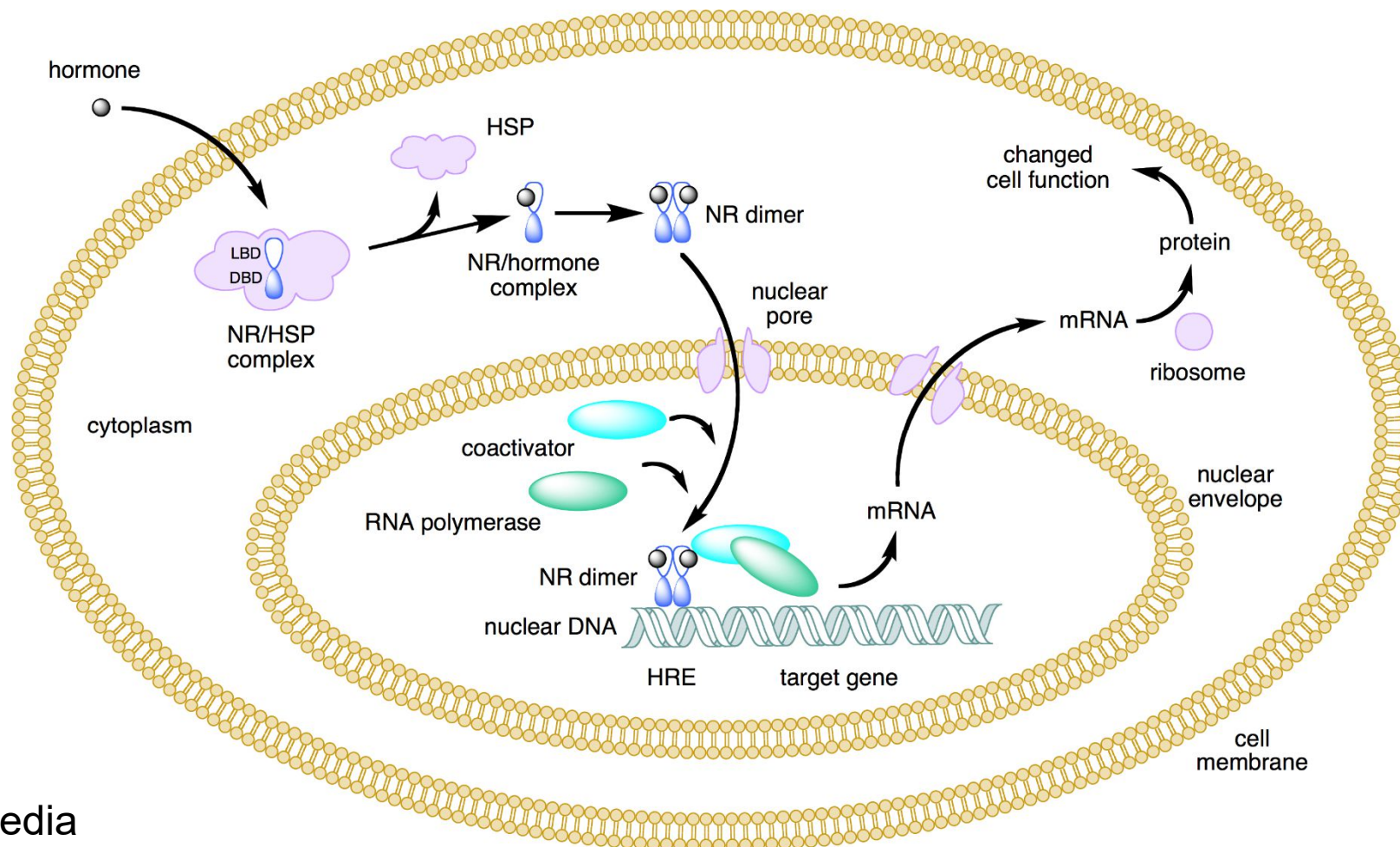
Jaderné receptory – steroidní hormony, thyroidní hormony a retinoidy – navázání ligandu stimuluje translokaci receptoru z cytoplasmy do jádra a vazbu na HRE (*hormon response element* - regulaci transkripce)

- α -šroubovice-smyčka(loop)- α -šroubovice (kolmé)
- 4 Cys koordinují Zn
- 1. helix ve velkém žlábků a smyčka s druhým helixem kontaktují cukr-fosfátovou kostru
- doména dimerizuje (přes smyčku)



18. Hormone receptor (2nll)

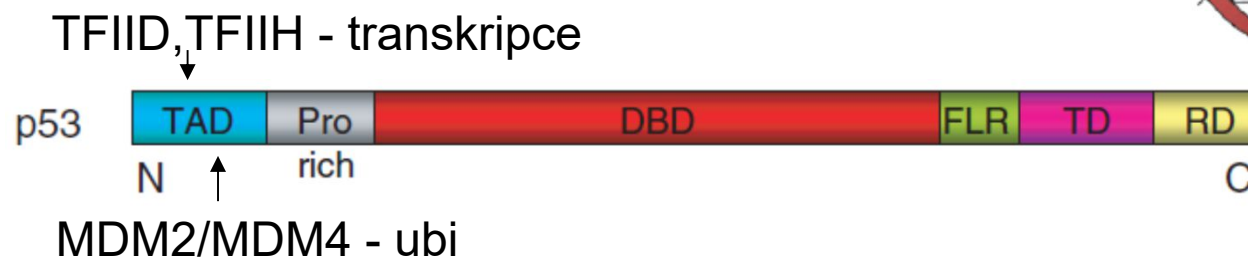
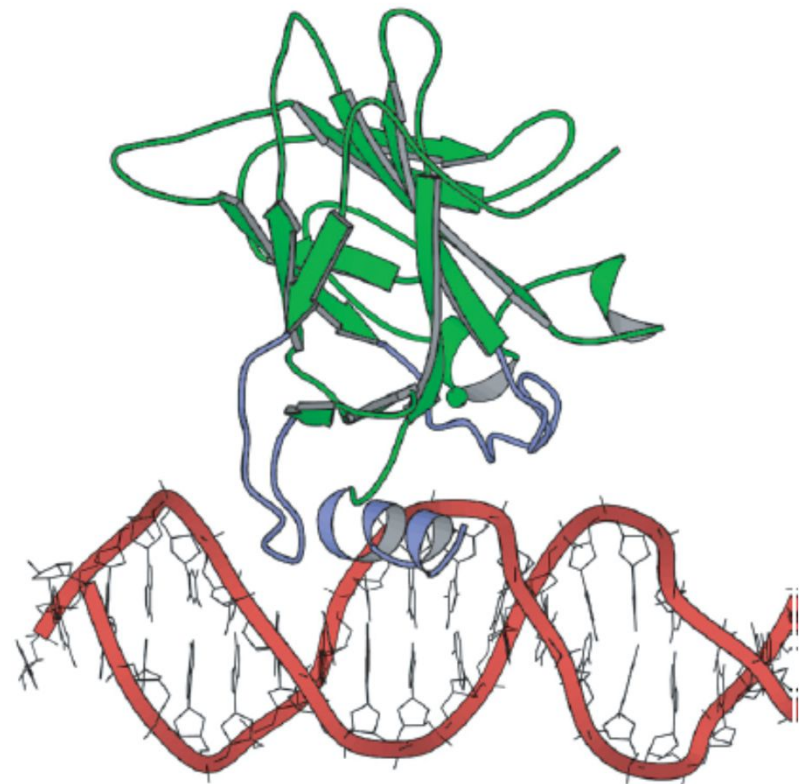
třída I (homodimery, cytoplasma) a třída II (heterodimery, jádro) – vazba ligandu moduluje nejdříve uvolnění faktoru a poté vazbu ko-aktivátorů (dalších transkripčních faktorů nebo chromatinových remodelátorů)



Loop-sheet-helix

- core/DNA-vazebná doména p53 – transkripční faktor důležitý pro regulaci buněčného cyklu, apoptozy a opravy poškozené DNA (nádorový supresor)

- smyčky vycházející mimo hlavní core doménu – vyčnívá β -list a α -šroubovice
- 3 Cys a 1His koordinují Zn
- helix ve velkém žlábkku a smyčka v malém žlábkku
- Aktivace transkripce skrze kyselou TA doménu

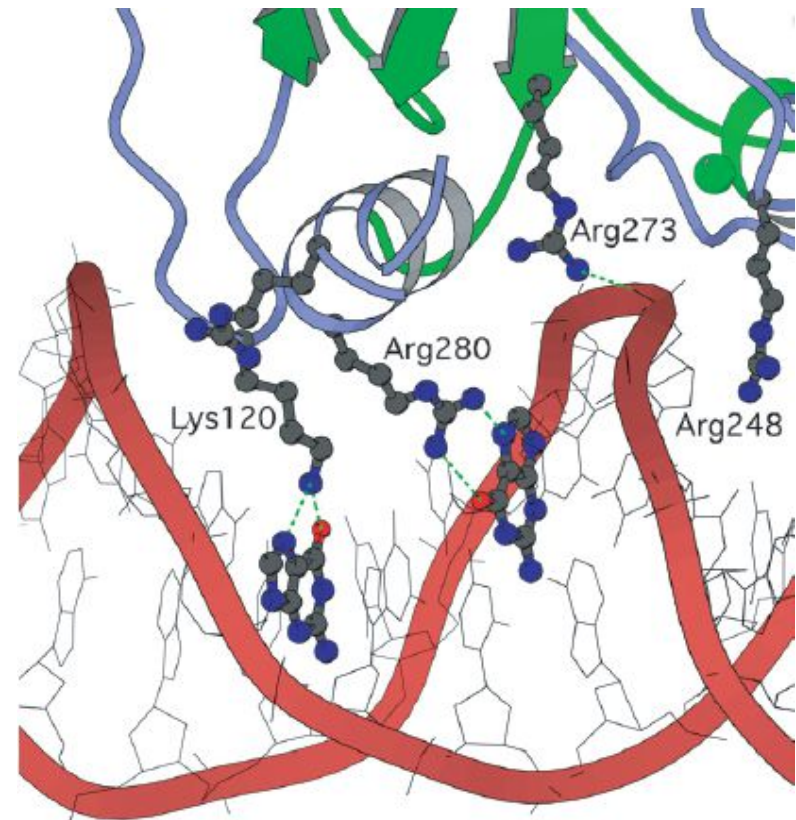


Loop-sheet-helix

- core/DNA-vazebná doména p53 – transkripční faktor důležitý pro regulaci buněčného cyklu, apoptozy a opravy poškozené DNA (nádorový supresor)

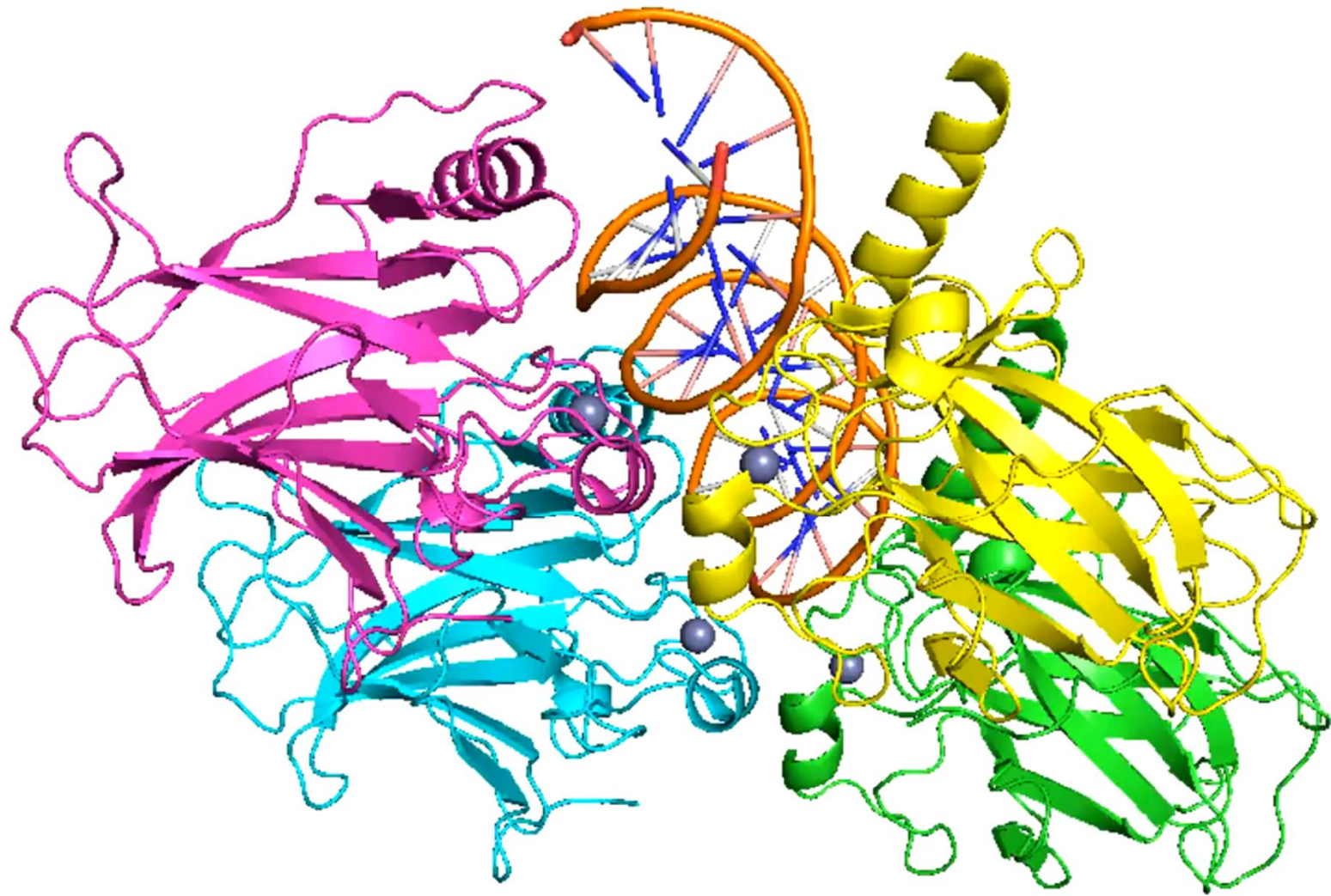
- Konsensus sekvence
PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy
(v promotorech p21, PUMA)
- 95% “nádorových” mutací je v „core“ doméně (R273H)
- Regulace/aktivace modifikací C-koncové domény

Protein se váže jako tetramer (C-koncová doména)



p53



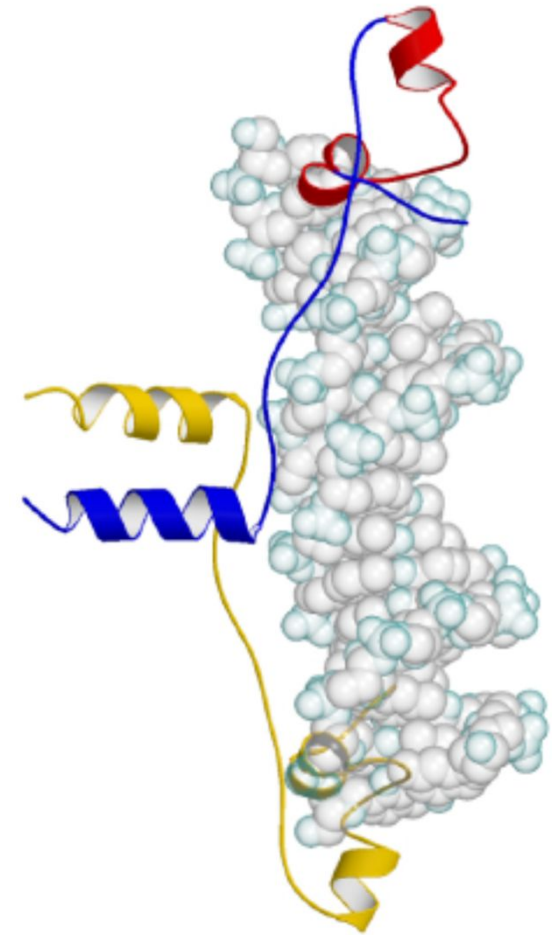


p53 tetramer – DNA, PDB: 3KMD

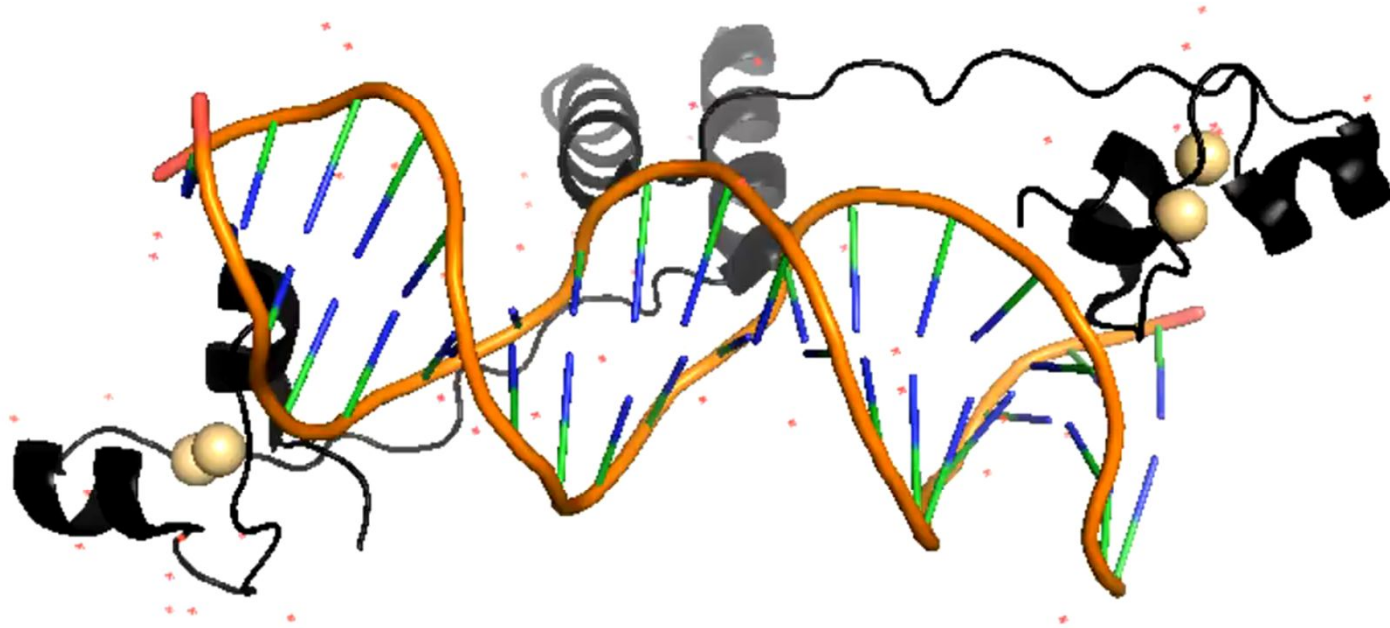
Gal4

- transkripční faktor reguluje v kvasinkách metabolismus galaktosy (kvasinkový dvou-hybridní systém)

- 2 α -šroubovice
- 6 Cys koordinuje 2 Zn (2 Cys sdílené 2 Zn)
- 1. šroubovice ve velkém žlábků a smyčka k 2. šroubovici kontaktuje cukr-fosfátovou kostrou
- Dimerizuje přes krátký CC segment



Gal4



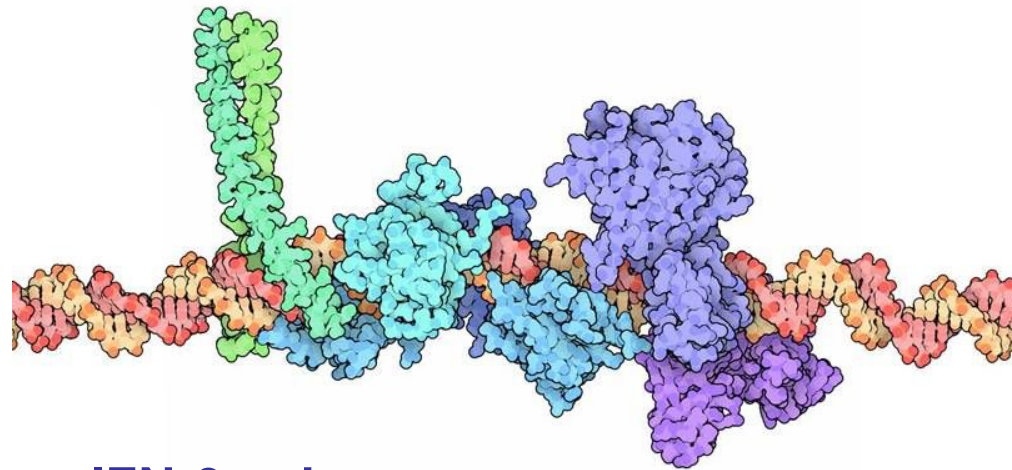
PDB: 1D66

Motivy DNA vazebných domén

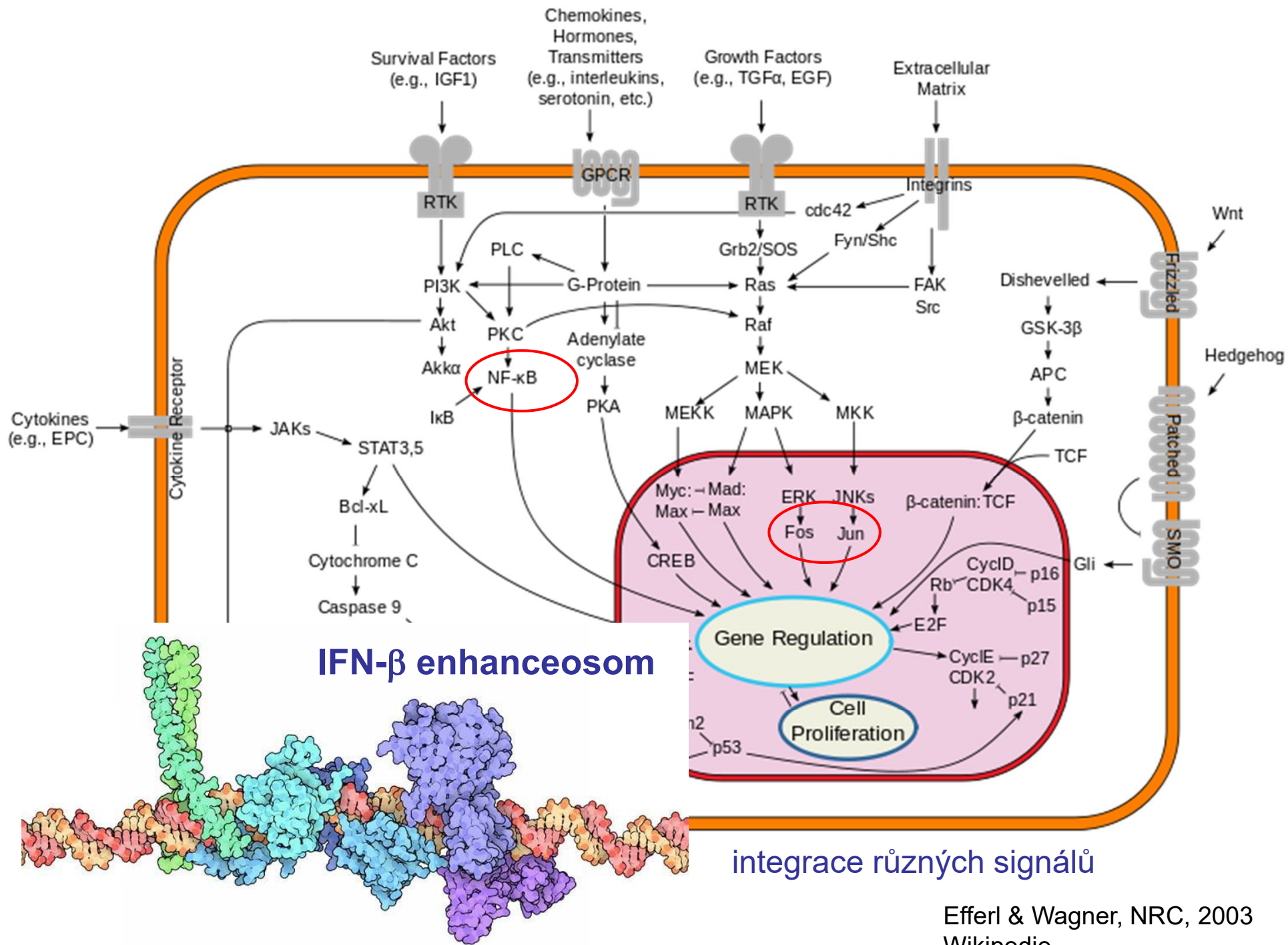
- **Zipper typ**
 - Leucinový zip
 - Helix-loop-helix
- **Helix-otáčka-helix**
 - HTH
 - Winged helix
 - TALE
- **Zinkový prst**
 - $\beta\beta\alpha$ zinc-finger
 - Hormon-receptor
 - Loop-sheet-helix
 - Gal4

**Kombinace motivů (šroubovice, Zn ...)
... nejčastěji VŽ a šroubovice**

Kombinace více proteinů ...



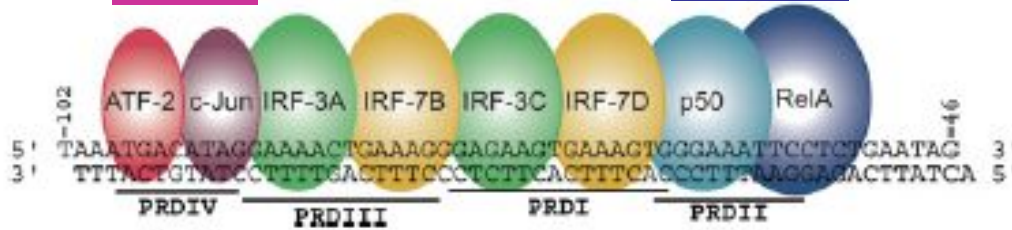
IFN- β enhanceosom



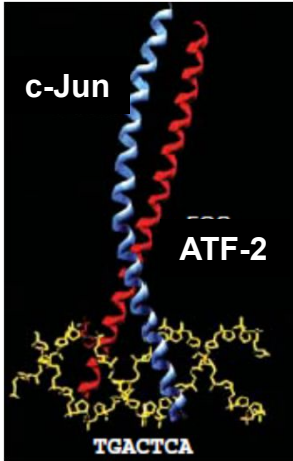
AP-1

NF-κB

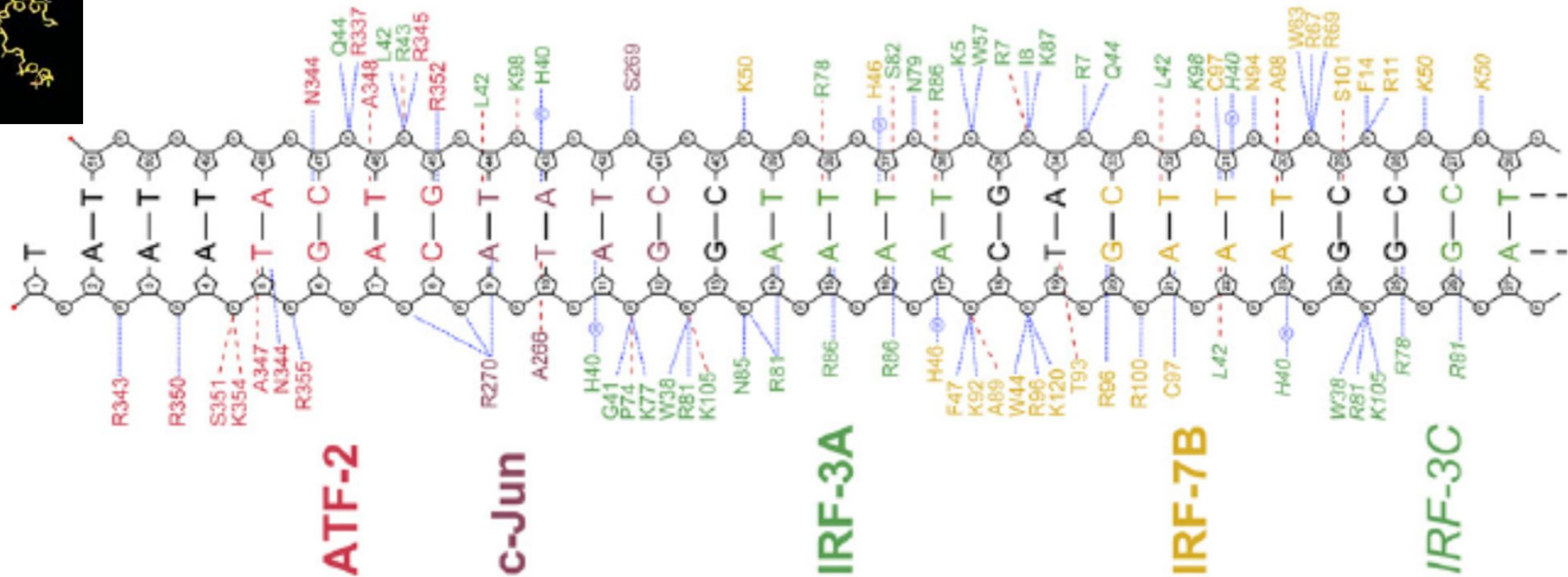
IFN-β enhanceosom



transkripce



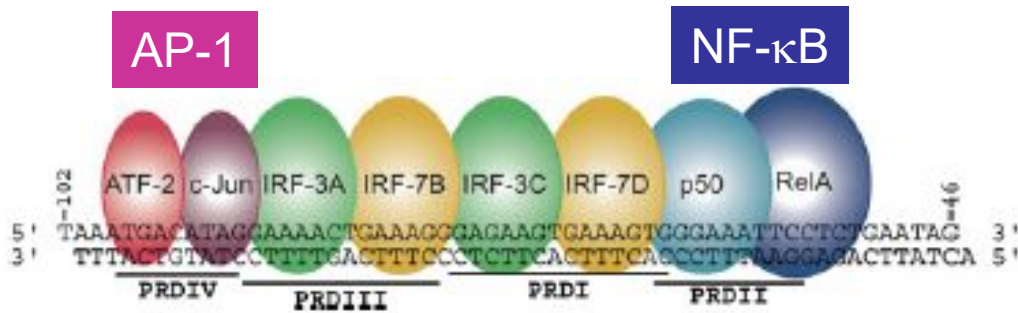
- jeden z nejlépe popsaných enhancerů u vyšších eukaryot – induk. viry
- sekvence -102 až -47 básí upstream od počátku transkripce
- TF pokrývají 72% povrchu DNA (těsné sbalení DB-domén) – málo PPI
- nicméně vazba 8 proteinů je koordinovaná (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF-κB)



Panne et al, Cell, 2008
 Panne, CO in SB, 2008

AP-1

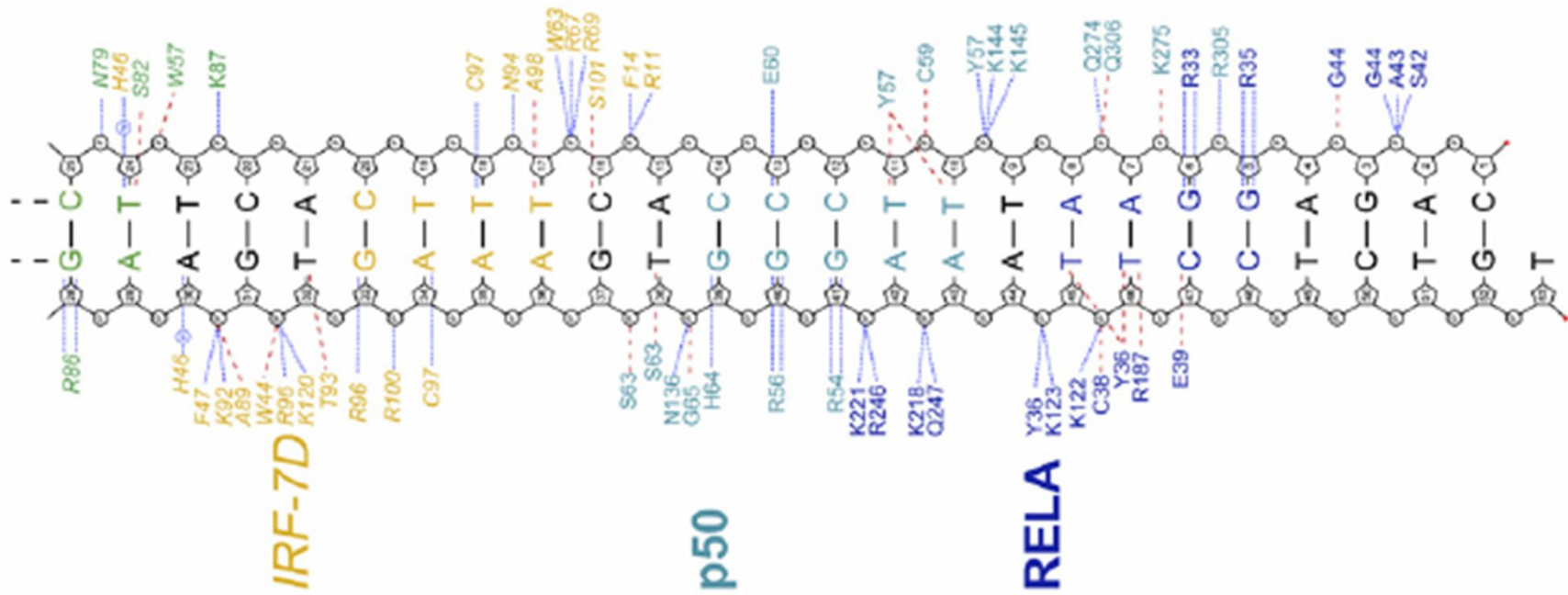
Activator Protein = b-ZIP (basic leucine zipper)



IFN-β enhanceosom

transkripce

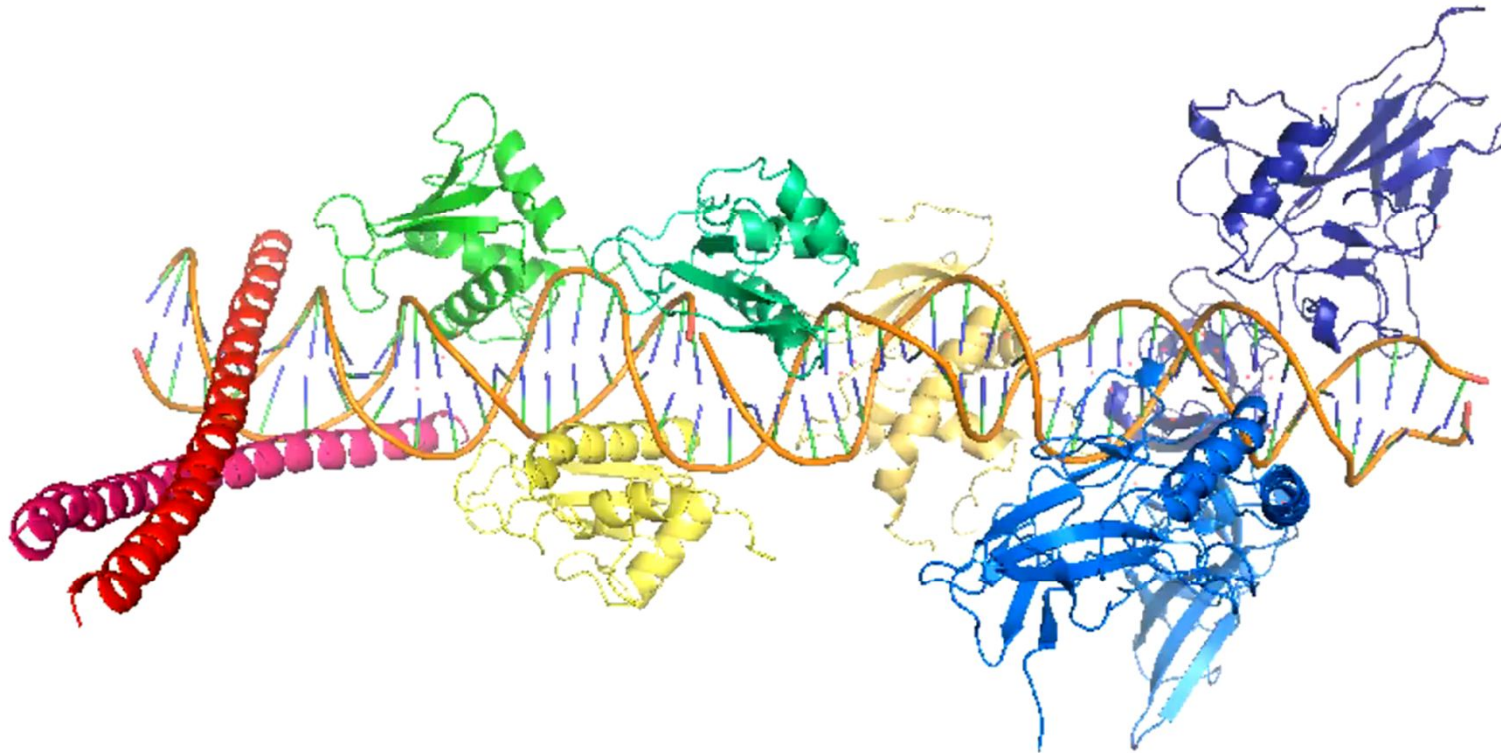
- koordinovaná vazba 8 proteinů (AP-1, IRF-3, IRF-7, NF-κB)
- p50/REL-A dimerizují (β-listy) - p50 slabě interaguje s IRF-7
- vazba do VŽ ...



NF-κB

Panne et al, Cell, 2008
Panne, CO in SB, 2008

IFN- β enhanceosom

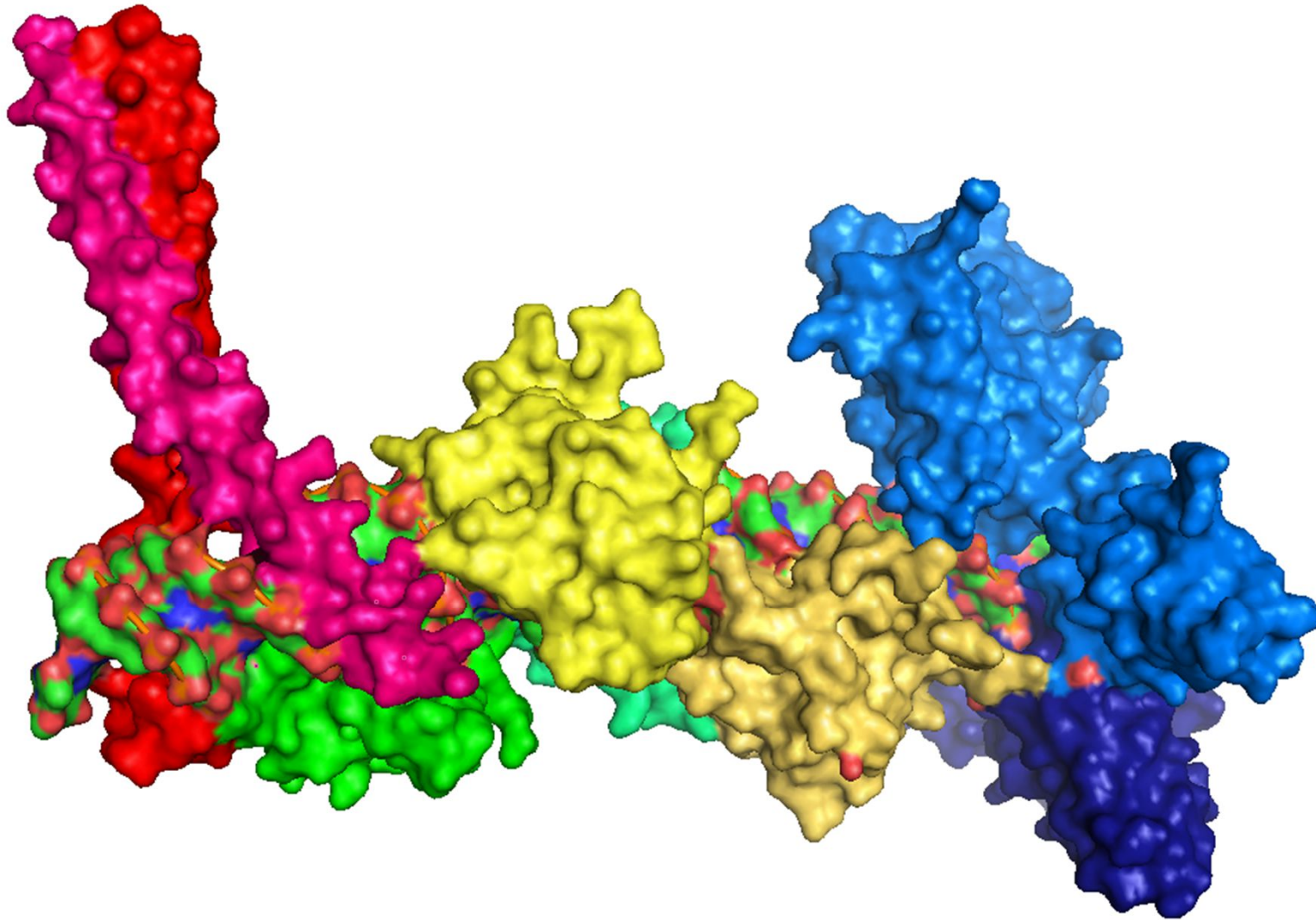


AP-1 leucin zipper, IRF – šroubovice a smyčka (směs), NFkB – komplexní motiv

červené tečky – molekuly vody

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

IFN- β enhanceosom

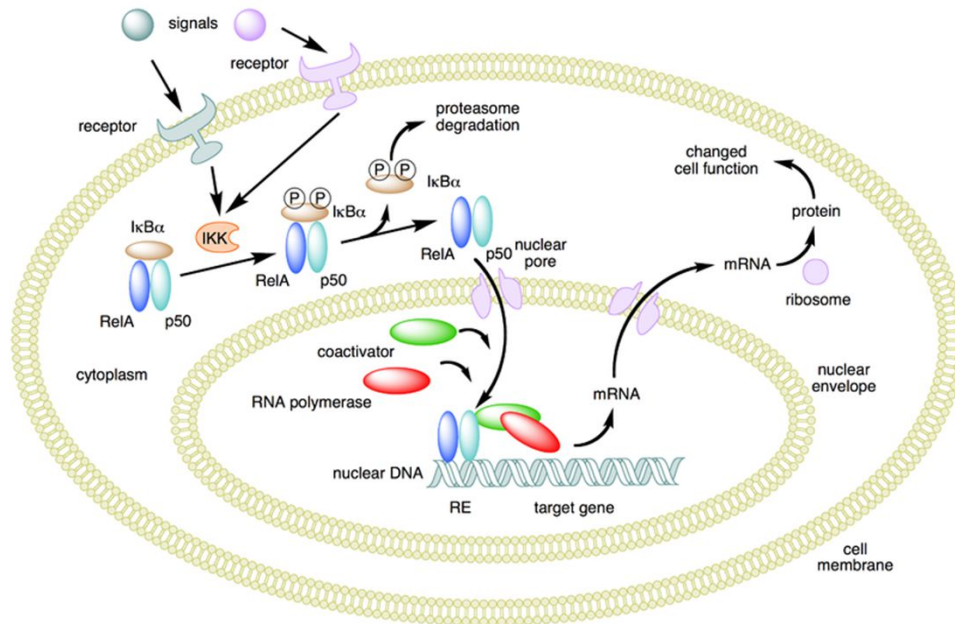
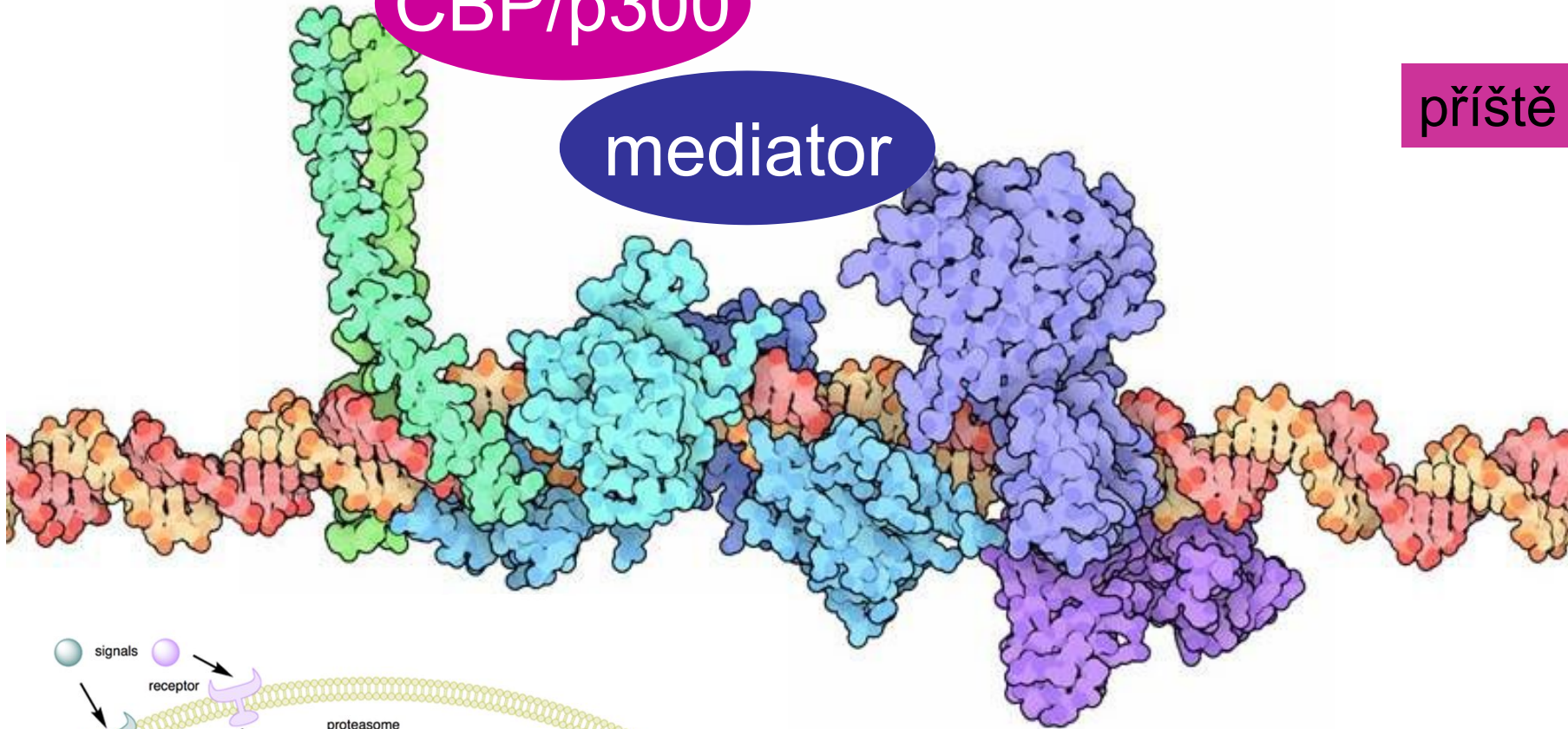


- TF pokrývají 72% povrchu DNA (těsné sbalení DB-domén)

CBP/p300

mediator

příště



- TF obsahují **aktivační doménu** – na AD se váže mediator komplex – integruje/propojí TF (phase separation – ohniska) – zprostředkuje vazbu s RNA polymerasou - iniciaci transkripce - enhanceosom interaguje („přitáhne“) koaktivátory (CBP/p300 histon acetylase), modifikuje chromatinovou strukturu ...

Souhrn:

- vazba většiny TF pomocí šroubovice ve velkém žlábkku (leucinový zip, HTH, zink-finger ...)
- transkripční komplexy (enhanceosom ...)

Příště:

- Histon, HMG-box
- β -sheet motivy
- enhanceosom ... a počátek transkripce

