

Večdomenski proteini

Večina proteinov je sestavljenih iz več domen.

Prokarionti:

pribl. 2/3 vseh proteinov je večdomenskih sestavljeni iz okoli 400 različnih vrst domen

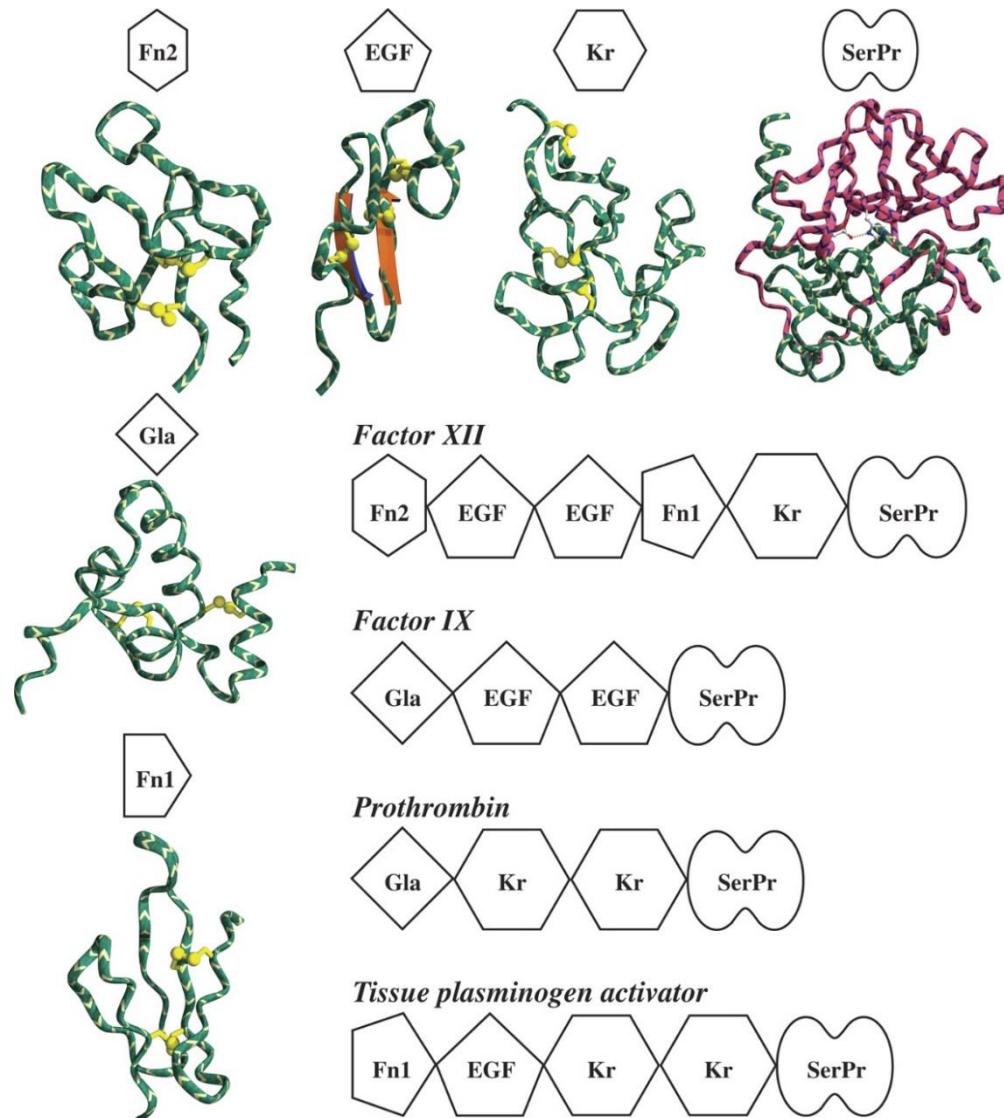
Evkarionti:

pribl. 3/4 vseh proteinov je večdomenskih sestavljeni iz 600-700 različnih vrst domen

Arhitektura proteina je sosledje domen od N proti C koncu.

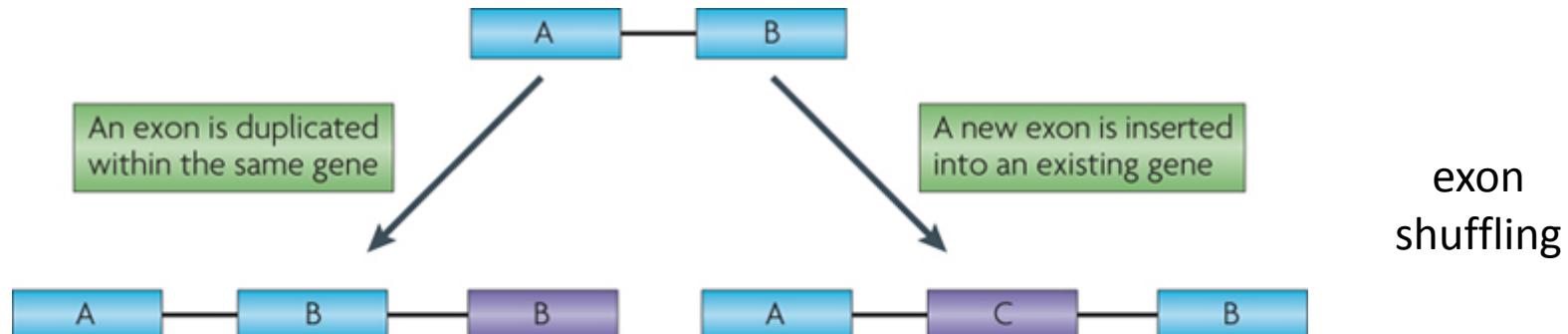
Primer: proteini kaskade strjevanja krvi so nastali s kombiniranjem serinskih proteaz z drugimi moduli.

Moduli so domene, ki jih najdemo kot samostojne enote znotraj funkcionalno in strukturno nesorodnih proteinov.

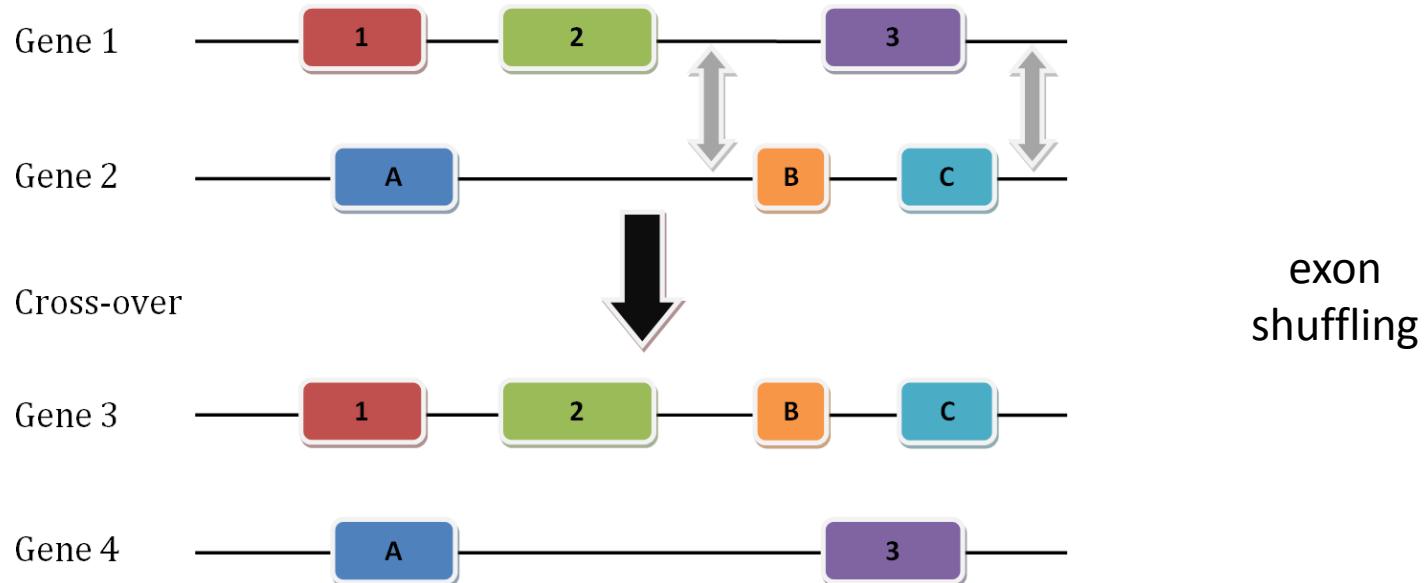


Evolucija večdomenskih proteinov

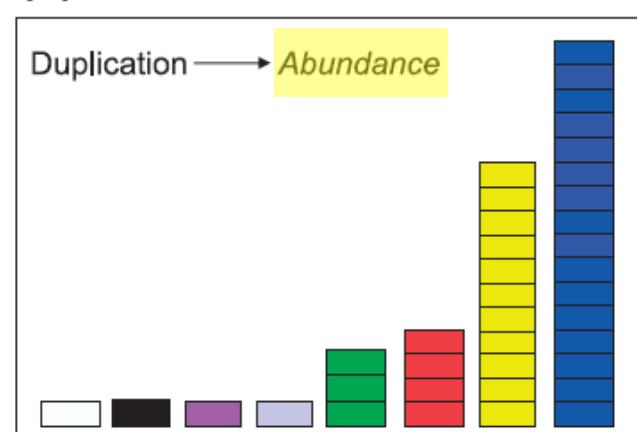
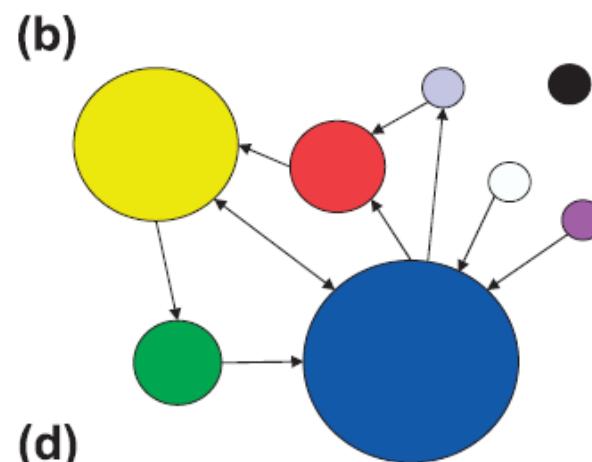
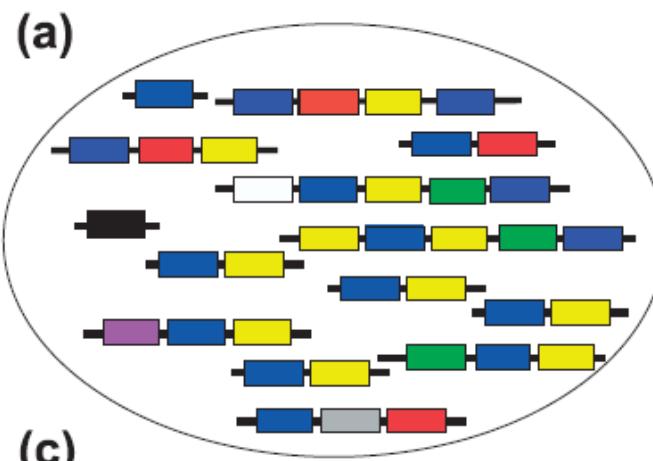
podvojitve
domen



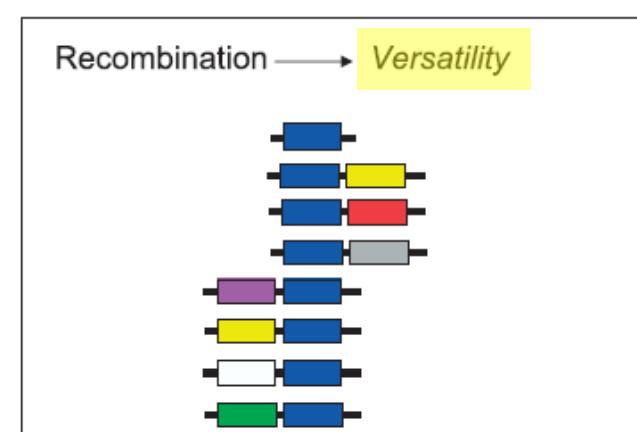
Nature Reviews | Genetics



Večdomenski proteini



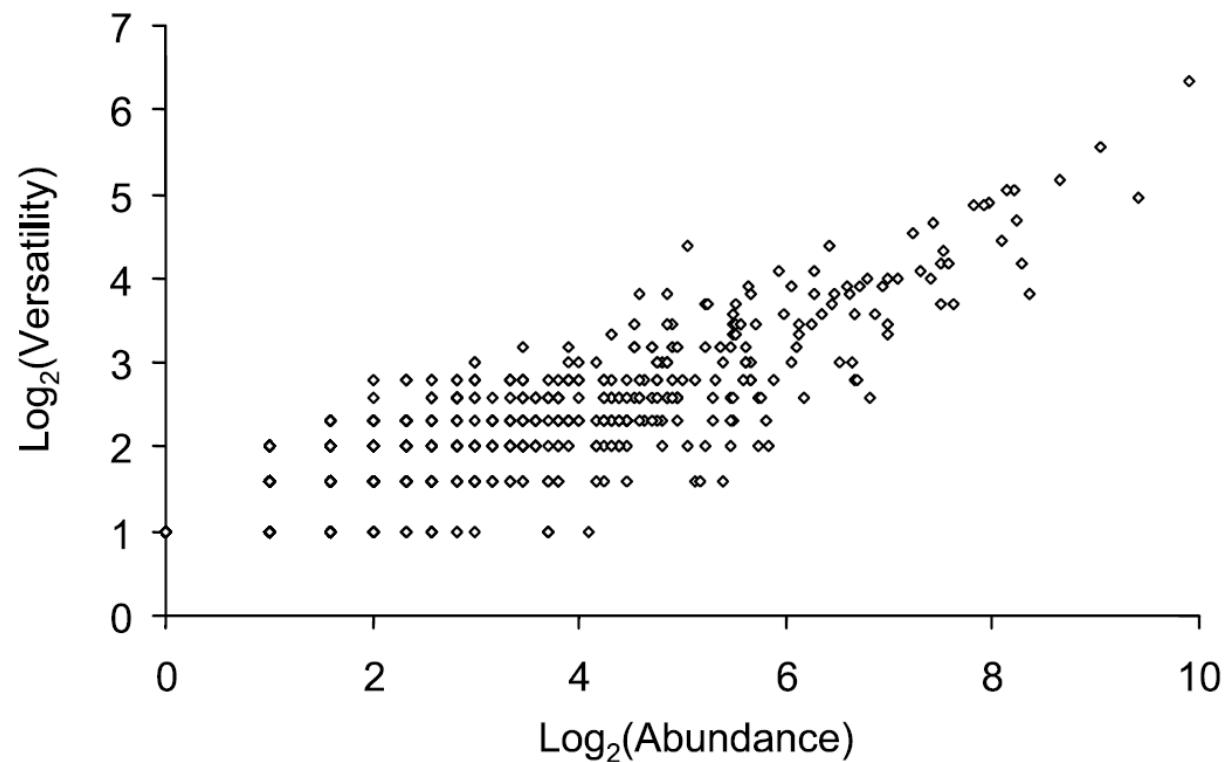
podvojitve vplivajo na
izobilje domen



rekombinacija vpliva na
večstranskost domen

Večdomenski proteini

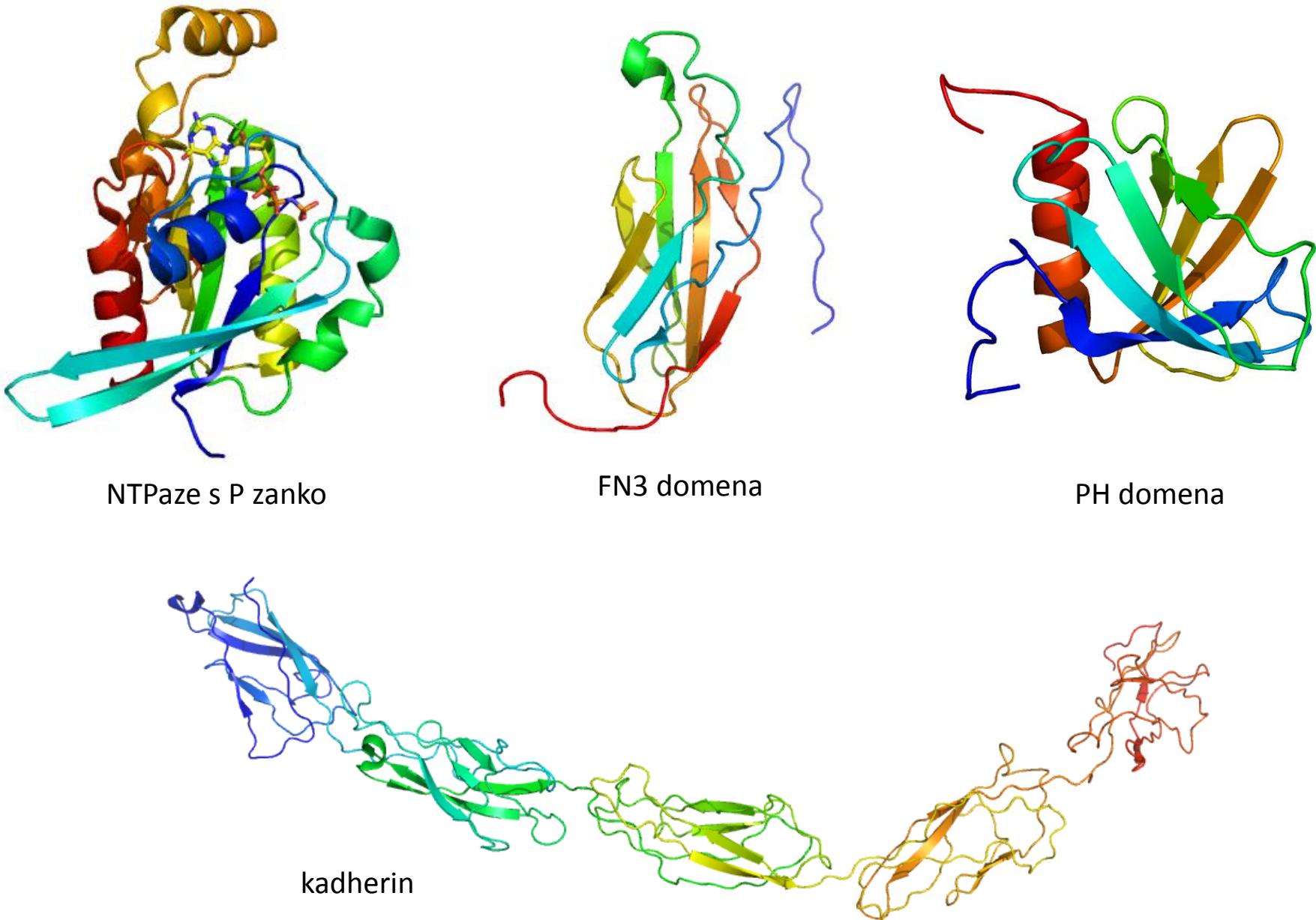
Zveza med izobiljem in večstranskostjo domen:



Večdomenski proteini

Najpogostejše domene	Št. zapisov v človeškem genomu
cinkovi prsti (C2H2 in C2HC)	3693
imunoglobulinske domene	1778
NTPaze s P zanko	1024
z G-proteini sklopljeni receptorji - družina A (receptorji s 7 TM vijačnicami)	824
Fibronektinska domena tipa III.	802
EGF/laminin domene	697
kadherini	686
Proteinske kinaze	539
Domene homologne plekstrinu (PH domene)	491

Večdomenski proteini



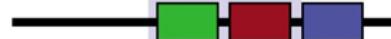
Domenski pari

Kombinacije nekaterih domen se ponavljajo v več različnih proteinih v enakem vzorcu. Takim kombinacijam rečemo domenski pari ali **supradomene**.

EF-Tu and eEF1 alpha



eRF3



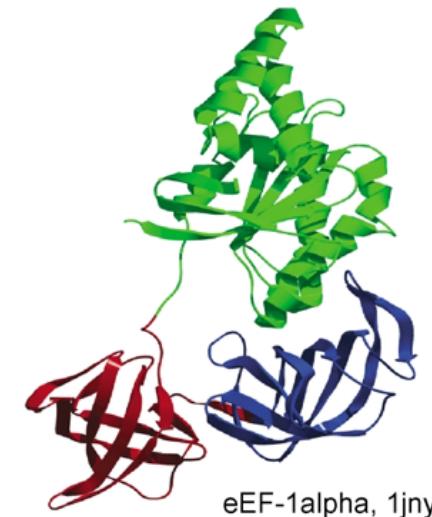
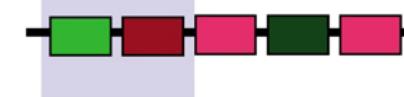
eIF2 gamma



IF2 and eIF5b



EF-G and eEF2



— amino acids

■ Translation proteins

■ EF-Tu/eEF-1alpha C-terminal domain

■ Initiation factor IF2/eIF5b, domain 3

■ Ribosomal protein S5 domain 2-like

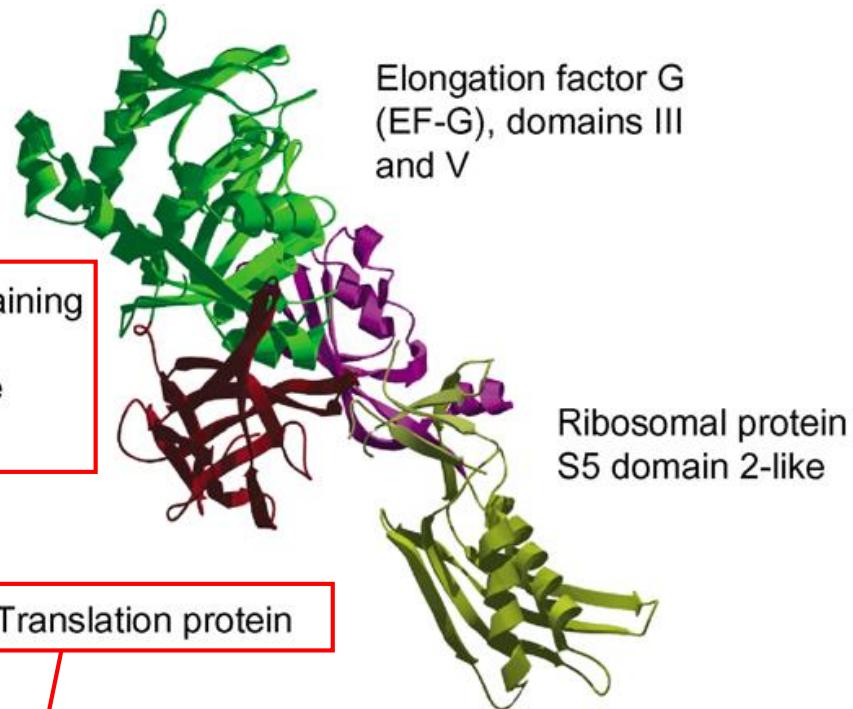
■ Elongation factor G (EF-G) domains III and V

■ P-loop containing nucleotide triphosphate hydrolases

Supradomene

Primera supradomen:

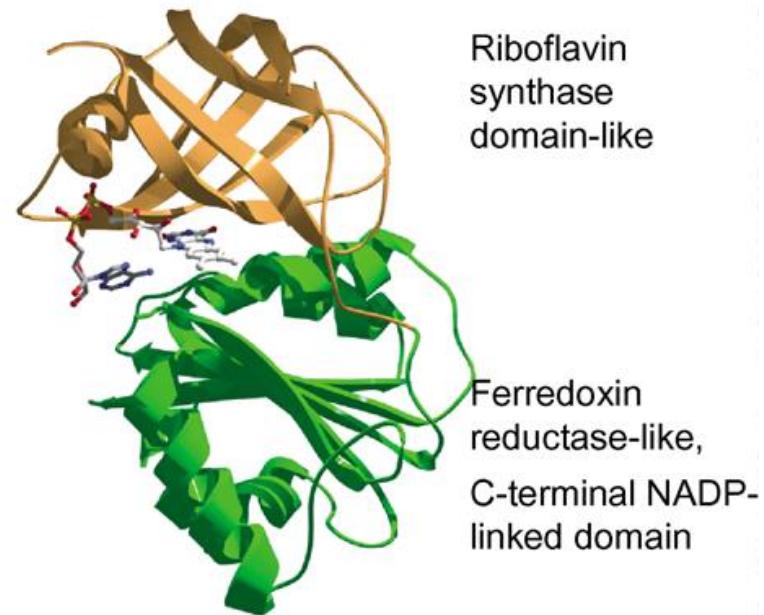
(a)



Elongation factor G (EF-G), 1dar

supradomena

(b)

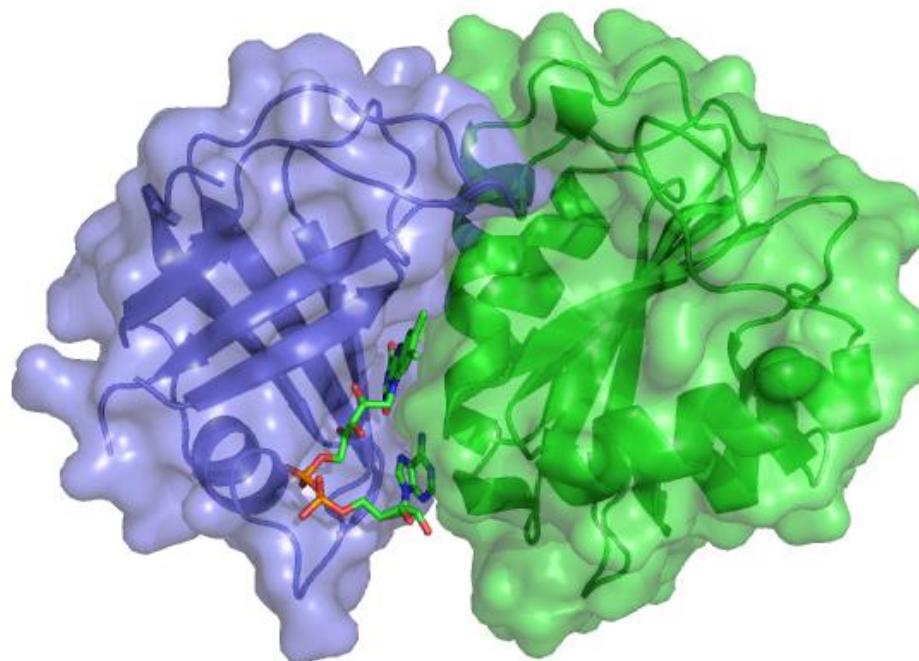


Flavodoxin reductase, 1fdr

Supradomene

Primera supradomen:

Flavodoksin reduktaza

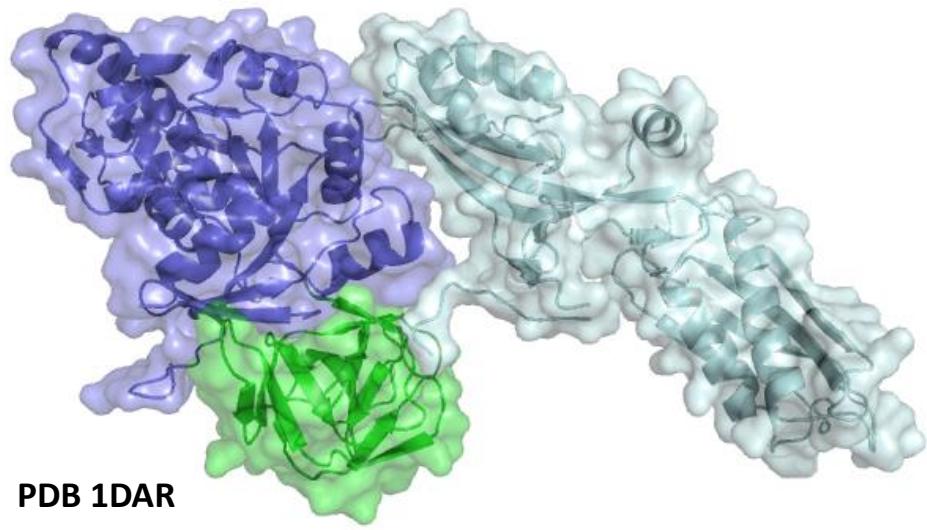


tesna interakcija med domenama \leftrightarrow skupna funkcija

Supradomen

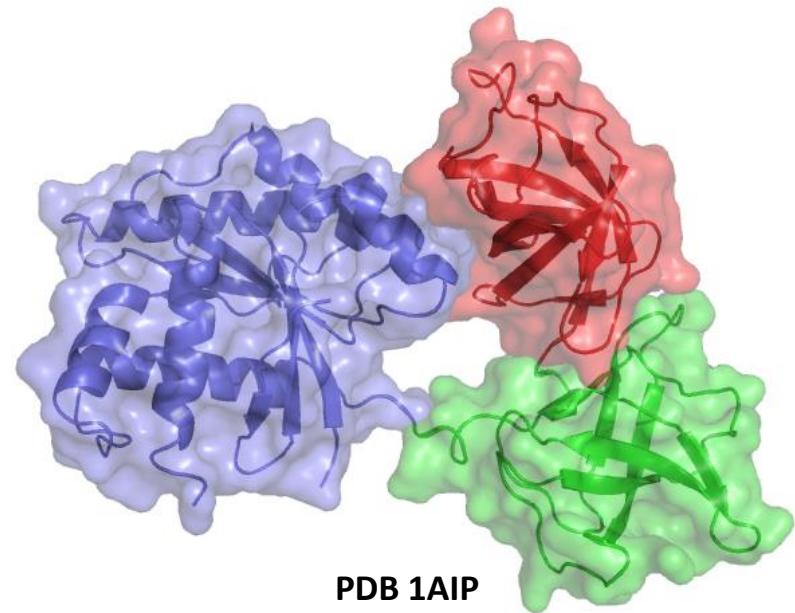
Primera supradomen:

Elongacijski faktor G



PDB 1DAR

Elongacijski faktor Tu



PDB 1AIP

tesna interakcija med domenama v supradomeni ni nujna \leftrightarrow ločeni funkciji

modra – NTPaza s P zanko

melena – domena translacijskih proteinov

Modularni proteini

Proteini sestavljeni iz modulov – enot s samostojnimi strukturami in funkcijami – večfunkcijski proteini.

Primer: matriceličen protein trombospondin-1.

Domene:

NTD – N-končna domena

vWF-C – domena C von Willebrandovega faktorja

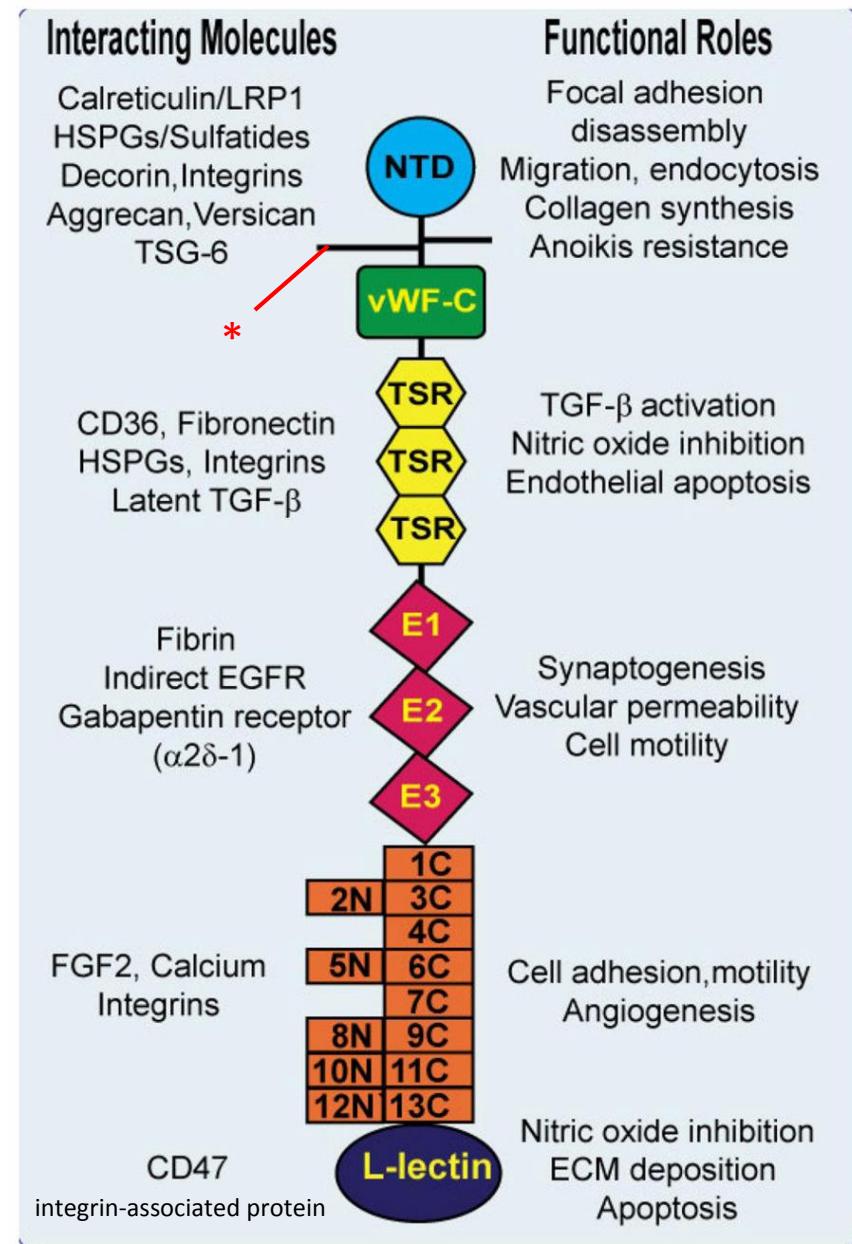
TSR – trombospondinska ponovitev

Ex – EGF podobne domene

xC – kalcij-vezavne ponovitve

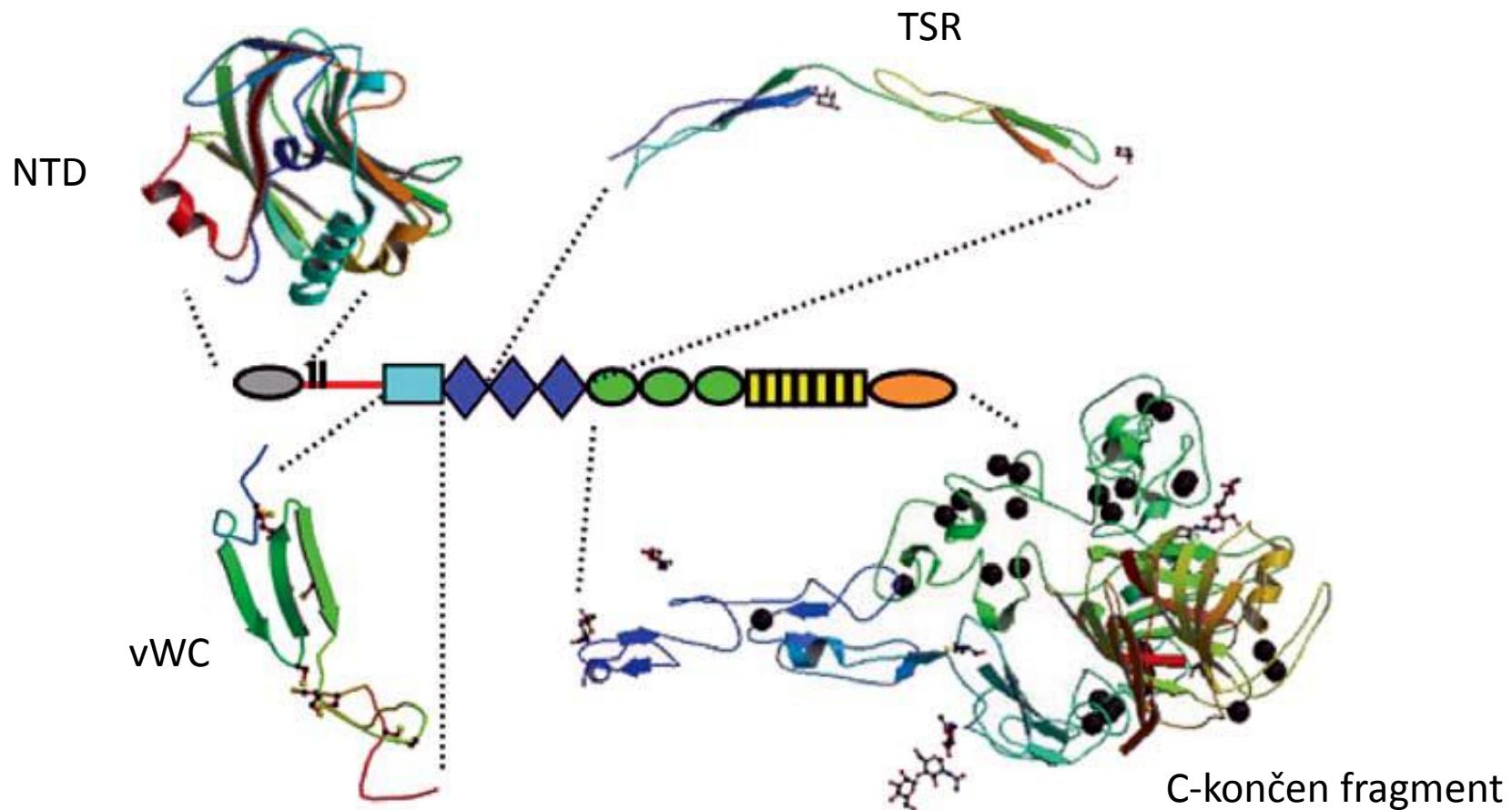
L-lectin – L-lektinska domena

*oligomerizacijska regija



Modularni proteini

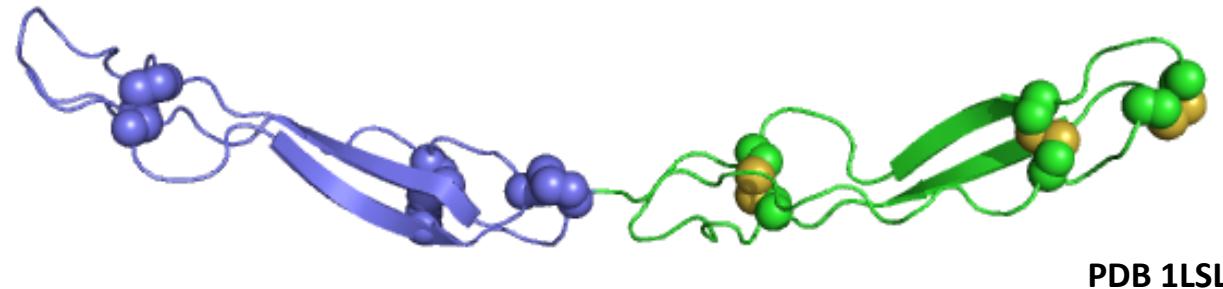
Strukture fragmentov trombospondina.



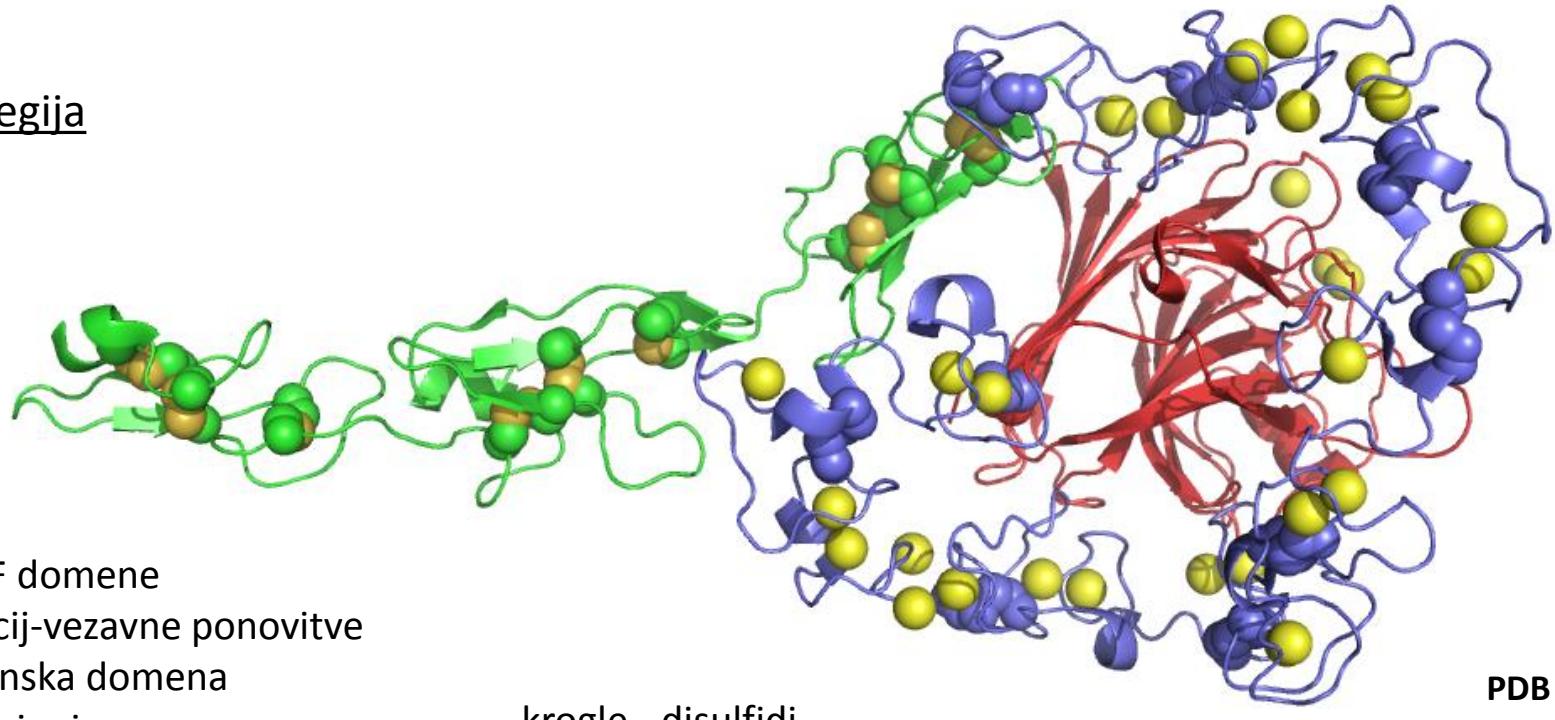
Modularni proteini

Strukture fragmentov trombospondina.

TSP ponovitve



C-končna regija



zelene – EGF domene

modre – kalcij-vezavne ponovitve

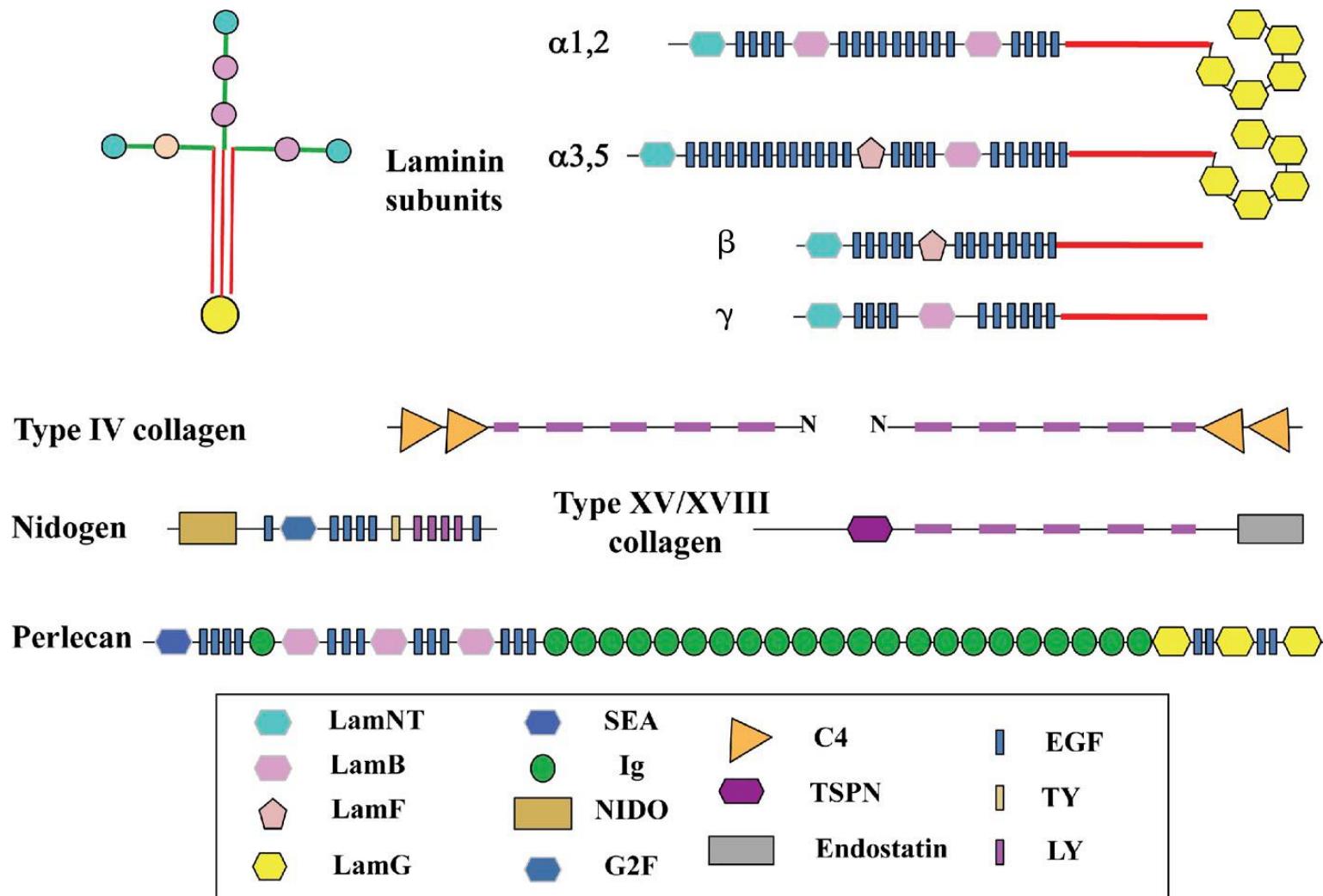
rdeča – lektinska domena

rumena – Ca ioni

krogle - disulfidi

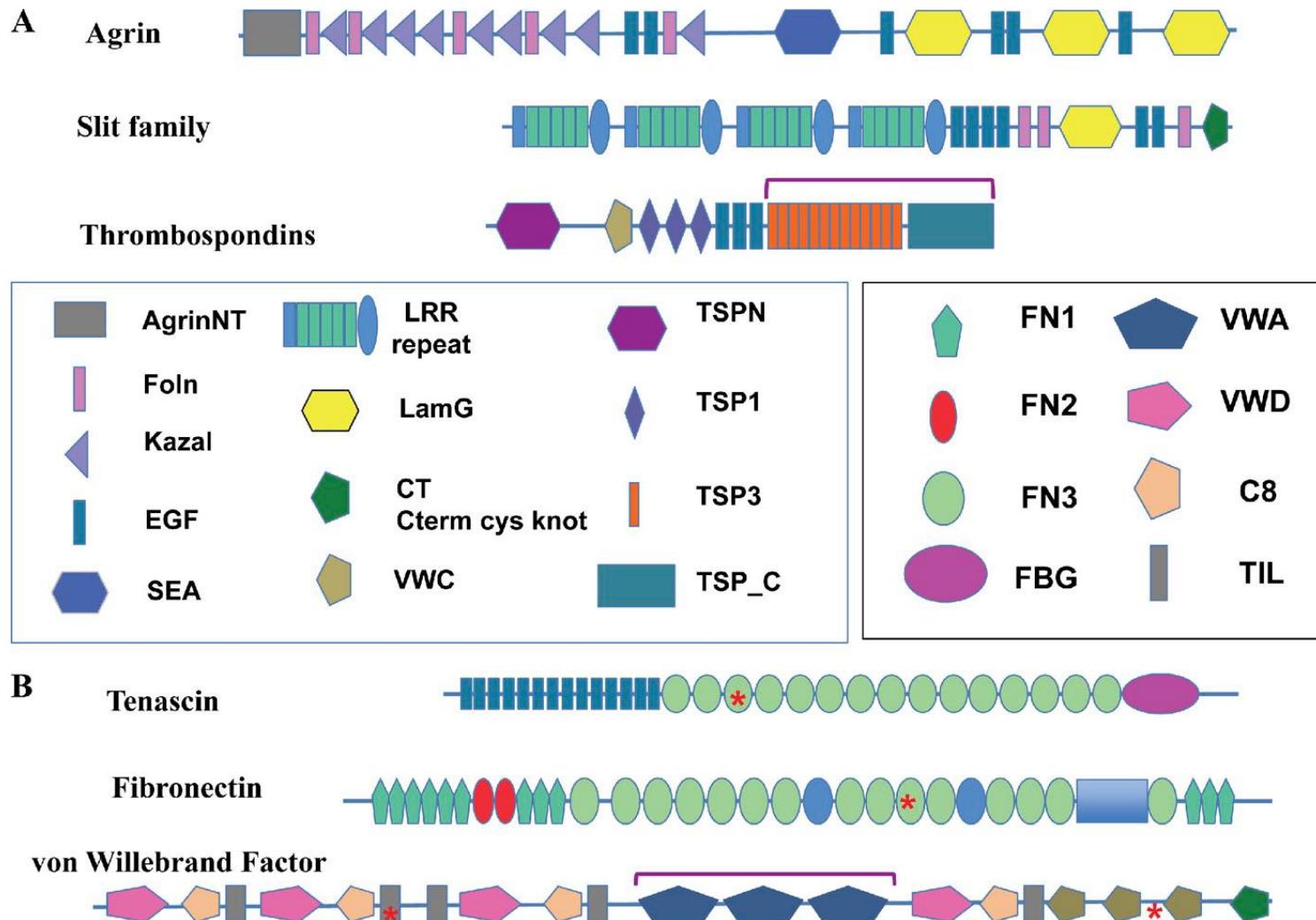
Modularni proteini

„Toolkit“ (nabor domen) bazalnih membran:



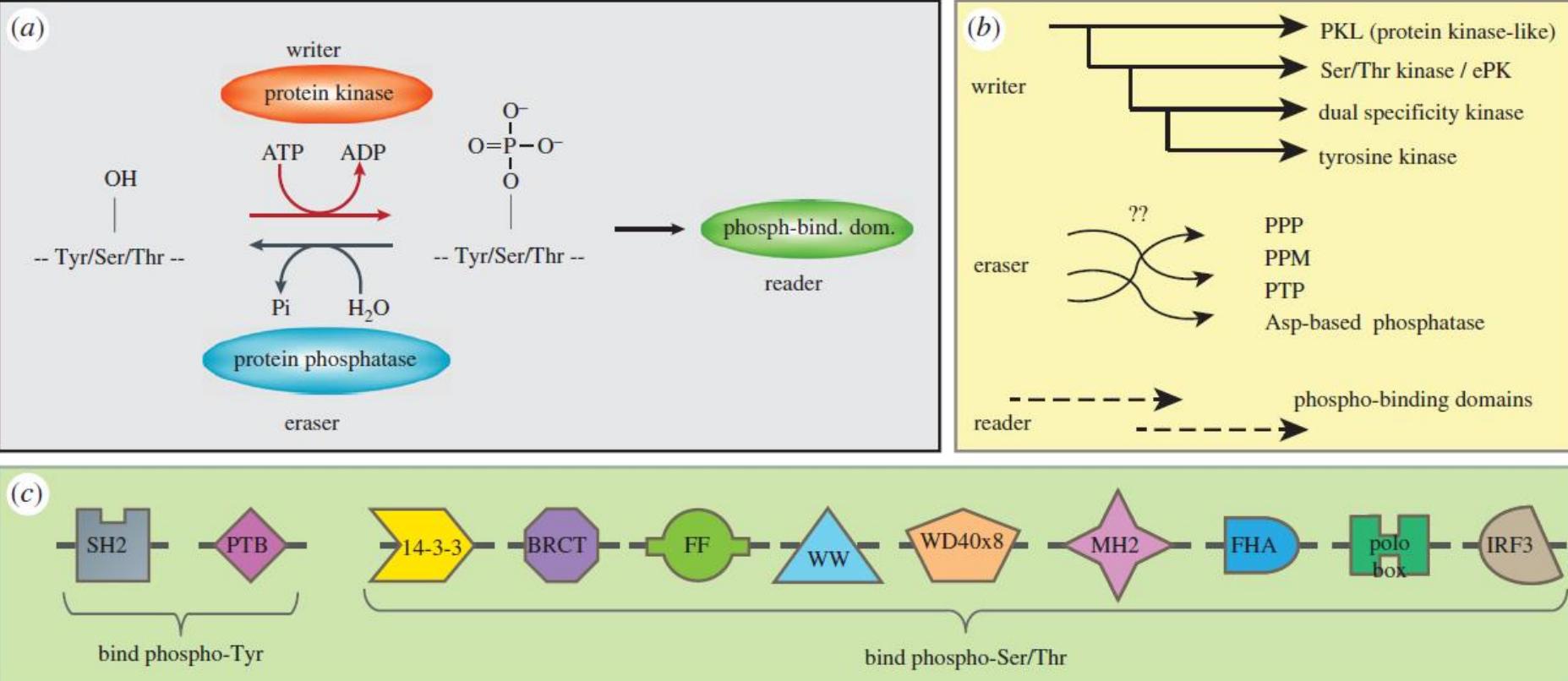
Modularni proteini

Arhitekture še nekaterih zunajceličnih proteinov:



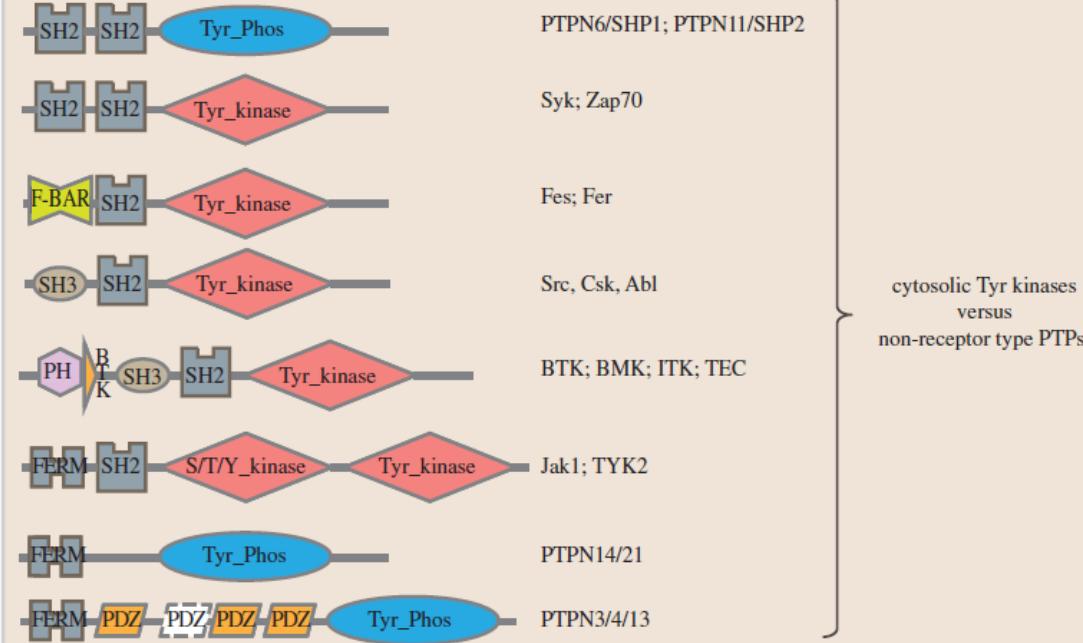
Modularni proteini

„Toolbox“ sistema fosforilacije/defosforilacije:

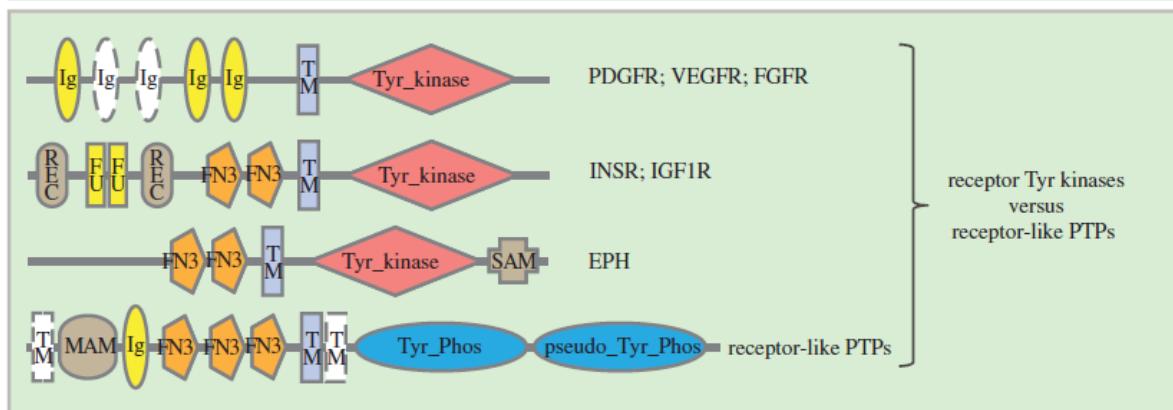
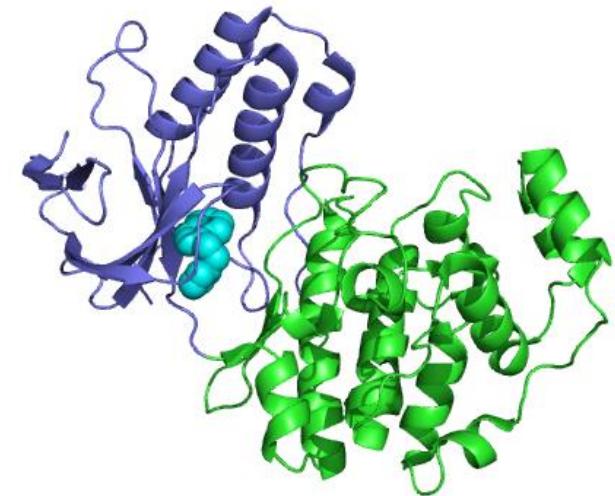


Modularni proteini

„Toolbox“ sistema fosforilacije/defosforilacije:

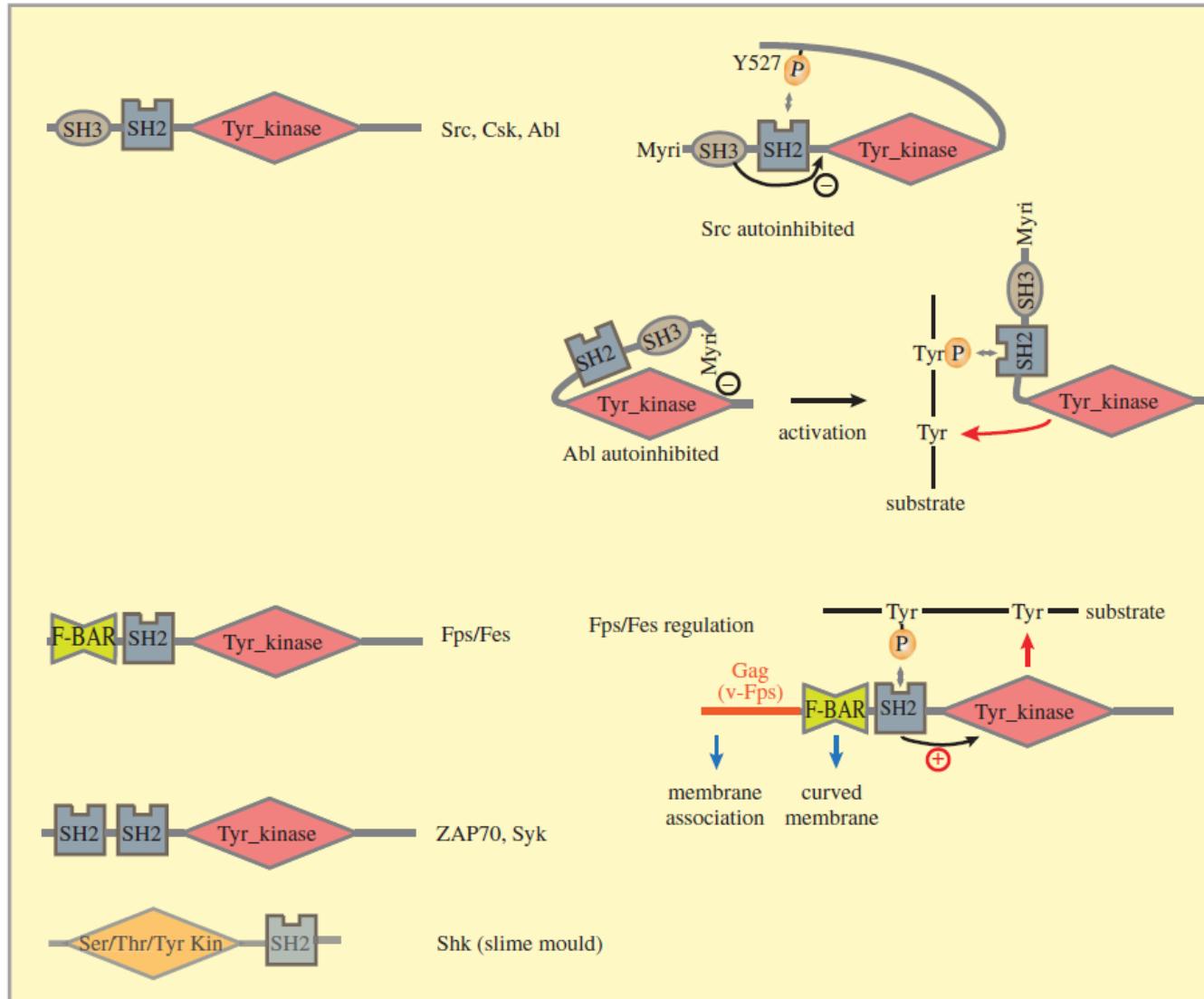


katalitične domene kinaz
so si homologne



Modularni proteini

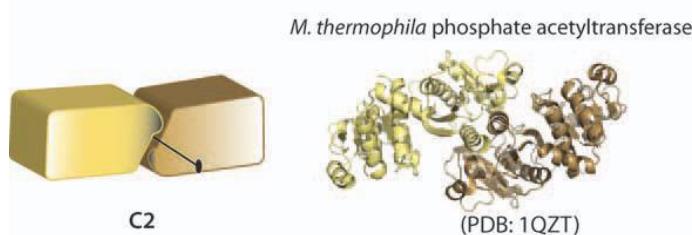
„Toolbox“ sistema fosforilacije/defosforilacije – regulatorna vloga adapterskih domen



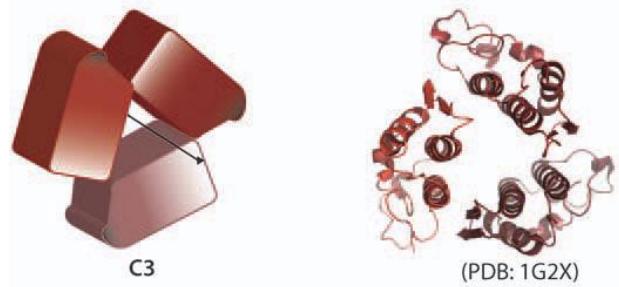
Oligomerizacija

Nekaj primerov homodimerov:

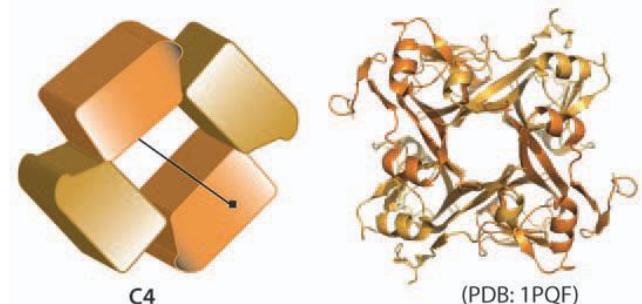
Face-to-face homodimer



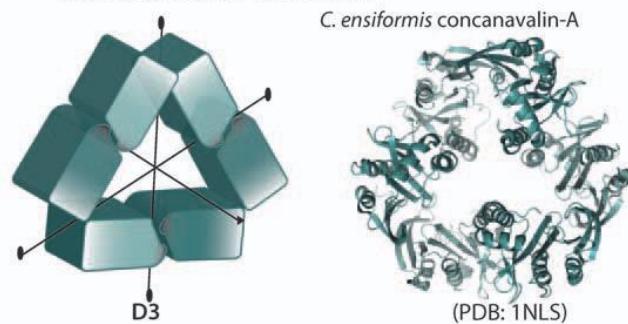
Cyclic (face-to-back) homotrimer



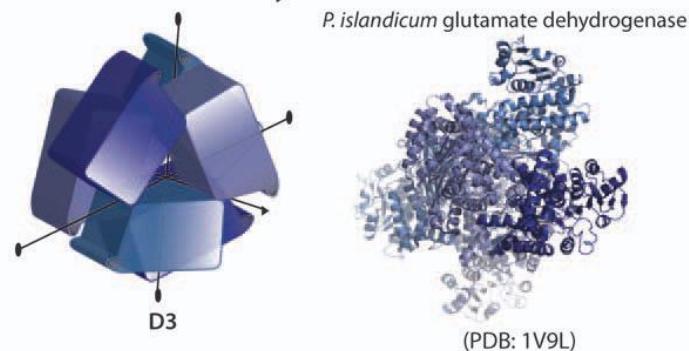
Cyclic (face-to-back) homotetramer



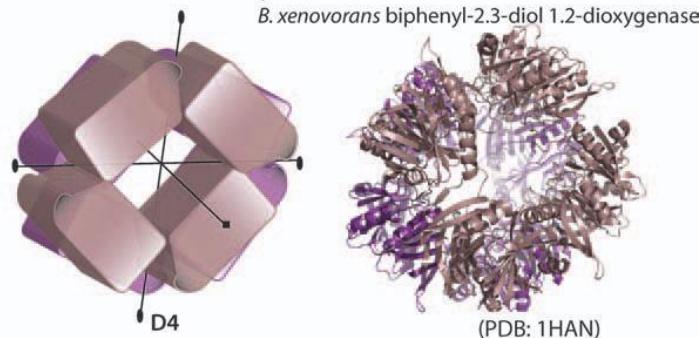
Dihedral trimer of dimers



Dihedral dimer of cyclic trimers

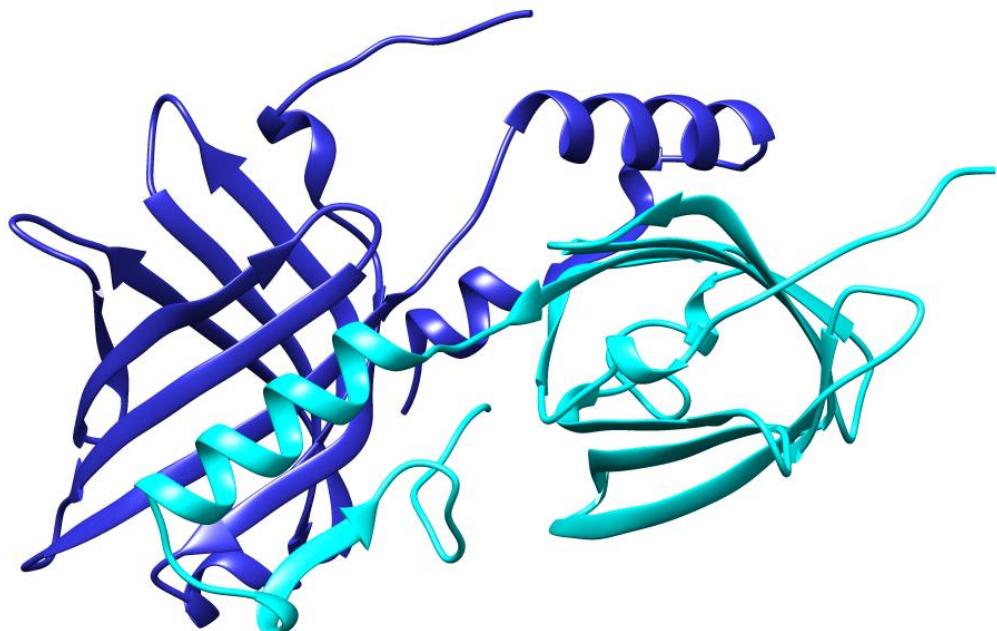
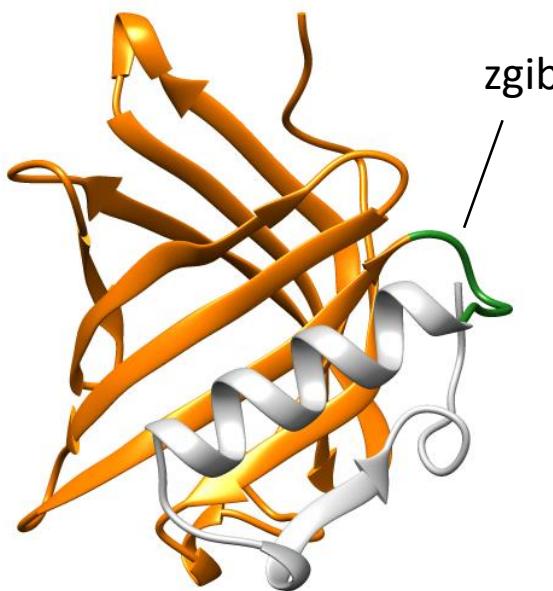
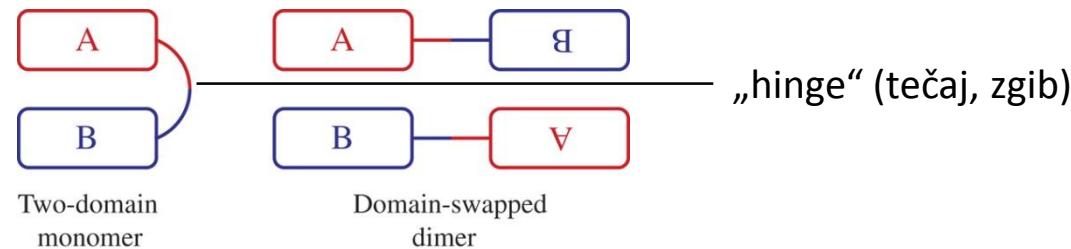


Dihedral dimer of cyclic tetramers



Izmenjava domen

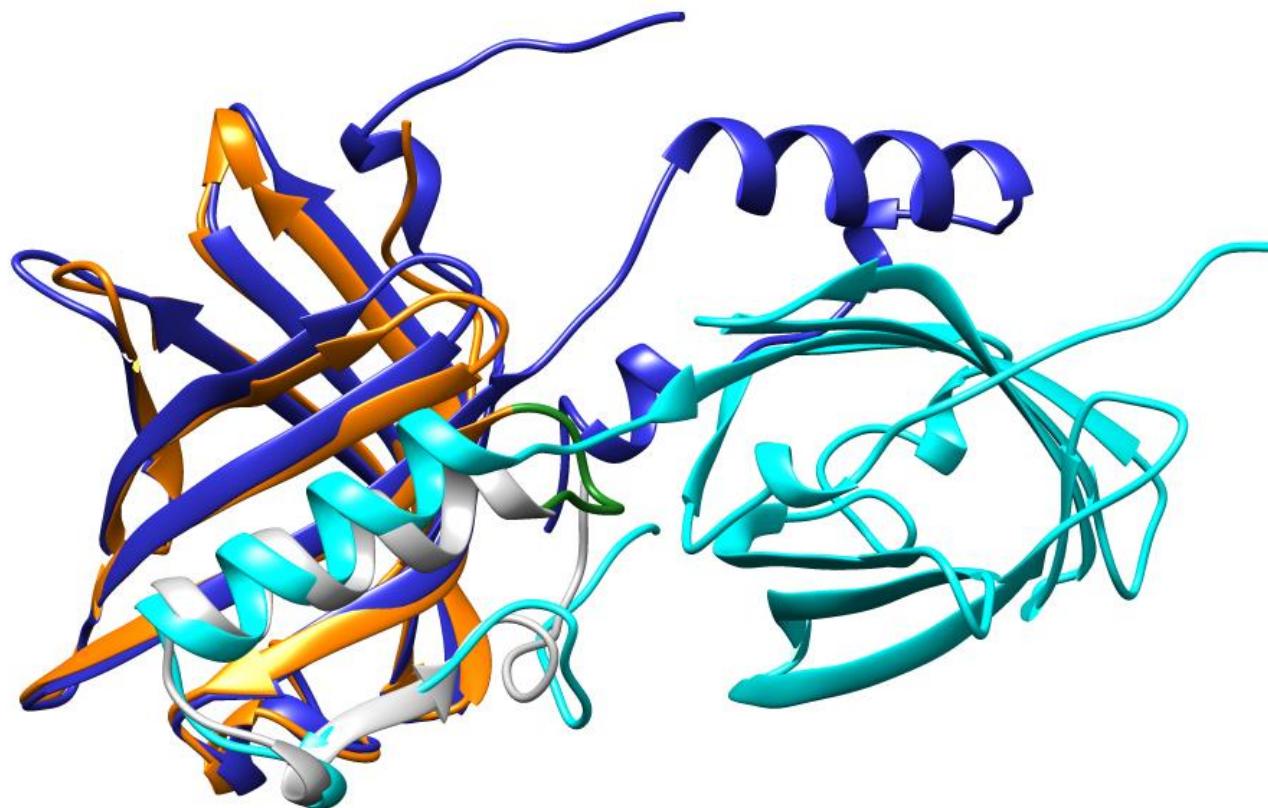
Oligomerizacija z izmenjavo domen je vmesna stopnja med oligomerizacijo in večdomenskimi proteini.



prašičji protein, ki veže dišave

goveji protein, ki veže dišave

Izmenjava domen



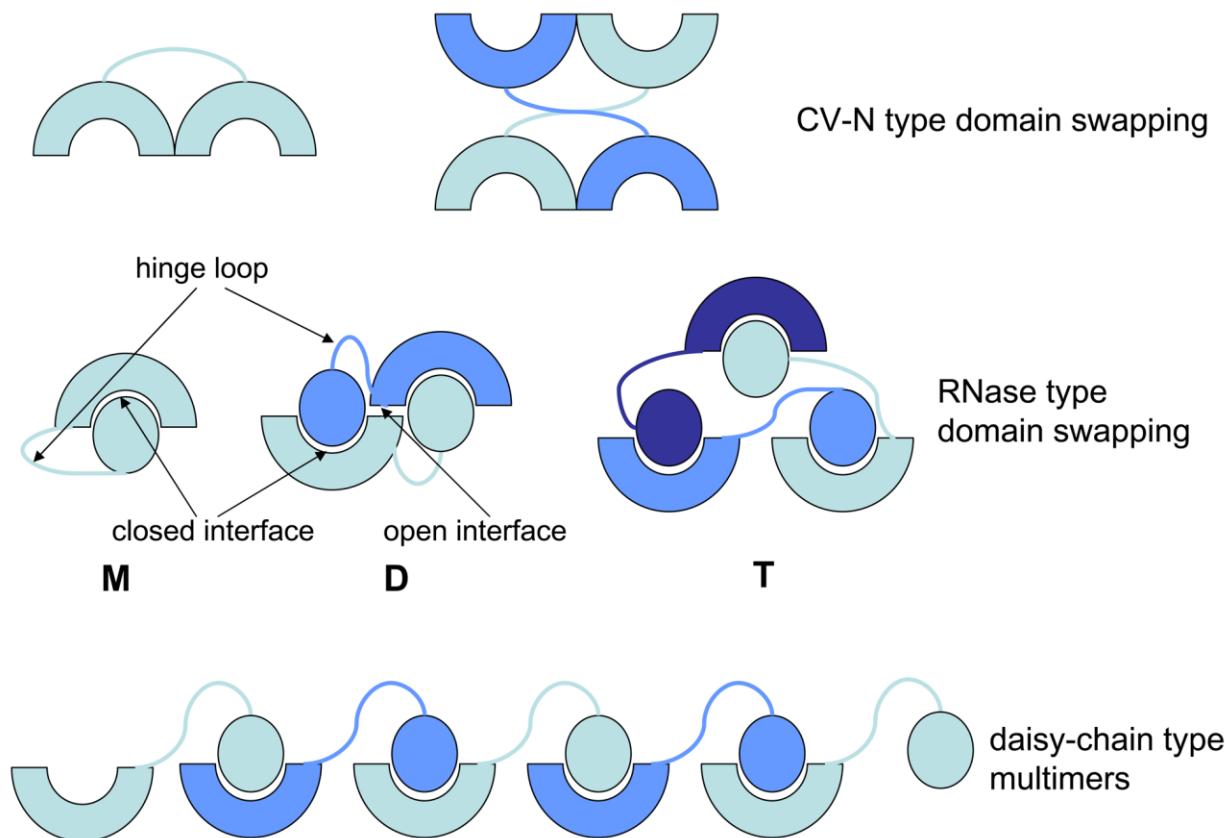
Pri izmenjavi domen se konformacija spremeni le zgibu.

Interakcije med domenama so v monomeru in dimeru enake.

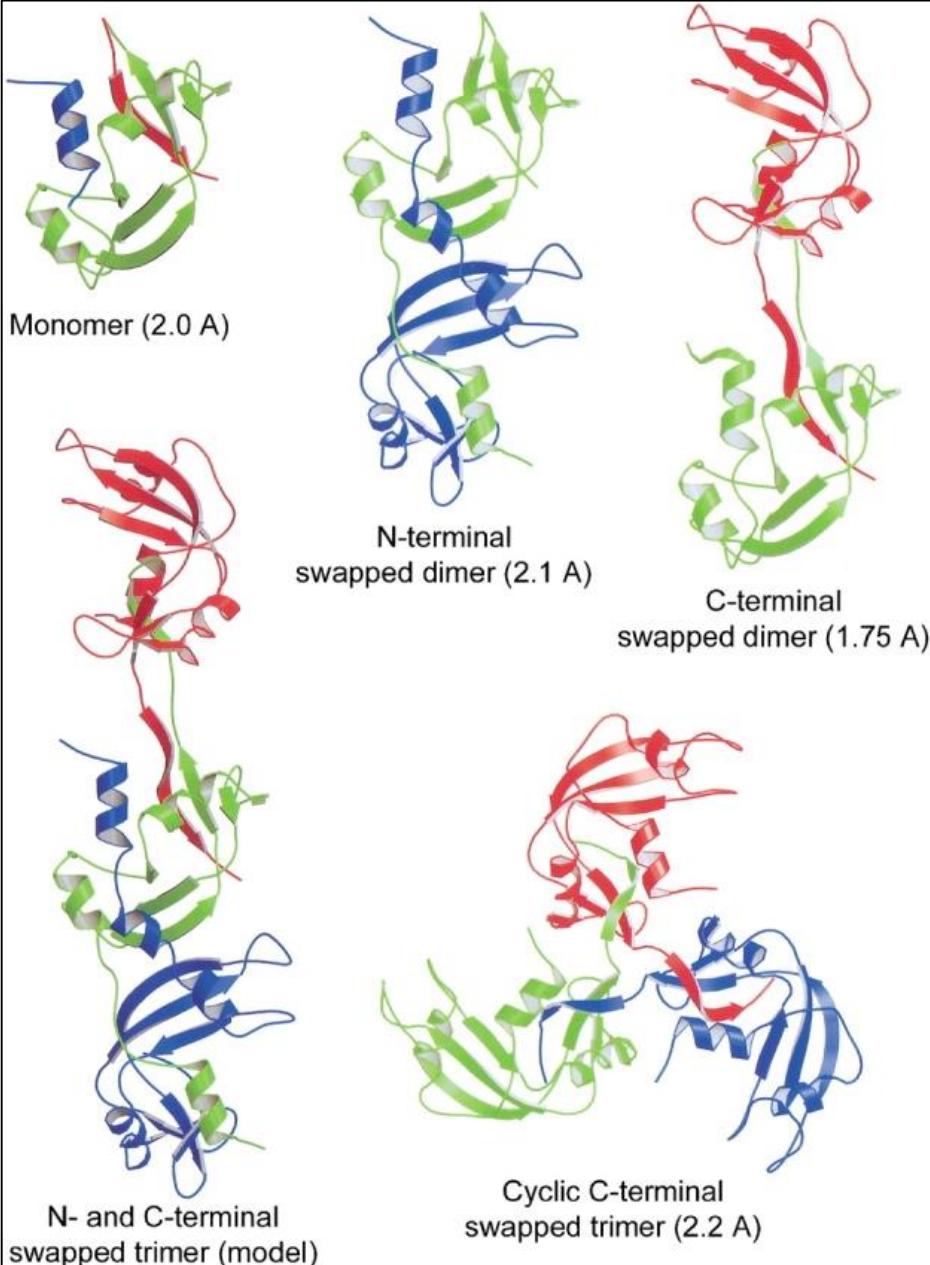
Funkcija se (lahko) ohrani.

Izmenjava domen

Različne oblike oligomerizacije z izmenjavo domen:

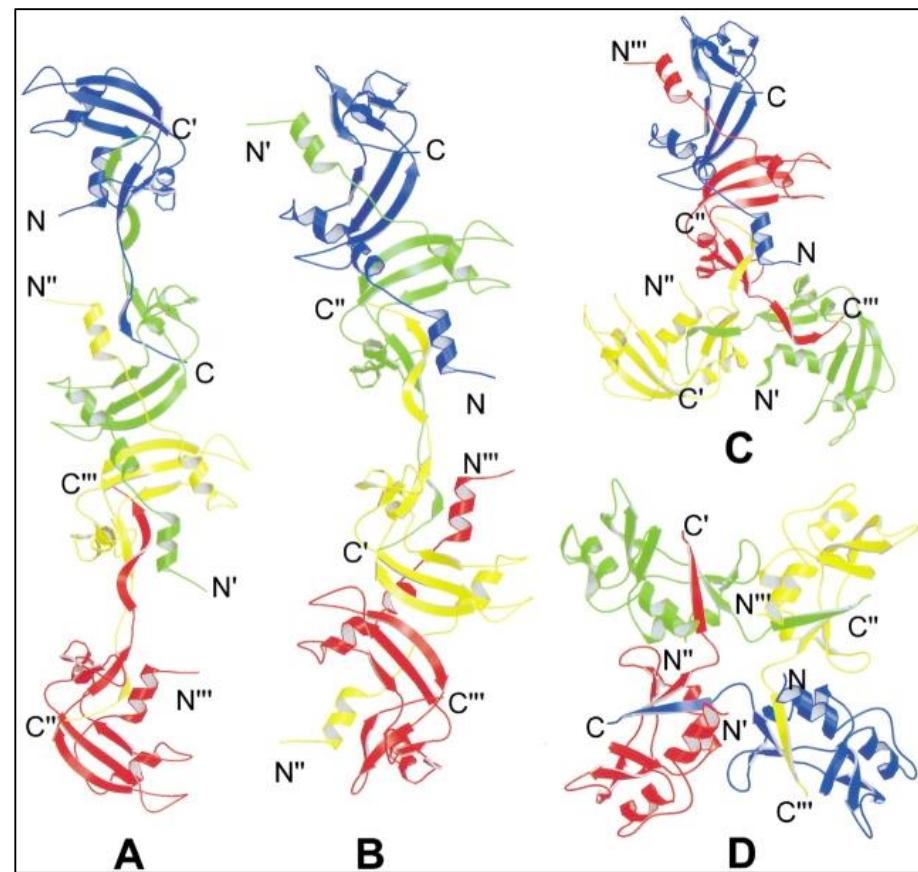


Izmenjava domen

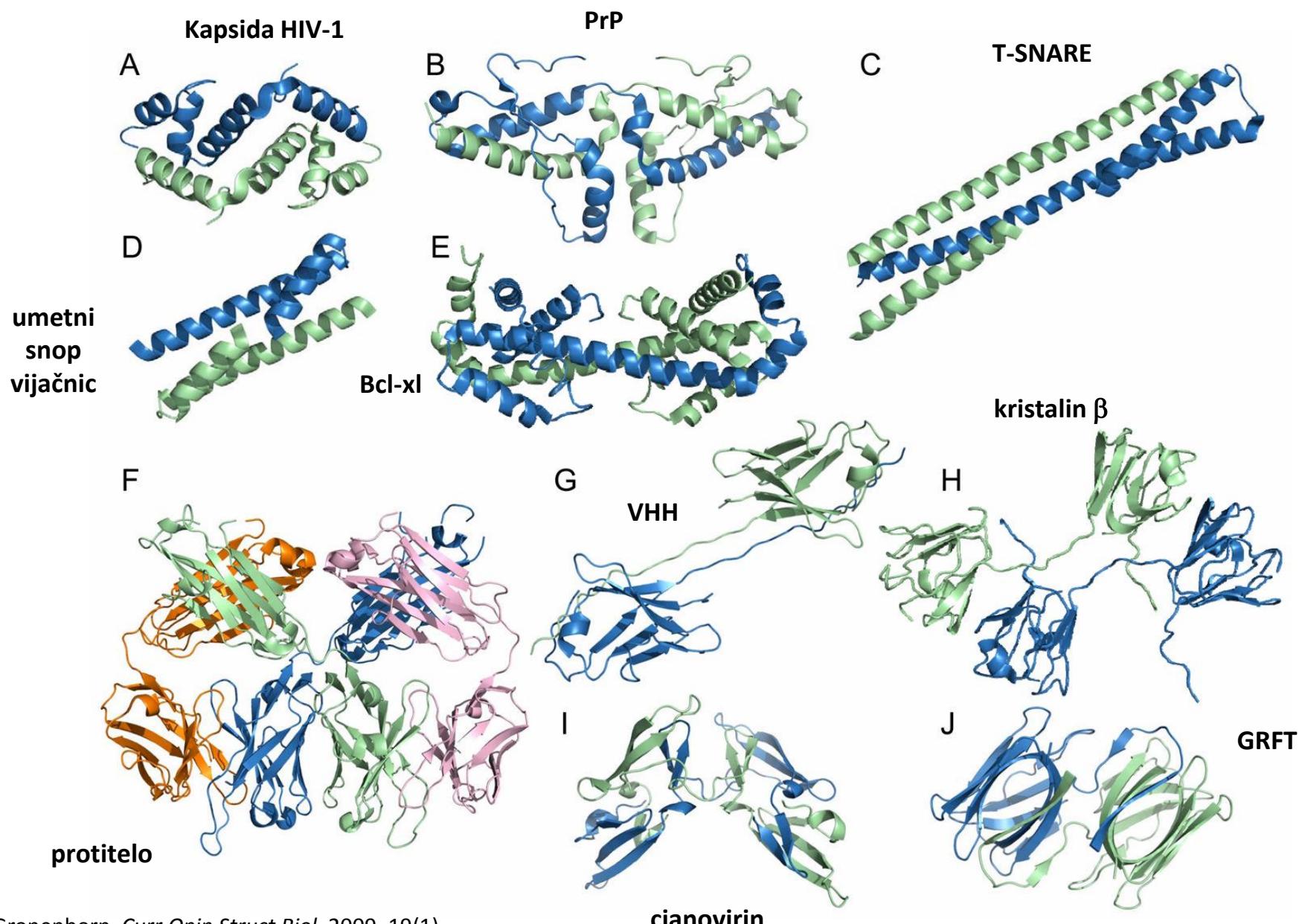


RNaza A – arhetip oligomerizacije proteinov – vsi oligomeri so encimsko aktivni

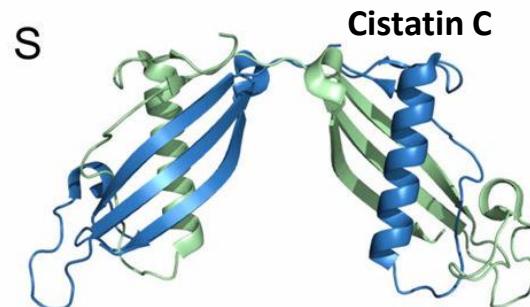
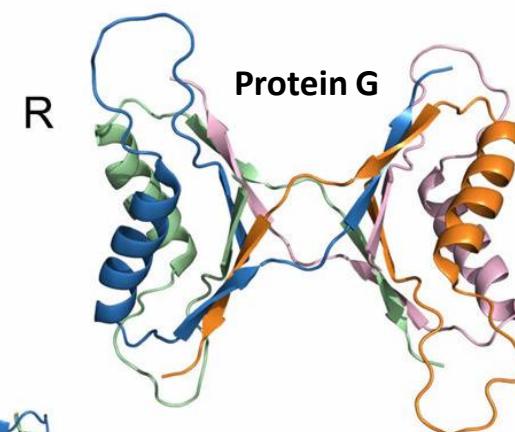
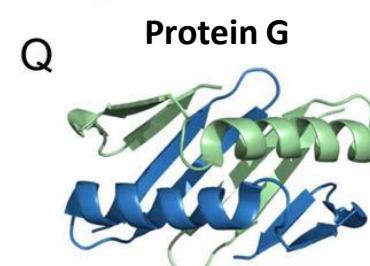
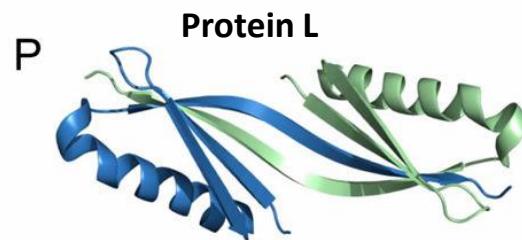
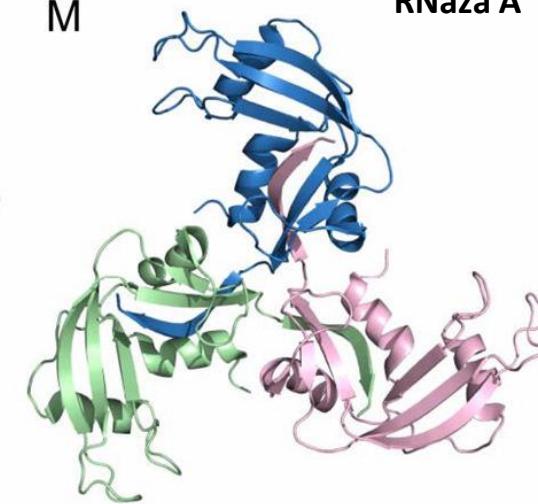
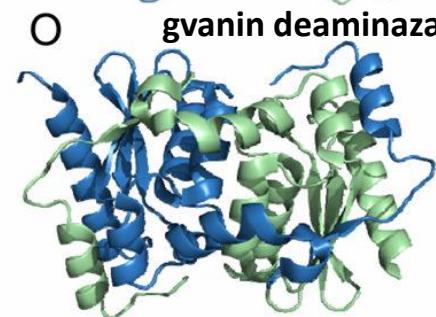
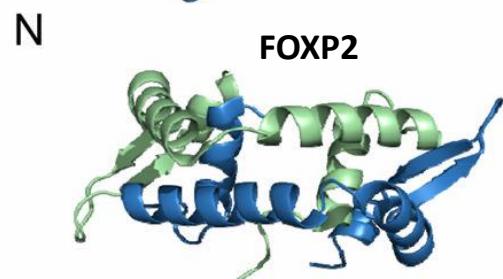
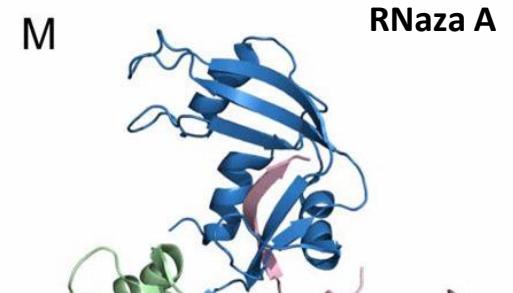
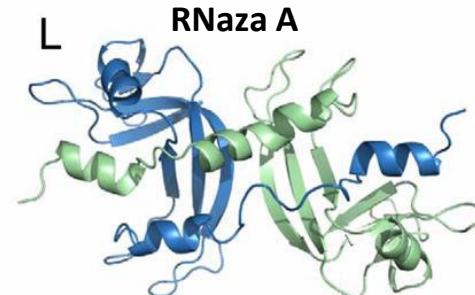
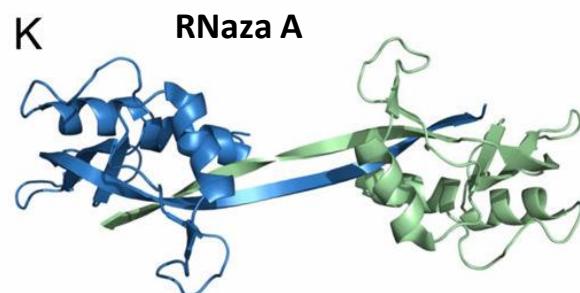
Modeli tetramerov:



Izmenjava domen

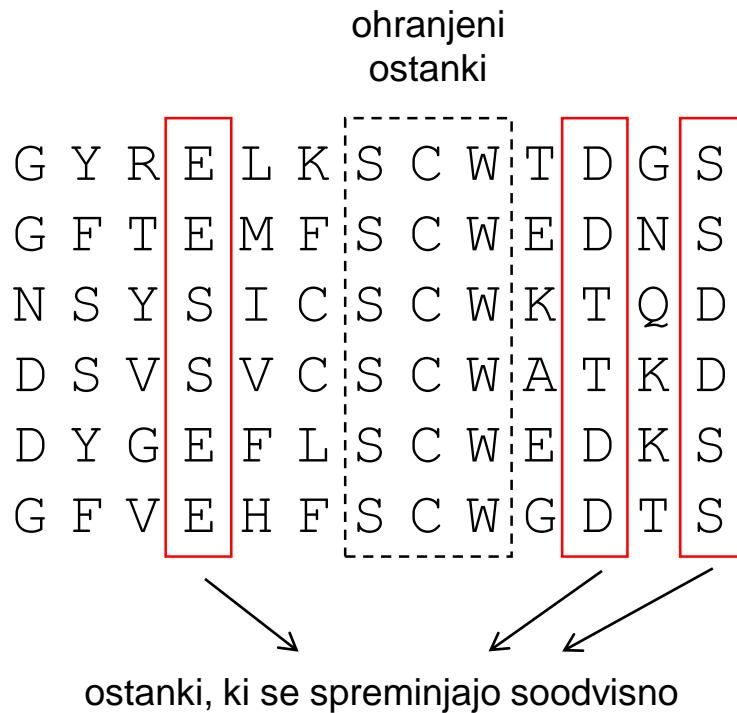


Izmenjava domen



Koevolucija ostankov v proteinih

Tri evolucijske kategorije ostankov:



Koevolucija ostankov v proteinih

Poznavanje ohranjenosti in koevolucije ostankov nam da informacijo o njihovi vlogi v strukturi in funkciji proteinov.

- Napoved strukture
- Napoved funkcijске evolucijsko ohranjenih povezav
- Napovedi interakcij med proteini

Koevolvirajočih ostankov je v proteinih sorazmerno majhen delež.

Temelj vseh metod – poravnava zaporedij proteinov iz proteinske družine (število zaporedij odvisno od metode).

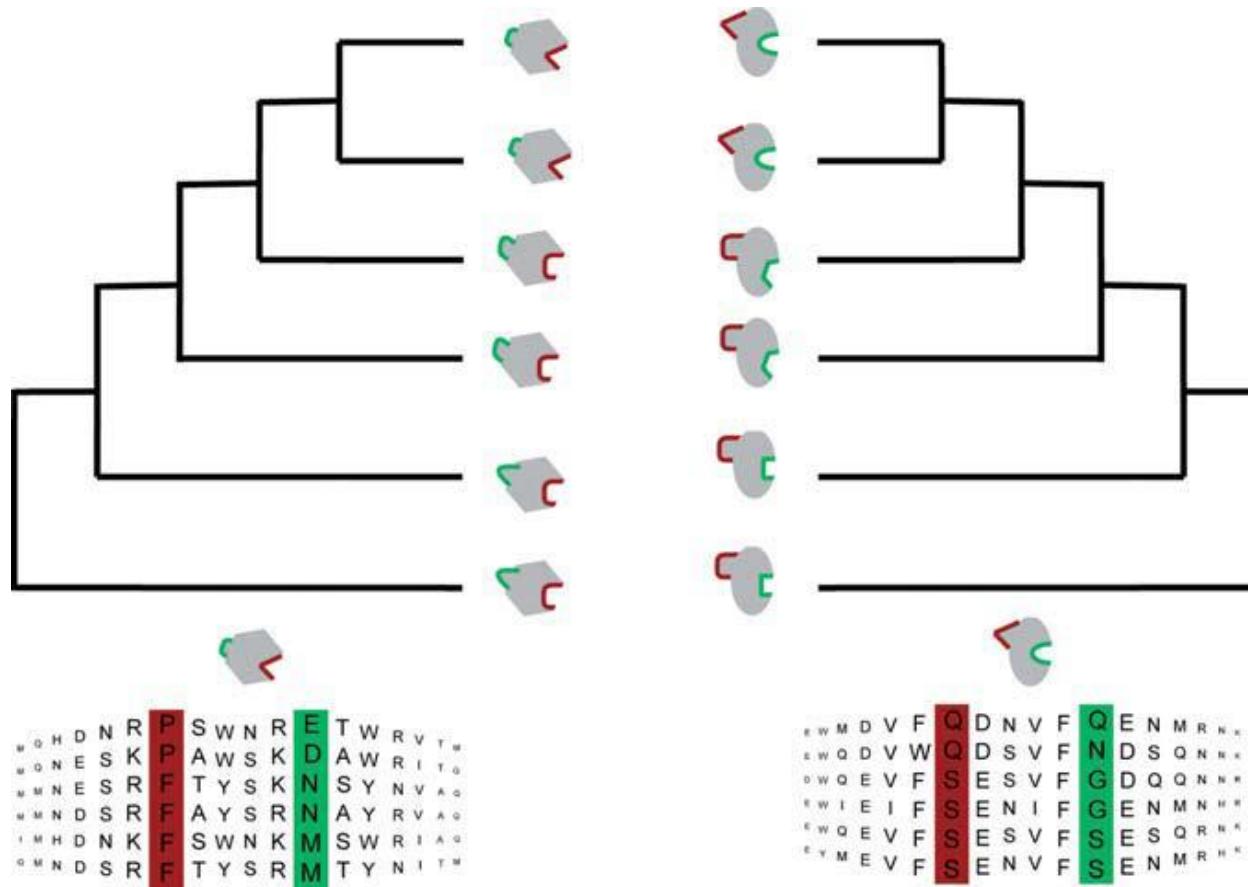
Problem poravnave:

Preveč podobna zaporedja – visok šum

Premalo podobna zaporedja – slaba poravnava – izguba informacije

Koevolucija interagirajočih proteinov

Številni proteini, ki tvorijo evolucijsko ohranjene komplekse (npr. podenote oligomernih proteinov), evolvirajo soodvisno eden od drugega. Dve kategoriji koevolvirajočih mest:



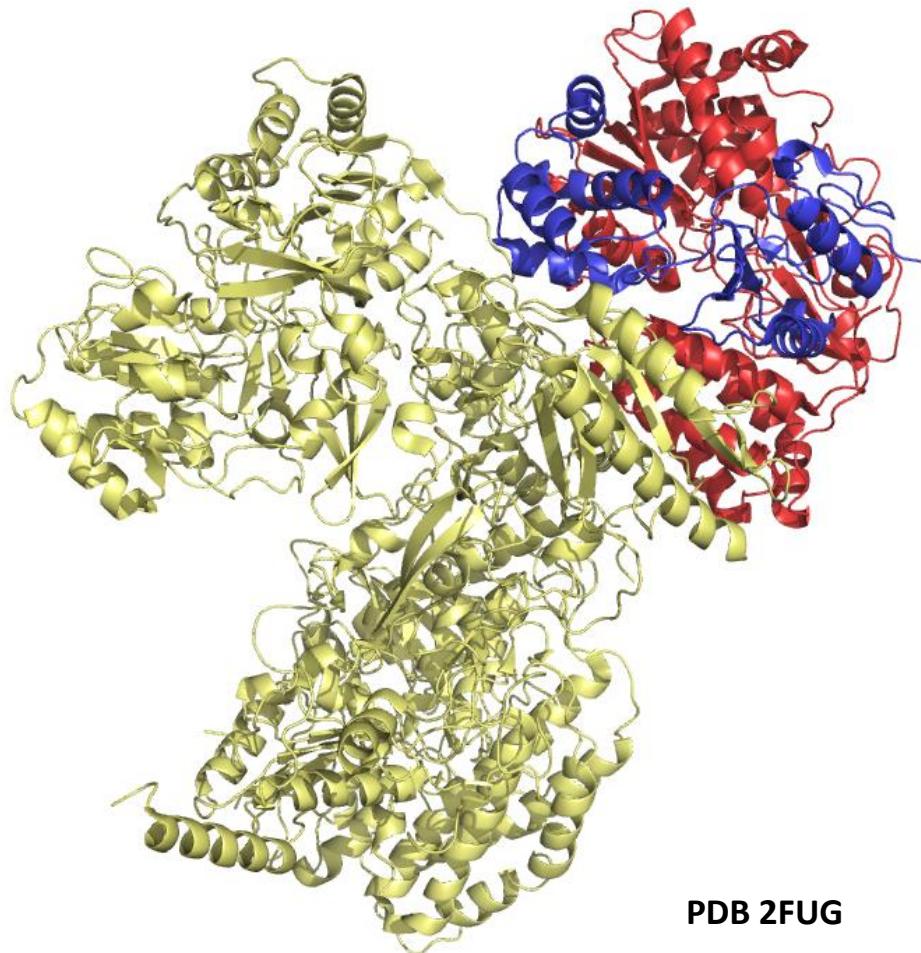
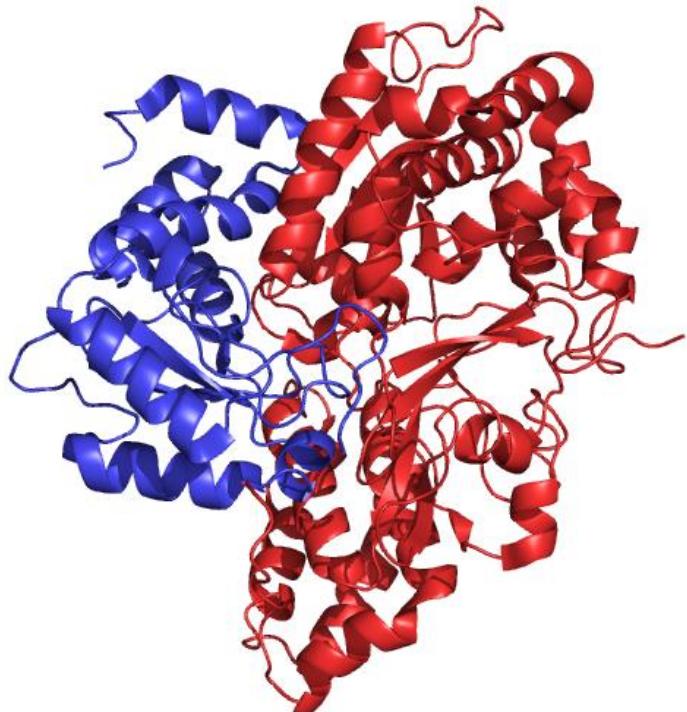
Rdeče – koevolvirajoča mesta v direktnem kontaktu

Zeleno – koevolvirajoča mesta, ki niso v direktnem kontaktu

Koevolucija interagirajočih proteinov

Številni proteini, ki tvorijo evolucijsko ohranjene komplekse (npr. podenote oligomernih proteinov), evolvirajo soodvisno eden od drugega.

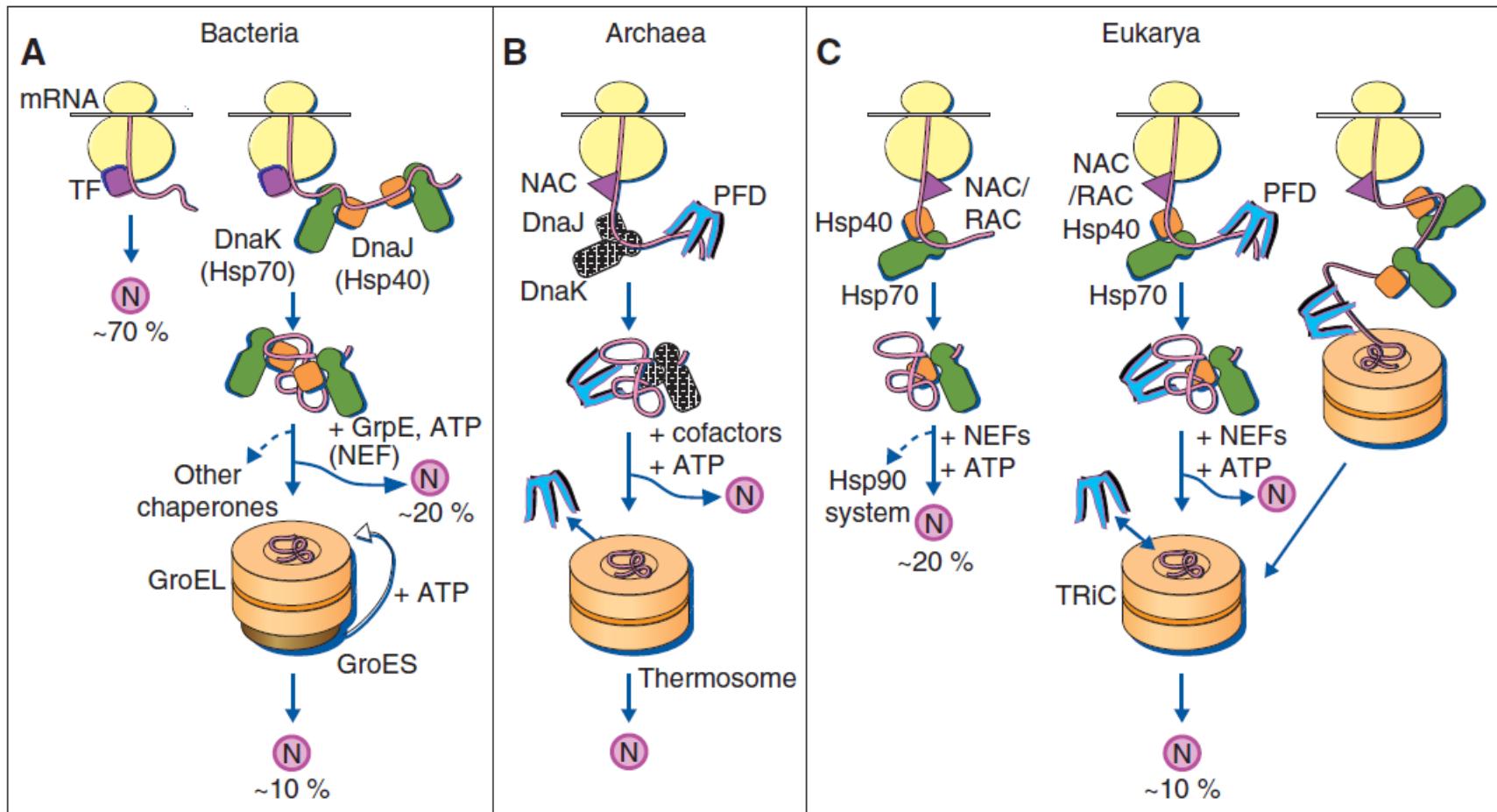
Primer: Podenoti 1 in 2 NADH dehidrogenaze



PDB 2FUG

Koevolucija interagirajočih proteinov

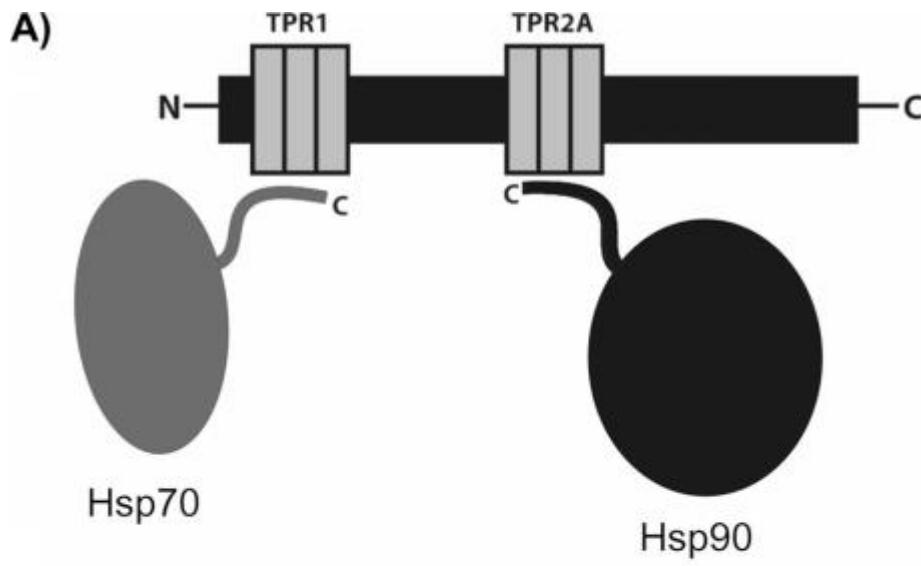
Primer: Hsp70-Hop-Hsp90



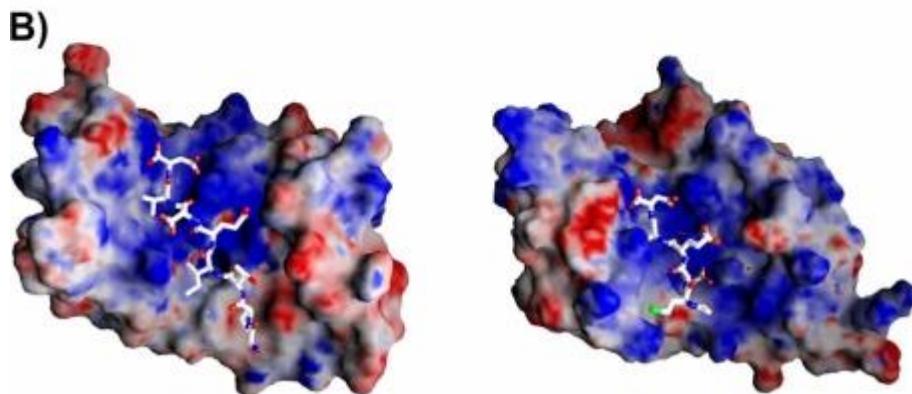
Hsp70 in DnaK sta homologa.

Koevolucija interagirajočih proteinov

Primer: Hsp70-Hop-Hsp90



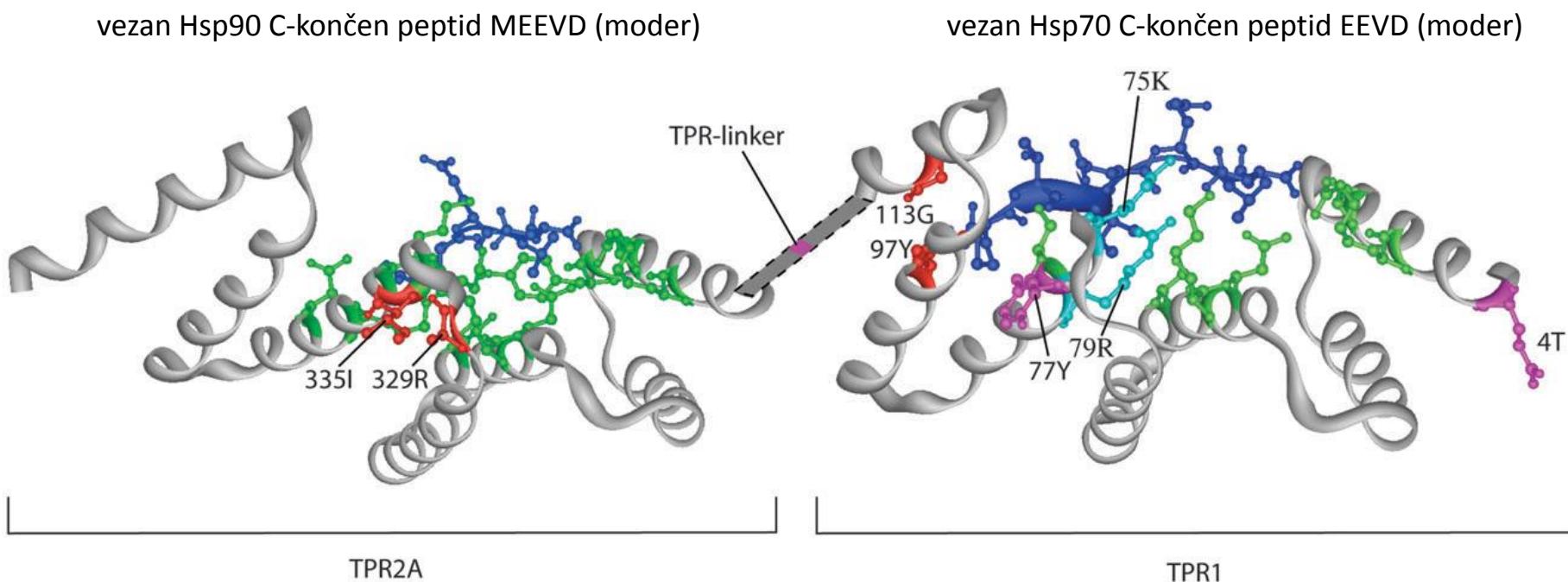
Hop – heat shock organizing protein – adapter, ki omogoča povezovanje in delovanje Hsp.
Veže C-končna EEVD peptida na Hsp.



Koevolucija interagirajočih proteinov

Primer: Hsp70-Hop-Hsp90

Struktura Hsp vezavnih domen Hop:

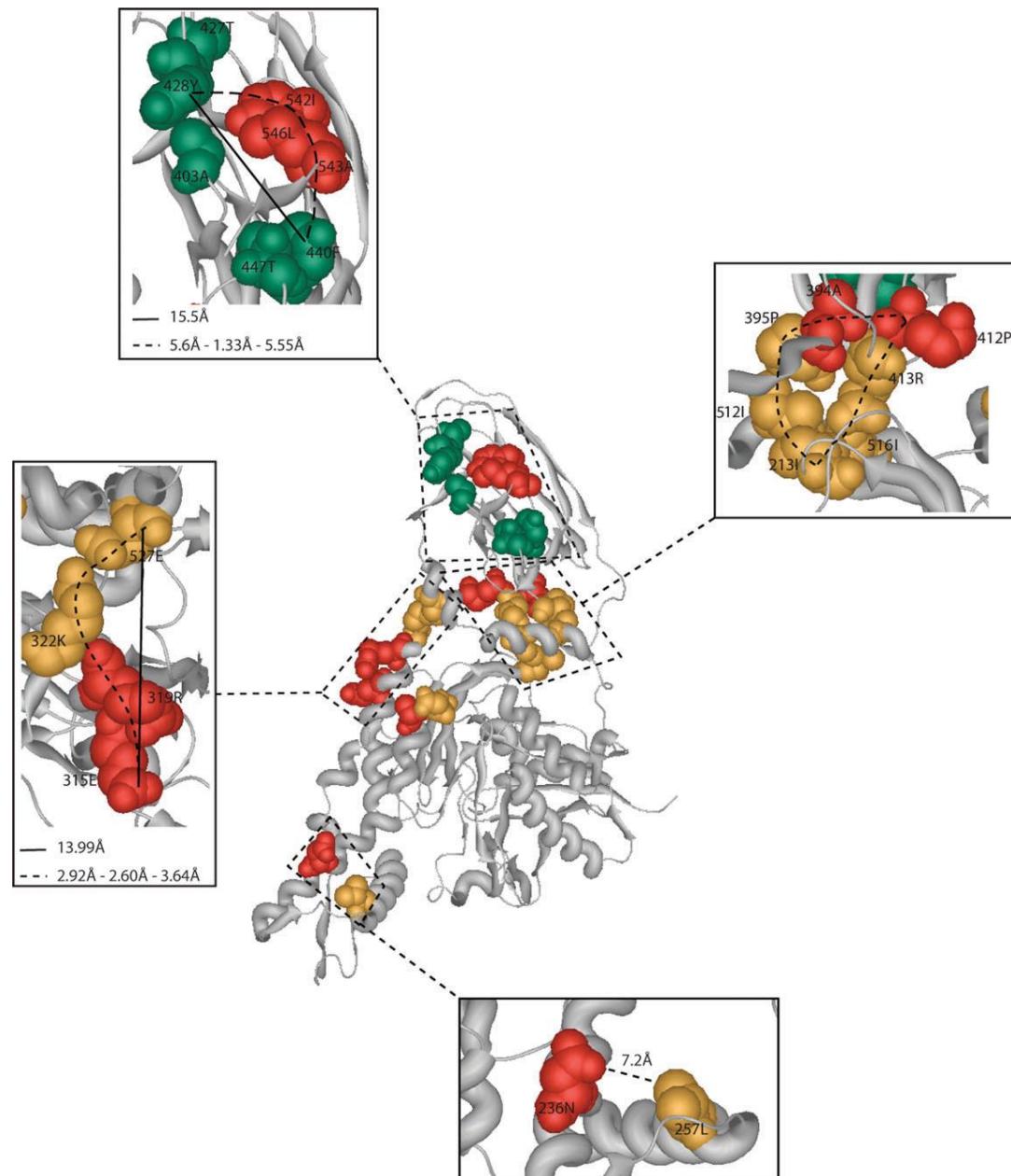


Sistem je dobor ohranjen pri evkariontih → analiza koevolucije Hsp70/Hop in Hsp90/Hop z algoritmom CAPS (poravnavo okoli 25 zaporedij).

Koevolucija interagirajočih proteinov

Primer: Hsp70-Hop-Hsp90

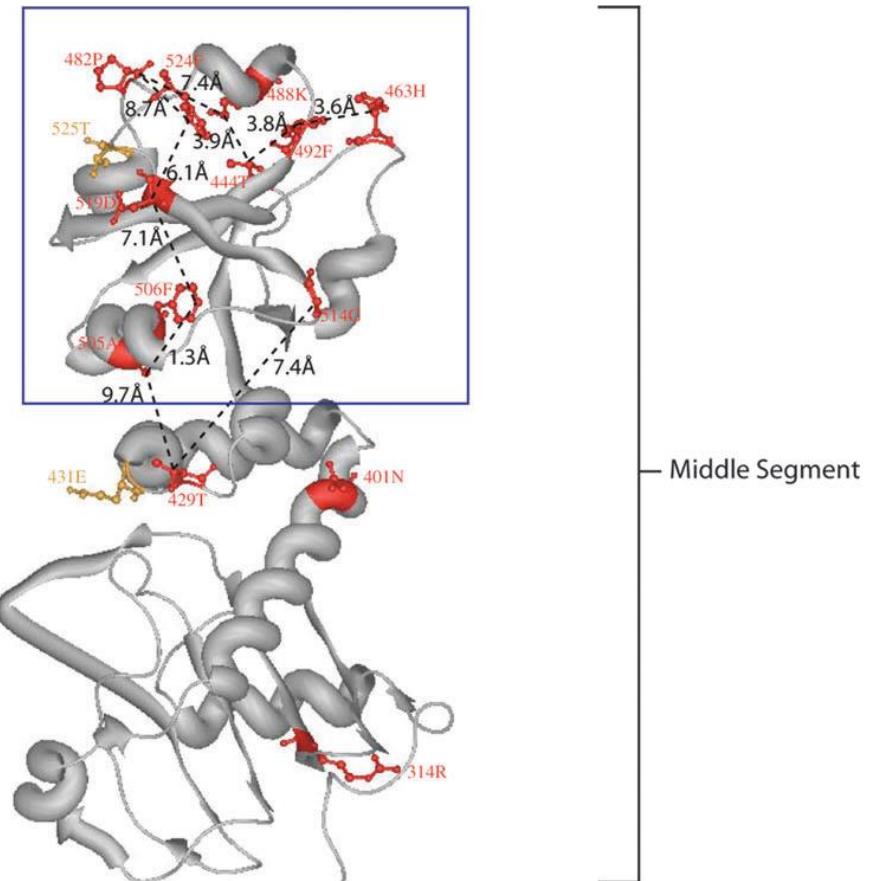
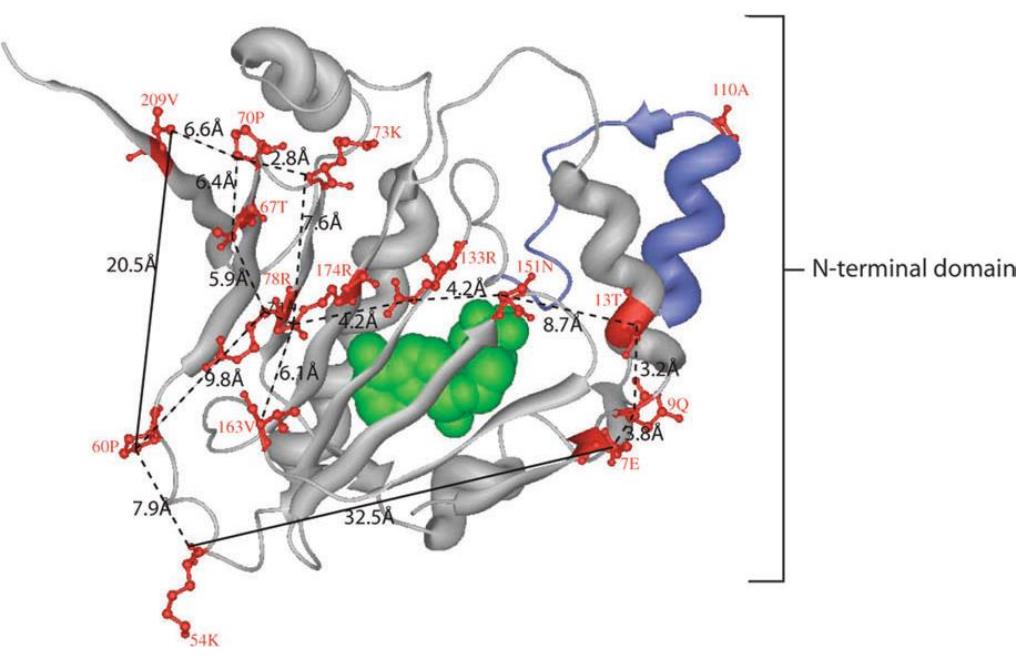
Ostanki v Hsp70, ki koevolvirajo s Hop so porazdeljeni po celotnem proteinu, tudi daleč od C-konca (C-končne domene v strukturi ni).



Koevolucija interagirajočih proteinov

Primer: Hsp70-Hop-Hsp90

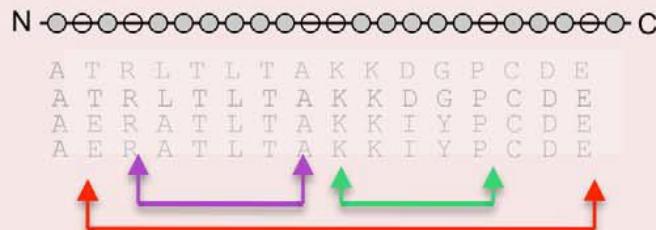
Podobno velja za Hsp90/Hop.



Koevolucija ostankov znotraj proteina

Napovedovanje strukture proteinov iz podatkov o koevoluciji ostankov.

Align evolutionary diverged sequences



Calculate covariance matrix for each pair of sequence positions for all pairs of amino acids (A,B)

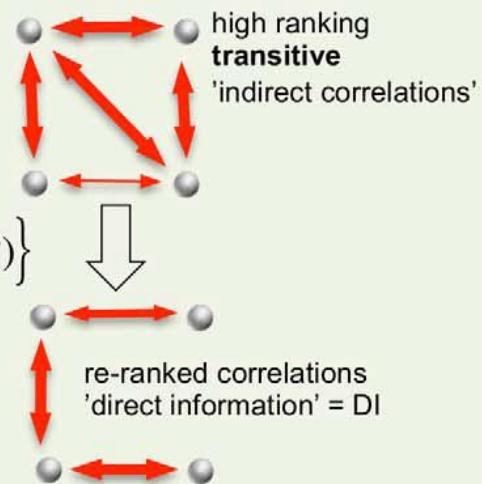
$$C_{ij}(A,B) = f_{ij}(A,B) - f_i(A)P_j(B)$$

$$C_{ij}^{-1}(A,B) = -e_{ij}(A,B)_{i \neq j}$$

$$P_{ij}^{Dir}(A,B) = \frac{1}{Z} \exp\left\{e_{ij}(A,B) + \tilde{h}_i(A) + \tilde{h}_j(B)\right\}$$

Identify maximally informative pair couplings using **statistical model** of entire protein to infer residue-residue co-evolution

$$DI_{ij} = \sum_{A,B=1}^q P_{ij}^{Dir}(A,B) \ln \frac{P_{ij}^{Dir}(A,B)}{f_i(A)f_j(B)}$$

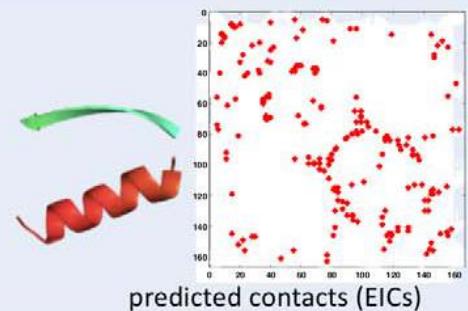


Koevolucija ostankov znotraj proteina

Napovedovanje strukture proteinov iz podatkov o koevoluciji ostankov.

Analyze the highest scoring pairs to produce ranked list of residue pairs which we predict to be close in 3D space. Use these pairs as predicted close “evolutionary inferred contacts”, EICs, in folding calculations

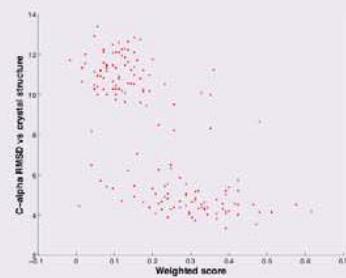
```
assign (resid 143 and name CA) (resid 123 and name CA) 4 4 3  
assign (resid 16 and name CA) (resid 10 and name CA) 4 4 3  
assign (resid 141 and name CA) (resid 82 and name CA) 4 4 3  
assign (resid 129 and name CA) (resid 87 and name CA) 4 4 3  
assign (resid 92 and name CA) (resid 11 and name CA) 4 4 3  
assign (resid 116 and name CA) (resid 81 and name CA) 4 4 3
```



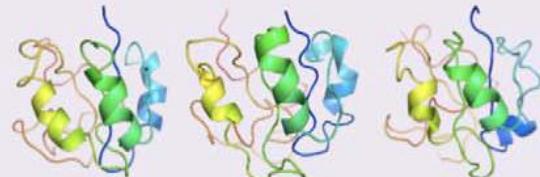
Start with extended structure
use **distance geometry** and **simulated annealing** with predicted constraints, EICs, to fold the chain



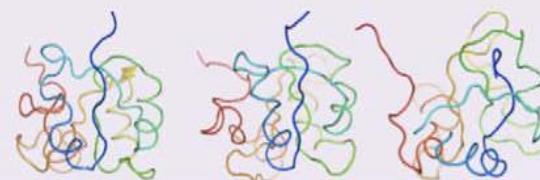
Rank predicted structures using quality measure of backbone alpha torsion and beta sheet twist



good scores

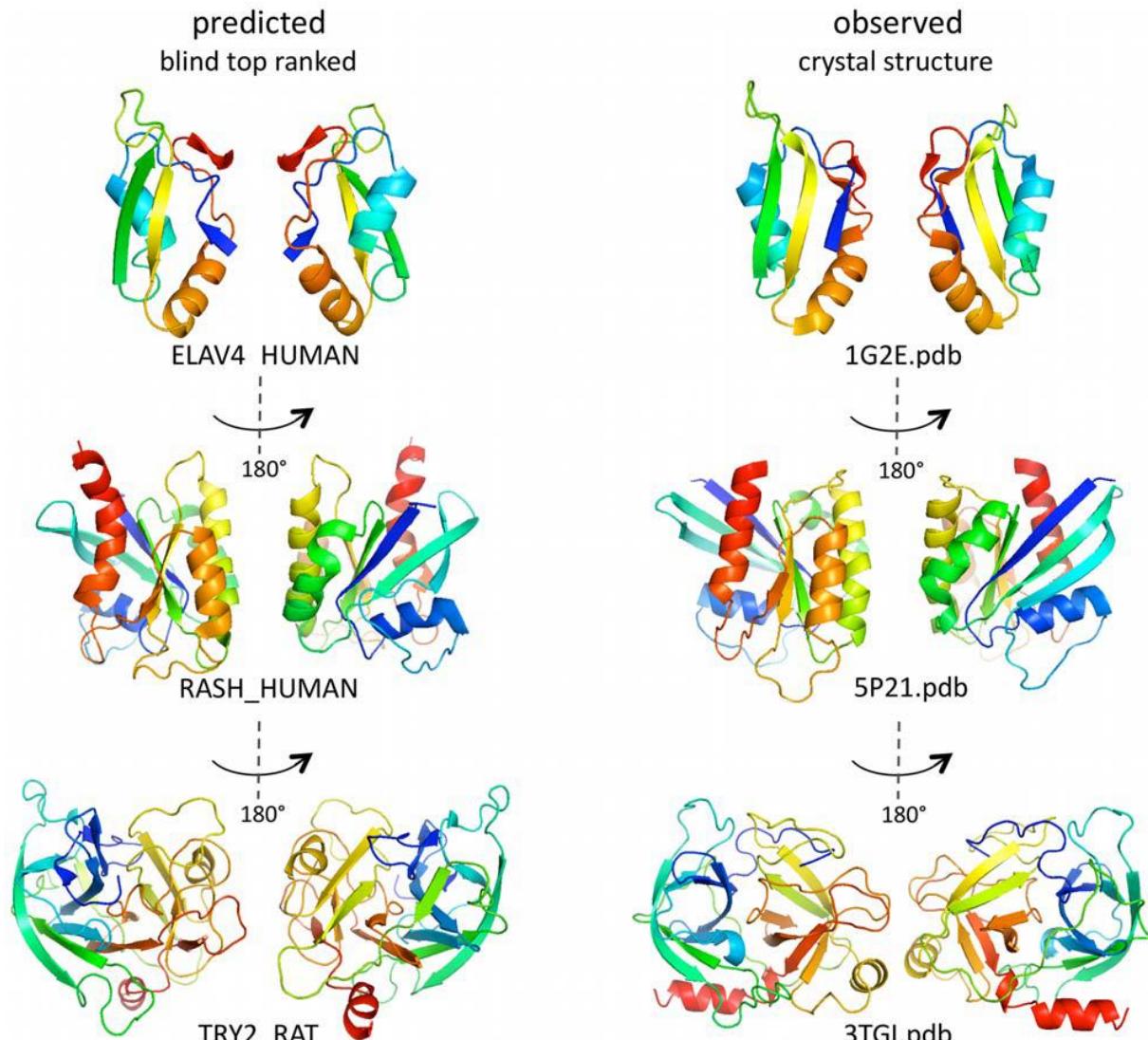


bad scores



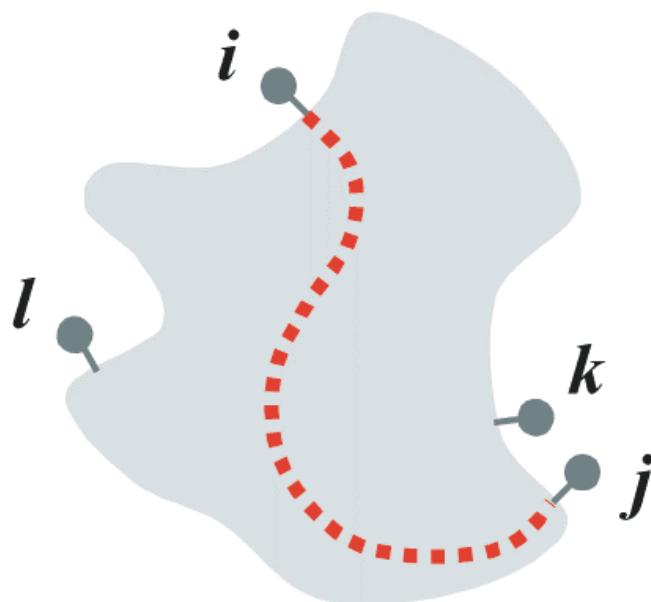
Koevolucija ostankov znotraj proteina

Napovedovanje strukture proteinov iz podatkov o koevoluciji ostankov.



Statistična analiza sklopitev

Statistična analiza sklopitev je metoda, ki identificira omrežja koevolvirajočih ostankov v proteinih.



Hipoteza:

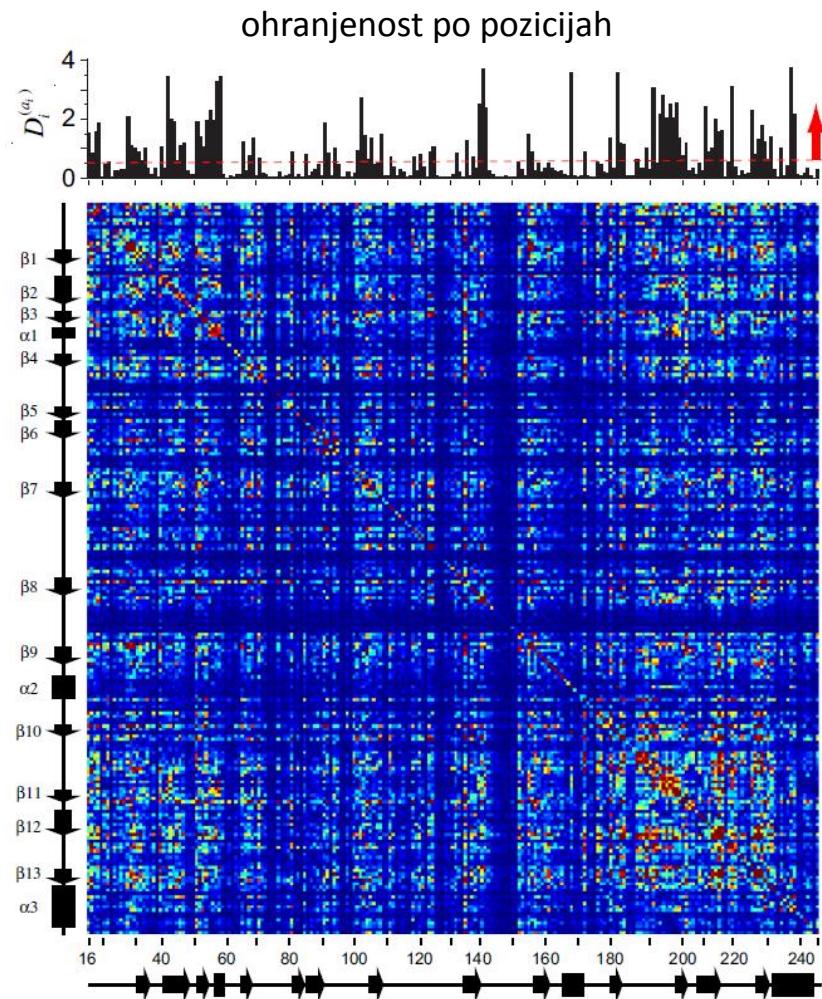
Evolucijsko ohranjena (koevolvirajoča) omrežja prenašajo alosterično komunikacijo v proteinih.

Evolucijsko ohranjena omrežja v proteinski družini imenujemo **proteinski sektorji**.

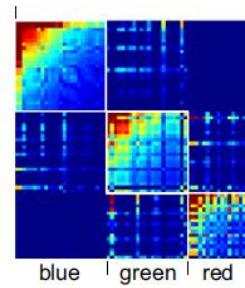
Statistična analiza sklopitev

Statistična analiza sklopitev je metoda, ki identificira omrežja koevoluirajočih ostankov v proteinih – **proteinski sektorji**.

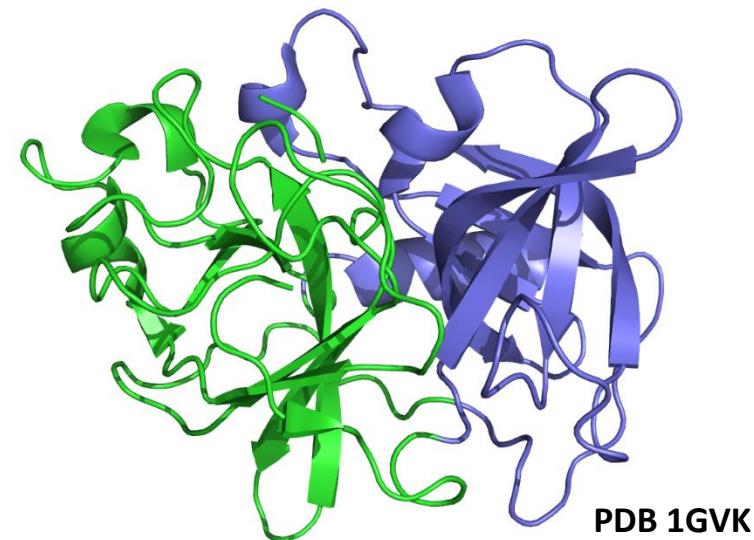
Primer: tripsinu podobne serinske proteaze



kovarianca med pozicijami

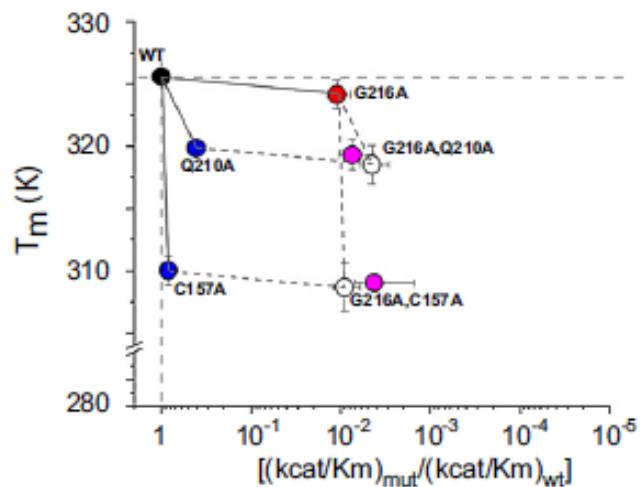
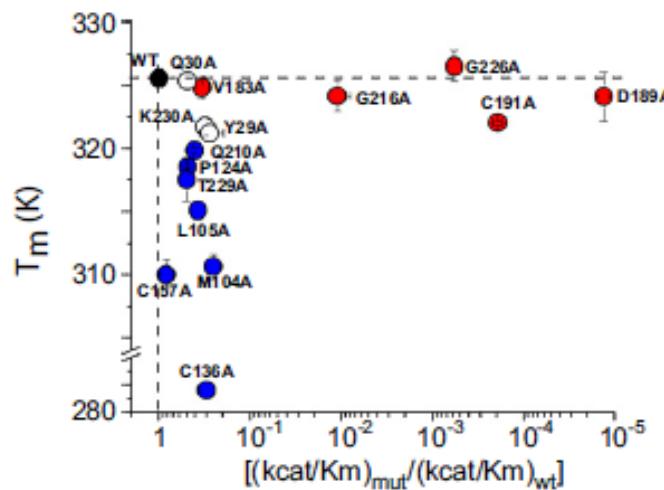


sortirana matrika – 3 sektorji

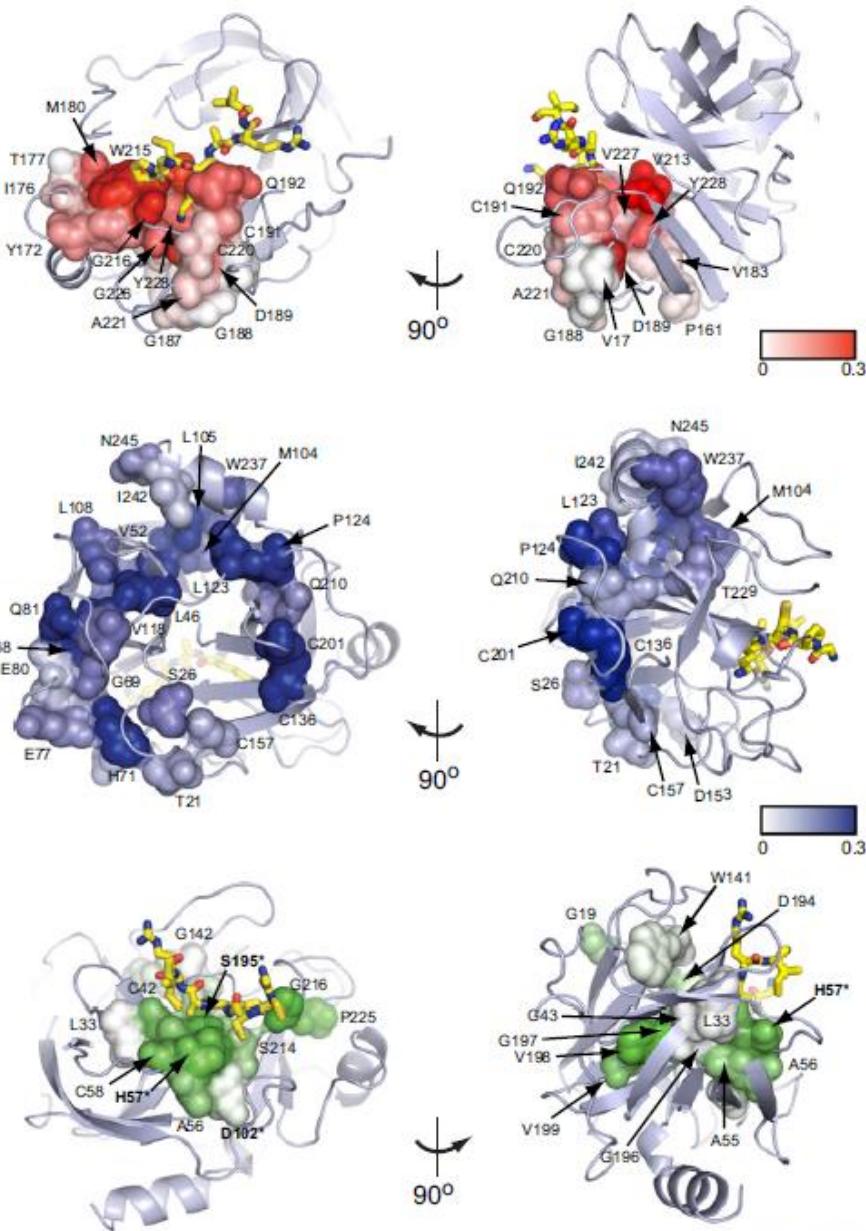


Statistična analiza sklopitev

Primer: tripsinu podobne serinske proteaze



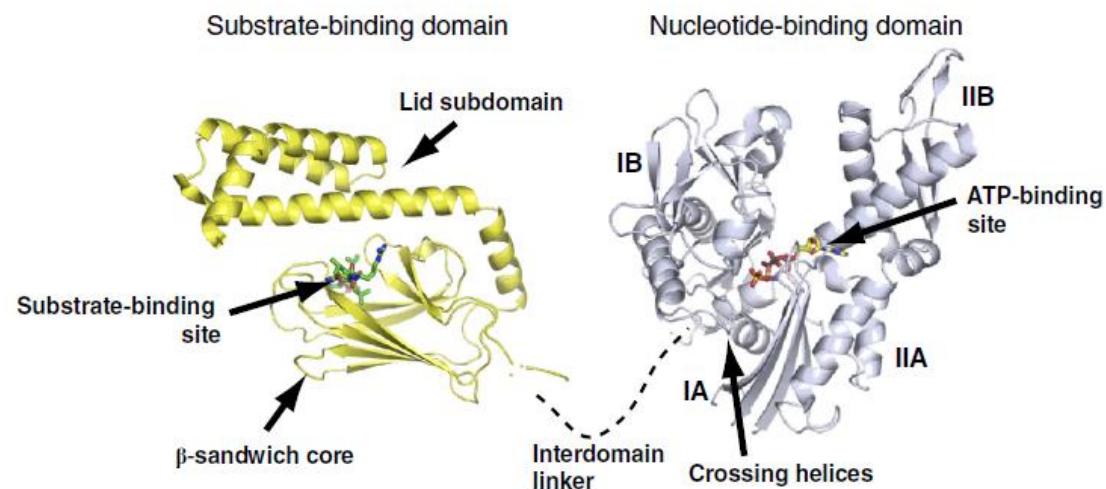
Zeleni sektor vsebuje katalitične ostanke, modri vpliva na termično stabilnost, rdeči pa na katalitično učinkovitosti



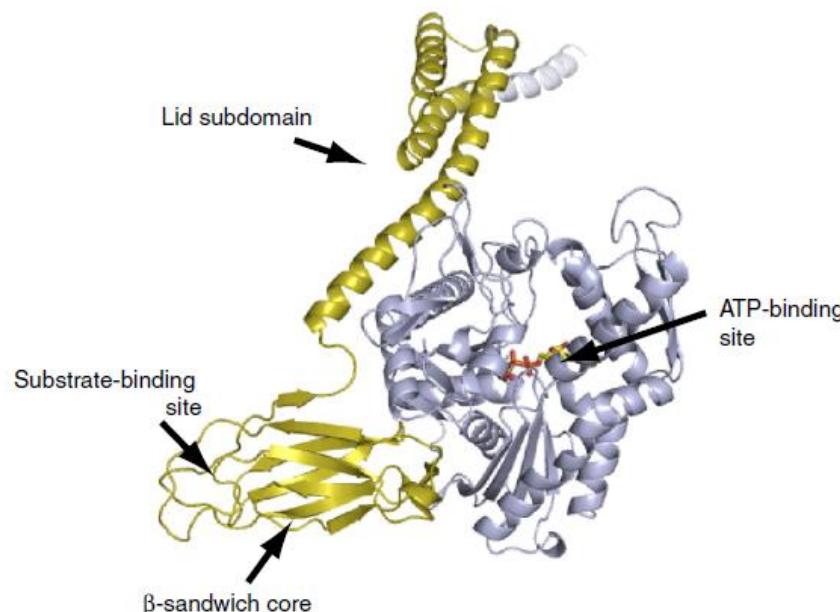
Statistična analiza sklopitev

Primer: alosterija v Hsp70

Hsp70 – ADP-vezana oblika



Hsp70 – ATP-vezana oblika



Statistična analiza sklopitev

Primer: alosterija v Hsp70 – konformacijske spremembe ob vezavi ATP posreduje sektor, ki se razteza v obeh domenah.

