

# TRANSPORT PROTEINOV ČEZ BIOLOŠKE MEMBRANE

Seminar pri predmetu Biološke membrane

Študijsko leto 2024/2025

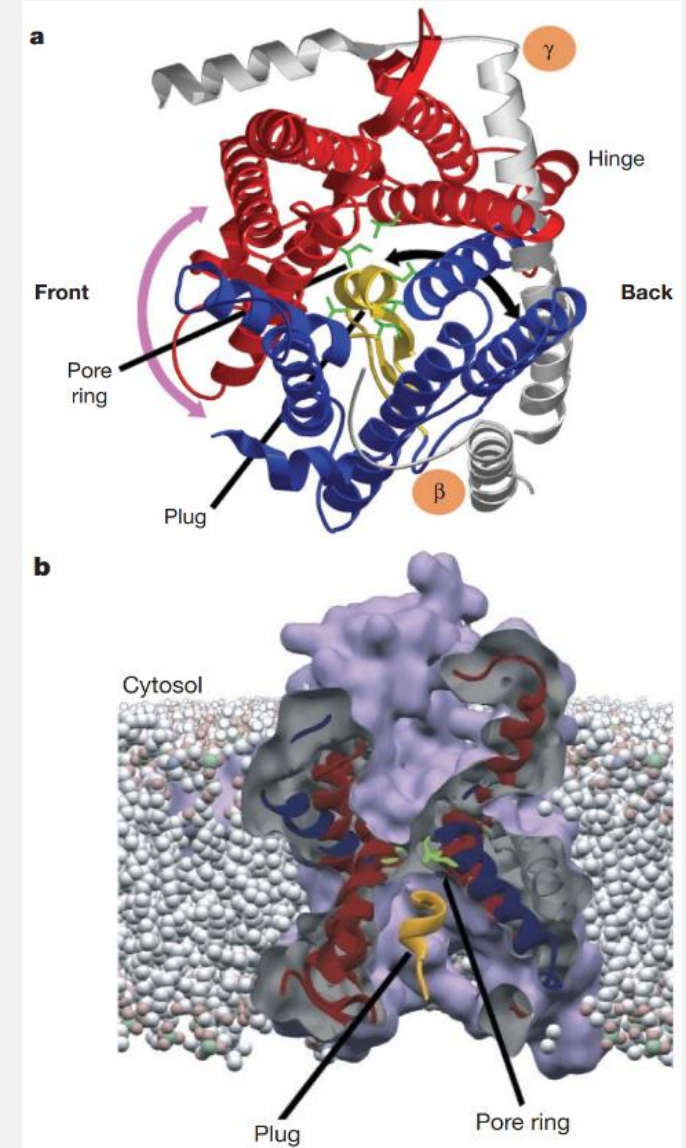
Avtorji: Alliana Kolar, Ela Kovač, Kostadin Mitkov, Lana Kores, Luka Hafner

## TRANSPORT PROTEINOV ČEZ MEMBRANO ER IN ČEZ PLAZEMSKO MEMBRANO

- Proteine, ki se translocirajo v organele ali v plazemsko membrano razdelimo v dve skupini: na **topne proteine** - so tisti, izločijo iz celice ali lokalizirajo v lumen ER in na **membranske proteine** - so tisti, ki so v plazemski membrani ali v membranah drugih organelov sekretorne poti.
- Topni proteini se popolnoma prenesejo čez membrano in na N-koncu vsebujejo signalno zaporedje, katerega glavna značilnost je kratek hidrofojni segment, dolg 7–12 aminokislinskih ostankov.
- Membranski proteini imajo različne topologije z enim ali več transmembranskimi (TM) segmenti, pri čemer vsak izmed segmentov vsebuje okoli 20 hidrofojnih aminokislinskih ostankov.
- Obe vrsti proteinov uporabljata enak mehanizem za translokacijo čez membrane: **kanal za translokacijo proteinov** s hidrofilno notranjostjo.
- Ta kanal ima v primerjavi s kanalom, ki prenaša ione in majhne molekule lastnost, da se lahko odpre v dveh smereh. Najprej se odpre pravokotno na ravnino membrane in tako omogoči prehod polipeptidnega segmenta, nato pa se odpre znotraj membrane in tako omogoči lateralni izstop TM segmenta membranskega proteina v lipidno fazo.

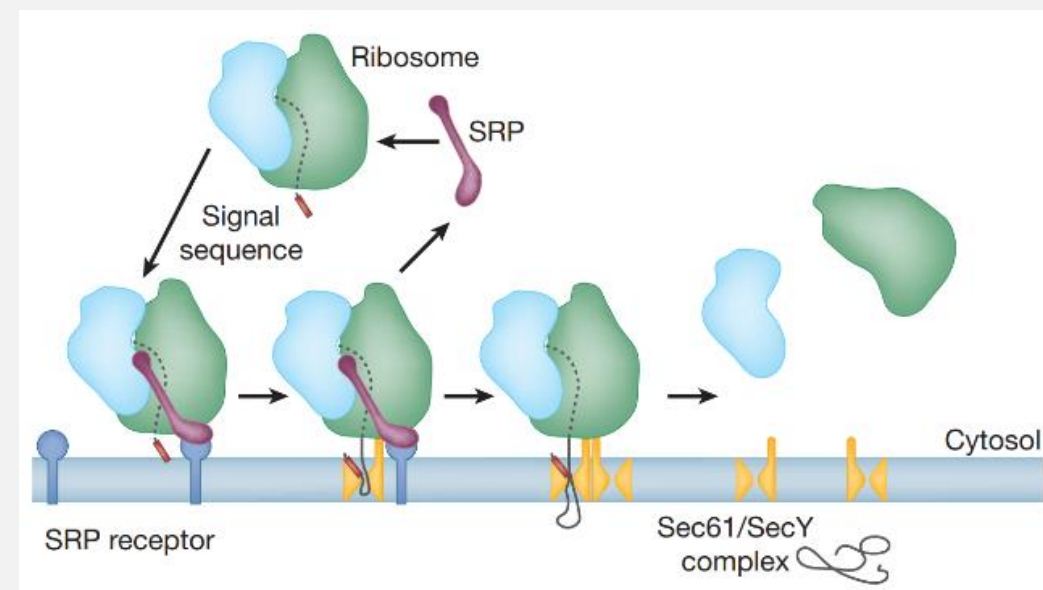
## STRUKTURA TRANSLOKACIJSKEGA KANALA

- Translokacijski kanal je sestavljen iz ohranjenega heterotrimernega membranskega proteinskega kompleksa, ki se pri evkariontih imenuje kompleks **Sec61**, pri bakterijah in arhejah pa kompleks **SecY**.
- Če kanal pogledamo iz citosola v notranjost organela, ima obliko kvadrata (slika 1a).  $\alpha$  podenota je razdeljena na dve polovici, ki sta sestavljeni iz TM segmentov 1–5 in 6–10.  $\gamma$  podenota z enim TM segmentom povezuje obe polovici  $\alpha$  podenote na zadnji strani.  $\beta$  podenota vzpostavlja stik le s perifernim delom  $\alpha$  podenote.
- Deset vijačnic  $\alpha$  podenote tvori poro v obliki peščene ure, ki je sestavljena iz citoplazemskega in zunajceličnega dela (slika 1b). Citoplazemski del je prazen, v sredini zunanega dela pa je kratka  $\alpha$ -vijačnica oziroma **čep** (*ang.* plug). Kanal je v **dinamičnem ravnotežju**, pri čemer se čep giblje med zaprtim in odprtim položajem.
- V sredini kanala se nahaja tudi **porni obroč** (*ang.* pore ring), ki je sestavljen iz šestih hidrofobnih AK ostankov, ki so pri številnih vrstah izolevcini. Porni obroč deluje kot tesnilo, ki tesno objame translocirajočo polipeptidno verigo, s čimer preprečuje prehod ionov in drugih majhnih molekul med translokacijo proteinov.
- Poleg premika čepa je za translokacijo polipeptidne verige potrebna tudi **razširitev pore kanala**, saj je premer pornega obroča premajhen, da bi omogočal prehod iztegnjene polipeptidne verige.



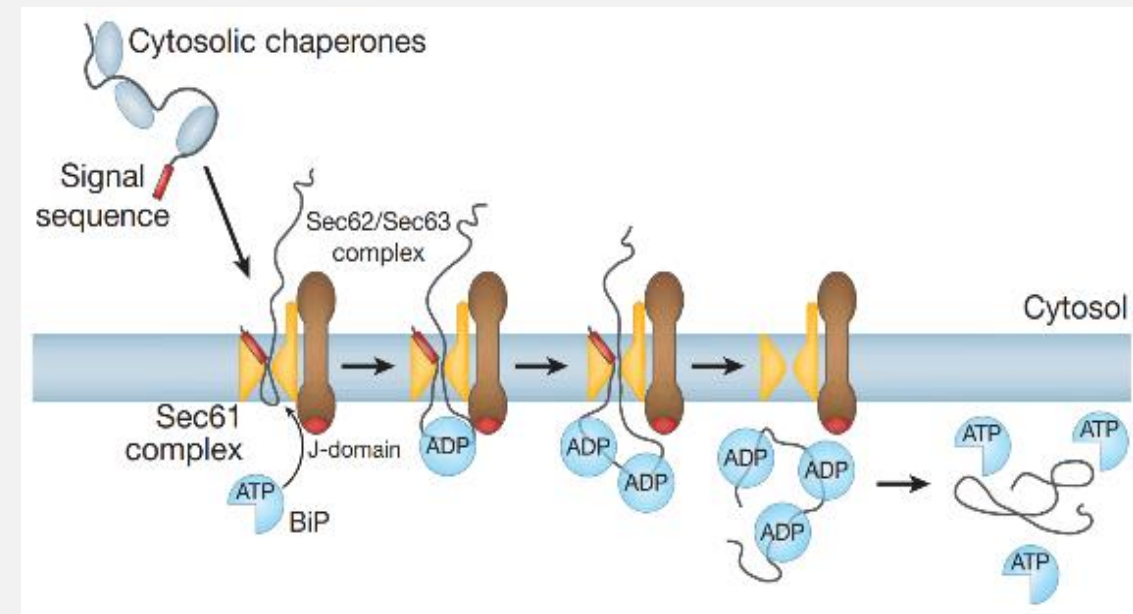
## KOTRANSLACIJSKA TRANSLOKACIJA PRI EVKARIONTIH IN PROKARIONTIH

- Pri kotranslacijski translokaciji je glavni partner **ribosom**.
- Ta način translokacije se pojavlja v vseh celicah in je ključen tako za translokacijo sekretornih proteinov kot tudi za integracijo večine membranskih proteinov.
- Proces se začne s fazo **usmerjanja**, kjer signalno sekvenco na rastoči polipeptidni verigi prepozna **delec za prepoznavo signala** (*ang.* signal-recognition particle, SRP) in kompleks ribosoma ter nastajajoče polipeptidne verige usmeri na njegov membranski **SRP receptor** (slika 2).
- Ko se ribosom veže na translokacijski kanal, se podaljšujoča se polipeptidna veriga prenese iz ribosoma v kanal, pri čemer **hidroliza GTP** med translacijo zagotavlja energijo za translokacijo polipeptidne verige. Signalna sekvenca se med translokacijo na določeni točki odcepi.
- V primeru translokacije membranskih proteinov nekateri odseki polipeptidne verige ne vstopijo v kanal, temveč bočno izstopijo iz stika med ribosomom in kanalom v citosol.



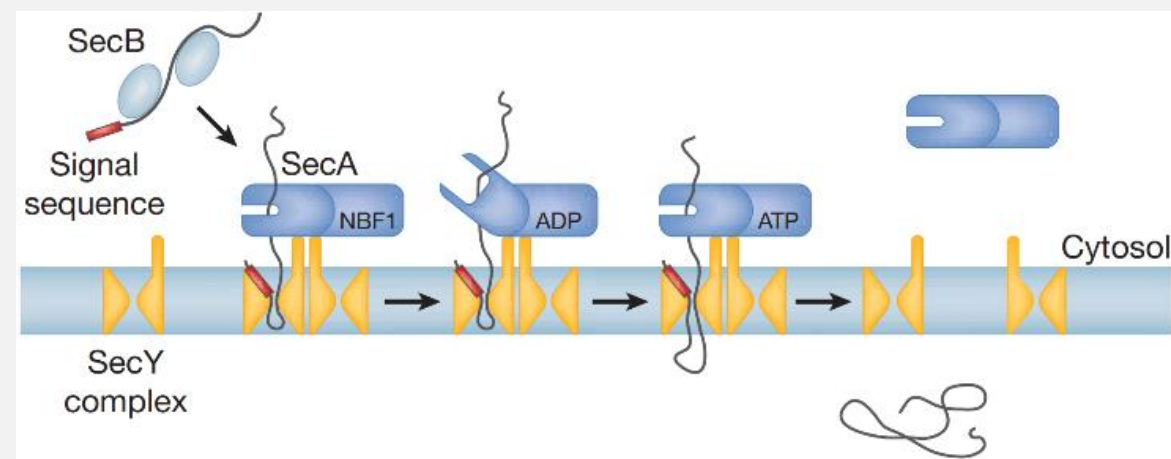
## POSTTRANSLACIJSKA TRANSLOKACIJA PRI EVKARIONTIH

- Mehanizem posttranslacijske translokacije pri evkariontih je značilen za proteine, ki se prenesejo v **lumen ER**.
- Translokon Sec61 se poveže še z enim membranskim proteinskim kompleksom, tetramernim kompleksom **Sec62/Sec63** ter z luminalnim šaperonom **BiP**, ki je član družine ATPaz Hsp70.
- Translokacija se začne z vezavo translokacijskega substrata na kanal (slika 3). V tem koraku se tudi vsi citosolni šaperoni sprostijo s substrata. Ko je polipeptidna veriga vstavljena v kanal, se zaradi Brownovega gibanja lahko giblje v obe smeri, vendar njena vezava na BiP znotraj lumna ER prepreči gibanje nazaj v citosol.
- Na ATP vezan BiP interagira z **J-domeno** proteina Sec63, kar povzroči hitro hidrolizo ATP in zaprtje žepa kanala okoli translokacijske verige. Ko se polipeptidna veriga pomakne dovolj globoko v lumen ER, se nanjo veže naslednja molekula BiP. Ta postopek se ponavlja, dokler celotna veriga popolnoma ne preide čez kanal v lumen ER. Na koncu **zamenjava ADP z ATP** odpre vezavni žep in sprostí BiP.

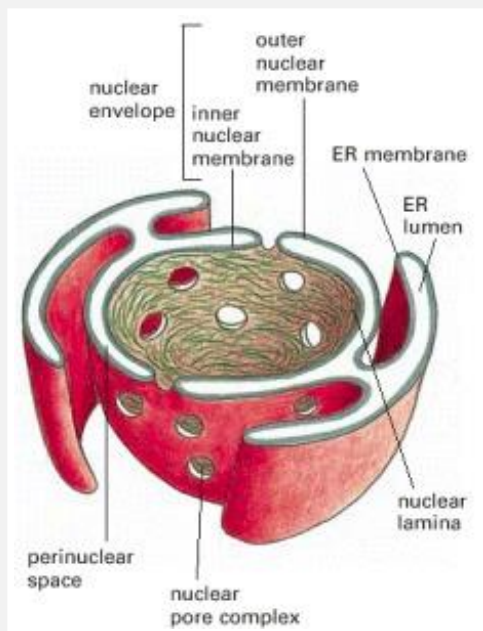


## POSTTRANSLACIJSKA TRANSLOKACIJA PRI PROKARIONTIH

- Translokacijski kanal se poveže s citosolno ATPazo **SecA**. SecA ima več domen, med katerimi sta najpomembnejši domeni za vezavo nukleotidov (NBF1 in NBF2), ki vežeta polipeptidno verigo in se med ciklom hidrolize ATP premikata druga glede na drugo.
- Translokacija substratov se prične z njihovo vezavo na citosolni šaperon **SecB** (slika 4). Nato SecA prepozna signalno zaporedje, interagira s SecB in veže polipeptidno verigo. Nato jo vstavi v kanal SecY in poteče translokacija verige s ciklom **hidrolize ATP**, ki omogoča delovanje SecA.
- Po končani translokaciji signalno zaporedje odcepi specifična signalna peptidaza, SecA pa se odcepi iz membranskega kanala in vrne v citosol.

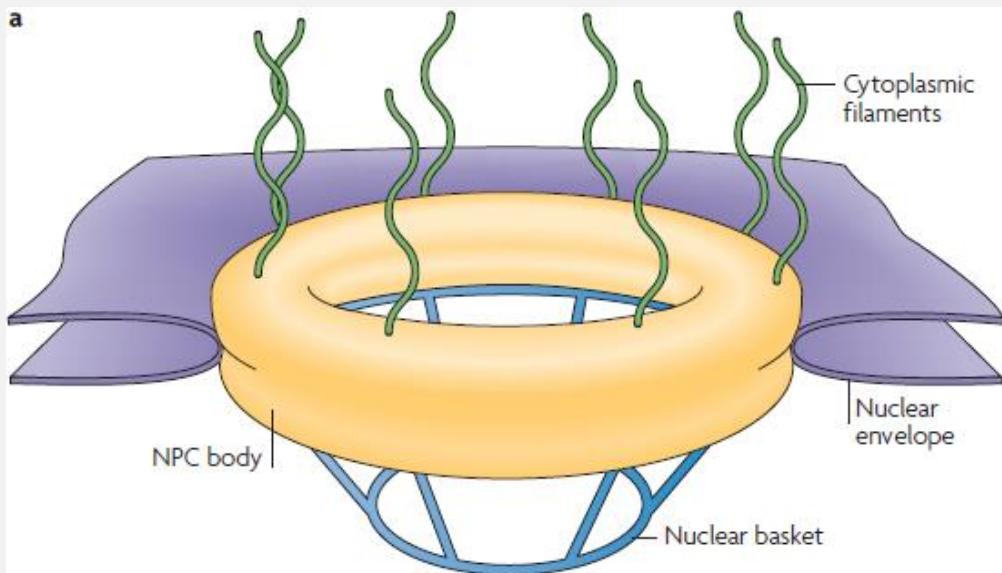






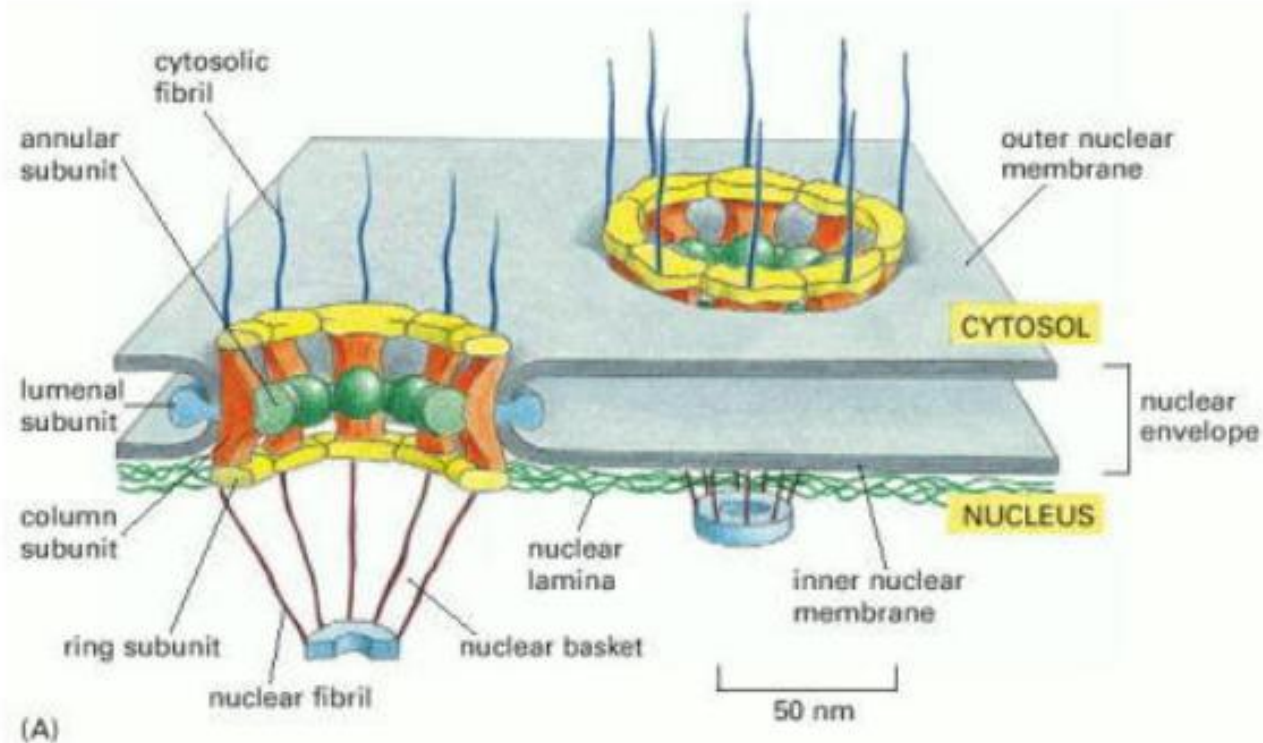
# JEDRNI PRENOS

- Jedro evkariontske celice je obdano z dvoslojno jedrno ovojnico, ki predstavlja selektivno pregrado med genetskim materialom in citoplazmo
- **Jedrni prenos** je dinamična izmenjava makromolekul med jedro in citoplazmo, ki je ključna za celične procese, kot so izražanje genov, prenos signalov in uravnavanje celičnega cikla
- Jedrni prenos je kompleksen sistem, pri katerem sodeluje približno 60 proteinov
- Osrednji del jedrnega prenosa je **jedrni porni kompleks (NPC)**, ki je zgrajen iz proteinov, imenovanih **nukleoporini**
- V povprečni sesalski celici se nahaja med 2000 in 5000 NPC-jev



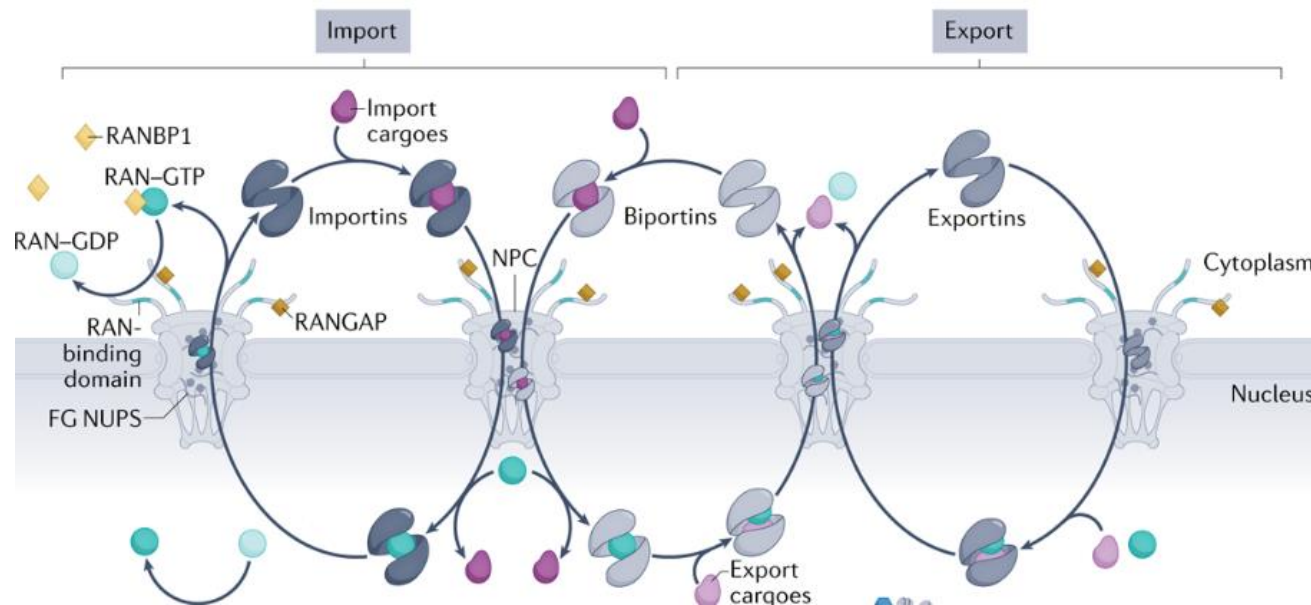
## NPC (JEDRNI PORNI KOMPLEKS)

- NPC ima votlo valjasto strukturo s premerom približno 1200 Å, višino okoli 800 Å in maso okoli 120 MDa
- Tri glavne strukture: osredno jedro; osem filamentov ki segajo v citoplazmo; košarici podobno strukturo
- Sestavljen je iz 1000 proteinskih podenot, ki pripadajo 34 različnim nukleoporinom
- Dolgi neurejeni odseki z FG (fenilalanin-glicin) ponovitvami nukleoporinov tvorijo selektivno pregrado in omogočajo interakcije s transportnimi proteini





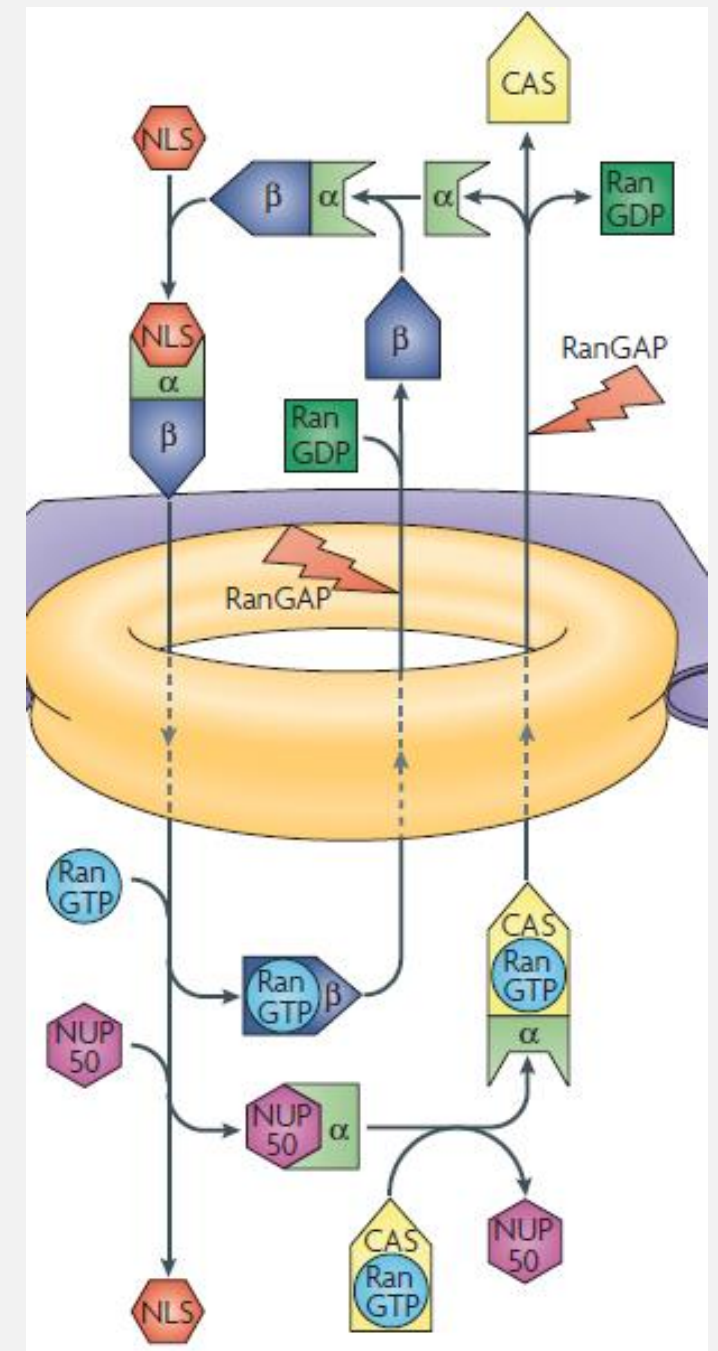
# KARIOFERINI



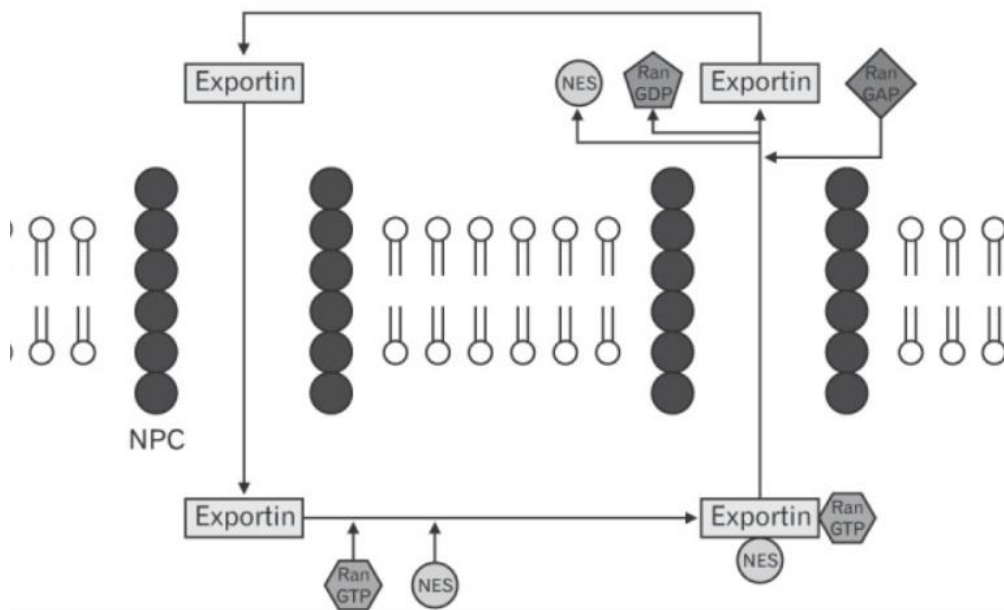
- Karioferini so proteini, ki prenašajo tovor skozi jedrni porni kompleks – bodisi v jedro bodisi iz njega v citoplazmo
- Karioferine delimo v tri glavne skupine: importini, eksportini in biportini
- Za vezavo in sproščanje tovora se karioferini zanašajo na GTPazo RanGTP
- Imajo konkavno kisljo površino, preko katere vežejo tovor, ter konveksno hidrofobno površino, preko katere se vežejo na FG ponovitve v NPC-ju

# UVOZ V JEDRO

- Cikel uvoza proteinov v jedro temelji na natančno usklajenem zaporedju interakcij, ki morajo biti strogo nadzorovane tako prostorsko kot časovno. Ključno vlogo pri tem ima molekularno prepoznavanje – prenašalci morajo prepoznati svoj tovor in hkrati razlikovati med jedrom in citoplazmo
- Pri vsakem uvoznem mehanizmu so proteinski tovari označeni s kratkimi zaporedji, imenovanimi **jedrni lokalizacijski signali (NLS)**, ki omogočajo njihovo usmerjanje v jedro.
- Pri številnih jedrnih proteinih jedrni lokalizacijski signali (NLS) sestavljajo eno ali dve kratki zaporedji, ki sta bogati s pozitivno nabitima aminokislinama lizinom in argininom
- Interakcije med prenašalcev in tovorja usmerja nukleotidno stanje proteina Ran, ki kroži med vezanim GTP in vezanim GDP. Njegovo stanje uravnava dve pomembni molekuli: RanGEF, ki se nahaja v jedru in pretvarja RanGDP nazaj v RanGTP, ter RanGAP, ki je prisoten v citoplazmi in spodbuja razgradnjo RanGTP v RanGDP



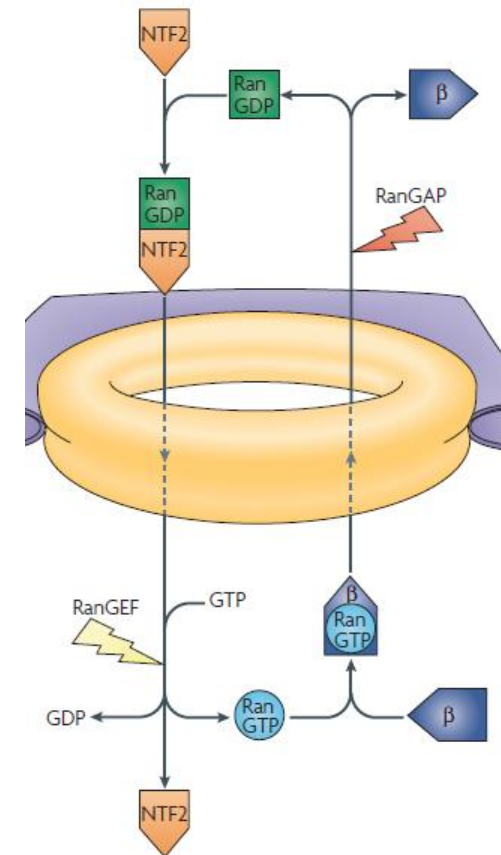
# IZVOZ IZ JEDRA



- Izvoz iz jedra je strogo nadzorovan proces, ki omogoča prenos makromolekul, kot so proteini in RNA, iz jedra v citoplazmo
- Ta mehanizem temelji predvsem na izvoznih receptorjih, imenovanih eksportini, ki prepoznajo tovarne proteine z **jedrnim izvoznim signalom (NES)** – to so kratka zaporedja, bogata z levcinom
- V jedru eksportin tvori stabilen kompleks skupaj s tovorom in RanGTP. Ta kompleks se veže na FG-podobne nukleopore v jedrnem porečnem kompleksu (NPC) in se prenese v citoplazmo
- Ko doseže citoplazemsko stran, RanGTP hidrolizira v RanGDP, kar omogoča razgradnjo kompleksa in sprostitve tovara v citoplazmo. Ta reakcija je pospešena s pomočjo RanGAP
- Po sprostitvi se eksportin in RanGDP preneseta nazaj v jedro, kjer se cikel izvoza lahko ponovi. Celoten postopek je enosmeren in energijsko odvisen, saj ga poganja koncentracijski gradient RanGTP med jedrom in citoplazmo, ki zagotavlja pravilno smer prenosa

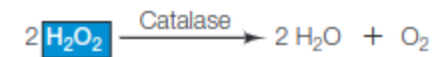
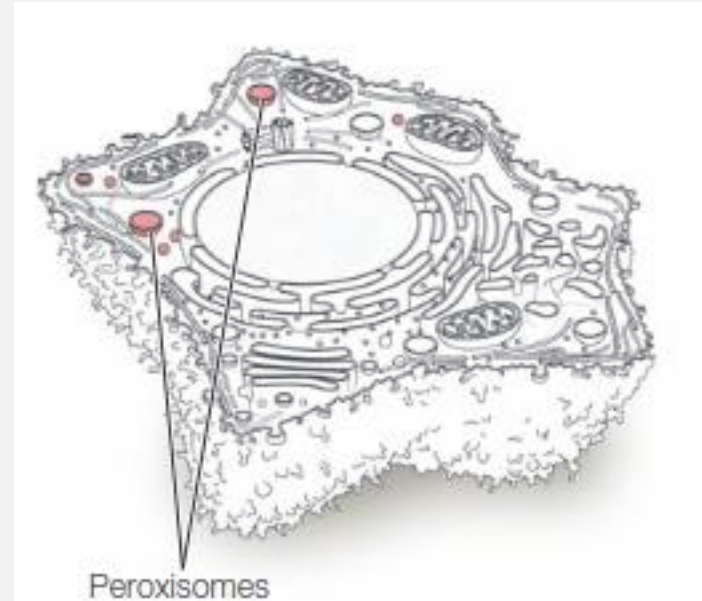
# KROŽENJE PROTEINA RAN MED JEDRO IN CITOPLAZMO

- Protein Ran kroži med jedrom in citoplazmo, pri čemer se njegovo nukleotidno stanje spreminja glede na lokacijo
- Ker je RanGEF prisoten v jedru, RanGAP pa v citoplazmi, pride do stalnega prehajanja med RanGTP in RanGDP obliko
- Struktura dveh zank v Ran proteinu, imenovanih switch I in switch II, se bistveno spremeni glede na to, ali je vezan GTP ali GDP. Te spremembe omogočajo, da Ran natančno usklajuje vezavo in sproščanje svojih partnerjev med ciklom jedrnega prenosa



## TRANSLOKACIJA PROTEINOV V PEROKSISOM

- Prisotni so v skoraj vsaki evkariontski celici
- Njihova glavna vloga je  $\beta$ -oksidacija maščobnih kislin in razgrajevanje reaktivnih kisikovih spojin
- Peroxisomi so obdani z enojno membrano



or



## TRANSLOKACIJA PROTEINOV V PEROKSISOM

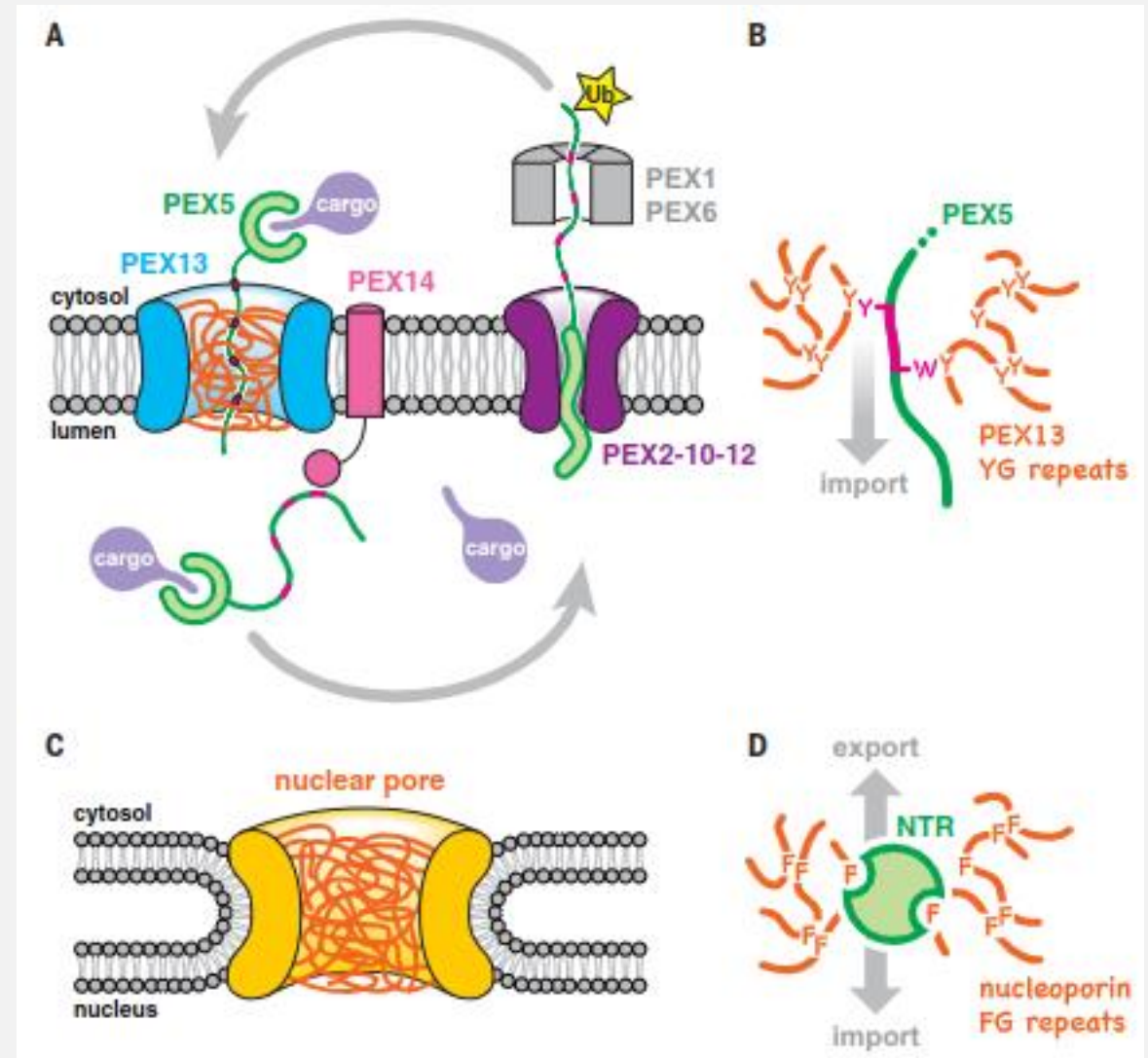
- Peroksini so proteini, ki sestavljajo sistem za translokacijo proteinov v peroksisom
- Translocirajo se zviti proteini z vezanimi kofaktorji
- V peroksisom se translocirajo proteini s prepoznavnim zaporedjem PTS1 ali PTS2
  - Poleg teh se lahko v peroksisom translocirajo proteini, ki so tesno vezani na proteine s prepoznavnim zaporedjem

| <b>Pex gene</b>                | <b>Protein function</b>                              |
|--------------------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Pex7</i>                    | Cytosolic receptor for PTS2-targeted matrix proteins |
| <i>Pex5</i>                    | Cytosolic receptor for PTS1-targeted matrix proteins |
| <i>Pex1, 2, 6, 10, 12, 26</i>  | Recycling of Pex5                                    |
| <i>Pex13, 14</i>               | Pex5 docking                                         |
| <i>Pex19</i>                   | Cytosolic receptor for peroxisome membrane proteins  |
| <i>Pex3, 16</i>                | Pex19 docking and insertion of membrane proteins     |
| <i>Pex11<math>\beta</math></i> | Division of peroxisomes                              |



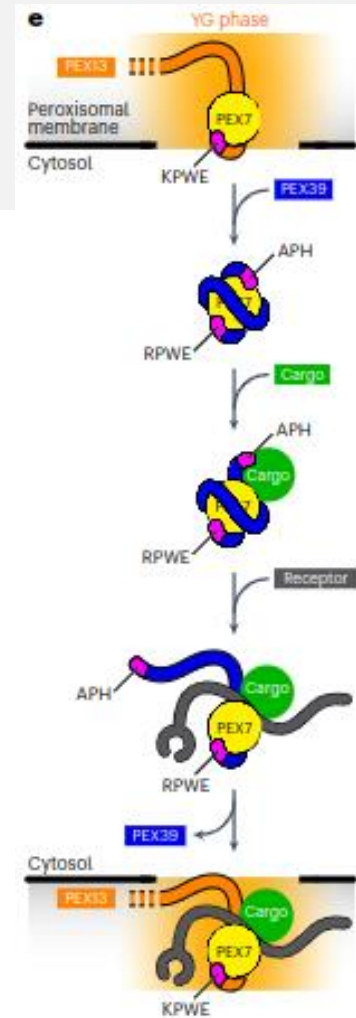
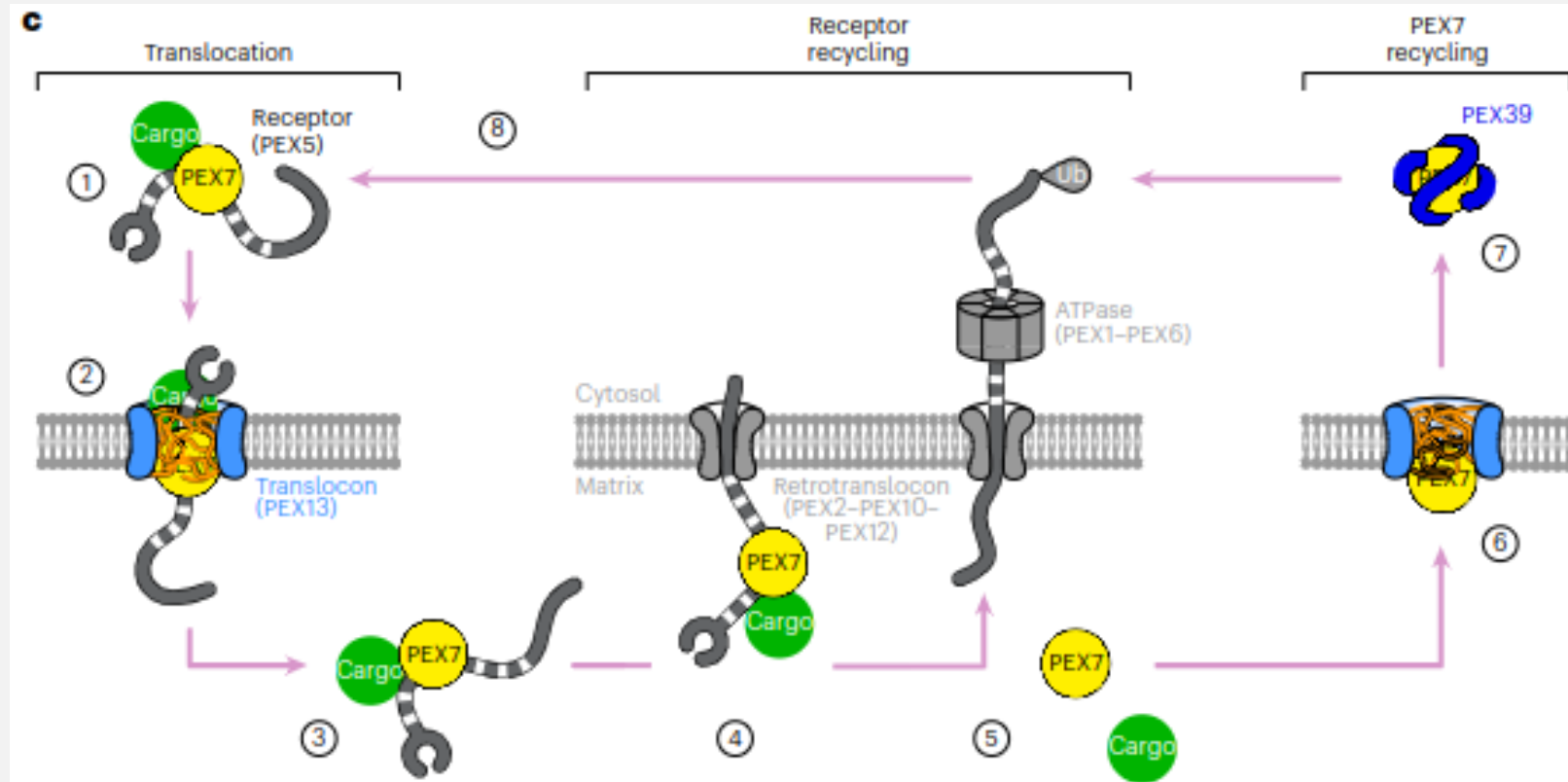
## TRANSLOKACIJA PROTEINOV V PEROKSISOM

- PEX5 prepozna PTS1 s C-končno PTS1 prepoznavno domeno
- Notranjost pore je prepletena z YG domenami PEX13 proteinov, ki so bogate z Tyr in Gly
- Prenos skozi poro goni interakcija lumenske domene PEX14 in WxxxF/Y motivov PEX5
- V lumnu peroksisoma PEX5 vstavi svoj N-konec skozi membransko poro, ki jo tvori ubikvitin ligazni kompleks. Tega sestavljajo PEX2, PEX10 in PEX12
  - PEX5 se med potovanjem skozi poro razvije in tovor se sprost
- N-konec PEX5 se v citosolu nato monoubikvitinira, kar omogoči, da se PEX5 s pomočjo AAA ATPaze, sestavljene iz PEX1 in PEX6, vrne v citosol, kjer se deubikvitinira.



# TRANSLOKACIJA PROTEINOV V PEROKSISOM

- Translokacija proteinov s prepoznavnim zaporedjem PTS2 poteka preko adapterskega proteina PEX7



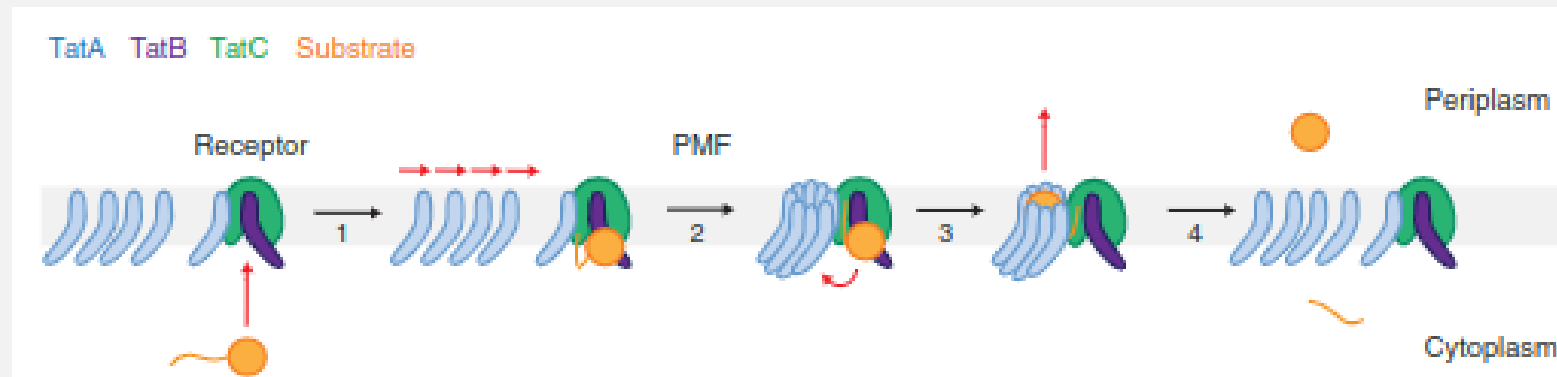
# SEKRETORNI SISTEM DVEH ARGININOV

- Sekretorni sistem dveh argininov (Tat) je prisoten pri večini prokariotov in v kloroplastih, kjer prenaša proteine v tilakoide
- Signalno zaporedje Tat sestavlja pozitivno nabita regija N, ki vsebuje, hidrofobna regija H in regija C, ki vsebuje Ala-x-Ala cepitveno mesto
  - Regija N vsebuje S-R-R-x-F-L-K motiv, po katerem se sistem imenuje
- Signalno zaporedje Tat je daljše in manj hidrofobno od signalnega zaporedja Sec. Poleg tega lahko vsebuje bazične aminokislinske ostanke navzgor od motiva A-x-A.
  - To otežuje, da bi se proteini usmerili v sekretorno pot Sec



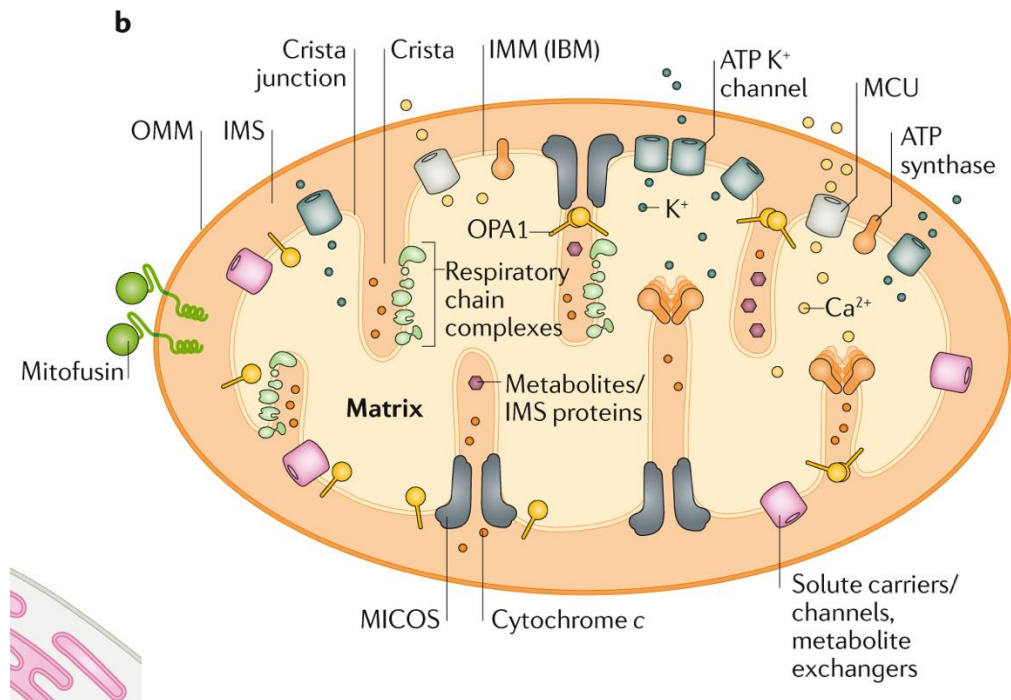
## SEKRETORNI SISTEM DVEH ARGININOV

- Natančen mehanizem ni znan. Delovanje in število proteinov Tat se med organizmi razlikuje.
- Splošno kompleks TatBC veže prepoznavno zaporedje. Nato se TatA oligomerizira in omogoči prehod proteina čez membrano.
- Za translokacijo je nujno potreben protonski gradient

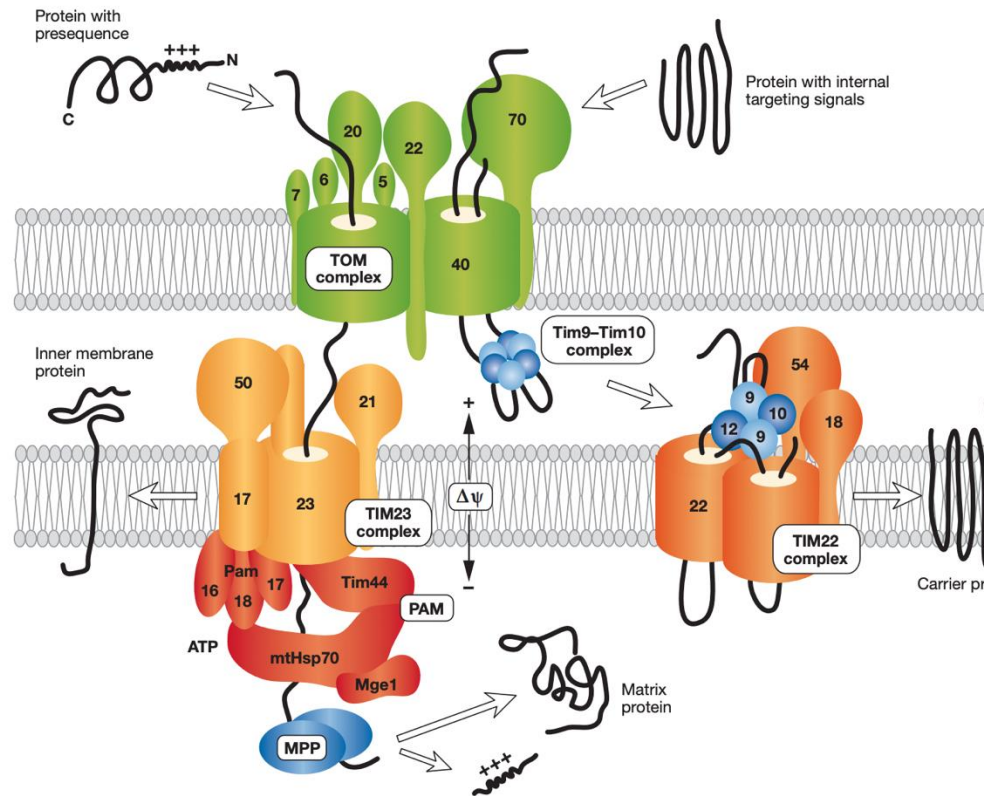


# PRENOS PROTEINOV ČEZ MITOHONDRIJSKO MEMBRANO

- Mitohondrij – vir celične energije
- Dvojna membrana mitohondrija
  - OMM: bolj prepustna, prenos signalov
  - IMM: selektivna, transport s pomočjo transportnih proteinov
    - IBM (notranja mejna membrana) – prenos ionov, majhnih metabolitov, ATP, ADP
    - Kriste – povečanje površine IMM; poteka oksidativna fosforilacija, preprečuje sprostitve vsebine v IMS



# KOMPLEKSA TOM IN TIM

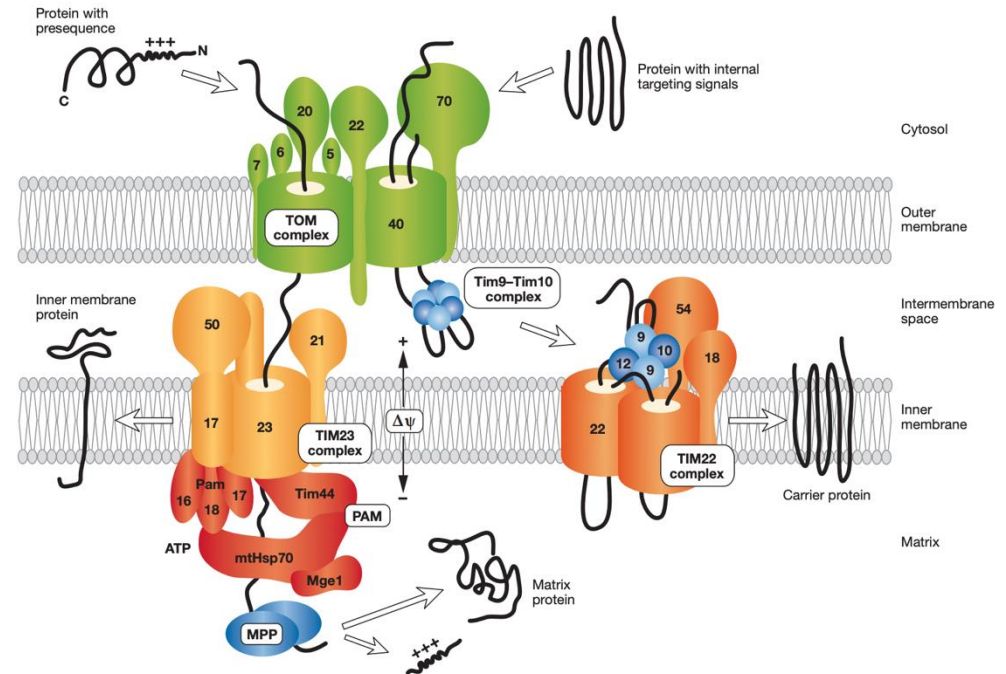


- Sinteza mt proteinov poteka v večje obsegu na ribosomih v citosolu
- Signalno zaporedje jih usmerja v mt
- **TOM – translocase of the outer membrane complex**
  - Vhod skoraj vsem mt proteinom
  - Tom20: prepozna pozitivno nabit signalni peptid prekursorskega proteina
  - Tom70: prepozna zaporedja znotraj prekursorskega proteina
  - Tom22: centralni receptor – oligomerizacija sistema
  - Tom40: kanalček, prepušča prekursorske proteine le v delno razvitem stanju, omogoča enosmerni pretok
  - ločitev proteinov glede na njihov cilj: cepitev IMS proteaz ali nadaljevanje preko kompleksov TIM



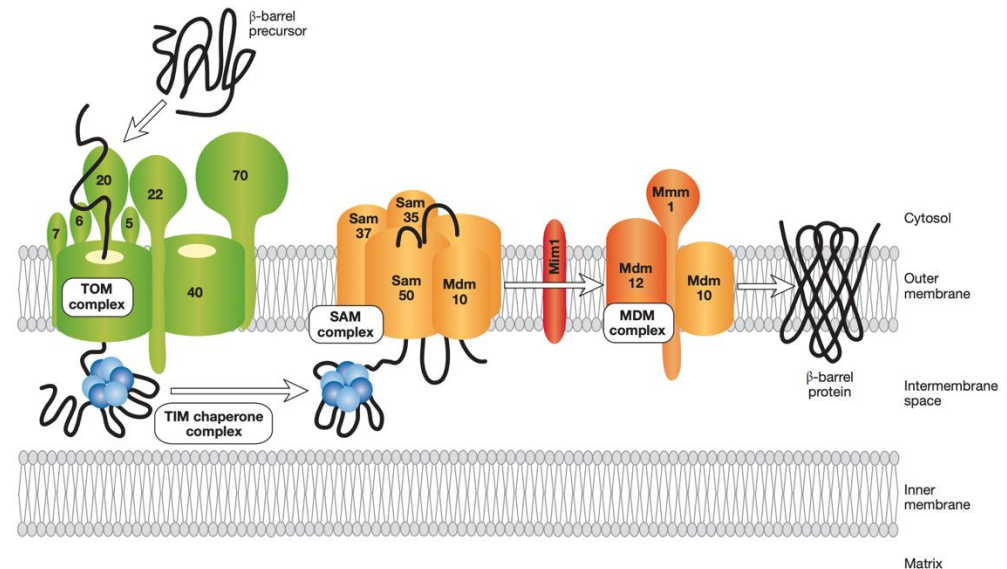
- **TIM – translocase of the inner membrane**

- **TIM23:** transport proteinov v matriks ali sidranje v IMM
  - Tim50: prepozna prekurzorske proteine, ko pridejo čez kompleks TOM
  - Tim23 in Tim17: transport proteinov iz IMS, Tim21 pomaga pri tem
  - PAM: proteinski motor, ki ga poganja hidroliza ATP – prenos v matriks
  - MPP: odcepi prekurzorje v aktivne proteine, katerim cilj je matriks mitohondrija
  - Sidranje v IMM: stop-signal pri prenosu čez kanalček Tim23, lateralni prenos v IMM
- **TIM22:** usmerjanje integralnih prenašalnih proteinov z alfa-vijačnico do IMM
  - Komplex Tim9-Tim10: šaperonski kompleks, pomaga pri sprostitvi prekurzorjev iz kompleksa TOM in ga dostavi, vezava prek adapterskega proteina Tim12
  - Tim22, Tim54 in Tim18: vstavljanje v IMM
- Pri obeh kompleksih je proces vstavljanja in prehajanja IMM membrane odvisna od membranskega potenciala, ki je edini vir energije prenosa



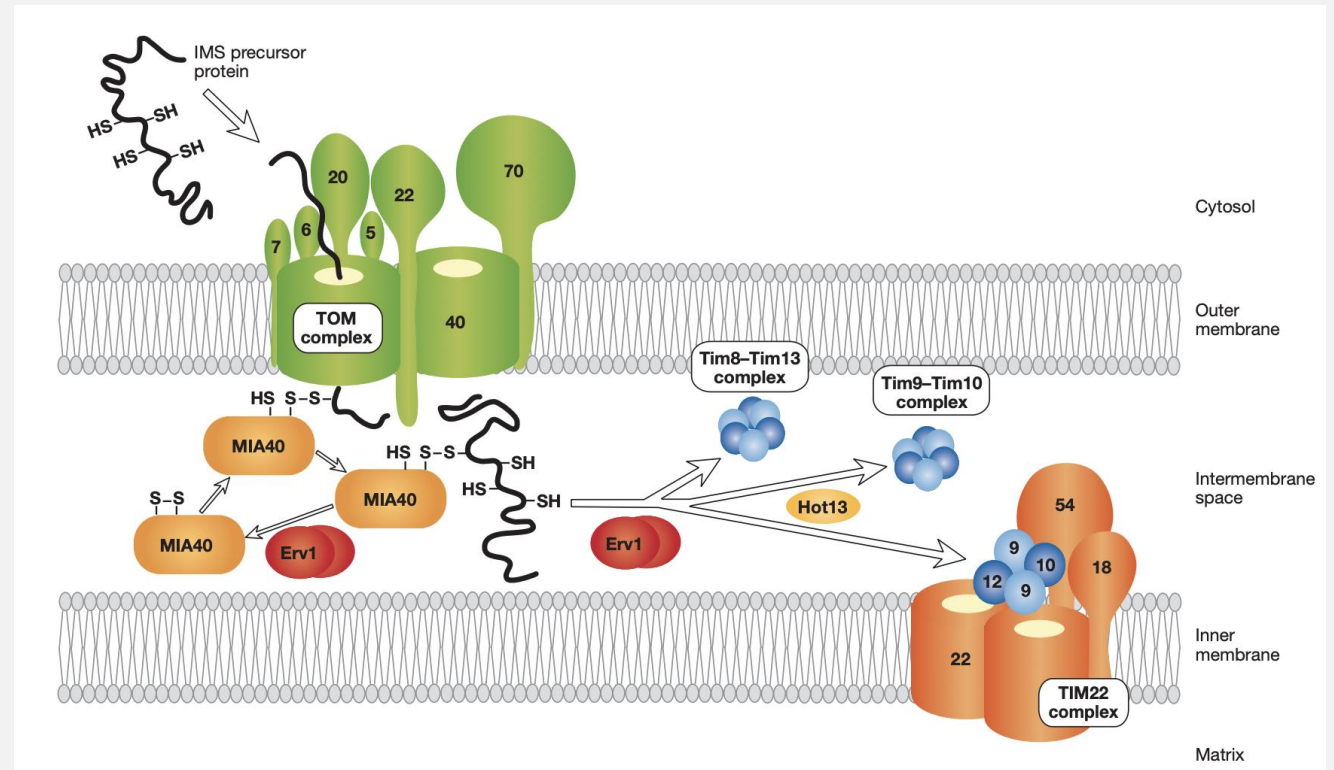
# KOMPLEKS SAM

- Prenos proteinov s topologijo **beta-sodčkov v OMM**
- Poseben evolucijsko ohranjen mehanizem
- Prenos v IMS prek kompleksa TOM
- Šaperonski kompleks TIM usmerja v kompleks SAM (preprečena agregacija hidrofobnih peptidov v IMS)
- Sam50: ima polipeptidno translokazno domeno, s katero prevzame protein iz šaperonskega kompleksa
- Sam37, Sam35
- Mdm10 sodeluje s kompleksom MDM – razvrščanje proteinov v OMM



# POT MIA

- Sodeluje pri transportu in razporejanju proteinov z disulfidnimi vezmi v IMS
- Mia40: prepozna hidrofobne regije, nanje se veže prek mešanih disulfidnih vezi
- Sulfidril oksidaza Erv1: skupaj z Mia40 prenese disulfidne vezi na prekurzorje, Erv1 reoksidira Mia40 → tvorba oligomernih kompleksov
- Hot13: del TIM kompleksa bogati s cisteinov, naj bi pomagali pri končni sestavi proteinov (predvidevanje)



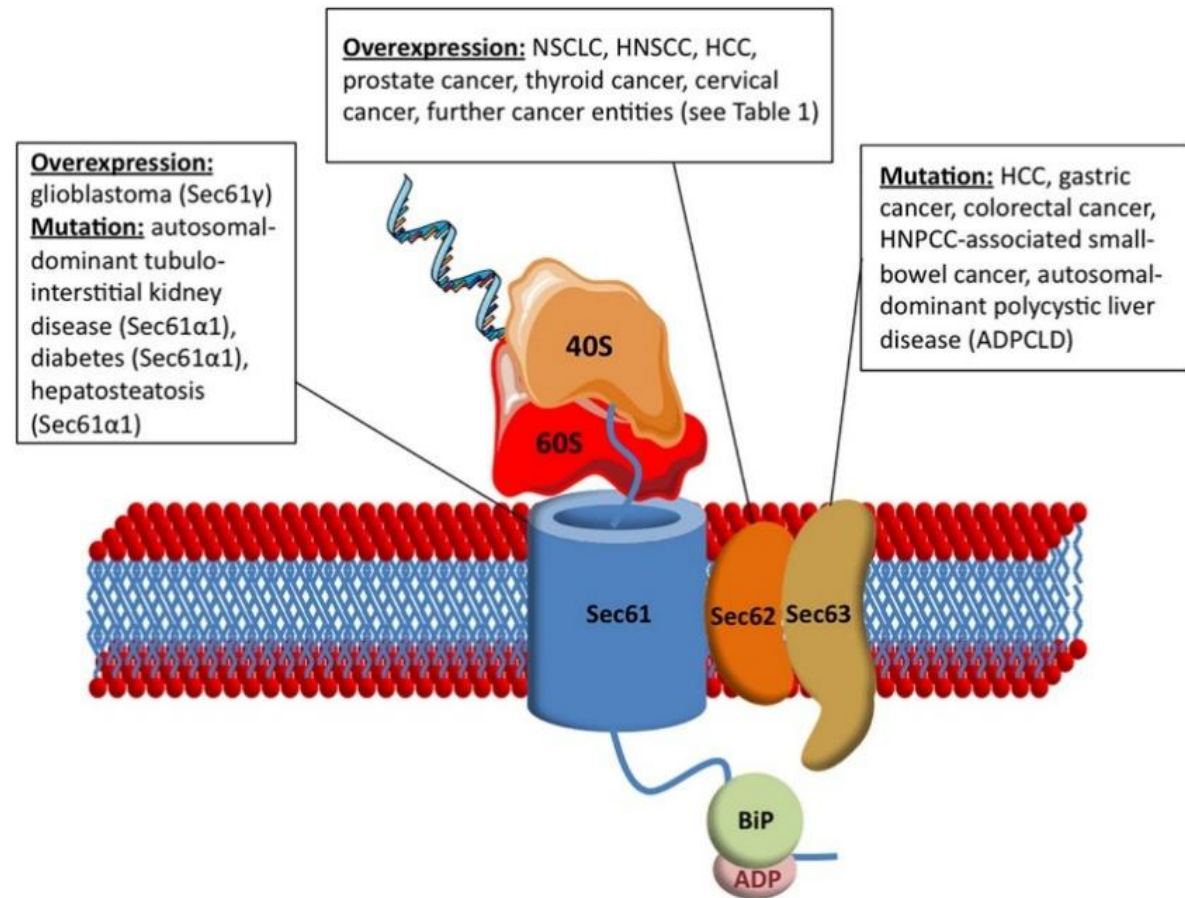
# BOLEZNI

Poznamo številne bolezni, ki so na tak ali drugačen način povezane s translokacijo proteinov. Lahko gre za:

- okvaro v translokacijski mašineriji,
- nepravilnosti pri tovnem proteinu,
- neke tretje dejavnike, ki posredno vplivajo na spremenjen proces translokacije.

## BOLEZNI KOMPLEKSOV SEC61 IN SEC62/SEC63

- Kompleksa Sec61 in Sec62/Sec63 imata osrednjo vlogo pri prenosu proteinov v ER.
- Odkrite so bile še dodatne funkcije: Sec62 lahko povzroči ER-fagijo v procesu okrevanja celic po stresu ER, kanal Sec61 pa lahko deluje tudi kot pasivni kanal za uhajanje kalcija iz ER.
- **Mutacije, amplifikacije in prekomerno izražanje genov SEC** so povezane z različnimi boleznimi, vključno z boleznimi ledvic in jeter, sladkorno boleznijo in rakom.





### Isolated polycystic liver disease

- 49-year-old female patient
- Isolated PLD
  - Gene mutation *PRKCSH* c.292+1G>C



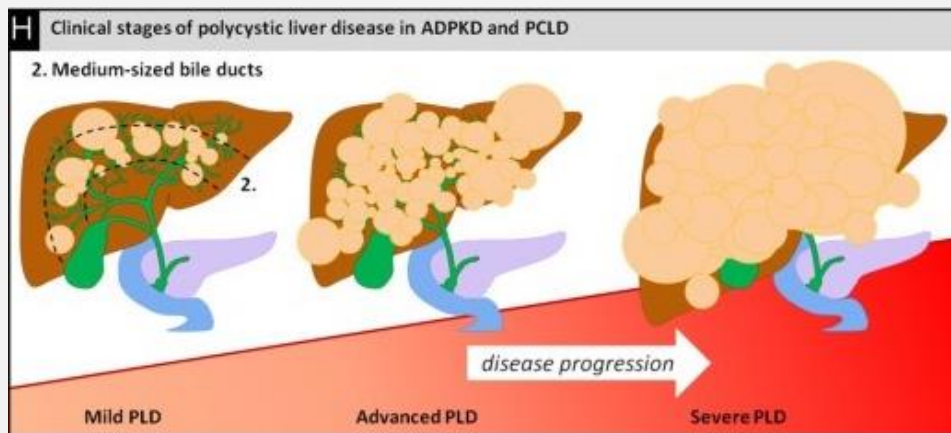
### Autosomal dominant polycystic kidney disease

- 47-year-old female patient
- Polycystic kidneys with PLD
  - Gene mutation *PKD2* c.1477C>T



## POLICISTIČNA BOLEZEN JETER (PLD)

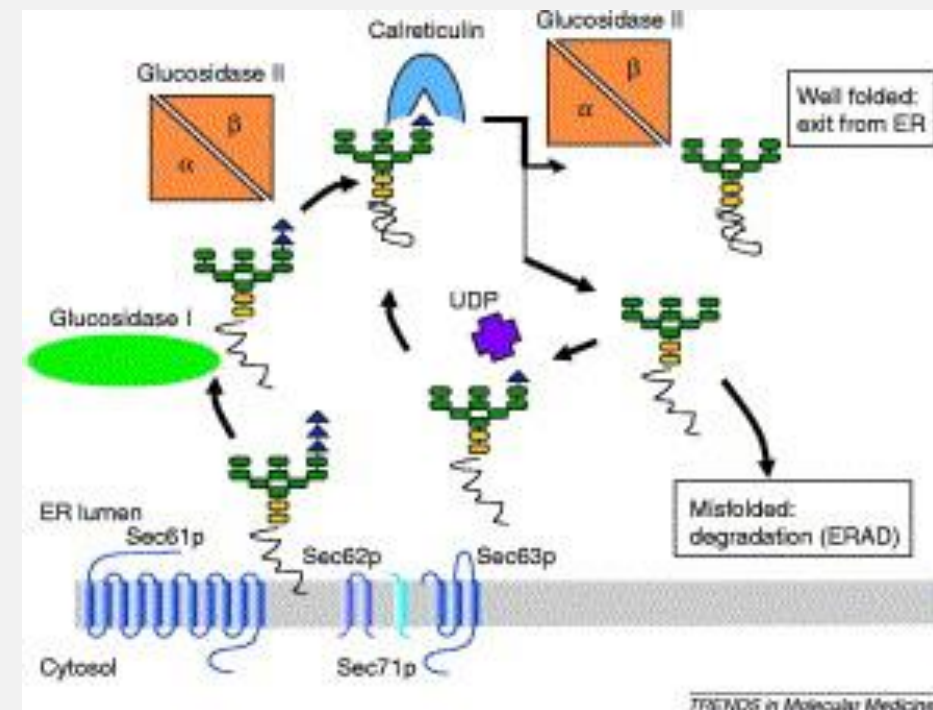
- Policistična bolezen jeter (PLD) je klinično stanje, za katero je značilna prisotnost več kot 10 cist v jetih.
- Gre za redko bolezen genetskega izvora, ki se lahko pojavi kot izolirana manifestacija pri **avtosomno dominantni PLD (ADPLD)**, ali v povezavi s policistično boleznijo ledvic (PKD). Z razvojem PLD so zato povezani različni geni.
- Razvoj cist je zapleten proces, ki vključuje več dejavnikov: **genetske spremembe**, malformacijo duktalne plošče, motnje v delovanju cilij, motnje v celični signalizaciji, delovanju hormonov in rastnih faktorjev, nepravilno proteostazo, povečano izločanje tekočine, fibrozo, spremembe v metabolizmu žolčnih kislin, povečano avtofagijo, spremembe v interakcijah celice z matriksom ter epigenetske spremembe.





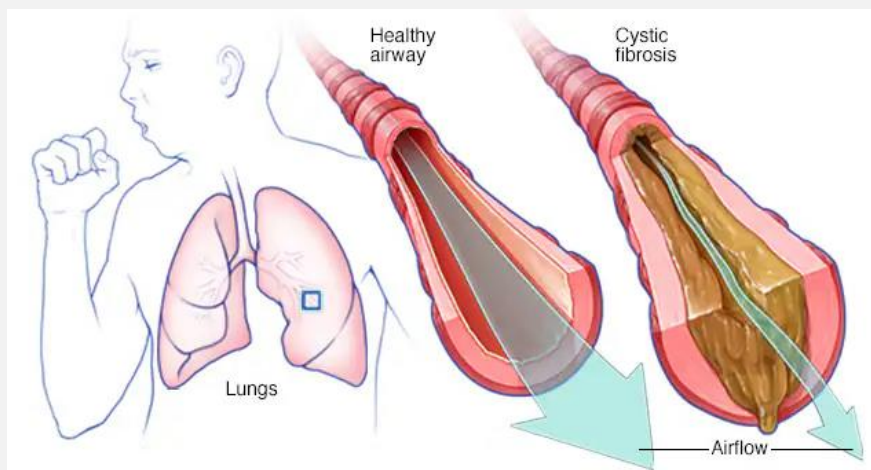
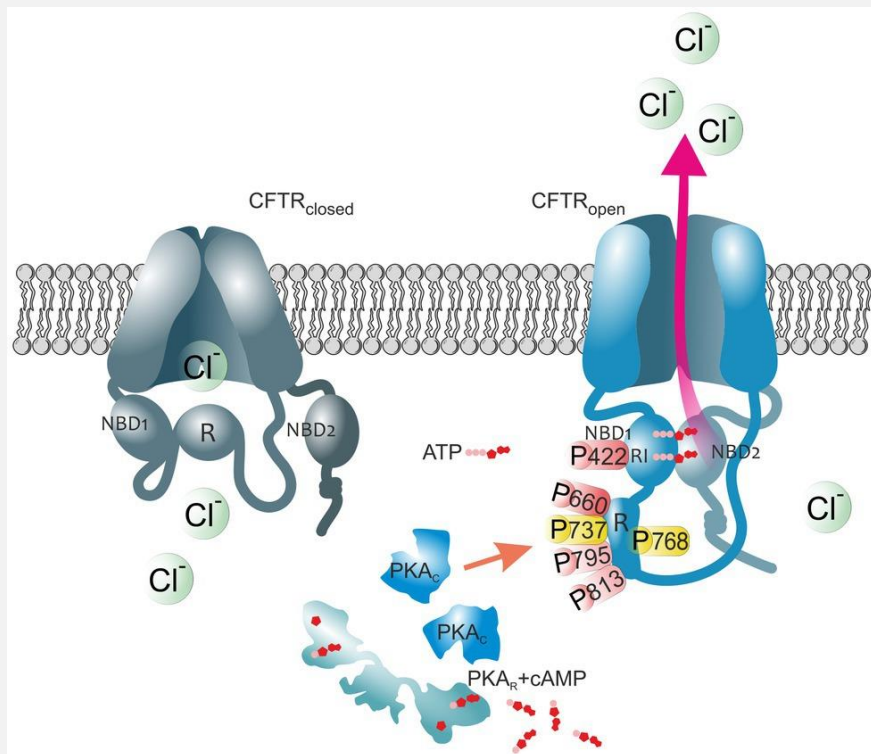
# ADPLD

- ADPLD je lahko posledica mutacij v genu **SEC63** ali mutacij v genu **PRKCSH**, ki kodira za **hepatocistin**.
- Sec63 in hepatocistin sodelujeta pri translokaciji čez membrano ER oz. pri procesiranju glikoproteinov, kar nakazuje, da sta **glikozilacija in nadzor kakovosti ER osrednjega pomena za patologijo PLD**. Verjetno je, da mutirana Sec63 in hepatocistin vplivata na posamezne proteine, ki posredujejo pri rasti in razmnoževanju žolčnih celic. Zaradi izgube Sec63 in/ali hepatocistina se ti proteini ne prenašajo (mutacije v genu **SEC63**) ali pa so napačno zviti, manj stabilni in dovzetni za razgradnjo (mutacije v genu **PRKCSH**).
- Pri ADPLD mutirana hepatocistin ali Sec63 torej povzročita nadaljnjo dilatacijo intralobularnih žolčnih vodov ter s tem povečata cistogenezo.



| Autosomal Dominant PCLD (ADPCLD) |                         |              |               |       |
|----------------------------------|-------------------------|--------------|---------------|-------|
|                                  | Type I                  |              | Type II       |       |
| Gene Mutation                    | PKD1                    | PKD2         | PRKCSH        | SEC63 |
|                                  | Polycystin-1            | Polycystin-2 | Hepatocystin  | Sec63 |
|                                  | 85-90%                  | 10-15%       | rare          | rare  |
|                                  | Associated with AD-PCKD |              | Isolated PCLD |       |

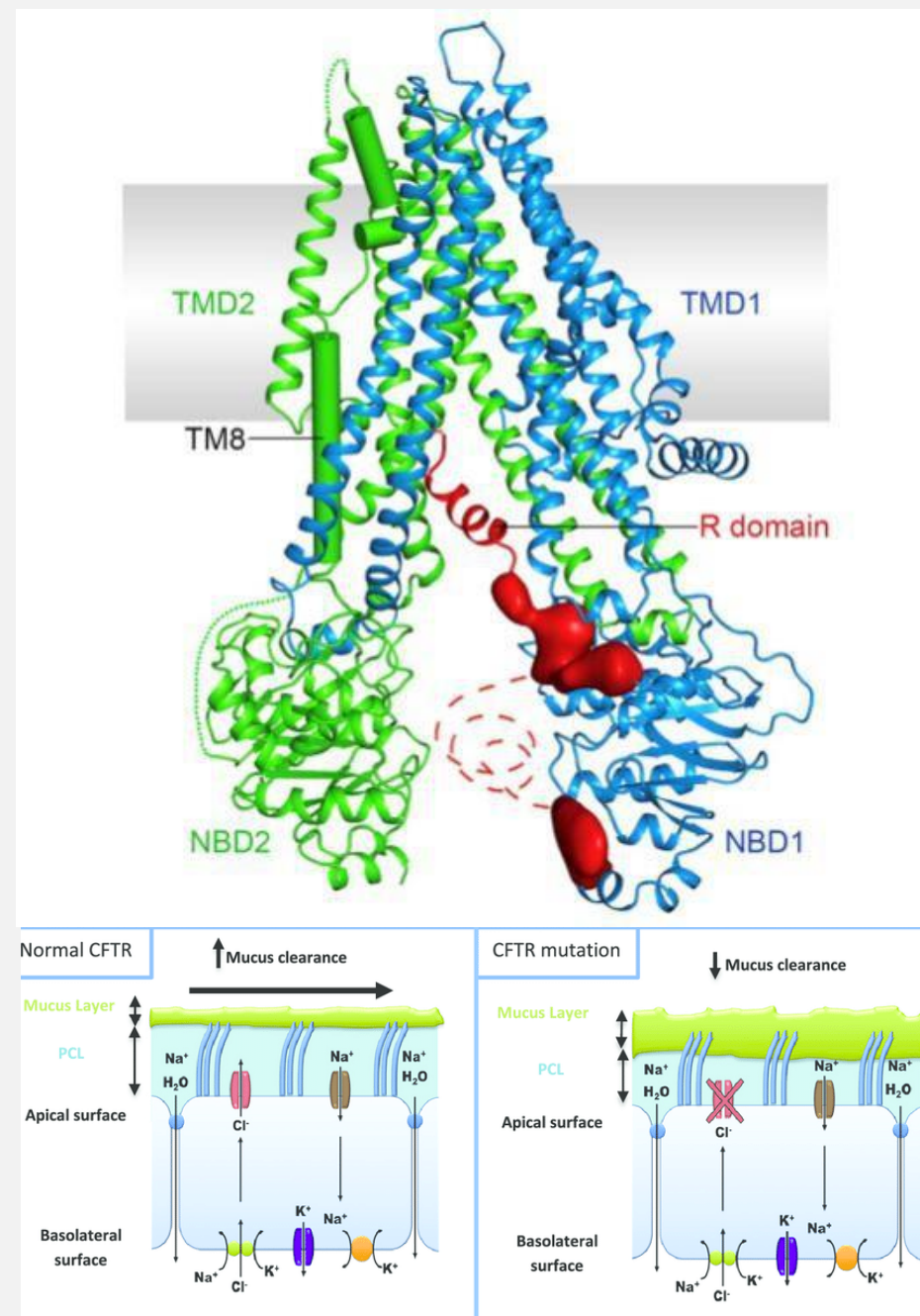
# CISTIČNA FIBROZA (CF)



- Cistična fibroza (CF) je genetska bolezen, ki je na nek način posledica okvarjenega prenosa iz ER.
- Do CF pride, ko mutacije v genu **CFTR**, ki nosi zapis za regulator transmembranske prevodnosti pri cistični fibrozi (CFTR), preprečijo pravilno zvitje in transport proteina, kar povzroči hude motnje celičnega delovanja.
- CFTR je od cAMP odvisen ionski kanal, ki se nahaja v apikalni membrani epiteljskih celic.
- Do motenj v delovanju CFTR lahko v splošnem pride zaradi napak v sintezi proteina, njegovem zvitju, znotrajceličnem prenosu, odpiranju kanala, prepustnosti za kloridne ione ali stabilnosti plazmaleme.
- V vsakem primeru izguba CFTR vodi do motenj v transportu vode, kloridov in/ali bikarbonatov, kar vodi do motenj v delovanju določenih tkiv, vključno z: zmanjšano zmogljivostjo trebušne slinavke, povečano količino klorida v znoju, črevesno obstrukcijo in, kar je najpomembneje, **kronično pljučno okužbo**, vnetjem in smrtjo zaradi dihalne odpovedi.

# CFTR

- V ER se protein zvije v 5 domen, od katerih je ena intrinzično neurejena. Proces se začne s hitrim zvitjem nukleotid-vezavne domene 1 (NBD1), na katero se nato sestavita dve transmembranski domeni (TMD), sledi pa jim NBD2. Zvitje proteinov nadzorujejo šaperoni in pravilno zviti proteini nadaljujejo pot v GA za nadaljnjo procesiranje.
- Zvitje NBD1 je moteno pri mutanti  **$\Delta F508$** , najpogostejši mutaciji, ki povzroča cistično fibrozo (CF).  $\Delta F508$  ukine tudi hidrofobni stik med NBD1 in TMD2, ki je potreben za transport in odpiranje kanala. Nepravilno zviti protein se zadrži v ER in nato razgradi, kar povzroči pomanjkanje CFTR v plazmalemi.



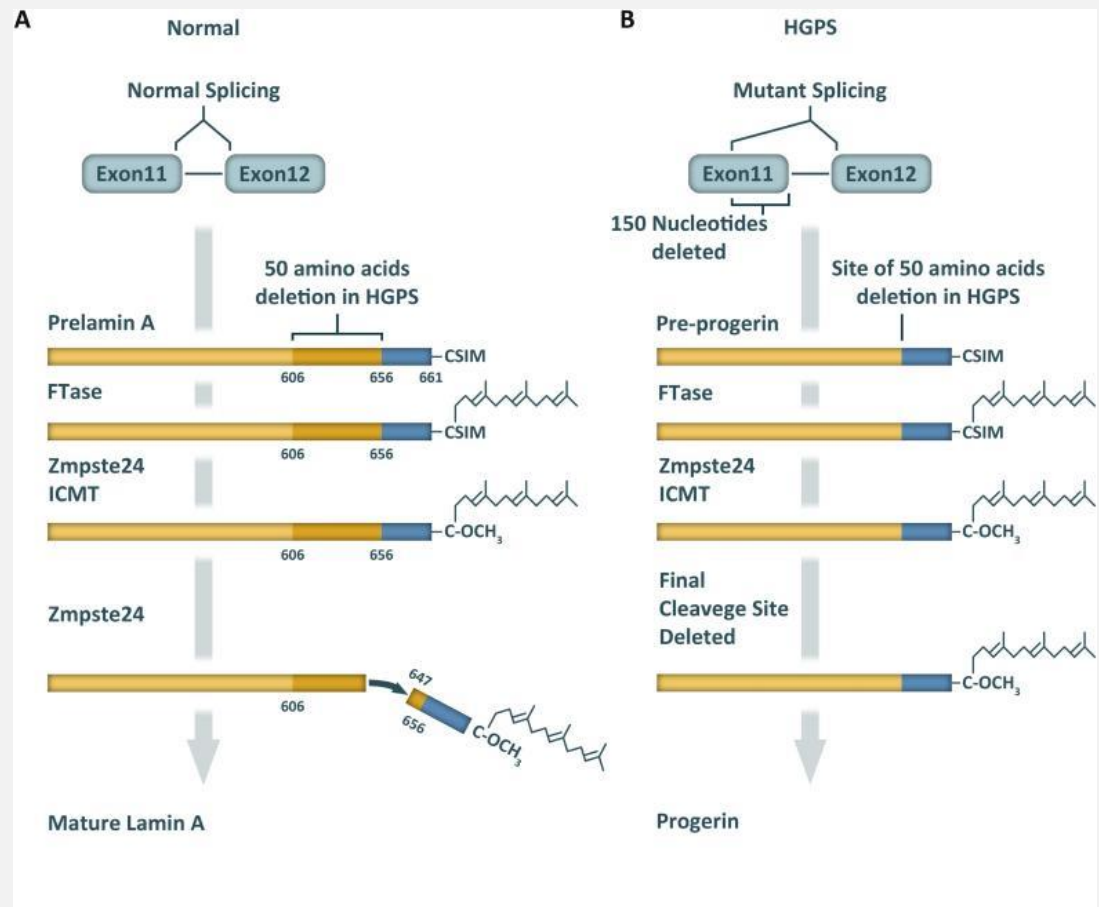
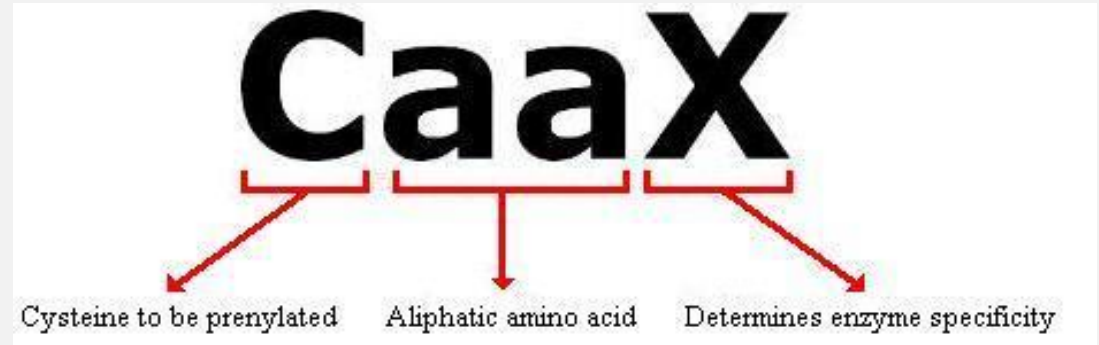
## PROGERIJA ALI HUTCHINSON-GILFORDOV SINDROM PROGERIJE (HGPS)

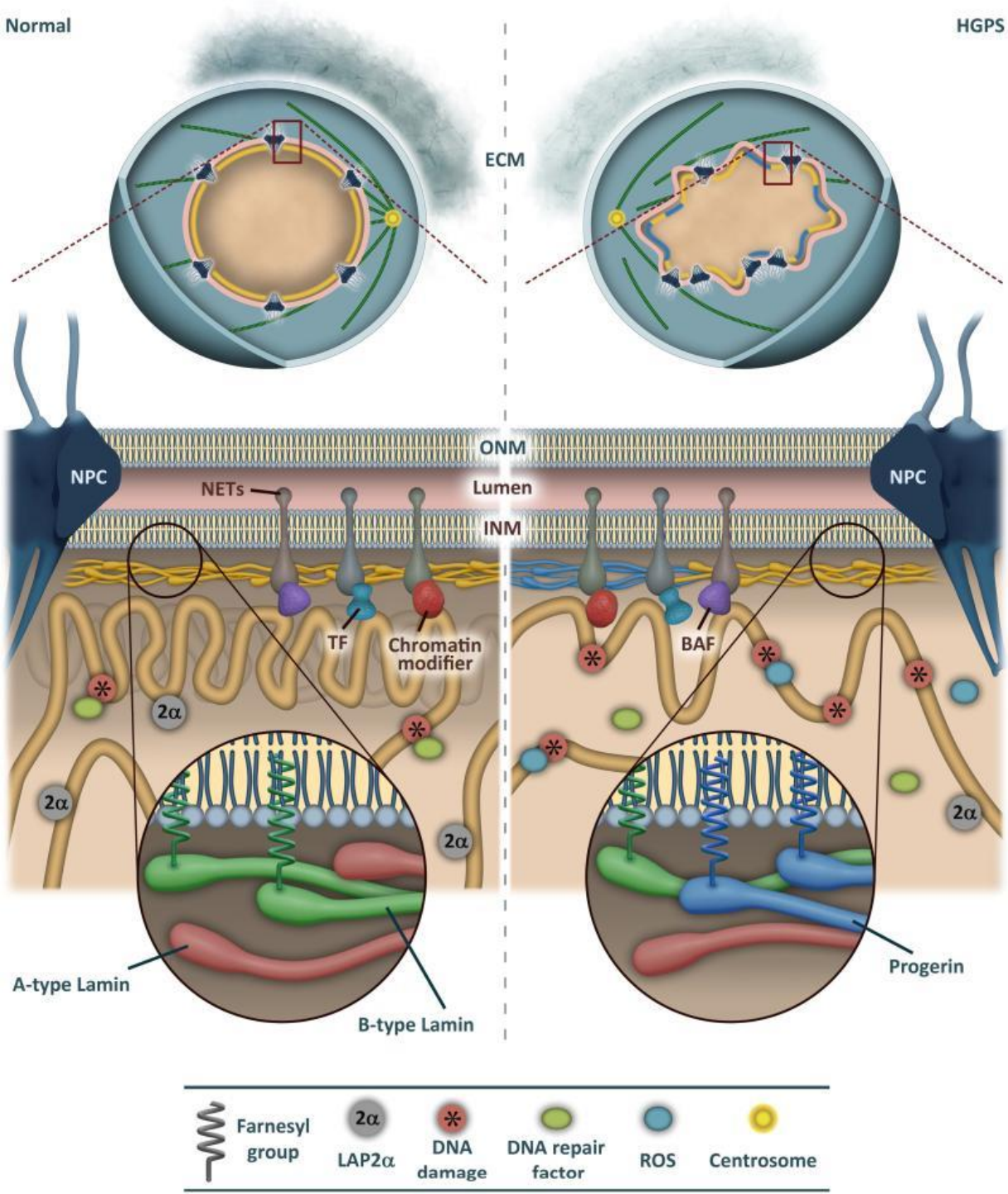
- Progerija ali Hutchinson-Gilfordov sindrom progerije (HGPS) je ena najhujših motenj med laminopatijami - heterogeno skupino genetskih bolezni, ki temelji na mutacijah v genu **LMNA** in genih, ki kodirajo interakcijske proteine.
- Gre za motnjo prezgodnjega staranja, za katero so značilni simptomi: pomanjkanje podkožne maščobe, plešavost, otekle žile, zaostanek v rasti, starostne pege, kontraktуре sklepov, osteoporoza, kardiovaskularna patologija ter smrt zaradi srčnega infarkta ali kapi v otroštvu.
- Povprečna pričakovana življenjska doba je približno 13 let.





- HGPS povzroči dominantna *de novo* mutacija v genu, ki kodira lamin A in se nahaja na poziciji 1q22. Mutacija je tiha, vendar uvede kriptično mesto izrezovanja, ki povzroči nastanek nenormalnega proteina – **progerina**, ki ne gre skozi običajno procesiranje.
- Običajno zrel lamin A nastane iz prekurzorske molekule: prelamin A. Prelamin A ima na C-koncu motiv CaaX, ki ga med posttranslacijskim procesiranjem prepozna encim farneziltransferaza (FTaza) in ga farnezilira na cisteinskem ostanku. Ko se ta reakcija izvede, se odstranijo zadnje tri aminokisline prelamin A (aaX) in pride do metilacije farneziliranega cisteina. Nato prelamin A z lateralnim transportom preide v notranjo jedrno membrano, kjer ga dokončno cepi cinkova metaloproteaza Zmpste24, ki odstrani zadnjih 15 aminokislin.
- V nasprotju s tem **progerin nima mesta, ki bi ga Zmpste24 prepoznala**, zato ne more opraviti končnega odcepa in **protein ostane farneziliran in nepravilno zasidran v jedrni ovojnici**. To ima vpliv na morfologijo in delovanje jedra, delovanje mitohondrijev, nukleocitoplazmatski transport proteinov in homeostazo telomer.





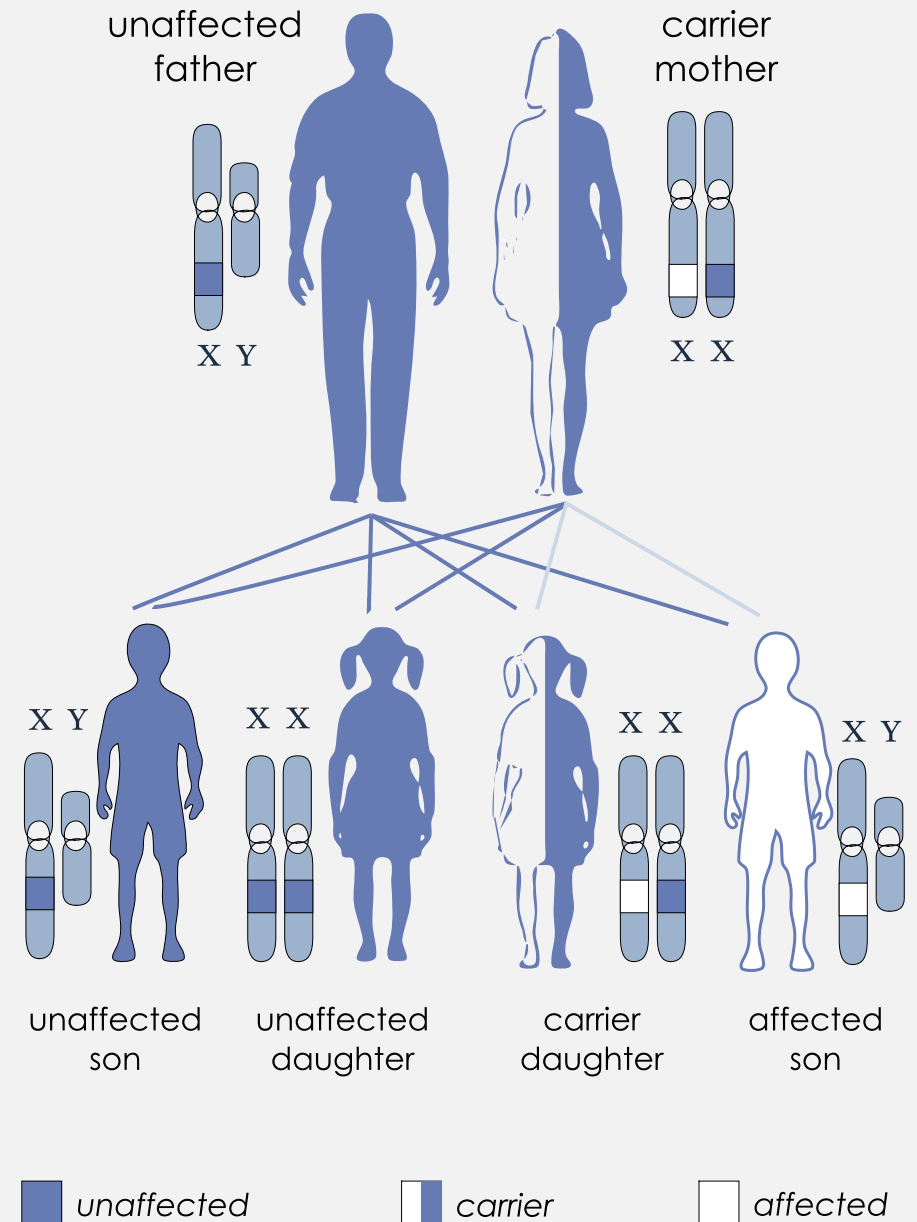
- Ena od najbolj očitnih sprememb zaradi progerina je **sprememba jedrne ovojnice**. S podrobnejšim pregledom je bilo ugotovljeno nenormalno nastajanje skupkov NPC.
- Ugotovili so, da je bil v človeških fibroblastih HGPS **zmanjšan jedrni import** encima Ubc9 in nukleoporina TPR. Z nadaljnjimi analizami so ugotovili, da je **glavni vzrok** za to okvaro **neravnovesje v gradientu Ran-GTPaze**.
- Negativni učinek progerina se kaže tudi pri nekласični poti jedrnega importa, ki je odvisna od transportina-1 (TNPO-1). V celicah HGPS je opazna **citoplazemska izolacija TNPO-1 z mrežo mikrotubulov**, kar **preprečuje jedrno translokacijo tovornih proteinov**, kot je nukleoporin Nup153.
- Pri poti jedrnega eksporta, ki je odvisna od eksportina 1 (XPO1), so pred kratkim dokazali, da je ta **aktivnost** v človeških fibroblastih HGPS **nenormalno povečana zaradi prekomerne ekspresije XPO1**. Povečan jedrni eksport vpliva na homeostazo proteinov, saj spreminja porazdelitev proteinov med jedrom in citoplazmo, kar lahko prispeva k patofiziologiji HGPS.



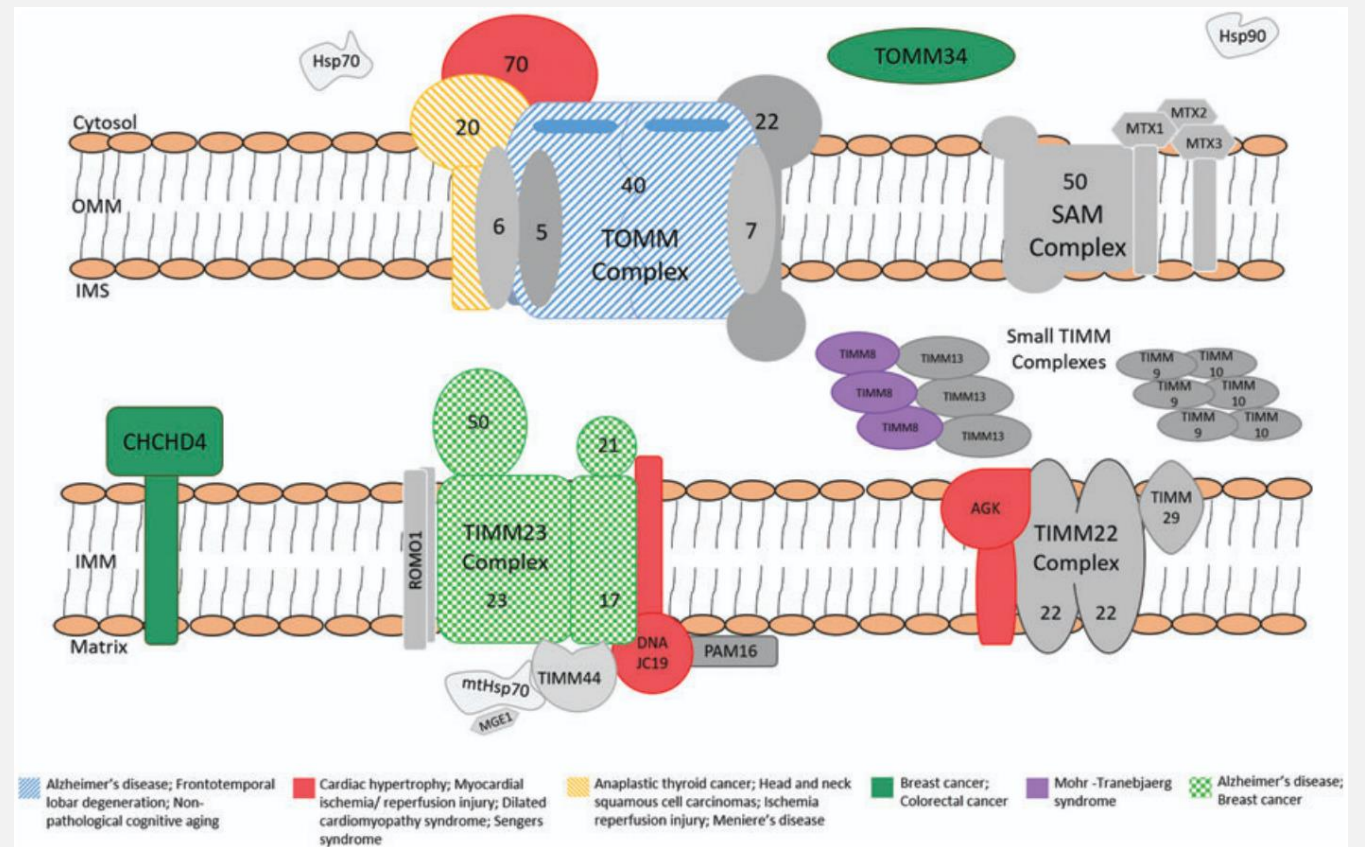
# MOHR-TRANEBJÆRGOV SINDROM (MTS)

- Mohr-Tranebjærgov sindrom (MTS) je recesivna, na kromosom X-vezana sindromska izguba sluha, za katero je značilna gluhost v otroštvu, ki ji kasneje v življenju sledi progresivna degeneracija živčevja.
- Globoka izguba sluha se običajno pojavi do 10. leta starosti, druge značilnosti sindroma pa se pokažejo pozneje v življenju, vključno s postopno izgubo vida, nehotne mišične kontrakcije, mišična zakrčenost, agresivno vedenje, paranoja, motnje požiranja in demenca.

## X-linked recessive inheritance



- Vzrok bolezni je mutacija v genu ***TIMM8A***.
- TIMM8A služi kot translokaza notranje mitohondrijske membrane in skupaj s TIMM13 tvori 70 kDa-kompleks v mitohondrijskem medmembranskem prostoru.
- Ta kompleks deluje kot šaperon za prekurzorske proteine in med drugim sodeluje pri importu TIMM23.
- V primeru mutacij je **sestava kompleksa TIMM8/TIMM13 motena**, uvoz TIMM23 pa zmanjšan.
- Ker je kompleks TIMM23 sestavni del importa vseh proteinov mitohondrijskega matriksa in številnih proteinov notranje mitohondrijske membrane, bi lahko bila motena biogeneza kompleksa TIMM23 glavni mehanizem za razvoj bolezni.



# ZAKLJUČEK

# VIRI

- [1] D. Pei, R. E. Dalbey: Membrane translocation of folded proteins. *Journal of Biological Chemistry*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. July 1, 2022.
- [2] K. E. S. Matlack, W. Mothes, T. A. Rapoport: Protein Translocation: Review Tunnel Vision channel by an interaction between SRP and its membrane receptor. Targeting in posttranslational pathways also requires a signal sequence but does not require; 1998; Vol. 92.
- [3] A. R. Osborne, T. A. Rapoport, B. Van Den Berg: Protein translocation by the Sec61/SecY channel. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2005, pp 529-550.
- [4] T. A. Rapoport: Protein translocation across the eukaryotic endoplasmic reticulum and bacterial plasma membranes. *Nature*. Nature Publishing Group November 29, 2007, pp 663-669.
- [5] K. S. Crowley, G. D. Reinhart, A. E. Johnson: The Signal Sequence Moves through a Ribosomal Tunnel into a Noncytoplasmic Aqueous Environment at the ER Membrane Early in Translocation; 1993; Vol. 73.
- [6] B. Van Den Berg, W. M. Clemons, I. Collinson, Y. Modis, E. Hartmann, S. C. Harrison, T. A. Rapoport: X-ray structure of a protein-conducting channel; 2003.
- [7] C. Breyton, W. Haase, T. A. Rapoport, W. Kühlbrandt, I. Collinson: Three-dimensional structure of the bacterial protein-translocation complex SecYEG. *Nature* 2002, 418, 662-665.
- [8] C. R. Harris, T. J. Silhavy: Mapping an Interface of SecY (PrIA) and SecE (PrIG) by Using Synthetic Phenotypes and In Vivo Cross-Linking; 1999; Vol. 181.
- [9] M. Halic, R. Beckmann: The signal recognition particle and its interactions during protein targeting. *Current Opinion in Structural Biology*. Elsevier Ltd 2005, pp 116-125.
- [10] J. Luirink, I. Sinning: SRP-mediated protein targeting: Structure and function revisited. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. November 11, 2004, pp 17-35.
- [11] T. Connolly, R. Gilmore: Formation of a Functional Ribosome-Membrane Junction during Translocation Requires the Participation of a GTP-binding Protein; 1986; Vol. 103.
- [12] W. Mothes, S. U. Heinrich: Molecular Mechanism of Membrane Protein Integration into the Endoplasmic Reticulum; 1997; Vol. 89.
- [13] D. T. W. Ng, J. D. Brown, P. Walter: Signal Sequences Specify the Targeting Route to the Endoplasmic Reticulum Membrane.

- [14] Ratchet during Posttranslational Transport of Prepro- $\alpha$  Factor across the ER Membrane. *Cell* 1999, 97, 553–564.
- [15] L. L. Randall, T. B. Topping, S. J. S. Hardy, M. Y. Pavlov, D. V. Freistroffer, M. Ehrenberg: Binding of SecB to ribosome-bound polypeptides has the same characteristics as binding to full-length, denatured proteins; 1997; Vol. 94.
- [16] A. Economou, W. Wickner: SecA Promotes Preprotein Translocation by Undergoing ATP-Driven Cycles of Membrane Insertion and Deinsertion; 1994; Vol. 78.
- [17] B. C. Berks: The Twin-Arginine Protein Translocation Pathway. *Annu. Rev. Biochem.* 2015, 84, 843–864.
- [18] K. M. Frain, C. Robinson, J. M. Van Dijk: Transport of Folded Proteins by the Tat System. *Protein J.* 2019, 38, 377–388.
- [19] P. A. Lee, D. Tullman-Ercek, G. Georgiou: The Bacterial Twin-Arginine Translocation Pathway. *Annu. Rev. Microbiol.* 2006, 60, 373–395.
- [20] T. Palmer, B. C. Berks: The twin-arginine translocation (Tat) system. *Curr. Biol.* 2024, 34, R267–R268.
- [21] P. K. Kim, E. H. Hettema: Multiple Pathways for Protein Transport to Peroxisomes. *J. Mol. Biol.* 2015, 427, 1176–1190.
- [22] T. Francisco, T. A. Rodrigues, A. F. Dias, A. Barros-Barbosa, D. Bicho, J. E. Azevedo: Protein transport into peroxisomes: Knowns and unknowns. *BioEssays* 2017, 39, 1700047.
- [23] M. L. Skowrya, P. Feng, T. A. Rapoport: Towards solving the mystery of peroxisomal matrix protein import. *Trends Cell Biol.* 2024, 34, 388–405.
- [24] M. L. Skowrya, T. A. Rapoport: Import mechanism of peroxisomal proteins with an N-terminal signal sequence. *Nat. Cell Biol.* 2025.
- [25] Alberts, Bruce, et al. “The Transport of Molecules between the Nucleus and the Cytosol.” *Molecular Biology of the Cell*. 4th Edition, Garland Science, 2002. [www.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26932/), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26932/>.
- [26] Stewart, Murray. “Molecular Mechanism of the Nuclear Protein Import Cycle.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 8, no. 3, Mar. 2007, pp. 195–208. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1038/nrm2114>.
- [27] Yang, Yang, et al. “Nuclear Transport Proteins: Structure, Function and Disease Relevance.” *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol. 8, no. 1, Nov. 2023, pp. 1–29. [www.nature.com](https://doi.org/10.1038/s41392-023-01649-4), <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01649-4>.
- [28] Kim, Yun Hak, et al. “The Molecular Mechanism for Nuclear Transport and Its Application.” *Anatomy & Cell Biology*, vol. 50, no. 2, June 2017, pp. 77–85. PubMed Central, <https://doi.org/10.5115/acb.2017.50.2.77>.
- [29] M. Giacomello, A. Pyakurel, C. Glytsou, in L. Scorrano, „The cell biology of mitochondrial membrane dynamics“, *Nat Rev Mol Cell Biol*, let. 21, št. 4, str. 204–224, apr. 2020, doi: 10.1038/s41580-020-0210-7.
- [30] W. Neupert in J. M. Herrmann, „Translocation of Proteins into Mitochondria“, *Annu Rev Biochem*, let. 76, št. 1, str. 723–749, jun. 2007, doi: 10.1146/annurev.biochem.76.052705.163409.



- [31] M. Bohnert, N. Pfanner, in M. van der Laan, „A dynamic machinery for import of mitochondrial precursor proteins“, FEBS Lett, let. 581, št. 15, str. 2802–2810, jun. 2007, doi: 10.1016/j.febslet.2007.03.004.
- [32] N. Bolender, A. Sickmann, R. Wagner, C. Meisinger, in N. Pfanner, „Multiple pathways for sorting mitochondrial precursor proteins“, EMBO Rep, let. 9, št. 1, str. 42–49, jan. 2008, doi: 10.1038/sj.embor.7401126.
- [33] M. Linxweiler, B. Schick, R. Zimmermann: Let’s talk about Secs: Sec61, Sec62 and Sec63 in signal transduction, oncology and personalized medicine. Signal Transduct. Target. Ther. 2017, 2, 1–10.
- [34] L. F. Norcia, E. M. Watanabe, P. T. Hamamoto Filho, C. N. Hasimoto, L. Pelafsky, W. K. de Oliveira, L. Y. Sasaki: Polycystic Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Hepatic Med. Evid. Res. 2022, 14, 135–161.
- [35] J. P. H. Drenth, J. A. Martina, R. van de Kerkhof, J. S. Bonifacino, J. B. M. J. Jansen: Polycystic liver disease is a disorder of cotranslational protein processing. Trends Mol. Med. 2005, 11, 37–42.
- [36] N. Chandok: Polycystic liver disease: a clinical review. Ann. Hepatol. 2012, 11, 819–826.
- [37] S. J. Kim, W. R. Skach: Mechanisms of CFTR Folding at the Endoplasmic Reticulum. Front. Pharmacol. 2012, 3.
- [38] M. van Willigen, A. M. Vonk, H. Y. Yeoh, E. Kruisselbrink, B. Kleizen, C. K. van der Ent, M. R. Egmond, H. R. de Jonge, I. Braakman, J. M. Beekman, idr.: Folding–function relationship of the most common cystic fibrosis–causing CFTR conductance mutants. Life Sci. Alliance 2019, 2.
- [39] H. H. Kampinga, M. P. Mayer, A. Mogk: Protein quality control: from mechanism to disease. Cell Stress Chaperones 2019, 24, 1013–1026.
- [40] K. Piekarowicz, M. Machowska, V. Dzianisava, R. Rzepecki: Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome—Current Status and Prospects for Gene Therapy Treatment. Cells 2019, 8, 88.
- [41] B. Cisneros, I. García-Aguirre, M. De Ita, I. Arrieta-Cruz, H. Rosas-Vargas: Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome: Cellular Mechanisms and Therapeutic Perspectives. Arch. Med. Res. 2023, 54, 102837.
- [42] F. Bahmad, S. N. Merchant, J. B. Nadol, L. Tranebjærg: OTOPATHOLOGY IN MOHR-TRANEBJÆRG SYNDROME. The Laryngoscope 2007, 117, 1202–1208.
- [43] J. A. MacKenzie, R. Mark Payne: Mitochondrial Protein Import and Human Health and Disease. Biochim. Biophys. Acta 2007, 1772, 509–523.
- [44] T. Heinemeyer, M. Stemmet, S. Bardien, A. Neethling: Underappreciated Roles of the Translocase of the Outer and Inner Mitochondrial Membrane Protein Complexes in Human Disease. DNA Cell Biol. 2019, 38, 23–40.