



## Znaczenie białek dla żywych organizmów.

**Funkcje katalityczne białek** – kontrola przebiegu procesów metabolicznych komórki.

**Funkcje transportowe** – transportują elektrony podczas fotosyntezy, asymilacji azotu, oddychania itd., transportują tlen: mioglobina, hemoglobina i inne, magazynują żelazo (ferrytyna), transportują jony, cząsteczki itd.

**Funkcje ochronne** – przeciwciała reagujące z różnymi substancjami powodując ich precypitację.

**Funkcje budulcowe i mechaniczne** – budują komórki, w komórkach mięśniowych mogą zamieniać energię chemiczną na mechaniczną.

**Funkcje zapasowe** – białko zapasowe w nasionach (głównie strączkowe).

**Funkcje regulujące** – hormony, neurotransmitery



Jednym z podstawowych pierwiastków białek jest azot. Jednak pomimo dużego stężenia wolnego azotu w atmosferze, tylko nieliczne organizmy potrafią go przyswajać. Pozostałe organizmy muszą pozyskiwać azot w formie związanej, najczęściej w postaci jonów amonowych lub azotanowych.

Mechanizm wiązania wolnego azotu jest podobny u wszystkich mikroorganizmów. Współdziałają wtedy dwa systemy enzymatyczne: hydrogenazy i nitrogenazy. Hydrogenaza aktywuje wodór i przenosi elektrony na ferredoksynę, dawcą wodorów jest  $\text{NADH}_2$ , przypuszczalnie również  $\text{NADPH}_2$ . Nitrogenaza aktywuje cząsteczkę azotu, który redukuje się za pomocą wodorów ferredoksyny.

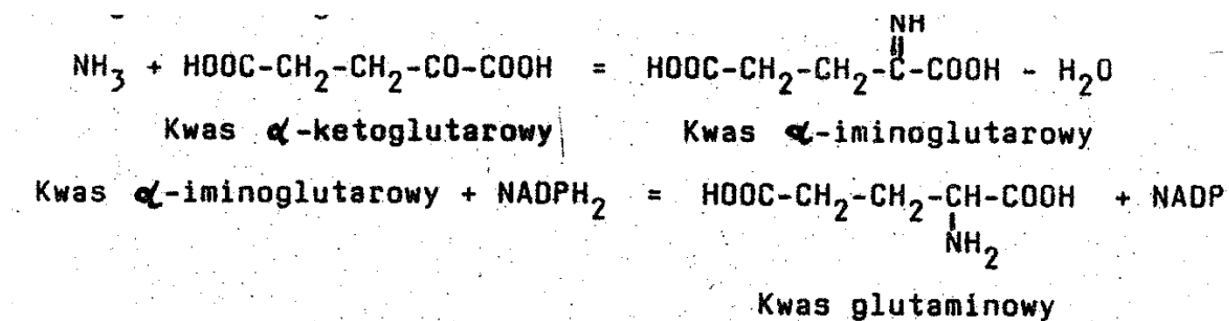
Proces aktywacji azotu jest silnie energochłonny. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że na związanie jednego mola  $\text{N}_2$  zużywa się 12-15 moli ATP. W warunkach naturalnych koszt produkcji może wynosić nawet 35-40 moli ATP.

Roślina dostarcza bakteriom energii w postaci węglowodanów, a bakterie po pewnym czasie ulegają liazie i oddają roślinie związany amoniak, najczęściej w postaci kwasu glutaminowego i glutaminy.

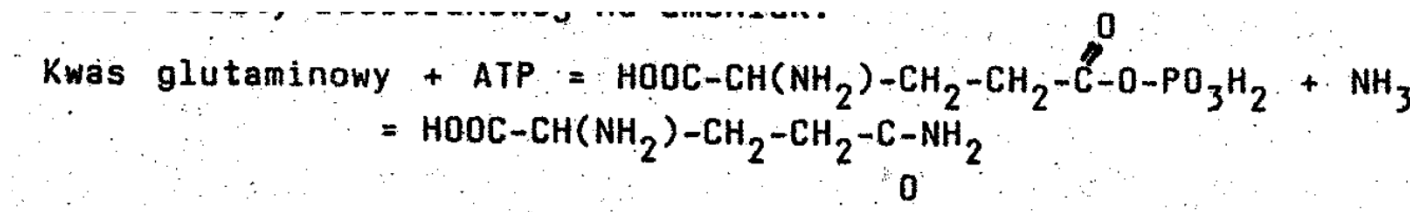
## Sposoby wiązania amoniaku

Amoniak może być wiązany przez rośliny wyższe na drodze:

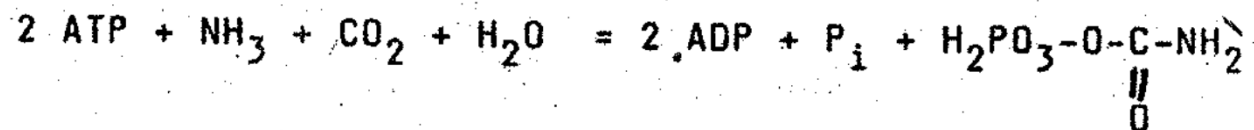
**Aminacji redukcyjnej** – ketokwas wiąże amoniak i powstaje iminokwas, który następnie jest redukowany do aminokwasu:



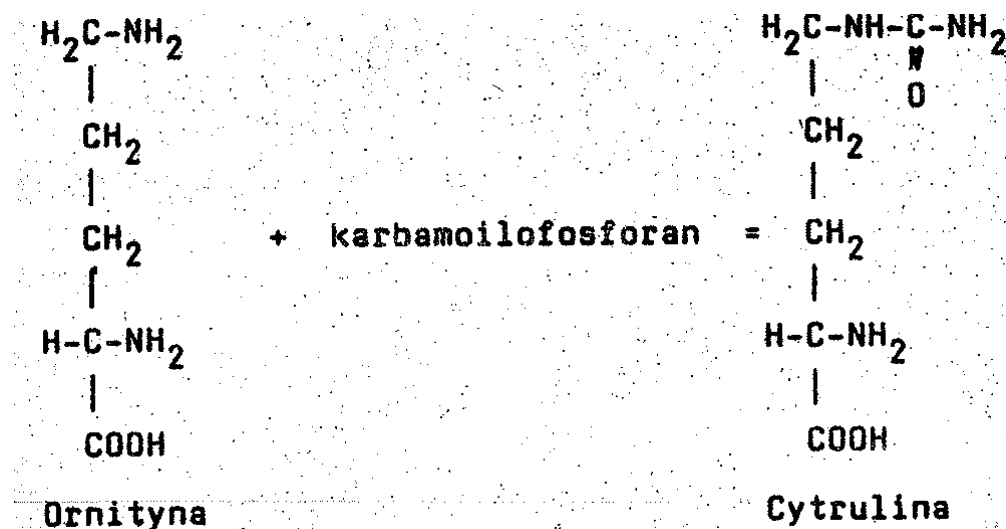
**Syntezy amidów** – z kwasu glutaminowego po wytworzeniu wiązania fosforanowego po przeciwnej stronie aminokwasu i wymianie fosforanu na amoniak.



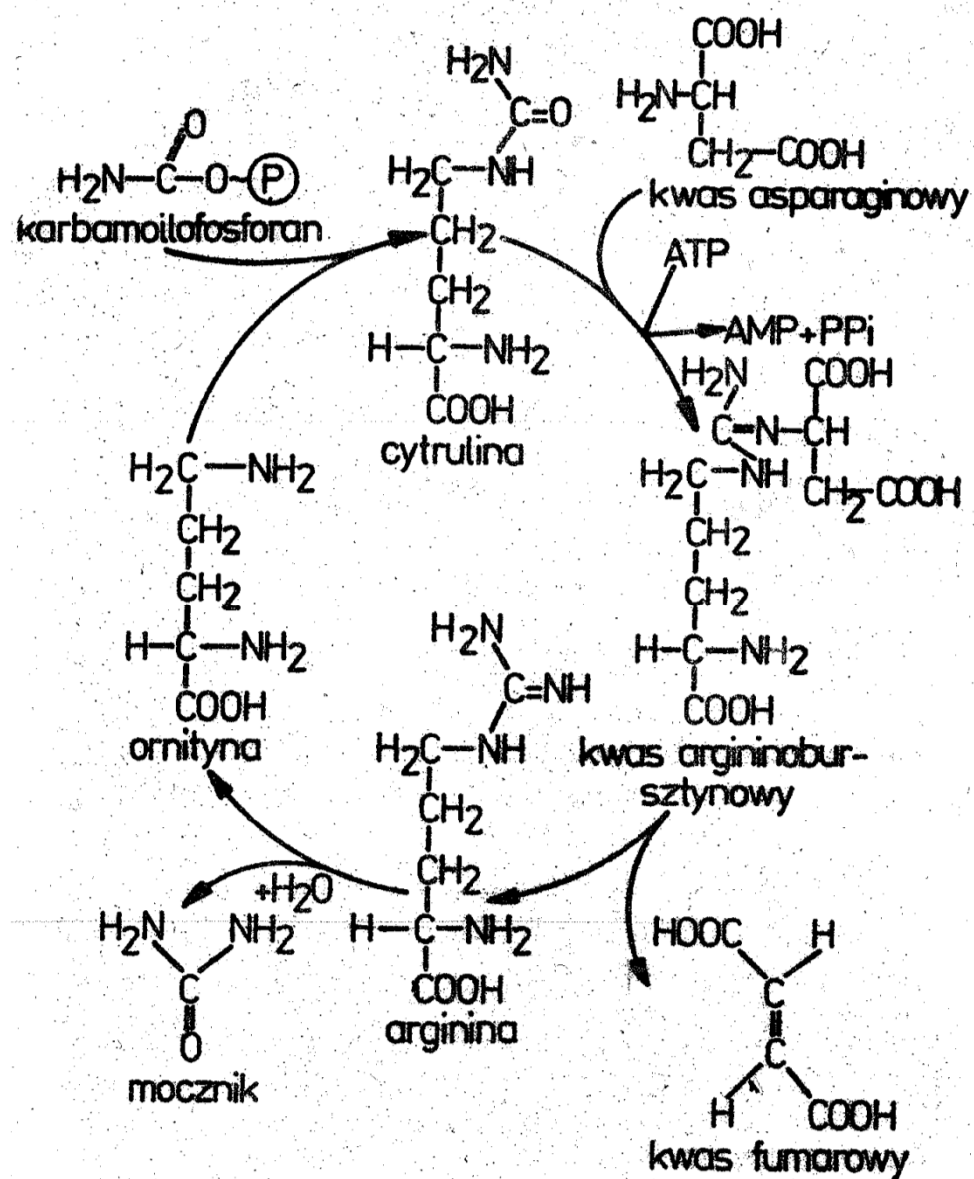
**Syntezy karbamoilofosforanu – z CO<sub>2</sub> i wodą przy udziale ATP:**



Zwierzęta ureoteliczne pozbywają się amoniaku na drodze wiązania go w karbamoilofosforan i przenosząc resztę karbamoilową na grupę aminową ornityny, tworząc cytrulinę i rozpoczynając cykl ornitynowy (mocznikowy), mający na celu wydzielenie amoniaku w postaci mocznika:

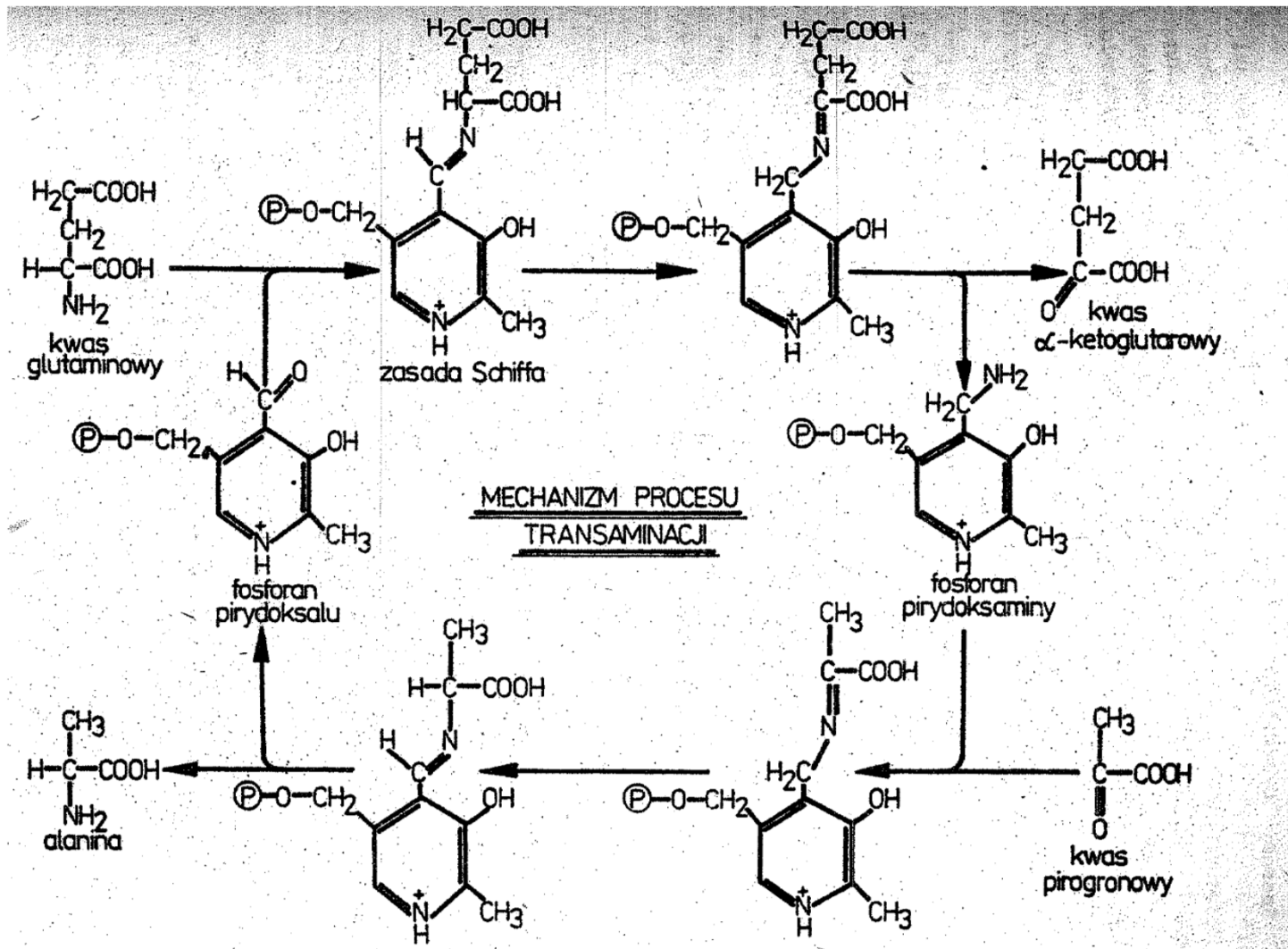


# Cykl ornitynowy



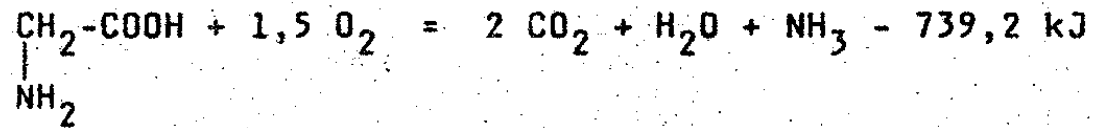
MECHANIZM CYKLU ORNITYNOWEGO

Transaminacja – przenoszenie grupy aminowej z jednego aminokwasu na ketokwas z wytworzeniem drugiego aminokwasu.

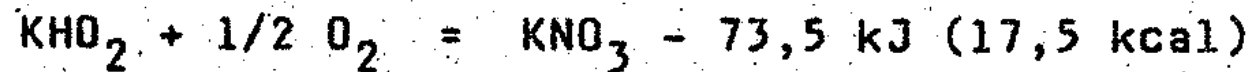
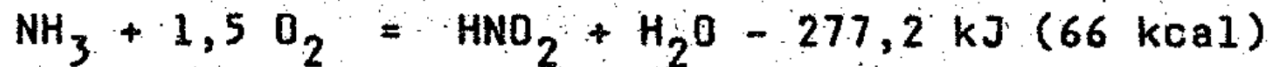


## Dysymilacja azotu.

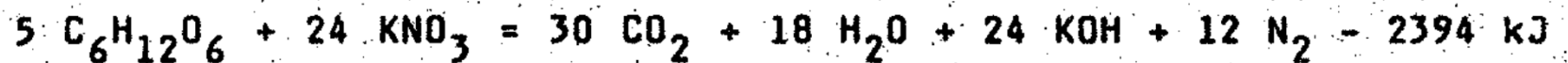
**Amonifikacja** – przemiana aminokwasów w dwutlenek węgla, amoniak i wodę



**Nitryfikacja** – utlenianie amoniaku i soli amonowych do azotynów (Nitrosomonas), a następnie do azotanów (Nitrobacter)



**Denitryfikacja** – utlenianie np. glukozy z zastosowaniem azotanów jako akceptorów elektronów, w warunkach beztlenowych:





## **Rola aminokwasów i ich klasyfikacja**

Oprócz aminokwasów białkowych (ok. 20), w komórce występuje pewna ilość aminokwasów wolnych (nawet do 300 rodzajów). Pełnią one różną rolę w komórce.

Aminokwasy białkowe można klasyfikować w różny sposób:

- Aminokwasy acykliczne (nie zawierające pierścieni w cząsteczce)
- Aminokwasy izocykliczne (zawierają pierścień benzenu – fenyloalanina, tyrozyna)
- Aminokwasy heterocykliczne (zawierają pierścień pirolu – prolina, hydroksyprolina, pierścień indolu – tryptofan, pierścień imidazolu – histydyna)

Podział pod względem własności fizykochemicznych: niepolarne, słabo zjonizowane, kwaśne i zasadowe.

Klasyfikacja żywieniowa: aminokwasy egzogenne (organizm sam ich nie wytwarza) i endogenne (organizm syntezuje je z innych składników pokarmowych), aminokwasy względnie egzogenne (wytwarzane z aminokwasów egzogennych).



## **Białka jako enzymy.**

Enzymy dzięki wysoce wybiórczemu działaniu i wysokiej sprawności katalitycznej, są w stanie uruchomić i skierować we właściwym kierunku reakcje biochemiczne. Enzymy mogą przyspieszać reakcje nawet  $10^8$ - $10^{11}$  razy więcej niż reakcje niekatalizowane.

Większość enzymów jest wyspecjalizowana tylko dla jednej reakcji chemicznej i brak tego enzymu może spowodować zablokowanie całego ciągu reakcyjnego.

Aktywność enzymów może być regulowana przez organizm w zależności od potrzeb. Enzymy są syntezowane i rozkładane w ściśle kontrolowany sposób.

Rodzący się nowy organizm zawsze musi być wyposażony w aparat genetyczny i cały zespół enzymów uruchamiający działanie tego aparatu.

Charakter enzymów ściśle zależy od struktury pierwszorzędowej białka (skład i sekwencja aminokwasów). Dotyczy to szczególnie aminokwasów znajdujących się w centrum aktywnym enzymu.

Struktura I-rzędowa wpływa również na struktury wyższych rzędów. Podstawniki przy aminokwasach determinują kształt polimeru jako skręconej helisy, utrzymywanej wiązaniami wodorowymi między aminokwasami tej samej nici, lub struktury pofałdowanej, stabilizowanej wiązaniami wodorowymi pomiędzy łańcuchami.



Dużą rolę w budowie białek mają również polarne i niepolarne reszty aminokwasowe. Obszary polarne są w stanie dynamicznej równowagi z cząsteczkami wody, co wpływa na właściwości i funkcje biologiczne białek; a obszary niepolarne służą przyłączaniu hydrofobowych makrocząsteczek. Dla białek enzymatycznych, te właśnie fragmenty są odpowiedzialne za wiązanie substratów podczas reakcji.

Cząsteczka enzymu przeważnie jest ukształtowana z dwóch samodzielnych domen, czyli dłuższych łańcuchów polipeptydowych, tworzących samodzielną strukturę trójwymiarową. Domeny są rozdzielone wnęką, w której wiązany jest substrat reakcji enzymatycznej. W trakcie wiązania substratu we wnęce, następują niekorzystne zmiany konformacyjne (wydobywające na powierzchnię białka części hydrofobowe), które kompensowane są w innych obszarach cząsteczki enzymu.

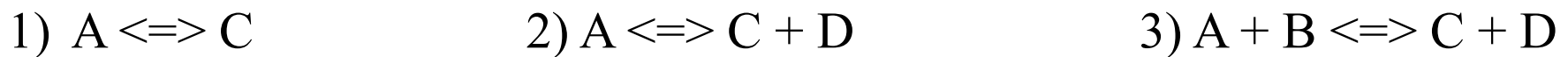
Wiele enzymów oprócz obszarów katalitycznych, posiada obszary regulatorowe, do wiązania regulatorów enzymów, czyli **efektorów allosterycznych**, które mogą zwiększać (aktywować) aktywność enzymu, lub hamować (inhibować) tą aktywność. Pod wpływem substratu lub aktywatora cząsteczka enzymu allosterycznego przyjmuje stan spoczynku, dobrze dopasowujący się do substratu, natomiast inhibitor wprowadza stan napięcia, utrudniając przyłączenie substratu.

## Mechanizm działania enzymu

1. Tworzenie kompleksu z enzymem koncentruje i orientuje wzajemnie reagujące cząsteczki, zwiększając liczbę efektywnych zderzeń (uporządkowuje kierunki ruchu reagujących cząsteczek). W tej koncepcji działanie enzymu jest możliwe dzięki zmniejszeniu entropii układu enzym substrat, co zwiększa entropię aktywacji procesu chemicznego i przyspiesza reakcję.
2. Utworzenie kompleksu enzym-substrat obniża energię aktywacji danej reakcji, dzięki wymuszonej deformacji reagujących cząsteczek. Działanie to polega na zmianie gęstości elektronowej w cząsteczce substratu, lub też zmniejsza liczbę etapów reakcji.
3. Enzym zbiera energię cieplną reakcji i ukierunkowują ją na wiązanie, które ma ulec przemianie chemicznej.
4. Podczas działania enzymu ma miejsce rekuperacja (częściowe odzyskanie energii powstałej w reakcji katalizowanej przez enzym) energii chemicznej reakcji powodująca wytworzenie stanu napięcia enzymu, aby był zdolny do wykonania następnej reakcji. Enzym przechowuje energię w postaci sprężystej deformacji, po związaniu ze substratem energia jest przekazana, a enzym przechodzi w stan spoczynku. Energia po reakcji jest używana na ponowną deformację enzymu.

## Klasyfikacja enzymów

Reakcje zachodzące w żywych organizmach należą do trzech grup:



1. Pierwszy typ reakcji, to reakcje izomeryzacji. Enzymy które to katalizują to **izomerazy**.
2. Drugi typ reakcji to reakcje rozkładu związku złożonego na prostsze produkty (enzymy – **liazy**), lub w przeciwną stronę powstawanie bardziej złożonego związku z prostych substratów (enzymy – **ligazy**).
3. Trzeci typ reakcji to reakcje podwójnej wymiany, podzielono je na trzy typy: transfer wodorów (enzymy – **oksydoreduktazy**), reakcje hydrolizy (enzymy – **hydrolazy**) i pozostałe reakcje transferu (enzymy – **transferazy**).



Wszystkie enzymy podzielono na 6 klas, które dzielą się na podklasy, podpodklasy i konkretne enzymy. Każdy enzym może więc być przyporządkowany za pomocą 4 liczb, charakteryzujących jego sposób działania.

Klasy główne to:

- 1.Oksydoreduktazy,
- 2.Transferazy,
- 3.Hydrolazy,
- 4.Liazy,
- 5.Izomerazy,
- 6.Ligazy.

## Biosynteza białek

Do syntezy białek używane są aktywowane aminokwasy w połączeniu z AMP i enzymem:

Aminokwas + ATP + enzym  $\rightarrow$  aminoacylo-AMP-enzym + PP<sub>i</sub>

Kompleks aminokwasowy reaguje dalej z transportującym kwasem nukleinowym (tRNA), tworząc **aminoacylo-tRNA** i uwalniając enzym oraz AMP.

Każdy aminokwas wykazuje powinowactwo do specyficznego tRNA i katalizowane jest to odpowiednim enzymem. Stąd jeśli białka zbudowane są z ok. 20 aminokwasów, musi być również taka liczba różnych tRNA i właściwych im enzymów. Enzymy muszą posiadać kilka miejsc wiążących w cząsteczce: jedno dla aminokwasu, inne dla tRNA i kolejna dla ATP. Specyficzność syntetaz jest tak duża, że różnią się one również w zależności od występowania ich w różnych organellach komórkowych.

Wytworzenie kompleksu aminokwas-tRNA jest potrzebne aby umiejscowić ten kompleks później na odpowiednim miejscu matrycy mRNA.

## Budowa tRNA

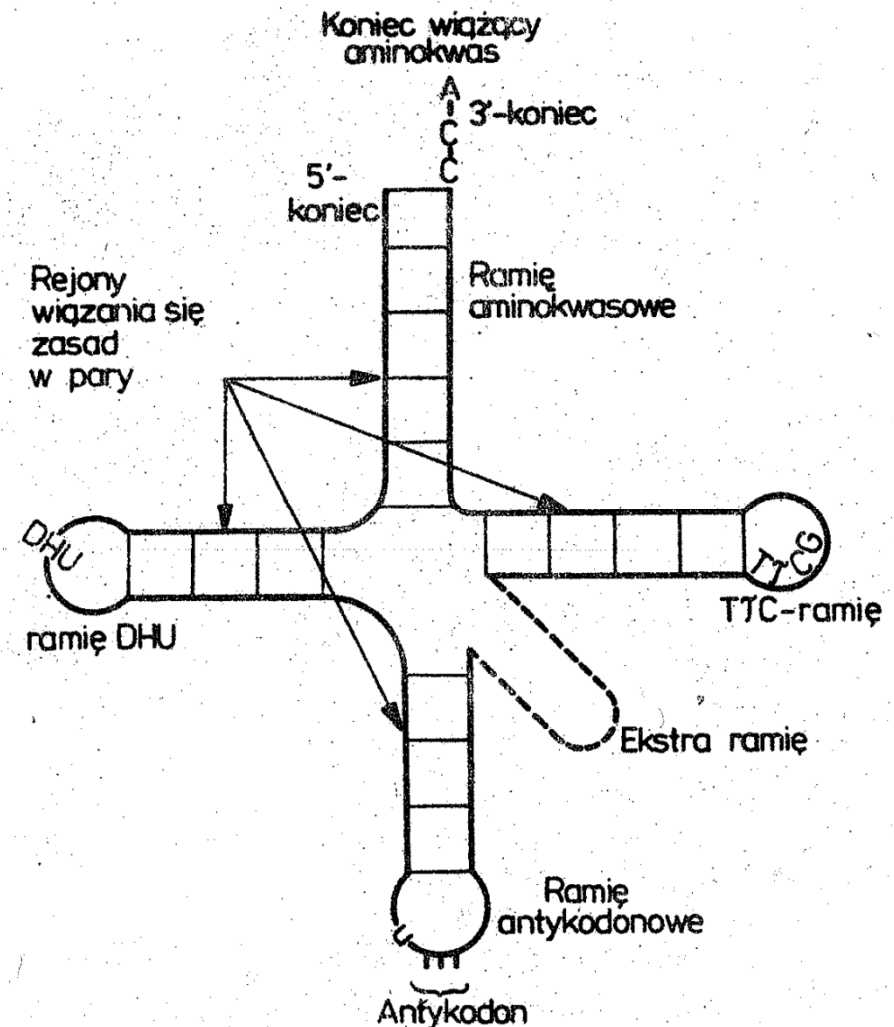
Koniec 3 (początek łańcucha) jest identyczny dla wszystkich aminokwasów i zaczyna się od sekwencji A-C-C. Po przeciwnej stronie jest ramię antykodonowe zakończone trójką reszt nukleotydowych (antykononem). Służy to rozpoznaniu odpowiedniej sekwencji na matrycowym RNA (odpowiedni kodon na mRNA).

Oprócz tego tRNA zamiera ramię TΨC, składające się z 7 zasad, gdzie wspólną cechą jest tryplet tymidylo-pseudourcylo-cytydylowy.

Charakterystyczne jest również ekstra ramię, które bardzo się różni pomiędzy różnymi tRNA (3-5 nukleotydów, czasem 13-21 nukleotydów).

Cząsteczka tRNA zawiera jeszcze ramię DHU, składające się z 7-11 nukleotydów, zawierających m.in. rzadko spotykany dihydrouacyl.

Cała cząsteczka tRNA zawiera ok. 75 nukleotydów. W komórkach występuje zwykle więcej różnych rodzajów tRNA, niż wynikałoby to z ilości aminokwasów do syntezy białek.





Plan budowy białka jest zaszyfrowany w DNA. Kod tworzenia białek jest odczytywany z DNA przez tworzenie komplementarnej nici mRNA w procesie transkrypcji. Następnie ten kod jest odszyfrowywany w procesie translacji podczas syntezy białek z aminokwasów. Jednostką kodu genetycznego jest trójka nukleotydów, która w mRNA nosi nazwę kodonu.

Biosynteza mRNA odbywa się w jądrze komórki, matrycą jest DNA, enzymem katalizującym ten proces jest polimeraza RNA, a jako jednostki składowe są trifosforanowe rybonukleozydy ATP, GTP, UTP i CTP.

Inicjacja syntezy zaczyna się od wyszukania przez nukleotydylotransferazę odpowiedniego miejsca na matrycy DNA, czyli **promotora**. Następuje lokalne rozwinięcie helisy DNA i tworzy się pierwsze fosfodiesterowe wiązanie nowego łańcucha RNA. Rozwijanie łańcucha odbywa się w kierunku od 5' do 3'. Powstający RNA jest komplementarny do nici DNA, a sekwencja nowopowstającego RNA jest antyrównoległa do matrycowej nici DNA. Polimeryzacja się kończy, kiedy polimeraza RNA dotrze do sekwencji oznaczającej terminację łańcucha.

Zsyntetyzowany RNA jest dłuższy niż później wykorzystywany do syntezy białek. Niepotrzebne wstawki są później usuwane.

mRNA jest zwykle zakończony sekwencją poli-A (ok. 200 reszt AMP). Synteza mRNA zachodzi szybko, ale jego trwałość też jest krótka. Zabezpiecza to komórkę przed błędami w kopiowaniu białek.



## Powstawanie rybosomalnego RNA

rRNA tworzy się w jąderku i jest to główna rola jąderka. Początkowo powstaje jedna długa nić prekursorowa, która później jest pocięta na mniejsze odcinki. Częsteczka prekursorowa jest nazywana policistronową, ponieważ do jej syntezy jest używany więcej niż jeden gen (cyston). Po procesie transkrypcji cząsteczki rRNA są modyfikowane poprzez metylację niektórych zasad. Przeróbki odbywają się na kompleksie rRNA z odpowiednimi białkami.

rRNA stanowi główną masę komórkowego RNA (ponad 80%).

Rybosomy cytoplazmatyczne mają średnicę ok. 20 nm i składają się z 40-50% RNA i 50-60% białka. W warunkach niedoboru magnezu rybosom dysocjuje na podjednostki 60 S i 40 S (1S = 1 svedberg – jednostka stałej sedimentacji Svedberga), gdy wzrasta stężenie jonów magnezu, rybosomy reasocjują w cząstki ok. 80 S.

rRNA opuszczają jądro komórkowe w postaci cząsteczek 32 S i 18 S. Resynteza następuje w cytoplazmie.



## Kod genetyczny

Kod genetyczny to zbiór kodonów opisujących syntezę polipeptydu. Przeciętny gen zawiera ok. 1500 par nukleotydów, czyli 500 trójek. Za względu na istnienie tylko czterech zasad nukleinowych, do kodowania aminokwasów potrzebne są trójki nukleotydów (są możliwe 64 permutacje, podczas, gdy aminokwasów białkowych jest ok. 20). Kod genetyczny jest ponadto **nienakładający się i beprzecinkowy**, co oznacza, że każda z zasad kodu reprezentuje tylko jeden kodon i nie ma przerw pomiędzy kodonami.

Dla syntezy polipeptydu istotne jest znalezienie kodonu startowego (najczęściej AUG, czasem GUG). Kodonami zakończenia syntezy są kodony UAA, UAG i UGA. Są to kodony nonsensowne, niekodujące żadnego aminokwasu.

Kod genetyczny jest również **zdegenerowany**, co oznacza, że jeden aminokwas może być odczytywany przez kilka kodonów. Wyjątkami są metionina (tylko kodon AUG) i tryptofan (tylko kodon UGG).

Mutacje powodujące zmianę kodonu na inne pociągają za sobą tworzenie nieprawidłowego białka o niewłaściwych funkcjach metabolicznych (mutacja zmiany sensu). Natomiast mutacja przedwcześnie kończąca łańcuch polipeptydowy jest mutacją nonsensowną.



## Synteza łańcucha polipeptydowego

Synteza łańcucha polipeptydowego przebiega stopniowo, a każdy aminokwas dołącza się do poprzedniego grupą aminową. Pierwszym aminokwasem u eukariotów jest metionina, u prokariotów zabezpieczona formylometionina. W wielu przypadkach jest ona później odszczepiana od tworzącego się łańcucha przez specjalny enzym hydrolizujący.

W trakcie inicjacji syntezy peptydu dla eukariotów tworzy się kompleks metioniny z rybosomami, istnieje co najmniej 7 czynników inicjujących, a energia jest pobierana GTP, ale także z ATP.

Elongacja jest procesem stopniowego dobudowywania kolejnych aminokwasów, doprowadzanych do matrycy RNA w postaci kompleksów z tRNA. Podjednostka rybosomu ma trzy tzw. miejsca. W miejscu R aminoacylo-tRNA łączy się z odpowiednim kodonem mRNA, w miejscu A dochodzi do zbliżenia z metioniną, która zajmuje miejsce P. Czynniki wydłużające i energia pochodząca z rozpadu GTP, prowadzi do przeniesienia metioniny na sąsiadujący aminokwas i utworzenie pierwszego dipeptydu. Po usunięciu tRNA z miejsca P, matryca mRNA przesuwa się o jeden kodon i dipeptyd zajmuje miejsce P oswobadzając miejsce A dla następnego aminokwasu.



Terminacja łańcucha polipeptydowego i uwolnienie go z matrycy wymaga u prokariotów trzech czynników, zwanych czynnikami uwalniającymi, oraz pojawienie się trzech kodonów nonsensownych: UAA, UAG lub UGA. Potrzebne jest również interwencja energetyczna GTP. U eukariotów występuje tylko jeden czynnik uwalniający. Po zakończeniu syntezy łańcucha sekwencja wydarzeń się powtarza.

Jedna nić mRNA może służyć równocześnie do syntezy kilku (kilkunastu) różnych peptydów, tworząc z rybosomami tzw. **polisom**.

Powstały polipeptyd może ulegać dalszym modyfikacjom aminokwasów w łańcuchu, oraz tworzy struktury wyższych rzędów formując natywne białko.

Produkcja białka przez żywą komórkę jest bardzo kosztowne. Ok. 88% energii uwalnianej z ATP przypada na syntezę białka, podczas gdy na syntezę lipidów jest zużywane tylko 3,7% energii ATP, na syntezę RNA – 3,1%, na syntezę węglowodanów – 2,7%.



## Chemia kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA)

Cząsteczki DNA należą do największych spośród różnych związków wielkocząsteczkowych. Izolowanie tych cząsteczek często wiąże się z ich degradacją, dlatego dane o wielkości tych łańcuchów z komórek eukariotycznych, są niepewne. Łatwiej jest wydzielić DNA z wirusów lub bakteriofagów. DNA składa się z dCMP, dTMP, dAMP i dGMP, powiązanych wiązaniami fosfodiesterowymi. Kolejność zasad określa się od końca 5' do końca 3'.

Łańcuchy polinukleotydowe tworzą konformację prawej helisy. Dwa łańcuchy zwijają się wokół wspólnej osi, a bieg łańcuchów jest przeciwny względem siebie – początek jednego jest końcem drugiego. Wiązania wodorowe tworzą się pomiędzy zasadami adeninowymi i tyminowymi oraz między cytozynowymi i guaninowymi. Zasady znajdują się wewnątrz helisy, a łańcuchy dezoksyrybozofosforanowe na zewnątrz.

Struktura DNA zależy także od stopnia uwodnienia makrocząsteczki. Natywna, maksymalnie uwodniona postać to postać B (najbardziej wyciągnięty łańcuch – 10 nukleotydów na jeden skręt), mniej uwodnione są postaci A i C (w postaci A – 11 nukleotydów na 1 skręt).



Brak grup hydroksylowych w dezoksyrybozie sprzyja większej zwartości podwójnej helisy. Ze względu na duże długości łańcuchów DNA, muszą być one silnie pofałdowane, żeby zmieściły się w małej przestrzeni jądra komórkowego.

W chromatynie jąder komórkowych cząsteczki DNA tworzą kompleksy z białkami. Są to silnie zasadowe histony. Helisa DNA skręca się w superhelisę i owija się wokół globularnego kompleksu białek, tworząc nukleosomy, które są połączone ze sobą odcinkami DNA łącznikowego.

Oprócz histonów w jądrach komórek są kwaśne białka niehistonowe. Mają one właściwości regulacyjne. Regulują one aktywację i represję aktywności genów.

W komórkach somatycznych jest niezmienna zawartość DNA, w komórkach rozrodczych jest połowa zawartości komórki somatycznej.



## Mechanizm replikacji DNA

Do syntezy DNA potrzebne są zaktywowane dezoksynukleotydofosforany. Powstają one w wyniku reakcji odpowiednich mononukleotydów z ATP. Następnie łączą się one stopniowo za pomocą wiązań estrowych z matrycą (fragment DNA) z wydzielaniem pirofosforanu. Ta reakcja jest reakcją egzoenergetyczną. Tworzą się dwie cząsteczki DNA, z których jedna jest nicią macierzystego DNA, a druga jest nowa. Szybkość polimeryzacji ustalono na ok. 1000 nukleotydów na minutę.

Syntetyzowane są jednocześnie obie nitki DNA w przeciwnych kierunkach.

Proces replikacji jest bardzo kosztowny energetycznie, otwarcie tylko jednego zwoju DNA potrzebuje 500-2000 kJ/mol.

## Mutacje i naprawa DNA

Błędy w kopiowaniu DNA mogą być spowodowane niedoskonałością samego mechanizmu replikacji, jak też oddziaływaniami środowiska. Błędy w kopiowaniu zdarzają się raz na 10 mln razy, a ponieważ przeważnie występują szkodliwe mutacje, komórka wykształciła mechanizmy obronne.

Oddziaływania środowiska mogą uszkadzać DNA wskutek alkilacji zasad azotowych, nieprawidłowo wiążąc sąsiadujące ze sobą zasady pirymidynowe (zwłaszcza tyminę), nieprawidłowe wiązanie zasad leżących w łańcuchach komplementarnych, przerwanie wiązania diestrowego, utrata części materiału genetycznego, dołączenie nukleotydów, kodujących niewłaściwy aminokwas.

Środowisko może oddziaływać fizycznie lub chemicznie. Oddziaływania fizyczne to promieniowania UV, X,  $\gamma$  i  $\beta$ . Chemicznie oddziałują różne związki chemiczne. Czynniki powodujące mutacje to **mutageny**.

Sposób naprawy uszkodzonego DNA zależy od rodzaju uszkodzenia. Np. w wycinaniu dimerów tymidynowych uczestniczy kilka białek enzymatycznych. Niektóre organizmy z kolei pochłaniają energię świetlną do rozerwania wiązań dimeru tyminy, przywracając poprawny stan.





W sytuacji gdy powstaje duża liczba uszkodzeń i inne mechanizmy nie nadążają z naprawą, uruchamia się mechanizm naprawczy SOS. Komórka likwiduje luki w sekwencji nukleotydów, wprowadzając w nie dowolne nukleotydy. Rośnie wtedy liczba mutacji, ale komórka odzyskuje sprawność replikacyjną.

W komórkach eukariotów prawie 90% DNA nie koduje żadnego białka. Do tej części DNA należą introny, odcinki służące regulacji genetycznej i odcinki repetytywne (wielokrotnie powtarzane).



## Inżynieria genetyczna

Inżynieria genetyczna to wycinanie z jednego genomu określonego genu i wstawianie go do innego organizmu, Można tego dokonywać stosując enzymy restrykcyjne (restryktazy). Restryktazy rozpoznają na DNA określone, krótkie sekwencje i dokonują zerwania wiązania nukleotydowego w określonym miejscu. Jedne enzymy rozcinają obie nici w tym samym miejscu (tworzą się tępe końce), inne tną z pewnym przesunięciem (tworzą się lepkie końce adhezyjne) i odpowiednie enzymy mogą ponownie odtworzyć wiązania estrowe.

DNA pocięty na mniejsze lub większe odcinki może posłużyć jako materiał do manipulacji genetycznej.

Wprowadzenie zmodyfikowanego DNA do komórek jest utrudnione. Można posłużyć się enzymem odwrotnej transkryptazy, która może wytwarzać DNA w oparciu o swoisty mRNA.



## **Regulacja metaboliczna**

Procesy metaboliczne, aby przeciwdziałać czynnikom zewnętrznym, stosują różne sposoby regulacji:

1. Regulacja przez czynniki wewnętrzne organizmu
  - a) Regulacja wewnątrzkomórkowa
    - Regulacja na poziomie epigenetycznym (produkcja genów aktualnie potrzebnych przez komórkę – regulacja transkrypcji i regulacja translacji)
    - Regulacja aktywności enzymu (prawem działania mas, efektem izosterycznym, inhibicją kompetencyjną itd.)
  - b) Regulacja międzykomórkowa lub pozakomórkowa
    - Regulacja hormonami i fitohormonami
2. Regulacja przez czynniki zewnętrzne
  - a) Czynniki chemiczne
  - b) Czynniki fizyczne
  - c) Czynniki biologiczne



## Regulacja aktywności genowej

Każdy proces metaboliczny wymaga obecności odpowiednich enzymów. Organizm uruchamia produkcję enzymów w sytuacji, gdy taki ich zestaw jest potrzebny. To jest regulacja na poziomie epigenetycznym. Automatyczna regulacja odbywa się na zasadzie sprzężenia zwrotnego i może dotyczyć zarówno etapu transkrypcji jak i translacji.

**Indukcja enzymów** – enzymy indukowalne tworzą się w zależności od zmian w środowisku. Zgodnie z informacją zawartą w genie regulatorze, tworzy się represor, który z substratem (induktorem) tworzy formę nieaktywną, dzięki czemu mogą powstawać odpowiednie enzymy. Przykładem jest produkcja  $\alpha$ -amylazy w kiełkujących nasionach.

**Represja enzymów** – gen regulator wytwarza nieaktywną formę represora, która nie może blokować genu operatora. Dopiero obecność odpowiednich stężeń produktu końcowego ciągu reakcji, powoduje blokadę dalszych reakcji.



**Indukcja i represja translacji** – cząsteczki mRNA tworzą kompleksy z cząsteczkami białka (informosomy) i wtedy są nieaktywne. Takie kompleksy wędrują z jądra do cytoplazmy, aby w pewnym momencie zdysocjować do formy aktywnej. Translacja może być również regulowana uaktywnieniem enzymów degradujących mRNA podczas osiągnięcia właściwego nasycenia produktami metabolicznymi. Zmiany mogą zachodzić również w rybosomach.

**Regulacje na poziomie zmiany aktywności enzymu** należą do regulacji szybkich (regulacje epigenetyczne są regulacjami powolnymi).

- a) **regulacja zgodna z prawem działania mas** – przy małych stężeniach substratu, każde zwiększanie stężenia zwiększa szybkość reakcji (reakcja 1 rzędu), przy dużych stężeniach substratu, enzymy są wysyczone, dalsze zwiększanie stężenia substratu nie zwiększa szybkości reakcji (reakcja 0 rzędu).
- b) **inhibicja kompetencyjna i efekt izosteryczny** – hamowanie aktywności produktem reakcji (zablokowanie centrów aktywnych enzymu) bądź substratami (przyłączenie więcej niż jednej cząsteczki substratu utrudniające katalizę), obecność nieaktywnych związków podobnych do substratów.



**c) aktywacja proenzymów (zymogenów)** – uaktywnienie nieaktywnych enzymów przyspiesza szybkości reakcji. Aktywacja może zachodzić poprzez zmianę pH, enzymatycznie lub autokatalicznie.

**d) modyfikacje kowalencyjne** – wzrost aktywności enzymów poprzez przyłączenie lub oderwanie od białka enzymatycznego różnych związków.

**e) efekt allosteryczny** – deformacje enzymów powodujące lepsze dopasowanie do cząsteczek substratu.

**f) kompartmentacja procesów biochemicznych** – rozdzielenie przestrzenne różnych składników komórki, wybiórcze przepuszczanie lub zatrzymywanie różnych składników komórki przez błony półprzepuszczalne.



## Regulacja hormonalna

Hormony to wewnątrz ustrojowe sygnały chemiczne, które swoją obecnością uruchamiają lub też aktywują procesy metaboliczne w komórkach, na które oddziałują.

Ogólny schemat systemu przekazywania informacji można przedstawić:

**nadawca —> kod ———> linia przekaźnikowa —> układ dekodujący —> odbiorca**

Informacja przesyłana jest w sposób zakodowany i odekodowywana u odbiorcy.

Sygnał może być swoisty (powodujący określone działanie) lub nieswoisty (wywołujący działanie różnorodne).

**Hormony zwierzęce** pod względem chemicznym należą do różnych grup systematycznych związków organicznych.

Są to np. substancje białkowe, należące zarówno do białek prostych jak i złożonych (np. lipoproteiny):

-**Somatotropina** (hormon wzrostowy, STH) - białko proste o strukturze dimerycznej i dużej specyficzności gatunkowej, o stosunkowo małej masie cząsteczkowej, rzędu kilkudziesięciu tysięcy daltonów.

-**Insulina** - monomeryczne jednostki białkowe o masie 5800 D, łatwo tworzą dimery, tetramery, heksamery i oktamery.



-**Glukagon** jest białkiem o małej masie cząsteczkowej (zawiera 29 reszt aminokwasowych). Hormon ten stymuluje rozkład glikogenu w wątrobie za pośrednictwem cyklicznego AMP (cAMP).

-**Angiotensyna I** - liniowy oktapeptyd, wytwarzany w układzie krwionośnym. Powoduje wzrost ciśnienia tętniczego oraz wywołuje skurcz mięśni gładkich.

-**Tyreoglobulina** jest tetrameryczną glikoproteiną. Zawiera ona łańcuch cukrowy zbudowany z galaktozy, mannozy, glukozaminy, fukozy oraz kwasu sjałowego (N-acetyloneuraminowego). Jodotyroniny regulują poziom przemiany podstawowej, u krów zaś laktację, zwiększając wydzielanie mleka.

-**Adrenalina i noradrenalina** - hormony katecholaminowe, produkowane przez rdzeń nadnerczy i zakończenia nerwowe układu współczulnego. Powodują one rozkład glikogenu i triacylogliceroli za pośrednictwem reakcji kaskadowej.

Hormony produkowane przez korę nadnerczy należą do grupy związków chemicznych zwanych **sterydami**. Należą do nich **kortykosterydy**.

Poza tym kora nadnerczy produkuje hormony płciowe: **estrogeny i androgeny**. Hormony płciowe są również produkowane przez jądra i jajniki.



**Hormony roślinne (fitohormony)** – są to regulatory wzrostu (stymulatory i inhibitory).

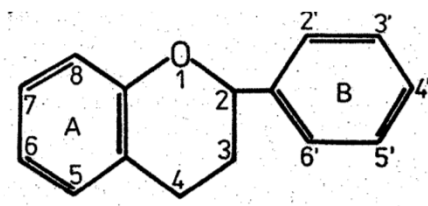
### **Stymulatory wzrostu:**

- **Auksyny** (pochodne indolu) - kwas  $\beta$ -indoliloctowy (IAA), występuje w formie wolnej lub z estryfikowany z glukozą, wpływa na wzrost elongacyjny komórek, podział komórek w kambium, podział komórek i tworzenie się korzeni, podział komórek w kulturach tkankowych, wywołuje dominację apikalną, partenokarpie. Auksyny działają prawdopodobnie na aparat genetyczny komórki, powodując derepresję różnych genów, czyli wpływają na syntezę *de novo* enzymów.
- **Gibereliny** – wywodzą się od gibanu, są pochodnymi diterpenów. Powodują wzmożone podziały komórkowej partenokarpie, indukcję tworzenia się kwiatów, znoszą dominację apikalną, przerywają spoczynek nasion, wpływają na wzrost karłowatych mutantów roślin itp.
- **Cytokininy (fitokininy)** – pochodne puryny (adeniny). Najważniejszą funkcją tych hormonów jest przyspieszenie podziałów komórkowych. Cytokininy powodują również wydłużanie się komórek, przedłużają stan spoczynku nasion, pobudzają rozwój pąków bocznych, opóźniają procesy starzenia się (obumierania) liści, gdyż powstrzymują rozpad chlorofilu i białek, a także struktur plazmatycznych.

**Inhibitory wzrostu** działają w kierunku hamowania wydłużania się łodygi, wzrostu korzeni, powstrzymywania kiełkowania nasion, procesów kwitnienia itp., przyspieszają opadanie liści u drzew liściastych naszego klimatu, hamują procesy rozwijania się pąków przed okresem zimy (wywołują stan uśpienia), przyspieszają opadanie owoców:

**Związki fenolowe** - mogą oddziaływać hamująco na wzrost i kiełkowanie roślin.

Reprezentowane są one przez kwasy fenolowe, kumaryny i flawonoidy. Inhibitorem może być kwas salicylowy czy kwas galusowy, kumaryny, skopoletyna oraz kwasy cynamonowe. Flawonoidy wywodzą się z heterocyklicznego układu flawanu, który z kolei jest benzo- $\gamma$ -pironem z podstawionym przy węglu 2 rodnikiem fenylowym. Wiele flawonoidów ma właściwości hamowania aktywności różnych enzymów i stąd mogą pełnić rolę regulatorów niektórych procesów enzymatycznych.



flawan

## - Inhibitory terpenowe



## Inhibitory egzogenne:

Egzogenne inhibitory wzrostu są to związki wytwarzane przez przemysł chemiczny, przede wszystkim dla potrzeb rolnictwa:

**-Retardanty** – hamują wzrost elongacyjny łodyg, np. chlorek chlorocholiny (CCC), blokuje syntezę giberelin i w ten sposób przeciwdziała wzrostowi rośliny.

**-Morfaktyny** - również wpływają na wzrost elongacyjny łodyg, lecz wywierają także wpływ na organogenezę roślin. Są to pochodne fluorenu, znoszą one dominację wierzchołkową, roślina przybiera kształt "miotlasty" i jest "przysadzista". Oprócz tego morfaktyna powstrzymuje kiełkowanie nasion i wzrost siewki. Również ograniczony jest rozwój blaszki liściowej.

**-Herbicydy** – mają działanie toksyczne, umożliwiając niszczenie niepożądanych roślin. Może to być działanie totalne, powodujące niszczenie wszystkich roślin na danym obszarze, ale też można stosować herbicydy działające selektywnie i wtedy jest możliwość pozbywania się pewnych gatunków roślin w innej uprawie. Oddziałują na roślinę w bardzo małych ilościach i prowadzą do dezorganizacji równowagi fizjologiczno-biochemicznej rośliny, co prowadzi po pewnym czasie do śmierci organizmu. W zależności od stosowanego preparatu mogą wyłączać jednej lub kilka kluczowych reakcji biochemicznych, dezorganizujących ważny etap w metabolizmie komórki, lub mogą wpływać bardziej wszechstronnie na wiele ścieżek metabolicznych, albo oddziaływać na aparat genetyczny komórki.

## Poglądy na mechanizm działania hormonów

-Hormony nie przenikające przez błony komórkowe (większość hormonów białkowych i polipeptydowych) oddziałują na specjalne receptory białkowe umieszczone na zewnętrznej stronie błony. Receptory są białkami o masach cząsteczkowych dochodzących do kilkuset tysięcy. Mogą to być zarówno białka proste, lipoproteiny, a też glikoproteiny, charakteryzujące się rozbudowaną strukturą czwartorzędową, a ich oddziaływanie z hormonem przypomina tworzenie się kompleksu enzymu z substratem. Hormon podczas reakcji z receptorem nie podlega przemianom chemicznym, a kompleksowanie odbywa się na zewnętrznej stronie błony komórki. Kompleks hormon - receptor błonowy powoduje stymulację cyklazy adenylanowej (również związanej z błoną), która z kolei wytwarza cykliczny 3',5'-adenozynomonofosforan, czyli cAMP. Wytworzony w komórce cAMP zwiększa aktywność enzymów fosforylujących, czyli kinaz (fosfokinaz) białkowych. Fosforylacja różnych białek enzymatycznych powoduje z kolei aktywowanie ich, czyli zwiększanie możliwości przeprowadzania różnych reakcji biochemicznych. Fosforylacja może również dotyczyć histonów blokujących kwas dezoksyrybonukleinowy, dzięki czemu zmienia się ich konformacja, a ten proces może doprowadzić do odblokowania odpowiednich genów. cAMP może prawdopodobnie wpływać także na przepuszczalność błon komórkowych, może również wywierać bezpośredni wpływ na transkrypcję genów.



-Hormony przenikające przez błonę komórkową (drobnocząsteczkowe hormony sterydowe mogą wnikać do komórki (budowa apolarna) zwłaszcza związane ze specyficznym białkiem transportowym) oddziałują bezpośrednio na aparat genetyczny komórki, powodując powstawanie informacyjnego RNA (mRNA) .

-Etylen ma właściwości przyspieszania dojrzewania niektórych owoców. W roślinie tworzy się najprawdopodobniej poprzez szereg przemian z aminokwasu metioniny.

W praktyce rolniczej możliwe jest stosowanie egzogenego etylenu w celu przyspieszania dojrzewania niektórych owoców. Pod tym względem owoce można podzielić na dwie grupy:

-reagujące na etylen: jabłka, morele, awokado, banany, mango, papaje, brzoskwinie, gruszki, śliwki i pomidory

-niereagujące na etylen: wiśnie, ogórki, figi, winogrona, pomarańcze, grapefruity, ananasy, melony i truskawki.

Działanie etylenu zależne jest od temperatury. W niskiej temperaturze (np. 3°C) etylen nie wywołuje przyspieszenia dojrzewania, a w temperaturze 10°C stymulacja tego procesu jest już bardzo duża i osiąga swe optimum w temperaturze 20°C.