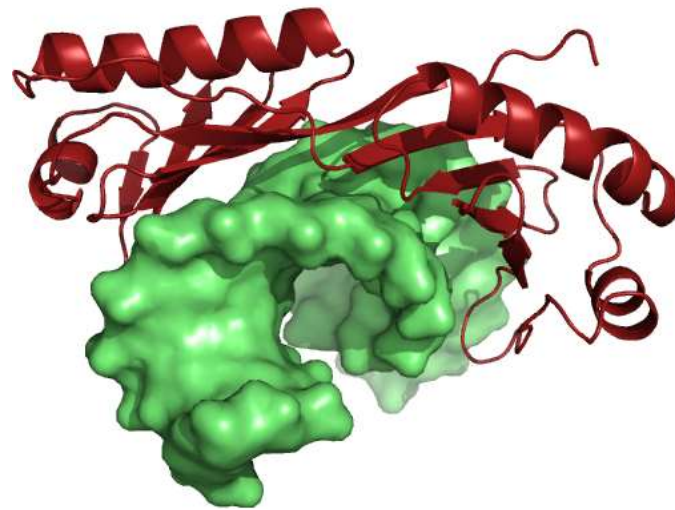


# Proteinske interakcije

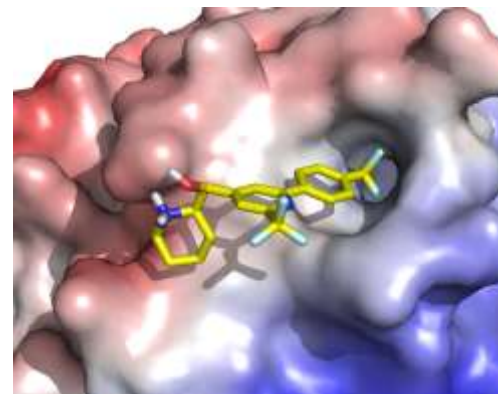
Proteinske interakcije so širok pojem interakcij, ki jih proteini tvorijo z drugimi proteini, nukleinskimi kislinami in ostalimi ligandi. Študij interakcij proteinov omogoča razumevanje celičnih procesov, ki jih te interakcije posredujejo in načrtovanje novih učinkovin v medicinske namene, ki delujejo na ravni proteinov.



protein-protein



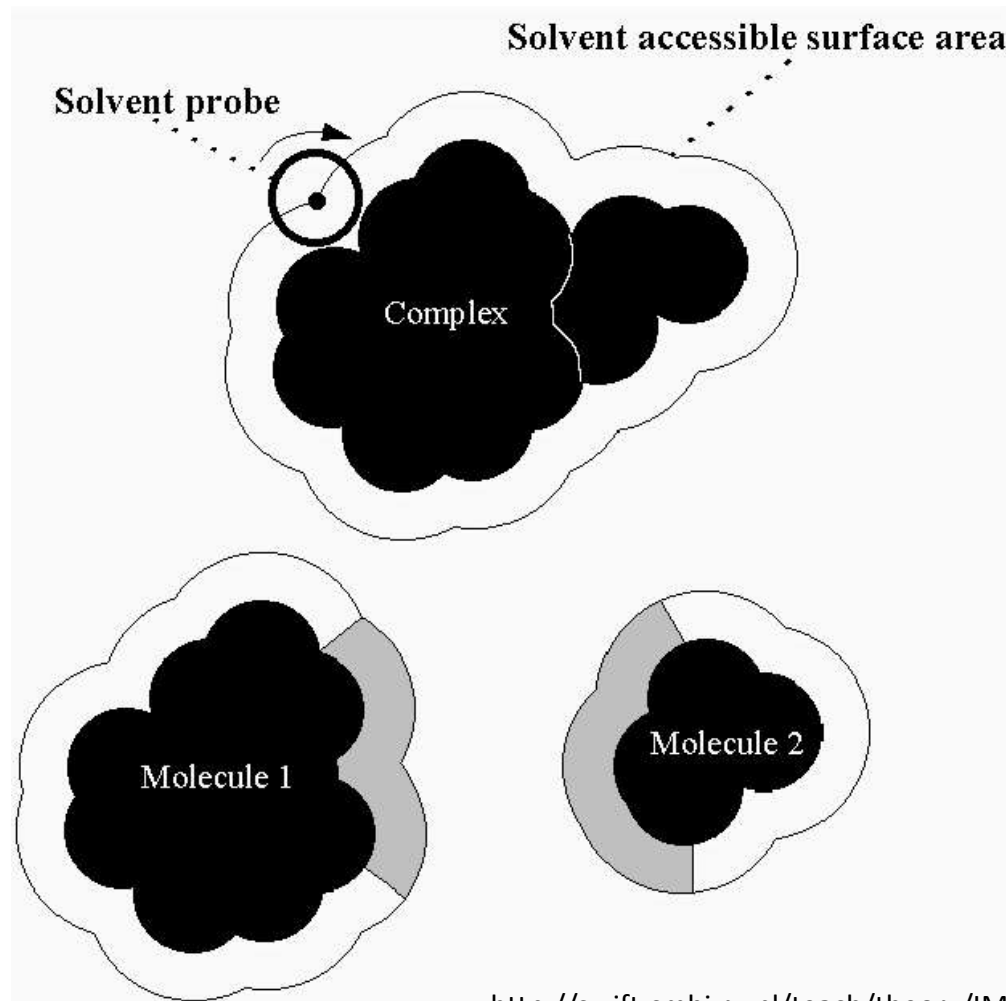
protein-DNA



protein-majhna  
molekula

# Tvorba kompleksa

Pri tvorbi kompleksa pride do spremembe topilu dostopne površine obeh proteinov. Razliki med vsoto površin posameznih interakcijskih partnerjev in površine kompleksa rečemo zakopana površina in je sorazmerna stični površini med obema partnerjema.



# Tvorba kompleksa

Pri tvorbi kompleksa pride do spremembe topilu dostopne površine obeh proteinov. Razliki med vsoto površin posameznih interakcijskih partnerjev in površine kompleksa rečemo zakopana površina in je sorazmerna stični površini med obema partnerjema.

Pri tvorbi stične površine je pomembna **komplementarnost**:

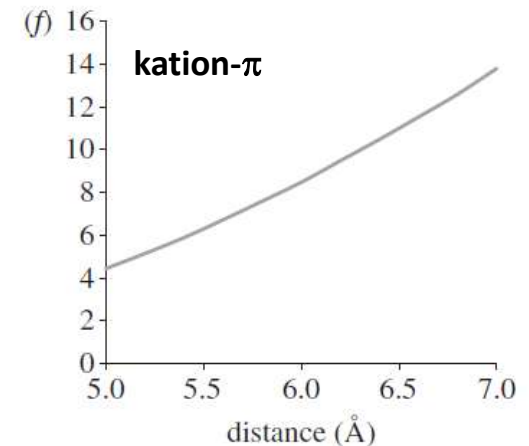
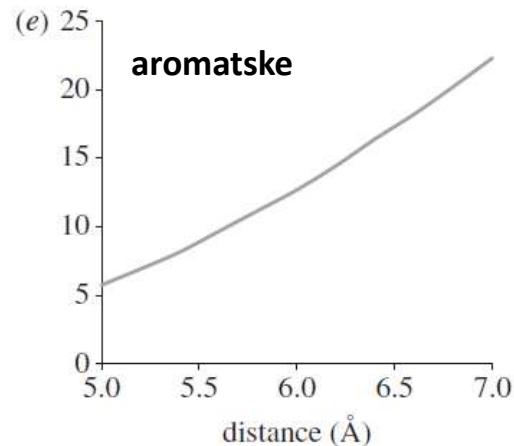
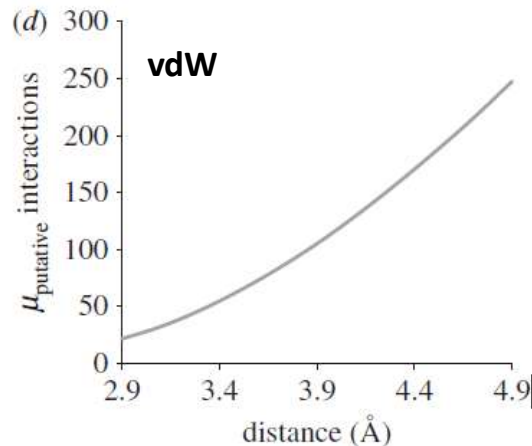
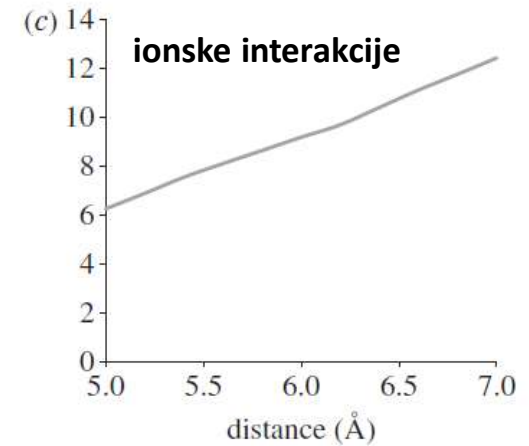
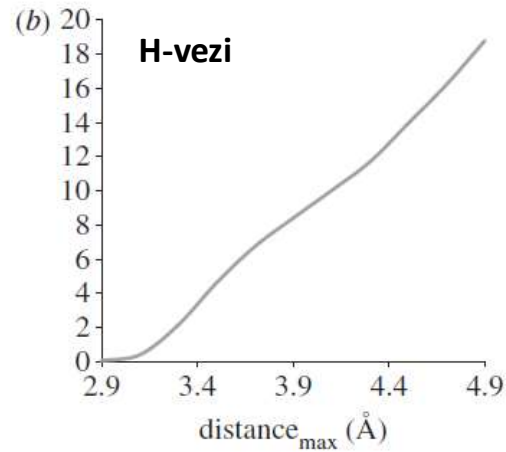
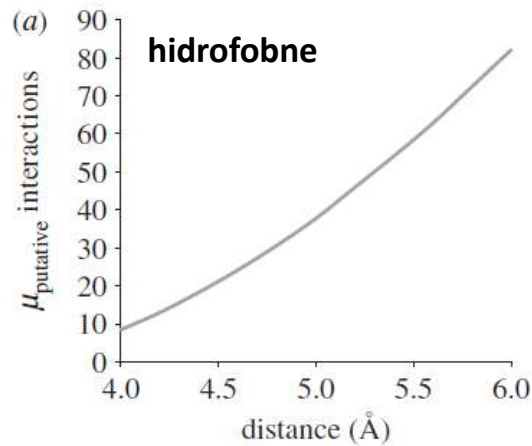
- *geometrije*
- *donorjev in akceptorjev vodikovih vezi*
- *nabojev*

Kemijska sestava stičnih površin:

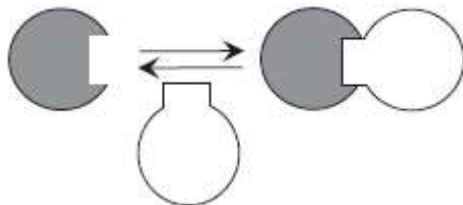
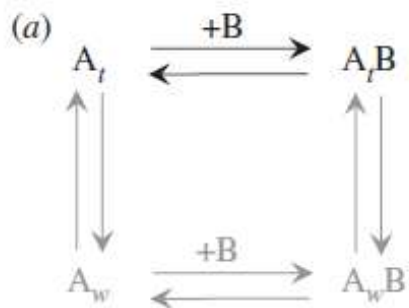
	delež skupin (v %)		
	<i>nepolarne</i>	<i>polarne (nenabite)</i>	<i>polarne (nabite)</i>
površina proteinov	57	24	19
<b>stična površina</b>	<b>56</b>	<b>29</b>	<b>15</b>
notranjost proteinov	58	39	4

# Tvorba kompleksa

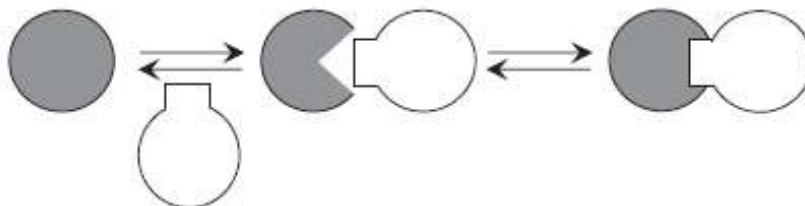
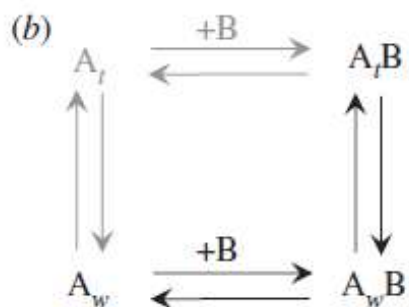
Primerjava števila posameznih interakcij v odvisnosti od oddaljenosti med interagirajočimi skupinami, določena na podlagi vzorca 195 kompleksov protein-protein



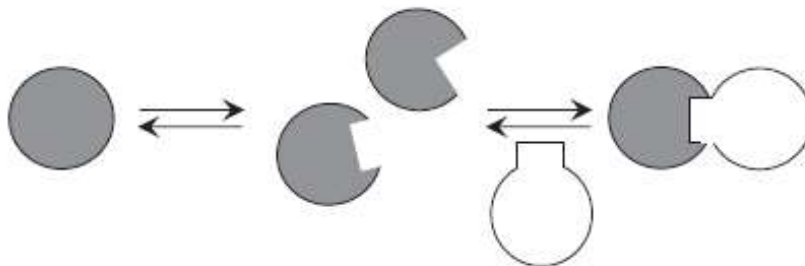
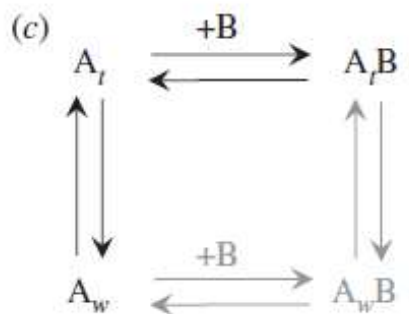
# Mehanizmi prepoznavanja med proteini



„lock and key“



„induced fit“



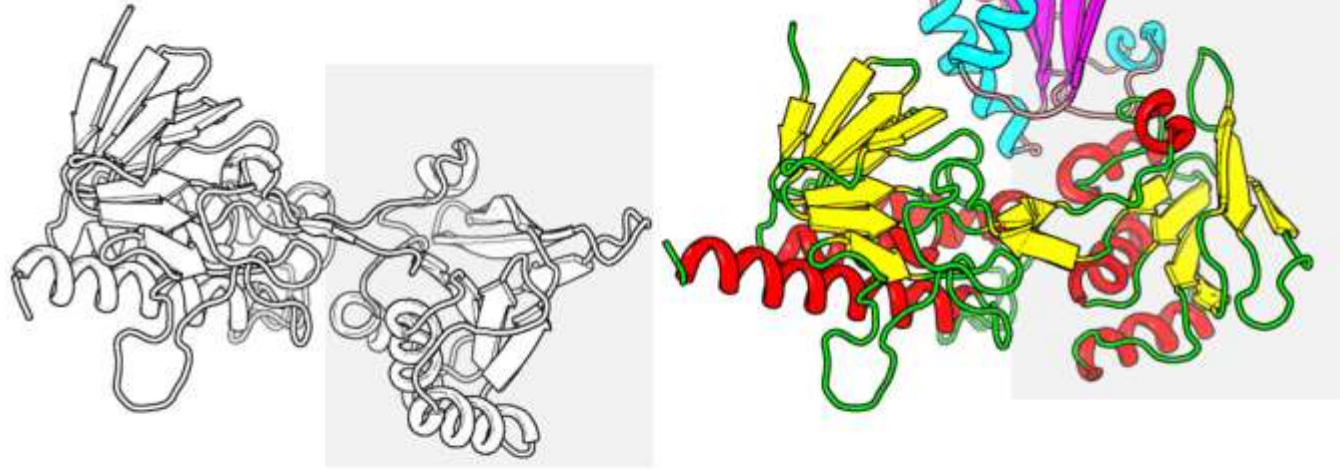
„dynamic fit“  
(konformacijska selekcija)

sive puščice .. neobstoječe poti

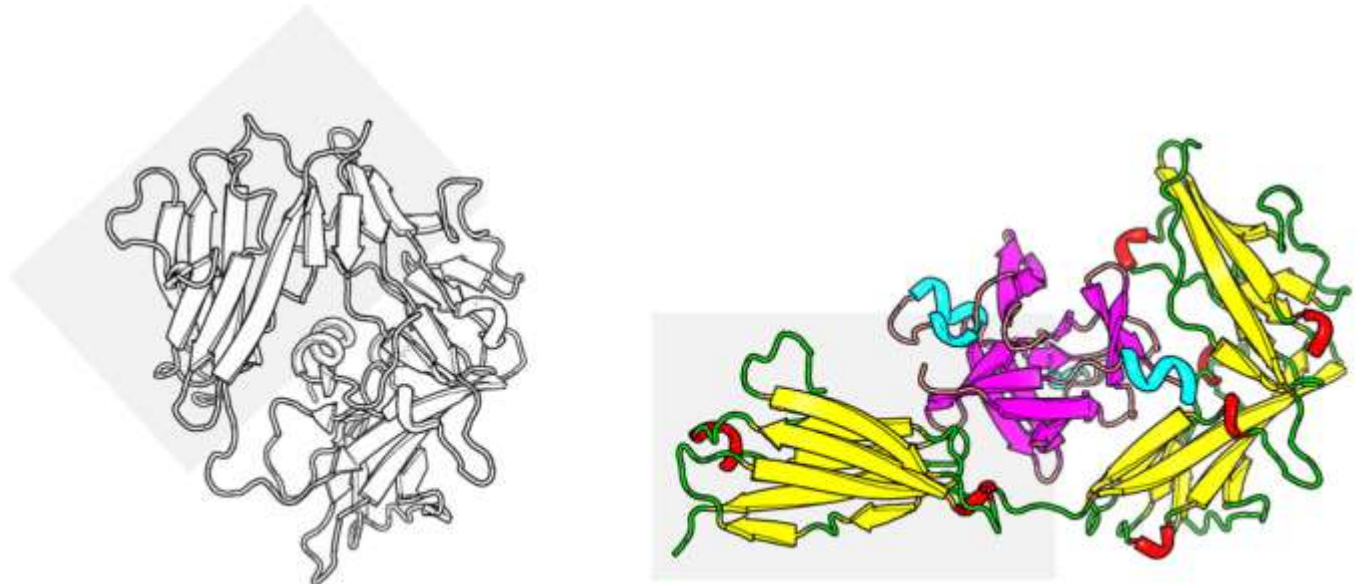
# Mehanizmi prepoznavanja med proteini

Konformacijske spremembe ob vezavi liganda.

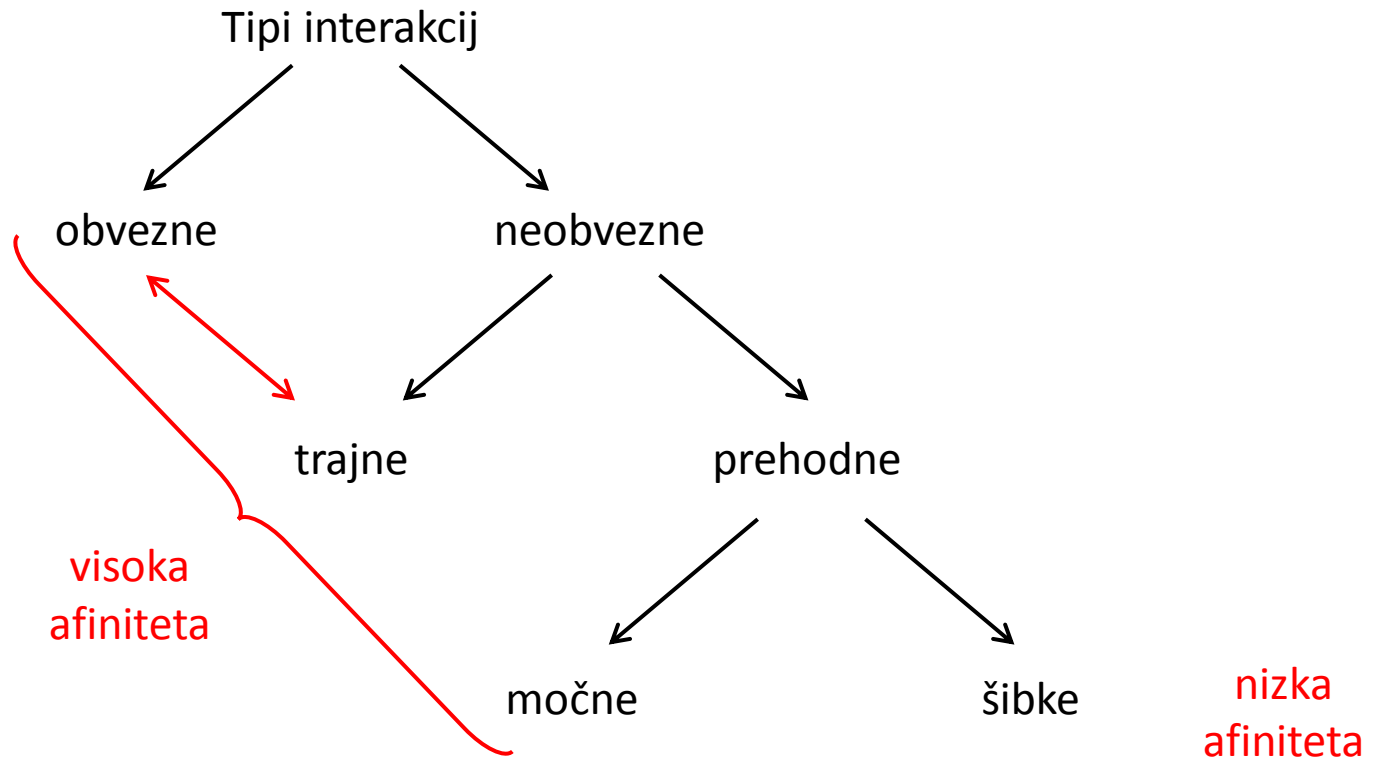
tioredoksin  
reduktaza /  
tioredoksin



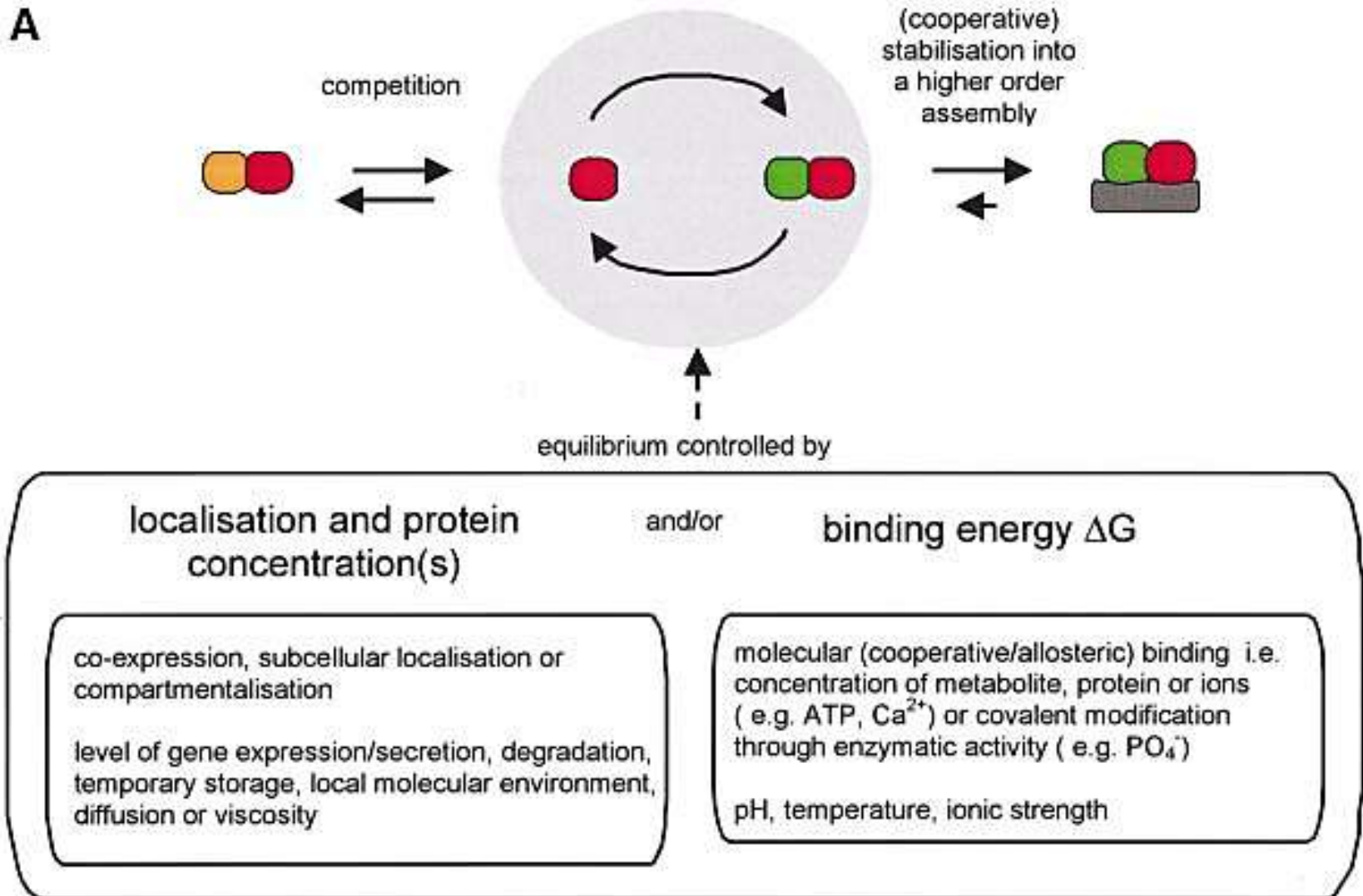
IL-1  
receptor /  
IL-1 R  
antagonist



# Interakcije med proteini

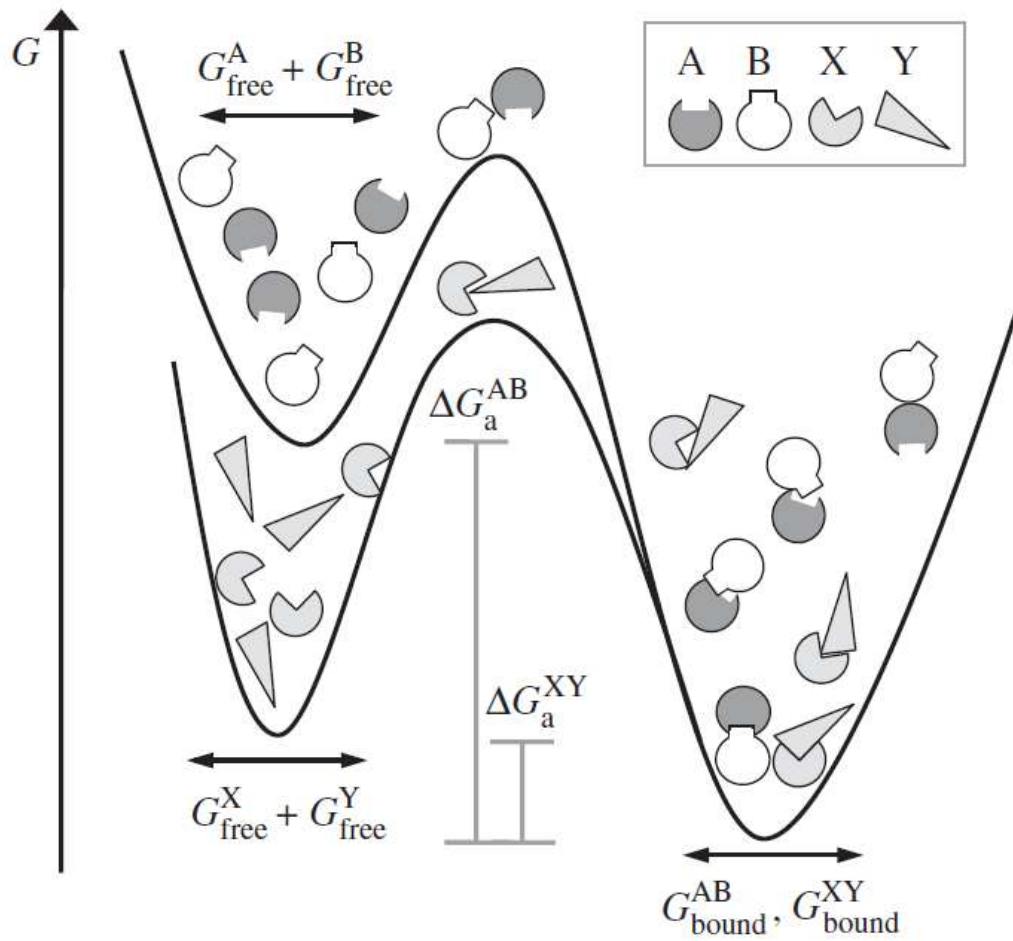


# Interakcije med proteini





# Termodinamika proteinskih interakcij

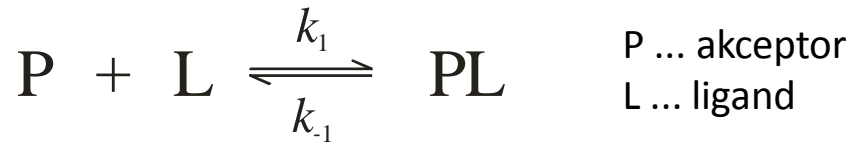


intermolekulske interakcije

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$$

↑  
↓  
sprememba entropije

# Termodinamika proteinskih interakcij



$$v_{as} = k_1[P][L] \quad \text{hitrost asociacije}$$

$$v_{dis} = k_{-1}[PL] \quad \text{hitrost disociacije}$$

v ravnotežju:

$$v_{as} = v_{dis}$$

$$k_1[P][L] = k_{-1}[PL]$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[PL]}{[P][L]} = K_a \quad \text{ravnotežna konstanta asociacije (enota M}^{-1}\text{)*}$$

$$\frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[P][L]}{[PL]} = K_d \quad \text{ravnotežna konstanta disociacije (enota M)*}$$

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_a$$

v ravnotežju

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_a$$

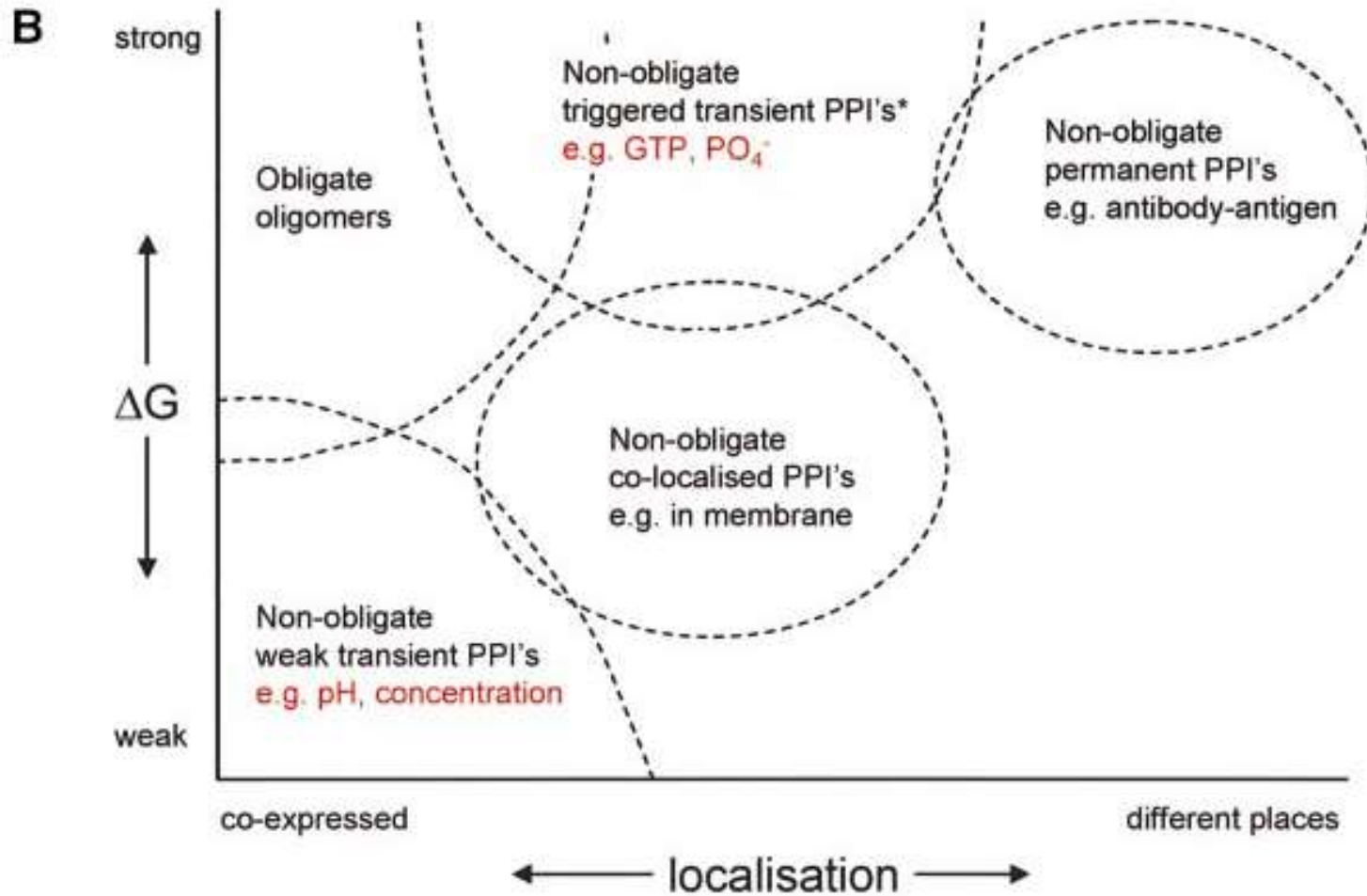
$$\Delta G^0 = RT \ln K_d$$

$$K_a = \frac{1}{K_d}$$

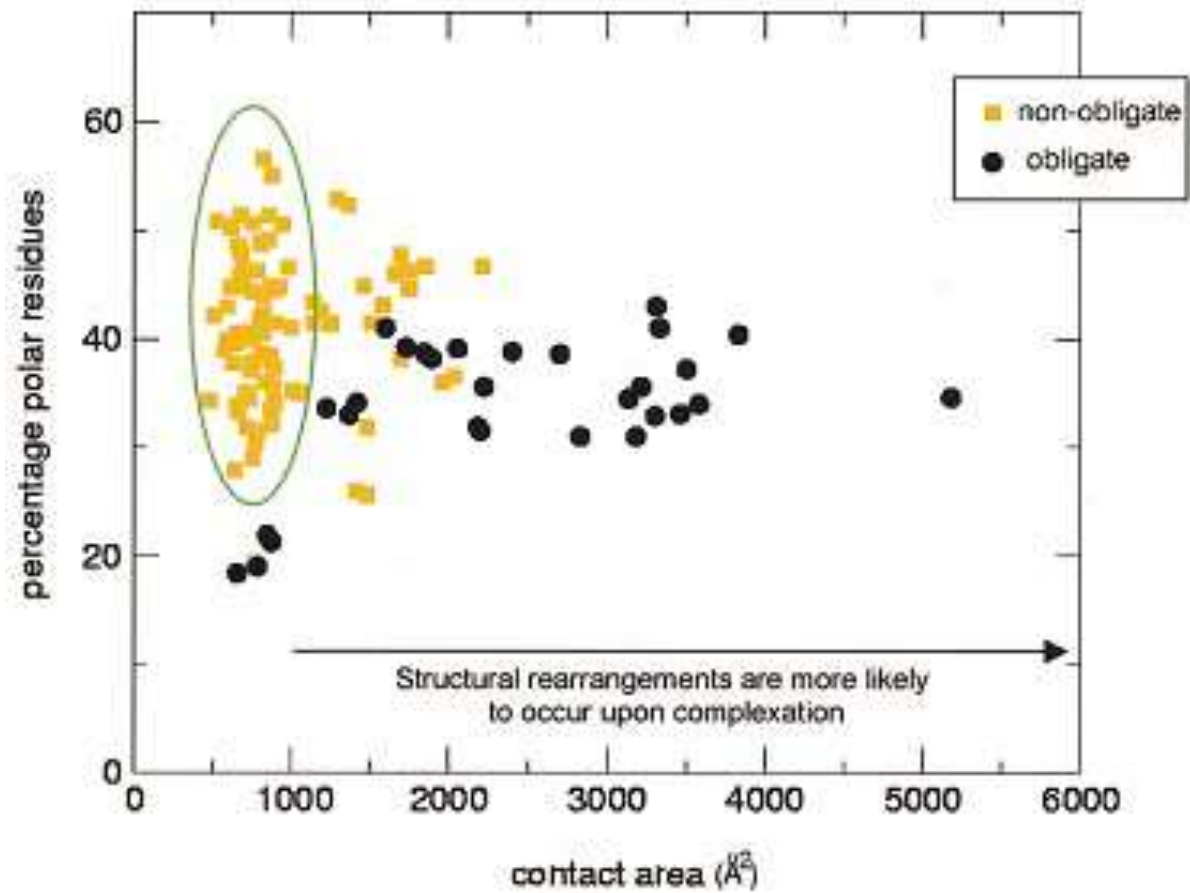
$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{-1}}$$

\*v resnici so termodinamske konstante brez enot.

# Interakcije med proteini



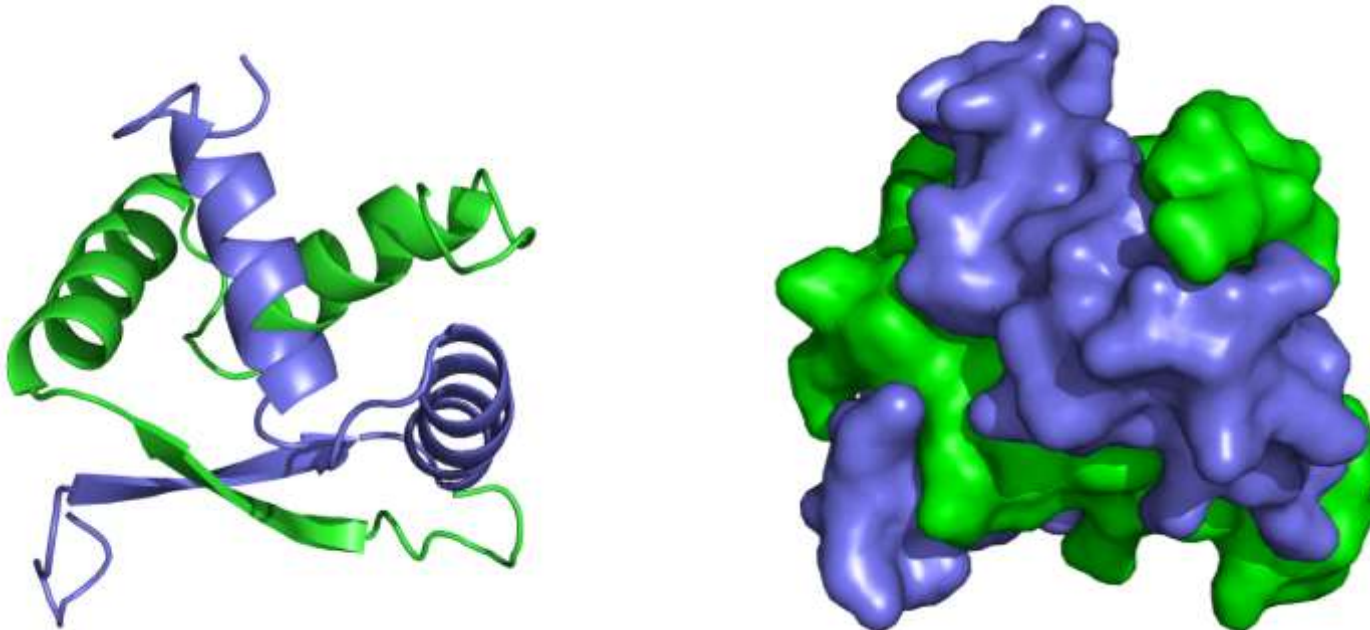
# Interakcije med proteini



# Obvezni kompleksi

Posamezne enote same zase niso stabilne, zato je tvorba kompleksa/oligomera obvezna za obstojnost proteina v celici. S tem je pogojena tudi obligatna tvorba kompleksa za opravljanje biološke vloge proteina.

Primer: Arc represor bakteriofaga P22, ki okuži enterobakterije



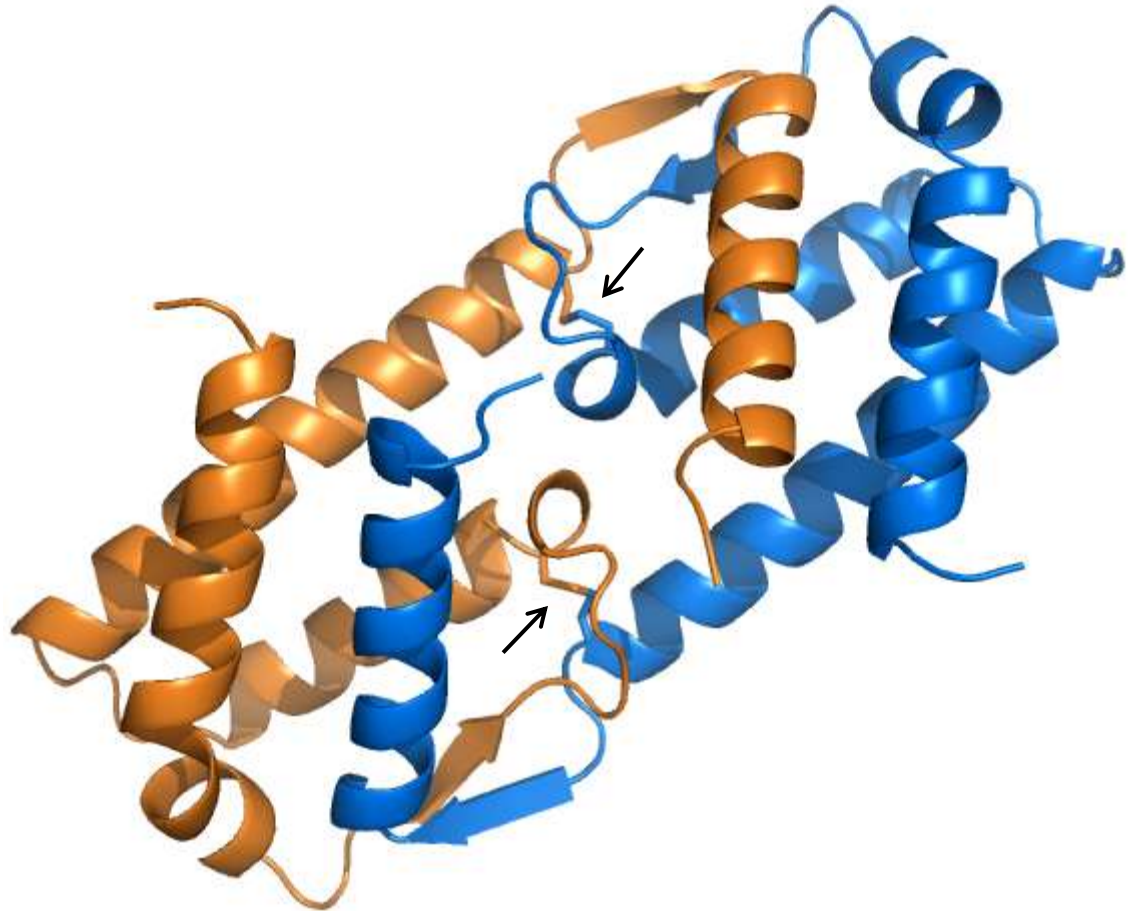
# Obvezni/trajni kompleksi

Posamezne enote same zase niso stabilne, zato je tvorba kompleksa/oligomera obvezna za obstojnost proteina v celici. S tem je pogojena tudi obligatna tvorba kompleksa za opravljanje biološke vloge proteina.

Primer: interlevkin-5

BSA 3300 Å<sup>2</sup>

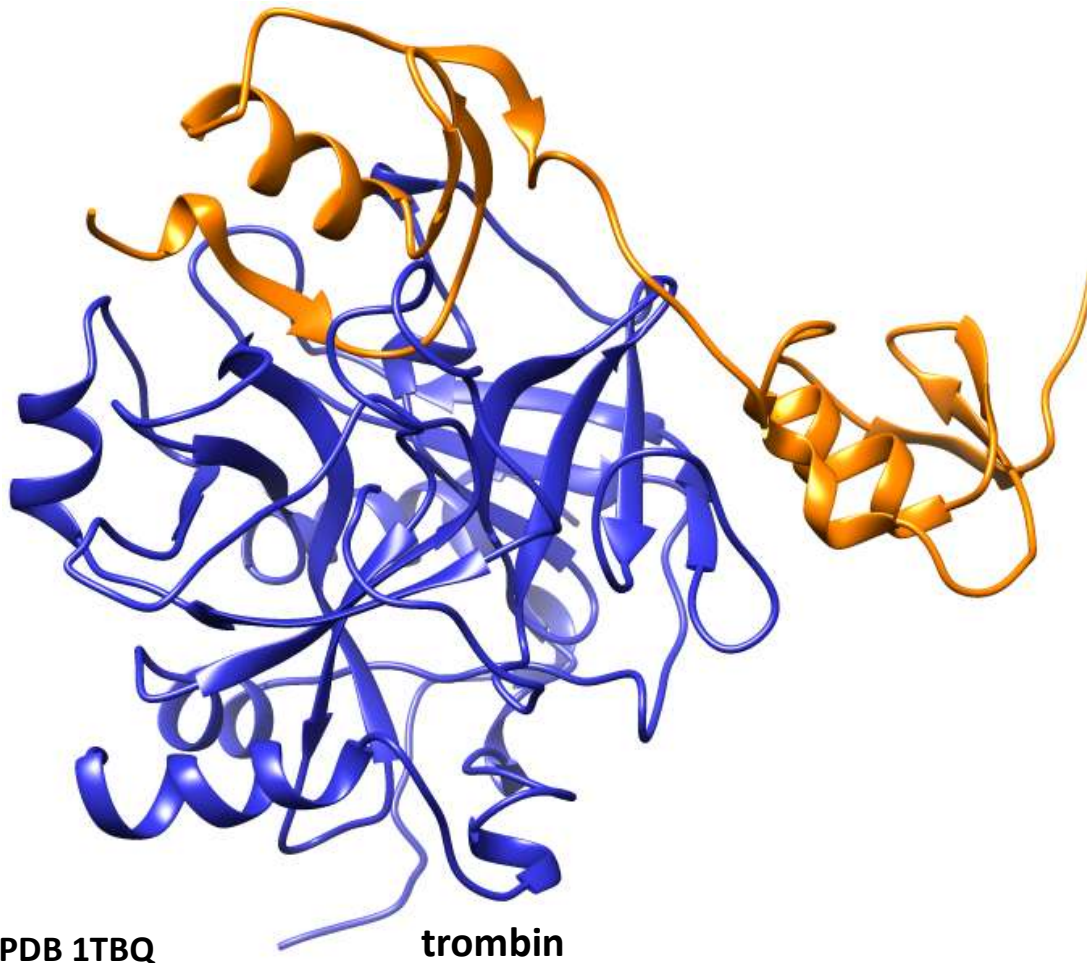
Kompleks je dodatno stabiliziran z dvema intermolekulskima disulfidoma



# Trajne interakcije

Ko kompleks nastane, praviloma ostane povezan dlje časa, praktično permanentno.

Primer: kompleks **trombina** in njegovega inhibitorja **rodniina** iz krvose žuželke *Rhodnius prolixus* (inhibitor preprečuje strjevanje krvi med hranjenjem).



**rodniin** – sestavljen iz dveh tandemnih ponovitev Kazalove domene – prva se veže v aktivno mesto, druga pa interagira s proteinom izven njega

$$K_d = 0.2 \text{ pM}$$

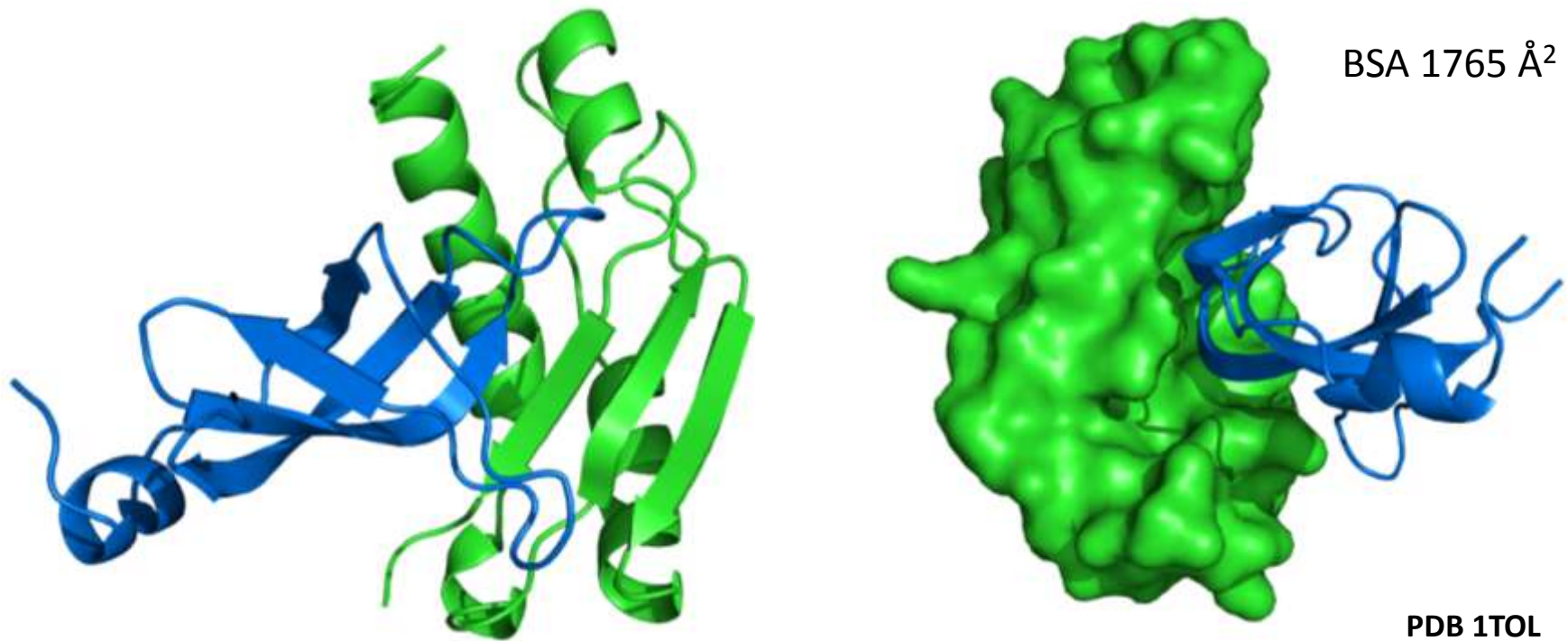
$$\text{BSA } 1850 \text{ \AA}^2$$

$$k_{-1} = 4.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$$

$$t_{1/2} = 1611 \text{ s } (\sim 27 \text{ min})$$

## Primeri interakcij

Primer iz knjige (Lesk): kompleks proteina gena III bakteriofaga M13 in TolA proteina *E. coli*

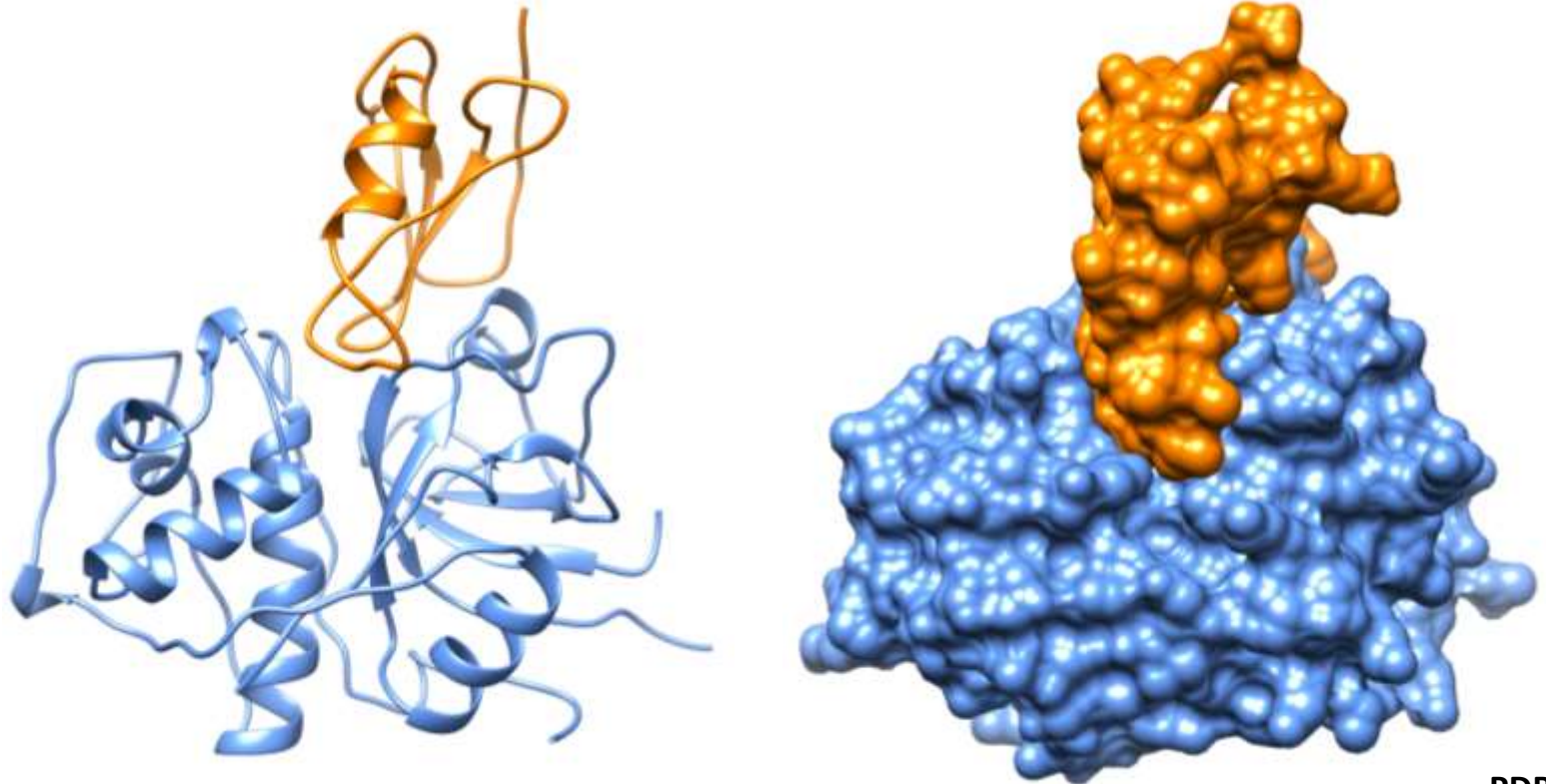


Pri nastanku kompleksa nastane skupna  $\beta$  ploskev.



## Primeri interakcij

Kompleks p41 fragment nevariantne verige in katepsina L je primer izjemno močne interakcije preko relativno male interakcijske površine.

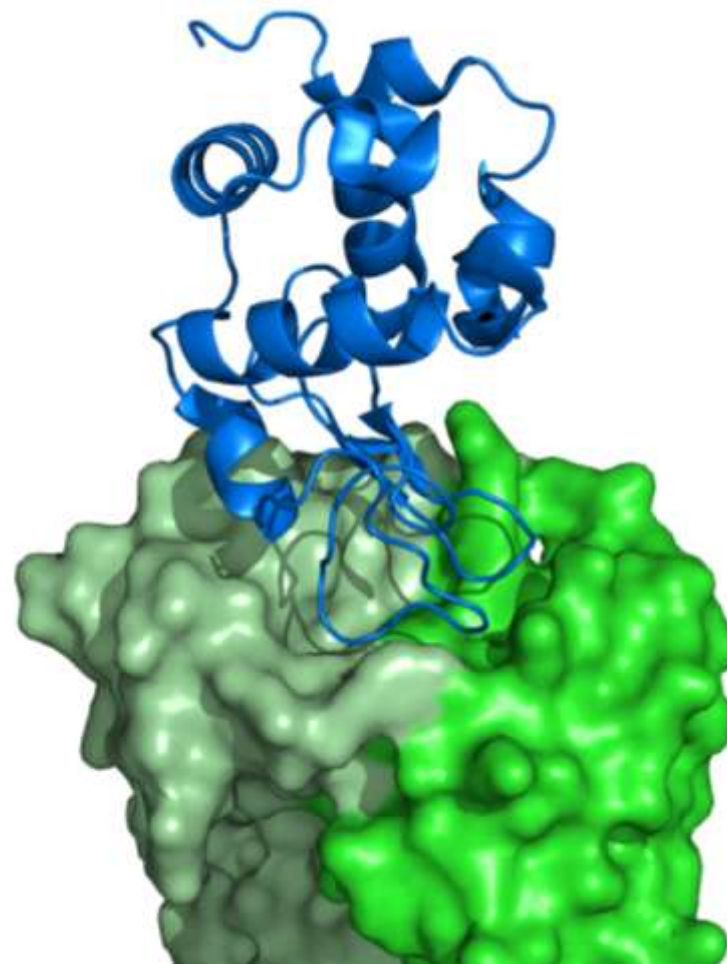
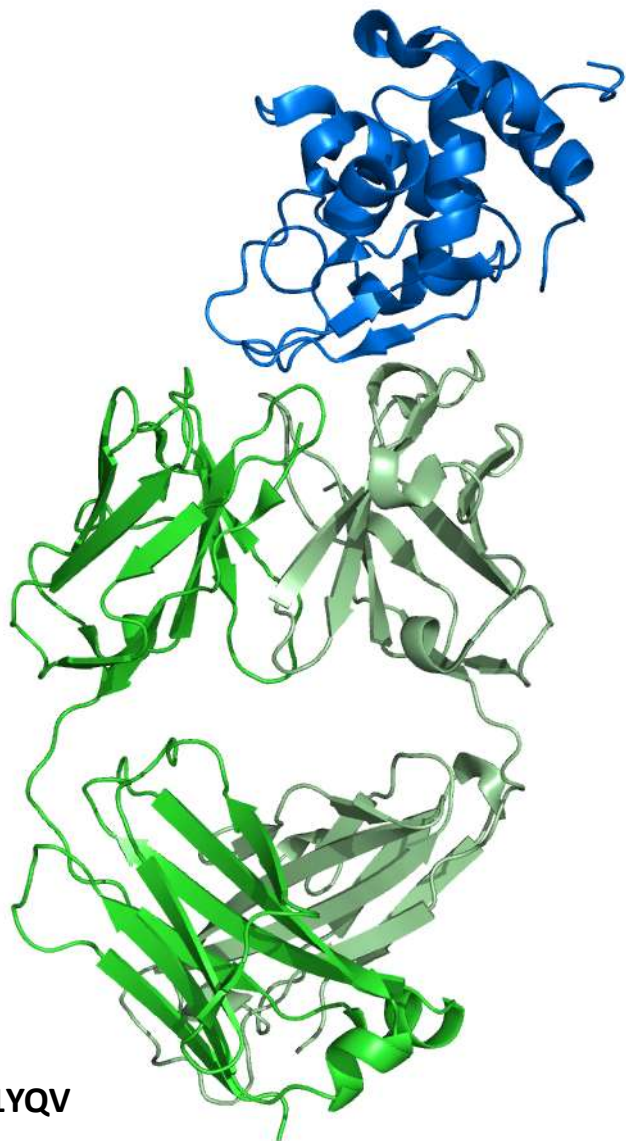


PDB 1ICF

$K_d = 10 \text{ pM}$   
BSA  $1000 \text{ \AA}^2$

# HyHEL5 protitelo

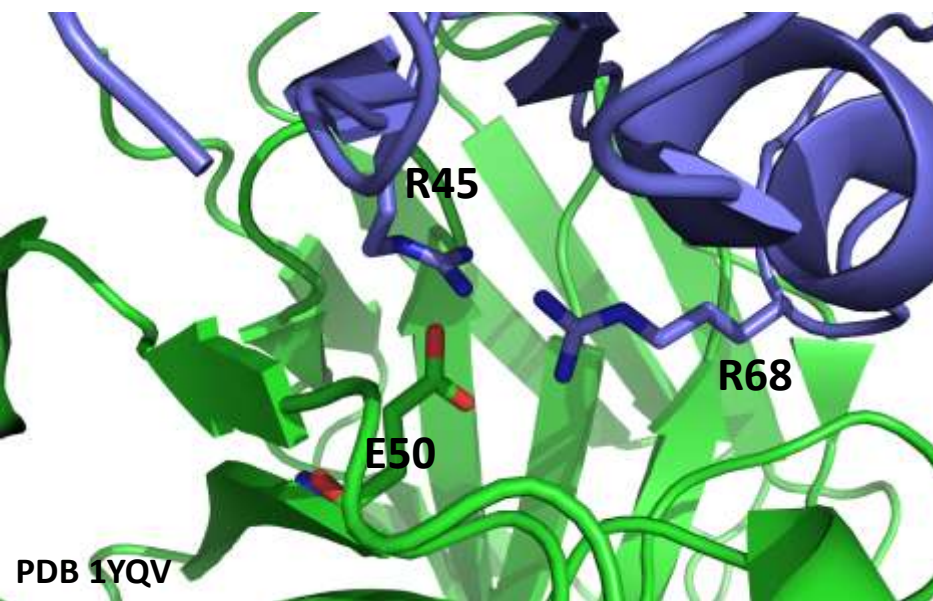
Mišje HyHEL-5 protitelo proti kokošjem lizocimu.



# HyHEL5 protitelo

Mišje HyHEL-5 protitelo proti kokošjem lizocimu.

kokošji lizocim



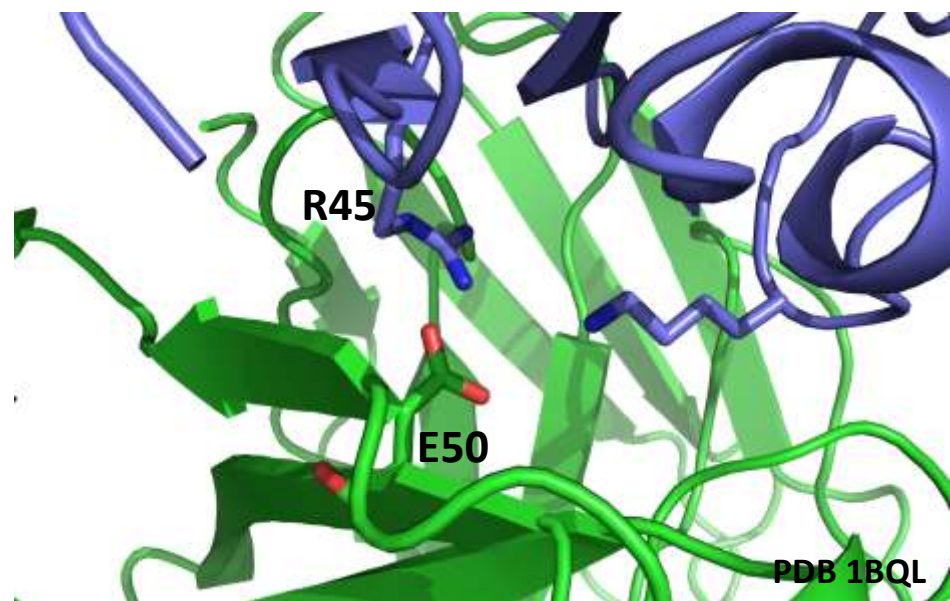
HyHEL5 Fab

$K_d = 25 \text{ pM}$   
 $\Delta H^0 = -23 \text{ kcal/mol}$

E50<sub>H</sub>D mutanta

$K_d = 20 \text{ nM}$   
 $\Delta H^0 = -19 \text{ kcal/mol}$

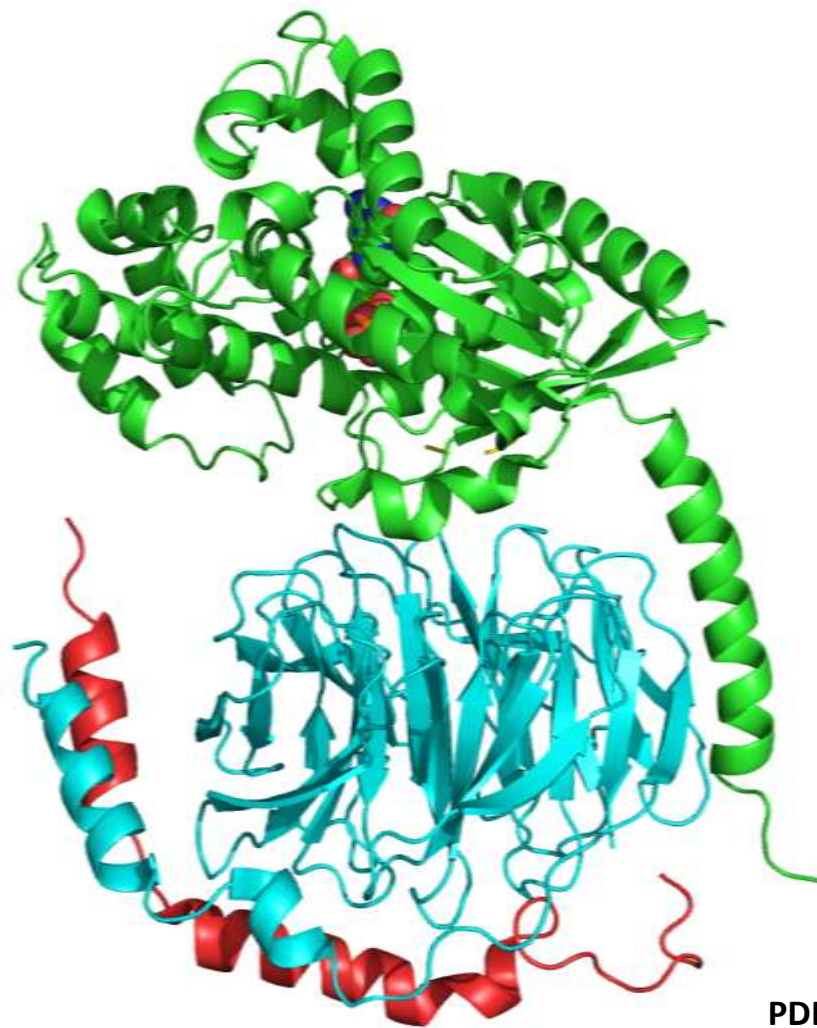
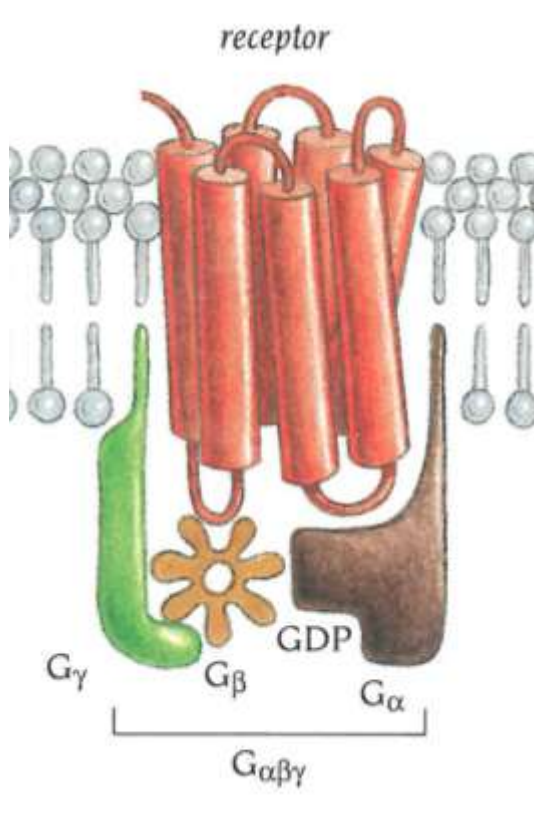
prepeličji lizocim



HyHEL5 Fab

$K_d = 150 \text{ nM}$   
 $\Delta H^0 = -18 \text{ kcal/mol}$

# G proteini



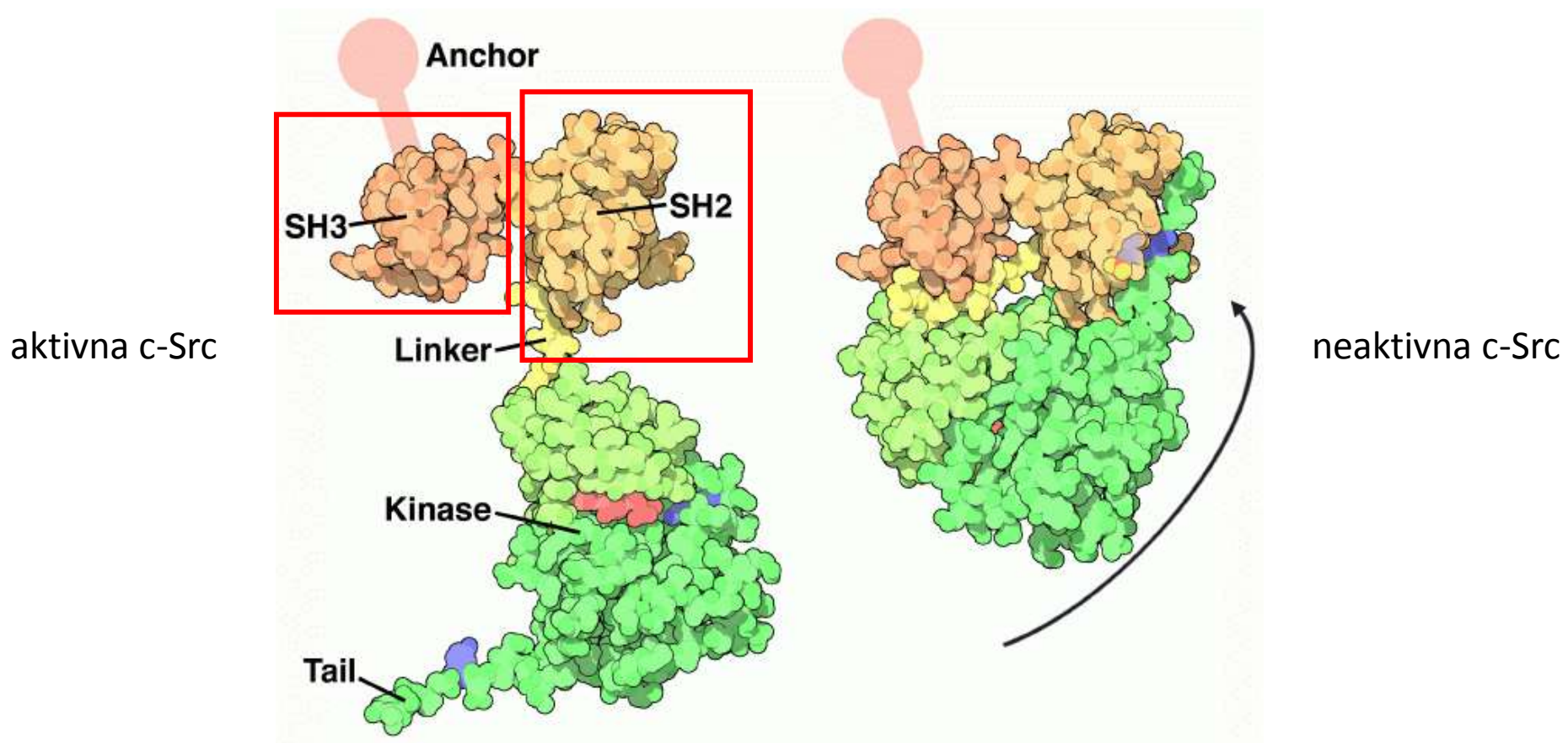
$G_{\beta\gamma}$  dimer je trajen/obligaten.

$G_{\alpha\beta\gamma}$  trimer je prehodni močan kompleks, ki disociira ob ustreznem signalu.

PDB 3AH8

# c-Src kinaza

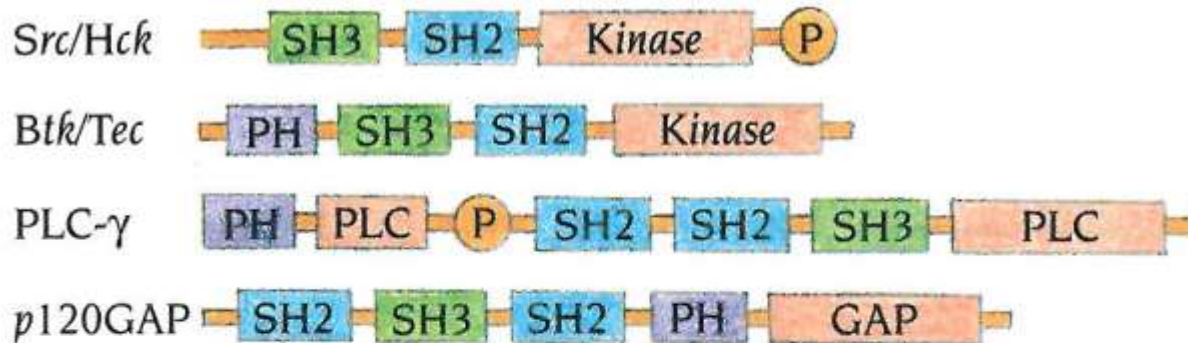
c-Src kinaza je proto-onkogen z aktivnostjo tirozinske kinaze. Verjetno regulira embrionalni razvoj in celično rast. Prehod med aktivno in neaktivno konformacijo je reguliran s fosforilacijo dveh Tyr ostankov.



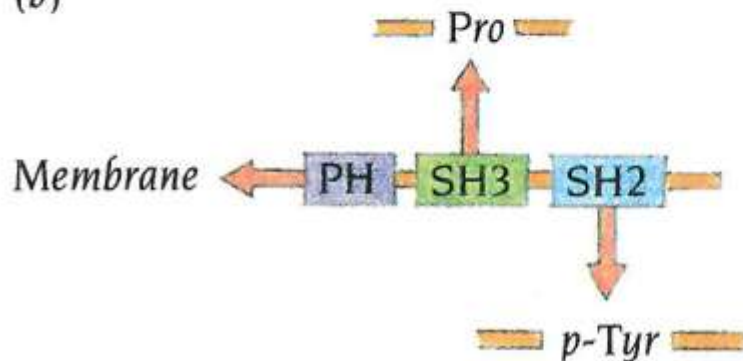
# Src homologne domene

Src homologne domene 2 (SH2) in 3 (SH3) so moduli, ki jih najdemo v številnih proteinih, predvsem v nerekceptorskih tirozinskih kinazah. So strukturno in funkcijsko dobro ohranjene.

(a)



(b)



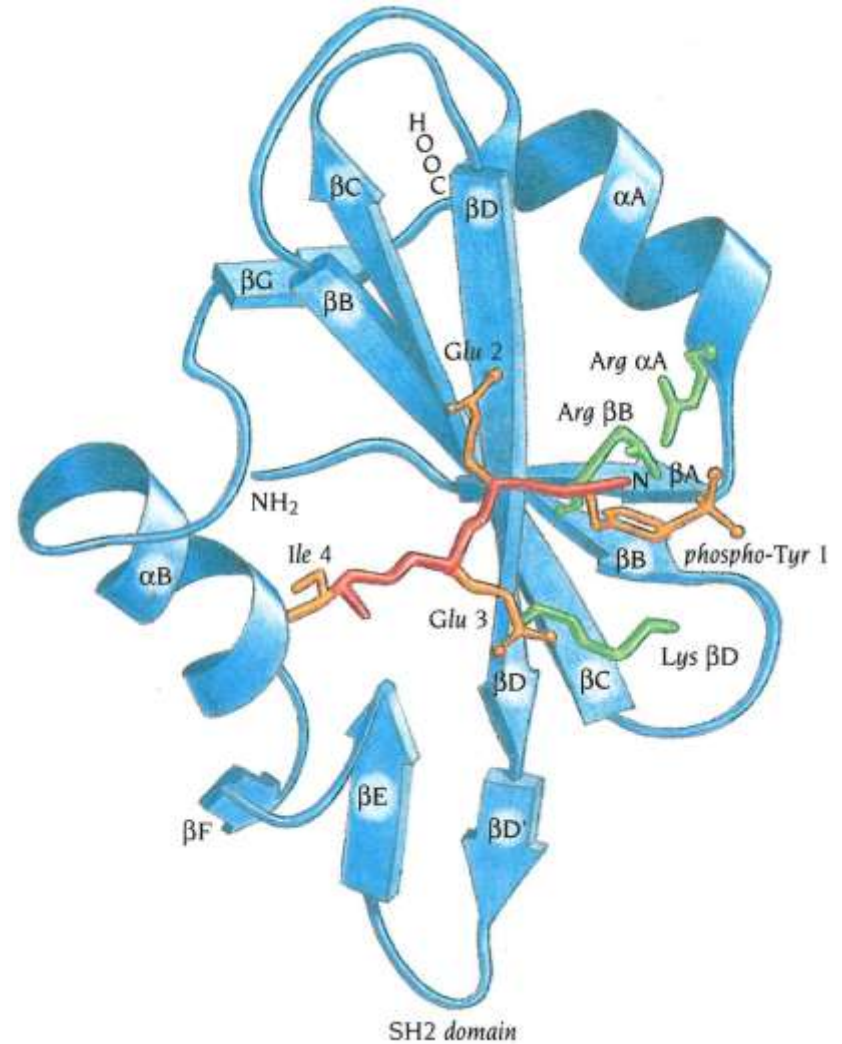
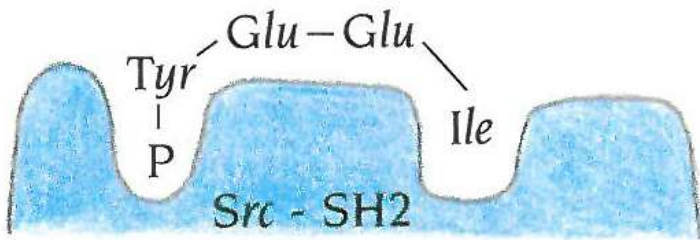
SH3 vežejo s prolino bogate regije v peptidih

SH2 domene vežejo peptide s fosfotirozinskimi ostanki

# SH2 domene

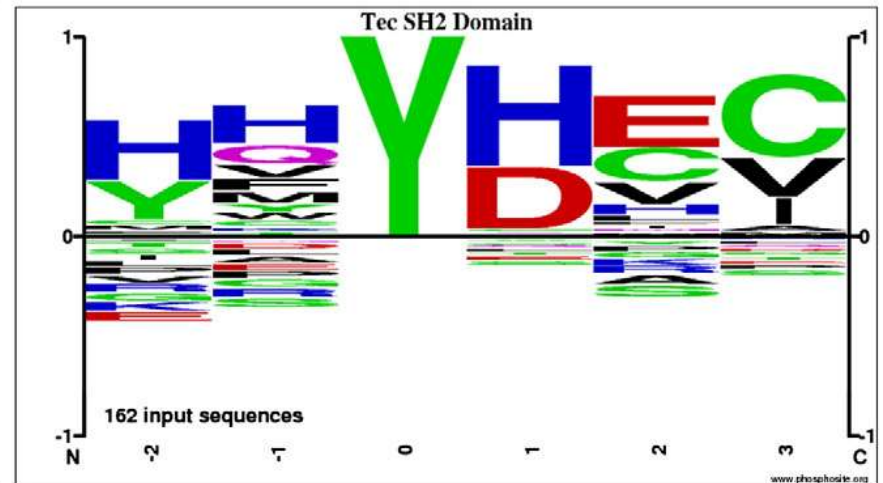
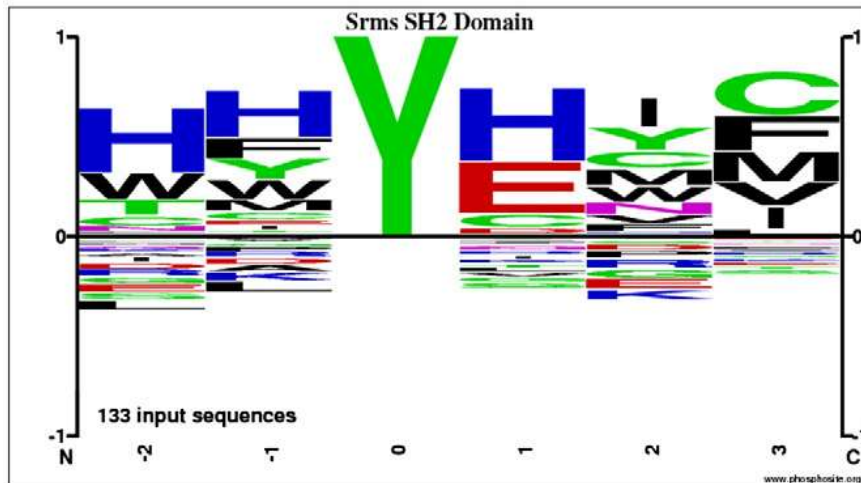
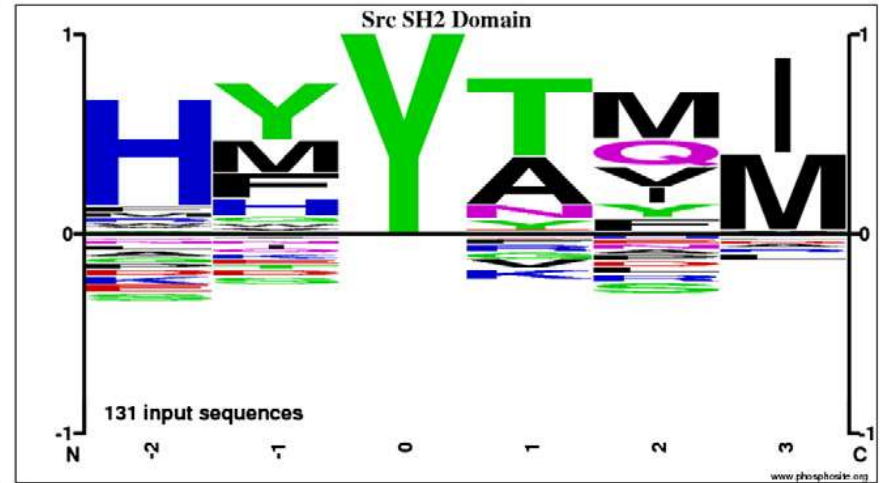
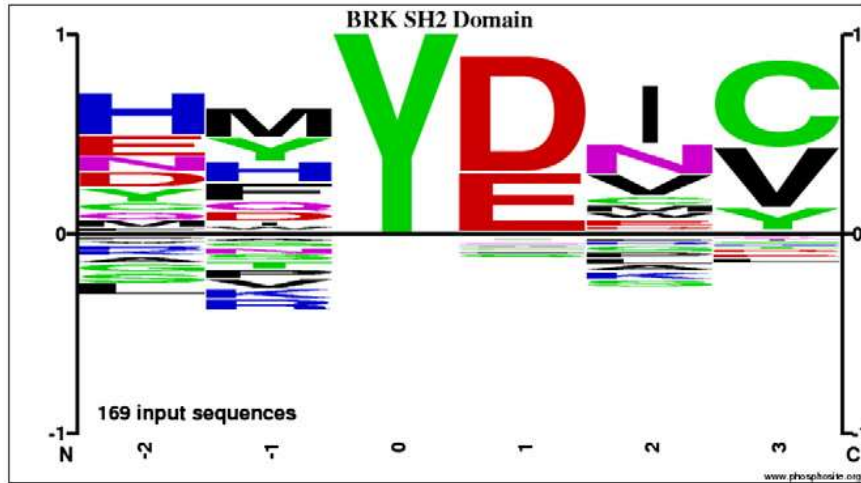
Primer: SH2 domena Src kinaze

Prvotne študije so pokazale da optimalno prepozna peptid z zaporedjem **p-Tyr-Glu-Glu-Ile**



# SH2 domene

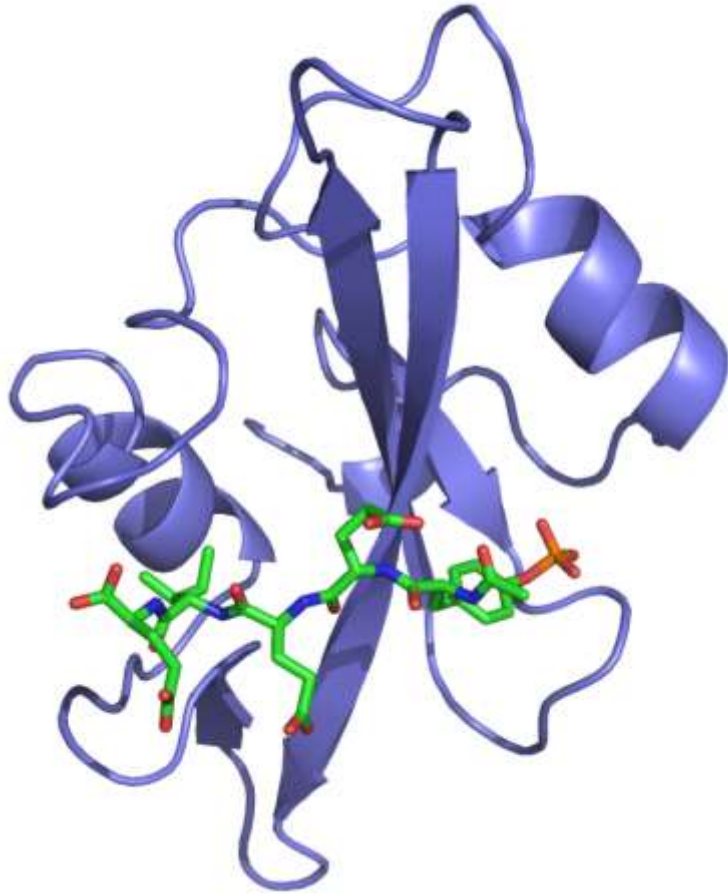
Sistematična karakterizacija vezavnih lastnosti SH2 domen različnih citosolnih kinaz



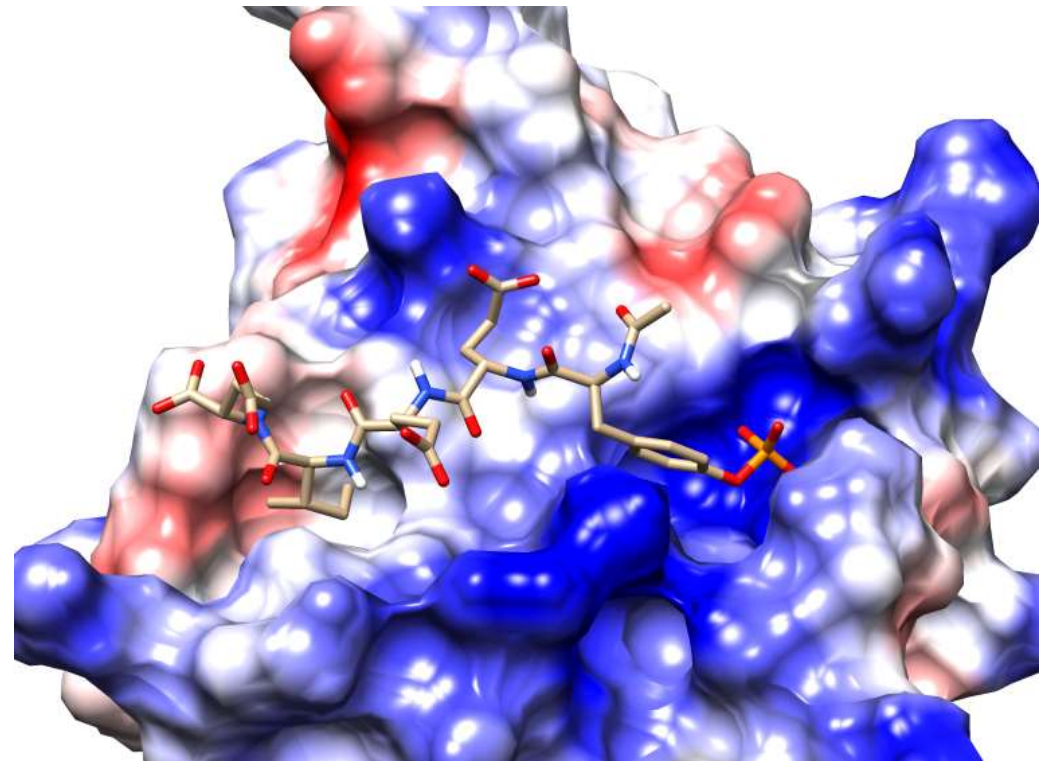


# SH2 domene

SH2 domena v kompleksu s peptidom Ac-pYEEIE



PDB 1HCS

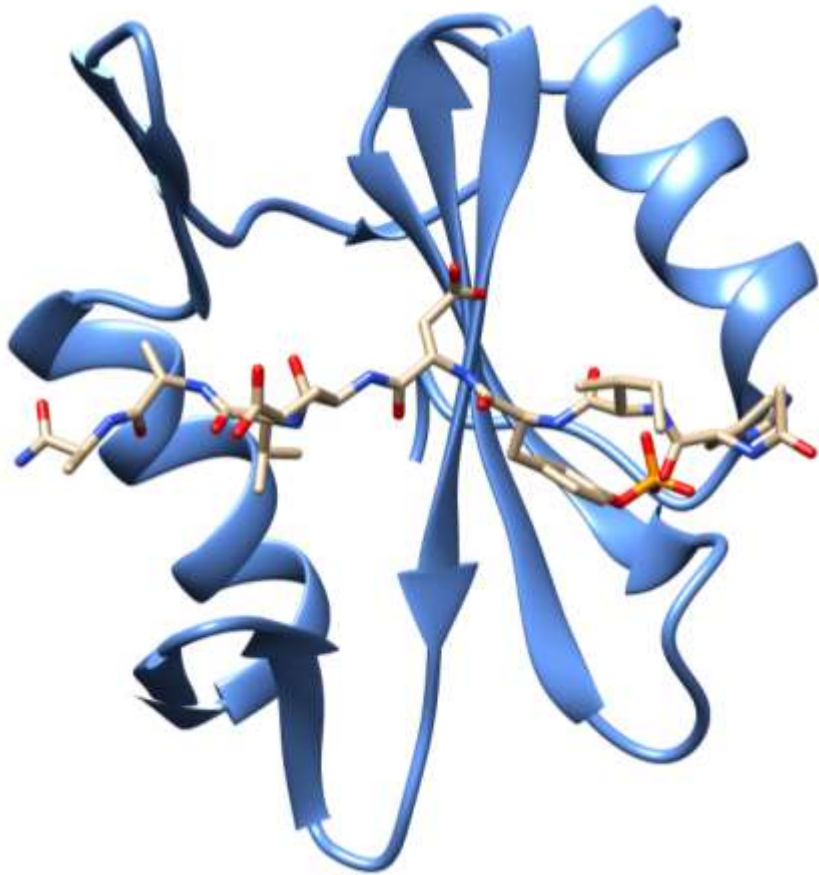


Specifičnost določata pTyr (poz. 1) in ostanek tri mesta dlje v verigi (poz. 4).

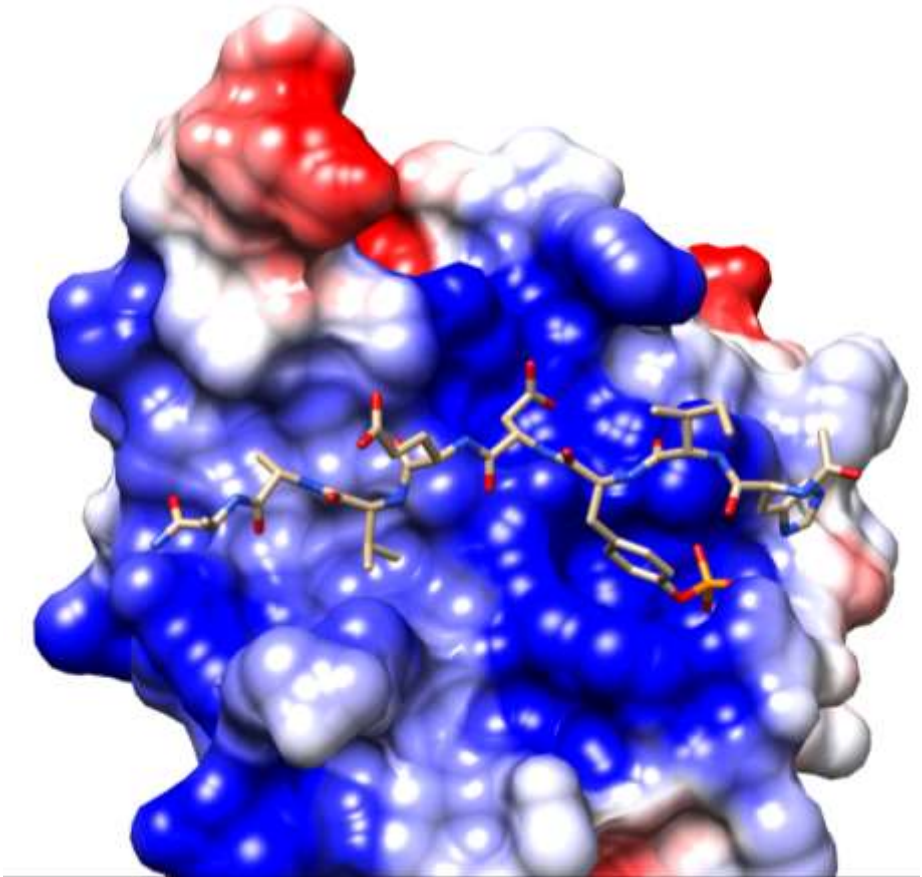
$K_d = 2 \mu\text{M}$

# SH2 domene

SH2 domena proteina Nck2, ki regulira dinamiko aktinskih filamentov.



PDB 2CIA



$K_d = 400 \text{ nM}$

# SH3 domene

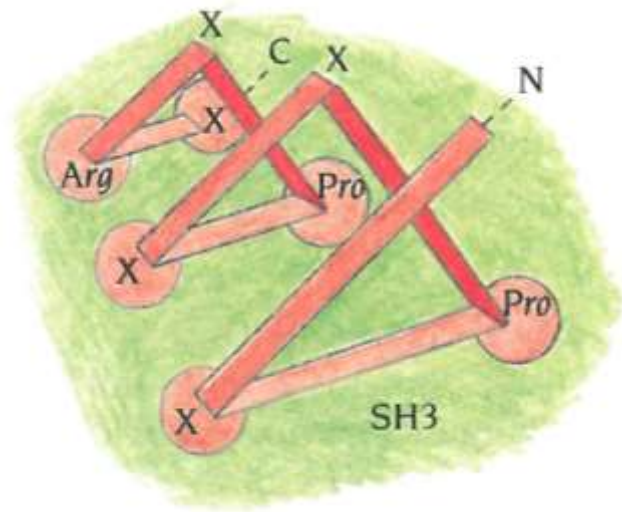
SH3 domene specifično prepoznavajo zaporedja, obogatena s Pro ostanki.

Primer: SH3 domena Src kinaze

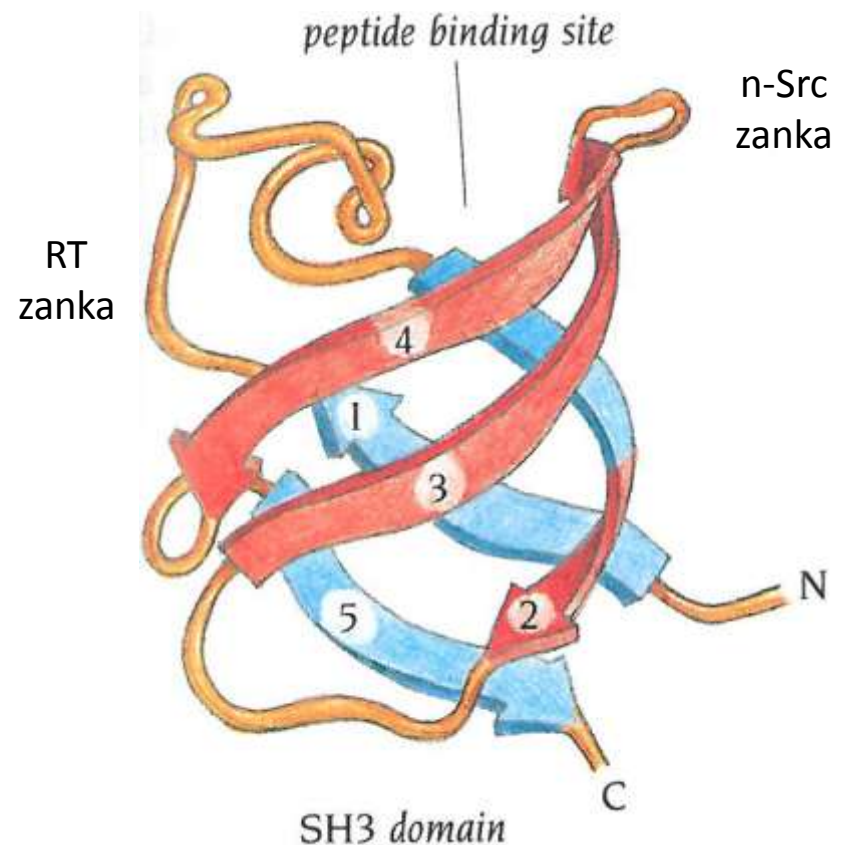
Dva prepoznavna motiva:

R-X-L-P-P-L-P-X-X (motiv razreda I)

X-X-X-P-P-L-P-X-R (motiv razreda II)



poliprolinska-2 vijačnica

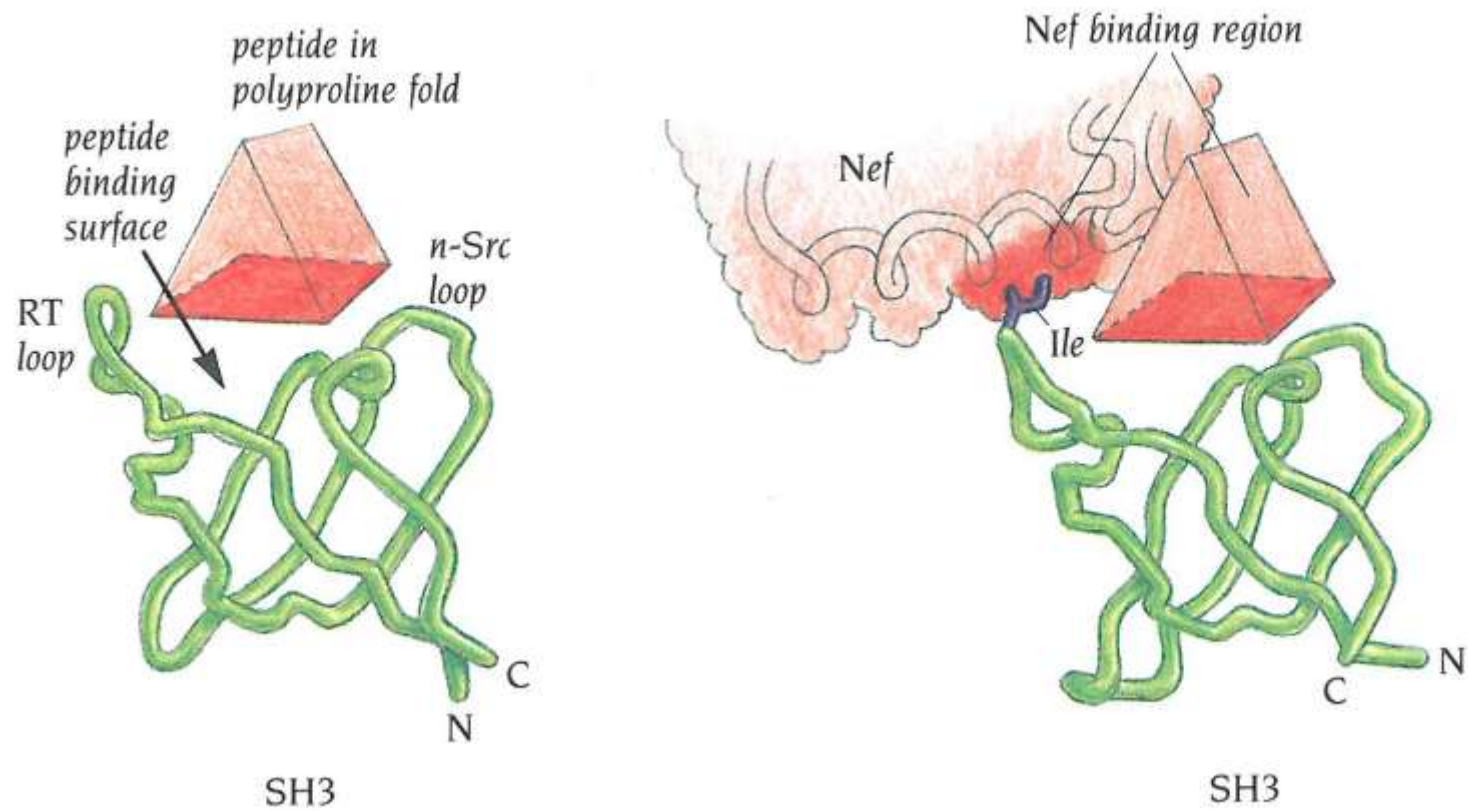


RT zanka

n-Src zanka

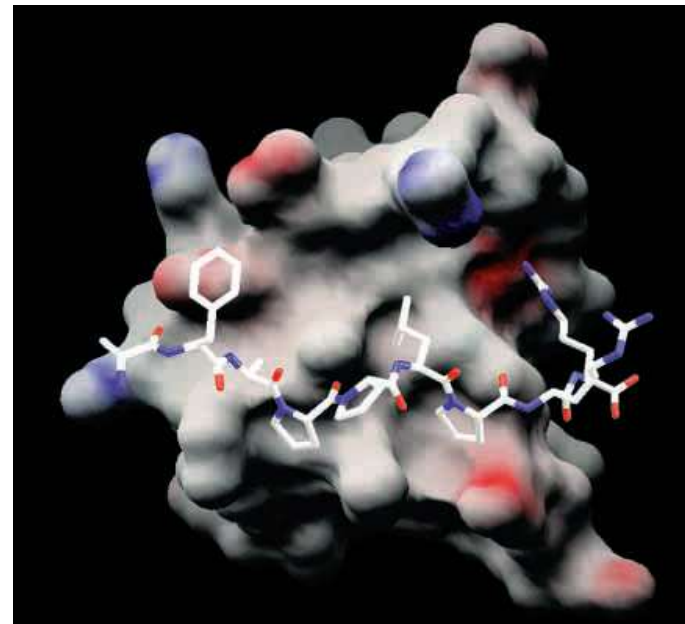
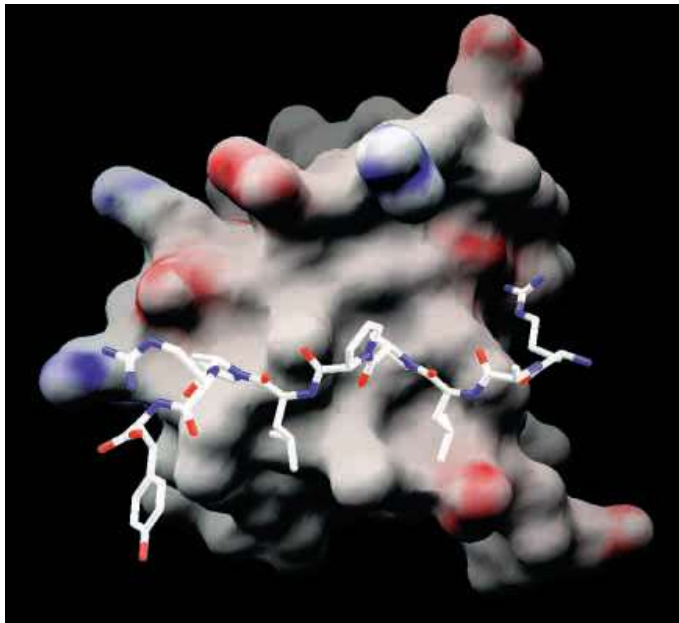
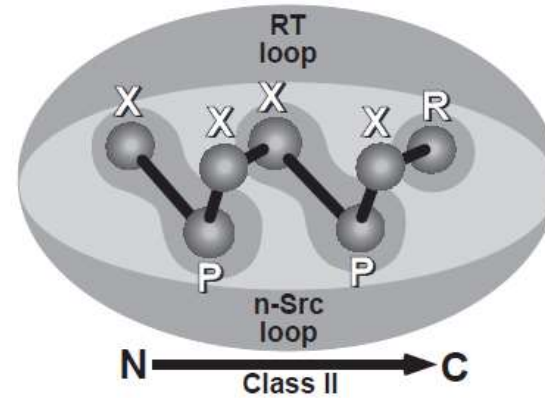
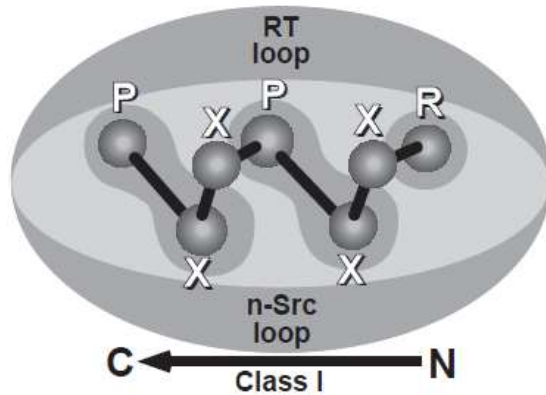
# SH3 domene

SH3 domene specifično prepoznavajo zaporedja, obogatena s Pro ostanki.



# SH3 domene

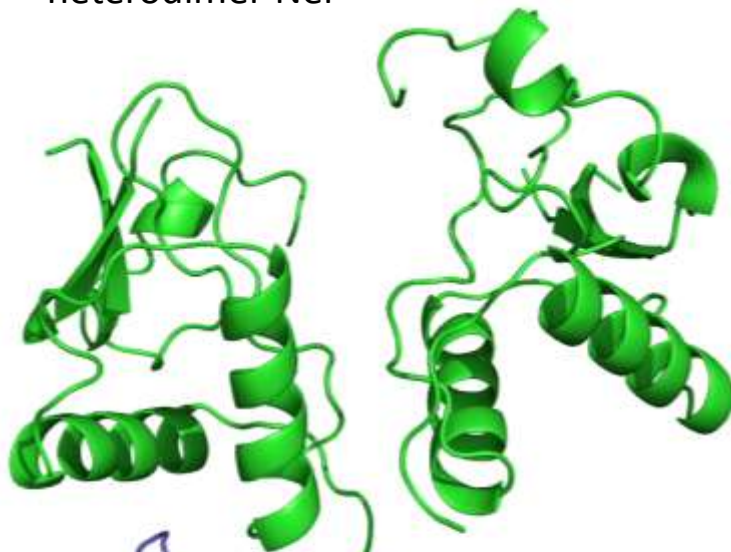
SH3 domene specifično prepoznavajo zaporedja, obogatena s Pro ostanki.



# SH3 domene

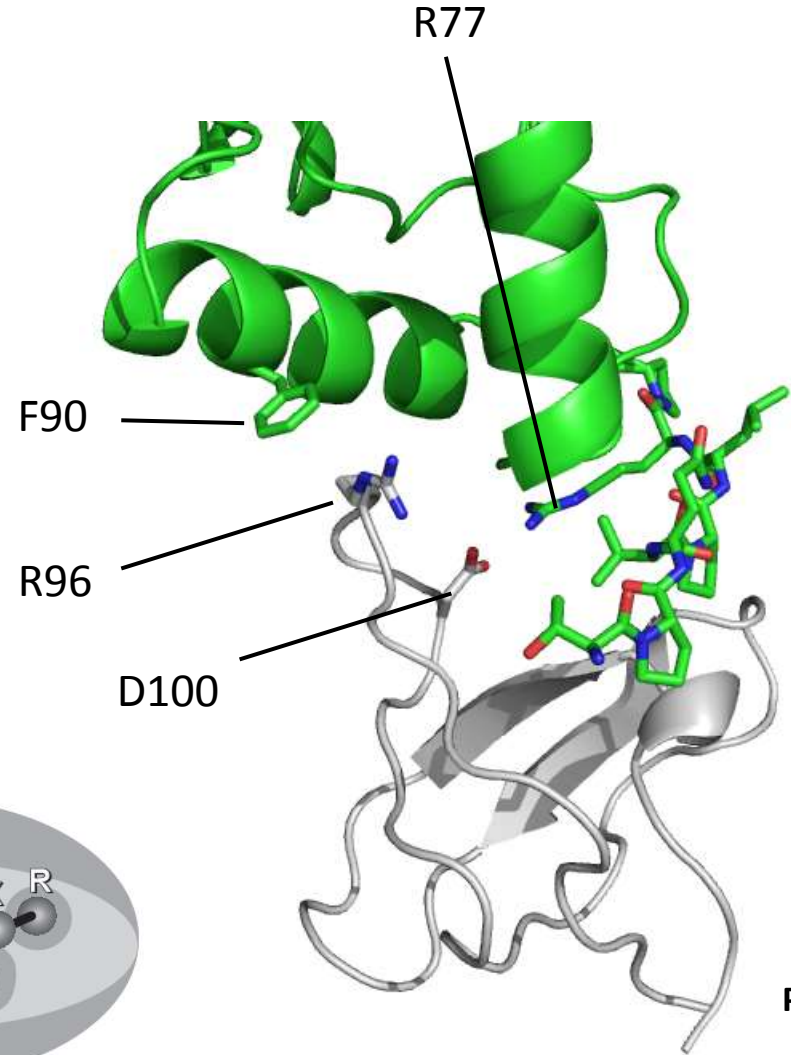
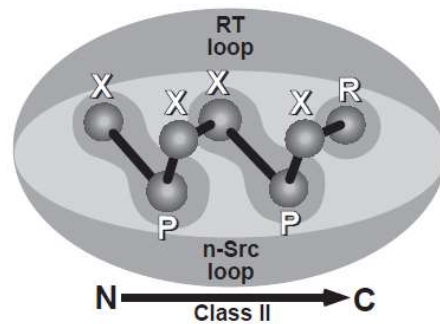
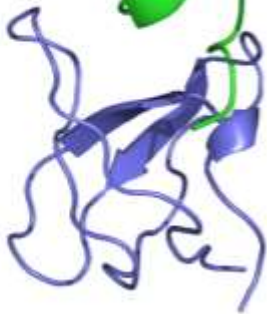
SH3 domena kinaze Fyn interagira z Nef proteinom virusa HIV-1.

heterodimer Nef



PDB 1AVZ

Fyn SH3

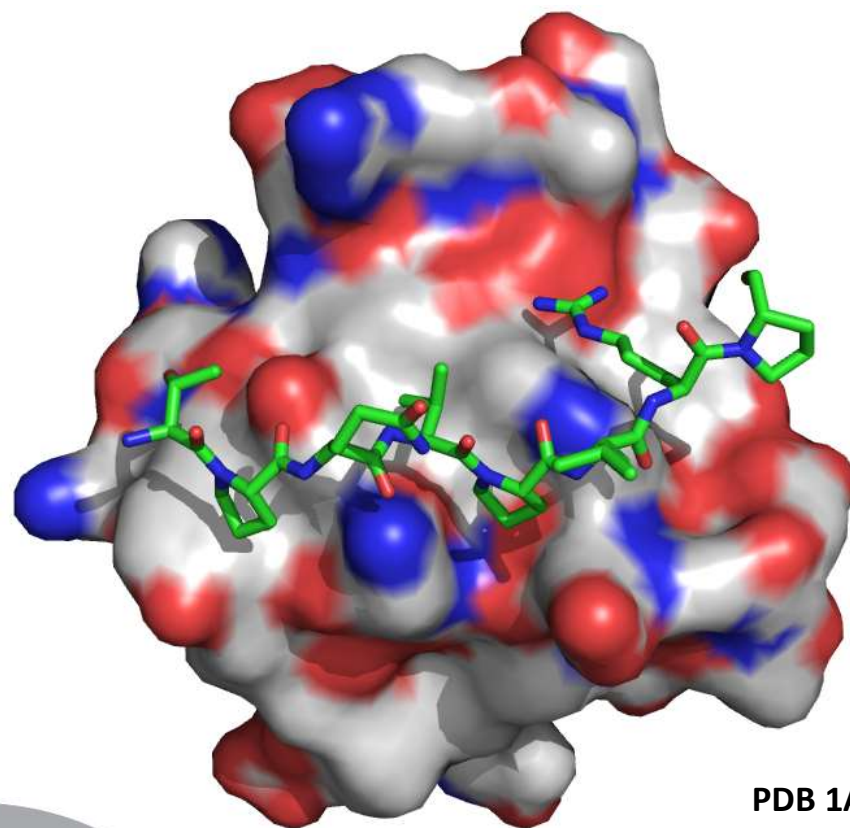
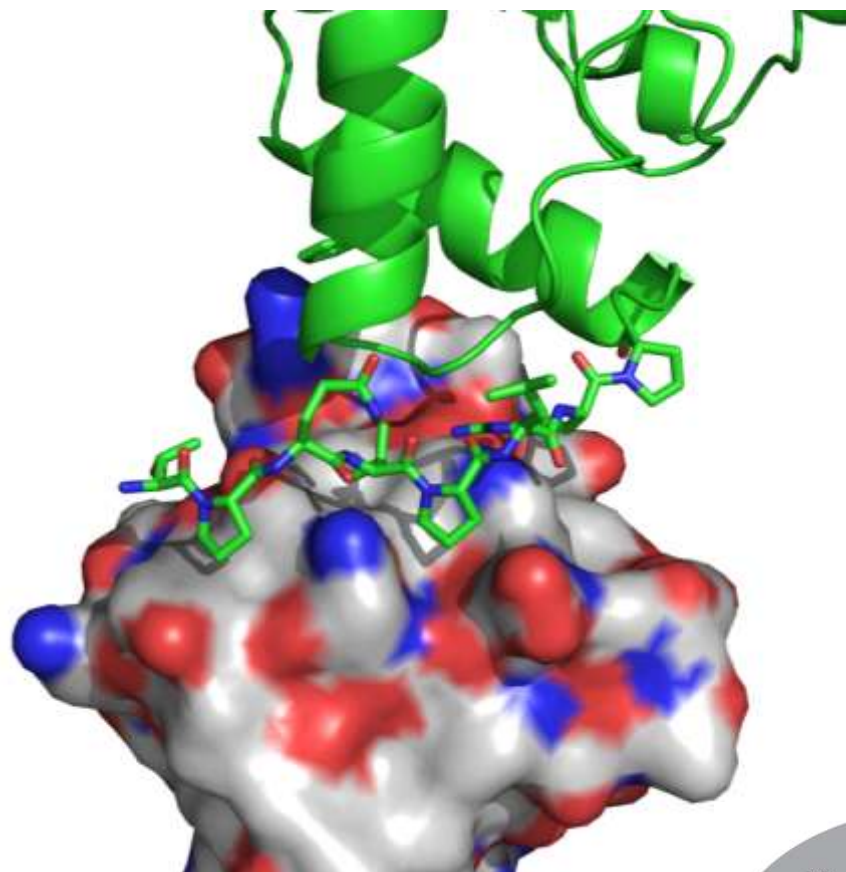


PDB 1AVZ

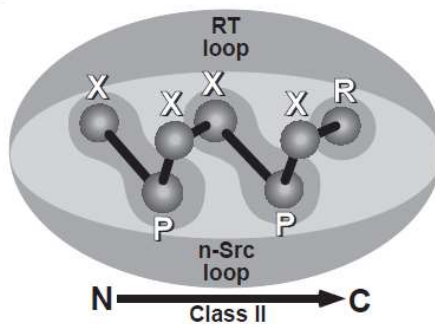
vezavni motiv: TPQVPLR

# SH3 domene

SH3 domena kinaze Fyn interagira z Nef proteinom virusa HIV-1.



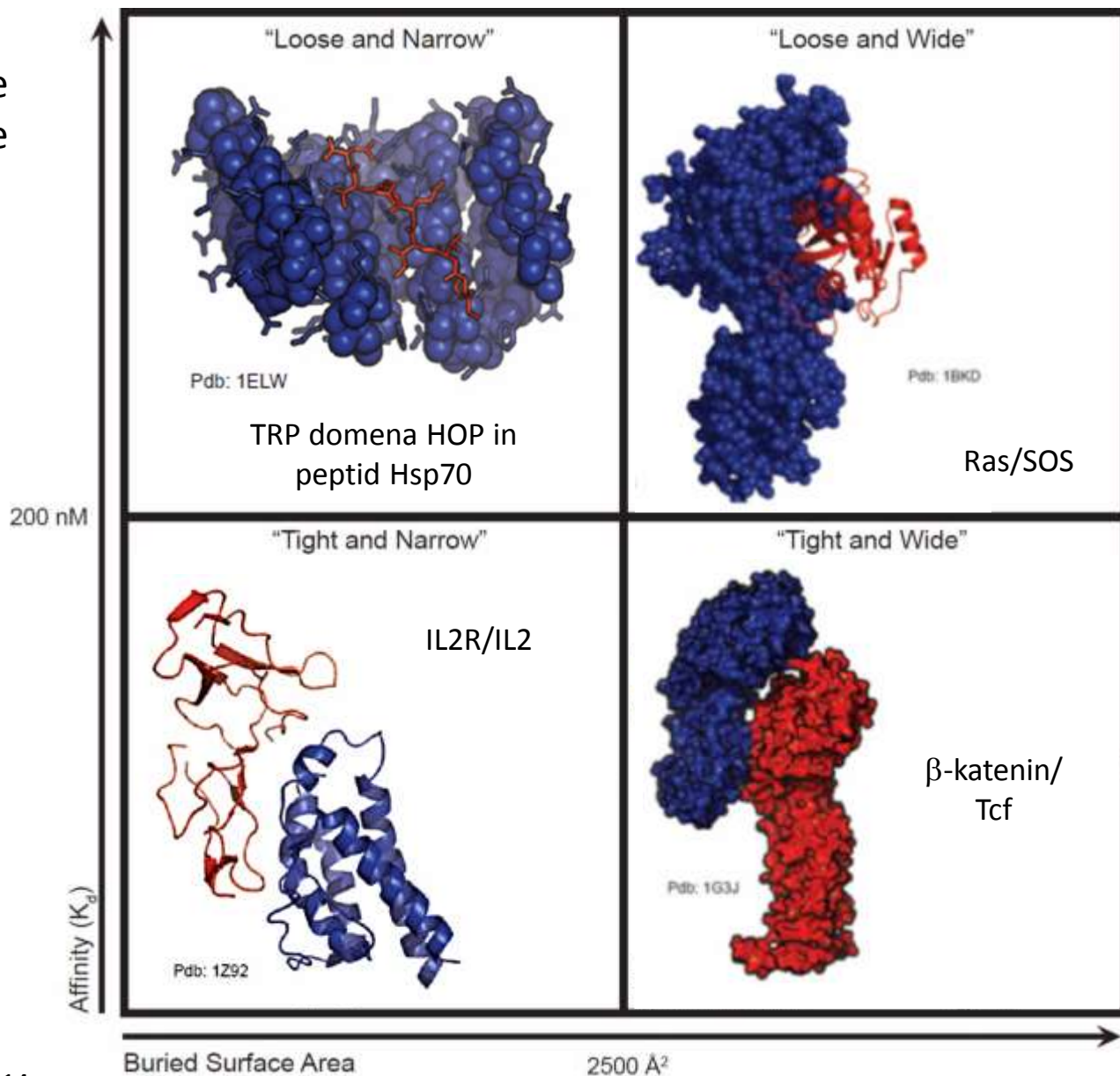
PDB 1AVZ



vezavni motiv: TPQVPLR

# Inhibitorji interakcij med proteini

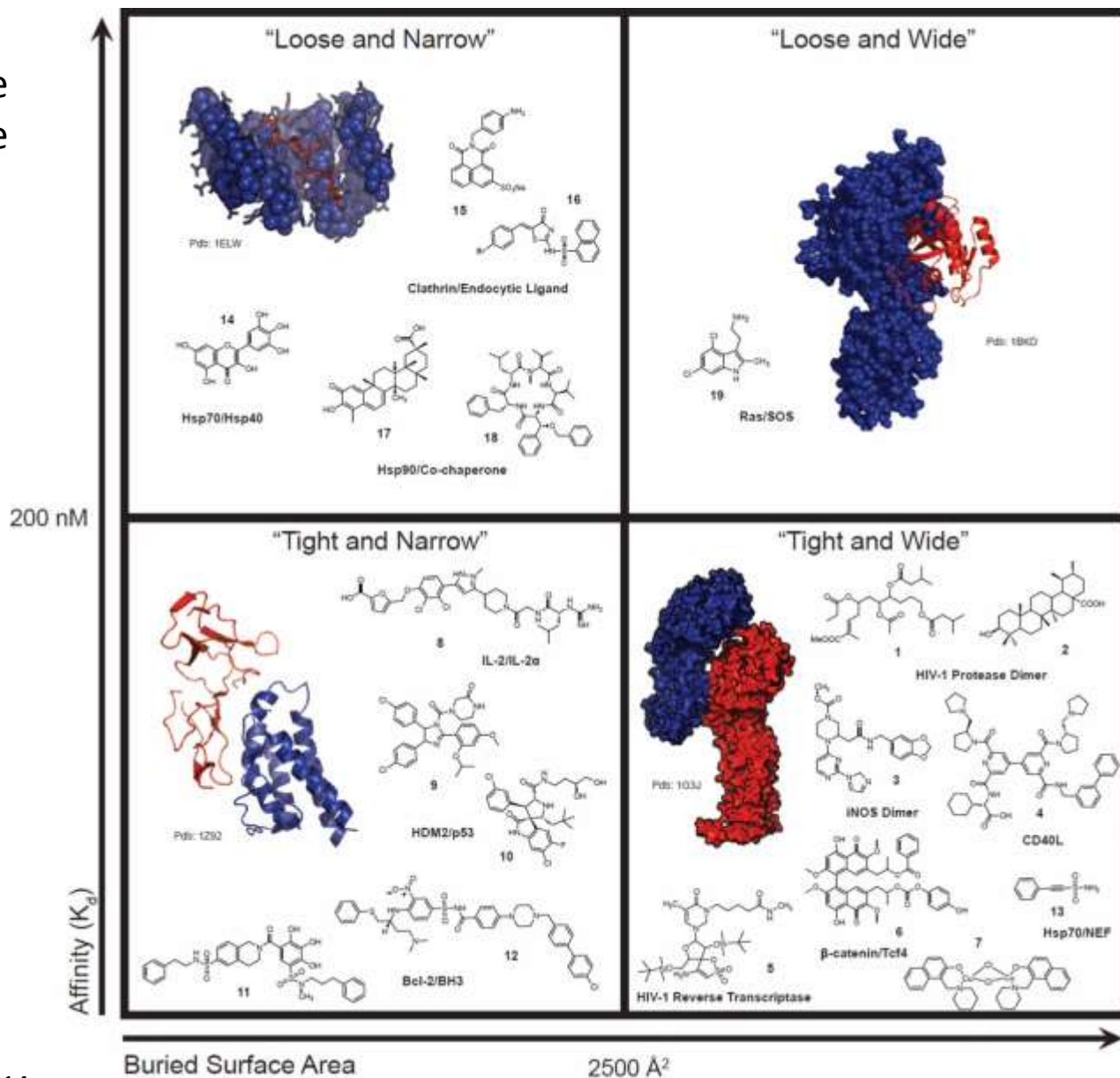
Kategorizacija v štiri skupine glede na velikost stične površine in moč interakcije





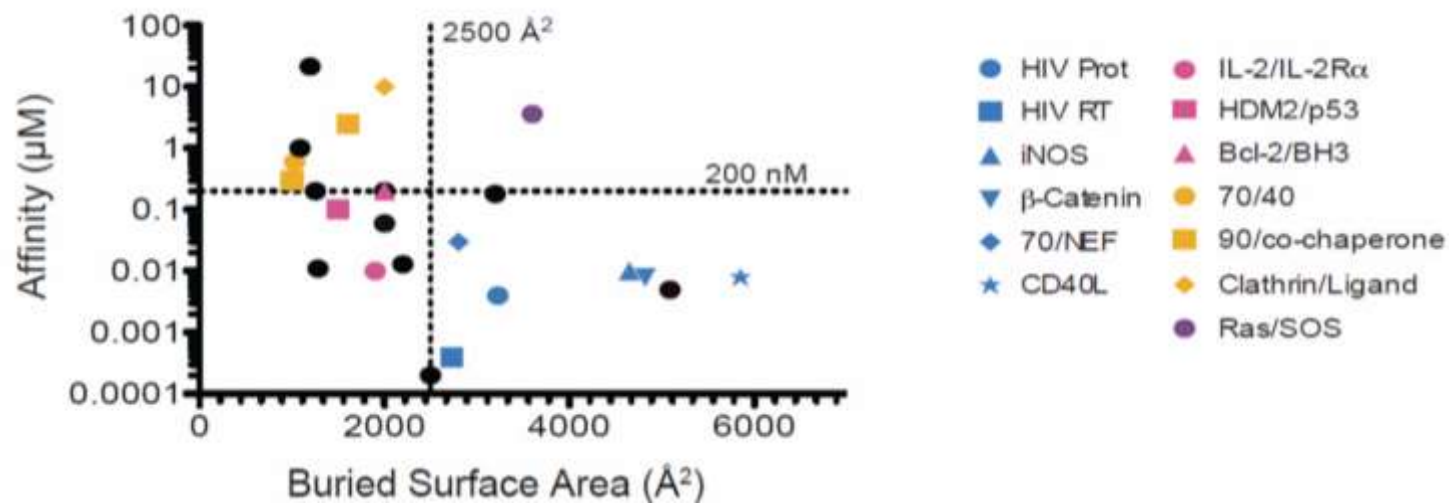
# Inhibitorji interakcij med proteini

Kategorizacija v štiri skupine glede na velikost stične površine in moč interakcije

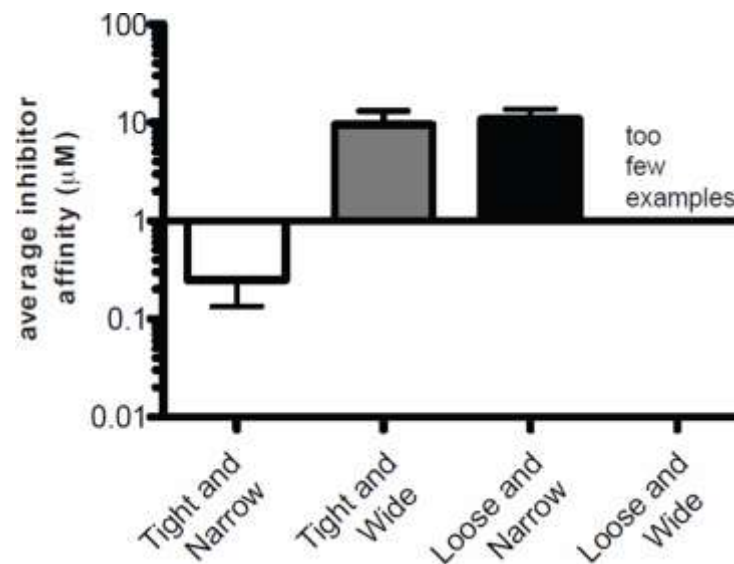


# Inhibitorji interakcij med proteini

afiniteta proteinov  
v kompleksu

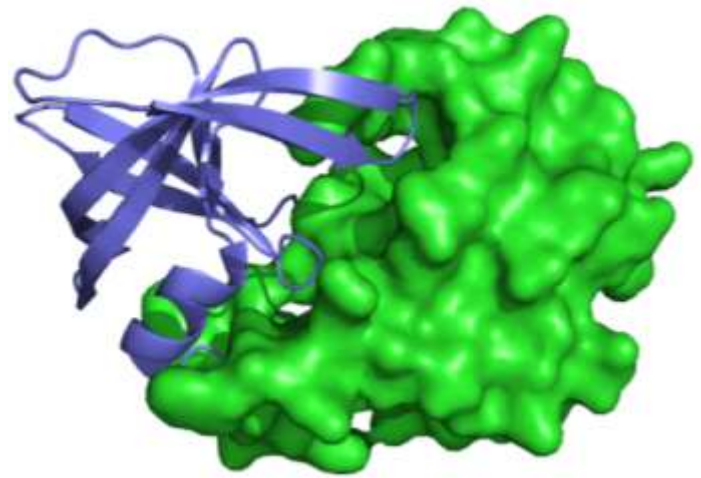
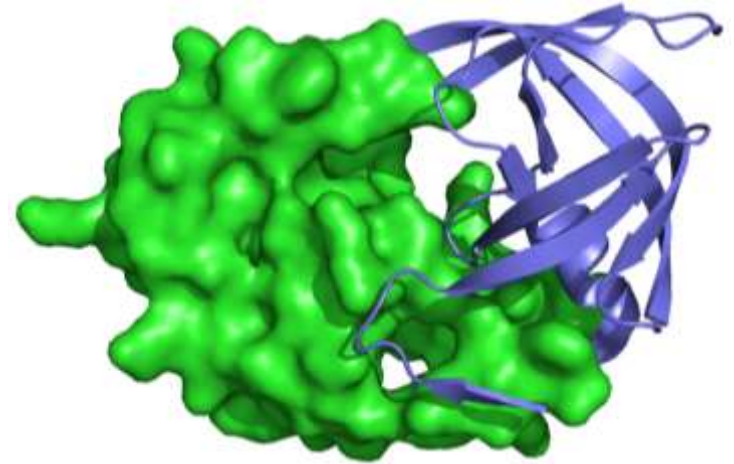
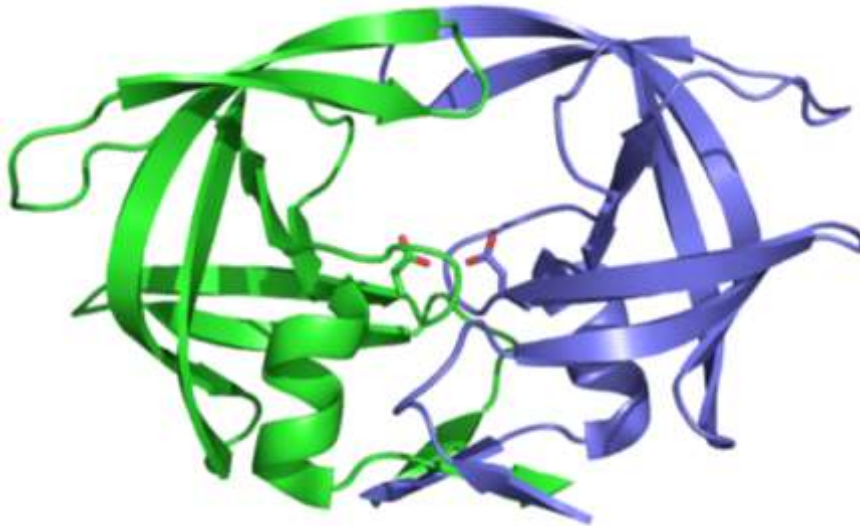


afiniteta inhibitorjev  
do tarč



# HIV proteaza

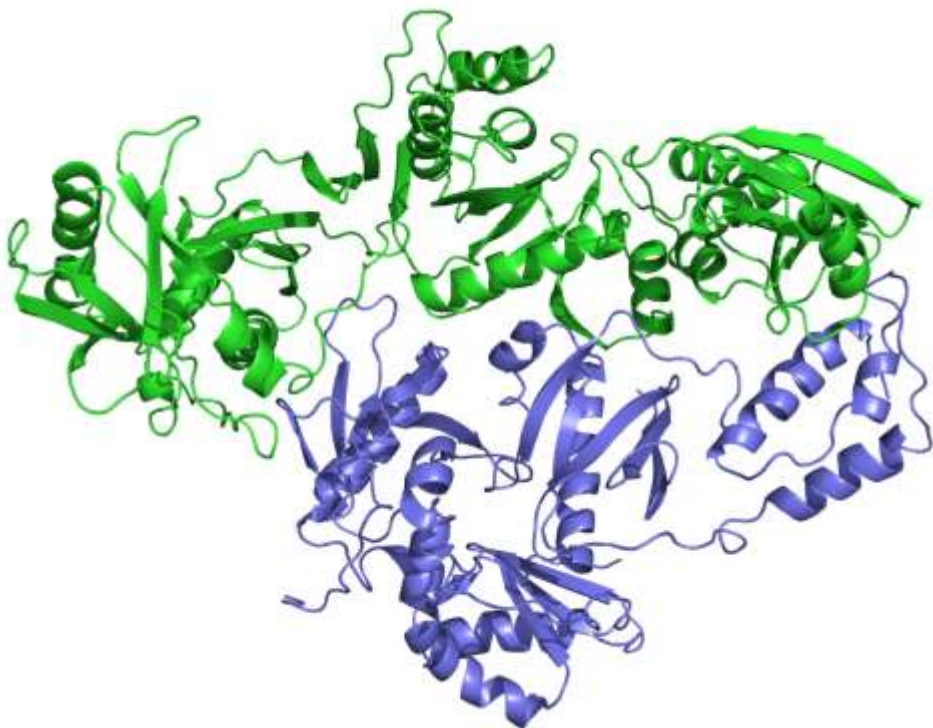
HIV proteaza je ena izmed tarč terapije pri okužbi z virusom HIV.



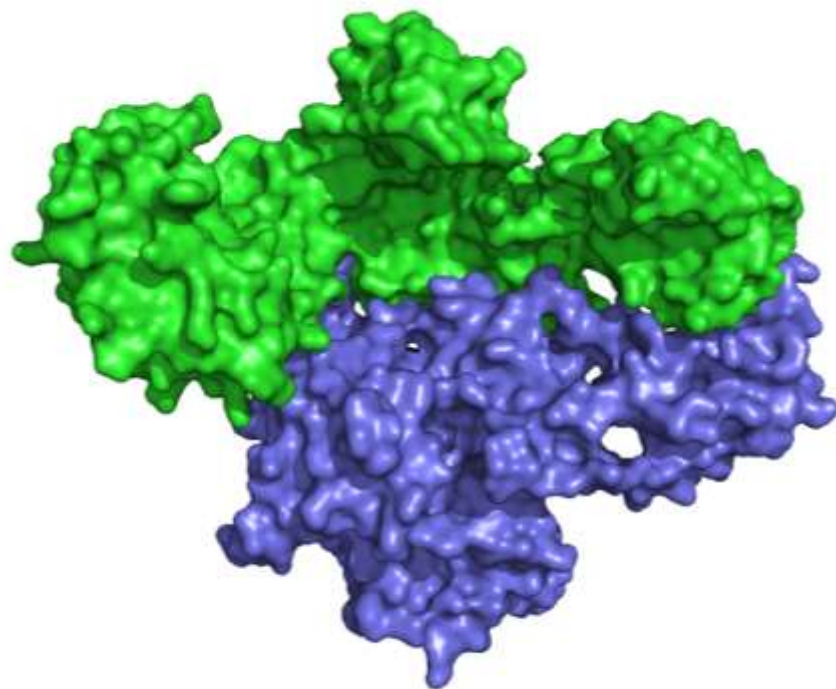
$K_d = 4 \text{ nM}$   
BSA  $1800 \text{ \AA}^2$

# HIV reverzna transkriptaza

p66 podenota



p51 podenota

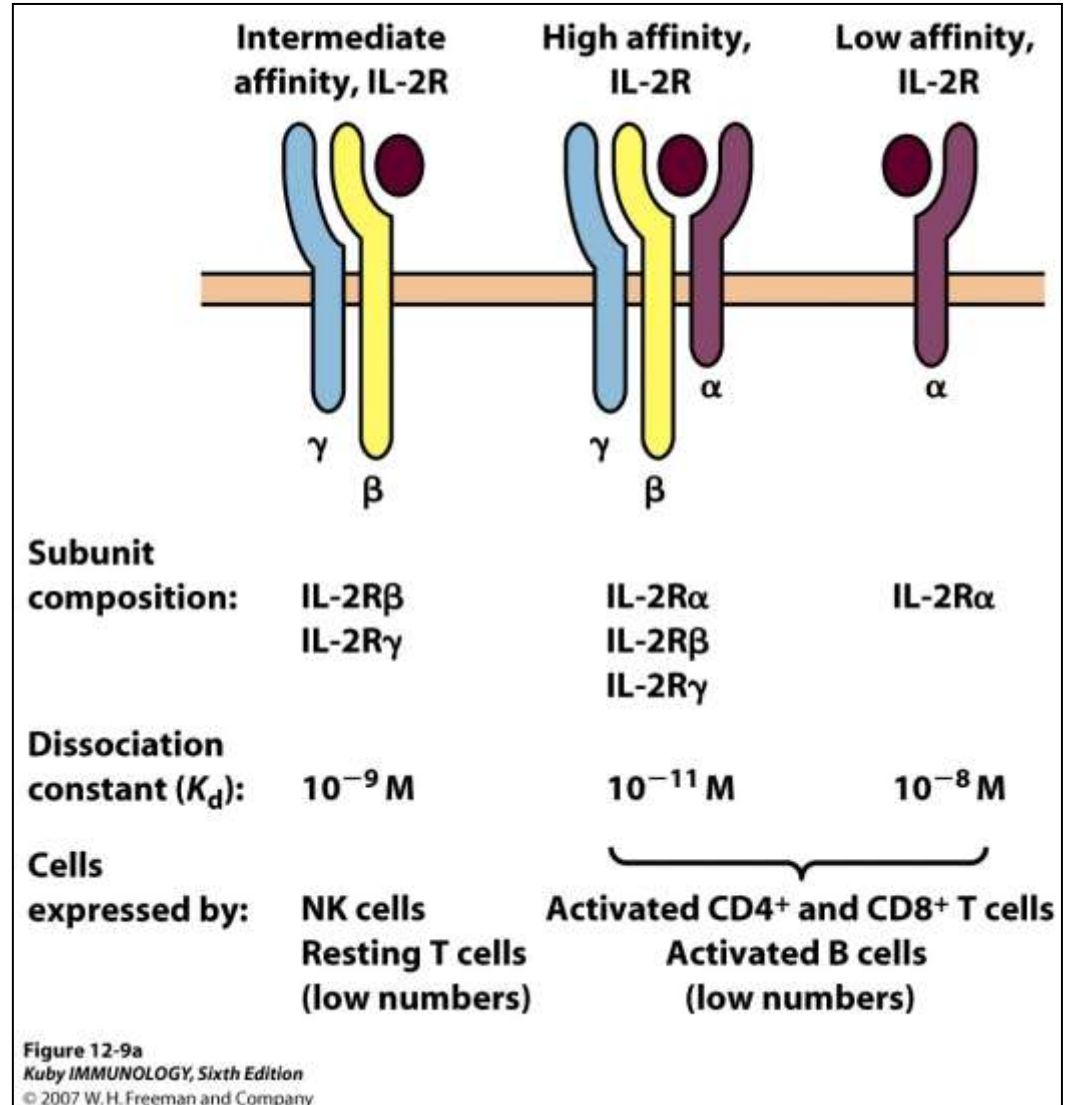
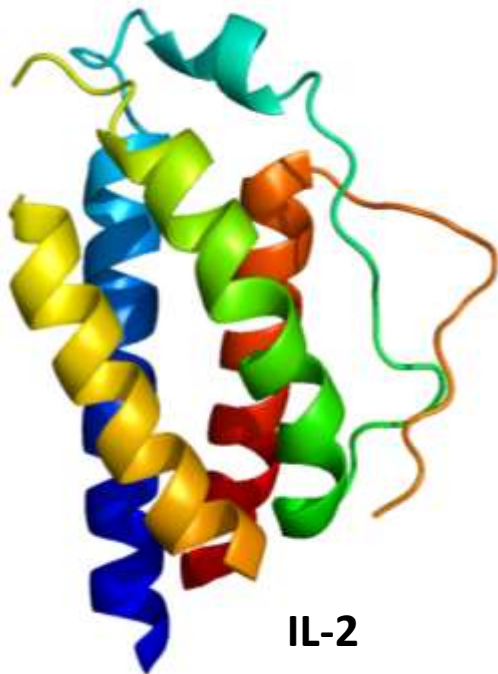


$K_d = 0.4 \text{ nM}$   
stična površina cca.  $5000 \text{ \AA}^2$

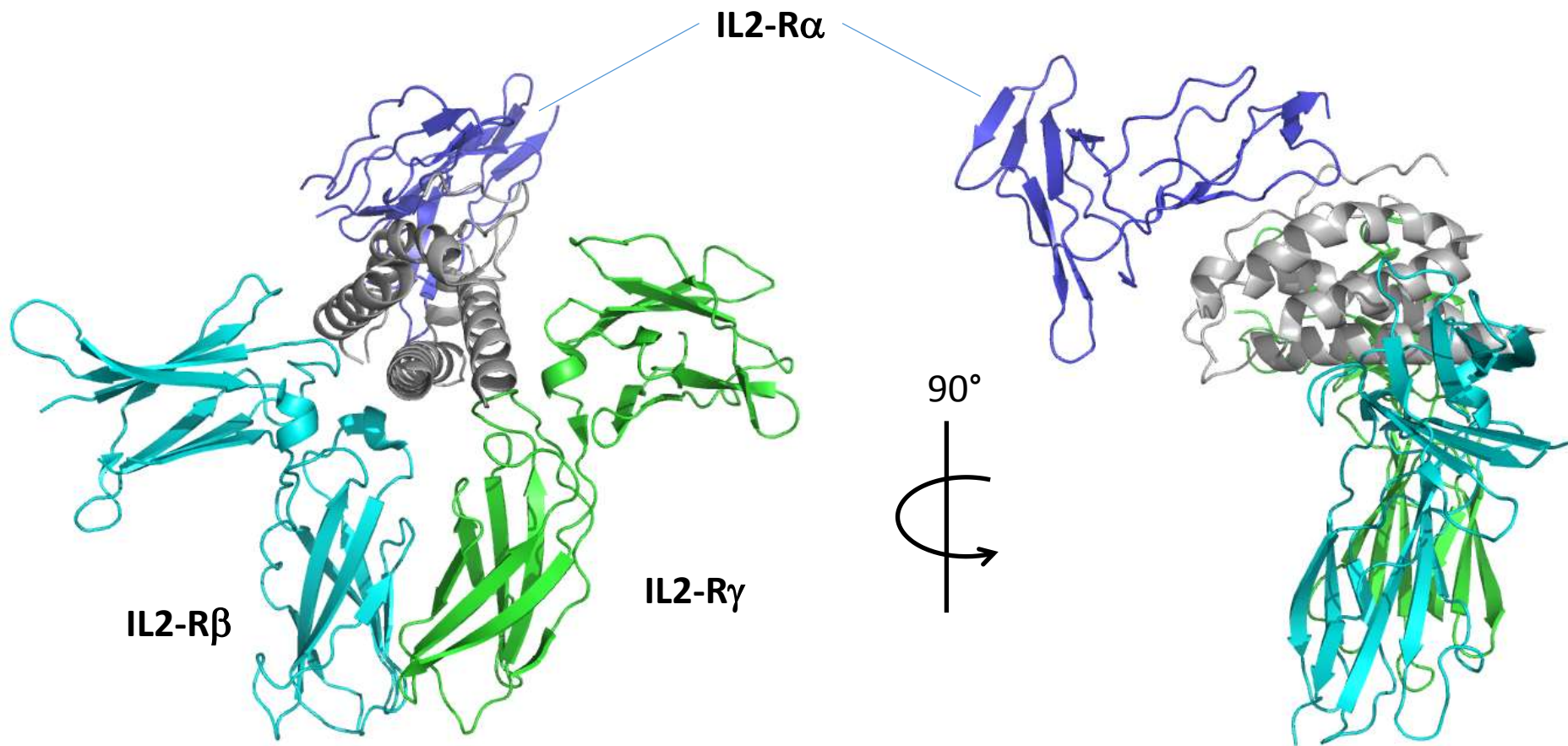
Glavna tarča terapije pri okužbi z virusom HIV-1: dva tipa inhibitorjev – analogi nukleozidov in alosterični inhibitorji.

# IL-2 receptor

IL-2 receptor obstaja v več oblikah.



# IL-2 receptor



**Subunit  
composition:**

IL-2R $\beta$   
IL-2R $\gamma$

IL-2R $\alpha$   
IL-2R $\beta$   
IL-2R $\gamma$

IL-2R $\alpha$

**Dissociation  
constant ( $K_d$ ):**

$10^{-9}$  M

$10^{-11}$  M

$10^{-8}$  M

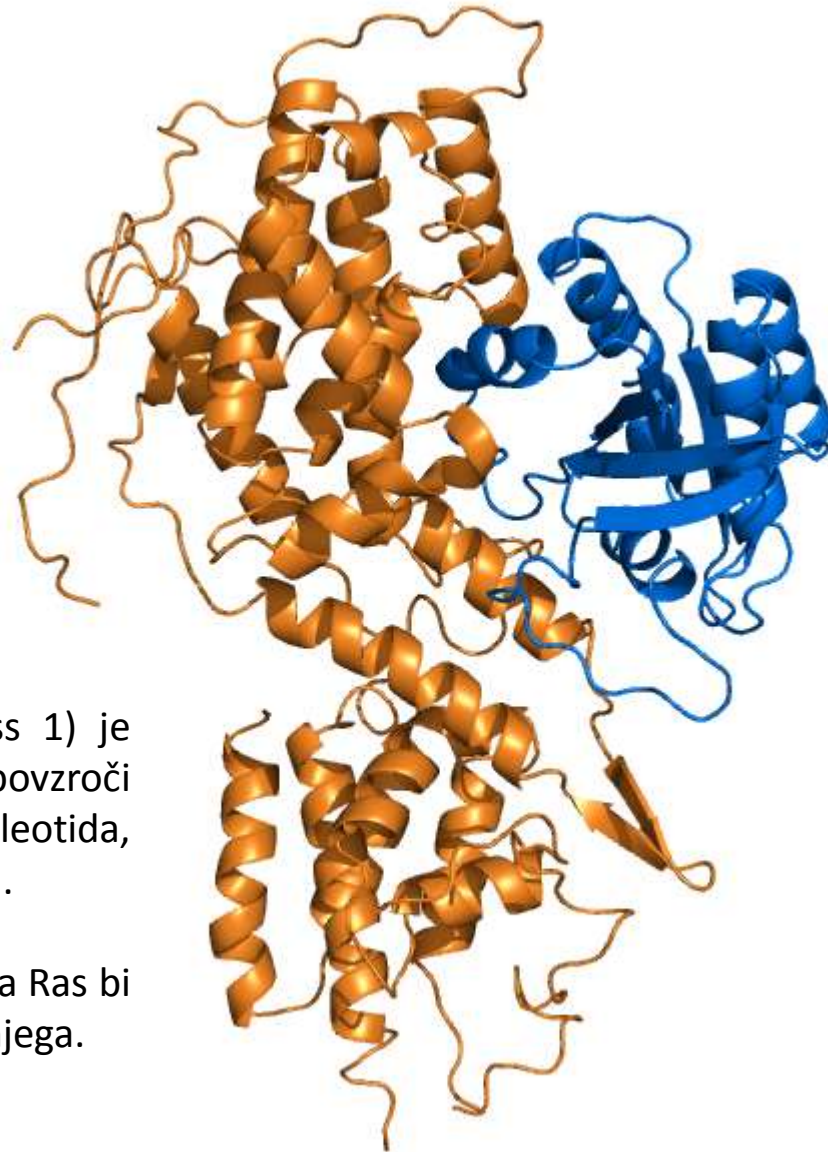
PDB 2B5I

BSA 1180 Å<sup>2</sup>

BSA 2020 Å<sup>2</sup>

BSA 840 Å<sup>2</sup>

# Kompleks Ras/SOS



H-Ras je GTPaza (G protein), ki sodeluje v signalnih poteh rastnih faktorjev, zlasti v MAPK signalni poti.

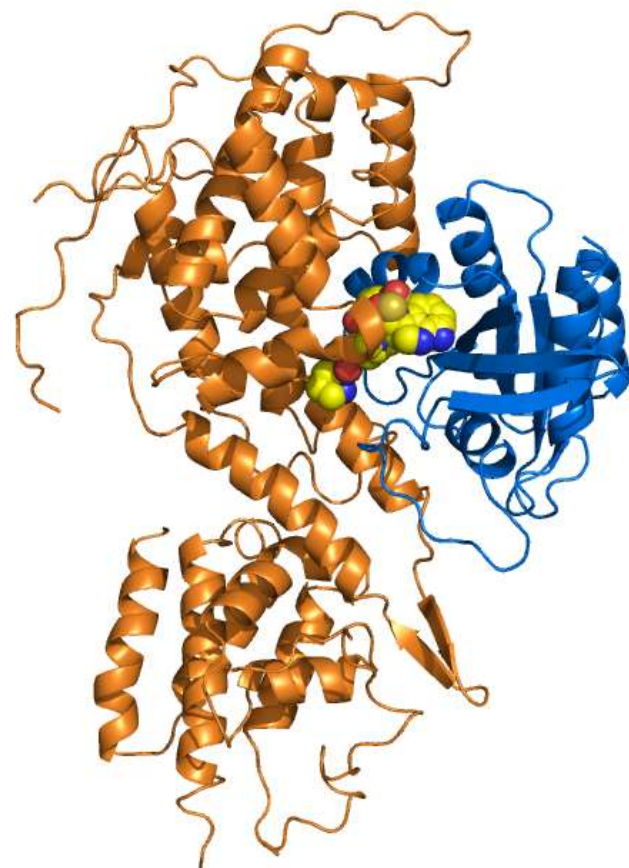
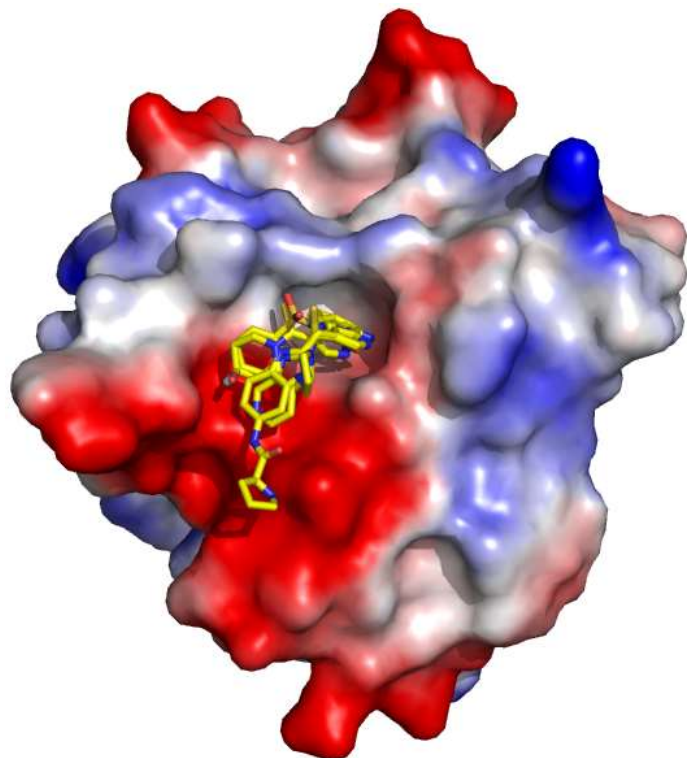
Je znan proto-onkogen.

SOS-1 (Son of Sevenless 1) je regulatoren protein, ki povzroči sprostitvev vezanega nukleotida, zlasti GDP, z Ras proteina.

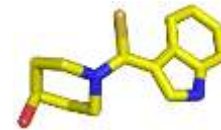
Z inhibicijo vezave SOS na Ras bi zmanjšali aktivnost slednjega.

# Kompleks Ras/SOS

Serijsko inhibitorjev, ki inhibirajo vezavo SOS na Ras.



$K_d = 340 \mu\text{M}$



$K_d = 1-2 \text{ mM}$