

# Posttranslacijske modifikacije biljnih proteina

---

Kozić, Zrinko

Undergraduate thesis / Završni rad

2010

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:603671>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



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

Posttranslacijske modifikacije biljnih  
proteina

Post-translational modifications of plant  
proteins

**SEMINARSKI RAD**

---

**ZRINKO KOZI**

**PREDDIPLOMSKI STUDIJ MOLEKULARNE BIOLOGIJE**

**UNDERGRADUATE STUDY OF MOLECULAR BIOLOGY**

**MENTOR: DOC. DR. SC. BILJANA BALEN**

**ZAGREB, 2010.**



## Sadržaj

Uvod.....	1
Posttranslacijske modifikacije proteina (PTM) – definicija .....	2
Metode istraživanja PTM.....	3
Glikolizacija biljnih proteina .....	5
Biljni N-vezani glikani.....	5
Biljni O-vezani glikani.....	7
Fosforilacija biljnih proteina.....	9
Glikozilfosfatidilinozitolne modifikacije.....	10
Ubikvitinacijske modifikacije.....	12
Sažetak .....	13
Summary.....	13
Literatura.....	14
Dodatak .....	15
Legenda simbola slika 1. i 2. ....	15
Shema mogućih PTM proteina po aminokiselinama.....	16

## Uvod

Krajem prošlog stoljeća, razvoj metoda sekvenciranja genoma i povezanja mogući nasti analize strukture i funkcije proteina doveo je do pojave i razvoja proteomike kao funkcionalne grane genomske analize. Proteomska istraživanja predstavljaju opsežnu analizu i identifikaciju svih proteinskih molekula unutar stanice, stoga pod pojmom proteom<sup>1</sup> smatramo ukupan komplement proteina koji su proizvod određenog organizma. Proteom uključuje i proteine koji su nakon translacije prošli kroz jedan ili više stupnjeva modifikacije. Posttranslacijske modifikacije (PTM) značajno otežavaju određivanje funkcije proučavanih proteina te je za njihovu identifikaciju i izolaciju modificiranih proteina bilo potrebno prilagoditi ili razviti nove analitičke metode. Od posebnog su značaja analize PTM-ova biljnih proteina, prvenstveno zbog toga što biljke imaju sposobnost sinteze većine neproteinskih komponenata koje nalazimo u produktima takvih modifikacija. Također je otkriveno da se mnoge od tih komponenata mogu naći i u animalnim organizmima, dok su neke od njih jedinstvene za biljke. Unatoč tome, postoji znatno više istraživanja animalnih PTM proteinima nego biljnih. Malobrojna istraživanja biljnih PTM proteina koncentrirana su na svega nekoliko skupina modifikacija. Osim posttranslacijske modifikacije proteina znatno povećavaju raznolikost proteina i kompleksnost organizma te su njihova istraživanja kao i određivanje njihovih uloga unutar proteoma od velikog značaja.

---

<sup>1</sup> Proteom (protein + genom), Marc R. Wilkins, Christian Pasquali, Ron D. Appel, Keli Ou, Olivier Golaz, Jean-Charles Sanchez, Jun X. Yan, Andrew. A. Gooley, Graham Hughes, Ian Humphery-Smith, Keith L. Williams & Denis F. Hochstrasser (1996). "From Proteins to Proteomes: Large Scale Protein Identification by Two-Dimensional Electrophoresis and Amino Acid Analysis". *Nature Biotechnology* 14 (1): 61–65

## Posttranslacijske modifikacije proteina (PTM) – definicija

Pod pojmom posttranslacijskih modifikacija proteina podrazumijevamo kovalentne promjene u njihovoj primarnoj strukturi. Takve su promjene specifične s obzirom na pojedine proteinske slijedove, a mogu uključivati reverzibilna dodavanja i uklanjanja funkcionalnih skupina, alternativnih peptida ili proteina, kao i raznolike strukturalne promjene bez interakcije sa stranim funkcionalnim skupinama. Među najčešćim modifikacijama su reakcije fosforilacije, acilacije, glikozilacije, nitracije i ubikvitinacije. Posttranslacijski modificirani proteini prolaze kroz strukturalne, ali i funkcionalne promjene. Također se reguliraju njihova aktivnost, lokalizacija unutar stanice i interakcije s drugim proteinima. Reakcije modifikacija mogu biti katalizirane enzimima. Poznato je preko 500 proteinskih kinaza, 150 fosfataza i 500 proteaza koje su zadužene za posttranslacijske modifikacije proteina u ljudskim stanicama<sup>2</sup>. Neenzimatske reakcije najčešće uključuju strukturalne promjene unutar samog proteina, kao što su stvaranja ili raskidanja disulfidnih mostova. Najčešća mjesta modifikacija unutar stanice su endoplazmatski retikulum (ER; za proteine sintetizirane na ribosomima koji su vezani za ER) i Golgijev aparat (GA) u kojem dolazi do većine modifikacija kataliziranih mnogobrojnim enzimima koji se u njemu nalaze. PTM u stanici znatno povećavaju proteinsku kompleksnost i dinamiku te dovode do složenije regulacije bioloških mehanizama.

---

<sup>2</sup> C. T. Walsh et al.: „Protein Posttranslational Modifications: The Chemistry of Proteome Diversifications“, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 7342 – 7372

## Metode istraživanja PTM

Za identifikaciju i istraživanje PTM proteina potrebna je velika količina samog proteina i visoko osjetljiva metoda za njegovu detekciju, stoga su takva istraživanja moguća tek od nedavno. Do 2004. godine otkriveno je oko 300 različitih PTM<sup>3</sup>, a njihov se broj od tada znatno povećava. Jedan od najvećih problema u analizi modificiranih proteina je taj što se PTM može dogoditi na samo jednom dijelu aminokiselinskog slijeda, što znači i da se jedna vrsta modifikacije može dogoditi na više mjesta unutar jednog proteina. Tako dobivamo heterogenu populaciju proteina koji su modificirani na različitim mjestima te je zbog toga problematično izolirati proteinske specije koje su u istom modifikacijskom stanju. Taj se problem djelomično može riješiti uporabom metoda kao što su afinitetno obogaćivanje i kromatografsko frakcioniranje. Često korišten alat u proteomskoj analizi PTM je i dvodimenzionalna elektroforeza (2DE). Prefrakcionirani proteini u različitim modifikacijskim stanjima se često mogu razdvojiti u gelu, odakle se mogu izolirati i podvrgnuti daljnjoj analizi. Vizualizacija proteina u gelu ovisi o tipu modifikacije, na primjer, za fosforilirane proteine se često koristi autoradiografska vizualizacija uz <sup>32</sup>P ili <sup>33</sup>P, ili *western blotting* tehnikom pomoću antifosfoaminokiselinskih protutijela. Razvijene su i slične metode radioaktivnog ili neradioaktivnog obilježavanja glikoziliranih, nitroziliranih, metiliranih ili proteolitčki modificiranih proteina. Nakon relativno jednostavne izolacije i identifikacije PTM proteina slijedi analiza pomoću nešto složenijih metoda. Identificirani proteini se najčešće analiziraju masenom spektrometrijom (MS) što uključuje i *matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight* (MALDI-TOF) MS i MS uz ionizaciju elektroraspršenjem (*electrospray* - ESI) ili tekućinskom kromatografijom (*liquid chromatography*; LC). Osim navedenih metoda koriste se i enzimatske reakcije koje cijepaju PTM proteine na peptide te se modificirani peptidi mogu izolirati afinitetnim pročišćavanjem ili označavanjem radioaktivnim izotopima. Jednom kada je modificirani peptid izoliran lako je lokalizirati modifikaciju zbog promjene molekulske mase modificirane aminokiseline. Ovakva metoda susreće se s brojnim poteškoćama kao što su mogući ionski supresije<sup>4</sup>, nestabilnosti modificiranih

---

<sup>3</sup> Jensen ON. 2004. Modification-specific proteomics: characterization of post-translational modifications by mass spectrometry. *Current Opinion in Chemical Biology* 8, 33–41.

<sup>4</sup> Pojava koja izaziva smetnje kod MS metoda i dovodi do krive interpretacije rezultata. Thomas M. Annesley; „Ion Suppression in Mass Spectrometry“, *Clinical Chemistry*. 2003;49:1041-1044.

peptida i sve to može otežati lokalizaciju modificirane aminokiseline. Zato je potrebno raditi na usavršavanju tehnika obogaćenja i kemijskog označavanja modificiranih proteina zajedno s naprednim MS metodama kako bi istraživanja bila što osjetljivija i jednostavnija, a rezultati precizniji. Kod proučavanja glikoziliranih biljnih proteina se, uz navedene metode, koriste i biljni mutanti. Divlji tip biljaka uspoređuje se s mutantom koji sadrži mutaciju u jednom ili više gena koji su zaduženi za glikolizaciju proteina i na taj se način može saznati više informacija o funkciji glikolizacije. Za takav tip eksperimenata najčešće se koristi *A. thaliana* kao modelni organizam.

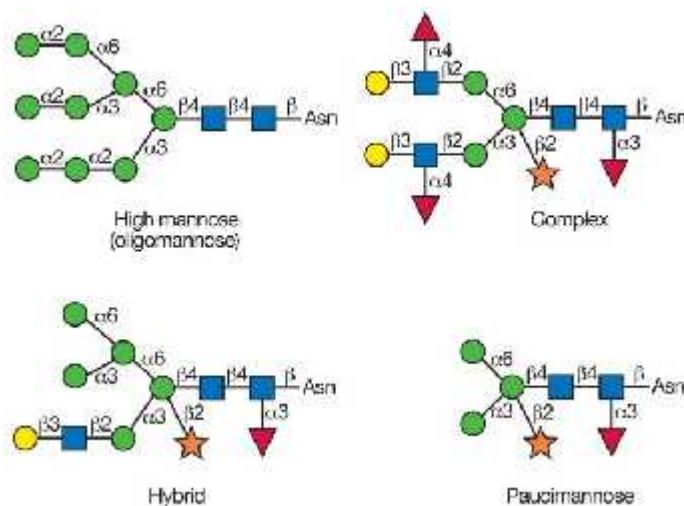


## Glikolizacija biljnih proteina

Glikolizacija proteina kod biljaka ini najve i dio njihovih PTM. U biljnim stanicama glikane nalazimo gotovo svugdje, no najviše u stani nim stijenkama. Takav tip PTM dio je biljnog sekretornog puta i ve inom se odvija u vakuoli, koja je gusto ispunjena razli itim glikanima i glikoproteinima. Iako dio glikoziliranih proteina završava u vakuoli u sklopu sekretornog puta, biljne stanice se ne koriste glikolizacijom kao sredstvom ozna avanja sekretornih proteina, kao što je to slu aj u stanicama sisavaca. Postoji više na ina takvog tipa ozna avanja, ali ni jedan od njih se ne temelji na glikolizaciji.<sup>5</sup>

### Biljni N-vezani glikani

Proteini koji prolaze kroz sekretorni sustav biljaka su N-glikani etiri tipa: visokomanozni, paucimanozni, složeni i hibridni (slika 1). Sva etiri tipa N-glikana imaju zajedni ku osnovnu strukturu (*core structure*) koja se sastoji od specifi no povezanih triju razgranatih manoznih (Man) i dvaju N-acetilglukozaminskih (GlcNAc) ostataka. Raspored še ernih ostataka unutar osnovne strukture izražen je formulom  $\text{Man}_{1-6}(\text{Man}_{1-3})\text{Man}_{1-4}\text{GlcNAc}_{1-4}\text{GlcNAc}_6$ <sup>6</sup>

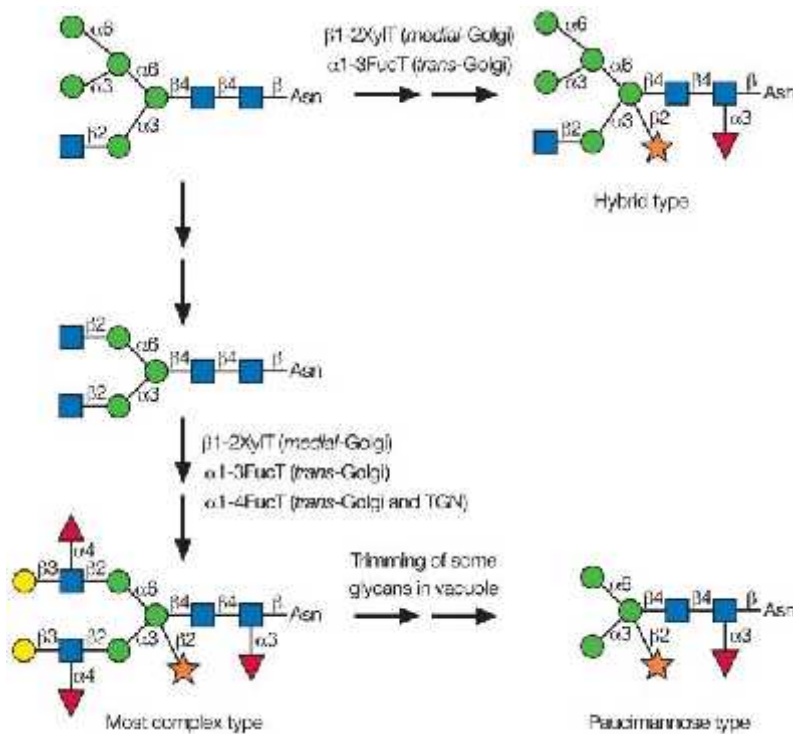


Slika 1. etiri tipa N-vezanih glikana. Preuzeto od Marylinn E. Etzler, Debra Mohnen: Essentials of Glycobiology

<sup>5</sup> Marylinn E. Etzler, Debra Mohnen: Essentials of Glycobiology, part III.22. Viridiplante

<sup>6</sup> Pamela Stanley, Harry Schachter, and Naoyuki Taniguchi: Essentials of Glycobiology, part II.8. N-Glycans

Sinteza N-glikana započinje na citosolnoj strani ER vezanjem GlcNAc na dolikol-fosfat (Dol-P). Zatim se na kompleks Dol-P-P-GlcNAc dodaje još 14 šećernih ostataka i glikan se zatim prenosi na protein stvarajući 1 N-glikozidnu vezu između GlcNAc iz osnovne strukture i bojnog ogranka asparagina (Asn) ciljnog proteina. U početnim stadijima sinteze N-vezanih glikana nije vidljiva značajna razlika u biljnim i animalnim stanicama, no u biljnim stanicama postoje specifične modifikacije proteina koji prolaze kroz GA. Ovi proteini sadrže visokomanozne N-vezane glikane i na *cis* strani GA se sa njih odcjepljuju pojedine šećerne jedinice. Stoga nemodificirane, visokomanozne N-glikane nalazimo samo vezane za ER. U medijalnom dijelu GA dolazi do adicije GlcNAc pomoću GlcNAc transferaze I, te zatim slijede modifikacije koje su specifične za biljne organizme.



Slika 2. Shematski prikaz modifikacija u GA. Preuzeto od Marylenn E. Etzler, Debra Mohnen: *Essentials of Glycobiology*

Prva modifikacija uključuje vezanje ksiloze na središnju manozu stvaranjem 1-2 glikozidne veze. Zatim, na *trans* strani GA, dolazi do adicije fukoze na GlcNAc vezan izravno na Asn proteina. Na kraju dolazi do odcjepljivanja pojedinih dijelova glikana kataliziranog - manozidazom II te dodatka jednog GlcNAc ostatka. Ove reakcije sumirane su na slici 2., s time da su na slici prikazane samo one reakcije koje su jedinstvene za biljne organizme. Neki od glikana ne prolaze kroz po etno odcjepljivanje manoznih ostataka te tako dobivamo hibridne glikane. Glikani prolaze kroz dodatne modifikacije na *trans* strani GA. Nakon

spomenutih modifikacija, proteini koji su prošli kroz GA su ili izlučeni iz stanice ili pohranjeni u vakuoli. Mnogi slobodni glikani u vakuoli su paucimanoznog tipa i pretpostavlja se da su bili dijelovi proteoglikana od kojih su odvojeni pod utjecajem vakuolarnih glikozidaza. Međ u reakcijama modifikacija N-vezanih glikana postoje mnoge koje su zajedničke biljkama i životinjama te produkti takvih reakcija mogu imati imunološka svojstva za animalne organizme. Biljni organizmi se često koriste za produkciju animalnih glikoproteina, stoga je kod takvih postupaka potrebno pripaziti da dobiveni produkti ne izazivaju alergijske ili neimunološke reakcije.<sup>7</sup>

### Biljni O-vezani glikani

Najveći udio biljnih O-glikana i glikoproteini bogati hidroksiprolinom (*hydroxiprolin-rich glycoproteins*; HRGP) te se nalazi u staničnoj stijenci. Po etničkom stadiju modifikacije tih proteina uključuje pretvorbu prolina (Pro) u hidroksiprolin (Hrp) aktivnošću u prolil hidroksilaza pronađenih u ER. Zatim do O-glikolizacije dolazi vezanjem glikana na -OH skupinu Hrp kako protein prolazi kroz ER i Golgijev aparat. Glikolizacija tih proteina ovisi o rasporedu hidroksiprolina unutar njihove primarne strukture. Na zasebne hidroksiprolinske ostatke se uglavnom dodaje arabinoza (Ara), dok se na nakupine hidroksiprolina dodaje galaktoza (Gal). Osim na hidroksiprolinu, O-glikolizacija se može dogoditi i na serinu (Ser) i rijetko na treoninu (Thr).

Postoje tri skupine HRGP-a, ovisno o njihovoj strukturi i funkciji. Prvu skupinu čine ekstenzini. Za njih su karakteristična ponavljanja Ser(Hyp)<sub>4</sub> te veliki udio glikana u glikoproteinu, kojeg čine lanci od po četiri Ara vezani za Hrp te on iznosi 50-60% mase glikoproteina. U strukturi ekstenzina se rijetko mogu naći i galaktozne jedinice vezane za serin. Drugi tip HRGP-a je znatno raznolikiji od prvog te nema neke pravilnosti u strukturi. Poznato je samo da imaju širok raspon masenih udjela glikana u glikoproteinu koji se proteže od 3-70%. Spomenuta dva tipa glikoproteina imaju strukturnu ulogu u izgradnji stanične stijenke te se njihova ekspresija razlikuje kroz različite stadije razvoja biljnog organizma ili kod ozljede tkiva. Treća skupina čine arabinogalaktani kod kojih glikani čine više od 90% molekulske mase, a sadrže Gal-O-Ser i Gal-O-Hrp ostatke. Sama struktura glikoproteina je vrlo razgranata zbog Gal jedinica povezanih 1-6 vezom. Glikoproteini trećeg tipa imaju ulogu u strukturi stanične stijenke, a mogu biti usidreni i u plazmatskoj membrani. Također se

---

<sup>7</sup> Marylenn E. Etzler, Debra Mohnen: Essentials of Glycobiology, part III.22. Viridiplante

pretpostavlja da imaju ulogu u prijenosu signala, razvoju, ekspanziji i proliferaciji stanica te somatskoj embriogenezi.

Izdvojenu skupinu HRGP ine lektini. Lektini se sastoje od dvije domene; neglikolizirane domene bogate cisteinom (Cys) i glicinom (Gly) koja veže ugljikohidrate, te glikozilirane domene koja je bogata hidrokisprolinom te je po glikolizaciji sli na ekstenzinima. Lektini se nakupljaju u vakuoli i pretpostavlja se da im je uloga u obrani od patogena tako da se vežu na hitin na njihovoj površini. Uz navedene tipove glikoproteina, u biljnim stanicama se još mogu na i O-vezani GalNAc (naj eš e vezom na Ser ili Thr) te O-vezani GlcNAc koji se koji se veže na Ser ili Thr u jezgrinim proteinima.

## Fosforilacija biljnih proteina

Fosforilacija proteina je najbolje opisana modifikacija i ima ključnu ulogu u regulaciji puteva prijenosa signala, stoga su fosfoproteini izolirani iz plazmatskih i tilakoidnih membrana najviše istraživani. Fosfoproteine je prilično jednostavno izolirati zbog njihove negativno nabijene fosfatne skupine. Najčešće se koristi afinitetna kromatografija imobiliziranim metalima (IMAC) koja se temelji na korištenju metalnih  $\text{Fe}^{3+}$  ili  $\text{Ga}^{3+}$  iona za koje se vežu fosforilirani proteini. Nakon izolacije i obogaćivanja koriste se MALDI-TOF i ESI MS radi njihove identifikacije. Neki od fosfoproteina prepoznatih na taj način su D1, D2 i CP43 koje nalazimo u PSII, LHCII i PsbH. Tim fosfoproteinima je određena primarna struktura i prepoznata su mjesta fosforilacije. Daljnjim istraživanjima i korištenjem MS metoda otkrivena su još mnoga mjesta fosforilacije, kao što su treoninski ostaci na proteinu TSP9, PsdD, CP29 te TMP14 koji se nalazi unutar PSI.

Fosfoproteini plazmatskih membrana se ponešto razlikuju od onih koje nalazimo na tilakoidima. Oni su zaduženi za međustanične interakcije prilikom razvoja biljnog organizma te interakcije stanice sa svojom okolinom. Osim toga, oni su važan element u inicijaciji i regulaciji puteva prijenosa signala. Sve to čini fosfoproteine plazmatskih membrana zanimljive za istraživanje stoga su za njih razvijene posebne metode. Citoplazmatske vezikule se prvo razgrađuju tripsinom te se produkt proučava koristeći i IMAC i MS metode, a prije toga se koristi kromatografija sa snažnim ionskim izmjenjivačem radi pročišćavanja fosfoproteinskog produkta. Takav postupak daje znatno bolje rezultate i pomoć u njega je otkriveno preko 300 mjesta fosforilacije na oko 200 proteina<sup>8</sup> na plazmatskoj membrani. Prepoznata mjesta fosforilacije daju ključne podatke o uzorcima u aminokiselinskim slijedovima prepoznatima od strane kinaza te omogućuju predviđanje mjesta fosforilacije. Pokusima provedenima na suspenziji stanica *Arabidopsis* koristeći  $^{32}\text{P}$  i 2DE fosforiliranih proteina tretiranih flagelinom i hitinom pokazali su da interakcija proteina i njihovih specifičnih kinaza ovisi o interakciji samog proteina s flagelinom<sup>8</sup>. Iz toga slijedi pretpostavka da fosforilacija proteina ima bitnu ulogu u interakciji biljaka s biljnim patogenima, to nije pri obrambenoj signalizaciji i ekspresiji gena.

---

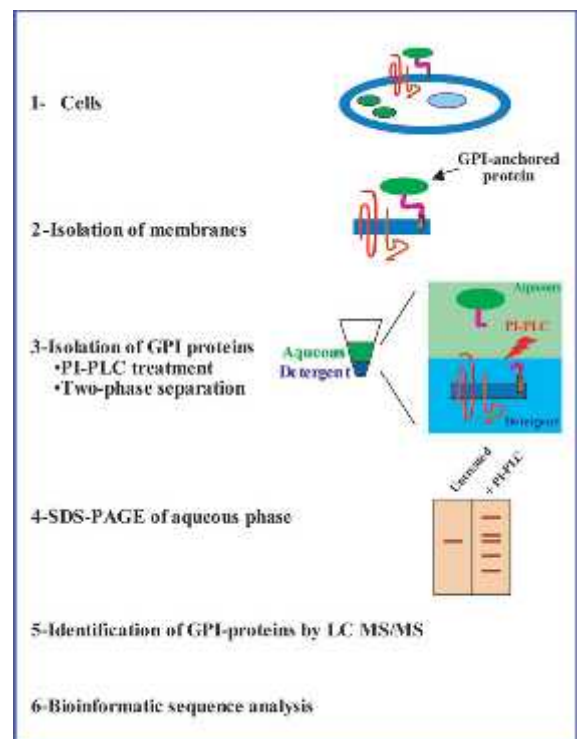
<sup>8</sup> Kwon et al. (2006.): Proteomics studies of post-translational modifications in Plants. Journal of Experimental Botany, Vol. 57, pp. 1549.

## Glikozilfosfatidilinozitolne modifikacije

Glikozilfosfatidilinozitolne modifikacije (GPI) su tip PTM specifičan za proteine koji su usidreni u plazmatskoj membrani. Različitim distribucijom GPI skupina na modificiranim proteinima ostvaruje se asimetričan raspored proteina usidrenih na plazmatskoj membrani te se pomoću njih ostvaruje i održava membranski potencijal. Uloga GPI-usidrenih proteina (GAP) je raznovrsna i detaljna genomska i proteomska istraživanja pokazuju da imaju ulogu u staničnoj signalizaciji, adheziji, remodeliranju staničnog matriksa i interakciji s patogenima. Jedna od skupina GAP su arabinogalaktani. Arabinogalaktani (AGP) su proteoglikani izvanstaničnog matriksa i imaju ulogu u rastu i razvoju biljnih organizama. Predviđa se da su pri vršenju vanjske strane plazmatske membrane pomoću GPI sidra. To na mjestima GPI sidra unutar AGP otkrivena su koristeći MALDI-TOF i MS/MS na AG-peptidima dobivenim deglikolizacijom AGP.

Izolacija GPI-usidrenih proteina je jednostavan i učinkovit proces, shematski prikazan na slici 3. Prvo je potrebno izolirati stanične membrane koje sadrže usidrene proteine. Zatim se suspenzija tretira detergentima i dolazi do pojave vodenog i organskog sloja. U suspenziju se tada dodaje fosfatidilinozitol-specifična fosfolipaza C (PI-PLC) koja cijepa GPI sidro i proteini se odvajaju od membrane. Primjećuje se karakterističan pomak GPI proteina iz organskog u vodeni sloj te se oni mogu jednostavno ekstrahirati od ostataka plazmatske membrane. Nakon ekstrakcije proteini se mogu razdvojiti i identificirati koristeći gel elektroforezu na poliakrilamidnom gelu uz natrijev dodecil-sulfat (*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*; SDS-PAGE) i LC MS, a zatim se analiziraju njihove sekvence. Ovakva metoda izolacije je prihvaćena i kao rezultat dobiju se GPI-usidreni proteini bez svog GPI sidra. Na ovaj je način izolirano i

identificirano 30 GPI-usidrenih proteina između kojih su i  $\alpha$ -1,3 glukanaze, fitocijanini, fasciklinu-slični arabinogalaktani, receptor-slični proteini, glicerofosfodiesteraze i drugi. Uz ovakve metode identifikacije koriste se i bioinformatičke analize sekvence i predviđanja



Slika 3. Strategija za izolaciju i identifikaciju GPI-usidrenih proteina. Preuzeto od Kwon et al. (2006.): Proteomics studies of post-translational modifications in Plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, pp. 1550.

mjesta GPI sidra. Postoje baze sekvenci na kojima bi se moglo pronaći GPI sidro i za njihovu identifikaciju i analizu koriste se različiti algoritmi. U različitim istraživanjima identificirano je ukupno 248 GPI-usidrenih proteina kod *Arabidopsis*, a rezultati bioinformatičkih metoda se preklapaju s onima dobivenim pomoću navedenih eksperimentalnih metoda.

## Ubikvitinacijske modifikacije

Ubikvitin (Ub) je mali protein koji postoji u svim eukariotskim stanicama. Njegova temeljna funkcija je kovalentno vezanje na lizinske ostatke proteina. Tako modificirani proteini su označeni za degradaciju proteasomom. Prema funkcionalnosti ubikvitinacije možemo zaključiti o njevoj ulozi u regulaciji stanih procesa. Pretpostavlja se da ubikvitinacija kod biljaka ima bitnu ulogu u održavanju homeostaze, rastu i razvoju biljnih stanica te odgovorima na hormone i stres. Sustav Ub – proteasom je u središtu proteomskih istraživanja Ub i Ub-slikih proteina i najčešće se koriste metode afinitetnog pročišćavanja, MS i imunokemijsko obilježavanje. Na taj način se osim izolacije Ub mogu izolirati i proteini koji su sa njim u interakciji. Bioinformatičke analize na Ub-26S proteasomskim sustavom pokazale su da u slučaju *Arabidopsis* više od 5% njegovog ukupnog genoma kodira za preko 1400 komponenata tog sustava<sup>9</sup>. Time dolazimo do zaključka da je Ub-26S u interakciji sa velikim brojem procesa u stanici. Svi detalji i mehanizmi Ub-26S sustava nisu poznati.

---

<sup>9</sup> Kwon et al. (2006.): Proteomics studies of post-translational modifications in Plants. Journal of Experimental Botany, Vol. 57, pp. 1549.



## Sažetak

Cilj proteomskih istraživanja je identifikacija svih proteinskih molekula u stanicama i tkivima pojedinih organizama, a s vremenom su se istraživanja proširila i na određivanje funkcije tih proteina. U početku se smatralo da su preko centralne dogme molekularne biologije genom i proteom u direktnoj vezi, no otkrićem PTM se pokazalo da takav pristup u istraživanjima i ne mora biti sasvim točan. PTM na različite načine utječe na funkciju proteina, bilo da se radi o regulaciji enzimske aktivnosti, lokalizaciji unutar stanice ili stanične membrana, usmjeravanja u različite biokemijske ili sekretorne puteve ili označavanjem za degradaciju. Bolje razumijevanje PTM omogućio je razvoj tehnologije, posebice na području MS metoda. Daljnjim razvojem tih metoda i primjenom bioinformatičke analize može se saznati više o PTM proteina, komponentama modifikacija i mjestima na kojima se one događaju. Konačan cilj bio bi dostignut kada bismo pomoću tih podataka i bez eksperimentalnih dokaza mogli identificirati proteine koji će proći kroz PTM, predvidjeti na kojim mjestima će se one dogoditi i u konačnici odrediti njihovu funkciju.

## Summary

The goal of proteomic research is the identification of all protein species in all cells and tissues of certain organisms and lately these research projects include identification of protein functions. In early stages of proteome research it was considered that genome and proteome are in a direct relation. However, the discovery of PTM of proteins has shown us that the central dogma of molecular biology may not be so correct after all. PTM can have different effects on their target proteins and such may include changes in regulation of their enzymatic activity, their localization in cell compartments or membranes, inclusion in metabolic or biochemical pathways, or they can serve as markers for targeting proteins bound to degradation. Technological breakthroughs have allowed us to gain better understanding in PTM, especially by development of MS methods. Further development of research options with application of bioinformatics analysis would allow us to gain better knowledge of PTM, their components and localization. The final goal would be achieved when it would be simple to determine which proteins would undergo PTM, foresee the site of the modification and finally, to determine their function.



















## Literatura

- Kwon et al. (2006): Proteomics studies of post-translational modifications in Plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, pp. 1547-155
- Marylenn E. Etzler, Debra Mohnen (2008.): *Essentials of Glycobiology*.
- Christopher T. Walsh et al. (2005): Protein posttranslational modifications: The chemistry of proteome diversifications, *Angew. Chem. Int. Vol. 44*, pp. 7342 – 7372
- Thomas M. Annesley (2003.): Ion Suppression in Mass Spectrometry, *Clinical Chemistry*, Vol. 49, pp. 1041-1044.

## Dodatak

### Legenda simbola slika 1. i 2.

#### Symbolic Representations of Common Monosaccharides and Linkages

 Galactose (Gal)	 Xylose (Xyl)
 N-Acetylgalactosamine (GalNAc)	 N-Acetylneuraminic acid (Neu5Ac)
 Galactosamine (GalN)	 N-Glycolylneuraminic acid (Neu5Gc)
 Glucose (Glc)	 2-Keto-3-deoxynononic acid (Kdn)
 N-Acetylglucosamine (GlcNAc)	 Fucose (Fuc)
 Glucosamine (GlcN)	 Glucuronic acid (GlcA)
 Mannose (Man)	 Iduronic acid (IdoA)
 N-Acetylmannosamine (ManNAc)	 Galacturonic acid (GalA)
 Mannosamine (ManN)	 Mannuronic acid (ManA)

#### Other Monosaccharides

Use letter designation inside symbol to specify if needed  

# Shema mogućih PTM proteina po aminokiselinama

