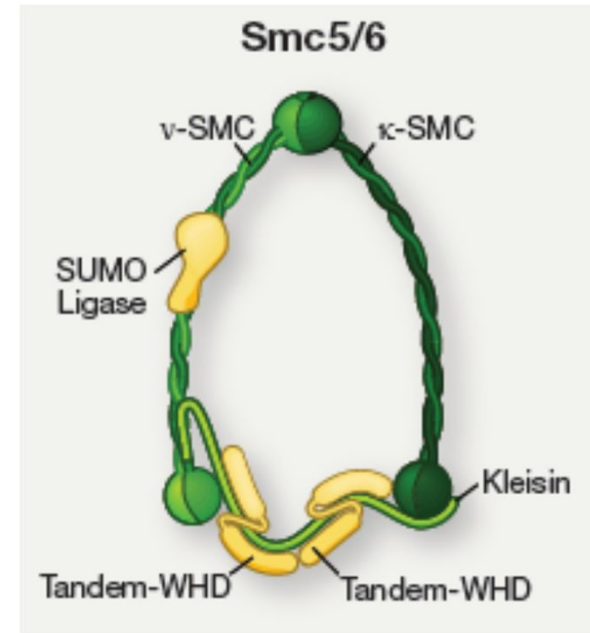


# Zkouška: - test + přednáška

- Úvod - Analýza proteinu
  - Domény
    - fold-struktura (ss, PDB)
    - v PyMolu připravit 3D strukturu
    - Interakce (IntAct)
  - Komplexy
    - Funkce
    - Lokalizace
  - evoluce
- Konkrétní nová data – článek (< 5 let)



Ujasnit si souvislosti, rozšířit si znalosti, aplikovat poznatky z přednášek ...

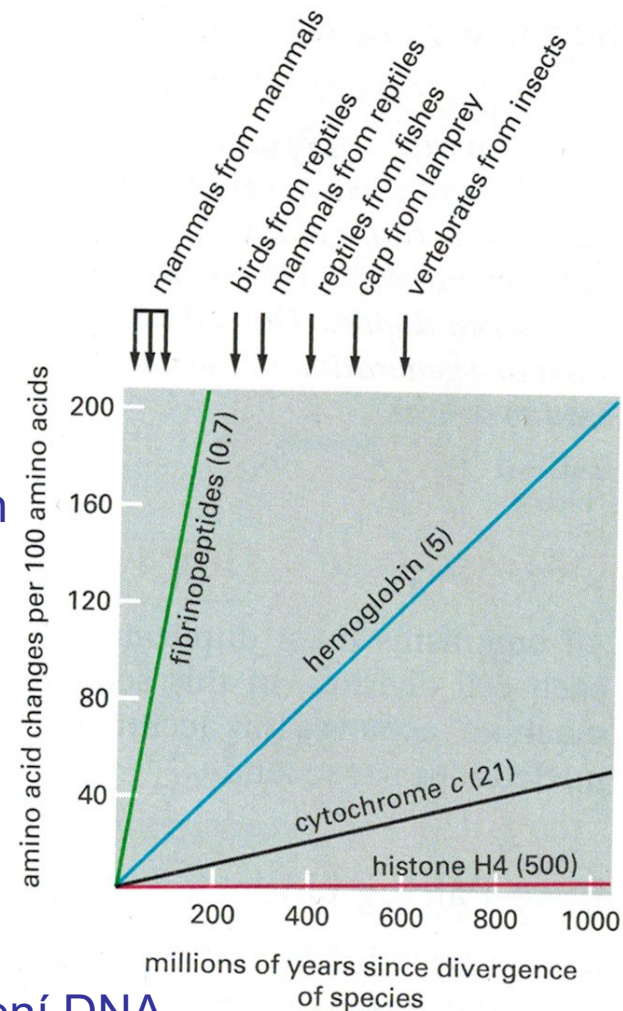
- srovnání genomů/proteomů ukazuje (podobně jako morfologie) na změnu („evoluci“) proteinů v čase
- divergence druhů koreluje do značné míry s konzervací/divergencí DNA/proteinových sekvencí

Prof. Lehmann

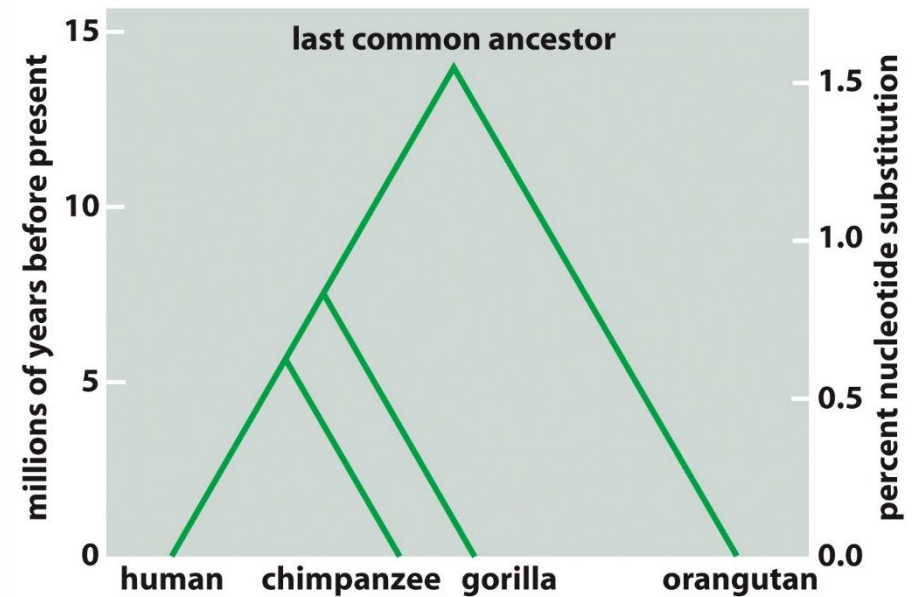
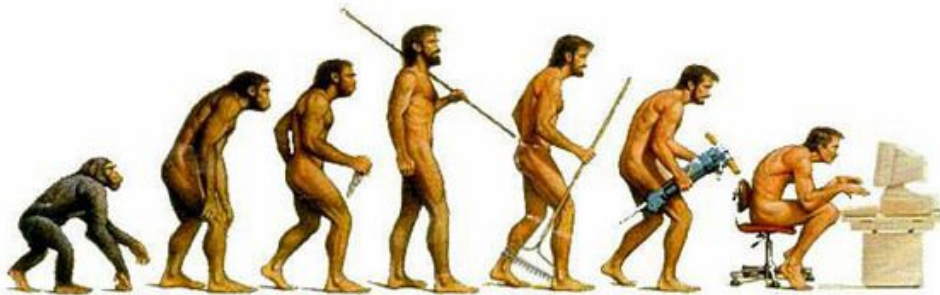
- DNA je replikována s relativně vysokou přesností (1 změna na  $10^9$  nukleotidů – cca 4000 <sub>TNR12</sub> písmen na A4 stranu – 8000 <sub>TNR12</sub> na list – 500 listů/balík – cca 250 balíků)
- poškození DNA dalšími vlivy ...

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

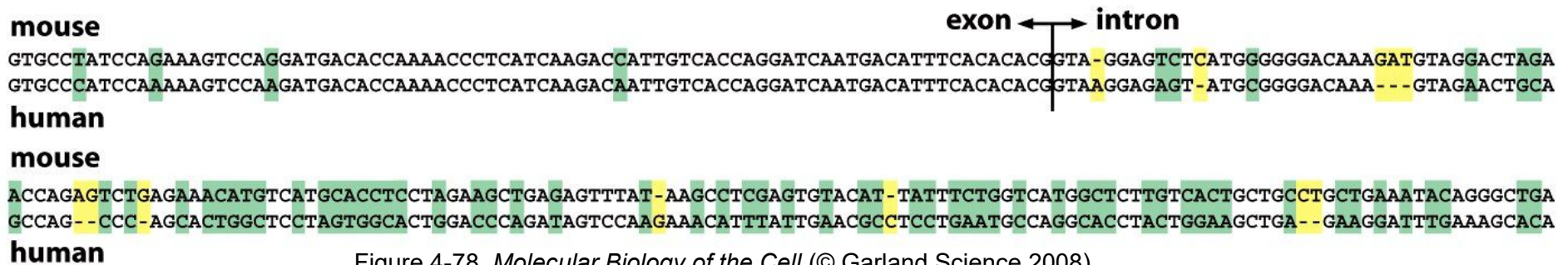


Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- 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)

Doplnit články k morfogenezi

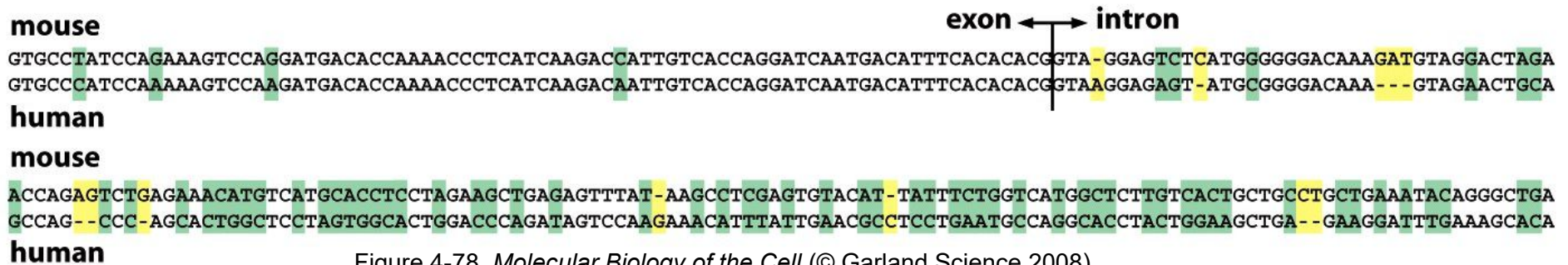


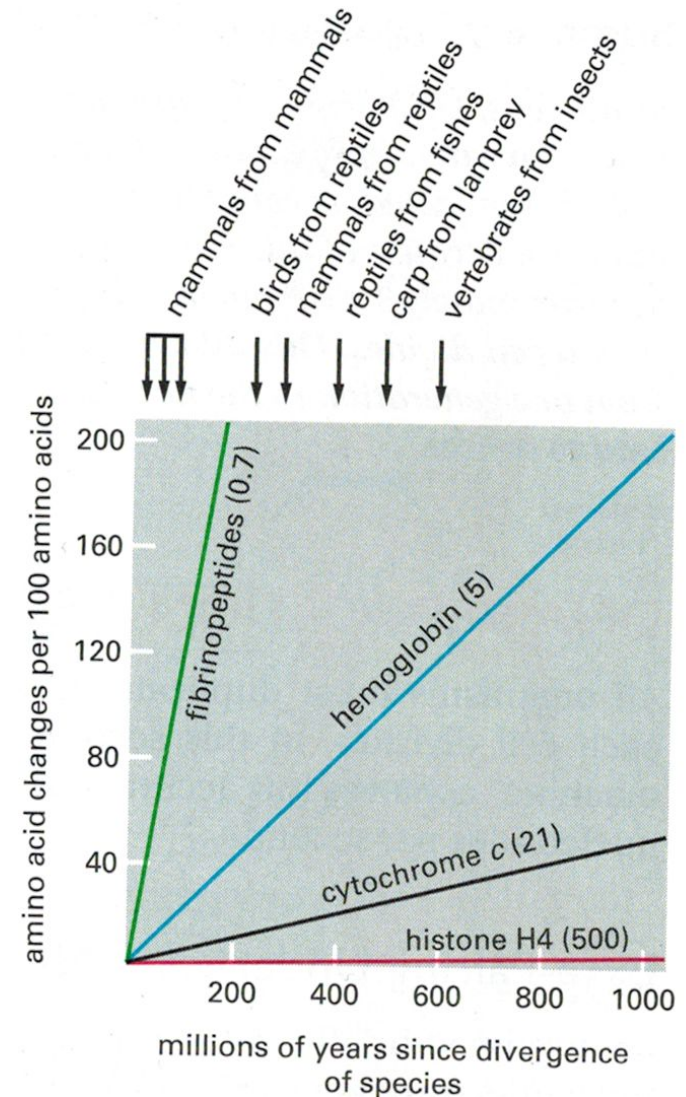
Figure 4-78 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

- 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 ...

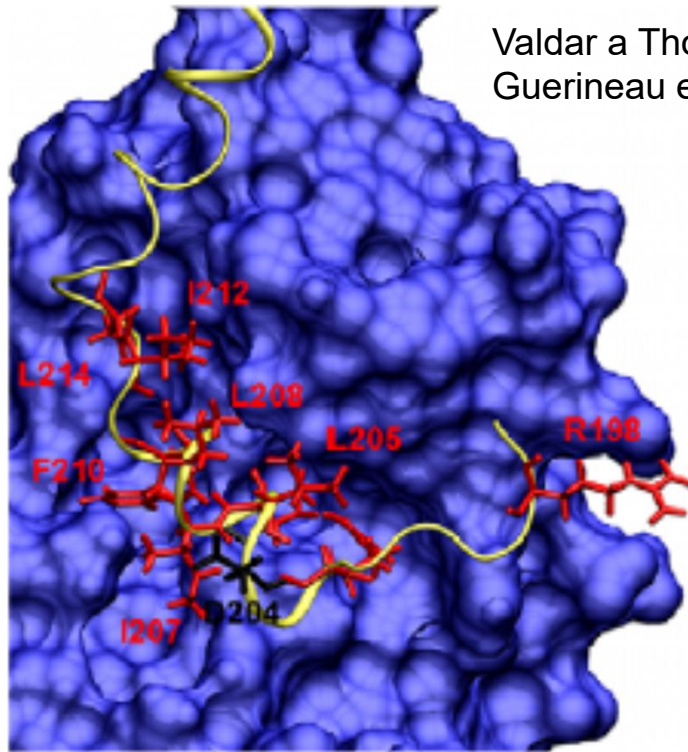
- nejpomaleji se mění proteiny, které jsou zapojeny do nejvíce interakcí s dalšími proteiny (limitována, jak struktura, tak povrch)
- není příliš prostoru pro změny - např. ubikvitin, DNA polymerázy, histony, ribosomální proteiny, ... („drží“ základní systém)

- 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)



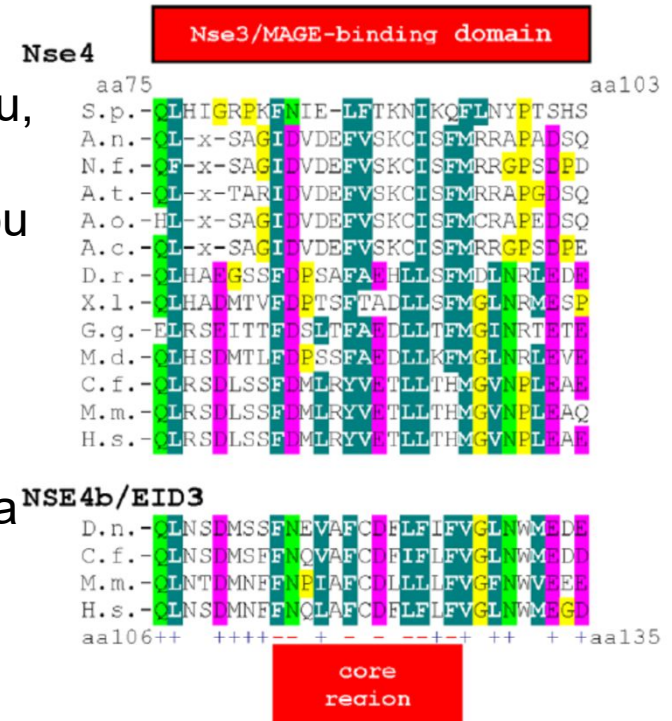




Valdar a Thornton, Proteins, 2001  
 Guerineau et al, PLoS One, 2012

- 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.	GFLMTVIAFI	AV-SHCSVG	-HSEIQSFL	QELLT---	E	ETTP	LHLD-	ITRSL	SLLVRO	GYL--	DRVKDDT	---	HNQFV	YIYI-	GSRAVTE	IS-	IEGLK	SEFVTE	TEFF																																							
Ani.	GLYTFIIAV	ILL-NGGTIQ	-EQKIDRYL	SRMNA---	E	QFTP	VER--	THHL	QRLCKE	GYL--	VKNREMDG	-	GDEIIE	YMV-	GPRGKVE	VG-	ARGVAG	GLVRE	VY																																							
Pyr.	ALYTTVIAF	III-SGGIIP	-EGKIDRAL	RRMNA---	D	QTPPL	GT--	KDKT	LAAVMK	DGYI-	VKVVDV	SGG	TEETID	YIV-	GPRGKVE	VG-	GEGVAQ	FIRAV	Y																																							
N.f.	GLYSFIIAV	ILL-NGGSLP	-EQKLERYL	KRTNA---	D	TYTP	VDR--	TDRE	LQRLCKE	GYL--	IRNREMDG	-	GEEIIE	YMV-	GPRGKVE	VG-	VQGWAG	GLVRE	VY																																							
Ate.	GLYTFIIAL	ILL-NGGSLP	-EQKLERYL	QRTNT---	D	TYTP	IDR--	TDRE	LQRLCKD	GYL--	VRNREMD	S-	GEEVIE	YMV-	GPRGKIE	VG-	TQGWAG	GLVRE	VY																																							
Ac1.	GLYSFIIAV	ITL-NGGSLP	-EQKLERYL	KRTNA---	D	TFTP	IDR--	TDRE	LQRLCKE	GYL--	LRTREMDG	-	GEEVWE	YLV-	GPRGKIE	VG-	VQGWAG	GLVRE	VY																																							
C.i.	ALYTFIISL	ITL-SGGSLA	-EQKIDRYL	RRVNA---	D	TYTP	PLDR--	TEKL	LARLCKD	GYL--	VNRD	V	GEEVWE	YLV-	GPRGKIE	VG-	TEGWAG	L	TREVY																																							
P.a.	ALYTTIISL	ITI-SGGELS	-DTRLRRL	ARLNAAE	YMP	SMNP	N	D	x-TD	VVL	QRM	IKH	GYL--	V	RMVDNR	G	DDD	ST	TWHV																																							
N.c.	GLYTMLIA	ITL-SGGELS	-DPRLRRL	YLR	TRLNAA	x	PM	EN	A	PEK	--	TEL	V	L	QRM	T	K	Q	GYL--	V	RV	ADN	x	AG	DD	DA	T	T	WHV	-	G	PR	G	K	VE	V	D	-	NE	A	I	AA	V	RE	V	Y												
M.g.	GLYSMIVT	IIQL-NRGELS	-DPKDKRYL	QRLNA---	E	TNTP	V	E	K--	TE	LLL	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** GLLMLVLSVILM-SxxxxN-YTSLMWHFLKKGLEPKKEHEVFGDP--EKLIAQEFTRQGYLERRKVTGGE---EATFEYSW-GSRSNKE---LTKRKVLEFVS:

**B** GLLFVILSVIFM-KGGTIK-ENLVMNITLKKLRIDPGEKHDEFQGDV--KKVVTEEFVROKYLBYGKIPHTE---PVEYEFRW-GLRAEKE---VSKLKLLEFVG:

**R** GLLFVILSVIFM-KGGAVR-DSVVMNITLKKLRVQPGERHPEFGEV--KRVVMEEFVRORYLBCNRIPHTE---PLEHEFRW-GQADTE---VSKTKILEFMA:

**A** GLLMVILSLIFM-KGNTAK-ESAVWEMLRRLRIEPAEKHSDFGDV--KKLITEEFVKOKYLEYSKVLHTD---PVEYEFRW-GQRAFKE---TSKMQVLEFVS:

**T.** GLLIVILSFIFM-KGNSAK-DSAVWEMLRRLRVHPGEKHEVFGDV--KKLVMEEFVROKYLHITPIPLTD---PPEFNFQW-GPRAAKE---TSKKDILSFVA:

GLLMVILSLIFM-KGSATN-ESWIWETLRKLRVDTRERHEVFGDV--KKLVTTEEFVROKYLEYNRIPHTE---PVEYEFQW-GARATKE---TTKMQVLEFVA:

GLLMVILSLIFM-KGNSAR-ESLVMVDLKKLRVDPEKRKTFGDV--KKLVKDEFVROKYLEYIRVPHSE---PPEYEFQW-GPRAAHE---TSKMQVLEFVA:

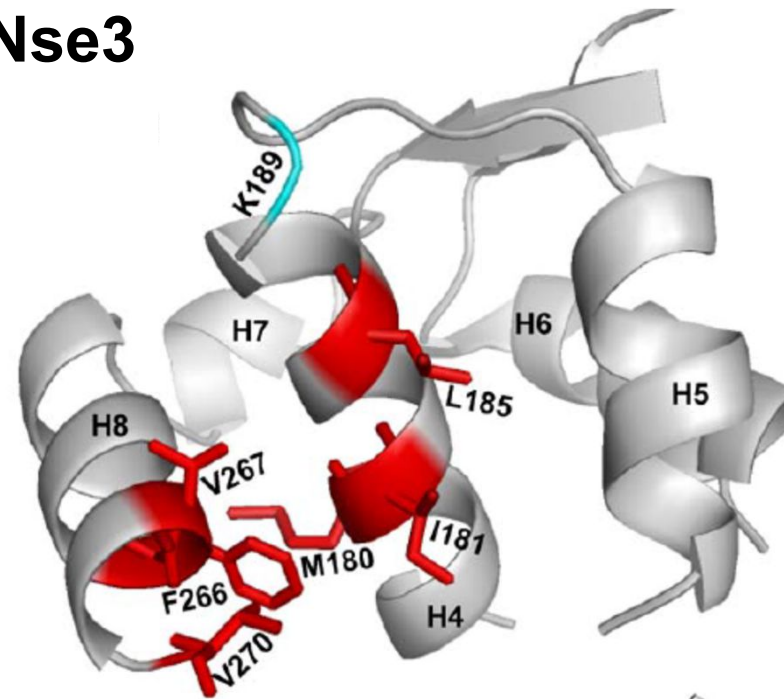
GLLMIVLGLIFM-KGNTIK-ETEVMDFLRRLGVYPTKKHLIFGDP--KKLITEEFVRORYLEYNRIPHTE---PVDYELQW-GPRTNLE---TSKMKVLEFVA:



# 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

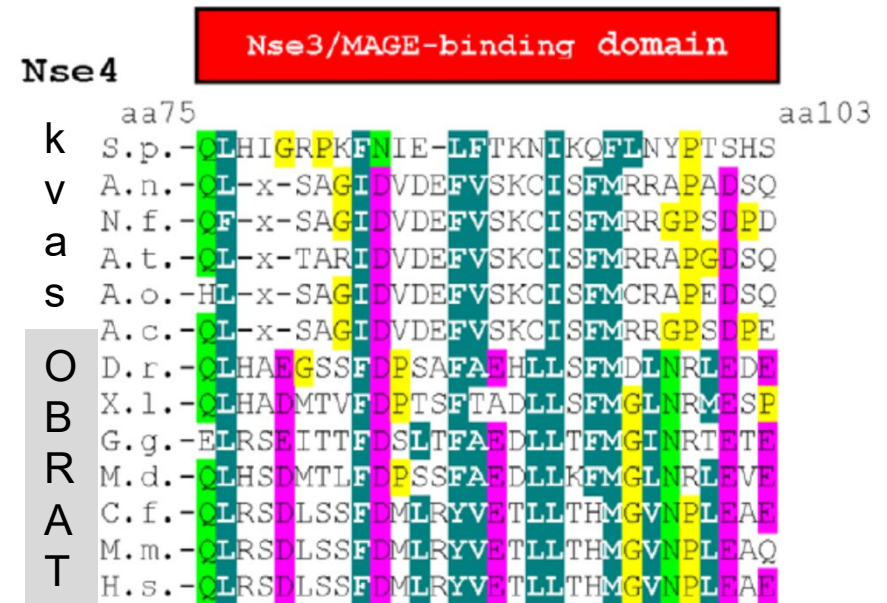
### ...RYBY, OBOJŽIVELNÍCI, PTÁCI ...

N.v.	GLLMVLVLSVILM	SxxxxN	YTSLWHFL	KKMGL	EPKKE	HEVFGDP	--EKLI	ACEFT	ROGYL	ERRK	VTGG	---	EATE	EYSW	---	GSRS	NKE	---	LT	KR	KV	LE	FV	SV																																																												
D.r.	GLLFVILSVIFM	KG	GTIK	ENL	VWNTL	KKLR	LD	PGE	KH	DE	F	GDV	--KK	VV	TE	FV	R	Q	K	Y	L	E	Y	G	K	I	P	H	T	E	---	PV	E	Y	E	F	R	W	---	GL	R	A	E	K	E	---	V	S	K	L	K	L	L	E	F	V	G																											
T.n.	GLLFVILSVIFM	KG	GAVR	DS	VWNTL	KKLR	VQ	P	GER	H	E	F	GEV	--K	R	V	M	E	E	F	V	R	Q	R	Y	L	E	C	N	R	I	P	H	T	E	---	E	L	E	H	E	F	R	W	---	Y	Q	R	A	D	T	E	---	V	S	K	T	K	I	L	E	F	M	A																				
X.t.	GLLMVILSLIFM	KG	N	TAK	ES	AV	W	E	M	L	R	R	L	R	I	E	P	A	E	K	H	S	D	F	G	D	V	--K	K	L	I	T	E	E	F	V	K	Q	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	S					
G.g.	GLLIVILSFIFM	KG	N	SAK	DS	AV	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	Q	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.a.	GLLMVILSLIFM	KG	S	A	T	N	---	ES	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	Q	K	Y	L	E	Y	N	R	I	P	H	T	E	---	P	V	E	E	F	Q	W	---	G	A	R	A	T	K	E	---	T	T	K	M	Q	V	L	N	F	V	A			
M.d.	GLLMVILSLIFM	KG	N	S	A	R	---	ES	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	Q	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	
E.e.	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	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	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	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
S	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	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
M	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
A	GLLMIVLGLIFM	KG	N	S	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	H	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	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
V	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	S	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
C	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	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	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
C	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	T	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	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
M	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	T	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	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
M	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	V	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
P	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
P	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	V	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A
H	GLLMIVLGLIFM	KG	N	T	I	K	---	E	T	E	A	W	D	F	L	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	D	F	V	R	Q	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	F	Q	W	---	G	P	R	T	N	L	E	---	T	S	K	M	K	V	L	K	F	V	A

# Slabší konzervace ve vzdálených organismech

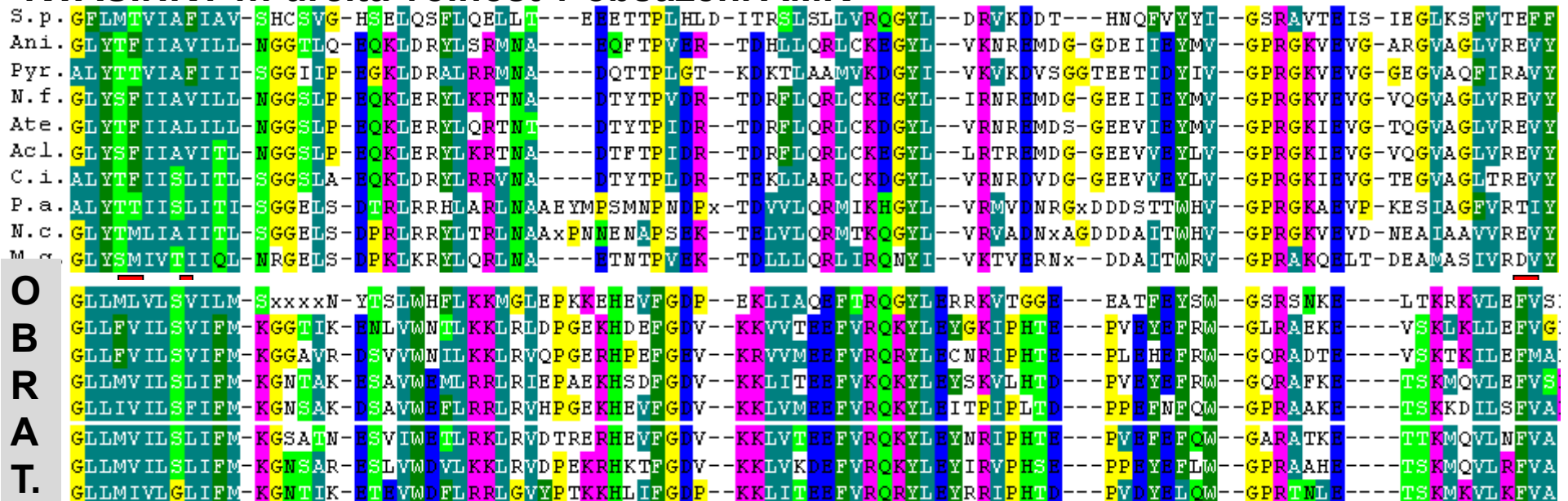
- „mutace“/změny těchto AMK na odlišné (polární Thr nebo posun motivu o 1AMK na konci)
- interakční partner se ovšem také „mění“
- „mutace“/změny zřejmě koevolvuji

## NSE4 subfamilies



Guerineau et al, PLoS One, 2012

## KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK



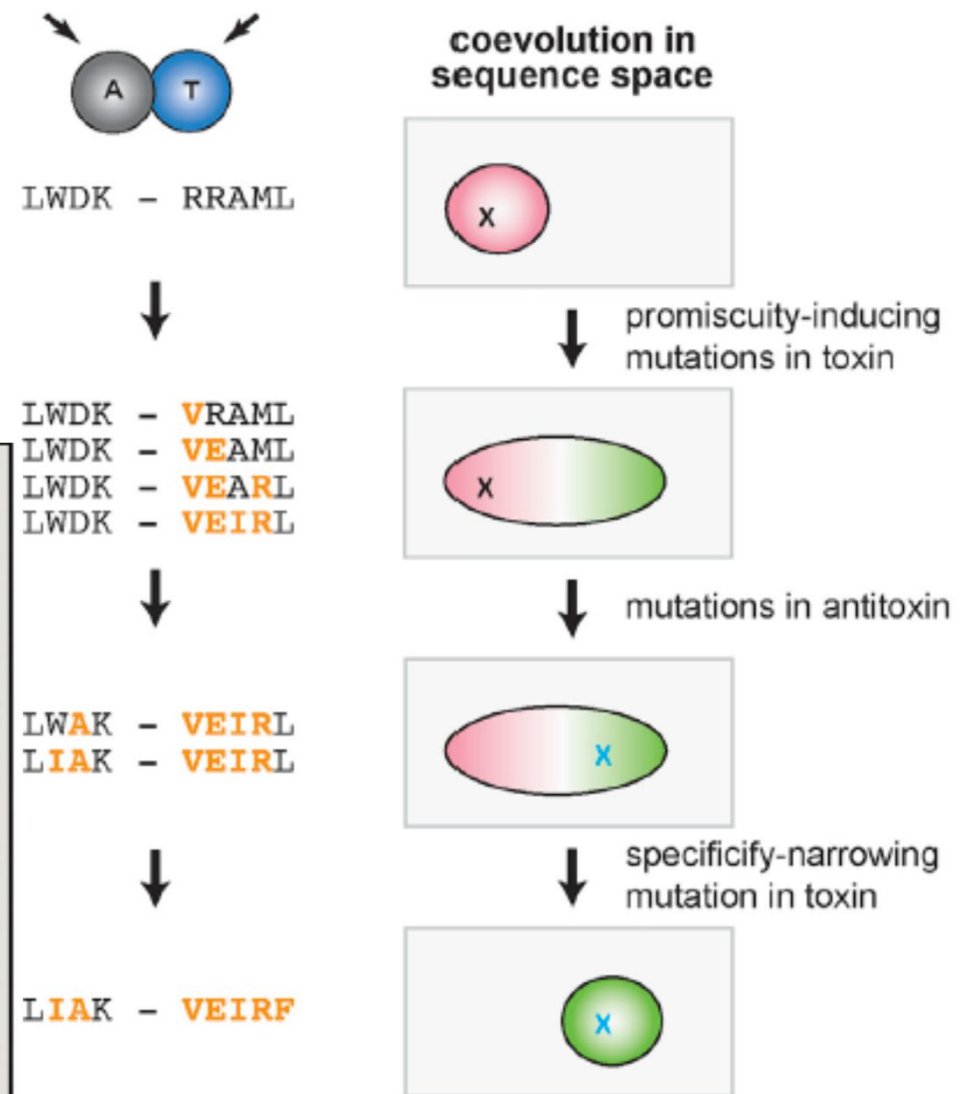
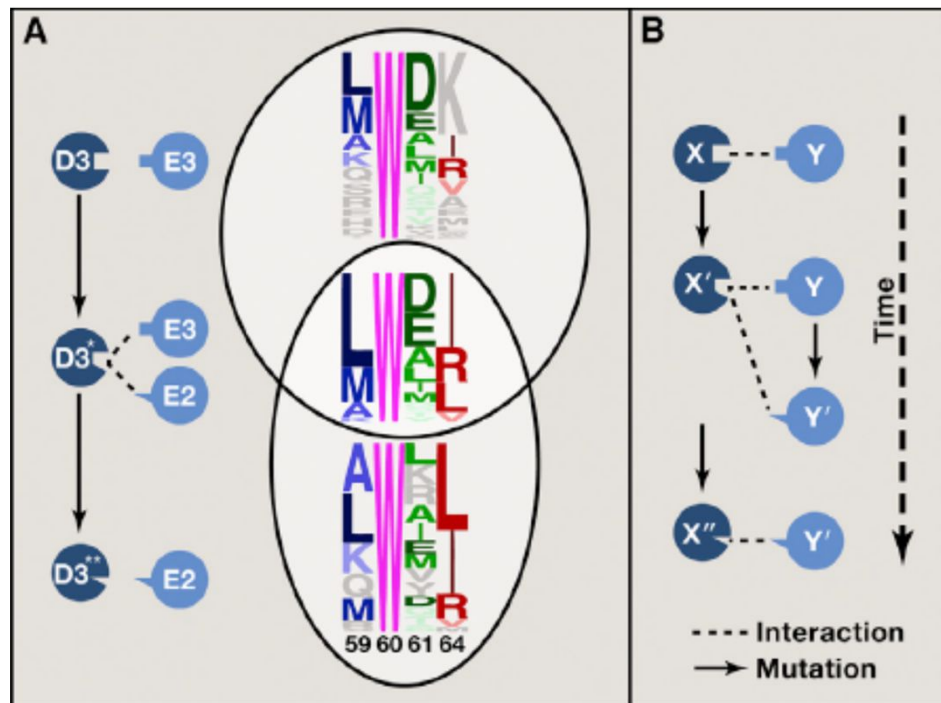






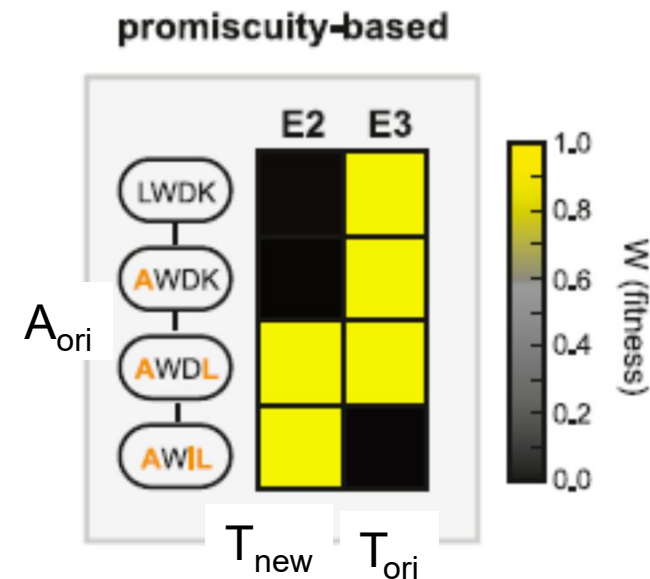
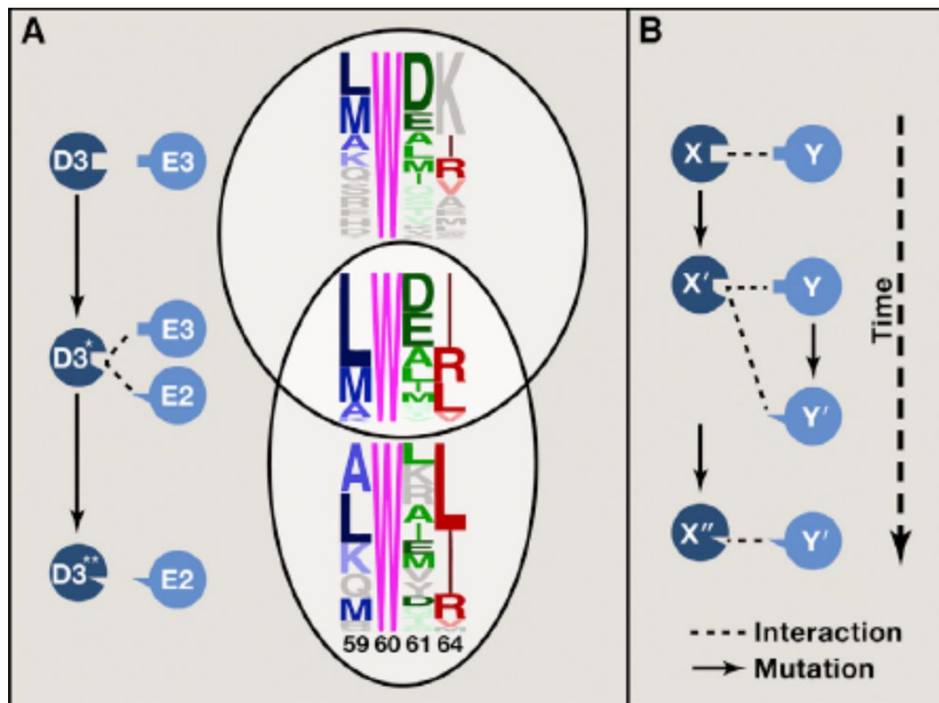
# Vazební partneři ko-evoluují

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



# Vazební partneři ko-evoluují

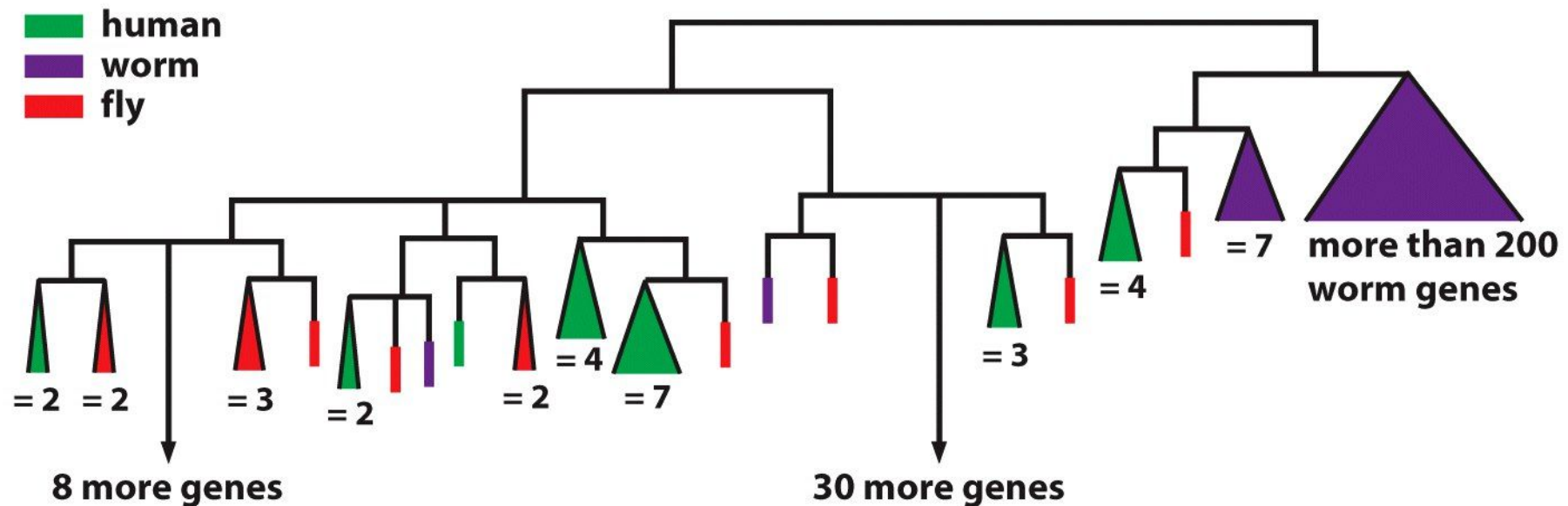
- u „promiscuous intermediate“ mutací nedochází ke ztrátě PPI
- „promiscuous intermediate“ může interagovat i s **duplikovaným** proteinem (např. tkáňově specifickým – specifický komplex)
- později se může „oddělit“ a vytvořit nový komplex (paralelní ko-evoluce = drift)



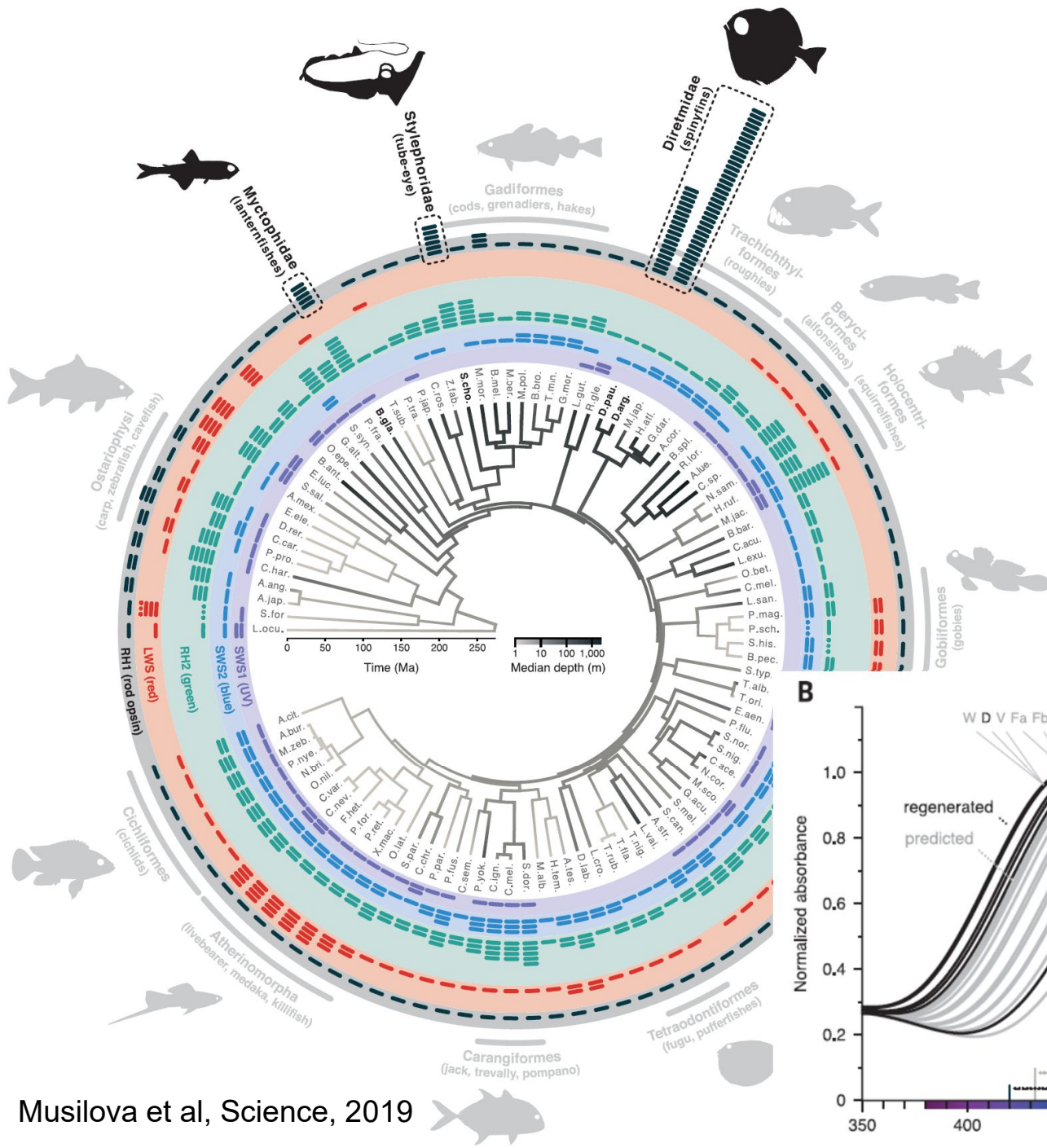


# Vznik proteinových rodin

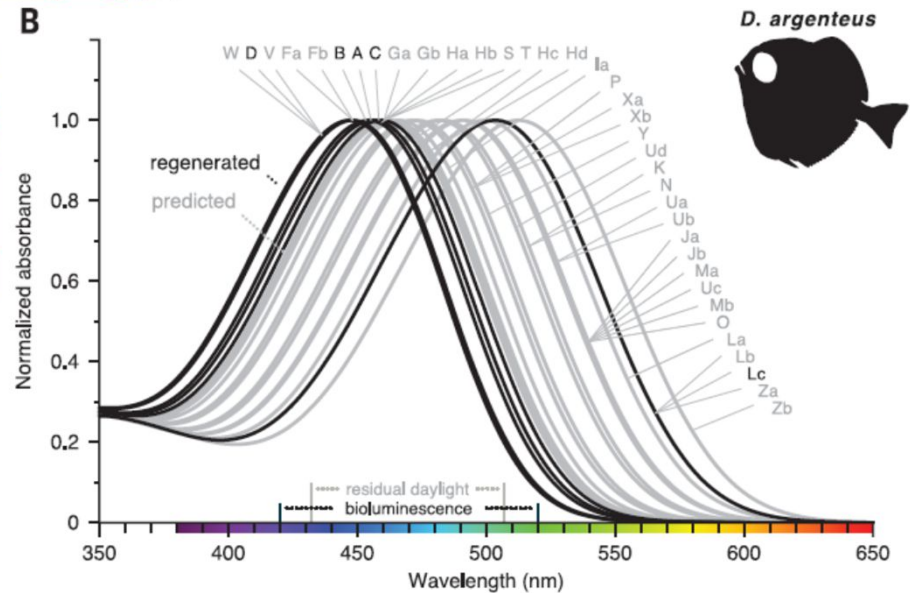
- selekční tlak na stabilitu a funkci - nutnost zachování funkce neposkytuje příliš prostoru pro evoluci/rozvoj nových vlastností
- pro rozvoj nových vlastností, nových druhů - spíše než druhově specifické mutace proteinů lze vidět **expansi různých genových/proteinových rodin** v různých živočišných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



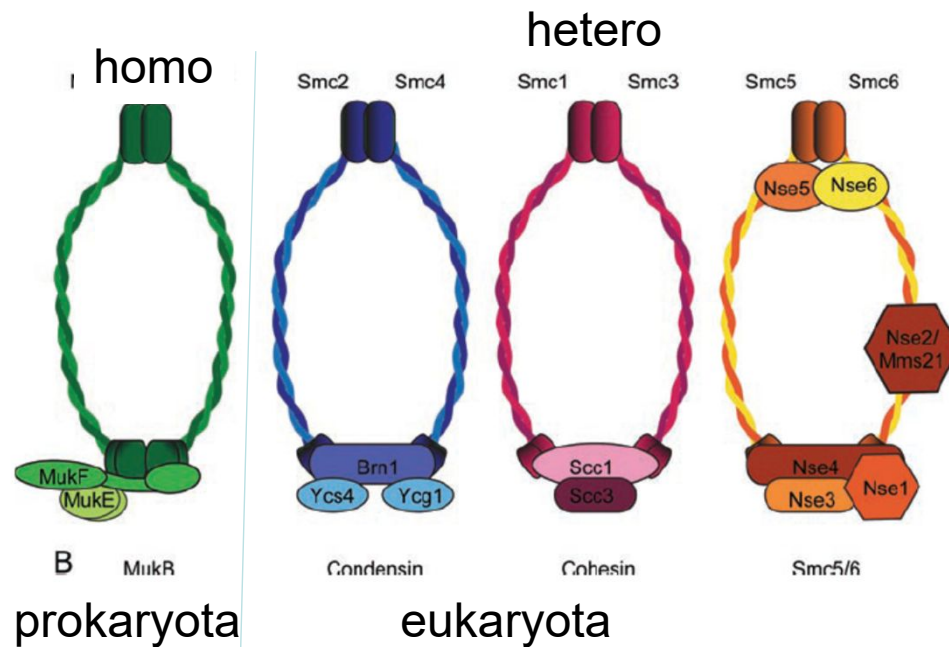
(příklad superrodiny jaderných hormonálních receptorů)



Diretmus argenteus  
hlubokomořská ryba  
– bioluminiscence



- **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))

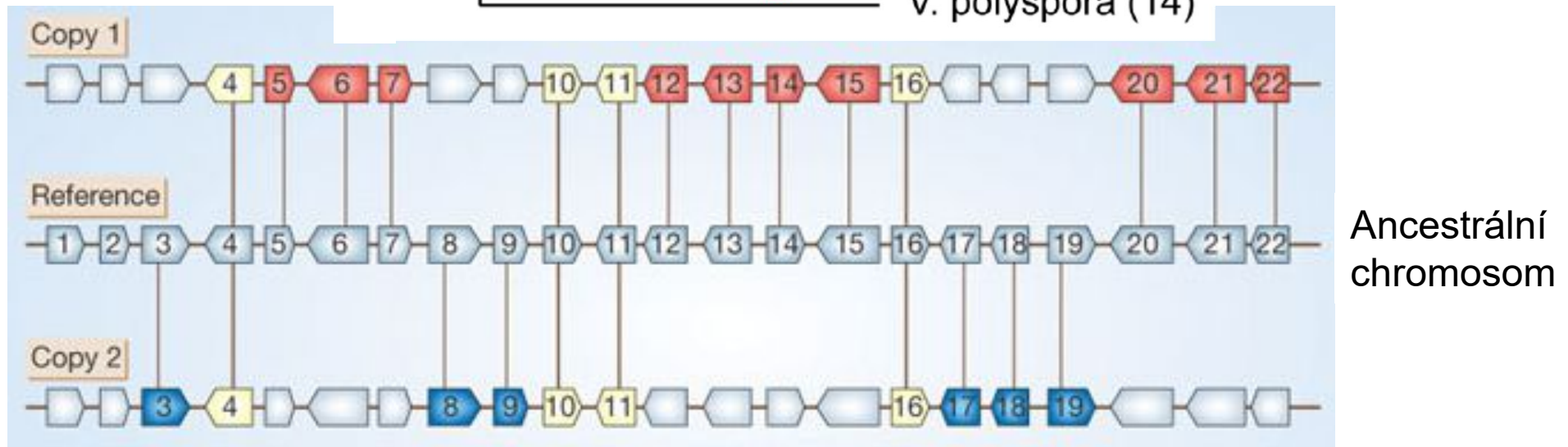
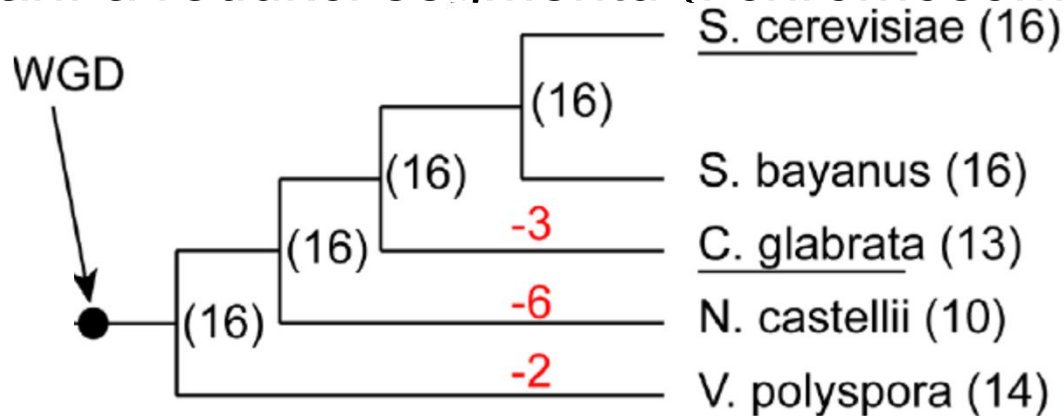


- po **duplikaci** jsou oba proteiny stejné a vytváří stejný homomerní komplex – později jeden protein diverguje (mutace) a vzniká heteromer



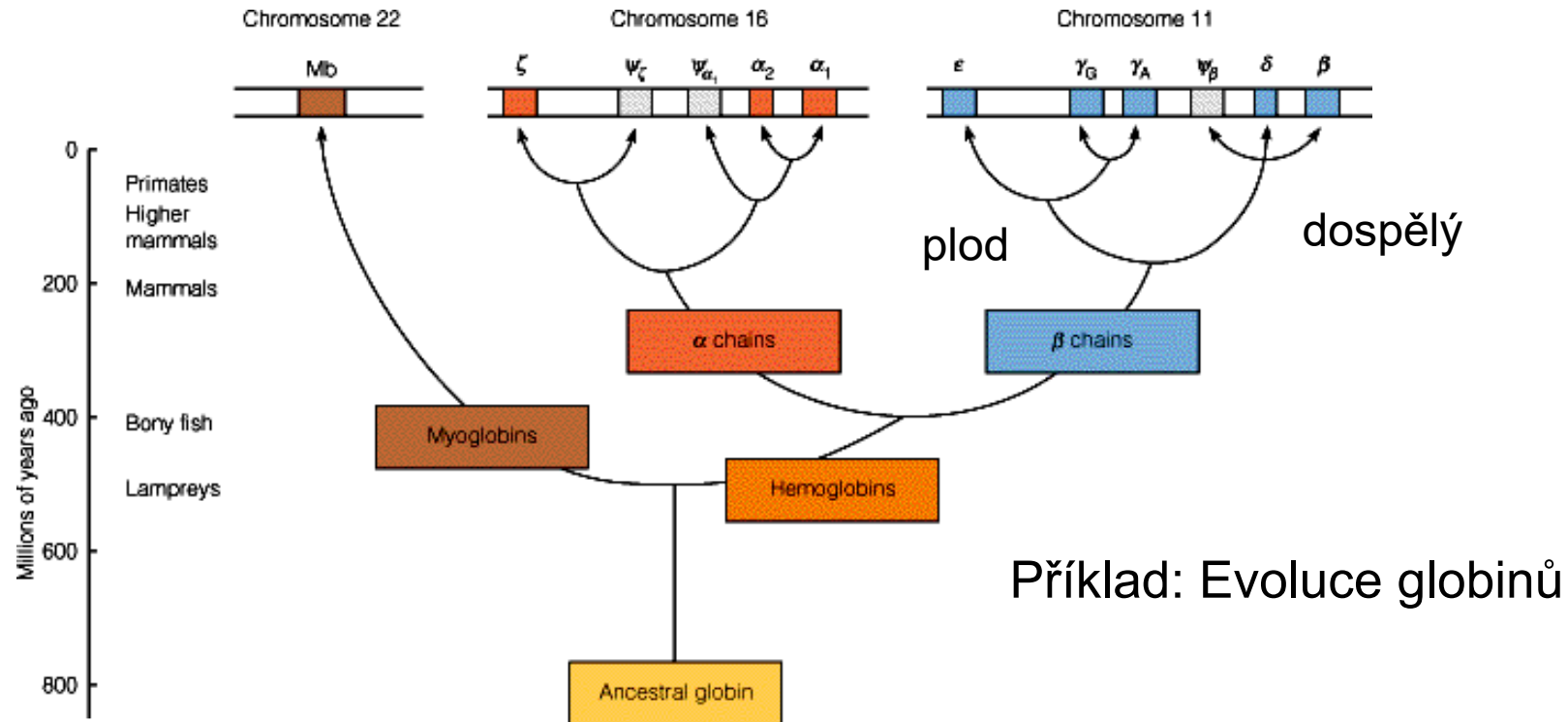
# Celogenomová duplikace u kvasinek

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



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

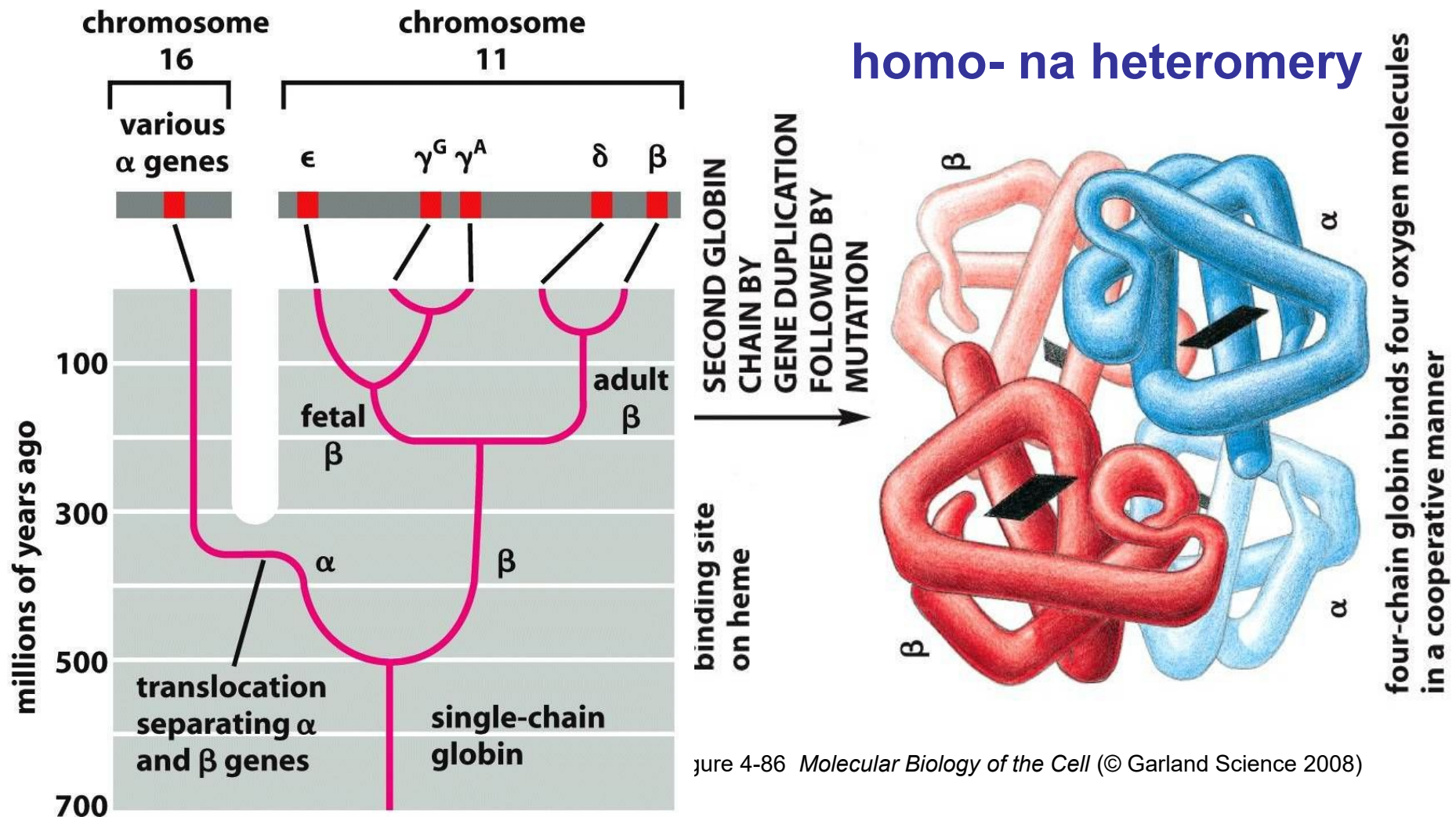
- duplikace – **reverzní transkripcí** (u živočichů) a integrací DNA (pouze individuální geny nebo pouze domény = exony) nebo replikační chyba s následnou chybnou opravou DSB



- 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)

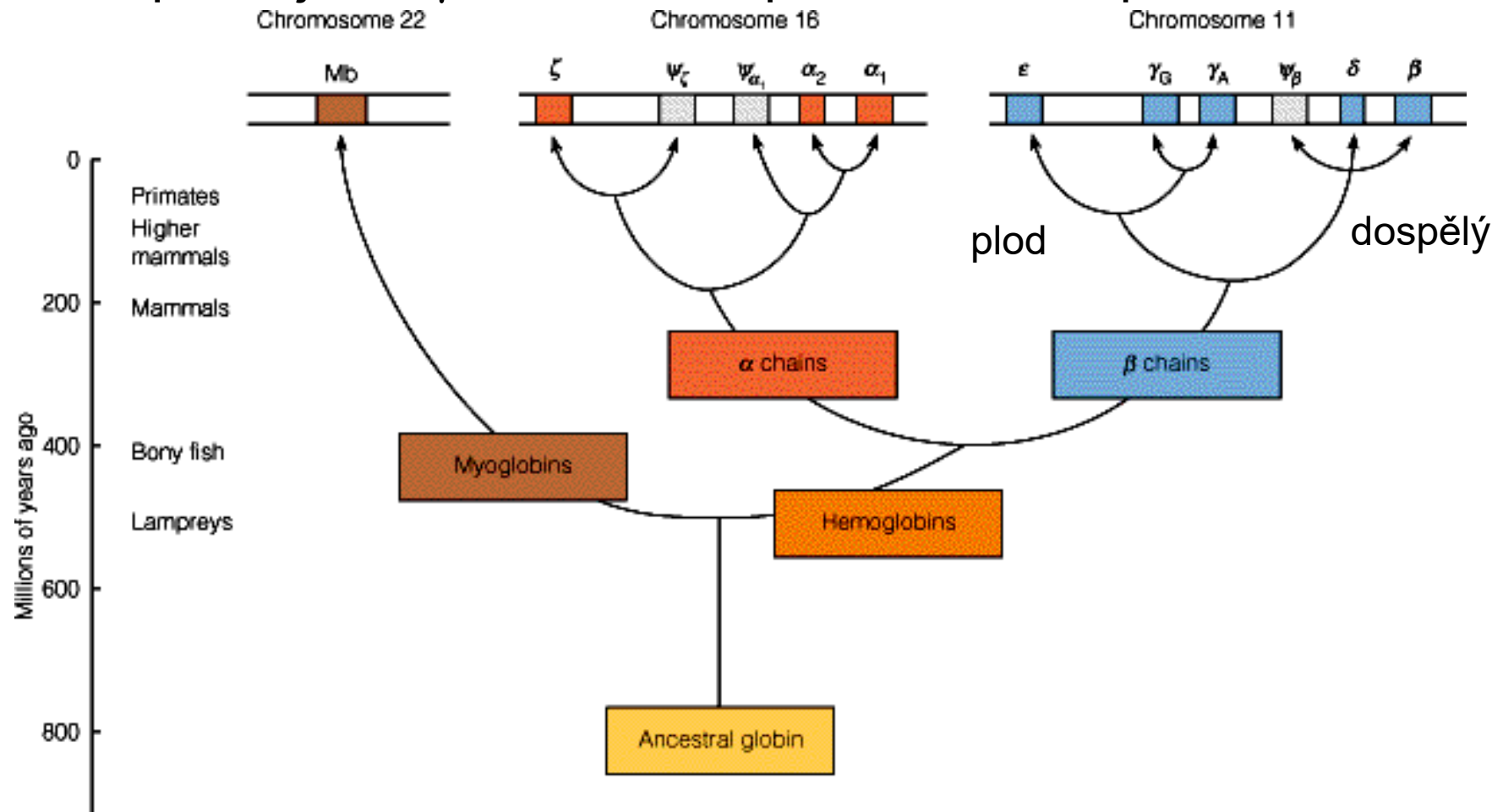


- vyšší obratlovci mají  $\alpha$ - a  $\beta$ -globin (tvoří  $\alpha_2\beta_2$  komplex – účinnější přenos kyslíku) – vyvinul se u vyšších ryb (500Mya)



## Evoluce rodiny globinů (duplikace)

- u savců se dále duplikoval  $\beta$ -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)

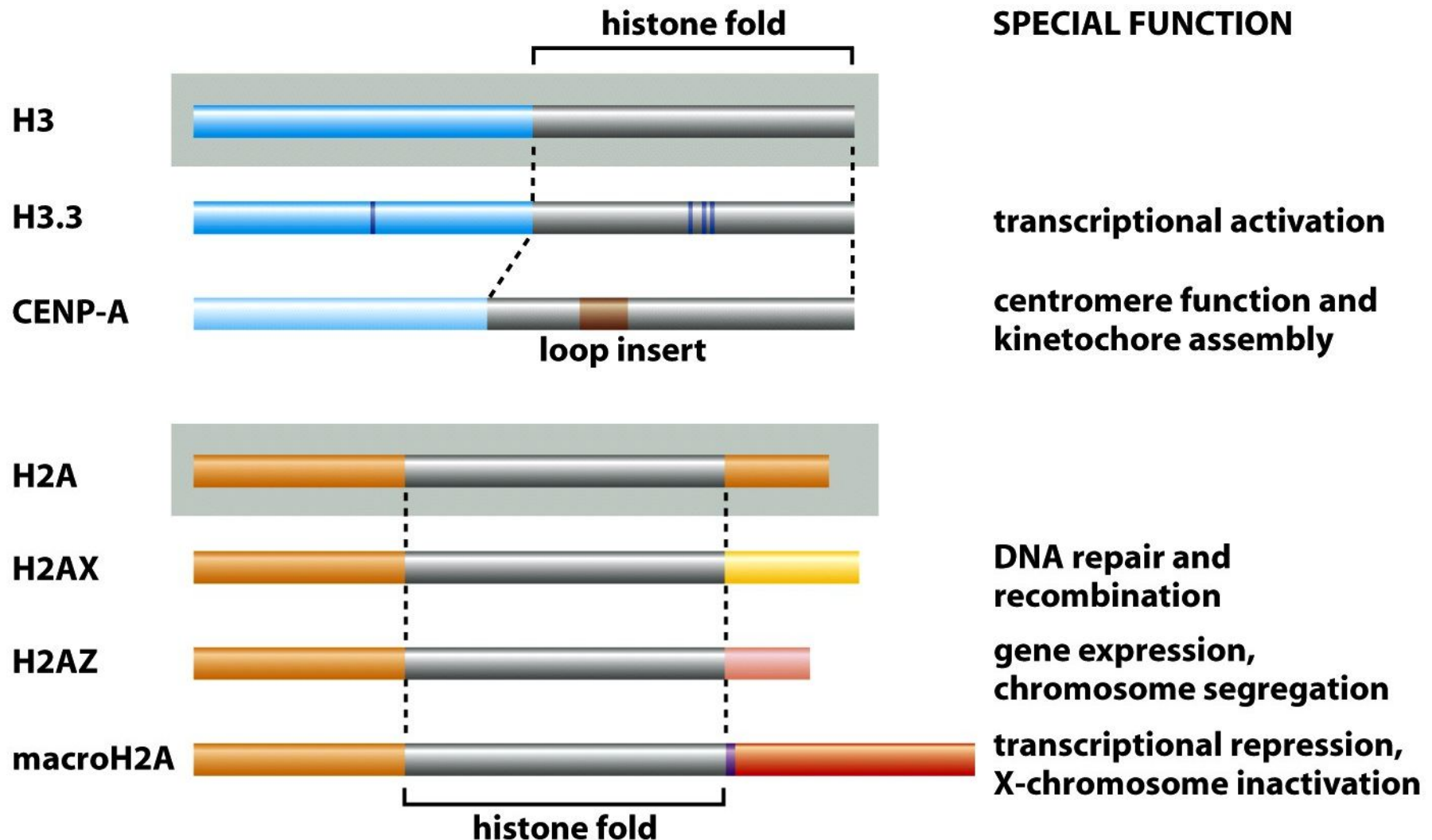


Figure 4-41 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

- 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)

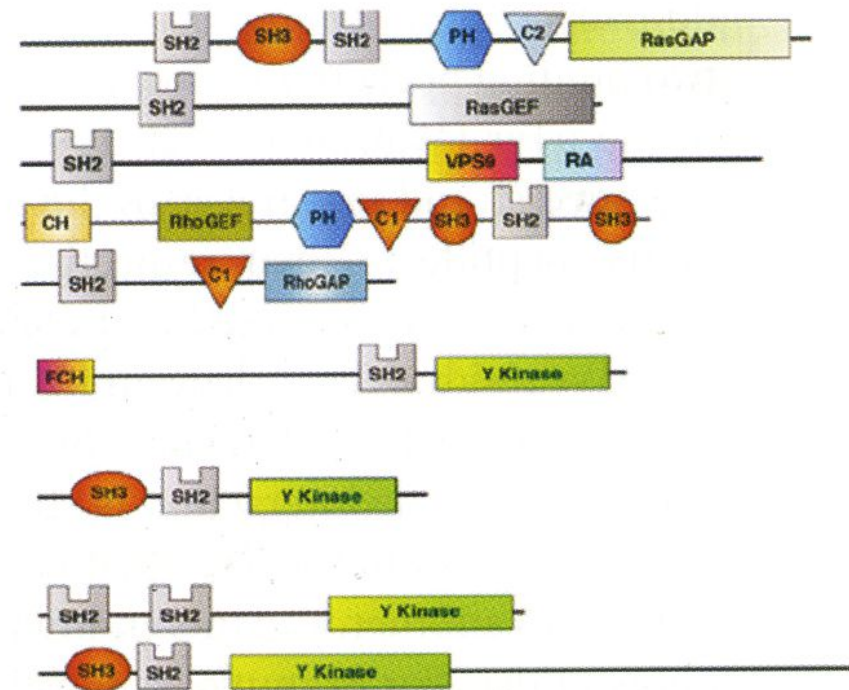
- fúze domén naznačuje funkční příbuznost nebo dokonce přítomnost v komplexu (v organismu s nefúzovanými doménami - ChimeraDB)

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





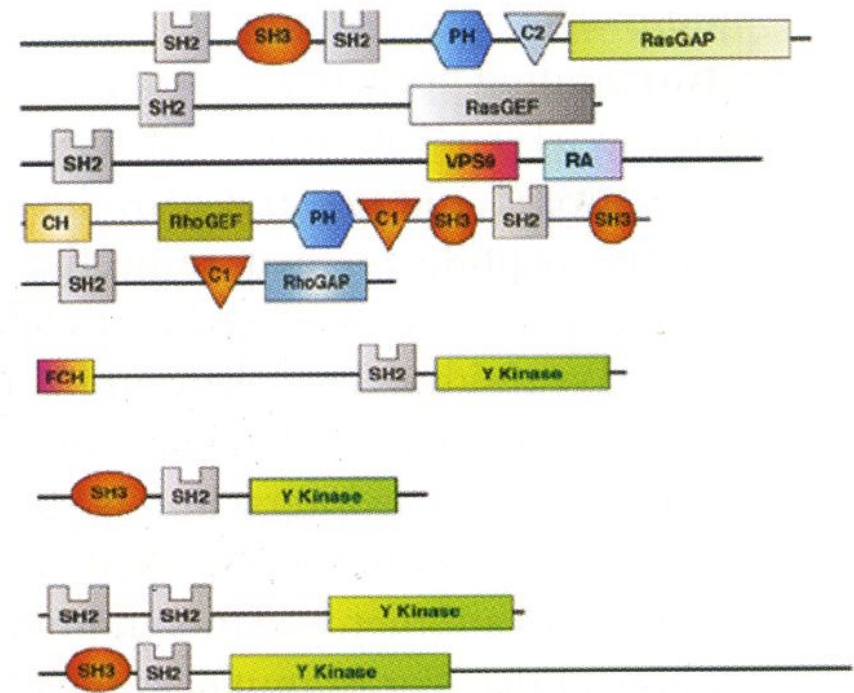
- duplikace **domény** (většinou koreluje s exonem)
- hranice domény jsou většinou kódovány **introny** – bez intronů by bylo obtížnější přesně vybrat pouze „doménovou“ část sekvence
- duplikací a „**shuffling**“ **domén** – poskládají se nové geny/proteiny – vytváří nová funkční/fyzická provázání (interakce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

Small GTPase Signaling

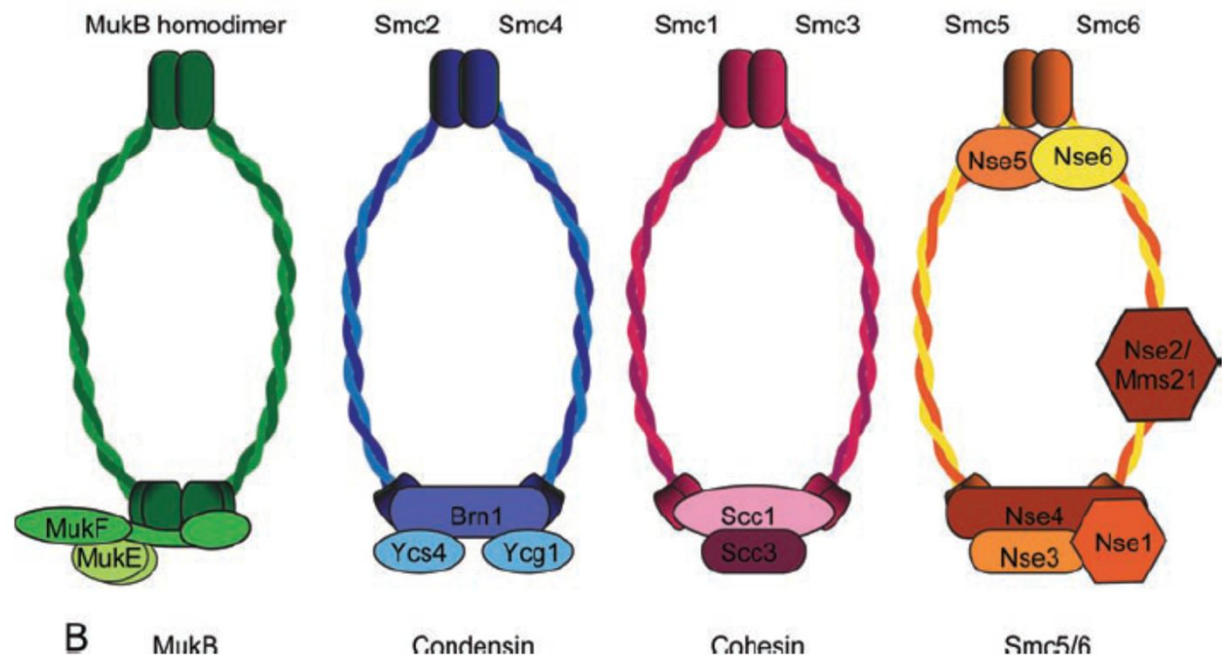
Ras-GAP  
Nsp1,2,3  
Rin1  
Vav1,2,3  
Chimerin

Kinases

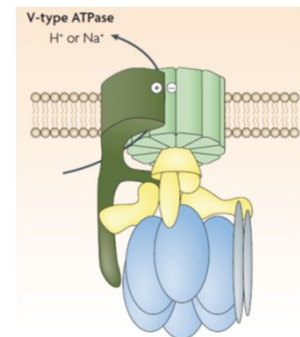
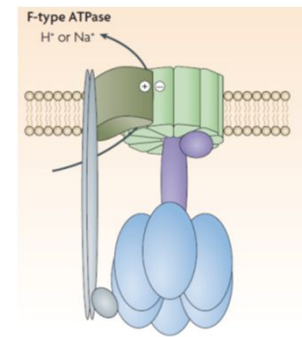
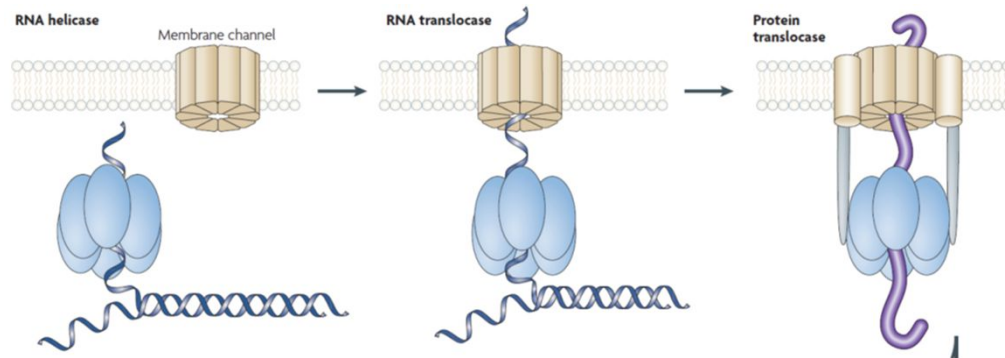
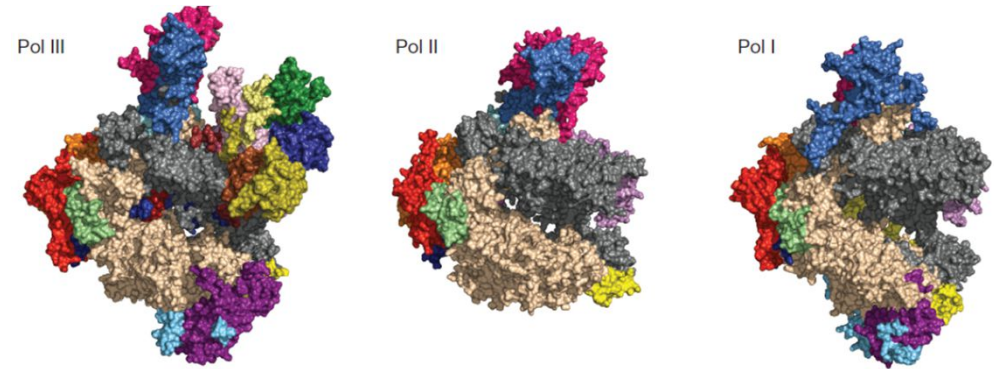
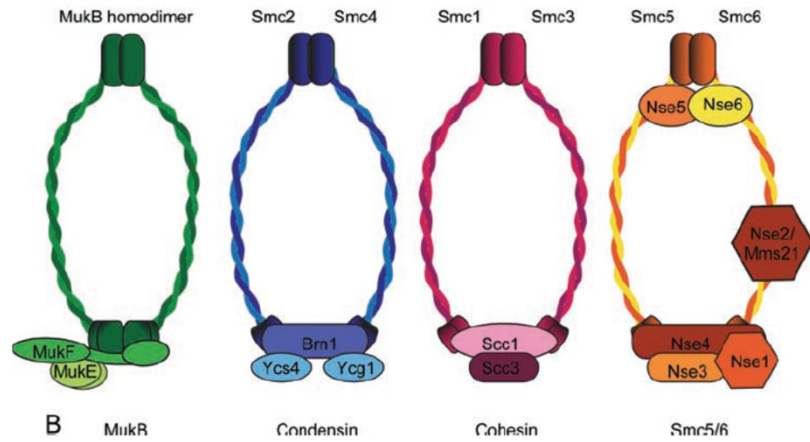
Fps, Fer  
Src, Csk, Ctk/Hyl,  
Fgr, Fyn, Yes, Hck,  
Lck, Lyn, Blk, Frk,  
Brk, DJ697K14.1  
Zap70, Syk  
c-Abl, Arg/Abl2



- „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)



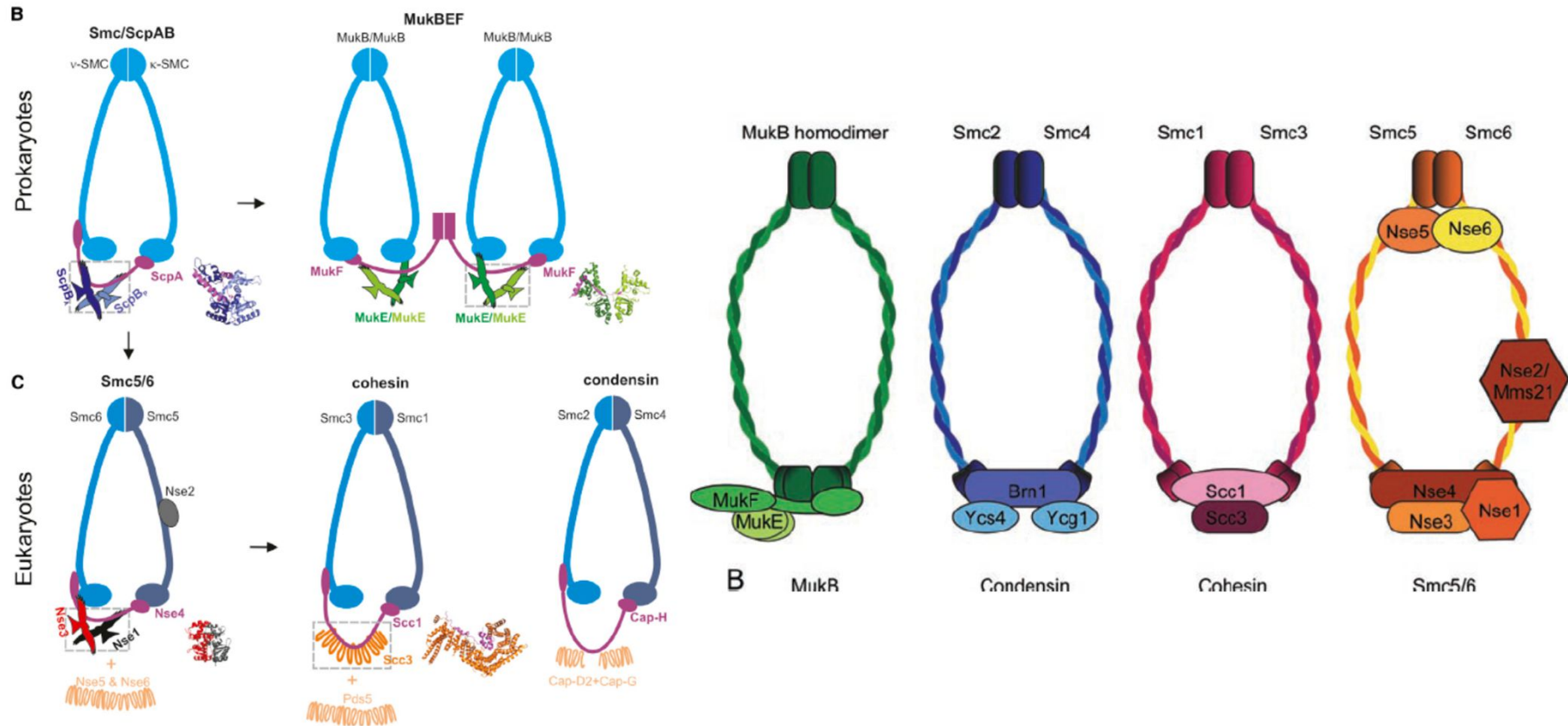
# Příklady evoluce komplexů





# Evoluce SMC komplexů

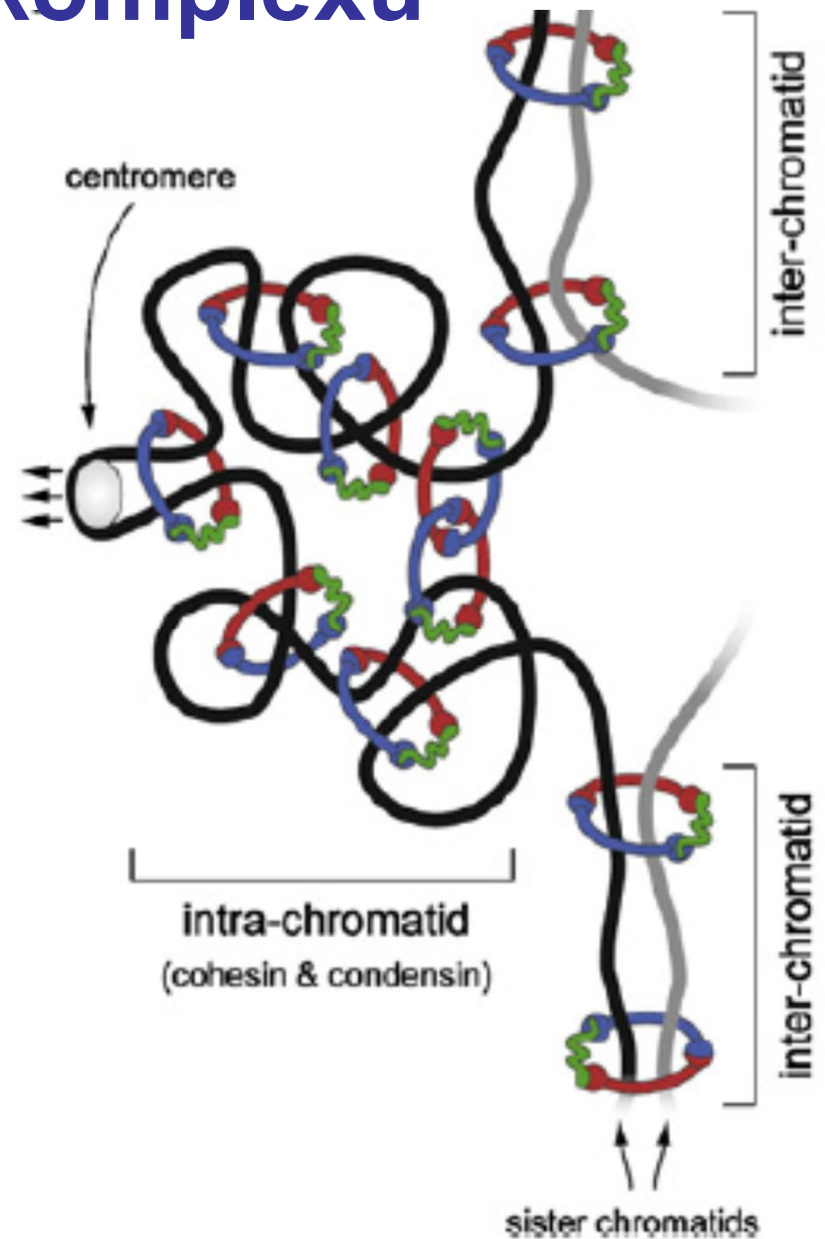
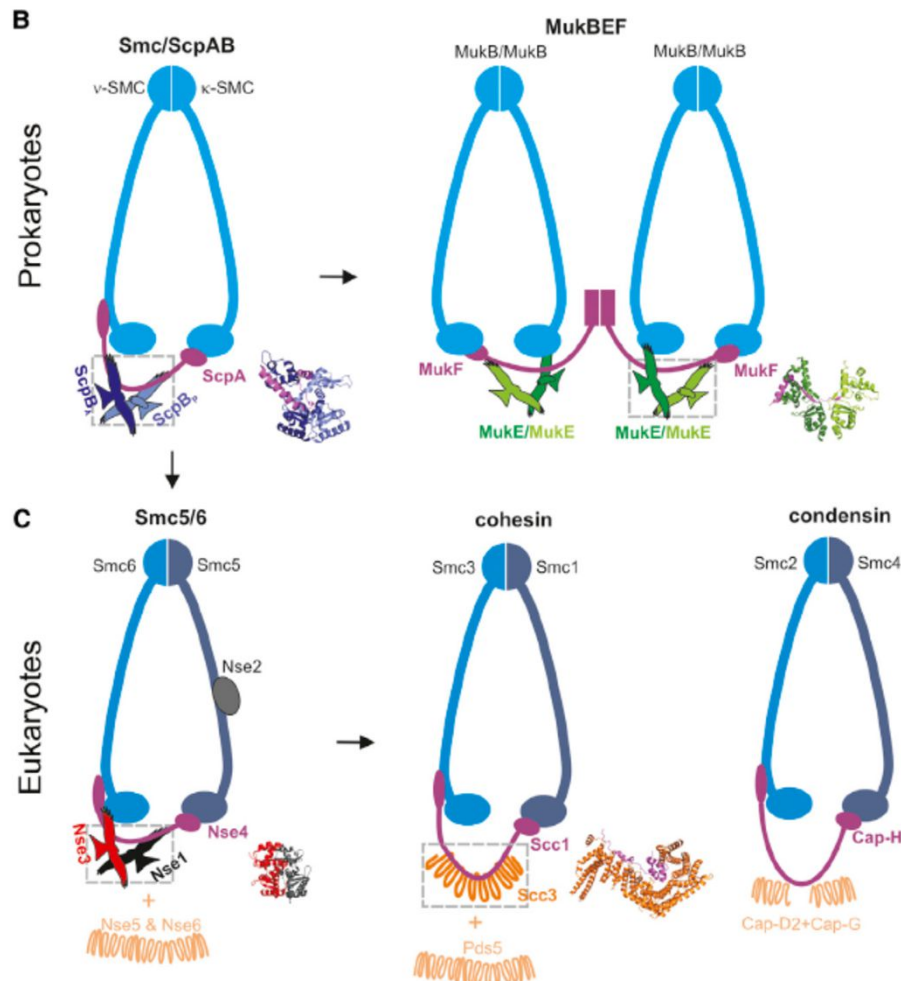
- bakterie mají po jednom komplexu složeném z homodimeru SMC/MukB a 2 Nse



- 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



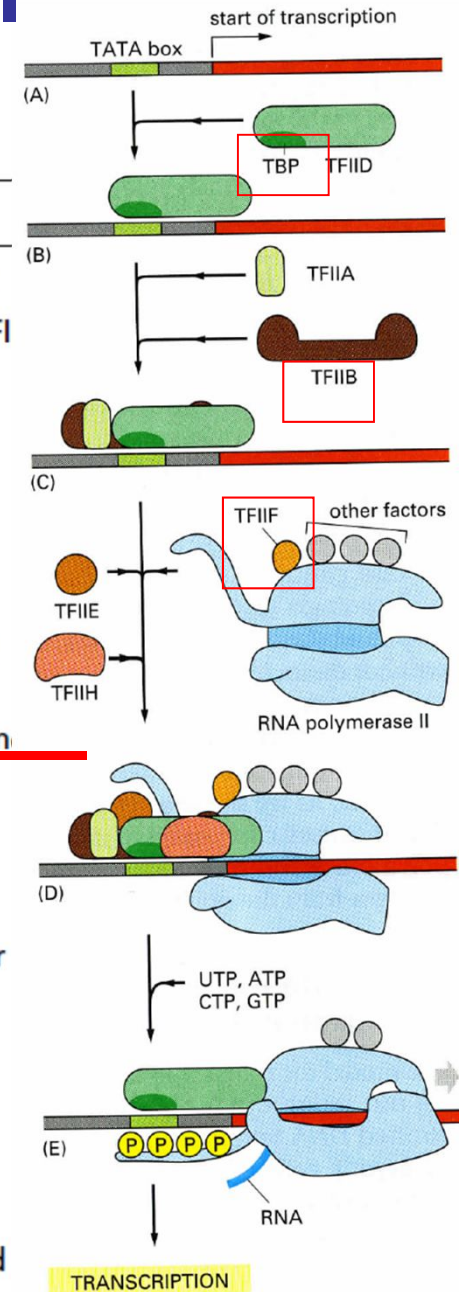
- alterace – kohese x kondensace  
(Nse podjednotky, faktory ovlivňující loading = místo, čas ...)

# RNA pol II a podobnosti s pol I a III

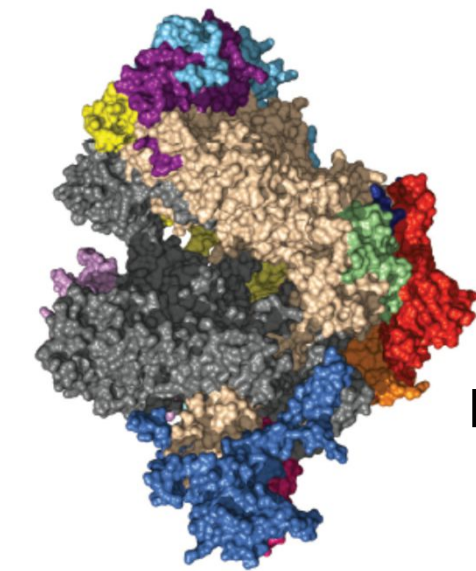
**TABLE 1** Components of the human general transcription machinery

Factor	Protein composition	Function
TFIIA	p35 ( $\alpha$ ), p19 ( $\beta$ ), and p12 ( $\gamma$ )	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 ( $\alpha$ ) and p34 ( $\beta$ )	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

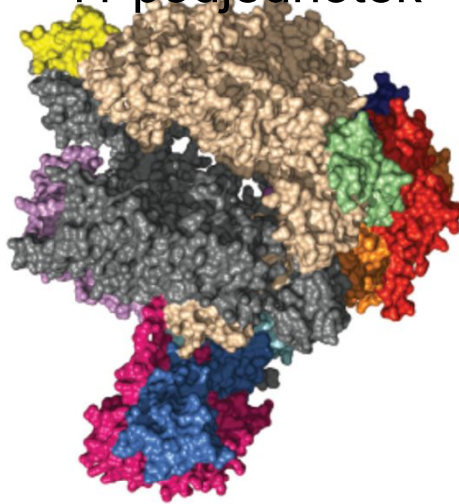






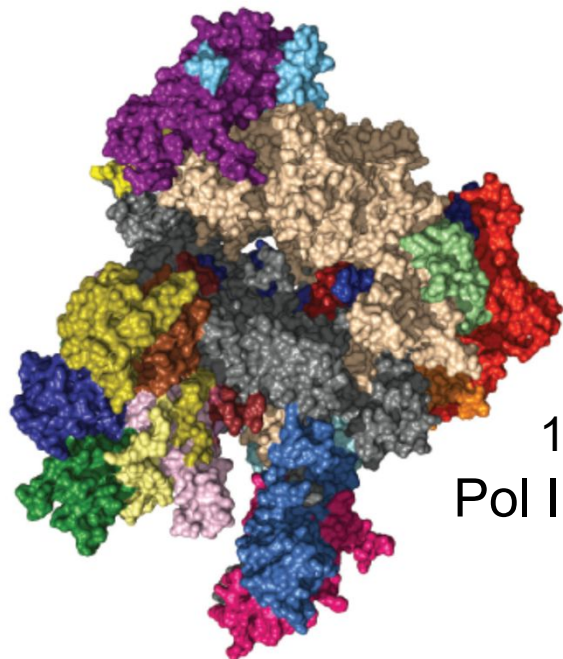
13

Pol I = 11 + A49/34.5



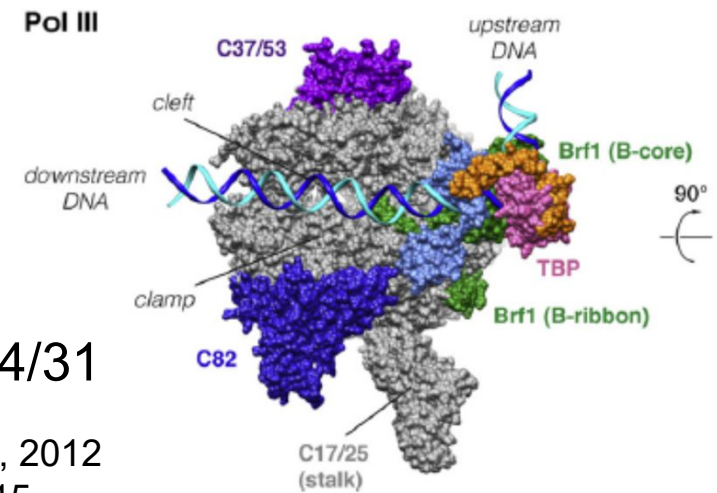
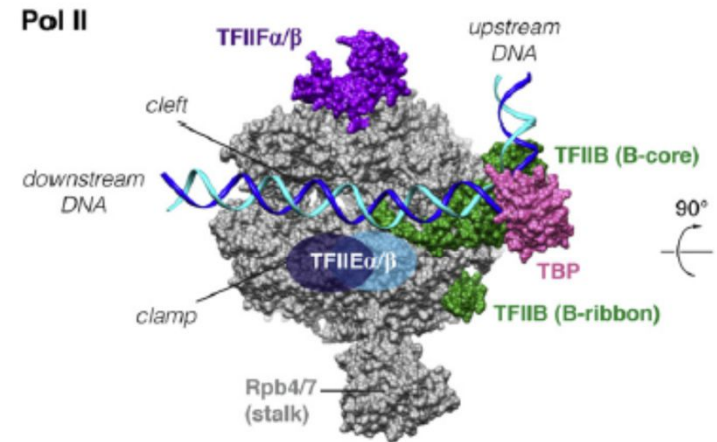
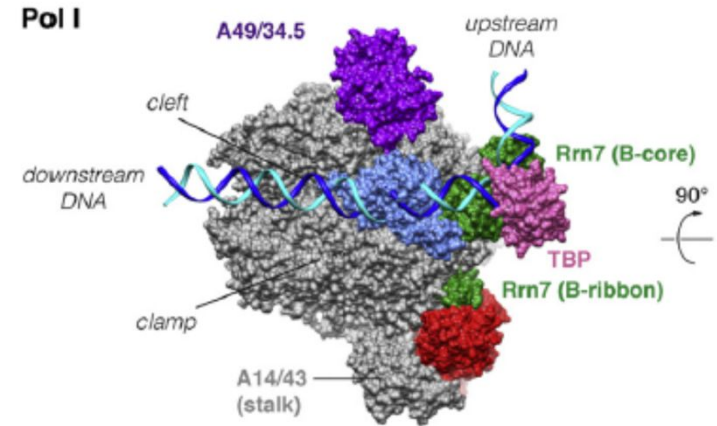
11

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

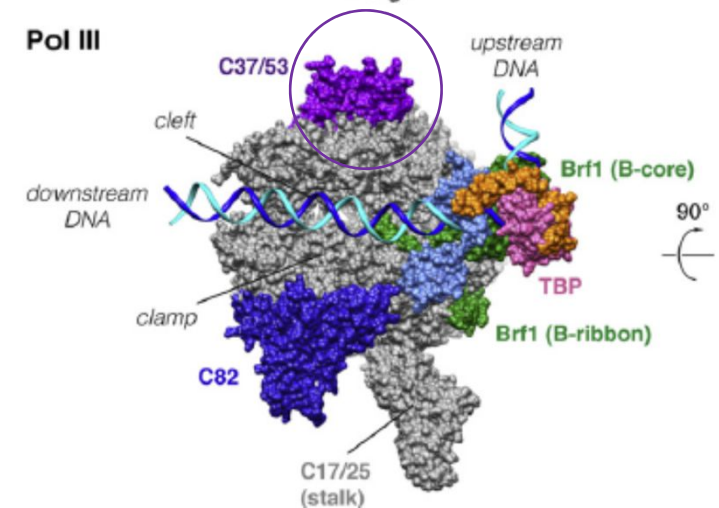
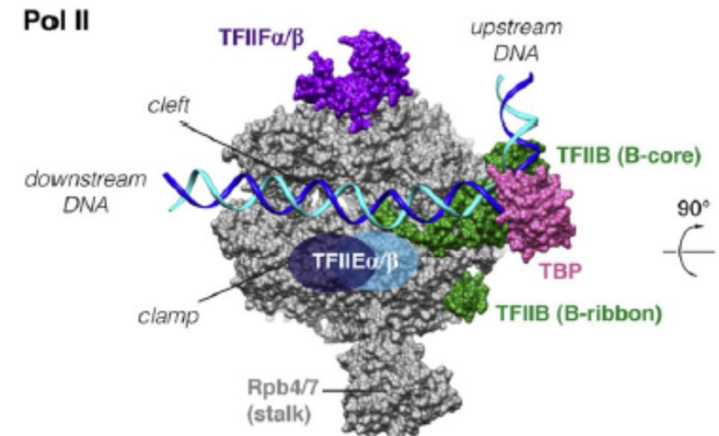
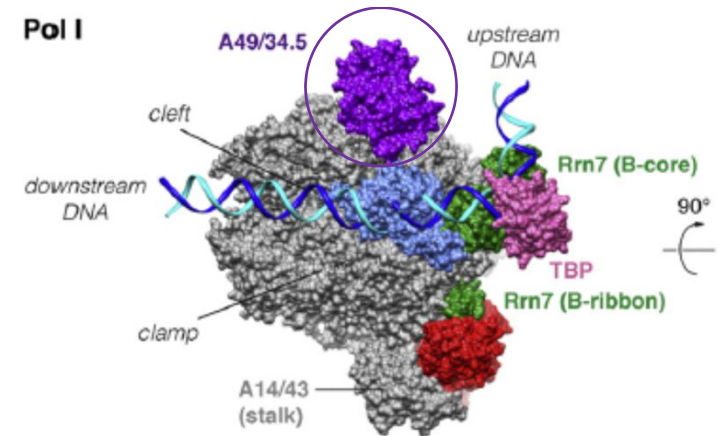
Pol II = 11 podjednotek (Tabulka)

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

TFIIF  
TBP  
TFIIB  
TFIIE

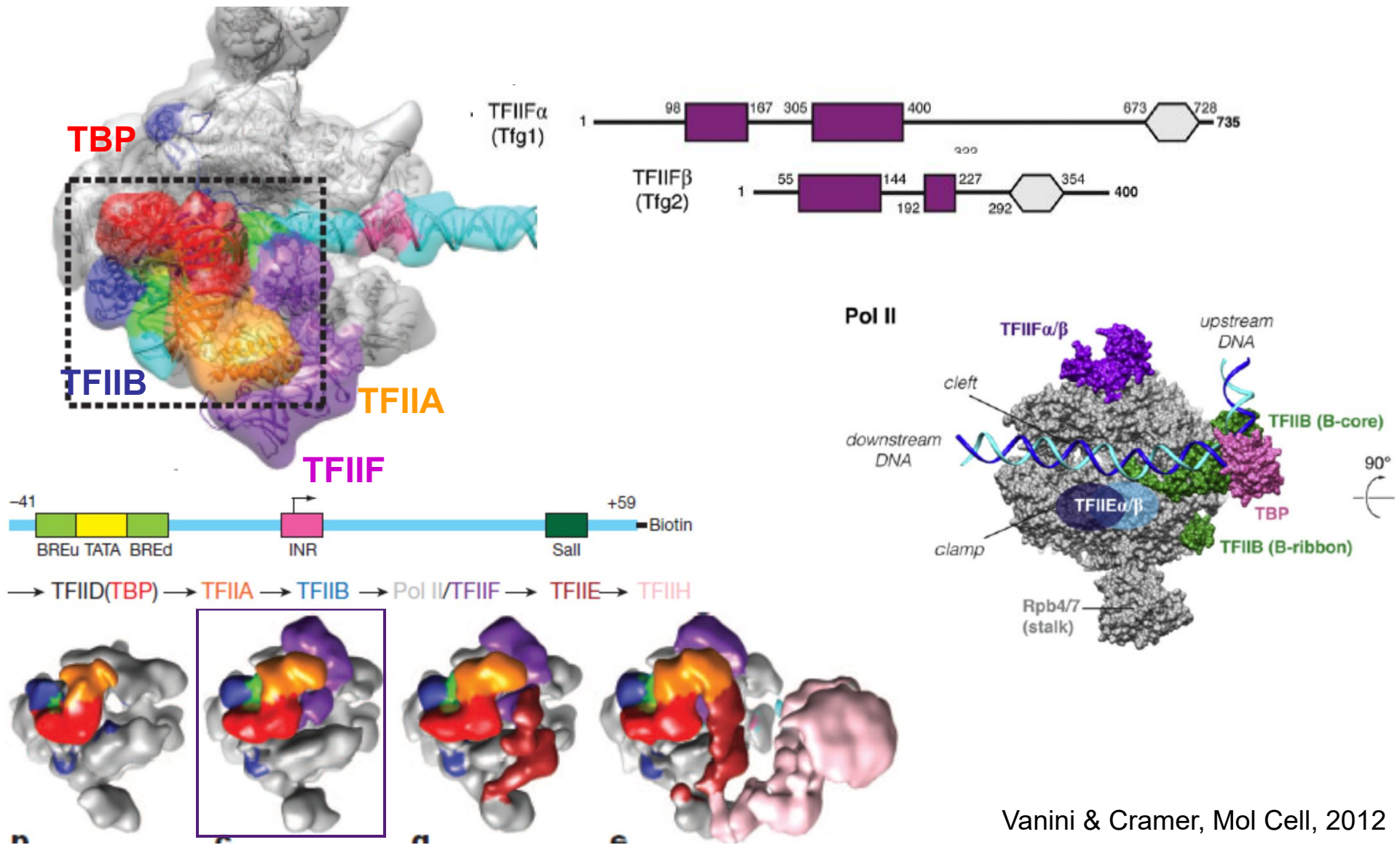
**Table 1. Yeast RNA Polymerase Subunits and Initiation Factor Homologies**

Pol II	Pol I	Pol III	Function
<b>Polymerase Core</b>			
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 <sup>a</sup>	A12.2 C ribbon	C11 C ribbon	RNA cleavage
Rpb5	Rpb5	Rpb5	
Rpb6	Rpb6	Rpb6	
Rpb8	Rpb8	Rpb8	
Rpb10	Rpb10	Rpb10	
Rpb12	Rpb12	Rpb12	
<b>Polymerase Stalk</b>			
Rpb4	A14	C17	Initiation complex formation
Rpb7	A43	C25	Initiation complex formation



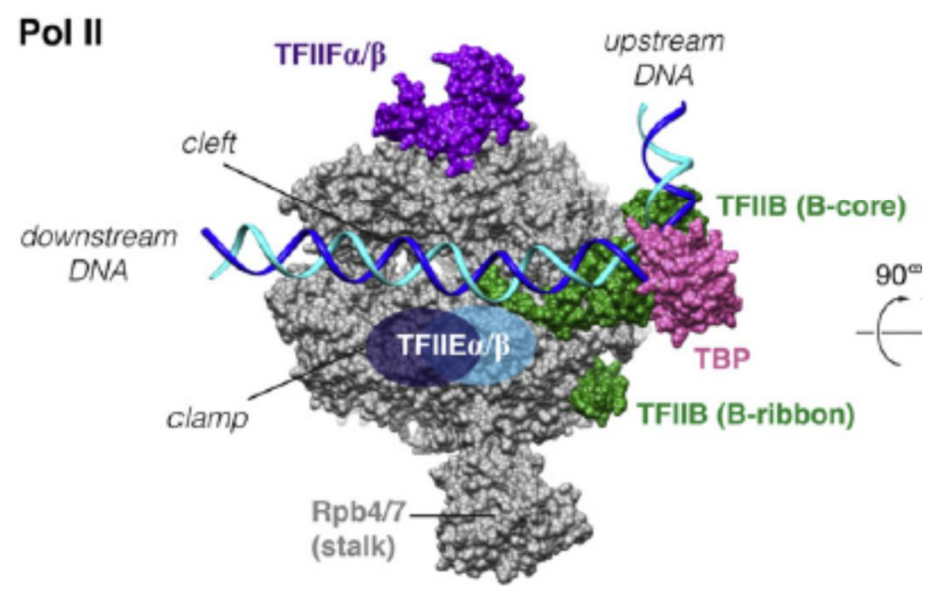
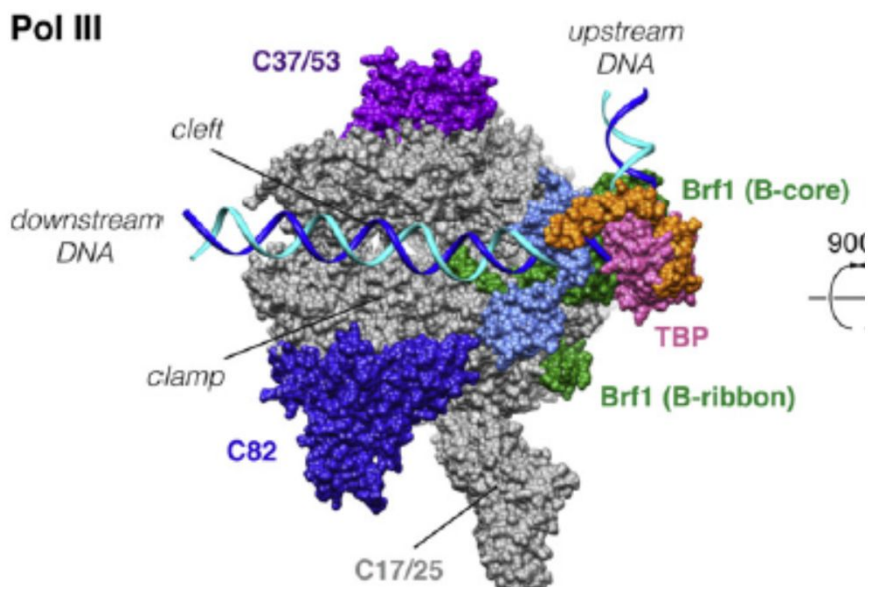
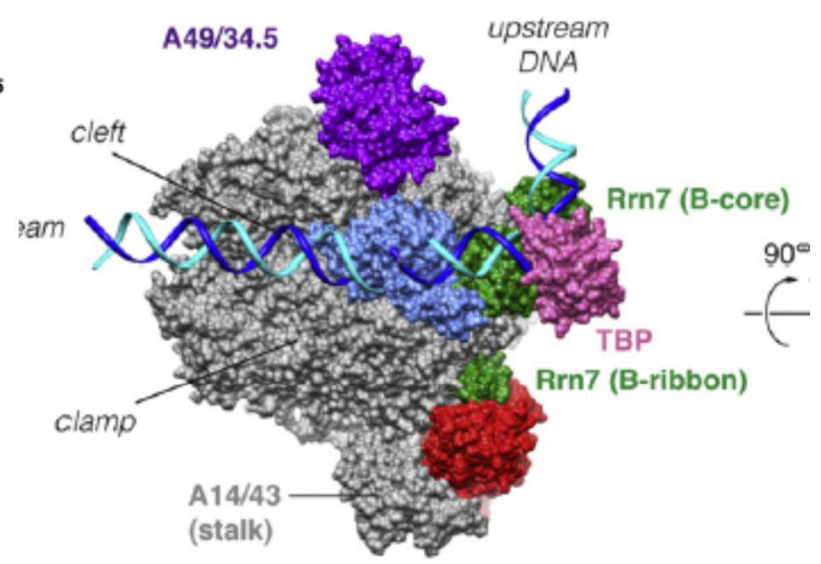
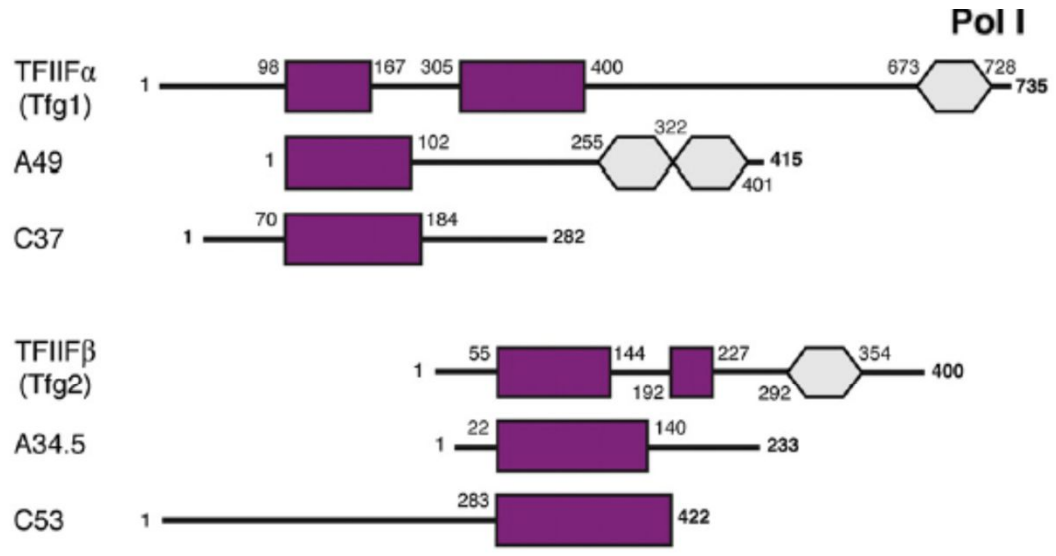


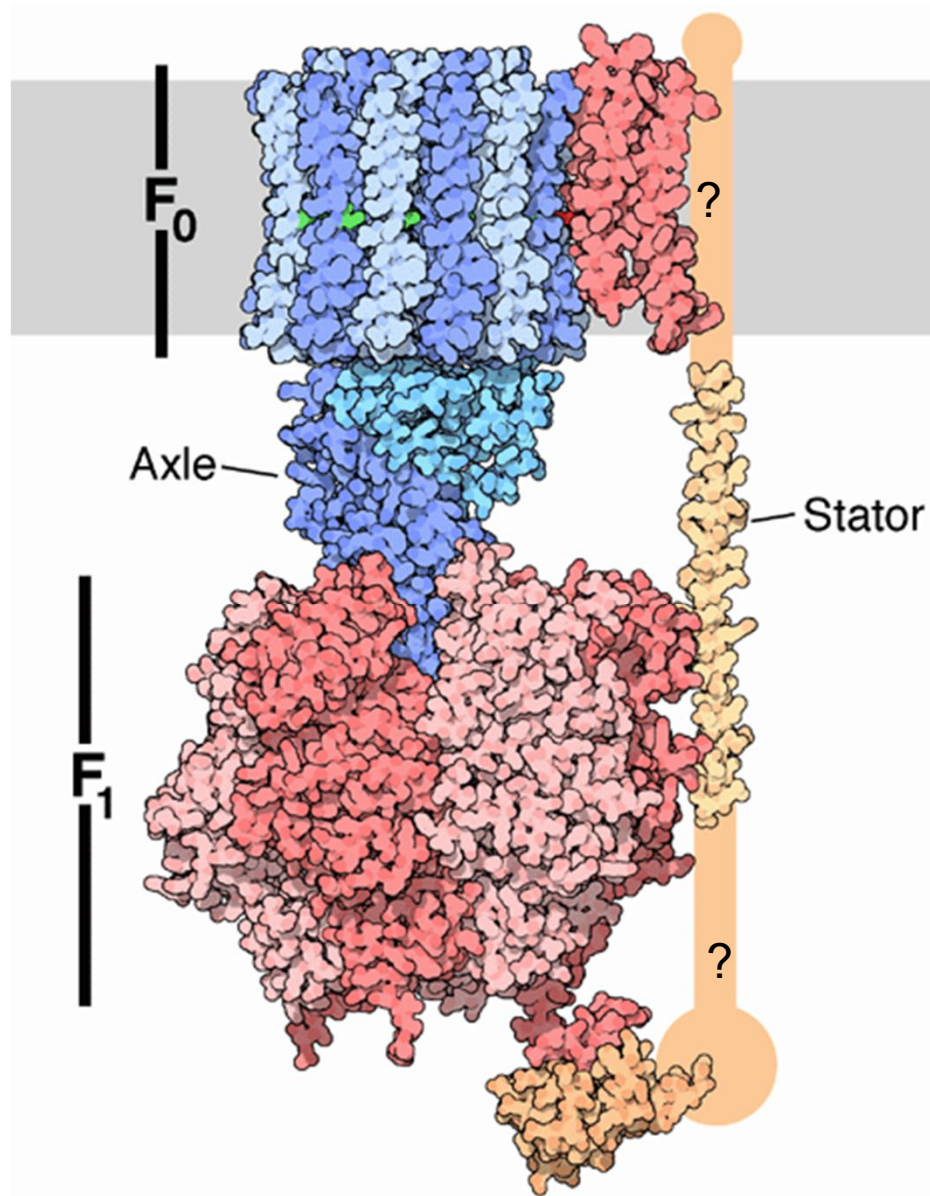
- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- v pol I a III jsou paralogy TFIIF součástí komplexu polymerázy



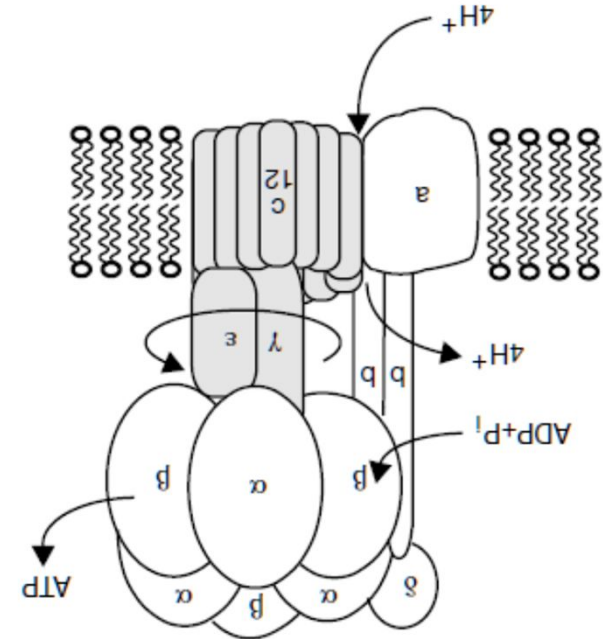


- **TFIIF** se váže na pol II, stabilizuje DNA v prohlubni/cleft pol II a pomáhá TFIIB s nastavením startu
- v pol I a III jsou paralogy TFIIF součástí komplexu polymerázy





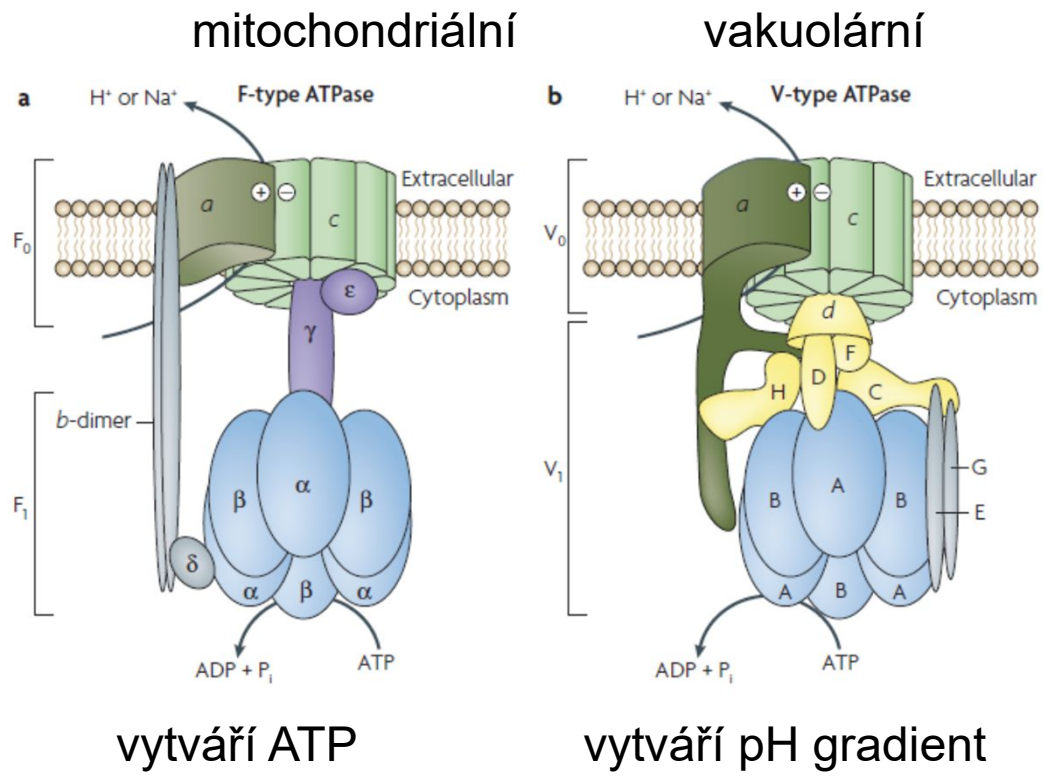
Molekula měsíce v prosinci 2005  
Rastogi & Girvin, Nature, 1999



F<sub>0</sub> je protonový motor (uložen v membráně) poháněný tokem vodíkových iontů (z dýchacího řetězce) přes membránu. Tento rotor je spojen s druhým F<sub>1</sub> 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

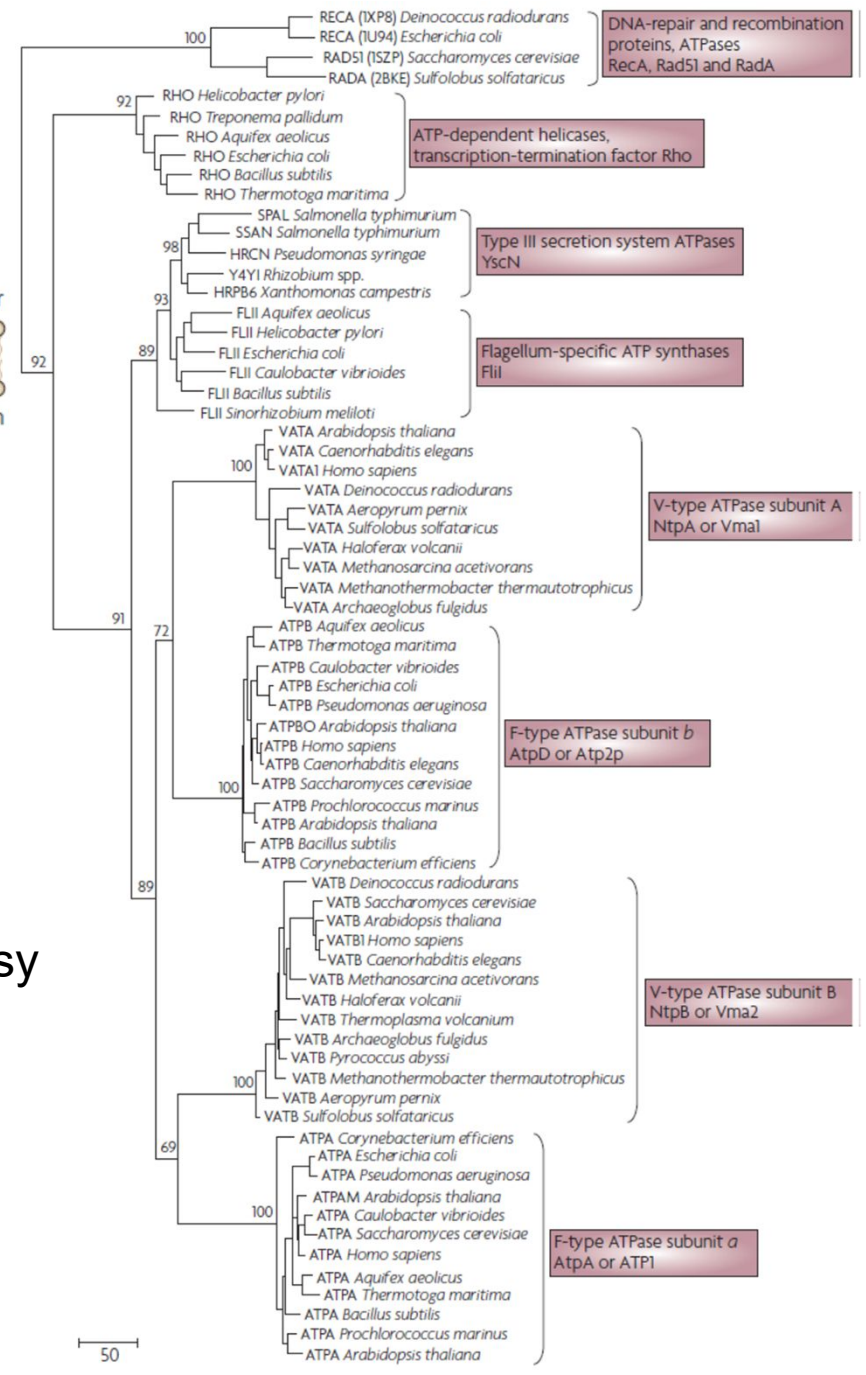
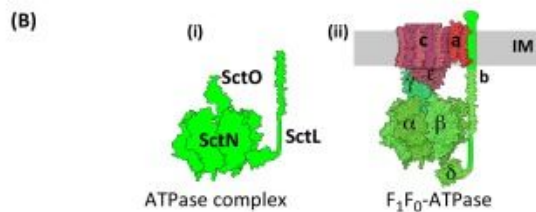
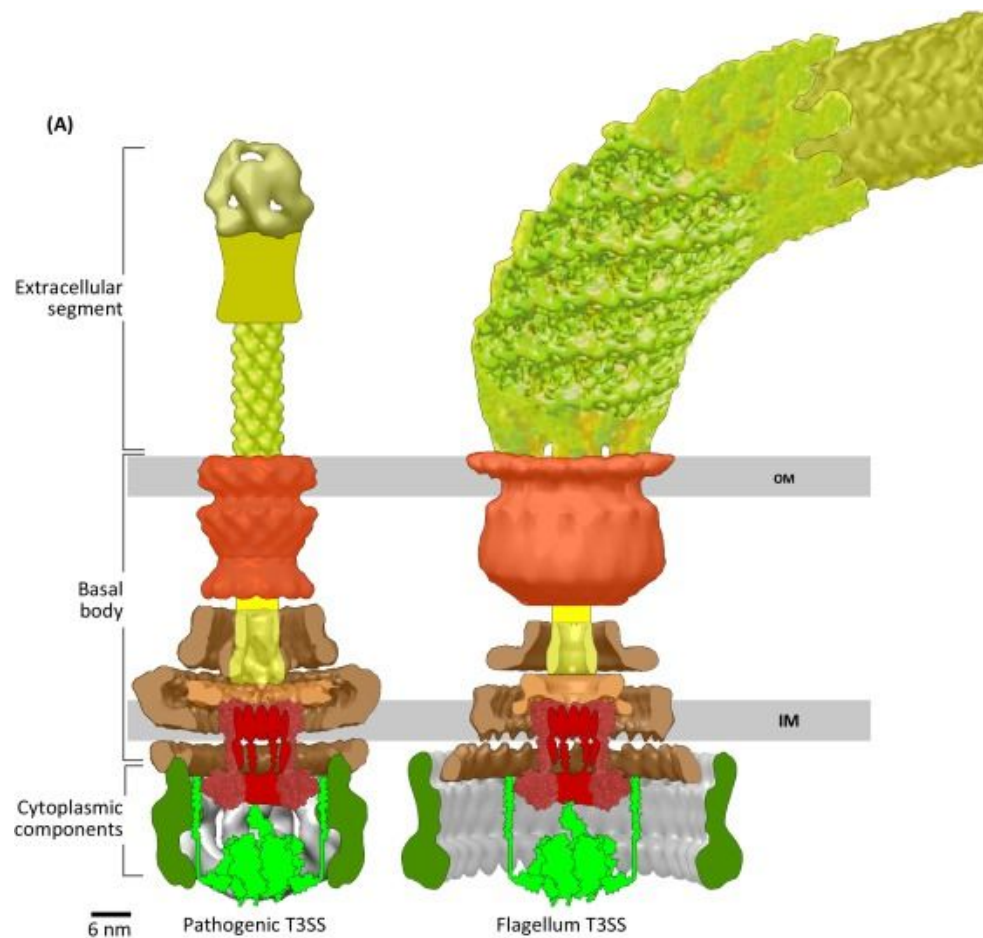


Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from GenBank (for the RecA family, four



Trends in Biochemical Sciences

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

Mulkiđjanian et al, NRM, 2007

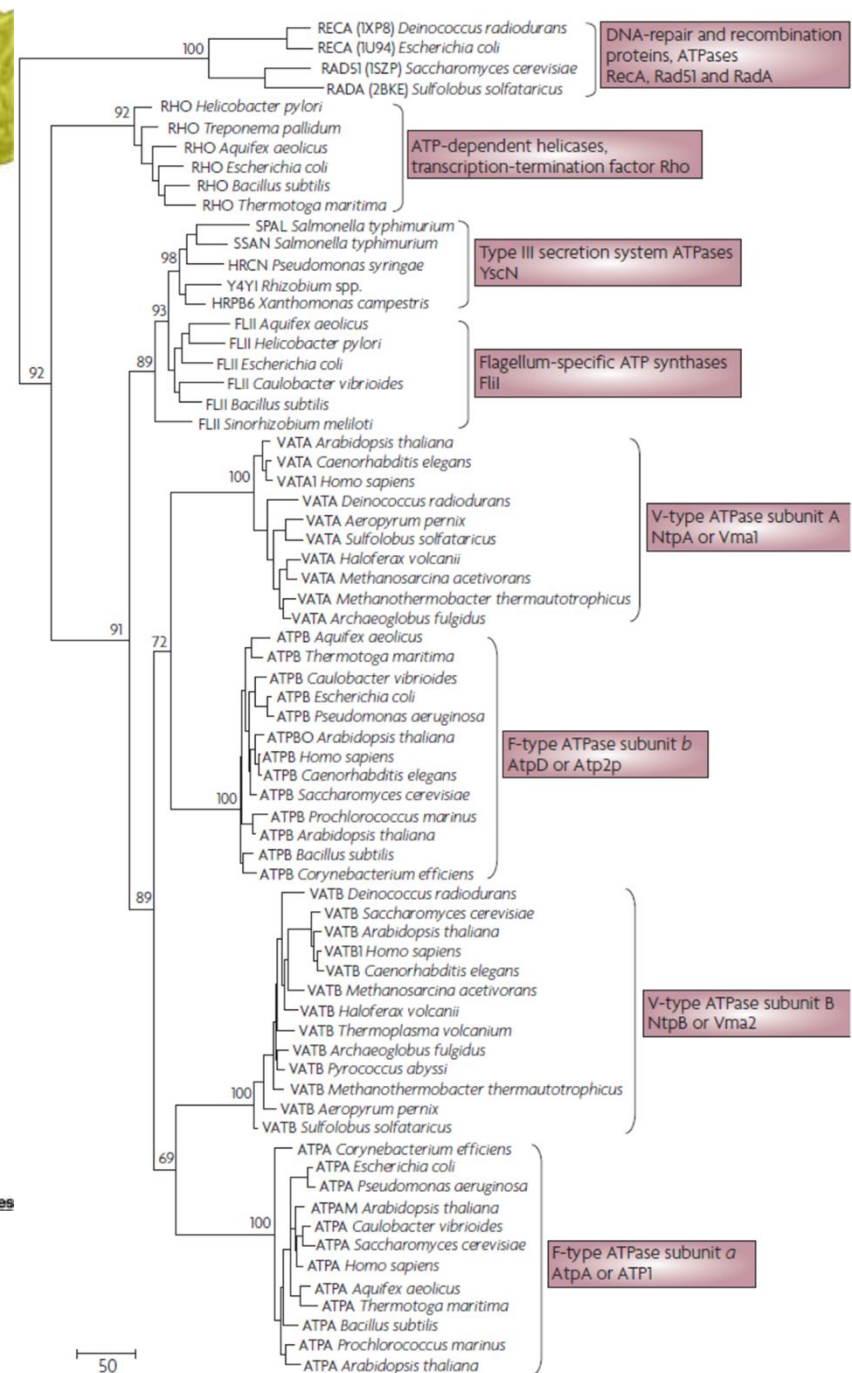
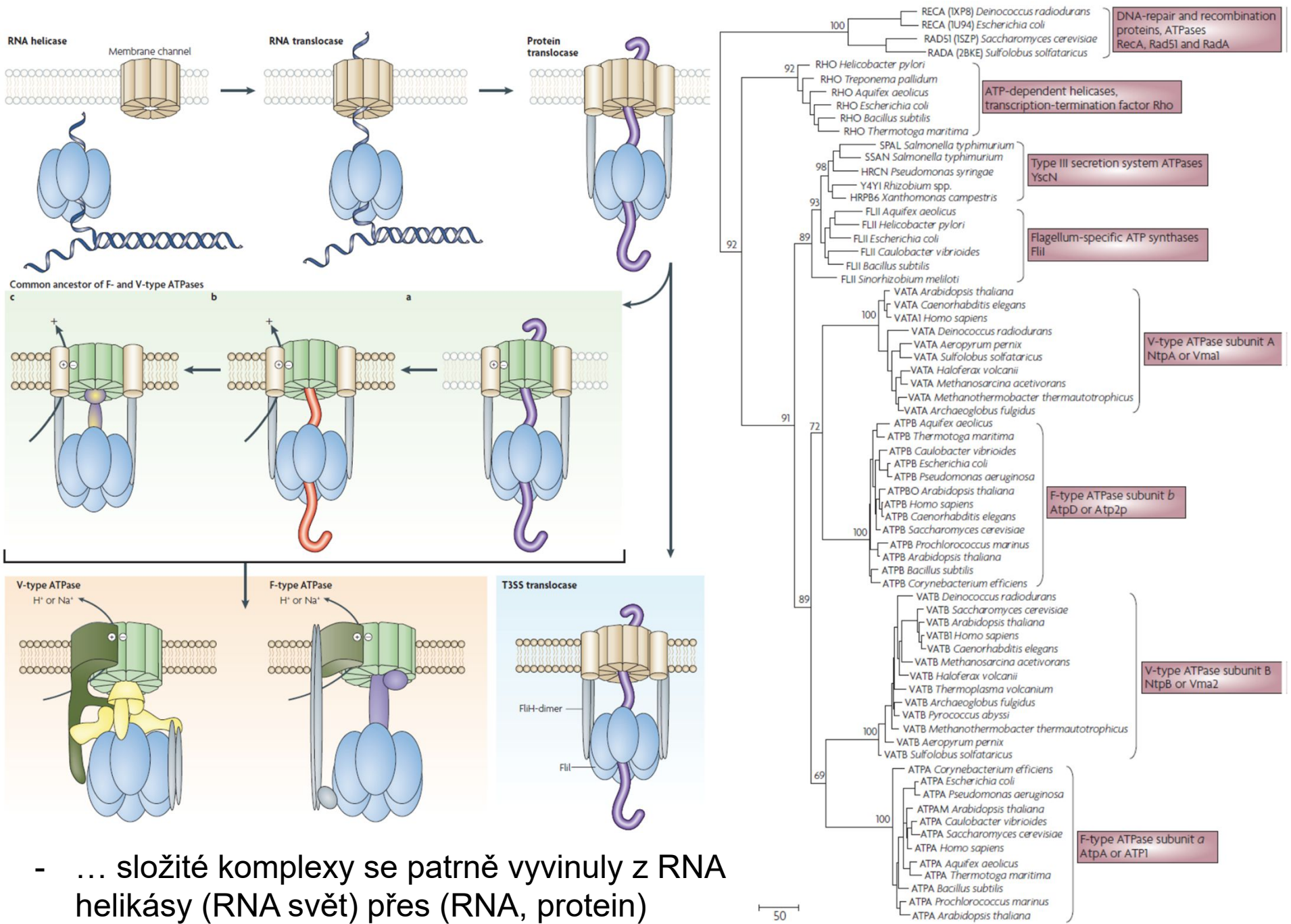


Figure 3 | Phylogenetic tree of the catalytic subunits of the F- and V-type ATPases and related P-loop ATPases. The protein sequences were retrieved from [GenBank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) (for the RecA family, four





- ... 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/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 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 neuvidíte)