

# Strukturni in funkcijski vidiki bioloških interakcij

---

## Urnik

**30 ur predavanj + 15 ur seminarjev**

predavanja in seminarji: petek od 12.00 do 15.00

10 predavanj

5 seminarjev

30 ur vaj (6 x 5 ur)

## **Obveznosti**

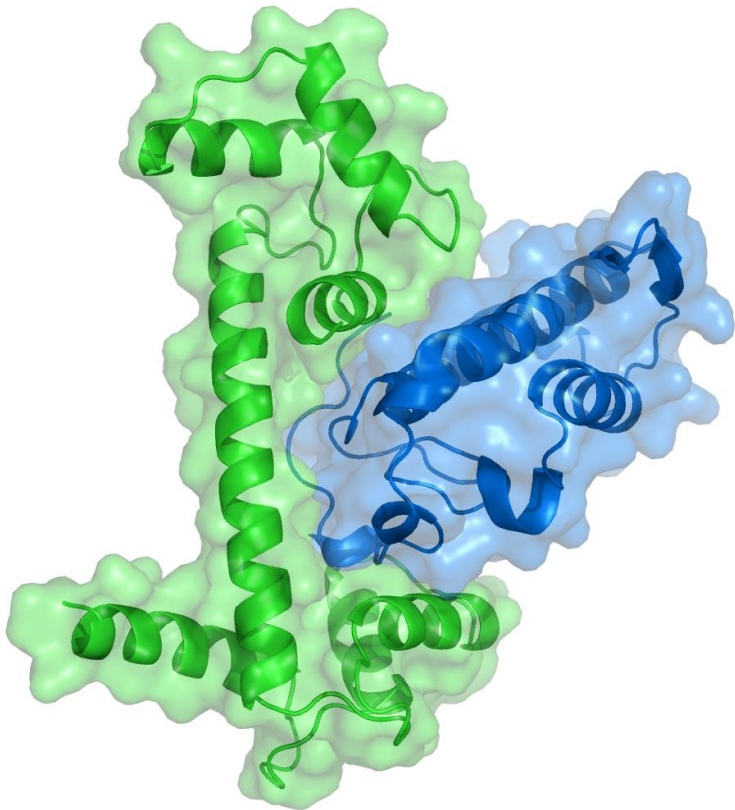
pisni izpit – 60 % končne ocene

seminarska naloga (pisni izdelek + predstavitev) – 20 % končne ocene

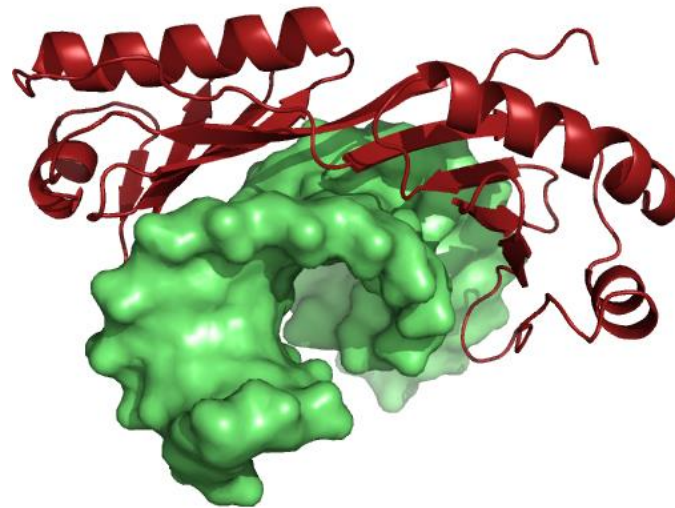
kolokvij iz vaj – 20 % končne ocene

# Interakcije med molekulami v bioloških sistemih

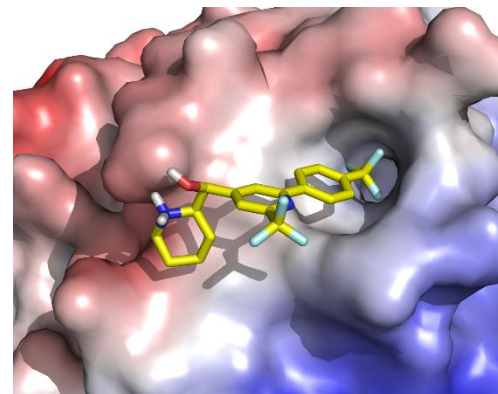
**Proteinske interakcije** so širok pojem interakcij, ki jih proteini tvorijo z drugimi proteini, nukleinskimi kislinami in ostalimi ligandi. Študij interakcij proteinov omogoča razumevanje celičnih procesov, ki jih te interakcije posredujejo in načrtovanje novih učinkovin v medicinske namene, ki delujejo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



protein-protein



protein-DNA

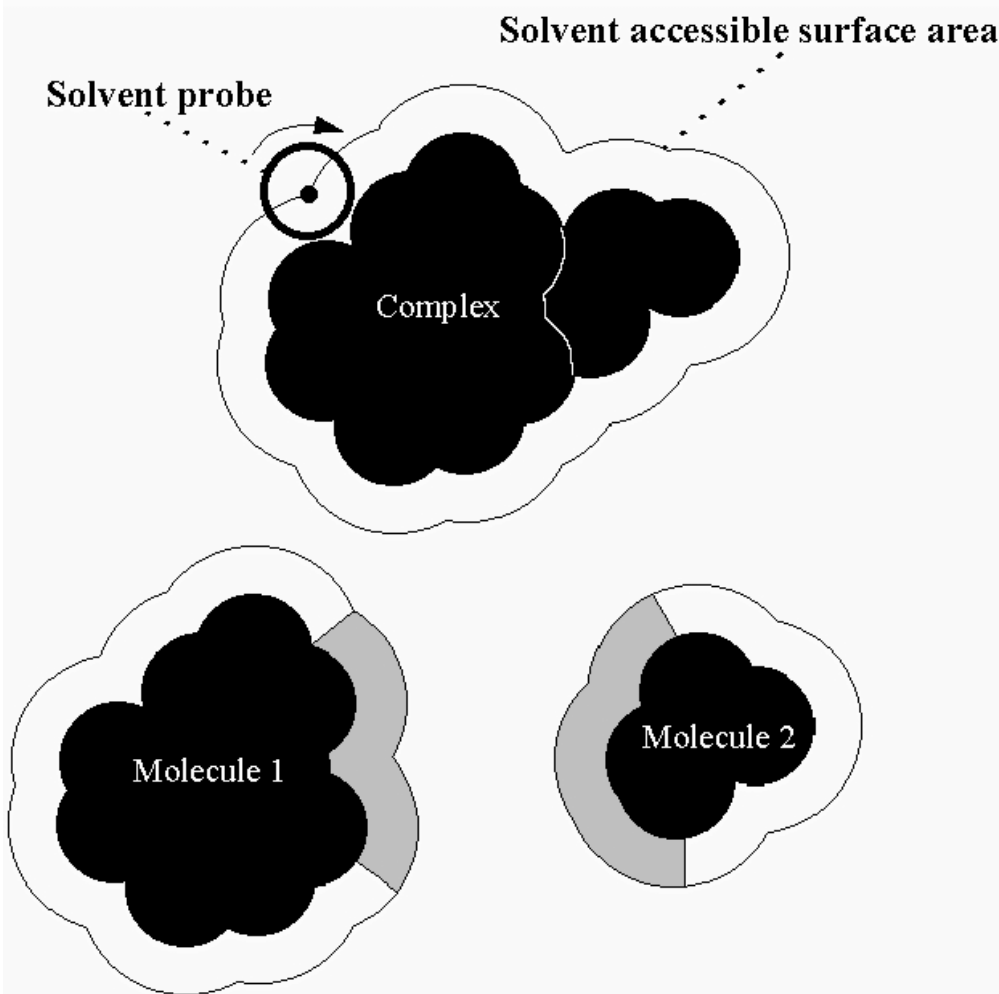


protein-majhna  
molekula

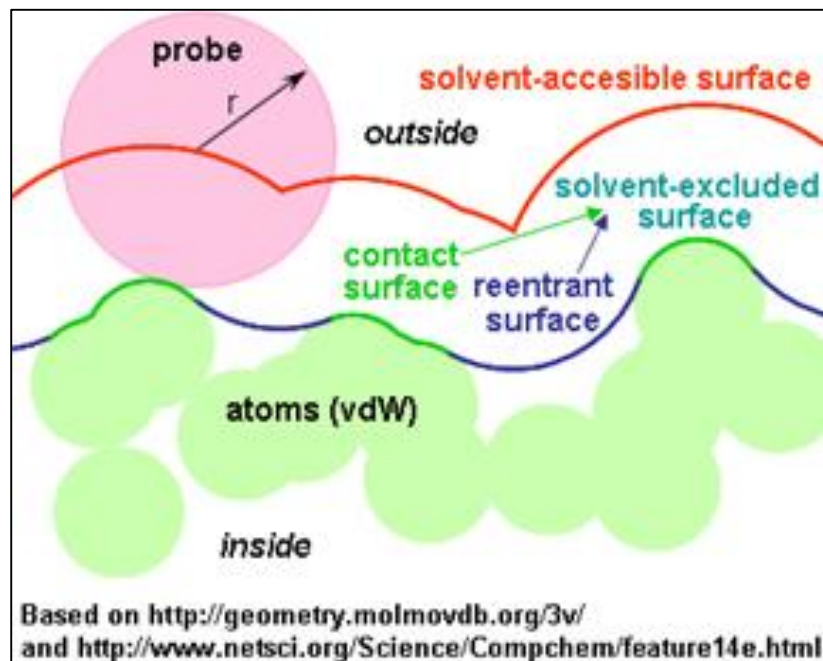
(protein-ligand)

# Tvorba kompleksa protein-protein

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 (ni enaka!) stični površini med obema partnerjema.



## *Računalniško določanje topilu dostopne površine:*



# Tvorba kompleksa protein-protein

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 (ni enaka!) stični površini med obema partnerjema.

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

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

Kemijska sestava stičnih površin v proteinih:

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

# Tvorba kompleksa protein-protein

---

## Lastnosti stičnih površin:

**Stična površina** velika ponavadi  $> 1100 \text{ \AA}^2$ , oz. nad  $> 550 \text{ \AA}^2$  na vsakega partnerja (določitev odvisna od algoritma oz pogojev – max. razdalja med *interagirajočimi* atomi).

**Zakopana površina** velika je okoli  $20 \text{ \AA}^2$  na ostanek.

V povprečju obsega

12% celotne površine v dimerih

17% celotne površine v trimerih

21% celotne površine v tetramerih

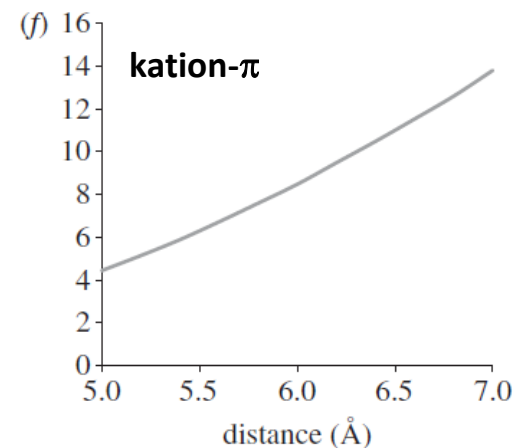
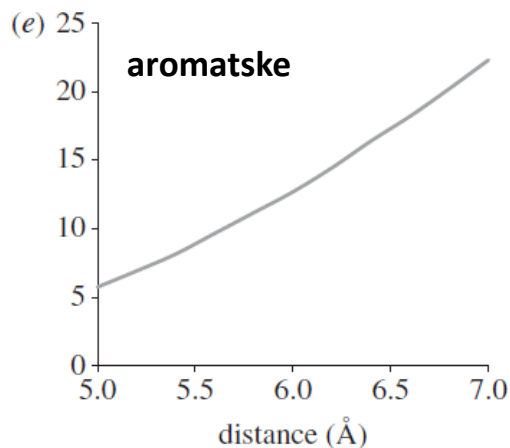
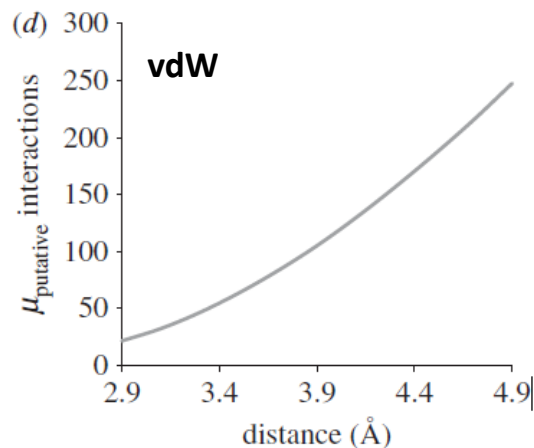
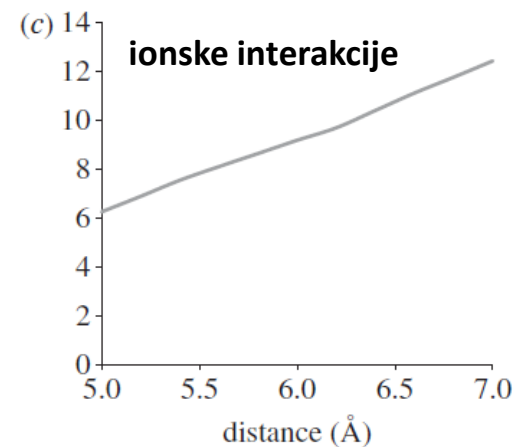
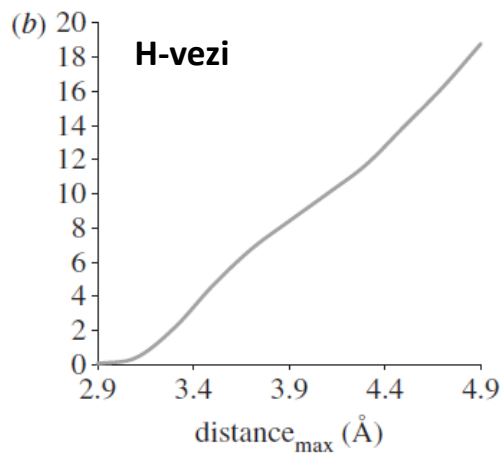
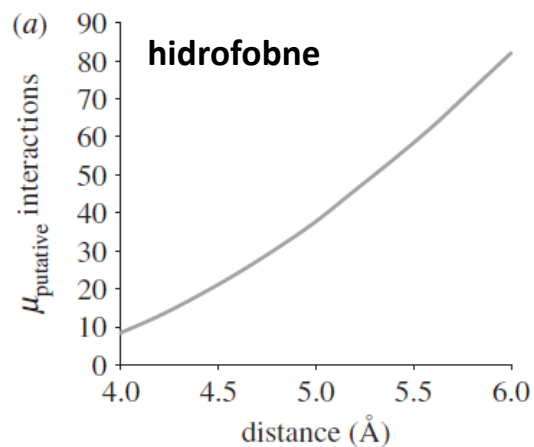
**Energija interakcije** je 100-200 J na  $\text{Å}^2$

**Ukrivljenost** – 83% do 84% interakcijskih površin je ploskih

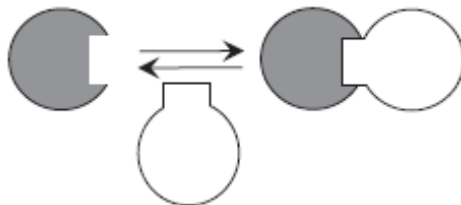
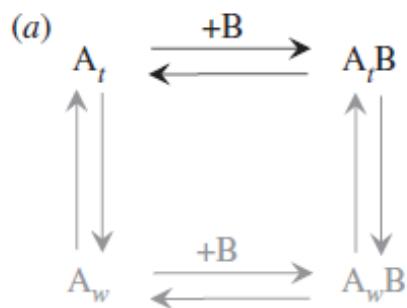
**Delež sekundarne strukture** – 50%  $\alpha$ -vijačnice, 20%  $\beta$ -ploskev

# Tvorba kompleksa protein-protein

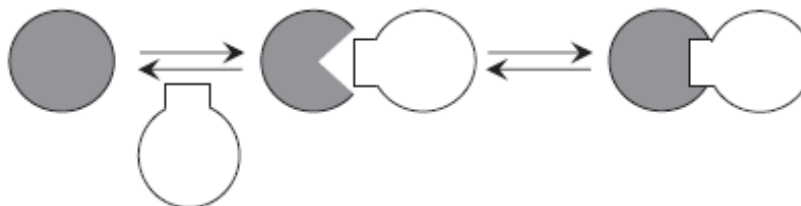
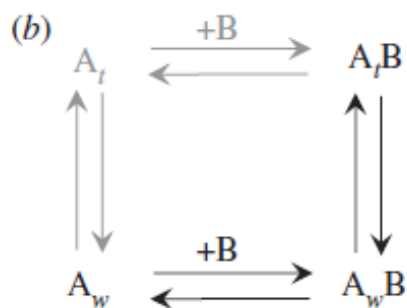
Primerjava števila posameznih interakcij v odvisnosti od oddaljenosti med interagirajočimi skupinami, določena na podlagi vzorca 195 kompleksov protein-protein:



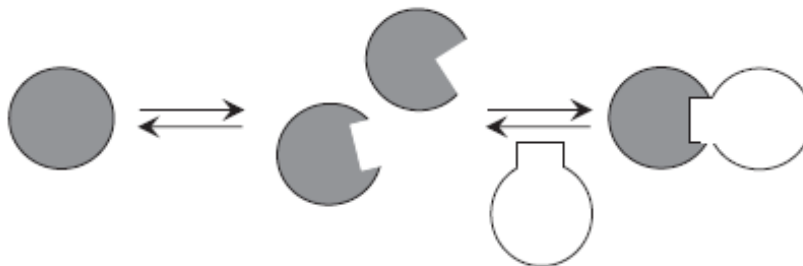
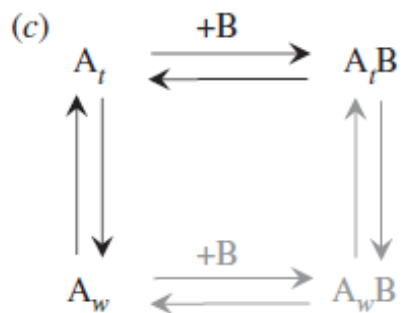
# Mehanizmi prepoznavanja med proteini



„lock and key“



„induced fit“



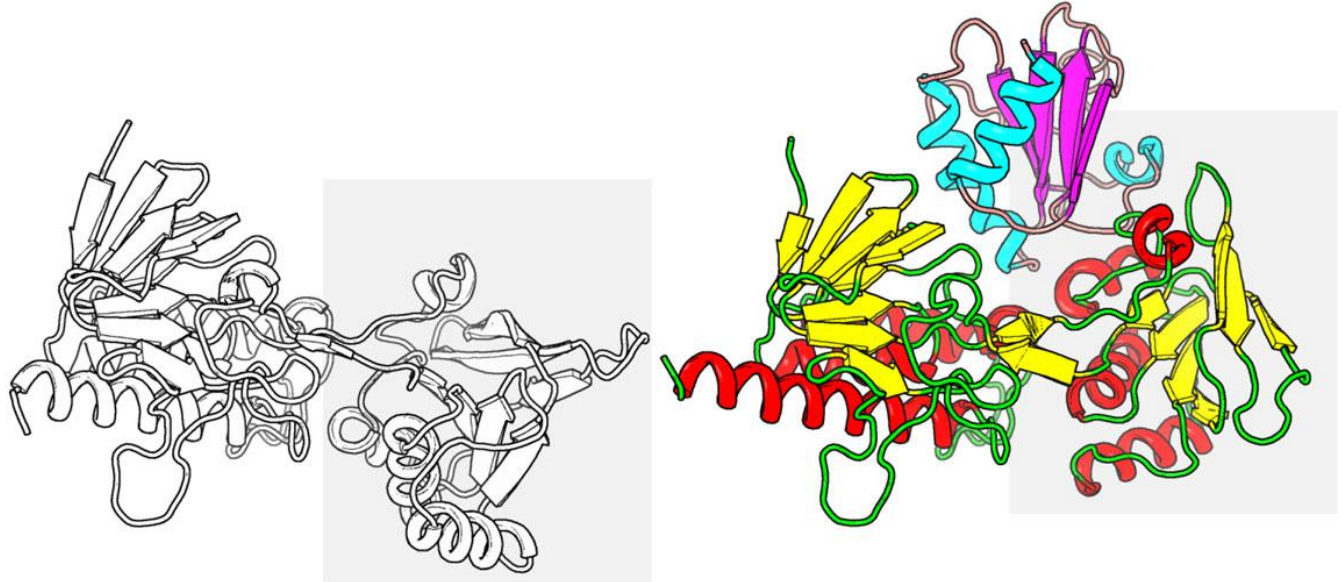
„dynamic fit“  
(konformacijska selekcija)

sive puščice .. neobstoječe poti

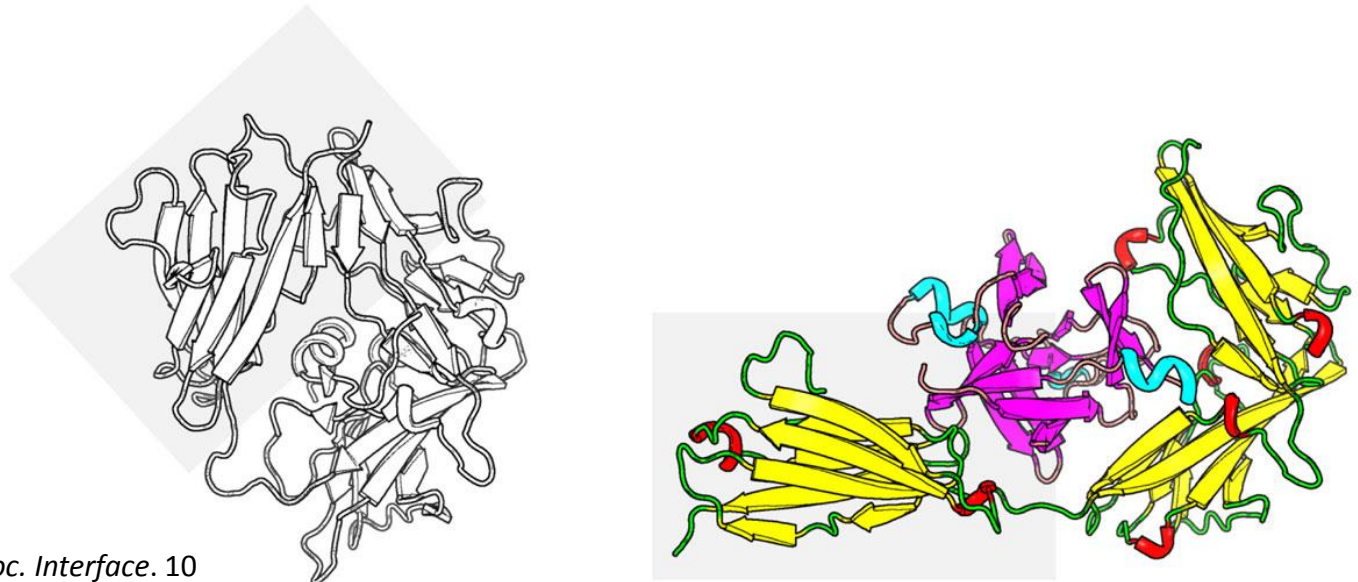
# Mehanizmi prepoznavanja med proteini

Tvorbo kompleksa lahko spremljajo konformacijske spremembe enega ali obeh proteinov.

tioredoksin  
reduktaza /  
tioredoksin

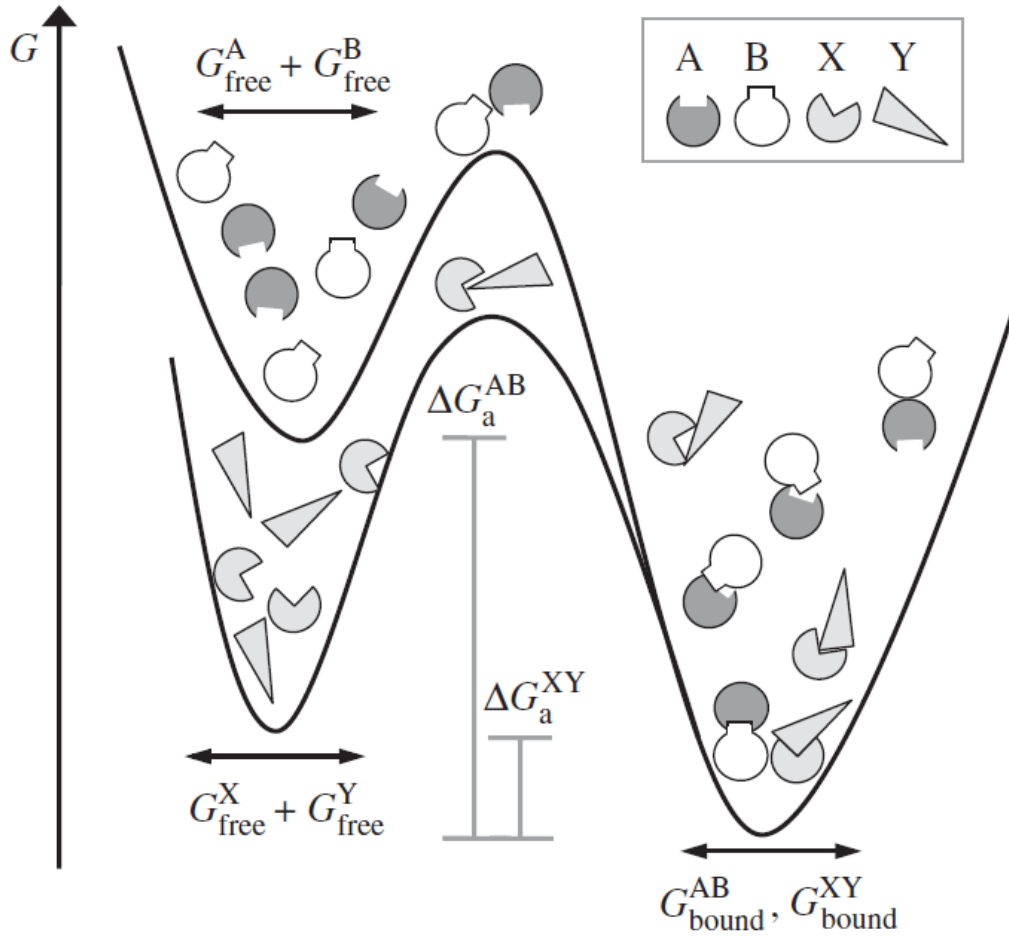


IL-1  
receptor /  
IL-1 R  
antagonist





# Termodinamika proteinskih interakcij



medmolekulske 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

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

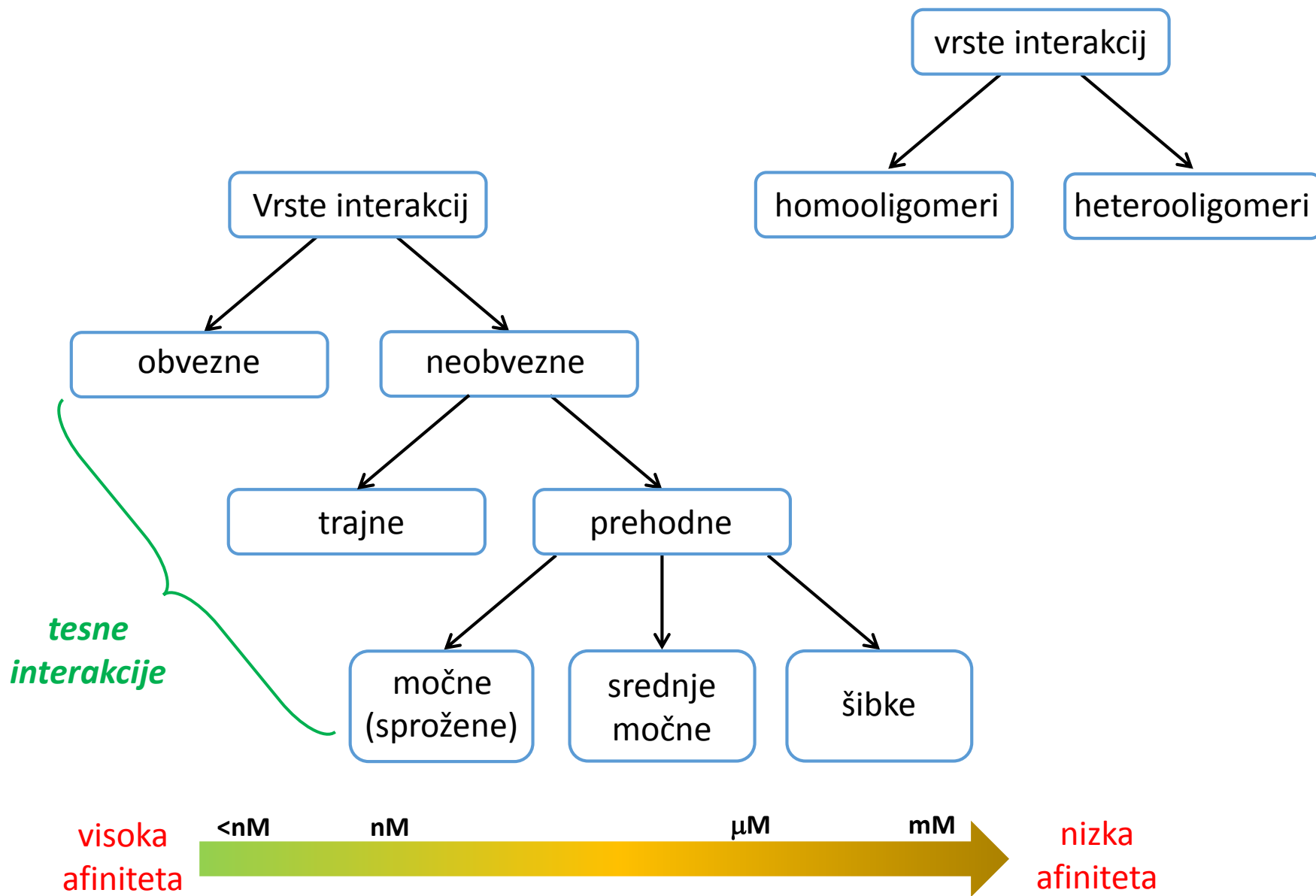
$$\Delta G^0 = RT \ln K_d$$

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

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

\*v resnici so termodinamske konstante brez enot.

# Interakcije med proteini



# Interakcije med proteini

Face-to-face homodimer

*M. thermophila* phosphate acetyltransferase



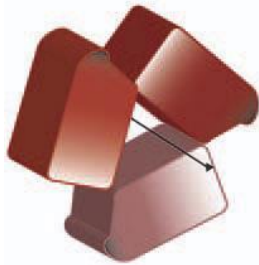
C2



(PDB: 1QZT)

Cyclic (face-to-back) homotrimer

*B. caeruleus* phospholipase A2



C3



(PDB: 1G2X)

Cyclic (face-to-back) homotetramer

*E. coli* aspartate 1-decarboxylase



C4



(PDB: 1POF)

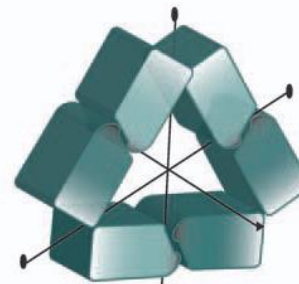
vrste interakcij

homooligomeri

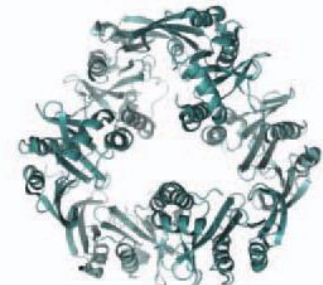
heterooligomeri

Dihedral trimer of dimers

*C. ensiformis* concanavalin-A



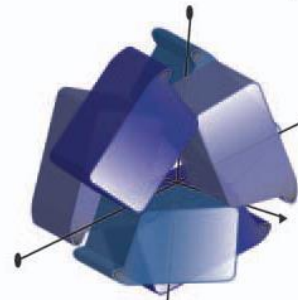
D3



(PDB: 1NLS)

Dihedral dimer of cyclic trimers

*P. islandicum* glutamate dehydrogenase

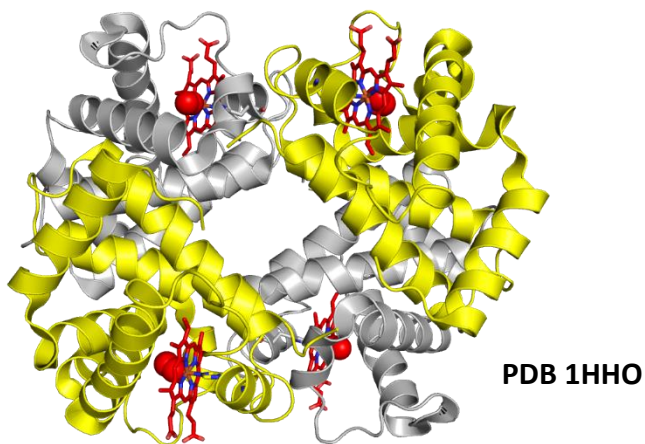


D3

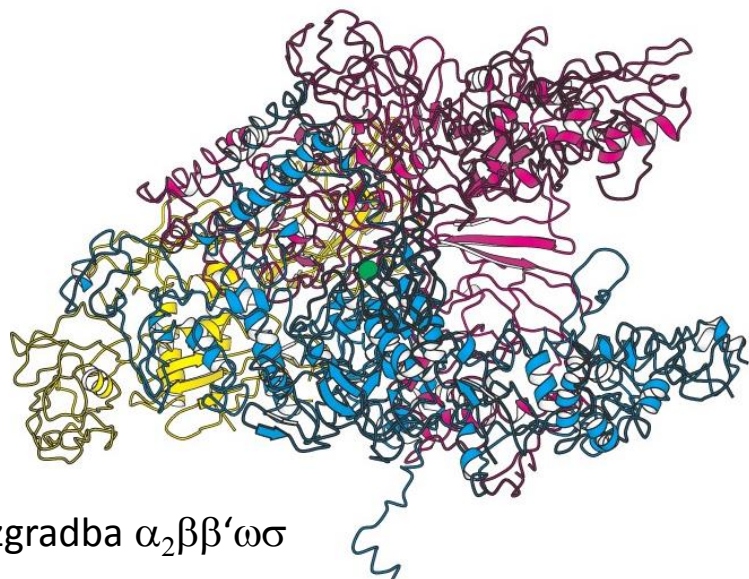
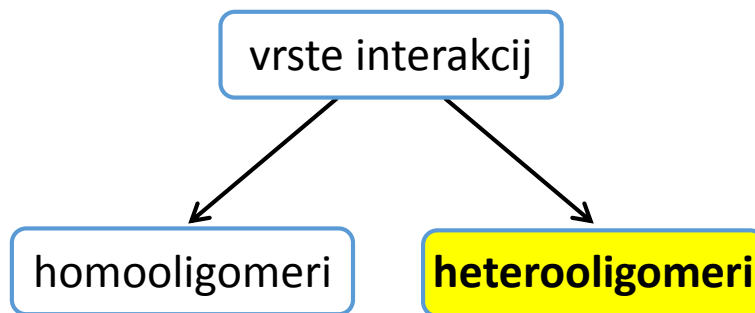


(PDB: 1V9L)

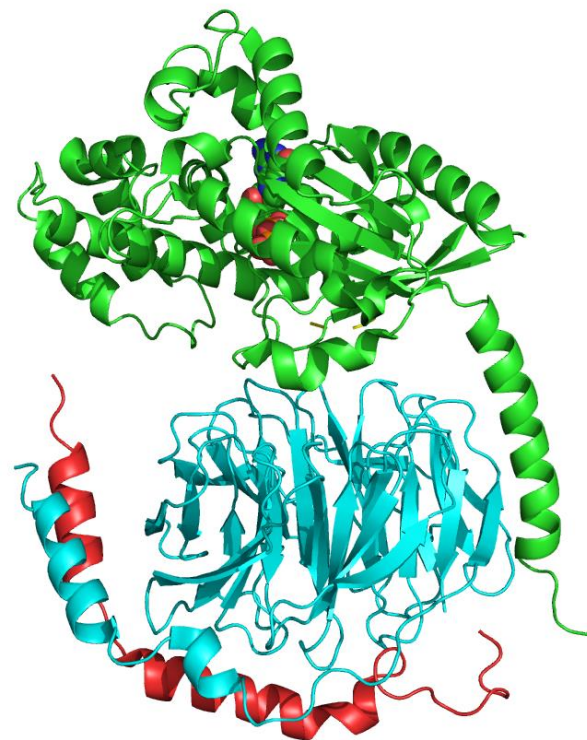
# Interakcije med proteini



hemoglobin – heterotetramer  $\alpha_2\beta_2$



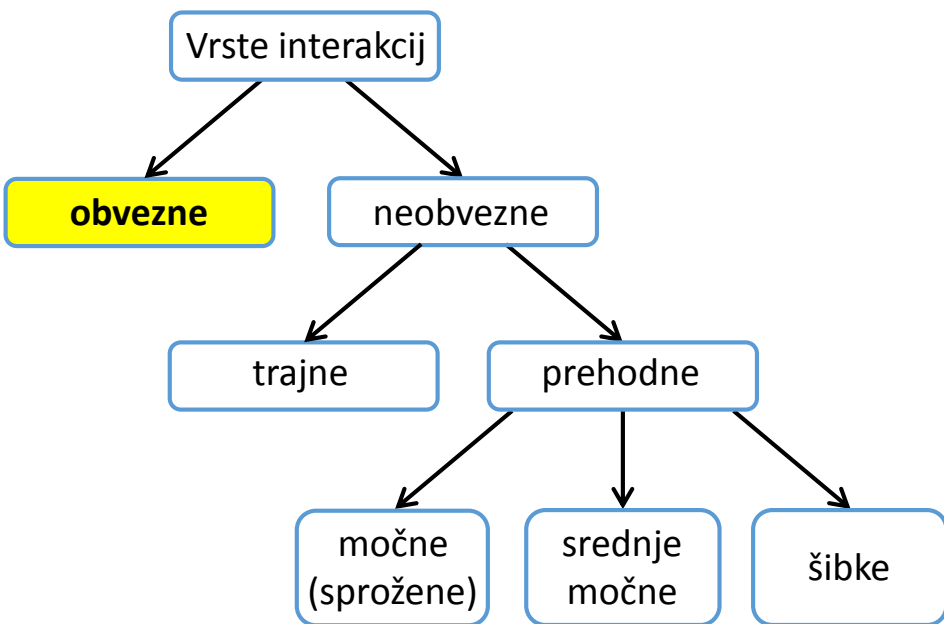
Prokaryotic RNA polymerase



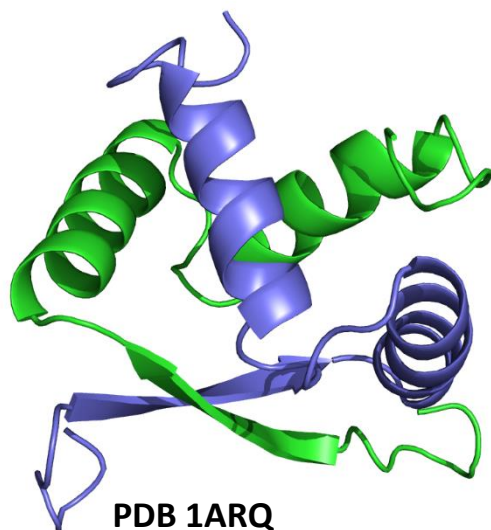
heterotrimeren G protein ( $G_{\alpha\beta\gamma}$ )

PDB 3AH8

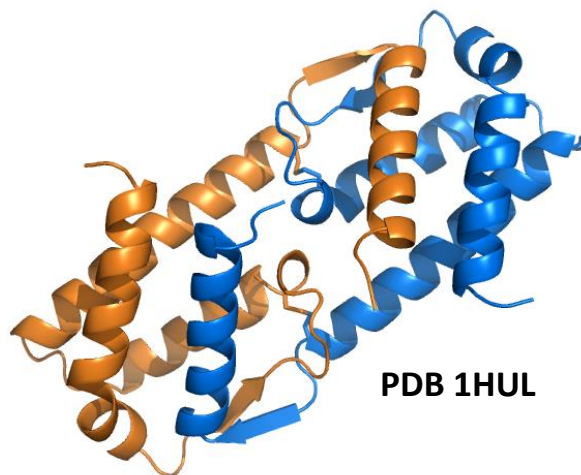
# Interakcije med proteini



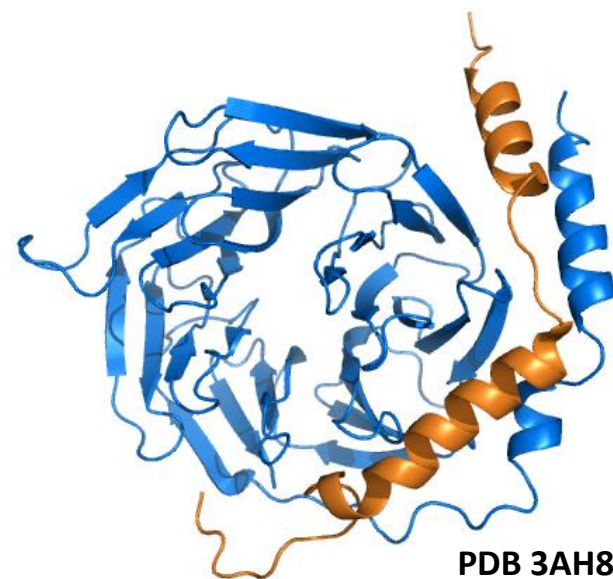
Posamezne enote (protomeri) same zase niso stabilne, zato je tvorba kompleksa/oligomera obvezna za obstojnost proteina v celici. S tem je pogojena tudi obligatna tvorba kompleksa za opravljanje biološke vloge proteina.



Arc represor bakteriofaga P22

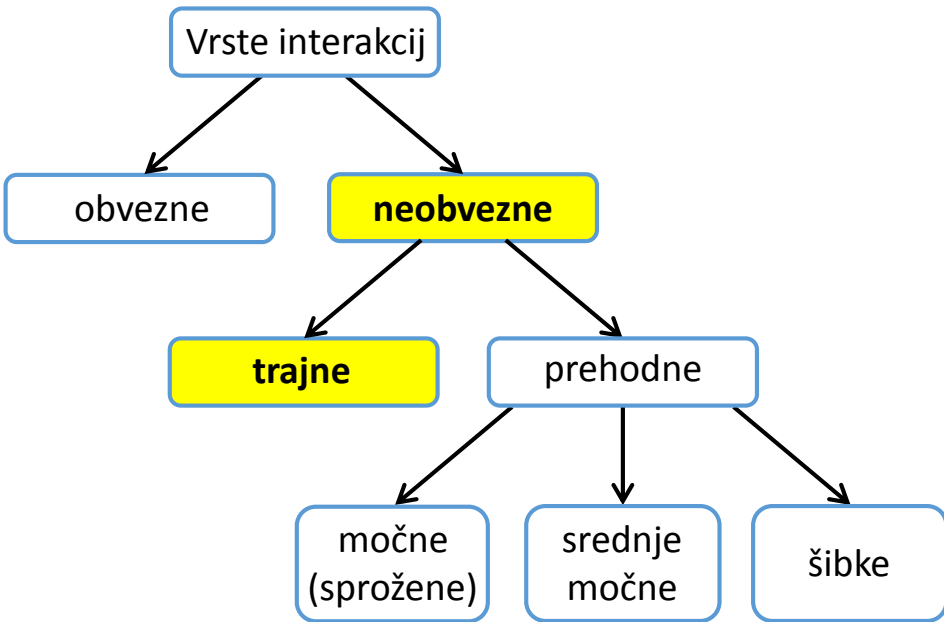


Interlevkin-5 (S-S vez)



G<sub>αβ</sub> heterodimer

# Interakcije med proteini



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

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

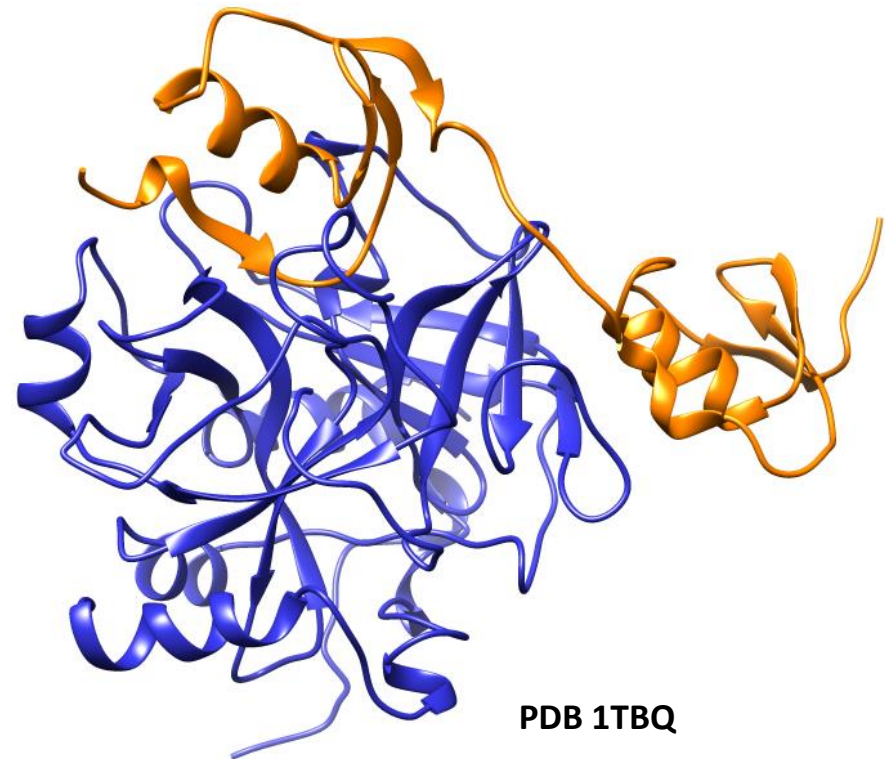
$$k_{-1} = 4.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$$

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

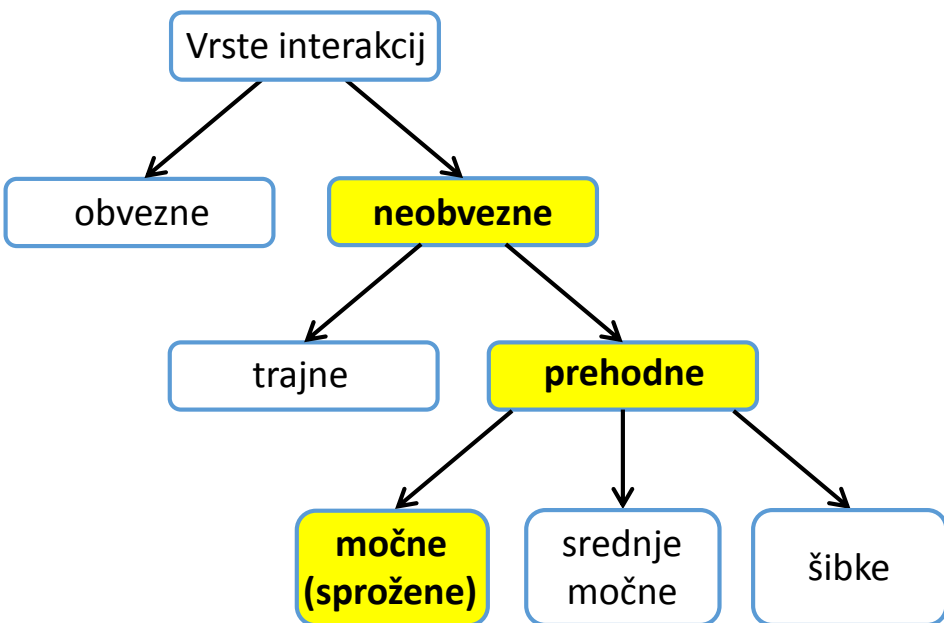
Ko kompleks nastane, praviloma ostane povezan dlje časa.

Interakcije protitelo-antigen, proteaze-inhibitorji, ..

Primer: kompleks trombin-rodniin

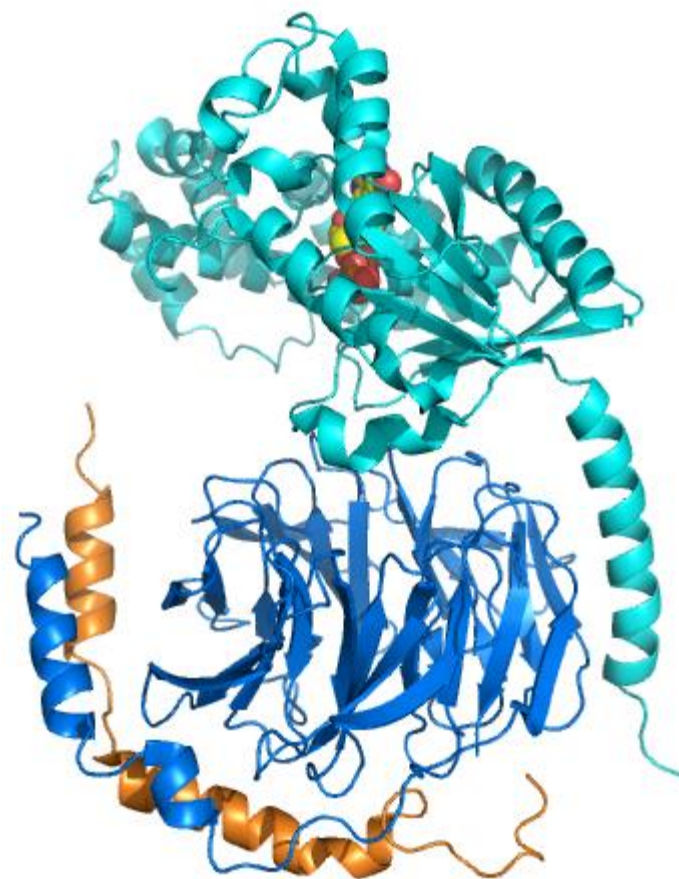
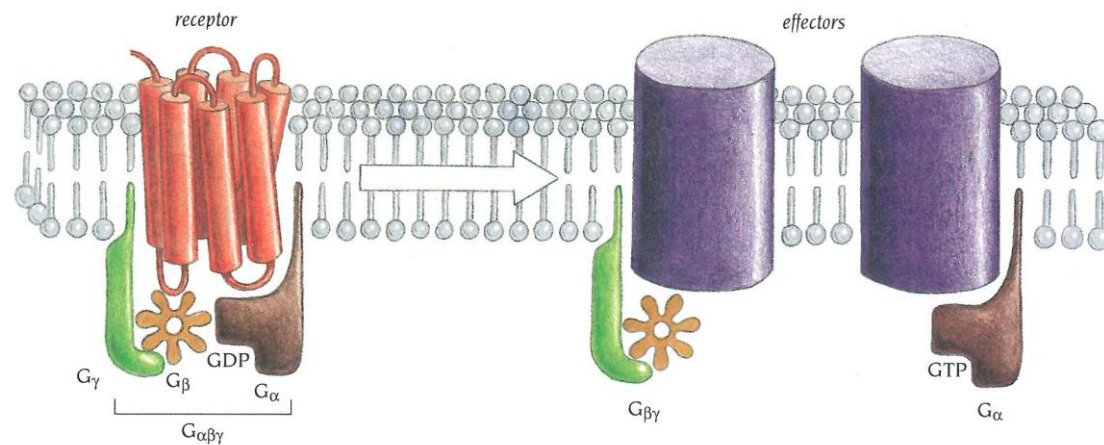


# Interakcije med proteini



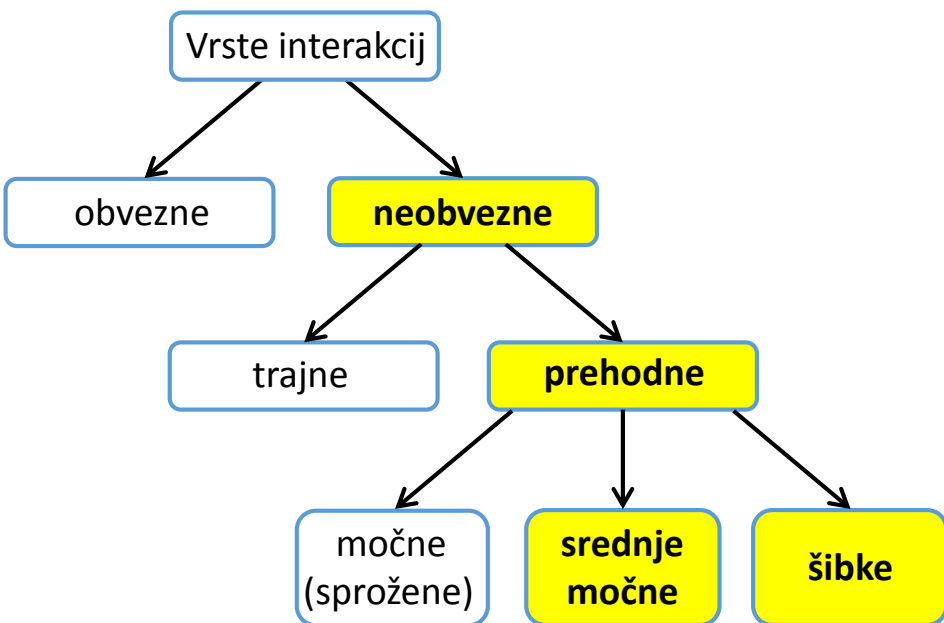
Visokoafinitetne interakcije, katerih nastanek in razpad je reguliran preko različnih signalov (fosforilacija, zamenjava GTP za GDP, vezava dodatnega liganda).

Primer: heterotrimerni G proteini

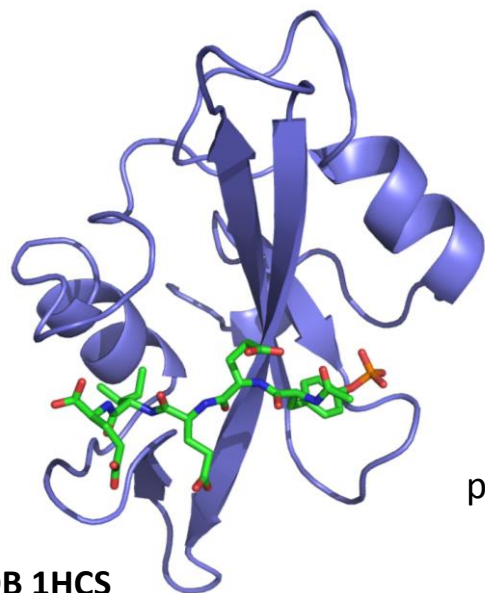




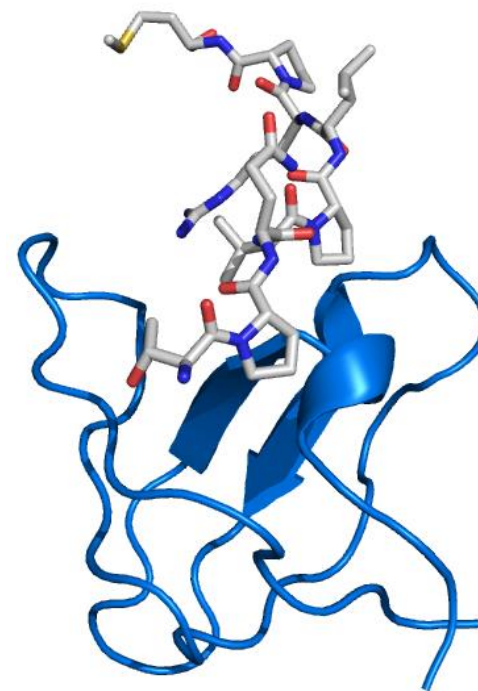
# Interakcije med proteini



Dinamično ravnotežje med kompleksom in prostimi proteini. Afinitete segajo od  $10^{-8}$  M do  $10^{-4}$  M.

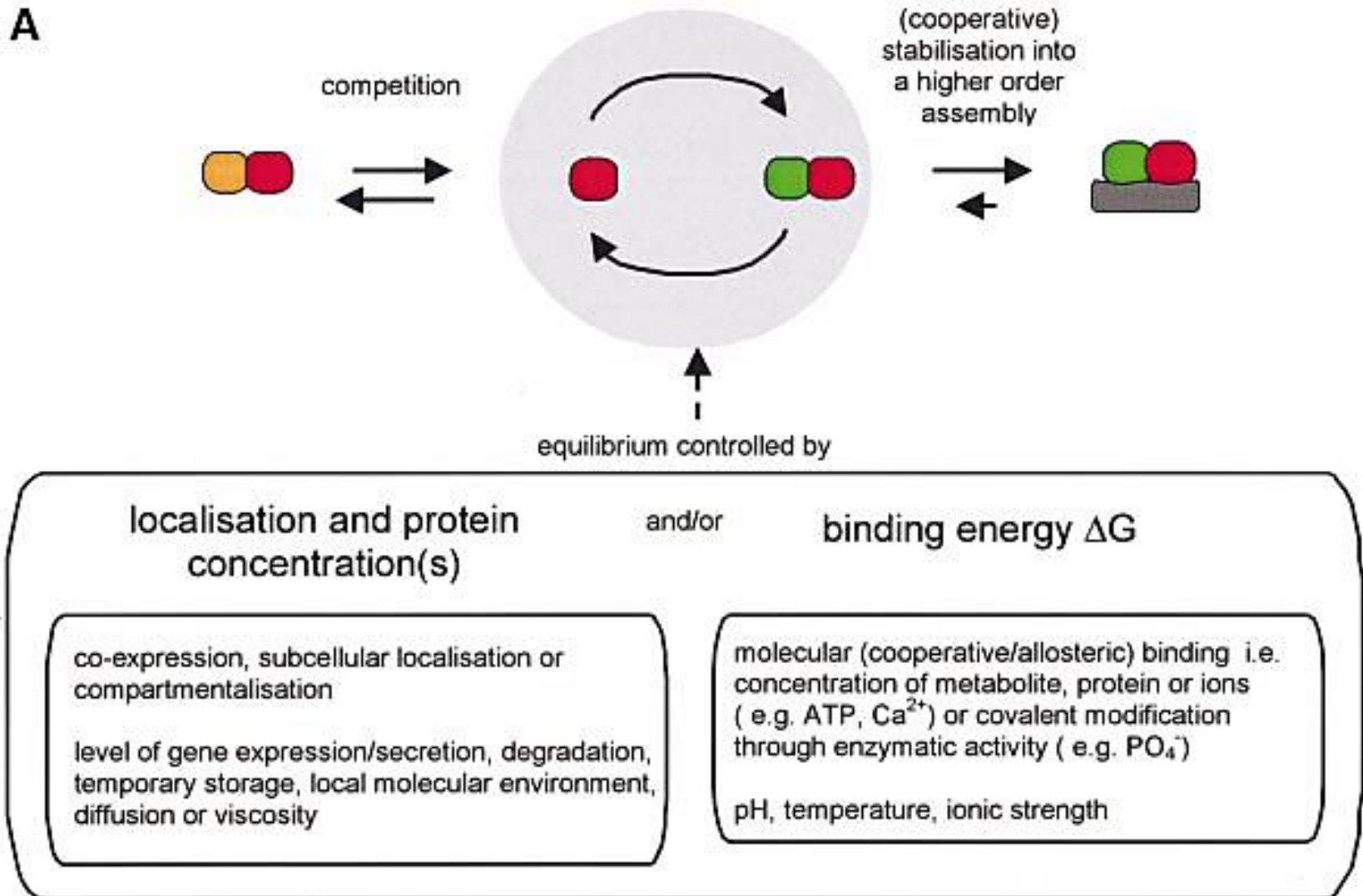


**SH2 domene** vežejo proteine, ki vsebujejo p-Tyr z afiniteto okoli  $10^{-6}$  M.

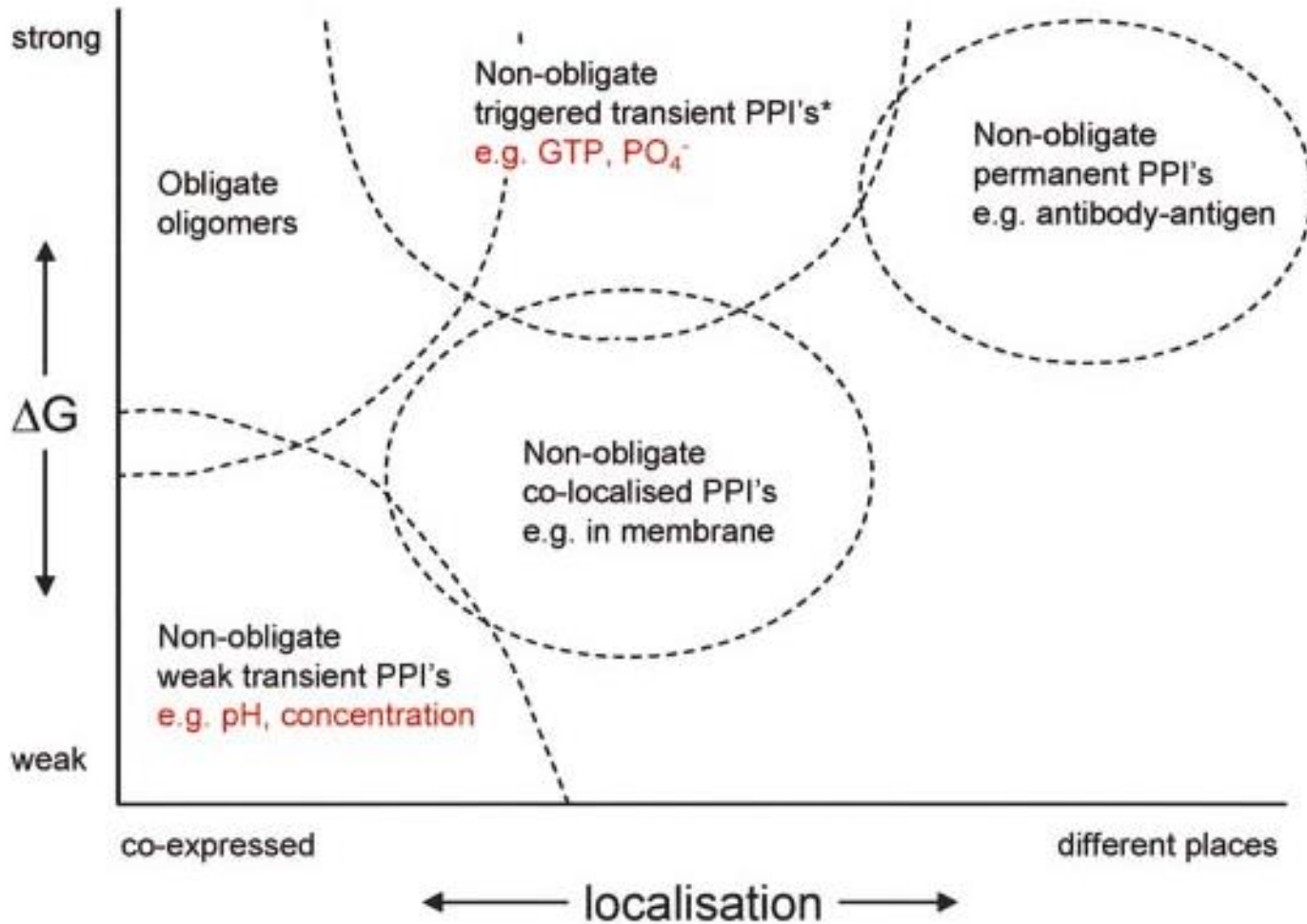


**SH3 domene** vežejo motive, ki tvorijo poli-prolinske vijačnice tipa 2.

# Interakcije med proteini



# Interakcije med proteini



# Interakcije protein-ligand

---

Pod pojmom **ligand** opisujemo manjšo (organsko) molekulo, ki se veže na vezavno mesto na proteinu. Poseben tip ligandov so substrati encimov.

Dve skupini študij:

- vezava ***naravnih*** ligandov – študij biološkega pomena interakcije
- vezava ***sintetičnih*** ligandov – načrtovanje ligandov v medicinske ali raziskovalne namene, ponavadi izkoriščamo naravna (znana) vezavna mesta na proteinu.

Diverziteta vezavnih mest za ligande je velika. Za načrtovanje sintetičnih ligandov je bilo razvitih veliko število eksperimentalnih in računalniških metod.

Za vezavo majhnih ligandov na proteine veljajo podobne zakonitosti kot pri interakcijah protein-protein, t.j. **komplementarnost**:

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

# Interakcije protein-ligand

**Pravilo petic Lipinskega** je empirična zbirka pravil o fizikalno-kemijskih lastnostih, ki jih morajo imeti učinkovita peroralna zdravila za dobro biološko razpoložljivost:

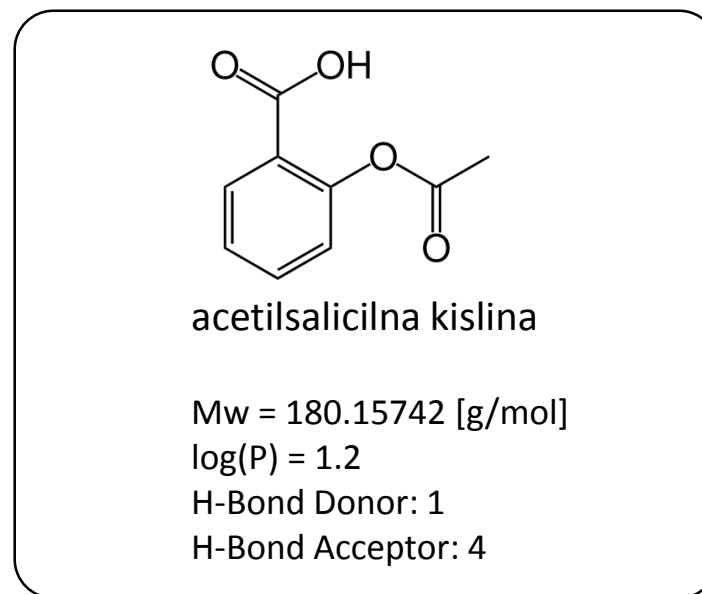
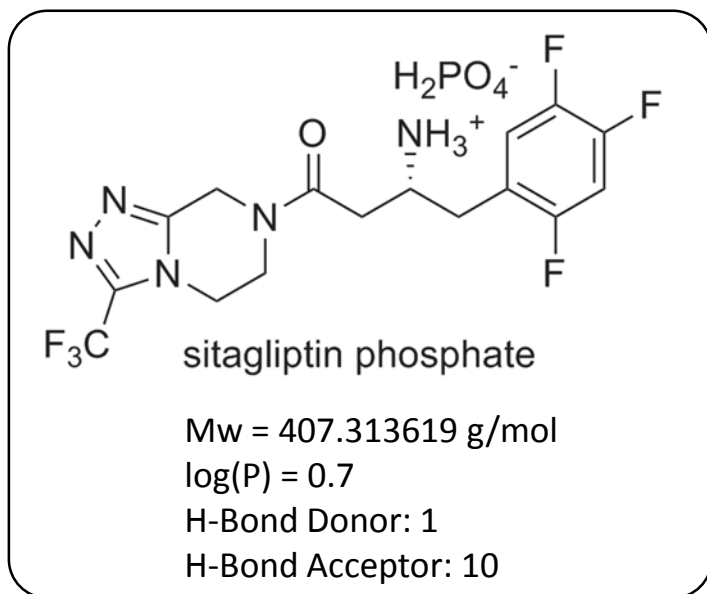
*Pravila so:*

*molska masa manj kot 500 g/mol*

*največ 5 donorjev H-vezi*

*največ 10 akceptorjev H-vezi*

*log porazdelitvenega koeficienta oktanol/voda največ 5*

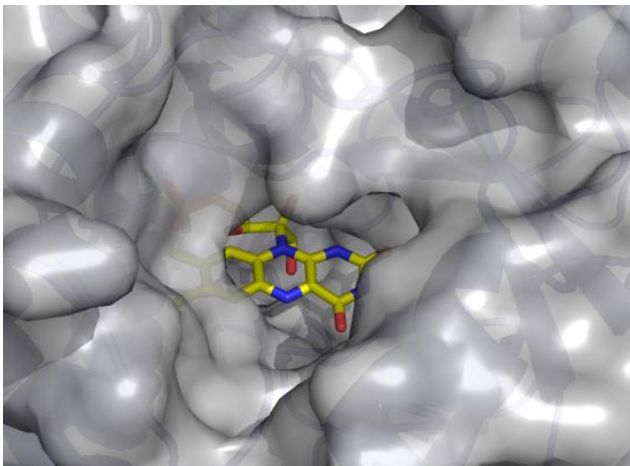


# Interakcije protein-ligand

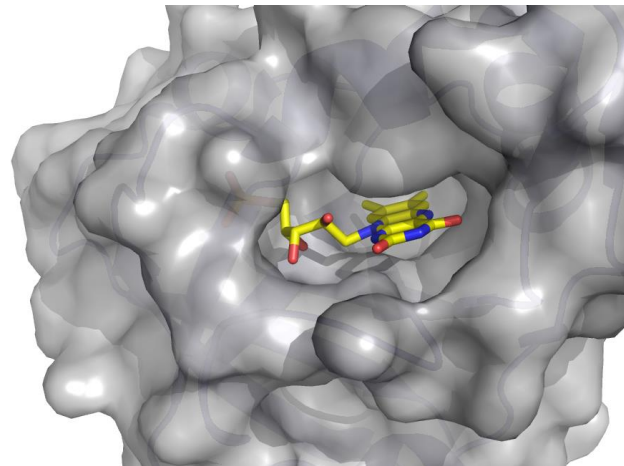
Vezavna mesta za isti ligand in načini vezave liganda se med proteini lahko bistveno razlikujejo.

Primer: vezava FMN na štiri različne encime.

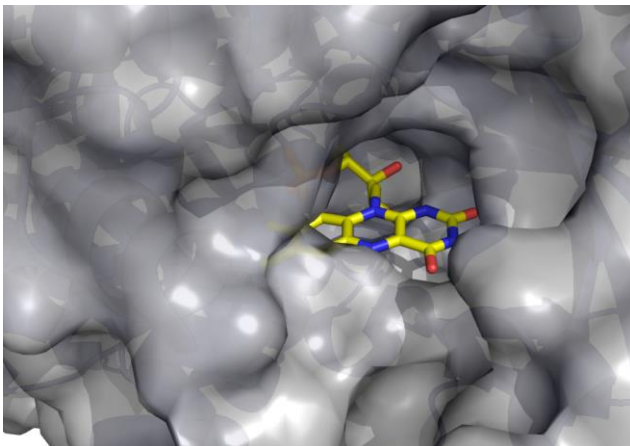
glikolat oksidaza iz špinače



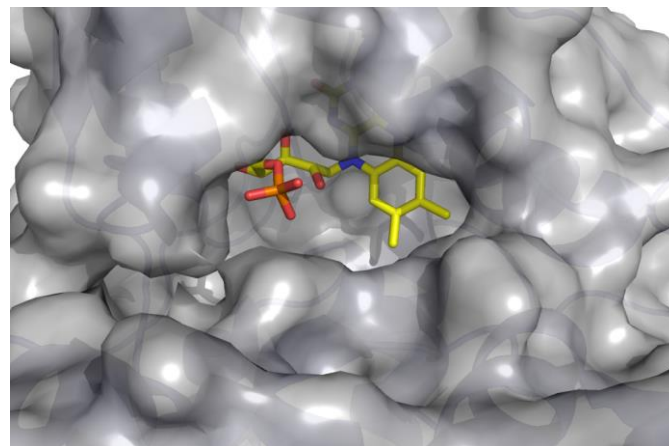
riboflavin kinaza iz *Methanococcus*



izomeraza iz *Sulfolobus*



fotoliza iz *Thermusa*



# Identifikacija vezavnih mest na proteinih

Na proteinih je več kategorij potencialnih vezavnih žepov, vendar je težko ločiti med pravimi in nepravimi.

## GLOSSARY

### Druggable binding site

A pocket on a protein surface that can bind with high affinity and specificity to small, drug-like molecules.

### Nondruggable binding site

A pocket on a protein surface that cannot bind with high affinity and specificity to small, drug-like molecules.

### Decoy sites

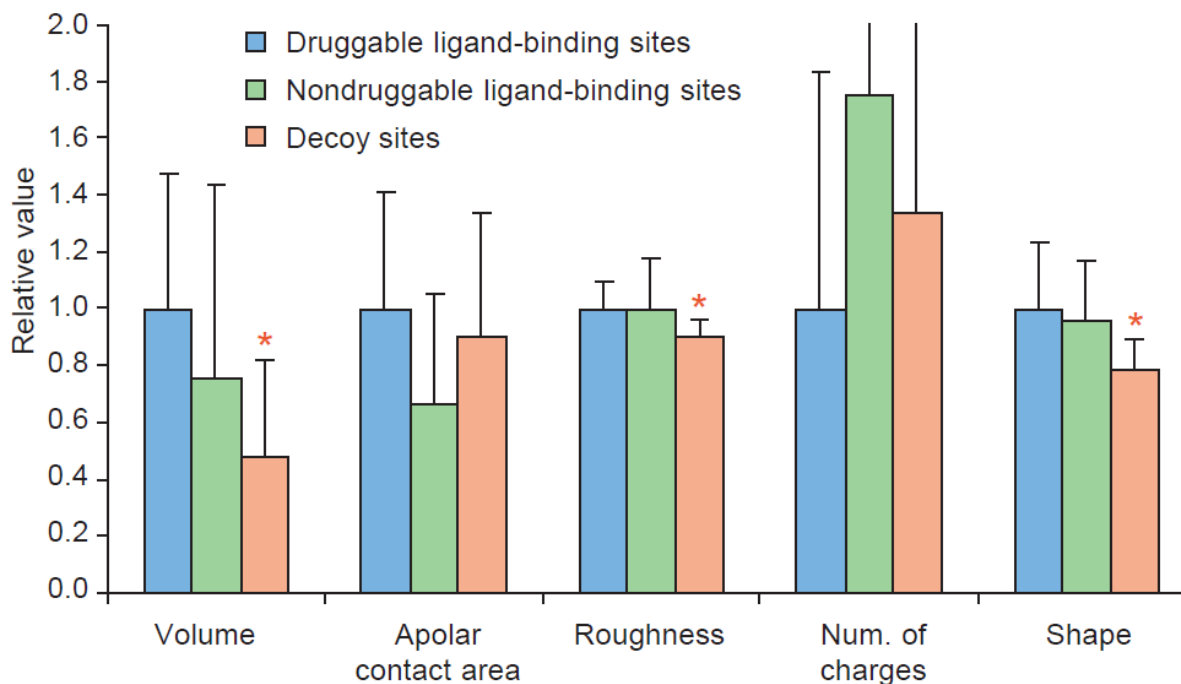
A pocket on a protein surface that was identified using a computational algorithm but that does not correspond to the known ligand-binding site(s).

### Druggability index

A prediction of a protein's capacity to bind with high affinity and specificity to small, drug-like molecules.

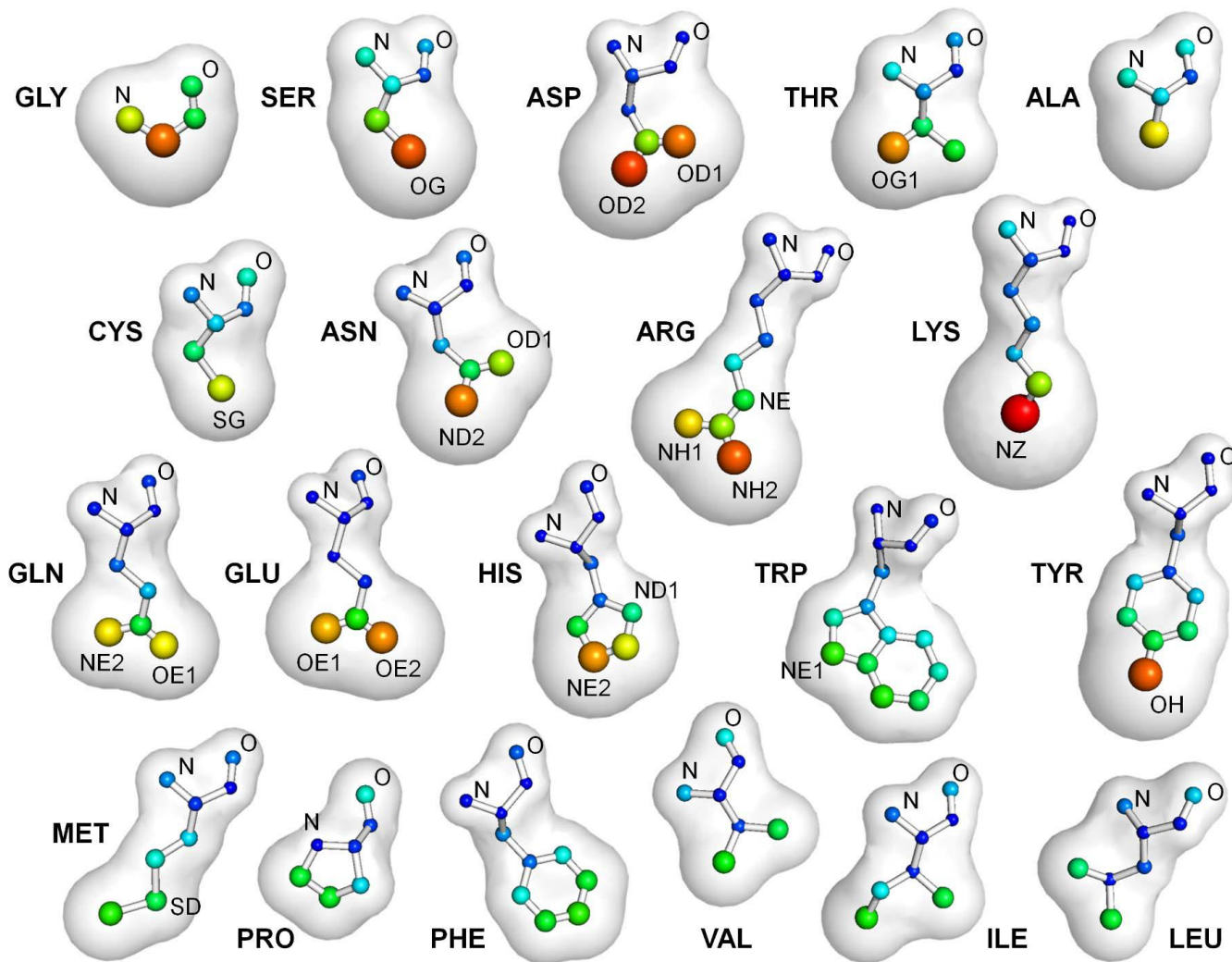
### NMR hit rate

The frequency with which low molecular weight compounds from a fragment library bind to a protein as determined using 2D heteronuclear correlation spectroscopy.



# Interakcije protein-ligand

Pred kratkim je bil objavljen članek, kjer so statistično obdelali vzorec 3295 proteinov z 9114 vezavnimi mesti (Khazanov & Carlson. 2013. *PLoS Comput Biol.* 9(11)). Osredotočili so se na prispevke posameznih ostankov in njihovih atomov k interakcijam z ligandi.



*Bolj rdeča kot je barva,  
večkrat atom prispeva  
k interakcijam.*



# Interakcije protein-ligand

Pred kratkim je bil objavljen članek, kjer so statistično obdelali vzorec 3295 proteinov z 9114 vezavnimi mesti (Khazanov & Carlson. 2013. *PLoS Comput Biol.* 9(11)). Osredotočili so se na prispevke posameznih ostankov in njihovih atomov k interakcijam z ligandi.

**Table 4.** Composition of binding sites for the top-20 valid ligands.

HET	#Lig (%)	Ala%	Arg%	Asn%	Asp%	Cys%	Gln%	Glu%	Gly%	His%	Ile%	Leu%	Lys%	Met%	Phe%	Pro%	Ser%	Thr%	Trp%	Tyr%	Val%
NAD	250 (4.49)	5.90	4.75	6.12	7.01	1.56	2.14	3.43	7.49	3.60	<b>8.33</b>	6.82	4.01	1.87	4.58	4.51	5.98	7.94	1.44	4.80	7.73
FAD	217 (3.90)	6.77	7.09	4.02	4.47	1.91	3.51	4.28	7.33	4.72	6.79	6.21	3.98	1.42	4.65	4.00	6.91	<b>7.79</b>	3.42	6.28	4.44
ADP	172 (3.09)	4.48	10.46	5.43	5.37	0.50	2.35	3.36	<b>11.42</b>	2.80	4.98	5.20	9.96	1.85	4.14	2.74	5.76	8.67	0.78	5.04	4.70
NAP	165 (2.97)	6.37	8.97	5.68	4.02	0.59	2.25	2.01	<b>9.93</b>	3.01	6.78	5.99	5.64	2.01	2.25	4.12	8.76	8.65	0.97	5.78	6.23
FMN	130 (2.34)	5.09	<b>10.99</b>	7.17	2.43	1.39	3.88	2.14	9.14	5.73	4.34	4.63	4.51	3.18	3.30	2.89	8.21	6.94	3.18	6.54	4.34
ATP	100 (1.80)	2.76	<b>12.20</b>	4.26	6.27	0.17	2.42	7.52	10.78	2.26	4.43	5.51	12.03	1.92	5.43	0.75	5.35	8.02	1.42	2.26	4.26
GDP	96 (1.73)	3.17	4.39	3.98	11.44	2.96	1.74	3.17	8.27	1.43	1.94	8.27	<b>19.10</b>	0.31	4.60	1.63	8.17	10.52	–	1.94	2.96
GLC	86 (1.55)	3.95	9.65	6.58	<b>12.94</b>	0.22	6.14	7.46	3.07	7.46	2.41	1.10	2.63	2.19	7.46	0.88	1.75	1.54	11.40	10.53	0.66
NDP	76 (1.37)	6.19	9.32	4.66	3.83	1.18	2.30	2.85	9.32	2.85	5.29	5.85	5.78	2.64	1.32	2.85	<b>10.44</b>	8.35	1.74	7.38	5.85
SAH	67 (1.20)	5.07	2.97	3.21	10.51	1.85	2.10	4.45	<b>11.50</b>	2.35	5.07	8.16	1.98	4.45	7.91	2.97	6.06	3.83	4.20	7.29	4.08
ANP	61 (1.10)	4.90	7.48	6.62	7.23	–	3.43	4.04	<b>10.54</b>	1.84	6.37	4.78	9.56	2.21	4.53	1.84	5.51	7.97	0.98	4.29	5.88
COA	54 (0.97)	8.85	7.51	3.35	2.95	0.80	4.29	0.94	7.24	4.29	4.56	8.45	<b>8.98</b>	4.29	6.84	2.55	6.43	4.16	1.88	5.36	6.30
NAG	45 (0.81)	2.34	6.54	<b>19.16</b>	9.35	3.74	4.21	3.74	4.21	1.40	2.80	4.21	2.34	1.87	3.27	1.40	2.34	5.61	14.49	4.67	2.34
CIT	44 (0.79)	3.04	<b>16.22</b>	7.77	4.73	0.34	2.03	3.04	6.76	11.15	4.73	3.72	6.42	2.03	2.70	3.38	7.77	4.73	2.03	5.74	1.69
AMP	43 (0.77)	4.48	<b>10.70</b>	2.74	5.72	1.74	3.73	5.97	6.97	5.97	5.97	4.98	5.97	1.49	6.72	1.74	5.97	7.71	1.00	6.47	3.98
NAI	42 (0.76)	7.79	3.89	6.17	7.38	0.13	2.28	2.55	8.72	2.15	<b>9.40</b>	8.99	4.83	2.68	1.88	3.49	7.38	6.31	0.67	4.30	8.99
MAN	40 (0.72)	5.91	–	<b>18.72</b>	16.75	–	9.36	1.97	5.91	2.46	–	5.42	3.45	–	1.48	2.46	1.97	3.94	5.42	12.32	2.46
SAM	37 (0.67)	5.20	4.98	3.62	<b>11.09</b>	0.45	3.85	6.11	8.82	5.43	5.20	7.24	2.71	2.26	7.92	4.07	4.98	3.85	2.04	7.01	3.17
GNP	36 (0.65)	4.22	0.84	2.95	8.44	1.90	2.11	1.27	12.66	0.84	1.27	8.02	<b>18.78</b>	0.42	5.49	3.16	8.86	14.14	–	3.16	1.48

Ligand listed in decreasing fraction of 5562 binding sites. Most frequently interacting residue for each ligand is in bold. Due to rounding, rows may occasionally sum to a value other than 100%.

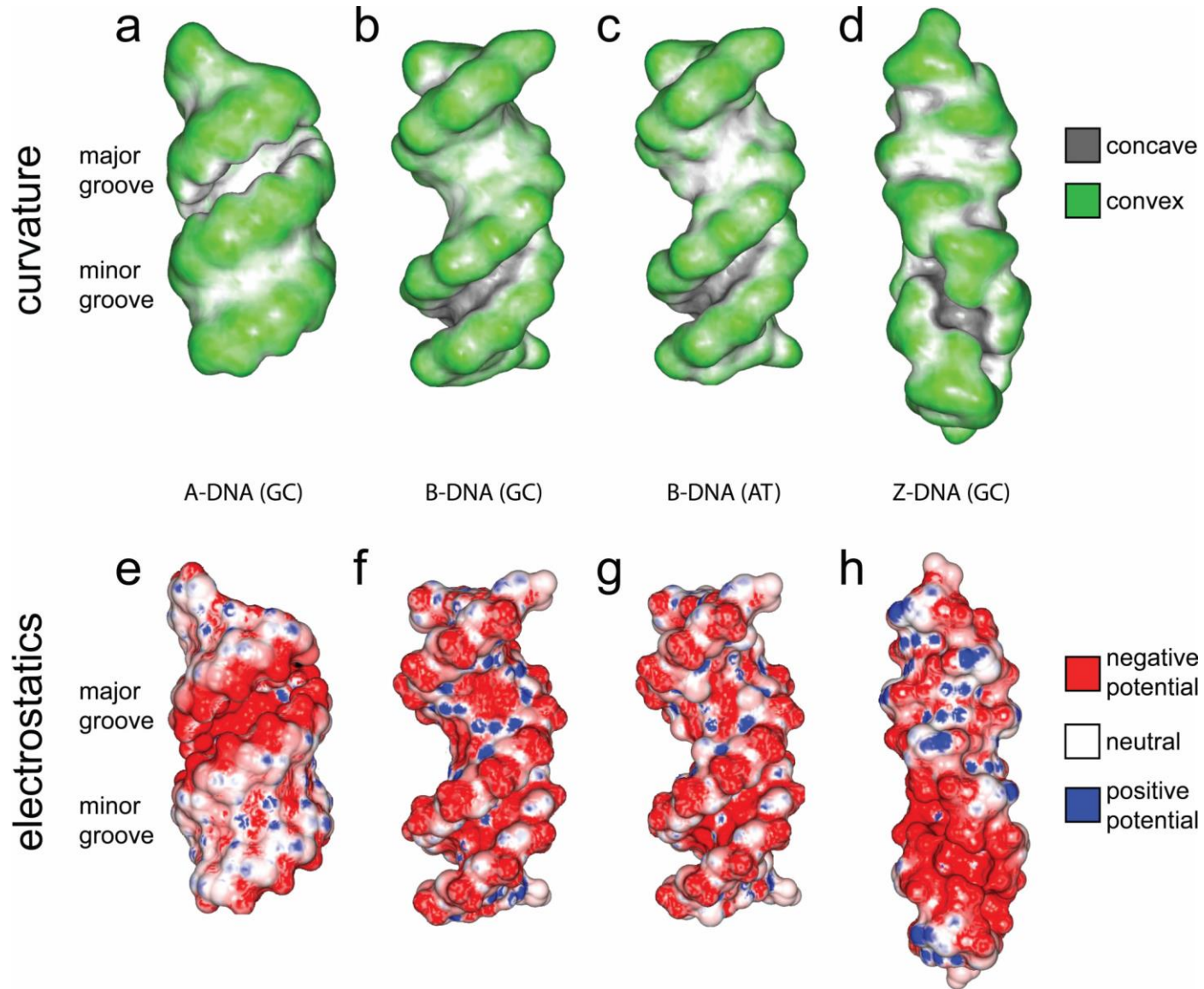
# Interakcije protein-DNA

---

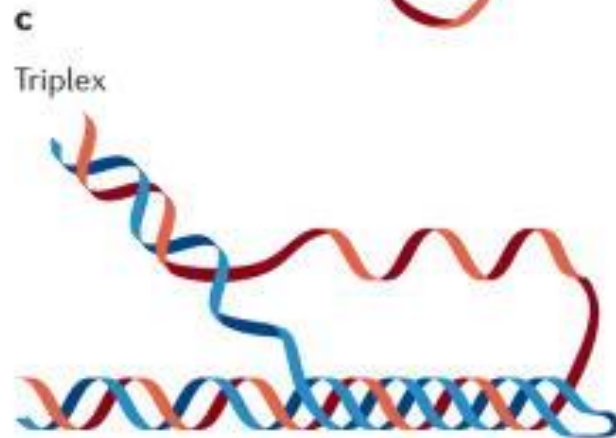
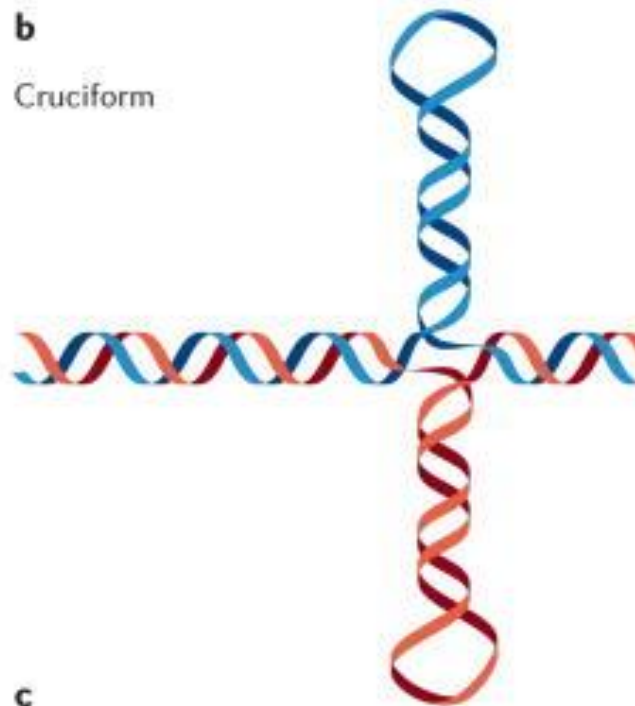
## Temeljne lastnosti:

- Specifične interakcije (branje baz) + nespecifične interakcije (ogrodje)
- Konformacijske spremembe proteina in/ali DNA
- Pogosto se pojavljajo nekateri DNA-vezavni motivi
- Odvisne od lokalne strukture DNA
- Simetrične interakcije

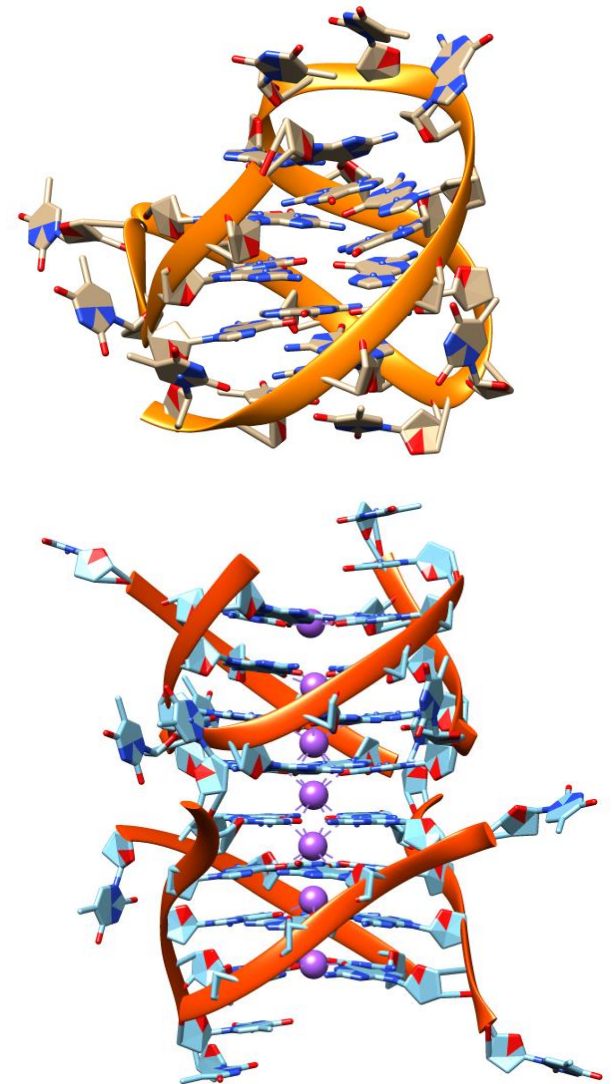
# Struktura DNA



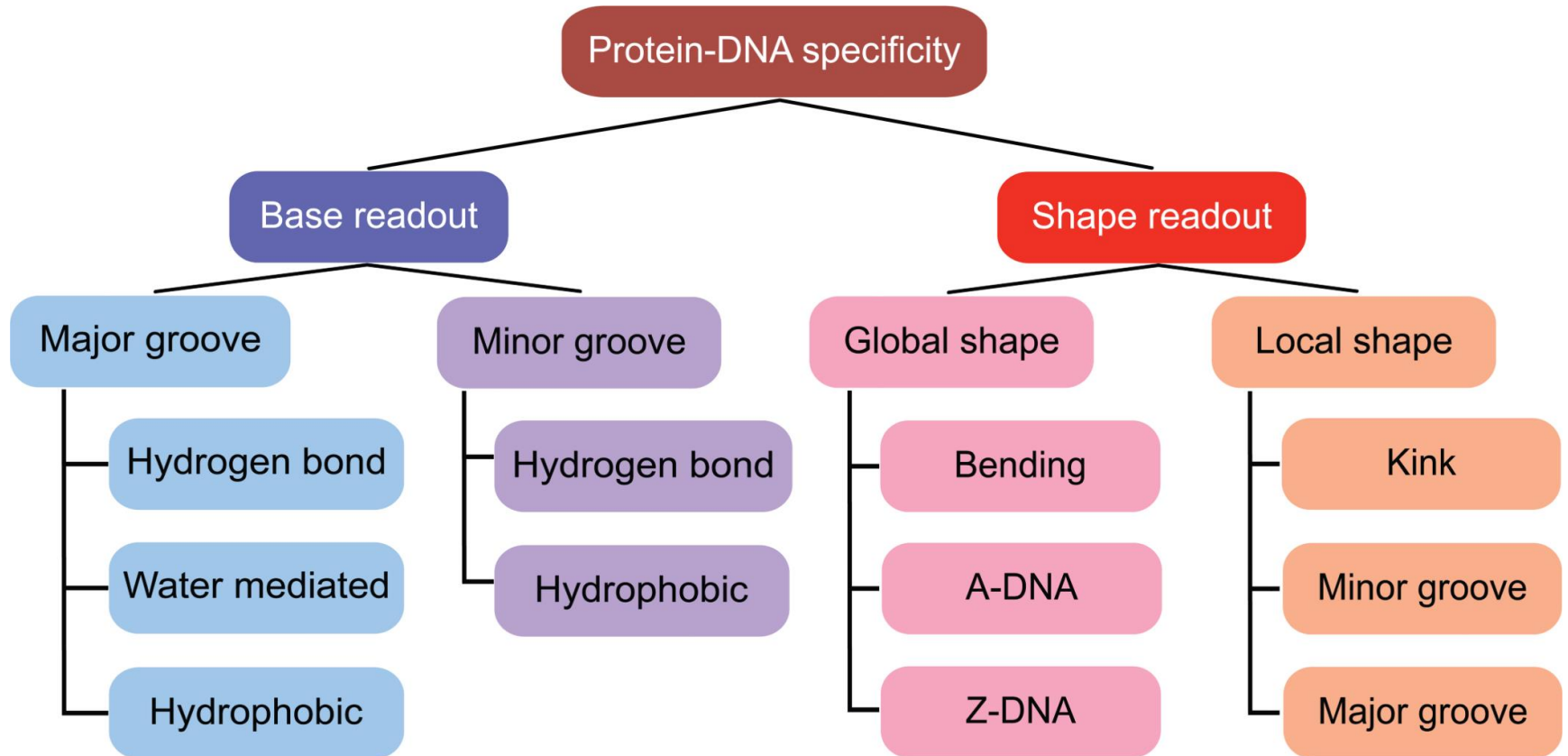
# Struktura DNA



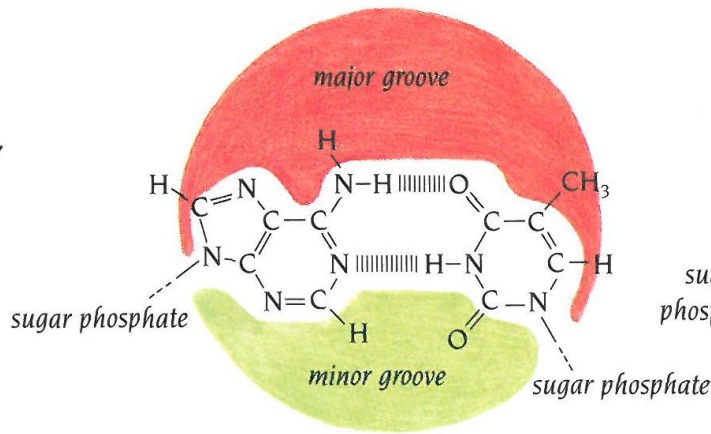
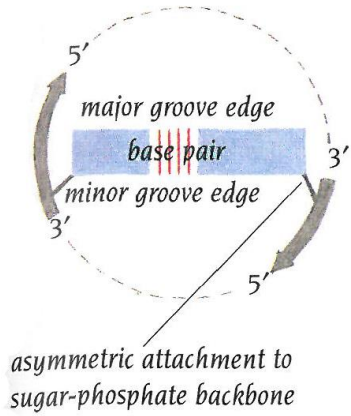
kvadrupleksi



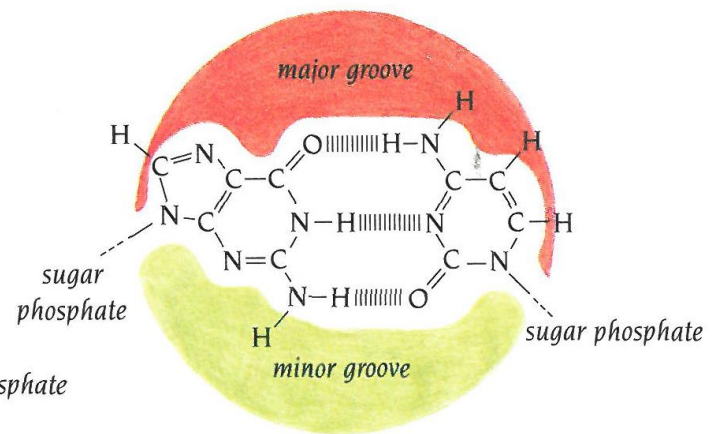
# Interakcije protein-DNA



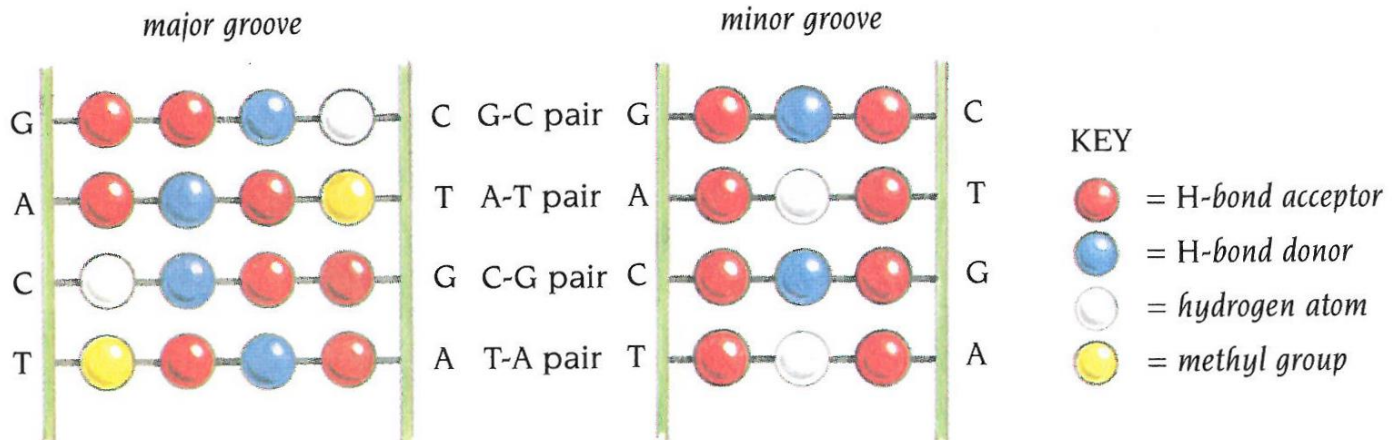
# Struktura DNA



ADENINE : THYMINE

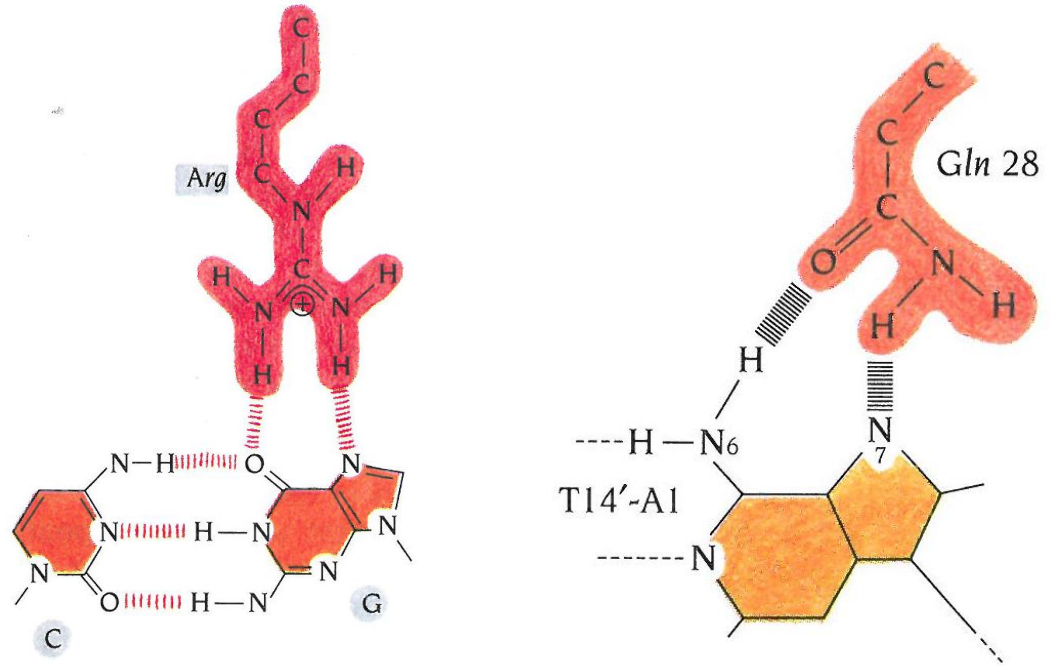


GUANINE : CYTOSINE

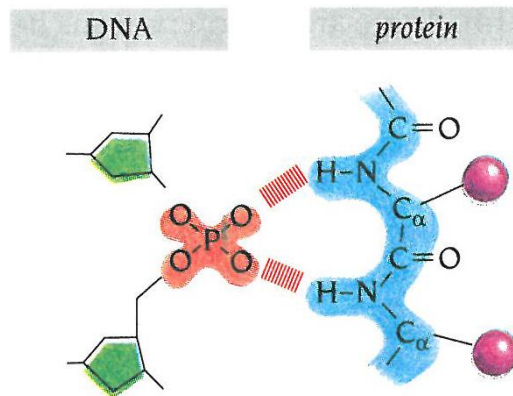


# Interakcije protein-DNA

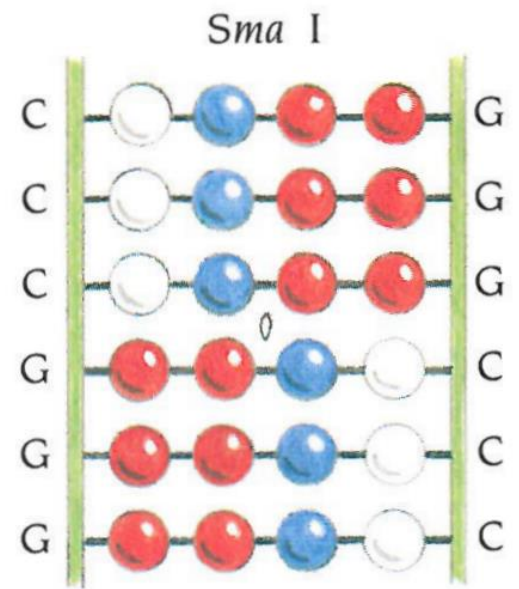
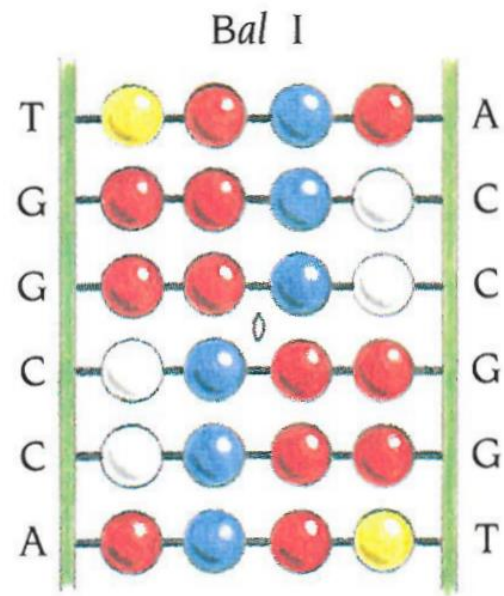
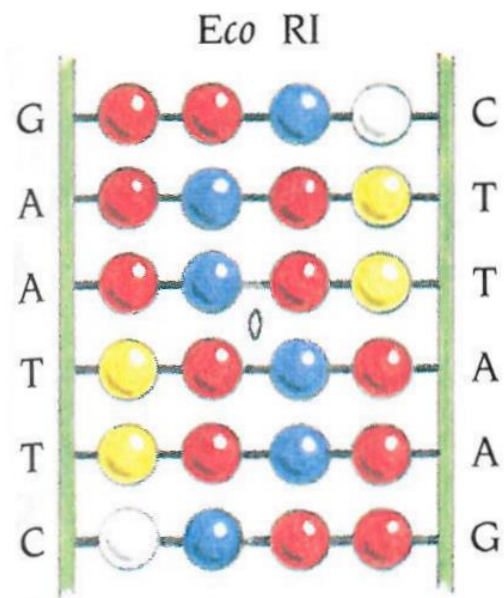
## Specifične interakcije:



## Nespecifične interakcije:



# Interakcije protein-DNA

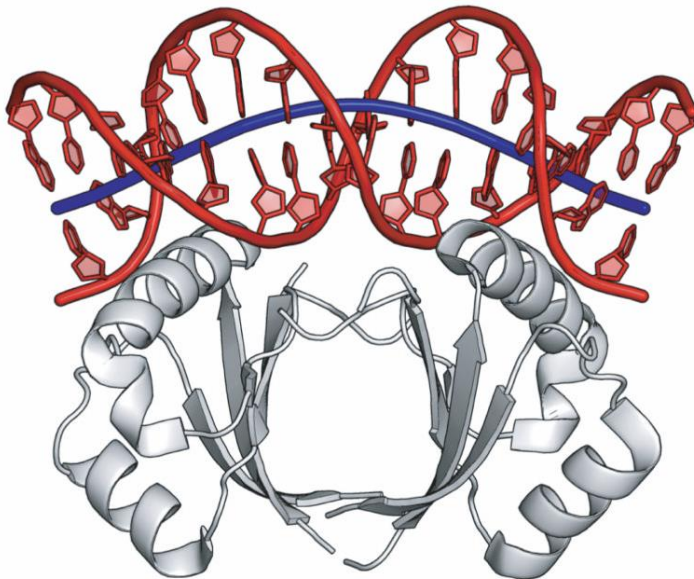




# Inducirane deformacije DNA

## Upogib vijačnice

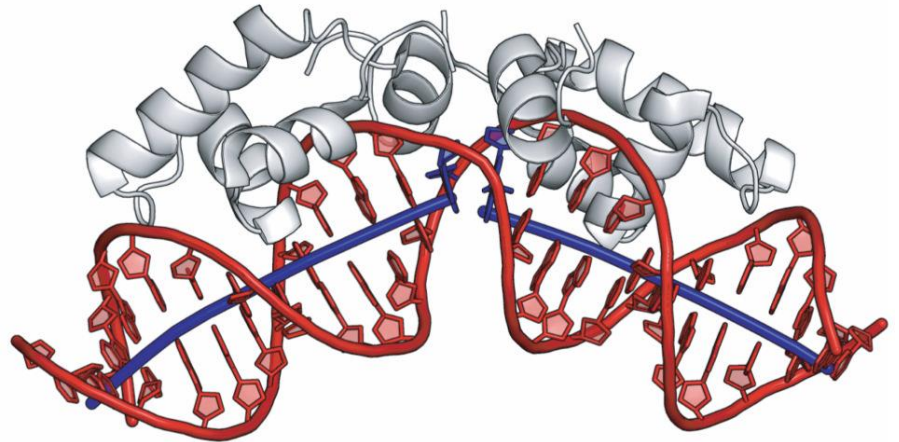
os vijačnice je upognjena kontinuirno preko daljšega segmenta DNA



Bend

## Prelom vijačnice

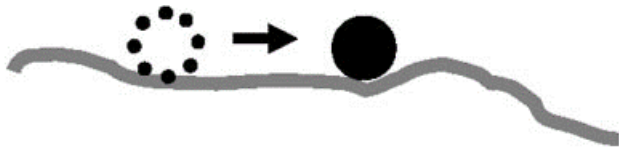
smer osi vijačnice se nenadoma spremeni



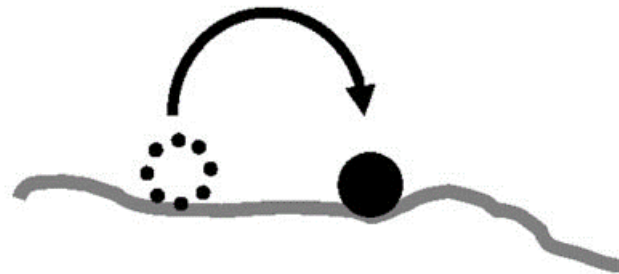
Kink

# Specifično prepoznavanje DNA

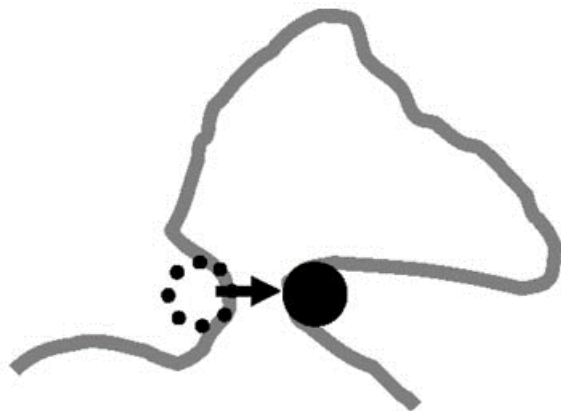
Kako proteini najdejo tarčno zaporedje na DNA?



**Drsenje** – difuzija v eni dimenziji (*EcoRV*)



**Skakanje** – vezava samo na specifično zaporedje (*EcoRI*)

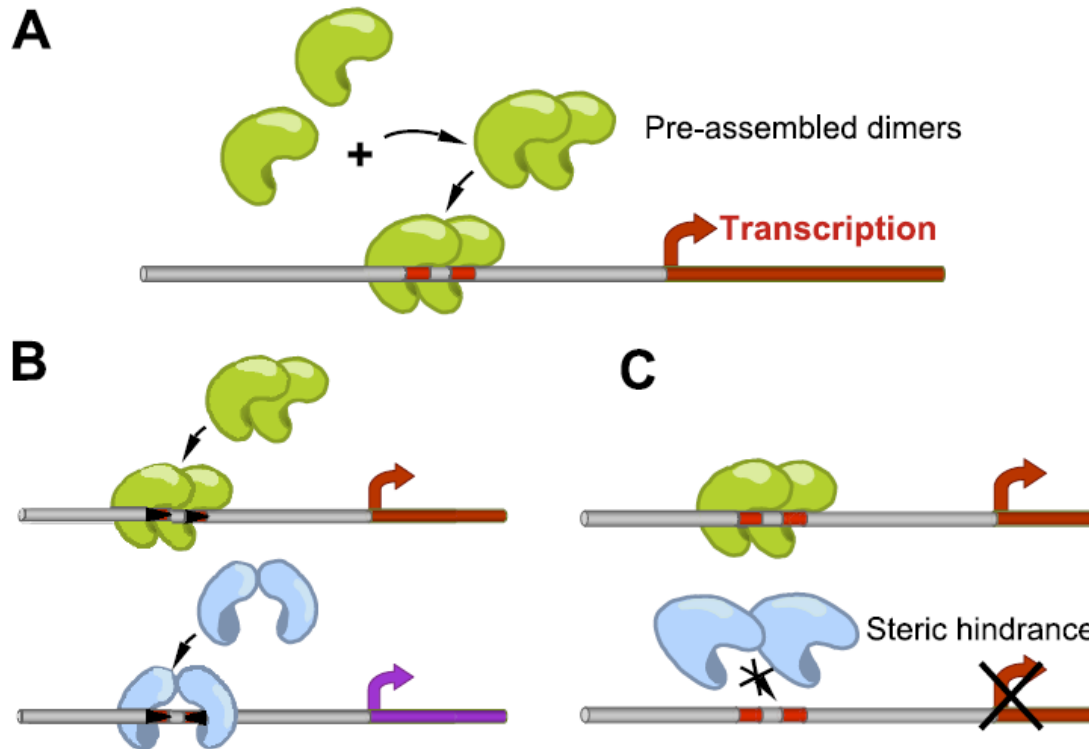


**prenos med segmenti**

# Specifično prepoznavanje DNA

Pomen dimerizacije – vezava vnaprej sestavljenih dimerov

$$K_{dimer} = K_{monomer}^2$$



geometrija  
dimera



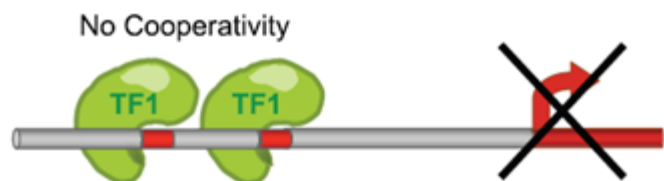
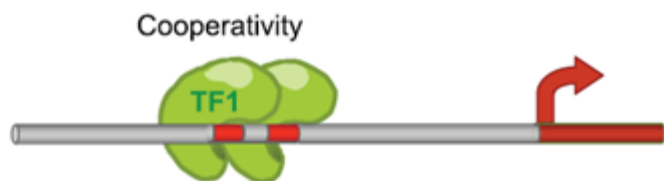
tandemno/  
palindromno  
zaporedje

efekt razdalje  
med zaporedji

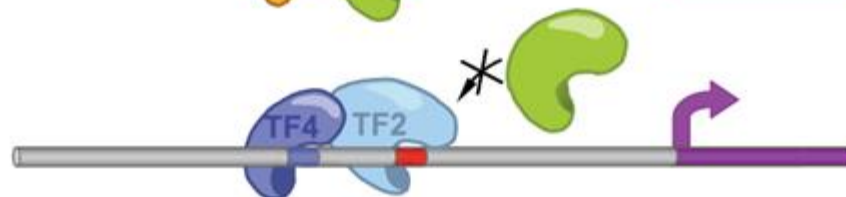
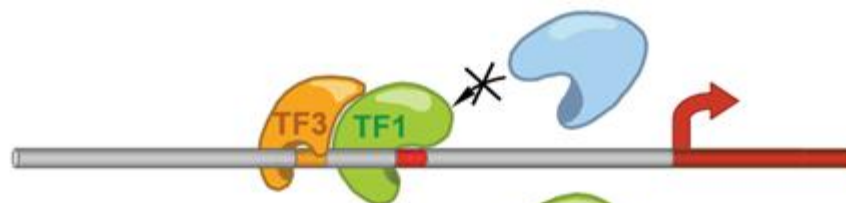
# Specifično prepoznavanje DNA

## Pomen dimerizacije – sestavljanje homo/heterodimerov na DNA

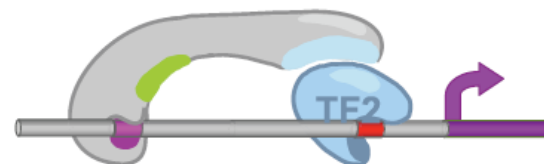
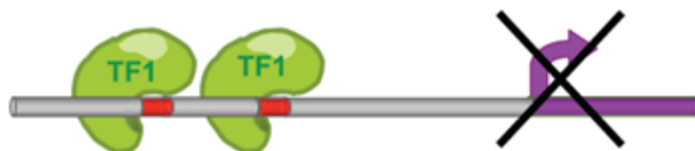
kooperativnost v homooligomerih



interakcije v izključujočih kombinacijah

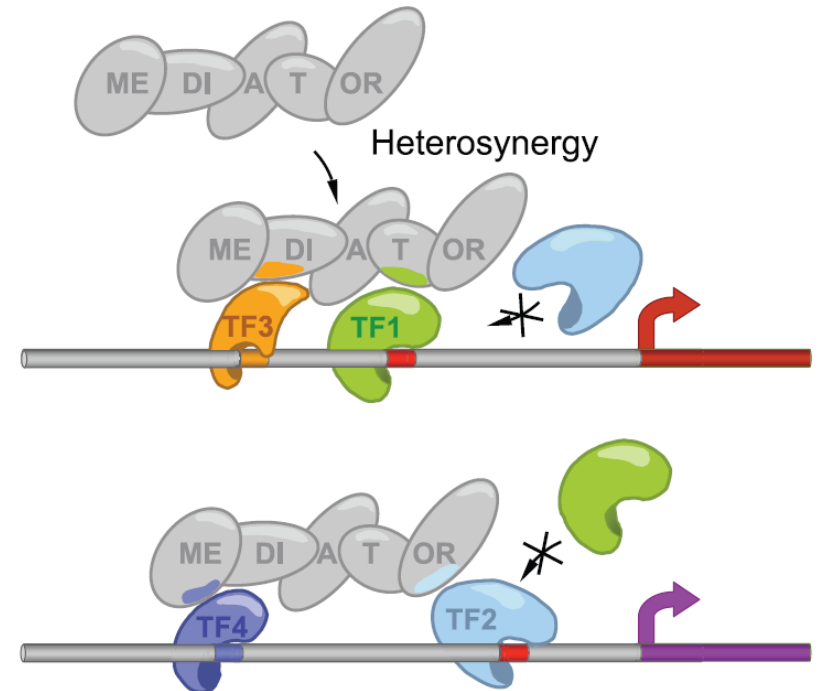
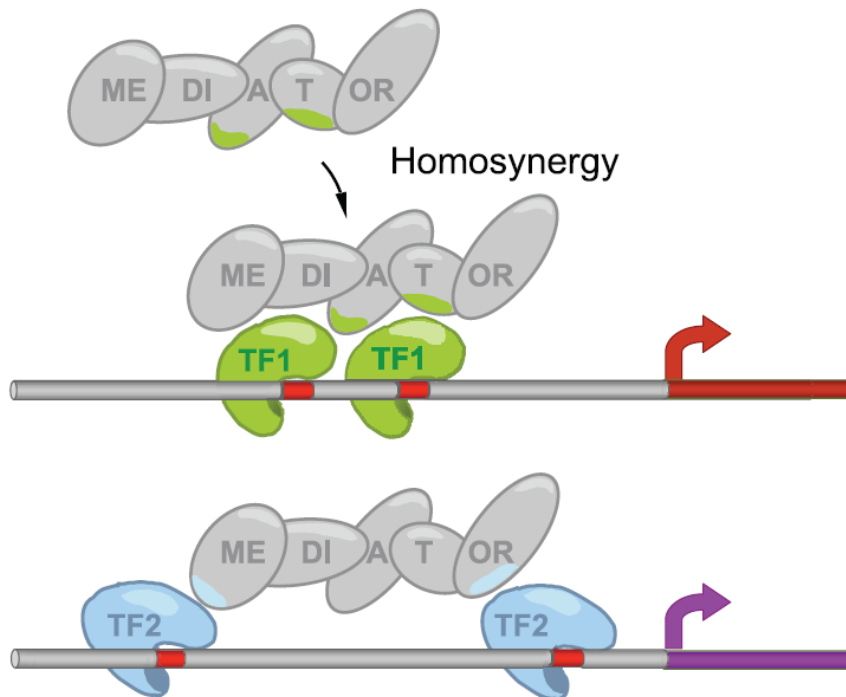


interakcije istega proteina z različnimi partnerji



# Specifično prepoznavanje DNA

Pomen dimerizacije – vezani transkripcijski faktorji rekrutirajo mediatorje (npr. RNAPol) v specifičnih kombinacijah.



# Klasifikacija DNA-vezavnih proteinov glede na DNA-vezavne motive

---

## Pretežno $\alpha$

vijačnica-zavoj-vijačnica (HTH)  
vijačnica-zanka-vijačnica (HLH)  
levcinska zadruga

## Pretežno $\beta$

TATA-vezavni protein  
Imunoglobulinski  $\beta$  sendvič  
 $\beta$ -detelja  
motiv  $\beta$ - $\beta$ - $\beta$

## Mešano $\alpha/\beta$

cinkov prst  
 $\beta$ -pentlja-vijačnica-vijačnica  
ostali

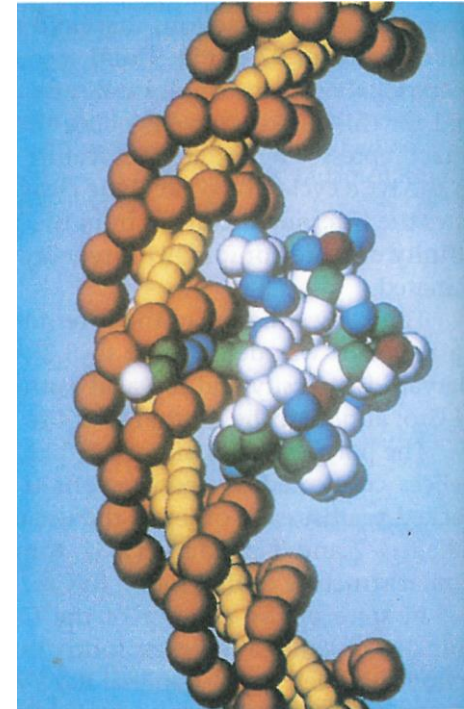
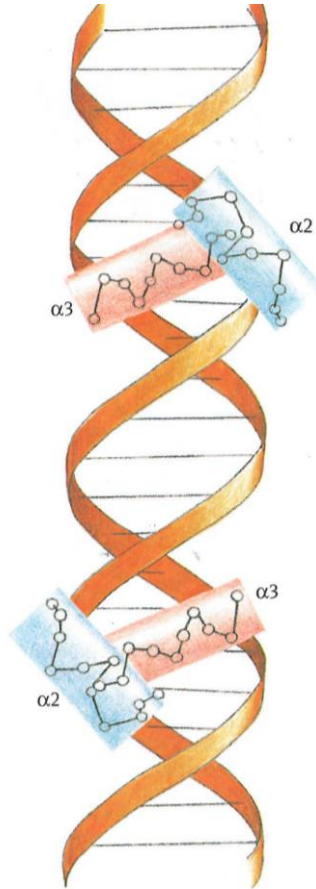
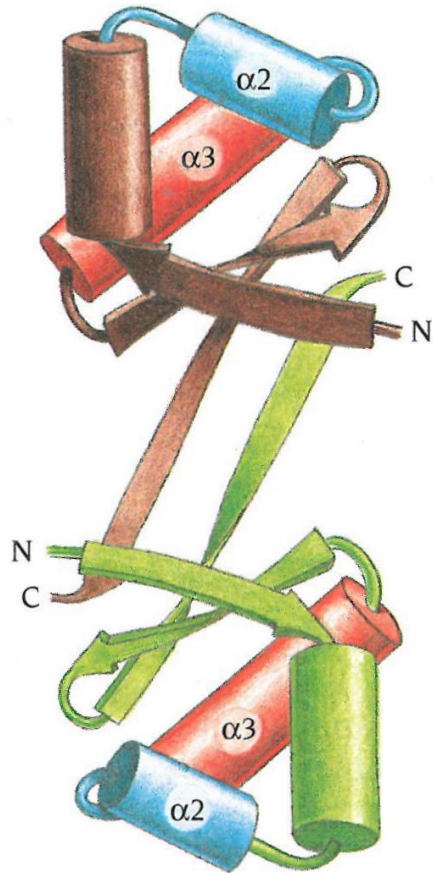
## Encimi

**Kompleksne interakcije** – preko več DNA-vezavnih motivov/domen

**Proteini, ki vežejo enoverižno DNA**

# Motiv HTH

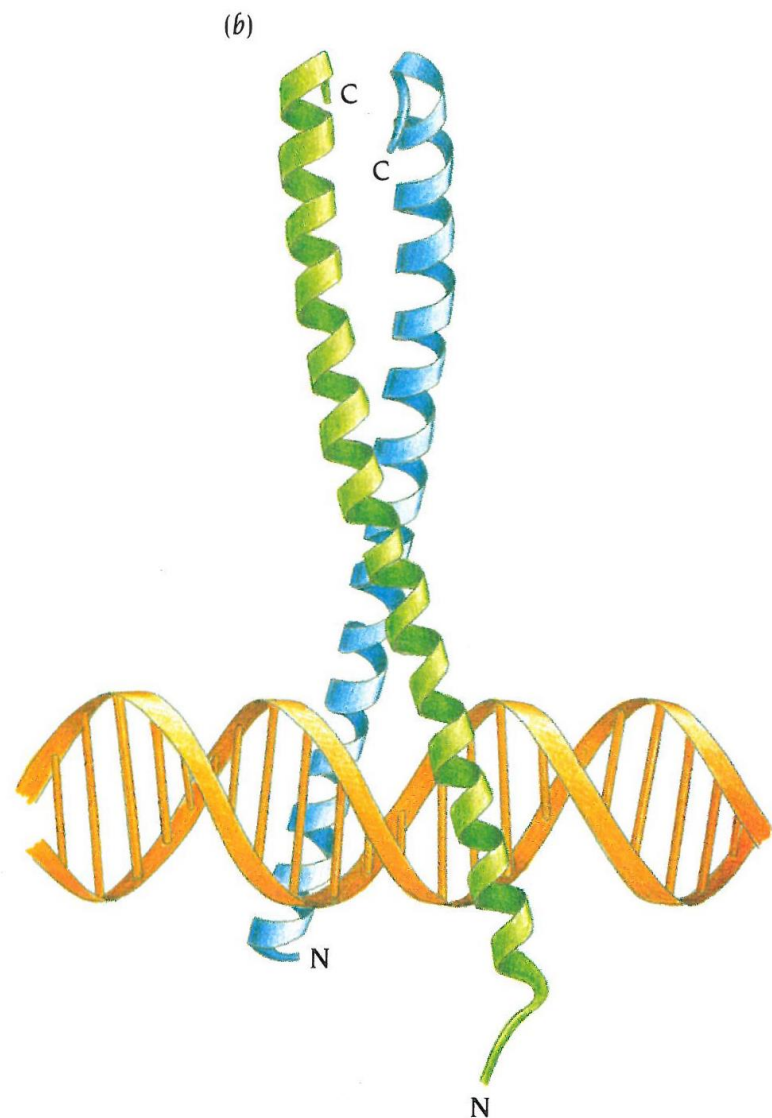
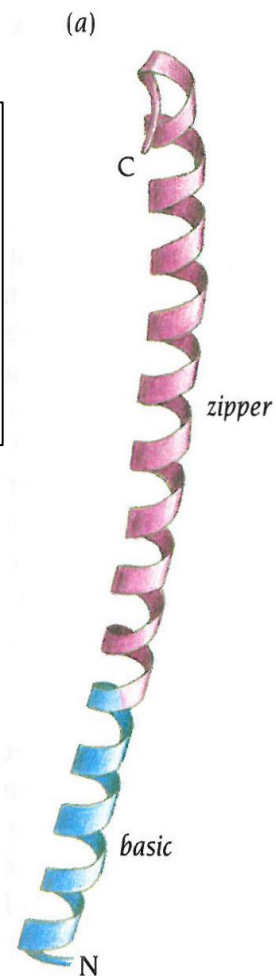
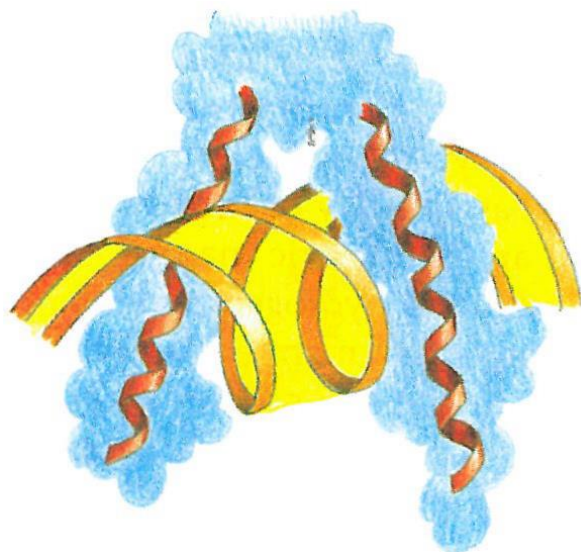
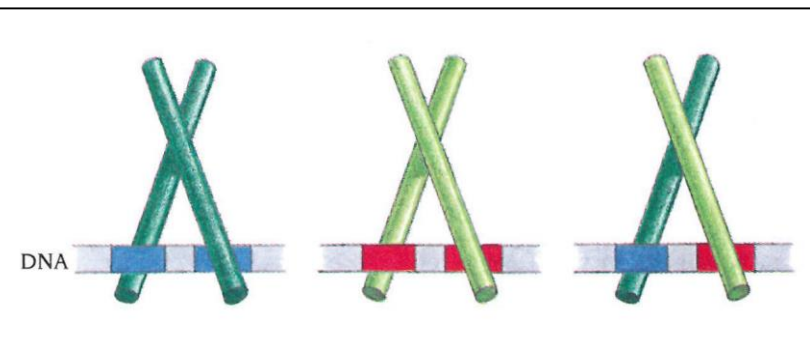
Motiv HTH je najpogostejši DNA vezavni motiv pri bakterijah (in bakteriofagih). Represor **Cro** protein bakteriofaga  $\lambda$  je majhen enodomenski protein (66 ostankov), ki tvori stabilne dimere preko intermolekulske  $\beta$ -ploskve. DNA-vezavni motiv predstavljata vijačnici 2 in 3 ter zavojev med njima. Vijačnica 3 se veže v veliki žleb DNA in ji rečemo *prepoznavna vijačnica*.



# Levcinska zadruga

Proteini z DNA vezavnim motivom levcinske zadrge tvorijo homo- ali heterodimere, s čimer dosežejo visoko specifičnost vezave na DNA.

Primer: kvasni transkripcijski faktor GCN4

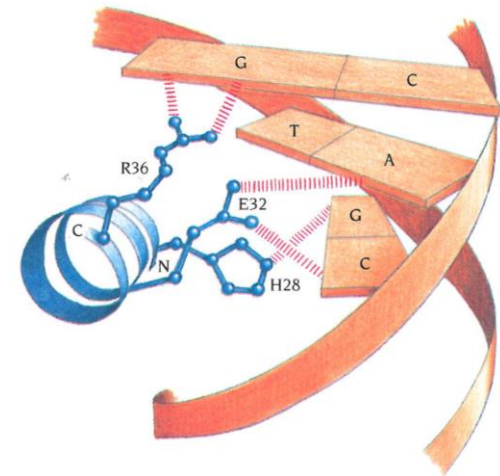
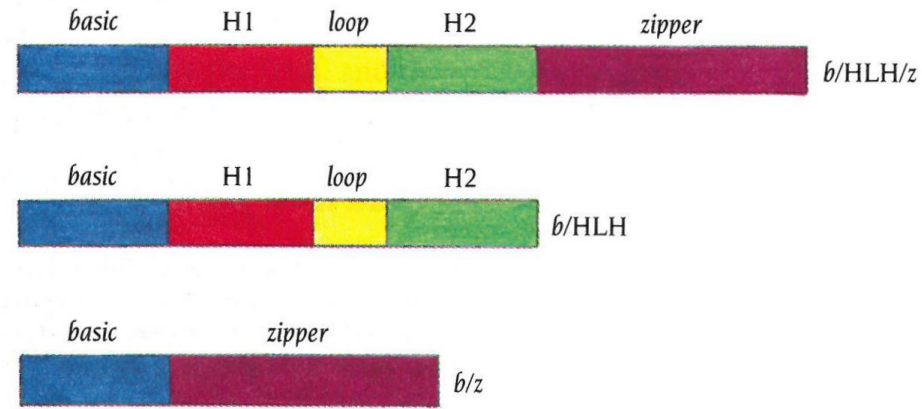
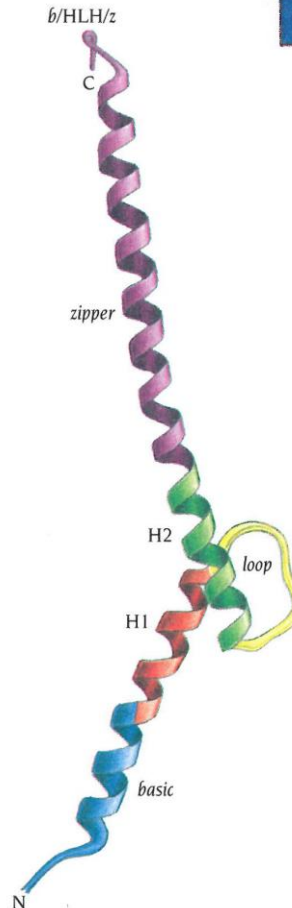
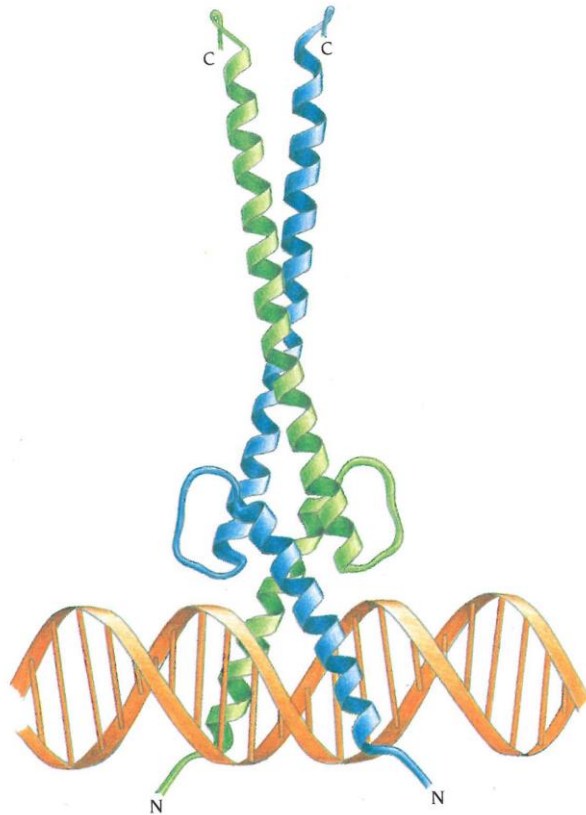




# Motiv HLH

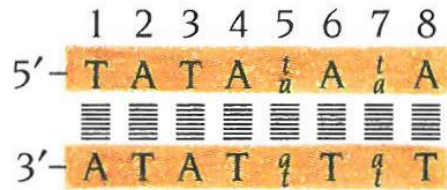
Motiv vijačnica-zanka-vijačnica je sestavljena iz bazične DNA-vezavne vijačnice, zanke in krajše vijačnice. Motiv se pogosto kombinira z levcinsko zadrگو. Člani družine so si med seboj zelo podobni (nad 2/3 identičnih ak). Ponavadi vežejo DNA zaporedja 5'-CANNTG-3'.

Primer: transkripcijski faktor Max

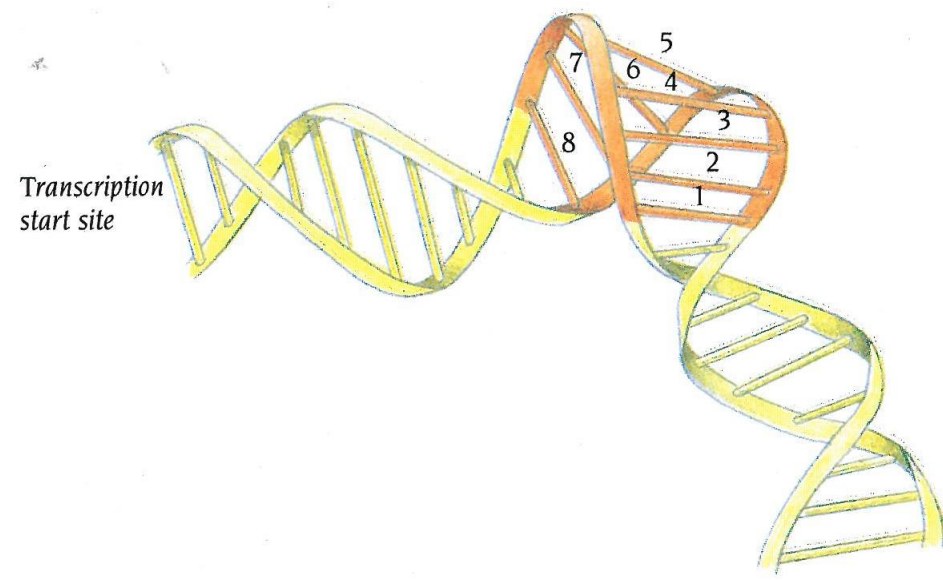
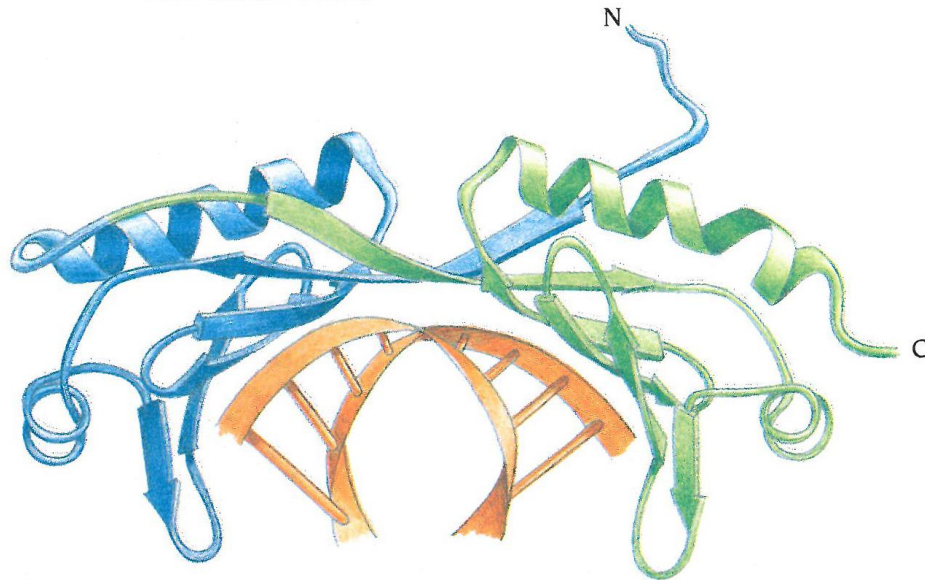
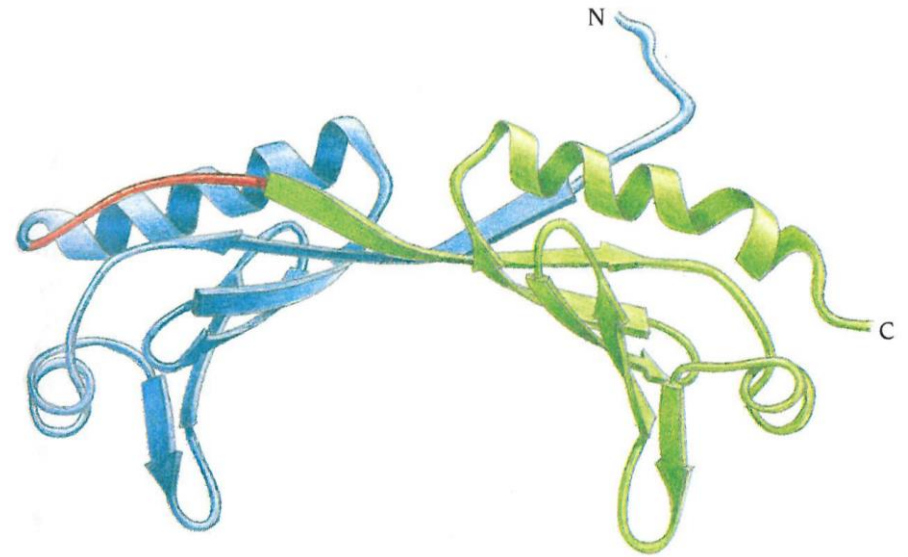


# TATA-vezavni protein

TBP je zgrajen iz dveh tandemnih enot  $\alpha/\beta$  sendviča, ki tvorita kontinuirno antiparalelno beta ploskev v obliki sedla. Veže se v mali žleb DNA in povzroči veliko konformacijsko spremembo. Interakcije so pretežno hidrofobne.



(a) consensus sequence of the TATA box

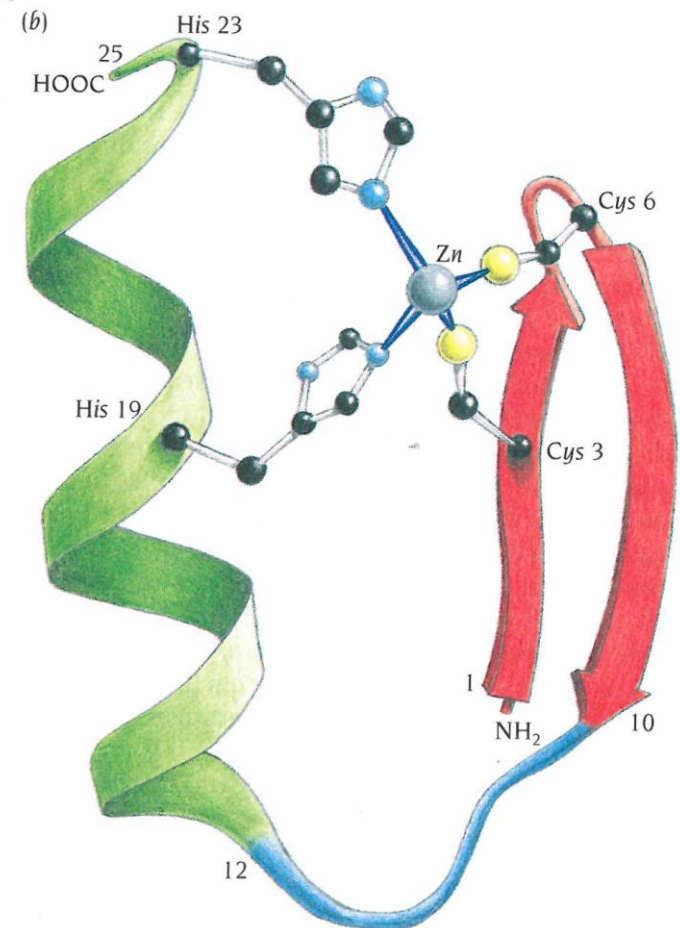
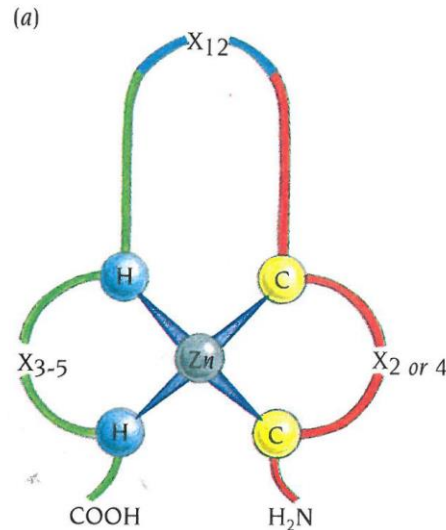


# Cinkovi prsti

Cinkov prst je najbolj znan primer mešanega  $\alpha/\beta$  DNA-vezavnega motiva. Vsebuje ga preko tisoč različnih transkripcijskih faktorjev.

Zgradba klasičnega cinkovega prsta:

Poleg  $\text{Cys}_2\text{His}_2$  motivov poznamo še cinkove prste s  $\text{Cys}_4$ ,  $\text{Cys}_6$ , ... motivi



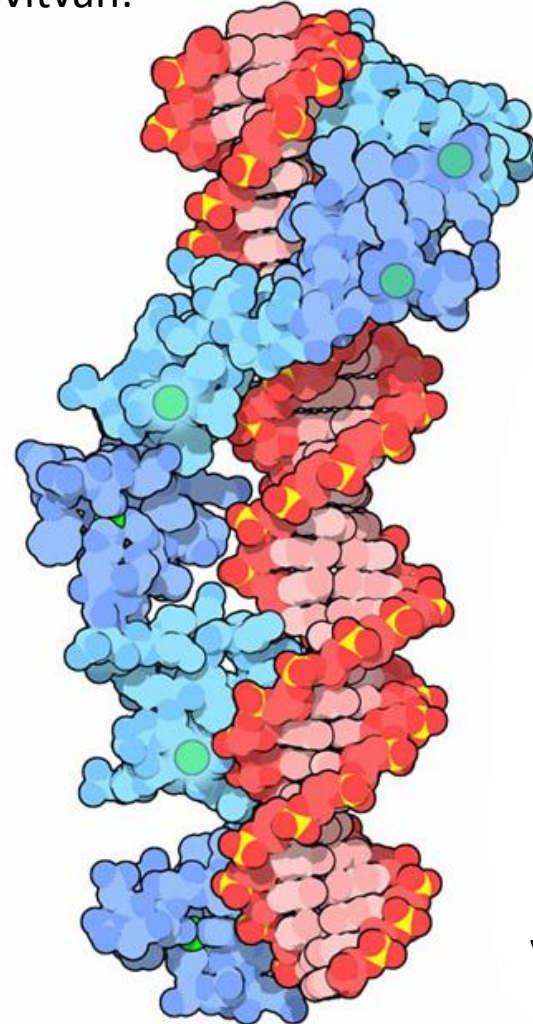
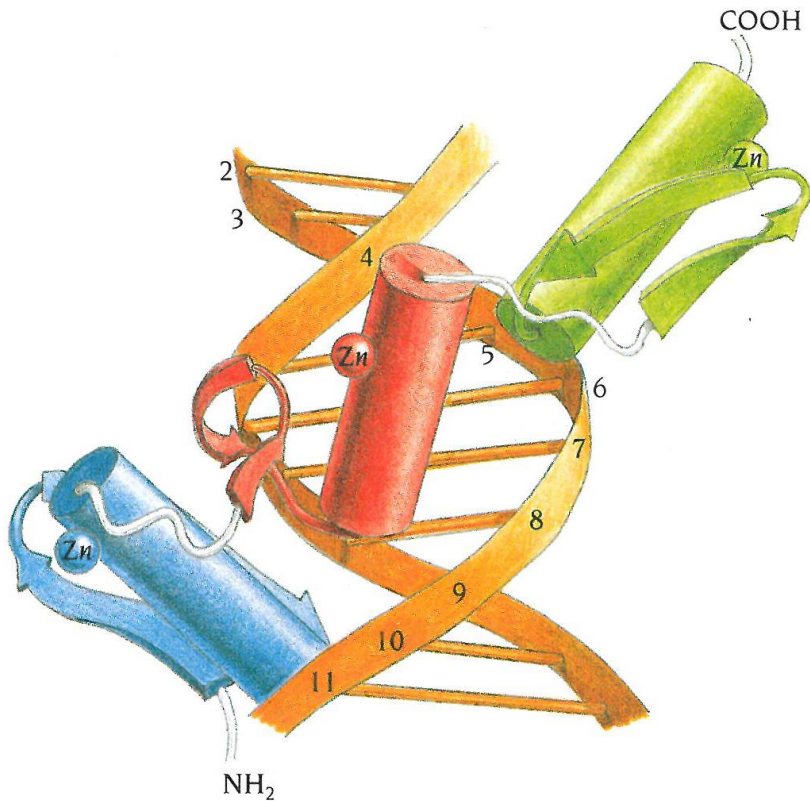
Specifične interakcije z DNA tvori prepoznavna vijačnica, ki prepozna največ 2 do 4 bazne pare.

Vezava posameznega motiva cinkovega prsta na DNA je relativno šibka.

# Cinkovi prsti

Cinkov prst je najbolj znan primer mešanega  $\alpha/\beta$  DNA-vezavnega motiva. Vsebuje ga preko tisoč različnih transkripcijskih faktorjev.

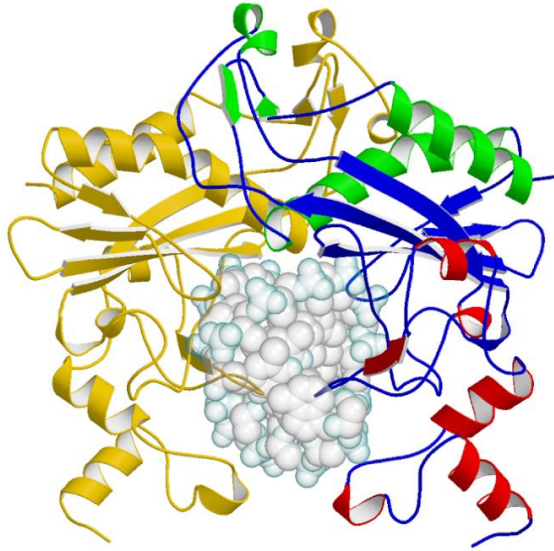
Cinkovi prsti se vežejo na DNA v več tandemnih ponovitvah:



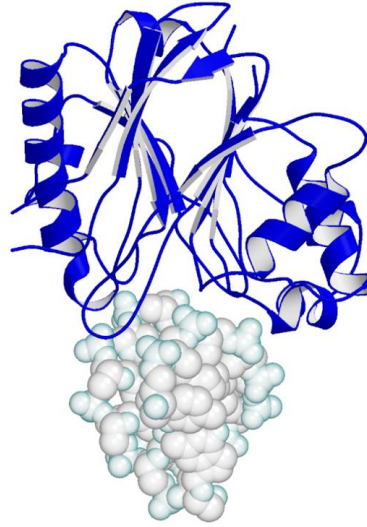
6 zaporednih  
motivov TFIIIA  
vezanih na DNA.

# Encimi

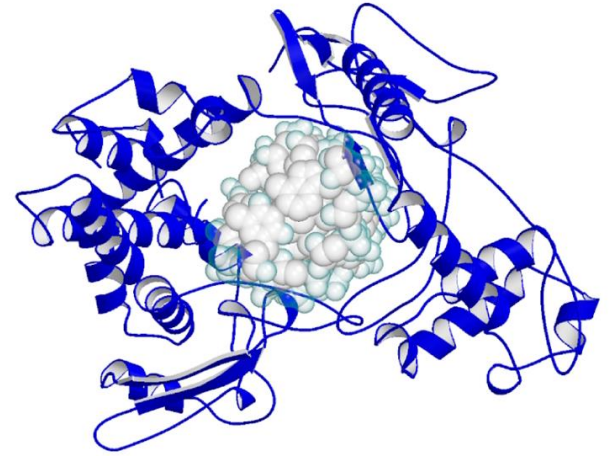
*EcoRV*



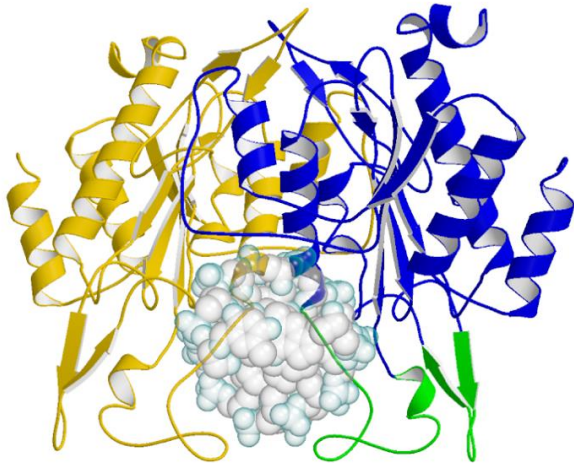
DNaza I



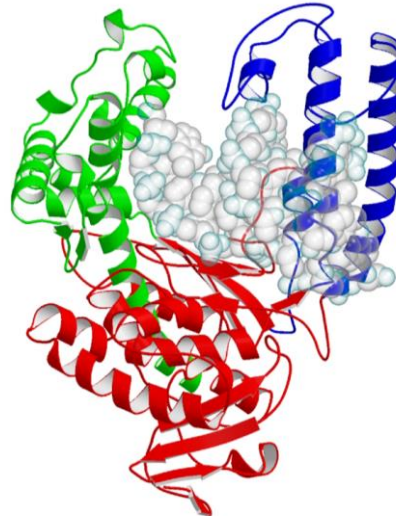
DNA topoisomerasa I



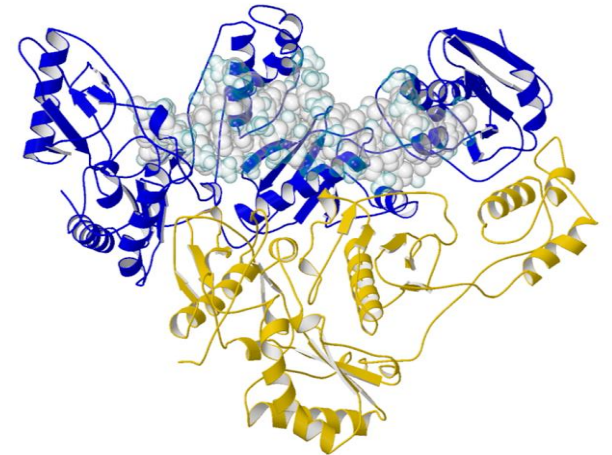
*EcoRI*



DNApol I (*Bacillus*)

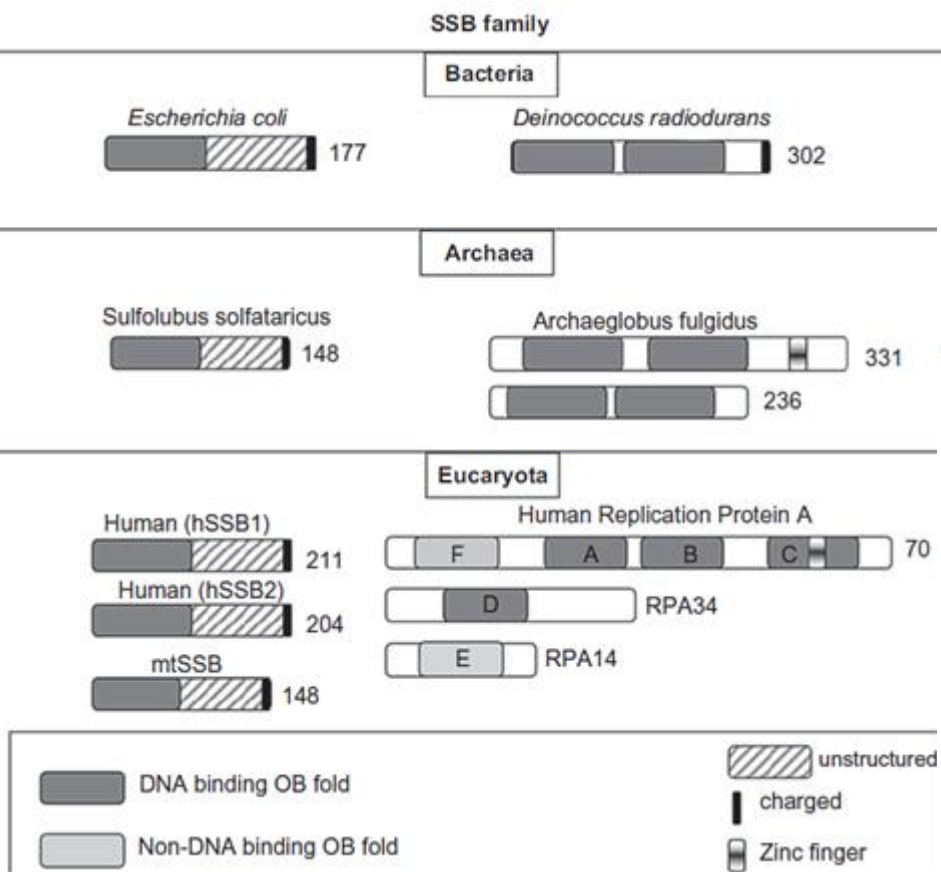


HIV RT

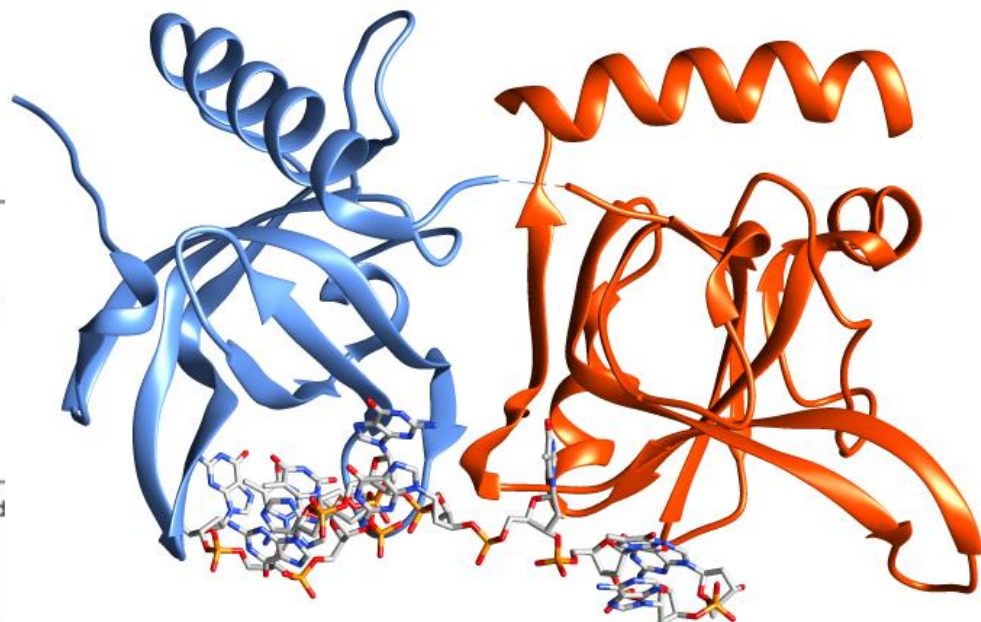


# Proteini, ki vežejo enoverižno DNA

Večina proteinov, ki veže enoverižno DNA, spada v družino proteinov z OB domeno (oligonukleotid/oligosaharid-vezavna domena).



Primer: telomerni protein POT1 z DNA-vezavno regijo iz dveh zaporednih OB domen v kompleksu z dvema ponovitvama GGTTAG.



PDB 3KJP

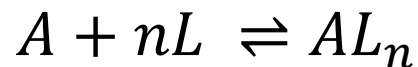
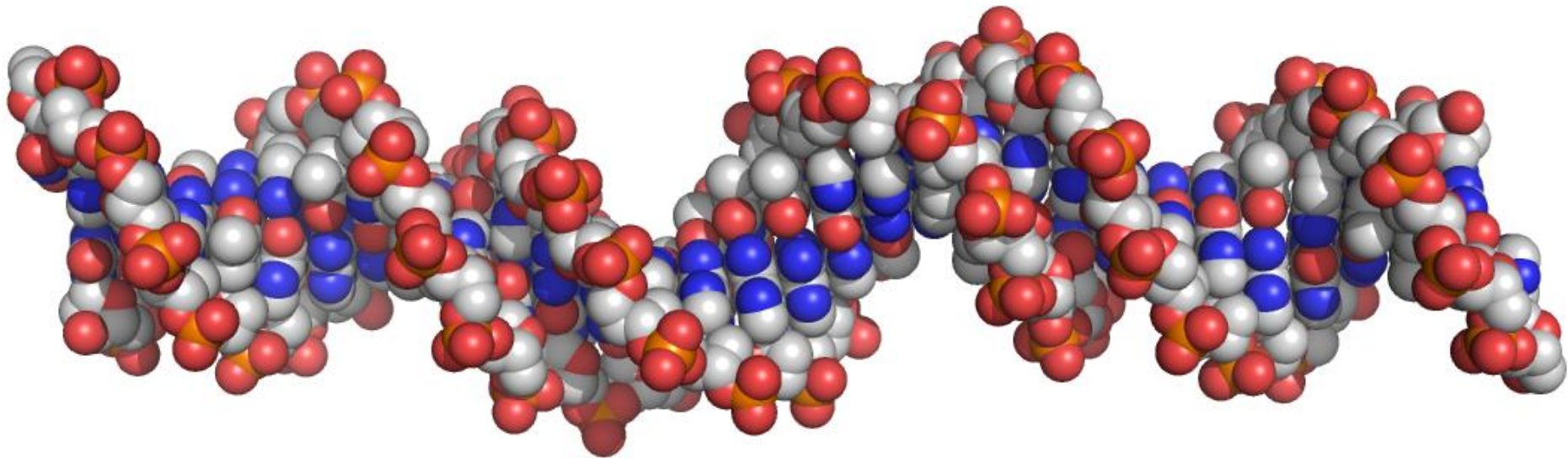
# DNA kot ligand ali receptor

## Obravnavanje DNA kot ligand:

Pri kvantitativni karakterizaciji interakcij *in vitro* lahko DNA tretiramo kot **ligand**, ki se veže na protein. V ta namen je najlažje uporabiti sintetične oligonukleotide različnih dolžin in sestave.

## Obravnavanje DNA kot receptor:

DNA je linearen polimer – model **receptorja** z  $n$  (veliko) vezavnimi mesti za majhne ligande.

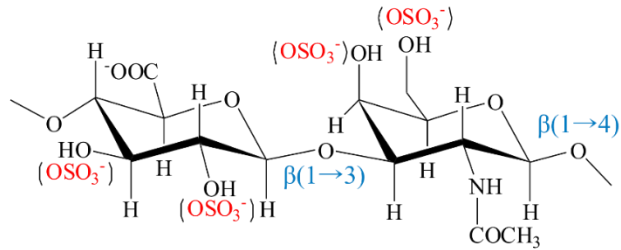




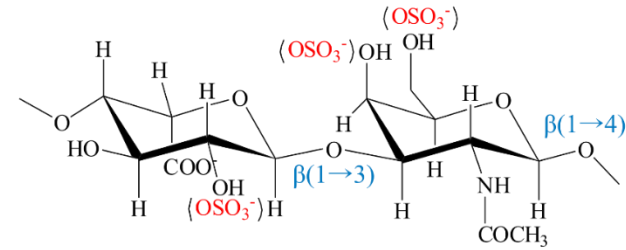


# Glikozaminoglikani

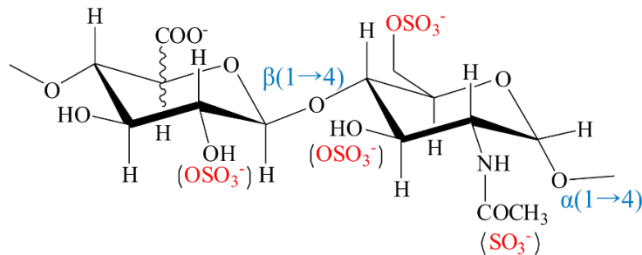
Linearni negativno nabiti polimeri iz ponavljajočih se disaharidnih enot. Tako kot DNA jih lahko tretiramo kot ligande proteinov ali pa receptorje z  $n$  vezavnimi mesti za ligande (npr. katione).



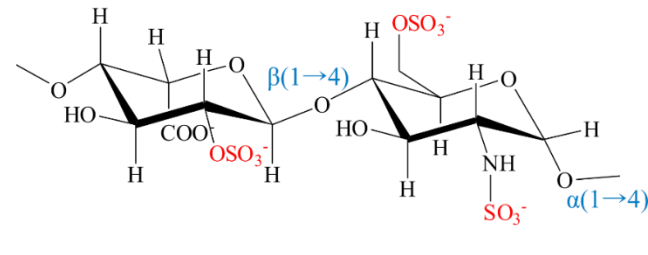
chondroitin sulfat



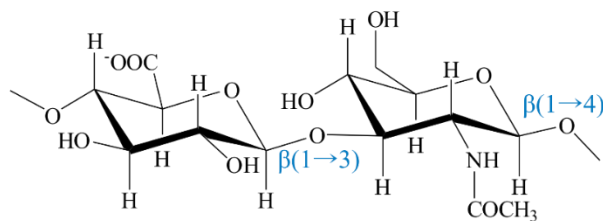
dermatan sulfat



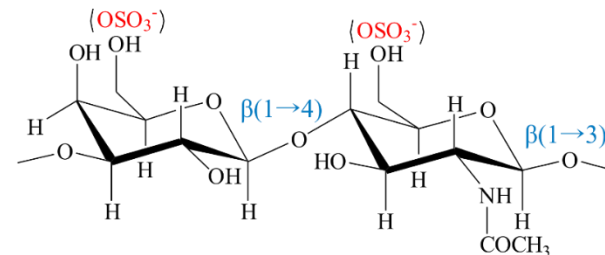
heparan sulfat



heparin



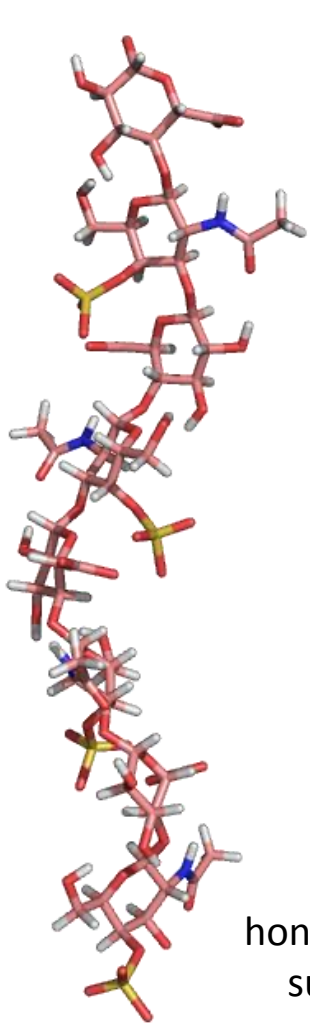
hyaluronan



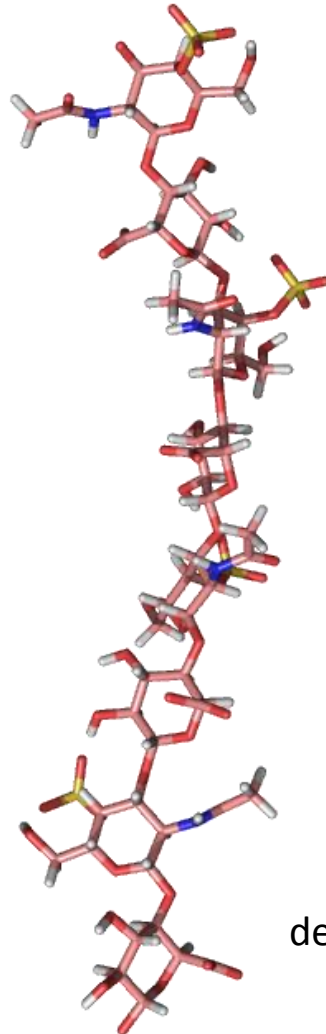
keratan sulfat

# Glikozaminoglikani

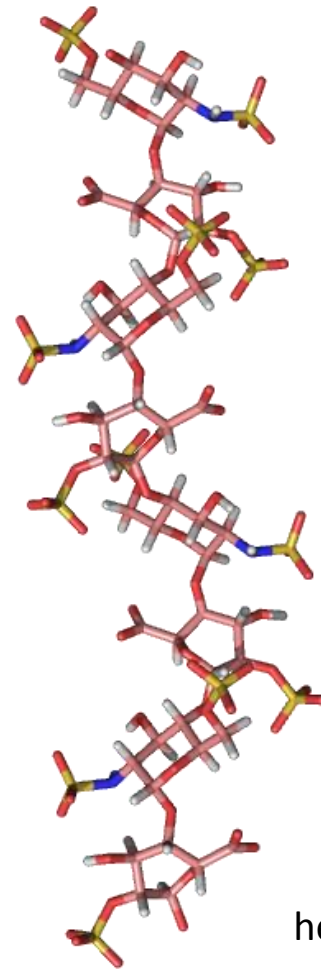
Linearni negativno nabiti polimeri iz ponavljajočih se disaharidnih enot. Tako kot DNA jih lahko tretiramo kot ligande proteinov ali pa receptorje z  $n$  vezavnimi mesti za ligande (npr. katione).



hondroitin  
sulfat



dermatan  
sulfat



heparin