

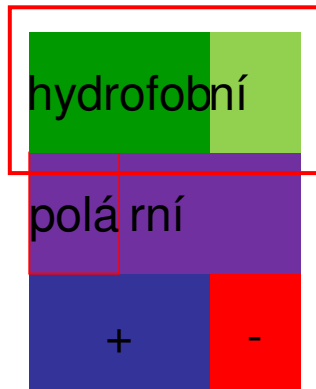
Minule: metody ... moduly

# Osnova 2. přednášky

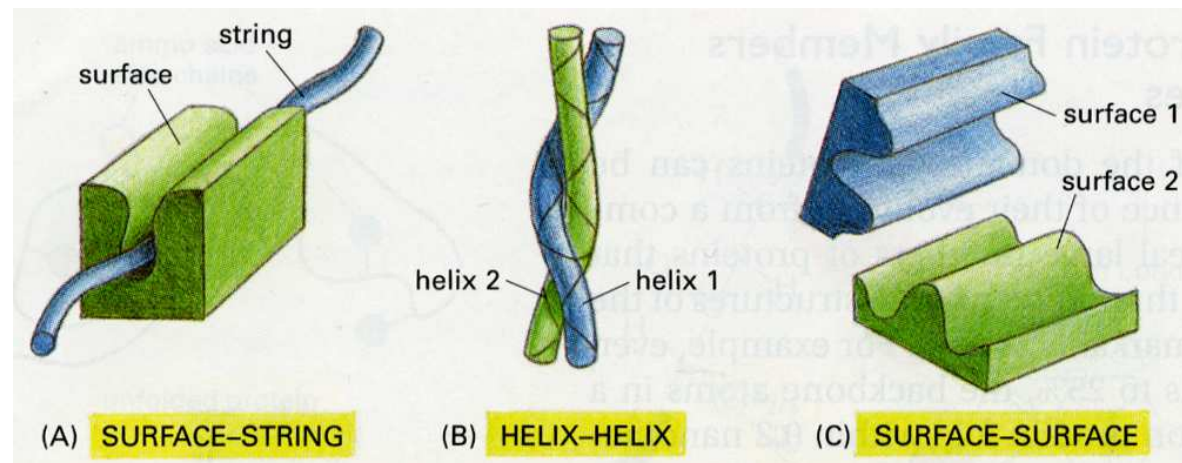
- protein-proteinové interakce (PPI)
  - charakteristika PPI
  - vliv post-translačních modifikací na PPI
  - inhibice a modulace PPI
- sestavování proteinových komplexů
- typy komplexů (adaptéry, lešení ...)

**DNA-proteinové interakce**

primární struktura

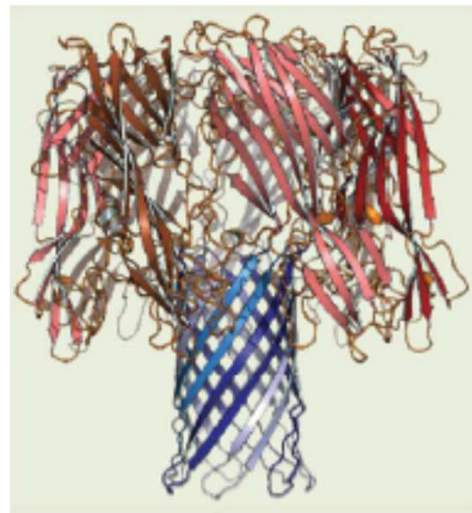


sekundární a terciární struktura



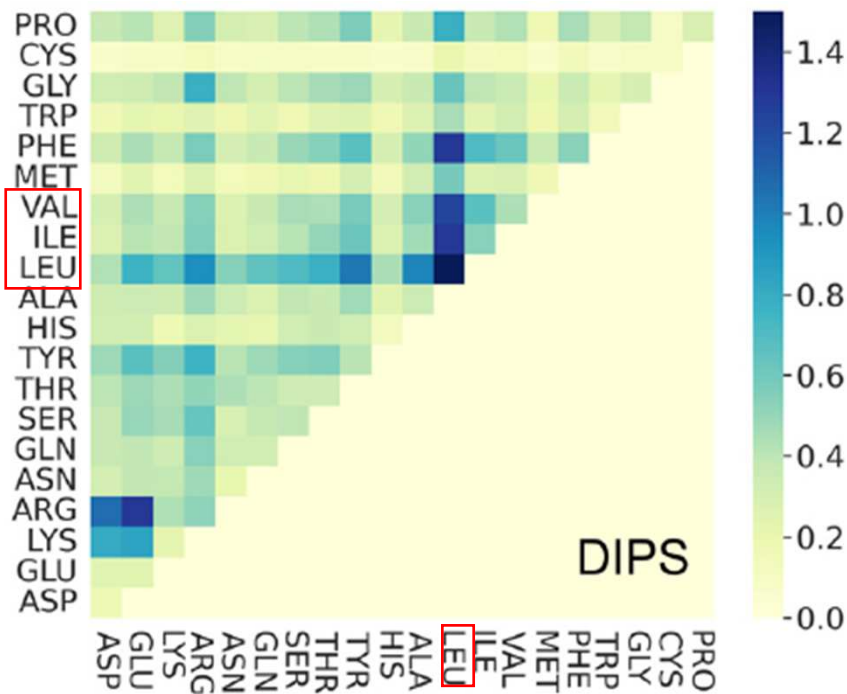
# Komplexy se utvářejí (převážně) prostřednictvím protein-proteinových interakcí

- Polypeptidový řetězec (primární struktura) má tendenci vytvářet sekundární struktury -> terciární struktury -> kvarterní tj. komplexy (stejně typy **nekovalentních** vazeb, minimální energie - šroubovice a listy se k sobě skládají ...)
- iontové, vodíkové, **hydrofobní síly** (kovalentní vazby - disulfidické můstky především u extracelulárních proteinů)
- **vodíkové můstky** především u  $\beta$ -listů

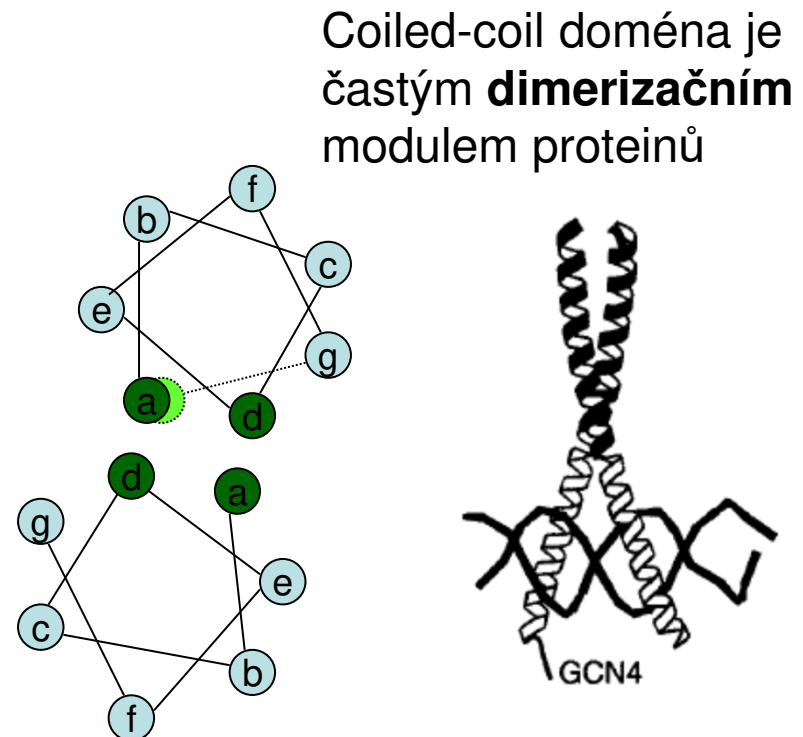


# Komplexy se utvářejí (převážně) prostřednictvím hydrofobních protein-proteinových interakcí

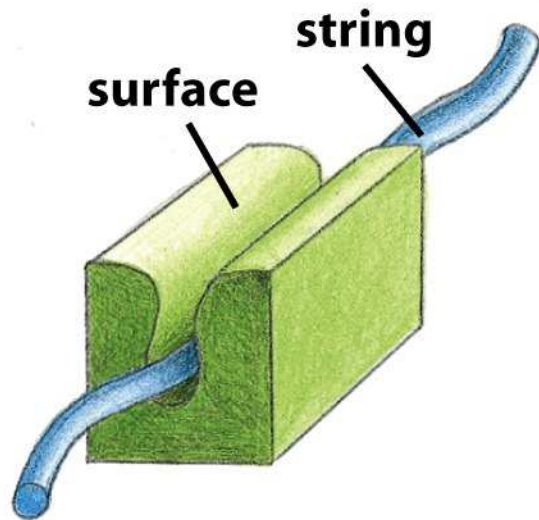
- **hydrofobní zbytky** jsou tlačeny dovnitř proteinu (nikoli do solventu) nebo do interakce (nejčastější způsob vazby)
  - součet hydrofobních sil je značný (převažuje u většiny interakcí)
  - hydrofobní povrchy se podílí na vytváření coiled-coil vláken



Rui et al, RSC Chem Biol, 2023

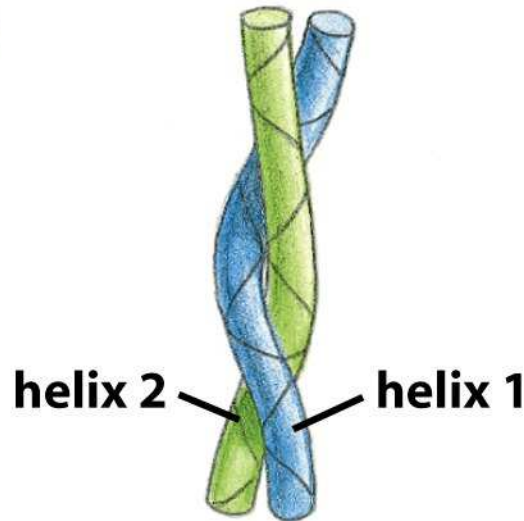


# Typy protein-proteinových interakcí

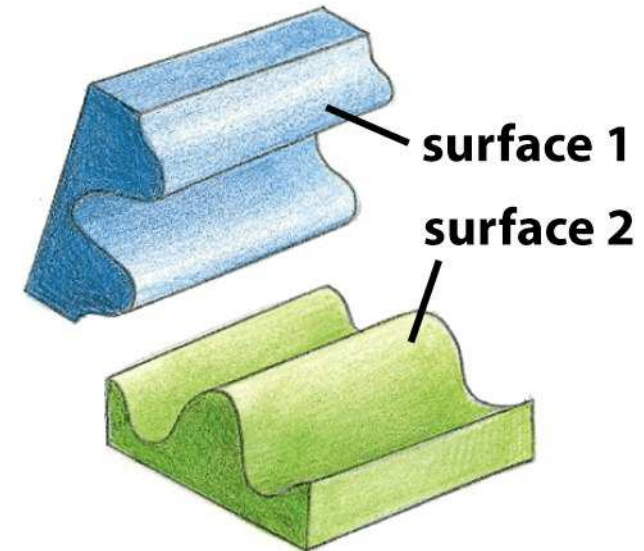


(A) SURFACE-STRING

doména-motif



(B) HELIX-HELIX



(C) SURFACE-SURFACE

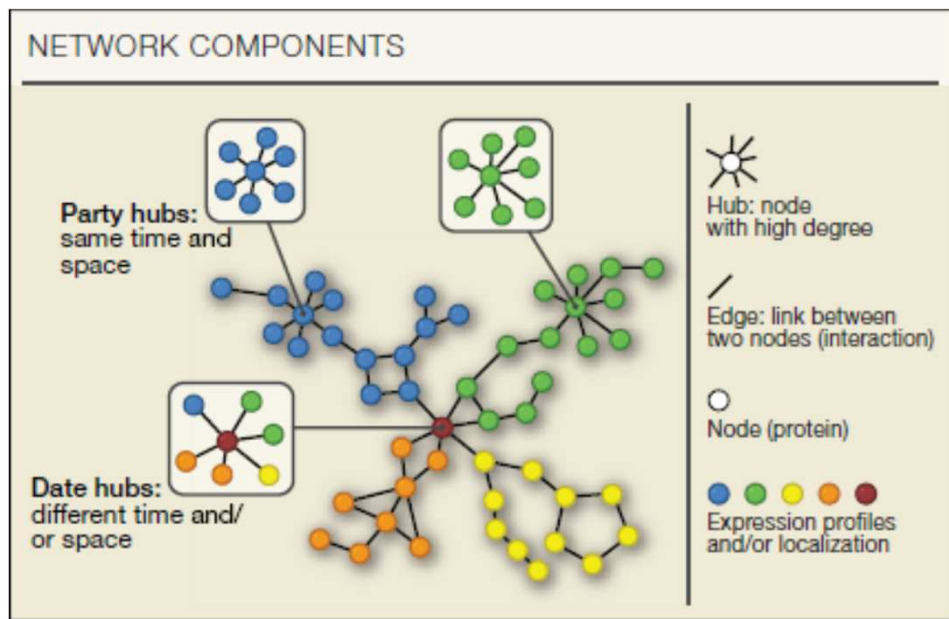
doména-doména

- Ostatní domény/moduly lze definovat pouze obecně: proteiny musí mít **komplementární tvar i charakter**

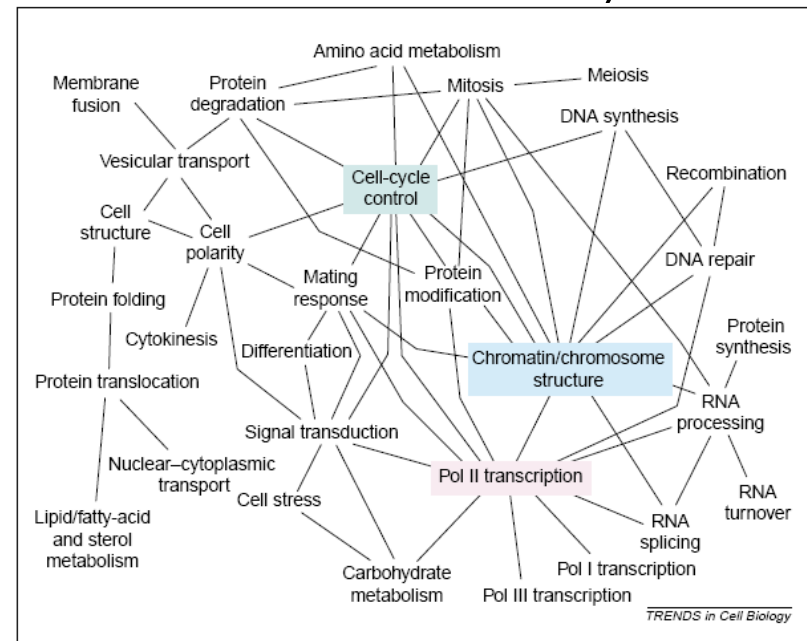
- Variabilita je velká – nelze je jednoduše definovat - obtížná **predikce** (modelovat lze komplexy pro něž existují již vyřešené struktury – AlphFold, CoZold)

# Protein-proteinové interakce

- stabilní (velké plochy, většinou součástí komplexů)
- přechodné/slabe (součást dynamických procesů – předávání signálů, modifikace)
- posttranslační modifikace mohou změnit vazebné vlastnosti povrchu (fosforylace, metylace, hydroxylace, SUMO)
- souhrn proteinových interakcí = **interaktom**  
(modularita díky interakcím domén – různé kombinace domén)

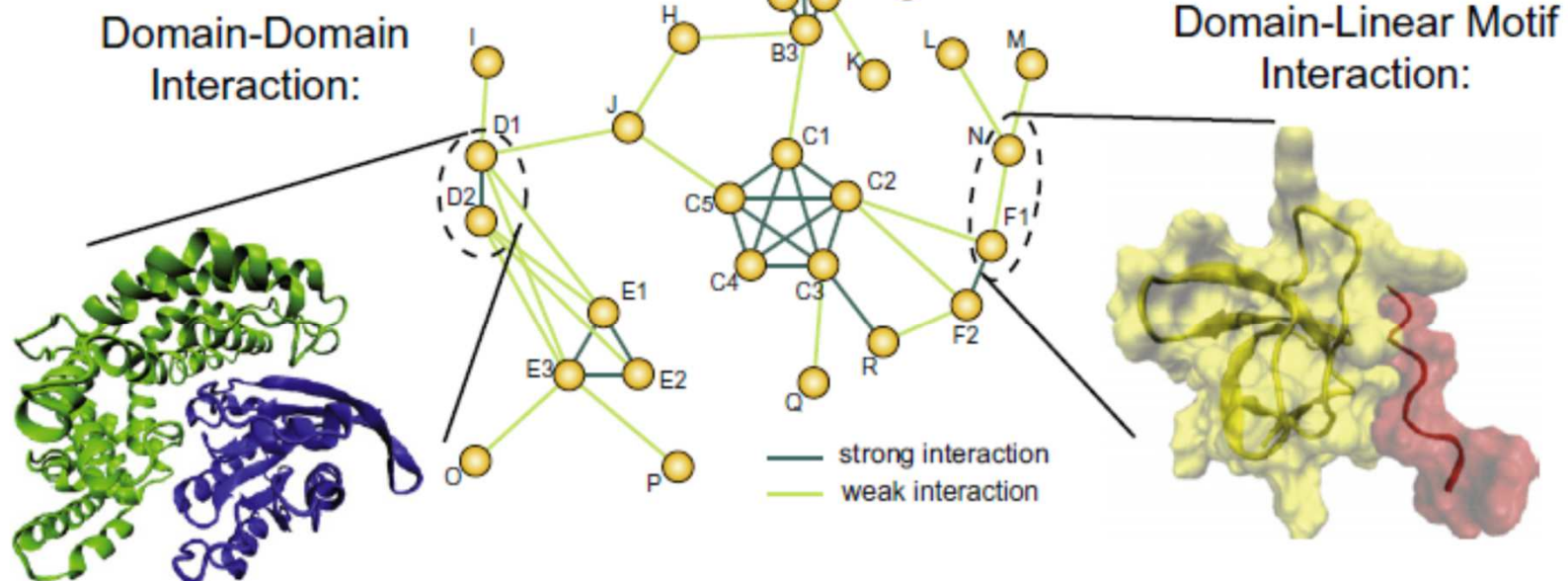
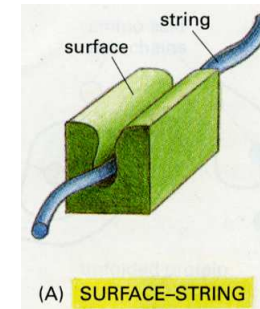
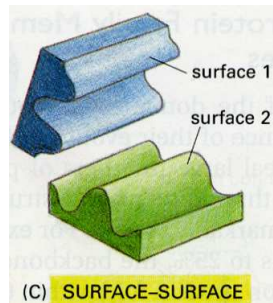


Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011



Network/síť naznačuje funkční vztahy  
Tucker et al, TiCB, 2001

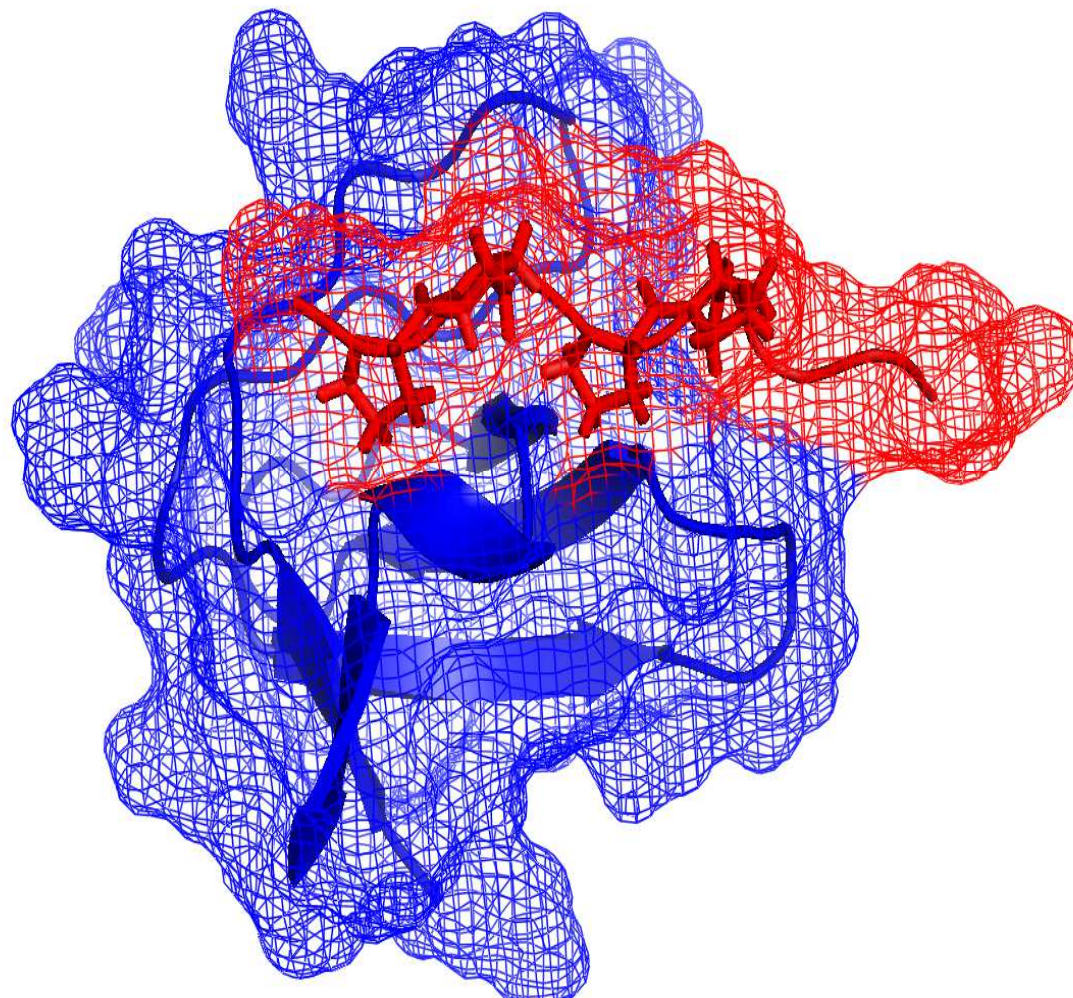
# silné vs slabé interakce



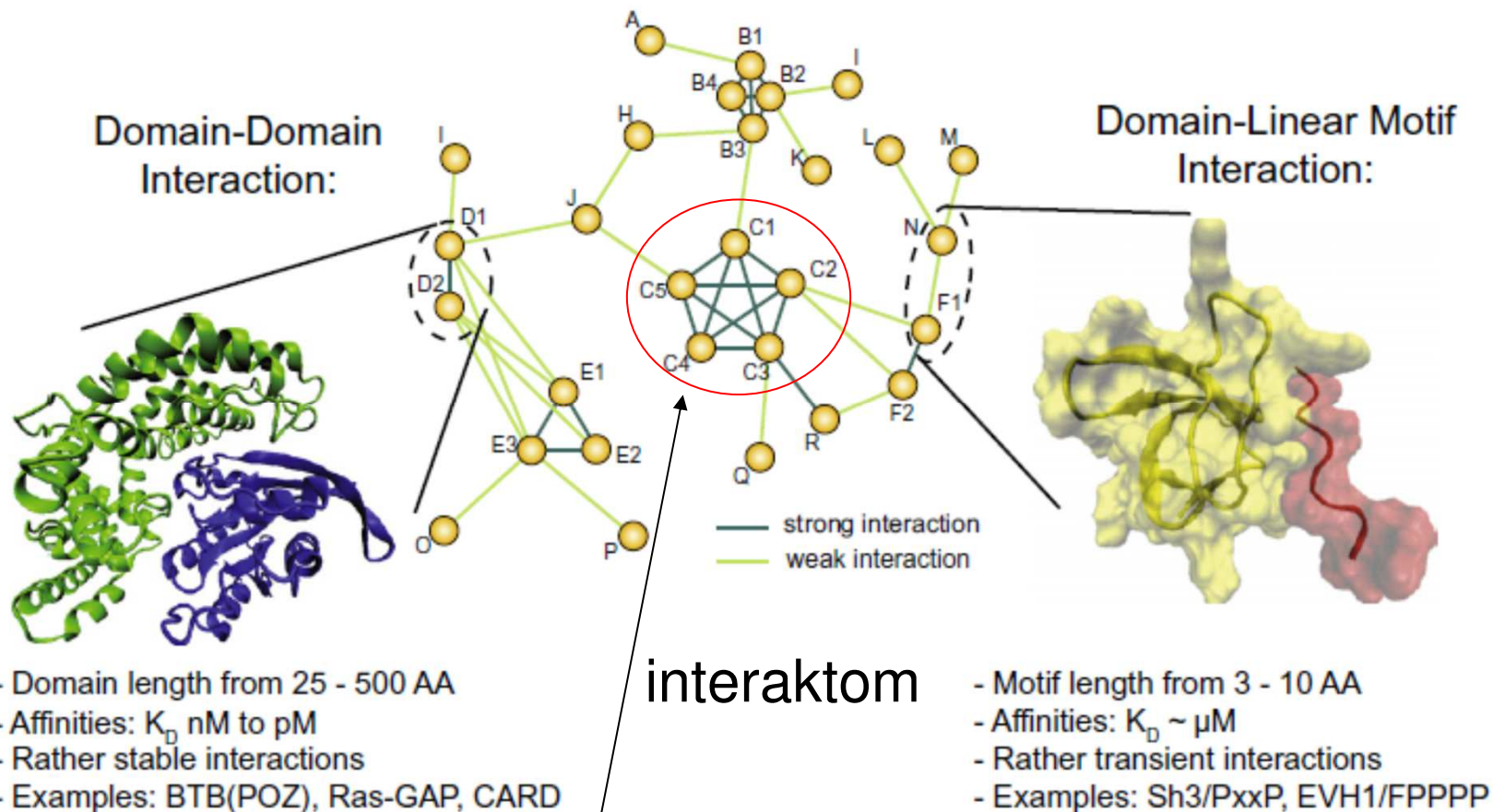
- Domain length from 25 - 500 AA
- Affinities:  $K_D$  nM to pM - stabilní/komplexy
- Rather stable interactions
- Examples: BTB(POZ), Ras-GAP, CARD

- Motif length from 3 - 10 AA  $\sim 350A^2$
- Affinities:  $K_D \sim \mu M$  - přechodné interakce
- Rather transient interactions
- Examples: Sh3/PxxP, EVH1/FPPPP
- regulace PTM - vazba na fosfo-, acetyl ...

- Interakční plocha  $500-10\ 000A^2$  (vs pro ligandy  $100-600A^2$ )



SH3 domény vážou **prolin-rich** (PxxP) peptidy (PDB: 4RTV)

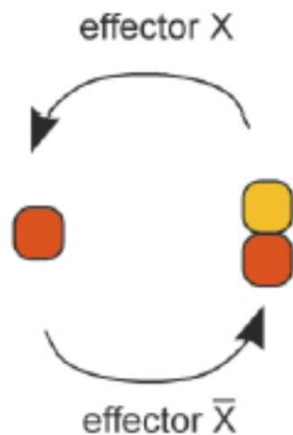


Bader et al, FEBS Lett, 2008

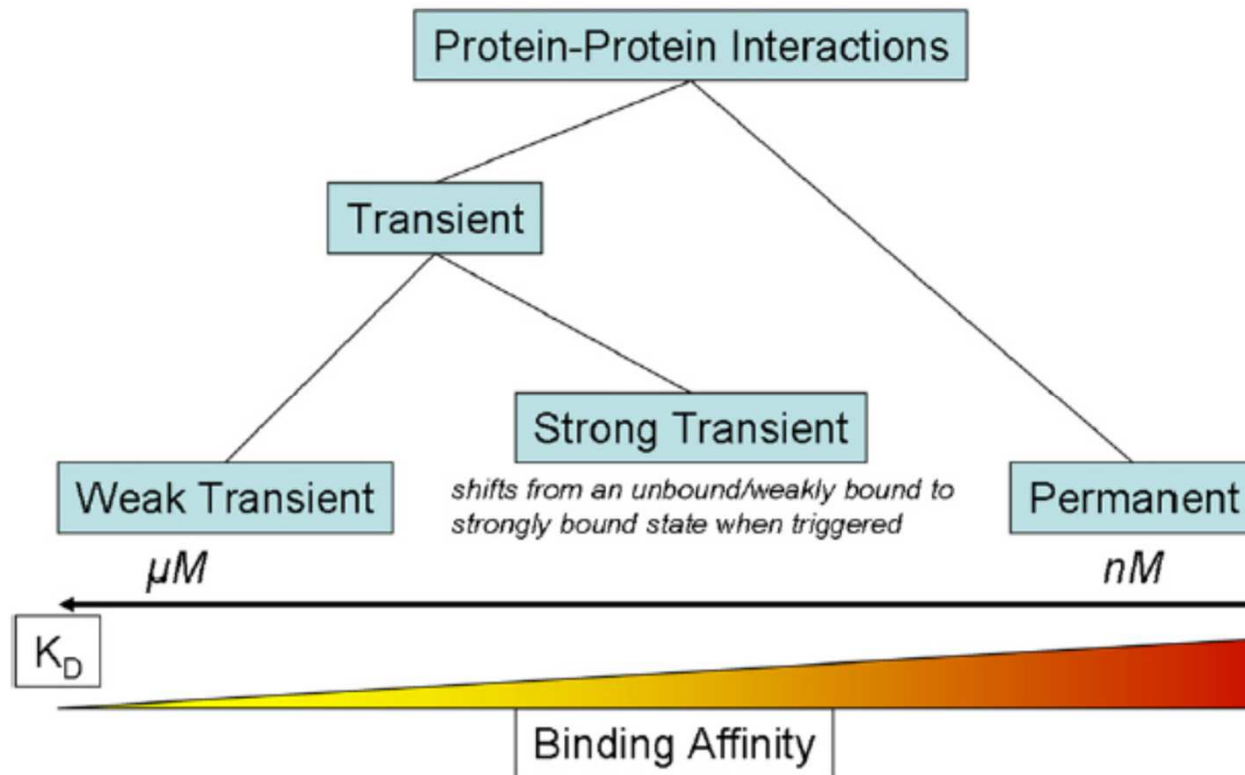
- z analýzy protein-proteinových interakcí lze usuzovat na potenciální **stabilní komplexy** vs **přechodné interakce**
- variabilita interakčních povrchů je velká => variabilita PPI (nelze je jednoduše definovat)

*S jakými partnery a jak silně interagují vaše proteiny?*





faktory ovlivňující vznik a sílu vazby?



vazebnou afinitu mohou výrazně ovlivnit PTM nebo vazba ligandu (G-proteiny)

X:  $\Delta$  local protein concentration, i.e. level of gene expression, degradation, temporary storage, diffusion (solvent viscosity, steric environment), molecular presentation

X:  $\Delta$  pH,  $\Delta$  temperature,  $\Delta$  ionic strength

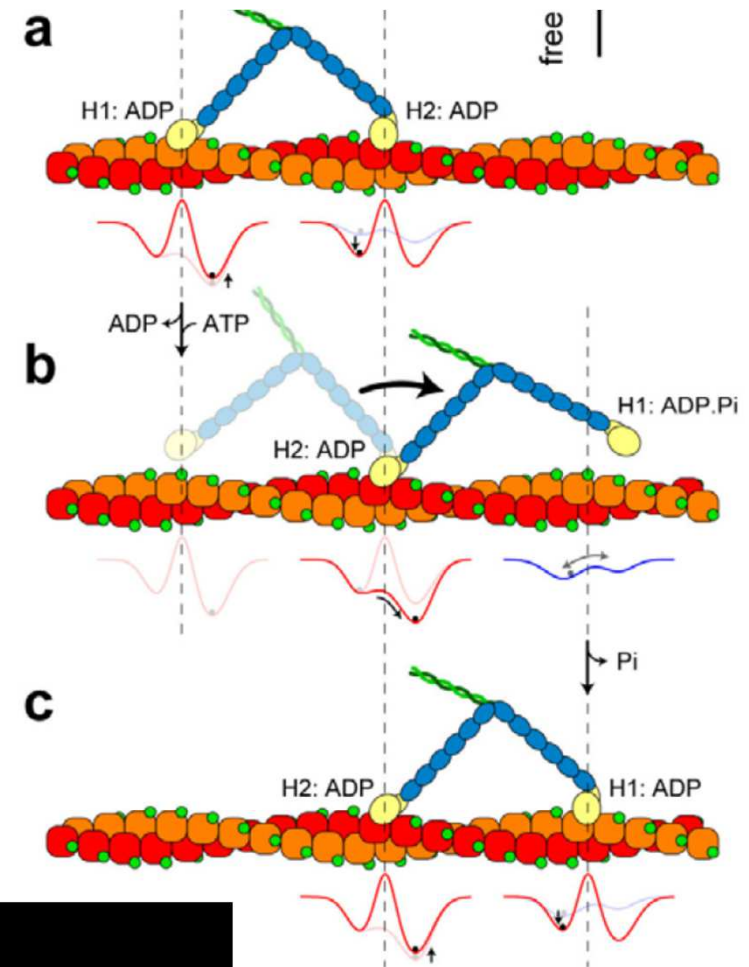
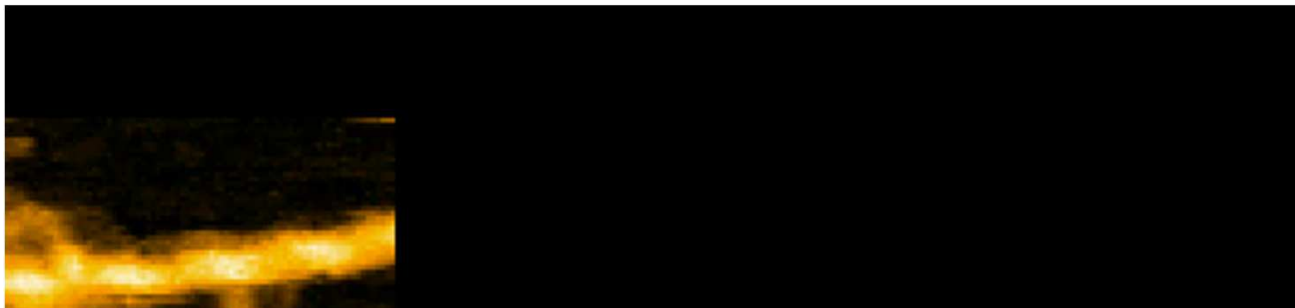
X: molecular (cooperative/allosteric) binding i.e.  $\Delta$  concentration of metabolite, other protein or ion (e.g. ATP,  $\text{Ca}^{2+}$ ), or covalent modification, i.e. enzymatic activity (e.g.  $\text{PO}_4$ )

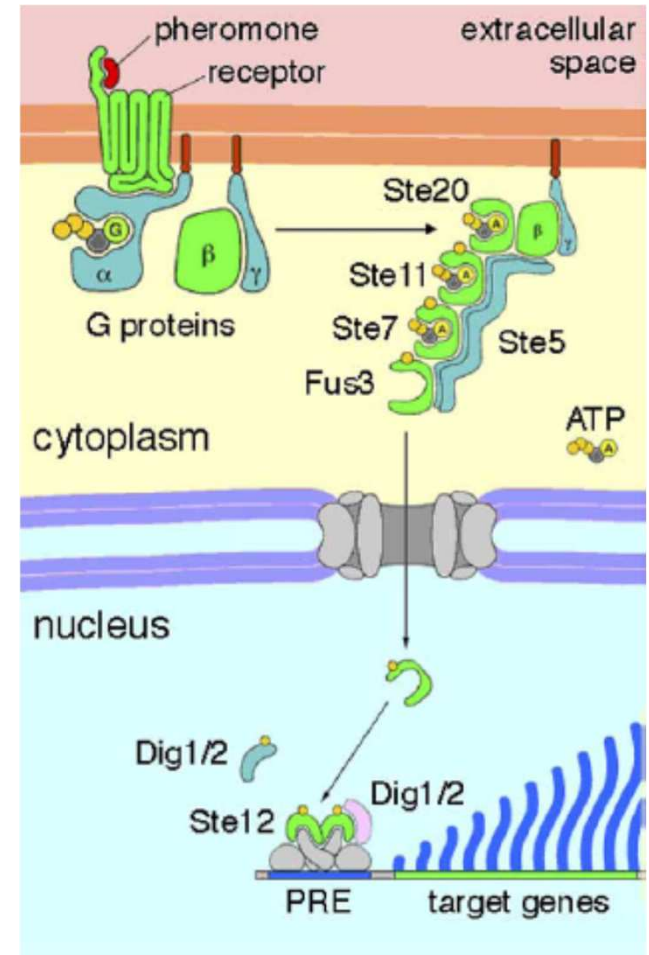
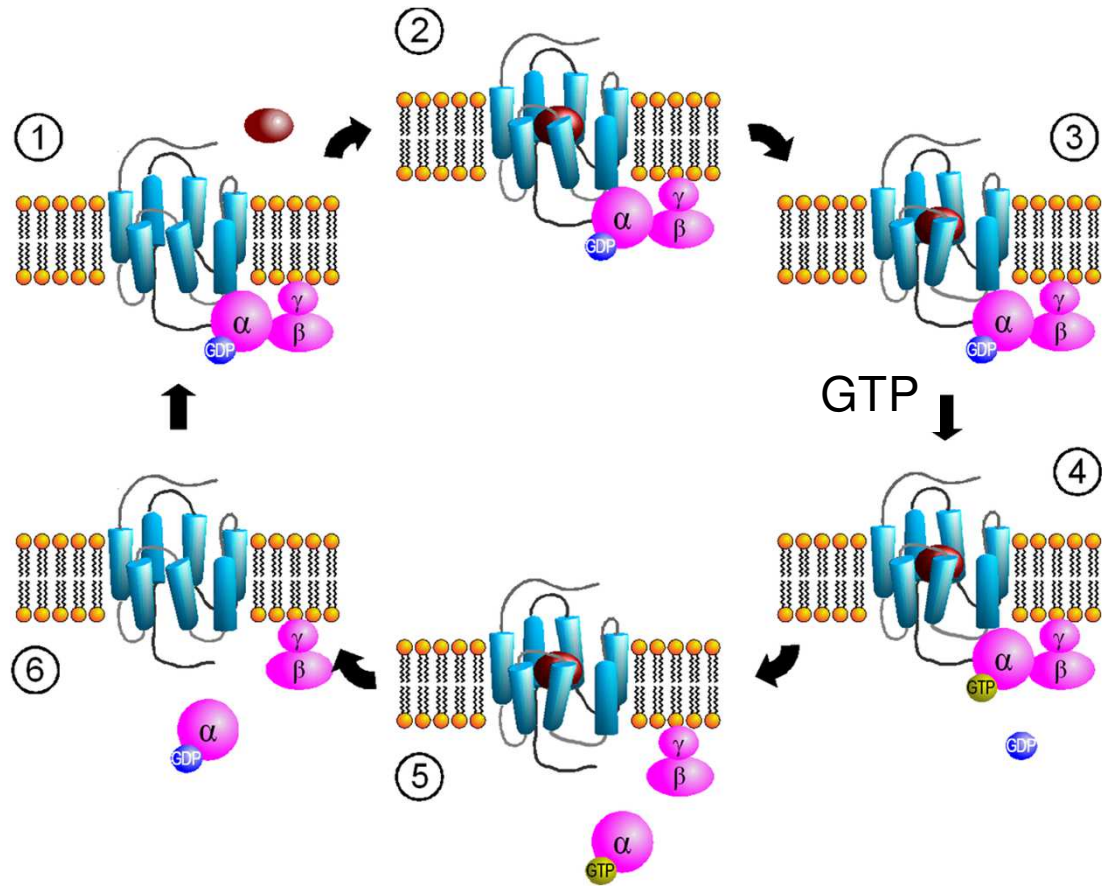
Modifikace může „vypnout/zapnout“ interakci  
(viz též molekulární lepidla)

**ATP** ... může ovlivnit přímo či nepřímo interakci  
proteinů

- ... myosin+ADP váže aktin ...
- ... vazba ATP na myosin disociuje vazbu s aktinem
- ... disociace ADP změní konformaci myosinu ...
- ... myosinové hlavy hydrolyzují ATP na ADP ...
- ... myosin+ADP znovu váže aktin ...

(SMC komplexy – DNA loop extrusion ...)



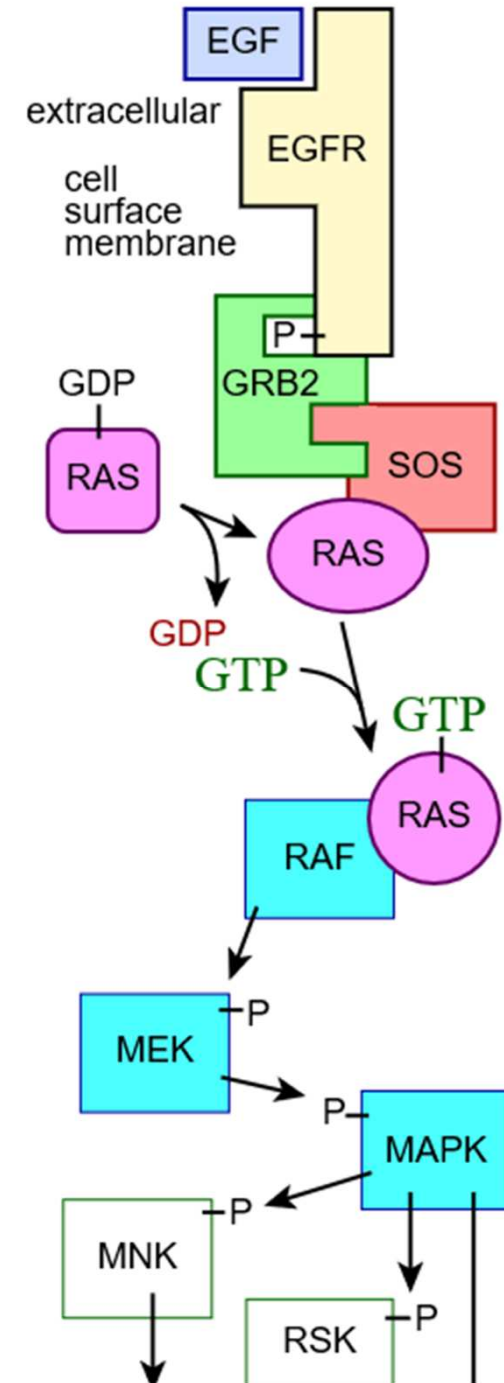


Uetz and Finley, FEBS Lett. 2005

Protein-proteinové interakce jsou modulovány vazbou **GTP/GDP, ATP/ADP** ... G-proteiny spolu interagují s 1000x nižší/vyšší afinitou za přítomnosti GDP než pokud je na G $\alpha$  navázané GTP (viz Ras) – dochází ke konformační změně (dynamická)

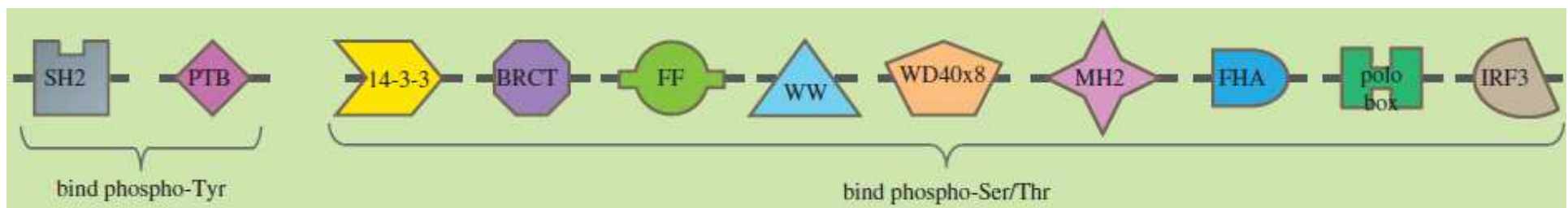
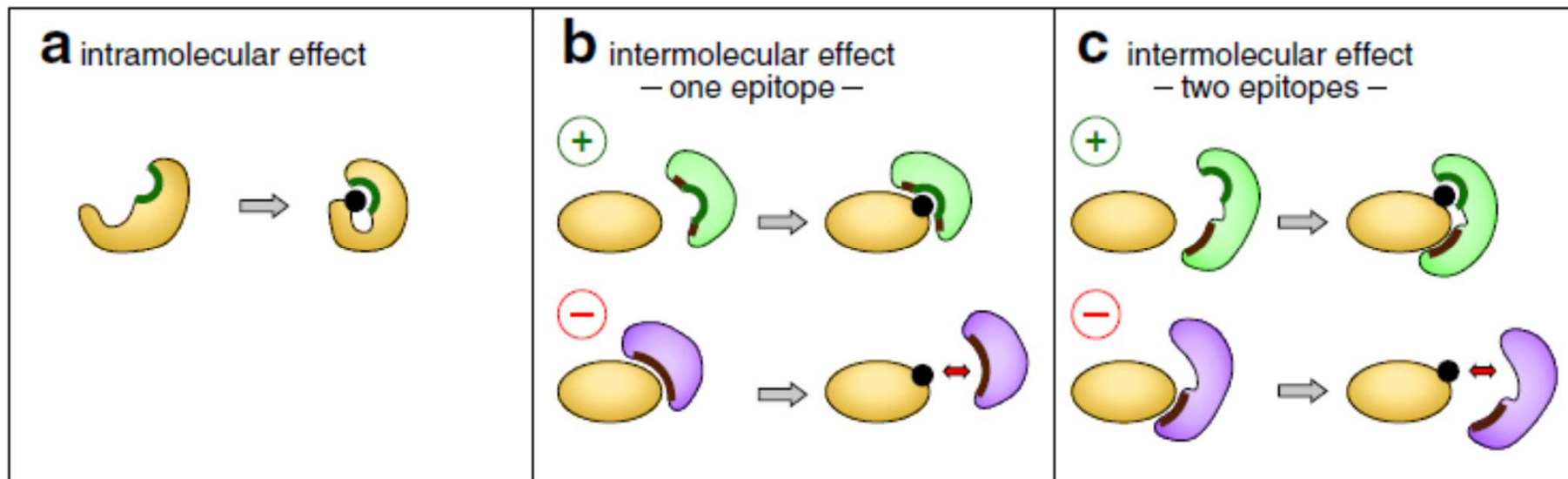
**Signální Ras dráha:** EGF váže EGFR ... Ras může navázat GTP (podobný  $G\alpha$ , ale monomer) a interagovat s RAF kinasou - aktivuje se MAPK dráha

rakovina – Ras mutace stabilizující vazbu GTP mají za následek konstitutivní aktivaci (aktivace i bez EGF stimulu)



## Vliv PTM na PPI

ATP/GTP, post-translační modifikace ... mění povrch (tvar, náboj) – vytváří specifický nový povrch  
- může blokovat nebo posílit vazbu partnera

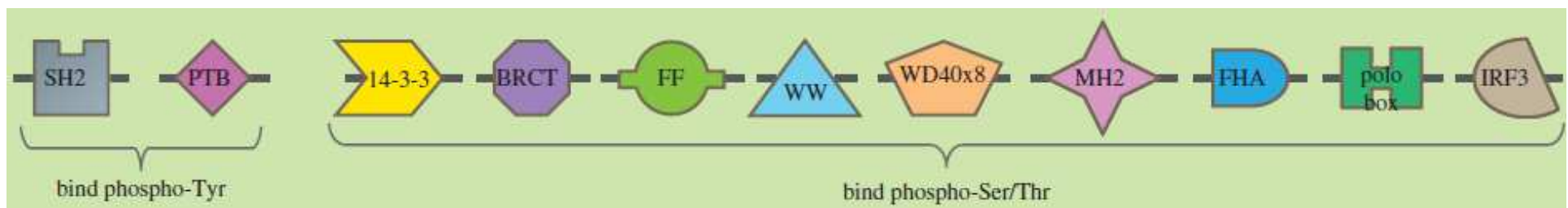


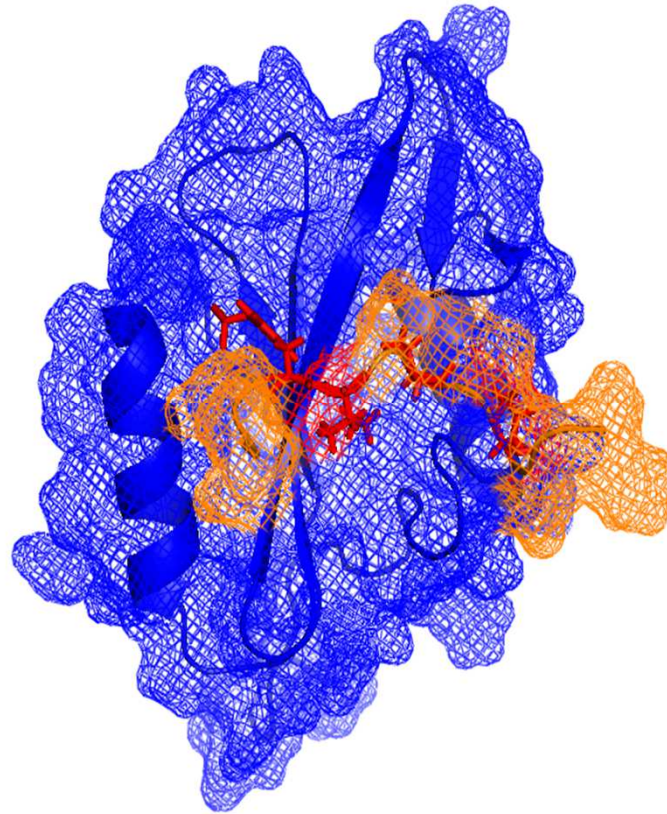
## Vliv PTM na PPI

Post-translační modifikace vytváří specifický nový povrch

specifické vazebné domény - např. SH2 domény váží fosfopeptidy – dvě vazebná místa (fosfoTyr a peptid – peptid určuje vazebnou specificitu)

Modifikace	AMK zbytek	interakční doména
Fosforylace	tyrosin	SH2, PTB
	serin/threonin	14-3-3, WD40, WW, BRCT...
acetylace	lysin	bromodoména
metylace	lysin	chromodoména
hydroxylace	prolin	VHL $\beta$
ubiquitinace	lysin	UIM, UBA, CUE
SUMOylace	lysin	SIM





SH2 domény váží **fosfopeptidy** – dvě vazebná místa (fosfoTyr a peptid – peptid určuje vazebnou specificitu) – změna tvaru i náboje interakčního povrchu (PDB: 2PLD)

# Výskyt „typických“ domén v různých organismech

<i>S. pombe</i>		<i>S. cerevisiae</i>		<i>H. sapiens</i>		<i>D. melanogaster</i>		<i>C. elegans</i>		<i>A. thaliana</i>		Interpro name
Proteins	Rank	Proteins	Rank	Proteins	Rank	Proteins	Rank	Proteins	Rank	Proteins	Rank	
213	1	267	1	436	5	231	4	191	7	331	5	ATP/GTP-binding site motif A (Ploop)
114	2	97	3	277	8	183	5	102	19	210	10	G protein $\beta$ WD40 repeats
111	3	119	2	579	3	377	2	450	2	1,049	1	Eukaryotic protein kinase
80	4	61	5	307	7	182	6	97	21	255	8	RNA binding region RNP1
67	5	63	4	155	20	101	17	80	27	148	13	Helicase C-terminal domain
44	6	33	12	215	15	120	11	126	12	379	4	RING finger
38	7	33	12	150	21	92	18	46	43	125	17	TPR repeat
36	8	46	8	44	64	45	34	55	37	98	26	Sugar transporter
33	9	42	9	75	40	67	28	61	36	103	25	ABC transporter family
32	10	51	7	712	2	403	1	154	10	115	20	Zinc finger, C2H2 type
14	23	10	30	24	82	17	61	25	60	17	83	BRCT domain
8	29	9	31	8	98	9	68	6	79	13	87	Replication factor C conserved domain
5	32	5	35	4	102	6	70	3	82	5	95	DNA directed DNA polymerase family $\beta$
6	31	6	34	12	94	13	64	5	80	8	92	MCM family
5	32	3	37	3	103	4	72	2	83	6	94	FIZZY/CDC20 domain
21	16	23	18	220	14	82	23	62	35	3	97	Src homology 3 (SH3) domain
21	16	26	16	253	11	89	22	75	31	27	73	PH domain
9	28	11	29	112	29	47	40	110	16	21	79	Tyrosine-specific protein phosphatase and dual-specificity protein phosphatase family
27	13	52	6	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	Fungal transcriptional regulatory protein
21	16	32	13	43	65	36	45	32	54	65	42	Permease for amino acids and related compounds
7	30	2	38	26	80	20	58	15	70	24	76	Chromodomain

*Jaké domény obsahují vaše proteiny?*



SH2 (a jiné) domény jsou často (jako moduly) součástí proteinů rozmanitých funkcí – provazují proteiny mezi sebou (přechodně, kondicionálně – regulace buněčných procesů)

Small GTPase Signaling

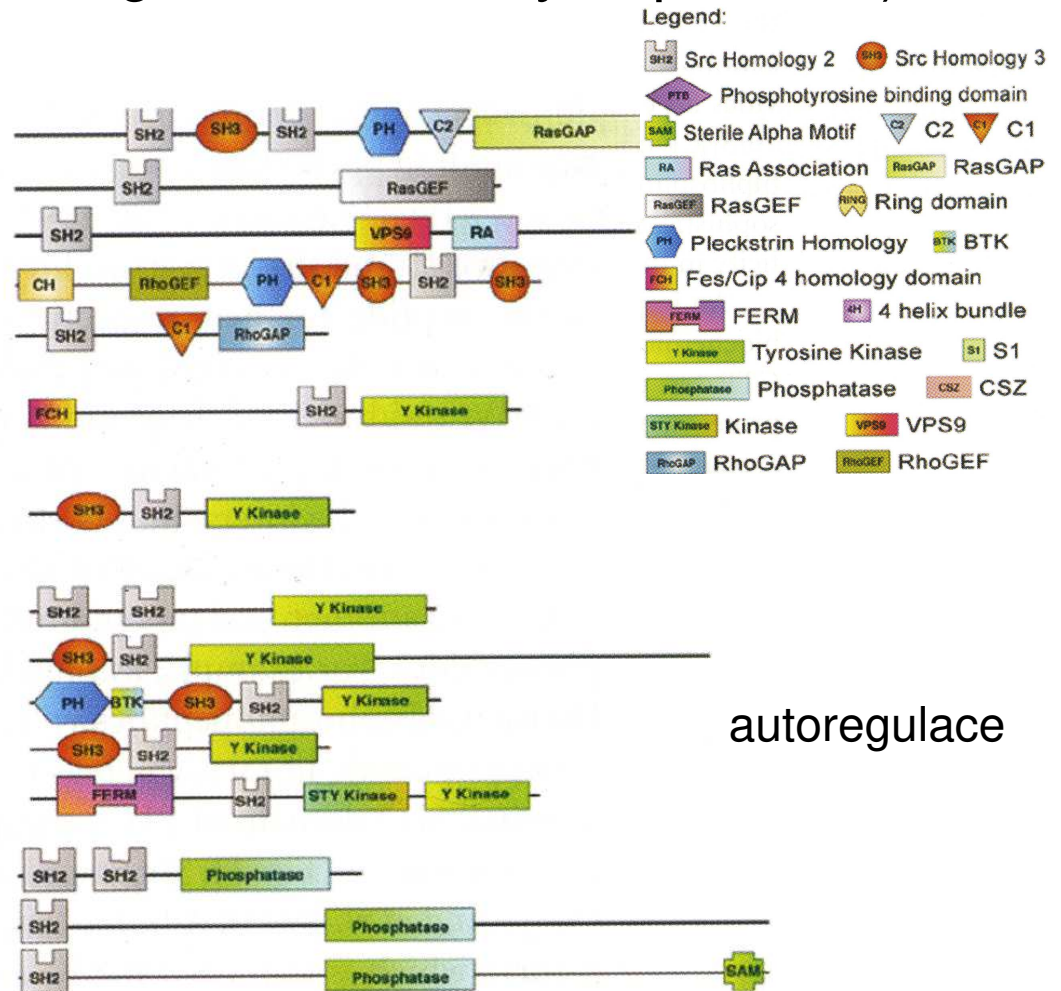
- Ras-GAP
- Nsp1,2,3**
- Rin1
- Vav1,2,3
- Chimerin

Kinases

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

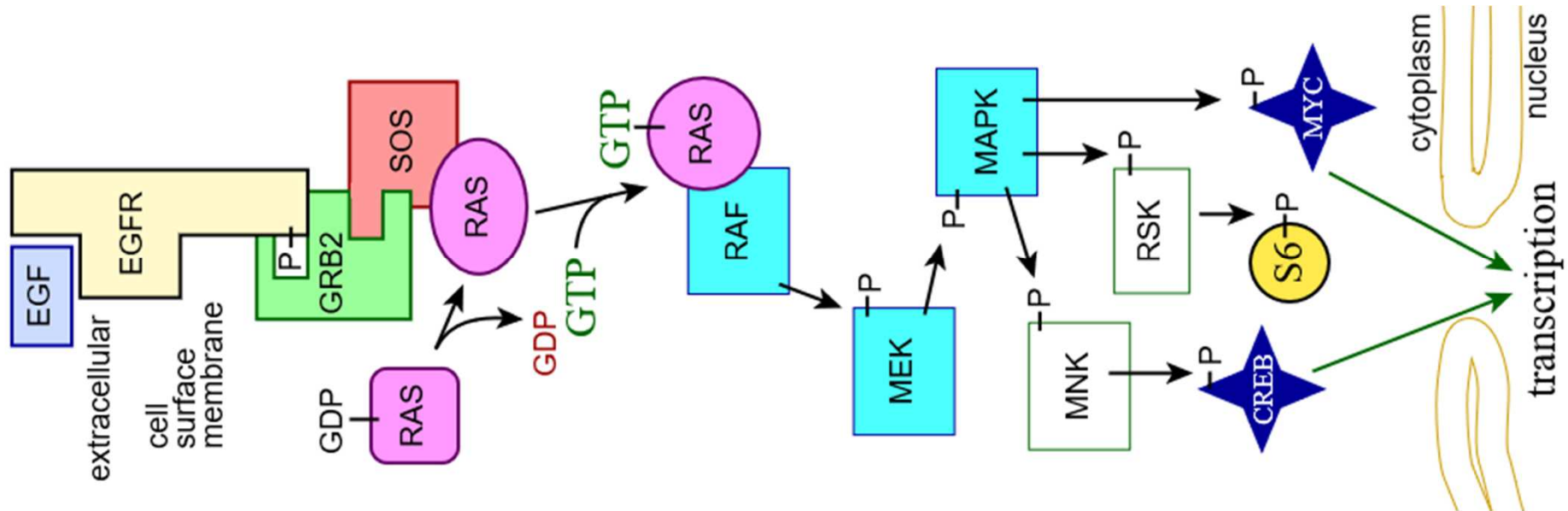
Phosphatases

- Shp1, Shp2
- Ship
- Ship2



autoregulace

vazba substrátu



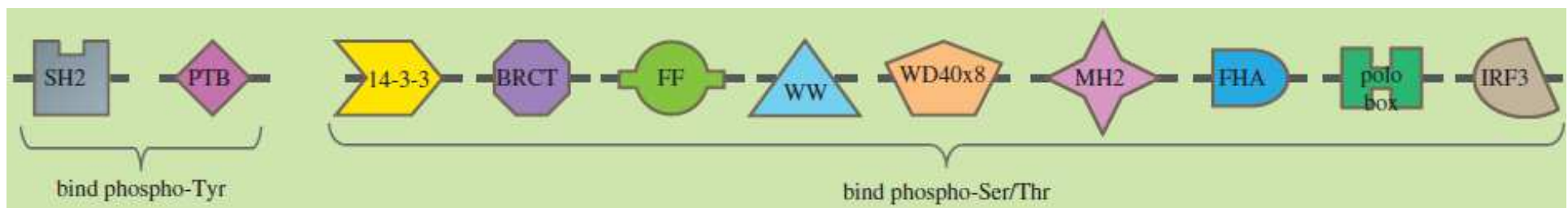
**Signální Ras dráha:** EGF váže EGFR (aktivuje cytoplasmatickou kinasovou doménu = autofosforylace) – **SH2** v GRB2 interaguje s EGFR - **SH3** domény GRB2 dimerizují s prolin-rich doménou SOS – EGFR-GRB2-SOS je aktivní (SOS = guanin nukleotid exchange faktor) a odstraní GDP z Ras – Ras může navázat **GTP**, uvolnit ze SOS a interagovat s RAF kinasou - aktivuje se MAPK dráha

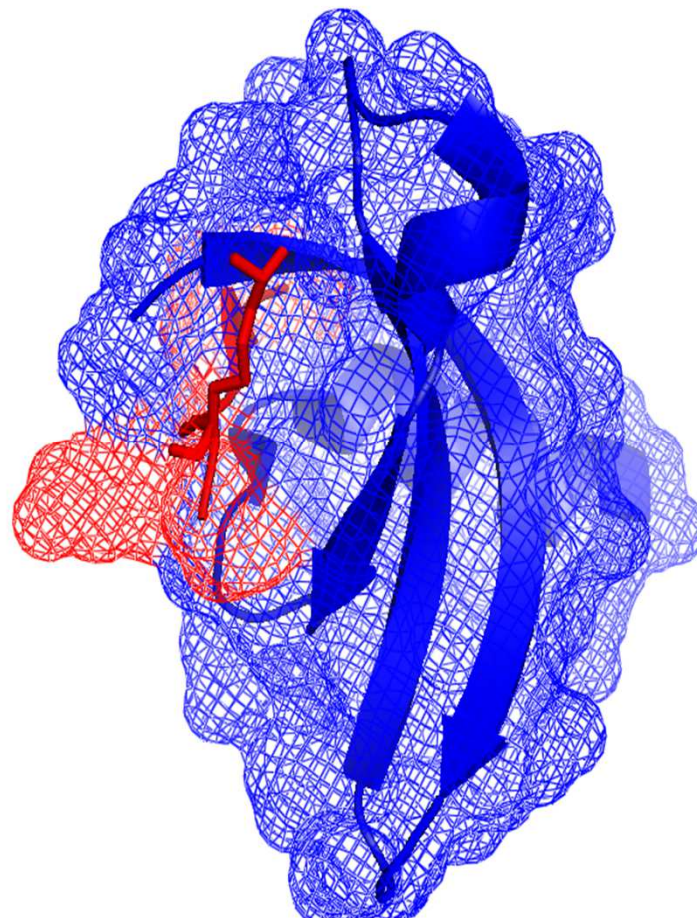
## Vliv PTM na PPI

Post-translační modifikace vytváří specifický nový povrch

specifické vazebné domény - např. **chromodoména** váže **metylované peptidy** – dvě domény HP1 váží metylované H3K9me (spojí 2 nukleosomy)

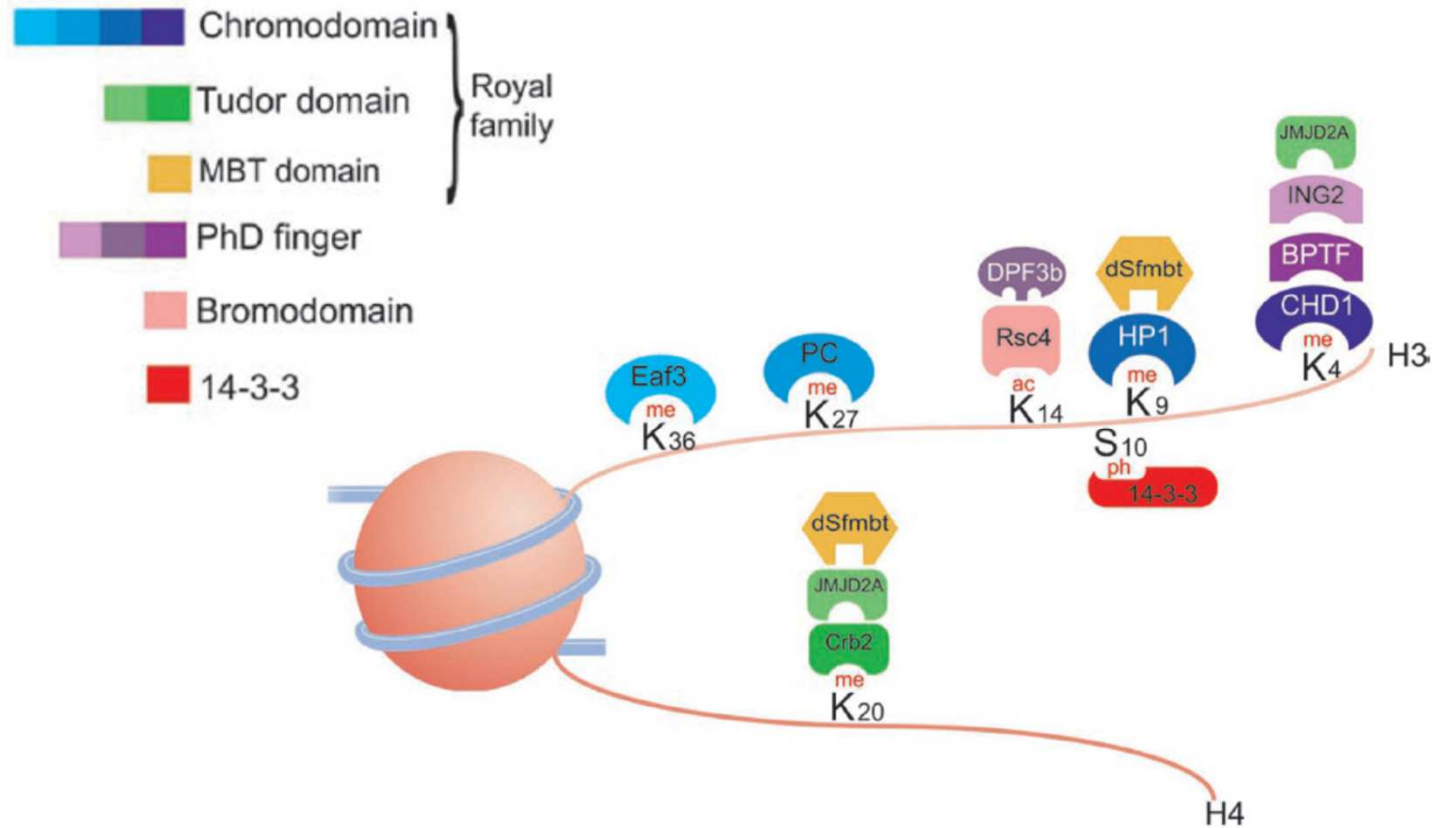
Modifikace	AMK zbytek	interakční doména
Fosforylace	tyrosin	SH2, PTB
	serin/threonin	14-3-3, WD40, WW, BRCT...
acetylace	lysin	bromodoména
metylace	lysin	chromodoména
hydroxylace	prolin	VHL $\beta$
ubiquitinace	lysin	UIM, UBA, CUE
SUMOylace	lysin	SIM





chromodoména HP1 navázaná na H3 lysin K9me – PDB: 1KNA

# Vliv PTM na PPI – histony H3 a H4



chromodoména HP1 navázaná na H3 lysin K9 – heterochromatin ...

# Ubikvitin – UBM ... SUMO – SIM ...

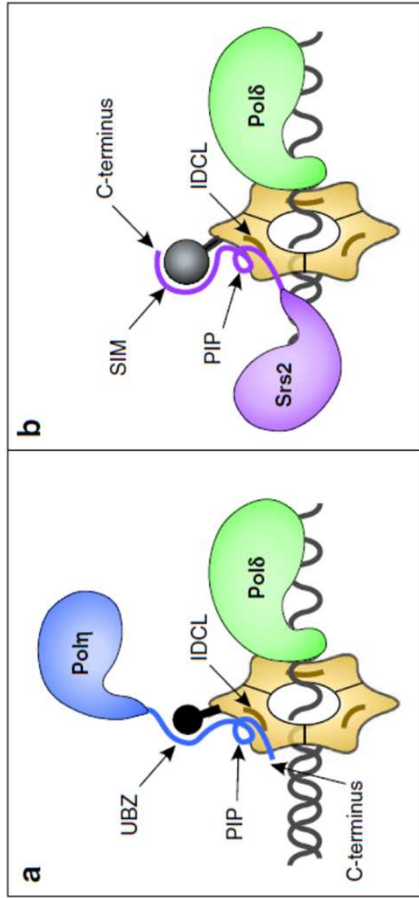


Table 1 PCNA modifications and their effectors

Modification	Effector	Effect	Domains	Pathway	References
Ubiquitylation	Y family polymerases	Binding	PIP, UBZ, UBM	DNA damage bypass	Stelter and Ulrich 2003 Bienko et al. 2005
Sumoylation	hELG1	Binding	?		Lee et al. 2010
	Srs2	Binding	PIP-like SIM	PCNA deubiquitylation Inhibition of recombination	Papouli et al. 2005 Pfänder et al. 2005
	PARI	Binding	PIP SIM	Inhibition of recombination	Moldovan et al. 2012
	scElg1	Binding	PIP-like SIM	Genome maintenance	Parnas et al. 2010
	scRad18	Binding	SIM	PCNA ubiquitylation	Parker and Ulrich 2012
	Eco1	Dissociation (?)	PIP-like	Cohesion establishment	Moldovan et al. 2006

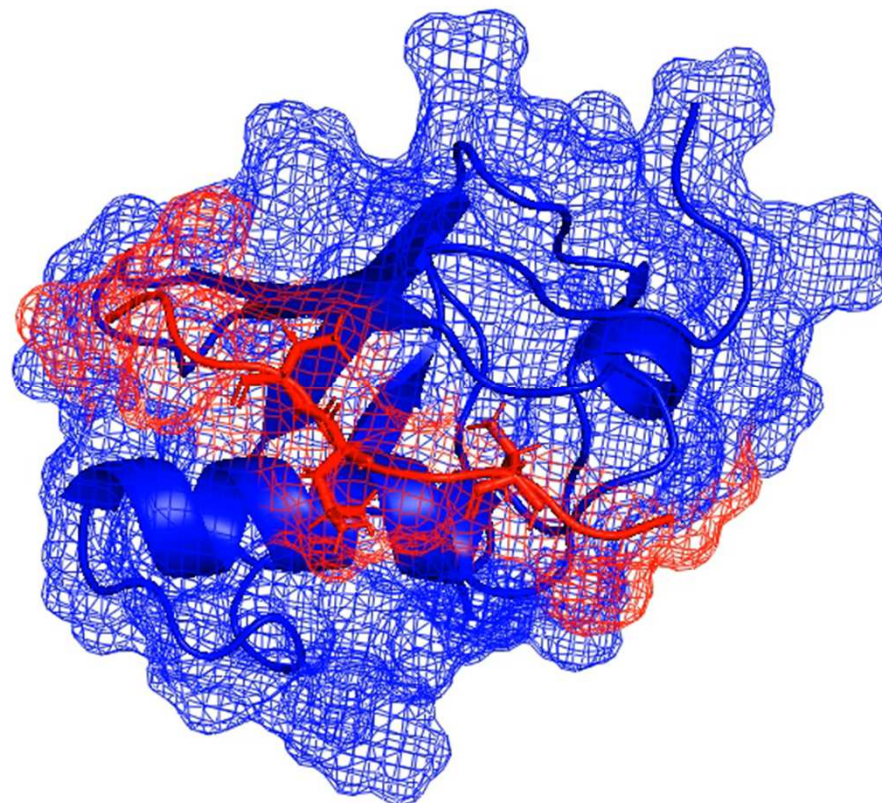
Ubiquitylation effects:

- Lys 164: Recruitment → TLS polymerase → Translesion synthesis
- Lys 127: Repulsion → PCNA
- Srs2: Inhibition of recombination
- Eco1: Inhibition of cohesion establishment

# SUMO – SIM

(krátký SIM motiv: [P/I/L/V/M/F/Y]-[I/L/V/M]-[D]-[L]-[T])

[www.BANDICAM.com](http://www.BANDICAM.com)

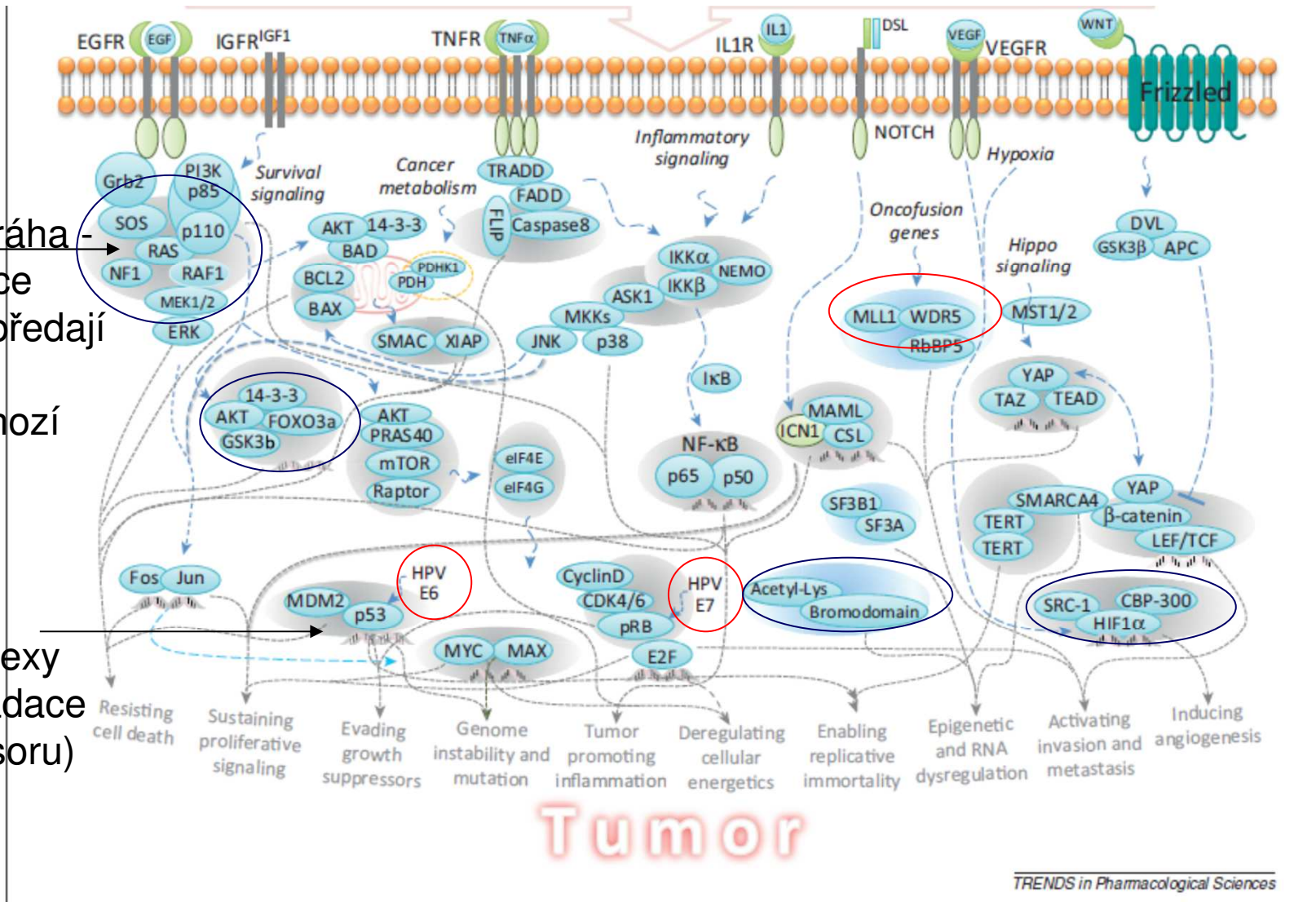


SUMO navázaná na SIM – PDB: 2MP2

některé viry využívají buněčné PPI moduly k invazi do buněk (**přesměrování** ve prospěch viru – vazba HPV-E6 na p53)  
 některé onkogeny jsou výsledkem **fúze** modulů (permanentní PPI)

Ras dráha -  
 aktivace  
 - PPI předají  
 (viz předchozí slide)

Komplexy (degradace supresoru)



**Figure 2.** Representative PPIs in oncogenic signaling networks that drive the acquisition and development of hallmarks of cancer. Grey broken arrows connect PPIs to corresponding cancer hallmarks. Some PPIs contribute to multiple features of cancer. It should be noted that some PPIs may impact global processes of cell growth and their precise connections to cancer remain to be established.



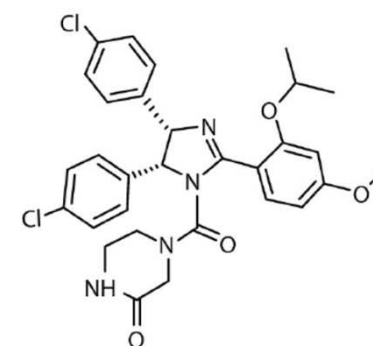
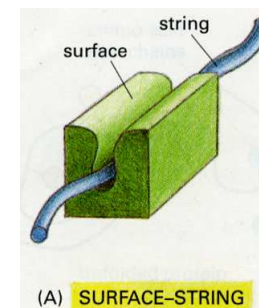
# Inhibice PPI

Problémy inhibice (vývoje léků) ...

- interakční plocha 500-10000Å<sup>2</sup> (větší než kapsy enzymů pro malé ligandy)
- ploché bez hlubokých kapes (ne jako pro ligandy)
- hydrofobní charakter PPI (nerozpustnost léku)
- omezeně lze vycházet z přirozených ligandů (jako u enzymů)

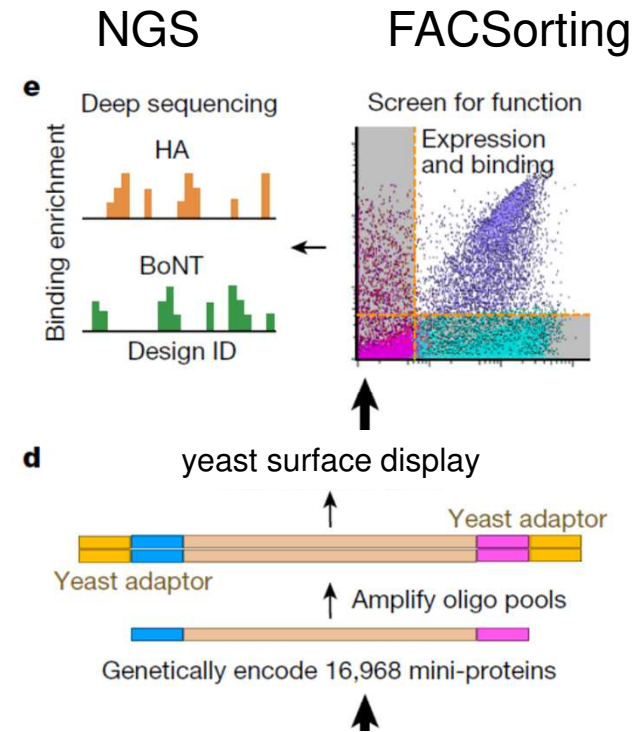
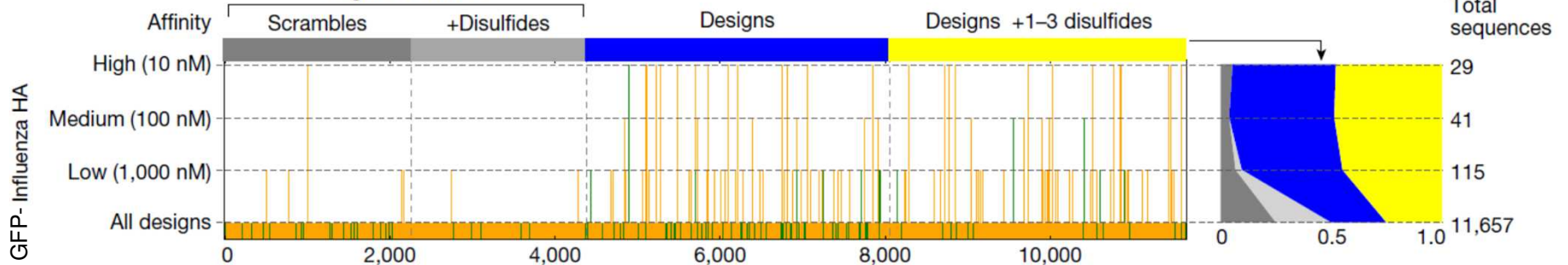
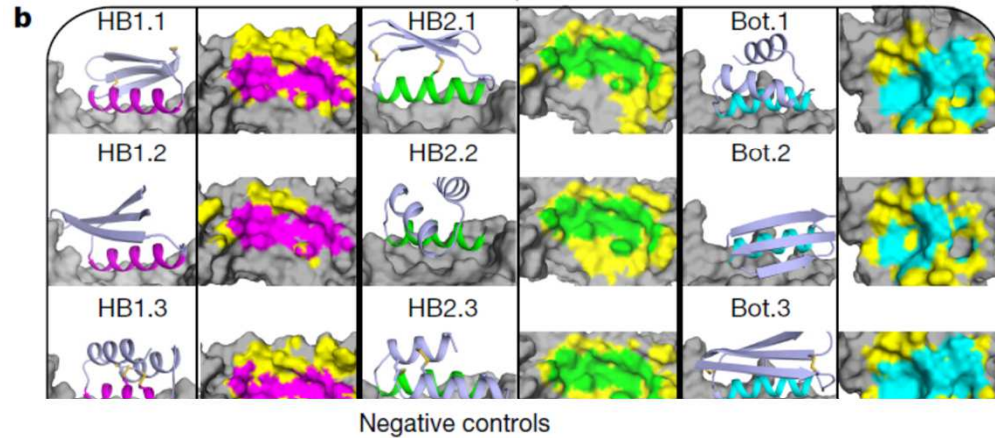
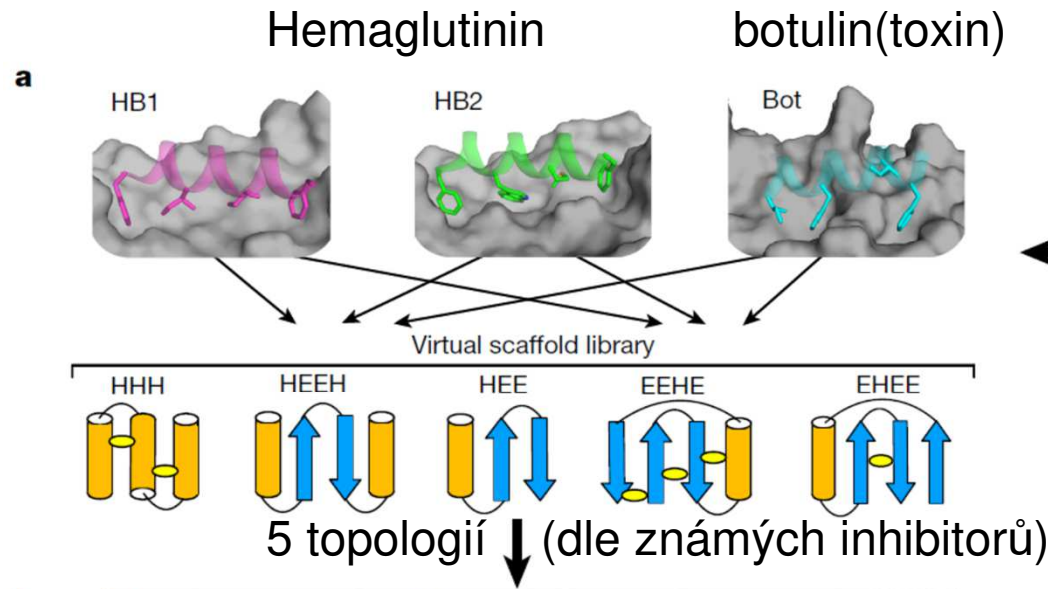
... ale

- interakce „peptid ve žlábků“ jsou relativně slabé
- lze inhibovat interakci i relativně malou molekulou (hot-spot)
- vhodné je cílení na interakce regulované post-translační modifikací (viz fosfopeptidy)
- proteiny nebo mimikování peptidů



Nutlin-3a

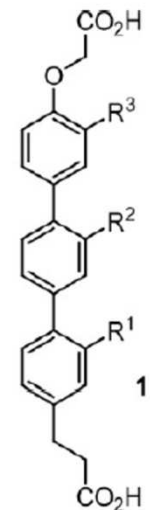
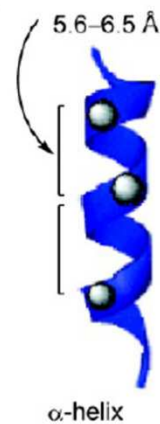
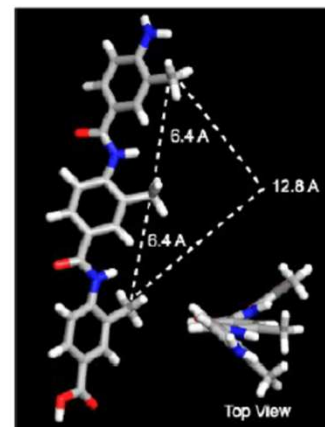
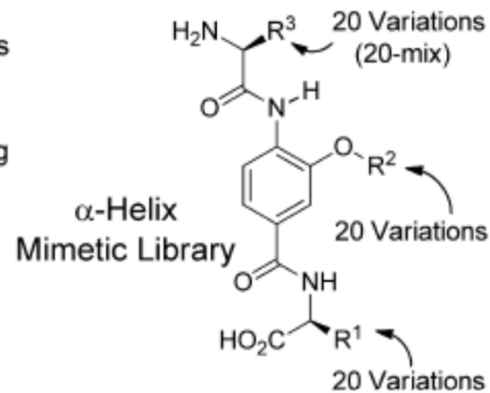
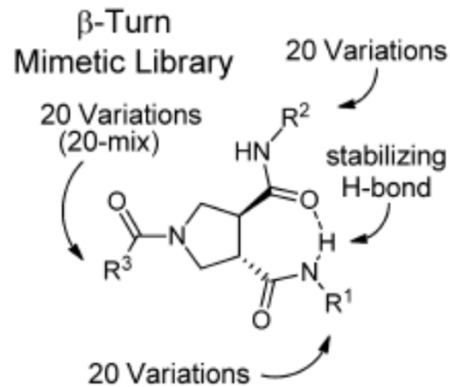
# Inhibice PPI - proteiny



40 AMK dlouhé (cca 200nt oligo) – lze syntetizovat peptidy (peptidy modifikovat)

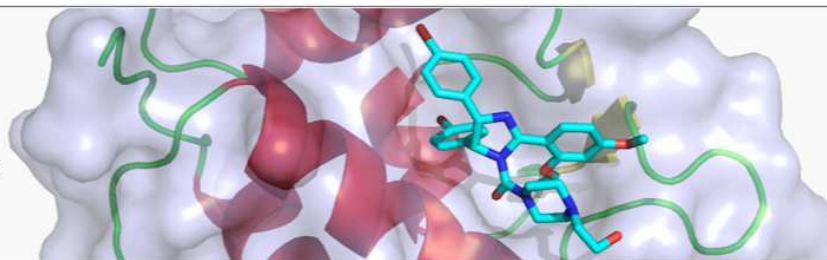
# Inhibice PPI – mimikování peptidů

- mimikování peptidů:
  - sekundárních struktur  $\alpha$
  - sekundárních struktur  $\beta$



# iPPI-DB

Inhibitors of Protein-Protein Interaction Database

[Home](#)[Submit a query ▾](#)[User guide](#)[About iPPI-DB](#)[Roadmap](#)[Contribute to iPPI-DB](#)[Acknowledgments](#)[CDithem](#)

## iPPI-DB

iPPI-DB contains [1650 non-peptide inhibitors](#) (iPPI) across [13 families of Protein-Protein Interactions](#). The chemical structures, the [physicochemical](#) and the [pharmacological profiles](#) of these iPPI are [manually extracted](#) from the literature and stored in iPPI-DB.

[+ Learn more !](#)

## Choose how to query iPPI-DB

### ► [By pharmacological criteria](#)

Query iPPI-DB [one PPI target](#) at a time and [optionally](#) refine your search by choosing some specific pharmacological features, physicochemical characteristics for the compounds or extract only drug candidates.

[→ Submit a query now !](#)

### ► [By chemical similarity](#)

Sketch your molecule or copy/paste it as a SMILES, choose

Labbe et al., NAR, 2015

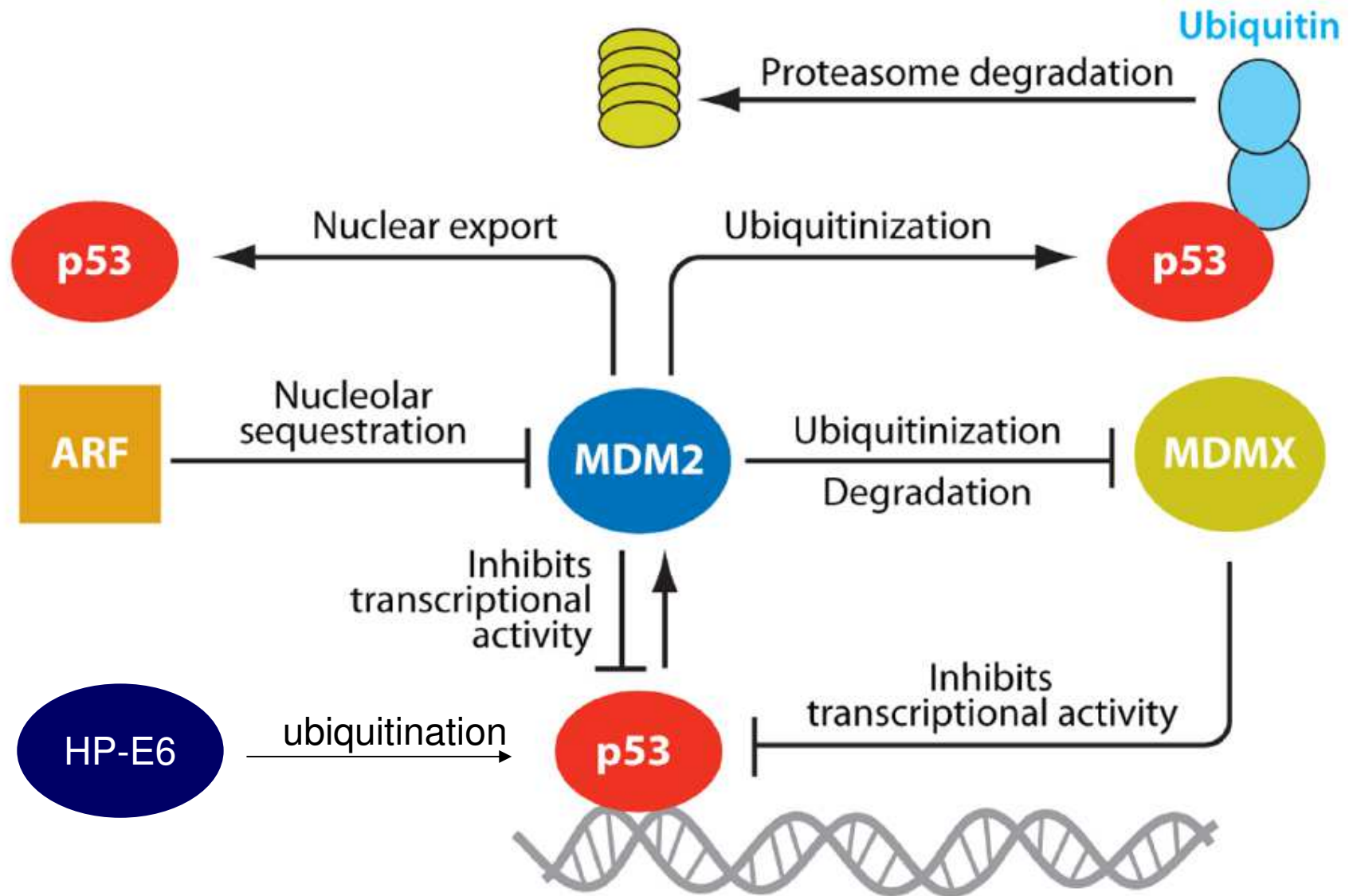
Acknowledgments

Showing 1 to 47 of 47 entries

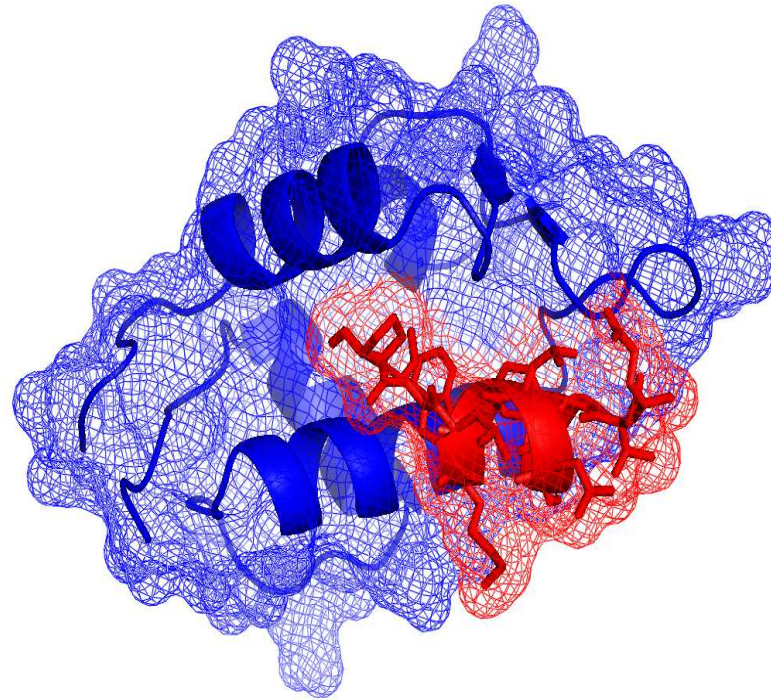
← Previous 1 Next →

Tn	ID	Compound	RadarChart	Target	Assay	Type	Activity	MW	ALogP	HBD	HBA	TPSA	RB	Ar	Fsp3	R/S	LE	LLE	Biblio
0.34	682			MDM2 Q00987	FP	pKi	6.52	459.15	4.45	2	5	61.44	4	2	0.42	4	0.29	2.07	[57]
0.34	682			MDM2 Q00987	proliferation assay*	pIC50	5.68	459.15	4.45	2	5	61.44	4	2	0.42	4	0.25	1.23	[57]
0.34	682			MDM2 Q00987	proliferation assay*	pIC50	4.77	459.15	4.45	2	5	61.44	4	2	0.42	4	0.21	0.32	[57]

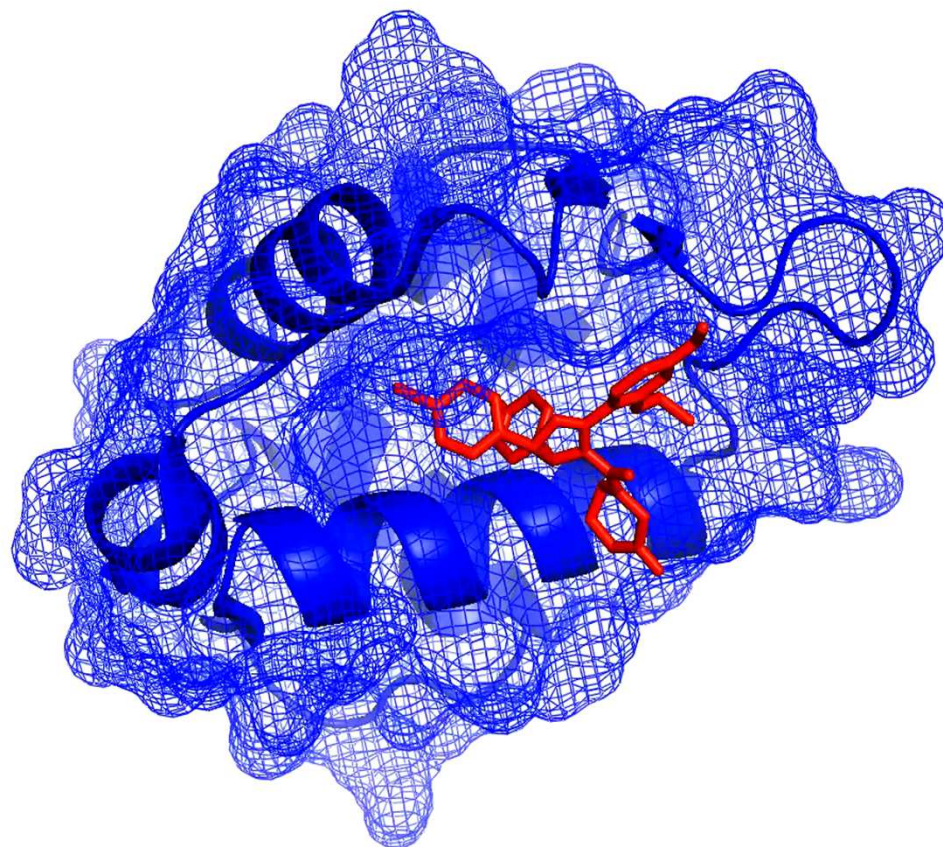
# Inhibite PPI: p53-MDM2



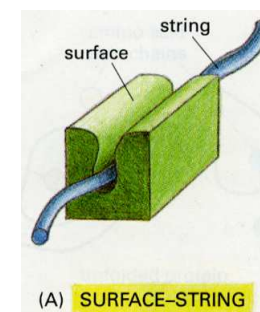
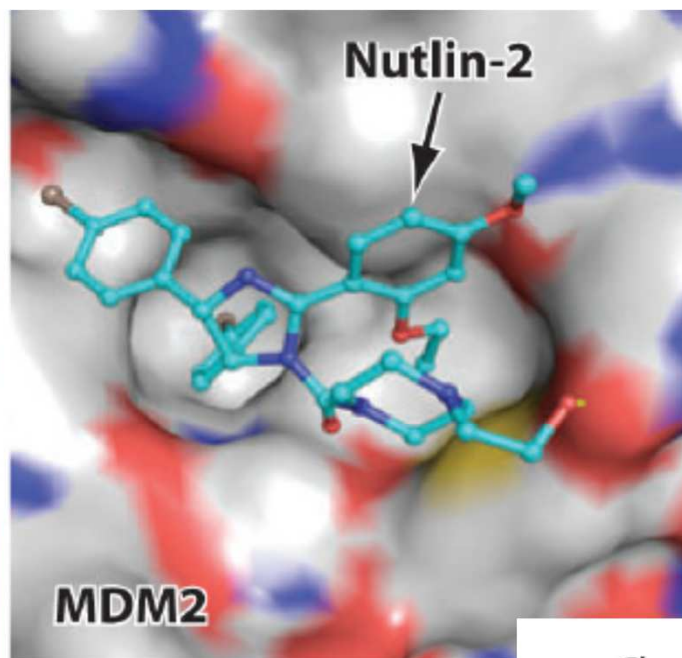
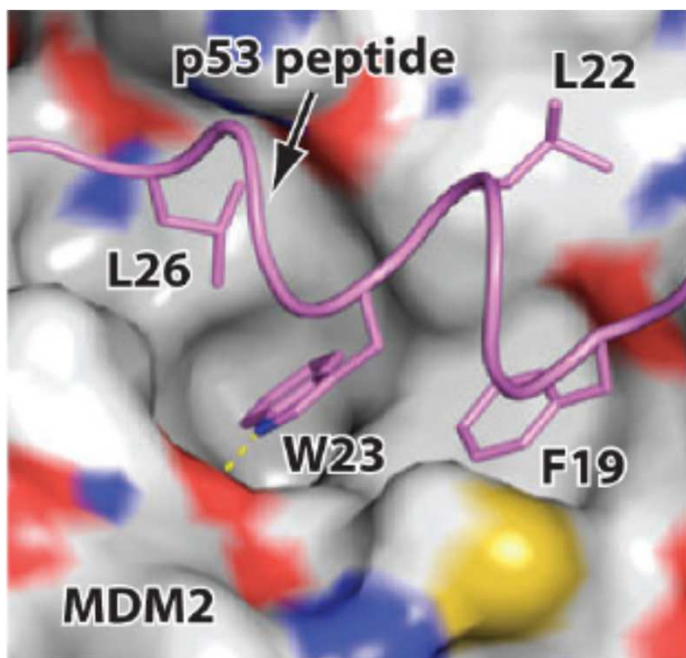
# MDM2-p53 (dimer, PDB: 1YCQ)



# MDM2-nutlin (PDB: 4HG7)

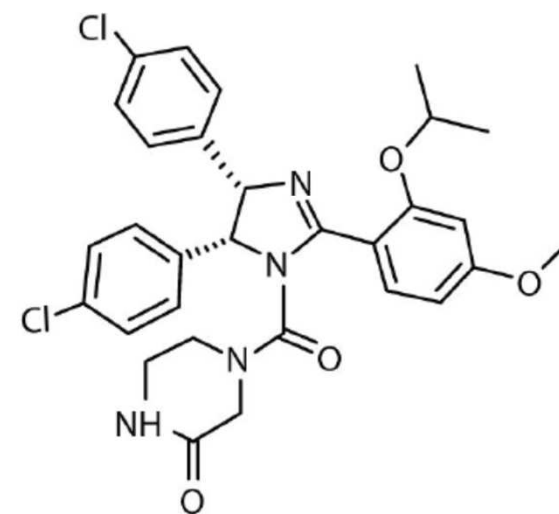


# Inhibice PPI: p53-MDM2



jeden z prvních

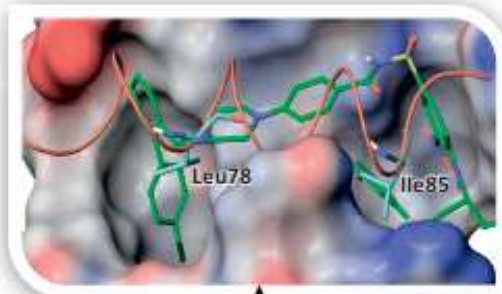
- Inhibice interakce MDM2 stabilizuje p53 –  
podpora nádorové suprese



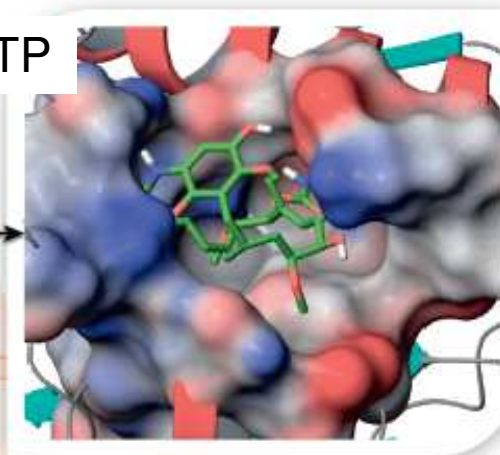
**Nutlin-3a**



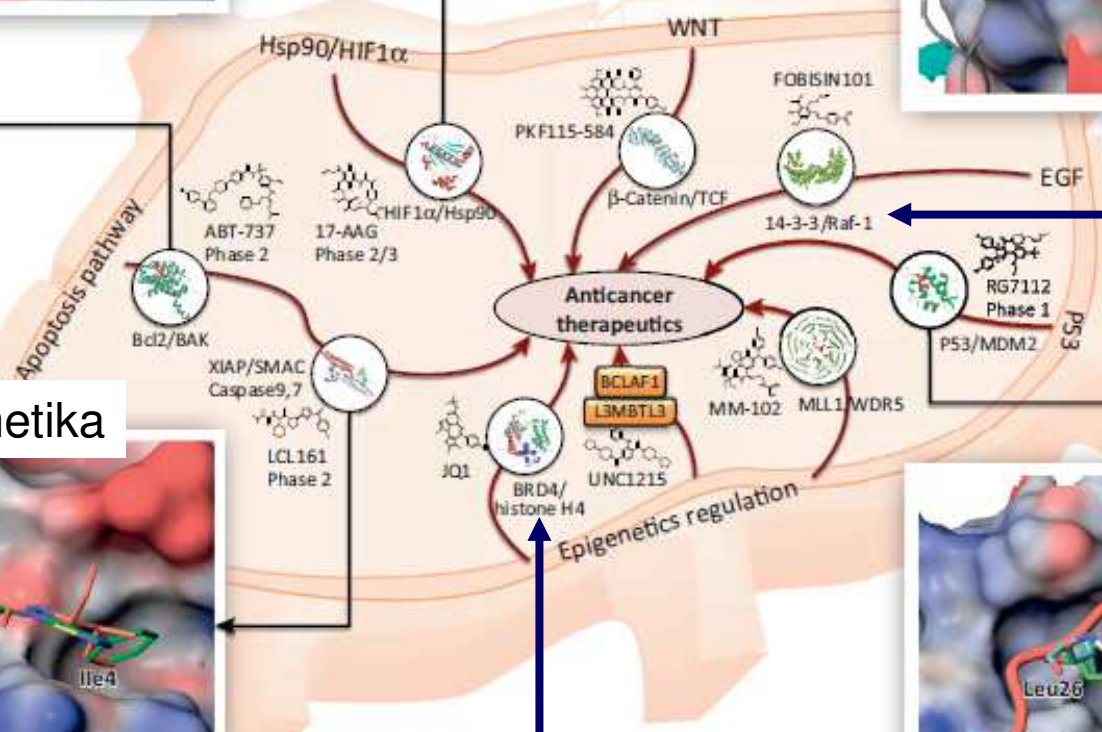
peptidomimetika



kapsa pro ATP

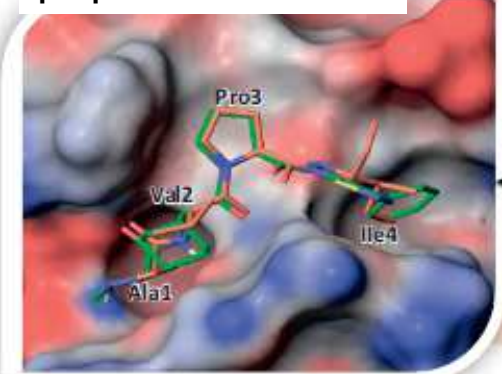


Ivanov et al, TIPS, 2013

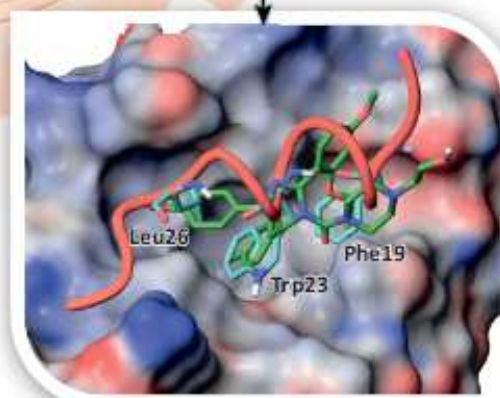


fosfopeptidová vazba

peptidomimetika



acetyl-peptidová vazba



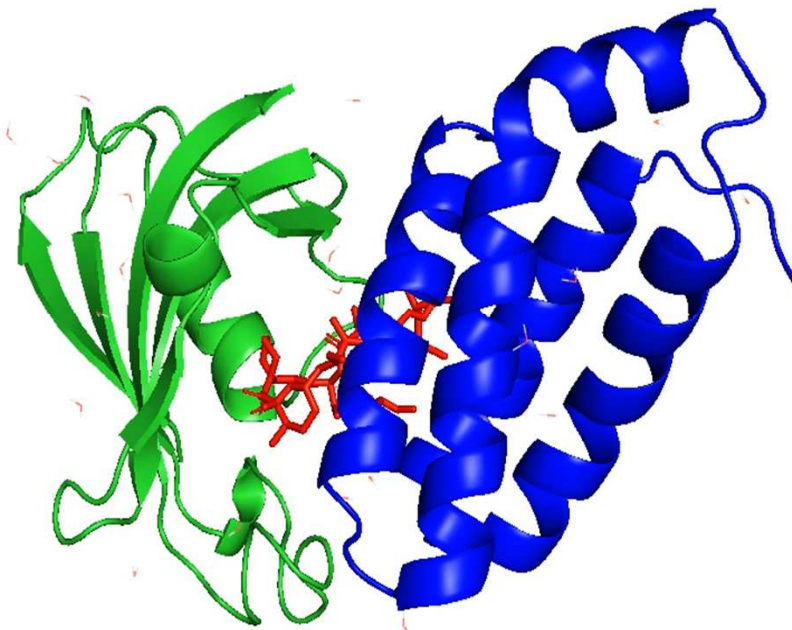
nová peptidomimetika

větší komplexy jsou stabilizovány více interakcemi, ale může se rozpadnout/zablokovat i celý komplex – např. otázka skládání komplexu

# Zpevnění PPI: molekulární lepidla

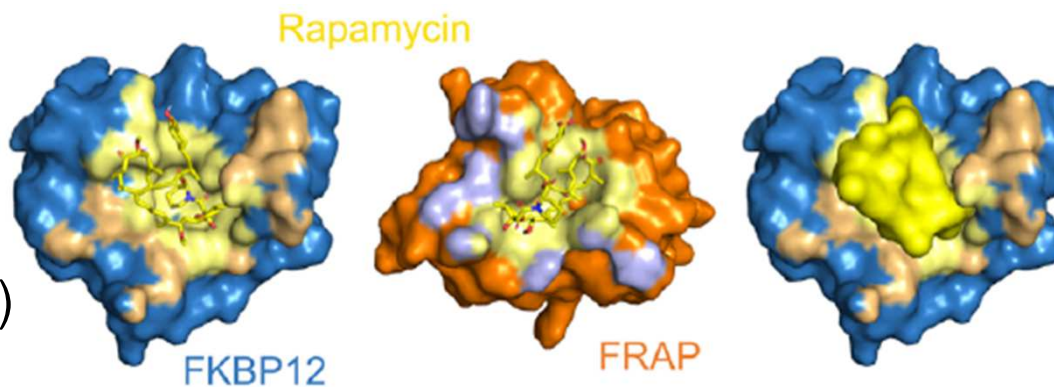
www.BANDICAM.com

PDB: 1FAP

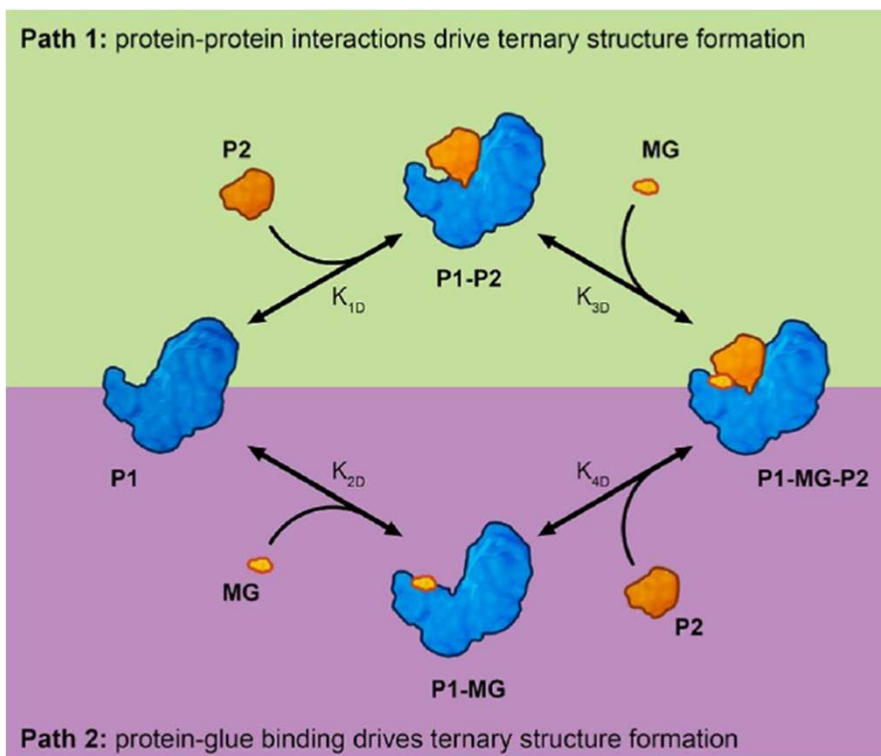


FKBP12-FRAP-Rapamycin (KD = 12 nM)

Konkávní povrchy  
nezapadají – Rapamycin je  
„vyplní“ (především FKBP12)  
= spojí partnery k sobě

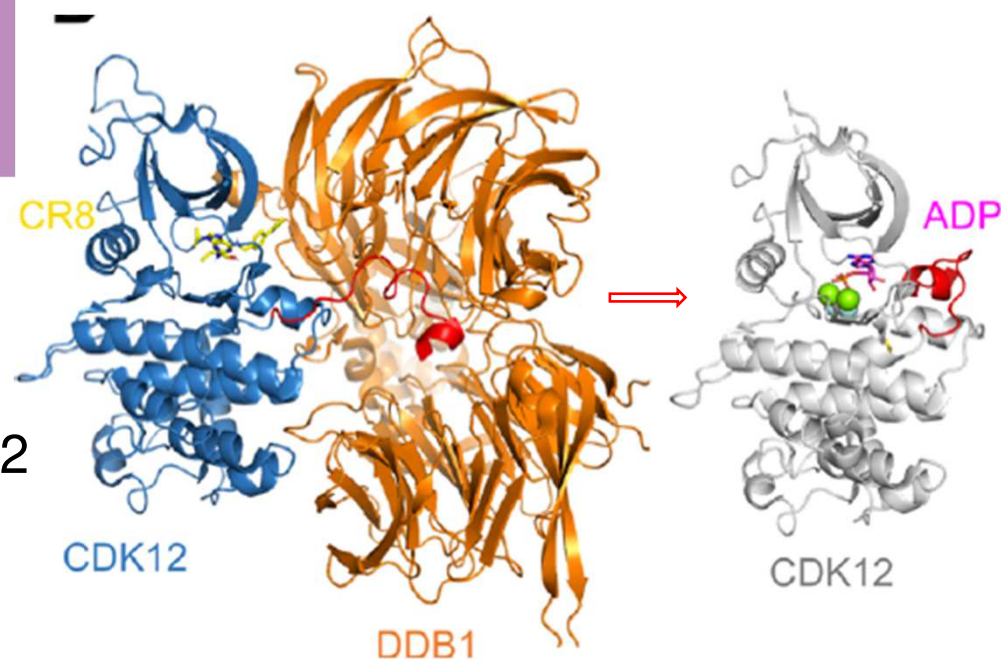


# Změna konformace: molekulární lepidla

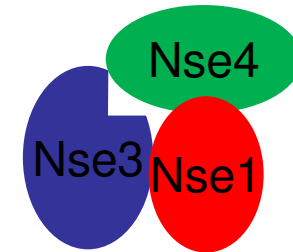


1. ligand posiluje PPI dvou proteinů
2. ligand dotváří povrch proteinu 1, až poté se váže protein 2

add2. ligand může změnit povrch proteinu 1, až poté se váže protein 2



... **Stabilita** komplexu je zpravidla větší než pouhý součet jednotlivých protein-proteinových interakcí mezi podjednotkami (větší povrch, efekt přiblížení a zorientování partnera ...)



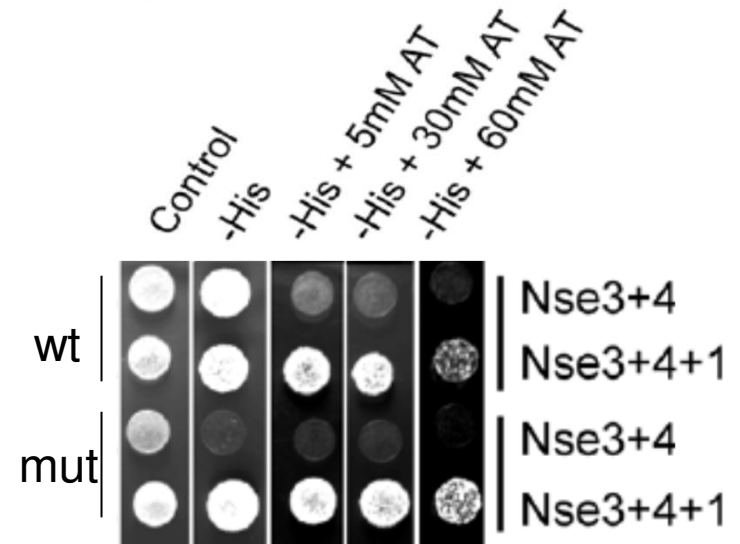
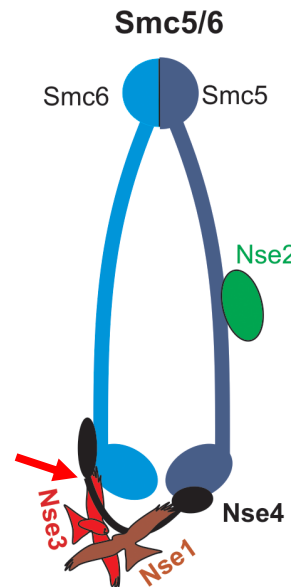
Proteinový komplex

### Pull-down



### Kvasinkový 3Y2H (2-hybridní systém)

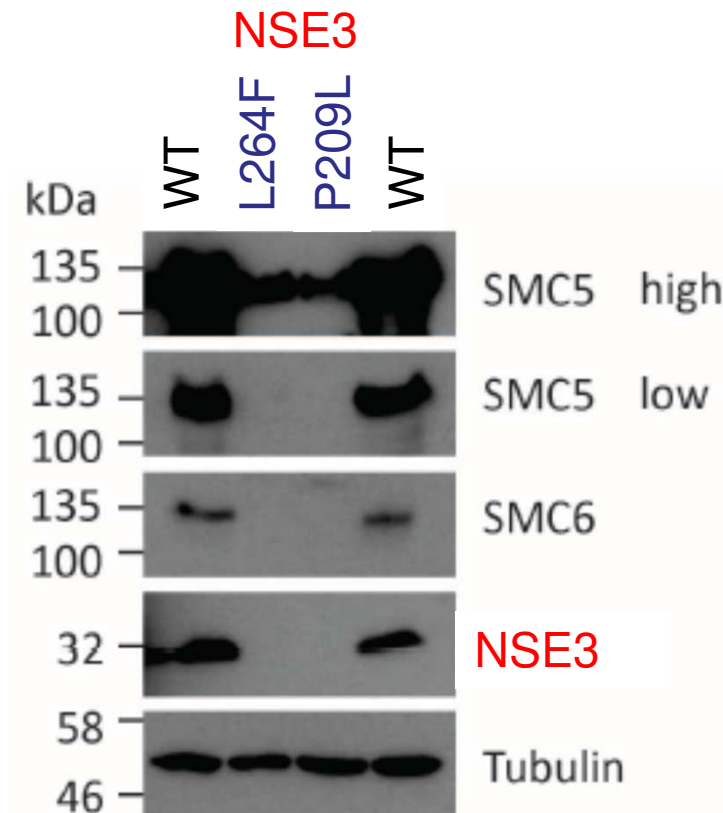
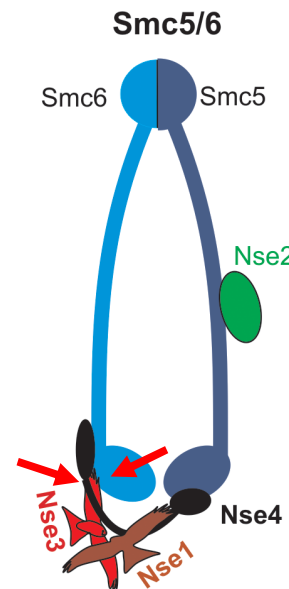
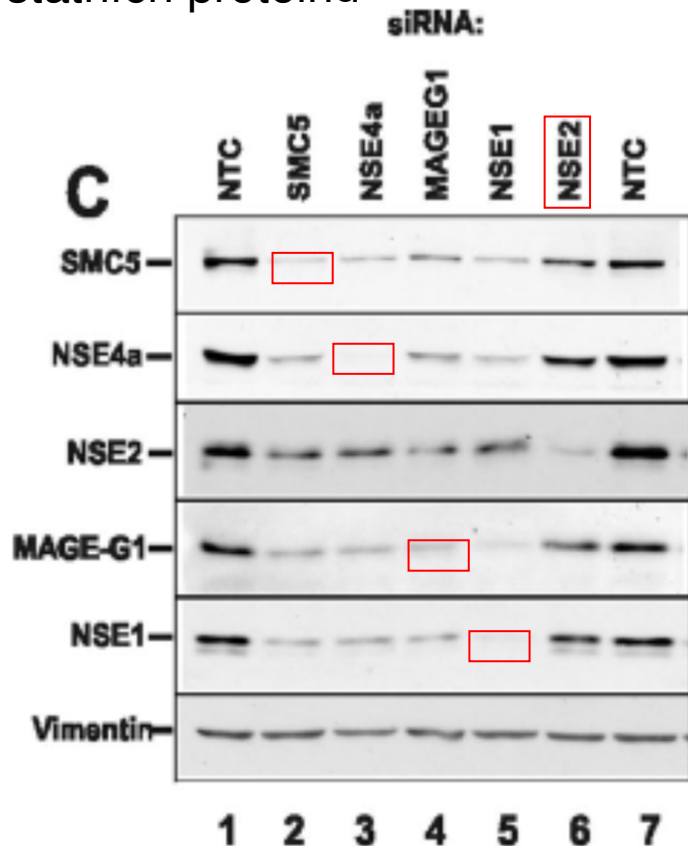
... přerušení protein-proteinové interakce je relativně snadné u slabých dimerů – větší komplexy jsou většinou stabilizovány více interakcemi a je tedy obtížnější je narušit (mutací či inhibítorem) ... pořadí sestavování!



pokud schází podjednotka (ve stabilním komplexu), tak nefunguje celý komplex – komplex se nesestaví nebo rozpadá (nestabilní – degradace ...)

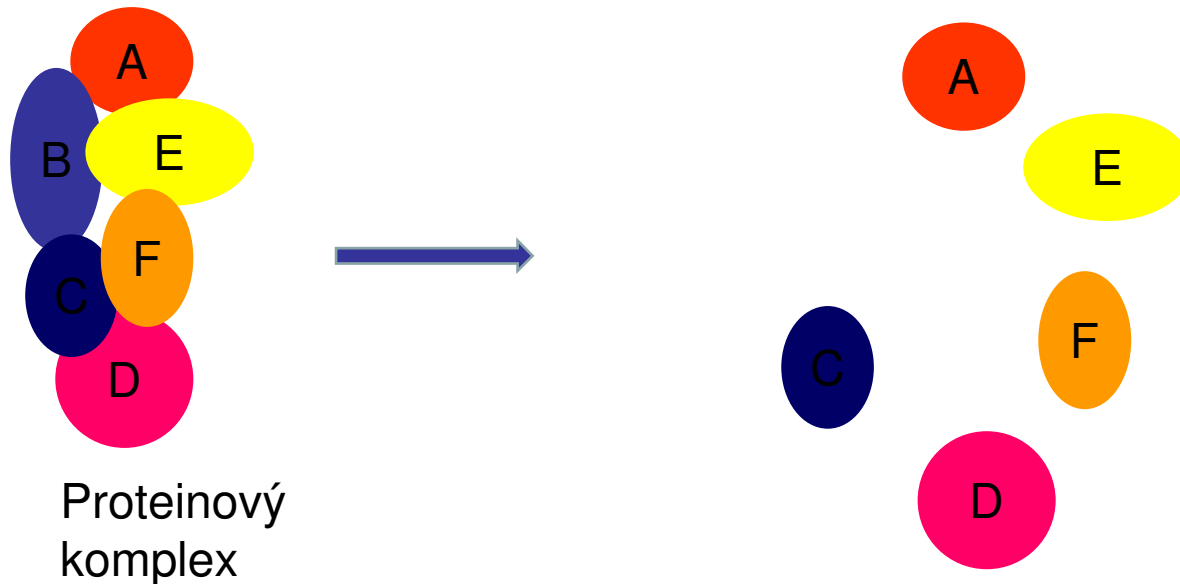
Deplece kterékoli podjednotky lidského komplexu má za následek pokles hladiny ostatních proteinů

mutace podjednotky držící pohromadě komplex (narušila Nse3-Nse4) může mít podobný efekt ale ...



# Mutanty – funkční příbuznost

Genetické analýzy naznačují, že poškození jedné podjednotky (delece genu) komplexu má za následek celý nefunkční proteinový komplex (nesestaví se nebo se rozpadá)



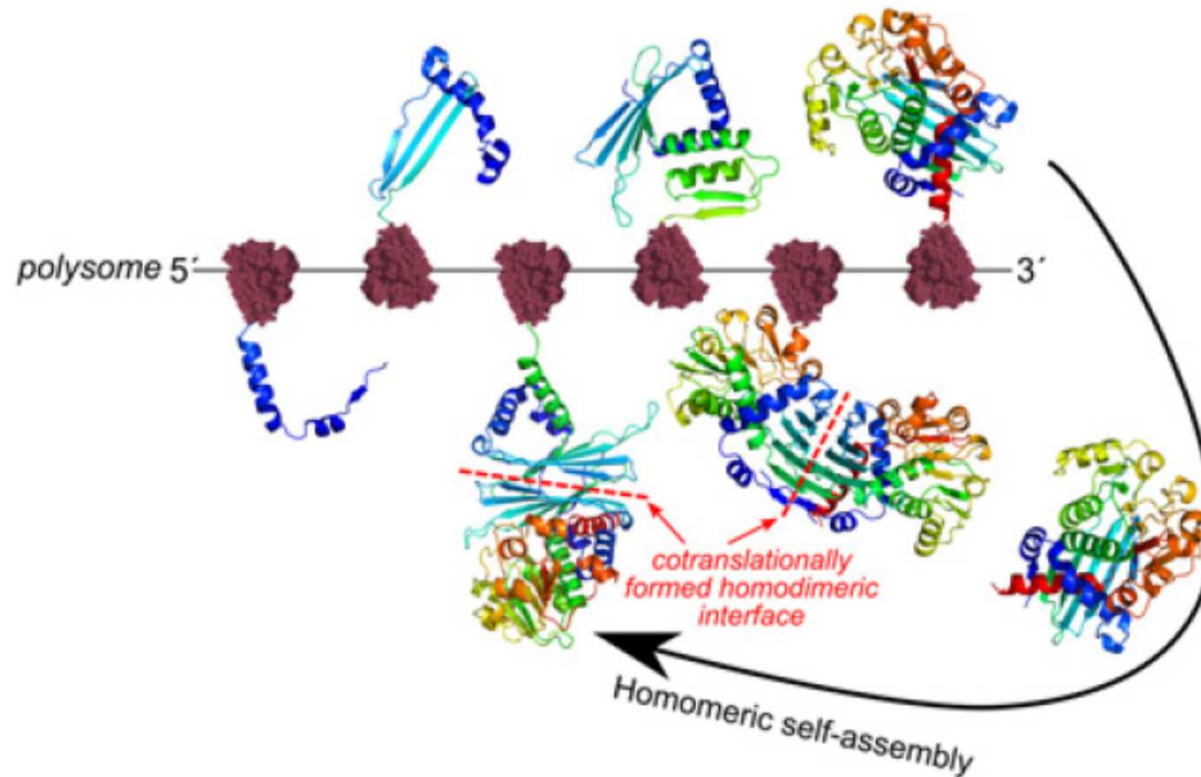
Delece jakékoli podjednotky má stejný efekt – i delece dvou podjednotek má stejný efekt (nesčítá se)

Tendence sestavování komplexů „společně/najednou“ ...

# Jak se komplexy sestavují - homomery?

nejjednodušší (běžné) je sestavování homooligomerů (homodimerů), ke kterému může docházet při translaci

Wells a spol, BST, 2015



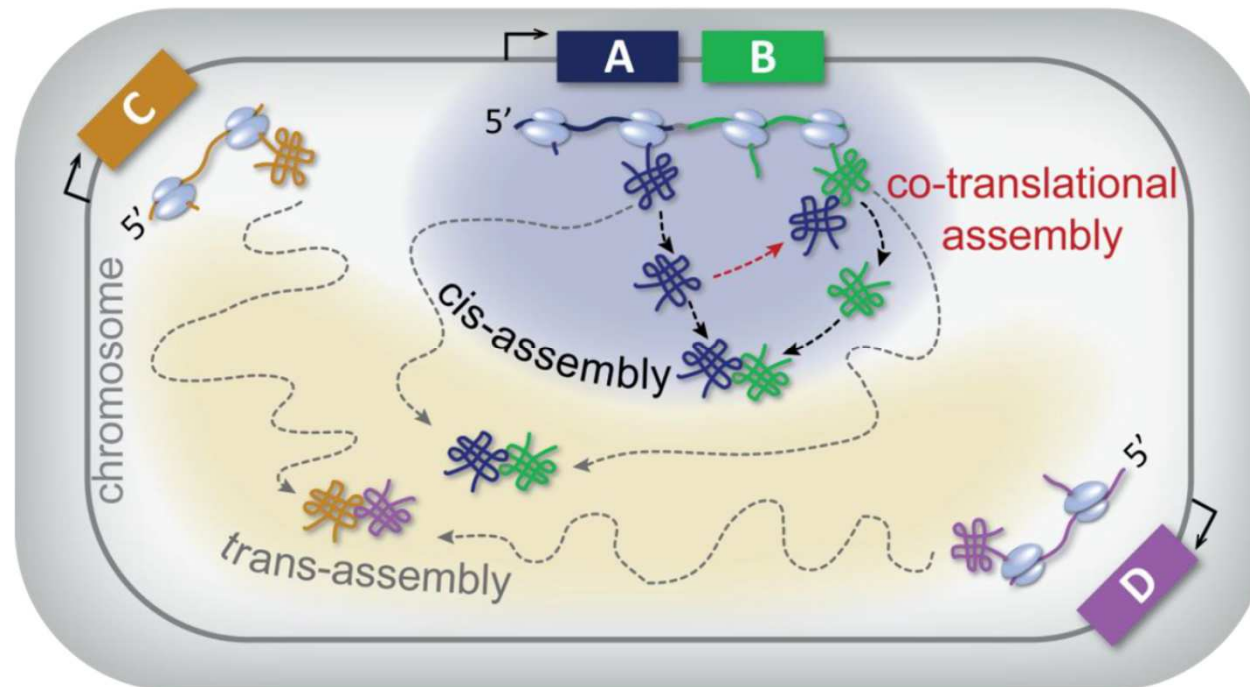
tento toxin je spíš vyjímka - skládání je iniciováno až na místě (indukce)



Polypeptidový řetězec (primární struktura) vznikající na ribosomu -> vytváří sekundární struktury -> terciární struktury -> kvarterní tj. komplexy již během syntézy

# Jak se komplexy sestavují - heteromery?

podjednotky se exprimují „nezávisle“ a pak se musí „potkat“ (trans-assembly model) – problém s nespecifickými interakcemi, proteasami, „chaotické“ prostředí buňky ...



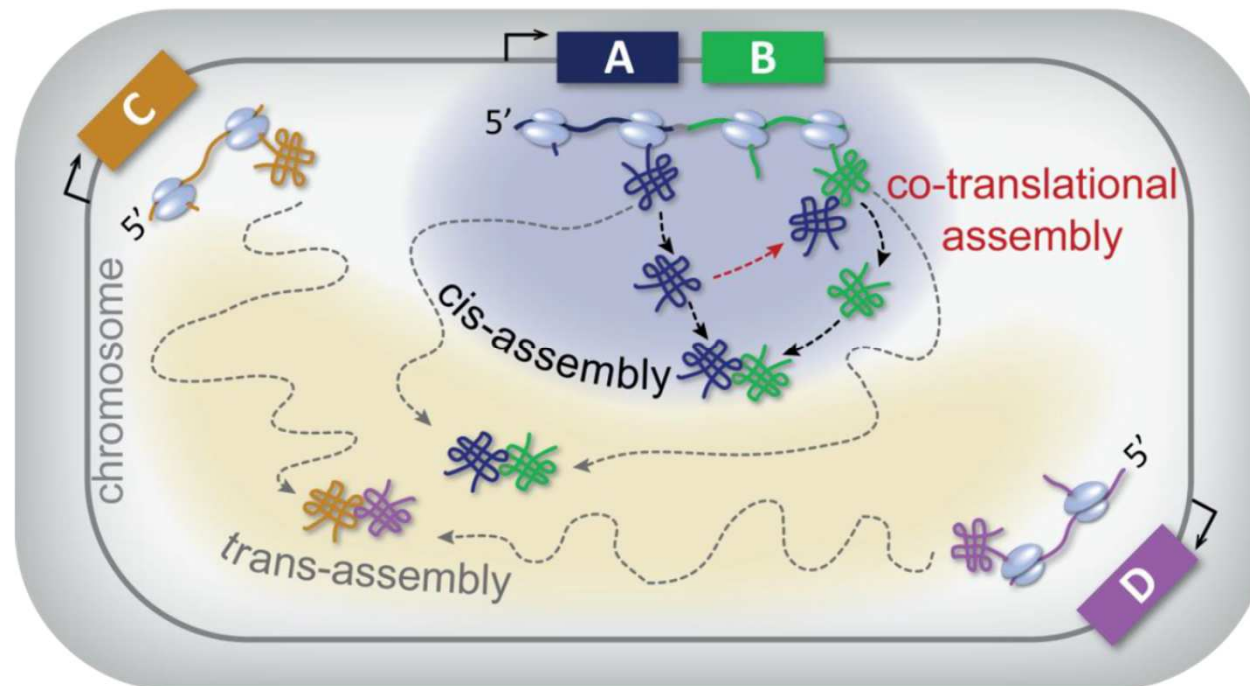
... samostatně by se proteiny neposkládaly, byly by nestabilní (degradace), toxické nebo by agregovaly (proteiny s hydrofobními povrchy – interakce je skryje před solventem)



# Jak se komplexy sestavují - heteromery?

podjednotky se exprimují „nezávisle“ a pak se musí „potkat“ - trans-assembly model ...

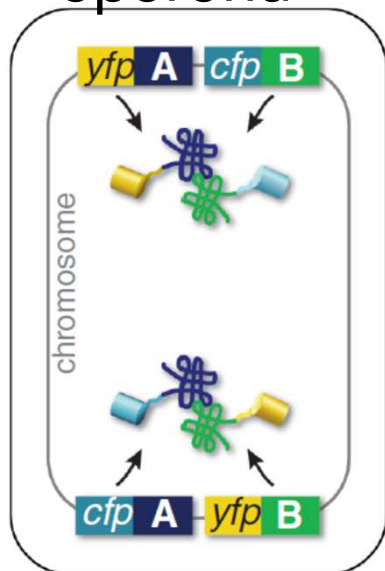
prokaryota



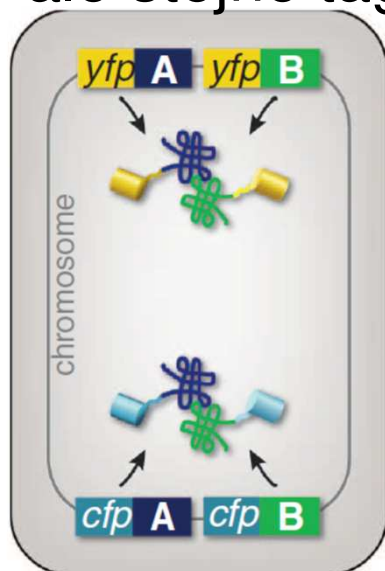
transkripce genů u prokaryot je regulována **operony**: funkčně vztažené geny/proteiny (komplexy) se transkribují z jednoho operonu (tandemově uspořádané) – polycistronic mRNA – ko-translace a ko-skládání (koordinované v prostoru i čase)

## heterodimer luxA-luxB (luminiscenční komplex)

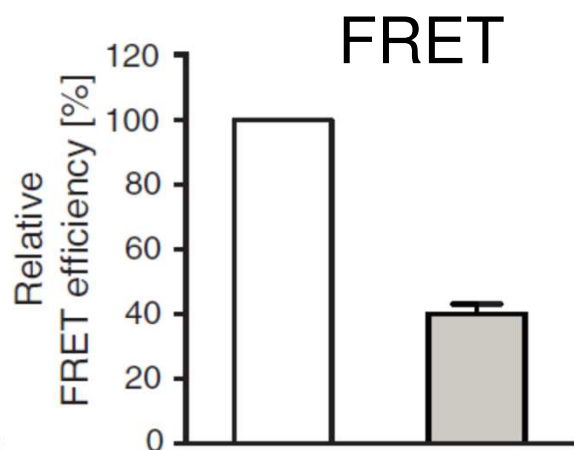
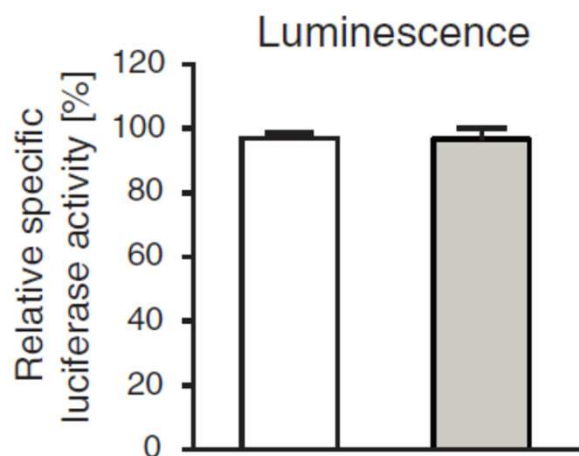
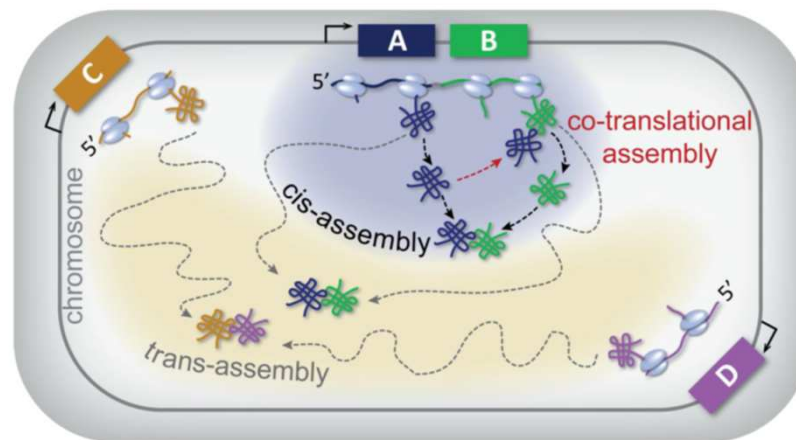
ze stejného operonu



ze stejného operonu,  
ale stejné tagy

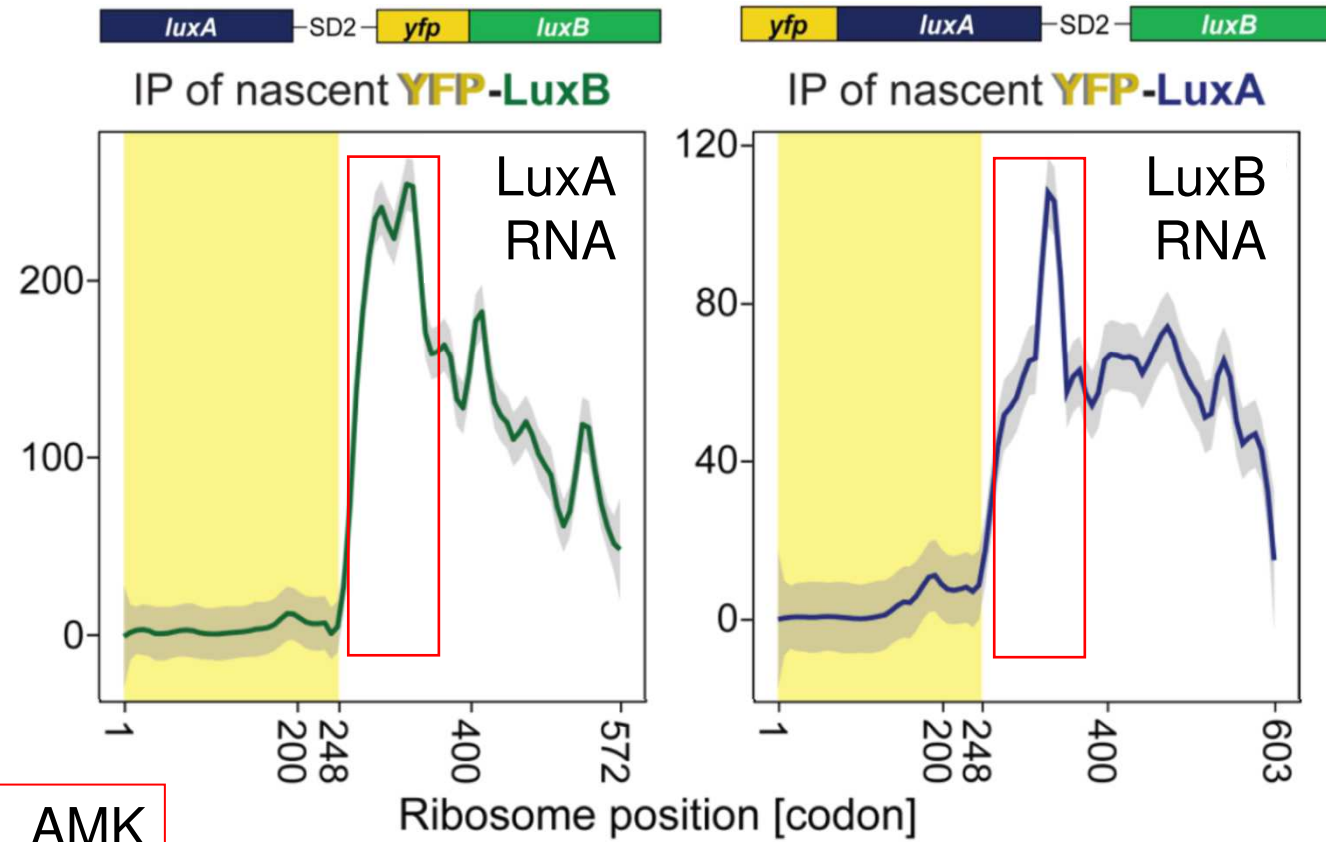
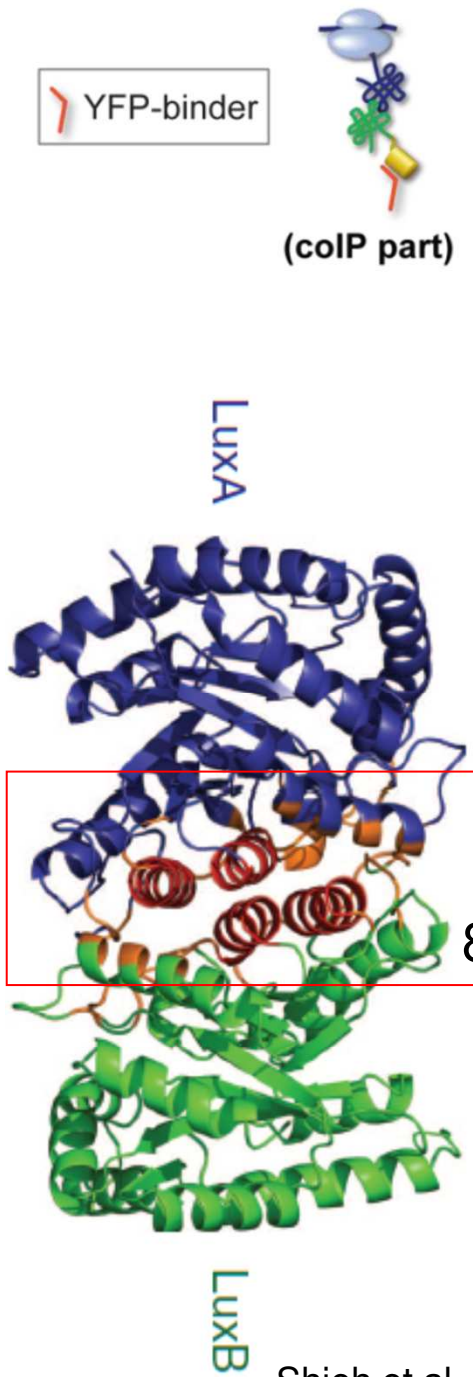


prokaryota



Shieh et al, Science, 2015

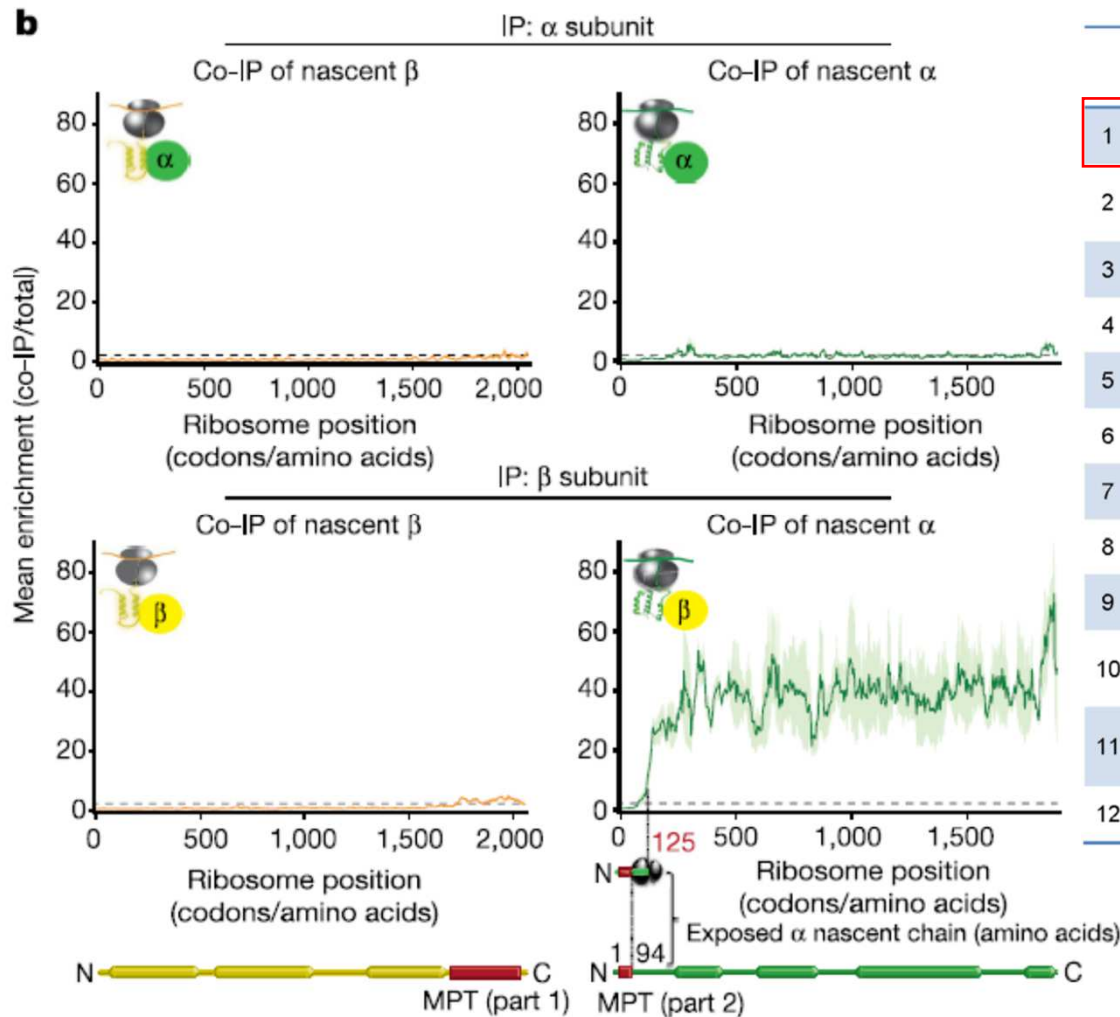
**koexprimujte (v bakteriích) své proteiny i s partnery z jedné RNA!**



+ 30AMK/90nt uvnitř ribosomu

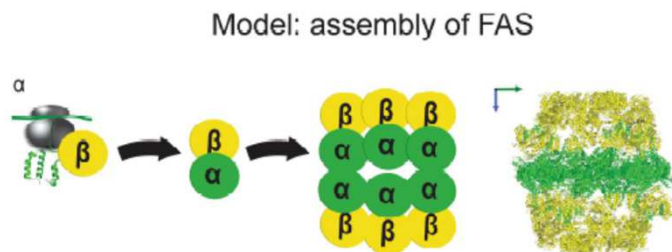
„ribosome profiling“ – imunoprecipitace jednoho proteinu „stahuje“ partnera i s jeho RNA – pokud interagují už v momentu translace, je zachycena i RNA - interakční povrch LuxA-LuxB koreluje s RNA profily

# Podjednotky komplexů jsou ko-translatovány (eukaryota)



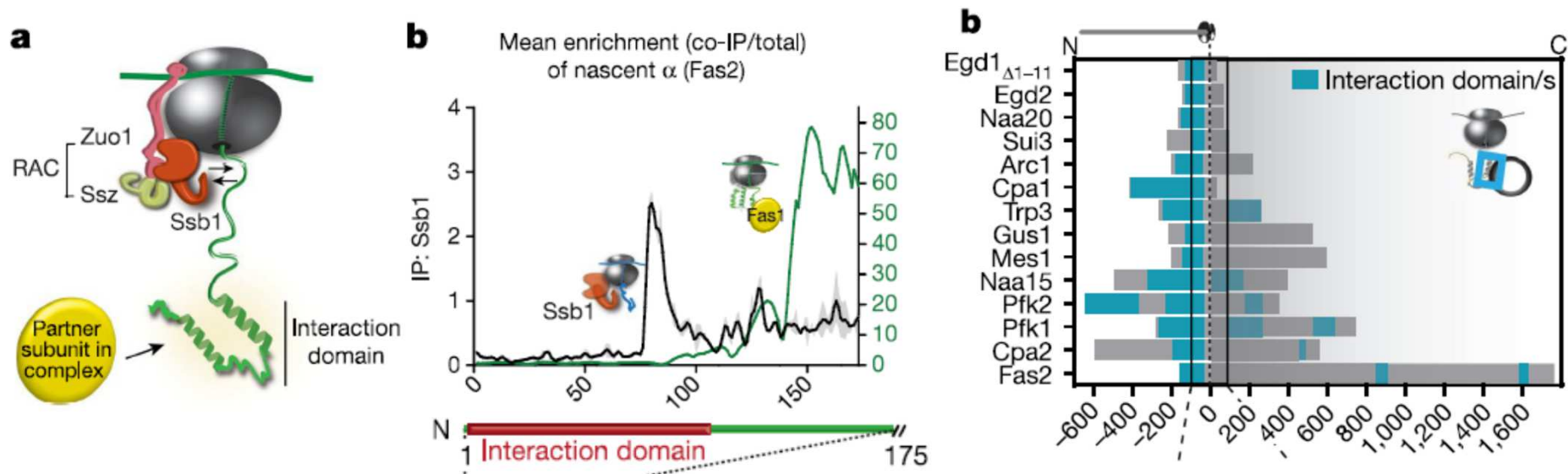
	Complex	Bait Subunit	Nascent Polypeptide engaged	Aggregation propensity in $\Delta ssb1/2$
1	Fatty Acid Synthase	$\beta$	$\alpha$	$\alpha, \beta$
2	Aminoacyl-tRNA Synthetase	GluRSp, Arc1p, MetRSp	GluRSp, Arc1p, MetRSp	GluRSp, Arc1p, MetRSp
3	N-acetyltransferase A	Naa10	Naa15	Naa10,15
4	N-acetyltransferase B	Naa25	Naa20	N.D
5	Anthranilate Synthase	Trp2p	Trp3p	Trp2p
6	Carbamoyl Phosphate synthetase A	Cpa2p	Cpa1p, Cpa2p	N.D
7	Phosphofructokinase	$\alpha, \beta$	$\alpha, \beta$	$\alpha, \beta$
8	Translation Initiation Factor eIF2	$\gamma$	$\beta$	$\gamma, \beta$
9	Nascent chain Associated Complex	$\alpha, \beta$	$\alpha, \beta$	N.D
10	Peripheral sub-complex; Vma1,2	N.D	N.D	Vma1,2
11	RiboNucleotide Reductase sub-complex RNR2,4	N.D	N.D	RNR2
12	20S proteasome; $\alpha 1,2$ subunits	N.D	N.D	$\alpha 1,2$

9 z 12 komplexů ko-translace (ostatní 3 - speciální chaperony)



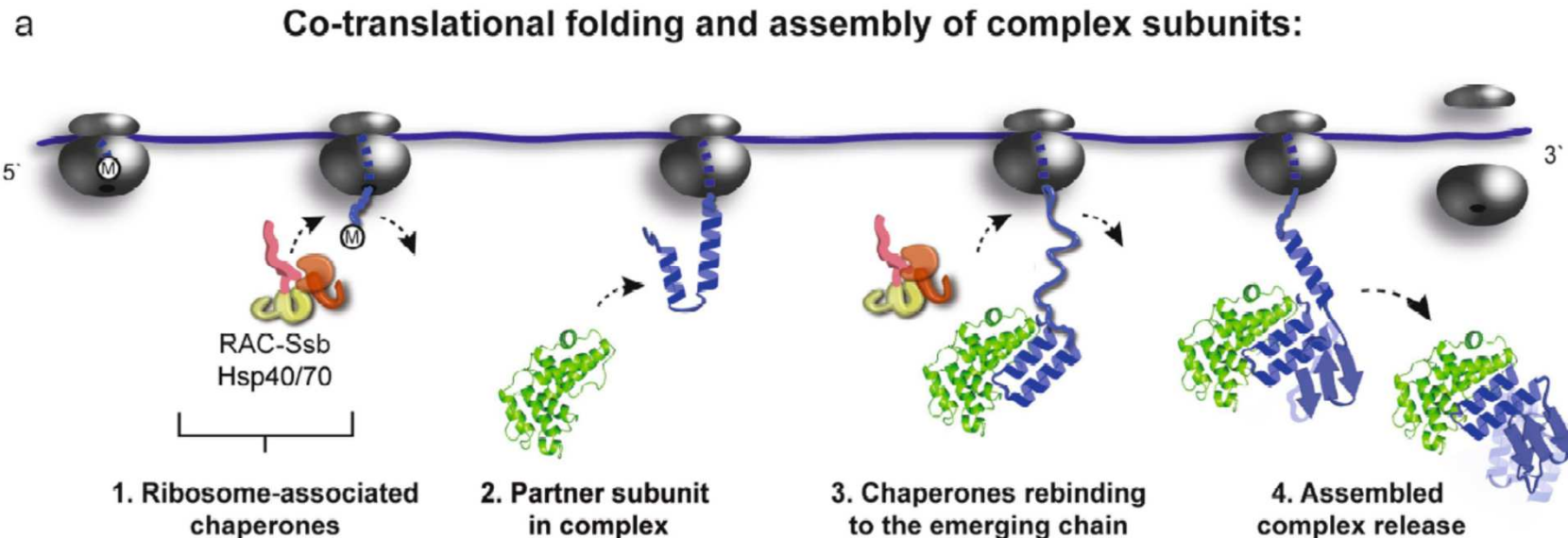
Precipitace (ko-translace) byla „jednosměrná“, tj. jedna podjednotka se vážala na RNA druhé (nikoli naopak) – první byla stabilní, zatímco druhá bez první agregovala (vazba na první zajistila její stabilitu)

Shiber et al, Nature, 2018



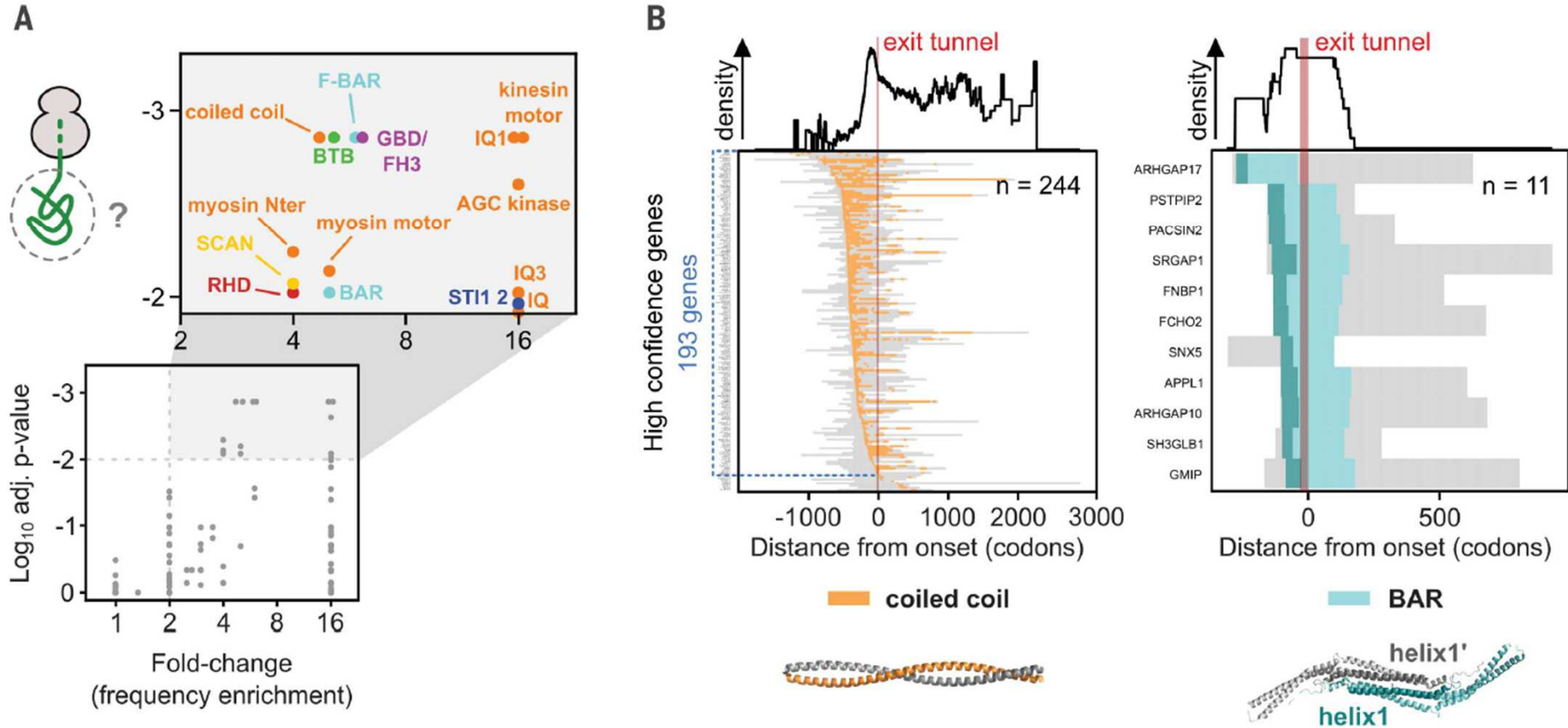
chaperon Hsp70/Ssb1 asociovaný s ribozomem – zajišťuje folding domény (hydrofobní části) a poté se uvolní – pak se váže partner

*?nejsou na stejné RNA – mechanismus není znám?*



Mayr, Nature, 2018  
Shiber et al, Nature, 2018

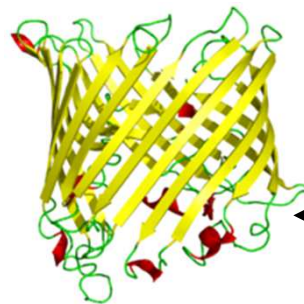
# ko-translace a ko-assembly u eukaryot



nejčastěji ko-skládané komplexy dimerizovaly přes **coiled-coil** domény

## Proč skládat komplexy z menších podjednotek?

- skládání funkčního komplexu na specifickém místě (toxin je transportován jako rozpustný monomer a poté se skládá => stává se toxickým až mimo původní buňku)
- skládání i rozpad komplexů jsou snadněji kontrolovatelné, reversibilní (protože podjednotky asociují skrze množství relativně slabých interakcí - nízká energie)
- velký komplex (homo-oligomer) může být kódován relativně krátkou genetickou informací (skládá se menší protein – větší je méně stabilní a hůře se skládá)
- menší pravděpodobnost defektní makromolekuly (menší gen => méně mutací + dá se relativně snadno vyhnout chybám – odstraní/degraduje se pouze jedna poškozená menší podjednotka => méně energie než pro nápravu celé struktury)
- komplexy mohou být dynamičtější (flexibilnější)
- evoluční výhoda **modulů** (nový komplex vzniká záměnou podjednotek)



bakteriální toxin →

← porin v mitochondrii



## Scaffold proteiny

Mnoho proteinů obsahuje pouze interakční domény a mají jediný úkol: nukleace multiproteinových komplexů – **scaffold** (lešení) – komplexy pak mohou být i **modulární** – např. SCF (Skp-cullin-Fbox) různé cullin nebo Fbox (adaptor) molekuly (přednáška Dr. Kolesár)

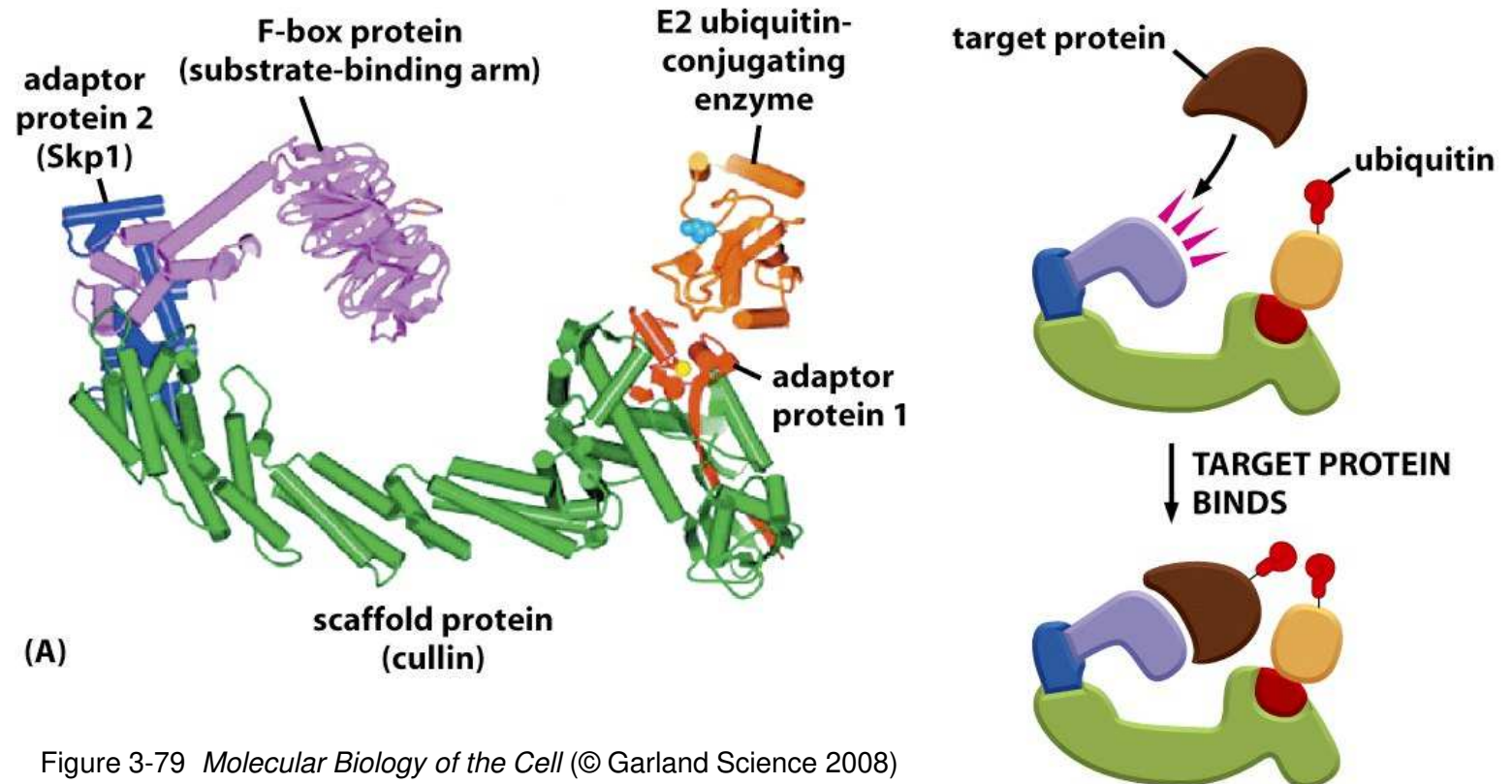
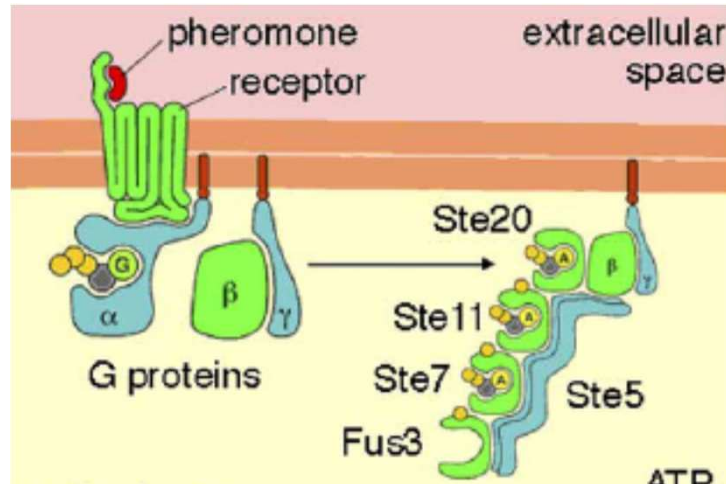
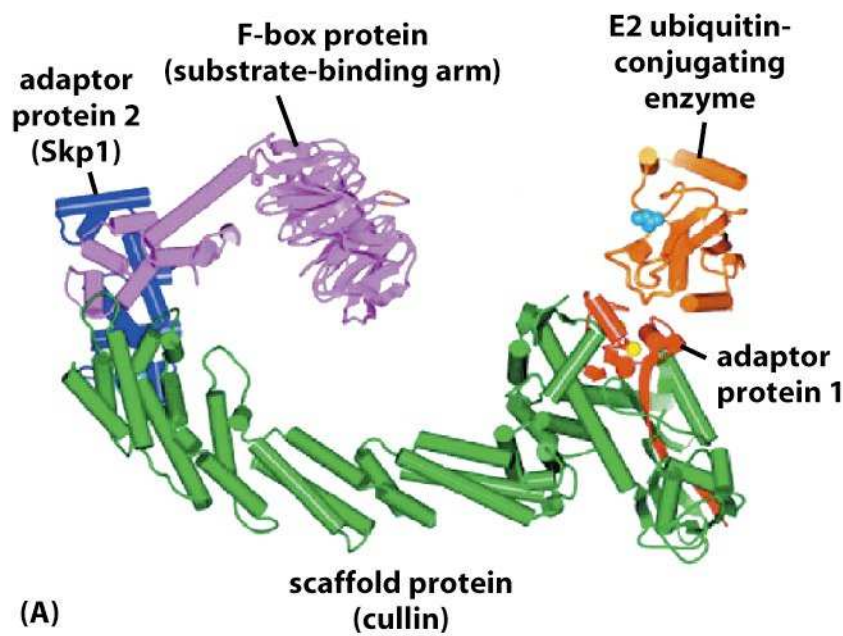


Figure 3-79 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)





(A)

SCF (Skp-cullin-Fbox) je **modulární**  
 – např. různé cullin (scaffold) nebo Fbox (adaptor) molekuly

- různé komplexy rozeznávají různé substráty (ubikvitinace)
- delece jednoho F-box proteinu/genu eliminuje pouze subset substrátů
- delece jednoho cullin proteinu/genu eliminuje větší spektrum substrátů
- delece jednoho RBX (RING-finger) proteinu/genu eliminuje většinu substrátů (je i více RBX podjednotek)

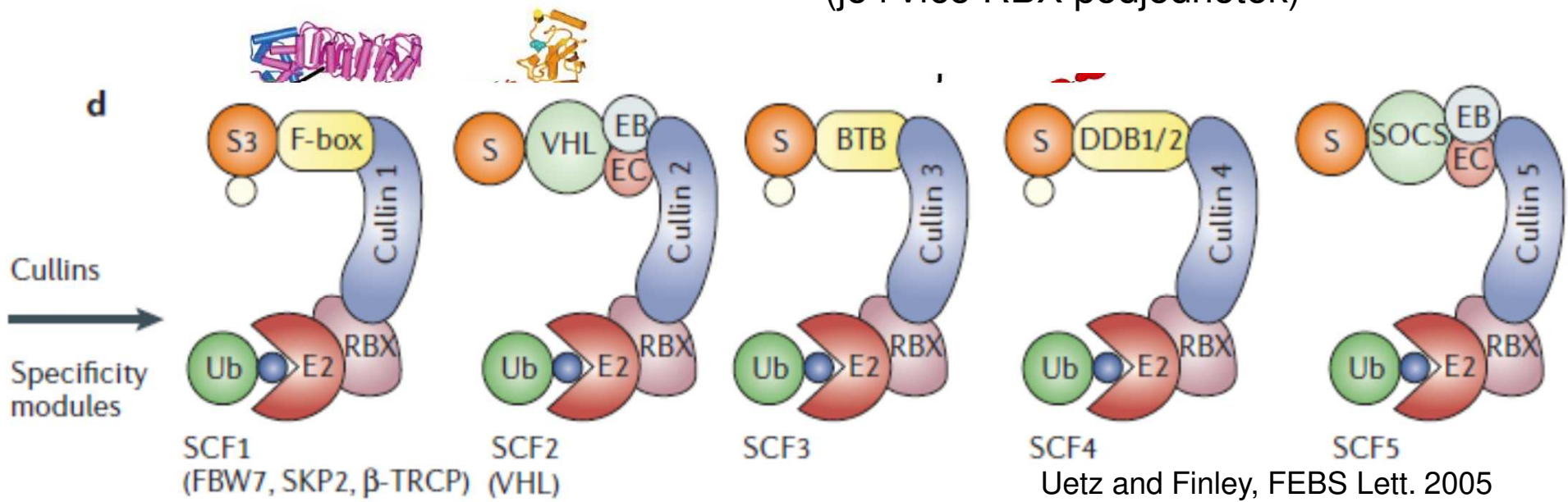


Figure 17-10 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

# Network/interaktom SCF komplexů a jejich substrátů

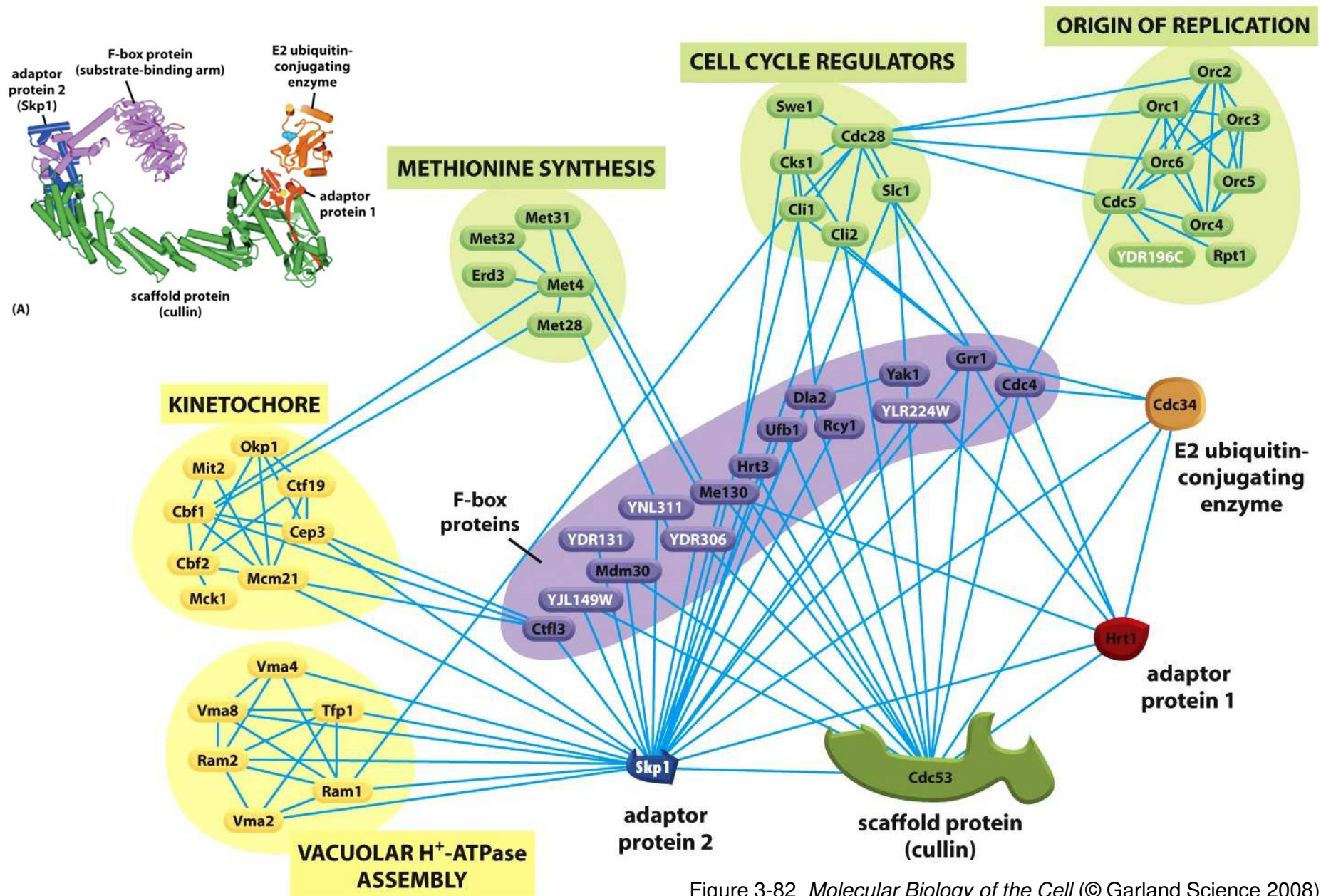


Figure 3-82 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

# Závěry

- proteiny jsou spojeny prostřednictvím interakcí mezi doménami – interakce mohou být modulovány posttranslačními modifikacemi (dynamické komplexy)
- PTM (či jiná změna) může interakci posílit nebo oslabit – asociace „podjednotky“ a modulace komplexu nebo rozpad komplexu (či „odtržení“ podjednotky)
- stabilita komplexu je zpravidla větší než pouhý součet jednotlivých protein-proteinových interakcí – záleží na způsobu sestavování (pořadí sestavování)
- funkce celého „kompaktního“ komplexu je závislá na každé podjednotce (komplex se nesestaví nebo rozpadne bez všech podjednotek, „stabilnější“ podjednotky pomáhají skládání „labilnějších“ podjednotek – ko-translace)
- variabilita vzniká včleněním různých modulů do komplexů - některé podjednotky mohou plnit funkci lešení (scaffold) nebo adaptérů