

Egzèsis sou ADN Glikozilaz - nivo 1-2

Istorik

Nan egzèsis sa a, ou pral egzamine estrikti pwoteyin reparasyon ADN. Pwoteyin sa yo egizste nan pi fò espès, ata nan mikwòb. Pwoteyin reparasyon ADN deplase sou branch ADN pou tcheke erè oswa sa ki pa bon. ADN Glikozilaz la, se yon gwoup espesyal pami pwoteyin reparasyon ADN yo. Yo rekonèt baz ADN ki te gen chanjman chimik epi yo retire baz sa yo. Lè kon sa, yo kite yon plas ki pa gen baz nan ADN lan. Apre sa, gen lòt pwoteyin ki vini pou ranplase baz ADN ki disparèt la.

Objektif aprantisaj la

Nou pral egzamine relasyon ki egziste ant estrikti yon pwoteyin ak fonksyon I nan ADN glikozilaz moun. Glikozilaz sa a rele ann angle "Human 8-oxoguanine glycosylase" (**hOGG1**).

Annou kòmanse

Nou pral kòmanse egzèsis sa a ak egzamen estrikti hOGG1. Nou pral sèvi ak yon vizyalizè pou molekil an twa (3) dimansyon ("3-D"). Vizyalizè 3-D sa a rele StarBiochem. Nan estrikti sa a, pwoteyin reparasyon an fè mare ak yon segman ADN ki domaje. Pou kòmanse, nou pral konsantre sou estrikti hOGG1 an epi nou pral gade ki jan jan pwoteyin sa a reyaji ak ADN pou repare yon baz ADN ki domaje.

- Pou kòmanse, sèvi ak StarBiochem, ale nan: <http://mit.edu/star/biochem/>.
- Klike sou **Start** (Kòmanse) pou **StarBiochem**.
- Klike sou **Trust** (Fè sètifikasi sa a konfyans) lè yo mande w si ou fè sètifikasi sa a konfyans.
- Nan meni anlè paj la, klike sou **Samples** → **Select from Samples** (Echantillon → Chwazi pami echantison sa yo). Anba etikèt **Amino acids/Proteins** → **Proteins** (Asid anime/Pwoteyin → Pwoteyin), chwazi "DNA glycosylase hOGG1 w/ DNA - H. sapiens (1EBM)" (ADN glikozilaz hOGG1 w / ADN – H. Sapiens (1EBM)). "1EBM" se 4 karaktè ki fè nimewo kat idantite pou estrikti sa a. Se sèl estrikti sa a k ap gen nimewo sa a.

Pran yon ti tan pou ou reflechi sou estrikti a pandan w ap fè l vire nan divès ang wotasyon epi pandan w ap zoum sou li.

- Enstriksyon pou w chanje jan pou ou gade estrikti a, ou ka jwenn li nan meni ki anlè a. Chwazi **Help** → **Structure viewing instructions** (Ed → Enstriksyon pou vizalyize estrikti).

Nan fason w ap gade estrikti a kounyea, ou wè chak **atòm** ak **lyezon** pwoteyin lan ki trase tankou yon **boul** ak yon **liy**, youn dèyè lòt. Mòd prezantasyon sa a pou montre yon estrikti, yo rele li "**ball-and-stick model**" (**modèl boul ak baton**) e se modèl sa a w ap jwenn pi souvan nan StarBiochem. Modèl boul ak baton sa a ap pèmèt ou wè kòman atòm yo konekte youn ak lòt anndan estrikti a. Men reprezantasyon espas chak atòm okipe PA egzat. Pou ou wè yon reprezantasyon ki pi egzat, ou ka itilize modèl ki rele "**space-filled model**" (**modèl ak espas ki plen**), kote chak atòm yo trase tankou yon esfè ki gen menm gwosè ak yon atòm.

Men ki jan pou soti depi nan modèl boul ak baton ("ball-and-stick model") pou ou ale nan modèl espas ki plen ("space-filled model") nan StarBiochem: Ogmante gwosè atòm yo ki nan estrikti a:

- Klike sou etikèt **Primary** a (**Primè**). Gwosè atòm lan se 20% (modèl boul ak bwa - "ball-and-stick model").
- Deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò dwat la nèt jis nan 100% (modèl espas ki plen an - "space-filled model").
- W ap remake chak atòm gen yon ti diferans nan gwosè yo.
- Gri = Kabòn, Ble = Nitwogèn, Wouj = Oksijèn, Jòn = Souf, Oranj = Fè.

Nan dènye paj la (paj referans lan) w ap jwenn yon seri tèm teknik ak enfòmasyon k ap itil ou e ki pral sèvi kòm referans pandan egzèsis la.

Egzèsis

Premye Pati - Prensip Fondamantal Estrikti Pwoteyin hOGG1.

1 Estrikti hOGG1 an gen ni ADN ni pwoteyin. Eske ou ka fè diferans ant ADN lan ak eleman pwoteyin ki konpoze l yo? Ki diferans ou ka jwenn ant ADN ak pwoteyin?

Repons

2 hOGG1 an gen plizyè atòm souf

a) Identifie non ak nimewo sekans nan youn nan asid amine ki nan estrikti ki gen yon atòm souf ladan l.

- Sèvi ak sourit òdinatè a pou endike yon atòm souf (an jòn) nan estrikti a. Yon ti bwat ap parèt anlè kisè sourit la pou montre non asid amine a ak pozisyon l nan sekans asid amine a (egzanp: “[Ala]223:A CB # 2257” à amino acid: alanine; position: 223).

Repons

b) Eske atòm souf la chita nan eskelèt a oswa nan chenn lateral asid amine a?

- Nan meni ki anlè a chwazi **View → View Specific Regions / Set Center of Rotation** (Vizalyze → Vizalyze sèten rejyon / Ajiste aks rotasyon an). Sa pral ouvè yon fenèt ki pi piti. Ti fenèt sa a ap pèmèt mete sèten rejyon nan estrikti a byen vizib nan mitan vizyalizè a. Pou ou ka wè asid amine sèlman ak atòm souf la, men sa pou fè:
- Anba etikèt **Protein → Primary** (Pwoteyin → Primè) ki nan fenèt **View Specific Regions / Set Center of Rotation** (Vizalyze → Vizalyze sèten rejyon / Ajiste aks rotasyon an) chwazi asid amine ou te idantifye nan **Sequence Window** (Fenèt ki montre sekans lan).
- Deplase kisè **VDW Radius** la (Reyon VDW), fè l ale nèt sou bò goch la (jis ou rive nan "1 VDW radii"). Zoum jan ou vle.
- Pou kòmanse, dezaktive bwat **side-chain** lan (**chenn lateral**) pou kache atòm ki nan chenn lateral yo epi gade sèlman atòm yo ki nan eskelèt estrikti a. Apre sa,dezaktive bwat **backbone** (**eskelèt**) epi tcheke bwat **side-chain** lan (**chenn lateral**) pou ou ka wè sèlman atòm ki nan chenn lateral yo.

Repons

3 Kounyea nou pral egzamine estrikti primè pwoteyin hOGG1 (tcheke paj referans lan ki se dènye paj nan dokiman an). Pwoteyin hOGG1 gen 325 asid amine. Fè lis 13 asid amine yo, soti nan 105 rive nan 117 youn pa youn, nan lòd sa a.

- Reyajiste estrikti a: nan meni ki anlè a, klike sou **Reset → Reset structure** (Reyajiste → Reyajiste estrikti a).
- Klike sou etikèt **Protein → Primary** (Pwoteyin → Primè) ki nan fenèt prensipal StarBiochem lan, epi desann nan **Sequence Window** (Fenèt ki montre sekans lan) jouk ou rive jwenn asid amine 105-117 nan sekans lan. Ale nan paj referans lan pou ou jwenn non konplè pou chak asid amine yo.

Repons

105_____ 106_____ 107_____ 108_____
109_____ 110_____ 111_____ 112_____
113_____ 114_____ 115_____ 116_____
117_____

4 Nan yon chenn pwoteyin, asid amine yo fòme estrikti lokal ki rele estrikti segondè (paj referans).

a) Egzamine estrikti segondè nou jwenn nan hOGG1. Eske se Elis, ti fèy oswa bobin ki nan hOGG1? Di ki koulè ki reprezante estrikti segondè ou wè a?

- Klike sou etikèt **Secondary (Segondè)** a.
- Pou montre estrikti segondè yo nan tout an menm tan, tcheke ti bwat ki a kote estrikti ou vle a, (egzanp: "Helices" = Elis) epi deplase kisè **Structures Size (Gwosè estrikti yo)** fè l ale sou bò dwat la pou fè estrikti a vin pi gwo.
- W ap wè plis estrikti segondè ki ka la lè ou tcheke bwat ki sou kote chak estrikti.

Repons

Elis_____ (wi oswa non) Fèy _____ (wi oswa non) Bobin_____ (wi oswa non)

b) Asid amine yo 105-117 pliye pou yo fòme youn nan estrikti segondè yo. Ki estrikti segondè yo fòme lè yo pliye kon sa?

- Klike sou etikèt **View Specific Regions** lan (Vizyalize sèten rejyon), klike sou etikèt **Protein → Secondary (Pwoteyin → Segondè)**, epi klike sou bouton **All** la (**Tout**).
- Nan fènet **Sequence Window** (Fenèt ki montre sekans lan) asid amine yo, seleksyoné asid amine 105-117 yo: klike sou asid amine 105 lan, peze sou **Shift** epi pandan ou kontinye ap peze sou **Shift** klike sou asid amine 117 la.
- Deplase kisè **VDW Radius** la (**Reyon VDW**) fè l ale sou bò goch la pou montre asid amine ki nan vizyalizè a sèlman.

Repons

5 Kounye a, nou pral etidye relasyon ki egziste ant estrikti ADN glikozilaz la ak youn nan plizyè gwoup asid amine ki enfliyanse fòm jeneral hOGG1: estrikti tesyè li (paj referans).

a) Asid amine ki gen chaj negatif yo, yo idwofilic (paj referans). Èske chaj negatif asid amine yo chita andedan oswa andeyò pwoteyin sa a? Kisa sa vle di kanta anviwònman selilè ki antoure pwoteyin sa a? Eske li idwofòb oswa idwofil? Esplike repons ou.

- Nan meni ki anlè a, klike sou **Reset → Reset structure** (Reyajiste → Reyajiste estrikti).
- Klike sou etikèt **Tertiary (Tèsyè)** a. Deplase kisè **Atoms Size (Gwosè Atòm)** fè l ale sou bò goch pou retire nan gwosè tout atòm ki nan pwoteyin lan.
- Klike sou bouton **negatively charged/acidic** la (**chaj negativ/asidik**). Deplase kisè **Atoms Size (Gwosè Atòm)** fè l ale sou bò dwat la pou ogmante gwosè atòm ki nan asid anime ki gen chaj negatif yo (sa se asid anime ki asidic yo).

Repons

Dezyèm Pati - Entèrakson hOGG1 ak ADN (Prensip fondamantal)

6 Kounyea, nou pral egzamine jan glikozilaz ADN reaji ak ADN pou l rekonèt baz ADN ki domaje nan sekans li. ADN lan fèt ak kat baz: Adenin(A), Timin(T), Sitozin(S) ak Gwanin(G). Nan estrikti espesyal sa a, pwoteyin hOGG1 an fè yon chenn ak yon segman ADN ki gen gwanin okside ladan l. Pou kòmanse nou pral tcheka segman ADN lan vin pi vizib.

- Nan meni ki anlè a, klike sou **Reset** → **Reset structure** (Reyajiste → Reyajiste estrikti).
- Klike sou etikèt **Nucleic Acids** la (**Asid Nikleyik**). Deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**) fè l ale sou bò dwat la (35%) pou ogmante gwosè segman ADN lan.
- Klike sou etikèt **Protein** → **Primary** (**Pwoteyin** → **Primè**) la, epi deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**) fè l ale sou bò goch la nèt epi deplase kisè **Bonds Translucency** (**Transparans lyezon**) sou bò dwat la (95%) pou fè tout asid amine nan pwoteyin hOGG1 lan vin tou piti nèt.

Dezyèman: Ann gade ki jan baz ADN yo oryante tèt yo nan Elis an doub la. Chak baz tache nan yon eskelèt sik ak fosfat ki fòme yon nikleyotid konplè. Nan Elis an doub la, gen lyezon idwojèn ki relye yon baz nan yon branch ak yon baz nan lòt branch ki an fas li a, epi 2 baz sa yo fòme yon pè baz: baz Adenine (A) fòme yon pè ak baz Timin (T), epi baz sitozin (S) fòme yon pè ak baz gwanin (G).

a) Konbyen pè baz ADN ou ka jwenn nan Elis an doub la?

- Klike sou etikèt **Nucleic Acids** la (**Asid Nikleyik**).
- Dezaktive **phosphates** (**fosfat**) ak **sugars** (**sik**). Deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò dwat (rive sou 70%) la pou mete nan gwosè baz yo san ou pa chanje gwosè eleman ni nan nikleyotid fosfat ni nan nikleyotid sik la. Sa ap pèmèt nou konte pè baz yo pi fasil.

Repons

b) Konbyen baz ADN ki pa fòme pè (ki pa fòme yon pè ak yon patnè ki sou lòt branch lan)?

Repons

c) Èske baz gwanin okside nan yon pè? Dekri pozison gwanin okside pa rapò a pwoteyin hOGG1 epi Elis an doub la. Kisa sa sijere sou jan hOGG1 idantifye baz ADN ki domaje yo?

- Klike sou **Non-Peptide** (**Molekil ki pa peptid**). Deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò dwat la nèt pou ogmante gwosè atòm ki nan gwanin okside a ([80G]25).

Repons

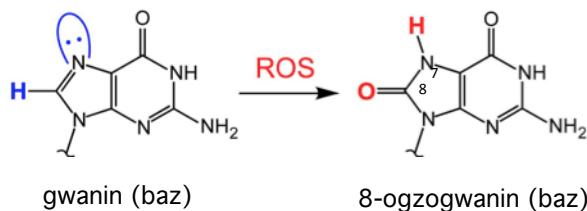
7 Sèten asid amine nan hOGG1 konn fè kontak ak ADN lan epi yo ka rekonèt si gen yon baz gwanin ki te domaje nan oksidasyon. Ki kote ou ka plis jwenn asid amine ki ka rekonèt baz gwanin ki domaje nan hOGG1: nan Elis 1 oswa nan Elis 16? Esplike pou ki sa.

- Klike sou etikèt **Protein → Secondary** a (**Pwoteyin → Segondè**), epi klike sou bouton **All** la (**Tout**).
- Nan fenèt **Sequence Window** a (**Fenèt ki montre sekans lan**), chwazi tout asid amine ki nan Elis 1: Klike sou premye asid amine nan Elis 1, shift + klike sou dènye asid amine ki nan Elis 1. Mete sou gwochè Elis 1: deplase kisè **Secondary Structures** (**Strikti segondè**) fè l ale sou bò dwat la. Gade lokasyon Elis 1 pa rapò a gwanin okside a.
- Nan **Sequence Window** a (**Fenèt ki montre sekans lan**), chwazi asid amine ki nan Elis 16 - menm sa ou te fè pou Elis 1. Gade kote Elis 16 ye pa rapò ak gwanin okside a.
- Si ou vle: Enstriksyon sa yo pral pèmèt ou wè si youn nan chenn lateral nan Elis 1 oswa nan Elis 16 an kontak ak gwanin okside a ([80G]25). Klike sou etikèt **Protein → Primary** a (**Pwoteyin → Primè**). Chwazi asid amine ki fè Elis 1 nan **Sequence Window** (**Fenèt ki montre sekans lan**). Dezaktivé **backbone** (**eskelèt**). Deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò dwat la pou ou ka wè chenn lateral asid amine ki nan Elis 1. Kounyea chwazi asid amine ki nan Elis 16.

Repons

Twazyèm pati – Entèraksyon hOGG1 an ak ADN (Avanse)

8 hOGG1 ka byen detekte diferans ant gwanin ak omològ gwanin ki okside, 8-ogzogwanin. Sa reprezante yon kokenn travay paske nikleyobaz okside a (8-ogzogwanin) gen sèlman 2 atòm ki pa menm ak atòm nan omològ nòmal la (gwanin). Atòm sa yo nan pozisyon 7 ak 8.



Estrikti sa yo montre ki jan hOGG1 lye swa ak 8-ogzogwanin swa ak nikleyobaz gwanin: "1YQK" (8-ogzogwanin) epi "1YQK" (gwanin). Nou pral konpare 2 estrikti sa yo pou nou ka konprann ki jan hOGG1 reive detekte diferans ant 8-ogzogwanin ak gwanin.

- Nan meni ki anlè a, klike sou **Samples → Select from Samples** (**Echantyon → Chwazi pamí echantyon sa yo**). Nan etikèt **Amino Acid/Proteins → Protein** (**Asid amine/Pwoteyin → Pwoteyin**), chwazi "**DNA glycosylase hOGG1 w/ DNA containing oxoG - H. sapiens (1YQR)**" (ADN glikozilaz hOGG1 ak ADN ki gen ogzoG - H. sapiens (1YQR)). "1YQR" se 4 karaktè ki fè nimewo kat idantite pou estrikti sa a. Se sèl estrikti sa a k ap gen nimewo sa a.
- Repete enstriksyon sa yo pou ou ouvri estrikti "**DNA glycosylase hOGG1 w/ DNA containing G - H. sapiens (1YQK)**" (ADN glikozilaz hOGG1 ak ADN ki gen G - H. Sapiens (1YQK)).

Glisin 42 nan hOGG1 reyaji dirèkteman ak baz 8-ogzogwanin lan. Entèrakson sa a enpòtan nan idantifikasiyon baz gwanin okside ki domaje yo. Egzamine entèrakson ant 8-ogzogwanin ak glisin 42 nan estrikti "1YQK".

a) Ki atòm nan pati baz 8-ogzowanin ki gen kontak dirèk ak glisin 42? Fè yon shema pou entèrakson sa a (sèvi ak estrikti chimik nan kesyon sa a ak estrikti asid amine ki nan paj referans lan).

- Klike sou etikèt **Protein → Primary** a (**Pwoteyin → Primè**), deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò goch la nèt, epi deplase kisè **Bonds Translucency** a (**Transparans Iyezon yo**) fè l ale sou bò dwat la nèt pou minimize vizibilite tout asid amine ki nan pwoteyin hOGG1 an.
- Klike sou etikèt **Nucleic Acids** la (**Asid Nikleyik**). Klike sou gwanin okside ([80G]23: C) epi deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**) fè l ale sou bò dwat la pou ogmante gwosè gwanin okside a.
- Klike sou etikèt **Protein → Primary** a (**Pwoteyin → Primè**), klike sou glisin 42 epi ajounte nan gwosè pandan w ap deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**) fè l ale sou bò dwat la nèt.

Repons

b) Kisa entèrakson ant 8-ogzogwanin lan ak glisin 42 a montre sou diferans ant hOGG1 ak 8-ogzogwanin ak gwanin?

Repons

c) Konpare 2 bagay sa yo: premyeman, lokasyon jeneral ak oryantasyon gwanin ak glisin 42 nan estrikti "1YQK"; dezyèmman, lokasyon jeneral ak oryantasyon 8-ogzogwanin ak glisin 42 nan estrikti "1YQR".

Esplike diferans nan pozisyon ak oryantasyon 2 nikleyobaz sa yo ak glisin 42 nan estrikti sa yo. Esplike kouman konparezon sa yo ede w konprann ki jan hOGG1 rive distenje ant 8-ogzogwanin ak gwanin.

- Reyajiste estrikti "1YQR" la: klike sou **Reset → Reset structure** (Reyajiste → Reyajiste estrikti a) nan meni an lè a.
- Klike sou etikèt **Protein → Primary** (**Pwoteyin → Primè**), epi deplase kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**), fè l ale sou bò goch la nèt, epi deplase kisè **Bonds Translucency** (**Transparans Iyezon yo**) fè l ale sou bò dwat la nèt (95%) pou diminye vizibilite tout asid amine ki nan pwoteyin hOGG1 an.
- Klike sou etikèt **Nucleic Acids** la (**Asid Nikleyik**). Klike sou gwanin okside ([80G]23:C) epi ogmante gwosè li ak deplasman kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**). Fè kisè a ale sou bò dwat la nèt.
- Klike sou etikèt **Protein → Primary** la (**Pwoteyin → Primè**), klike sou glisin 42 epi ogmante gwosè li ak deplasman kisè **Atoms Size** la (**Gwosè Atòm**). Fè kisè a ale sou bò dwat la nèt.

- Repete enstriksyon sa yo ak estrikti “1YQK”. Men, olye pou ogmante gwochè gwanin okside a, ogmante gwochè gwanin nan pozisyon 23.

Repons

9 Youn nan kesyon enteresan sou hOGG1 ak lòt glikozylaz ADN se ki jan yo chache oksidasyon ADN: Eske anzin sa yo ap retire chak baz ADN - menm sa ki pa domaje yo - pou tcheke si ADN la okside? Oswa èske anzin sa yo rekonèt sit oksidasyon ADN lan san yo pa retire chak baz. Lè nikleyobaz 8-oxoguanine la ak sitozin (oxoG:C) fòme yon pè baz, sa pa kreye chanjman nan fòm doub Elis ADN lan. Ki donk, glikozilaz ADN yo genlè yo pa kapab detekte prezans yon nikleyobaz 8-ogzogwanin san yo pa retire chak baz. Poutan glikozilaz ADN yo gen pou tcheke apwoksimativman 6×10^9 pè baz nan kòd jenétik imen an, ki fè retire chak pè baz t ava mande kantite enèji ak kantite tan ki rann travay sa a enposib.

Selon evidans nan estrikti kristal nou genyen sou yon bakteri ki se omològ hOGG1 an, e ki rele MutM, genlè gen yon asid amine nan MutM, ki rele fenilalanin 114, ki antre nan Elis ADN nan chak pozisyon nikleyotid pandan glikozilaz ADN la ap deplase sou tout longè ADN lan. Si ou ta renmen konnen plis sou sa, al gade nan **Samples (Echantillon)** kote w ap jwenn yon estrikti ki rele “**DNA glycosylase MutM w/ DNA - G. stearothermophilus (2F5O)**” (**ADN glikozilaz MutM w / ADN - H. Sapiens (2F5O)**). Gen yon ipotèz ki di kon sa: wòl fenilalanin 114 se pou li detekte prezans nikleyobaz 8-ogzogwanin. Men, kouman fenilalanin ka antre nan oxoG:C pou deranje pè baz epi retire nikleyobaz 8-ogzogwanin, epi menm fenilalanin sa a pa deranje pè baz A:T ak G:C menm lè li rantre nan pè baz sa yo? Se ka paske fenilalanin 114 la ki antre nan oxoG:C ka destabilize pè baz paske pè baz oxoG:C yo mwen estab pase pè baz A:T ak G:C yo.

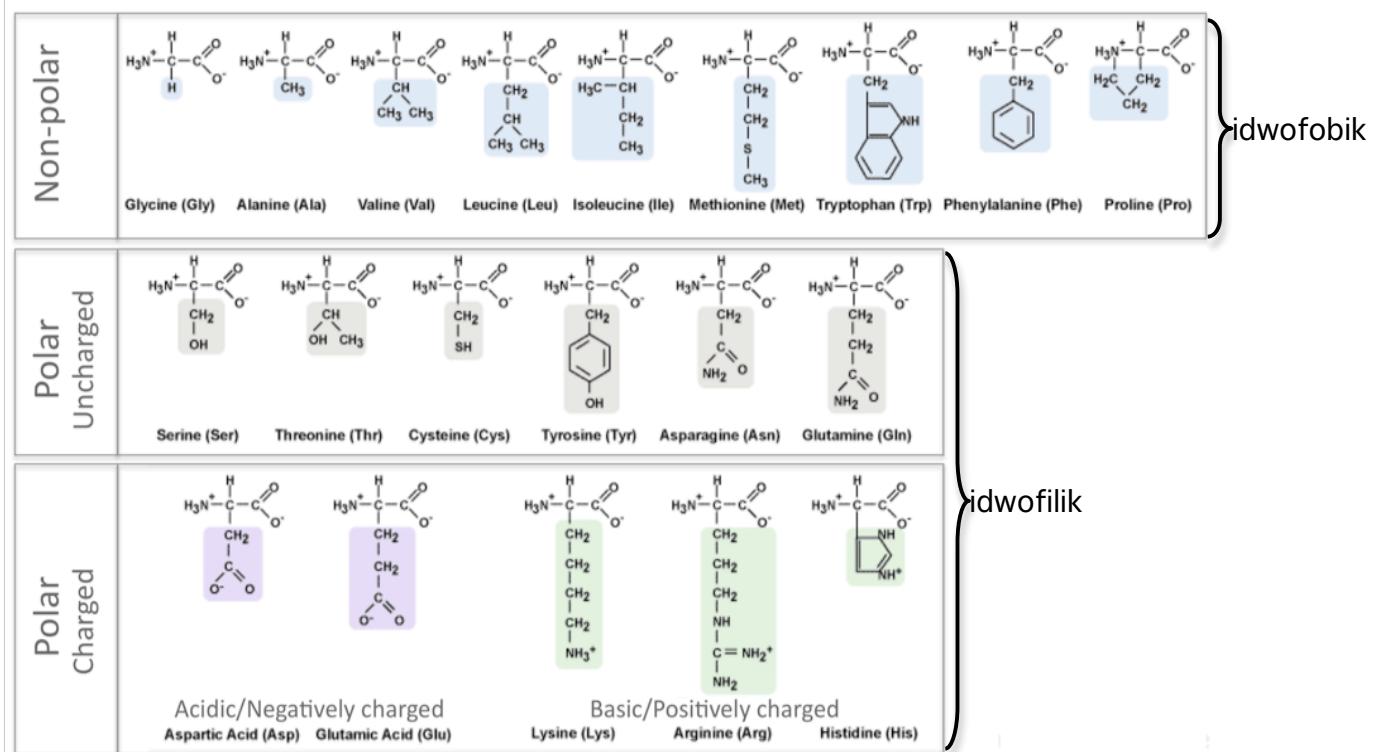
Pwopoze yon espryans syantifik ki pou teste si fenilalanin 114 la gen kichòy pou wè nan deteksyon ak reparasyon nikleyobaz 8-ogzogwanin.

Repons

Referans

ESTRIKTI CHIMIK ASID AMINE YO

20 asid amine yo gen yon eskelèt komen. Sa ki fè yo diferan se diferan chenn lateral ki rele gwoup "R". Nou mete plizyè kalite koulè sou chenn sa yo.



PRENSIP FONDAMANTAL SOU ESTRIKTI PWOTEYIN

Tout pwoteyin yo gen kat nivo nan estrikti pwoteyin yo.

Estrikti primè

Sa dekri nan ki lòd asid amine yo ye nan pwoteyin lan; men, sa pa dekri fòm yo.

Estrikti segondè

Sa dekri fòm ki soti nan plisman lokal nan reyon ki anndan chennn asid amine yo. Estrikti sa yo pi piti epi nou ka separe yo an an de (2) gwoup prensipal: Elis ak dra. Bobin yo fèt ak asid amine ki pa gen estrikti segondè ki regilye (Elis ak dra). Men, yo jwe yon wòl enpòtan nan jan pwoteyin yo pliye youn sou lòt.

Estrikti tèsyè

Sa dekri tout fòm plye ki anndan yon chenn pwoteyin.

An plis, gen kèk pwoteyin ki intèraji ak tèt yo oswa ak lot pwoteyin pou yo fòme estrikti pwoteyin ki pi gwo toujou. Pwoteyin sa yo gen yon nivo anplis estrikti pwoteyin yo.

Estrikti kwatènè

Sa dekri kouman plizyè chenn pwoteyin intèraji entrey yo epi yo pliye pou yo ka fòme yon konplèks pwoteyin ki pi gwo toujou.