



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

- **Proteinové interakce – 14.10.**
 - jak spolu proteiny interagují?
 - interaktom
- **Proteinové komplexy – 21.10.**
 - Komplexom
 - architektura a funkce komplexů

CG030 – Proteinové komplexy (v jarním semestru)

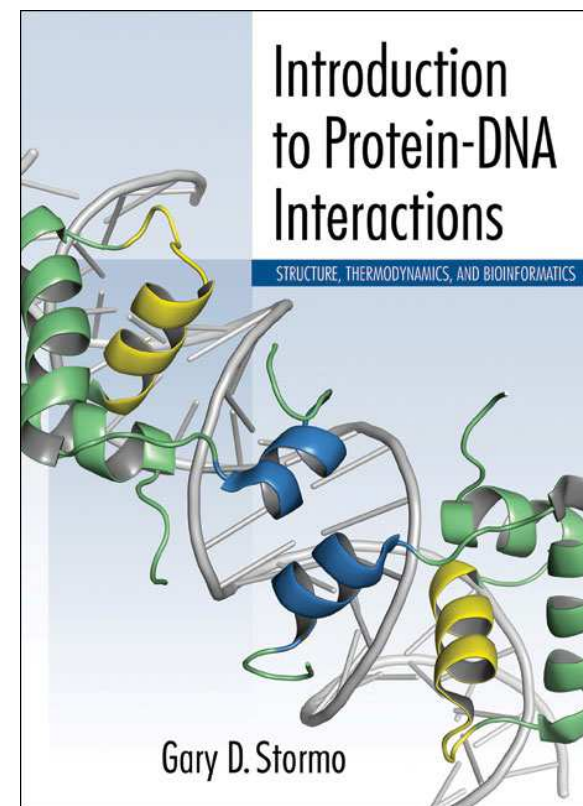
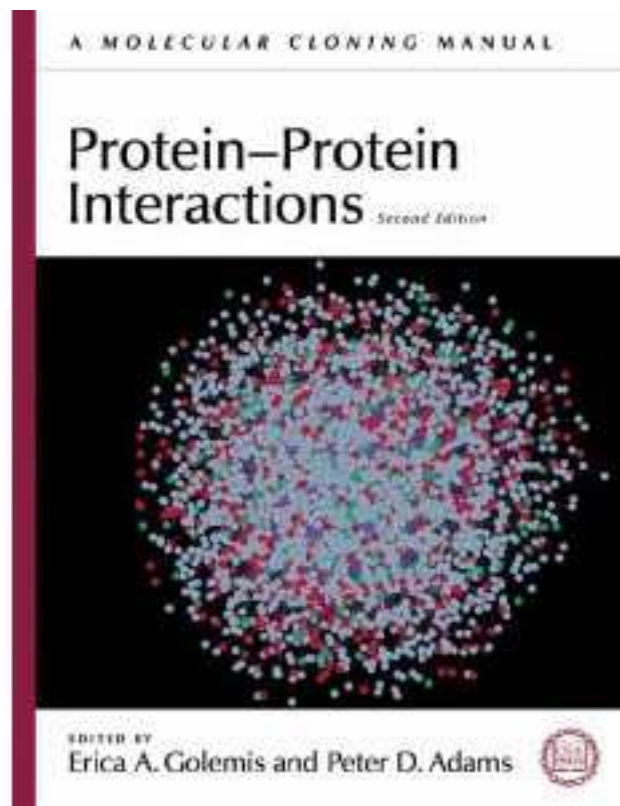
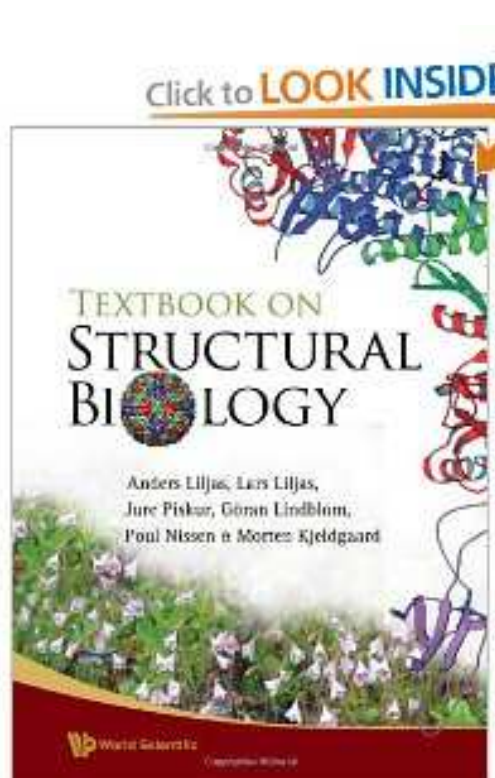
Doc. Jan Paleček

Informační zdroje

Alberts a spol: Molecular biology of the Cell (2008)

Liljas a spol: Structural biology (2009) ...

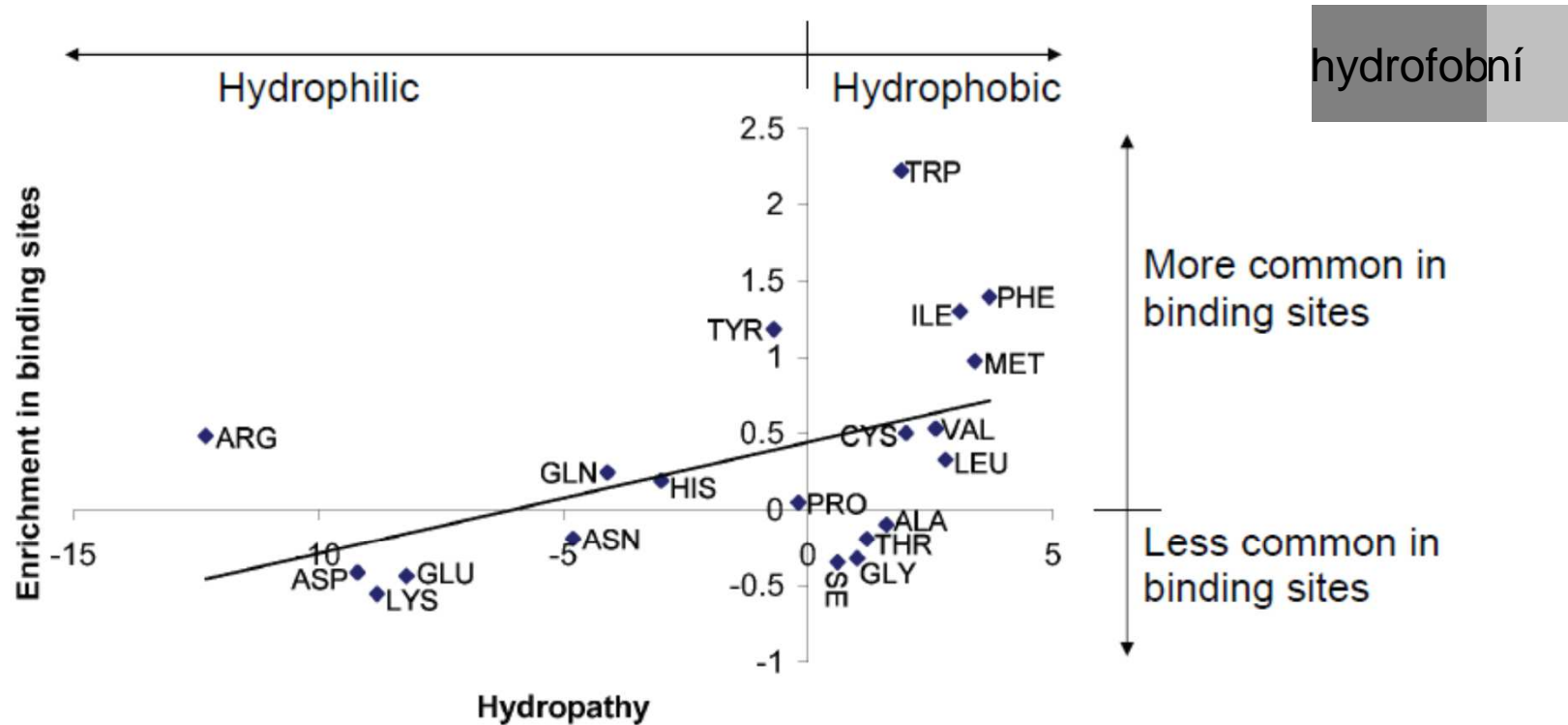
... nejnovější články z časopisů Cell, Nature, Science, PLoS ...



Databáze proteinových struktur: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>,
<http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>

Database protein-proteinových interakcí: <http://string-db.org/newstring.cgi> ...
<http://www.ebi.ac.uk/intact/?conversationContext=1>

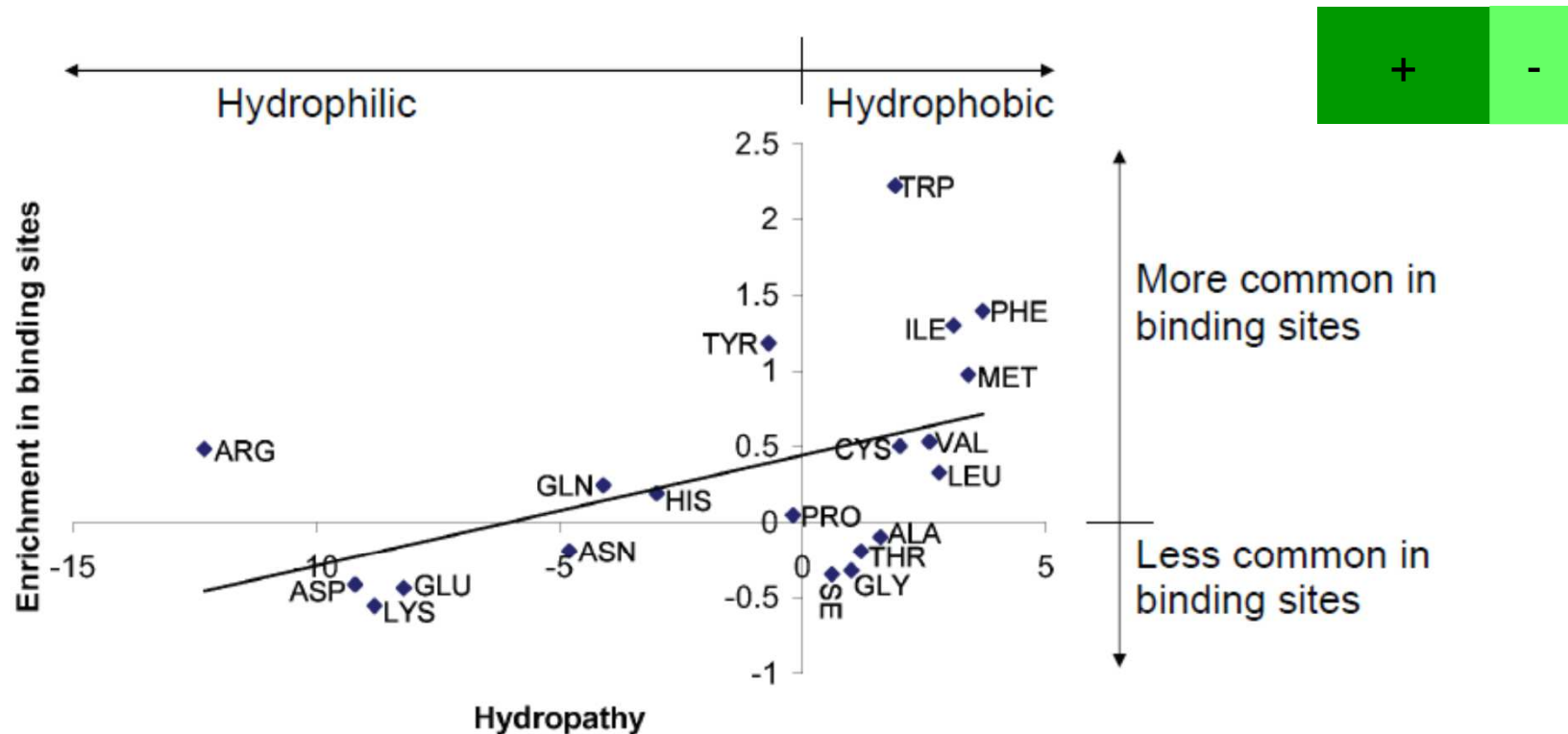
Od primární struktury ...



Hydrophobic atoms are more likely to bind another protein, but this is only a weak correlation

- **hydrofobní zbytky** jsou tlačeny dovnitř proteinu (ve vodném prostředí se chovají jako „mastnota“ ve vodě) – pro proteiny s hydrofobním povrchem je tedy „výhodnější“ se přes takový povrch navázat na stejně „mastného“ partnera

Od primární struktury ...



Hydrophobic atoms are more likely to bind another protein, but this is only a weak correlation

- **Nabité a polární AMK** vytváří nekovalentní vazby – postraní řetězce AMK vytváří stejné typy nekovalentních chemických vazeb jako při skládání proteinu (polární) – peptidová vazba („kostra“) může tvořit vodíkové můstky (mezi listy)

Typy vazeb v PPI

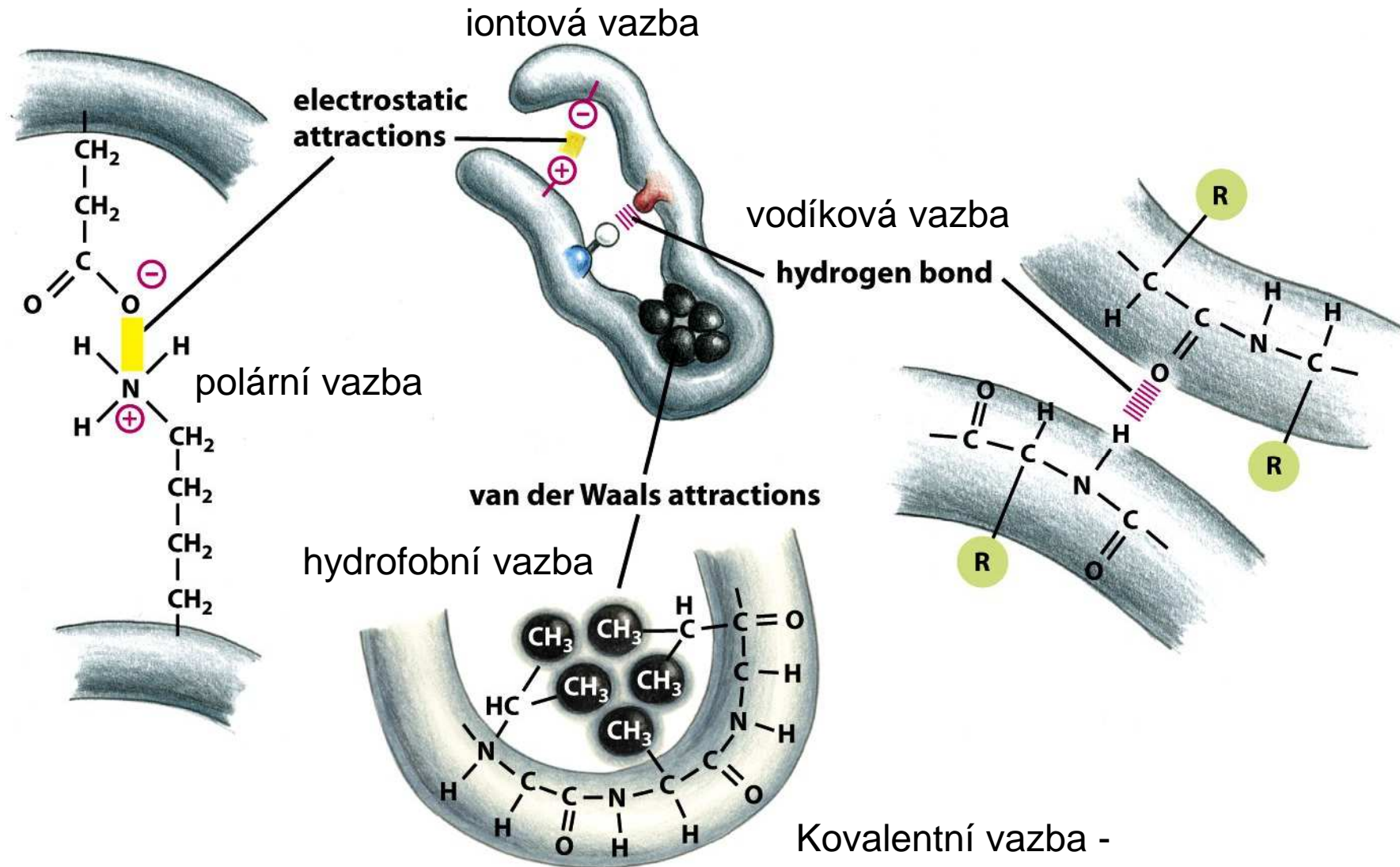
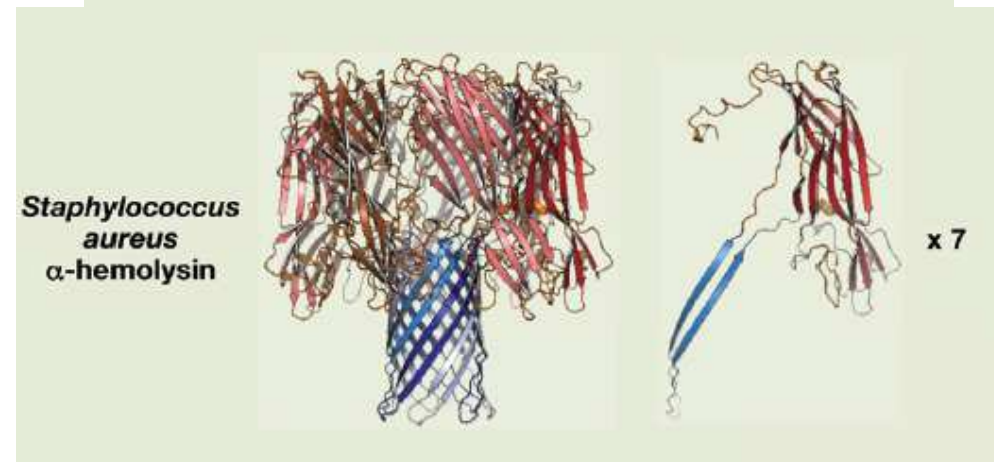
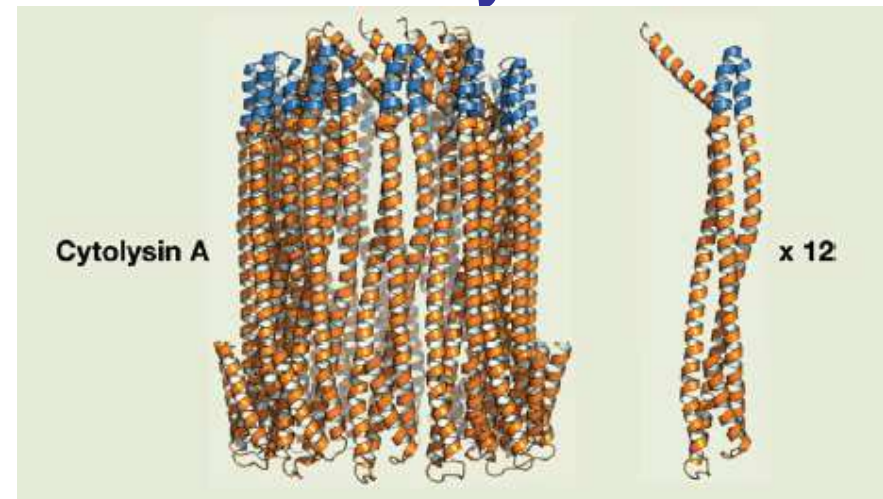
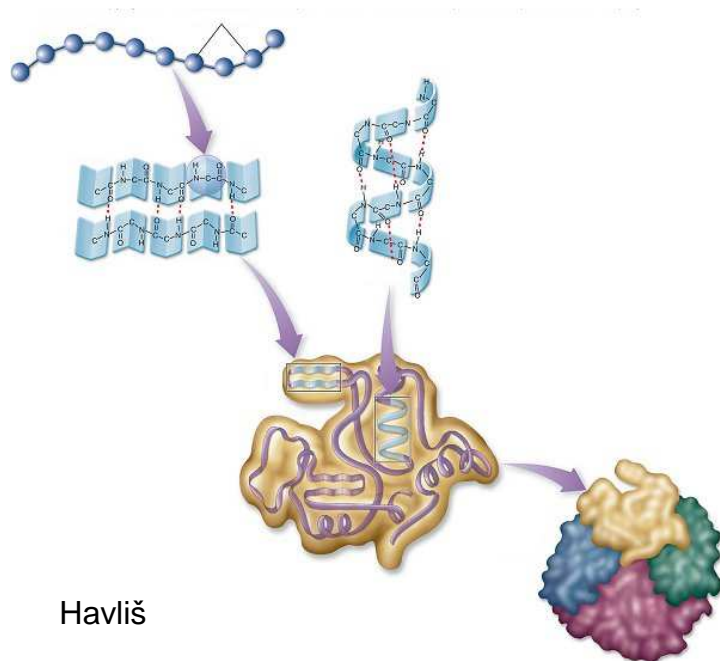


Figure 3-4 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

... sekundární struktury ...

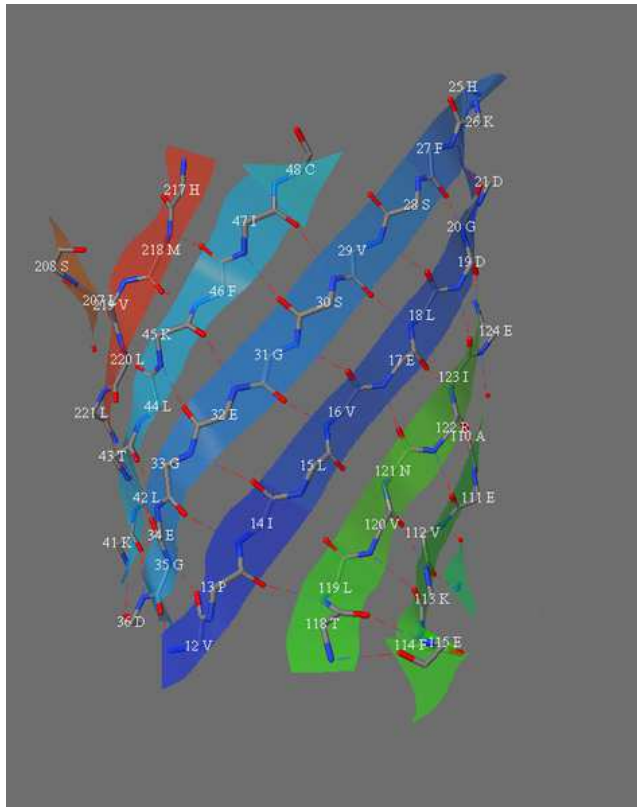
- **šroubovice, listy, smyčky**
... se podílí na protein-proteinových interakcích PPI podobným způsobem jako při formování konformace proteinu – podobné sterické faktory



- **folding-skládání** ... struktura některých „disordered“ domén/proteinů se utváří až v rámci interakce s druhým proteinem

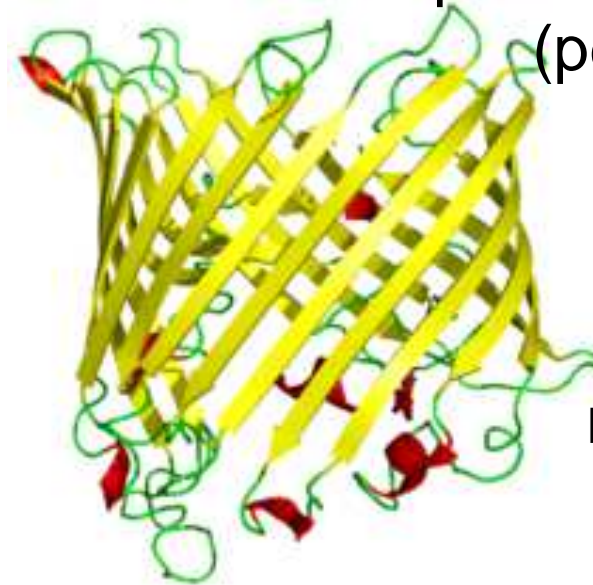
... sekundární struktury ...

V interakcích beta-listů převažují vodíkové vazby (peptidového řetězce)

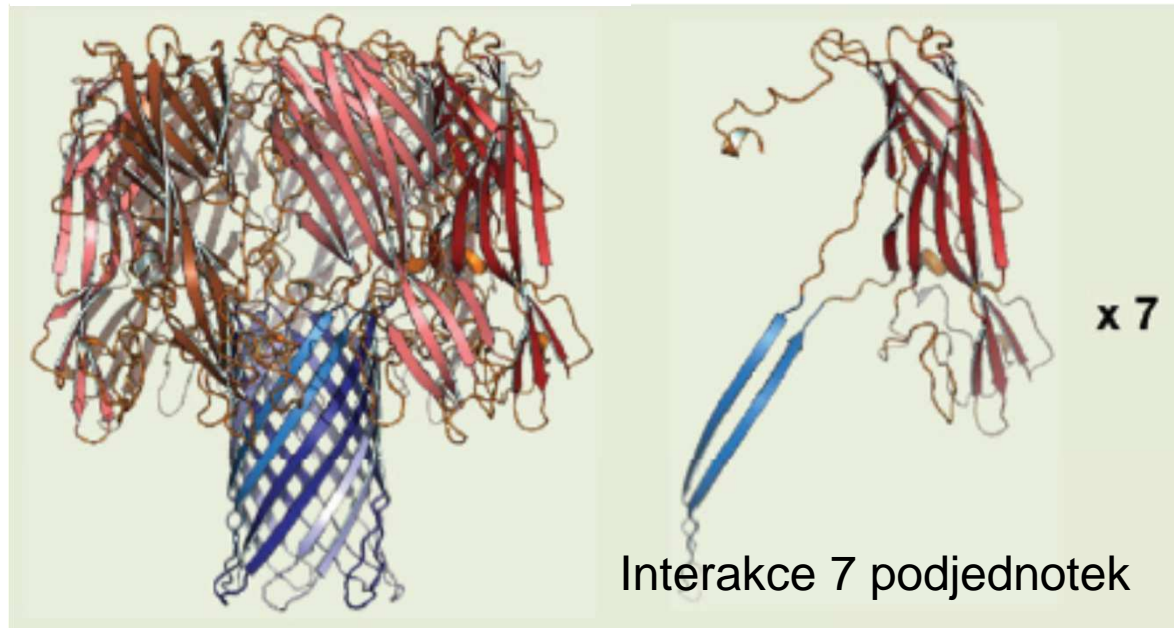


Toxiny – podjednotky se skládají tj. vytváří pór až v místě působení (neublíží původní buňce)

Mueller & Ban, Cell, 2010; 1QOY



Porin
(1 polypeptid
prostup mitochondriální
membrány)

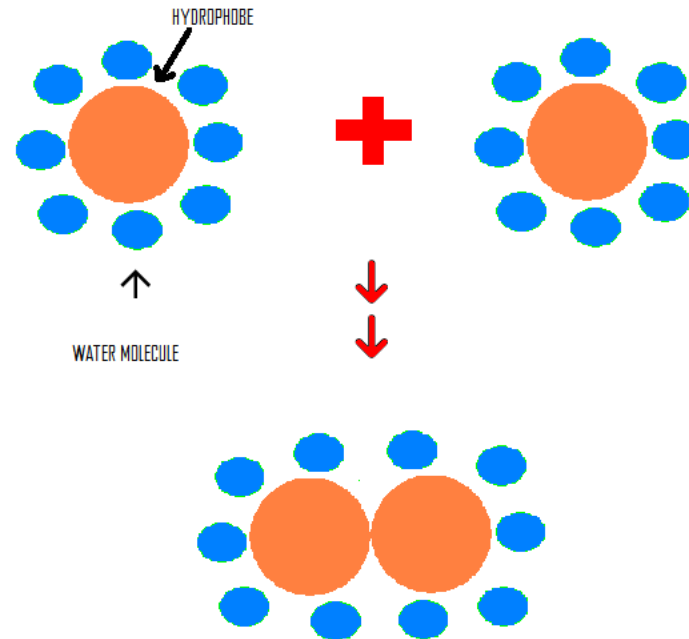
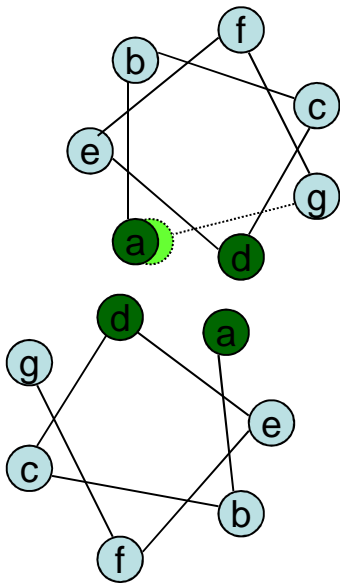


... sekundární struktury ...

- listy ... šroubovice se vůči sobě orientují určitým způsobem
- skládání slabých vazeb ovlivňuje sílu a specifitu celkové vazby

coiled-coil struktura

- Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)



coiled-coil struktura

- Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)

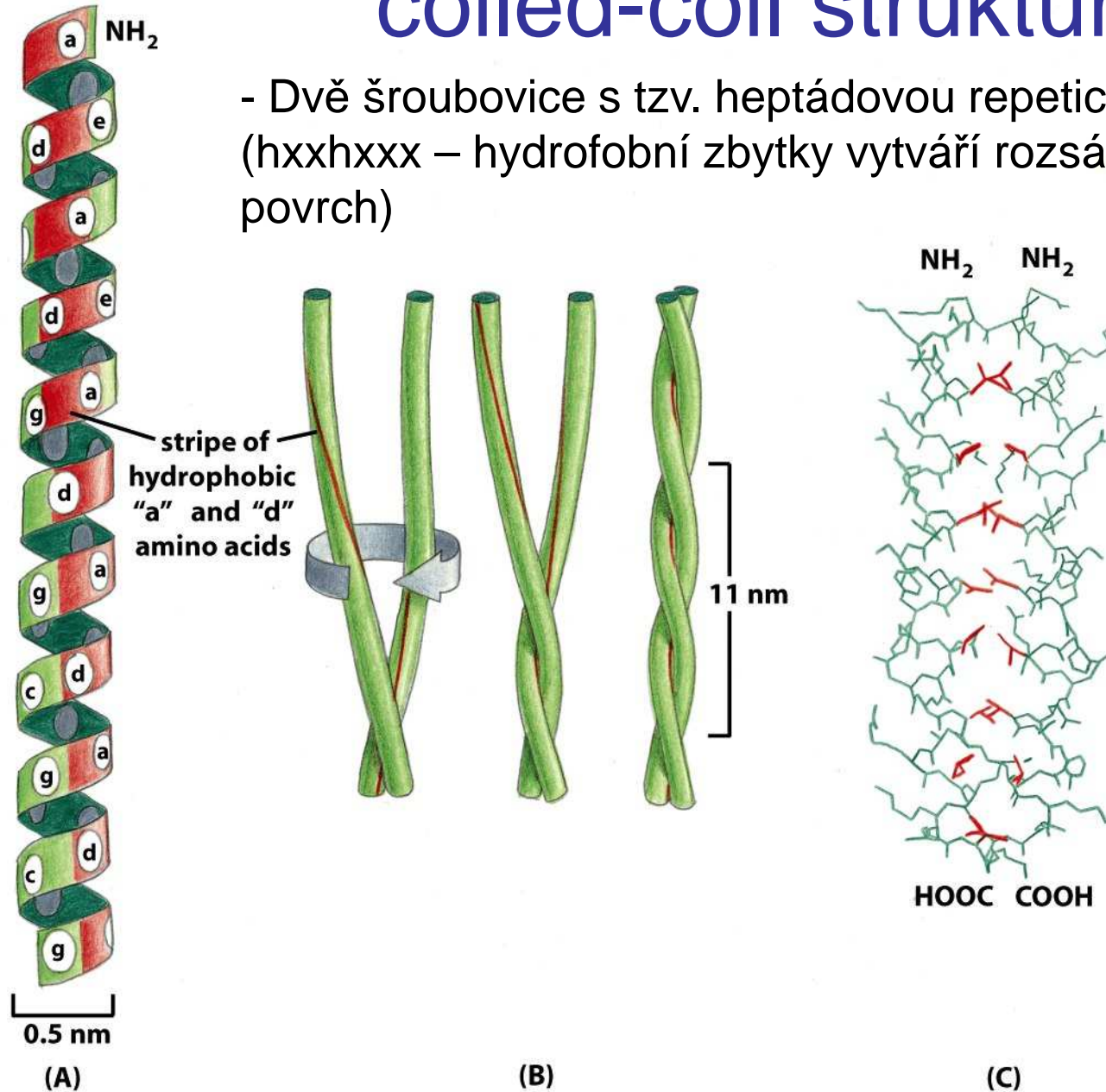
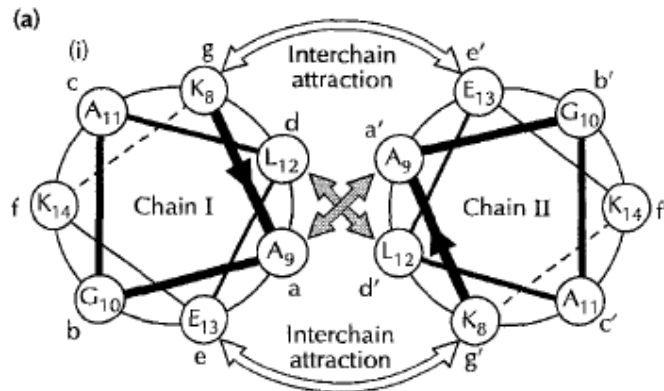
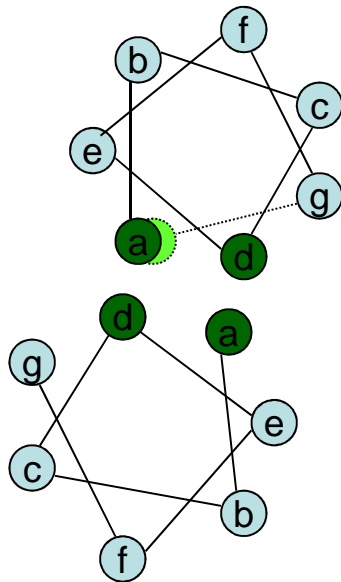


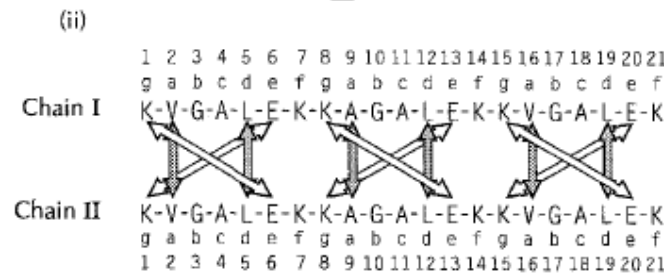
Figure 3-9 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Coiled-coil struktura

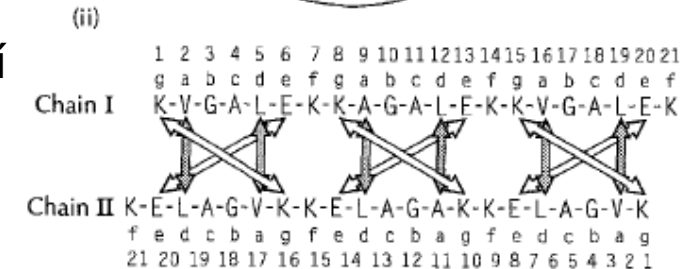
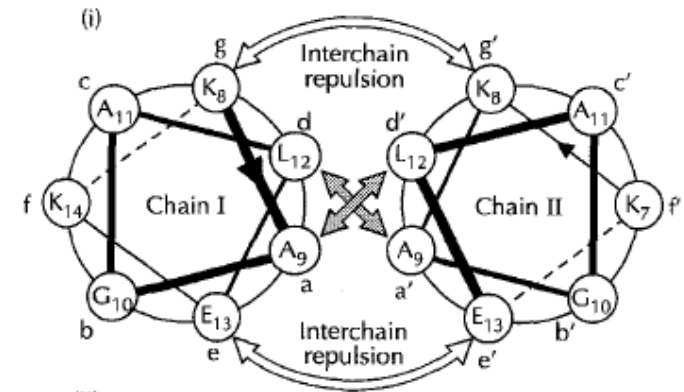
Dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch)



Sousední AMK stabilizují interakce šroubovic

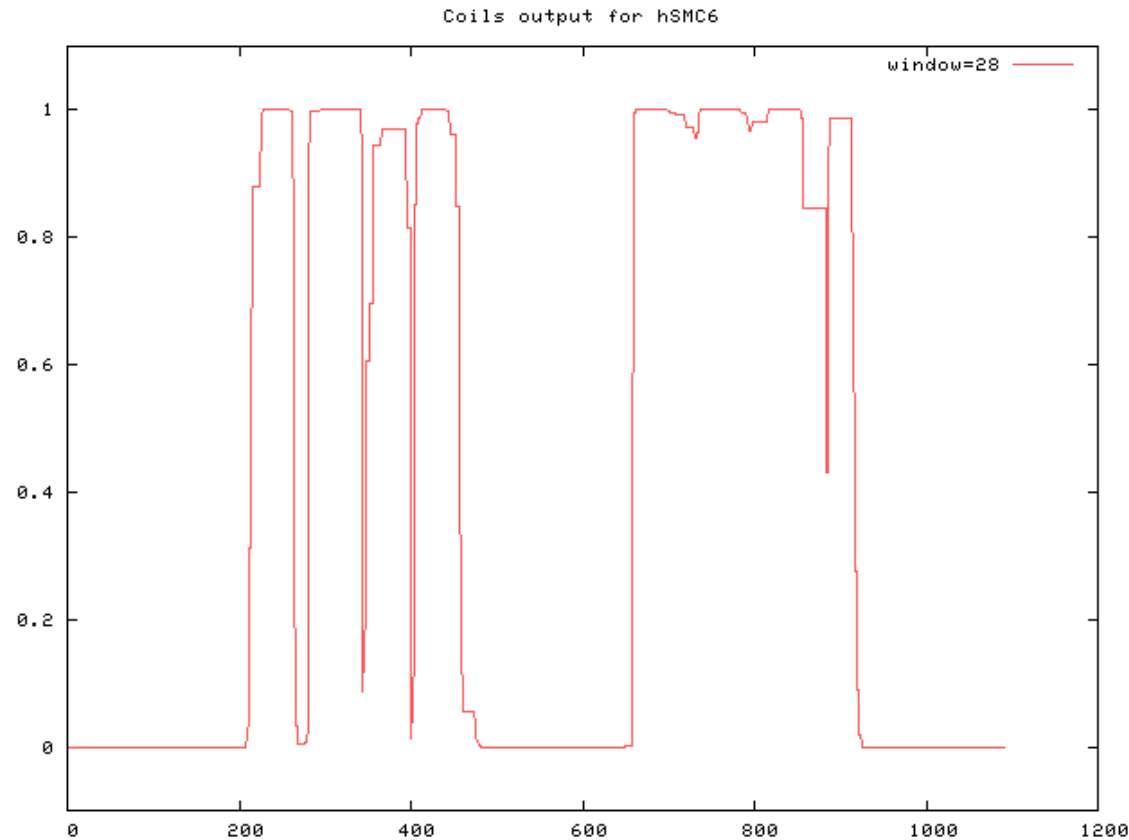


Sousední AMK destabilizují interakce šroubovic



Coiled-coil struktura

- program COIL: http://www.ch.embnet.org/software/COILS_form.html



- CC v SMC proteinech jsou intramolekulární



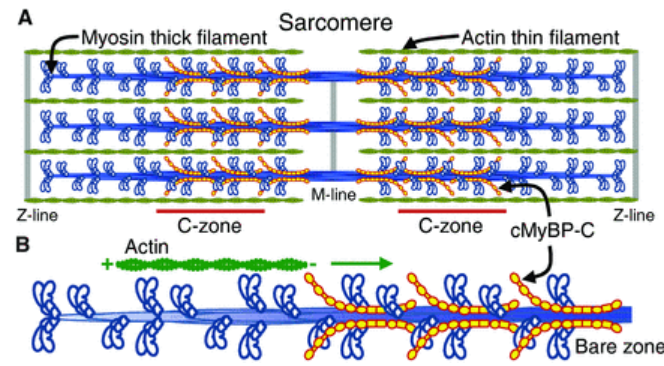
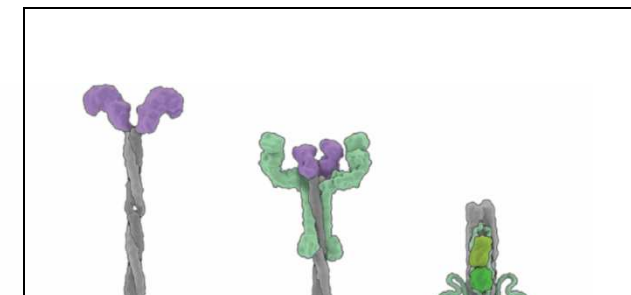
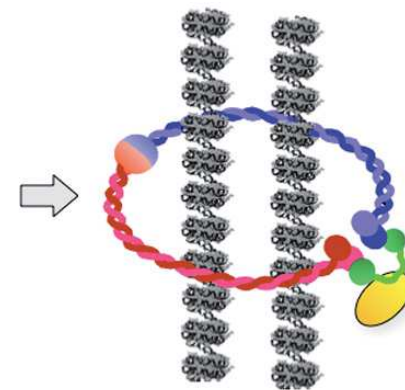
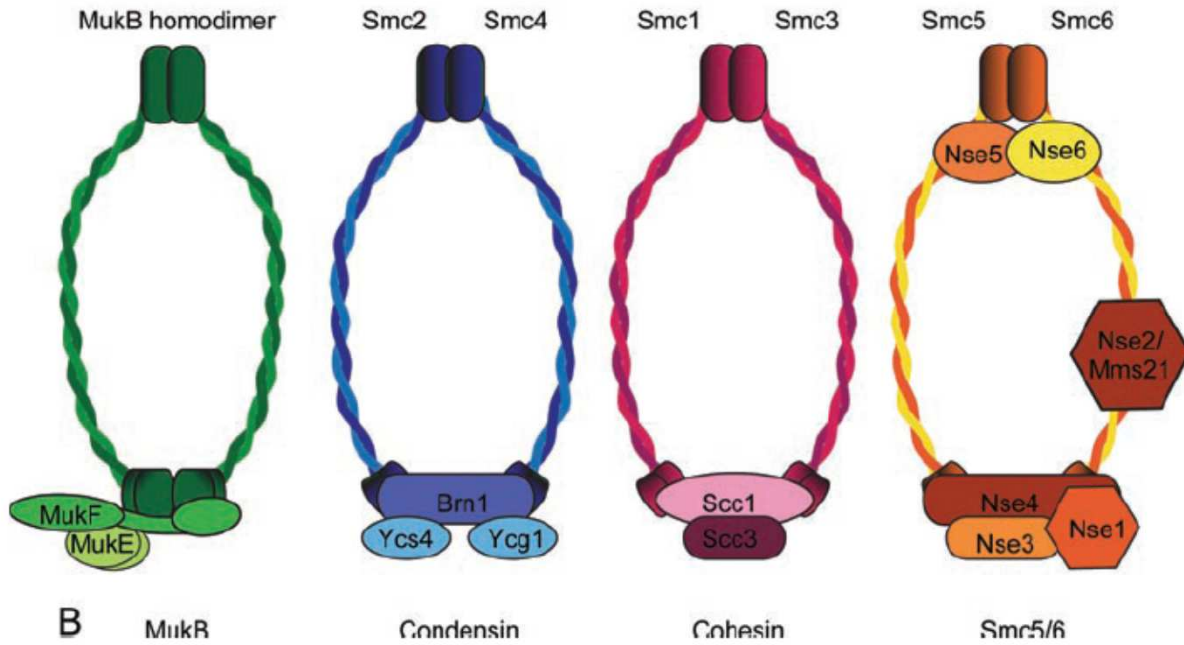
Intermolekulární – proteinové interakce



Intramolekulární – v rámci foldingu

Coiled-coil struktura

-dlouhé CC (>100AMK) vytváří vláknité struktury (myosin, SMC ...)

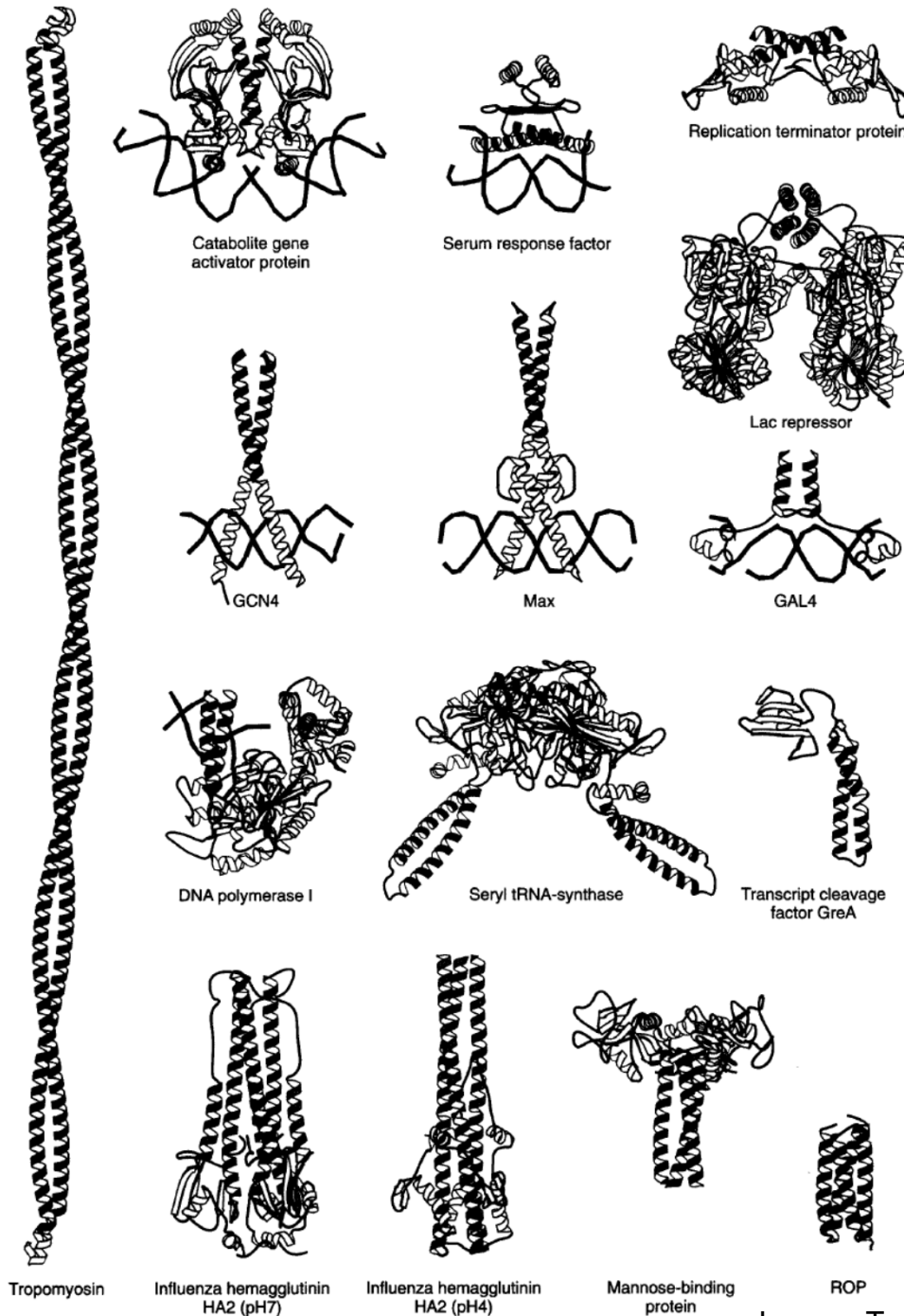


A myosin **B** kinesin **C** dynein

Coiled-coil
doména je
významným
dimerizačním
modulem u mnoha
proteinů (GCN4,
Max ...)

Intermolekulární -
homo- či
heterodimery

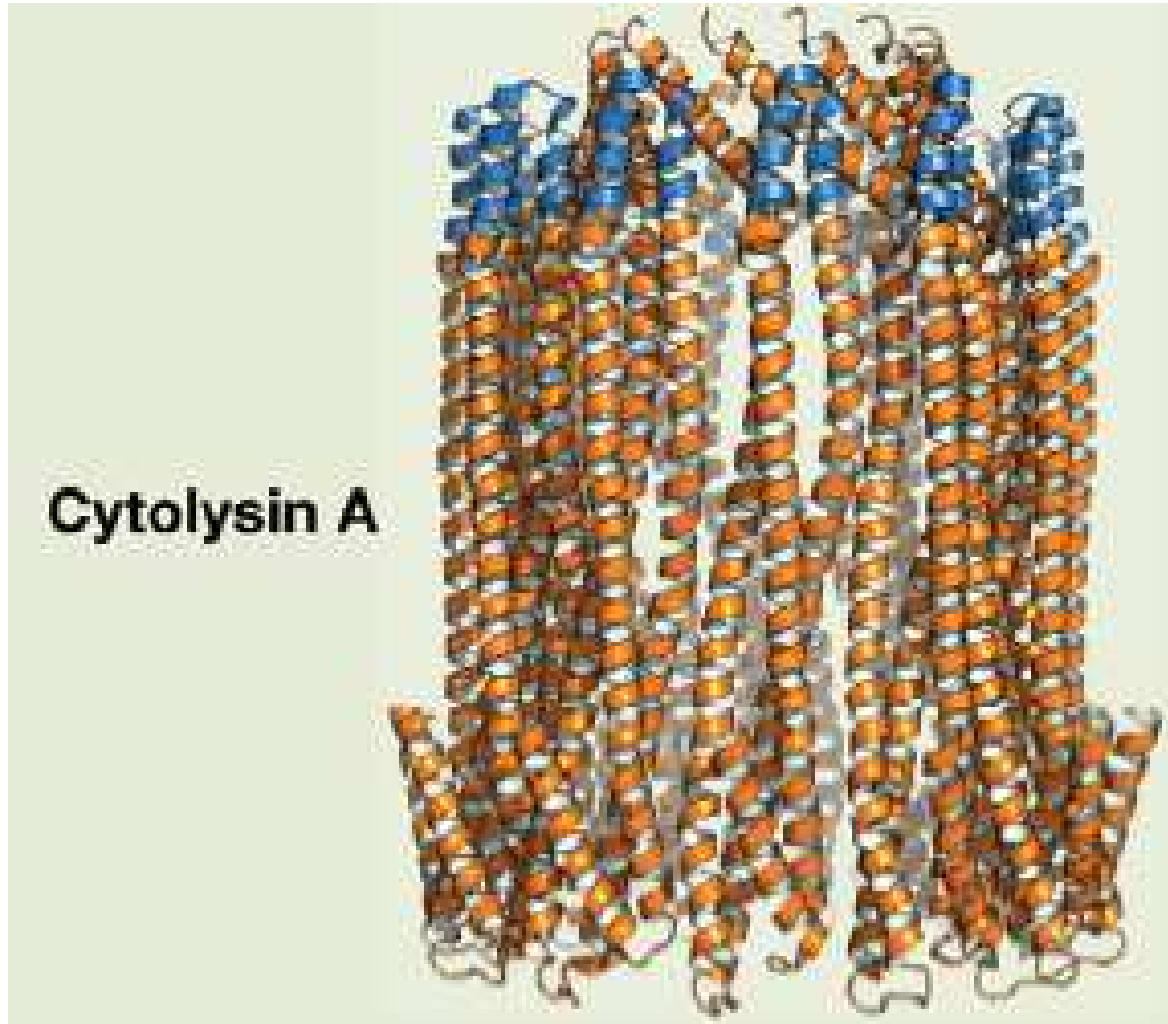
jsou hlavním
modulem pro
vláknité struktury



Interakce šroubovic



Influenza hemagglutinin



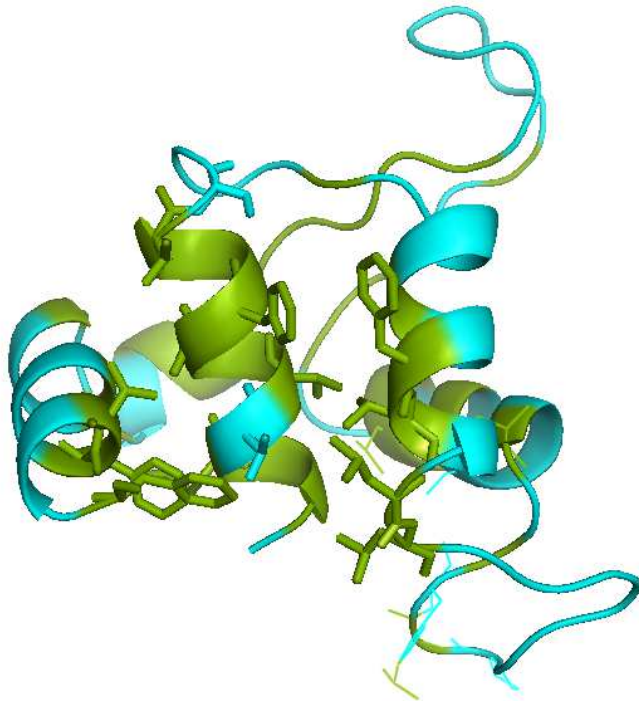
Cytolysin A

Cytolysin vytváří póry v membránách cizích buněk

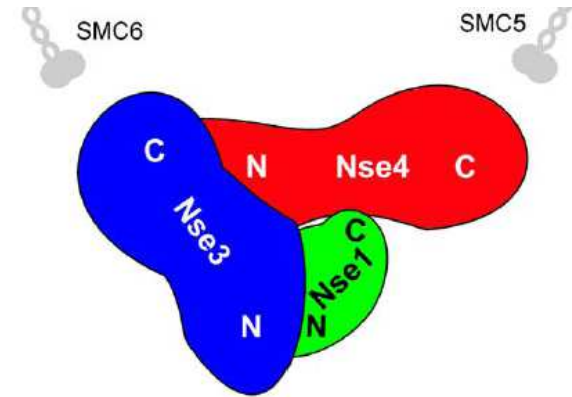
Šroubovice se pod určitým úhlem dotýkají - obtáčejí Mueller & Ban, Cell, 2010; 1QOY, 2WCD

... terciární struktura ...

- Ostatní interakce lze definovat pouze obecně: proteiny musí mít **komplementární tvar i charakter**
 - šroubovice pod různými úhly ↓



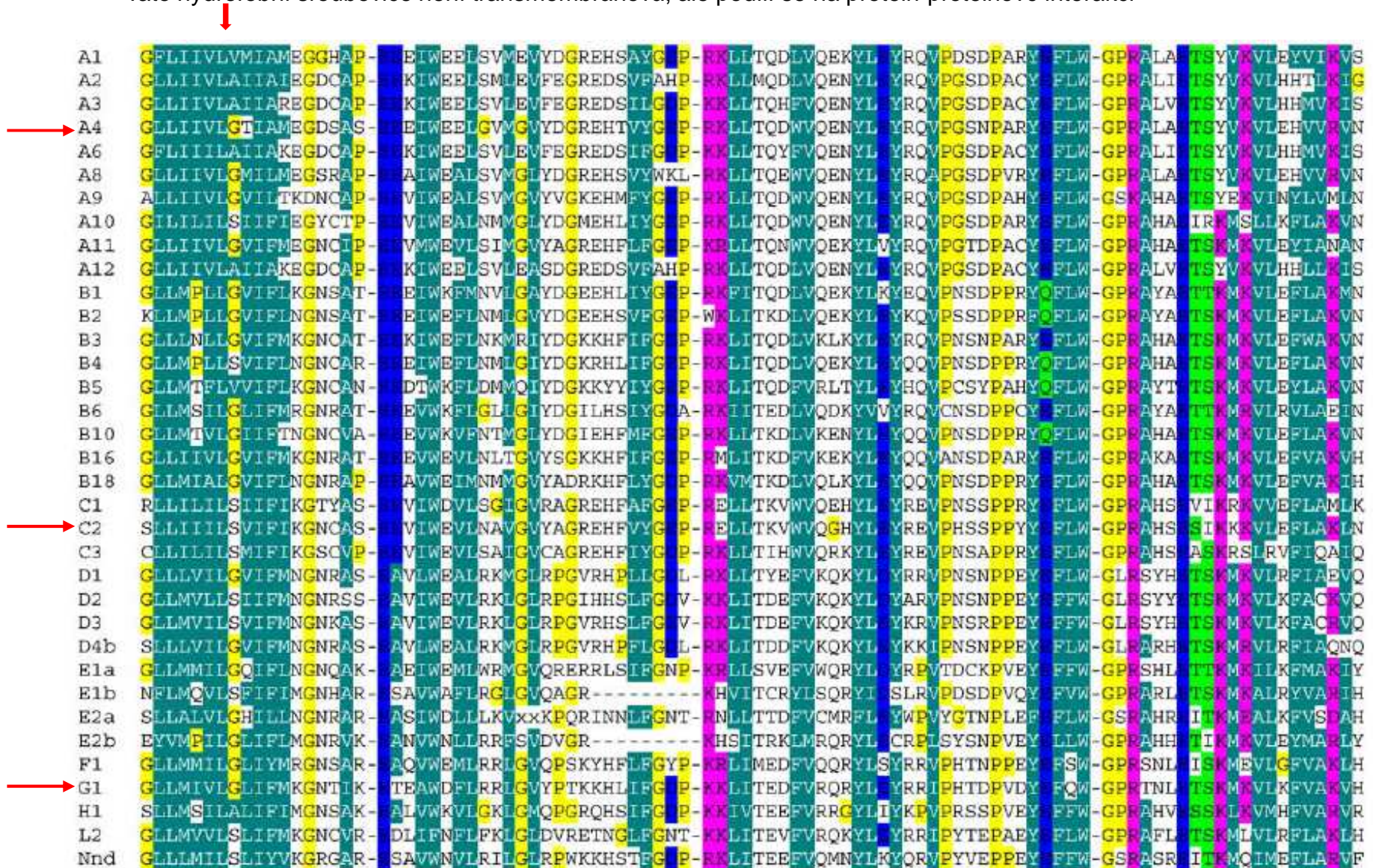
Slabá hydrofobní interakce mezi Nse3 a Nse4



- šroubovice se váže do hydrofobní kapsy
- malá změna povrchu může změnit interakční schopnosti (mutace hydrofobních/zelených zbytků vazbu narušila)
- WHD (winged-helix doména)
- více povrchů - malá změna povrchu může změnit interakční schopnosti (nabitě K, R = vazba na DNA vs hydrofobní = PPI)

- Nalézt a definovat interakční povrchy je obtížné (ze sekvence-primární) :

Tato hydrofobní šroubovice není transmembránová, ale podílí se na protein-proteinové interakci



- Nalézt a definovat interakční povrchy lze obtížně (ze sekvence-primární) : proteiny musí mít **komplementární tvar a charakter** (terciární)– hledáme kapsy (více míst)

MAGEA4

Cleft analysis for: 2wa0

View options

- Binding-site(s)
- Binding-surface(s)

Coloured by

- cleft (as in table below)
- closest atom type
- residue type
- residue conservation

Jmol RasMol

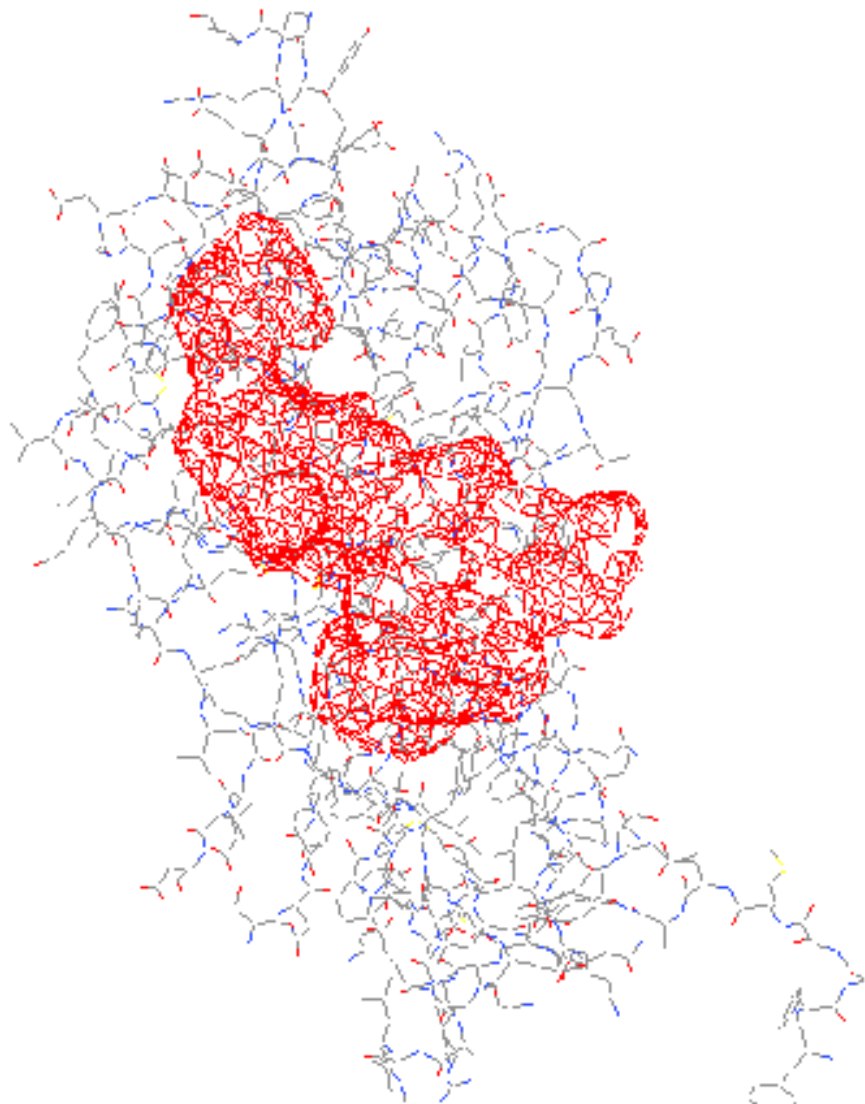
Clefts	Volume	R1 ratio	Accessible vertices	Buried vertices	Average depth	Residue type	Ligands
1	2370.52	0.98	65.15	1	10.55	1	8 6 5 15 4 4 1

největší kapsa

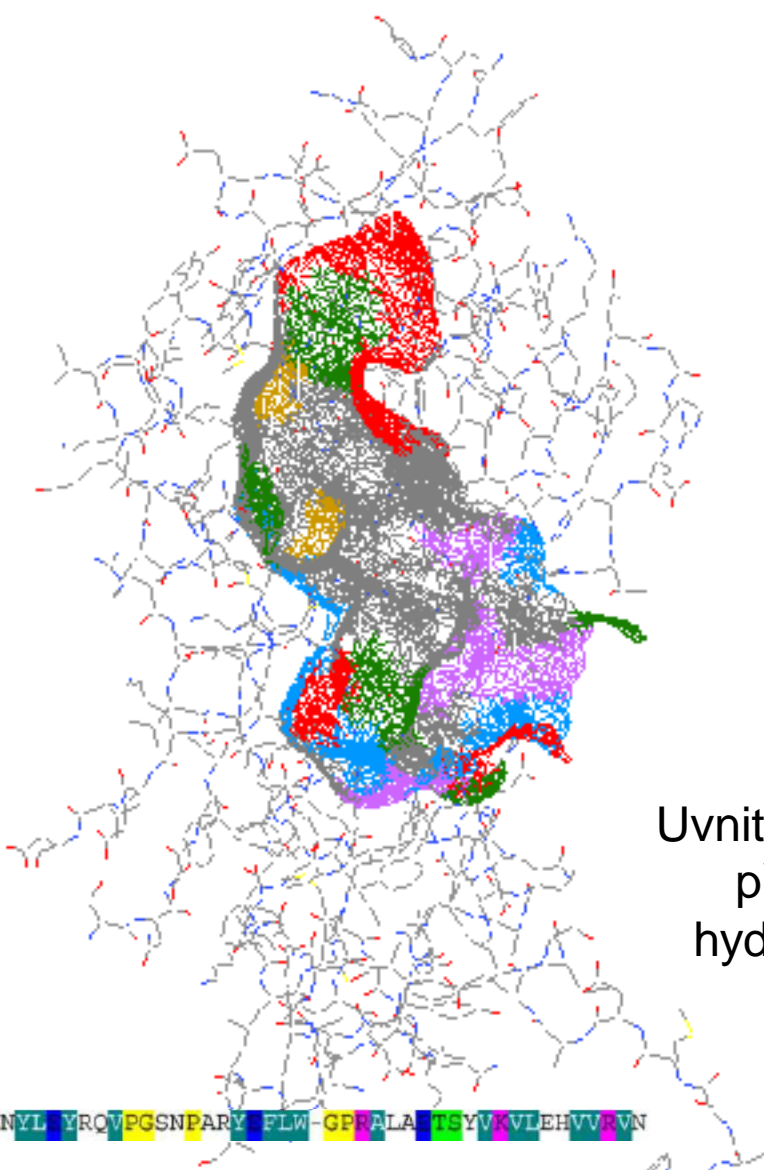
<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/>

Residue-type colouring						
Positive	Negative	Neutral	Aliphatic	Aromatic	Pro & Gly	Cysteine
H,K,R	D,E	S,T,N,Q	A,V,L,I,M	F,Y,W	P,G	C

Binding site



Binding surface

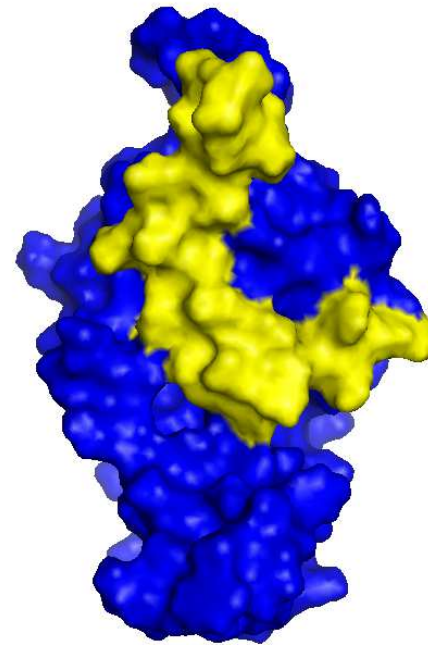
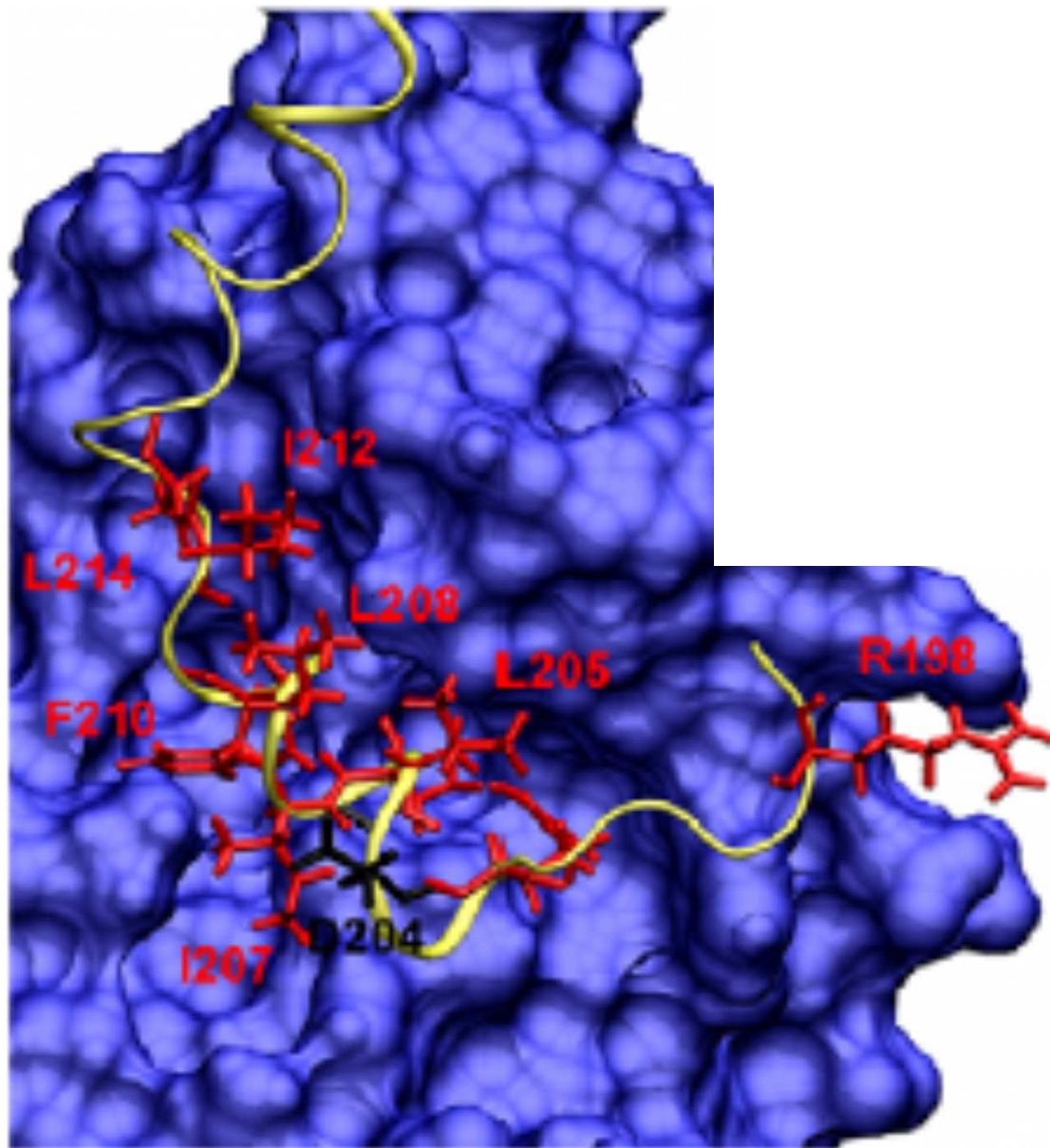


Uvnitř kapsy
převládá
hydrofobní
povrch

A4

GLLIVLGTIAMEGDSAS-
EIWEELGVMGWYDGREHTVYG-
PKLLTQDWVQENYLYRQVPGSNPARYFLW-
GPPALATSYVVLEHVVRVN

Residue-type colouring						
Positive	Negative	Neutral	Aliphatic	Aromatic	Pro & Gly	Cysteine
H,K,R	D,E	S,T,N,Q	A,V,L,I,M	F,Y,W	P,G	C



Docking partnera (molekulární dynamika): do hydrofobní kapsy namodelovaného proteinu MAGE(C2) byl nadockován hydrofobní peptid (EID2-model) (-složitější docking je nespolehlivý)

- Nalézt a definovat interakční povrchy lze obtížně: proteiny musí mít **komplementární tvar a charakter** – hledáme kapsy nebo tunely

PDBsum Go to PDB code:

[Top page](#)
[Protein](#)
[Metals](#)
[Prot-prot](#)
[Clefs](#)
[Tunnels](#)
[Links](#)

Tunnel analysis for: 3nw0 calculated with MOLE 2.0 PDB id

Tunnels calculated on whole structure

3 tunnels, coloured by tunnel radius

Tunnels calculated excluding ligands

3 tunnels, coloured by tunnel radius

Tunnels calculated excluding ligands

3 tunnels, coloured as in list below

View options

[MOLEonline 2.0](#)

manipulation and visualization with HETATM:

without HETATM:

Nse3/MAGEG1-NSE1

Tunnels		Radius	Length	Hydropathy	Hydrophobicity	Polarity	Mutability	Residue type	Ligands
1		1.27	110.6	-0.05	0.06	14.4	83	10 4 3 18 2 1 0	

Residue-type colouring						
Positive H,K,R	Negative D,E	Neutral S,T,N,Q	Aliphatic A,V,L,I,M	Aromatic F,Y,W	Pro & Gly P,G	Cysteine C

<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/>

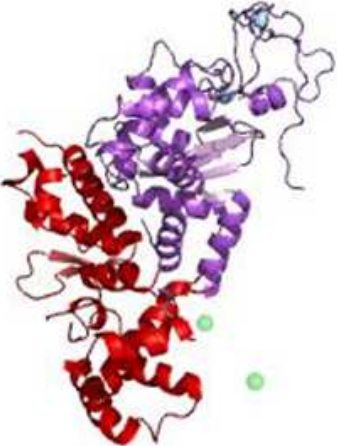
Máte-li štěstí - kokrystal homologů (málo v PDB) modelování není triviální

Start

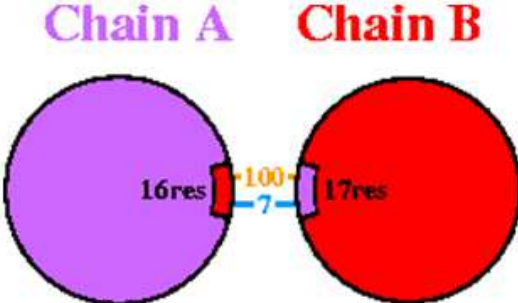
Top page Protein Metals **Prot-prot** Clefts Tunnels Links

Protein-Protein interface: A{B PDB id 3nw0

Protein-protein interface: A{B



Chains A and B highlighted (click to view)



Chain A Chain B

16res 100 7 17res

Key: Salt bridges Disulphide bonds Hydrogen bonds Non-bonded contacts

PDF Adobe Postscript version

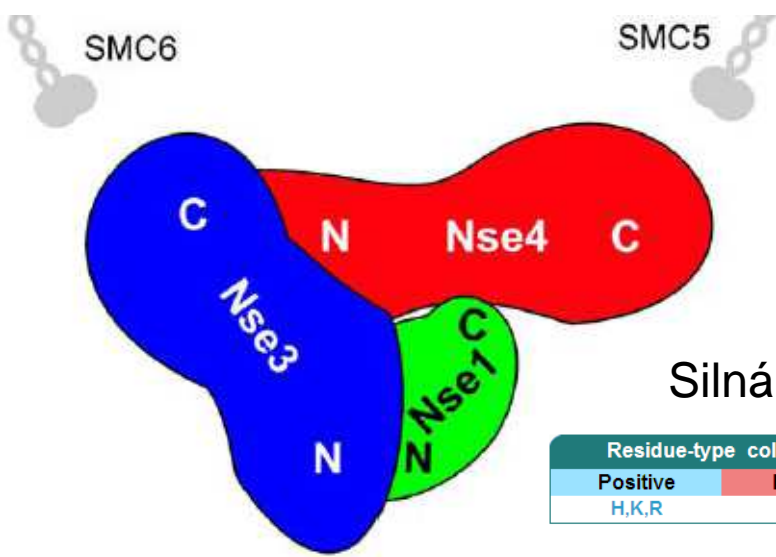
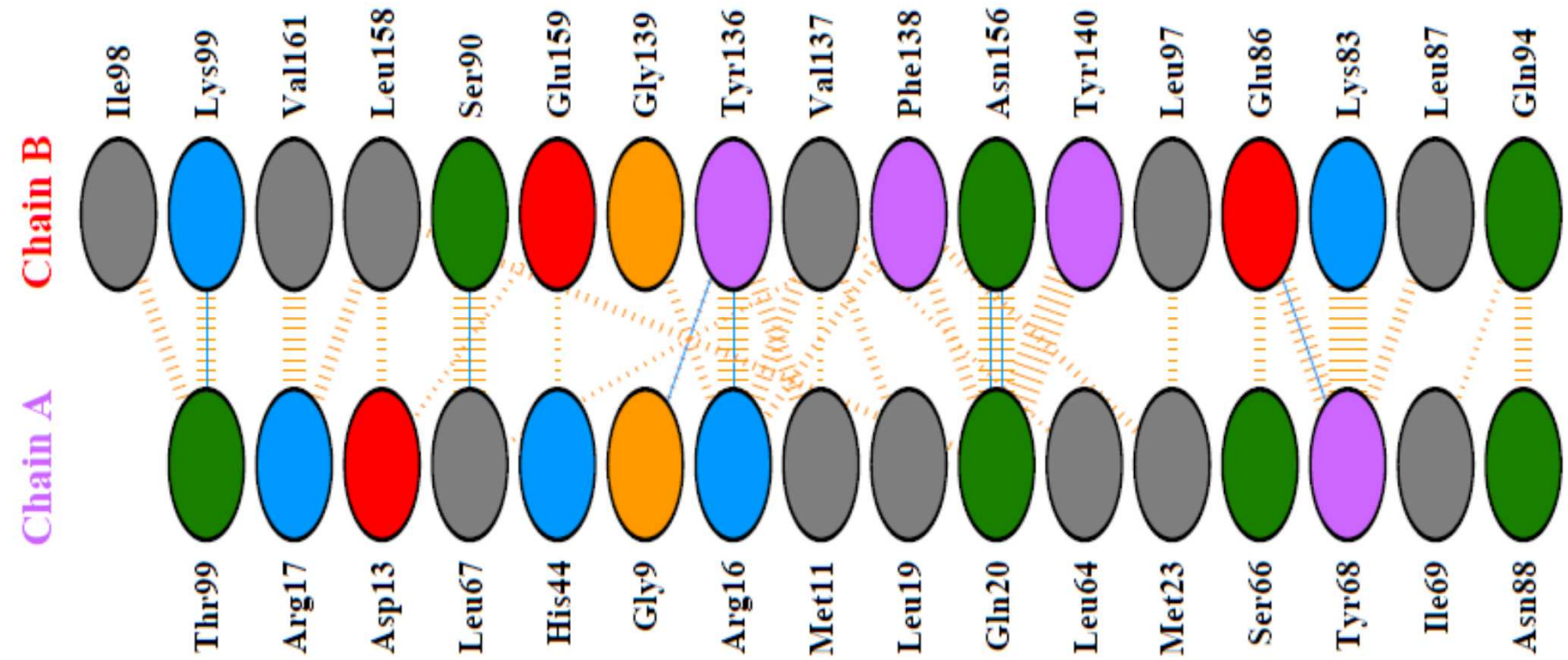
Jmol Interfaces

A{B (16:17 res)

Interface statistics

Nse3/MAGEG1-NSE1

Chain	No. of interface residues	Interface area (Å ²)	No. of salt bridges	No. of disulphide bonds	No. of hydrogen bonds	No. of non-bonded contacts
A	16	1015	-	-	7	100
B	17	1003	-	-	7	100



Disulphide bonds — Hydrogen bonds — Non-bonded contacts

Silná interakce mezi Nse1 (chain A) a Nse3 (chain B)

Residue-type colouring						
Positive	Negative	Neutral	Aliphatic	Aromatic	Pro & Gly	Cysteine
H,K,R	D,E	S,T,N,Q	A,V,L,I,M	F,Y,W	P,G	C

EMBL-EBI Services Research Training About us

CAPRI: Critical Assessment of PRediction of Interactions

Databases > PDBe > Services > Capri-Home

CAPRI communitywide experiment on the comparative evaluation of protein-protein docking for structure prediction
Hosted by the Protein Data Bank in Europe (PDBe) Group

ROUND 31 ANNOUNCEMENT

- 22nd Sep 2014 - Registration opens for Round 31
- 29th Sep 2014 - Round 31 opens - Prediction of targets 95 (A challenging Enzyme-Nucleosome complex)
- 6th Nov 2014 - Deadline for submitting models for target 95 (a protein-DNA-protein complex)
- 6th Nov 2014 - Scoring round uploader deadline for Target 95
- 10th Nov 2014 - Scoring round uploader set available for Target 95
- 13th Nov 2014 - Scoring round submission deadline for Target 95

ROUND 28 RESULT ANNOUNCEMENT

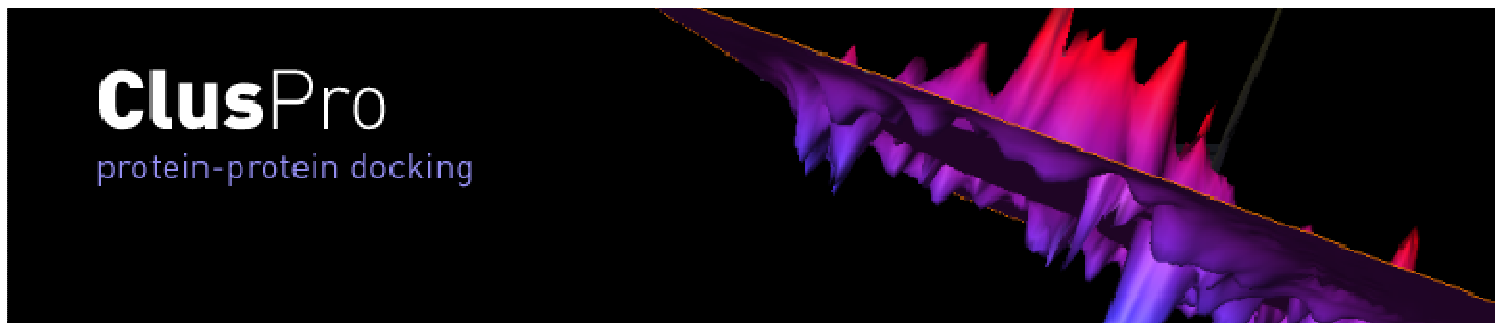
[ROUND 28 results for target 59 are now available](#)

To download the target coordinates you must agree to the following conditions at the time of download.

Agreement (pdf)

To Register please email
Shashana Wodak - shoshana AT sickkids.ca, Sameer Velankar - sameer AT ebi.ac.uk
Send
Team Leader Name:

#	Human groups:	Automatic Servers:	Scoring Exp.:
1	Sandor Vajda	CLUSPRO	Alexandre Bonvin
2	Martin Zacharias	HADDOCK	Paul Bates
3	Xiaoqin Zou	GRAMM-X	Xiaoqin Zou
4	Haim Wolfson, Miriam Eisenstein	SKE-DOCK	Zhiping Weng
5	Huan-Xiang Zhou, Zhiping Weng	PatchDock, FireDock, FiberDock	Wang Cunxin
6	Alexandre Bonvin	TOP-DOWN	Juan Fernandez-Recio
7	Juan Fernandez-Recio		Haim Wolfson
8	Jeffrey Gray		Haliloglu, Camacho, Takeda-Shitaka



#	Human groups:	Automatic Servers:	Scoring Exp.:
1	Sandor Vajda	CLUSPRO	Alexandre Bonvin
2	Martin Zacharias	HADDOCK	Paul Bates
3	Xiaoqin Zou	GRAMM-X	Xiaoqin Zou
4	Haim Wolfson, Miriam Eisenstein	SKE-DOCK	Zhiping Weng
5	Huan-Xiang Zhou, Zhiping Weng	PatchDock, FireDock, FiberDock	Wang Cunxin
6	Alexandre Bonvin	TOP-DOWN	Juan Fernandez-Recio
7	Juan Fernandez-Recio		Haim Wolfson
8	Jeffrey Gray		Haliloglu, Camacho, Takeda-Shitaka

<http://cluspro.bu.edu>

MAGEC2-EID2 trefil (PLoS One, 2012, docking a Molekulární dynamika)
 MAGEG1-NSE1 netrefil (vyšli jsme z ko-kryystalu – Molekulární dynamika)

Na modelování jednotlivých proteinů používáme I-TASSER:

<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>

Stejná skupina má i protein-protein docking:

<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/COTH/>

Informační zdroje PPI

The screenshot shows a Windows Internet Explorer browser window displaying the website <http://proteome.wayne.edu/PIDBL.html>. The page is titled "Links to Protein Interaction Databases" and is part of the "Finley Lab" website, which is the "Center for Molecular Medicine and Genetics". The page lists "Finley Lab Interactions Databases" and "Gene or Protein Interactions Databases in the reseach comrn".

Finley Lab Interactions Databases:

- *Drosophila Interactions Database (DroID)*
- *Campylobaster jejuni Interactions Databases*

Gene or Protein Interactions Databases in the reseach comrn

- • **BioGRID**- A Database of Genetic and Physical Interacti
- **DIP** - Database of Interacting Proteins
- • **IntAct** - EMBL-EBI Protein Interaction
- **MINT** - A Molecular Interactions Database
- **MIPS** - Comprehensive Yeast Protein-Protein interactio
- **Yeast Protein Interactions** - Yeast two-hybrid results
- **BRITE** - Biomolecular Relations in Information Transmi
- **The PIM Database** - by Hybrigenics
- **Mouse Protein-Protein interactions**
- **Human Protein Reference Database**

On the right side of the image, there is a large text block in Czech:

Na základě PPI v jednom organismu a homologii proteinů v jiných organismech lze odhadnout, zda proteiny interagují i v jiných organismech (lze dovodit i podle genových fúzí)

<http://proteome.wayne.edu/PIDBL.html>

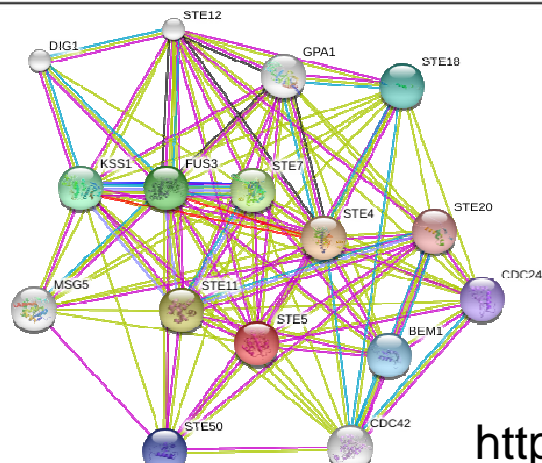
Informační zdroje PPI

Table 2. Databases Available for Searching and/or Downloading Data Related to Protein Interactions

Database	Proteins/Domains	Type	Number of Interactions
DIP ^a , LiveDIP	P	E,S	55,733
BIND ^a	P	E,C,S	83,517
MPact/MIPS ^a	P	E,C,F	15,488 (4,300) ^b
STRING	P ←	E,P,F	730,000 (proteins)
MINT ^a	P	E,C	71,854
IntAct ^a	P ←	E,C	68,165
BioGRID ^a	P ←	E,C	116,000 (30,000) ^b
HPRD	P	E,C	33,710
ProtCom	P,D	S,H	1,770
3did, Interprets	D	S,H	3,304
Pibase, ModBase	D	S,H	2,387
CBM	D	S	2,784
SCOPPI	D	S	3,358
iPfam	D	S	3,019
InterDom	D	P	30,037
DIMA	D	F,S	—
Prolinks	P	F	—

Table 3. URLs and Primary Citations for Protein Interaction-Related Databases

Database	URL/FTP
DIP [102], LiveDIP[103]	http://dip.doe-mbi.ucla.edu
BIND [105]	http://bind.ca
MPact/MIPS [97]	http://mips.gsf.de/services/ppi
STRING [119]	http://string.embl.de
MINT [120]	http://mint.bio.uniroma2.it/mint
IntAct [121]	http://www.ebi.ac.uk/intact
BioGRID [122]	http://www.thebiogrid.org
HPRD [123]	http://www.hprd.org
ProtCom [124]	http://www.ces.clemson.edu/compbio/ProtCom
3did [108], Interprets[125]	http://gatealoy.pcb.ub.es/3did/
Pibase [107], ModBase [126]	http://alto.compbio.ucsf.edu/pibase
CBM [26]	ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/cbm
SCOPPI [111]	http://www.scoppi.org/
iPfam [127]	http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/iPfam
InterDom [128]	http://interdom.lit.org.sg
DIMA [129]	http://mips.gsf.de/genre/proj/dima/index.html
Prolinks [104]	http://prolinks.doe-mbi.ucla.edu/cgi-bin/functionator/pronav/



STRING

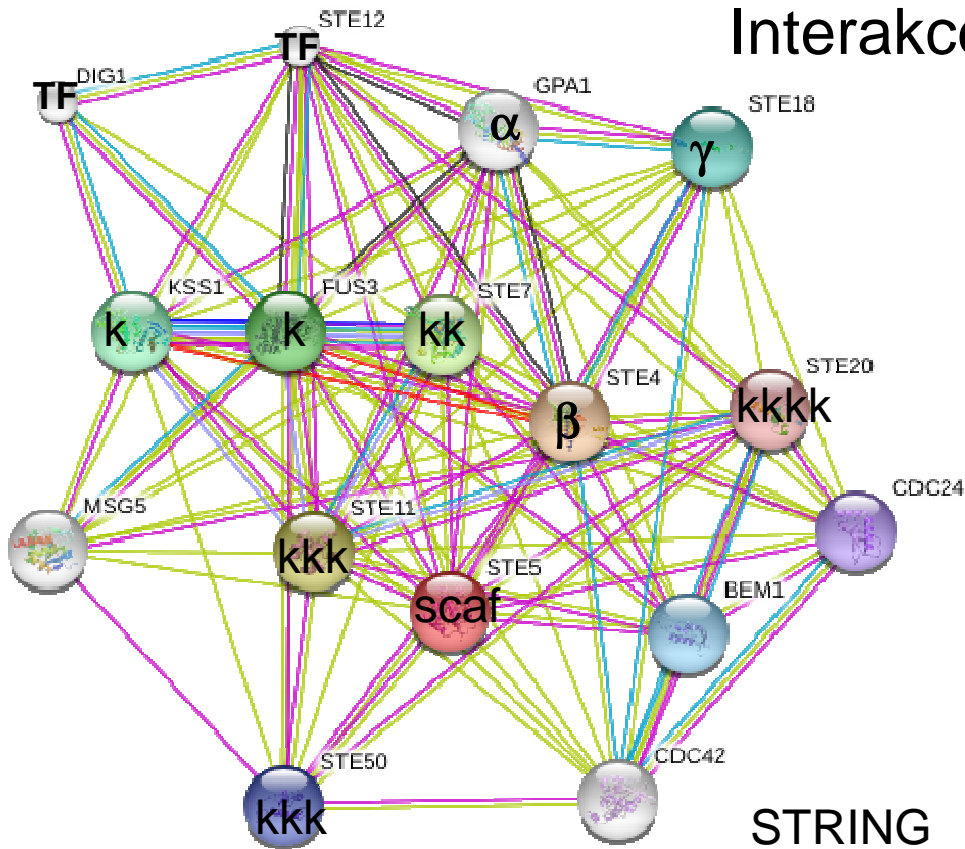
Sítě – založené na informacích o binárních interakcích

<http://string-db.org>






Shoemaker and Panchenko, PLoS Comp Biol, 2007

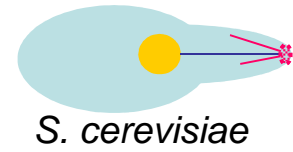
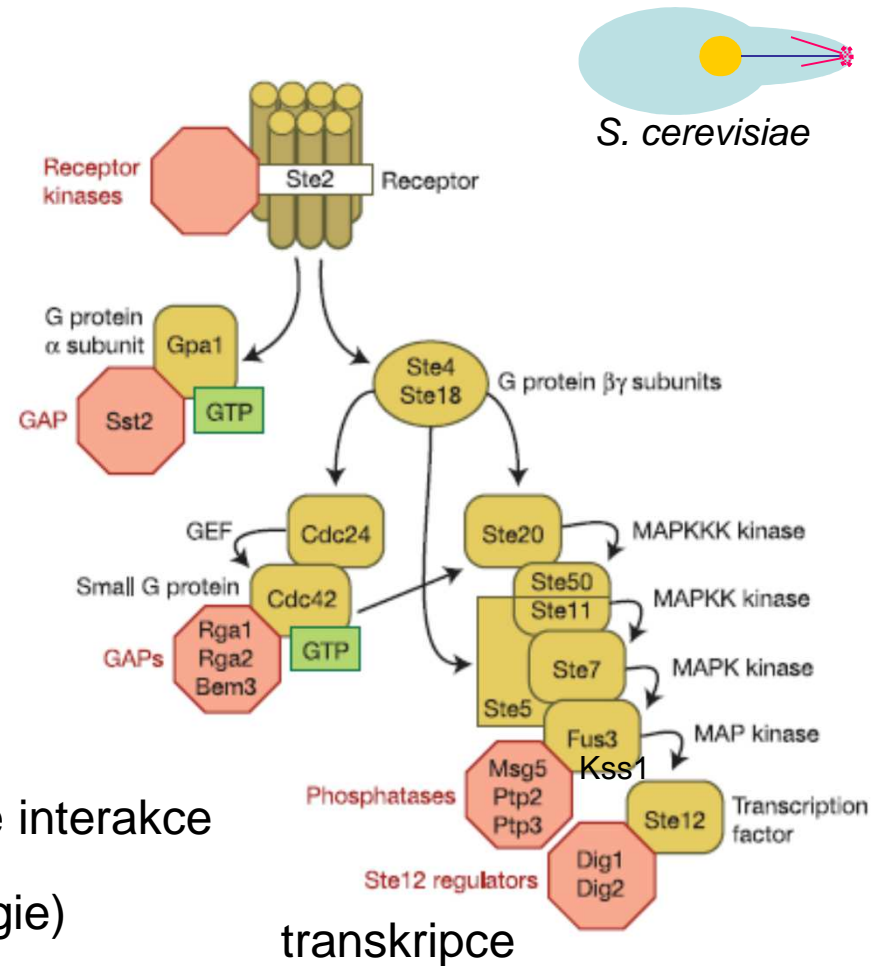
proteinové sítě – chybí info o posloupnosti, síle ... interakcí

Interakce x signální dráha



STRING

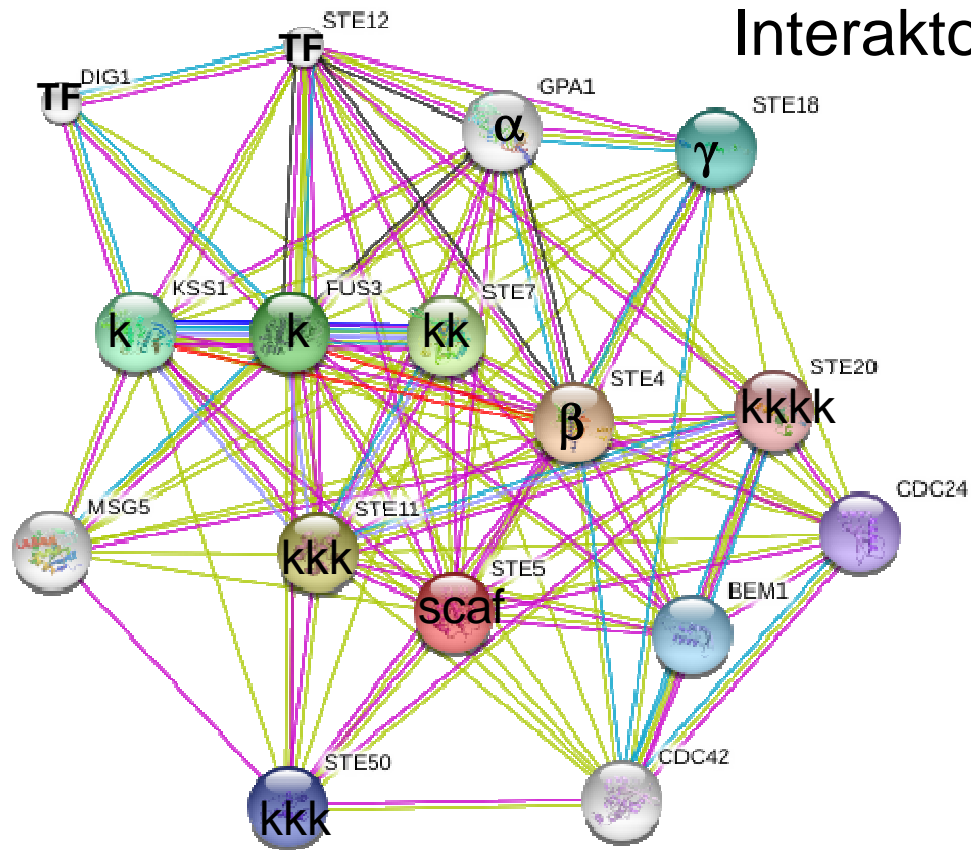
-  Experiments Y2H, colP ... genetické interakce
-  Databases Funkční vztahy (ontologie)
-  Textmining
-  Gene Fusion Svědčí o potřebě PPI
-  Coexpression Potřeba výskytu ve stejném okamžiku a společná translace



transkripce

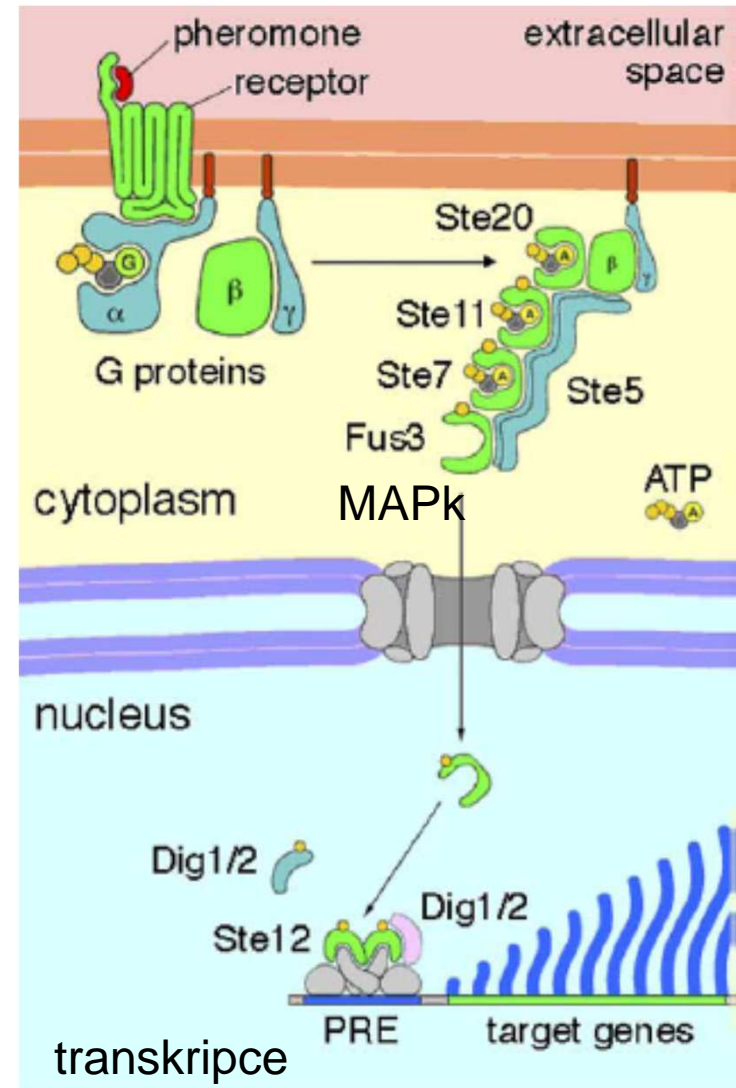
proteinové sítě – chybí info o lokalizaci, komplexech ...

Interaktom x komplexom



- Experiments
- Databases
- Textmining
- Gene Fusion
- Coexpression

Síť neznamená komplex,
ale vztah



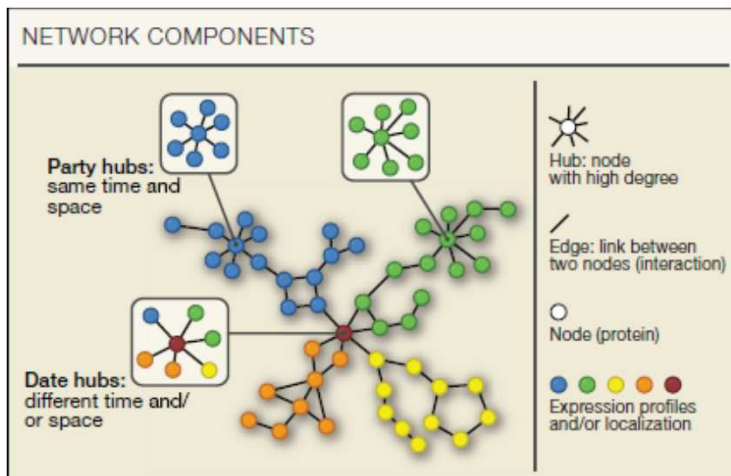
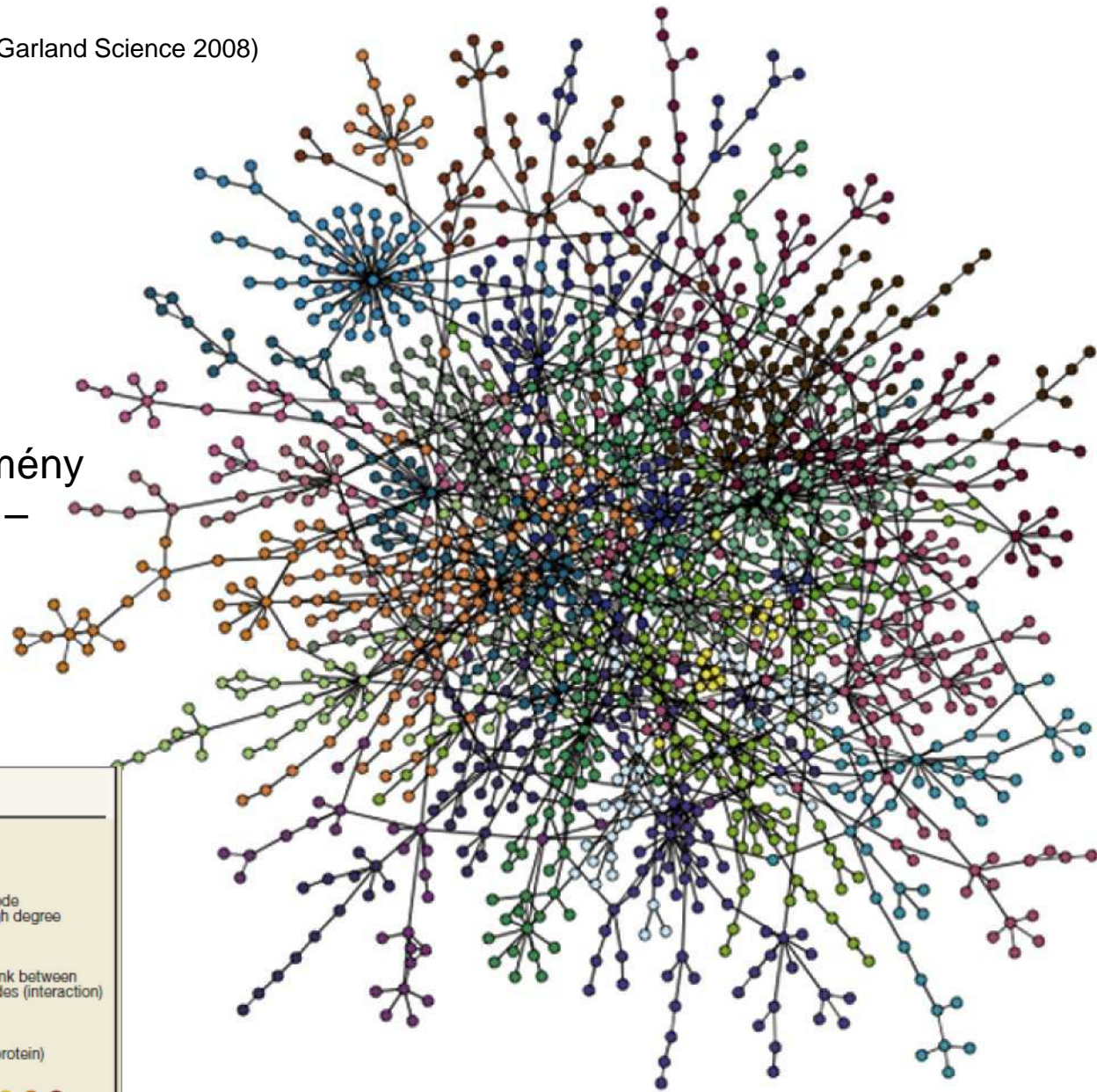
Wang et al., Nature, 2004

Interaktom x komplexom

Figure 3-83 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Naznačují funkční vztahy (např. buněčný cyklus – struktura chromatinu ... je zprostředkován PPIs)

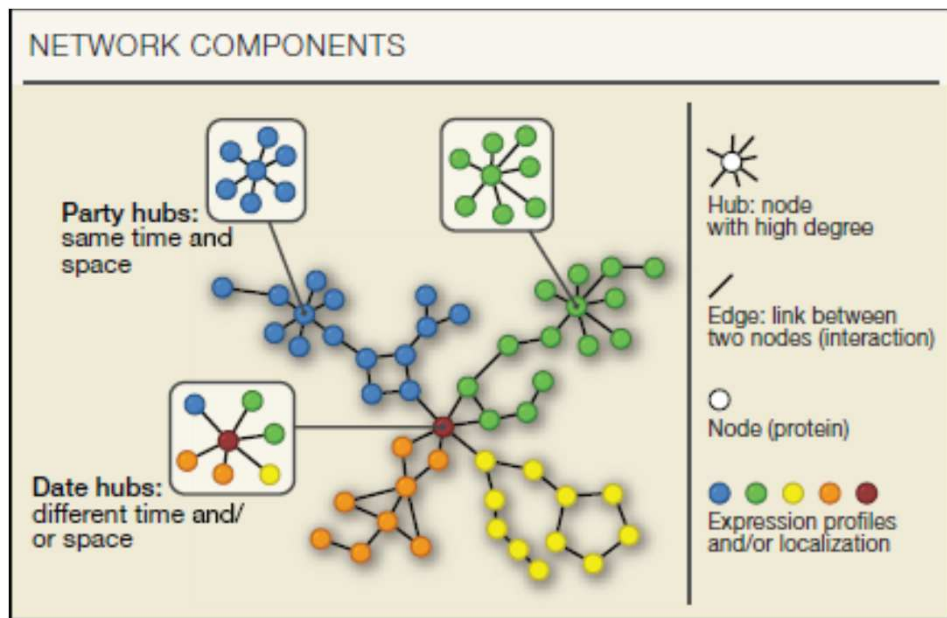
Modularita – interagují domény (jeden protein více domén – zapojení do více procesů)



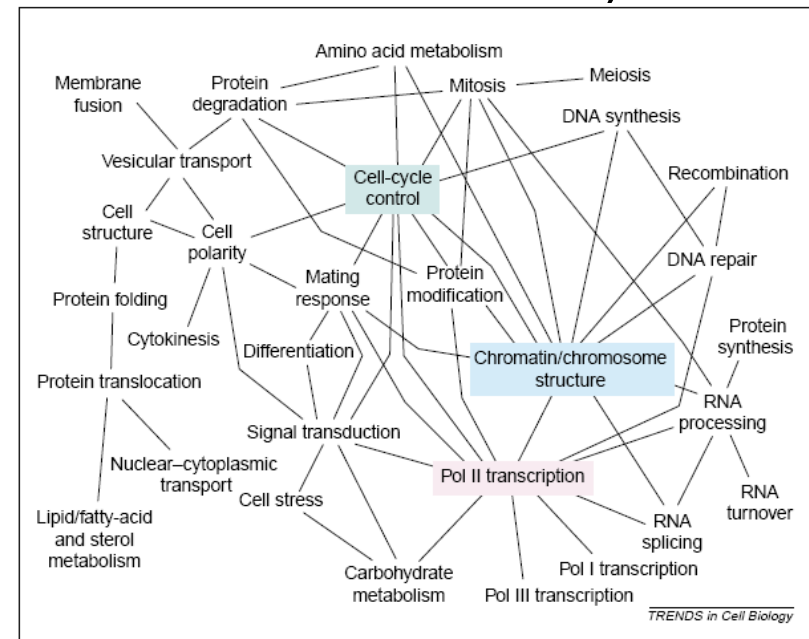
Seebacher & Gavin, *Cell* (SNAP SHOT), 2011

Protein-proteinové interakce

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

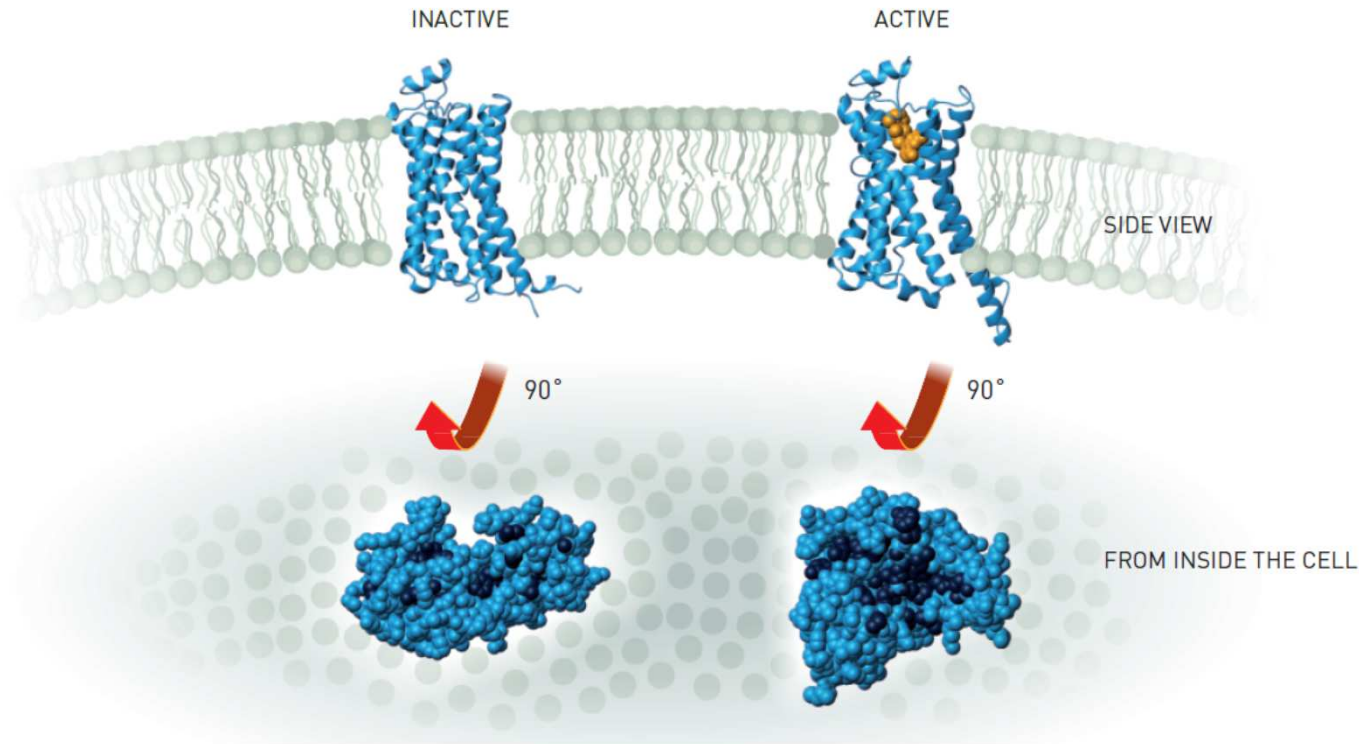


Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011



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

Příklad hydrofobní interakce ... (doc. Marek)



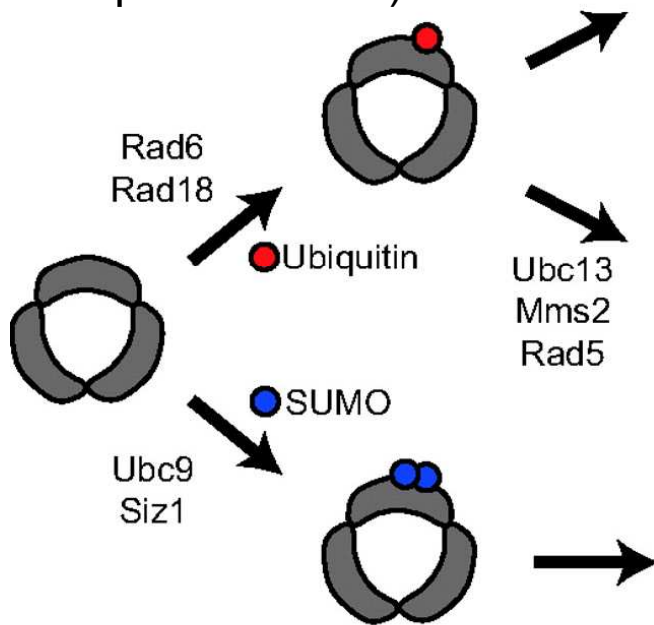
Hormon se naváže na vnější část receptoru a způsobí konformační změnu receptoru – změna se projeví i na opačné (vnitřní) straně receptoru a podhalí hydrofobní aminokyseliny – protein $G\alpha$ se naváže na hydrofobní povrch (problém krystalizace – vyřešeno přidáním interakčního partnera)

receptor-agonist komplex je nestabilní (těžko krystalizovatelný ...)

Trik: koexprese partnera (protein G) nebo protilátky – naváže se a stabilizuje komplex

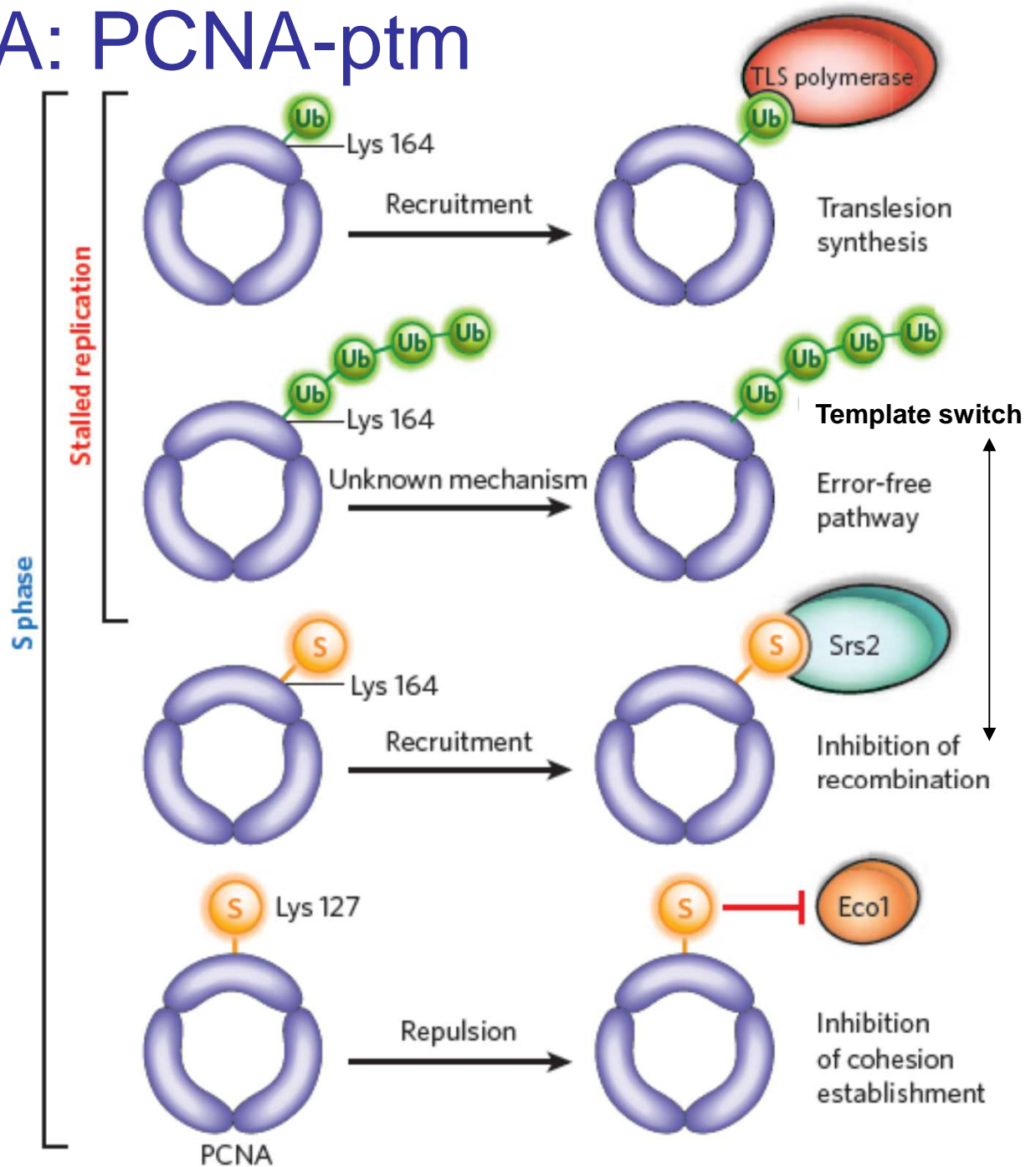
Oprava DNA: PCNA-ptm

TLS polymerasy (η , ι , κ) obsahují UBM (správně přečtou chybu a zařadí správnou bázi)



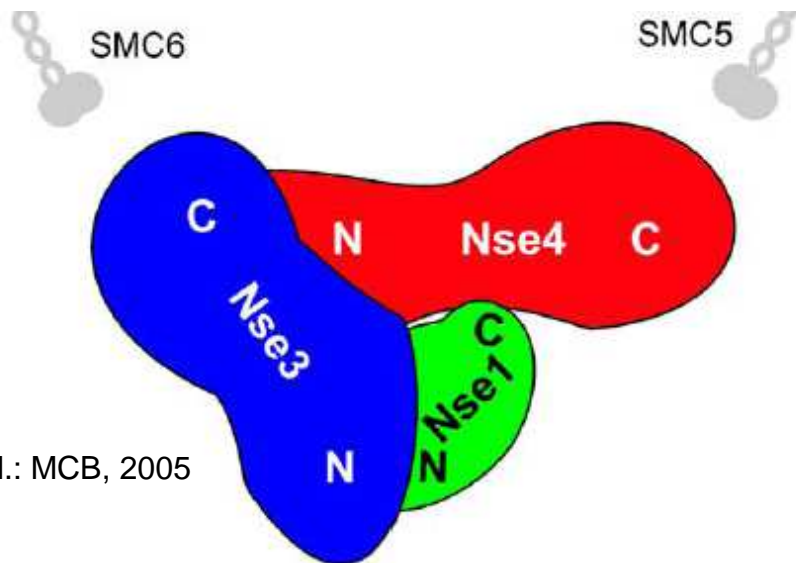
Srs2 (antirekombinása) obsahuje SIM (nedovolí rekombinaci v průběhu replikace)

Bergink & Jentsch, Nature, 2009
Sale et al, JCS, 2012

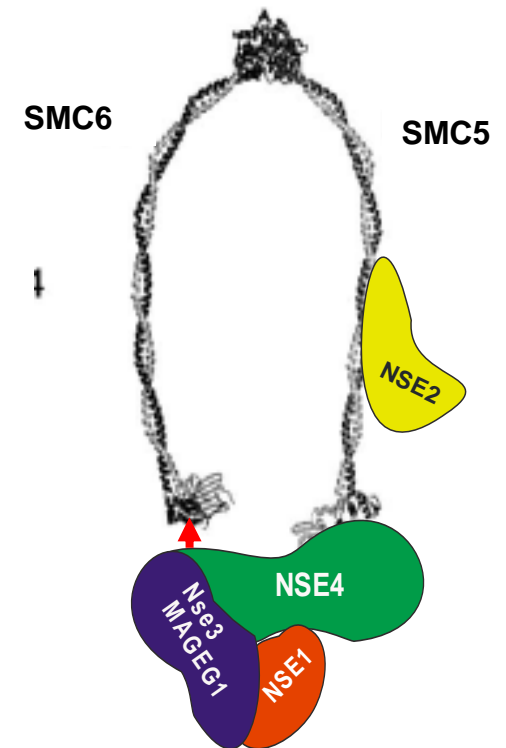


... kvarterní struktura

- více povrchů jednoho proteinu interaguje s více partnery
- vzájemné interakce více proteinů vytváří větší povrchy a vzájemně se stabilizují – vzniká pevný komplex

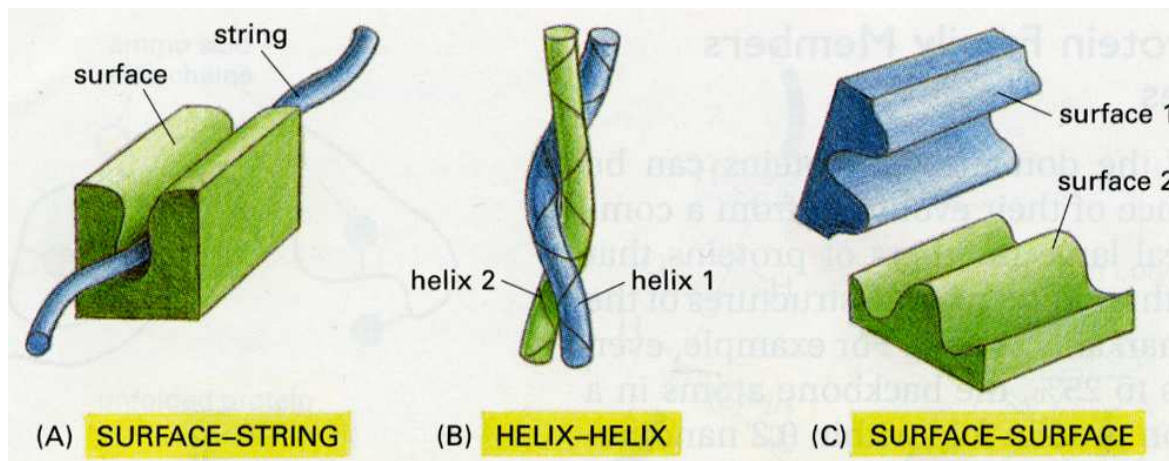


Sergeant et al.: MCB, 2005



Souhrn - protein-proteinové interakce

- proteiny jsou troj-rozměrné - mají různé tvary a více domén => mají mnoho vazebných míst na povrchu => komplexy a "sítě"
- části proteinů/domény interagují s doménami partnerů
 - domény mají určitou strukturu, která do značné míry determinuje tvar jejího povrchu, ale ...
 - charakter (hydrofobicitu, polaritu, náboj) povrchu určují postraní řetězce aminokyselin směřujících do solventu, takže ...
 - interakce proteinu je determinována povrchem, který musí mít tvar i charakter komplementární s interakčním partnerem (typy interakcí: ...)
 - predikce PPI je obtížná (molekulární dynamika)



- Proteiny – struktura a funkce
 - Proteiny – primární, sekundární a terciární struktury
 - Skládání proteinů
- Protein-proteinové interakce
 - Typy PPI
 - Vliv PTM na PPI
- Funkční proteomika
- Proteinové interakce – domény, typy vazeb, interaktom
- komplexom