

MAG Biokemija

Modifikacije proteinov z lipidi

Seminarska naloga pri predmetu Biološke membrane

**Ena Kartal, Irina Kostadinovska, Nataša Vujović,
Miljan Trajković, Erik Štromberger**

Ljubljana, maj 2025

Kazalo

<i>Uvod.....</i>	<i>1</i>
<i>Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi</i>	<i>1</i>
Palmitoilacija	1
Miristoilacija	2
Prenilacija	4
GPI sidro	6
Modifikacije s holesterolom.....	7
<i>Strukturna vloga lipidnih modifikacij proteinov</i>	<i>9</i>
<i>Evolucija lipidnih modifikacij proteinov.....</i>	<i>12</i>
Lipidne modifikacije, ki so se razvile tekom evolucije.....	12
Arheje in bakterije	13
Evkarionti.....	13
<i>Patologija lipidnih modifikacij proteinov</i>	<i>14</i>
Rak in neznačilna prenilacija proteinov Ras	14
Terapijske tarče	14
Nevrodegeneracija in okvarjena palmitoilacija pri Hungtingtonovi bolezni	15
Širše aplikacije.....	15
<i>Literatura.....</i>	<i>17</i>
Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi – palmatoilacija, mirostoilacija, prenilacija.....	17
Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi – GPI sidro, modifikacije s holesterolom	17
Struktura vloga lipidnih modifikacij proteinov	18
Evolucija lipidnih modifikacij proteinov	18
Patologija lipidnih modifikacij proteinov	19

Uvod

Modifikacije proteinov z lipidi predstavljajo posttranslacijske modifikacije, pri katerih se na proteine kovalentno vežejo različni lipidi, kot so maščobne kisline, izoprenoidi ter steroli. Lipidne skupine povečajo hidrofobnost proteina, kar omogoča njegovo sidranje v biološke membrane ter pravilno prostorsko razporeditev in aktivacijo signalnih poti.

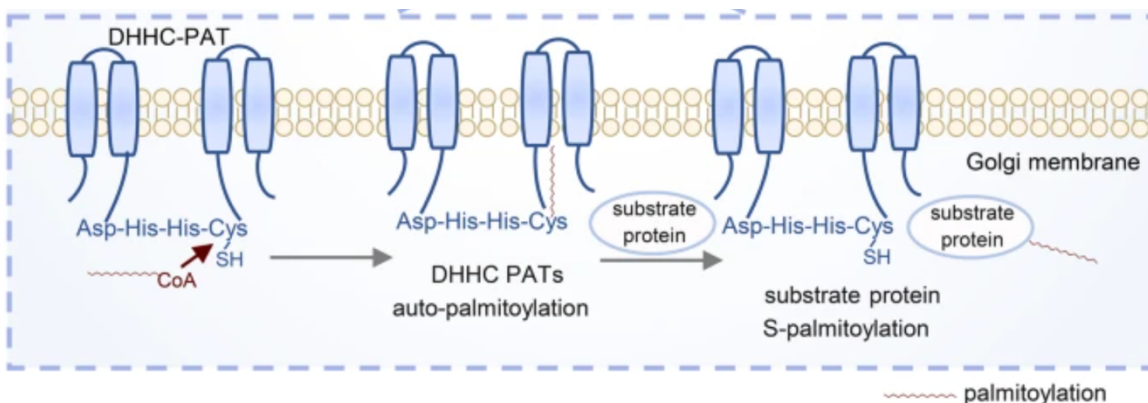
Modifikacije z lipidi pogosto služijo kot signal za transport proteinov do plazemske membrane, endomembranskih struktur ali cilij. Prav tako stabilizirajo proteinsko strukturo in lahko zaščitijo protein pred razgradnjo. Poleg tega lahko lipidi vplivajo na konformacijo proteina, kar spremeni njegovo interakcijo z drugimi molekulami. Motnje v lipidnih modifikacijah so povezane z razvojnimi motnjami in številnimi boleznimi, vključno z rakom, saj vplivajo na številne celične procese.

Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi

Palmitoilacija

Palmitoilacija je reverzibilna kovalentna modifikacija cisteinskih ostankov. Palmitinska kislina se kovalentno veže na cisteinski ostanek proteina preko tioesterske vezi [1]. Proces katalizirajo encimi iz družine DHHC-palmitoil transferaz (DHHC-PAT), ki imajo skupni značilen DHHC-motiv (Asp-His-His-Cys). Do danes je bilo pri človeku identificiranih 23 različnih encimov DHHC-PAT, ki se nahajajo predvsem na membranah Golgijevega aparata in endoplazemskega retikuluma (ER), manjši delež pa tudi na plazemski membrani (PM), mitohondrijih in v perinuklearnih regijah [2].

S-palmitoilacija je reakcija s ping-pong mehanizmom (slika 1). Najprej se zgodi avtopalmitoilacija encima, kjer nukleofilni tiolat iz ostanka Cys156 v DHHC domeni napade palmitoil-CoA in tvori vmesni acil-encimski kompleks. V drugi stopnji se palmitoilna veriga prenese na cisteinski ostanek substratnega proteina. Pomembno pa je poudariti, da avtopalmitoilacija ni bila opažena pri vseh DHHC-PAT-ih, kar zahteva dodatne raziskave za pojasnitev teh razlik [2].



Slika 1: *Mehanizem S-palmitoilacije, ki jo katalizirajo encimi DHHC-PAT na membrani Golgijevega aparata [1].*

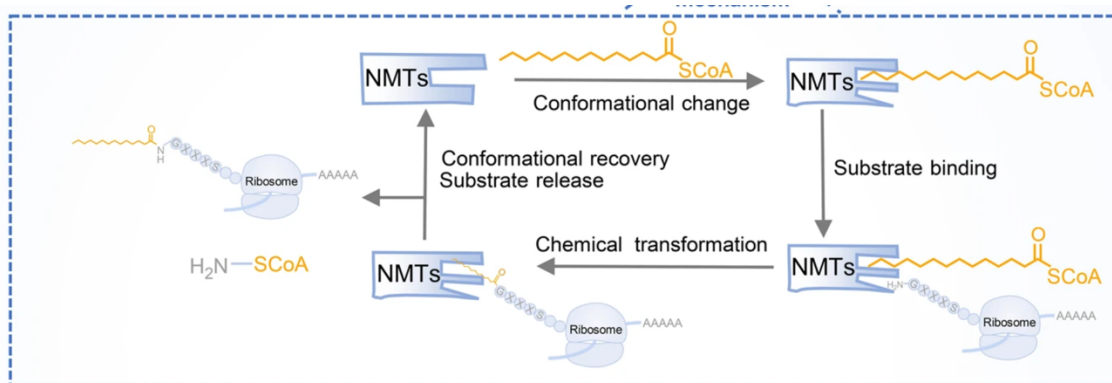
Pomembne so tudi druge konzervirane domene, kot so Asp-Pro-Gly (DPG), Thr-Thr-x-Glu (TTxE) in PaCCT (angl. palmitoyltransferase conserved C-terminus), ki sodelujejo pri prepoznavanju substratov. Nekateri DHHC-PAT-i potrebujejo kofaktorje, kot sta kompleksa DHHC9/GCP16 in DHHC6/Selk [2].

S-palmitoilacija poveča hidrofobnost proteinov, kar omogoča sidranje proteinov v membrane. Omogoča dinamično gibanje proteinov med Golgijevim aparatom, plazemsko membrano in endosomi. Na primer CD36, prenašalec maščobnih kislin, potrebuje S-palmitoilacijo za lokalizacijo v plazemsko membrano, ki jo izvajata DHHC4 in DHHC5. V nevronih S-palmitoilacija uravnava usmerjanje proteinov v dendrite in aksone, kar ima ključno vlogo pri sinaptični plastičnosti. Proteini AMPAR, ki so ključni glutamatni receptorji, so podvrženi S-palmitoilaciji na dveh mestih. Palmitoilacija na transmembranski domeni proteina vpliva na zadrževanje proteinov v Golgijevem aparatu, medtem ko depalmitoilacija omogoča njihov prehod na celično površino. S-palmitoilacija pomembno prispeva k vzdrževanju celične polarizacije, kar je razvidno na primeru proteina SCRIB, pri katerem omogoča pravilno lokalizacijo na medceličnih stikih. Izguba palmitoilacije moti celično polariteto in lahko vodi v procese tumorigeneze. Zanimivo je dejstvo, da v nekaterih primerih palmitoilacija zadrži proteine v ER. Na primer FLT3-ITD, ki je onkogeni receptor pri levkemiji, se s palmitoilacijo zadržuje v ER, medtem ko izguba te modifikacije spodbuja njegovo nenadzorovano signalizacijo in s tem prispeva k napredovanju bolezni [2].

Miristoilacija

N-miristoilacija je lipidna modifikacija proteinov, pri kateri pride do prenosa miristoilne skupine (14C) iz miristoil-CoA na proteinsko substratno molekulo. Ta proces katalizirajo encimi N-miristoil transferaze (NMT). NMT spadajo v družino encimov, povezanih z GCN5-acetiltransferazami. Pri nižjih evkariontih je prisoten en gen za NMT, medtem ko imajo višji organizmi dva gena, za NMT1 in NMT2. NMT1 in NMT2 imata približno 77-odstotno podobna zaporedja aminokislin, vendar obstajajo pomembne razlike v specifičnosti substratov in fizioloških vlogah. Zlasti NMT1 ima pomembno vlogo v embriogenezi in proliferaciji tumorskih celic [2].

Substrati NMT imajo podobne aminokislinske sekvence na N-koncu, s ključnim Gly ostankom na prvem mestu ter pogosto tudi s Ser/Thr ostankom na petem mestu (motiv G-X-X-X-S/T) [4]. Katalitični mehanizem NMT poteka prek Bi-Bi mehanizma, ki vključuje nukleofilno adicijo in eliminacijo (slika 2). Sprva se miristoil-CoA veže na NMT in povzroči konformacijske spremembe encima, kar omogoča vezavo substrata. V naslednjem koraku pride do prenosa miristoilne skupine na substrat in sproščanja CoA ter miristoiliranega peptida. Na koncu se encim vrne v začetno konformacijo, pri čemer se substratno vezavno mesto ponovno zapre [2].



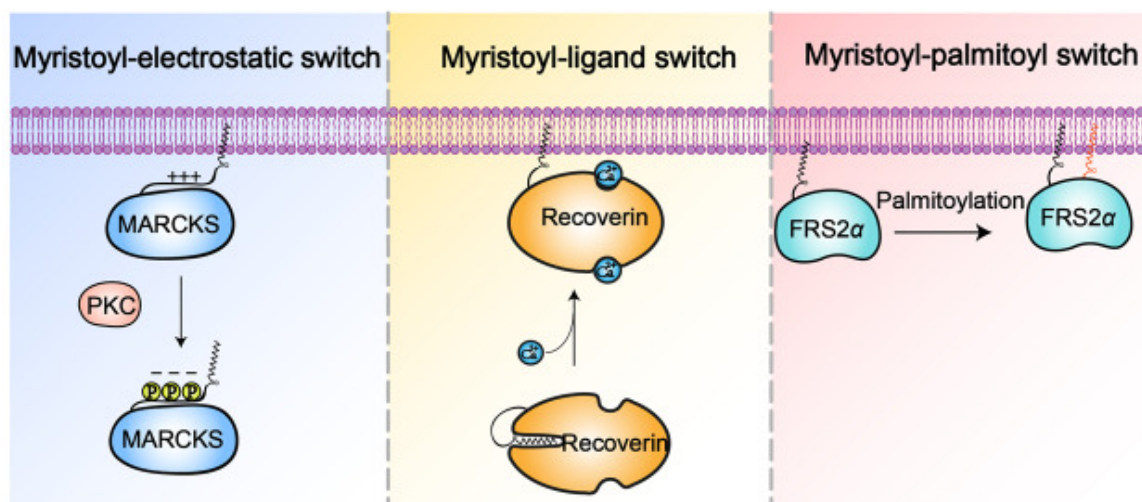
Slika 2: NMT delujejo po Bi-Bi mehanizmu. Sprva encim veže miristoil-CoA, kar povzroči konformacijsko spremembo, ki odpre substratno vezavno mesto. Nato NMT prepozna in veže signalno sekvenco na N-terminalnem koncu substrata ter katalizira reakcijo prenosa miristoilne skupine. Po sprostitvi produkta se encim vrne v začetno konformacijo [2].

Človeška NMT1 (hNMT1) in NMT2 (hNMT2) vsebujeta 496 oziroma 498 aminokislin. Fosforilacija hNMT1 poteka na ostankih Ser31, Ser47 in Ser83, medtem ko je hNMT2 fosforilirana le na Ser38. Oba encima kažeta podobno razporeditev v različnih organih, vendar je izražanje hNMT1 višje v zdravem srcu, črevesju, ledvicah, jetrih in drugih organih. Študije kažejo, da ima NMT1 pomembnejše vloge v embrionalnem razvoju, apoptozi in celični proliferaciji ter zahteva kompleksnejšo regulacijo kot NMT2 [4].

NMT substrati imajo podobne aminokislinske sekvence na N-terminalnem koncu, s ključnim Gly ostankom na prvem mestu ter pogosto tudi s Ser/Thr ostankom na petem mestu (motiv G-X-X-X-S/T) [4].

N-miristoilacija se pojavlja kot kotranslacijska ali posttranslacijska modifikacija. Pri kotranslacijski N-miristoilaciji, ki je najpogostejša, se miristoilacija zgodi na aminokislini glicin na N-terminalnem koncu proteina, potem ko encim MetAP2 odstrani začetni metionin. Nasprotno pa se posttranslacijska N-miristoilacija, ki se običajno odvija med apoptozo, zgodi na notranjih glicinskih ostankih, ki so izpostavljeni zaradi razcepa s kaspazami [4].

Na fiziološki ravni ima N-miristoilacija ključno vlogo pri usmerjanju proteinov znotraj celice in njihovem sidranju na membrane. Vendar pa sama prisotnost miristoilne skupine ni dovolj za stabilno vezavo na membrane, zato poznamo miristoila stikala, ki regulirajo interakcije proteinov z membranami. Poznamo tri modele miristoil-elektrostatsko stikalo, miristoil-ligandno stikalo in miristoil-palmitoilno stikalo (slika 3) [4].



Slika 3: Tri različna mehanizma membranskega sidranja proteinov preko miristoilnih stikal [2].

Pri miristoil-elektrostatskem stikalu fosforilacija proteinov, kot je MARCKS vpliva na njihovo lokalizacijo, pri čemer sprememba elektrostatičnega naboja povzroči odcepitev proteina od membrane. Pri miristoil-ligandnem stikalu, vezava liganda (npr. Ca^{2+}) sproži konformacijsko spremembo proteinov (npr. Recoverin) in izpostavi miristoilno skupino za membransko vezavo. Pri miristoil-palmitoilnem stikalu sta za membransko lokalizacijo potrebni tako miristoilna kot tudi palmitoilna skupina (primer: FRS2 α). Pri miristoilno-palmitoilnem stikalu sta za membransko lokalizacijo potrebni tako miristoilna kot tudi palmitoilna skupina, kjer dodatna S-palmitoilacija zagotavlja trdnjejše sidranje proteinov (npr. FRS2 α) [4].

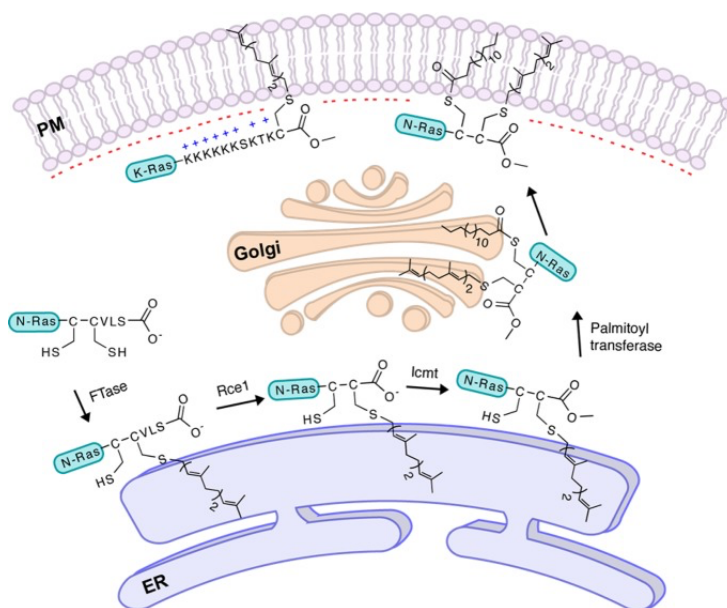
Prenilacija

Prenilacija proteinov je ireverzibilna posttranslacijska lipidna modifikacija, pri kateri se izoprenoidne skupine kovalentno vežejo na proteine [5]. Prvič je bila opisana leta 1978 pri glivah, kmalu zatem pa so jo zaznali tudi pri sesalcih, na primer pri farnesilirani lamini B [6].

V tem procesu se preko tioetrske vezi na ohranjeni cisteinski ostanek veže farnezilna (15C) ali geranilgeranilna (20C) skupina. Večina preniliranih proteinov ima na C-koncu motiv CaaX, kjer C predstavlja cistein, aa dva alifatska aminokislinska ostanka, X pa določa, kateri encim bo sodeloval pri prenilaciji. Sprva je veljalo, da X ostanek določa, ali bo protein farnesiliran ali geranilgeraniliran, vendar so številne raziskave pokazale, da encimska specifičnost ni absolutna. Nekateri proteini, kot sta K-Ras in RhoB, so lahko substrati obeh encimov [5].

Prenilacijo katalizirajo trije preniltransferazni encimi: farnesiltransferaza (FTaza), geranilgeraniltransferaza tipa I (GGTaza-I) in geranilgeraniltransferaza tipa II (GGTaza-II), znana tudi kot Rab GGTaza [6]. FTaza in GGTaza-I prepoznata CaaX motiv na C-terminalnem koncu proteina, medtem ko GGTaza-II deluje na motive tipa CC ali

CXC in za delovanje potrebuje še REP (angl. Rab escort proteins). Po začetni prenilaciji s FTazo ali GGTazo-I sledita še dva dodatna procesna koraka: proteolitična cepitev terminalnega -aaX (z encimoma Rce1 ali Ste24) in metilacija karboksilne skupine izpostavljenega cisteina z Icmt (angl. isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase) (slika 4). Ti koraki povečajo hidrofobnost proteina in omogočajo njegovo vezavo na celične membrane. Vendar pa je za stabilno membransko lokalizacijo pogosto potrebna še prisotnost dodatnih struktur, kot je palmitoilacija cisteinskih ostankov (npr. pri N-Ras) [6].

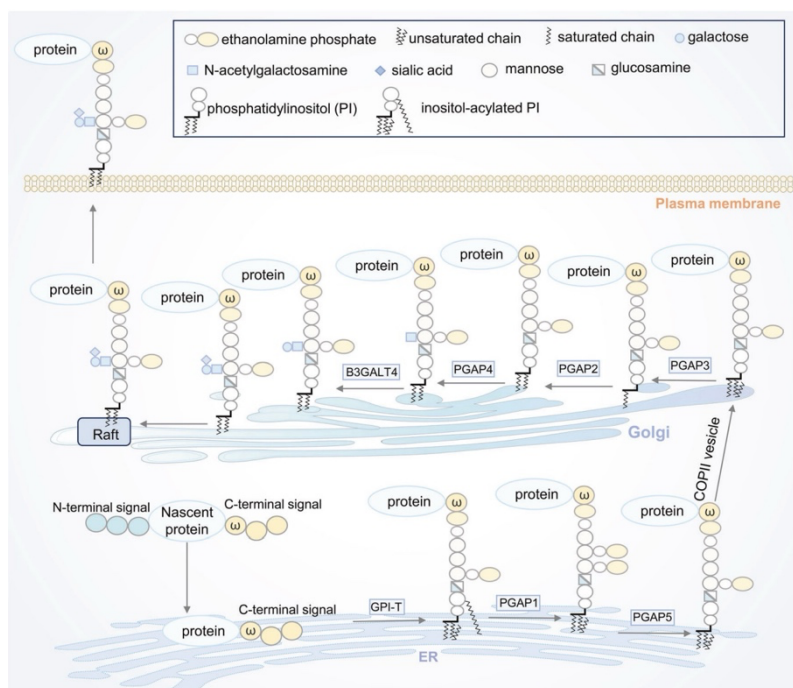


Slika 4: Tristopenjski proces po prenilaciji proteinov [6].

Prenilacija je ključna za lokalizacijo in aktivnost majhnih GTPaz, kot so Ras, Rho in Rab proteini, ter za delovanje heterotrimernih G-proteinov. Prenilne skupine so hidrofobne, kar omogoča vodotopnim oz. citosolnim proteinom, da se pritrdijo na celične membrane, saj je to ključnega pomena za njihovo delovanje. Pomembno je razlikovati plazemsko membrano od endomembrane (endoplazemski retikulum, Golgi, endosomi). Mutacija preniliranih cisteinskih ostankov ali zaviranje biosinteze izoprenoidov onemogočita prenilacijo proteinov Ras in njihovo povezavo s plazemsko membrano. Vendar pa so nekatere študije pokazale, da je prenilacija odgovorna predvsem za usmerjanje proteinov na endomembrane, zaradi česar mnogi prenilirani proteini z motivi CaaX za lokalizacijo v plazemsko membrano potrebujejo dodatne modifikacije. Po začetni prenilaciji v tem primeru sledi še palmitoilacija, ki omogoči sidranje proteinov v membrano preko dveh hidrofobnih skupin. Prenilacija prav tako igra pomembno vlogo pri usmerjanju proteinov v različne celične razdelke [1, 2].

GPI sidro

Glikozil-fosfatidilinozitol (GPI) se sintetizira predvsem v endoplazemskem retikulumu (ER) z 11 zaporednimi reakcijami. GPI je sestavljen iz fosfatidilinozitola, glukozamina, treh manoznih ostankov in fosfoetanolamina. Lahko se dodatno modificira z monosaharidi, vključno z N-acetilgalaktozaminom, galaktozo, sialno kislino in manozo. Tudi biosinteza in zorenje GPI-zasidranih proteinov (*angl.* GPI-anchored proteins – GPI-AP) je zapleten proces, ki vključuje lokalizacijo prekursorskih proteinov v ER, vezavo GPI in zorenje. Vsi GPI-AP vsebujejo signalno zaporedje na N-koncu, sestavljeno iz 20 hidrofobnih aminokislin, ki olajša translokacijo preko membrane ER. Po lokalizaciji prekursorja, se GPI pripne na C-konec le-tega, natančneje na specifičen aminokislinski ostanek, ki ga imenujemo mesto ω (običajno gre za Ser, Asn, Asp, Ala, Gly, Cys in Thr) tako, da aminska skupina fosfoetanolamina tvori amidno vez s karboksilno skupino aminokislinske ω . Signalni peptid, ki posreduje pri pripenjanju GPI na C-konec, je zaporedje 20-30 aminokislin, ki se začne z aminokislino $\omega+1$ in vključuje okvirno 10 hidrofilnih in 20 hidrofobnih aminokislinskih ostankov [3, 4].



Slika 5: Biosinteza in zorenje GPI-AP [1].

$\omega+1$ prekursorskega proteina, pri čemer se odstrani signalni peptid za vezavo GPI, nato pa katalizira tvorbo tioestrsko vezi med njima. Amino skupina etanolamina GPI potem napade tioestrsko vez in s transamidacijo zaključi prenos GPI (slika 5) [5]. GPI-AP se nato s pomočjo veziklov COPII prenesejo v Golgijev aparat, kjer se nadalje modificirajo. Dve dolgi nasičeni lipidni verigi, ki nastaneta pri preoblikovanju maščobnih kislin v Golgiju sta zlasti pomembni za vključitev GPI-AP v lipidne rafte (plazemska membrana) [4].

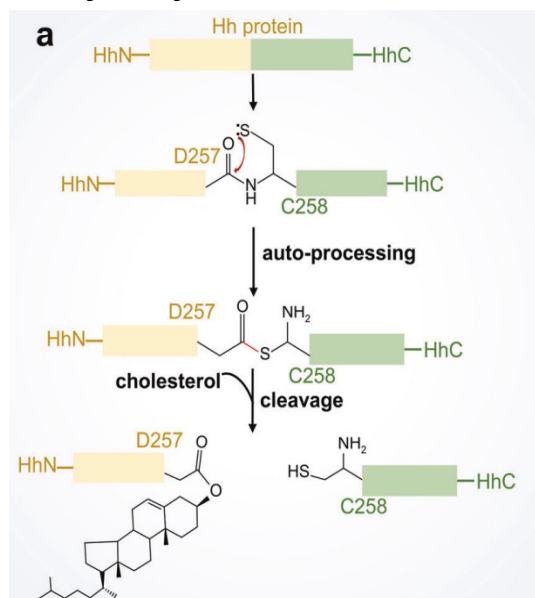
Kompleks GPI-transamidaze (GPI-T), ki se nahaja v ER in ga sestavlja pet podenot (PIGK, GPAA1, PIGT, PIGS in PIG-U), pripenja GPI sidro na proteine. PIGK je katalitična podenota in interagira z drugimi podenotami. GPAA1, PIGT in PIGS pa pomagajo pri vezavi GPI na substrat. GPI-T oz. podenota PIGK najprej cepi peptidno vez med aminokislinama ω in

Pripenjanje GPI sidra omogoča proteinom različne fiziološke vloge. GPI-AP se med transportom iz ER v Golgi in na koncu v plazemsko membrano večkrat modificirajo. Če je katera koli od ključnih modifikacij nepravilna, sta njihov transport in asociacija z lipidnimi rafti motena. GPI sidro je torej pomemben dejavnik pri asociaciji zasidranih proteinov z lipidnimi rafti [6].

Pri sesalcih lahko GPI-AP prenašajo različne signale in uravnavajo imunski odziv, proliferacijo celic in metastaziranje. CD109 je GPI glikoprotein, ki je močno izražen v imunskih in mioepitelijskih celicah ter različnih tumorskih celičnih linijah. CD109 se lahko izraža na celici na celični površini ali se sprošča z eksosomi. Zelo pomembno vlogo ima pri zaviranju TGF- β signalne poti, ki sicer deluje imunosupresivno. CD109 se veže na ligande TGF- β ter jih usmerja v lizosomalno razgradnjo ali preprečuje njihovo vezavo na TGF- β receptorje. Na ta način zmanjšuje imunosupresivni učinek TGF- β . V tumorskih mikrookoljih, kjer je TGF- β pogosto nadizražen in zavira protitumorski imunski odziv, ima CD109 potencialno protitumorsko funkcijo, saj lahko omogoča reaktivacijo T-celic in naravnih celic ubijalk [7, 8].

CD14, ki prav tako sodi med GPI-AP, deluje kot koreceptor za Toll-like receptorje (TLR). CD14 prepozna lipopolisaharide na površini bakterij in jih posreduje TLR4, ki se nahaja v membrani. S tem omogoča učinkovito zaznavo bakterijske okužbe ter sproži vnetni odziv prek signalne poti NF- κ B, ki aktivira izražanje citokinov. CD14 tako predstavlja pomemben dejavnik prirojene imunosti. GPI-AP se lahko s pomočjo encima fosfatidilinozitol-fosfolipaze C (PI-PLC) sprostijo iz membrane, saj encim odreže GPI sidro, s čimer se generirajo sekundarni obveščevalci pri transdukciji signala. Topne oblike potem krožijo po krvi, kar razširi obseg imunskega odgovora [3, 9].

Modifikacije s holesterolom



Slika 6: Mehanizem modifikacije proteina Hh s holesterolom [1].

Zaenkrat sta znana le dva proteina, ki kovalentno vežeta holesterol, in sicer hedgehog (Hh) ter smoothened (SMO). Oba sta ključna pri signalni poti Hedgehog, saj gre za esencialni molekuli za rast in razvoj različnih delov telesa pri vretenčarskih in nevretenčarskih embrijih. Prav tako sta pomembna tudi pri odraslih. Hh in SMO se podvržeta modifikaciji s holesterolom preko avtoprocesiranja [4, 8].

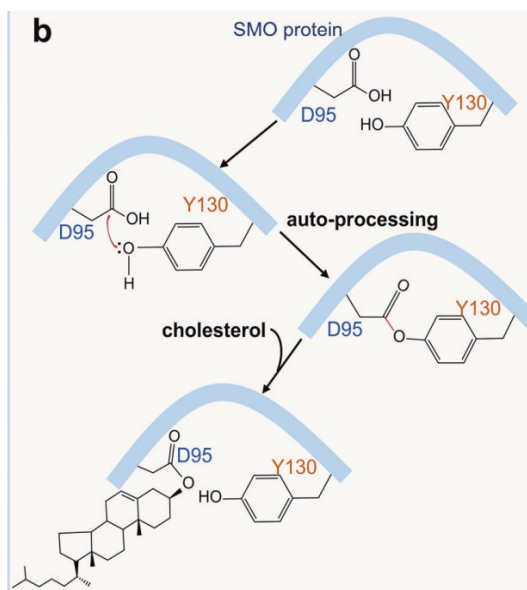
V primeru proteina Hh pride do avtokatalitične cepitve prekursorja, pri čemer nastaneta N- (N-Hh) in C-končni fragment (C-Hh). C-konec N-Hh se nato avtoprocesira v dveh korakih. Najprej tiolna skupina

cisteina nukleofilno napade karbonilni ogljik glicina, kar privede do cepitve prekursorja Hh in tvorbe tioestrne vezi. Nato 3β -hidroksilna skupina holesterola napade isti ogljik tioestrnega intermediata, kar povzroči njegovo cepitev in nastanek modificiranega HhN (vezan holesterol) in prostega HhC (slika 6). Pri tem procesu histidin, treonin in cistein sodelujejo pri tvorbi tioestra, tako da tvorijo vodikove vezi z α -amino skupino cisteina na mestu 258 ali aktivirajo proste tiole. Aspartat je pomemben za vezavo holesterola, C-konec Hh pa ustvari hidrofojni žep, ki posreduje pri vezavi le-tega [3].

Pri proteinu SMO je mehanizem modifikacije prav tako dvostopenjski. Tirozin na mestu 130 nukleofilno napade karbonilni ogljik aspartata na mestu 95, pri čemer se nastane estrska vez oz. nestabilni intermedat. Sledi izmenjava estrov z D95-Y130 v D95-holesterol. Za modifikacijo SMO s holesterolom so ključni še drugih ostanki, med katerimi sta tirozin na mestu 85 in lizin na mestu 133 nujna za pravilno konjugacijo holesterola s SMO (slika 7) [3].

Tako N-Hh kot SMO sta bistveni komponenti signalne poti Hh, modifikacija s holesterolom pa izrazito vpliva na njuno delovanje. Proteina tako promovirata proliferacijo, preprečujeta apoptozo in določata, kako se bo celica diferencirala. V celicah, ki sintetizirajo Hh, se N-Hh usmeri na plazemsko membrano šele potem, ko se nanj veže holesterol na C-koncu in palmitat na N-koncu. Nato Dispatched, transmembranski protein, ki se nahaja na celični površini, nadzoruje sproščanje Hh v zunajcelični prostor, saj se veže direktno na holesterolno skupino proteina ter ga prenese na šaperone za transport preko tkiv [4, 5].

Ligandi Hh z vezavo na transmembranski receptor PTCH (*angl.* patched) njegovo delovanje inhibirajo in ne aktivirajo. Vretenčarji imajo dva gena, PTCH1 in PTCH2, ki zapisujeta za istoimenska transmembranska proteina, vendar je PTCH1 glavni regulator signalizacije *in vivo*. Proteini PTCH imajo dve vlogi v signalizaciji HH. Prva je inhibicija proteina SMO, druga pa redukcija ligandov Hh s spodbujanjem njihove endocitoze in lizosomske razgradnje. V celicah, kjer se Hh lokalizira, je koncentracija PTCH1 v cilijah povečana, kar zavira delovanje SMO. Vezava Hh na PATCH1 olajša endocitozo in aktivacijo razgradnje kompleksa N-Hh-PTCH1 v lizosomih. Posledično se zaviralni učinek PTCH1 na SMO razoroži, SMO se aktivira in premesti v cilije, kar povzroči aktivacijo transkripcijskih dejavnikov GLI. Izražanje genov PTCH je uravnano preko negativne povratne zanke, direktno preko signalizacije Hh. PTCH neprestano zavira tarče navzdol signalne poti, ob vezavi liganda Hh pa se omenjena represija sprosti in tarčni



Slika 7: Mehanizem modifikacije proteina SMO s holesterolom [1].

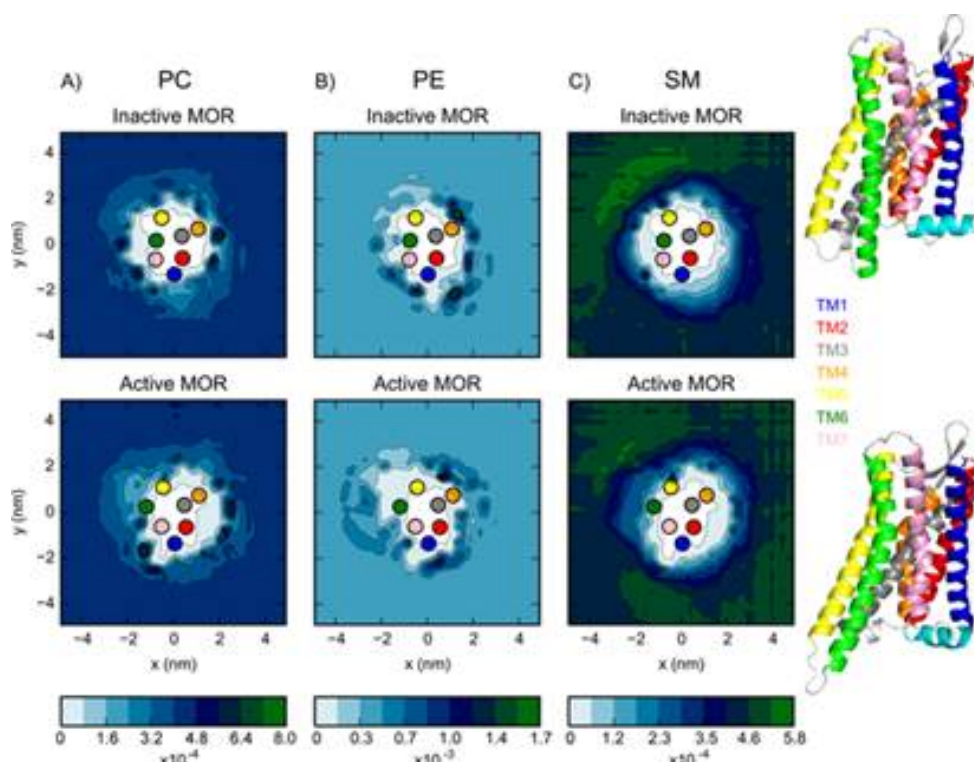
geni se lahko izražajo vključno z geni PTCH, ki so prav tako tarča signalne poti Hh. Njihova povečana sinteza ponovno vodi v represijo proteinov SMO ter manjšo pojavnost ligandov. Sproščanje Hh je odvisno tudi od Scube2 - zunajceličnega proteina, ki pomaga pri prenosu N-Hh v zunajcelični prostor [10].

Strukturna vloga lipidnih modifikacij proteinov

Vpliv lipidnega okolja na membranske proteine je bila povezana predvsem z spremembo fizikalnih lastnosti membrane, kot so debelina, ukrivljenost, površinska napetost in elastične lastnosti. Dokazano je, da holesterol vpliva na toplotno stabilizacijo receptorjev afiniteto agonista in oligomerizacijo. Znano je, da je konformacijsko ravnovesje prototipnega rodopsina GPCR občutljivo ne le na ravni holesterola, temveč tudi na glavno skupino fosfolipidov in nasičenost verige [1,2]. Dokazano je tudi, da naboji lipidnih glavnih skupin igrajo vlogo pri delovanju $\beta 2$ adrenergičnih in nevrotenzinskih receptorjev NTS1. Transmembranski proteini pogosto doživljajo hidrofobno neusklajenost, pri kateri se dolžine hidrofobnih verig lipidov in hidrofobnega dela proteina razlikujejo. Da bi odpravil to neusklajenost, protein sprejme več strategij, vključno s konformacijskimi spremembami in preoblikovanjem debeline membrane s spreminjanjem vrstnega reda lipidov [3].

Učinki lipidov na asociacijo proteinov v membrani so razvrščeni kot specifični (neposredni) ali nespecifični učinki. Specifični učinki se nanašajo na možne interakcije posameznih lipidnih molekul s specifičnimi ostanki na površini proteinov, medtem ko se nespecifični učinki pripisujejo modulaciji lastnosti membrane (npr. debelini dvosloja) [4]. V modelu, ki so ga raziskovalci naredili je bila neurejena faza preproste DPPC (dipalmitoilfosfatidilholina) membrane stabilizirana okoli idealiziranega proteina tako, da je bila dolžina hidrofobnega jedra proteina manjša od debeline okoliške urejene membrane. Ko se dva proteina, vsak obdan s svojo neurejeno lipidno fazo, približata drug drugemu, je energetsko ugodno, da se obe področji neurejenih lipidov združita, da se zmanjša velikost vmesnika urejenost/neurejenost, kar ima za posledico učinkovito, dolgoročno inducirano interakcijo med proteini [3]. Nesterolni lipidi, ki sestavljajo večino membrane (PC, PE, SM; 60 % v zgornjem in 53 % v spodnjem), kažejo obročasto porazdelitev okoli posameznih receptorskih protomerov. Čeprav so nekateri od teh zwitterionskih lipidov lokalizirani okoli vijačnic, so te preference večinoma neodvisne od konformacije proteinov. Nasprotno pa imajo negativno nabiti lipidi PIP, ki so prisotni le v spodnjem sloju, pomembne razlike v porazdelitvi okoli neaktivne in aktivne konformacije, kar podpira eksperimentalne sklepe, da dajejo prednost slednji konformaciji [3]. Te porazdelitve lipidov so skladne z eksperimentalnimi in računskimi dokazi, ki kažejo, da negativno nabiti ostanki spodbujajo aktivacijo ne le v GPCR, temveč tudi v ionskih kanalih in transporterjih. Na primer, v primeru $\beta 2AR$ je prisotnost negativno nabitega lipidnega fosfatidilglicerola (PG) spodbujala vezavo in aktivacijo agonista, medtem ko je nevtralni PE lipid spodbujal vezavo antagonist in neaktivno konformacijo. Nedavne simulacije $\beta 2AR$ z vsemi atomi so pokazale, da se lahko lipid PG

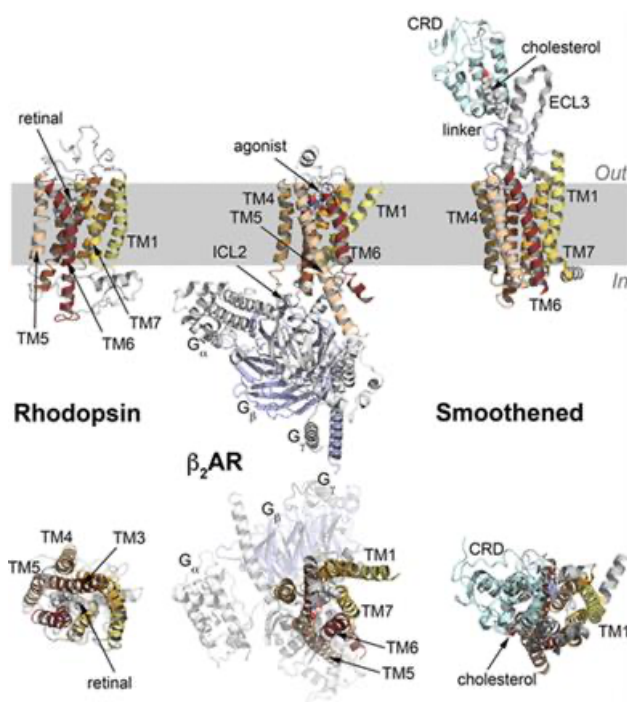
vstavi v receptor med TM6 in TM7, pri čemer tvori solni most z R3,50 in stabilizira aktivne konformacije [4,5].



Slika 8: Normalizirana porazdelitev verjetnosti lipidov A) PC, B) PE in C) SM okoli neaktivnih in aktivnih receptorskih protomerov (zgornja in spodnja plošča) med simulacijami z nizko gostoto receptorjev in omejitvami položaja na receptorjih. Središče Središče mase sedmih TM vijačnic je označeno z barvnimi pikami, kot sledi: TM 1 do 7 so obarvani modro, rdečo, sivo, oranžno, rumeno, zeleno in rožnato. Bela, modra do zelena barva pomeni nizko oz. visoko verjetnost stika vijačnice z lipidno kroglico. Označeni lipidi so: fosfatidilholin (PC), fosfatidiletanolamin (PE) in sfingomielin (SM) (5).

Z uporabo metod silne spektroskopije in holesteril hemisukcinata kot analoga holesterola so pokazali, da holesterol poveča stabilnost skoraj vseh strukturnih elementov $\beta 2AR$, verjetno tako, da proteinu oteži vzorčenje njegove konformacijske pokrajine. To ugotovitev podpirajo tudi nedavne eksperimentalne in računske študije. Holesterol, ki predstavlja približno 30 % idealizirane plazemske membrane, je ena od njenih največjih komponent. Nedavno so eksperimentalno pokazali, da fosfolipidi uravnavajo tudi aktivnost $\beta 2AR$ tako, da delujejo kot alosterični modulatorji. S testiranjem fosfolipidov z različnimi tipi glavnih skupin so ugotovili, da lahko fosfolipidi, odvisno od narave glavne skupine, premaknejo ravnovesje proti aktivnemu ali neaktivnemu stanju receptorja. Presenetljivo je, da je ta učinek v primeru negativno nabitih fosfolipidov odvisen od odmerka in prisoten tudi v odsotnosti dvosloja, verjetno zaradi interakcije glavne skupine s citoplazemsko stranjo receptorja. Te študije kažejo, da je učinek holesterola in fosfolipidov neodvisen od vezave liganda [5].

Poleg glicerofosfolipidov plazemska membrana vsebuje velik delež sfingolipida SM. Ti dve skupini lipidov se ločita po povezovalnih kroglicah, ki povezujejo njihovo glavno skupino z lipidnimi repi. Medtem ko vsaka od obeh povezovalnih kroglic glicerofosfolipidov predstavlja nepolarno estrsko skupino, v primeru SM ena povezovalna kroglica predstavlja hidroksilno skupino, druga pa amidno skupino, ki sta obe polarni. Podobno kot pri porazdelitvi PC (slika 8A), je SM (slika 8C) tik ob proteinu, razen pri TM1, TM5 in TM6, kjer stranske verige več polarnih in nabitih ostankov tvorijo močne Lennard-Jonesove interakcije s polarnimi povezovalnimi kroglicami SM [3].



Slika 9: Prikaz GPCR-jev: rodopsin, β_2 adrenergični receptor.

Eksperimentalne ugotovitve so pokazale, da zmanjšanje holesterola spremeni vezavo ligandov in vezavo G-proteinov na receptor serotonina 1A (slika 9). Holesterol tudi poveča stabilnost človeškega serotoninskega receptorja 1A in je v velikanskih unilamelarnih proteinskih veziklih bilo opaženo povečanje izmenjave oligonukleotidov.

Zaradi pomanjkanja kristalne strukture serotoninskih receptorjev so začetne MD simulacije uporabljale homologne modele. Ena od takih študij, ki je uporabila Martinijeve grobozrnate MD simulacije, je pokazala, da v dvoslojih POPC, ki vsebujejo holesterol, vgrajeni homologni model serotoninskega receptorja 1A kaže več prednostnih

mest interakcije s holesterolom. Ena od teh interakcij je z vijačnico V, ki predstavlja enega (od treh) motivov CRAC, ki jih najdemo na receptorju. Atomistične MD simulacije aktivnosti receptorjev serotonina 1A in serotonina 2A kot funkcije vsebnosti holesterola v dvosloju trenutno prikazujejo nasprotujočo si sliko o tem, ali holesterol zmanjšuje konformacijsko fleksibilnost receptorja ali pa ga povečuje [5].

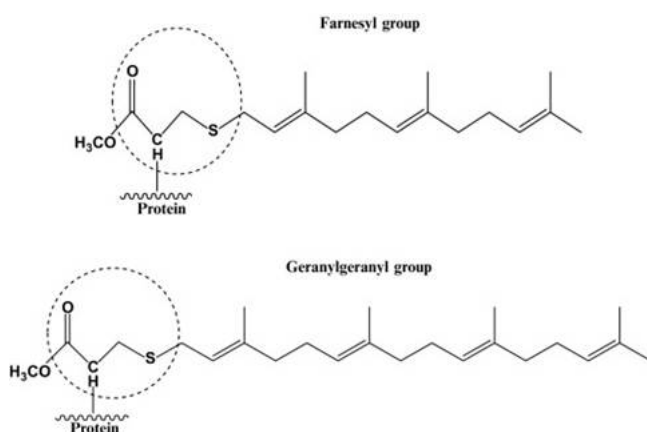
Evolucija lipidnih modifikacij proteinov

Prvo poročilo o modifikaciji proteinov z lipidi je iz leta 1951, ko so bili predstavljene dokazila o obstoju t.i. proteolipidov. Kasnejša odkritja, da so feromoni gliv prenilirani in da so določene virusne ovojne protein palmitoilirane, so okrepila znanje za to področje. Potem je sledila identifikacija milistoiliranih proteinov in tistih, zasidranih z glikozilfosfatidilinozitolom (GPI) [1]. Čeprav so bile ključne raziskave na tem področju večinoma izvedene na sesalskih celičnih linijah ali modelnem organizmu, kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, je danes jasno, da lipidne modifikacije opravljajo pomembne regulatorne funkcije tudi v drugih bioloških sistemih. Posebej zanimivo je, da so takšne spremembe pogoste tudi pri patogenih mikrobih. Nedavna raziskovanja so predstavili pomen same lipidacije proteinov pri različnih patogenih bakterijah, parazitih in glivah, vključno z več medicinsko pomembnimi vrstami [1].

Lipidne modifikacije so se razvile kot mehanizem za usmerjanje proteinov v specifične celične kompartmente, kar je omogočilo boljšo organizacijo in funkcionalnost celice [2]. Encimi, ki katalizirajo lipidne modifikacije, so se skozi evolucijo ohranili in so prisotni v različnih organizmih, od enoceličnih mikroorganizmov do sesalcev. Na primer, encimi, kot so DHHC-palmitoiltransferaze, so ključni za S-palmitoilacijo in so prisotni v širokem spektru organizmov, kar kaže na evolucijsko ohranjenost teh mehanizmov [3].

Lipidne modifikacije igrajo ključno vlogo v celični signalizaciji, saj omogočajo hitro in dinamično prilagajanje funkcij proteinov v odziv na zunanje in notranje signale. Spremembe v teh modifikacijah so povezane z različnimi bolezenskimi stanji, vključno z nevrološkimi motnjami, presnovnimi boleznimi in rakom. Razumevanje teh procesov je ključno za razvoj novih terapevtskih pristopov [4].

Lipidne modifikacije, ki so se razvile tekom evolucije



Slika 10: Posttranslacijska modifikacija proteina s kovalentno adicijo izoprenilnih lipidnih molekul, farnezilne in geranilgeranilne skupine, na karboksilni terminal ciljnega proteina [6].

Prenilacija vključuje kovalentno adicijo izoprenoidnih lipidov, kot sta farnezil (C15) ali geranilgeranil (C20), na cisteinske ostanke na ali blizu C-koncu proteina (slika 10). Proces izvajajo farneziltransferaze in geranilgeraniltransferaze. Prenilacija je značilna za številne signalne proteine, kot so GTPaze iz družine Ras, ki sodelujejo v celični proliferaciji in diferenciaciji [5].

Miristoilacija je vezava miristinske kisline na N-terminalni glicin proteina preko amidne vezi. N-

miristoil transferaza (NMT) je monomerni encim, ki katalizira prenos miristata iz miristoil-CoA na ustrezne peptidne in proteinske substrate. Pogosta je pri proteinih, ki sodelujejo v celični signalizaciji ali membranski lokalizaciji, kot je c-Src. Nemiristoilirani mutanti Src se ne vežejo na membrane in ne posredujejo pri celični transformaciji. Številni N- miristoilirani proteini so vezani na membrano in jih je mogoče najti v plazemski ali drugih znotrajceličnih membranah v evkariontskih celicah. Mutacija Gly2 v Ala običajno povzroči zmanjšanje ali izgubo vezave na membrano [7].

Palmitoilacija vključuje reverzibilno vezavo palmitinske kisline na cisteinske ostanke preko tioestrov (S-palmitoilacija) ali na serin/treonin preko estrov. Ko pa se palmitat doda ostanku Cys na N-koncu beljakovine, nastane tioestrski intermediat, ki mu sledi preureditev v stabilno amidno vez (N-palmitoilacija). Ta proces omogoča dinamično uravnavanje vezave proteinov na membrane in njihovo signalno funkcijo [8].

Glikozilfosfatidilinozitol (GPI) sidra povezujejo proteine z zunanjim delom plazemske membrane. GPI-zasidrani proteini igrajo vlogo v imunski signalizaciji, adheziji in encimski aktivnosti [9].

Arheje in bakterije

Čeprav lipidna modifikacija proteinov ni bila tradicionalno pripisana prokariontom, raziskave kažejo, da so nekatere oblike prenilacije prisotne tudi v arhejskih domenah. Ena proteomska študija je omogočila identifikacijo 606 N-terminalnih peptidov iz *H. salinarum* in 328 N-terminalnih peptidov iz *N. pharaonis*, kar skupaj znaša 934 N-terminalnih peptidov. Iskazalo se je, da se N-terminalni metionin odcepil od približno dveh tretjin vseh haloarhalnih proteinov. Do cepitve je prišlo, ko je bila predzadnja aminokislina majhna (glicin, alanin, prolin, valin, serin, treonin). Specifičnost substrata za haloarhalne metionin aminopeptidaze (MAP) se ujema s specifičnostjo bakterijskih in evkariontskih MAP, zato se zdi, da je biokemija odstranjevanja metionina univerzalno ohranjena. Presenetljivo je bilo ugotovljeno, da acetilacija N-terminalnih beljakovin pri haloarhah ni redka, vendar je od 14 % do 19 % proteinov acetiliranih na N-terminalnem koncu [10].

Evkarionti

Pri evkariontih, kot so kvasovke, so bile ugotovljene vse ključne vrste lipidnih modifikacij. Na primer, kvasni protein Ras2 je miristoiliran in palmitoiliran, kar omogoča njegovo lokalizacijo v membranske mikrodomene [11].

Pri živalih in rastlinah palmitoilacija je pomembna za regulacijo nevroloških in imunskih procesih. Prav tako se je večja kompleksnost encimskih sistemov, ki regulirajo dodajanje in odstranjevanje lipidov. GPI-zasidrani proteini so ključni za celično komunikacijo in signalizacijo v živalskih celicah, medtem ko so prenilirani proteini pomembni za usmerjanje veziklov in membranski transport. Palmitoilacija omogoča hitro in

reverzibilno prilagajanje lokalizacije proteinov, kar je bistveno za sinaptično plastičnost in odziv na zunanje dražljaje [12].

Patologija lipidnih modifikacij proteinov

V zadnjem desetletju se je močno povečalo število raziskav, ki povezujejo abnormalnosti v lipidni modifikaciji proteinov s številnimi obolenji kot so rak, nevrodegenerativne motnje in metabolični sindromi. V tem seminarju si ogledamo tri pomembne patološke domene: Razvoj raka zaradi sprememb v prenilaciji (specifično proteinov Ras), nevrodegeneracijo zaradi neuspešne palmitoilacije v Huntingtonovi bolezni in metabolične sindrome, do katerih pride zaradi spremenjene S-acilacije (zlasti pri diabetesu tipa 2) [1].

Rak in neznačilna prenilacija proteinov Ras

Proteini družine Ras so eden glavnih regulatorjev celične proliferacije in diferenciacije. Zajemajo proteine KRAS, HRAS in NRAS, ki delujejo kot molekularna stikala. Za normalno delovanje se morajo zasidrati v notranji del celične membrane, to pa jim omogoča prenilacija, ena od vrst posttranslacijske modifikacije. Mehanizem deluje tako: Proteini Ras so podvrženi farnezilaciji oz. dodatku farnezil izoprenoida na končni cistein v CAAX motivu (kratko aminokislinsko zaporedje na C-koncu proteinov, ki sodeluje v njihovi posttranslacijski modifikaciji in povezavi s plazmalemo) [1].

Mnogi tipi raka (zlasti pankreatični, pljučni in kolorektalni) nakazujejo na mutacije KRAS proteina, vključenega v celično signaliziranje, njen razvoj ter apoptozo. Mutacije lahko protein zaklenejo v "on" oz. stalno aktivno stanje, kar vodi do prekomernega celičnega signaliziranja in rasti. Brez prenilacije protein ne interagira z membrano in izgubi svojo glavno funkcijo – aktivacija raznih signalnih poti kot so MAPK-ERK ter PI3K-AKT. Prenilacija ne igra le podporne vloge temveč je ključna pri onkogenezi povezani s proteini Ras [2].

Terapijske tarče

Zanašanje proteinov Ras na prenilacijo je privedlo do razvoja inhibitorjev farneziltransferaze (FTI). Čeprav so zgodnje študije pokazale uspeh slednjih pri inhibiciji HRAS, so bile pomanjkljive pri dokazovanju povezave med tumorji in proteini KRAS. Prihajalo je namreč do kompenzacije – KRAS uporabi drugo maščobno kislino – geranilgeranil – prišlo je torej do geranilgeranilacije, ki je proteinom omogočila zasidranje v membrano. Zaradi tega so razvili dvojne zaviralce (ang. Dual inhibitors), ki blokirajo obe poti ter zdravila (npr. PDE δ), ki motijo delovanje prenašalcev lipidiranih proteinov Ras. Na tak način niso preprečili le prenilacije, temveč so onemogočili transport z lipidi modificiranega Ras do membran, kar onemogoči njegovo sposobnost sprožanja kaskade (v kateri sodelujeta npr. encima RCE1 in ICMT), ki lahko privede do razvoja raka [3].

Prenilacija vpliva tudi na druge onkogene proteine, kot so Rho in Rac GTP-aze, vključene v premikanje celic in metastaziranje tumorjev. Encimi, ki regulirajo prenilacijo so včasih genetsko spremenjeni. Mutacije na FNTA, podenoti farneziltransferaze, so povezali z razvojem levkemije, izražanje ICMT pa korelira s slabim napredovanjem raka dojke [2]. Novejša raziskava je pokazala, da so pri raku prostate in pankreasa povečano izražani encimi, ki izvajajo lipidno modifikacijo, npr. NMT (N-miristoiltransferaza) in z DHHC palmitoiltransferaza. Iz slednjega lahko sklepamo, da rakave celice lipidacijo uporabljajo za stabilizacijo svojih onkogenov, jih taktično lokalizirajo in povečujejo možnosti preživetja. *In vitro* zaviranje teh encimov je povzročilo upad celične rasti, induciralo motnje v signaliziranju ter celično smrt tumorjev, kar nosi velik terapevtski potencial [3].

Nevrodegeneracija in okvarjena palmitoilacija pri Huntingtonovi bolezni

Palmitoilacija je reverzibilna kovalentna adicija palmitinske kisline na cisteinske ostanke tarčnih proteinov. Katalizira jo družina zDHHC (Asp-His-His-Cys) palmitoiltransferaz. V možganih pripomore palmitoilacija k pravilnemu delovanju sinaps preko regulacije proteinov kot so PSD-95, z G proteini sklopljeni receptorji in AMPA ter NMDA receptorji [4].

Huntingtonova bolezen je smrtonosno, avtosomno dominantno obolenje, ki ga spremljajo progresivni motorični, kognitivni in psihiatrični simptomi. Vzrok bolezni je mutacija v genu HTT (porast CAG ponovitvev na genu, pogost vzrok nevrogenegacije), ki daje nedelujoč protein huntingtin. Tak protein ima večjo tendenco agregacije, toksične za živčne celice – predvsem tiste, ki se nahajajo v striatumu – delu možganov, ki nadzoruje gibanje. V zdravih celicah je protein HTT palmitoiliran s pomočjo encima zDHHC17, v prizadetih celicah pa je aktivnost encima zDHHC17 znižana in HTT ni ustrezno palmitoiliran. Do pravega mesta v celici torej ne potuje, temveč ostaja v citoplazmi in tvori toksične agregate, ki potencialno uničijo nevrone, kar vodi do simptomov bolezni [5].

Širše aplikacije

Pri Alzheimerjevi bolezni vpliva spremenjena palmitoilacija na delovanje amiloidnega prekursorskega proteina (APP). Palmitoiliran APP potuje v golgijev aparat, natančneje v trans-golgi omrežje, bogato z β -sekretazno aktivnostjo, ki promovira tvorbo beta-amiloidnih plakov. [6] Palmitoilacija prav tako vpliva na agregacijo, vezavo na mikrotubule in hiperfosforilacijo proteinov tau. Motena palmitoilacija je značilna tudi za Parkinsonovo bolezen, amiotrofično lateralno sklerozo (ALS) ter shizofrenijo, kar naredi encime zDHHC eno glavnih tarč novorazvijajočih se nevropsihiatričnih zdravil [7].

S-acilacija regulira mnogo encimov, ključnih za privzem glukoze, metabolizem lipidov in vzdrževanje energetske homeostaze. Presnovni sindrom vključuje množico zdravstvenih težav kot so npr. debelost, odpornost na inzulin, povišan krvni tlak in kopičenje maščobe v jetrih. V zadnjih letih so raziskave pokazale, da je motena lipidacija

proteinov ključni dejavnik pri razvoju omenjenih stanj. Ključni proteini, ki sodelujejo v reguliranju presnove, so AMPK (AMP-activated protein kinase), GLUT4 (glucose transporter type 4) in IRS (insulin receptor substrate), ki je ključen za signaliziranje z inzulinom [3].

Pri sladkorni bolezni tipa 2, kronična preobremenitev z lipidi spremeni ekspresijo zDHHC in APT (acyl-protein thioesterase, odstranjujejo lipidne modifikacije s proteinov) encimov, kar privede do porušenega cikla palmitoilacije. Okvare v palmitoilaciji GLUT4 privedejo do zmanjšane privzema glukoze v mišičnem in adipoznem tkivu, nepravilna lokalizacija IRS pa inhibira interakcije z receptorji inzulina in ugaša PI3K-AKT signalno pot, kar lahko privede do inzulinske rezistence [2].

Mnogi receptorji, kot so npr. β -adrenergični receptorji v srčni mišici, morajo biti za svoje delovanje palmitoilirani. Le tako pridejo do celične membrane, kjer lahko zaznajo celične signale, kot je npr. adrenalin in normalno sprožijo srčni odziv. Pri diabetikih privede neuravnotežena palmitoilacija do aritmij in celo srčnega popuščanja. Metabolizem lipidov v jetrih je reguliran z encimi kot je acetyl-CoA karboksilaza (ACC), ki so prav tako podvrženi S-acylaciji (spec. palmitoilaciji). Okvare v slednji inhibirajo oksidacijo maščobnih kislin in vodijo do nealkoholne maščobne bolezni jeter (NAFLD) in odpornosti na inzulin. Spremenjeni vzorci lipidne modifikacije so danes prepoznani kot neoporečni v patogenezi diabetesa, debelosti in z njima povezanimi kardiovaskularnimi zapleti [3].

Literatura

Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi – palmatoilacija, mirostoilacija, prenilacija

- [1] B. Chen, Y. Sun, J. Niu, G. K. Jarugumilli, X. Wu: Protein lipidation in cell signaling and diseases: function, regulation and therapeutic opportunities. *Cell Chem Biol* **2018**, 25, 817.
- [2] Y. Yuan, P. Li, J. Li, Q. Zhao, Y. Chang, X. He: Protein lipidation in health and disease: molecular basis, physiological function and pathological implication. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2024**, 9, 1–43.
- [3] Y. Zhang, Z. Qin, W. Sun, F. Chu, F. Zhou: Function of Protein S-Palmitoylation in Immunity and Immune-Related Diseases. *Front Immunol* **2021**, 12, 661202.
- [4] B. Wang, T. Dai, W. Sun, Y. Wei, J. Ren, L. Zhang, M. Zhang, F. Zhou: Protein N-myristoylation: functions and mechanisms in control of innate immunity. *Cell Mol Immunol* **2021**, 18, 878.
- [5] R. Baron, E. Fourcade, I. Lajoie-Mazenc, C. Allal, B. Couderc, R. Barbaras, G. Favre, J. C. Faye, A. Pradines: RhoB prenylation is driven by the three carboxyl-terminal amino acids of the protein: Evidenced in vivo by an anti-farnesyl cysteine antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**, 97, 11626–11631.
- [6] C. C. Palsuledesai, M. D. Distefano: Protein Prenylation: Enzymes, Therapeutics, and Biotechnology Applications. *ACS Chem Biol* **2014**, 10, 51.

Biokemija in fiziološka vloga modifikacij proteinov z lipidi – GPI sidro, modifikacije s holesterolom

- [1] Y. Yuan, P. Li, J. Li, Q. Zhao, Y. Chang, X. He: Protein lipidation in health and disease: molecular basis, physiological function and pathological implication. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2024**, 9, 1–43.
- [2] J. Sakamaki, N. Mizushima: Cell biology of protein–lipid conjugation. *Cell Struct Funct* **2023**, 48, 99–112.
- [3] B. Chen, Y. Sun, J. Niu, G. K. Jarugumilli, X. Wu: Protein Lipidation in Cell Signaling and Diseases: Function, Regulation, and Therapeutic Opportunities. *Cell Chem Biol* **2018**, 25, 817–831.
- [4] T. Kinoshita: Biosynthesis and biology of mammalian GPI-anchored proteins. *Open Biol* **2020**, 10.

- [5] H. Sakakura, S. Mii, S. Hagiwara, T. Kato, N. Yamamoto, H. Hibi, M. Takahashi, Y. Murakumo: CD109 is a component of exosome secreted from cultured cells. *Biochem Biophys Res Commun* **2016**, 469, 816–822.
- [6] H. Jiang, X. Zhang, X. Chen, P. Aramsangtienchai, Z. Tong, H. Lin: Protein Lipidation: Occurrence, Mechanisms, Biological Functions, and Enabling Technologies. *Chem Rev* **2018**, 118, 919–988.
- [7] A. Płociennikowska, A. Hromada-Judycka, K. Borzęcka, K. Kwiatkowska: Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2015**, 72, 557–581.
- [8] J. H. Kong, C. Siebold, R. Rohatgi: Biochemical mechanisms of vertebrate hedgehog signaling. *Development (Cambridge)* **2019**, 146.

Struktura vloga lipidnih modifikacij proteinov

- [1] G. Gimpl and F. Fahrenholz, “Cholesterol as stabilizer of the oxytocin receptor,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1564, no. 2, pp. 384–392, Aug. **2002**, doi: 10.1016/S0005-2736(02)00475-3.
- [2] M. A. Hanson *et al.*, “A Specific Cholesterol Binding Site Is Established by the 2.8 Å Structure of the Human β 2-Adrenergic Receptor,” *Structure*, vol. 16, no. 6, pp. 897–905, Jun. **2008**, doi: 10.1016/j.str.2008.05.001.
- [3] K. A. Marino, D. Prada-Gracia, D. Provasi, and M. Filizola, “Impact of Lipid Composition and Receptor Conformation on the Spatio-temporal Organization of μ -Opioid Receptors in a Multi-component Plasma Membrane Model,” *PLoS Comput Biol*, vol. 12, no. 12, p. e1005240, Dec. **2016**, doi: 10.1371/journal.pcbi.1005240.
- [4] C. Neale, H. D. Hecce, R. Pomès, and A. E. García, “Can Specific Protein-Lipid Interactions Stabilize an Active State of the Beta 2 Adrenergic Receptor?,” *Biophys J*, vol. 109, no. 8, pp. 1652–1662, Oct. **2015**, doi: 10.1016/j.bpj.2015.08.028.
- [5] V. Corradi *et al.*, “Emerging Diversity in Lipid–Protein Interactions,” *Chem Rev*, vol. 119, no. 9, pp. 5775–5848, May **2019**, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00451.

Evolucija lipidnih modifikacij proteinov

- [1] F. H. Santiago-Tirado and T. L. Doering, “All about that fat: Lipid modification of proteins in *Cryptococcus neoformans*,” *Journal of Microbiology*, vol. 54, no. 3, pp. 212–222, Mar. **2016**, doi: 10.1007/s12275-016-5626-6.
- [2] M. D. Resh, “Palmitoylation of Ligands, Receptors, and Intracellular Signaling Molecules,” *Science's STKE*, vol. **2006**, no. 359, Oct. 2006, doi: 10.1126/stke.3592006re14.

- [3] Y. Fukata and M. Fukata, "Protein palmitoylation in neuronal development and synaptic plasticity," *Nat Rev Neurosci*, vol. 11, no. 3, pp. 161–175, Mar. **2010**, doi: 10.1038/nrn2788.
- [4] J. Greaves and L. H. Chamberlain, "DHHC palmitoyl transferases: substrate interactions and (patho)physiology," *Trends Biochem Sci*, vol. 36, no. 5, pp. 245–253, May **2011**, doi: 10.1016/j.tibs.2011.01.003.
- [5] F. L. Zhang and P. J. Casey, "PROTEIN PRENYLATION: Molecular Mechanisms and Functional Consequences," *Annu Rev Biochem*, vol. 65, no. 1, pp. 241–269, Jun. **1996**, doi: 10.1146/annurev.bi.65.070196.001325.
- [6] I.-R. Tak, F. Ali, J. S. Dar, A. R. Magray, B. A. Ganai, and M. Z. Chishti, "Posttranslational Modifications of Proteins and Their Role in Biological Processes and Associated Diseases," in *Protein Modificomics*, Elsevier, **2019**, pp. 1–35. doi: 10.1016/B978-0-12-811913-6.00001-1.
- [7] M. D. Resh, "Fatty acylation of proteins: new insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, vol. 1451, no. 1, pp. 1–16, Aug. **1999**, doi: 10.1016/S0167-4889(99)00075-0.
- [8] M. E. Linder and R. J. Deschenes, "Palmitoylation: policing protein stability and traffic," *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 8, no. 1, pp. 74–84, Jan. **2007**, doi: 10.1038/nrm2084.
- [9] M. G. Paulick and C. R. Bertozzi, "The Glycosylphosphatidylinositol Anchor: A Complex Membrane-Anchoring Structure for Proteins," *Biochemistry*, vol. 47, no. 27, pp. 6991–7000, Jul. **2008**, doi: 10.1021/bi8006324.
- [10] J. Soppa, "Protein Acetylation in Archaea, Bacteria, and Eukaryotes," *Archaea*, vol. 2010, pp. 1–9, **2010**, doi: 10.1155/2010/820681.
- [11] A. J. Laude and I. A. Prior, "Palmitoylation and localisation of RAS isoforms are modulated by the hypervariable linker domain," *J Cell Sci*, vol. 121, no. 4, pp. 421–427, Feb. **2008**, doi: 10.1242/jcs.020107.
- [12] A. E.-D. El-Husseini and D. S. Bredt, "Protein palmitoylation: a regulator of neuronal development and function," *Nat Rev Neurosci*, vol. 3, no. 10, pp. 791–802, Oct. **2002**, doi: 10.1038/nrn940.

Patologija lipidnih modifikacij proteinov

- [1] I. M. Ahearn, K. Haigis, D. Bar-Sagi, M. R. Philips: Regulating the regulator: Post-translational modification of RAS. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2012**, 13, 39–51.

- [2] B. Chen, Y. Sun, J. Niu, G. K. Jarugumilli, X. Wu: Protein Lipidation in Cell Signaling and Diseases: Function, Regulation, and Therapeutic Opportunities. *Cell Chem Biol* **2018**, 25, 817–831.
- [3] Y. Yuan, P. Li, J. Li, Q. Zhao, Y. Chang, X. He: Protein lipidation in health and disease: molecular basis, physiological function and pathological implication. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2024** 9:1 2024, 9, 1–43.
- [4] Y. Fukata, M. Fukata: Protein palmitoylation in neuronal development and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* **2010**, 11, 161–175.
- [5] F. L. Lemarié, N. S. Caron, S. S. Sanders, M. E. Schmidt, Y. T. N. Nguyen, S. Ko, X. Xu, M. A. Pouladi, D. D. O. Martin, M. R. Hayden: Rescue of aberrant huntingtin palmitoylation ameliorates mutant huntingtin-induced toxicity. *Neurobiol Dis* **2021**, 158.
- [6] S. Sharma, R. J. Young, J. Chen, X. Chen, E. C. Oh, M. R. Schiller: Minmotifs dysfunction is pervasive in neurodegenerative disorders. *Alzheimer's & dementia : translational research & clinical interventions* **2018**, 4, 414–432.
- [7] V. L. Villemagne, N. Okamura: Tau imaging in the study of ageing, Alzheimer's disease, and other neurodegenerative conditions. *Curr Opin Neurobiol* **2016**, 36, 43–51.