



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



doc. Jan Paleček
jpalecek@sci.muni.cz

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

- **Proteinové interakce – 11.10.**
 - jak spolu proteiny interagují?
 - interaktom
- **Proteinové komplexy – 18.10.**
 - Komplexom
 - architektura a funkce komplexů

**CG030 – Struktura a funkce proteinových komplexů
(jarní semestr)**

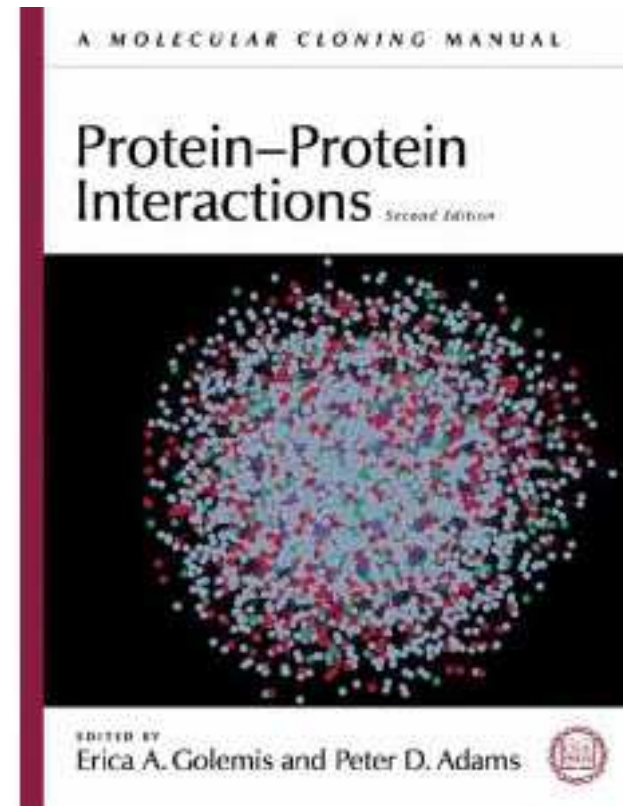
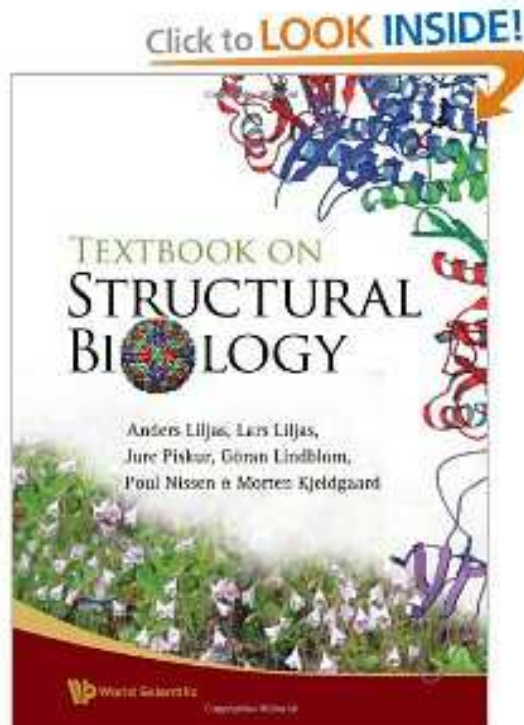
Doc. Jan Paleček

Informační zdroje

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

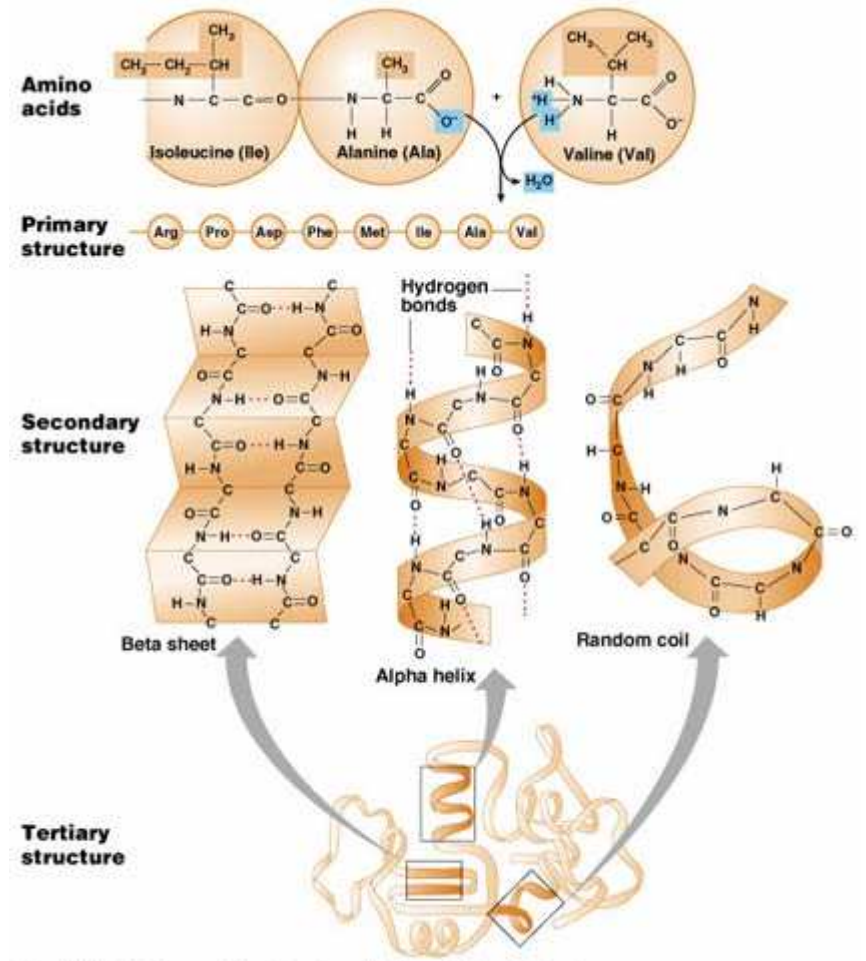
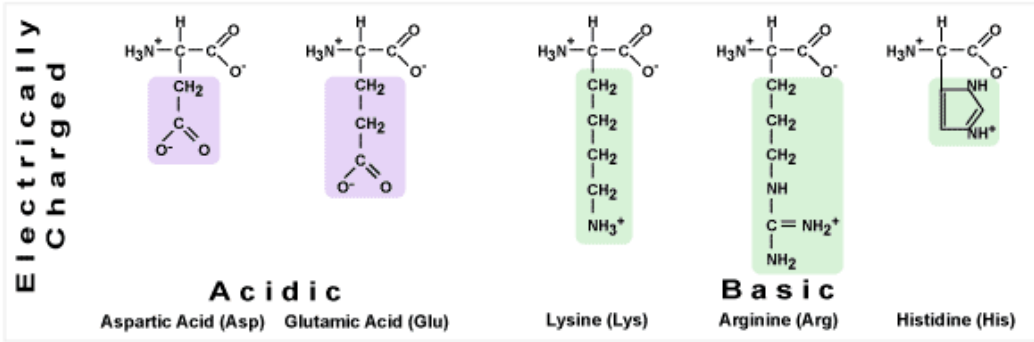
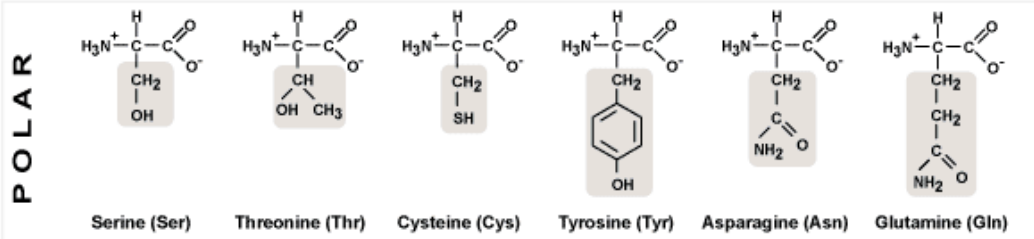
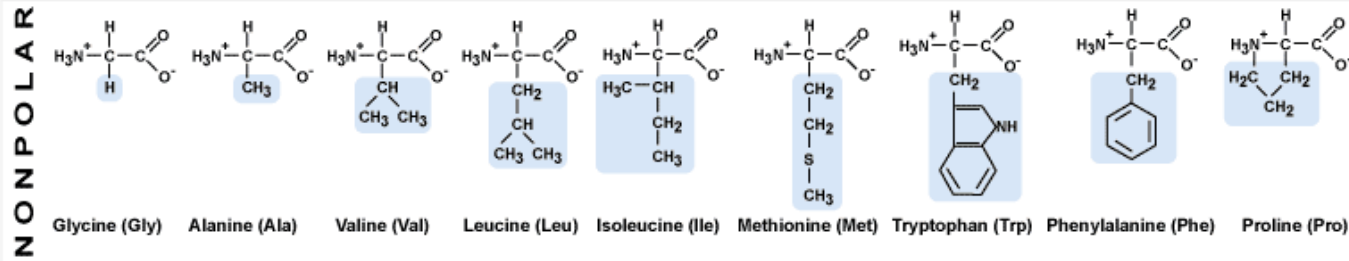
Liljas a spol: Structural biology (2009) ...

... 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>

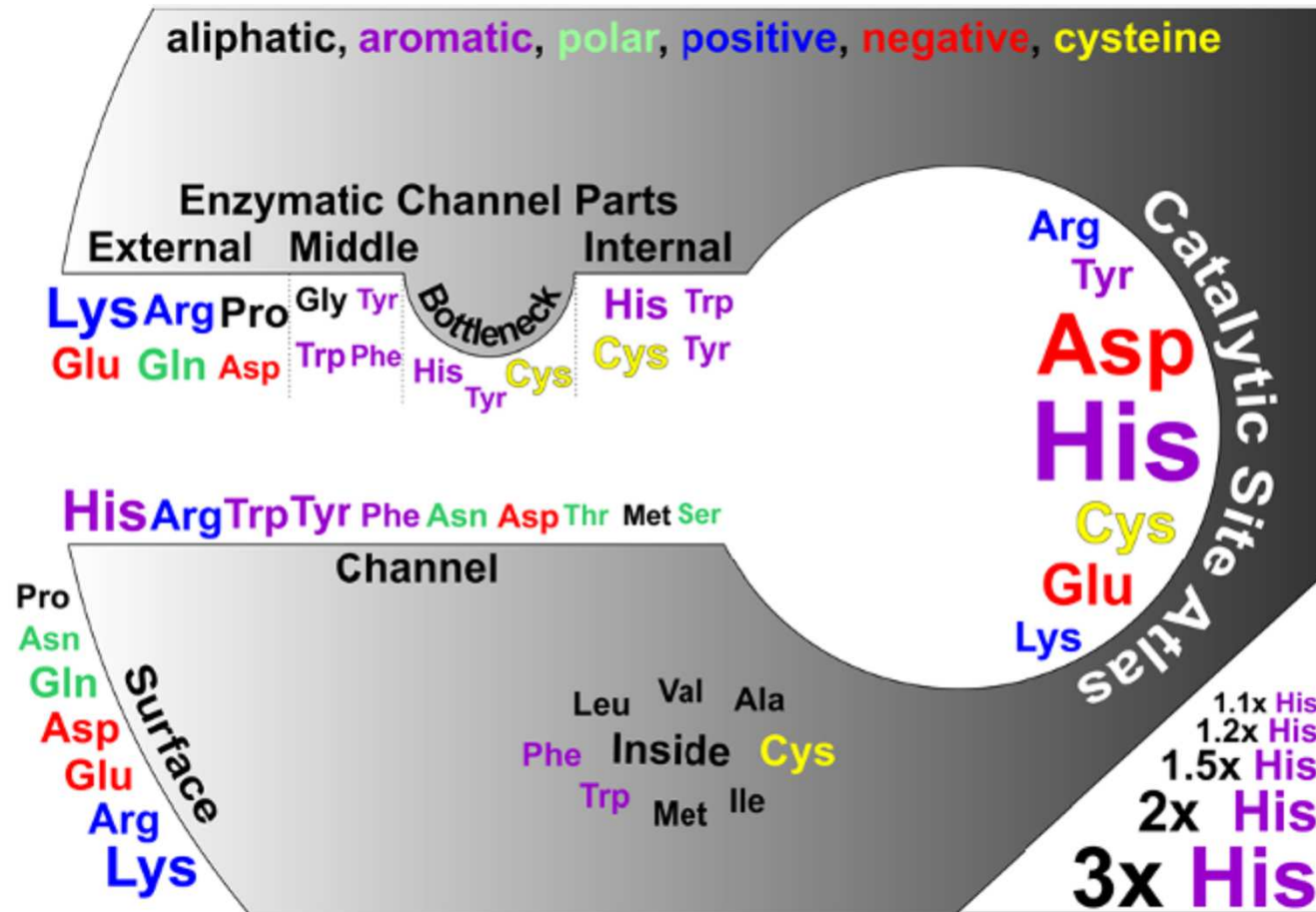


Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Základní proteinové charakteristiky

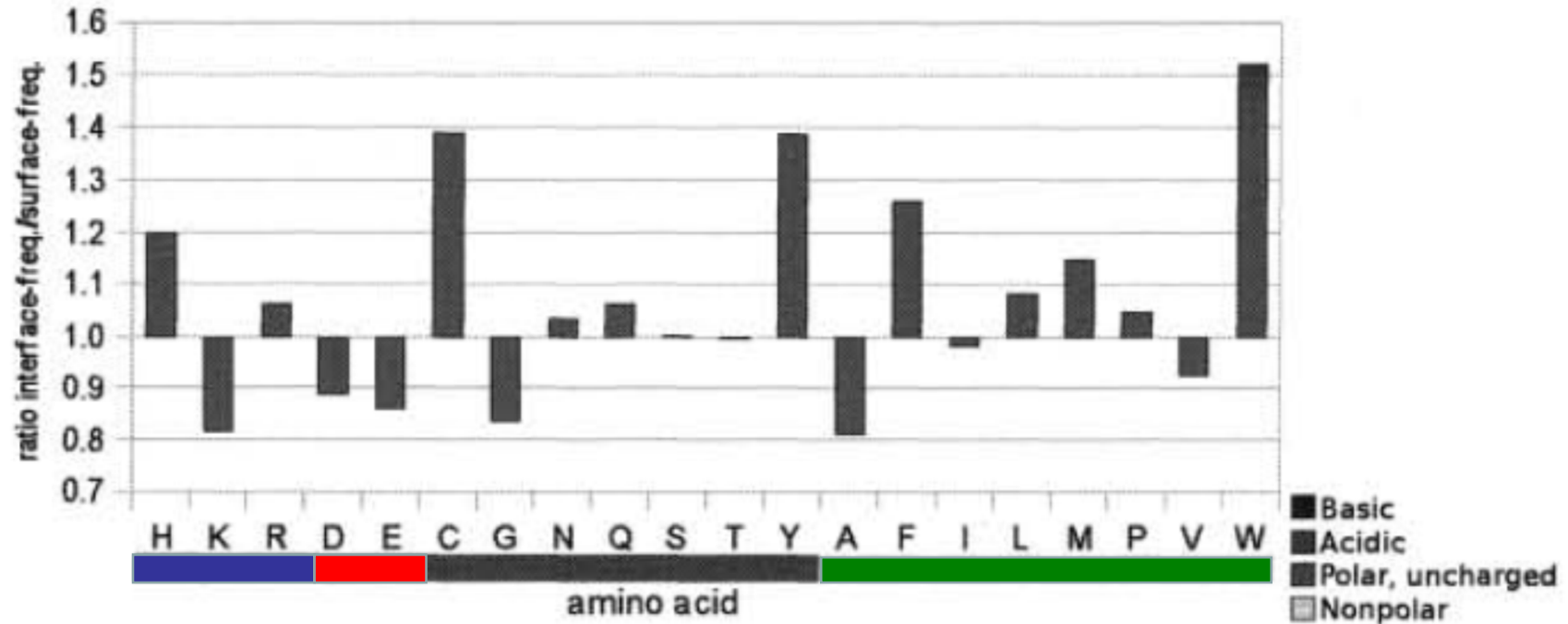
- Primární
- Sekundární
- Terciární
- Kvarterní

Podíl AMK (primární struktury) na proteinových interakcích



- uvnitř hydrofobní, povrch polární/nabitý (do solventu/vody),
ale katalytická centra (tunely) jsou také polární a nabité
(katalýza biochemické reakce)

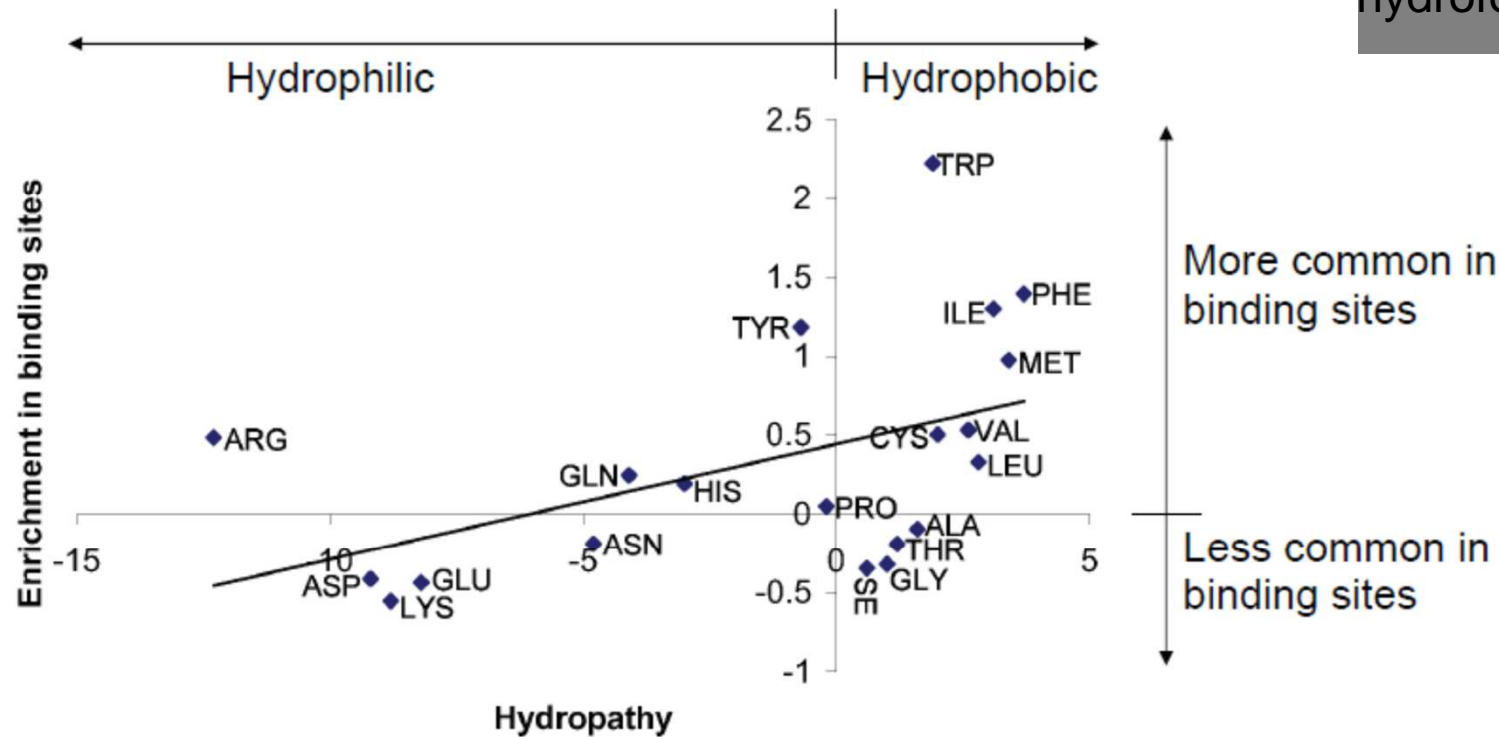
Protein-proteinové interakce od primární struktury ...



poměr mezi výskytem AMK na „intaktním“ povrchu a interakčním povrchu – polární a nabité do solventu tj. povrchu - hydrofobní na povrchu nejčastěji vytváří protein-proteinové interakce

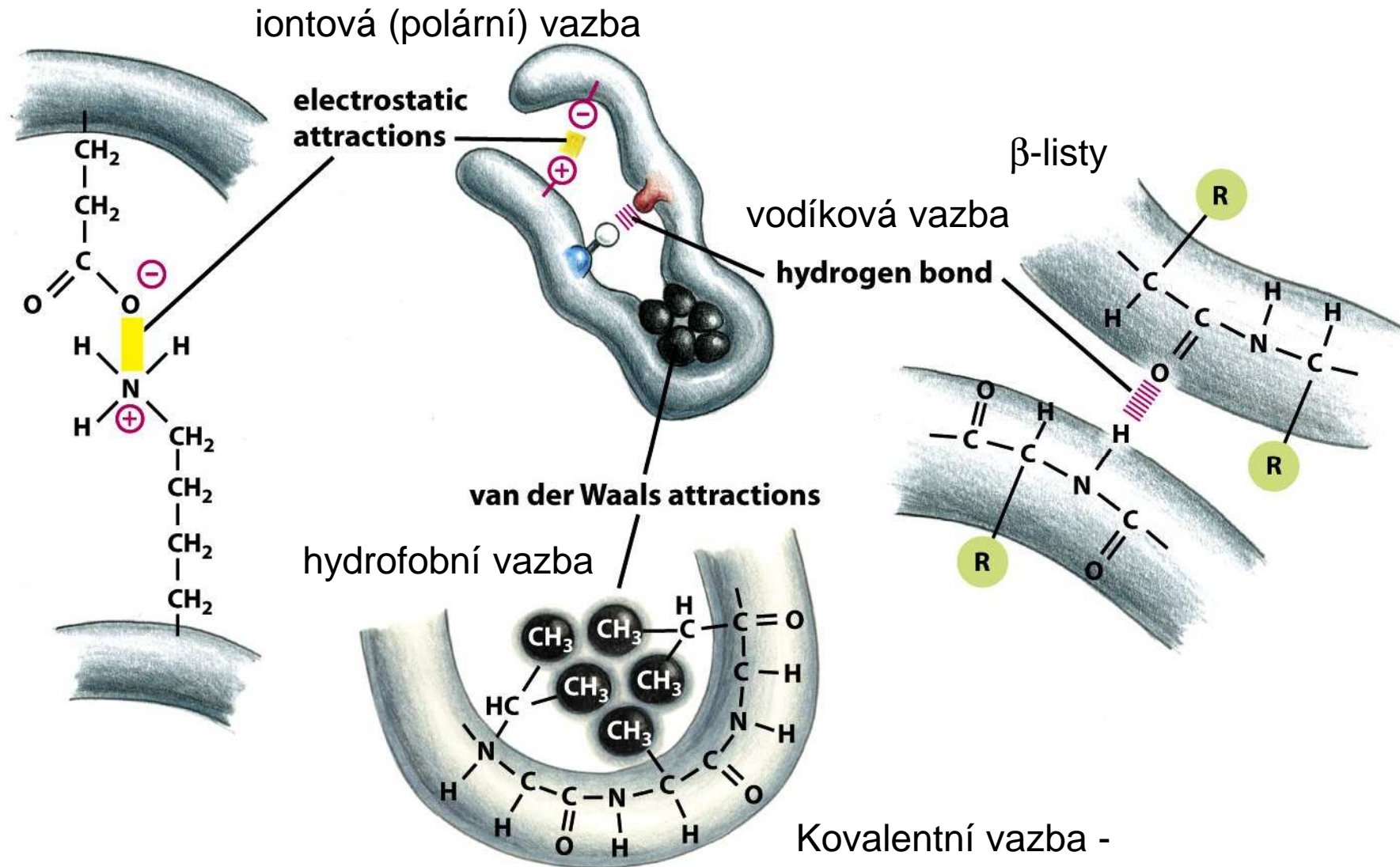
Protein-proteinové interakce od primární struktury ...

hydrofobní



- **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

Typy vazeb v PPI

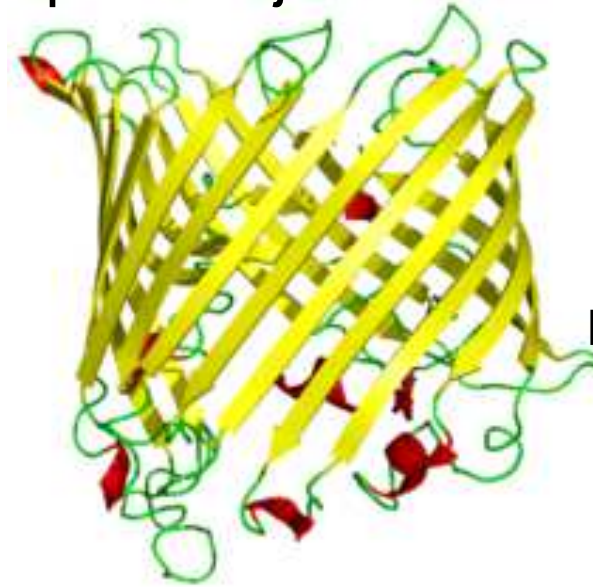
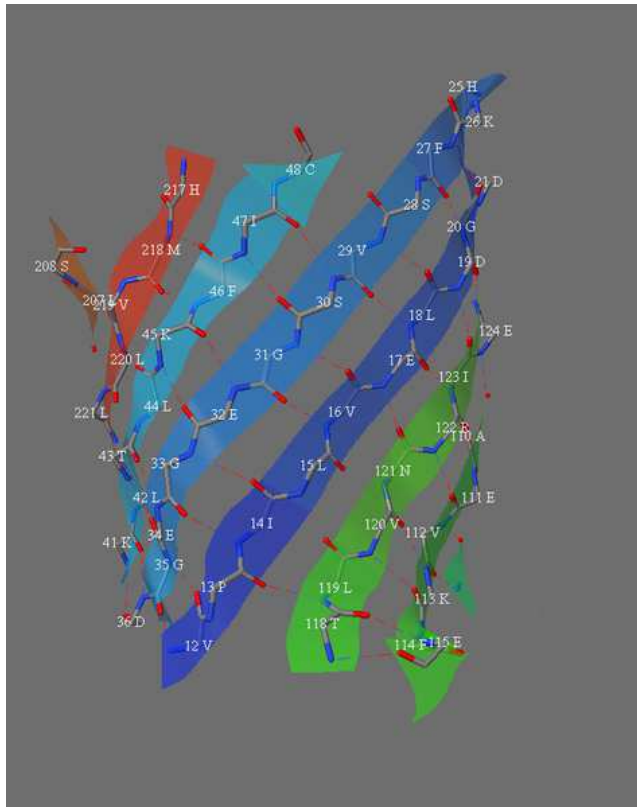


Kovalentní vazba -
 vyjimečně např. disulfidické můstky
 nebo jiné posttranslační modifikace
 (ubikvitinace, SUMOylace)

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

... sekundární struktury ...

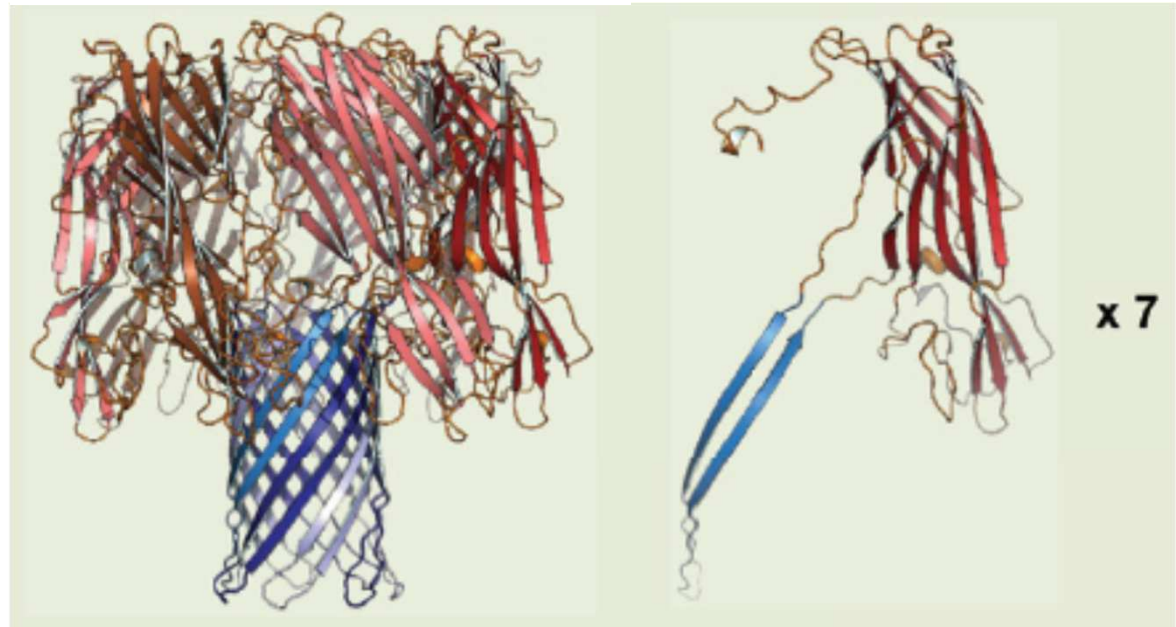
V interakcích beta-listů převažují vodíkové vazby (peptidového řetězce)



Porin
(1 ORF - polypeptid
prostup mitochondriální
membrány)

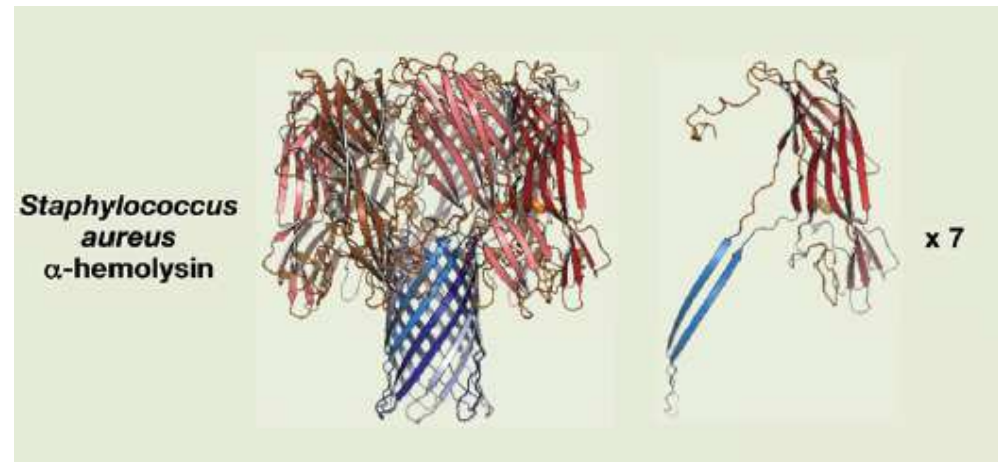
Podobný „pór“ vzniká
interakcí 7 podjednotek

Mueller & Ban, Cell, 2010
Los a spol, MMBR, 2013

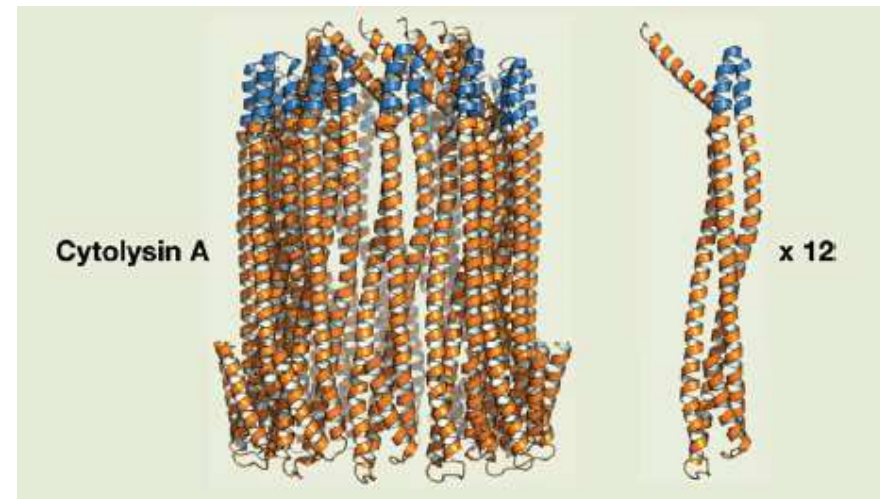
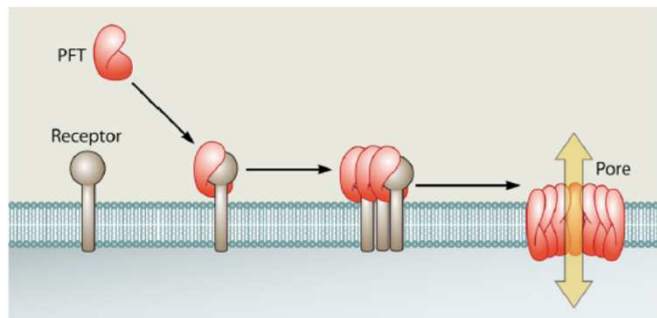


... sekundární struktury ...

- **listy, šroubovice, smyčky**
... se podílí na protein-proteinových interakcích (PPI) podobným způsobem jako při skládání proteinu do 3D – podobné sterické faktory (listy vůči sobě, šroubovice vůči sobě)



- **foldingskládání** ... struktura některých „disordered“ proteinů se utváří až v rámci interakce s druhým proteinem



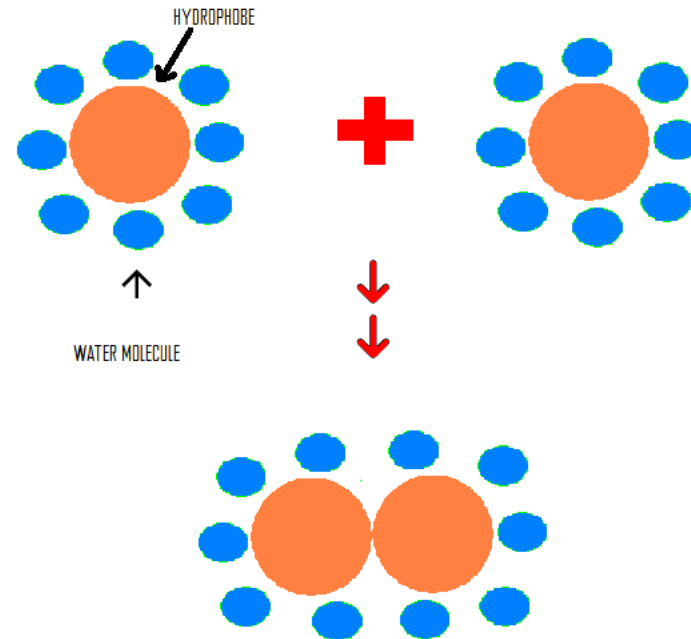
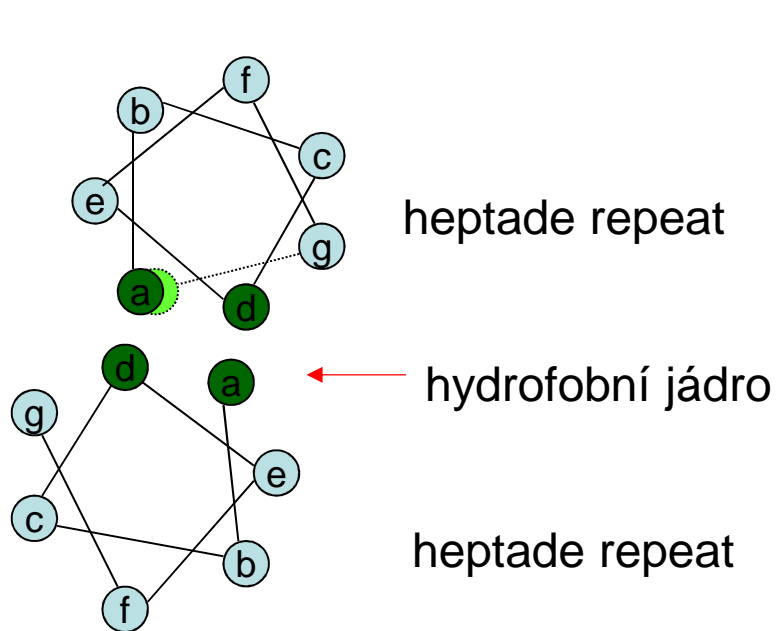
Toxiny – podjednotky se skládají tj. vytváří pór až v místě působení (neublíží původní buňce)

... sekundární struktury ...

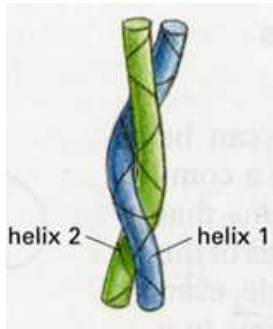
- šroubovice se vůči sobě orientují různým způsobem
- skládání slabých vazeb ovlivňuje sílu a specifitu celkové vazby

coiled-coil struktura

- dvě šroubovice s tzv. heptádovou repeticí (hxxhxxx – hydrofobní zbytky vytváří rozsáhlý povrch a tedy silnou vazbu)



...LKSLHNQLRDLEESLTH...

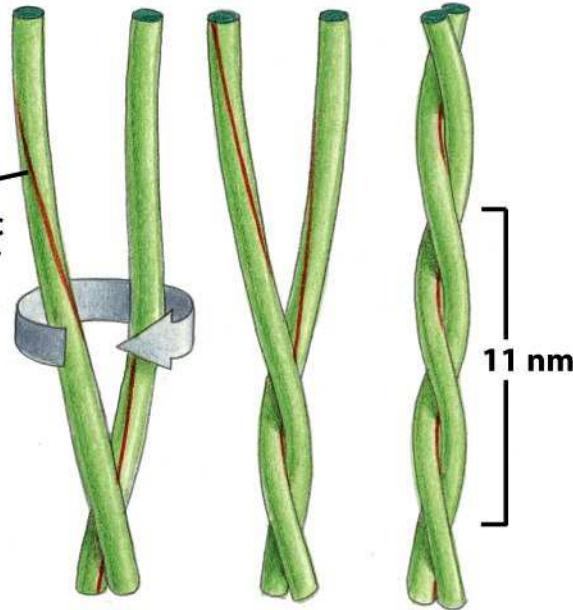


coiled-coil struktura

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

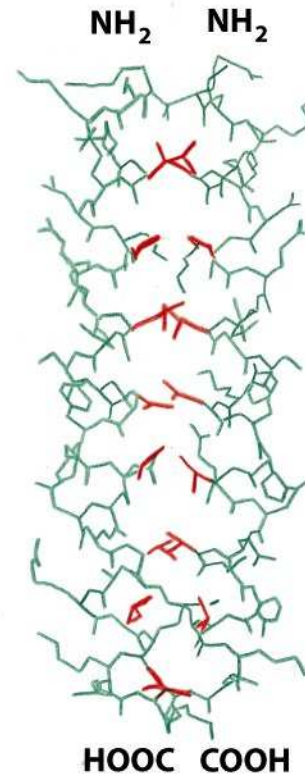


stripe of hydrophobic "a" and "d" amino acids



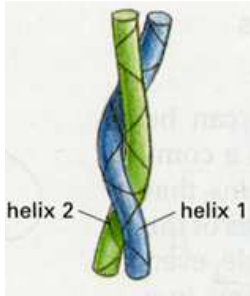
hydrofobní jádro

...LKSLHNQLRDL~~EES~~LTH...



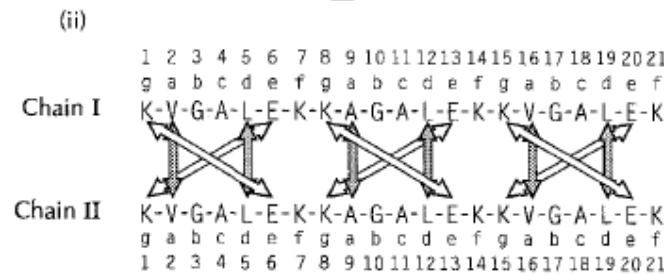
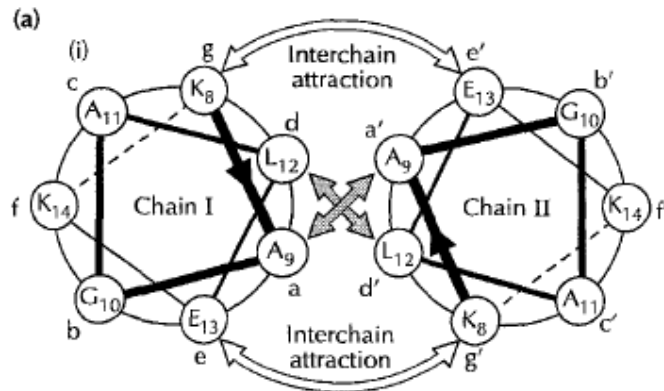
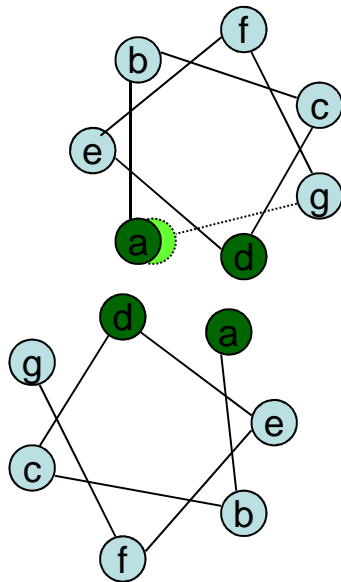
paralelní šroubovice

(C)

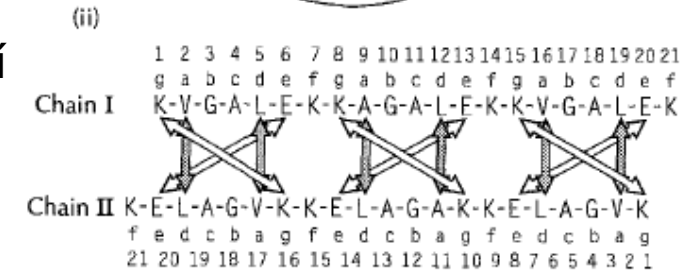
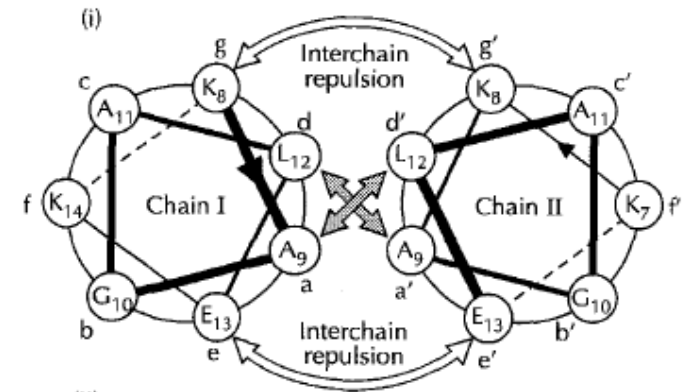


Coiled-coil struktura

Síla interakce může být ovlivněna sousedními AMK



Sousední AMK stabilizují interakce šroubovic

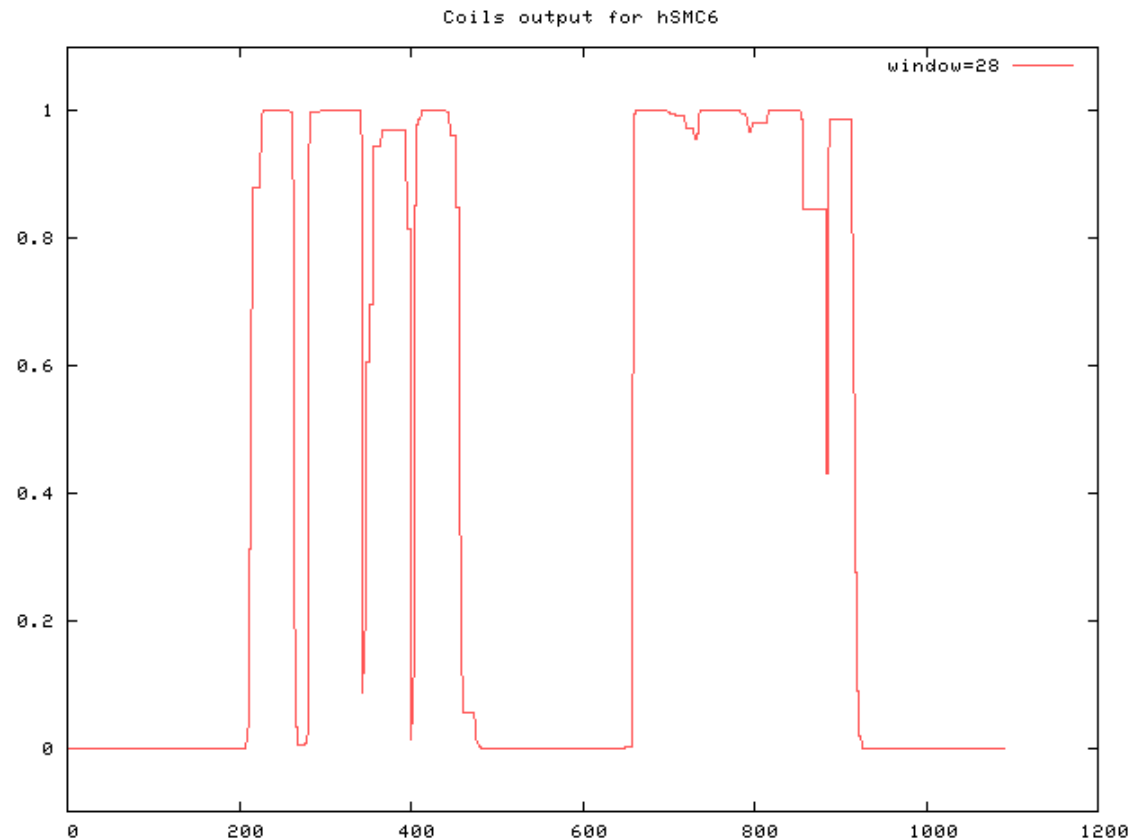


Sousední AMK destabilizují interakce šroubovic

Adamson et al.: CO in Biotech, 1993

Coiled-coil struktura

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



- CC v SMC proteinech jsou intramolekulární (antiparalelní)



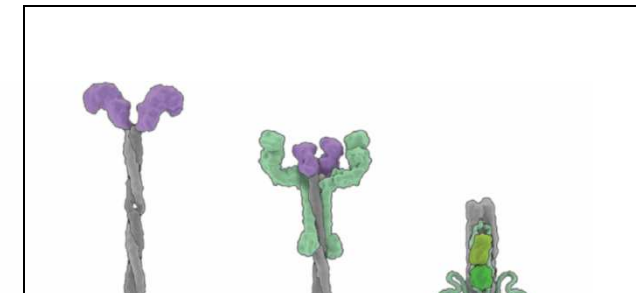
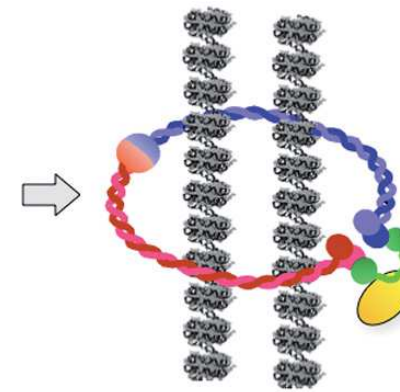
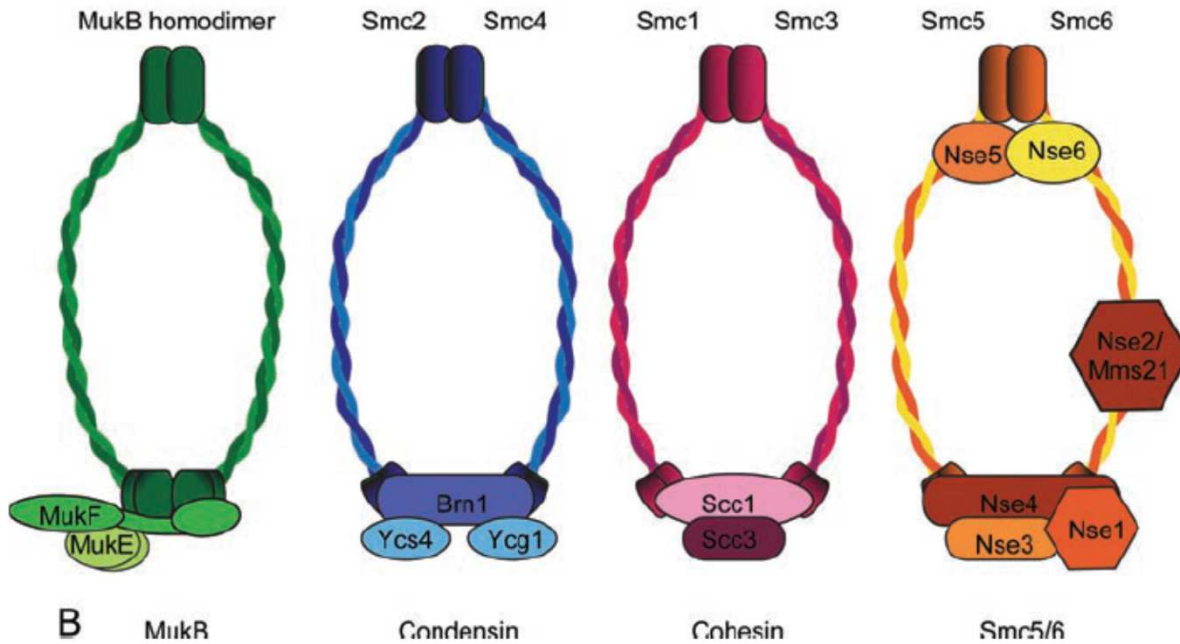
Intermolekulární – proteinové interakce



Intramolekulární – v rámci foldingu

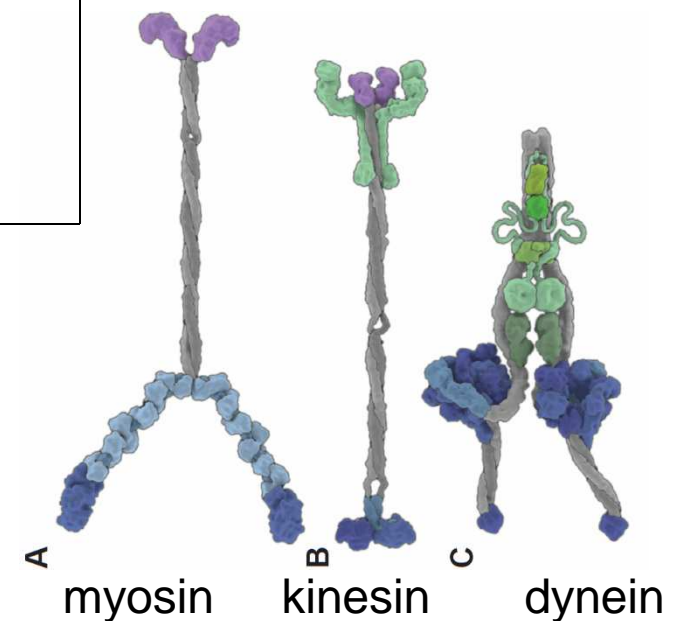
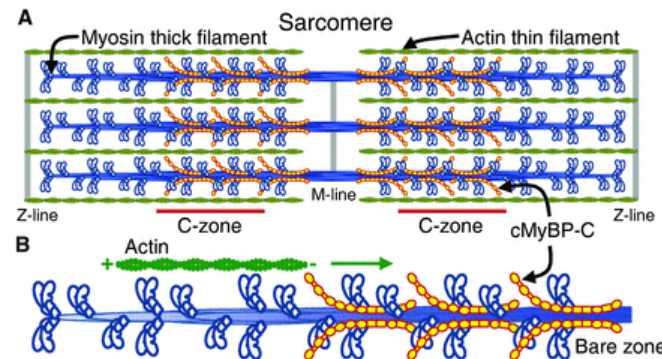
Coiled-coil struktura

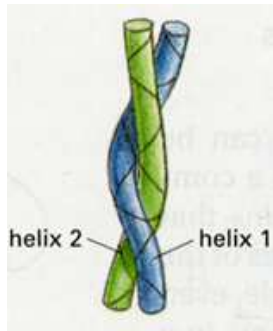
-dlouhé CC (>100AMK) vytváří vláknité struktury (myosin, SMC ...)



- CC v SMC jsou intramolekulární a antiparalelní

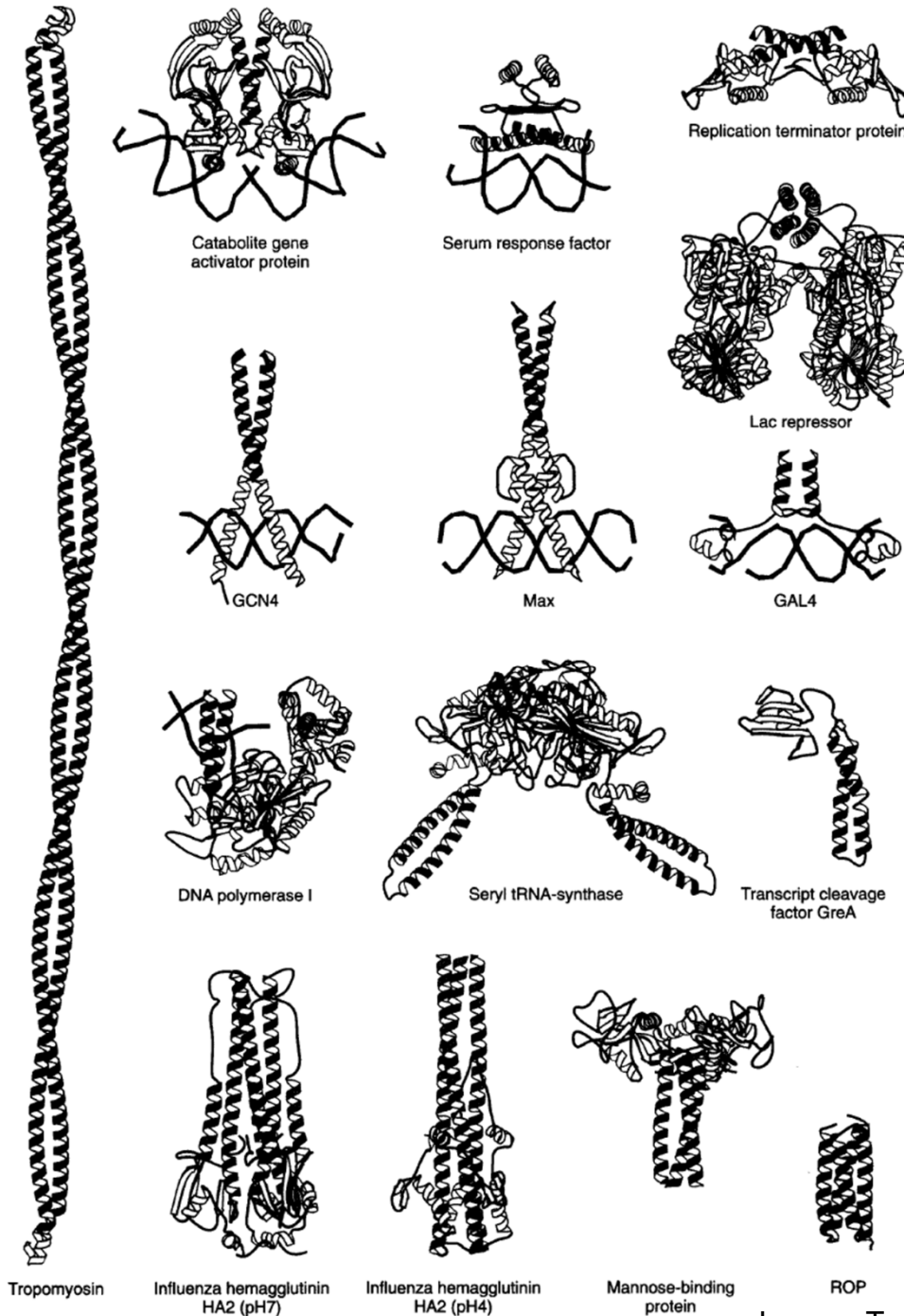
- CC v myosinu je intermolekulární (paralelní)



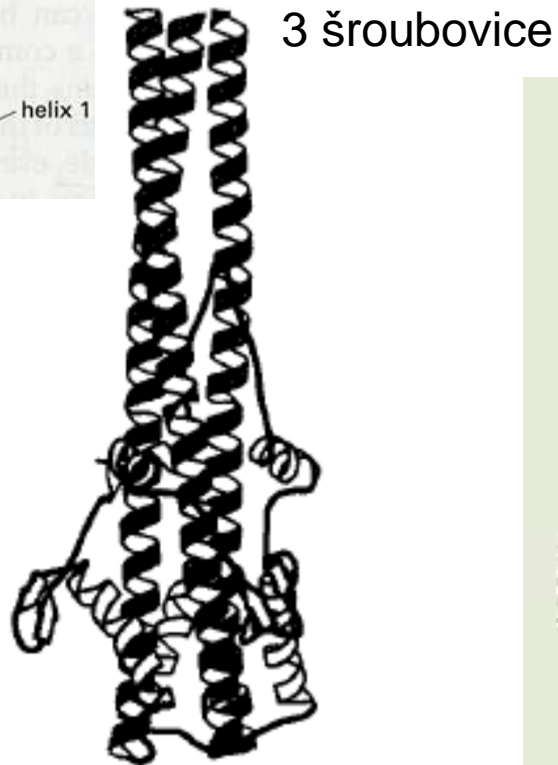
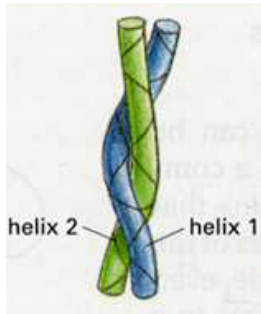


Coiled-coil
doména je
významným
dimerizačním
modulem u mnoha
proteinů (GCN4,
Max ...)

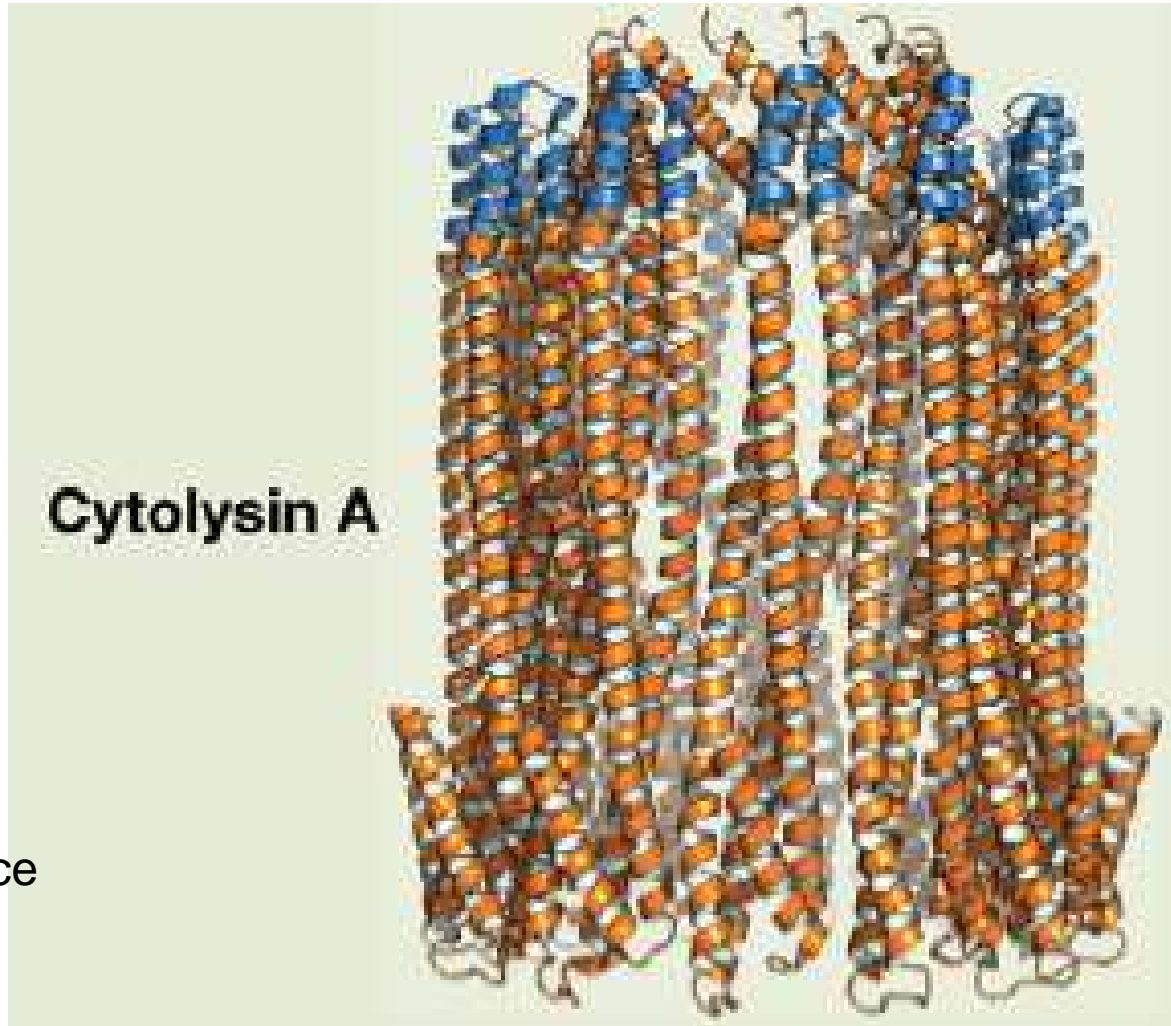
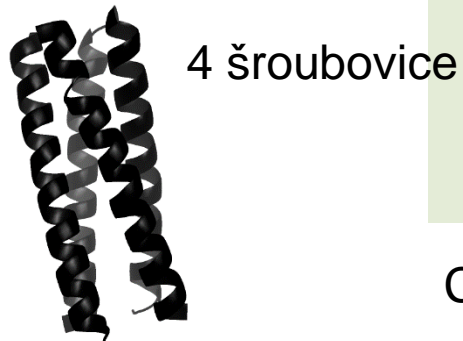
Intermolekulární -
homo- či
heterodimery
(oligomery)



Interakce šroubovic

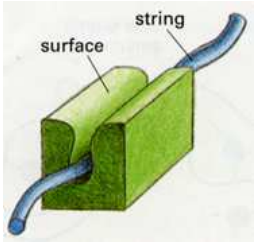


Influenza hemagglutinin



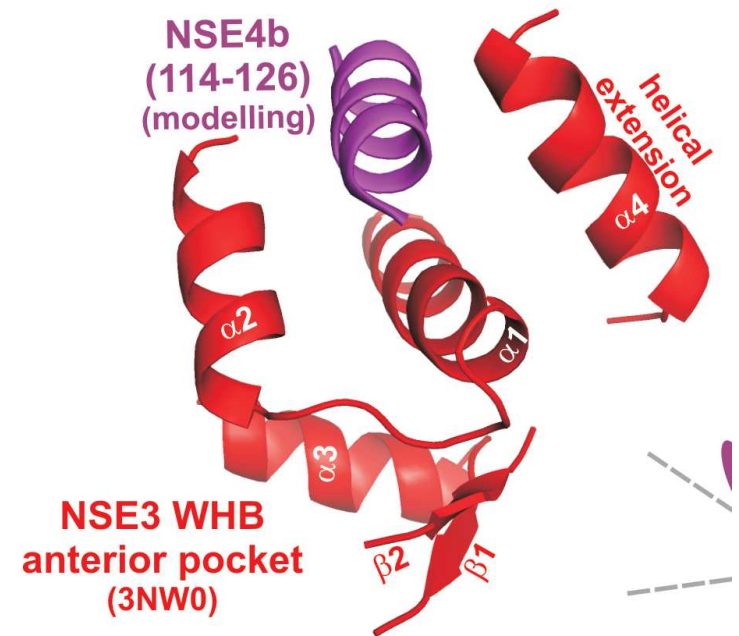
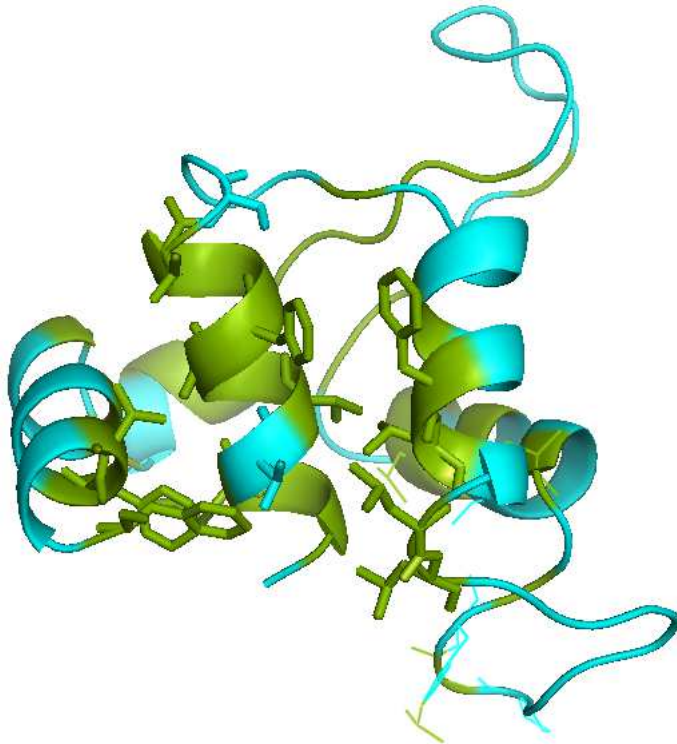
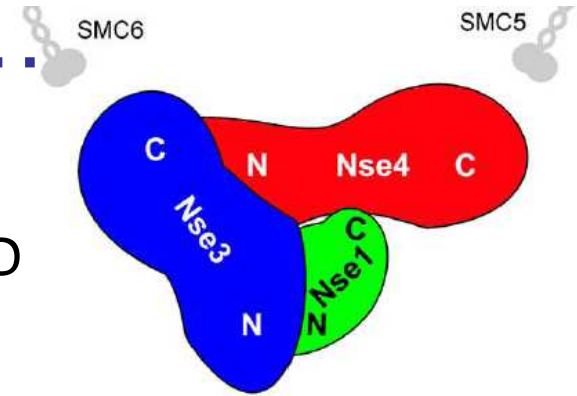
Cytolysin vytváří póry v membránách cizích buněk

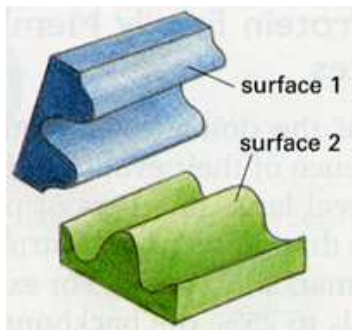
Šroubovice se pod určitým úhlem dotýkají - obtáčejí Mueller & Ban, Cell, 2010; 1QOY, 2WCD



... terciární struktura ... kapsa-peptid

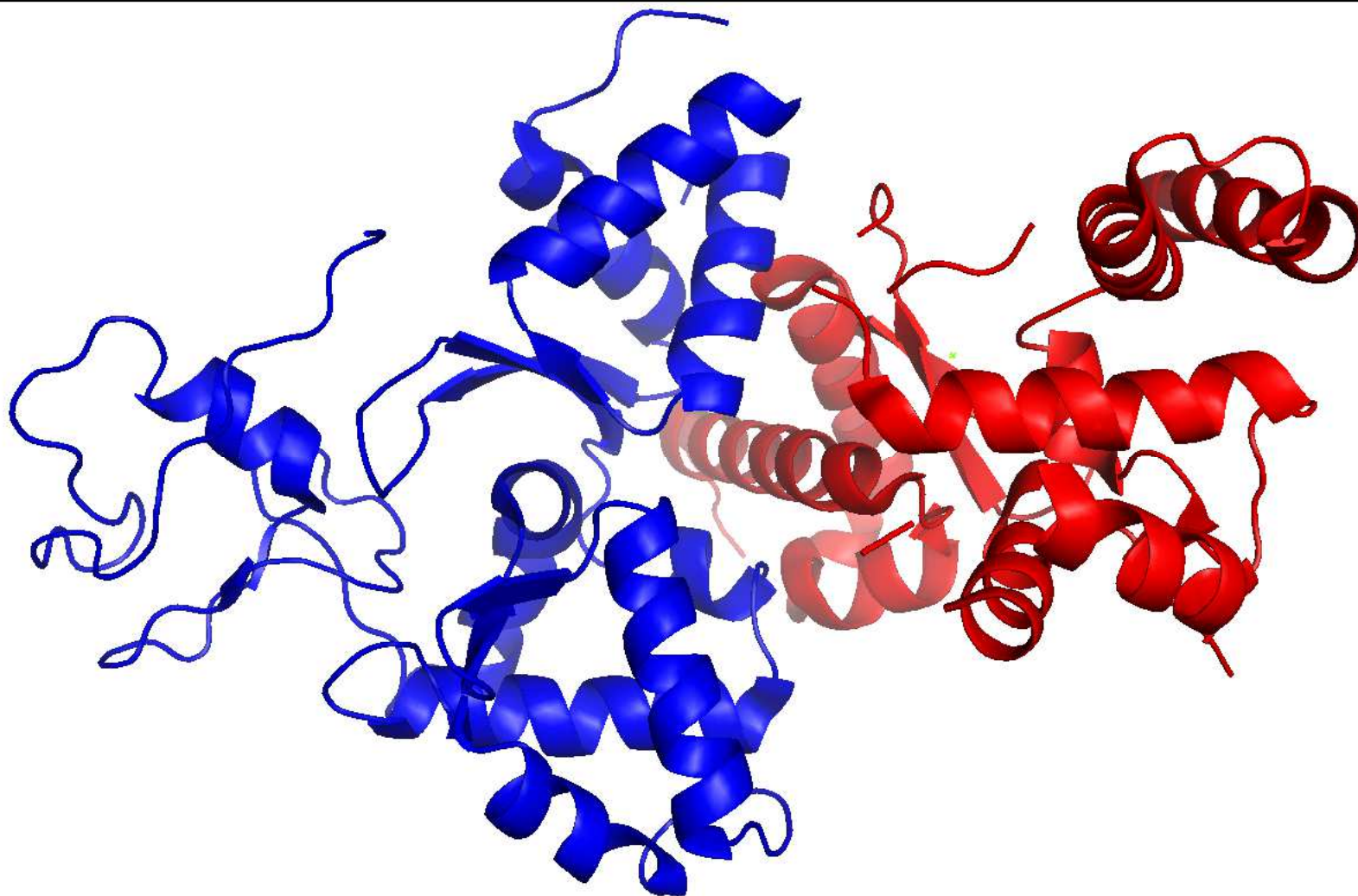
- Šroubovice interagují pod různými úhly např. WHD
- Slabá hydrofobní interakce mezi Nse3 a Nse4





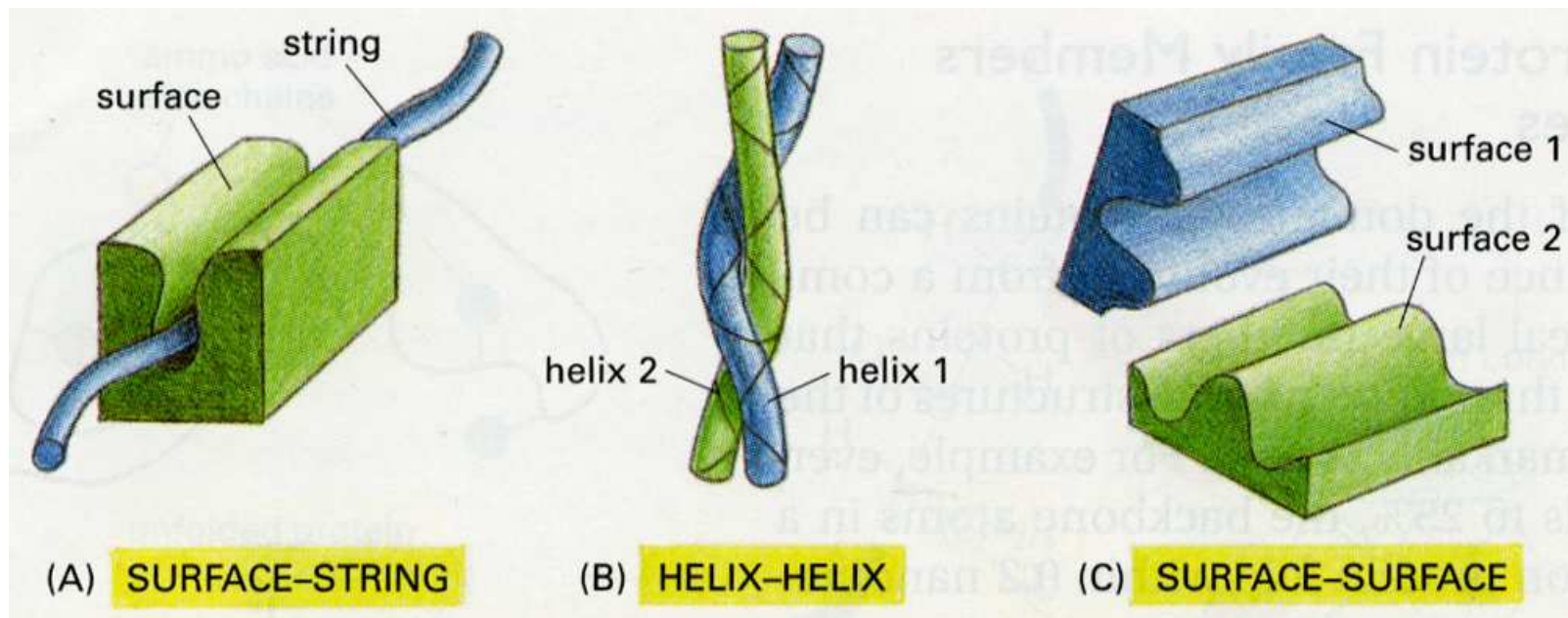
DOMÉNY - šroubovice, β -listy ... interagují pod různými úhly a vytváří různé vazebné motivy s rozsáhlými vazebnými povrchy

(kokystal NSE1-NSE3 proteinů)



interakční motivy

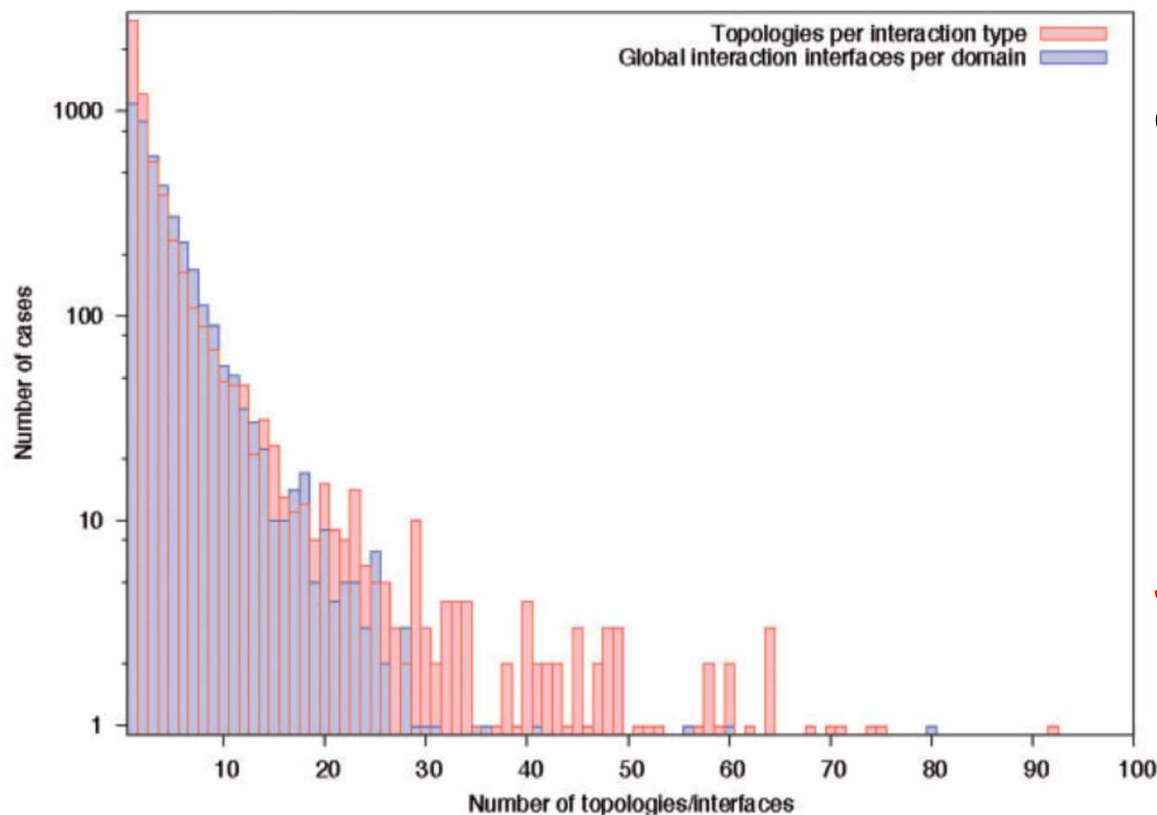
- další interakční motivy jsou těžko definovatelné
- z hlediska tvaru/povrchu je rozdělíme na coiled-coil, kapsa-peptid (kapsa se šroubovicí nebo s lineárním peptidem) a povrch-povrch (doména-doména)



proteiny musí mít **komplementární tvar i charakter**

interakční motivy

- další interakční motivy jsou těžko definovatelné
velké množství strukturních (Pfam) motivů => mnoho interakčních motivů



- Inter-chain jsou PPI
(intra-chain jsou mezi doménami téhož proteinu)

některé domény vážou různé partnery ale ... většina je v podstatě unikátní
(nejvíce 1-5 partnerů)

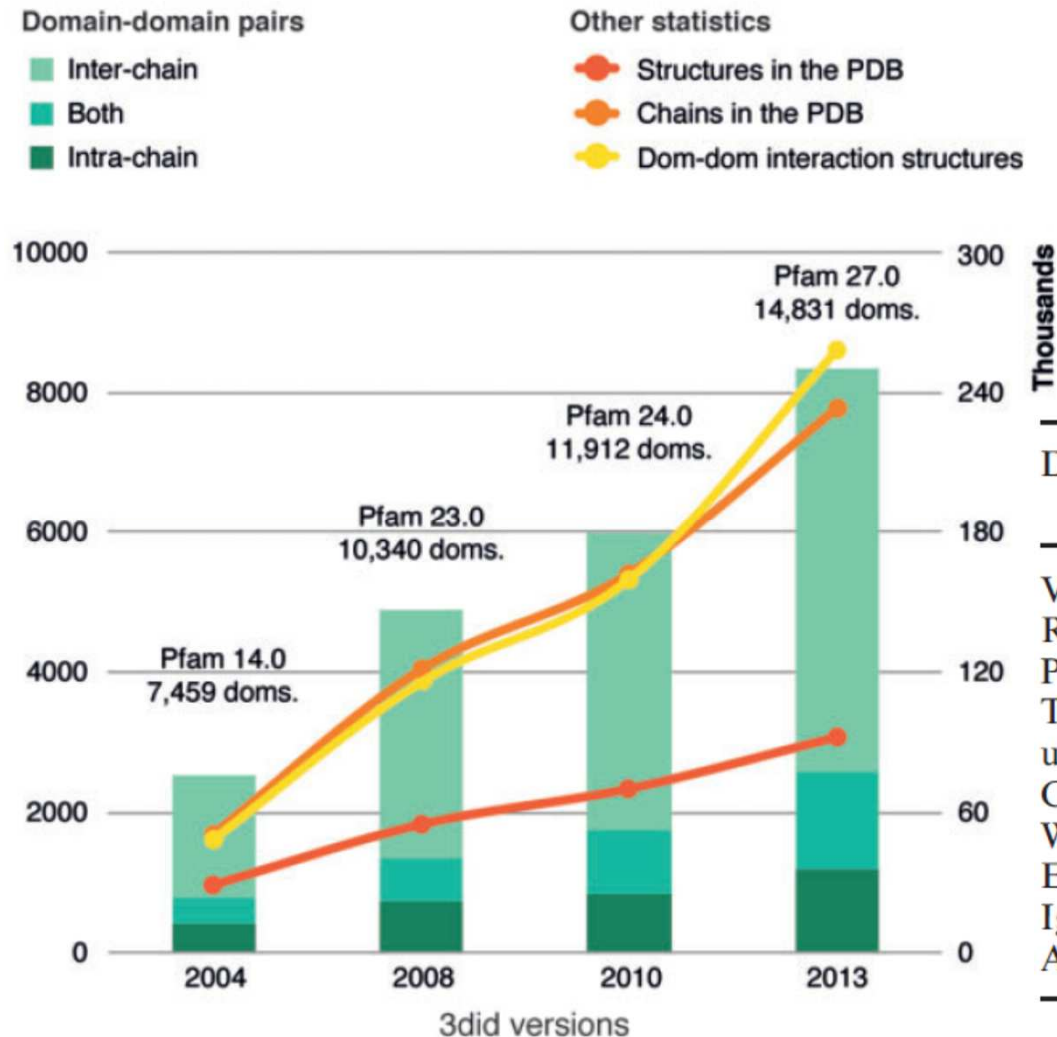
Jak si poradit s analýzou?

Stein a spol.: NAR, 2011

Mosca a spol.: NAR, 2014

interakční motivy

- další interakční motivy jsou těžko definovatelné
- velké množství strukturních (Pfam) motivů => mnoho interakčních motivů

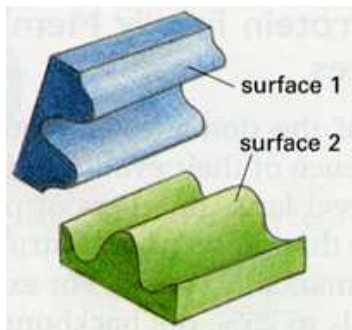


Databáze
 Evoluce

...

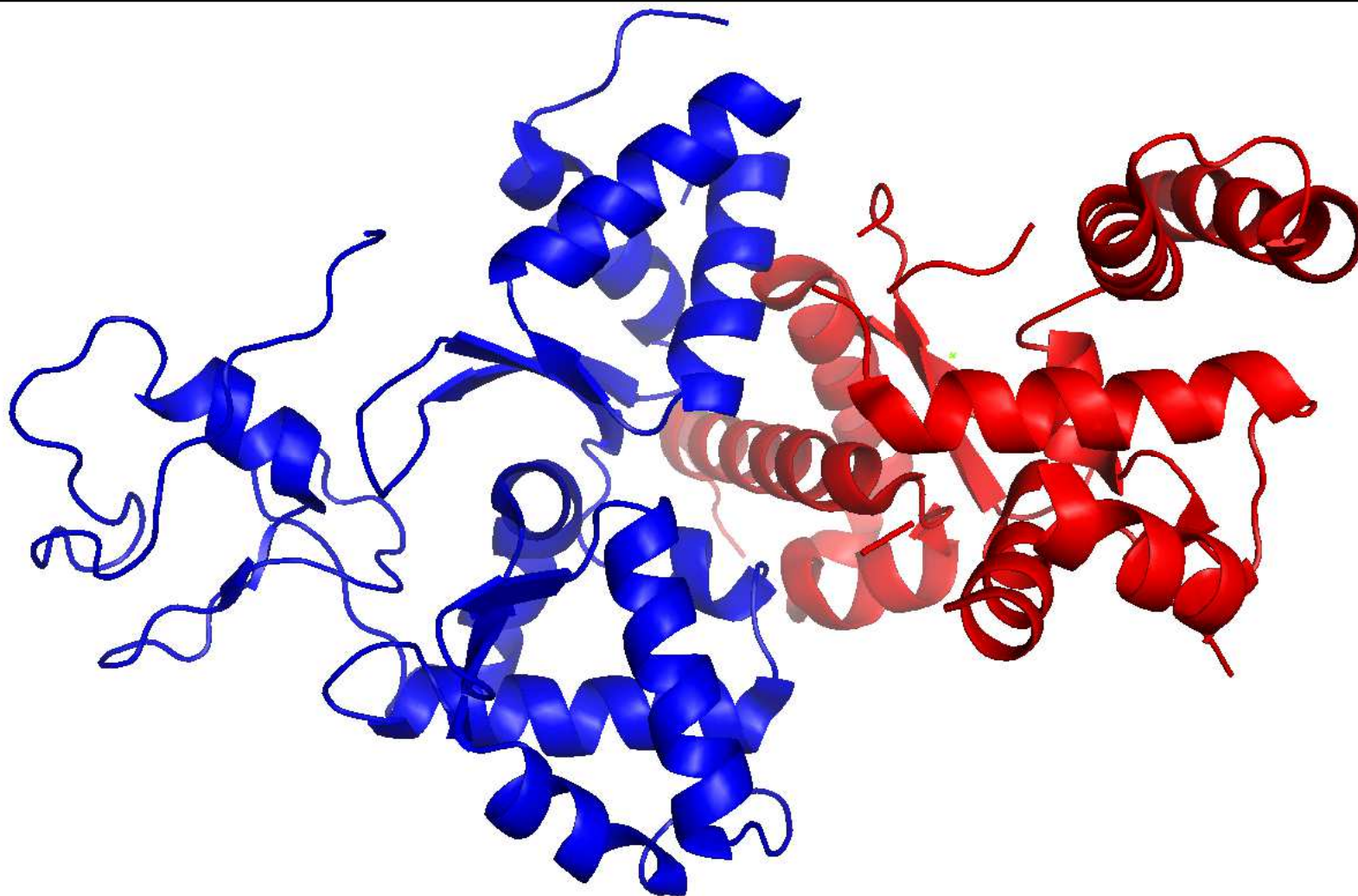
Nejlépe PDB templát ...

Domain name	Pfam id	# partners
V-set	PF07686	161
Ras	PF00071	62
Pkinase	PF00069	54
Trypsin	PF00089	50
ubiquitin	PF00240	43
C1-set	PF07654	39
WD40	PF00400	32
EF-hand_7	PF13499	32
Ig_2	PF13895	29
Ank_2	PF12796	29



DOMÉNY - šroubovice, β -listy ... interagují pod různými úhly a vytváří různé vazebné motivy s rozsáhlými vazebnými povrchy

(kokrystal NSE1-NSE3 proteinů)

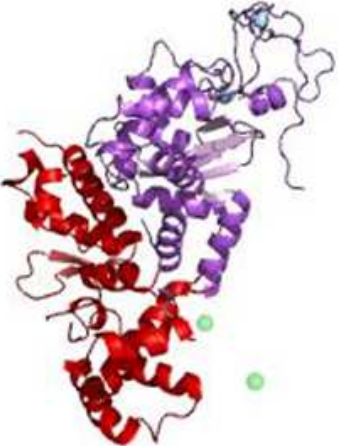


Nejlépe lze získat info (vizuální, o typech vazby) z vyřešených struktur (PDBsum)

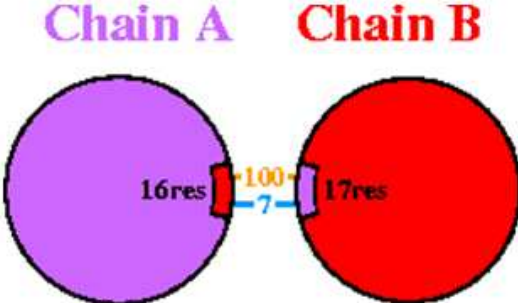
[Top page](#)
[Protein](#)
[Metals](#)
[Prot-prot](#)
[Clefts](#)
[Tunnels](#)
[Links](#)

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

Protein-protein interface: A}{B



Chains A and B highlighted (click to view)



Chain A 16res Chain B 17res

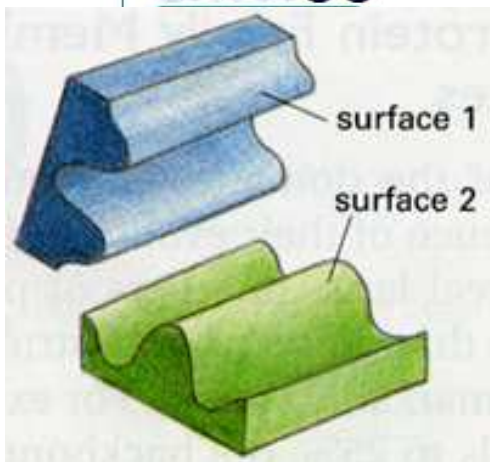
Key: — Salt bridges — Disulphide bonds — Hydrogen bonds — Non-bonded contacts

PDF Adobe Postscript version



Interface statistics

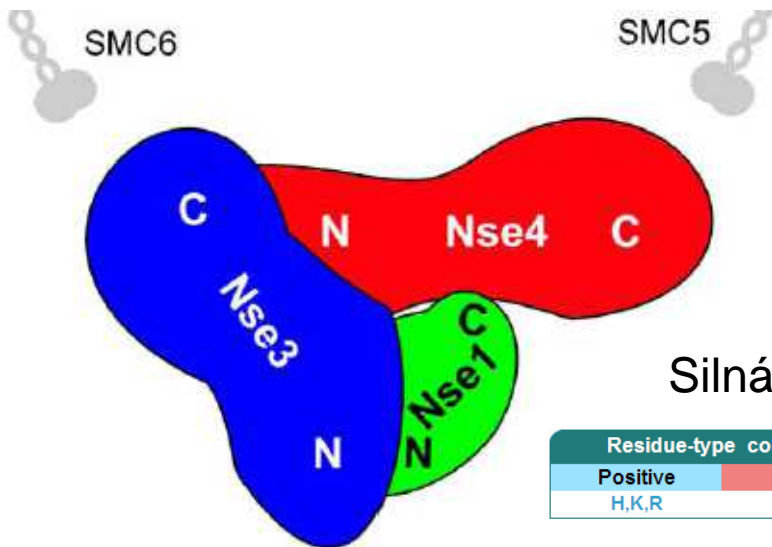
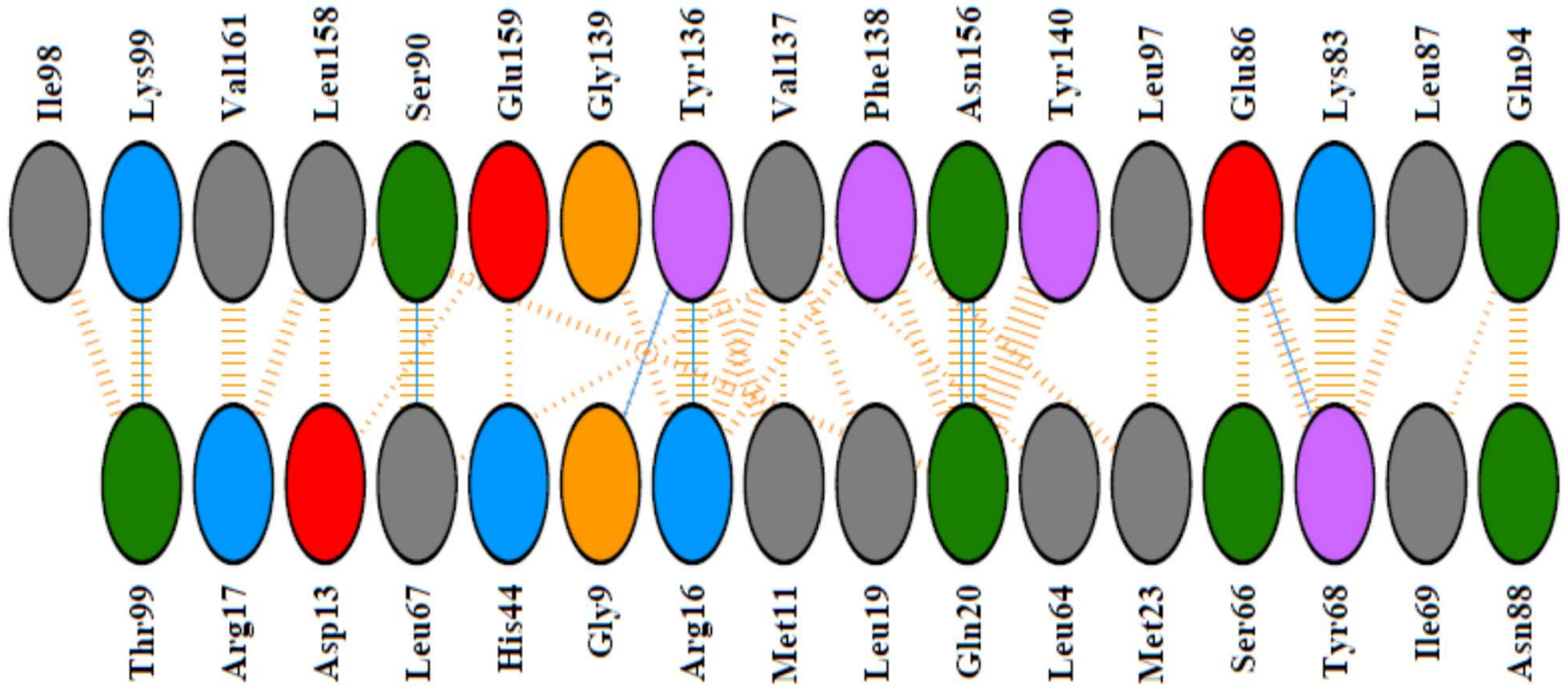
Nse3/MAGEG1-NSE1



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

NSE1 - NSE3

Chain A Chain B



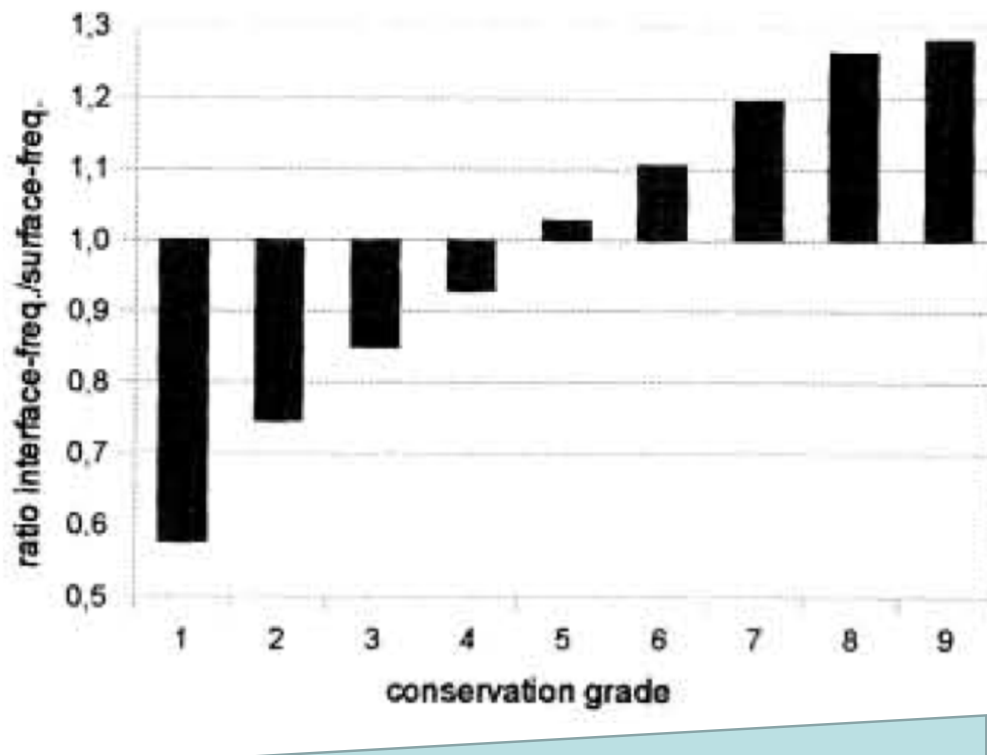
Disulphide bonds — Hydrogen bonds — Non-bonded contacts

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

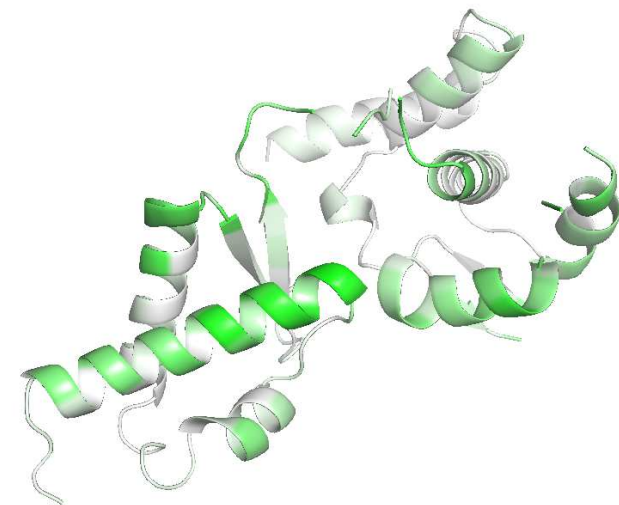
Silné/důležité interakce (komplexy) jsou evolučně konzervované

- jako jsou proteiny (jejich funkce) evolučně konzervované, tak i jejich interakce jsou evolučně konzervované
- graf – povrchové AMK jsou málo konzervované (grade1), zatímco interakční povrchy jsou hodně konzervované (grade9)



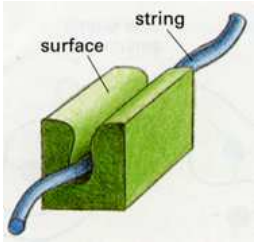
InterEvDOCK

docking na základě templátu a homologie

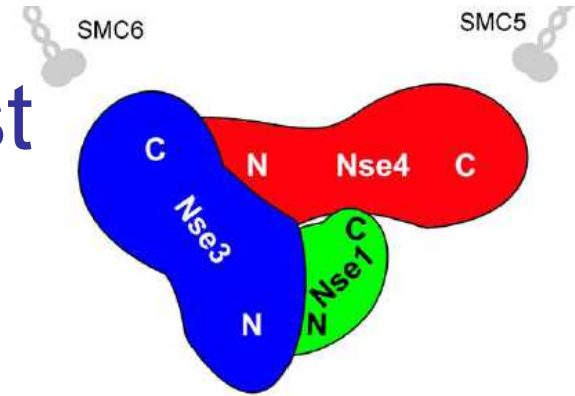


PYMOL

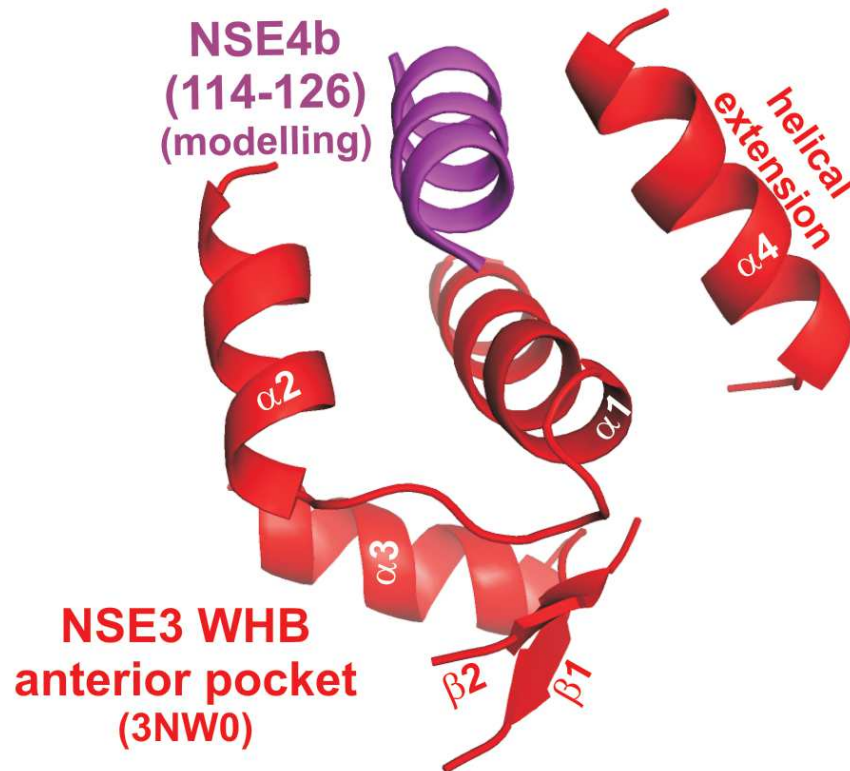
Eichborn et al, Genome Inf, 2009



Evoluční konzervovanost



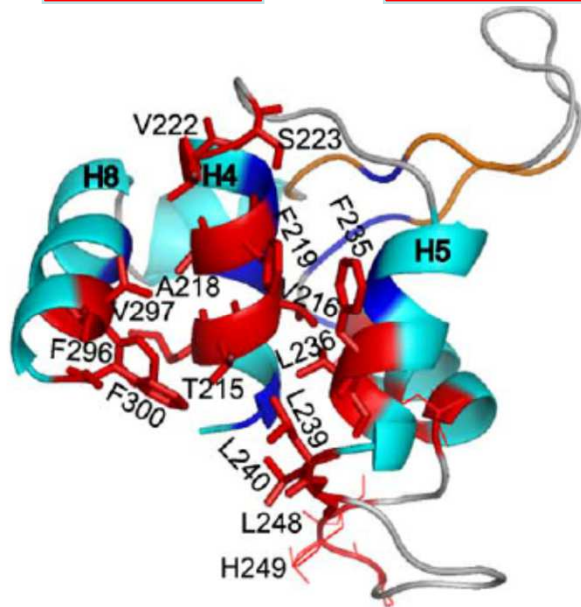
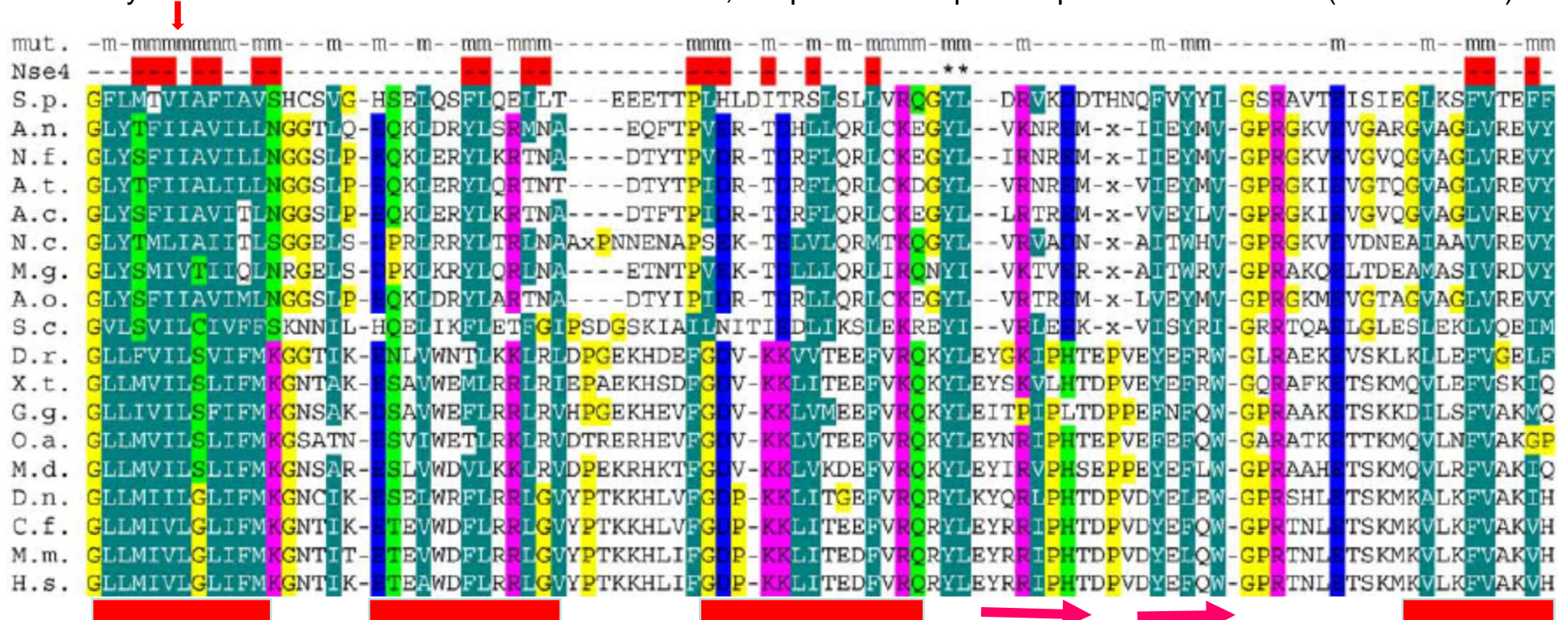
hydrofobní interakce mezi Nse3 a Nse4



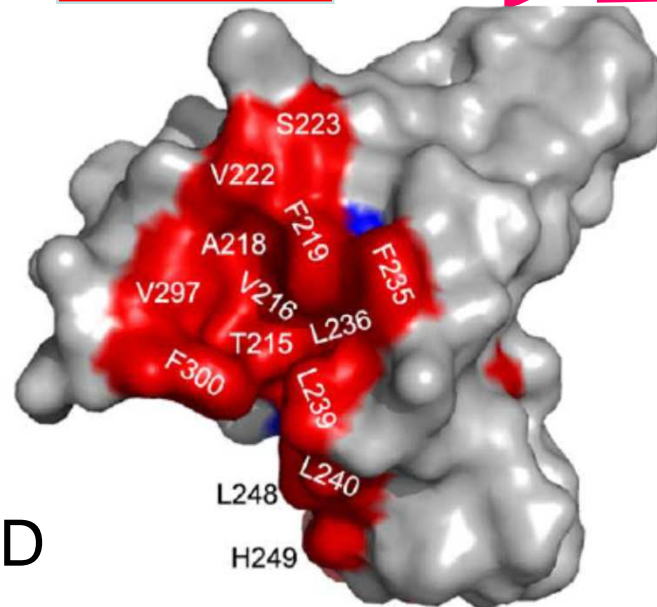
(winged-helix doména)

- šroubovice se váže do hydrofobní kapsy
- malá změna povrchu kapsy může změnit interakční schopnosti (Ala mutace hydrofobních zbytků vazbu narušila)
- více povrchů - malá změna povrchu může změnit interakční schopnosti (nabité K, R = vazba na DNA vs hydrofobní = PPI)

Tato hydrofobní šroubovice není transmembránová, ale podílí se na protein-proteinové interakci (NSE3-NSE4)

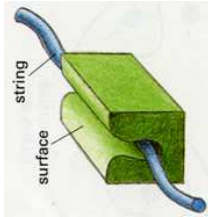
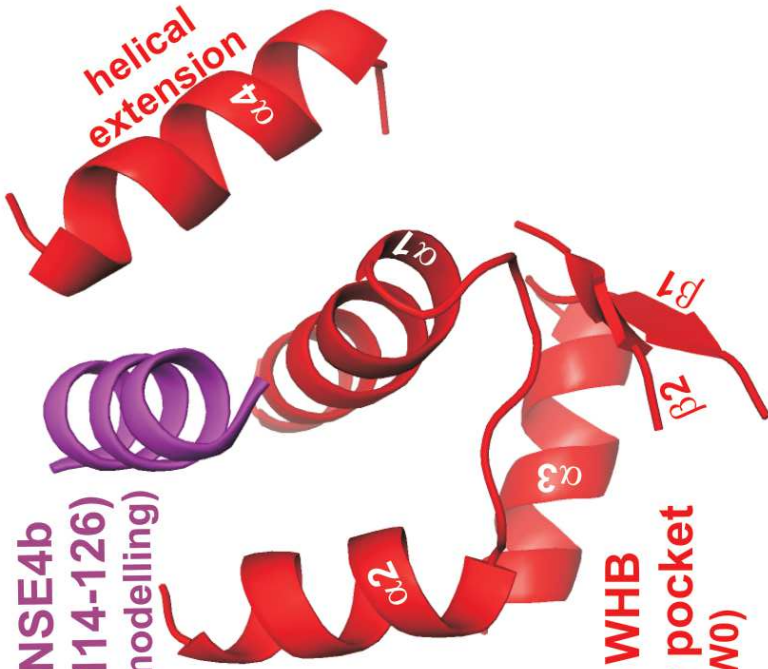


WHD



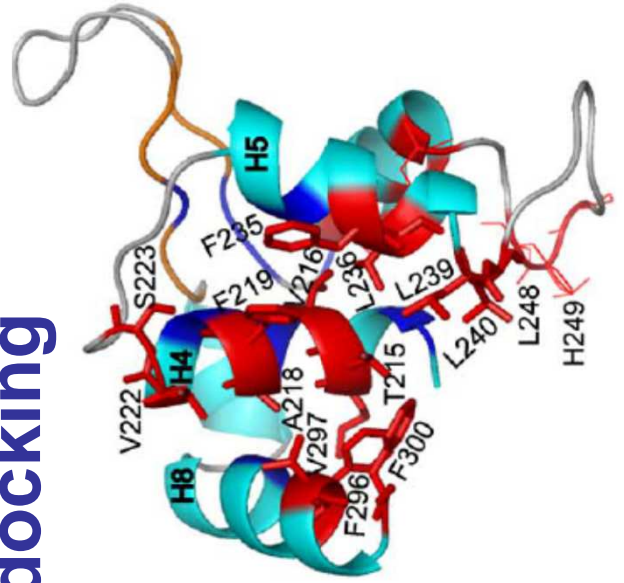
Interakce
mapována
mutagenezí

**NSE4b
(114-126)
(modelling)**

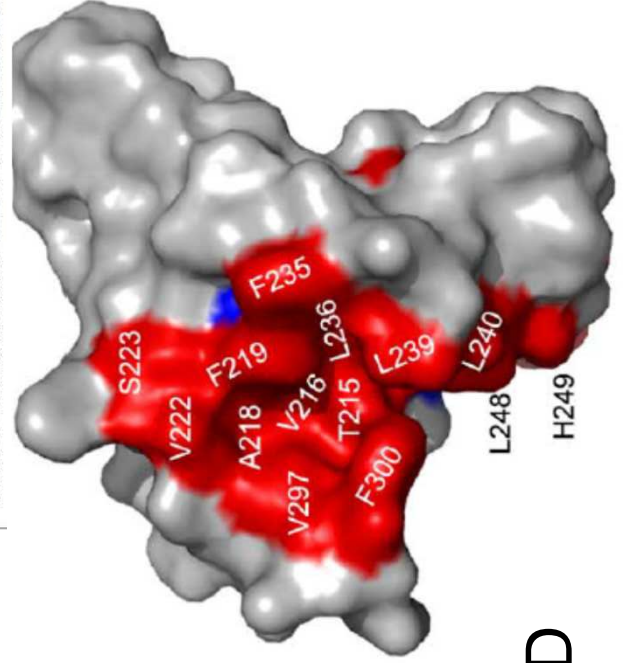


**NSE3 WHB
anterior pocket
(3NW0)**

docking



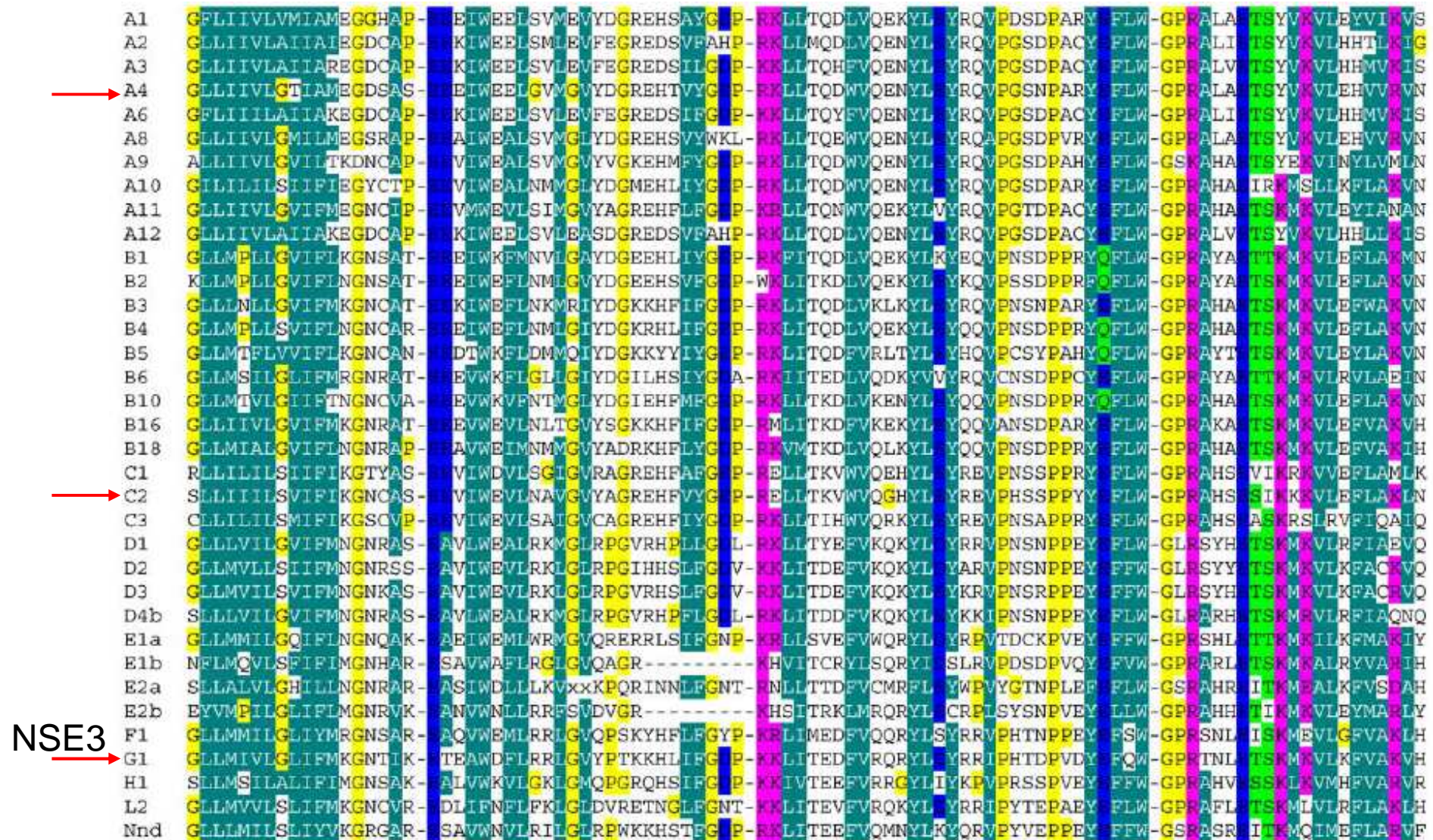
WHD



**Interakce
mapována
mutagenézí**

Hudson et al.: PLoS One, 2011
Guerineau et al.: PLoS One, 2012

na základě podobnosti známé interakce



WHD



- Hledáme vhodné povrchy: **komplementární tvar a charakter** (terciární)– hledáme kapsy (více míst)

MAGEA4

Go to PDB code: 2wa0

Cleft analysis for: 2wa0 PDB id: 2wa0

WHD

View options

Binding-site(s)

Binding-surface(s)

Coloured by

cleft (as in table below)

closest atom type

residue type

residue conservation

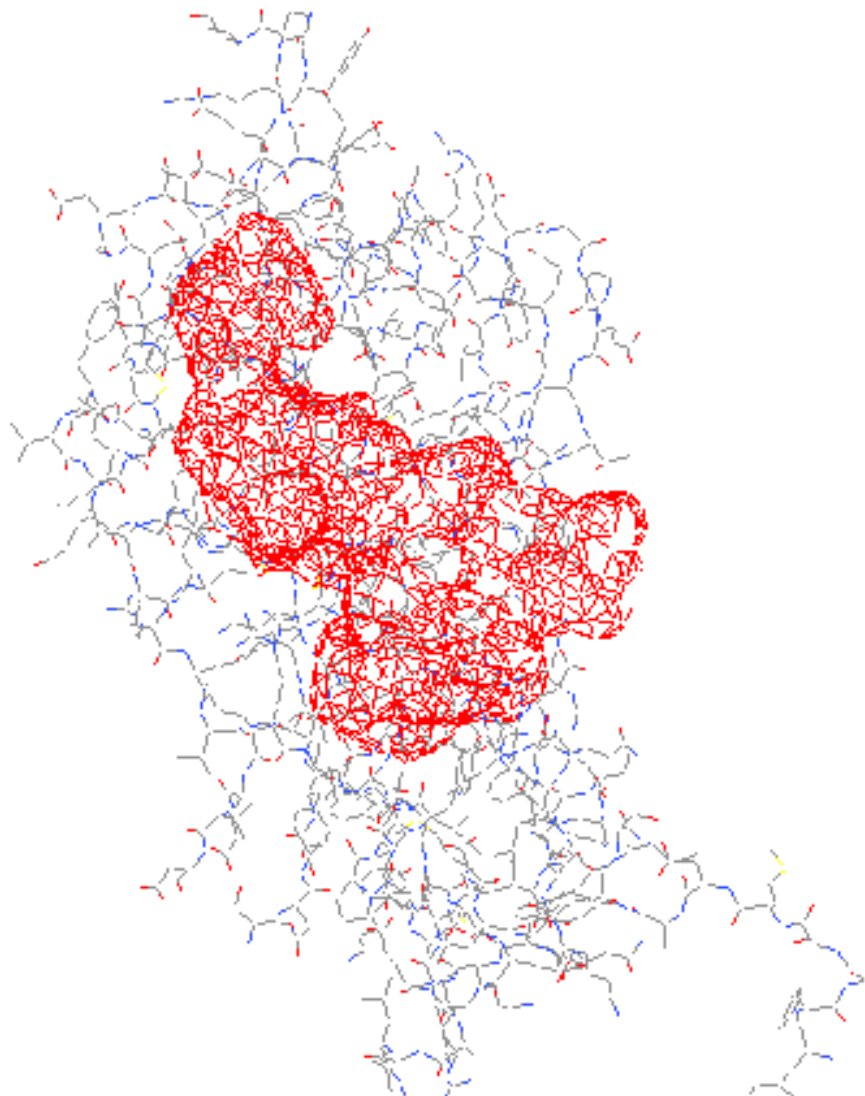
Clefts		Volume	R1 ratio	Accessible vertices	Buried vertices	Average depth	Residue type	Ligands									
1	<input checked="" type="checkbox"/>	2370.52	0.98	65.15	1	10.55	1	10.50	1	8	6	5	15	4	4	1	

největší kapsa

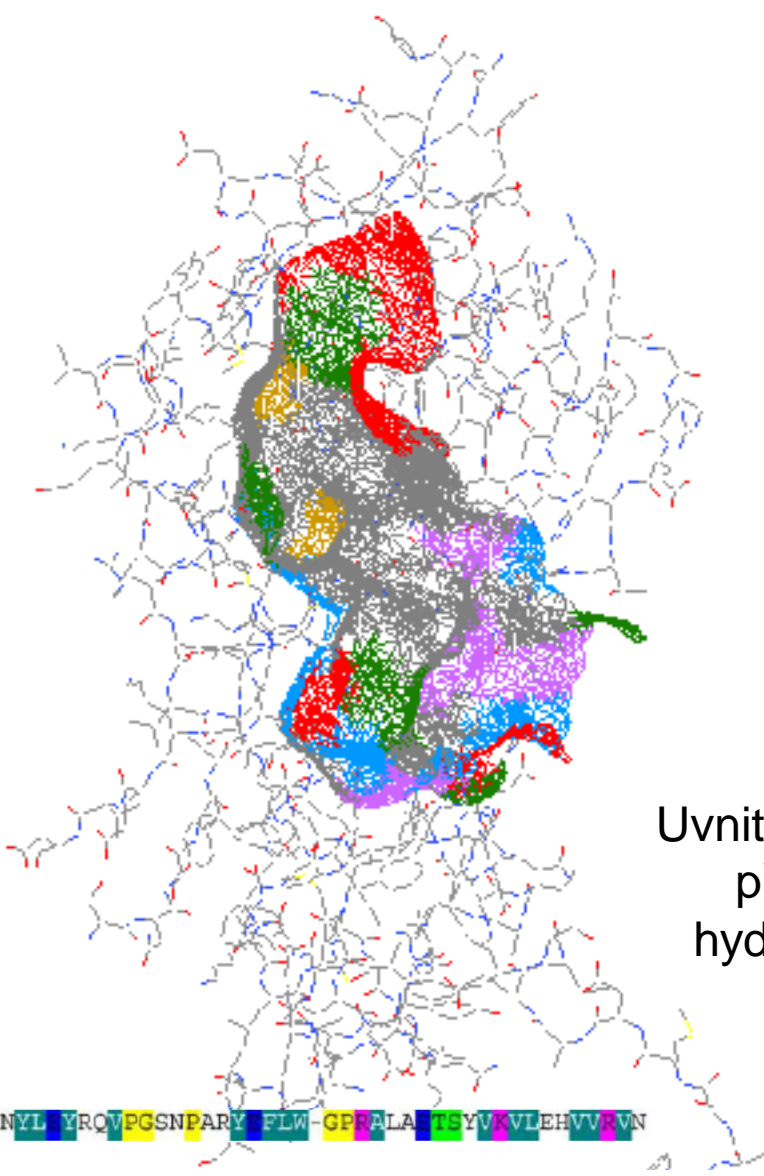
<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/>

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

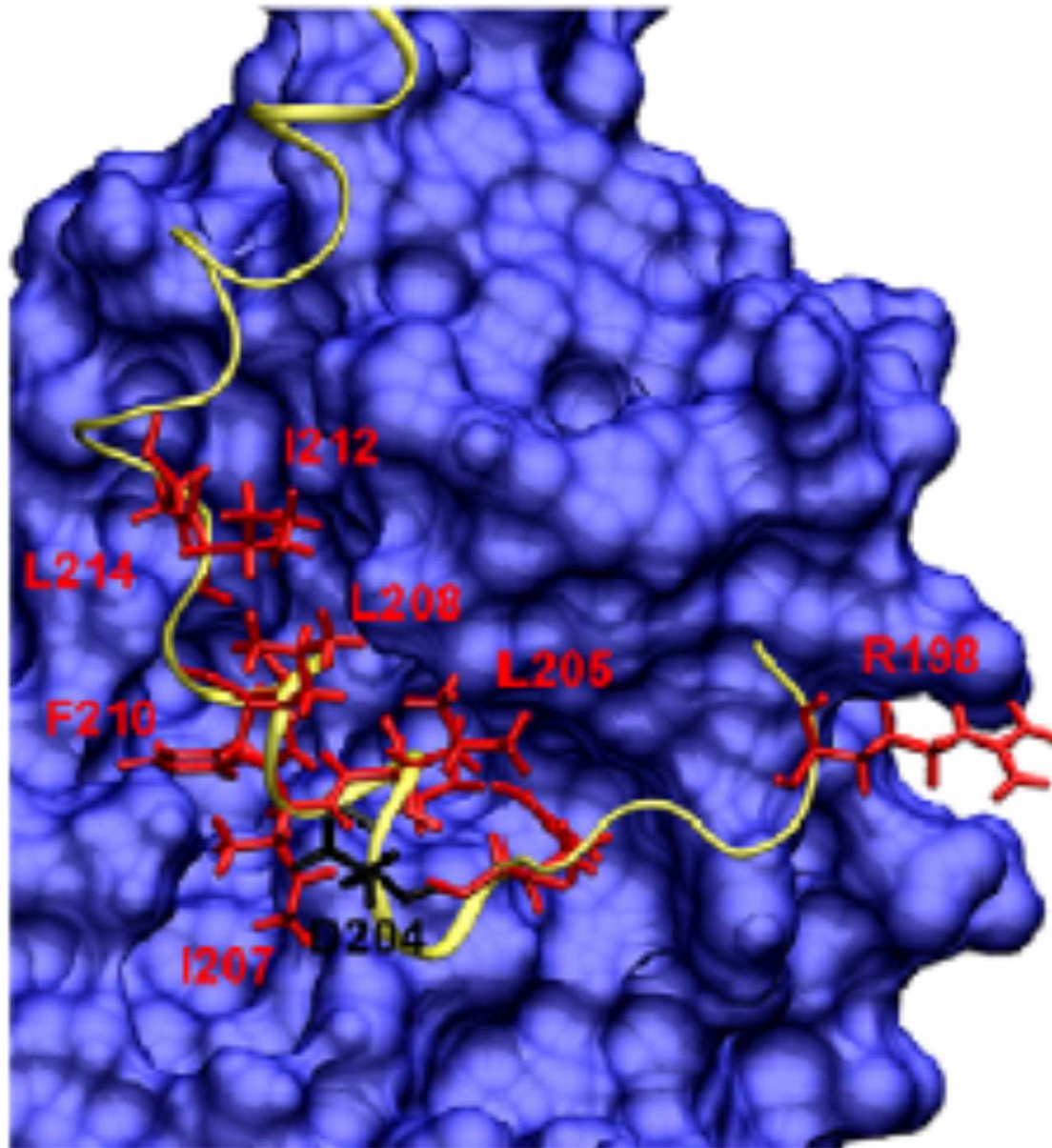
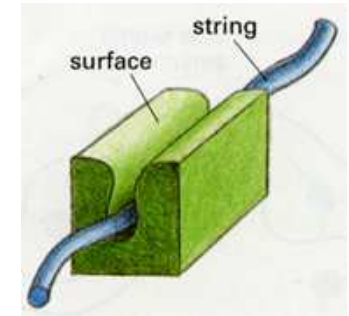


Uvnitř kapsy
převládá
hydrofobní
povrch

A4

GLLIIVLGTIAMEGDSAS - EIWEEELGVVGVYDGREHTVYCF - RYLLTQDWVQENYL YRQVPGSNPARY FLW - GPRALANTSYVAVLEHVVRVN

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

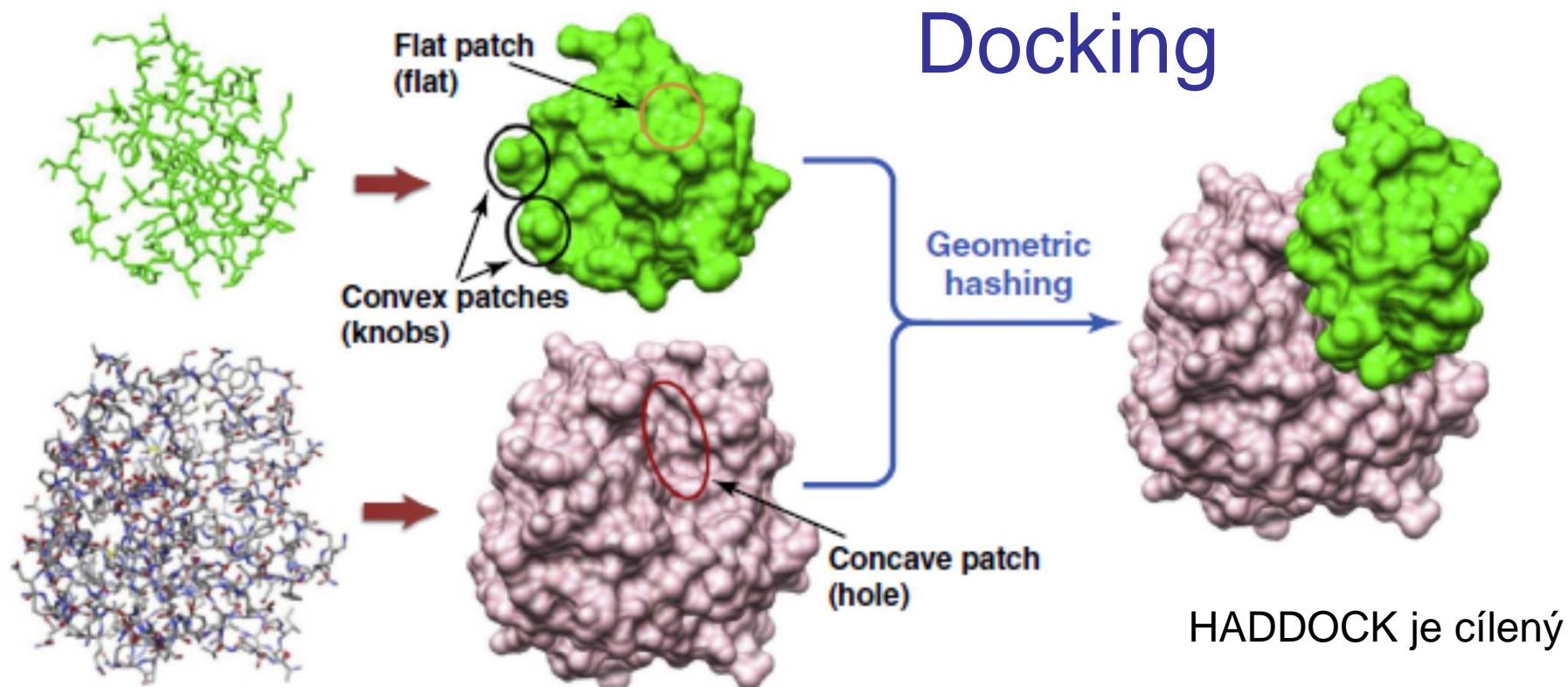


Docking partnera (HEX docking a molekulární dynamika): do hydrofobní kapsy namodelovaného proteinu MAGE(C2) byl nadockován hydrofobní peptid (EID2-model) (-složitější docking je nespolehlivý)

TABLE 1

Search strategies in protein-protein docking

Search algorithms	Examples of docking programs	Refs
Exhaustive global search		
FFT-based search	FTDock, GRAMM, DOT, ZDOCK, MolFit, PIPER, F2DOCK, SDOCK, ASPDock, Cell-Dock	[25–41]
Spherical Fourier transform-based search	HEX, FRODOCK	[45–47]
Direct search in Cartesian space	SOFTDOCK, BIGGER, SKE-DOCK	[49–51]
Local shape feature matching		
Distance geometry algorithm	DOCK	[52]
Geometric hashing	PatchDock, SymmDock, LZerD	[53–56]
Genetic algorithm	GAPDOCK	[57]
Randomized search		
Monte Carlo search	RosettaDock, ICM-DISCO, ATTRACT, HADDOCK	[61–71]
Particle swarm optimization	SwarmDock	[72]
Genetic algorithm	AutoDock	[73]
Post-docking approach		
Using advanced scoring functions	RPScore, ZRANK, PyDock, EMPIRE, DARS, DECK, SIPPER, PIE, MDockPP, etc.	[81–94]
Considering protein flexibility	MultiDock, SmoothDock, RDOCK, FireDock, FiberDock, EigenHex, etc.	[95–104]
Other ranking protocols	SDU, CyClus, CONSRANK, etc.	[105–111]



Další 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 research community".

Finley Lab Interactions Databases:

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

Gene or Protein Interactions Databases in the research community:

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

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 fúz)

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

Více Dr. Potěšil

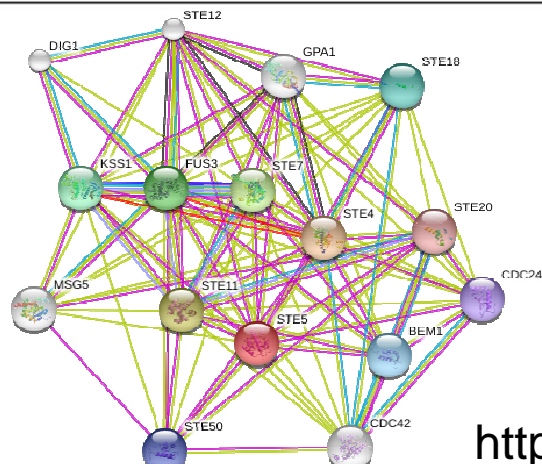
Informační zdroje PPI

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/



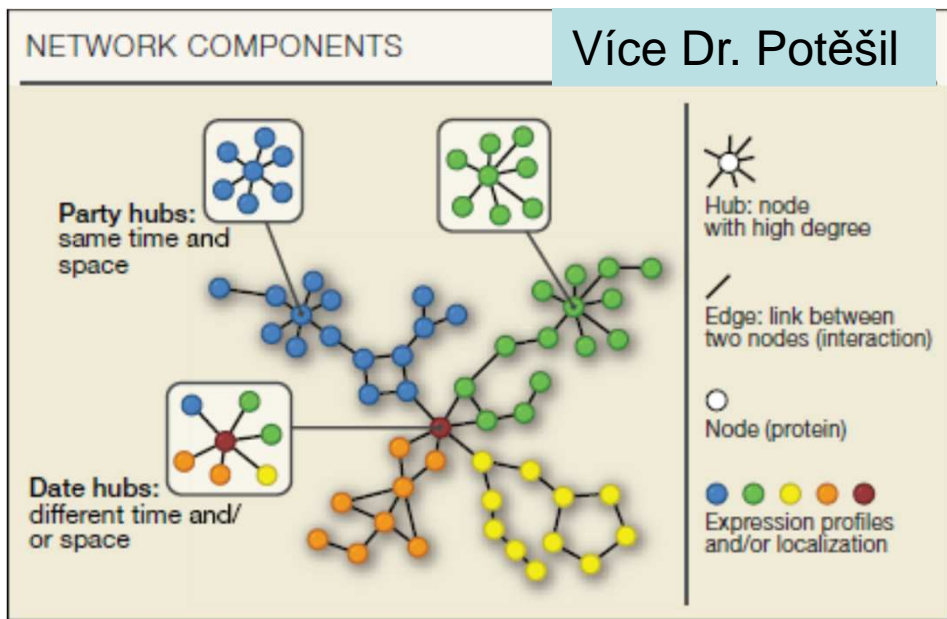
STRING

informace o binárních interakcích v databázích – zobrazeny jako síť (různé výsledky = různé čáry)

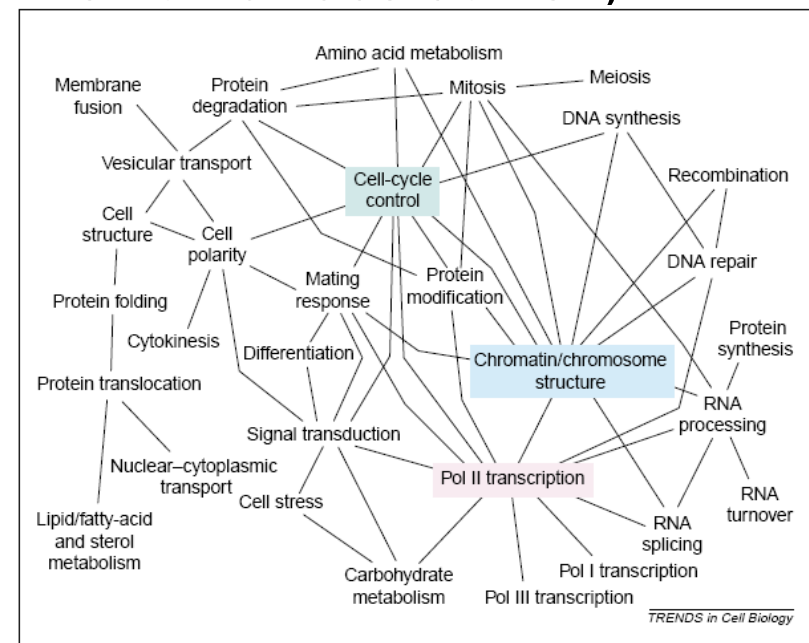
Shoemaker and Panchenko, PLoS Comp Biol, 2007

<http://string-db.org>

- 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

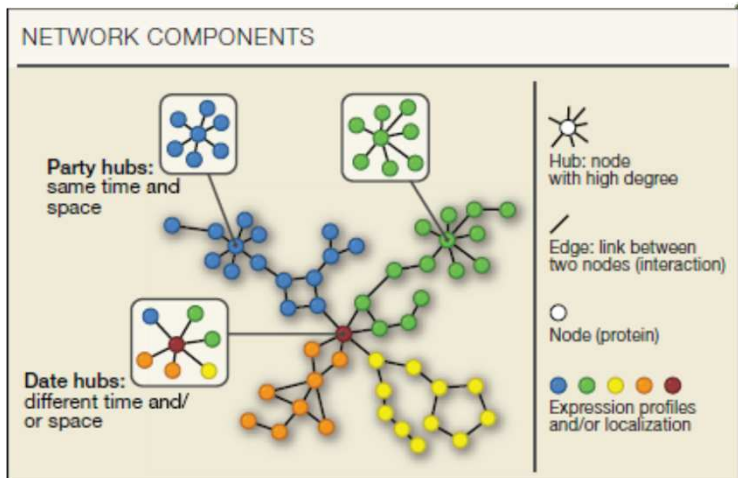
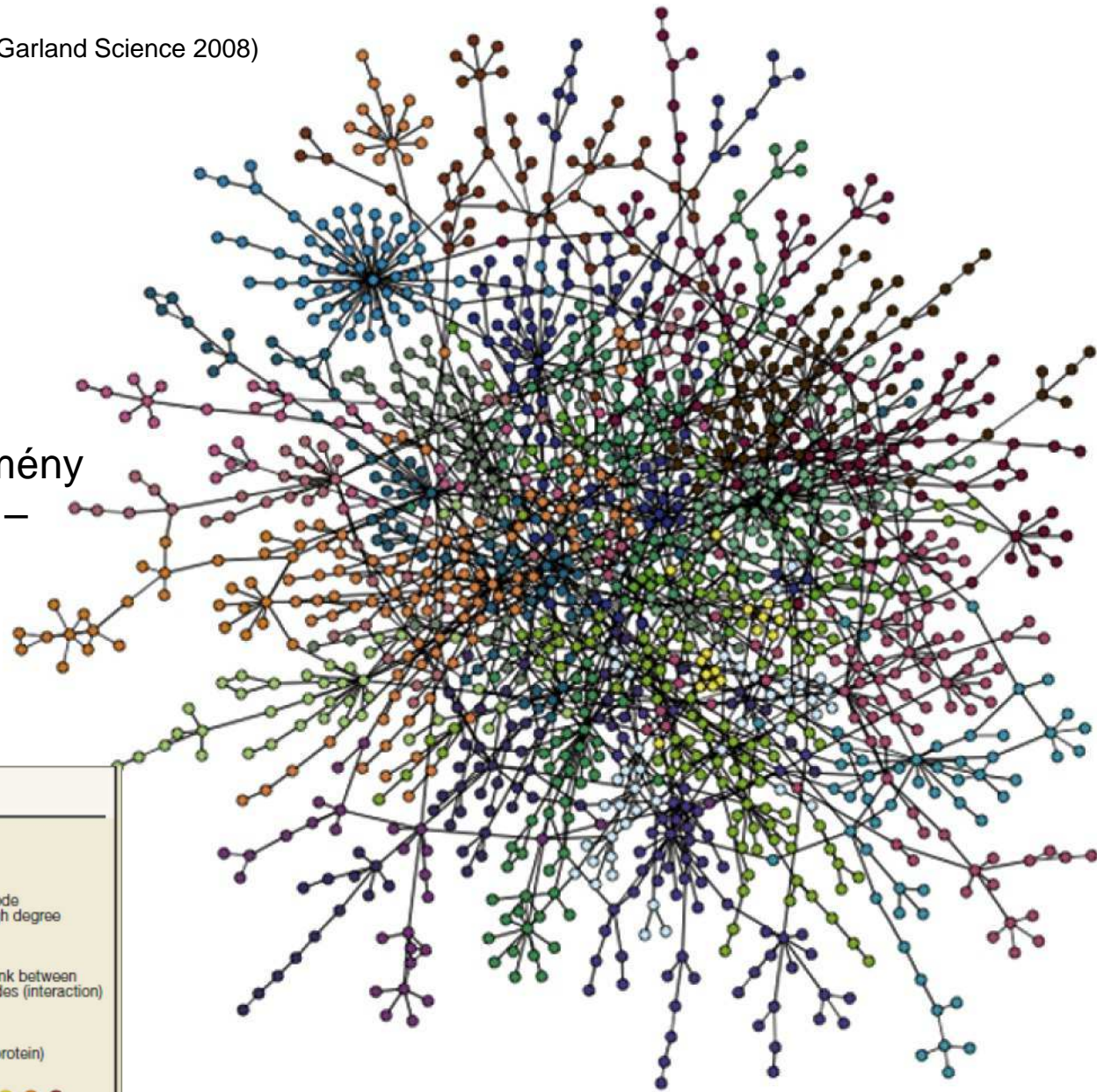
Interaktom x komplexom

Vyjasnit pojmy kvůli testům

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

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

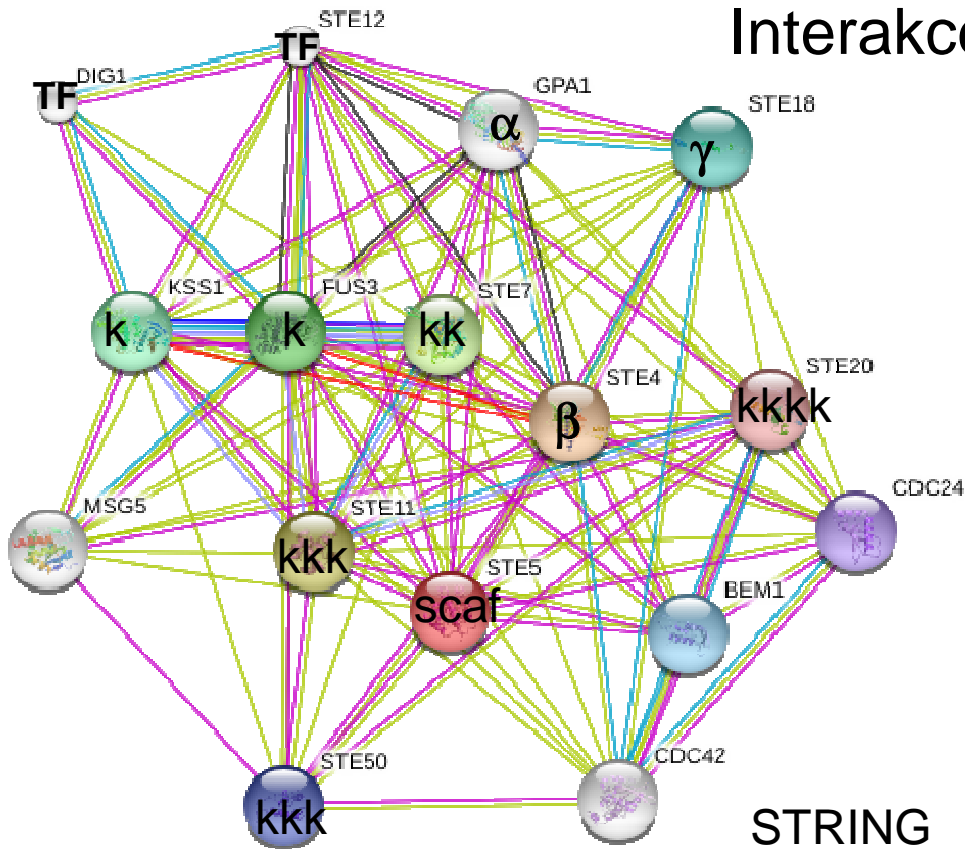
Modularita – interagují domény (jeden protein více domén – zapojení do více procesů)








Seebacher & Gavin, Cell (SNAP SHOT), 2011

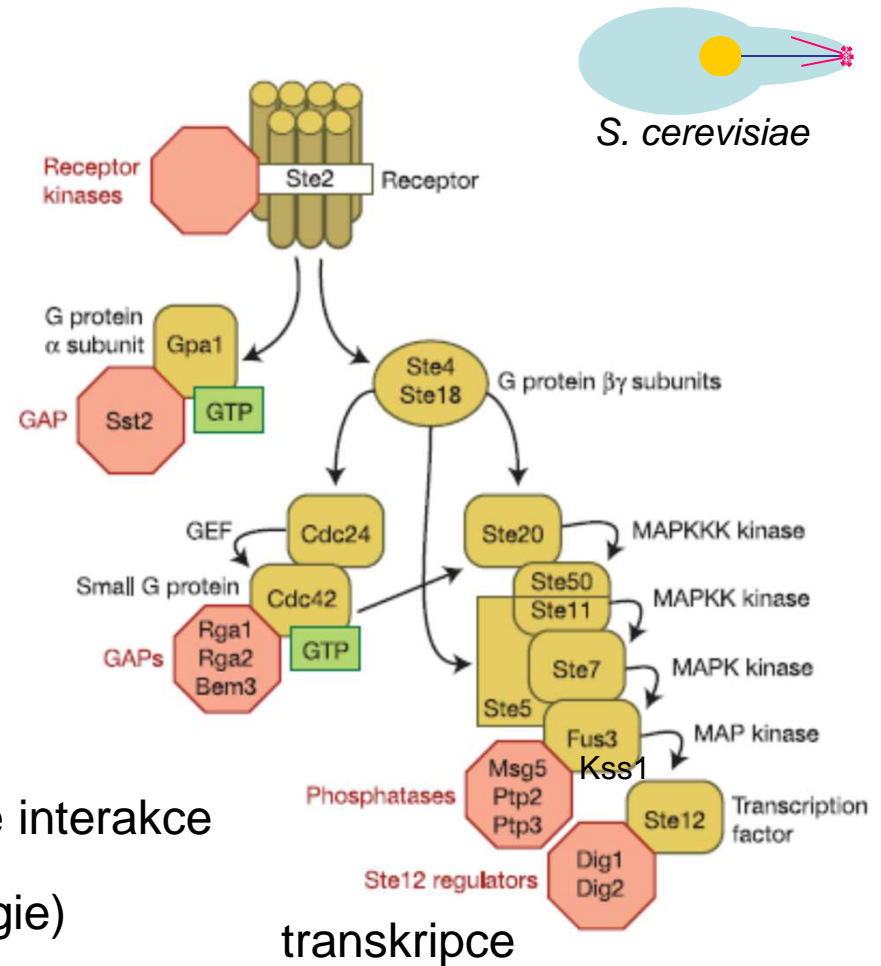
proteinové sítě – chybí info o posloupnosti, síle ... interakcí

Interakce x signální dráha



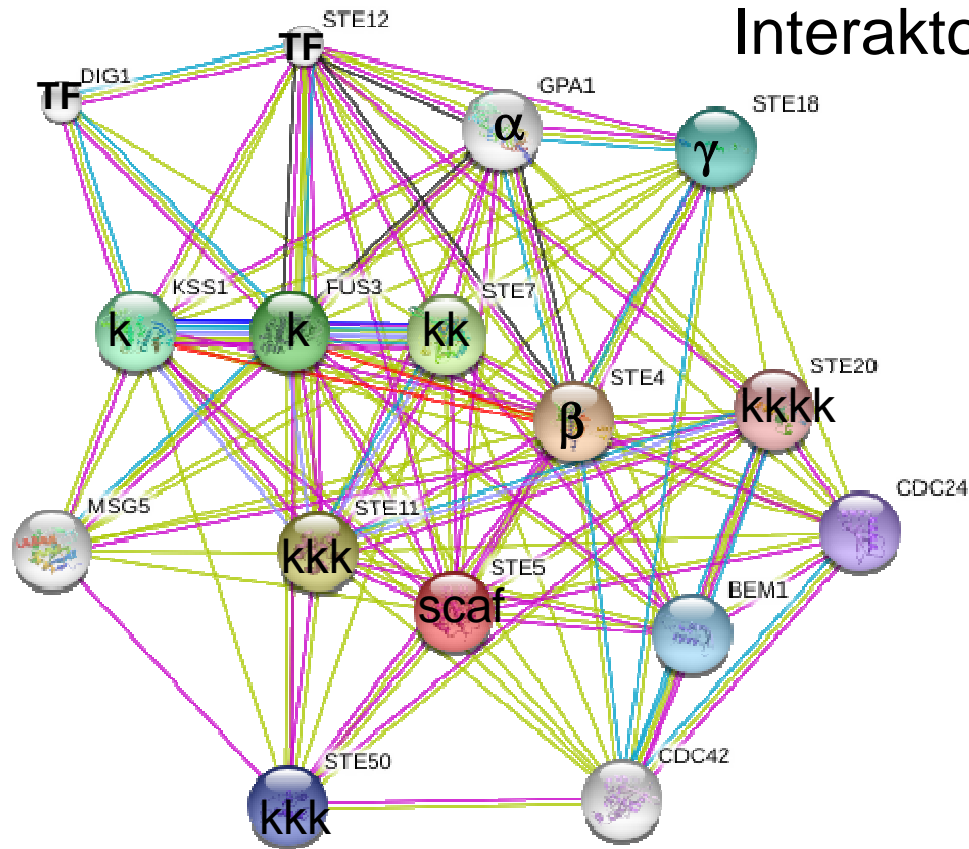
STRING

-  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



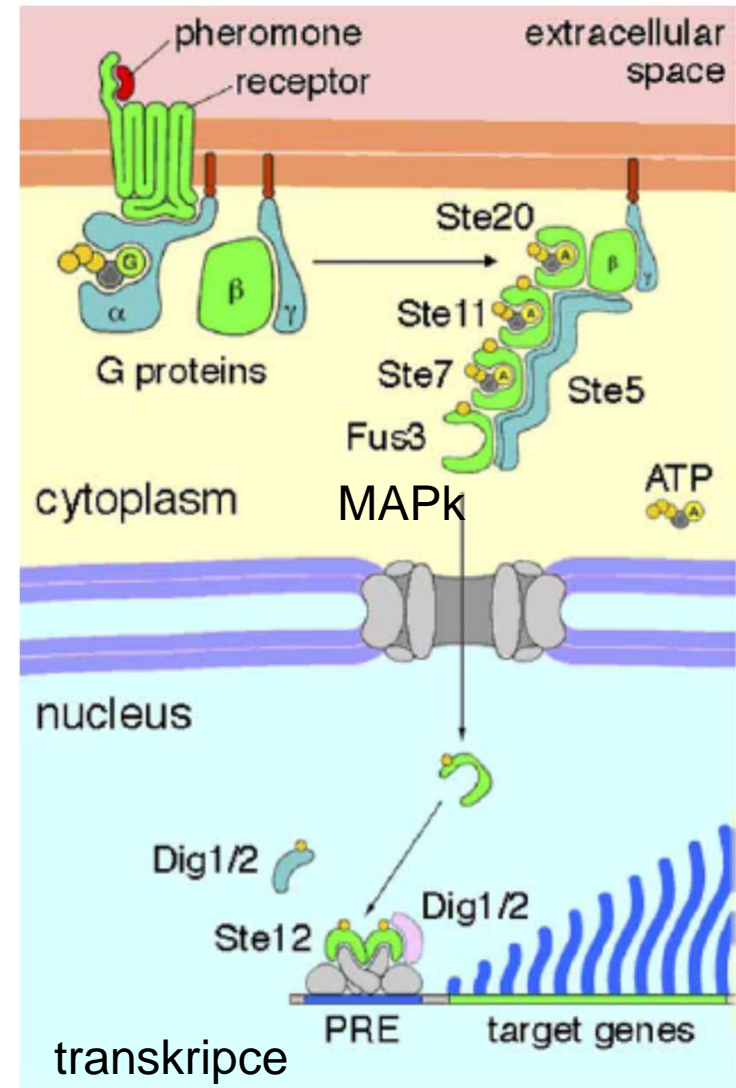
proteinové sítě – chybí info o lokalizaci, komplexech ...

Interaktom x komplexom



- Experiments
- Databases
- Textmining
- Gene Fusion
- Coexpression

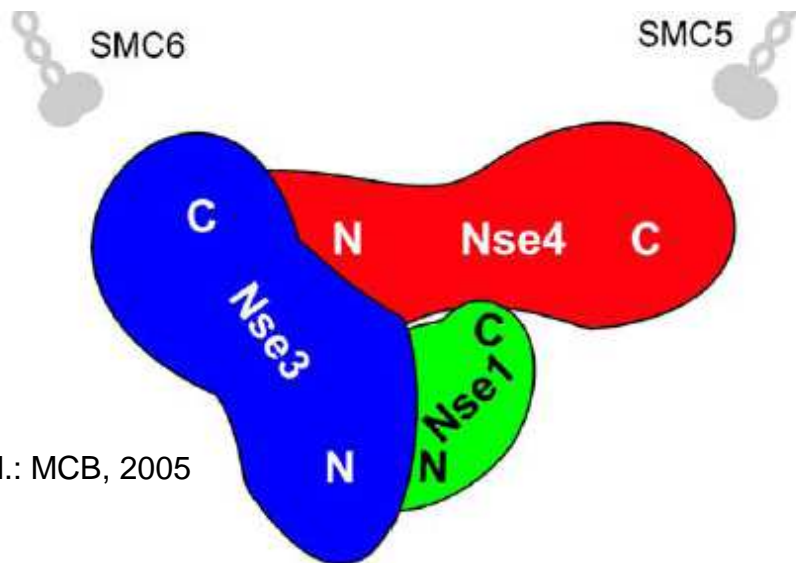
Síť neznamená komplex,
ale vztah



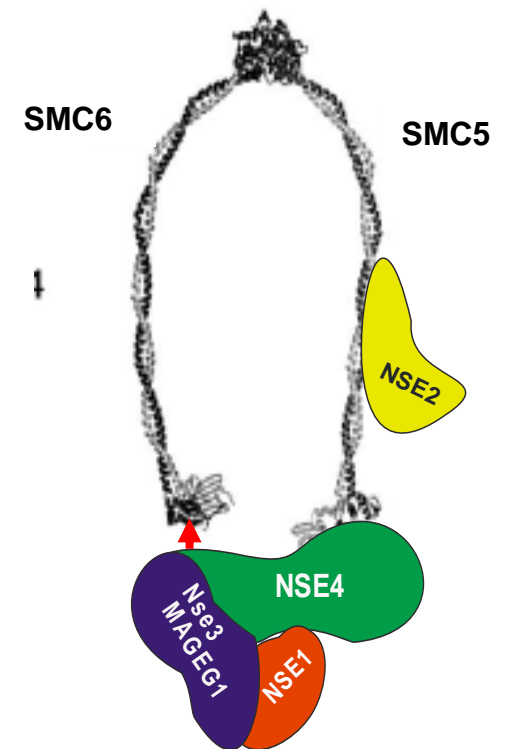
Wang et al., Nature, 2004

... kvarterní struktura

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

