Stari proteini s novim funkcijama

Anđelić, Barbara

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:247189

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

STARI PROTEINI S NOVIM FUNKCIJAMA

MOONLIGHTING PROTEINS

Barbara Anđelić
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: izv. prof. dr. sc. Biljana Balen

Zagreb, 2015.

Mom ocu

SADRŽAJ

1. UVOD…….....4
2. STARI PROTEINI S NOVIM FUNKCIJAMA…….5
2.1. Općenito o starim proteinima s novim funkcijama…….5
2.2. Zamjena i autonomija funkcija……..5
2.3. Evolucija starih proteina s novim funkcijama……7
2.4. Kristalne strukture starih proteina s novim funkcijama…….8
3. BIOLOŠKI I MEDICINSKI ZNAČAJ STARIH PROTEINA S NOVIM FUNKCIJAMA ……...10
4. ZAKLJUČAK……...12
5. LITERATURA……..13
6. SAŽETAK……15
7. SUMMARY……..15

1. UVOD

Proteini su makromolekule s nizom funkcija u stanici. Uglavnom obavljaju jednu funkciju u stanici, ali se otkriva sve više multifunkcionalnih proteina [1]. Različiti mehanizmi su zaslužni za to da protein može obavljati više funkcija: može doći do fuzije gena, postoje porodice homolognih proteina, različite varijante proteina nakon prekrajanja molekule RNA, a nedavno je otkrivena još jedna skupina multifunkcionalnih proteina, a to su stari proteini s novim funkcijama ili engleski *moonlighting* proteini [2]. Osobitost ovih multifunkcionalnih proteina se pronalazi u tome da se obje funkcije, koje određeni protein obavlja, nalaze na istom polipeptidnom lancu [1,3]. Ovakva definicija *moonlighting* proteina isključuje proteine koji su rezultat fuzije gena te proteine koji su translacijski rezultat različitih varijanti istog gena nakon prekrajanja molekule RNA. Još jedan važan kriterij za *moonligting* proteine je neovisnost obaju funkcija (funkcije su često i nepovezane), što znači da inaktivacija jedne ne bi trebala utjecati na drugu i obratno.

Moonligting proteini prisutni su na svim razinama živog svijeta, u prokariotima, kvascima, biljakama i životinjama. Najviše primjera je vezano za kvasce jer je upravo u njima ovaj fenomen najviše i istražen [1,4].

Proteini koji se ponašaju kao *moonlighting* proteini uključeni su u niz staničnih funkcija i biokemijskih puteva poput transmembranskog prijenosa, sinteze te popravka molekule DNA, uključeni su u kromatinske strukture i citoskelet te metabolizam različitih staničnih makromolekula: proteina, aminokiselina, šećera i lipida [3]. Tako se za 7 od 10 enzima glikolitičkog puta zna da se ponašaju kao *moonlighting* proteini te za 7 od 8 enzima ciklusa limunske kiseline [1]. Kako se radi o velikoj skupini međusobno različitih proteina te zbog toga što su uključeni u cijeli niz puteva u stanici, istraživanja i nove spoznaje o *moonlighting* proteinima su važni i za otkrivanje nastanka različitih bolesti, ali i njihovo sprječavanje.

2. STARI PROTEINI S NOVIM FUNKCIJAMA

2.1. Općenito o starim proteinima s novim funkcijama

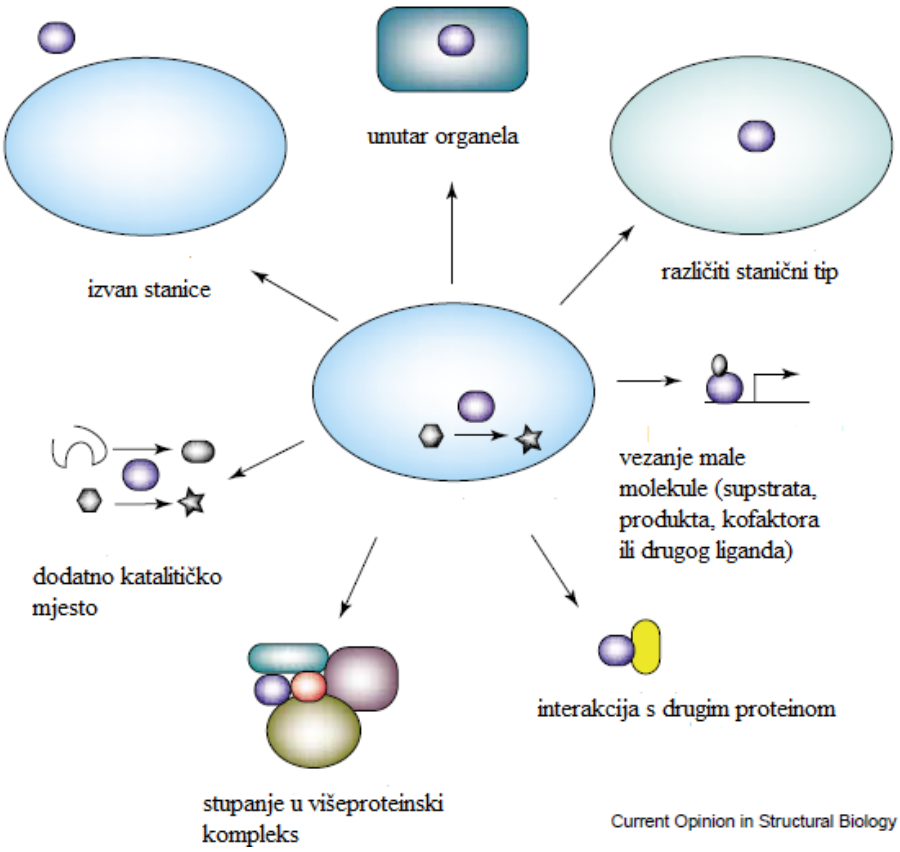
Fenomen *moonlighting* proteina otkriven je 1980-ih kada je primijećeno da određeni strukturni proteini leće oka iz kralježnjaka obavljaju više od jedne funkcije [1]. Otkriveno je da pačji ξ-kristalin obavlja i funkciju laktat dehidrogenaze, dok u kornjača τ-kristalin djeluje i kao glikolitički enzim α-enolaza [1,5,6].

Kada su otkriveni, za njih je korišten naziv *gene sharing proteins* [1], dok se danas za označavanje ove posebne skupine proteina, koji provode višestruke autonomne funkcije bez da se one podijele unutar domena istog proteina, češće koristi pojam *moonlighting proteins* [4,7]. Mnogi od poznatih *moonlighting* proteina su visoko konzervirani enzimi, ali danas još nema točnog objašnjenja ovog fenomena. Smatra se da je to zbog toga jer se takvi proteini pojavljuju u različitim vrstama te je zbog toga veća vjerojatnost da su vremenom razvili i dodatnu funkciju tj. funkcije [1]. Također, zanimljiva je činjenica da se neovisna sekundarna funkcija često pojavljuje u proteinima koji su u stanici konstitutivno eksprimirani u visokim koncentracijama [1,8].

2.2 Zamjena i autonomija funkcija

Protein na različite načine može obavljati i mijenjati funkcije unutar jednog polipeptidnog lanca [1-3] (Slika 1.). Moguće je da se isti protein eksprimira u različitim tipovima stanica. Neki proteini imaju jednu funkciju kada se nalaze u citosolu, a do promjene funkcije dolazi ako se protein iz citosola premjesti u neki od organela ili ako dođe do njegove sekrecije u međustanični prostor. Također signal za promjenu funkcije može biti vezivanje liganda, neke male molekule ili drugog proteina za *moonligting* protein ili interakcija s molekulama DNA ili RNA. Neki *moonlighting* proteini koriste različite površine za primarnu i sekundarnu funkciju, jedna funkcija se može izvoditi na površini s hidrofobnim skupinama, dok se druga izvodi na hidrofilnoj, otapalu okrenutoj površini. Također promjene uvjeta u stanici, poput promjene temperature ili promjena u redoks stanju stanice, mogu dovesti do promjene funkcije proteina. Naravno postoje i proteini koji kombiniraju ove načine prelaska

iz jedne funkcije u drugu. Među dosad poznatim *moonligting* proteinima postoje oni za koje se zna način promjene funkcije, ali postoje mnogi za koje to još treba odrediti.



Slika 1. Protein može imati različite funkcije: kad je izvan stanice, unutar organela ili u različitim staničnim tipovima. Do promjene može doći zbog interakcije s malim molekulama ili drugim proteinima te stupanjem u komplekse, ako protein ima dodatno katalitičko mjesto. Preuzeto i prilagođeno iz *Molecular mechanisms for multitasking: recent crystal structures of moonlighting proteins*, C. J. Jeffery [2].

Amelogenin je protein mineralizirane zubne cakline, ali je također pronađen u mozgu i drugim mekim tkivima [3]. Njegova primarna uloga je u oblikovanju kristala minerala u mineraliziranoj zubnoj caklini. Jasno je da takva funkcija nije potrebna u stanicama mozga i stanicama mekih tkiva pa se eksprimiranost ovog proteina u takvim tkivima može pripisati određenoj sekundarnoj funkciji te se s obzirom na to ovaj protein može okarakterizirati kao *moonlighting* protein. Tako je ovaj protein dobar primjer za to da promjena funkcije može biti posljedica eksprimiranosti u različitim tipovima stanica. Još jedan primjer ove skupine proteina je i citokrom c, protein koji kada je smješten u međumembranskom prostoru mitohondrija sudjeluje u lancu prijenosa elektrona, a prelaskom u citosol mijenja svoju

funkciju te postaje dio kaskada apoptoze formirajući kompleks s aktivirajućim faktorom apoptoskih proteaza ili Apaf-1 [1,9]. Ovaj protein je primjer za promjenu funkcije prelaskom iz organela, u ovom slučaju mitohondrija, u citosol. Kod bakterijskog šaperona, proteina Deg P (HtrA), okolišni uvjeti utječu na odabir funkcije; između proteazne i šaperonske funkcije se bira s obzirom na temperaturu u okolini te povećanjem temperature prevladava proteazna aktivnost [2,10-12].

Važno je još jednom naglasiti da su primarne i sekundarne funkcije ovih proteina međusobno neovisne, što je dokazano nizom pokusa, koristeći kristalografiju x-zraka i pokuse koji uključuju uvođenje mutacija. Pokusi uvođenja mutacija su pokazali neovisnost funkcija citokroma c; ako se citokrom c mutira na način da nema funkcionalni redoks kapacitet, prelaskom u citosol i dalje uspješno vezuje Apaf-1 te ostaje funkcionalni dio kaskada apoptoze [1,13,14]. S druge strane, moguće je protein mutirati tako da ostane funkcionalni dio lanca prijenosa elektrona, ali da ne može vezati Apaf-1 i obavljati svoju sekundarnu funkciju. Zanimljiv primjer neovisnosti funkcija je i presenilin iz vrste *Physcomitrella patens* gdje je neovisnost funkcija, one katalitičke u kompleksu γ-sekretaze i morfološke uloge u citoskeletnoj mreži, dokazana unošenjem katalitički neaktivnog humanog presenilina u stanicu te je uočeno kako je morfologija očuvana [1].

2.3 Evolucija starih proteina s novim funkcijama

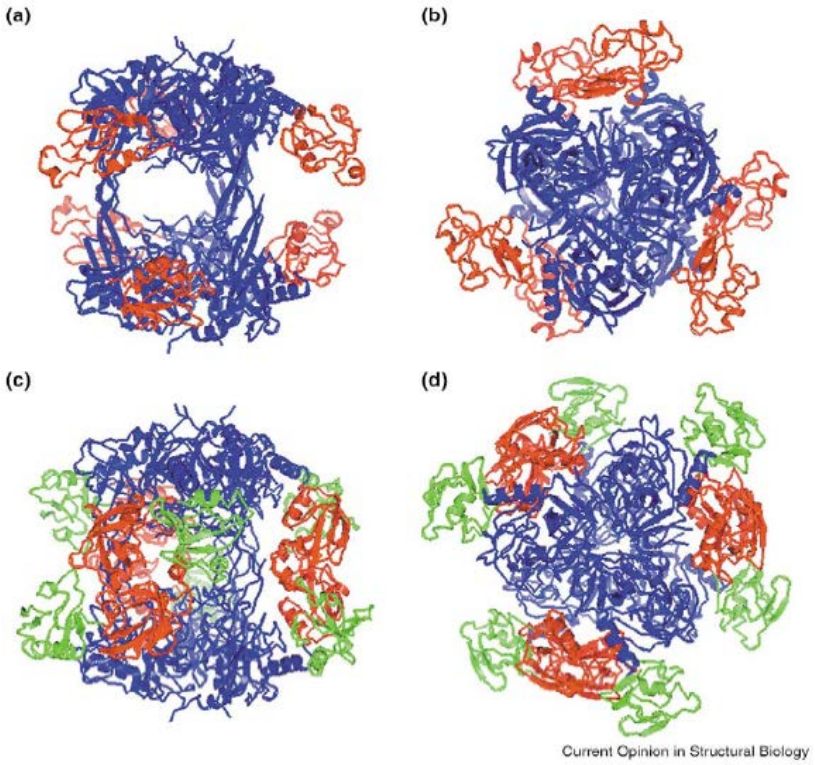
Postoji više teorija koje pokušavaju objasniti nastanak *moonlighting* proteina [1]. Određeni znanstvenici smatraju da su *moonlightnig* proteini nastali kako bi se proširio funkcionalni kapacitet organizma bez tereta povećanja genoma [7]. Ipak ta ideja je u kontradikciji s činjenicom da postoji veliki broj organizama s velikim dijelovima genoma bez funkcije, pa s obzirom na to i ne postoji pritisak za ograničenje veličine genoma. Druga ideja o razlogu evolucijskog nastanka ove skupine multifunkcionalnih proteina predložena je u radu Ganceda i suradnika [4] na ovoj skupini proteina u kvascima. Ta ideja je u skladu s tako zvanom *tinkerer* evolucijom [1], teorijom da u evoluciji postoji niz događaja gdje su na različite načine riješeni slični problemi te da tijekom evolucije nove funkcije nastaju jedino prilagodbom postojećih. Autor smatra da ne postoji krajnji cilj u evoluciji, pa tako ni u evoluciji *moonlighting* proteina, te da nove funkcije nastaju prilagodbom onih starih. U radu na kvascima je uočeno da je primarna funkcija vjerojatno bila ona katalitička i da su dijelovi

proteina koji nisu bili nužno potrebni za enzimsku aktivnost bili skloniji promjeni. Također smatra se da je stjecanje *moonligting* obilježja kod različitih proteina bio niz različitih događaja u evoluciji. Očigledno je i da su kroz evoluciju oni proteini koji su konzerviraniji i stariji te koji imaju veću konstitutivnu ekspresiju u stanici bili ti koji su češće „odabirani“ za poprimanje sekundarne uloge. U konačnici ako ta sekundarna funkcija rezultira prednošću za organizam, ona će se evolucijski zadržati [1]. Smatra se da ipak nisu svi proteini mogli evoluirati tako da postanu *moonligting* nego su morali postojati određeni preduvjeti za to, te su se pritom morale dogoditi određene mutacije koje neće negativno utjecati na primarnu funkciju. Jasno je da je mali broj mutacija koje će omogućiti funkcionalnu sekundarnu funkciju, a da pritom ne utječu na aktivnost primarne. Radi se o mutacijama koje bi imale jako mali utjecaj na prirodnu funkciju proteina, ali jako značajan utjecaj na onu sekundarnu [15].

2.4 Kristalne strukture starih proteina s novim funkcijama

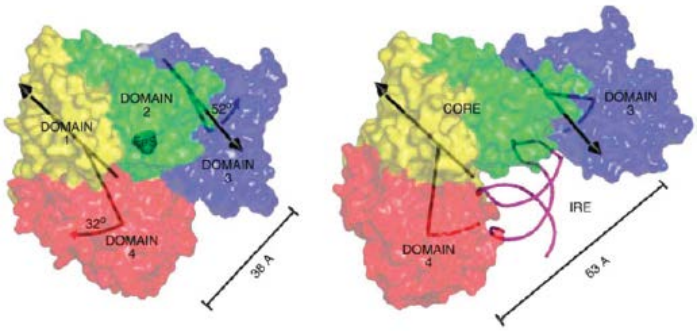
Mogućnost proteina da biraju između dviju funkcija je od velike koristi stanici odnosno organizmu; promjena funkcije može značiti promjenu u određenom signalnom ili biokemijskom putu te tako omogućiti stanici odgovor na okolišne uvjete [2]. Otkrivene kristalne strukture su omogućile veće razumijevanje kako proteini „kombiniraju“ dvije funkcije i mehanizam promjene funkcije.

Već spomenuti bakterijski šaperon Deg P [2] je ponovno zanimljiv primjer; njegova kristalna struktura je otkrila da se radi o heksamernom proteinu čije su podjedinice raspoređene ili kao dimeri ili kao trimeri te da se u središtu nalazi šupljina u koju se smještaju denaturirani polipeptidni lanci (Slika 2.). Svaka podjedinica uz proteaznu domenu sadrži još dvije domene. Proteazno aktivno mjesto se nalazi u centralnoj domeni te pri 4 °C, kada se protein ponaša poput šaperona, proteazna domena je zatvorena omčama koje tvore podjedinice te je tako spriječen ulazak proteina u proteazno aktivno mjesto. Pomicanje omči je ključ u promjeni funkcije ovog proteina.



Slika 2. Tercijarna struktura bakterijskog proteina Deg P. Slike a) i b) pokazuju otvorenu proteinsku konformaciju, slike c) i d) zatvorenu. Preuzeto iz *Molecular mechanisms for multitasking: recent crystal structures of moonlighting proteins*, C. J. Jeffery [2].

Razjašnjena kristalna struktura je omogućila i veće razumijevanje djelovanja akonitaze (Slika 3.). Primarna funkcija ovog proteina je kataliza pretvorbe citrata u izocitrat u ciklusu limunske kiseline i za tu reakciju enzim treba klaster željezo-sumpor (4Fe-4S); promjenom dostupnosti željeza u stanici mijenja se i uloga proteina i bez klastera protein se ponaša poput mRNA-vezujućeg proteina koji ima ulogu u transkripciji [3]. Kristalna struktura je također pokazala da se enzim nalazi u otvorenijoj konformaciji kada je vezan za molekulu RNA. Promjena funkcije zahtjeva velike promjene u samoj strukturi proteina te aminokiseline koje su bile smještene u unutrašnjosti strukture promjenom funkcije stupaju u interakcije s molekulom RNA. Također aminokiseline koje tvore aktivno mjesto i one koje čine RNA-vezno mjesto se preklapaju.



Slika 3. Velike strukturne promjene u akonitazi se događaju prilikom prelaska iz katalitičke u RNA-veznu konformaciju. Preuzeto iz *Moonlighting proteins-an update*, C. J. Jeffery [3].

Novootkrivene kristalne strukture su pokazale da među *moonligting* proteinima postoje i oni kojima nedostaje dobro definirana trodimenzionalna struktura te spadaju u grupu intrizično nestrukturiranih proteina (*intrinsically unstructured proteins*, IUP) [3]. Interakcija ovih proteina s različitim proteinskim partnerima može uključivati istu površinu ili površine koje se preklapaju. Također ovaj tip proteina može vezati istog partnera u dvije različite konformacije i preko dva različita vezna mjesta.

S obzirom da se radi o raznolikoj skupini proteina u koju spadaju proteini s različitom ulogom, smještajem u stanici ili strukturom teško je na osnovi nekoliko primjera objasniti kako funkcionira pojedini proteinski član ove skupine, ali to ipak olakšava razumijevanje ovog fenomena.

3. BIOLOŠKI I MEDICINSKI ZNAČAJ STARIH PROTEINA S NOVIM FUNKCIJAMA

Od kada su otkriveni *moonlighting* proteini pa do danas identificirano je nekoliko stotina predstavnika ove skupine, a broj novootkrivenih je sve veći. S obzirom na to pokazuje se i sve veća važnost ove skupine proteina, osobito jer su otkriveni brojni proteini uključeni u važne stanične procese koji pokazuju karakteristike ove skupine. Poznati primjeri *moonlighting* proteina su gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza, Hsp 60 i tRNA sintetaza [16], proteini koji su dio važnih staničnih procesa u eukariotskim stanicama. Prvi enzim je dio glikolitičkog puta

te katalizira nastajanje 1,3-bisfosfoglicerata, Hsp 60 je šaperonin koji u stanici stupa u interakciju s nizom nesmotanih ili pogrešno smotanih proteina te pomaže njihovo pravilno smatanje, a bez funkcionalne tRNA sintetaze ne bi bio moguć jedan od najvažnijih procesa u stanici, translacija. Jasno je da poremećaj u funkciji ovih proteina može imati velike posljedice za stanicu, ali i za čitav organizam. Jedan od takvih primjera je i poremećaj aktivnosti dihidrolipoamid dehidrogenaze (DLD) [1,17]. Ovaj protein je komponenta niza multienzimskih kompleksa te je ključan za redoks ravnotežu i metabolizam energije u stanici. Ako dođe do poremećaja aktivnosti ovog enzima u novorođenčadi javlja se slabi mišićni tonus i poremećaji u metabolizmu takve djece.

Moonlighting proteini, uz to što sudjeluju u važnim staničnim procesima u eukariota te su uzrok bolesti ako dođe do poremećaja funkcija, također su važan čimbenik u interakcijama između bakterija i njihovih domaćina te tako dio bakterijske virulencije. Pronalazi se sve veći broj bakterijskih vrsta u kojima su prisutni proteini koji imaju karakteristike ove skupine te takvi proteini koji mogu „pomoći“ bakteriji u njenoj virulenciji, a među njima su metabolički enzimi glikolitičkog puta te proteini šaperoni [17]. Tako je otkriveno da već spomenuti glikolitički enzim gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza sudjeluje u bakterijskoj virulenciji jer ima sposobnost vezivanja niza molekula domaćinskih stanica poput glikoproteina lizozima i fibronektina te citoskeletnih proteina aktina i miozina [17-18]. Također, pronađen je cijeli niz proteina citosola na površini bakterijske stanice što može biti indikator, ali ne i dokaz, da se radi o bakterijskim *moonlighting* proteinima. Bakterijski molekularni šaperoni sudjeluju u bakterijskoj virulenciji najčešće tako da aktiviraju ili inhibiraju sintezu fagocitnih citokinina i to je njihova najčešća *moonlighting* aktivnost [17].

Zanimljiv dio istraživanja ovog fenomena je i primjena znanja o ovoj posebnoj skupini proteina u razvoju lijekova. Ipak potrebno je još više znanja o samim mehanizmima i strukturalnim osnovama ovih proteina da bi ih se moglo upotrijebiti u ove svrhe [17]. Također poseban izazov predstavlja to što ovi proteini obavljaju višestruke funkcije na jednom polipeptidnom lancu i ako bi se htjelo jednu od funkcija utišati ili pojačati u terapijske svrhe to mora imati minimalnog utjecaja na onu drugu funkciju. To nije uvijek jednostavno postići bez obzira na činjenicu da su u normalnim uvjetima u stanici primarna i sekundarna funkcija autonomne i neovisne jedna o drugoj. Primjer je uloga citoplazmatskih enzima u bakterijskoj virulenciji, gdje bi posljedična inhibicija citoplazmatske aktivnosti mogla imati toksični

učinak ako se djeluje na njihovu ulogu na staničnoj površini [17]. Jasno je da je potreban razvoj takvih lijekova koji će imati ciljano djelovanje i neće izazivati štetne nuspojave.

4. ZAKLJUČAK

Glavni uvjet da bi određeni protein bio okarakteriziran kao *moonlighting* protein je njegova sposobnost da provodi očito različite biološke uloge, a bez da ih podijeli na različite domene, to jest sposobnost izvođenja različitih funkcija uz pomoć jednog polipeptidnog lanca. Ova skupina proteina je zanimljiva zbog svojih karakteristika, ali i zbog ideje da bi konačno mogla ponuditi objašnjenje za mali broj proteina kodiranih ljudskim genomom te kako se bez obzira na to pojavila tolika kompleksnost sveukupnih staničnih procesa. Sekvenciranjem ljudskog genoma uočeno je da genom kodira za manji broj proteina nego što se očekivalo i da je taj broj nedovoljan ako bi se složenost stanice i velika kompleksnost staničnih tipova pokušala objasniti sukladno ideji da jedan gen kodira za jedan protein, koji obavlja isključivo jednu funkciju [17]. Sve to ukazuje na veliki biološki značaj i zanimljivost ovih proteina jer nam pokazuju da je stanična fiziologija još kompleksnija nego što se to ranije smatralo. Također jasno je da bi se u potpunosti razumjelo sve stanične procese treba gledati vezu između svih tih metaboličkih i signalnih mreža u stanici, a *moonlighting* proteini tu pokazuju zanimljivu poveznicu između udaljenih i često nepovezanih staničnih puteva. Puno je još istraživanja potrebno da bi se razumjelo na koji način stanica „usmjerava“ *moonlighting* protein između različitih lokacija i funkcija, ali će nam nova saznanja o ovoj skupini proteina ponuditi odgovore na neka od pitanja o prilagodljivosti stanica na različite okolišne uvjete i pojasniti nam kompleksnu mrežu staničnih događaja.

5. LITERATURA

[1] Daphne H.E.W. Huberts, Ida J. van der Klei, Moonlighting proteins: An intriguing mode of multitasking, Biochim. Biophys. Acta 1803 (2010) 520-525.

[2] C.J. Jeffery, Molecular mechanisms for multitasking. Recent crystal structures of moonlighting proteins, Curr. Opin. Struct. Biol. 14 (2004) 663-668.

[3] C.J. Jeffery, Moonlighting proteins-an update, Mol. BioSyst. 5 (2009) 345-350.

[4] C. Gancedo, C.L. Flores, Moonlighting Proteins in Yeasts, Microbiol. Mol. Biol Rev. 72 (2008) 197-210.

[5] W. Hendriks, J.W. Mulders, M.A. Bibby, C. Slingsby, H. Bloemendal, W.W. de Jong, Duck lens epsilon-crystallin and lactate dehydrogenase B4 are identical: a single-copy gene product with two distinct functions, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85 (1988) 7114-7118.

[6] G.J. Wistow, T. Lietman, L.A. Williams, S.O. Stapel, W.W. Jong, J. Horwitz, J. Piatigorsky, Tau-crystallin/alpha-enolase: one gene encodes both an enyzme and a lens structural protein, J. Cell Biol. 107 (1988), 2729-2736.

[7] C.J. Jeffery, Moonlighting Proteins, Trends Biochem. Sci. 24 (1999) 9-11.

[8] H.V. Baker, GCR1 of *Saccharomyces cervisiae* encodes a DNA binding protein whose binding is abolished by mutations in the CTTCC sequence motif, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88 (1991) 9443-9447.

[9] Y.P. Ow, D.R. Green, Z. Hao, T.W. Mak, Cytochrome c: functions beyond respiration, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9 (2008) 532-542.

[10] C. Spiess, A. Beil, M. Ehrmann, A temperature-dependent switch from chaperone to protease in a widely conserved heat shock protein, Cell 97 (1999) 339-347.

[11] B. Lipinska, M. Zylicz, C. Georgopoulos: The Htra (DegP) protein, essential for *E. coli* surviuval at high temperatures, is an endopeptidase, J. Bacteriol. 172 (1990) 1791-1797

[12] K.L. Strauch, K. Johnson, J. Beckwith: Characterization of degP, a gene required for proteolysis in the cell envelope and essential for growth of *E. coli* at high temperatures, J. Bacteriol. 171 (1989) 2689-2696.

[13] Z. Hao, G.S. Duncan, C.C. Chang, A. Elia, M. Fang, A. Wakeham, H. Okada, T. Calzascia, Y. Jang, A You-Ten. W.C. Yeh, P. Ohashi, X. Wang, T.W. Mak, Specific ablation of the apoptotic functions of cytochrome C reveals a differential requirement for cytochrome C and Apaf-1 in apoptosis, Cell 121 (2005) 579-591.

[14] R.M. Kluck, L.M. Ellerby, H.M. Ellerby, S. Naiem, M.P. Yaffe, E. Margoliash, D. Bredesen, A.G. Mauk, F. Sherman, D.D. Newmeyer, Determinants of cytochrome c pro-

apoptotic activity, The role of lysine 72 trimethylation, J. Biol. Chem. 121 (2000) 16127-16133.

[15] A. Aharoni, L. Gaidukov, O. Khersonsky, Q.G.S. Mc, C. Roodveldt, D.S. Tawfik, The “evolvability“ of promiscuos protein functions, Nat. Genet. 37 (2005) 73-76.

[16] B. Henderson, A.C. Martin, Protein moonlighting: a new factor in biology and medicine, Biochem. Soc. Trans. 42 (2014) 1671-1678.

[17] A. Molan, Multitasking Bacterial Moonlighting Proteins in Bacterial Virulence and Infectious Disease, ISOR-JDMS 13 (2014) 66-73.

[18] V. Pancholi, V. Fischetti: A major surface protein on group A streptococci is a glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase with multiple binding activity, J. Exp. Med. 176 (1992) 415-426.

[19] C. Jeffery, Mass spectrometry and the search for moonligting proteins, Mass Spectrom. Rev. 24 (2005) 290-298.

[20] M. Hughes, J. Moore, J. Santangelo, Identification of major outer surface proteins of *Streptococcus agalactiae*, Infect. Immun. 70 (2002) 1254-1259.

6. SAŽETAK

Stari proteini s novim funkcijama ili *moonlighting* proteini posebna su skupina proteina otkrivena 80-ih godina prošlog stoljeća među strukturnim proteinima leće oka kralježnjaka. Otkrivanjem sve većeg broja predstavnika ove skupine postalo je jasno da se radi o grupi proteina koji se međusobno razlikuju u svojoj strukturi, ulozi i smještaju u stanici. Ovi proteini uključeni su u niz staničnih procesa poput sinteze i popravka molekule DNA, transmembranskog prijenosa te metabolizma niza staničnih makromolekula, aminokiselina, proteina, lipida i šećera. Glavno obilježje ovih proteina je autonomija primarne i *moonlighting* funkcije te inaktivacija jedne nema utjecaja na drugu i obratno. Također je važno napomenuti da se radi o biološki i medicinski važnoj, ali još uvijek nedovoljno istraženoj skupini proteina.

7. SUMMARY

Moonlighting proteins are the special group of proteins identified in 1980's among structural proteins in the lens of the vertebrate eye. As more and more members of this group have been identified, it has become evident that this special group consists of proteins different by its structure, role and position in the cell. These proteins play important role in many significant cell pathways and processes such as DNA synthesis and repair, transmembrane transport and amino acid, protein, lipid and sugar metabolism. The main feature of the moonlighting proteins is autonomy of primary and moonlighting functions, and inactivation of the one has no influence on the other and *vice versa*. In addition, it must be emphasized that, even though this group of proteins is not sufficiently investigated, they have significant medical and biological importance.