CG920 Genomics

Lesson 6

Protein Interactions in Gene Regulations

Jan Hejátko

Functional Genomics and Proteomics of Plants,
Mendel Centre for Plant Genomics and Proteomics,
Central European Institute of Technology (CEITEC), Masaryk University, Brno
hejatko@sci.muni.cz, www.ceitec.muni.cz

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Literature

- Literature sources for Chapter 06:

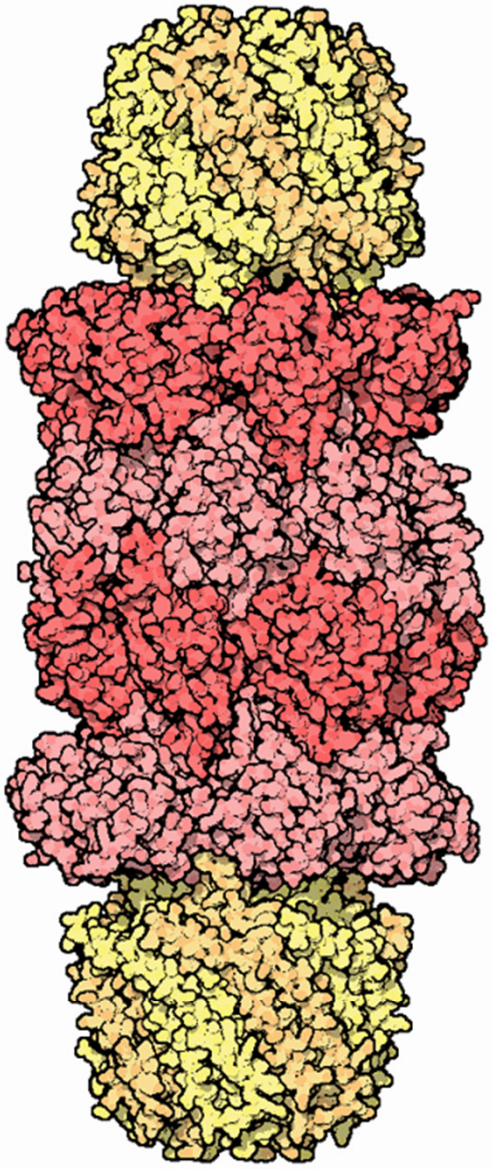
- Wilt, F.H., and Hake, S. (2004). **Principles of Developmental Biology**. (New York ; London: W. W. Norton).
- Ainger, K., Avossa, D., Morgan, F., Hill, S.J., Barry, C., Barbarese, E., and Carson, J.H. (1993). Transport and localization of exogenous myelin basic protein mRNA microinjected into oligodendrocytes. J Cell Biol 123, 431-441.
- Alberts, B. (1998). The cell as a collection of protein machines: preparing the next generation of molecular biologists. Cell 92, 291-294.
- Grefen, C., Stadele, K., Ruzicka, K., Obrdlik, P., Harter, K., and Horak, J. (2008). Subcellular localization and in vivo interactions of the Arabidopsis thaliana ethylene receptor family members. Molecular Plant 1, 308-320.
- Hu, C.D., and Kerppola, T.K. (2003). Simultaneous visualization of multiple protein interactions in living cells using multicolor fluorescence complementation analysis. Nat. Biotechnol. 21, 539-545.
- Shahbabian, K., and Chartrand, P. (2012). Control of cytoplasmic mRNA localization. Cellular and molecular life sciences : CMLS 69, 535-552.
- Van Leene, J., Witters, E., Inze, D., and De Jaeger, G. (2008). Boosting tandem affinity purification of plant protein complexes. Trends Plant Sci 13, 517-520.
- Walter, M., Chaban, C., Schutze, K., Batistic, O., Weckermann, K., Nake, C., Blazevic, D., Grefen, C., Schumacher, K., Oecking, C., Harter, K., and Kudla, J. (2004). Visualization of protein interactions in living plant cells using bimolecular fluorescence complementation. Plant J 40, 428-438.

Outline

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)
  - Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)
  - Membrane Recruitment Assay (MeRA)
- Practical use of methods for *in vivo* studies of protein interactions

Importance of Protein Interactions

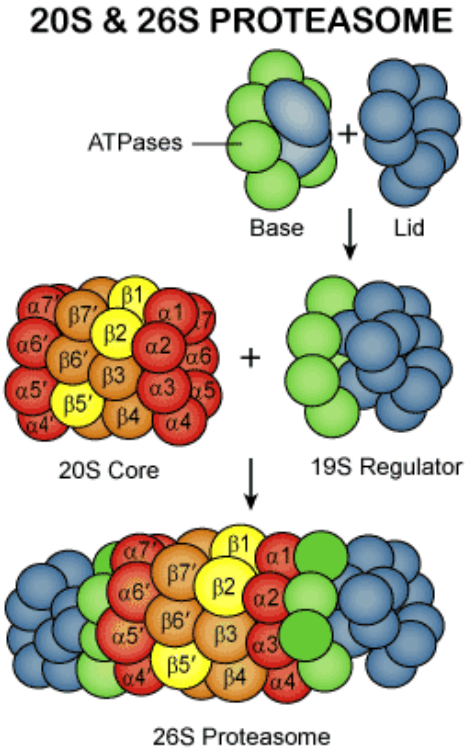
- **Functional importance of specific protein interactions**
  - Most of the proteins in the cell exist in the form of complexes which may further interact with each other
    - Proteasome
      - protein complex responsible for the degradation of obsolete proteins in the cell

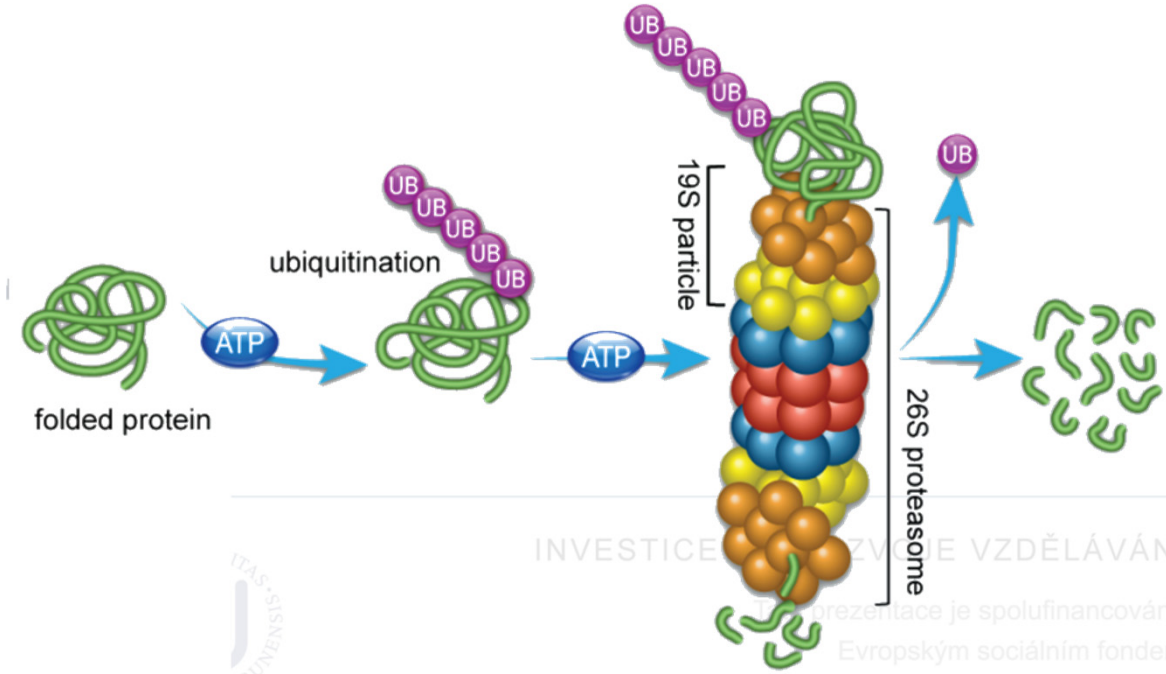


The importance of protein interactions

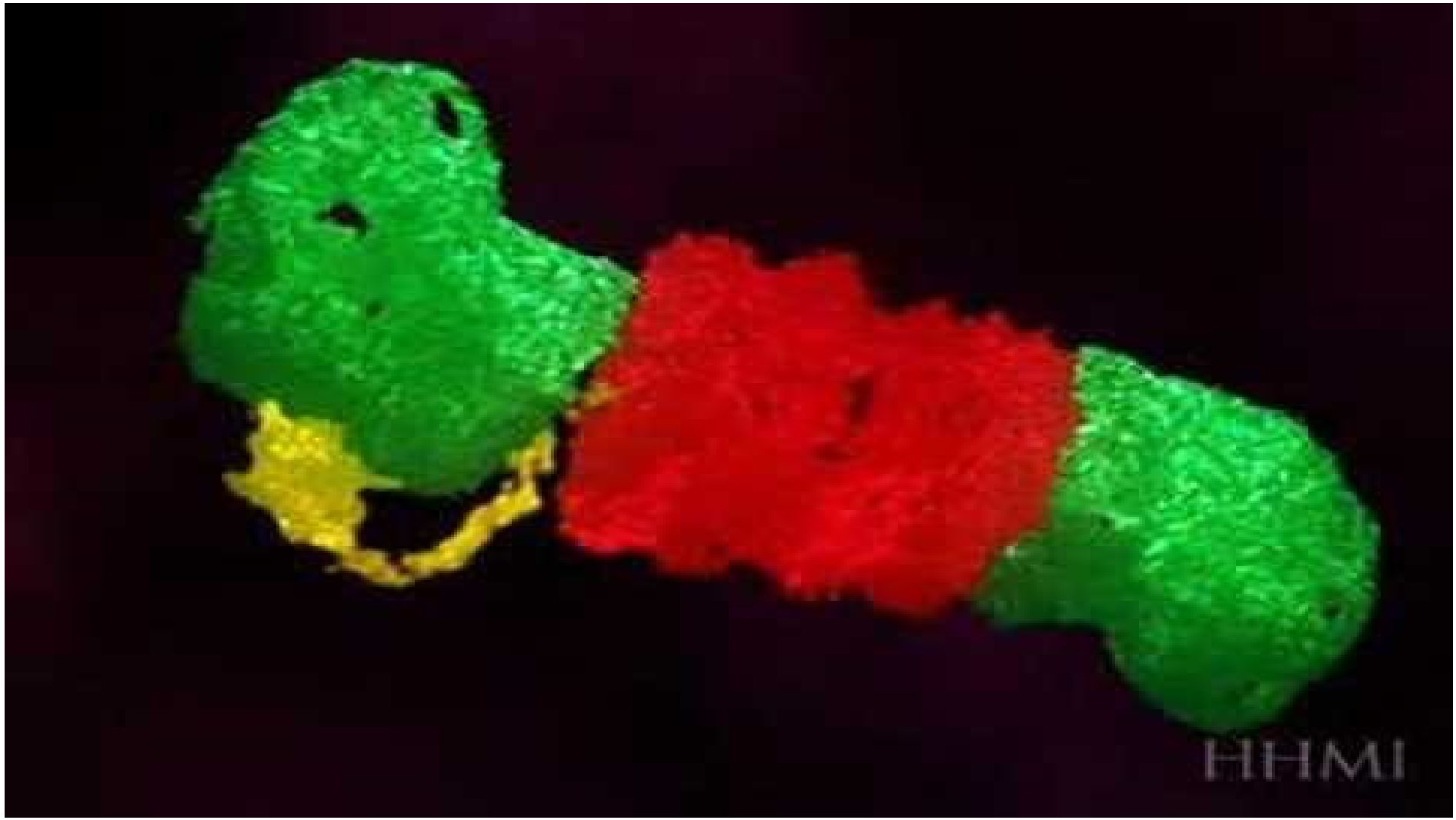
Proteasome

- Consisting of a **core**, also being designated as **20S** and **regulatory portions** (19 or 11S)
- Allows **targeted degradation** of proteins labelled by a specific marker - small polyppetide (76 aa) called **ubiquitin**





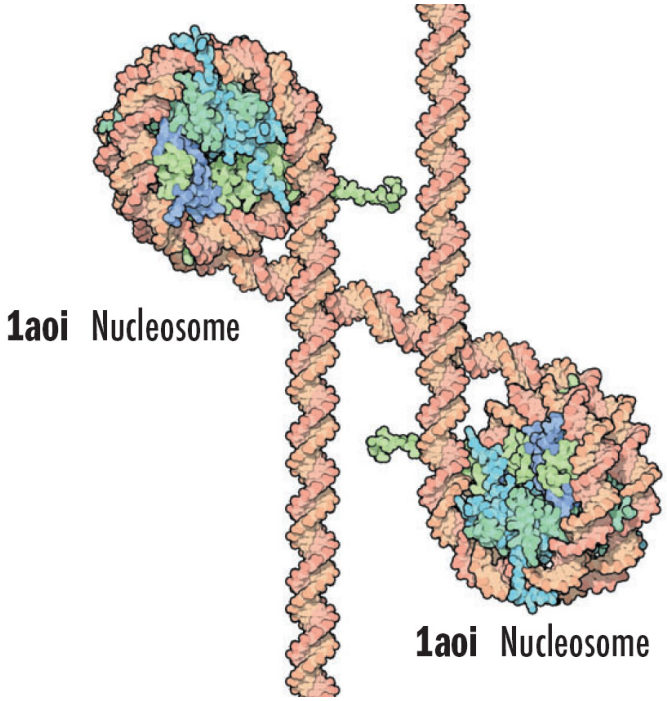
Proteasome –targeted proteolysis

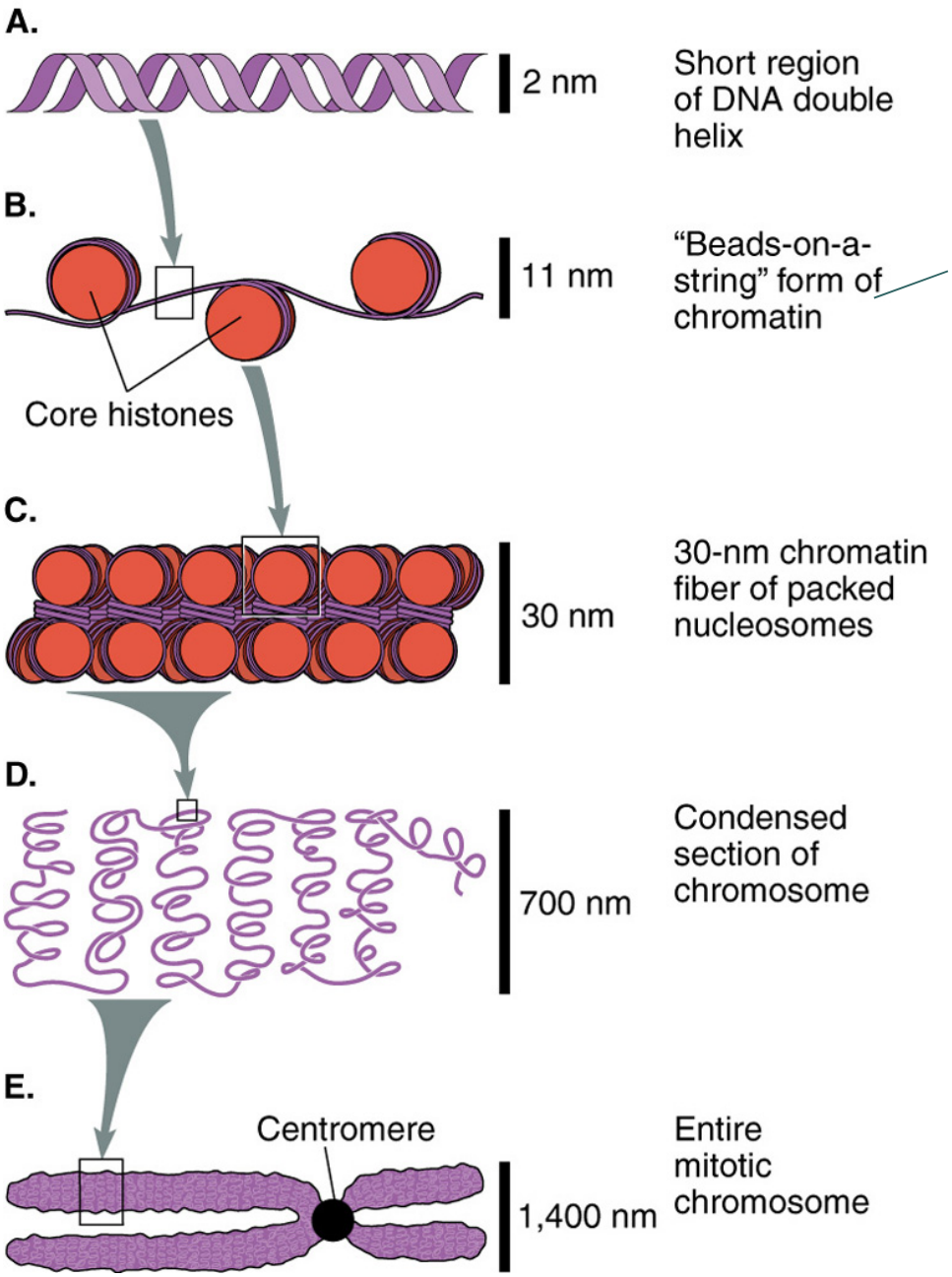


EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Importance of Protein Interactions

- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure





Regulation by histone acetyl transferases or histone deacteylases

EVROPSKÁ UNIE

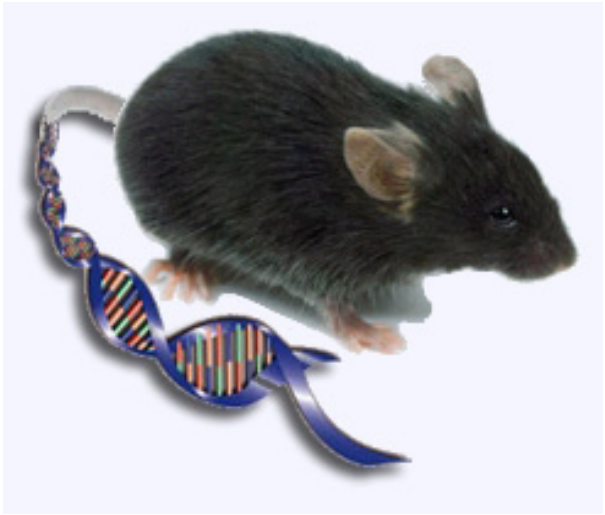
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

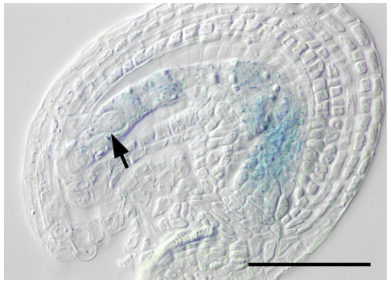
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

DNA methylation in animals vs. in plants





methylation status

CpG

methylation status

CpG or CpNpG

CpNpNp

Cell-specific methylation allows maintain of tissue-specific gene expression profiles

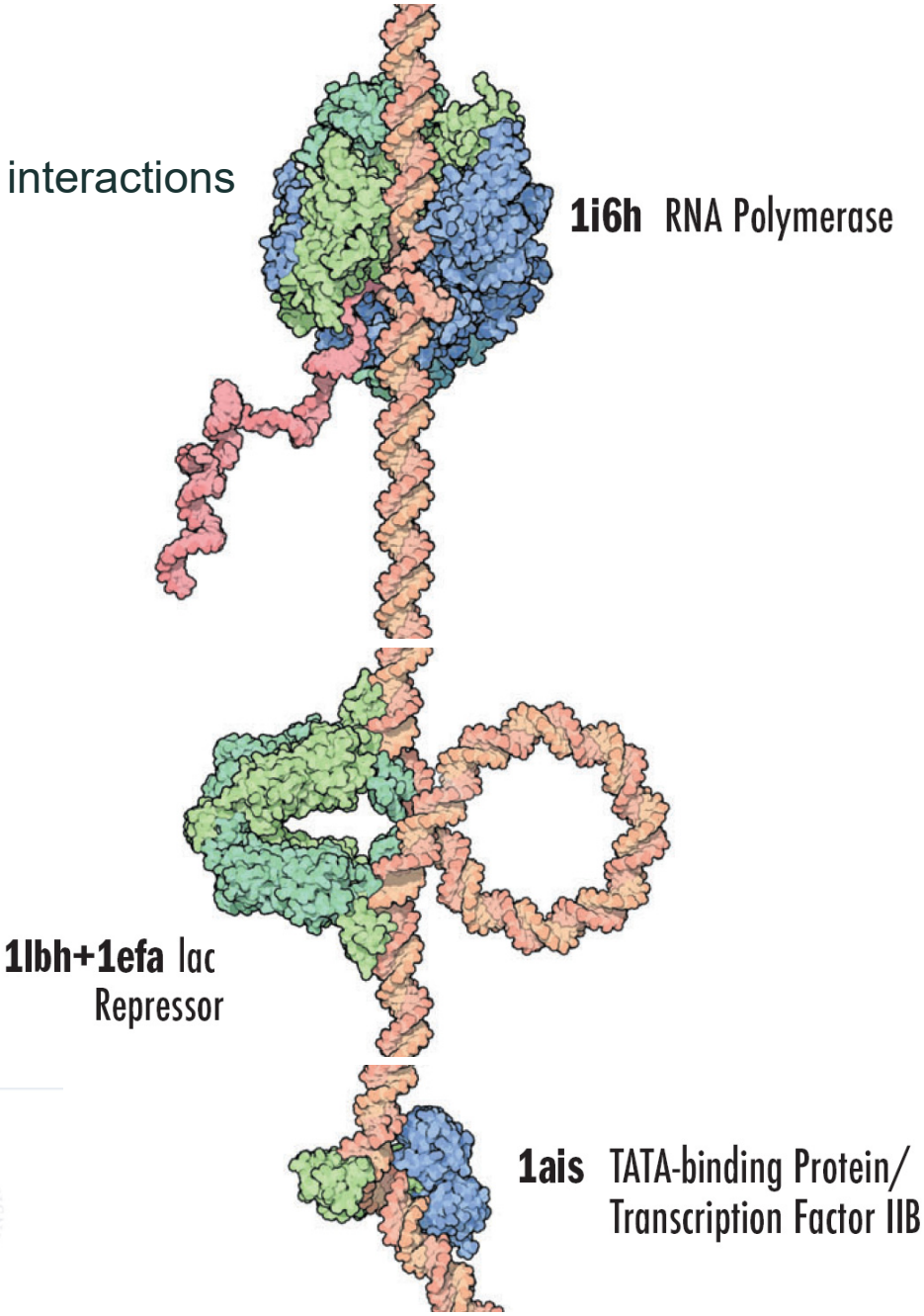
↓

Imprinting and "cell memory" → **Mechanism of transcriptional regulation by DNA methylation mostly unknown**

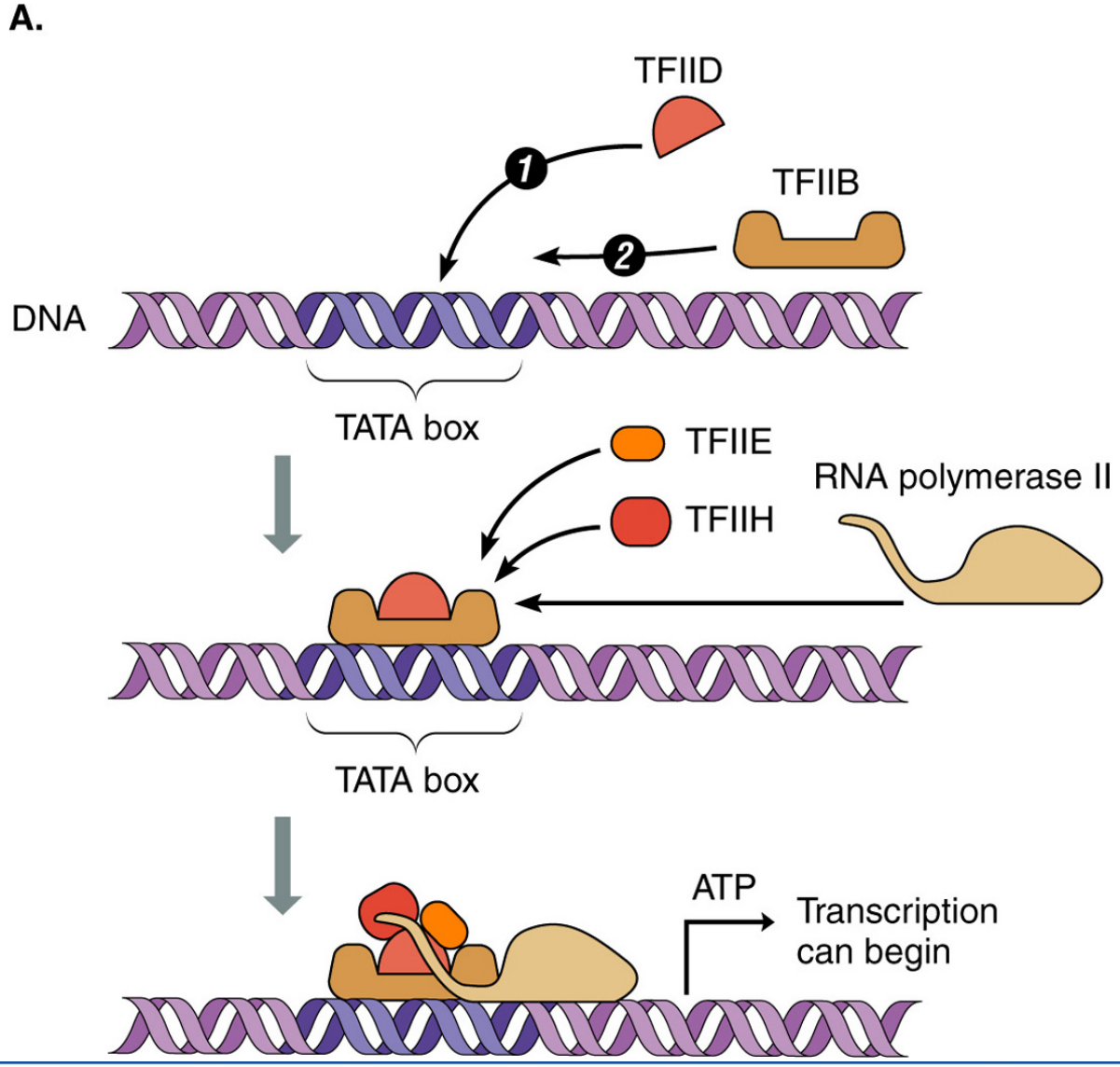
EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Importance of Protein Interactions

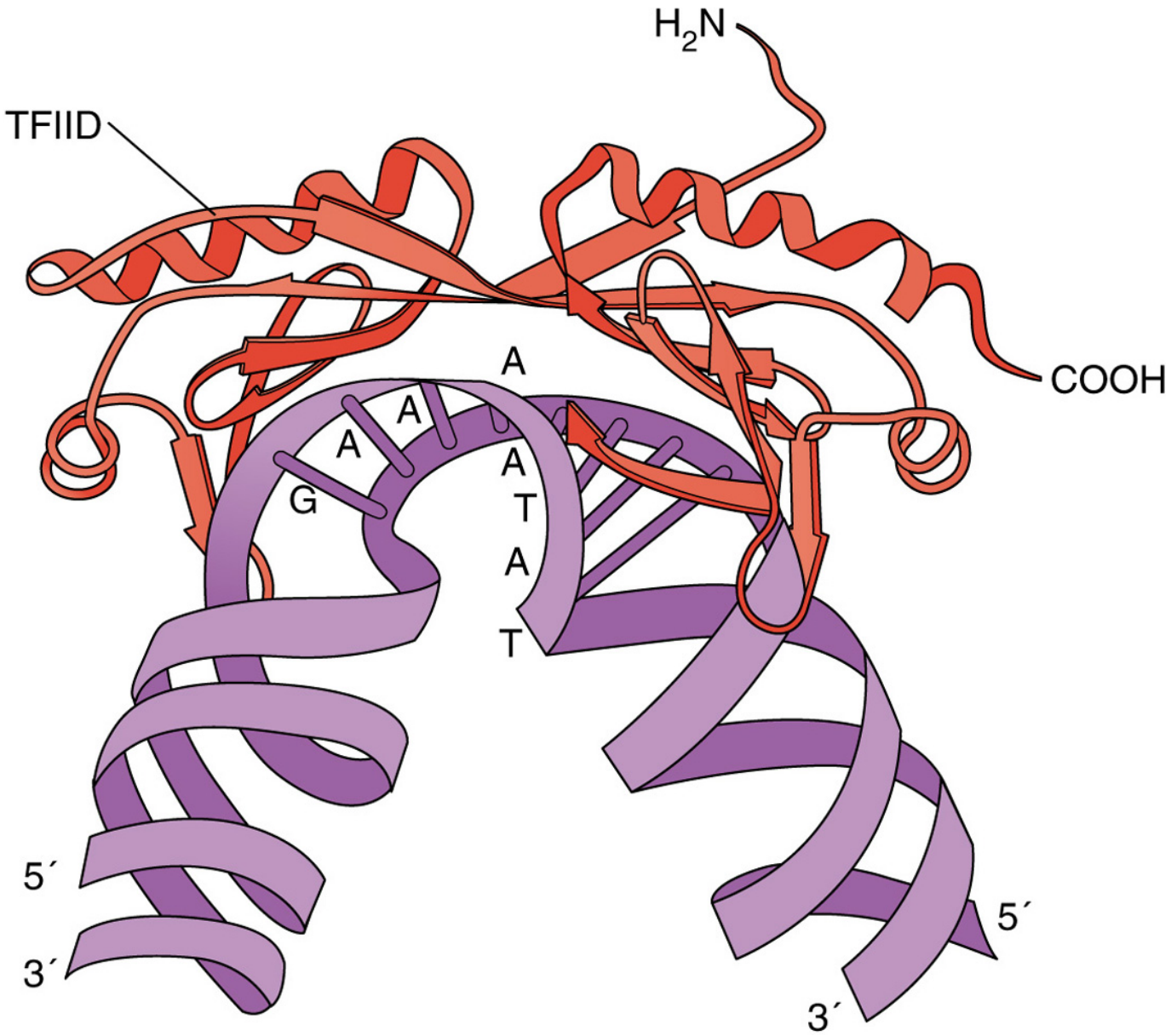
- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription



Initiation of Transcription

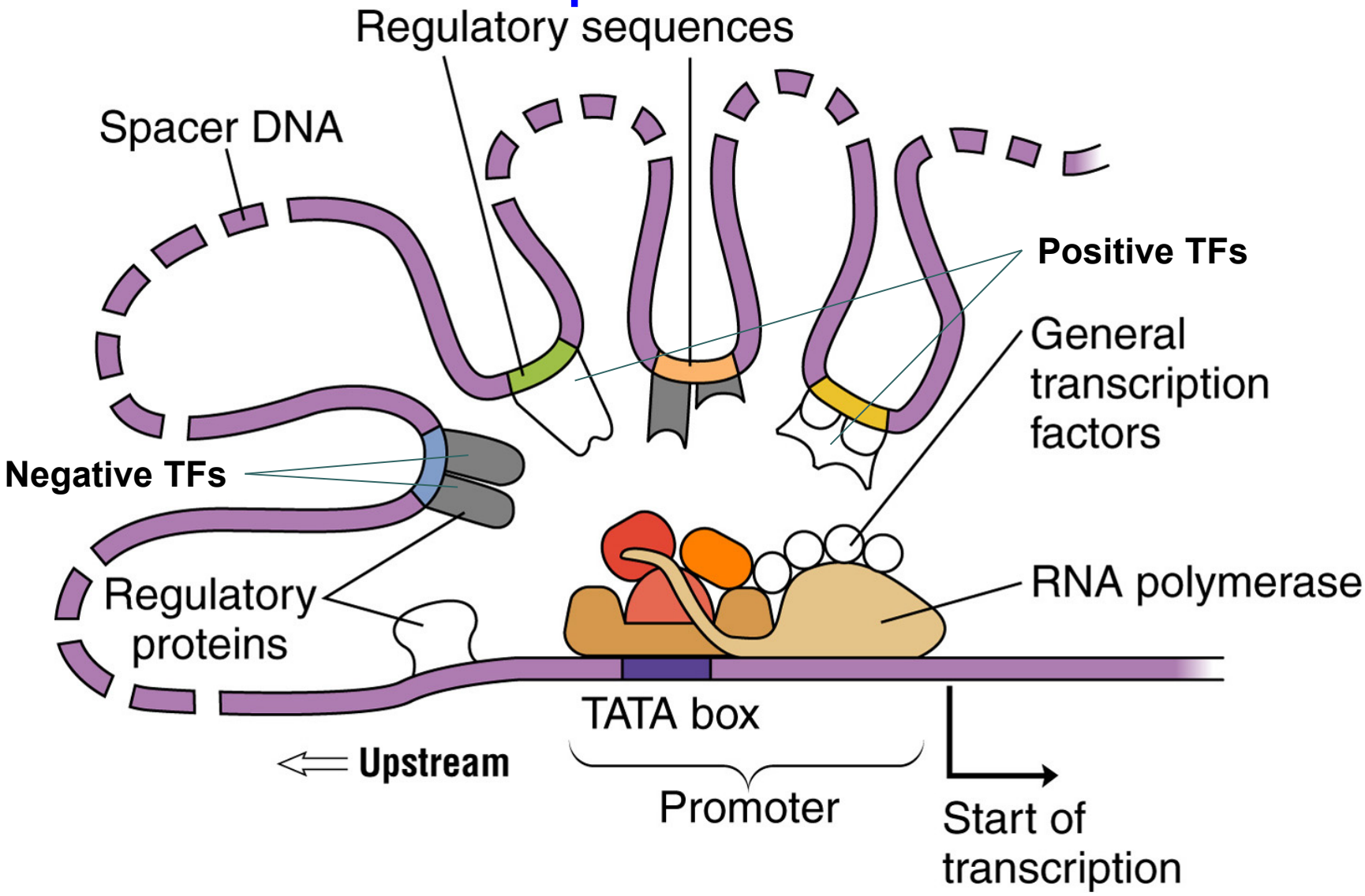


B.



EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Initiation of Transcription



EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

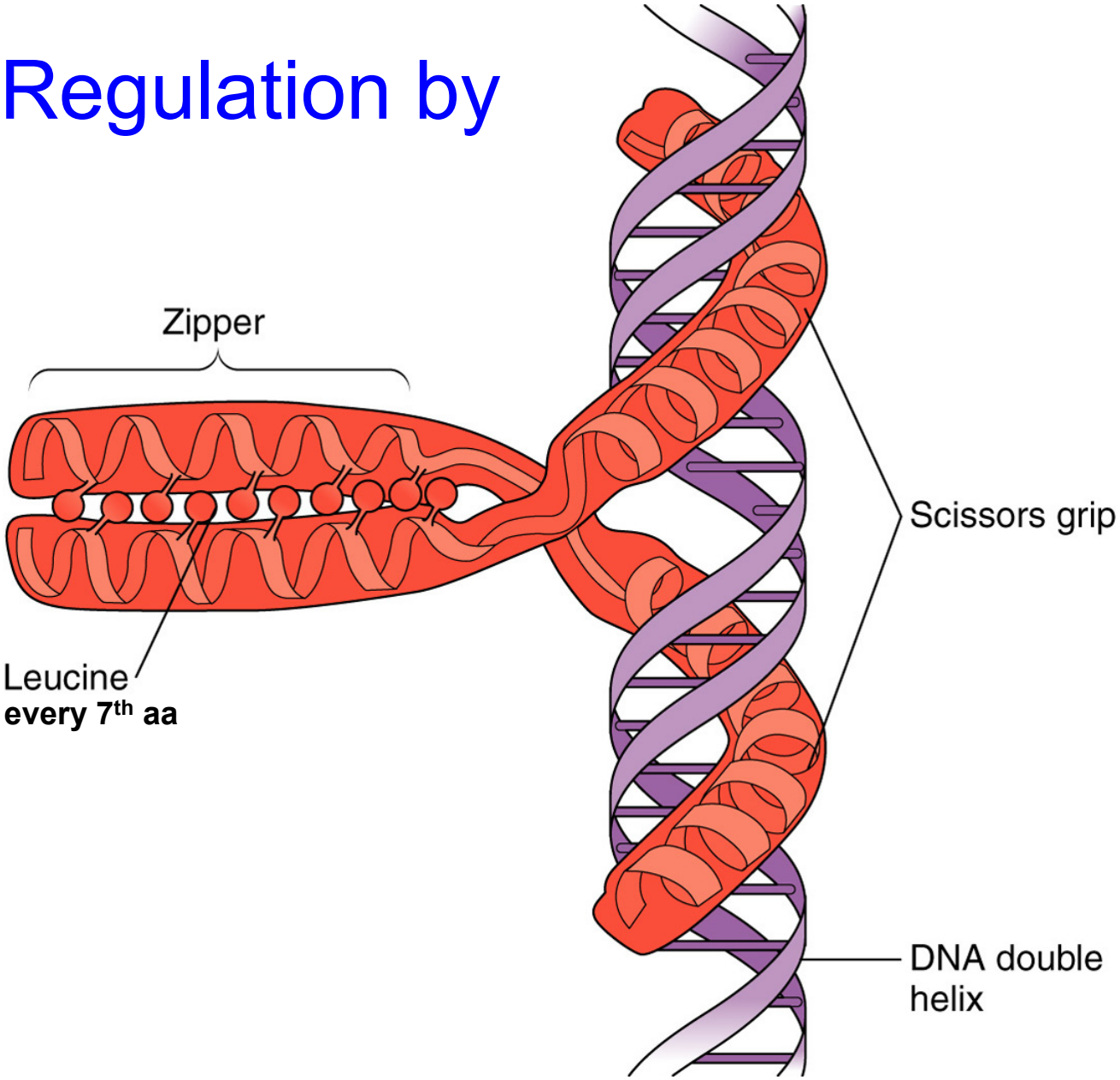
Transcriptional Regulation by TAFs

Signal recognition

↓

Dimerization →

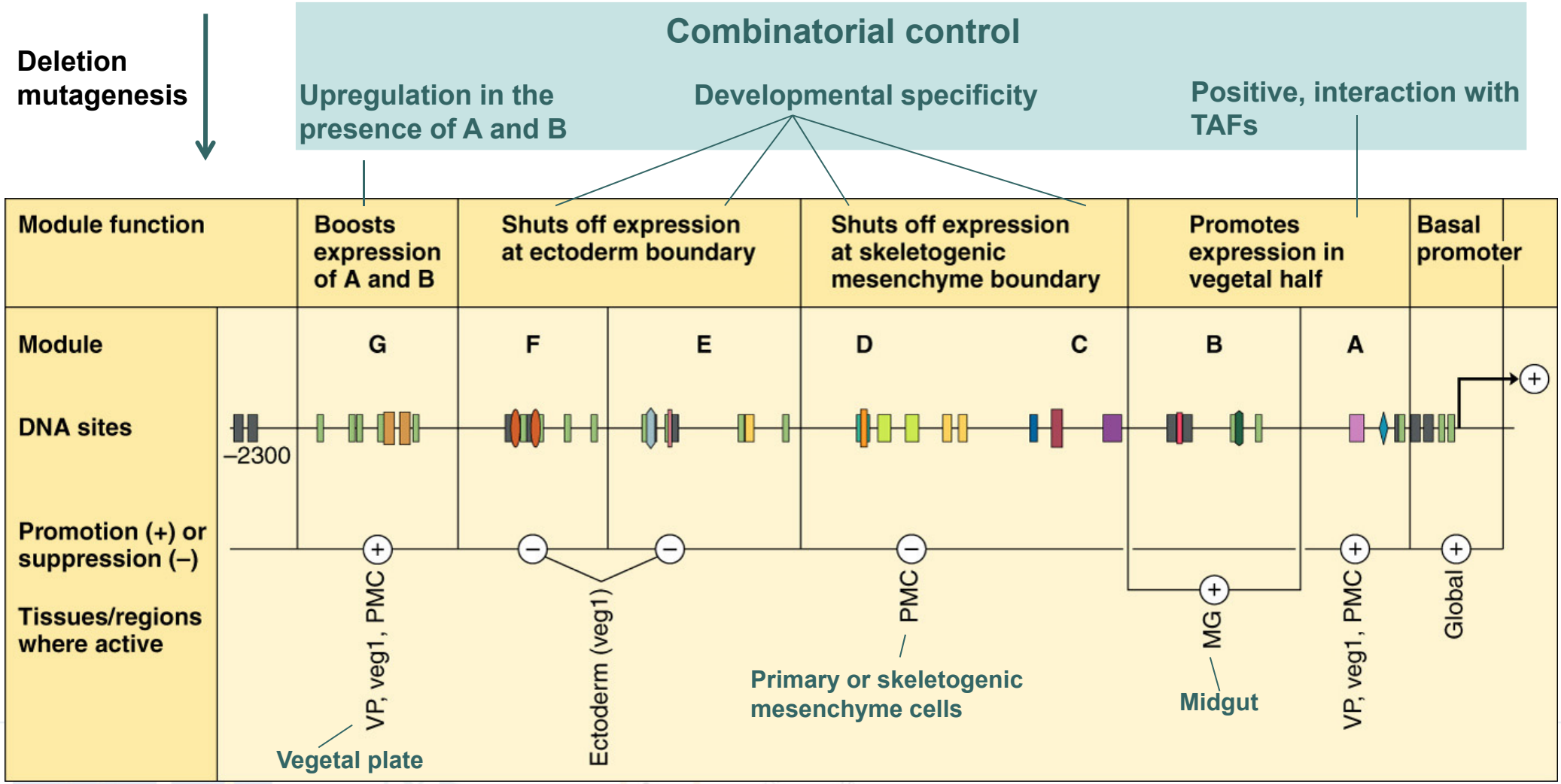
DNA binding and transcription activation



EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

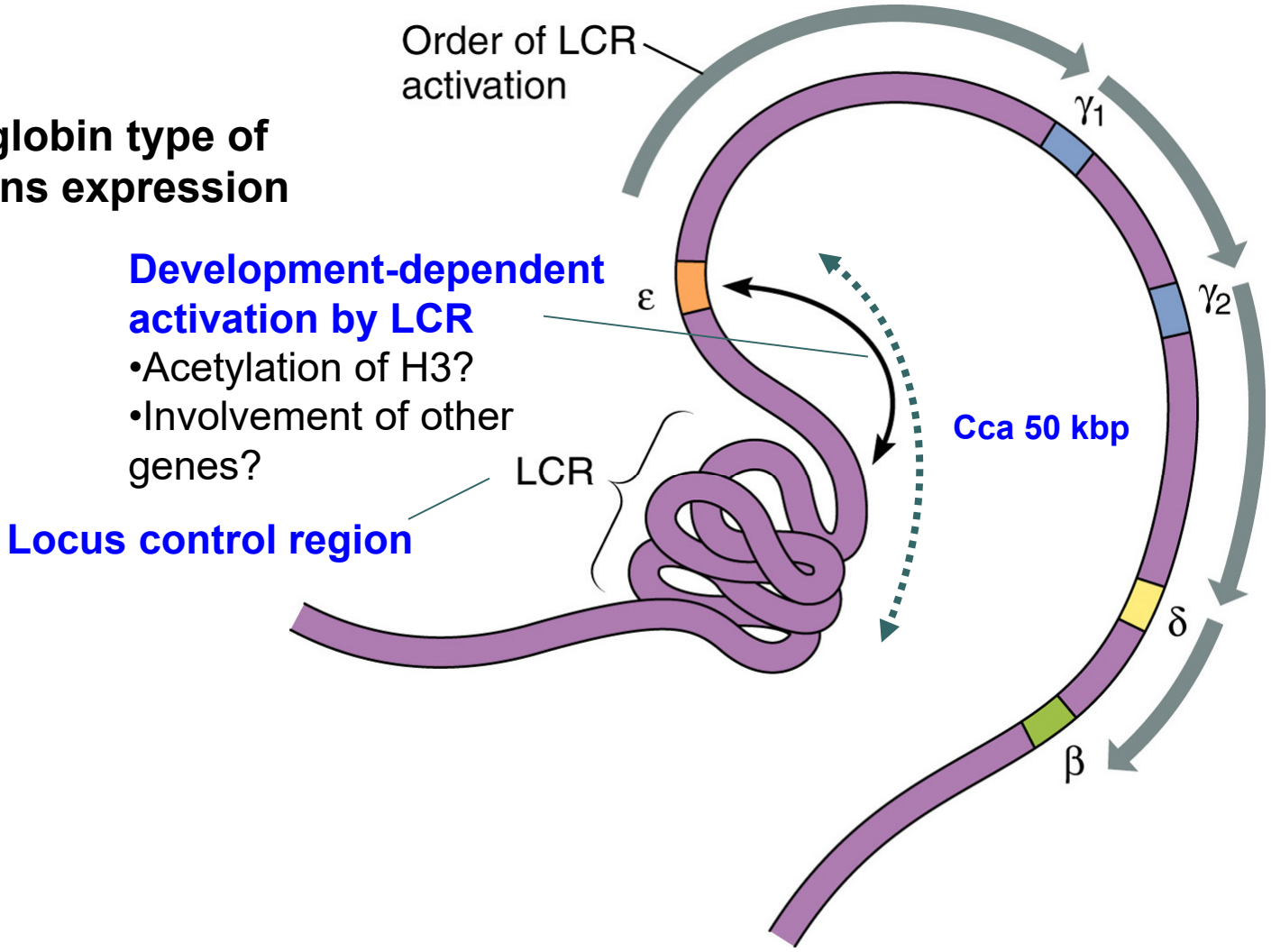
Multifactorial Promoters Control

ProENDO16:REPORTER **(sea urchin)**



Multifactorial Promoters Control

Regulation of β-globin type of hemoglobin chains expression



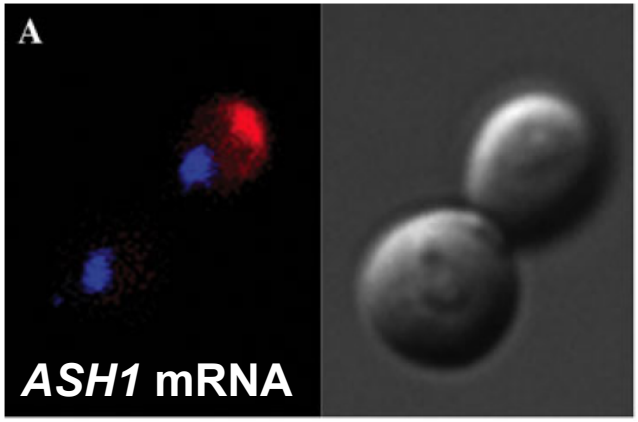
EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

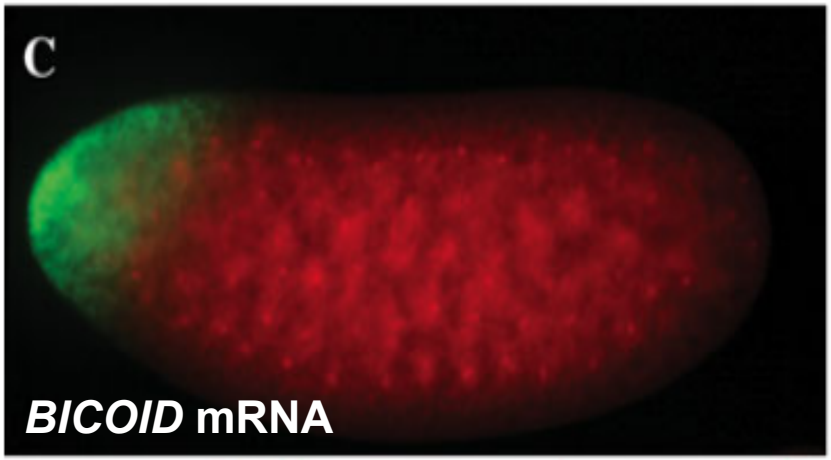
Importance of Protein Interactions

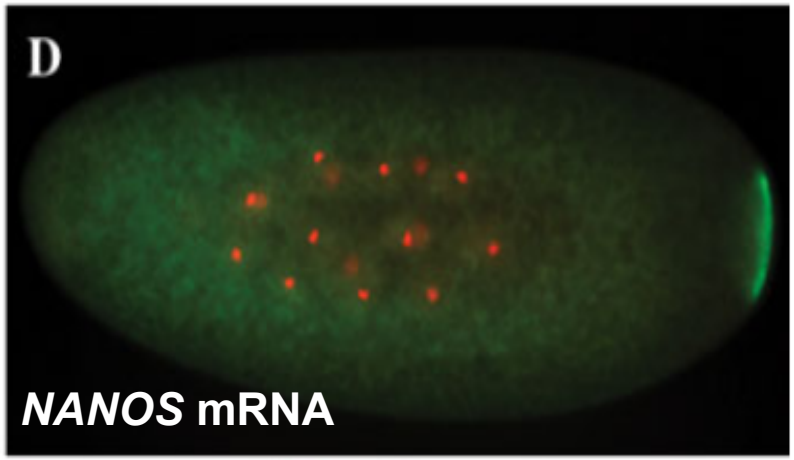
- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization

mRNA localization

- **Importance of mRNA localization**
  - Control over spatiotemporal localization of gene product (protein)
    - Asymmetric cell division during development
    - Embryo polarization





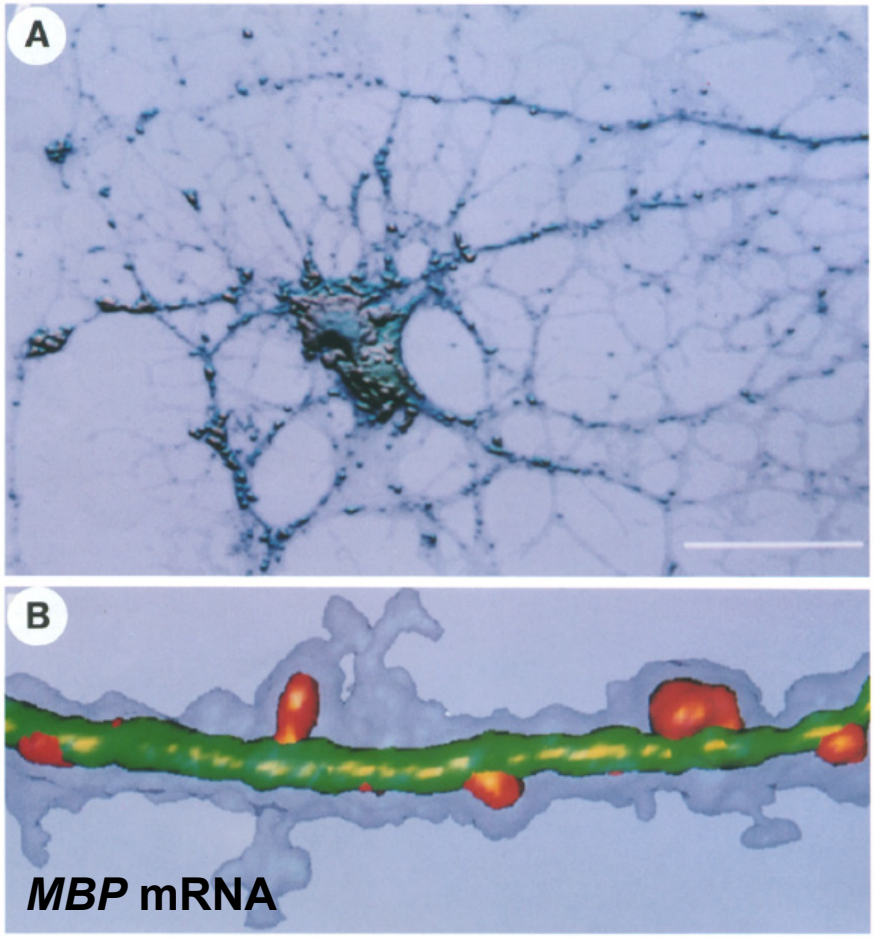


Shahbabian and Chartrand, 2012

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

mRNA localization

- **Role of mRNA localization**
  - Attenuating the expression of potentially toxic proteins
    - Localization of expression of MYELIN BASIC PROTEIN (MBP) into myelination regions of nerve cells



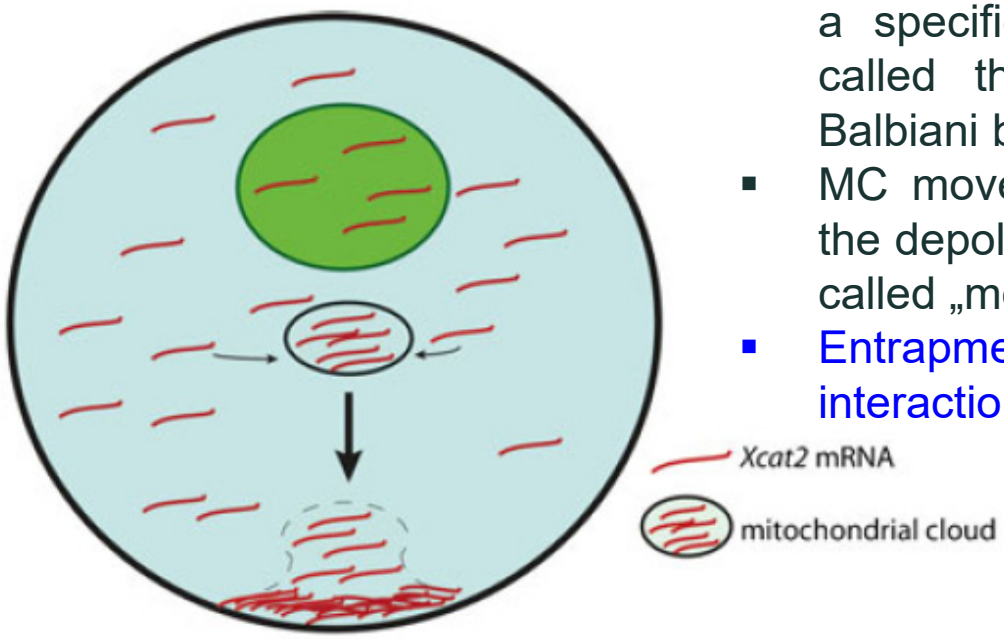
Ainger et al., 1993

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

mRNA localization

Mechanisms

- **Diffusion and entrapment of mRNA**



- During the early stages of *Xenopus* oogenesis, *Xcat-2* mRNA is restricted to a specific structure in the cytoplasm called the mitochondrial cloud (MC, Balbiani body)
- MC movement is partly dependent on the depolymerization of microtubuls (so-called „molecular motor“)
- Entrapment on the vegetal pole via interaction of MC and ER

Shahbabian and Chartrand, 2012

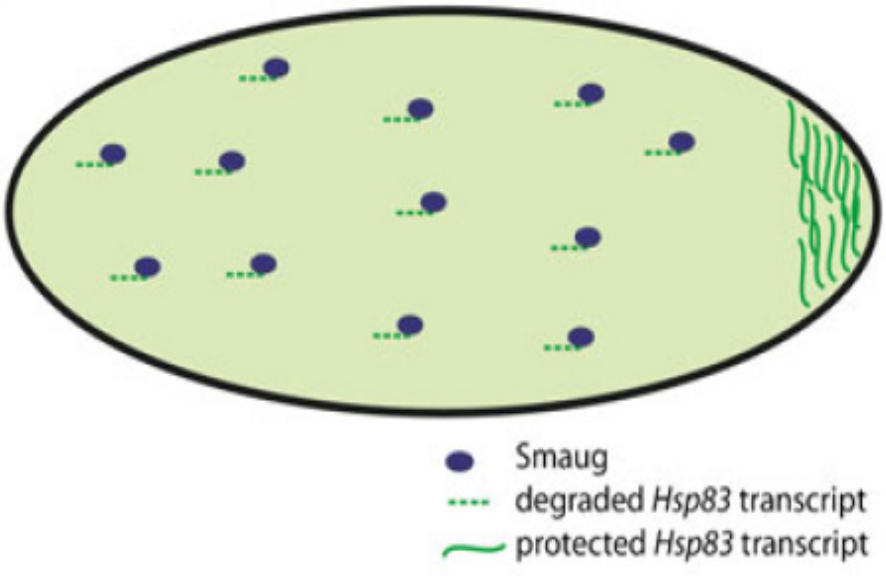
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

mRNA localization

Mechanisms

- **Localized mRNA degradation**
  - During embryogenesis in *Drosophila m.* *Hsp83* mRNA is localized at the posterior pole of embryo, similarly to *NANOS* mRNA
  - *Hsp83* mRNA is localized in the whole embryo, however, it is destabilized by cis elements both in 3'UTR (HDE) and in coding region (HIE).

Shahbabian and Chartrand, 2012

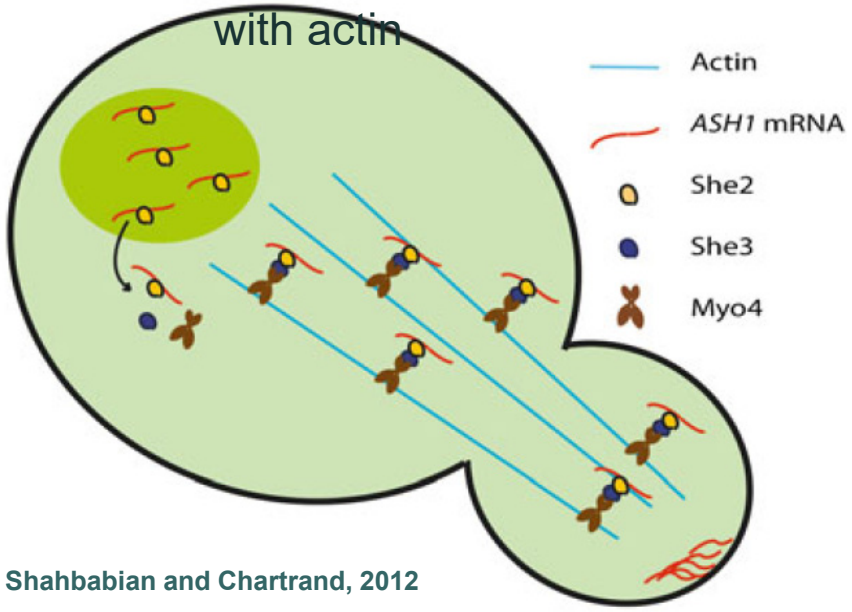


- HIE elements are recognized by SMAUG protein, which mediates binding of degradation complex CCR4/POP2/NOT
- In the posterior pole the *Hsp83* mRNA is protected from the effects of SMAUG by the so-called HPE element in 3'UTR; mechanism of this protection is still unknown

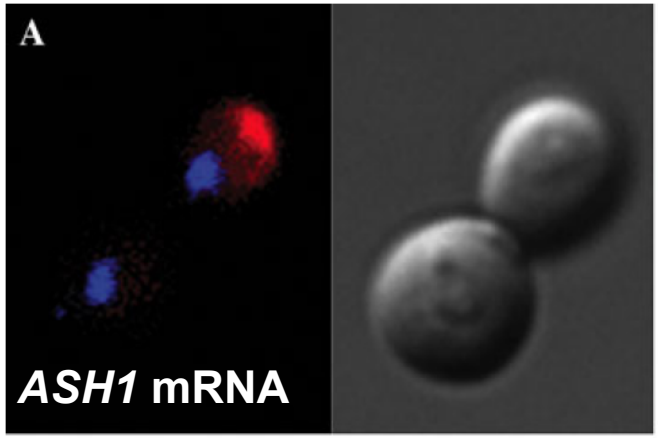
mRNA localization

Mechanisms

- **Active transport of mRNA**
  - Asymmetric Synthesis of HO1 (ASH1) is represor of the *HO* endonuclease in *S. cereviseae;* inhibition of HO results in inhibition of mating-type switching in daughter cells
  - *ASH1* mRNA is actively transported by „molecular motors“ associated with actin



Shahbabian and Chartrand, 2012



Shahbabian and Chartrand, 2012

- *ASH1* mRNA contains 4 *cis* elements (3 in the coding sequence and 1 in the 3’UTR), which are recognized by RNA-binding protein SHE2
- SHE2 interacts with SHE3, an adaptor protein, which links SHE2 to the molecular motor MYO4, which then binds to actin and allows transport of *ASH1* mRNA into the daughter cell

Importance of Protein Interactions

- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - hnRNA splicing

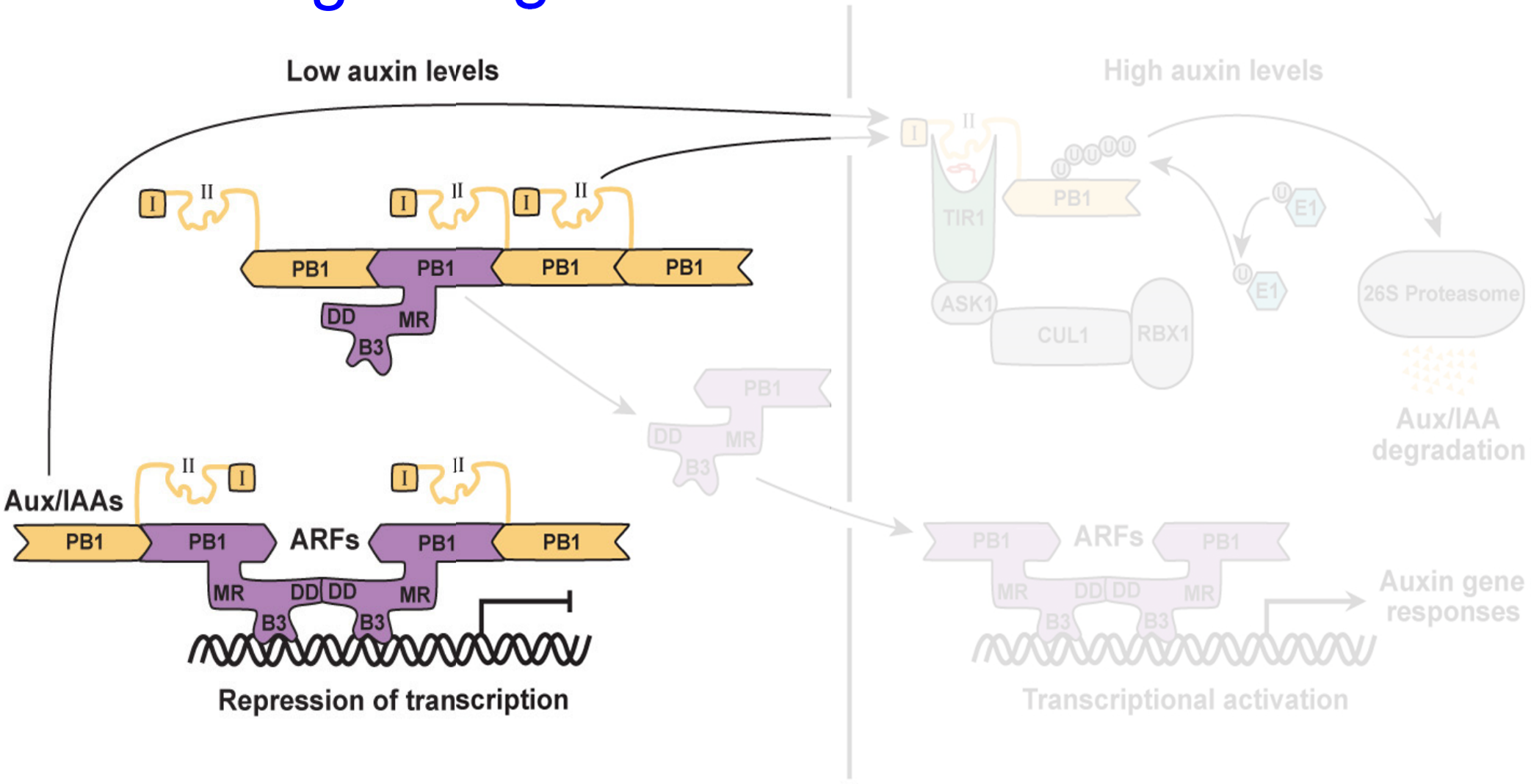
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Importance of Protein Interactions

- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - hnRNA splicing
  - Protein stability

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Auxin Signalling



Jing and Strader, *Plant Structural Biology, Hormonal Regulations* (2018)

EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

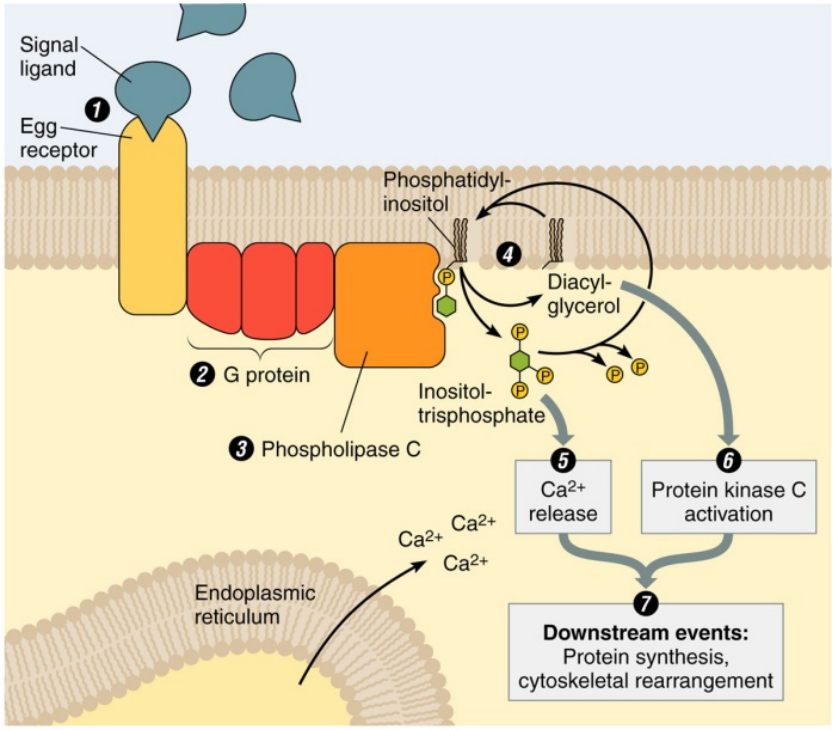
Importance of Protein Interactions

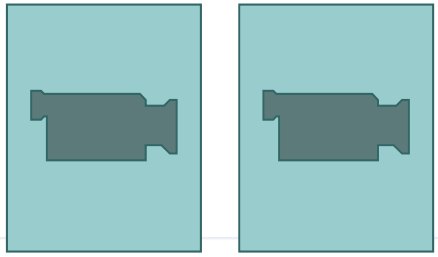
- Functional importance of specific protein interactions
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - hnRNA splicing
  - Protein stability
  - Signal transduction

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Signal transduction

- **PI and signal transduction**
  - through G protein and phospholipase C
  - Signalling cascades using cAMP





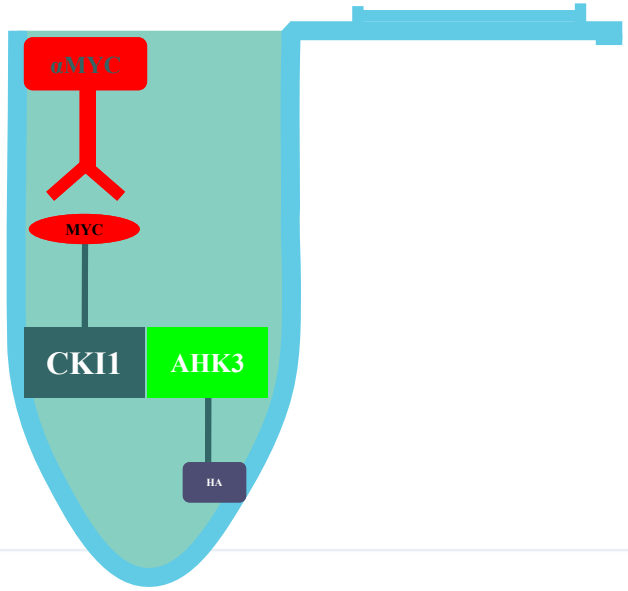
Outline

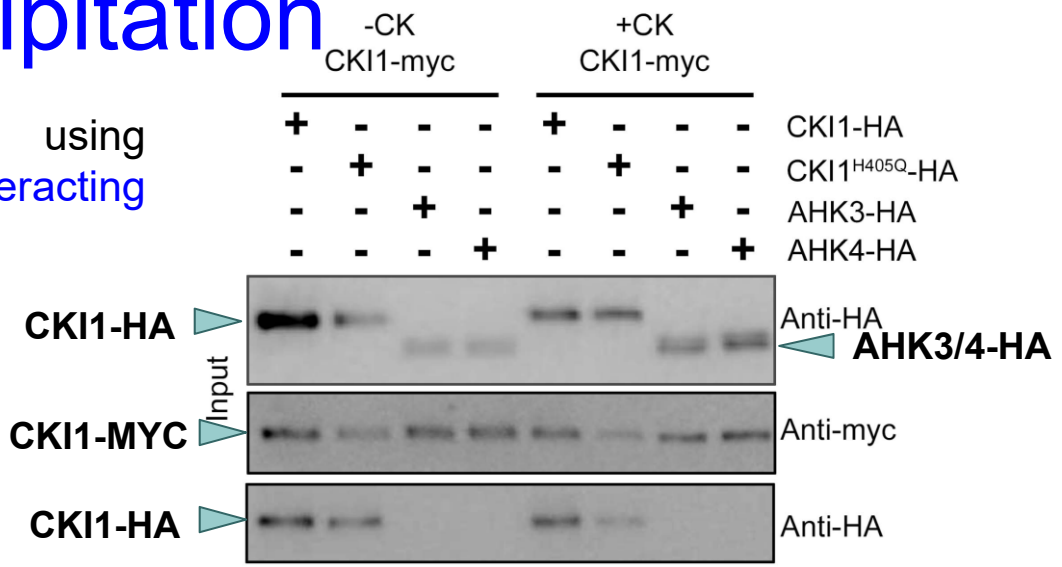
- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation

PI *in vivo*

Co-immunoprecipitation

- Isolation of protein complexes using antibodies recognizing one of the interacting proteins





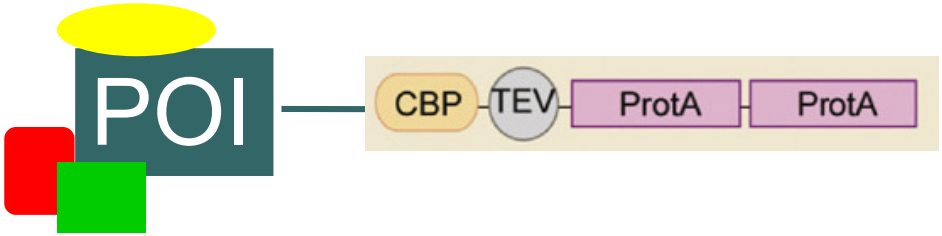
Outline

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)

PI *in vivo*

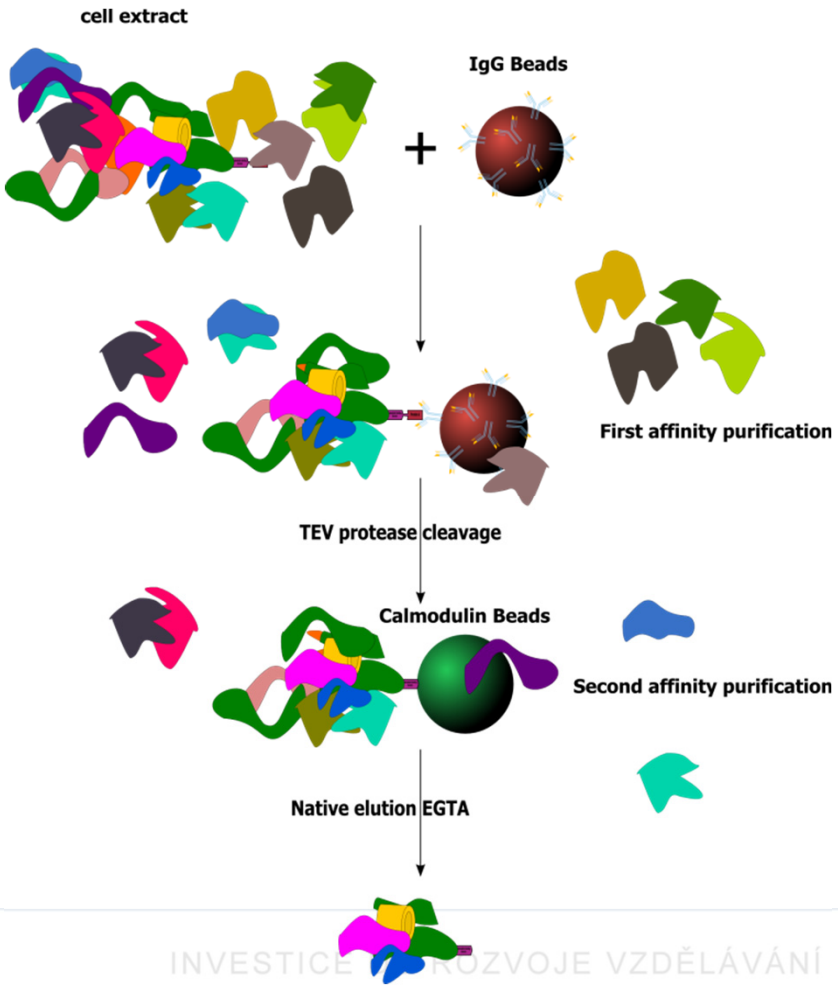
Tandem affinity purification (TAP-tag)

- Isolation of protein complexes using recombinant proteins fused with two different binding domains - tags



  - calmodulin-binding protein (CBP)
  - IgG binding domains of protein A (ProtA)
  - TEV (tobacco etch virus) protease recognition site

- Isolated protein complexes are separated using 1D ELFO and then identified by MS
- Advantage: using two independent protein domains for affinity purification -> therefore high specifity



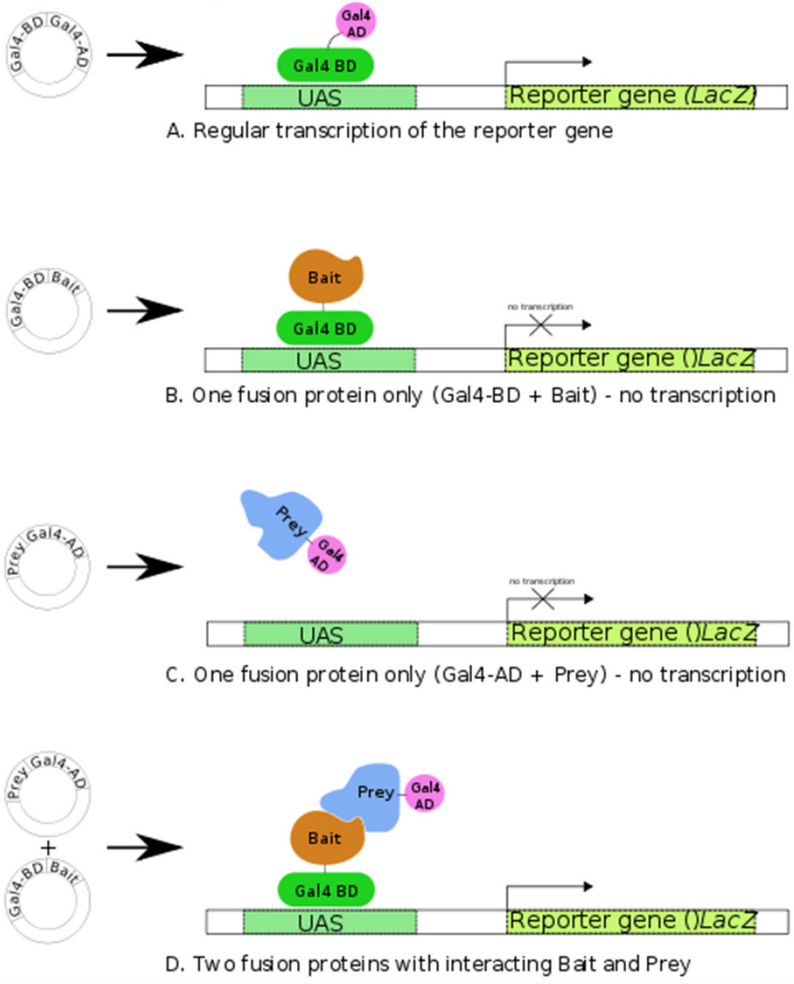
Outline

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)

PI *in vivo*

Yeast two-hybrid assay (Y2H)

- Isolation of protein complexes using recombinant proteins, each fused to a part of Gal4 transcription factor
  - One of the proteins (bait) fused to DNA-binding domain of Gal4 (Gal4-BD)
  - The other protein (prey) fused to activation domain of Gal4 (Gal4-AD)
- Protein interactions enable reconstitution of binding domains with activation domain and triggers the expression of a reporter gene
  - Visual detection (blue color, LacZ)
  - Auxotrophic selection (growth on medium lacking histidine, His)
- Method used for searching for interaction partners in expression libraries of individual organisms



Outline

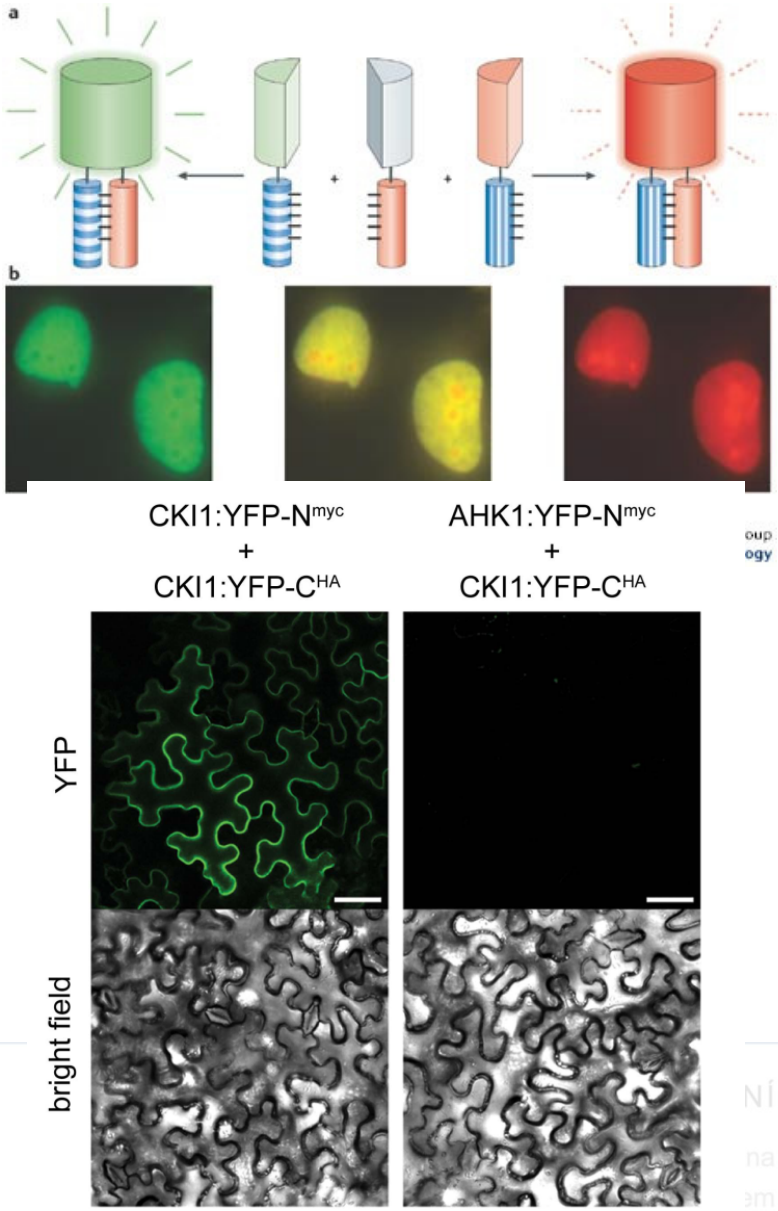
- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)
  - Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

PI *in vivo*

Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)

- Protein interaction is detected by reassociation of the fluorescent protein
  - Each of the potential interaction partners is fused to one of the subunits of the fluorescent protein, e.g. YFP
  - In case of interaction, the fluorescence appears
- Apart from identification of the interaction, this method allows you to localize the interaction within the cell



Outline

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)
  - Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)
  - Membrane Recruitment Assay (MeRA)

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

PI *in vivo*

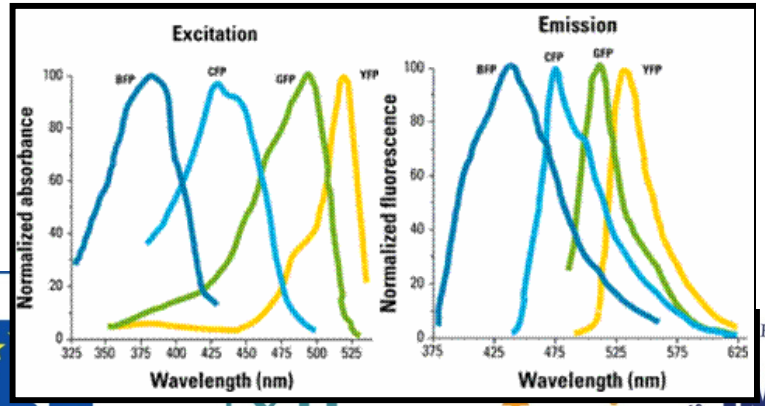
Membrane Recruitment Assay (MeRA)

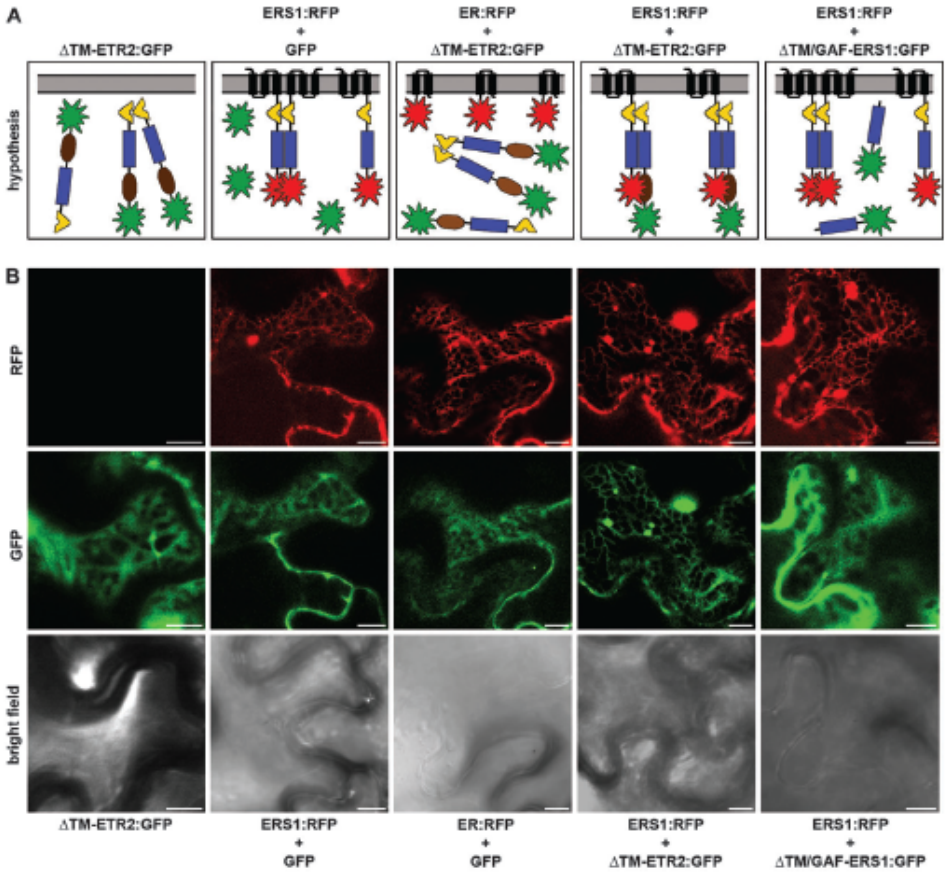
- Method for identification of interactions of cytoplasmic proteins with the membrane proteins

Membrane protein is fused with a fluorescecnt protein

Potential interaction partner is fused with another fluorescent protein with different emission spectra

- In case of interaction the localization of the cytoplasmic protein is changed – it is colocalized on the membrane with the membrane protein





INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

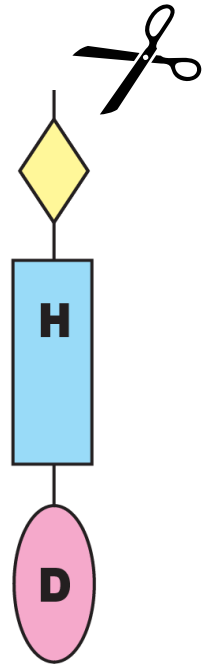
EVROPSKÁ UNIE

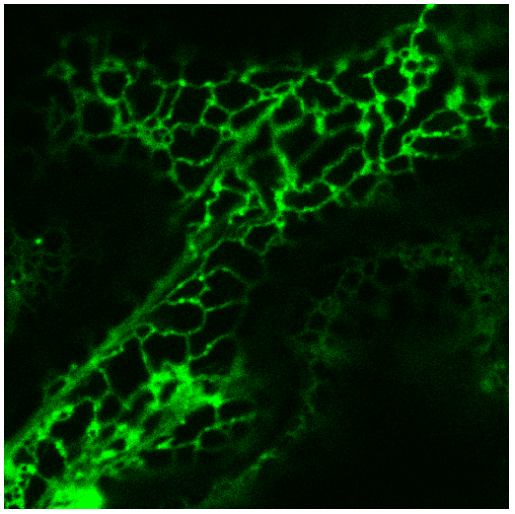
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

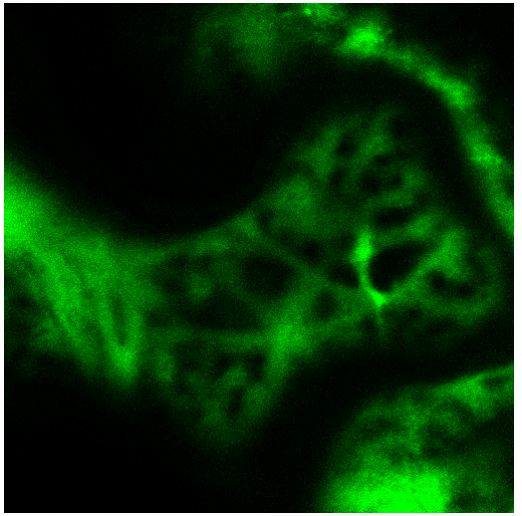
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

PI *in vivo*

Membrane Recruitment Assay (MeRA)



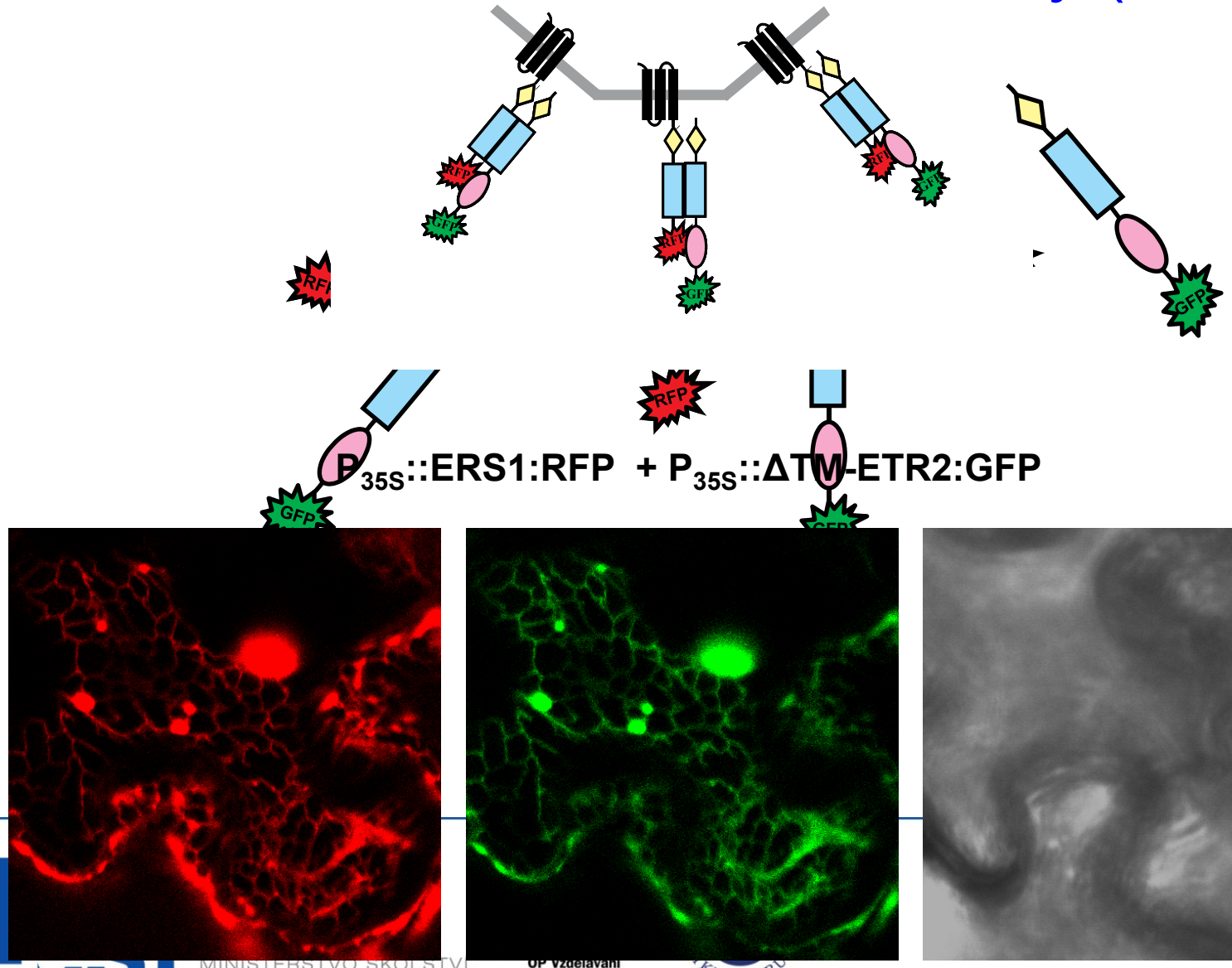




EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

PI *in vivo*

Membrane Recruitment Assay (MeRA)

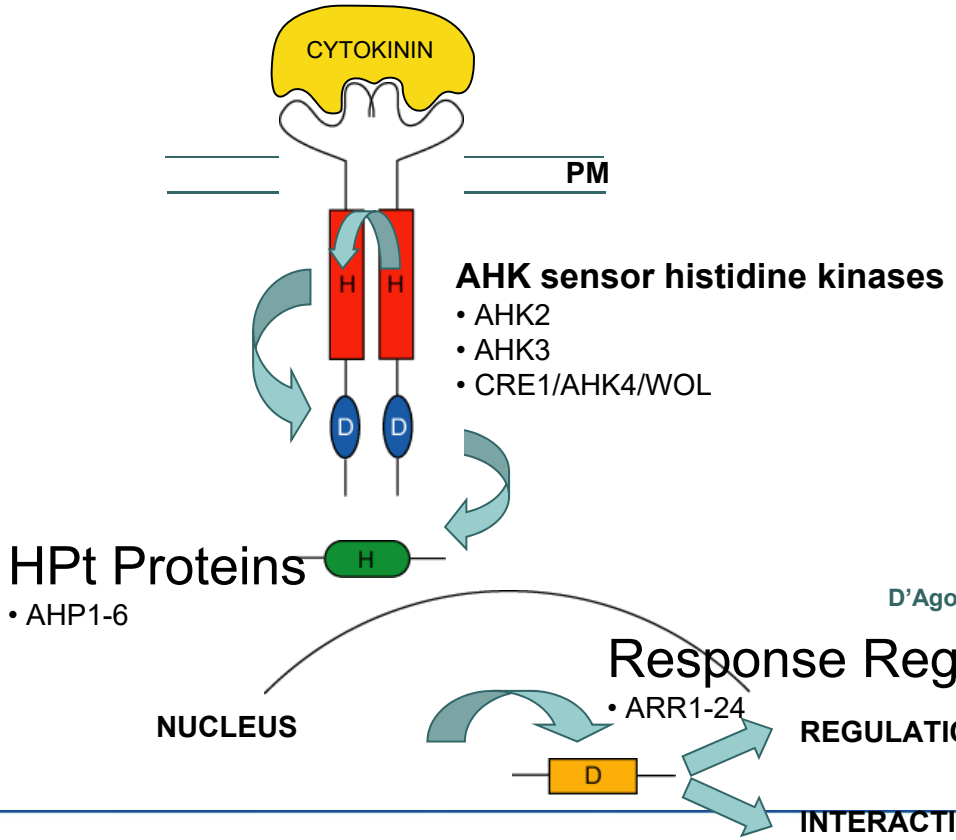


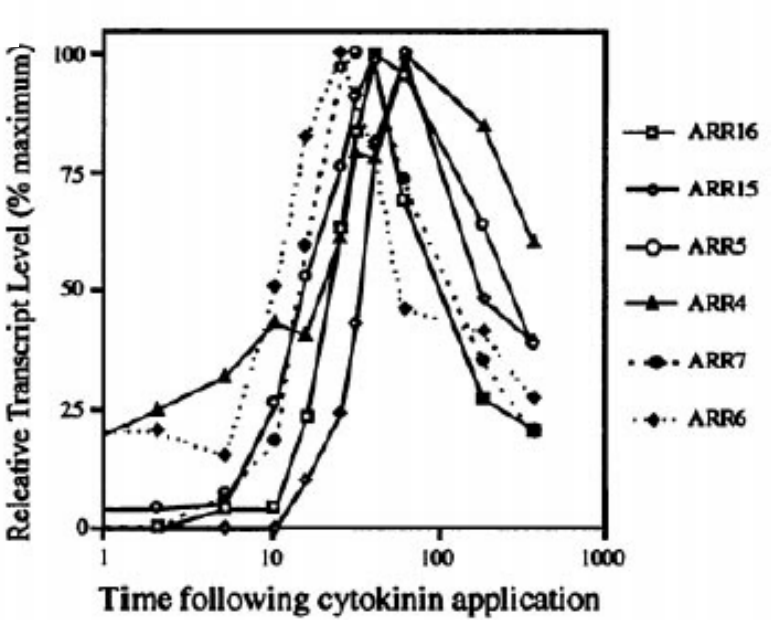
Outline

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)
  - Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)
  - Membrane Recruitment Assay (MeRA)
- Practical use of methods for *in vivo* studies of protein interactions

Signal Transduction via MSP

Recent Model of the CK Signaling via Multistep Phosphorelay (MSP) Pathway



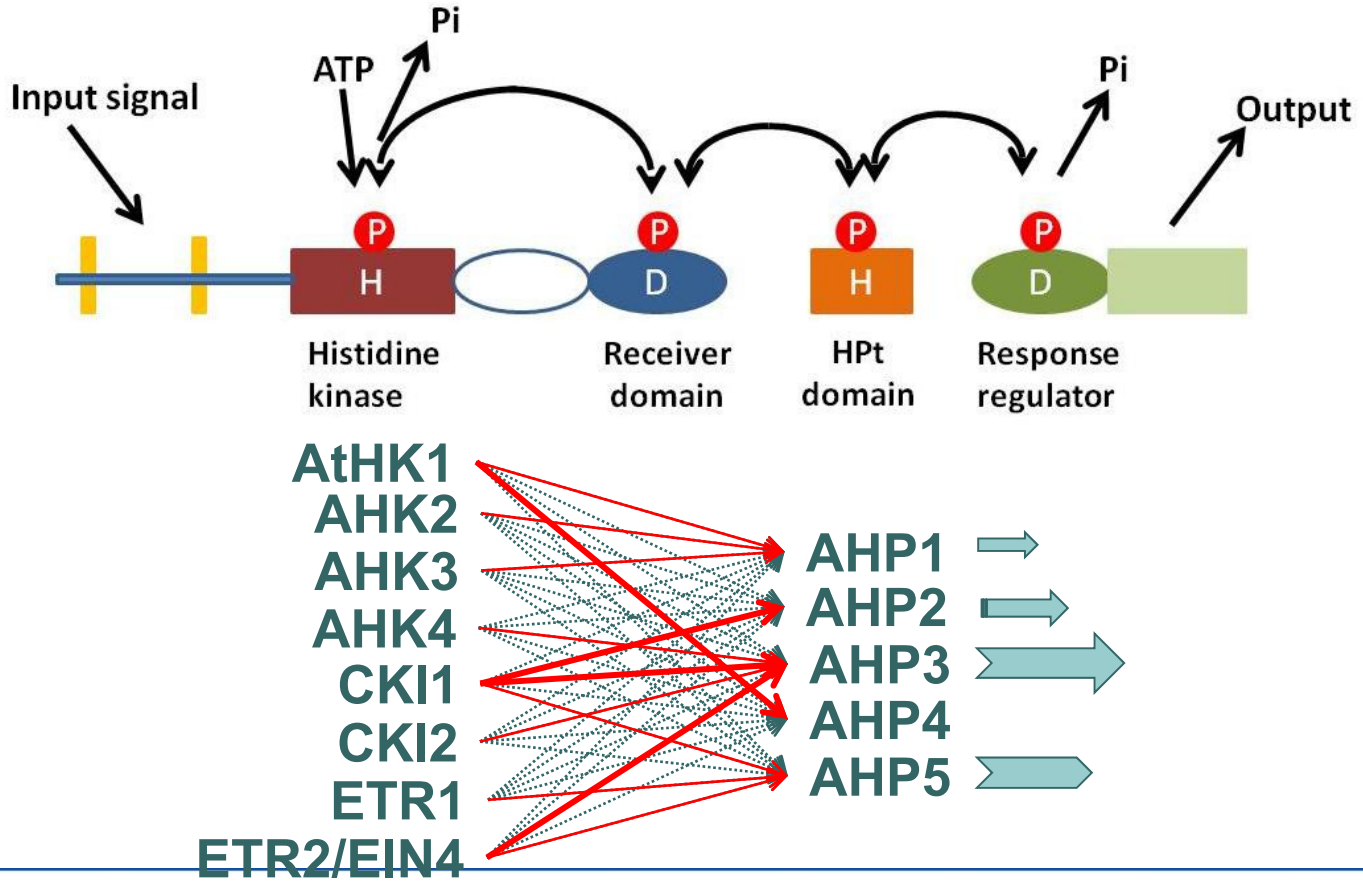


D'Agostino et al., Plant Phys, 2000

EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Is there any specificity in plant MSP?

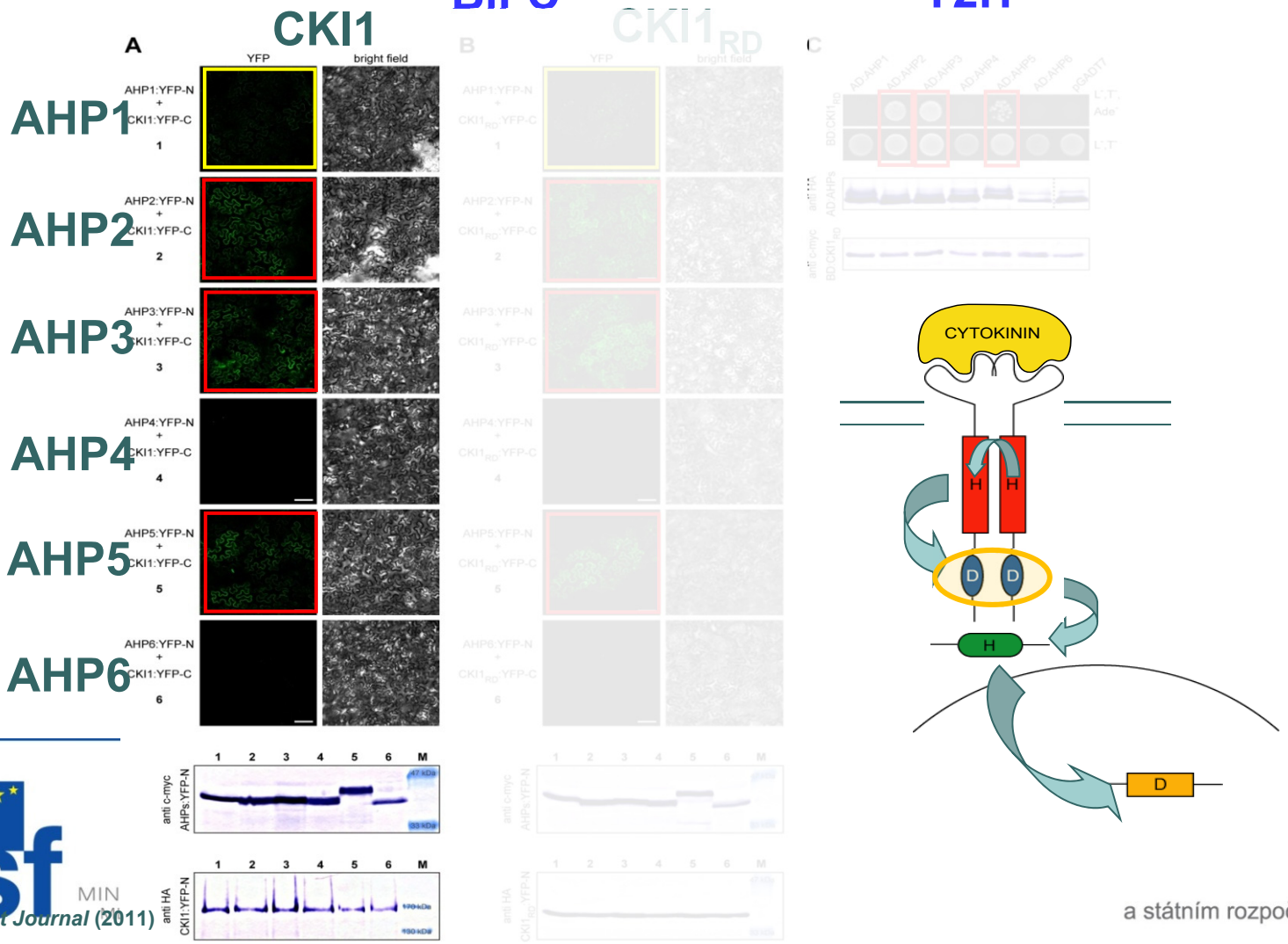
- Is there ***a signalling specificity of MSP*** in plants?



EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Specificity of CKI1 signalling

- ***CKI1 interacts*** *in vivo* with only ***subset of AHPs***

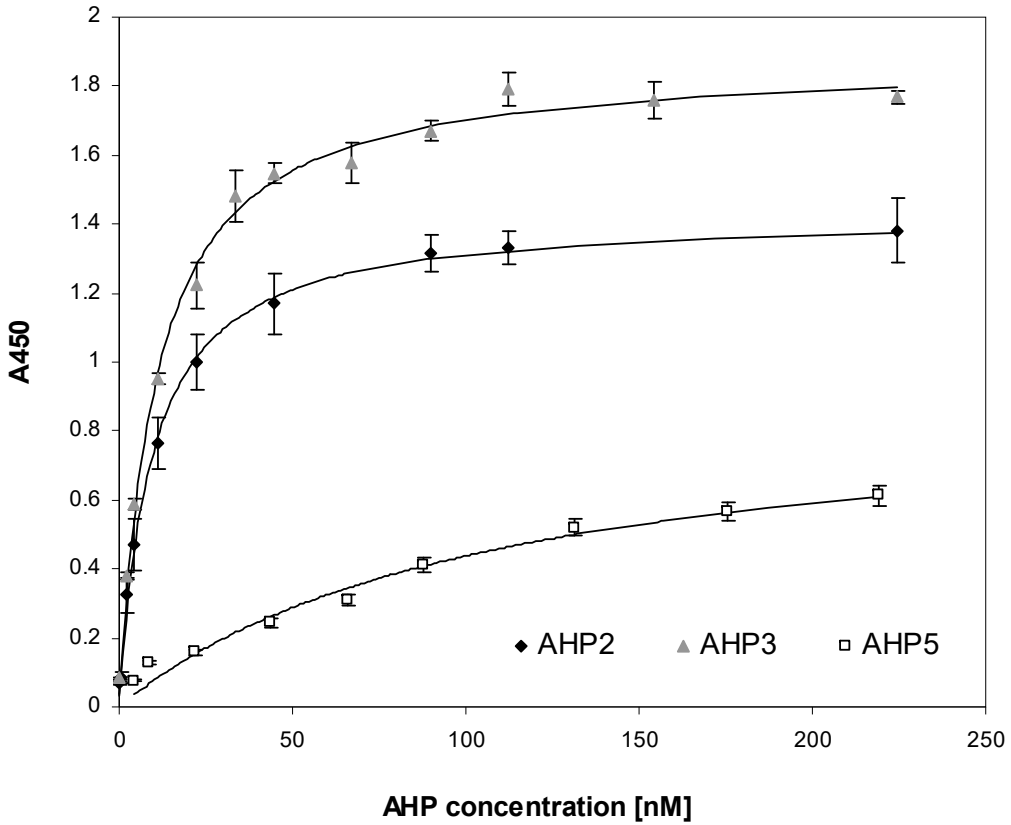


Pekárová et al., *Plant Journal* (2011)

EVROPSKÁ UNIE
MIN
VZDĚLÁVÁNÍ
spolufinancována sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Specificity of CKI1 Signalling

- ***Specificity of CKI1 interaction*** was confirmed ***in vitro***



AHP3: K_d ~ 10,5 nM

AHP2: K_d ~ 9,17 nM

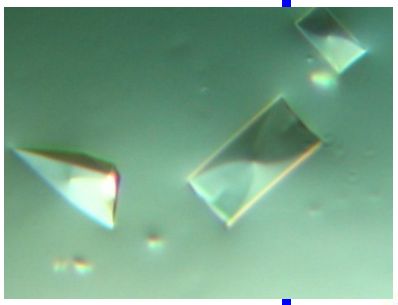
AHP5: K_d ~ 108 nM

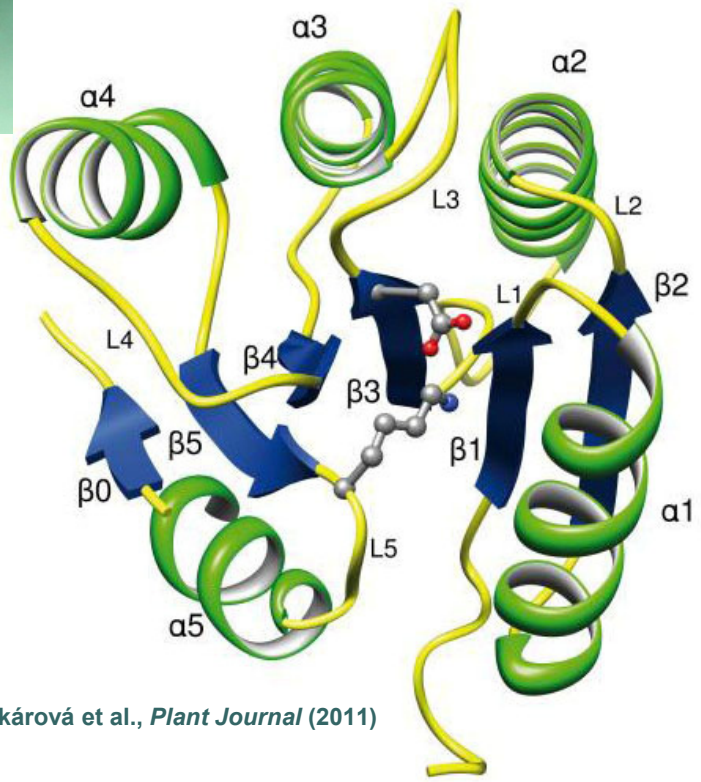
Pekárová et al., *Plant Journal* (2011)

EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

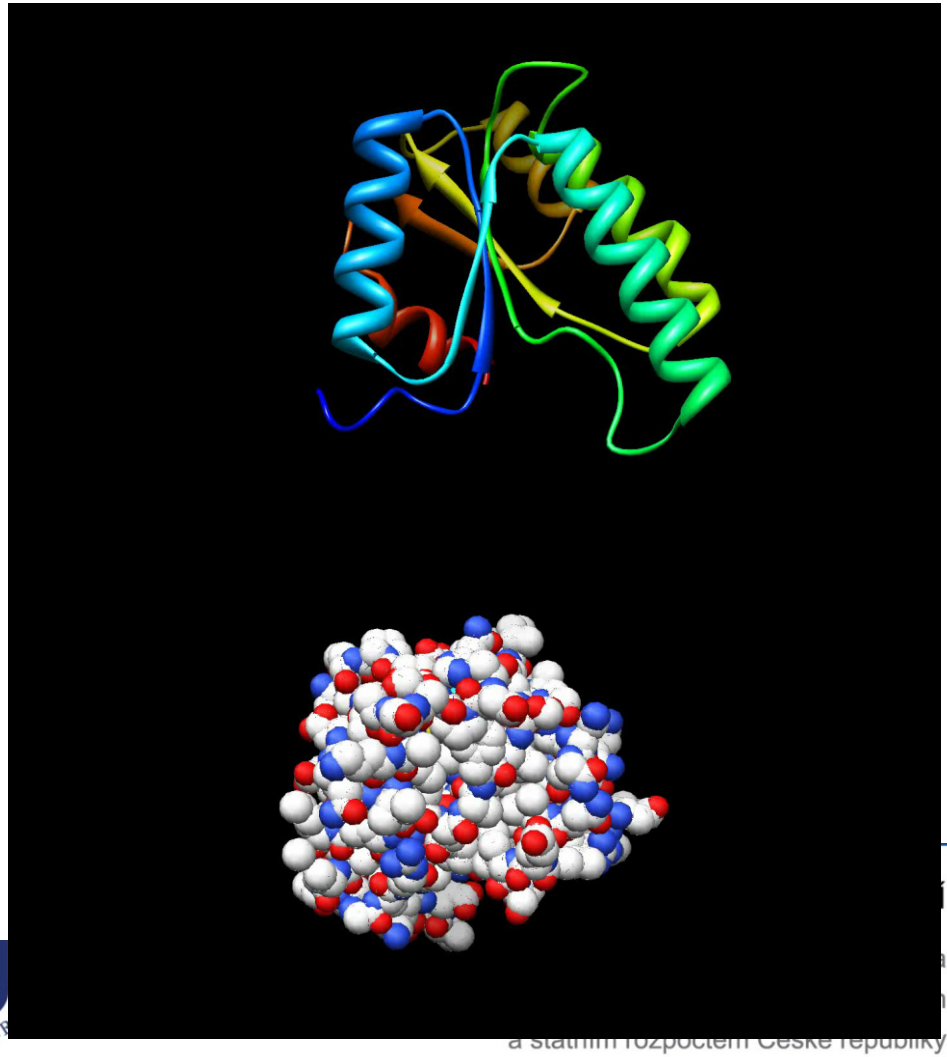
Structure of $CKI1_{RD}$

- X-ray crystallography revealed conserved ***$(\alpha/\beta)_5$ structural fold*** of $CKI1_{RD}$





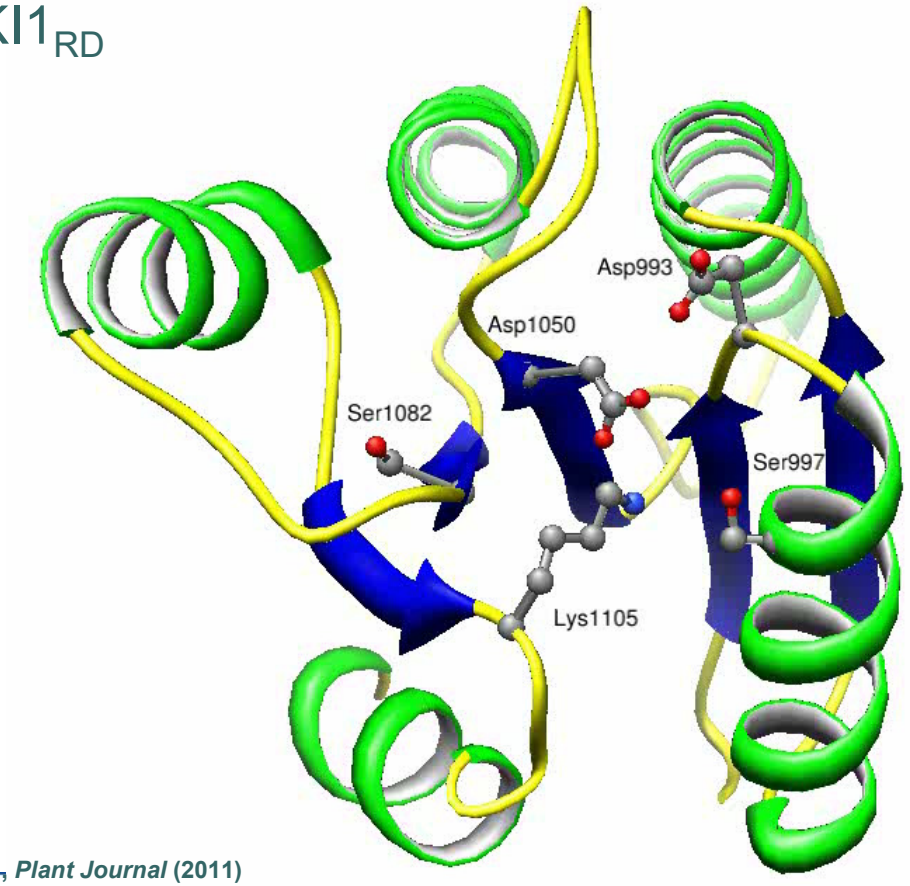
Pekárová et al., *Plant Journal* (2011)



EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
a státním rozpočtem České republiky

Dynamics of $CKI1_{RD}$

- ***Mg^{2+}binding*** leads to ***remodelling of active centre*** of $CKI1_{RD}$

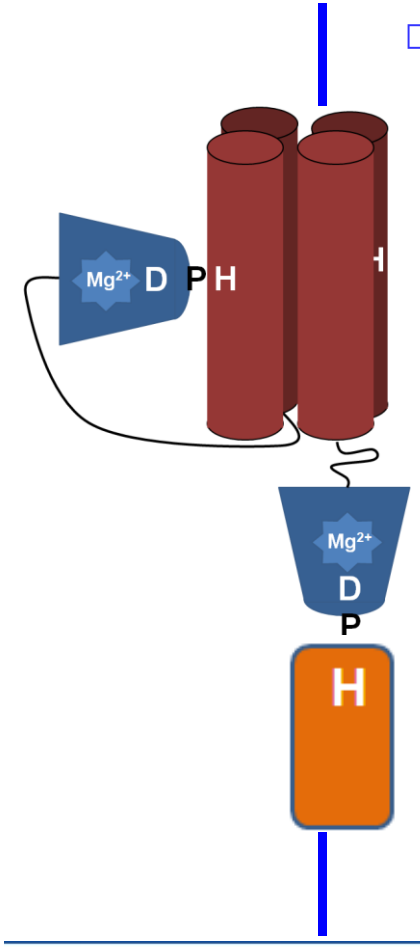


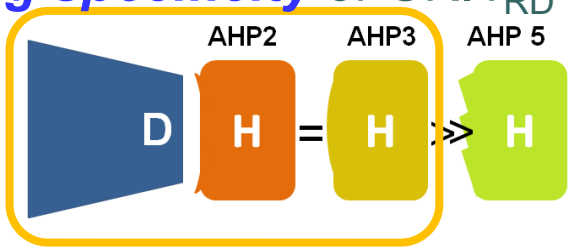
Pokárová et al., *Plant Journal* (2011)

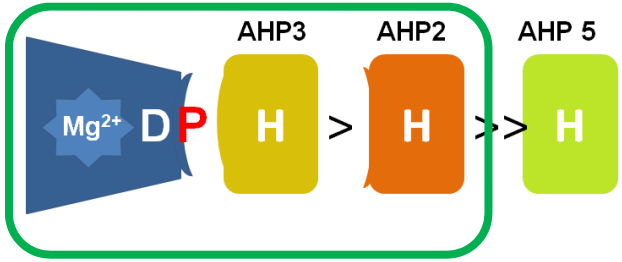
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

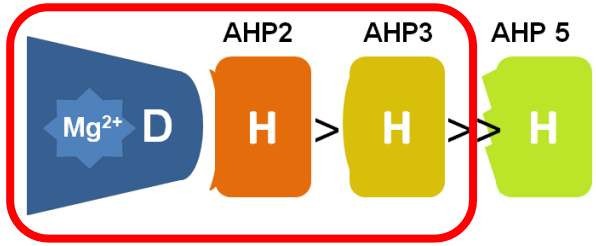
$CKI1_{RD}$ structural changes are associated with its binding specificity

- ***Mg^{2+}***- and ***BeF_3^-***-induced ***structural changes fine-tune binding specificity*** *of* $CKI1_{RD}$







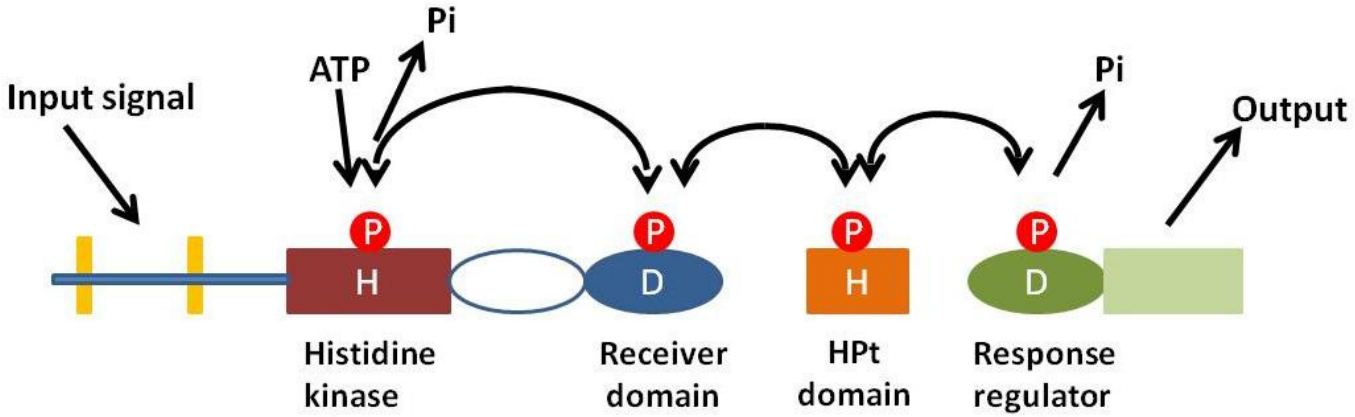


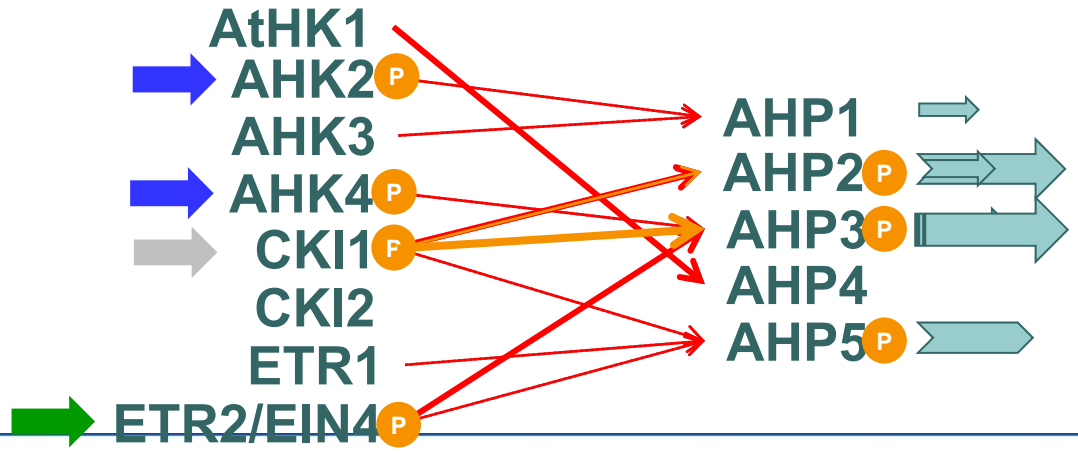
Ligand	0	Mg^{2+}	BeF_3^-
AHP2	9.17 ± 0.49	6.2 ± 0.98	11.6 ± 2.0
AHP3	10.5 ± 0.73	12.9 ± 0.72	8.0 ± 0.42
AHP5	108 ± 18	152 ± 26	119 ± 32

Pekárová et al., *Plant Journal* (2011)

Model Suggestion

- ***YES***, there is ***signalling specificity of MSP*** in plants.





EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Summary

- Functional importance of the specificic interactions of proteins in the regulation of gene expression
  - Chromatin structure
  - Regulation of transcription
  - mRNA localization
  - mRNA stability
  - Protein stability
  - Signal transduction
- Methods of analysis of protein interactions *in vivo*
  - Co-immunoprecipitation
  - The tandem affinity purification (TAP-tag)
  - Yeast two-hybrid assay (Y2H)
  - Bimolecular fluorescence complementation (BiFC)
  - Membrane Recruitment Assay (MeRA)
- Practical use of methods for *in vivo* studies of protein interactions

Discussion

EVROPSKÁ UNIE
esf
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ
Tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky