

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

**TRANSPORT GLIKOPROTEINA U KLOROPLASTE
GLYCOPROTEIN TRANSPORT INTO CHLOROPLASTS
SEMINARSKI RAD**

Andrea Švorinić

Preddiplomski studij molekularne biologije

Undergraduate study of molecular biology

Mentor: izv. prof. dr. sc. Biljana Balen

Zagreb, 2015.

1. UVOD.....	1
2. EVOLUCIJA PLASTIDA.....	2
2.1. Primarni plastidi.....	2
2.2. Kompleksni plastidi.....	2
3. TRANSPORT PROTEINA U KOMPLEKSNE PLASTIDE.....	4
3.1. Prijenos preko vanjske membrane kompleksnih plastida.....	5
3.2. Prijenos preko druge membrane kompleksnih plastida.....	5
3.3. Prijenos preko treće i četvrte membrane kompleksnih plastida.....	5
4. GLIKOZILACIJA I TRANSPORT GLIKOZILIRANIH PROTEINA U KOMPLEKSNE PLASTIDE.....	7
4.1. Periplastidni proteini.....	8
4.2. Proteini strome plastida.....	8
5. ZAKLJUČAK.....	11
6. LITERATURA.....	12
7. SAŽETAK.....	13
8. SUMMARY.....	13

1. UVOD

Plastidi su organeli koji eukariotskim stanicama omogućuju stvaranje i pohranu hranjivih tvari. Plastidi poput kloroplasta koji sadržavaju pigmente koriste svjetlosnu energiju za proizvodnju ATP-a i NADPH, koji se pak koriste za pretvorbu ugljikovog dioksida u šećere, odnosno hranjive tvari koje stanica može koristiti. Drugim riječima, pretvorbom svjetlosne energije u energiju kemijskih veza, plastidi prehranjuju autotrofne stanice, a to ih čini presudnima za život na Zemlji. Prema strukturi njihovih membrana, plastide možemo podijeliti u dvije skupine: primarne i sekundarne. Dok su primarni plastidi okruženi sa dvije membrane, sekundarne plastide okružuju tri ili četiri. (Chan i Bhattacharya, 2010.)

Široko je prihvaćena teorija o endosimbiotskom podrijetlu plastida, prema kojoj fotosintetski organizam nalik na današnje cijanobakterije postaje organel veće do tada heterotrofne eukariotske stanice. Proces pretvorbe endosimbionta u organel zahtijeva ne samo prijenos gena u jezgrom domaćina, već i evoluciju novih načina označavanja i prijenosa proteina namijenjenih organelu. (Archibald, 2009.)

U eukariotskim stanicama, mnogo proteina kodiranih jezgrom i sintetiziranih u citoplazmi imaju funkciju u različitim staničnim odjeljcima, na primjer plastidima, te kako bi došli do svog krajnjeg odredišta moraju preći jednu ili više membrana. Za pravilan je transport i lokalizaciju takvih proteina stoga neophodno da budu sintetizirani kao preproteini sa jednim ili više topogenih signala koji djeluju poput adrese koju prepoznaju različiti translokacijski sustavi. (Bolte i sur., 2009.)

Glikozilacija proteina uvelike utječe na njihovo smatanje, strukturu te, posljedično, funkciju. Dugo se smatralo da stanični organeli poput mitohondrija i plastida ne posjeduju glikoproteine, međutim otkriveno je da postoje ne samo u primarnim, već i u sekundarnim plastidima. (Peschke i Hempel, 2013.) Ova otkrića otvaraju niz novih pitanja, budući da se glikoproteini kodirani genom jezgre i glikozilirani u endoplazmatskom retikulumu kloroplasta suočavaju, u slučaju sekundarnih plastida, sa dodatnim barijerama. Mehanizmi transporta glikoproteina preko tri odnosno četiri membrane kompleksnih plastida još uvijek nisu u potpunosti karakterizirani, i ova tema ostavlja još mnogo prostora za istraživanje.

2. EVOLUCIJA PLASTIDA

Pojava fotosinteze u pretku današnjih cijanobakterija prije više od dvije milijarde godina na mnogo je načina ključan događaj i svojevrsna prekretnica u evoluciji života na Zemlji. Sposobnost fotosinteze eukariotski su organizmi stekli procesom endosimbioze, u kojem jednom slobodno živući prokariot sposoban vršiti fotosintezu postaje organel unutar do tada heterotrofne eukariotske stanice. Iako je singularnost ovog događaja diskutabilna, postoje čvrsti dokazi da je upravo endosimbiotski događaj, u kojemu je domaćin već razvijeni eukariot sa jezgrom, citoskeletom te mitohondrijima, a endosimbiont cijanobakterija, rezultirao postanakom plastida. (Archibald, 2009.)

2.1. Primarni plastidi

Ključna barijera integraciji endosimbionta i njegovoj pretvorbi u organel domaćina, te ujedno i glavni argument zagovornika singularnog postanka primarnih plastida, jest kompleksnost prijenosa endosimbiotskih gena (eng. *endosymbiotic gene transfer*, EGT). Naime, genomi plastida rijetko kodiraju više od 200 proteina, dok ih više od tisuću potrebnih za funkcioniranje plastida kodira genom jezgre. Proteini kodirani genomom jezgre, a namijenjeni plastidu, većinom bivaju translaterani na citoplazmatskim ribosomima te posttranslacijski posebno označeni za prijenos preko membrana plastida. Očito je, stoga, da je i evolucija posebnih membranskih aparata za prijenos takvih proteina bio krucijalan događaj za evoluciju primarnih plastida. (Archibald, 2009.)

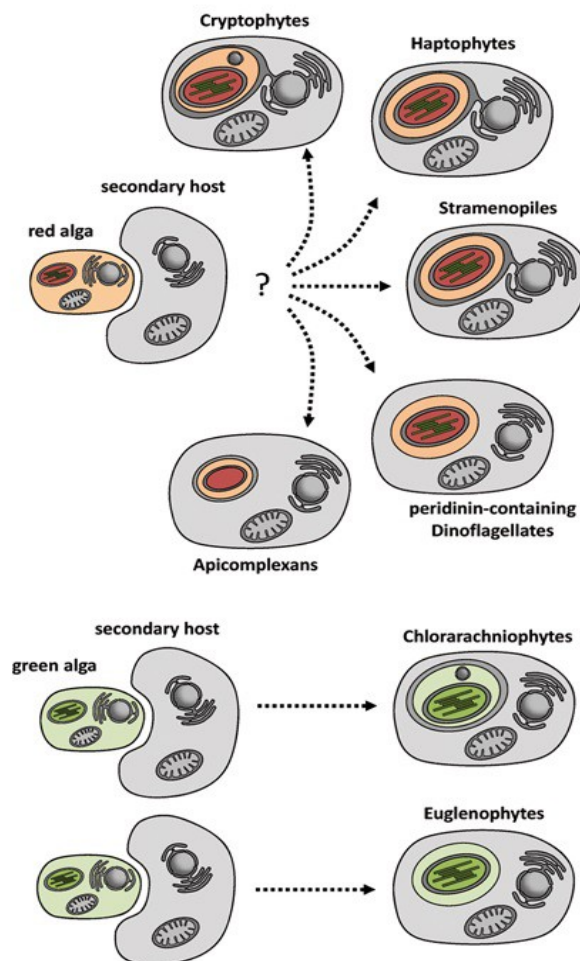
Primarni plastidi obavijeni su dvijema membranama, od kojih je unutrašnja endosimbiotskog podrijetla. Dva translokonska kompleksa, translokator vanjske membrane kloroplasta (eng. *translocator of the outer chloroplast membrane*, Toc) i translokator unutarnje membrane kloroplasta (eng. *translocator of the inner chloroplast membrane*, Tic) omogućuju prijenos proteina kodiranih jezgrom u stromu plastida. Proteini kodirani jezgrom a namijenjeni plastidima opremljeni su, stoga, N-terminalnim produžetkom, takozvanim tranzitnim peptidom, koji omogućuje prepoznavanje od strane sustava Toc/Tic i posljednično pravilni transport istih. (Bolte i sur., 2009.)

2.2. Kompleksni plastidi

Za razliku od primarnih plastida, sekundarni plastidi posjeduju tri odnosno četiri membrane. Postanak kompleksnih plastida posljedica je sekundarnog endosimbiotskog događaja, u kojem

endosimbiont nije prokariotski već eukariotski fotosintetski organizam, konkretno zelena ili crvena alga. Raznovrsnost organizama koji posjeduju kompleksne plastide ukazuje na barem tri nezavisna endosimbiotska događaja. (Bolte i sur., 2009.)

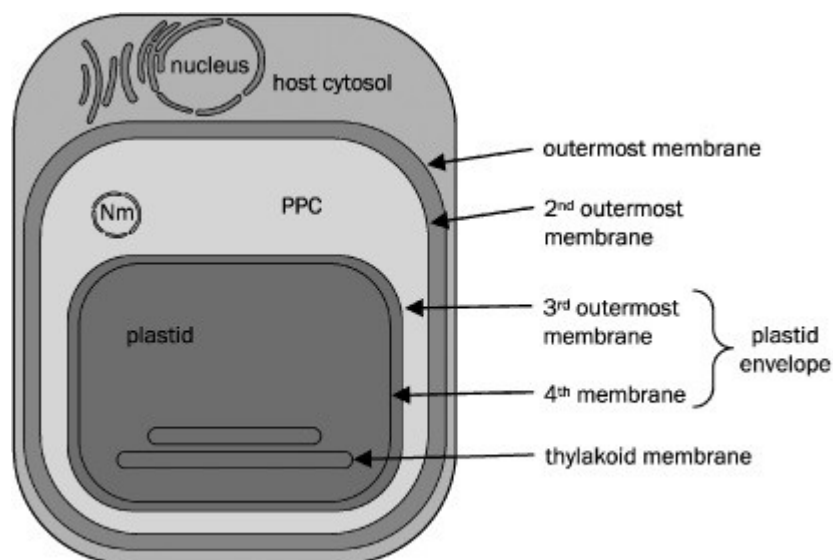
Ovakvo lateralno širenje plastida među eukariotima zahtjeva ponovno premještanje stotina gena koji kodiraju za proteine namijenjene plastidu iz jezgre primarnog domaćina u jezgru novog domaćina. Naime, većina kompleksnih plastida gubi jezgru primarnog domaćina, od koje ostaje takozvani nukleomorf. (Archibald, 2009.) Evolucija novog načina označavanja i prijenosa proteina je, stoga, neophodna za postanak kompleksnih plastida.



Slika 1. Evolucija kompleksnih plastida. Sekundarnom endosimbiozom endosimbiont, crvena odnosno zelena alga, postaje organel svog domaćina, odnosno plastid okružen sa tri ili četiri membrane. Odvila su se barem dva nezavisna endosimbiotska događaja kod kojih je endosimbiont zelena alga, dovodeći do nastanka skupina *Chlorarachniophytes* i *Euglenophytes*, te jedan ali potencijalno i više kod kojih je endosimbiont crvena alga. Preuzeto iz "*Glycoprotein import: A common feature of complex plastids?*", Peschke i Hempel, 2013.

3. TRANSPORT PROTEINA U KOMPLEKSNE PLASTIDE

Tri odnosno četiri membrane koje okružuju kompleksne plastide predstavljaju prepreku u prijenosu proteina kodiranih jezgrom domaćina, a namijenjenih plastidu. Prenamjena i nadogradnja već postojećih translokacijskih sustava u stanici igra važnu ulogu u prijenosu preproteina čije je odredište kompleksni plastid. (Peschke i Hempel, 2013.) N-terminalni tranzitni peptid koji karakterizira proteine namijenjene primarnim plastidima, u slučaju kompleksnih plastida nadograđen je signalnim peptidom. Signalni peptid i tranzitni peptid zajedno čine takozvani BTS (eng. *bipartite targeting signal*) koji je zajedničko obilježje svih preproteina čije je odredište kompleksni plastid. (Peschke i sur., 2013.)



Slika 2. Shematski prikaz topologije membrana organizma koji sadrži sekundarni plastid okružen sa četiri membrane. Prva vanjska membrana potječe od fagosomske membrane i u nekim je slučajevima povezana sa endoplazmatskim retikulumom domaćina. Druga membrana potječe od stanične membrane endosimbionta. Treća i četvrta membrana odgovaraju vanjskoj i unutrašnjoj membrani primarnog plastida. Kratice: PPC - periplastidni pregradak (eng. *periplastidal compartment*), Nm - nukleomorf, ostatak jezgre primarnog domaćina. Preuzeto iz "*Protein targeting into secondary plastids*", Bolte i sur., 2009.

3.1. Prijenos preko vanjske membrane kompleksnih plastida

Kod skupina *Stamenopiles*, *Haptophytes* i *Cryptophytes*, prva se membrana kompleksnih plastida nastavlja na endoplazmatski retikulum stanice. Prijenos proteina preko ove membrane odvija se kotranslacijski, pomoću translokacijskog kompleksa Sec61. Signalni peptid na N-terminusu preproteina neophodan je za ovaj korak prijenosa i biva odstranjen kada se preprotein nađe u endoplazmatskom retikulumu kompleksnog plastida odnosno kloroplasta (cER, eng. *chloroplast ER*). (Pescke i sur., 2013.)

3.2. Prijenos preko druge membrane kompleksnih plastida

Tranzitni peptid obilježje je svih preproteina namijenjenih plastidu, odnosno posjeduju ga i oni proteini čije je krajnje odredište prostor između druge i treće membrane, periplastidni pregradak (eng. PPC, *periplastidal compartment*), kao i proteini čiji se prijenos nastavlja preko preostalih membrana do strome plastida. Ova činjenica ukazuje na važnost tranzitnog peptida za prijenos preko druge membrane kompleksnih plastida, što je u proturječju sa prvotnim pretpostavkama da je on nužan jedino za prijenos preko treće i četvrte membrane. (Bolte i sur., 2009.)

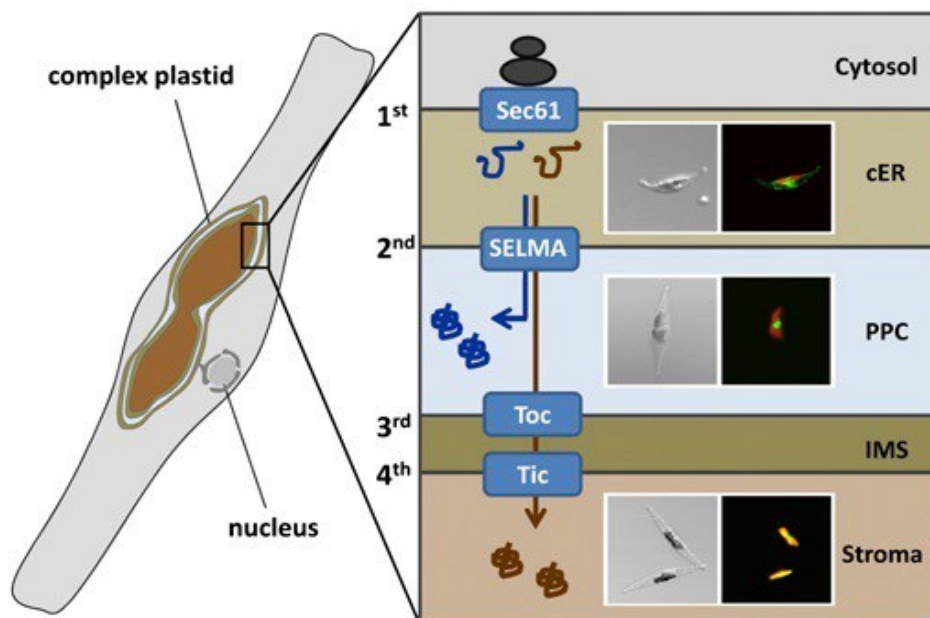
U evolucijskom smislu, mehanizam prijenosa preko druge vanjske membrane interesantan je kao primjer prenamjene već postojećih translokacijskih mehanizama koji tijekom tranzicije endosimbionta u organel dobivaju nove uloge. Naime, filogenetičke kao i molekularne analize ukazuju na to da je translokacijski sustav ove membrane deriviran od degradacijskog transportnog sustava endoplazmatskog retikuluma (eng. *ER-associated degradation*, ERAD) endosimbionta. Iz ovog razloga translokacijski sustav druge membrane nosi naziv SELMA (eng. *symbiont-specific ERAD-like machinery*). (Pescke i sur., 2013.)

3.3. Prijenos preko treće i četvrte membrane kompleksnih plastida

Dvije različite skupine proteina kodiranih jezgrom stanice bivaju transportirani preko plastidnih membrana: proteini čije je krajnje odredište stroma plastida te stoga prelaze sve tri odnosno četiri membrane, te proteini čije je odredište periplastidni pregradak. Ukoliko proteini imaju funkciju unutar periplastidnog pregradka, tranzitni peptid biva odstranjen nakon prijenosa preko prve i druge vanjske membrane, a sam protein poprima svoju nativnu konformaciju. (Pescke i sur., 2013.)

Diskriminacija među ove dvije skupine proteina odvija se, dakle, u samom periplastidnom pregradku, a eksperimentalni dokazi ukazuju na važnost same sekvence tranzitnog peptida za pravilno prepoznavanje proteina sa određenim odredištem. (Bolte i sur., 2009.)

Smatra se da su treća i četvrta unutrašnja membrana kompleksih plastida homologne dvjema membranama koje okružuju primarne plastide. Iz ovog razloga pretpostavlja se da se prijenos preko istih odvija pomoću translokona homolognih sustavu Toc/Tic u primarnih plastida. (Pesche i sur, 2013.) Ipak, genomske analize pokazale su da u nekih organizama čiji su plastidi podrjetlom crvene alge translokoni Toc ne postoje, zbog čega postoji mogućnost uključenosti i nekih drugačijih translokacijskih sustava u ovom transportu. (Bolte i sur., 2009.)



Slika 3. Shematski prikaz transporta preproteina u kompleksni plastid dijatomeje *Phaeodactylum tricornutum*. Plavom bojom označeni su preproteini čije je krajnje odredište periplastidni pregradak, a smeđom bojom oni koji se transportiraju preko treće i četvrte membrane u stromu plastida. Prijenos preko prve membrane odvija se kotranslacijski pomoću sustava Sec61, dok prijenos preko druge membrane omogućuje sustav SELMA. Transport preko dvaju unutrašnjih membrana vjerojatno je homologan translokacijskom sustavu Toc/Tic primarnih plastida. Fluorescencijskom mikroskopijom, uz korištenje proteina označenih zelenim fluorescentnim proteinom (eng. *green fluorescent protein*, GFP) moguće je diskriminirati različite odjeljke unutar kompleksnog plastida. Crvena boja potječe od autofluorescencije samog plastida, a zelena daje informaciju o položaju proteina označenih zelenim fluorescentnim proteinom. Preuzeto iz "*Evidence for glycoprotein transport into complex plastids*", Peschke i sur., 2013.

4. GLIKOZILACIJA I TRANSPORT GLIKOZILIRANIH PROTEINA U KOMPLEKSNE PLASTIDE

Glikoproteini imaju jedan ili nekoliko oligosaharidnih ostataka kovalentno vezane na sam protein. Oligosaharidni dio glikoproteina bogat je informacijama, i omogućuje specifično prepoznavanje i lokalizaciju proteina unutar stanice. Glikozilacija proteina uvelike utječe na njihovo smatanje, strukturu, i funkciju. Do glikozilacije dolazi tijekom prolaska preproteina sekretorskim putevima kroz endoplazmatski retikulum i Golgijev aparat stanice. Dugo se smatralo da organeli kao što su mitohondriji i plastidi ne posjeduju glikolizirane proteine. Naime, translokacijski sustav membrana plastida, Toc/Tic, vrlo vjerojatno ne može prenositi glomazne proteine, odnosno glikanski ostaci glikoziliranih proteina predstavljaju steričku smetnju u njihovom prijenosu ovim putem. Međutim, pokazano je da u primarnim plastidima ipak postoje glikoproteini, čiji se prijenos u plastide odvija alternativnim vezikularnim putem. Ovi proteini primarnih plastida ne posjeduju tranzitni peptid već signalni peptid. (Peschke i Hempel, 2013.)

Postoje li glikoproteini i u kompleksnim plastidima, i ako da, na koji se način odvija njihov transport iz citosola u sam plastid, dugo je bila nepoznanica. U radu iz 2013. godine, Peschke i suradnici pokazuju da u kompleksnim plastidima dijatomeje *Phaeodactylum tricornum* uistinu postoje glikoproteini. Naime, identificirano je pet endogenih glikoproteina koji bivaju transportirani u različite odjeljke kompleksnog plastida, a osim toga dokazano je i da se proteini sa umjetnim mjestima N-glikozilacije glikoziliraju tijekom transporta u sam plastid, što ukazuje na činjenicu da i u cER postoji glikozilacijska mašinerija. Ovo zanimljivo otkriće otvara niz novih pitanja vezanih za način translokacije glikoproteina.

4.1. Periplastidni proteini

U ranije spomenutom radu (Peschke i sur., 2013.) izneseni su eksperimentalni podatci koji dovode do zaključka da do glikozilacije plastidnih proteina dolazi u cER, nakon transporta preko prve vanjske membrane kompleksnih plastida. Naime, pokazano je da konstrukti preiplastidnih preproteina sa dodatnim N-glikolizacijskim mjestima bivaju glikozilirani prije prijenosa u periplastidni pregradak. To je dokaz da endoplazmatski retikulum kloroplasta posjeduje molekularnu mašineriju potrebnu za N-glikozilaciju. Glikozilirani proteini nadalje moraju biti preneseni preko druge membrane u PPC, gdje se tranzitni peptid cijepa sa preproteina. Transportni sustav druge membrane kompleksnih plastida, SELMA, kao što je ranije spomenuto, deriviran je od transportnog sustava ERAD, koja služi prijenosu pogrešno smotanih proteina iz endoplazmatskog retikuluma u citosol. Iz ove je činjenice moguće predvidjeti da translokacijski sustav druge membrane ima sposobnost prenositi i glomazne proteine, u ovom slučaju glikoproteine. U evolucijskom kontekstu, prenamjena degradacijskog sustava endoplazmatskog retikuluma endosimbionta u translokacijski sustav za transport preproteina kodiranih jezgrom domaćina može se promatrati kao rezultat selekcijskog pritiska od strane potrebe za transportom glikoproteina. (Peschke i sur., 2013.)

4.2. Proteini strome plastida

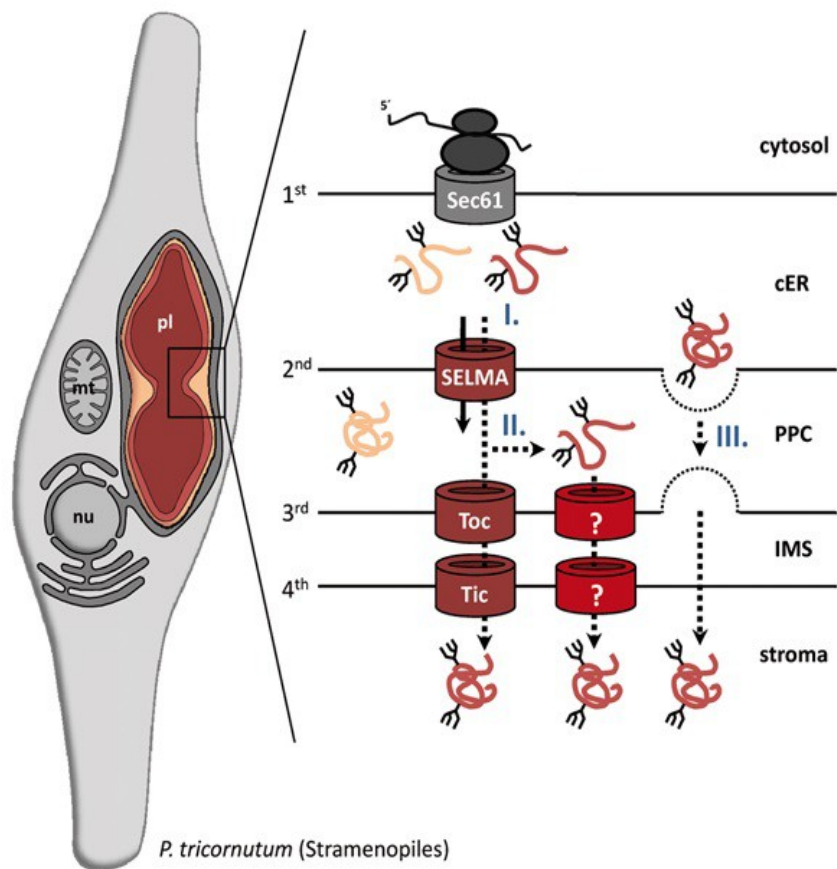
Peschke i suradnici (2013.) eksperimentalno su dokazali da osim glikoproteina u periplastidnom pregratku dijatomeje *Phaeodactylum tricornum* postoje i glikoproteini lokalizirani u stromi plastida. Budući da do glikozilacije dolazi u endoplazmatskom retikulumu kloroplasta, preproteini čije je odredište stroma plastida treću i četvrtu membranu moraju preći u glikoziliranom obliku. Kao što je ranije spomenuto, pretpostavlja se da se prijenos preko ovih membrana kompleksnih plastida odvija pomoću translokacijskih sustava nalik sustavu Toc/Tic vanjske odnosno unutrašnje membrane primarnih plastida. Uistinu, u vrsti *P. tricornum* identificiran je homolog Toc75. (Bullmann i sur., 2010.) Međutim, kao i kod primarnih plastida, ovi translokacijski sustavi generalno nemaju mogućnost prijenosa glikoproteina. Naime, promjer pore homologa Toc75 u *P. tricornum* iznosi otprilike 15 Å, a i translokoni unutrašnje membrane posjeduju pore sličnih dimenzija (Peschke i sur., 2013.), dok glikanski ostaci koje posjeduju N-glikozilirani proteini uglavnom imaju dimenzije približno 10x10x30 Å. Generalno se plastidni preproteini preko translokacijskih sustava Toc/Tic u primarnih plastida ne prenose u nativnom obliku, upravo zbog veličine pora (Ruprecht i sur., 2010.),

a što se tiče glikoproteina, dokazano je da se u primarne plastide unose alternativnim vezikularnim putem. Međutim, za kompleksne plastide za sada nije utvrđeno postojanje klasičnih komponenata vezikularnog transportnog puta. (Peschke i sur., 2013.) Zato pitanje na koji način se odvija transport glikoproteina preko unutrašnjih membrana kompleksnih plastida za sada ostaje neodgovoreno, a Peschke i suradnici predlažu tri moguća modela.

Prema prvom modelu, glikoproteini do čije glikozilacije dolazi u cER prelaze drugu membranu pomoću translokacijskog sustava SELMA, a u stromu plastida dospjevaju prelazeći treću i četvrtu membranu pomoću translokacijskih sustava Toc odnosno Tic. Prema ovom modelu, glikanski ostaci predstavljaju manju steričku smetnju nego što se do sada pretpostavljalo ili su translokoni Toc i Tic dovoljno fleksibilni da omoguće prijenos glikoproteina. Za testiranje ove hipoteze, autori predlažu eksperiment u kojem bi bilo provjereno mogu li izolirani primarni plastidi, odnosno njihov translokacijski sustav Toc/Tic, *in vitro* unositi N-glikozilirane proteine.

Drugi model predlaže postojanje do sada nepoznatih translokacijskih mašinerija, a proteomske analize bi u budućnosti mogle omogućiti identifikaciju hipotetskih novih translokacijskih sustava. Ukoliko je ovo slučaj, logično je pretpostaviti postojanje dodatnih signala na samom preproteinu koji bi omogućili prepoznavanje od strane ovih za sada nepoznatih translokacijskih sustava. Jedna je pretpostavka da sami glikanski ostaci u kombinaciji sa BTS predstavljaju takav signal, međutim, provedeni eksperimenti pokazali su da inhibicija N-glikozilacije ne utječe na krajnju lokalizaciju plastidnih proteina.

Posljednja hipoteza je da se transport preko treće i četvrte membrane odvija alternativnim vezikularnim putem, analogno načinu na koji glikoproteini ulaze u primarne plastide. Međutim, do sada nisu identificirane komponente vezikularnog transporta u periplastidnom pregratku.



Slika 4. Tri predložena modela za prijenos glikoproteina u stromu kompleksnih plastida. Prema prvom modelu glikoproteini koriste isti transportni put kao i ostali proteini, a treću i četvrtu membranu prelaze pomoću translokona homolognih sustavu Toc/Tic primarnih plastida. Drugi model pretpostavlja postojanje nekih do sada neotkrivenih transportnih sustava koji omogućuju prijenos glikoproteina preko treće i četvrte membrane. Treći model predlaže vezikularni transport glikoproteina, koji bi u tom slučaju trebali biti prepoznati već unutar cER. Preuzeto iz: "*Evidence for glycoprotein transport into complex plastids*", Peschke i sur., 2013.

5. ZAKLJUČAK

Zadivljujuća kompleksnost eukariotske stanice zahtjeva visoku učinkovitost i preciznost mehanizama označavanja i transporta proteina koji u različitim organelima izvode svoje funkcije. Upravo proučavanje evolucije plastida ukazuje na važnost translokacijskih sustava koji omogućuju prelazak proteina kodiranih jezgrom preko membrana. Naime, pretvorba endosimbionta u organel prije svega podrazumijeva prijenos gena u jezgru domaćina, što za sobom povlači i nužnost razvoja novog načina označavanja preproteina sintetiziranih u citosolu stanice te razvoj translokacijskog sustava koji će iste pravilno prepoznati i dopremiti u sam organel. U složenim plastidima, koji su nastali sekundarnom endosimbiozom te su stoga okruženi sa tri ili čak četiri membrane, situacija je još kompliciranija. Ne samo da su se geni morali još jednom preseliti iz jezgre primarnog u jezgru sekundarnog domaćina, nego i proteini namijenjeni stromi kompleksnog plastida sada moraju preći dodatne barijere. Rezultat ovog evolucijskog pritiska je modifikacija i prenamjena već postojećih transportnih sustava, a odličan primjer za to je translokacijski sustav SELMA (eng. *symbiont-specific ERAD-like machinery*), nastao od degradacijskog sustava endoplazmatskog retikuluma endosimbionta, a koji omogućuje prijenos preproteina preko druge membrane kompleksnih plastida.

Otkriće postojanja glikoproteina u primarnim, pa zatim i sekundarnim plastidima otvorilo je niz novih pitanja vezanih za transport. Naime, oligosaharidni ostatak glikoproteina svojevrsna je sterička smetnja, i postavlja se pitanje da li translokoni plastidnih membrana mogu prenositi i proteine tih veličina. U primarnim plastidima, glikoproteini bivaju uneseni alternativnim vezikularnim putem, pa stoga ne postoji potreba da se prenose translokonomima Toc/Tic. Međutim, za sada još nije poznato kako se prijenos odvija kod kompleksnih plastida.

Kako bi se ustvrdilo da li translokacijski sustav Toc/Tic ima mogućnost prijenosa glikoproteina, potrebno je provesti još strukturnih studija, kao i eksperimenata na izoliranim plastidima *in vitro*. S druge strane, genomske analize mogle bi ukazati na postojanje nekih, do sada nepoznatih, alternativnih puteva prijenosa. U svakom slučaju, učinjeni su tek mali koraci ka rješavanju ovih pitanja i razumijevanju kompleksnih mehanizama transporta stanice, a novi eksperimenti u budućnosti mogli bi baciti potpuno novo svjetlo na do sada poznate činjenice.

6. LITERATURA

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., Essential Cell Biology 2nd edition, Garland Science (2004.), pp. 497-527

Archibald, J. M., The puzzle of plastid evolution, *Current Biology* (2009.) 19: R81–R88

Bolte, K., Bullmann, L., Hempel, F., Bozarth, A., Zauner, S., Maier, U. G., Protein targeting into secondary plastids, *Journal of Eukaryotic Microbiology* (2009.) 56(1): 9–15

Bullmann, L., Haarmann, R., Mirus, O., Bredemeier, R., Hempel, F., Maier, U. G., Schleiff, E., Filling the gap, evolutionarily conserved Omp85 in plastids of chromalveolates, *Journal of Biological Chemistry* (2010.) 285(9): 6848– 6856

Chan, C. X., Bhattacharya, D., The Origin of Plastids, *Nature Education* (2010.) 3(9): 84

Felsner, G, Sommer, M.S., Gruenheit, N., Hempel, F., Moog, D., Zauner, S., Martin, W., Maier, U. G., ERAD components in organisms with complex red plastids suggest recruitment of a preexisting protein transport pathway for the periplastid membrane, *Genome Biology and Evolution* (2011.) 3: 140–150

Lehninger, A., Nelson D. L., Cox, M. M., *Lehninger's Principles of Biochemistry* 5th edition , W. H. Freeman and Company (2008), pp. 235-270

Peschke, M., Hempel, F., Glycoprotein import: a common feature of complex plastids?, *Plant Signaling & Behavior*, (2013.) 8(10): 37-41

Peschke, M., Moog, D., Klingl, A., Maier, U. G., Hempel, F., Evidence for glycoprotein transport into complex plastids, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* (2013.) 110(26): 10860–10865

Ruprecht, M., Bionda, T., Sato, T., Sommer, M. S., Endo, T., Schleiff, E., On the impact of precursor unfolding during protein import into chloroplasts, *Molecular Plant* (2010.) 3(3): 499– 508

7. SAŽETAK

Većina proteina potrebnih za funkcioniranje plastida kodirani su genom jezgre, zbog čega preproteini sintetizirani u citosolu stanice a predodređeni za izvođenje svojih funkcija unutar plastida moraju preći membrane koje okružuju plastid. Iz ovog je razloga evolucija mehanizama označavanja i transporta takvih proteina bila neophodna za integraciju endosimbionta i njegovu pretvorbu u organel. Evolucija kompleksnih plastida koja se odvila sekundarnom endosimbiozom rezultirala je postankom organela okruženih sa tri ili četiri membrane. U organizama koji posjeduju kompleksne plastide tijekom transporta preproteina je stoga još kompliciraniji, a dosadašnje spoznaje ukazuju na modifikaciju i prenamjenu već postojećih translokacijskih mehanizama, koji dobivaju novu funkciju u transportu preproteina preko višestrukih membrana kompleksnih plastida, kao i nadogradnju postojećeg sustava označavanja. Otkriće postojanja glikoproteina ne samo u primarnim već i u sekundarnim plastidima otvara nova pitanja vezana za transport istih, budući da nije poznato mogu li translokoni unutrašnjih membrana prenositi glikoproteine. Cilj ovog seminara je obuhvatiti dosadašnje spoznaje o mehanizmima transporta glikoproteina u plastide. Unatoč tome što su učinjeni koraci ka identifikaciji translokacijskih sustava uključenih u transport glikoproteina, ova je problematika za sada tek djelomično razjašnjena.

8. SUMMARY

Most of the proteins required for plastid functioning are nucleus-encoded and synthesized in the cytosol and therefore must be transferred across membranes of the organel to reach their final destination. Consequently, both a signaling system and translocation machinery had to evolve in order to integrate the endosymbiont which would thereby become an organel of the host cell. Complex plastids evolved by secondary endosymbiosis and are, in contrast to primary plastids, surrounded by three or four envelope membranes. Thus, nucleus-encoded preproteins face additional barriers and new transport systems had to evolve to overcome this problem. Recent studies suggest that preexisting transport machineries were recycled and modified.

The discovery of glycoproteins not only in primary but also in complex plastids gives rise to new questions, as most translocation machineries are not believed to be able to transport bulky proteins. The aim of this review is to describe and discuss so far known translocation systems involved in transport of glycoproteins into complex plastids, as well as proposed models for yet unsolved problems.