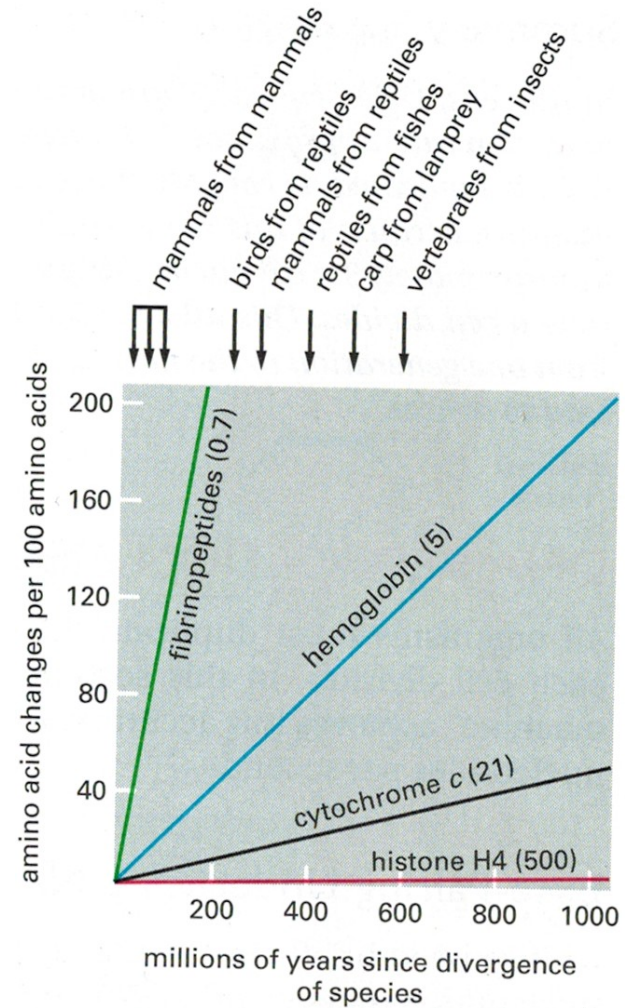
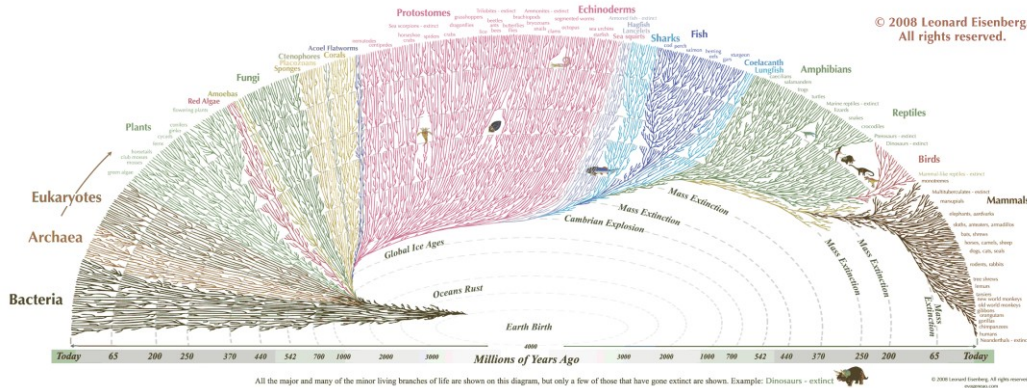


- podobně jako morfologie u organismů, srovnání genomů/proteomů ukazuje na vývoj („evoluci“) genů/proteinů v čase
- divergence druhů koreluje do značné míry s konzervací/divergencí DNA/proteinových sekvencí

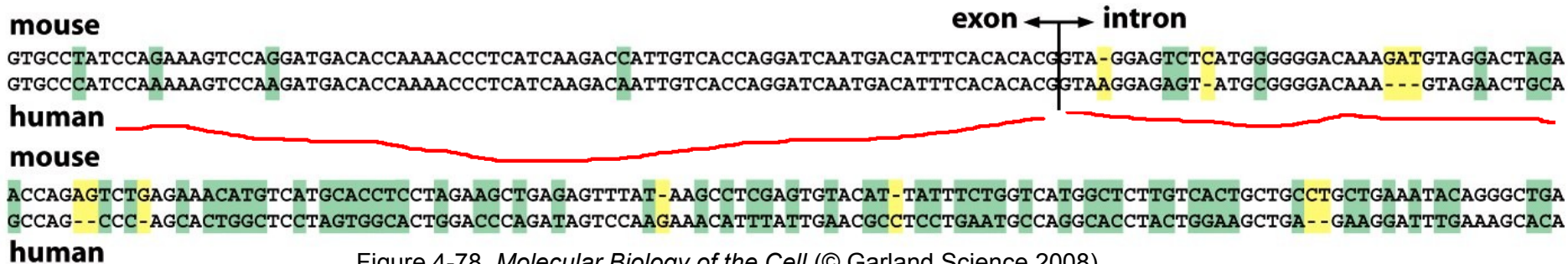


- poškození DNA dalšími vlivy ...

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



- 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



- 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)

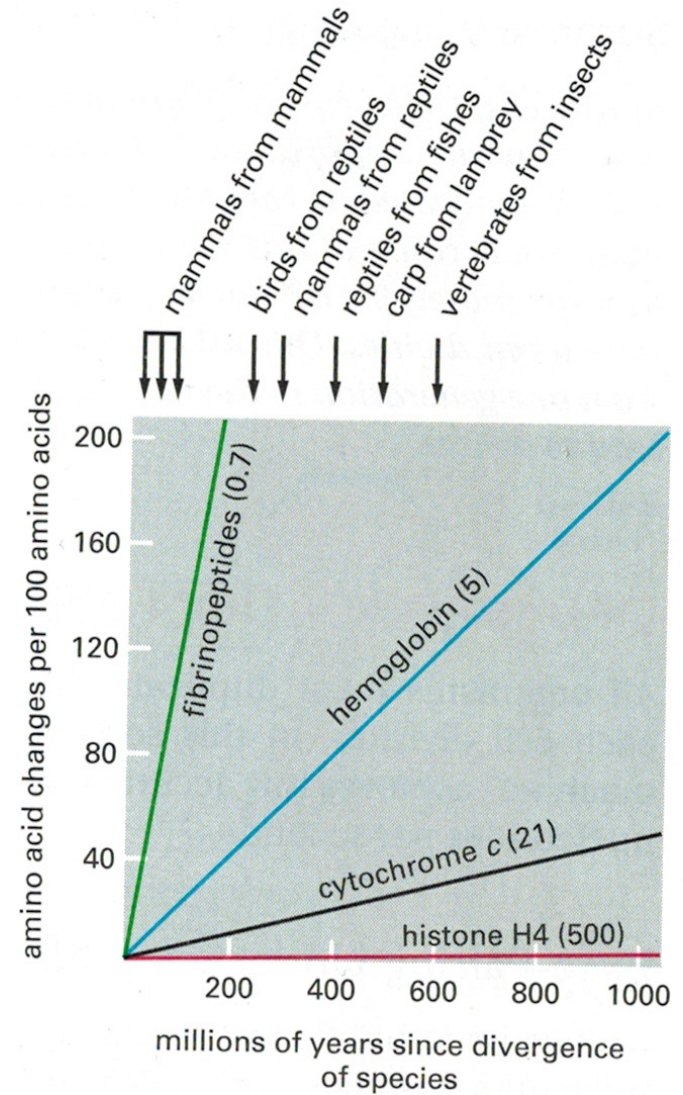


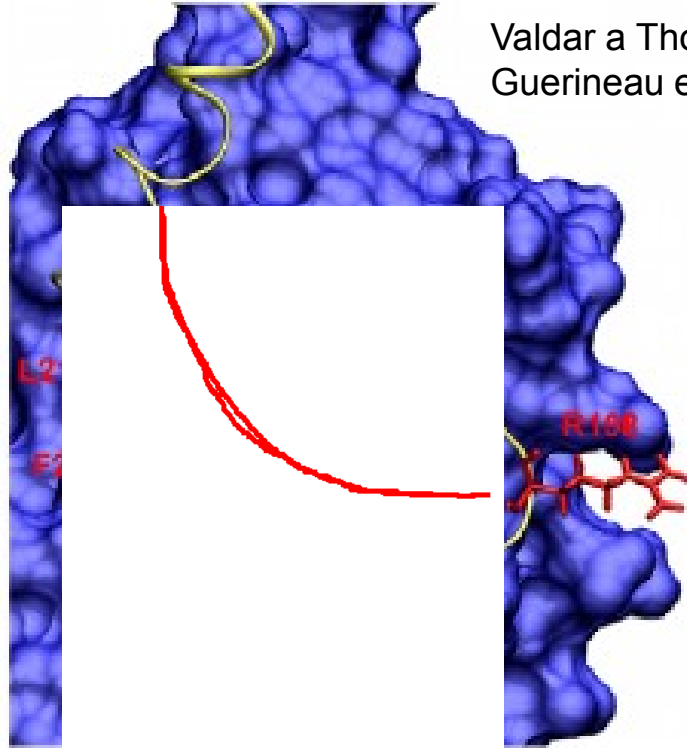
- nejpomaleji se mění proteiny, které jsou zapojeny do nejvíce interakcí s dalšími proteiny (limitována, jak struktura, tak povrch)

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

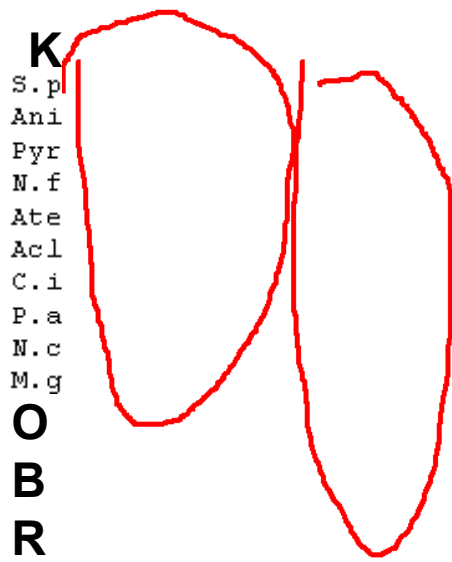
- konzervované proteiny jsou stabilní, optimální pro svoji funkci (enzymatickou aktivitu, pro interakce s partnery ... ko-evoluují celé komplexy)

- 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)





- selekční tlak na **strukturu**,
- selekční tlak na na povrch = **interakce, PTM**
- 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



rolnost v obsazení AMK

S. p	Q	S	F	L	Q	E	L	L	T	---	E	E	T	T	P	L	H	L	D	-	I	T	R	S	L	S	L	V	R	O	G	Y	L	---	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	D	R	Y	L	S	R	M	N	A	---	E	G	F	T	P	V	E	R	---	T	H	L	L	Q	R	L	C	K	E	G	Y	L	---	V	K	N	R	E	M	D	G	-	G	D	E	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	D	R	A	L	R	R	M	N	A	---	D	Q	T	T	P	L	G	T	---	K	K	T	L	A	A	M	V	K	D	G	Y	I	---	V	K	V	K	D	V	S	G	G	T	E	E	T	I	D	Y	I	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	G	-	G	E	G	W	A	Q	F	I	R	A	V	Y			
N. f	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	E	Y	M	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	G	-	V	Q	G	W	A	G	L	V	R	E	V	Y			
Ate	E	R	Y	L	Q	R	T	N	T	---	D	T	Y	T	P	I	D	R	---	T	D	R	F	L	Q	R	L	C	K	D	G	Y	L	---	V	R	N	R	E	M	D	S	-	G	E	E	V	E	Y	M	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	T	Q	G	W	A	G	L	V	R	E	V	Y			
Ac1	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	V	E	Y	L	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	V	Q	G	W	A	G	L	V	R	E	V	Y		
C. i	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	V	E	Y	L	V	---	G	P	R	G	K	I	E	V	G	-	T	E	G	W	A	G	L	T	R	E	V	Y			
P. a	R	R	H	L	A	R	L	N	A	A	E	Y	M	P	S	M	N	P	N	D	F	x	-	T	D	V	V	L	Q	R	M	I	K	H	G	Y	L	---	V	R	V	D	N	R	G	x	D	D	D	S	T	T	H	V	---	G	P	R	G	K	A	E	V	P	-	K	E	S	I	A	G	F	V	R	T	I	Y
N. c	R	R	Y	L	T	R	L	N	A	A	x	F	M	N	E	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	I	T	H	V	---	G	P	R	G	K	V	E	V	D	-	N	E	A	I	A	A	V	R	E	V	Y	
M. g	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	O	N	Y	I	---	V	K	T	V	E	R	N	x	---	D	D	A	I	T	H	R	V	---	G	P	R	A	K	Q	E	L	T	-	D	E	A	M	A	S	I	V	R	D	V	Y			

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	E	E	Y	S	W	---	G	S	R	S	N	K	E	---	L	T	K	R	K	V	L	E	F	V	S	:
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	:
W	N	I	L	K	K	L	R	V	Q	P	G	E	R	H	E	F	E	G	E	V	---	K	R	V	M	E	E	F	V	R	O	R	Y	L	E	C	N	R	I	P	H	T	E	---	E	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	:	
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	O	K	Y	L	E	Y	S	K	V	L	H	T	D	---	P	V	E	Y	E	F	R	W	---	G	Q	R	A	F	K	E	---	T	S	K	M	O	N	L	E	F	V	S	:
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	M	K	V	L	K	F	V	A	:

G	L	L	M	V	I	L	S	L	I	F	M	-	K	G	S	A	T	N	-	E	S	V	I	M	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	K	V	L	K	F	V	A	:
G	L	L	M	V	I	L	S	L	I	F	M	-	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	K	V	L	K	F	V	A	:
G	L	L	M	I	V	L	G	L	I	F	M	-	K	G	N	T	I	K	-	E	T	E	V	W	D	F	L	R	R	L	G	V	Y	P	T	K	K	H	L	I	F	G	D	P	---	K	K	L	I	T	E	E	F	V	R	O	R	Y	L	E	Y	R	R	I	P	H	T	D	---	P	V	D	Y	E	L	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
- teorie kompenzačních mutací ...

Nse4

Nse3/MAGE-binding domain

	aa75		aa100
k	S.p.	-CLHIGRPKFNIE-LFTKNIKQFLNYPTSHS	
v	A.n.	-QL-x-SAGIDVDEFVSKCISFMRRAPADSQ	
a	N.f.	-QF-x-SAGIDVDEFVSKCISFMRRGPSLDP	
s	A.t.	-QL-x-TARIDVDEFVSKCISFMRRAPGDSQ	
	A.o.	-HL-x-SAGIDVDEFVSKCISFMCRAPEDSQ	
	A.c.	-QL-x-SAGIDVDEFVSKCISFMRRGPSLDP	
O	D.r.	-QLHAEGSSFDPSAFAEHLHLSFMDLNRLEDE	
B	X.l.	-QLHADMTVFDPTSFADLLSFMGLNRMESP	
R	G.g.	-ELRSEITTFDSLTFADLLTFMGI NRTETE	
A	M.d.	-QLHSDMTLFDPSSEAFEDLLKFMGLNRLFEV	
T	C.f.	-QLRSDLSSFDMLRYVETLLTHMGVNPLEAE	
	M.m.	-QLRSDLSSFDMLRYVETLLTHMGVNPLEAQ	
	H.s.	-QLRSDLSSFDMLRYVETLLTHMGVNPLEAE	

Guerineau et al, PLoS One, 2012

KVASINKY ... určitá volnost v obsazení AMK

S.p.	GFLMTVIAFIIV-SHCSVG-HSELQSFLOELLT---EETTPPLHLD-ITRSLSLVROGYL--DRVKDDT---HNQFVYYI--GSRVAVTEIS-IEGLKSEVTEFF
Ani.	GLYTFIIAVILL-NGGITLQ-EQKIDRYLSRMNA---EQFTPVER--TEHLLQRLCKEGYL--VKNREMDG-GDEIIEYMV--GPRGKVEVG-ARGWAGLVREYV
Pyr.	ALYTTVIAFII-SGGIIP-EGKIDRALRRMNA---DQTTPLGT--KKKTLAAMVKDGYI--VKVKDVSGGTEETIDYIV--GPRGKVEVG-GEGWAQFIRAVY
N.f.	GLYSFIIAVILL-NGGSLP-EQKLERYLKRTNA---DTYTPVDR--TDREFLQRLCKEGYL--IRNREMDG-GEEIIEYMV--GPRGKVEVG-VQGWAGLVREYV
Ate.	GLYTFIIALILL-NGGSLP-EQKLERYLQRTNT---DTYTPIDR--TDREFLQRLCKDGYL--VRNREMDS-GEEVIEYMV--GPRGKIEVG-TQGWAGLVREYV
AcI.	GLYSFIIAVITL-NGGSLP-EQKLERYLKRTNA---DTFTPIDR--TDREFLQRLCKEGYL--LRTREMDG-GEEVVEYLV--GPRGKIEVG-VQGWAGLVREYV
C.i.	ALYTFIISLITL-SGGSLA-EQKIDRYLRRVNA---DTYTPLDR--TEKLLARLCKDGYL--VRNRVDVG-GEEVVEYLV--GPRGKIEVG-TEGWAGLREYV
P.a.	ALYTTIISLITI-SGGELS-DTRLRRHLARLNAAEYMPMNPNDP-x-TDVLVLRMIKHGYL--VRVVDNRGxDDDSTTWHV--GPRGKAEVP-KESIAGFVRTIY
N.c.	GLYTMLIAIITL-SGGELS-DPRLRRYLTRLNAAxPMENAPSEK--TELVLQRMTKQGYL--VRVADNxAGDDAITWHV--GPRGKVEVD-NEAIAAVREYV
M.c.	GLYSMIVTIIQL-NRGELS-DPKLKRYLQRLNA---ETNTPEK--TELLLQRLIRQNYI--VKTVERNx--DDAITWRV--GPRAKQELT-DEAMASIVRDVY

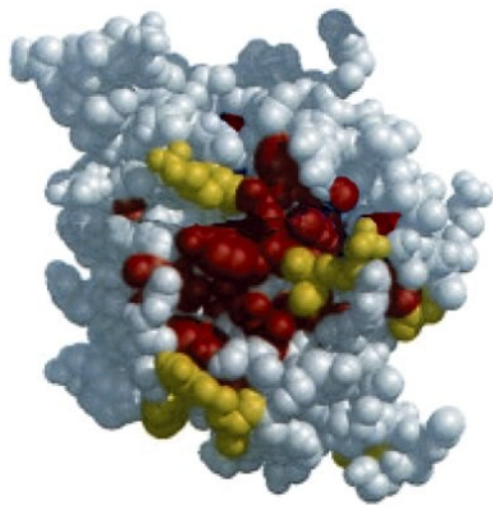
O	GLLMLVLSVILM-SxxxxN-YTSLWHEFLKMGLEPKKEHEVFGDP--EKLIACQFTROGYLERRKVTGGE--EATEEYSW--GSRSNKE---LTKRKKVLEFVS:
B	GLLEFVILSVIFM-KGGTIK-ENLVMWNLKRLRLDPGEKHDEFGDV--KKVVTEEFVROKYLEYKIPHTE--PVEYEFRW--GLRAEKE---VSKLKLLEFVG:
R	GLLEFVILSVIFM-KGGAVR-DSVVMWNLKRLRVQPGERHPEFGEV--KRVVMEEFVRORYLBCNRIPHTE--ELEHEFRW--GQRADTE---VSKTKILFEMA:
A	GLLMVILSLIFM-KGNTAK-ESAVWEMLRRLRIEPAEKHSDFGDV--KKLITEEFVKQKYLEYSKVLHTD--PVEYEFRW--GQRAFKE---TSKMQVLEFVS:
T.	GLLIVILSVIFM-KGNSAK-DSAVWBEFLRRLRVHPGEKHEVFGDV--KKLVMEEFVROKYLEITPIPLTD--PPEFNFQW--GPRAAKE---TSKMKVLEFVA:
	GLLMVILSLIFM-KGSATN-ESVIMWNLKRLRVDTRERHEVFGDV--KKLVTEEFVROKYLEYVNRIPHTE--PVEYEFQW--GARATKE---TTKMKVLEFVA:
	GLLMVILSLIFM-KGNSAR-ESLVMWNLKRLRVDPEKRHKTFGDV--KKLVKDEFVROKYLEYVIRVPHSE--PPEYEFQW--GPRAAHE---TSKMKVLEFVA:
	GLLMIVLGLIFM-KGNTIK-ETEVMWFLRRLGVYPTKKHLIFGDP--KKLITEEFVRORYLEVRRIPHTD--PVDYELQW--GPRTNLE---TSKMKVLEFVA:



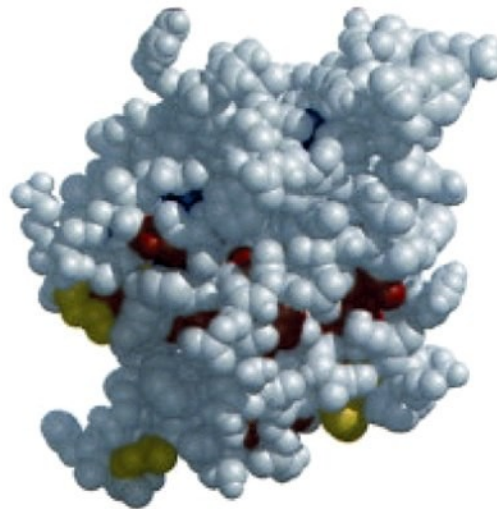


- konzervovanost vazebného miesta na povrchu SMC3 (vazba Scc1)

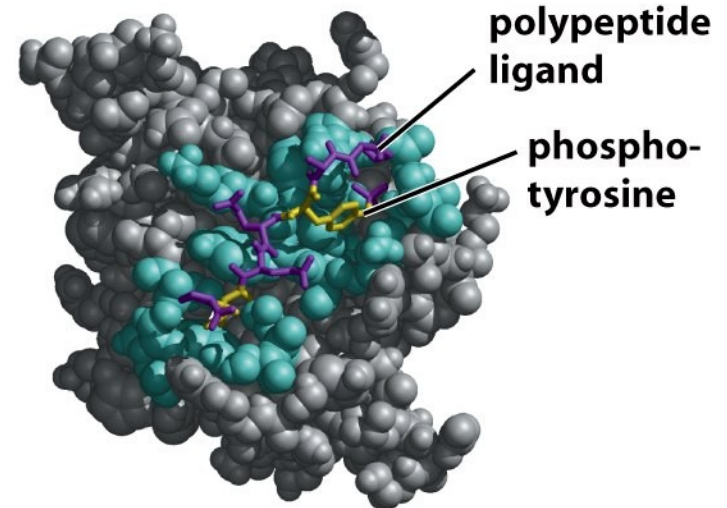
- konzervovanost vazebného miesta na povrchu SH2 domény (vazba fosfopeptidů)



(A) FRONT



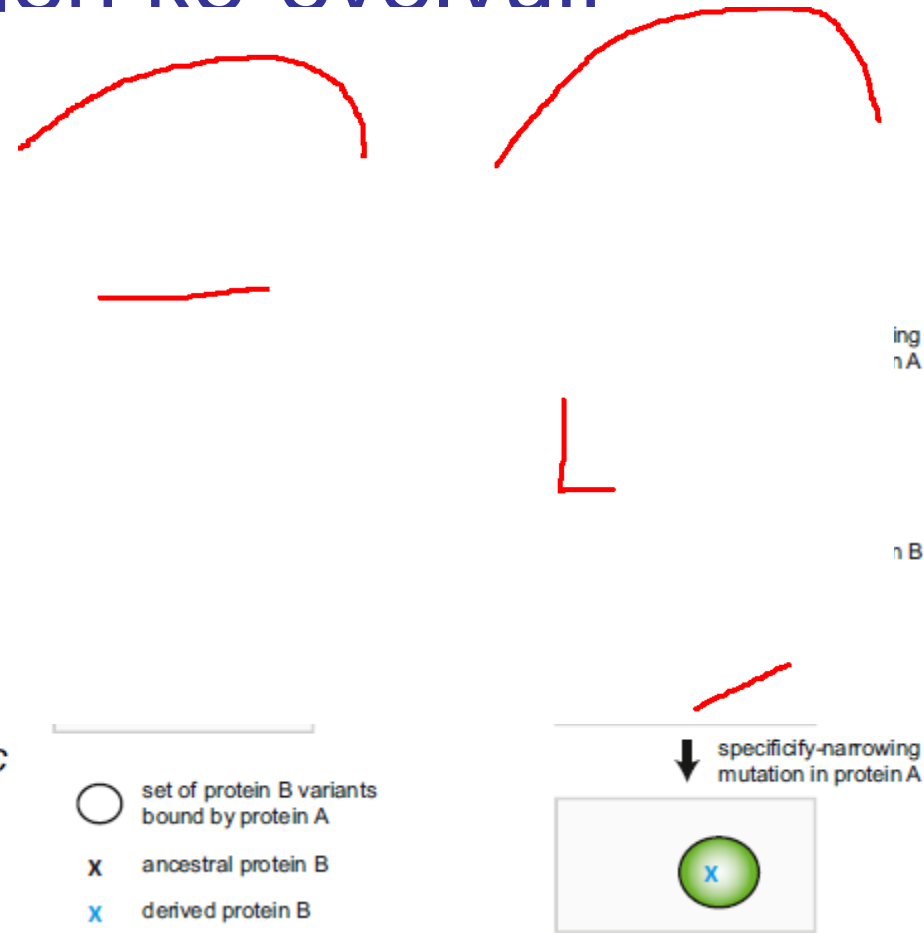
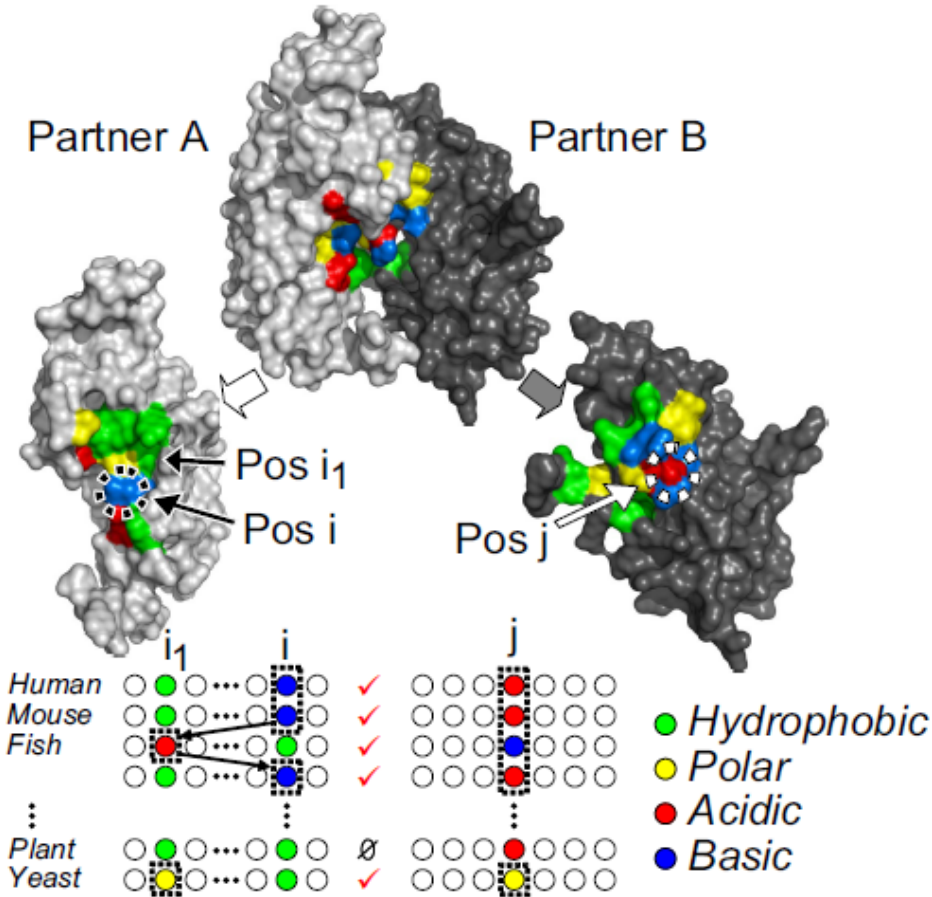
BACK



(B) FRONT



Vazební partneři ko-evoluují



Madaoui et al, PNAS, 2007

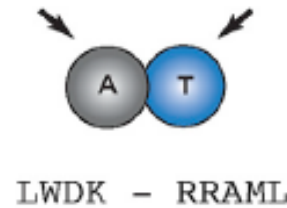
Aakre et al, Cell, 2016

- nutnost zachování funkce nesvědčí 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)



coevolution in
sequence space



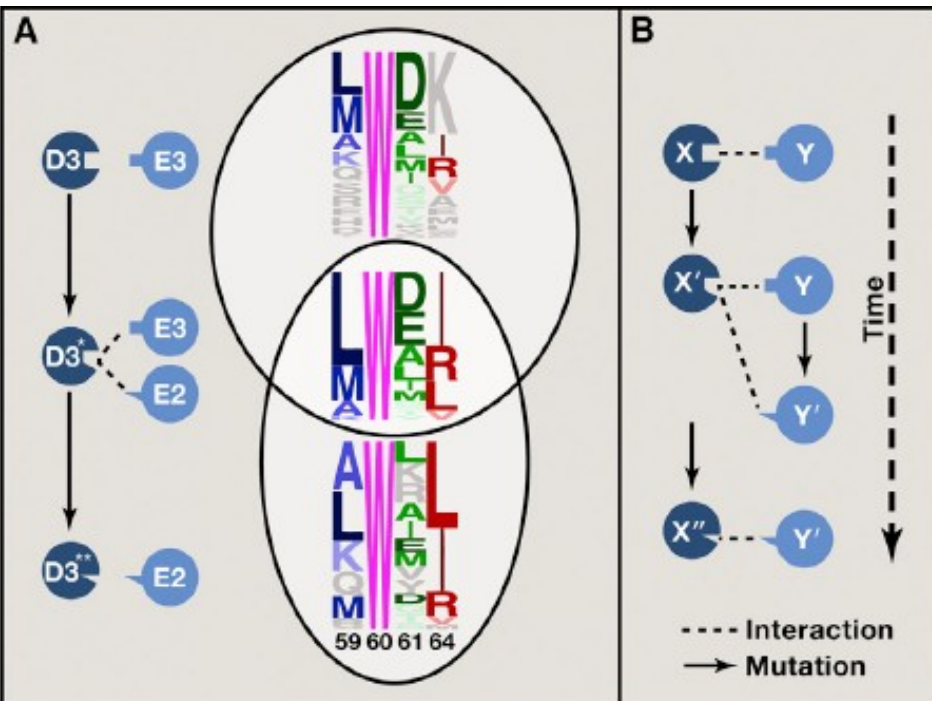
↓ promiscuity-inducing
mutations in toxin



mutations in antitoxin

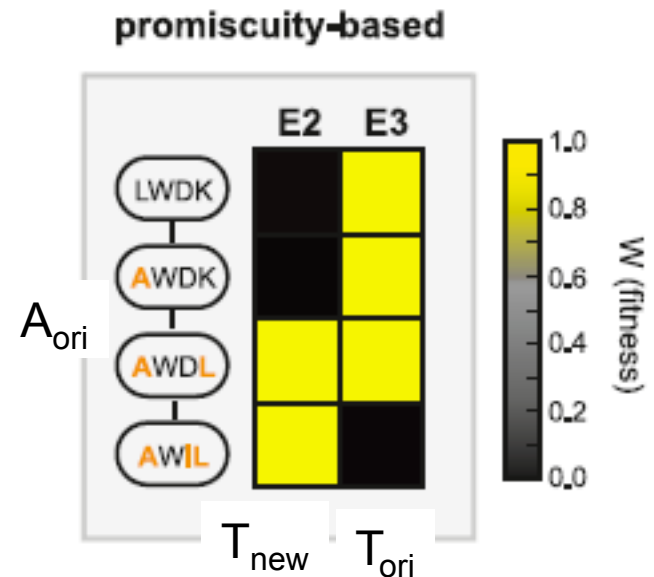
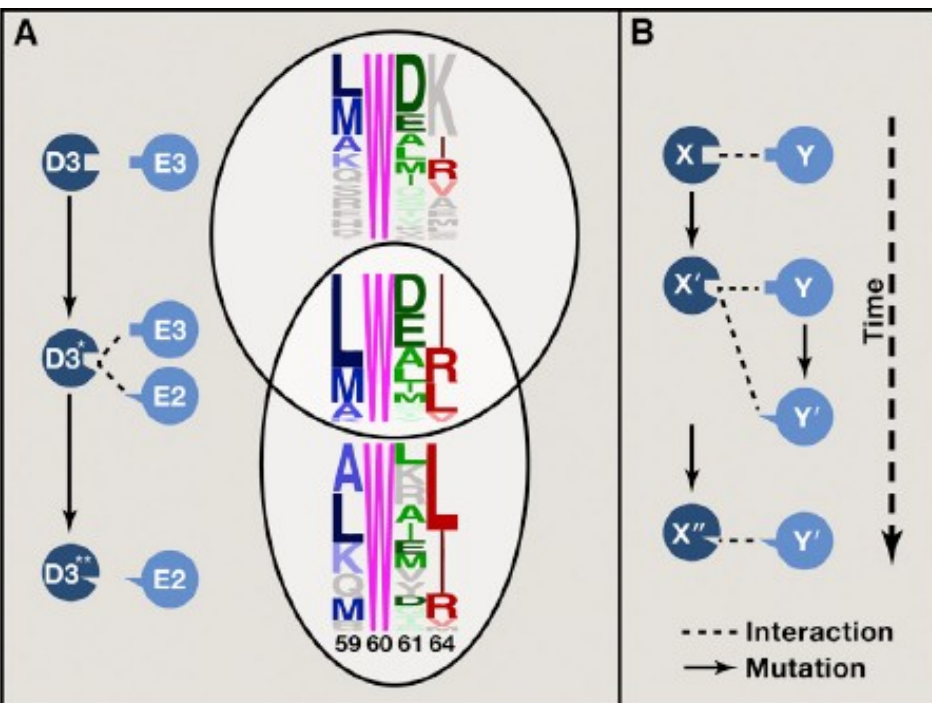


specificity-narrowing
mutation in toxin



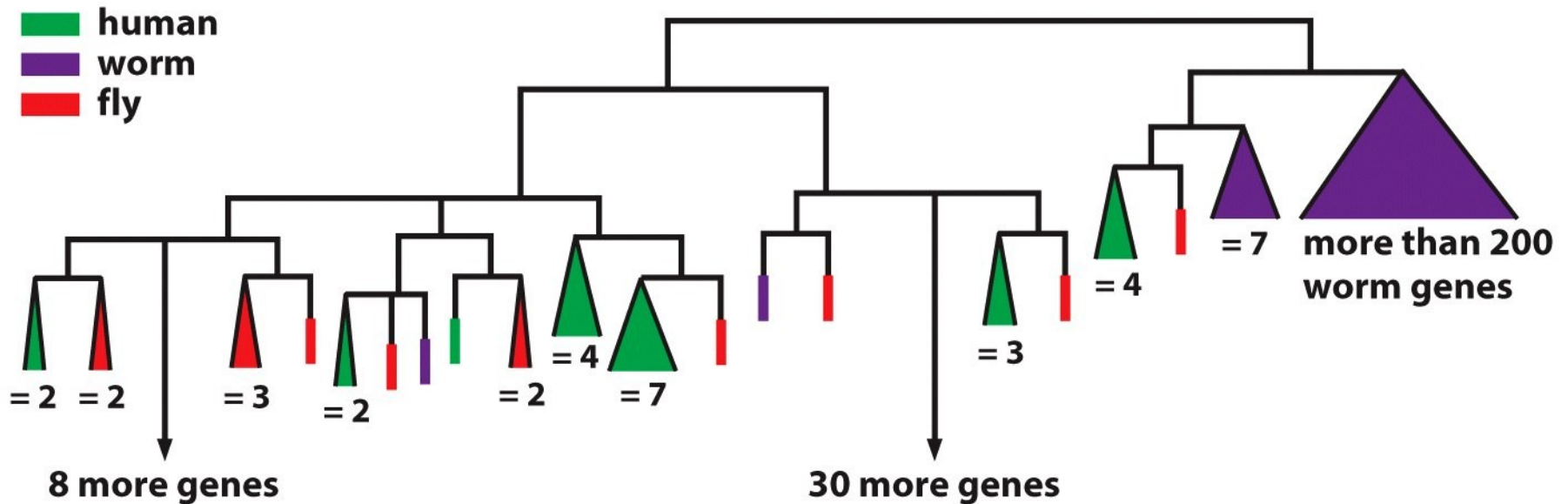
Vazební partneři ko-evoluují

- 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)



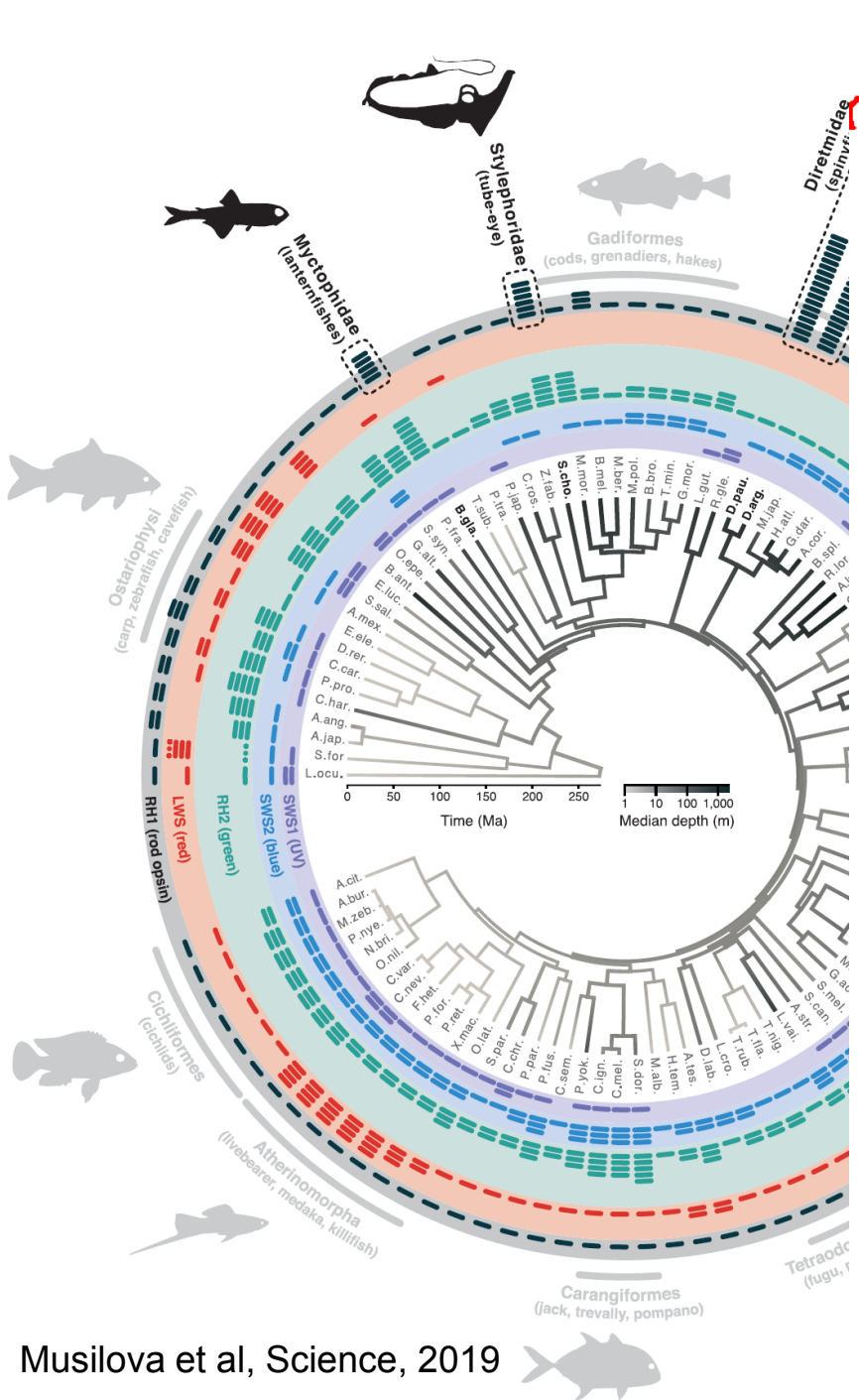
Vznik proteinových rodin

- 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 (různé kopie mají různé funkce - **paralogy**)



(příklad superrodiny jaderných hormonálních receptorů)





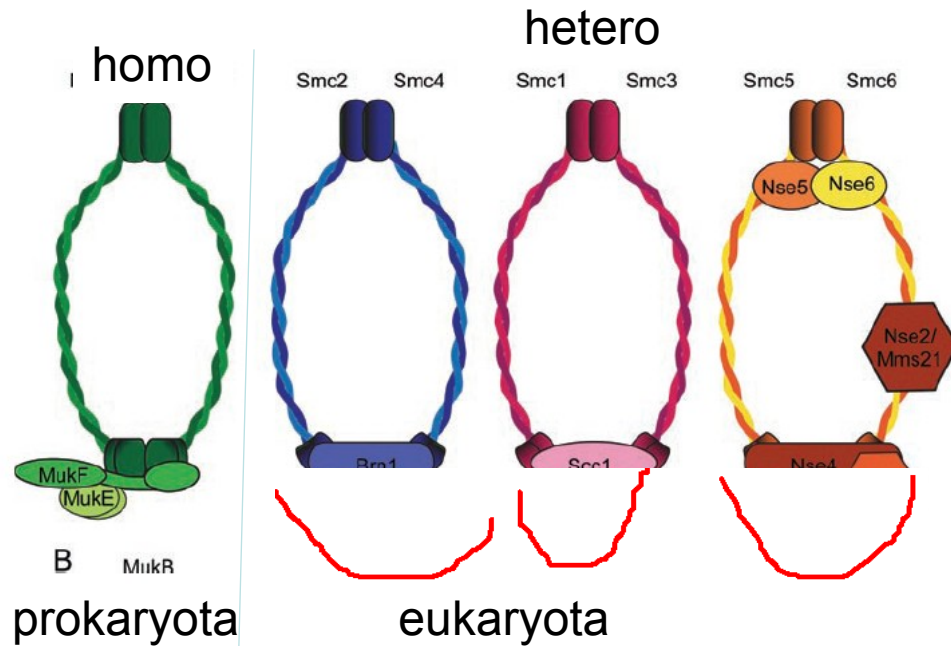
Musilova et al, Science, 2019



wavelength (nm)



- **duplikace a divergence (neofunkcionalizace)** 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))



Marsh et al, ARB, 2015

- po **duplikaci** jsou oba proteiny stejné a vytváří stejný homomerní komplex – později jeden protein diverguje (mutace) a vzniká heteromer
- duplikace více genů/proteinů (podjednotek) ... komplexů

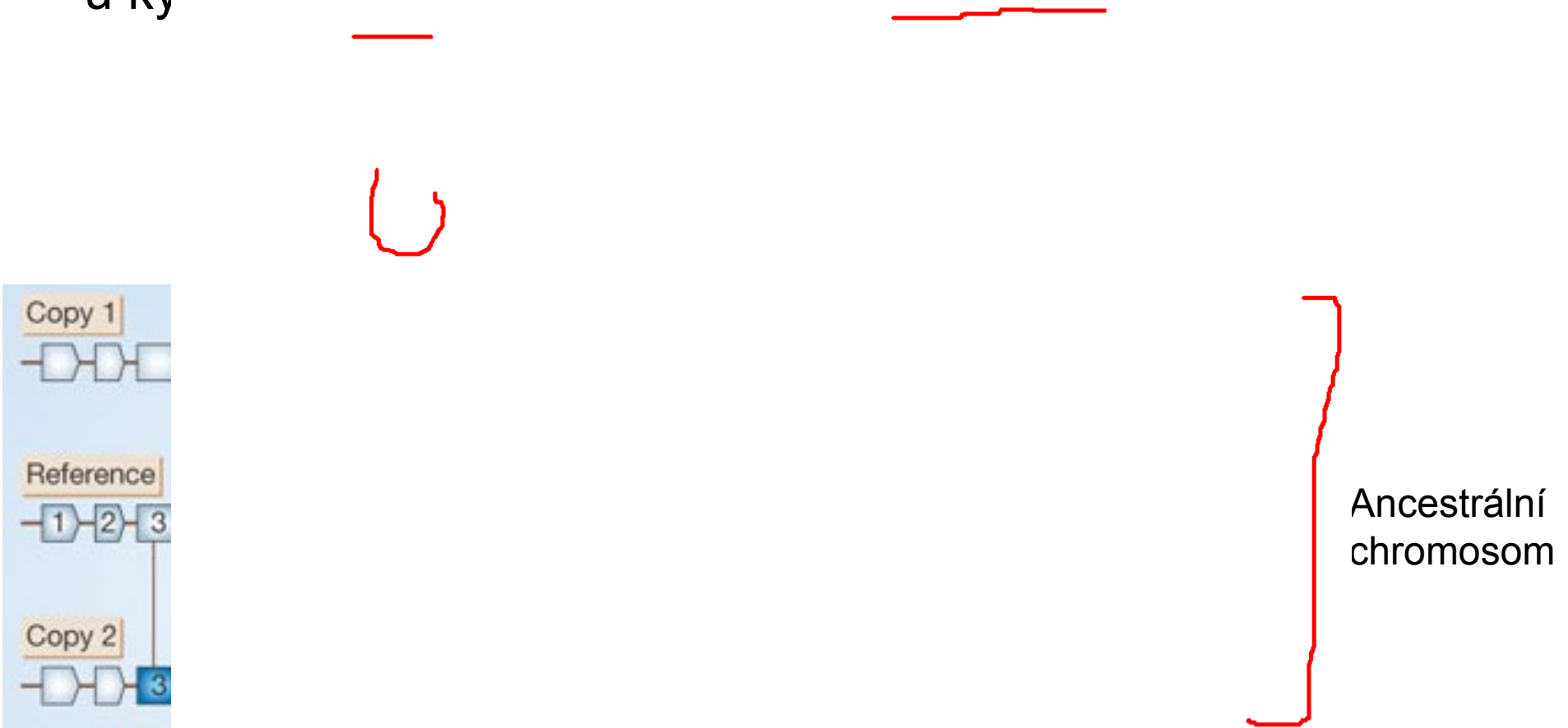


Celogenomová duplikace u kvasinek

cca 30% genomu *S.c.* vzniklo duplikacemi => došlo k

celkové
přesměřování
u ky

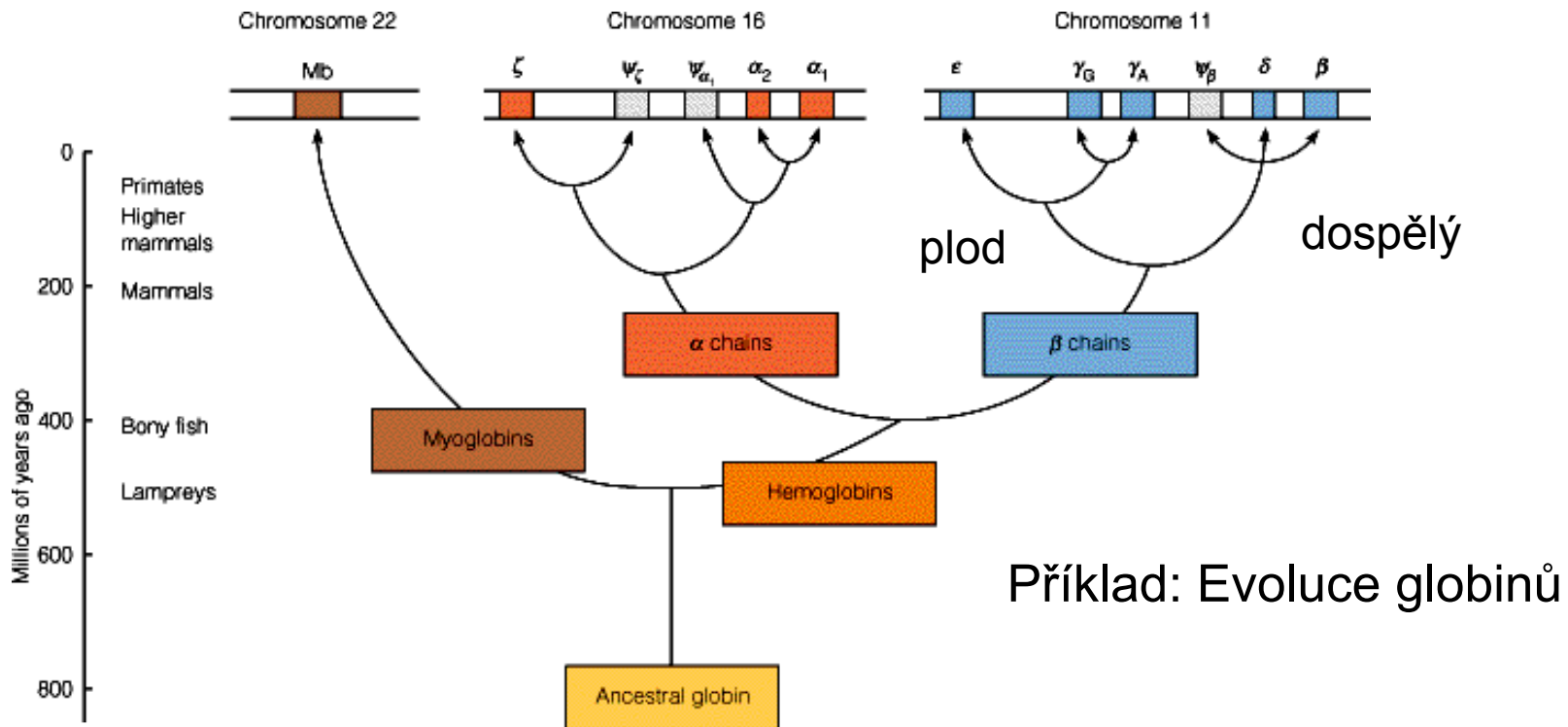
polyploidie



-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

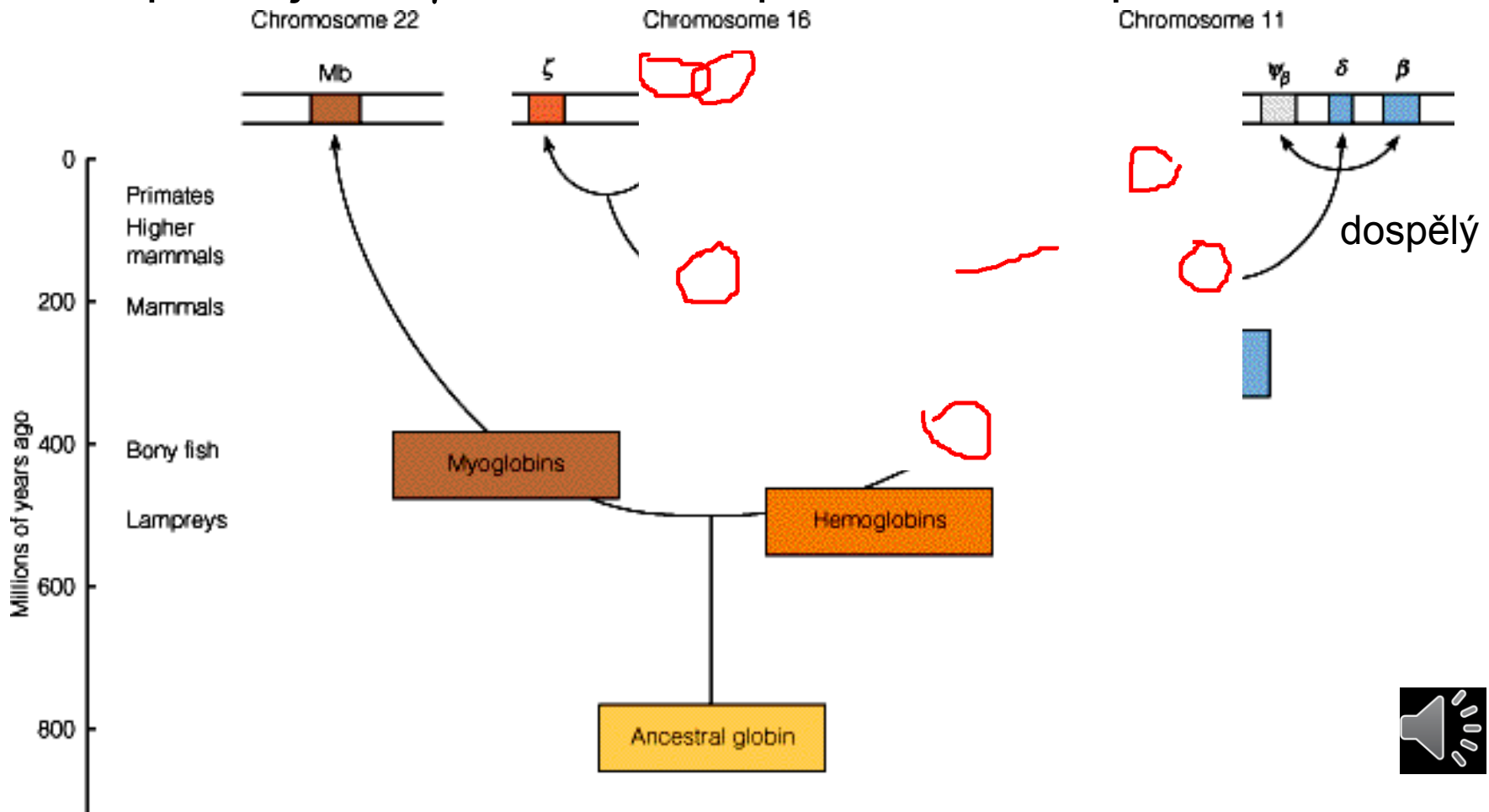


- na počátku stejné sekvence = stejné funkce (pod jinými **promotory** – jiný lokus tzn. jiné „okolí“ zaintegrované „mRNA“ tzn. jiná regulace exprese – „nové“ buňky)



Evoluce rodiny globinů (duplikace)

- ... u savců se dále duplikoval β -globin, který je 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 $\alpha 2\delta 2$



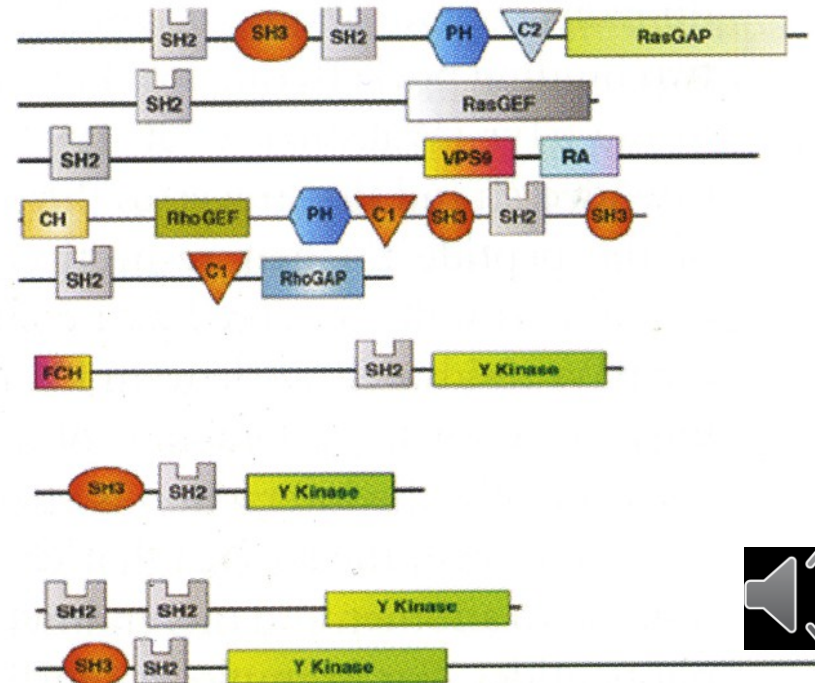
- duplikace **domény** (většinou koreluje s exonem)
- hranice domény jsou většinou kódovány **introny** – bez intronů by bylo obtížnější přesně vybrat pouze „doménovou“ část sekvence
- duplikací a „**shuffling**“ **domén** – poskládají se nové geny/proteiny – vytváří nová funkční/fyzická provázání (interakce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



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 proteinů (nové kombinace domén) - komplexů – funkcí – typů 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)

