



# Конформационные особенности сайтов связывания транскрипционных факторов

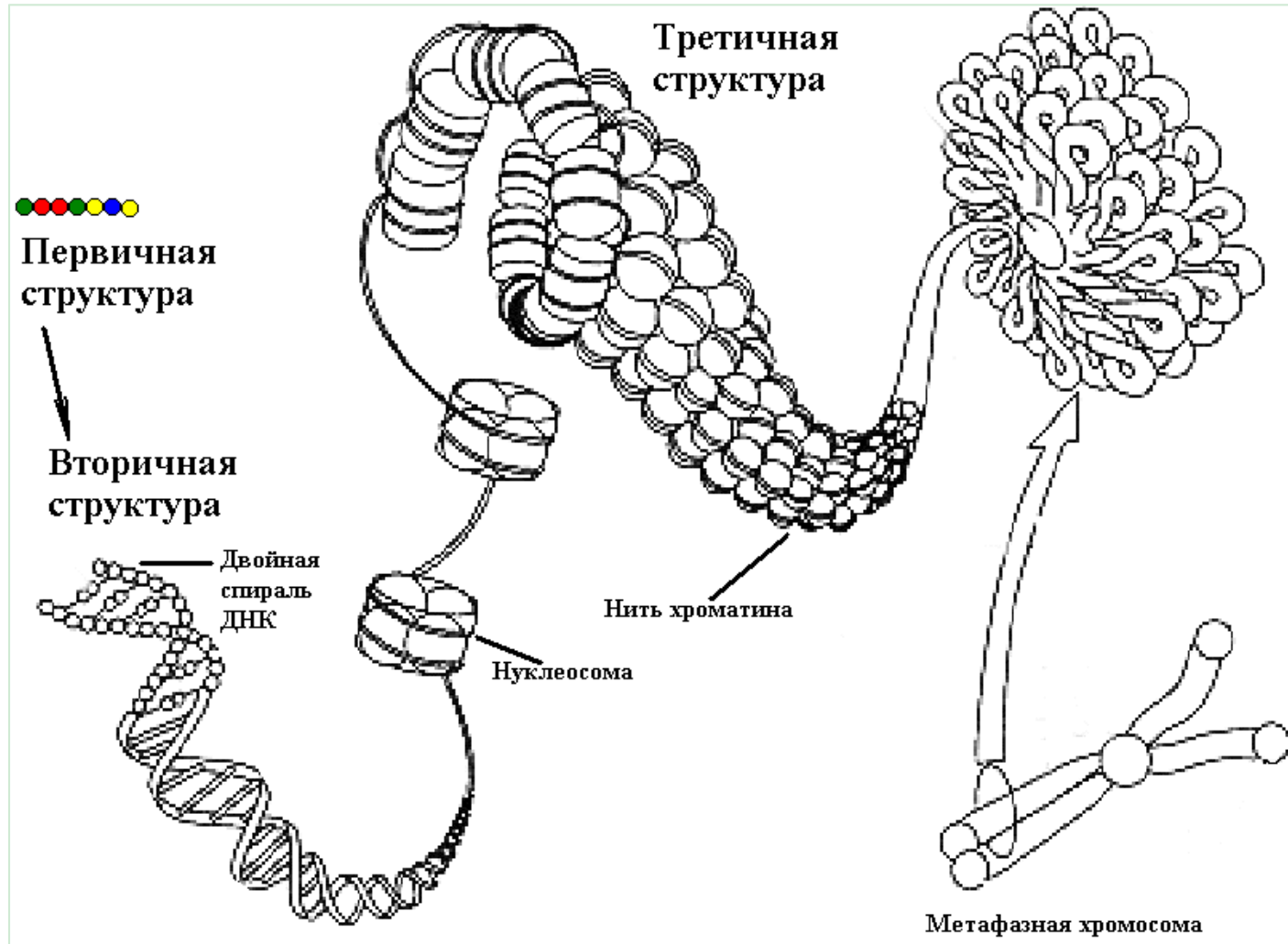
*Ощепков Дмитрий Юрьевич*

*м.н.с. лаб. теоретической генетики*

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

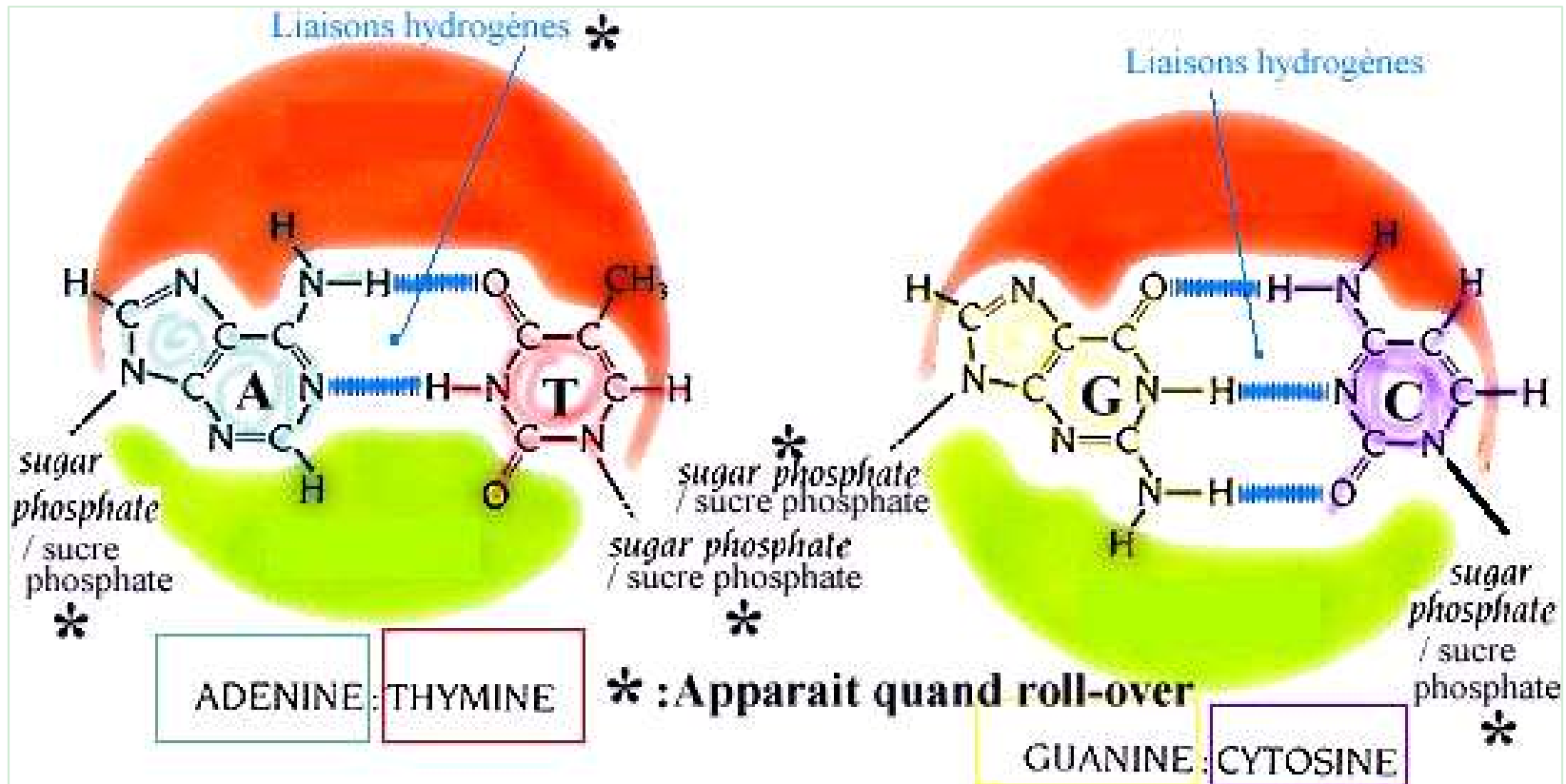


# Напоминание: структура ДНК



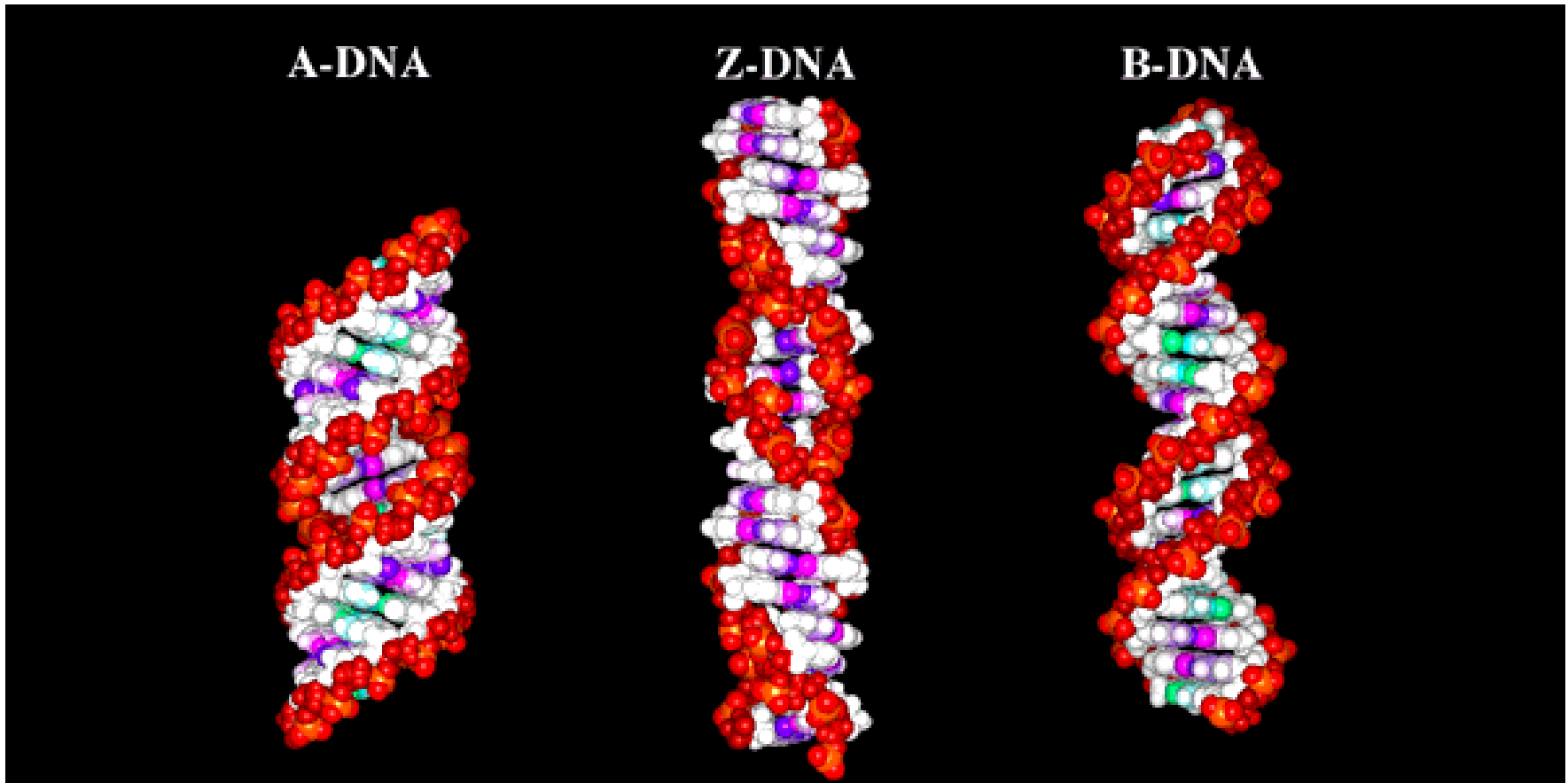


# Напоминание: структура ДНК



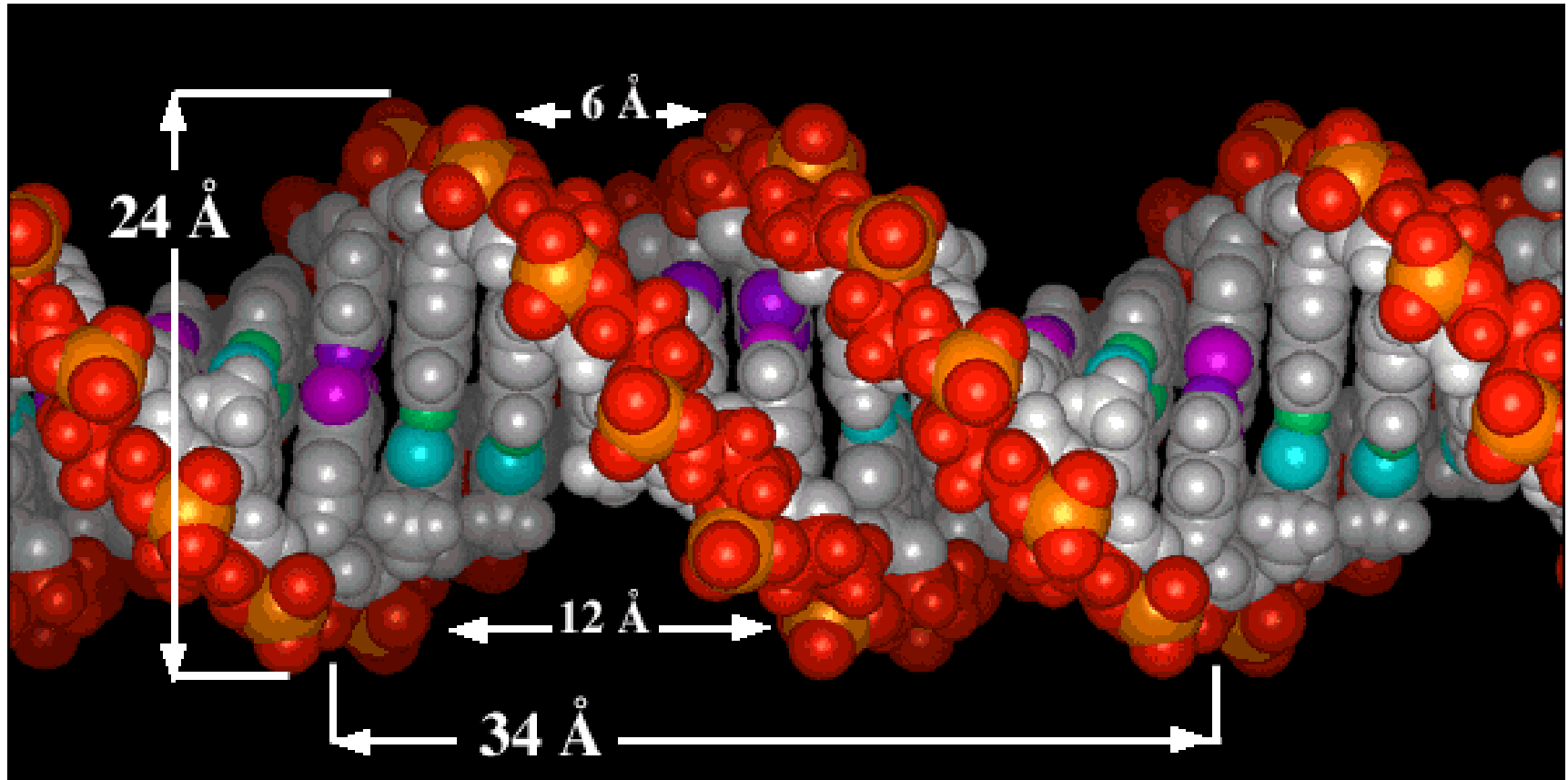


# Напоминание: структура ДНК





# Напоминание: структура ДНК



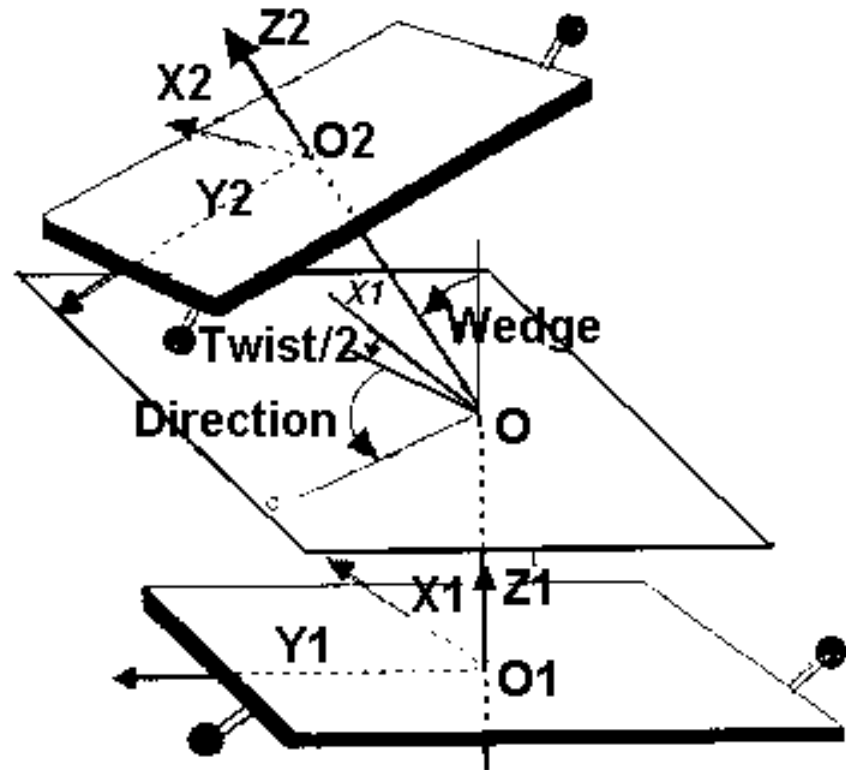
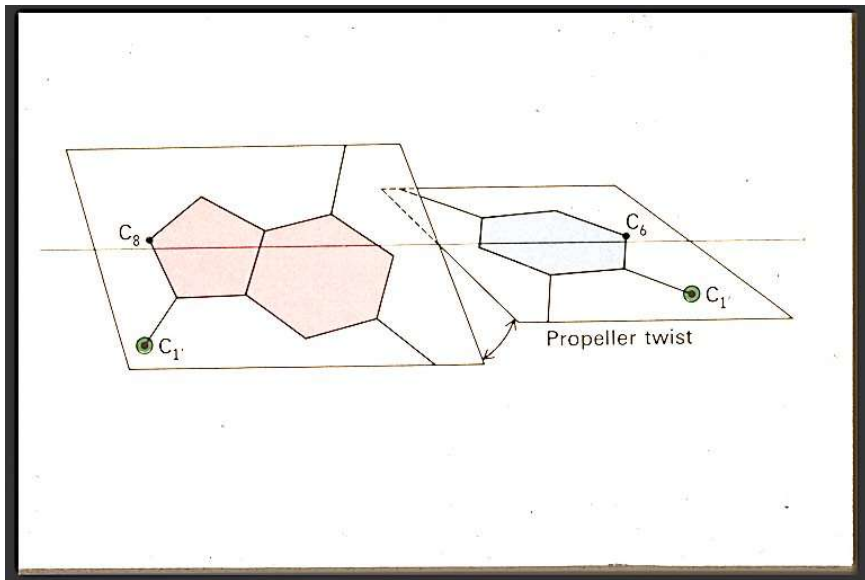
Watson, J.D., Crick, F.H.C., A structure of deoxyribose nucleic acid, *Nature*, 171, 737-738 (1953)



- **Триплетный (генетический) код**
  - **Код укладки РНК**
  - **Хроматиновый код**
  - **Конформационный код**
- и т.д. (Трифонов, 1997)**

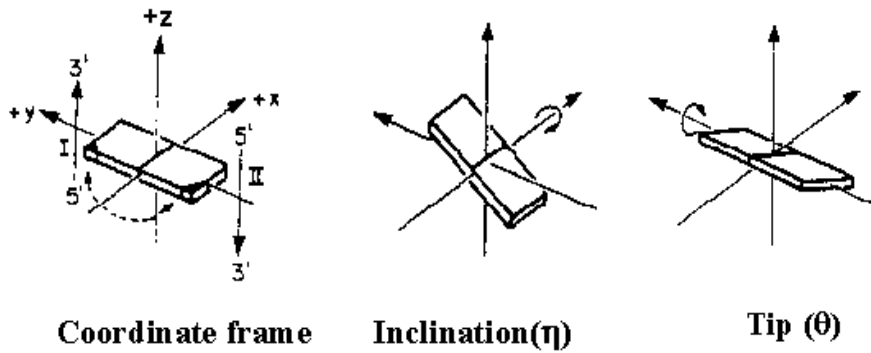
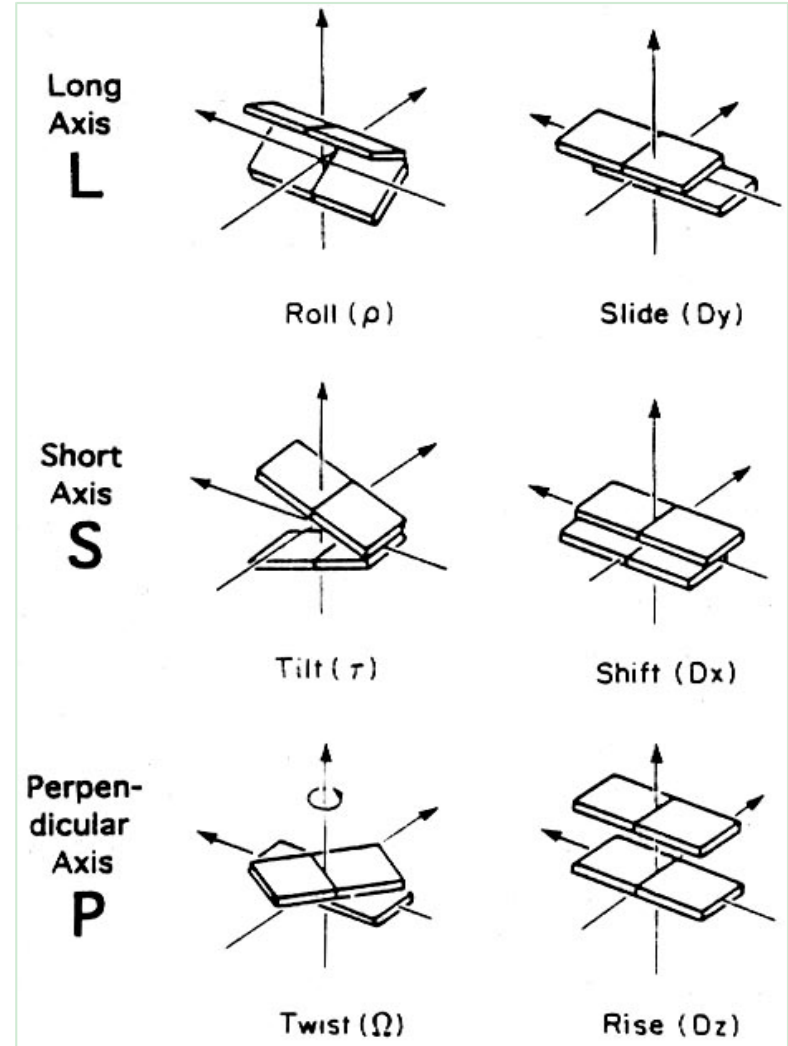
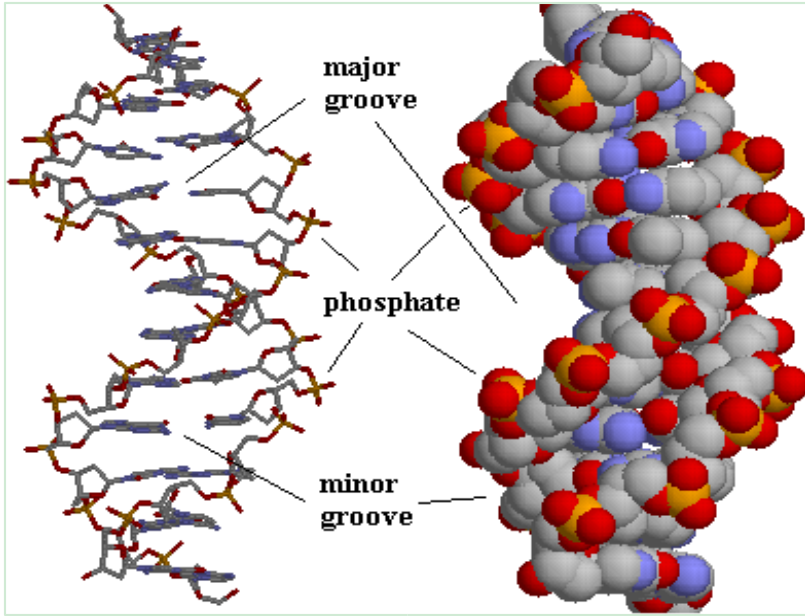


# Конформационные свойства ДНК





# Конформационные свойства ДНК







# Конформационные свойства ДНК



<b>Dinucleotide</b>	<b>Roll</b>	<b>Slide</b>	<b>Tilt</b>	<b>Rise</b>	<b>Twist</b>
AA	0.3	-0.1	0.5	3.16	35.3
AT	-0.8	-0.4	0.0	3.89	31.2
AG	4.5	0.4	2.8	3.63	31.2
AC	0.5	-0.2	0.1	3.41	32.6
TA	2.8	0.9	0.0	3.21	40.5
TT	0.3	-0.1	0.5	3.16	35.3
TG	0.5	1.6	-0.7	3.23	32.6
TC	-1.3	0.0	0.9	3.47	40.3
GA	-1.3	0.0	0.9	3.47	40.3
GT	0.5	-0.2	0.1	3.41	32.6
GG	6.0	0.8	2.7	4.08	33.3
GC	-6.2	0.4	0.0	3.81	37.3
CA	0.5	1.6	-0.7	3.23	39.2
CT	4.5	0.4	2.8	3.63	31.2
CG	-6.2	0.7	0.0	3.60	36.6
CC	6.0	0.8	2.7	4.08	33.3



# Конформационные свойства ДНК



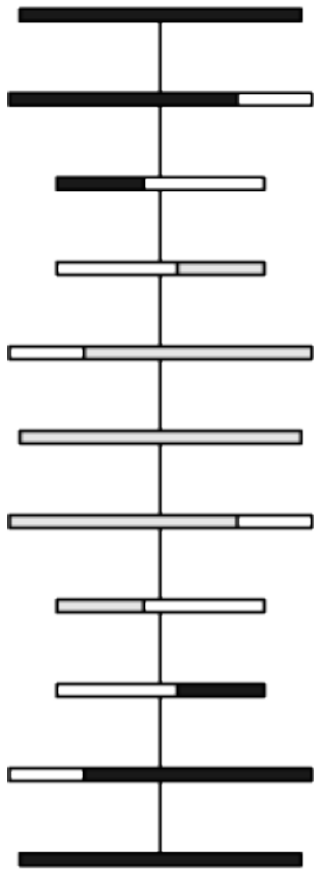
Параметр	Единица	Границы изменения, [мин; макс]
Угол твист в ДНК-белковых комплексах Twist in protein-DNA complexes	градус	[29.3; 39.5]
Угол ролл в ДНК-белковых комплексах Roll in protein-DNA complexes	градус	[-2.0; 6.3]
Угол тилт в ДНК-белковых комплексах Tilt in protein-DNA complexes	градус	[-0.1; 1.9]
Угол клина свободной ДНК Wedge angle in free DNA	градус	[1.1; 8.4]
Угол направления свободной ДНК Direction in free DNA	градус	[-154; 180]
Персистентная длина Persistence length	нм	[20; 130]
Температура плавления Melting temperature	°C	[36.7; 136.1]
Вероятность контакта с нуклеосомным кором Probability to contact with nucleosome core	%	[1; 18]
Propeller twist for B-DNA Угол пропеллерного закручивания	градус	[-17.3; -6.7]
Размер большой бороздки В-ДНК Major groove size for B-DNA	Å	[3.26; 4.70]
Изменение энтальпии Enthalpy change	$\frac{\text{ккал}}{\text{моль}}$	[-11.8; -5.6]
Изменение энтропии Entropy change	$\frac{\text{ккал}}{\text{моль} \times \text{К}}$	[-28.4; -15.2]
Изменение свободной энергии Free energy change	$\frac{\text{ккал}}{\text{моль}}$	[-2.8; -0.9]



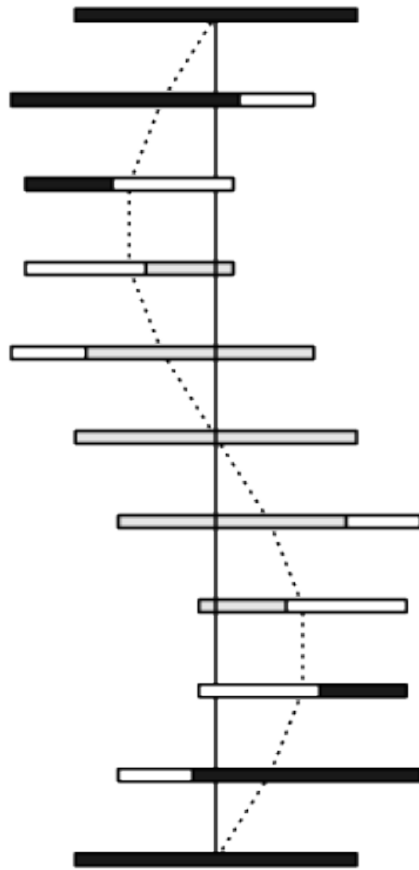
# Конформационные свойства ДНК



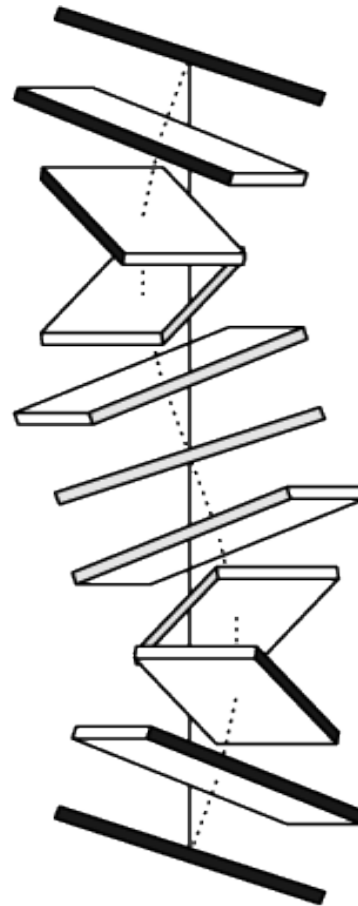
## Зависимость конформации молекулы ДНК от конформационных параметров



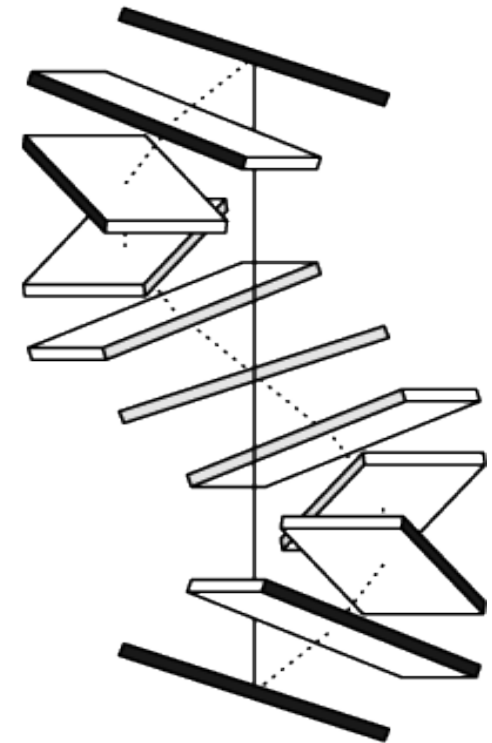
Roll = 0°, Slide = 0Å



Roll = 0°, Slide = -2Å



Roll = 12°, Slide = 0Å



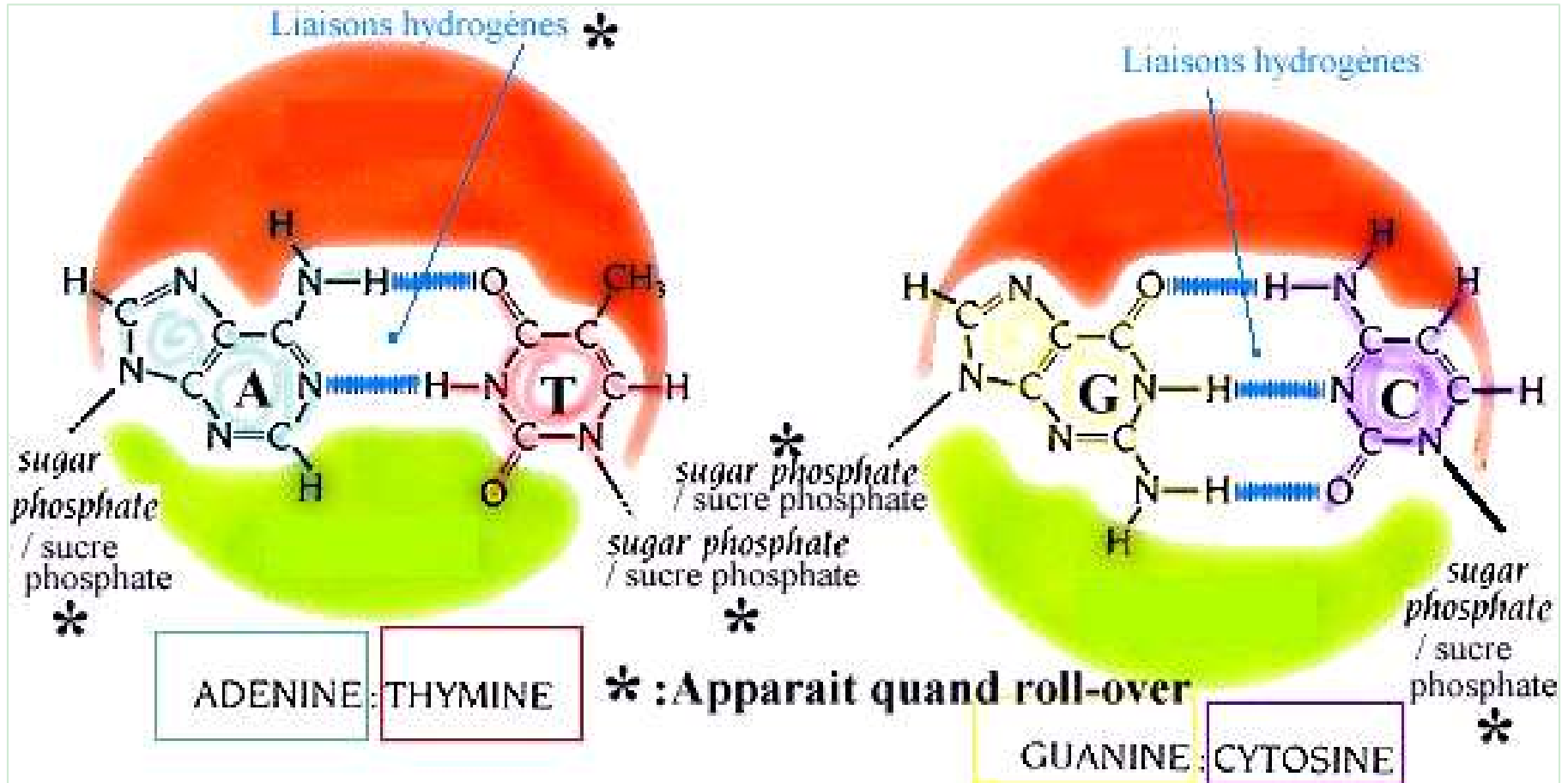
Roll = 12°, Slide = -2Å



# Конформационные свойства ДНК



Зависимость конформационных параметров ДНК от стерических взаимодействий экзоциклических групп NH<sub>2</sub> и O в бороздках спирали





# Физико – химические свойства ДНК

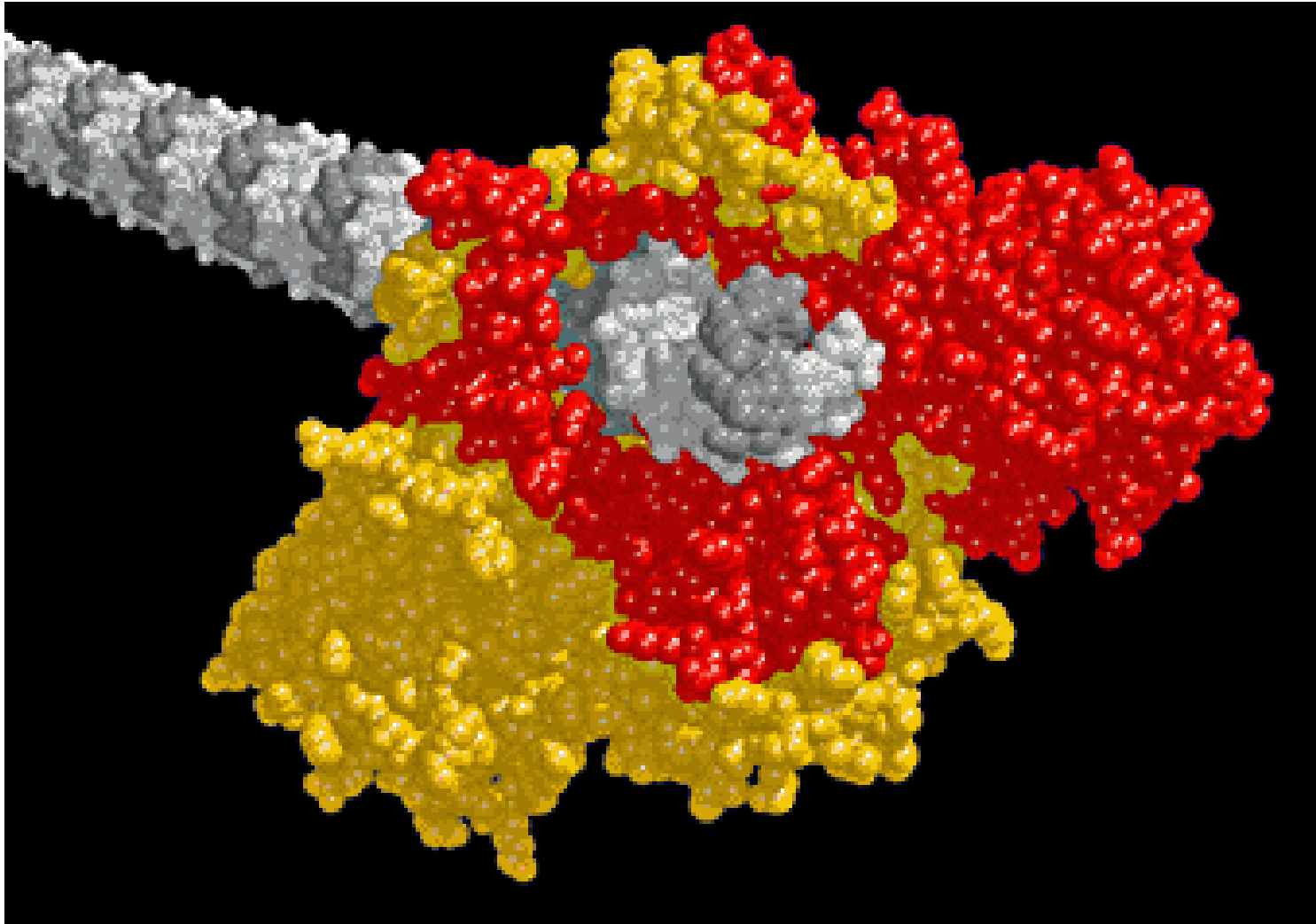


Физико-химические свойства – это характеристика того, как молекула ДНК реагирует на внешние взаимодействия.

- 1. Температура плавления*
  - 2. Изгибная жесткость*
  - 3. Персистентная длина*
  - 4. Заряд*
- ...



# ДНК - белковые взаимодействия

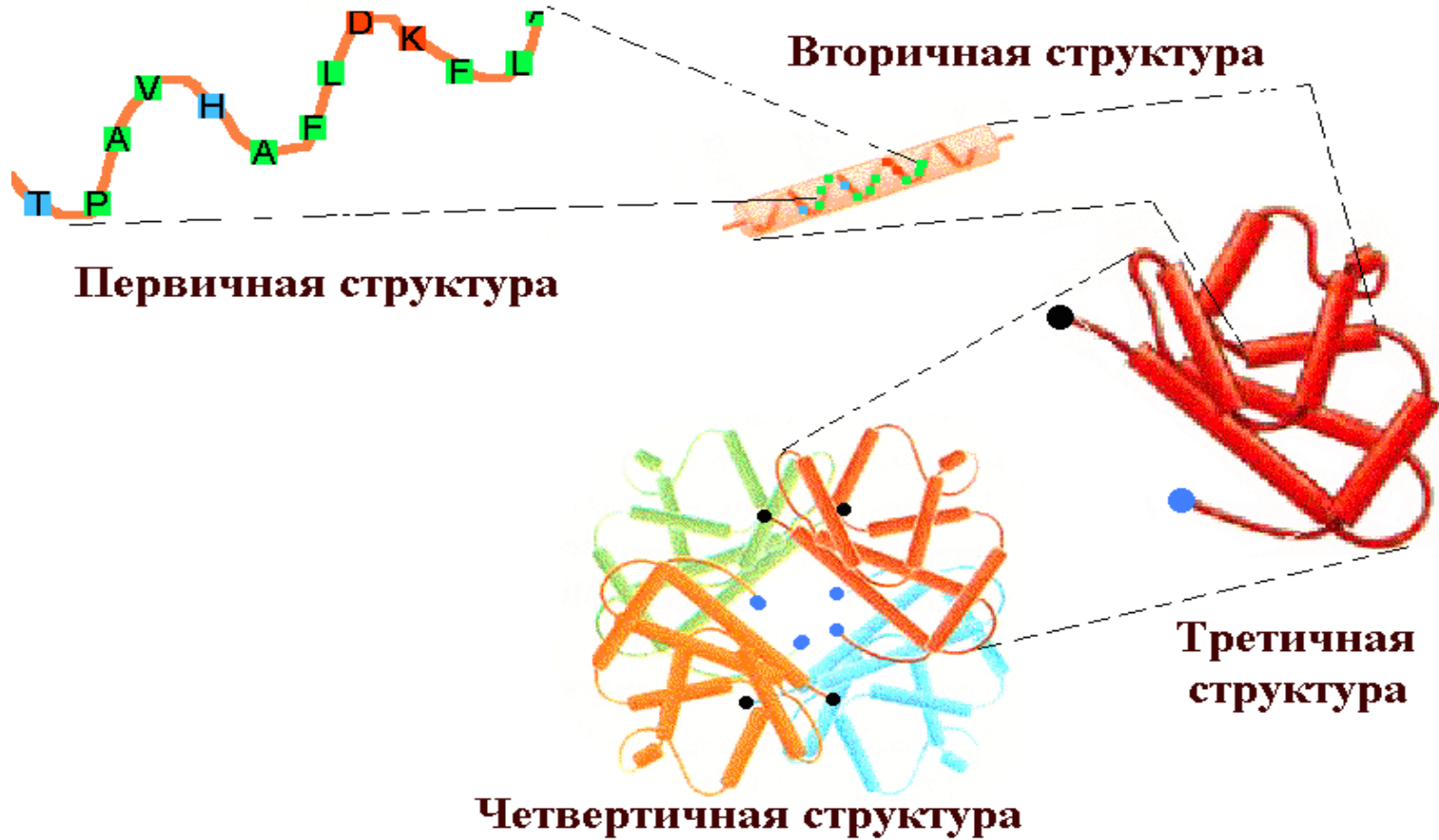




# Структура белков

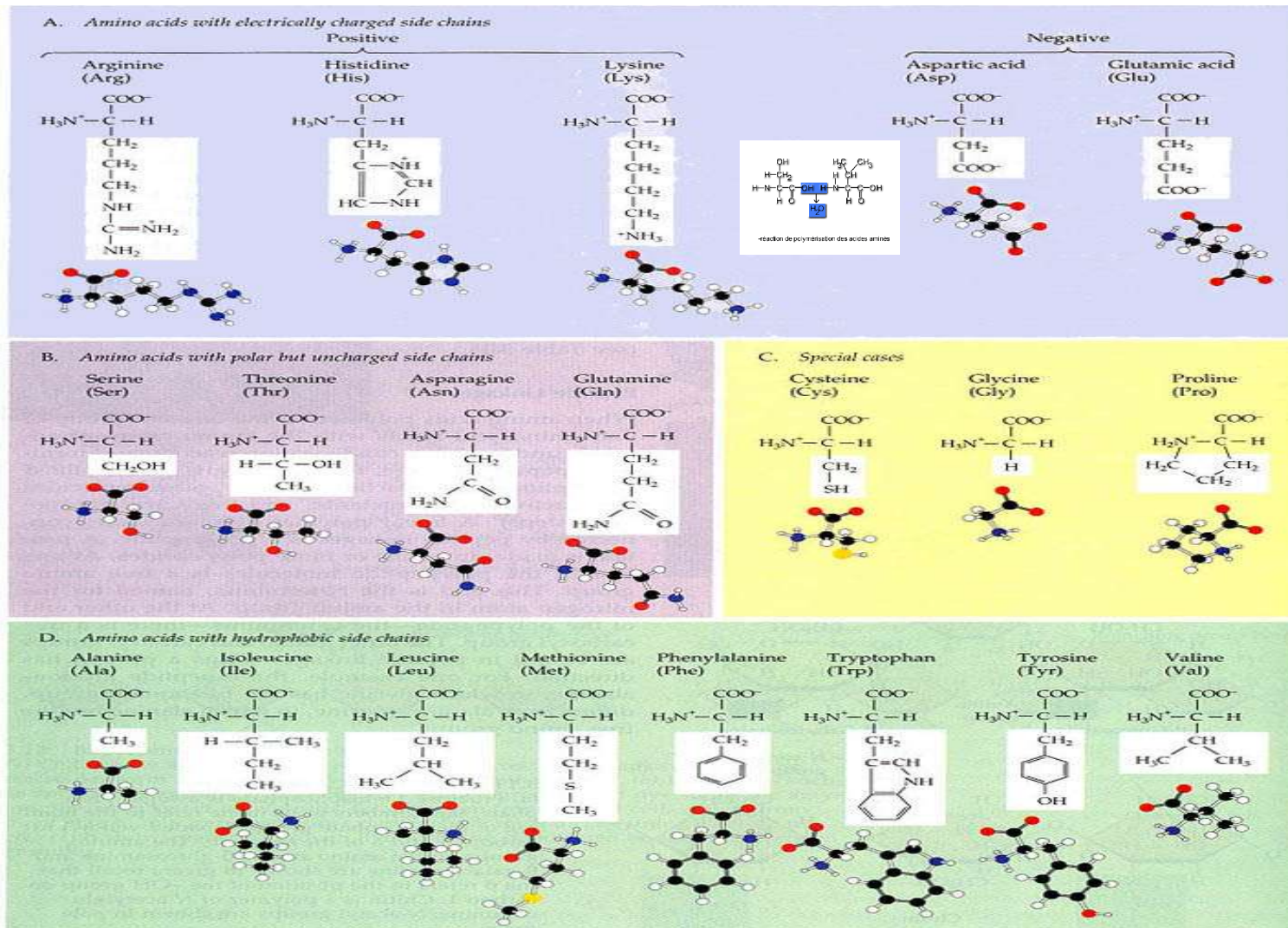


## Уровни организации белков





# Структура белков



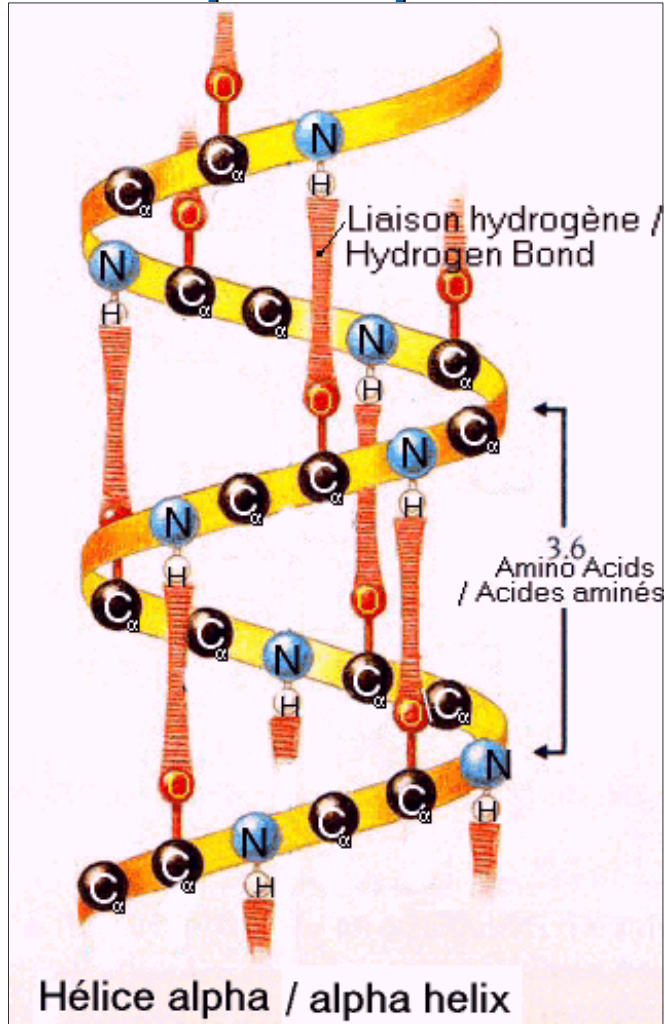




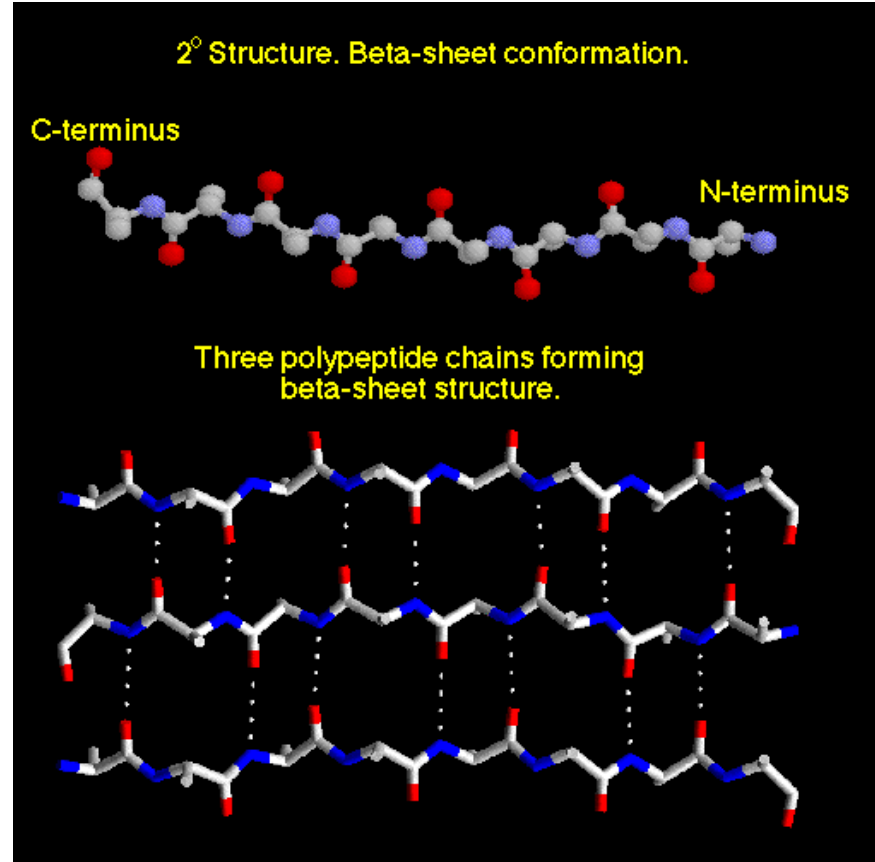
# Структурные единицы белков



## Альфа - спираль



## Бета - лист





# ДНК – связывающие домены

## КЛАССИФИКАЦИЯ ДНК - СВЯЗЫВАЮЩИХ ДОМЕНОВ



<i>уровень</i>	<i>Структура нумерации</i>	<i>Наименование группы</i>	<i>Критерий</i>	<i>Пример</i>
<b>1</b>	<b>N</b>	<b>Суперкласс</b>	<b>Общая топология ДСД</b>	<b>Домены, координированные цинком</b>
<b>2</b>	<b>N.N</b>	<b>Класс</b>	<b>Структурная характеристика ДСД</b>	<b>Ядерные рецепторы с “цинковыми пальцами”</b>
<b>3</b>	<b>N.N.N</b>	<b>Семейство</b>	<b>Функциональные критерии, такие, как образование ДНК - белкового комплекса</b>	<b>T<sub>3</sub>R/RAR (в отличие от рецепторов стероидных гормонов)</b>
<b>4</b>	<b>N.N.N.N</b>	<b>Подсемейство</b>	<b>Как правило, в соответствии со сходством последовательностей в ДСД</b>	<b>RAR (рецептор ретиновой кислоты)</b>
<b>5</b>	<b>N.N.N.N.N</b>	<b>Род фактора</b>	<b>В соответствии с геном фактора</b>	<b>RAR-<math>\alpha</math>, RAR-<math>\beta</math></b>
<b>6</b>	<b>N.N.N.N.N.N</b>	<b>Вид фактора</b>	<b>Варианты инициации/ сплайсинга / процессинга</b>	<b>RAR-<math>\beta</math> 1, RAR-<math>\beta</math> 2</b>
<b><i>Схема классификации ТФ согласно Вингендеру и структура кода</i></b>				



# ДНК – связывающие домены

## КЛАССИФИКАЦИЯ ДНК - СВЯЗЫВАЮЩИХ ДОМЕНОВ



*Суперкласс 1.* Факторы, ДСД которых обогащен положительно заряженными аминокислотными остатками (basic domain);

*Суперкласс 2.* Факторы, ДСД которых формируются с участием координирующих ионов цинка (zinc-coordinatins DNA-binding domain);

*Суперкласс 3.* Факторы, имеющие ДНК - связывающий мотив типа спираль – поворот – спираль (helix-turn-helix DNA – binding motif);

*Суперкласс 4.* Факторы, у которых поверхность, контактирующая с ДНК, представлена в виде сложным образом организованного скэффолда из  $\beta$ -нитей.

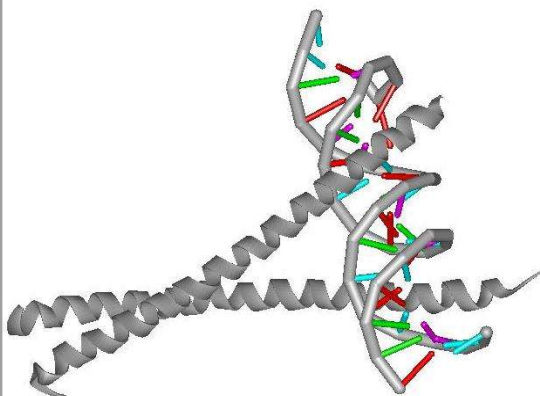


# ДНК – СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ

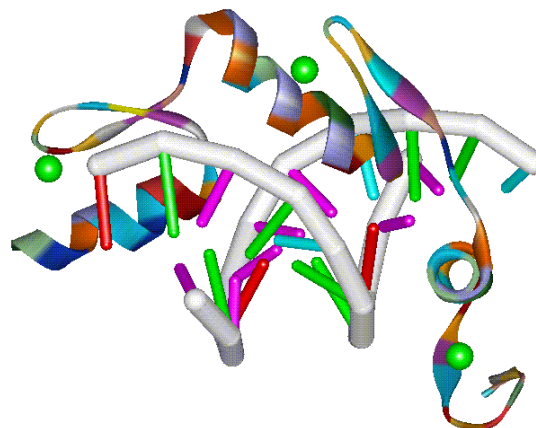
## ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ДНК - СВЯЗЫВАЮЩИХ ДОМЕНОВ



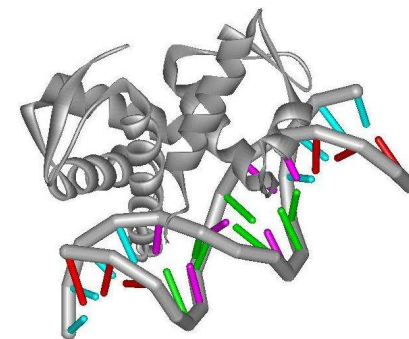
1. bZIP



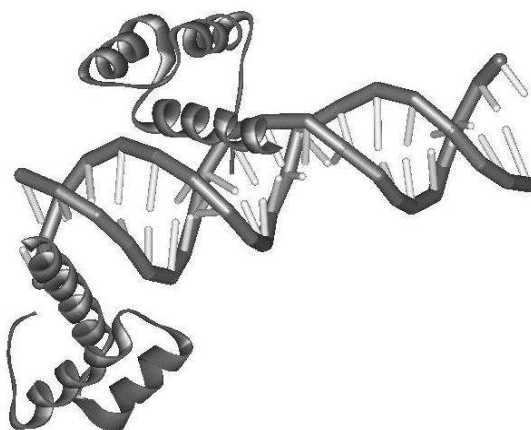
2. Zinc coordinated



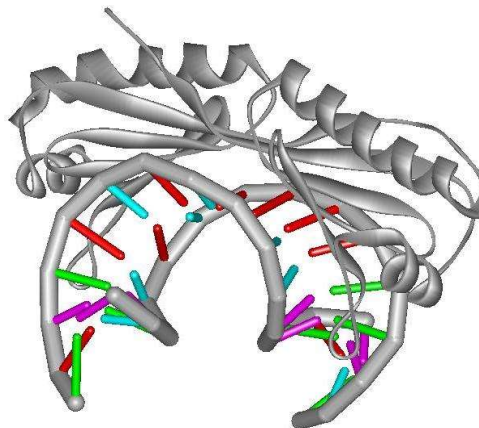
Другие -E2



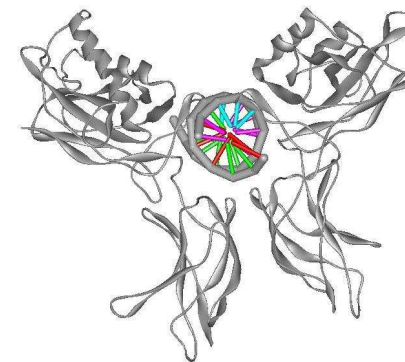
3. Helix-Turn-Helix



4.  $\beta$ -scaffold



Другие – REL

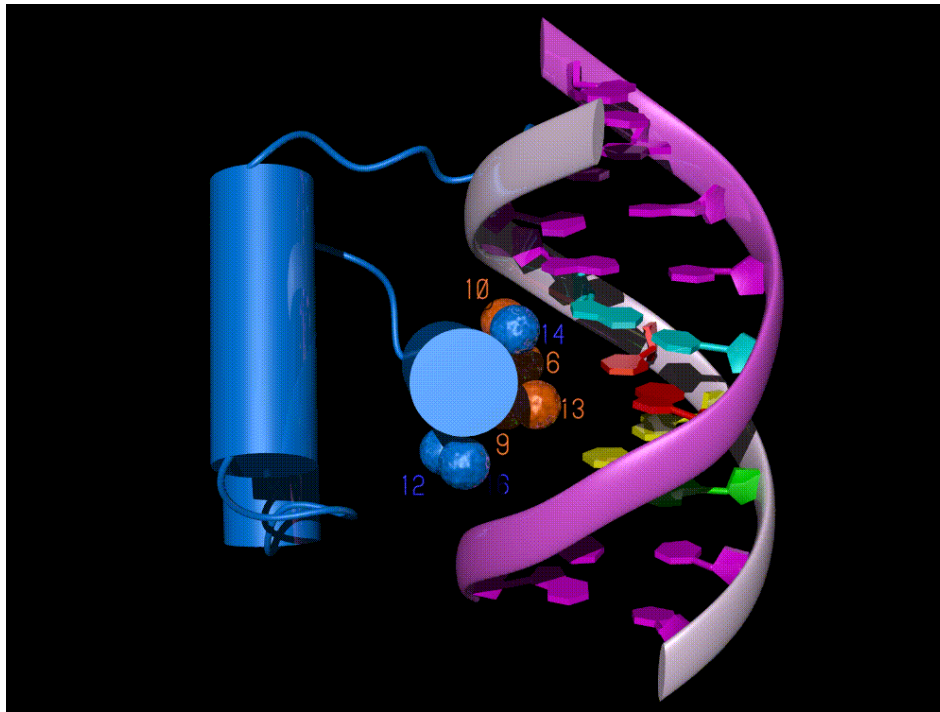




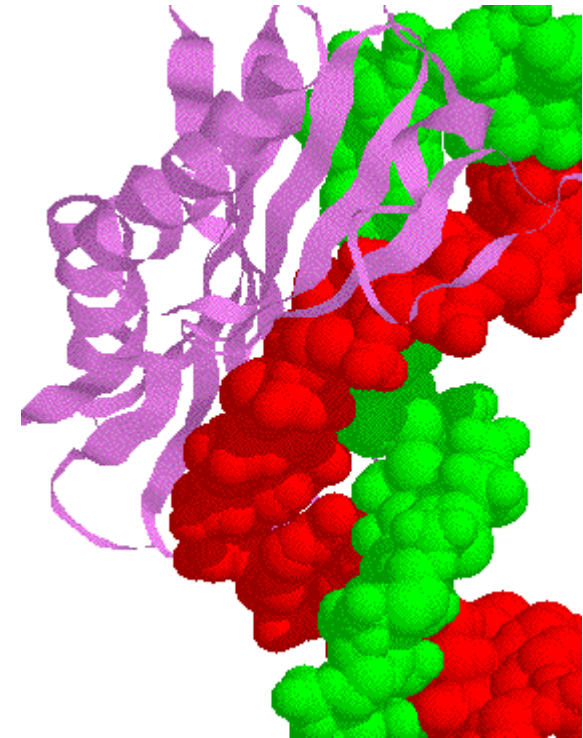
# ДНК – СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ



Спираль - поворот - спираль  
(Helix - turn - helix)



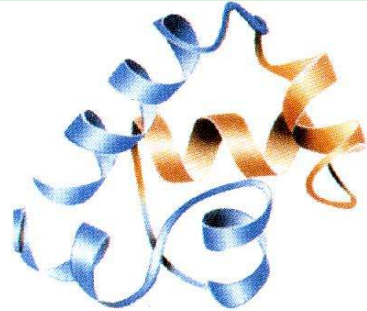
$\beta$ -scaffold  
(TATA - box +  
DNA - polymerase)



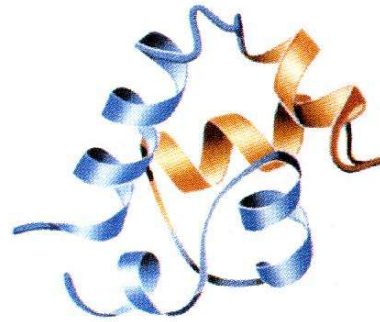


# ДНК – СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ

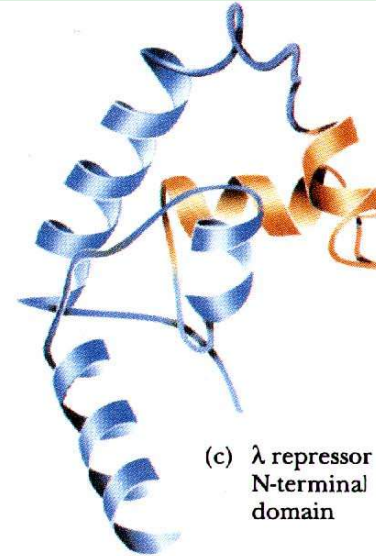
Домены с мотивом Спираль – поворот – спираль (helix – turn - helix)



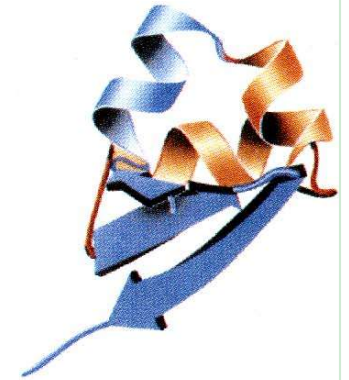
(a) 434 repressor  
N-terminal  
domain



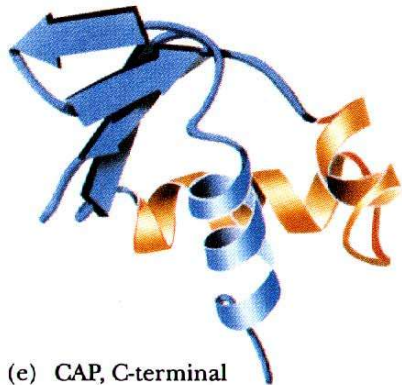
(b) 434 Cro



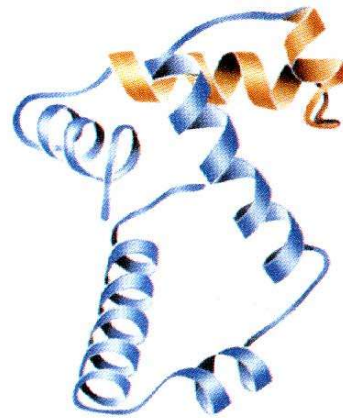
(c)  $\lambda$  repressor  
N-terminal  
domain



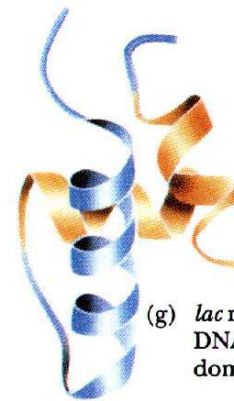
(d)  $\lambda$  Cro



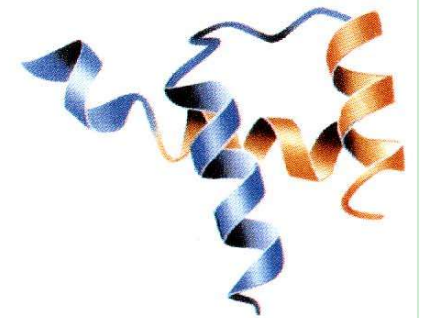
(e) CAP, C-terminal  
domain



(f) *trp* repressor  
subunit



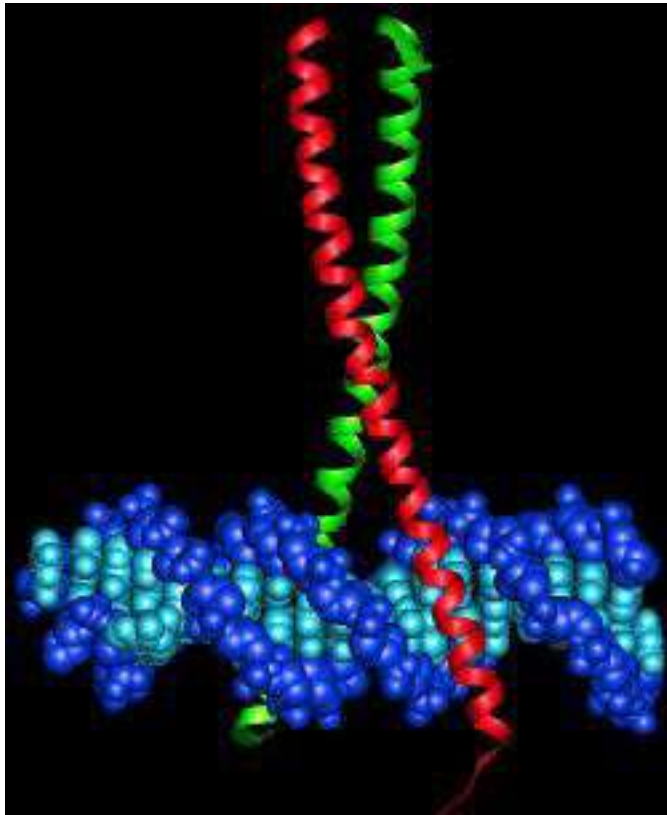
(g) *lac* repressor  
DNA-binding  
domain



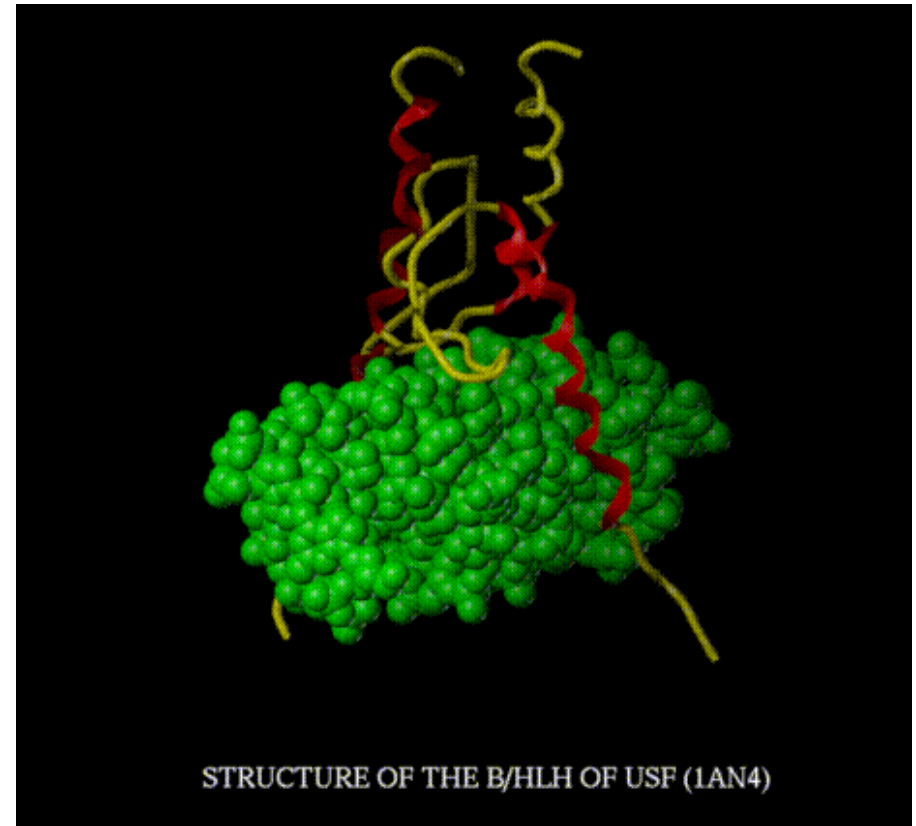
(h) *Antp* homeodomain



## Лейциновая застежка (b-zipper)



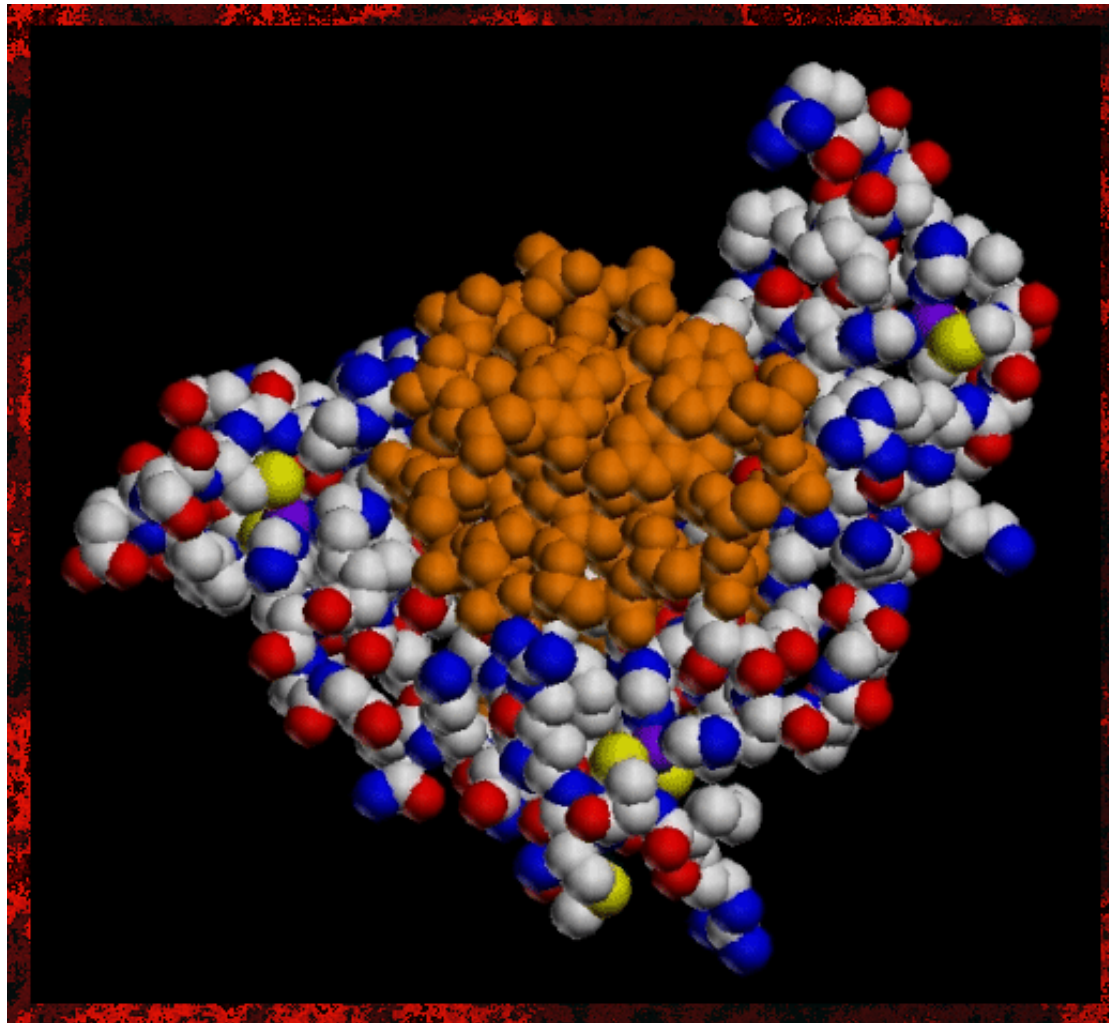
## Спираль – петля – спираль (Helix-Loop-Helix)





# ДНК – связывающие домены

Домены, координированные атомами цинка (Zn - finger)



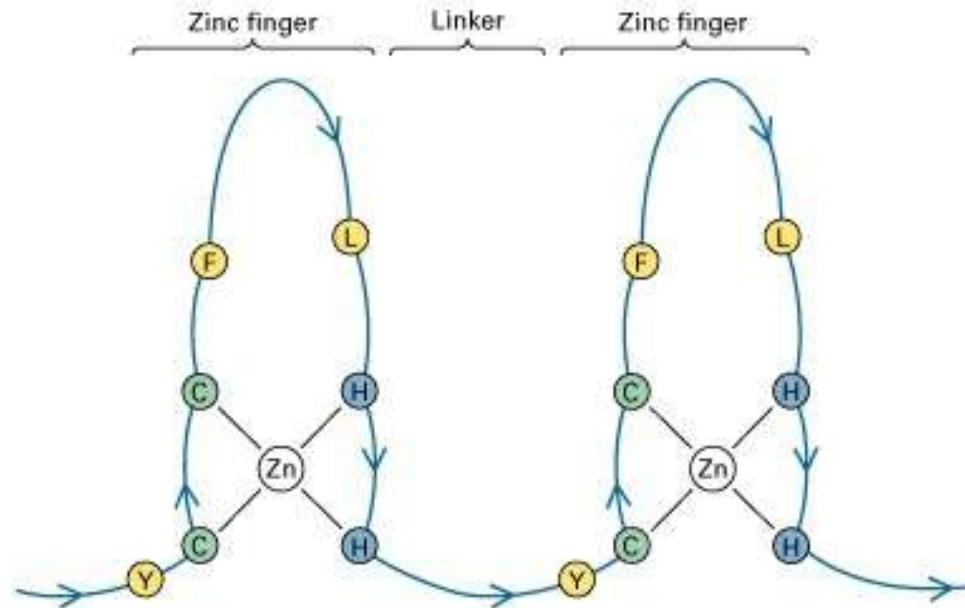




# ДНК – связывающие домены

## Домены, координированные атомами цинка (Zn - finger)

A

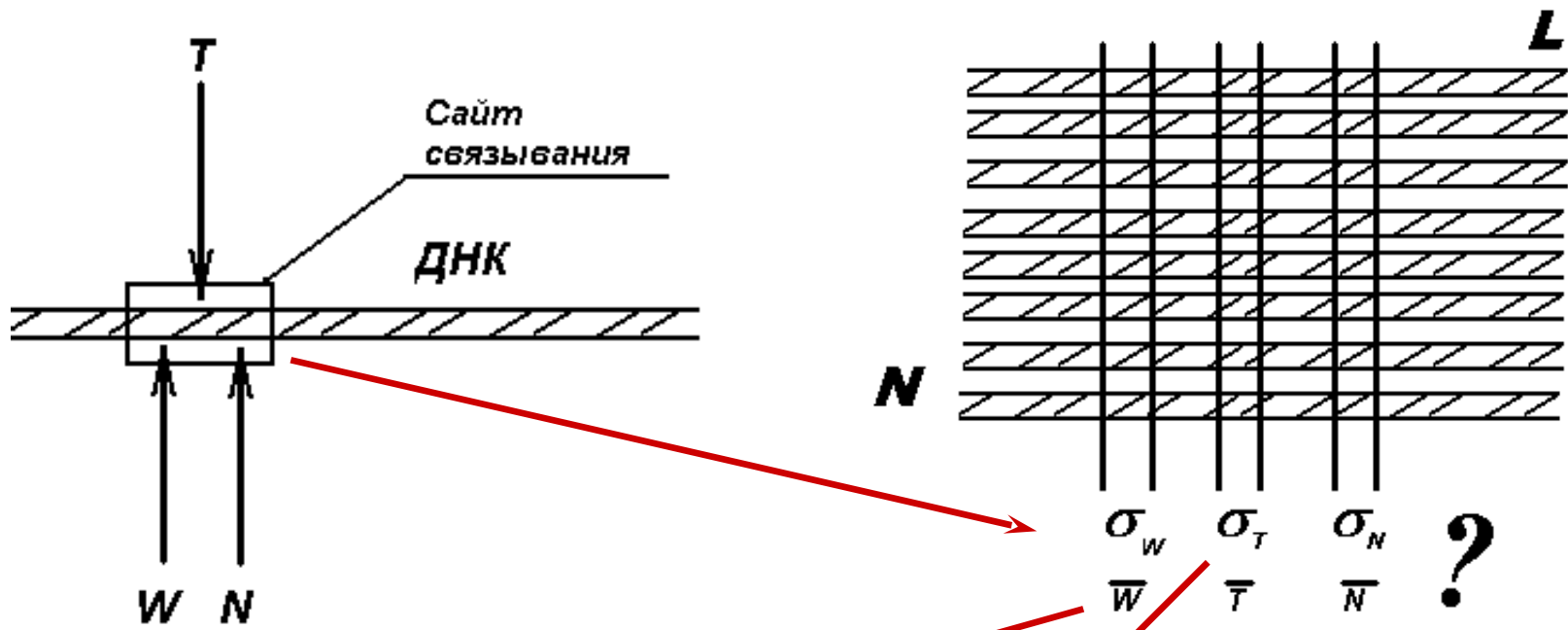


B

```
1      Y I C S F A D C G A A Y N K N W K L Q - A H L C - K H
2 T G E K - P F P C K E E G C E K G F T S L H H L T - R H S L - T H
3 T G E K - N F T C D S D G C D L R F T T K A N M K - K H F N R F H
4 N I K I C V Y V C H F E N C G K A F K K H N Q L K - V H Q F - S H
5 T Q Q L - P Y E C P H E G C D K R F S L P S R L K - R H E K - V H
6 A G - - - Y P C K K D D S C S F V G K T W T L Y L K H V A E C H
7 Q D - - - L A V C - - D V C N R K F R H K D Y L R - D H Q K - T H
8 E K E R T V Y L C P R D G C D R S Y T T A F N L R - S H I Q S F H
9 E E Q R - P F V C E H A G C G K C F A M K K S L E - R H S V - V H
```



# Метод определения локальных конформационных и физико – химических особенностей ДНК



$$\overline{F}_{il} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N F_{ikl}$$

$$\sigma^2_{F_{il}} = \frac{1}{N-1} \sum_{k=1}^N (F_{ikl} - \overline{F}_{il})^2$$



# Метод предсказания конформационных особенностей В-ДНК в функциональных сайтах ДНК



Выравнивание нуклеотидных последовательностей сайта связывания ТФ

```
tcaatccctg ggtttgccsa ...
acagctagaa ttgtctccta ...
cttccagatt cctgagagggc ...
tgccttccta tcaactgaata ...
```

Выбор конформационной характеристики динуклеотидов  $F_i$  (БД Property, 38 характеристик)

```
1.2, 1.4, 2.1, 3.1, 1.6, 1.8, 2.5, ...
2.3, 3.1, 3.7, 3.2, 1.8, 1.2, 2.1, ...
1.3, 3.1, 2.6, 2.4, 1.6, 2.3, 1.3, ...
2.8, 1.4, 2.6, 1.8, 3.2, 1.5, 2.1, ...
```

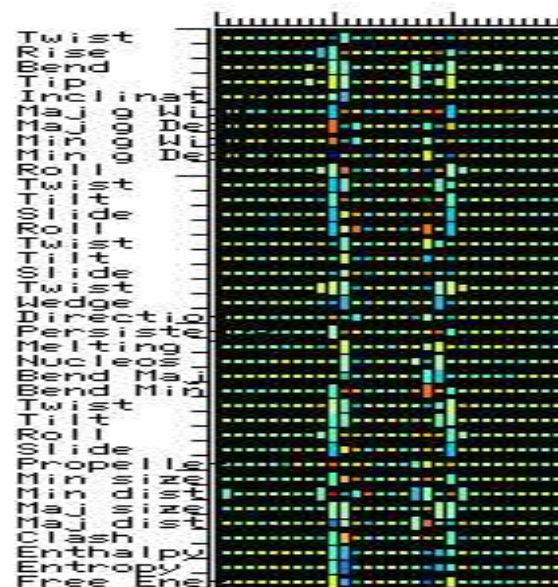
Расчет  $\bar{F}_i$  и  $\sigma_{F_i}$  для каждой позиции  $k$  для выбранной конформационной характеристики

$$\bar{F}_i = \frac{1}{N} \sum_k F_{ik}, \quad \sigma_{F_i} = \frac{1}{N-1} \sum_k (F_{ik} - \bar{F}_i)^2$$

Расчет  $\bar{F}_i$  и  $\sigma_{F_i}$  для всех позиций выборки и для всех конформационных характеристик  $i$  и оценка значимости  $\sigma_{F_i}$  по сравнению со случайным распределением

( $\chi^2$  критерий)

Анализ матрицы, построение правил распознавания



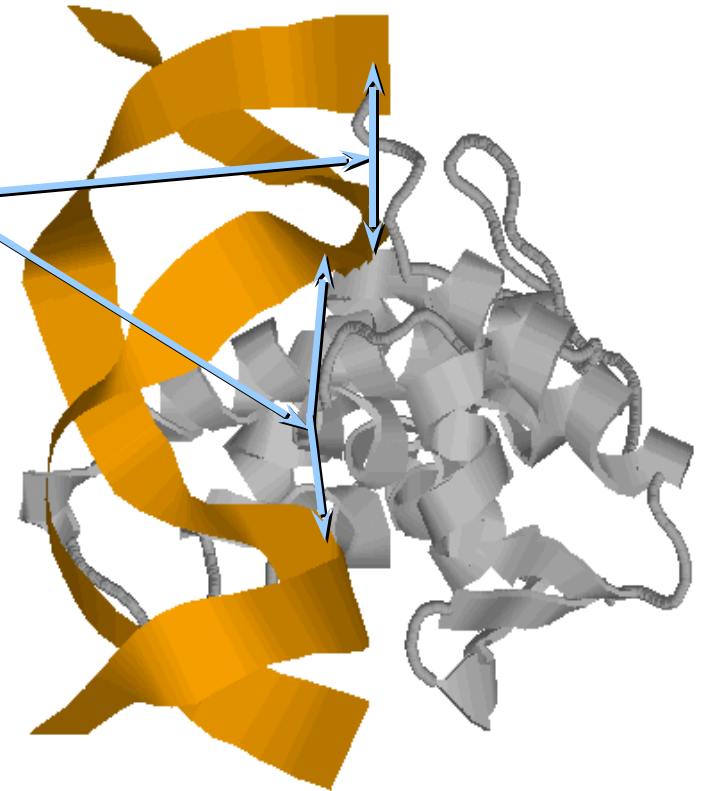
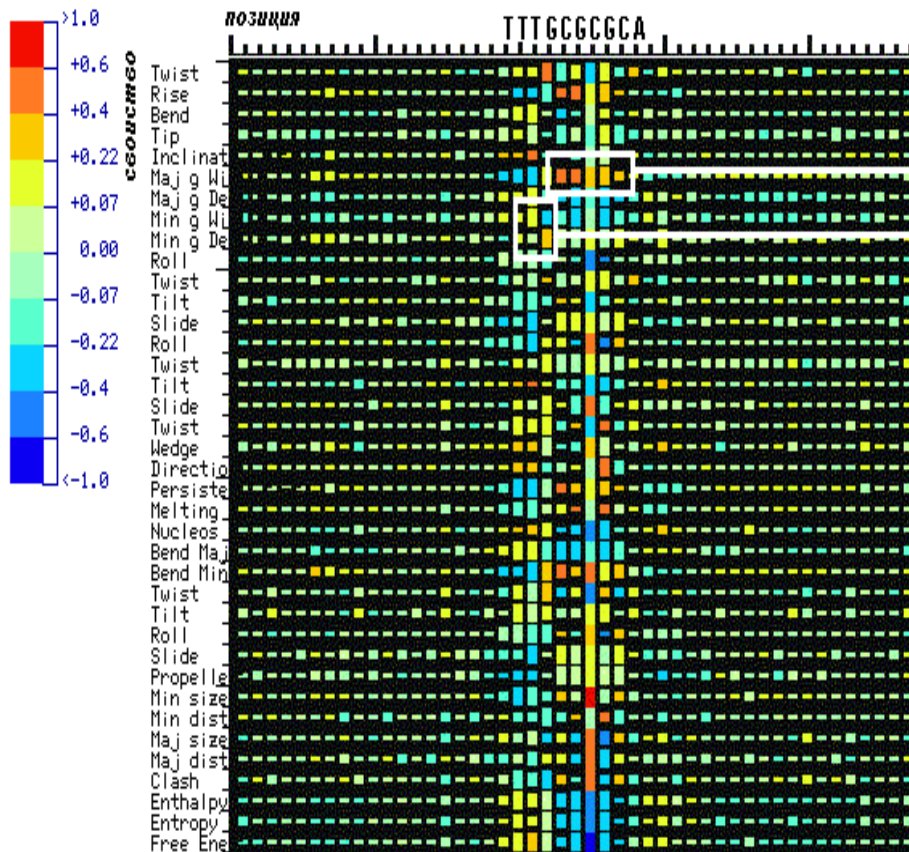


# Исследование сайтов связывания гетеродимеров E2F/DP

Объем выборки 40 последовательностей  
Длина последовательностей 49 п.н.

консенсусная  
последовательность:

**TTTCGCGCG**





# Исследование сайтов связывания гетеродимеров E2F/DP



## Профили свойств для сайтов связывания E2f/DP.

