

Bernard Korzeniewski

# METABOLIZM



  
oficyna wydawnicza EREM-FOSZE

Adjustacja **Anna Gajdek**  
Projekt okładki **Jerzy Tomala**  
Skład **EREM-FOSZE**

ISBN 83-86913-00-2

© Copyright by oficyna wydawnicza **EREM-FOSZE**  
Kraków, Rzeszów 1995  
ul. Ofiar Katynia 15  
35-209 Rzeszów  
tel.: (017) 56-34-35  
Druk: FOSZE

---

# Spis treści

---

<b>Od wydawcy</b> .....	7
<b>Wstęp</b> .....	9
<b>Rozdział 1 - Reakcje enzymatyczne – cegiełki metabolizmu</b>	
Co to jest biokatalizator? .....	13
Modyfikacja aktywności enzymów .....	20
Klasyfikacja enzymów .....	27
Metabolizm jako suma reakcji enzymatycznych .....	28
<b>Rozdział 2 - Niektóre związki istotne dla metabolizmu komórki</b>	
Nośniki energii .....	32
Koenzymy wspólne dla wielu szlaków metabolicznych .....	34
Elementy łańcucha transportu elektronów .....	39
Barwniki fotosyntetyczne .....	41
<b>Rozdział 3 - Zarys przemian energetycznych w komórce</b>	
Przemiany kataboliczne i anaboliczne .....	45
Mechanizmy syntezy ATP .....	54

**Rozdział 4 - Szczegółowy opis przemian katabolicznych**

Glikoliza .....	65
Fermentacja .....	68
Dekarboksylacja pirogronianu .....	69
$\beta$ -oksydacja kwasów tłuszczowych .....	70
Cykl Krebsa .....	73
Dezaminacja aminokwasów .....	76
Fosforylacja oksydacyjna .....	77
Zysk energetyczny przemian katabolicznych .....	83

**Rozdział 5 - Szczegółowy opis przemian anabolicznych**

Fotosynteza .....	86
Chemosynteza .....	98

<b>Zakończenie</b> .....	101
--------------------------	-----

---

# Wstęp

---

Funkcjonowanie każdej żywej komórki oparte jest na ogromnej ilości reakcji chemicznych, w których biorą udział przede wszystkim rozmaite, przekształcane kolejno jedne w drugie związki organiczne, oraz na pewnych procesach fizycznych, takich jak: dyfuzja, transport substancji przez błony oraz praca mechaniczna. Komórka odżywia się, produkuje energię w formie powszechnie dostępnej dla procesów, które jej potrzebują, syntetyzuje ogromną ilość związków organicznych, z których buduje swoje ciało, rośnie, ulega podziałom na komórki potomne, którym przekazuje swój plan budowy zapisany w DNA. Komórka może poruszać się, kurczyć lub budować potencjał elektryczny w poprzek błony komórkowej, wreszcie – wydzielać rozmaite substancje do swojego środowiska. Całokształt procesów, leżących u podstawy i niezbędnych dla zachodzenia wyżej wymienionych zjawisk, stanowiących o istocie życia na poziomie biochemicznym i biofizycznym, nazywamy metabolizmem.

Zjawisko metabolizmu występuje, niejako z definicji, we wszystkich organizmach żywych. Nawet wirusy, twory stojące na pograniczu świata żywego i nieożywionego, pozbawione własnego

metabolizmu, muszą korzystać z metabolizmu swojego gospodarza aby istnieć i namnażać kopie samych siebie. Ogólnie mówiąc, metabolizm to całokształt procesów przemiany materii (i energii) w organizmach żywych rozpatrywany na poziomie biochemicznym.

Od przemiany materii w przyrodzie nieożywionej zjawisko metabolizmu różni się celowością oraz wysokim stopniem uporządkowania. Metabolizm służy biologicznym (ustanowionym przez ewolucję) “zadaniom” organizmów żywych – przeżyciu, utrzymywaniu homeostazy wewnętrznej, wzrostowi, wreszcie – rozmnażaniu się, czyli produkcji osobników potomnych. Aby realizować tak skomplikowany system działań, metabolizm nie może przypominać po prostu mieszaniny reakcji chemicznych zachodzących pomiędzy przypadkowymi substancjami umieszczonymi w probówce laboratoryjnej. Wprost przeciwnie, metabolizm to zjawisko zorganizowane, składające się z dobrze wyodrębnionych części, zwanych szlakami metabolicznymi, w których następuje kolejne przekształcanie związków organicznych w ściśle określonej sekwencji. Szlaki takie mogą być liniowe, jeżeli metabolity są w nich przekształcane kolejno jeden w drugi, lub cykliczne, jeżeli przekształcanie metabolitów następuje w obiegu zamkniętym i ostatni metabolit w szlaku zostaje przekształcony w pierwszy. Przykładem szlaku liniowego jest glikoliza, a cyklicznego – cykl Krebsa.

Produkty jednych szlaków metabolicznych są substratami dla innych szlaków. Poszczególne szlaki spełniają konkretne, “przydzielone” im zadania, tak aby ogół metabolizmu działał jako jedna, funkcjonalna całość. Szybkość przepływu metabolitów przez różne szlaki podlega ścisłej kontroli, w celu dostosowania intensywności produkcji rozmaitych związków oraz energii do potrzeb komórki. Poszczególne szlaki metaboliczne są związane z odpowiednimi przedziałami w komórce, jak: jądro, cytoplazma, mitochondria, lizosomy, retikulum endoplazmatyczne lub aparat Golgiego. Występują także istotne różnice pomiędzy metabolizmem w różnych tkankach i narządach. Efektem zorganizowanego i skoordynowanego metabolizmu jest istnienie organizmów żywych z całym skomplikowaniem ich struktury i funkcji.

Badaniem metabolizmu zajmuje się dziedzina nauki zwana biochemią dynamiczną. Zazębia się ona z wieloma innymi dziedzinami wiedzy o organizmach żywych. Budowę związków organicznych, uczestniczących w metabolizmie zarówno jako substancje przetwarzane (metabolity), jak i biokatalizatory (enzymy), opisuje chemia organiczna oraz biochemia statyczna. Strukturę oraz funkcję komórki jako całości bada biologia komórki. Śledzenie funkcjonowania tkanek i narządów, a także całego organizmu jest domeną fizjologii. Podkreślenia wymaga fakt, że u podłoża zarówno funkcjonowania komórki, jak i tkanek oraz narządów, leży właśnie metabolizm. Sprawami przekazywania informacji genetycznej oraz dziedziczenia cech organizmów zajmuje się genetyka. Jej część dotycząca kopiowania i odczytu informacji genetycznej na poziomie białek i kwasów nukleinowych, zwana genetyką molekularną, wchodzi właściwie w zakres tego, co nazywamy metabolizmem. Z punktu widzenia ewolucji biologicznej, powstanie życia na naszej planecie około 3.8 miliarda lat temu było zasadniczo równoważne ze spontanicznym wytworzeniem pierwocin metabolizmu, w postaci samonamnażających się kompleksów chemicznych. Ewolucja systemu przemian biochemicznych miała kluczowe znaczenie dla ewolucji życia w ogóle, pozwalając, z jednej strony, na coraz lepsze wykorzystanie różnorodnych źródeł energii, z drugiej zaś – na wytworzenie coraz szerszej gamy związków organicznych, budujących ciała organizmów żywych. Metabolizm jest także ściśle związany z gospodarką wodną i mineralową oraz z obiegiem materii w przyrodzie.

Wreszcie, wiedza o metabolizmie leży u podstaw wielu gałęzi medycyny. Wrodzone choroby genetyczne są spowodowane niedoborem lub brakiem pewnych enzymów. Wpływ rozmaitych substancji na przemiany metaboliczne oraz ich ewentualne zastosowanie lecznicze stanowi przedmiot badań farmakologii. Działanie toksyn bakteryjnych, jadów węży, rozmaitych trucizn (na przykład cyjanku potasu) itp. na organizm ludzki odbywa się właśnie poprzez zaburzenie metabolizmu człowieka. Z kolei, stosowanie rozmaitych leków zwalczających, na przykład, bakterie, zwłaszcza antybiotyków, wymaga znajomości “czułych punktów” metabolizmu tych drobnoustrojów. Tak pospolita w ostatnich czasach nadwaga to nic innego, jak pewna patologia regulacji przemian metabolicznych.

To samo dotyczy chorób serca kończących się zawałem. Odkrycie, że metabolizm komórek nowotworowych jest nieco odmienny od metabolizmu komórek normalnych daje nadzieję na znalezienie skutecznych metod walki z rakiem. Podobne przykłady można by jeszcze długo mnożyć. Dowodzą one, że znajomość metabolizmu zarówno człowieka, jak i innych organizmów, ma kluczowe znaczenie dla medycyny.

Niniejsze opracowanie ma za zadanie przedstawić ogólne cele oraz zasady funkcjonowania metabolizmu, a także zaprezentować kilka najważniejszych przemian metabolicznych, takich jak oddychanie czy fotosynteza. Jego celem jest poszerzenie i uporządkowanie wiedzy u osób pragnących kontynuować swą edukację na akademiach medycznych, lecz także u tych, którzy zetkną się z biologią na uniwersytetach, akademiach rolniczych czy wyższych szkołach pedagogicznych. Zakres materiału jest tu trochę poszerzony w stosunku do obowiązującego w liceach, a sposób prezentowania wiedzy – nieco odmienny. Starłem się nie tylko uwzględnić postęp nauki, jaki dokonał się w ciągu ostatnich trzydziestu lat, lecz także położyć nacisk na zrozumienie, na przedstawienie prezentowanej wiedzy jako pewnej logicznej całości. Dla każdego problemu, nawet tak “nudnego” jak omawianie różnych związków chemicznych, próbowałem znaleźć pewną nić przewodnią, scalającą suche fakty w jakąś całość, pozwalającą na łatwiejsze ich zapamiętanie. Generalnie zaś, moim zamiarem było odpowiedzieć nie tylko na pytanie “co?”, ale przede wszystkim: “w jakim celu?”. Mimo iż książka ta została napisana głównie z myślą o kandydatach na wyższe uczelnie, chciałbym wierzyć, że mogłaby ona być interesująca dla tych wszystkich, którzy, mimo iż nie związani z biologią ze względu na uprawianą profesję, pragnęliby dowiedzieć się czegoś więcej, kierowani zwykłą ciekawością o otaczającym nas świecie.

**Autor**

*Bernard Koreniewski*



# Reakcje enzymatyczne - cegielki metabolizmu

---

## 1.1 Co to jest biokatalizator?

Metabolizmem nazywamy całość procesów zachodzących w organizmach żywych na poziomie biochemicznym, odpowiedzialnych za ich funkcjonowanie, wzrost, rozwój oraz produkcję energii. Właściwie wszystkie reakcje chemiczne, składające się na metabolizm, katalizowane są przez **enzymy**. Najkrócej enzymy definiowane są jako biokatalizatory, a więc katalizatory reakcji biochemicznych, zachodzących w żywych komórkach (czasem także na zewnątrz nich, jak na przykład w przypadku enzymów trawiennych). Katalizator jest to substancja, która przyspiesza reakcję chemiczną, nie ulegając zużyciu lub przemianie. Enzym jest to katalizator działający w organizmach żywych. Czy więc miejsce występowania stanowi jedyną cechę, odróżniającą enzymy od katalizatorów nieorganicznych?

Nie – istnieje wiele innych istotnych cech, charakterystycznych dla enzymów. Najważniejsze z nich to:

- enzymy zbudowane są z białek (oraz ewentualnie z tak zwanej grupy prostetycznej);

- szybkość reakcji katalizowanej przez enzym jest znacznie większa, niż szybkość tej samej reakcji zachodzącej spontanicznie lub katalizowanej przez katalizator nieorganiczny;
- enzymy wykazują znacznie większą swoistość, niż katalizatory nieorganiczne – katalizują one tylko jedną określoną reakcję lub wąską grupę podobnych reakcji;
- reakcje katalizowane przez enzymy charakteryzują się skomplikowanym mechanizmem i wieloetapowym przebiegiem.

Poniżej scharakteryzujemy bardziej szczegółowo wymienione właściwości enzymów.

### 1.1.1 Budowa enzymów

Podczas gdy katalizatorami nieorganicznymi mogą być bardzo rozmaite związki, wszystkie enzymy są białkami. Niektóre enzymy (na przykład pepsyna lub heksokinaza) to białka proste, nie zawierające innych związków. W skład wielu enzymów oprócz części białkowej (zwanej **apoenzymem**) wchodzi także część niebiałkowa (**koenzym**), z reguły niezbędna do zajścia reakcji enzymatycznej. Niektóre koenzymy (na przykład NAD, koenzym A, karnityna) mogą czasowo wiązać się do apoenzymów na okres trwania reakcji. Ponieważ związki takie są koenzymami dla wielu różnych apoenzymów, mogą one przenosić rozmaite grupy chemiczne, wykorzystywane w szeregu reakcji (w przypadku NAD, będącego pospolitym koenzymem dla reakcji oksydoredukcyjnych, przenoszone są elektrony i jony  $H^+$ ). W innych wypadkach koenzym jest na stałe związany do apoenzymu i nosi wtedy nazwę **grupy prostetycznej**. Jako przykłady grup prostetycznych można wymienić jony żelaza i miedzi oraz grupę hemową. Ani apoenzym, ani koenzym nie jest w stanie sam przeprowadzić reakcji enzymatycznej – do skutecznej katalizy potrzebne są oba połączone w całość, zwaną **holoenzymem**.

Różne części cząsteczki enzymu odpowiadają za różne funkcje. Każdy enzym zawiera centrum aktywne (katalityczne), odpowiedzialne za proces katalizy (rodzaj przeprowadzonej reakcji), oraz miejsce wiązania substratu, odpowiedzialne za swoistość reakcji enzymatycznej, to znaczy za to, że taki, a nie inny substrat zostanie

przetworzony. Centrum aktywne ma z reguły postać wnęki ("kieszoni") w cząsteczce enzymu. Cząsteczki enzymów mogą dodatkowo posiadać regiony służące do "zakotwiczenia" w błonie białkowo-lipidowej (np. błonie komórkowej, mitochondrialnej, retikulum endoplazmatycznym) lub do wiązania z innymi enzymami w ramach kompleksów wieloenzymatycznych. Wiele enzymów posiada także miejsca wiązania regulatorów allosterycznych (centra allosteryczne). Umożliwiają one przyłączanie do cząsteczki enzymu modyfikatorów aktywności katalitycznej (aktywatorów i inhibitorów), powodujących, w zależności od potrzeb, przyspieszenie lub spowolnienie reakcji enzymatycznej.

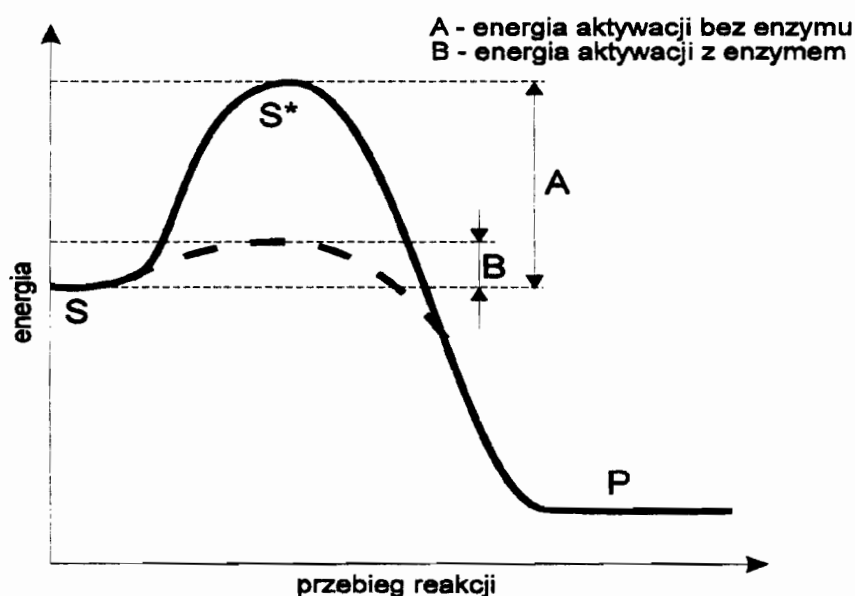
Niektóre enzymy produkowane są w formie tzw. proenzymów, które uzyskują pełną aktywność katalityczną dopiero po wycięciu z ich cząsteczki pewnego fragmentu łańcucha peptydowego. Ma to miejsce w przypadku niektórych enzymów trawiennych, np. pepsyny, której prekursor (pepsynogen) aktywowany zostaje dopiero w przewodzie pokarmowym w celu uniknięcia uszkodzeń komórek, w których jest on syntetyzowany, a także w przypadku enzymów transportowanych do miejsca swego przeznaczenia (np. retikulum lub lizosomu) przez błony organelli komórkowych.

W różnych tkankach i organellach komórkowych występują charakterystyczne dla nich enzymy – są to tak zwane **enzymy markerowe** (na przykład oksydaza cytochromowa jest typowa dla wewnętrznej błony mitochondrialnej).

Czasami wiele różnych enzymów katalizuje tę samą reakcję. Zwane są one wtedy **izoenzymami**. Przykładem jest dehydrogenaza mleczanowa, katalizująca odwracalną reakcję przeniesienia wodoru z mleczanu na  $\text{NAD}^+$  (pełniący rolę koenzymu), przy czym powstaje pirogronian oraz  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Otóż okazało się, że białko przeprowadzające tę reakcję w sercu różni się nieco budową i właściwościami (m. in. szybkością wędrówki w polu elektrycznym) od analogicznego białka w wątrobie i mięśni szkieletowym. Wymienione białka są zatem izoenzymami.

### 1.1.2 Szybkość reakcji enzymatycznej

Rola enzymu jako biokatalizatora (dotyczy to zresztą także katalizatorów nieorganicznych) polega na obniżeniu energii aktywacji katalizowanej przezeń reakcji. Jeżeli położylibyśmy na powietrzu bryłkę węgla (lub glukozy), to po bardzo długim okresie czasu uległaby ona spontanicznemu utlenieniu (“zwietrzeniu”), czyli reakcji z tlenem, przy czym powstałby dwutlenek węgla (w przypadku glukozy – dwutlenek węgla i woda). Jeżeli podgrzalibyśmy jednak tę bryłkę do odpowiednio wysokiej temperatury, to proces utleniania przebiegałby bardzo gwałtownie, z wydzieleniem dużej ilości ciepła (takie gwałtowne utlenianie nazywamy spalaniem). Stałoby się tak, ponieważ podgrzanie bryłki węgla w obecności tlenu dostarcza jej energii (w postaci energii kinetycznej cząsteczek, proporcjonalnej do temperatury) równej lub większej, niż **energia aktywacji** tej reakcji. Zatem energia aktywacji jest to minimalna energia kinetyczna cząsteczek potrzebna do zajścia reakcji. W temperaturze pokojowej w danym odstępie czasu tylko bardzo nieliczne cząsteczki mogą, wskutek przypadkowego ciągu zderzeń z innymi cząsteczkami, nabrać takiej energii, dlatego reakcja zachodzi bardzo powoli. Enzymy tak obniżają energię aktywacji, że do szybkiego zajścia reakcji wystarczająca jest energia kinetyczna, którą cząsteczki posiadają w zakresie temperatur panujących w organizmach żywych. Ilustruje to poniższa rycina.



Ryc. 1.1

Widzimy na niej, że substrat (S), aby przekształcić się w produkt (P), musi przekroczyć pewien próg energetyczny, w którym występuje jako “substrat aktywowany” ( $S^*$ ). Enzym obniża energię konieczną do aktywacji substratu, poprzez jego związanie w kompleks enzym–substrat (ES). Aby uzmysłwić sobie, na czym polega obniżenie energii aktywacji, wyobraźmy sobie, że potrząsamy szklanką, w której znajduje się gumowa piłeczka. Szklanka ma wysokie brzegi, tak że piłeczka bardzo rzadko z niej wypada. Żeby uprawdopodobnić wyskoczenie piłeczki ze szklanki, możemy zwiększyć intensywność potrząsania. Odpowiada to podwyższeniu temperatury w reakcji chemicznej (zwiększeniu energii kinetycznej cząsteczek). Zamiast tego, aby przyspieszyć wypadnięcie piłeczki ze szklanki (czyli zwiększyć szybkość reakcji), można obniżyć jej brzegi, co w naszej analogii jest równoważne do obniżenia “progu” energii aktywacji (porównaj Ryc. 1.1). Kataliza enzymatyczna odpowiada właśnie tej drugiej możliwości. Gdybyśmy potrząsali milionem szklanek z piłeczkami (co odpowiadałoby dużej ilości cząsteczek substratu), to oczywiście jest, że wypadanie piłeczek (reakcja) zachodziłoby tym szybciej, im niższe byłyby brzegi szklanek. Na tym właśnie (czyli na obniżaniu progu aktywacji reakcji) polega istota działania biokatalizatora.

Skutkiem obniżenia energii aktywacji jest ogromne przyspieszenie reakcji katalizowanych przez enzymy. Przyspieszenie to jest dużo większe, niż przyspieszenie powodowane przez katalizatory nieorganiczne. Jako przykładem posłużymy się reakcją rozkładu nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ) na wodę i tlen. Spontaniczny przebieg tej reakcji w temperaturze pokojowej jest bardzo powolny. Dodanie katalizatora nieorganicznego, jakim w tym przypadku jest platyna, przyspiesza proces rozkładu nadtlenu wodoru 20 000 razy. Natomiast ta sama reakcja katalizowana przez enzym katalazę zachodzi aż 300 000 000 000 (trzysta miliardów) razy szybciej, niż reakcja spontaniczna. Tak wielka efektywność katalityczna jest cechą charakterystyczną reakcji enzymatycznych.

Jedna rzecz wymaga wyraźnego podkreślenia. Chociaż enzymy mogą ogromnie zwiększyć tempo katalizowanego przez nie procesu, to są one w stanie przeprowadzać tylko takie reakcje, które mogą zachodzić samoistnie (choć o wiele wolniej), bez udziału enzymu.

Aktywność enzymów określa się z reguły podając tak zwaną “liczbę obrotów”, odpowiadającą ilości cząsteczek substratu przekształconych przez jedną cząsteczkę enzymu w jednostce czasu.

### 1.1.3 Swoistość enzymów

Katalizatory nieorganiczne, na przykład metale, mogą przyspieszać bardzo wiele różnych reakcji chemicznych. Natomiast ogromna większość enzymów wykazuje dużą swoistość (specyficzność) ze względu na katalizowane przez nie reakcje. Wiele z nich katalizuje tylko jedną konkretną reakcję, w której bierze udział określony substrat (zestaw substratów). Przykładem może być oksydaza cytochromowa, przenosząca elektrony z cytochromu c na tlen z wytworzeniem wody. Inne enzymy są odpowiedzialne za przebieg pewnej wąskiej grupy reakcji. Różne proteiny (enzymy rozkładające białka) mogą przecinać łańcuch białkowy w sąsiedztwie danego konkretnego aminokwasu lub też odcinać z końca łańcucha aminokwas z wolną grupą aminową (względnie karboksylową). Jeżeli ten sam metabolit (na przykład aminokwas) może być przekształcany jako substrat przez różne reakcje (dekarboksylacja, oksydacja, transaminacja), to z reguły reakcje te są katalizowane przez odrębne enzymy.

### 1.1.4 Przebieg reakcji enzymatycznej

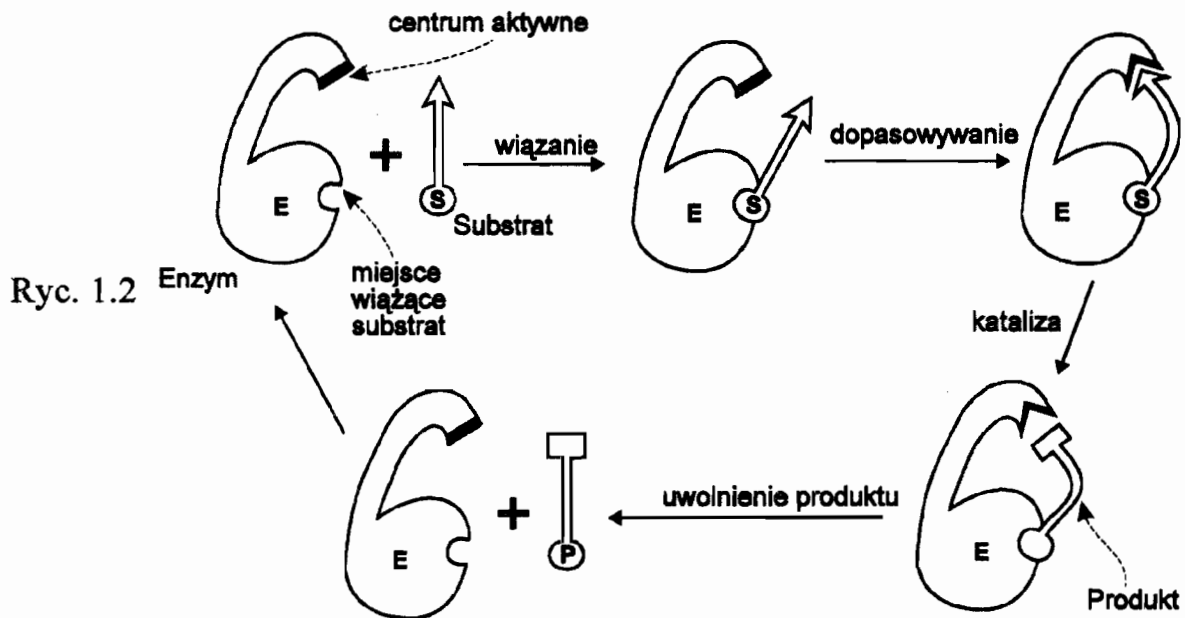
Reakcja enzymatyczna jest procesem wieloetapowym, o skomplikowanym mechanizmie. W najprostszym przypadku schemat reakcji enzymatycznej zawiera odwracalną reakcję (1) połączenia się substratu (S) i enzymu (E) w kompleks enzym-substrat (ES) oraz nieodwracalną reakcję (2) uwolnienia produktu (P):



Schemat 1.1

Kiedyś przypuszczano, iż enzym i substrat pasują do siebie ze względu na swoją budowę przestrzenną, na zasadzie zamka i klucza.

Obecnie jednak przeważa koncepcja **aktywnego (indukowanego) dopasowywania**. W myśl tej koncepcji oddziaływanie enzymu z substratem i proces katalizy składają się z szeregu etapów (patrz poniższa rycina).



Najpierw następuje wiązanie substratu do enzymu w miejscu wiążącym substrat. Akt związania powoduje (indukuje) zmianę konformacji przestrzennej zarówno substratu, jak i enzymu (szczególnie otworzenie się jego centrum aktywnego). Następuje także wzajemne dopasowanie struktury enzymu i substratu, iż ten ostatni uzyskuje kontakt z centrum aktywnym, co umożliwia zajście reakcji, czyli przekształcenie substratu w produkt. Ponieważ struktura produktu nie pasuje do centrum aktywnego, zostaje on uwolniony z enzymu, który zdolny jest do związania kolejnej cząsteczki substratu.

Z reguły mechanizm reakcji enzymatycznej jest bardziej skomplikowany od opisanego powyżej. W reakcji takiej może brać udział wiele substratów, produktów i koenzymów. Poza tym opisane etapy mogą składać się z wielu podetapów, a przekształcenie substratu w produkt może zachodzić poprzez szereg metabolitów pośrednich.

## **1.2 Modyfikacja aktywności enzymów**

Szybkość reakcji enzymatycznej zależy od wielu czynników. Dotyczy to także reakcji katalizowanych przez katalizatory nieorganiczne, których szybkość może zależeć od różnych właściwości fizycznych i chemicznych środowiska, gdzie reakcje te zachodzą (na przykład od temperatury, pH lub stężenia substratu). Jednakże i tutaj można dostrzec wyraźne różnice pomiędzy enzymami i katalizatorami nieorganicznymi. Wyróżnimy dwie podstawowe różnice:

- odmienna zależność szybkości reakcji od natężenia czynnika; o ile szybkość reakcji przeprowadzanej przez katalizator nieorganiczny jest wprost proporcjonalna do wielkości takich parametrów, jak temperatura czy stężenie substratu (to znaczy zachodzi relacja: im większe natężenie czynnika, tym szybsza reakcja), to zależność reakcji enzymatycznej od wspomnianych parametrów wykazuje zazwyczaj pewne optimum (oznacza to, że dla optymalnego natężenia danego czynnika szybkość reakcji jest najwyższa, natomiast gdy natężenie czynnika jest mniejsze lub większe od optymalnego, szybkość reakcji spada), lub nasycenie (powyżej pewnej wartości natężenia czynnika szybkość reakcji nie rośnie dalej, lecz pozostaje stała);
- specyficzna regulacja aktywności; aktywność wielu enzymów jest modyfikowana przez specyficzne dla nich aktywatory (związki przyspieszające reakcję enzymatyczną) lub inhibitory (związki hamujące tę reakcję); naturalnie obecne w komórce aktywatory i inhibitory są odpowiedzialne za celową regulację aktywności enzymatycznej, mającą na celu dostosowanie szybkości syntezy i rozkładu rozmaitych metabolitów do potrzeb komórki; znanych jest również wiele sztucznych inhibitorów, nie występujących w warunkach fizjologicznych w komórce.

Poniżej omówimy bardziej szczegółowo najważniejsze czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznych.

### **1.2.1 Wpływ temperatury**

Intensywność wszystkich procesów fizycznych i chemicznych wzrasta 2– do 3–krotnie przy wzroście temperatury o każde 10°C

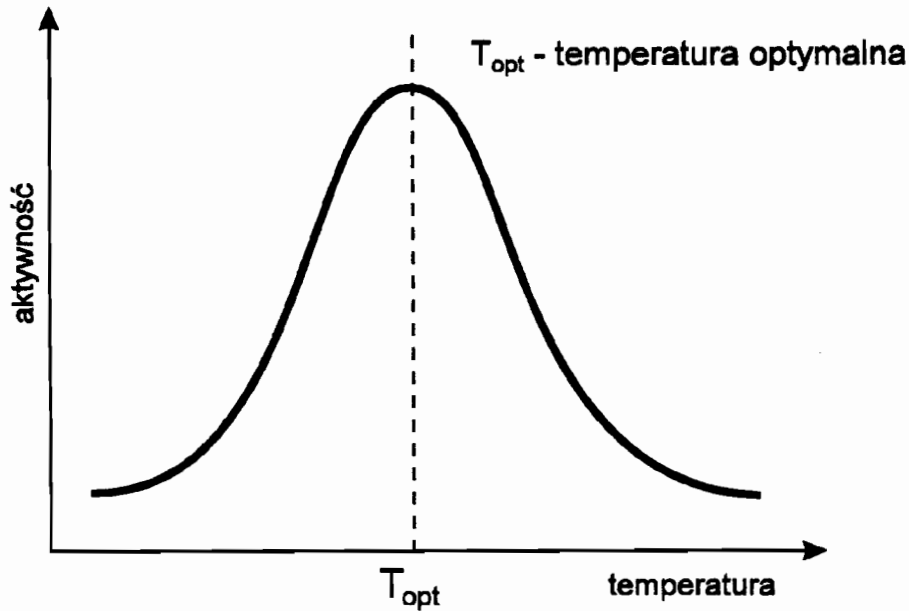


(jest to spowodowane wzrostem energii kinetycznej cząsteczek). Dotyczy to także reakcji enzymatycznych. Jednakże, jak pamiętamy, wszystkie enzymy są białkami. Posiadają one zatem określoną strukturę drugo-, trzecio- i czwartorzędową (łańcuch peptydowy w białku jest zwinięty w charakterystyczny dla danego białka sposób i ewentualnie połączony z innymi łańcuchami). W wyższych temperaturach (dla większości białek jest to 40–50°C) następuje zaburzenie natywnej (tzn. naturalnej, funkcjonalnej) przestrzennej struktury białka (głównie z powodu pęknięcia mostków siarczkowych) – łańcuchy peptydowe rozwijają się, tworząc kłębek statystyczny (nazwany tak ze względu na przypadkowe ułożenie łańcucha w przestrzeni), a białka złożone z podjednostek rozpadają się na te podjednostki. Proces ten nazywamy **denaturacją**. Ze względu na specyficzną strukturę centrum aktywnego, miejsca wiążącego substrat itd., tylko białko w formie natywnej wykazuje aktywność katalityczną. Zatem, po przekroczeniu pewnego progu temperatury, liczba aktywnych cząsteczek enzymu zmniejsza się ze wzrostem temperatury, co oczywiście powoduje spadek szybkości katalizowanej przez ten enzym reakcji.

Nakładanie się na siebie tych dwóch efektów, a mianowicie wzrostu szybkości reakcji z temperaturą i spadku (po przekroczeniu temperatury denaturacji) ilości aktywnych cząsteczek enzymu, katalizujących tą reakcję, prowadzi do tego, że istnieje temperatura optymalna ( $T_{opt}$ ), w której szybkość reakcji jest najwyższa. Wykres zależności aktywności od temperatury dla typowego enzymu przedstawia rycina 1.3.

Poniżej  $T_{opt}$  szybkość reakcji jest niższa, ponieważ reagujące cząsteczki nie mają jeszcze wystarczającej energii kinetycznej, natomiast powyżej temperatury optymalnej proces przemiany enzymatycznej zostaje spowolniony na skutek inaktywacji enzymu w procesie denaturacji termicznej (spowodowanej wysoką temperaturą).

Jak wspomnieliśmy, większość enzymów zaczyna denaturować w temperaturze 40–50°C. Jednakże u organizmów ze strefy polarnej temperatura denaturacji białek może być niższa, a u bakterii żyjących w gorących źródłach (gdzie temperatura dochodzi często do 100°C) – znacznie wyższa.



Ryc. 1.3

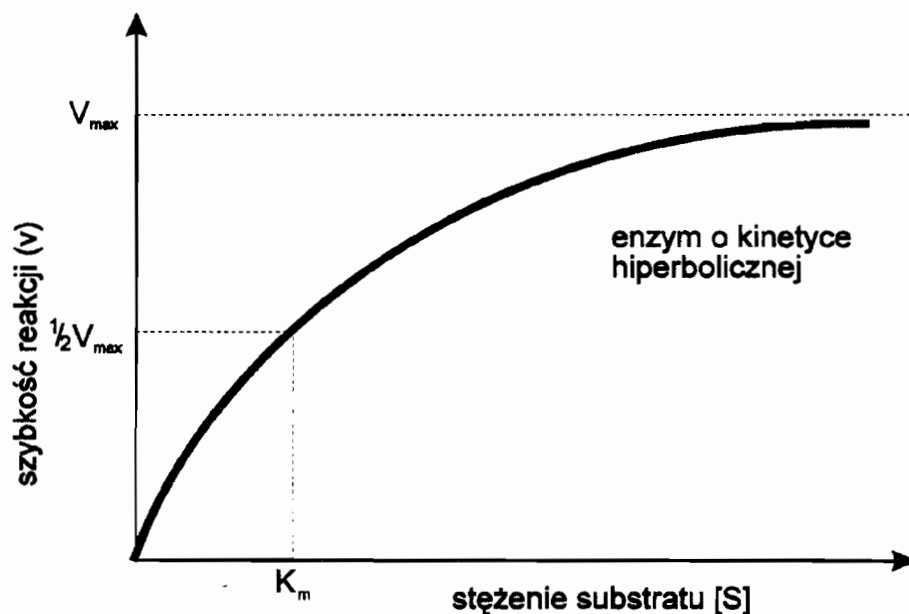
### 1.2.2 Wpływ pH

Enzymy mają także optymalną wartość odczynu (pH), dla którego katalizowane przez nie reakcje zachodzą najszybciej. Wpływ stężenia jonów  $H^+$  na aktywność enzymów bierze się stąd, że jony te stanowią substrat lub produkt wielu reakcji, decydują o ładunku różnych cząsteczek, odczyn zbyt kwaśny lub zbyt zasadowy może powodować denaturację enzymu itd. Optimum pH dla danego enzymu pokrywa się z reguły z odczynem środowiska, w którym ten enzym normalnie występuje. Jako że odczyn w komórkach jest zbliżony do obojętnego (pH około 7), większość enzymów wewnątrzkomórkowych preferuje środowisko o takim odczynie. Natomiast enzymy funkcjonujące poza komórkami, na przykład enzymy trawienne, mogą mieć bardzo różny odczyn optymalny. Na przykład pepsyna, rozkładająca białka w żołądku, w środowisku silnie kwaśnym, najlepiej pracuje w  $pH = 2$ , natomiast występująca w dwunastnicy trypsina, gdzie panuje odczyn zasadowy, ma optimum przy  $pH = 8.5$ .

### 1.2.3 Wpływ stężenia substratu

W prostej reakcji chemicznej przedstawionej na schemacie 1.1, etapem determinującym szybkość reakcji jest reakcja druga, czyli rozpad kompleksu enzym – substrat (ES) z uwolnieniem produktu (P). Prędkość uwalniania produktu zależy liniowo od stężenia wspomnianego kompleksu. Z kolei stężenie tego kompleksu zależy od stężenia substratu. Enzym, którego całkowita ilość jest oczywiście stała, może występować w dwóch formach: jako wolny enzym (E) i jako kompleks enzym – substrat. Im więcej jest substratu, tym szybciej następuje wiązanie wolnego enzymu w kompleks enzym – substrat, a więc tym większe jest stężenie tego ostatniego. Kiedy jednak praktycznie cały enzym jest związany w kompleks ES, dalsze zwiększanie stężenia substratu nie prowadzi do zwiększenia ilości tego kompleksu ze względu na ograniczoną ilość cząsteczek enzymu. Ponieważ, jak wspomnieliśmy, szybkość reakcji enzymatycznej jest proporcjonalna do stężenia ES, także ta szybkość nie może dalej rosnąć. Mówimy, iż w takiej sytuacji enzym jest nasycony substratem. Ilustruje to poniższa rycina, na której przedstawiona została zależność szybkości reakcji enzymatycznej od stężenia substratu.

Ryc. 1.4



Z zależności tej wynika, iż istnieje pewna szybkość maksymalna

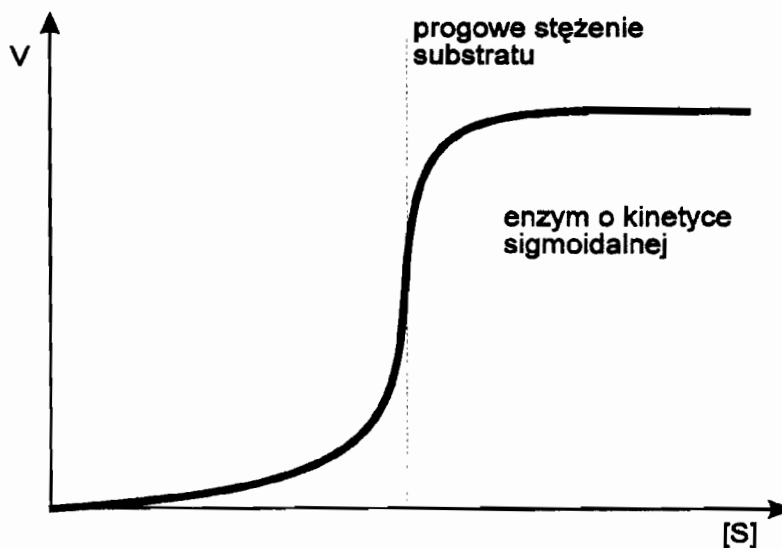
reakcji enzymatycznej ( $V_{\max}$ ), której nie można przekroczyć zwiększając  $[S]$ . Stężenie substratu, dla którego szybkość reakcji równa jest połowie szybkości maksymalnej, nazywamy stałą Michaelisa – Menten ( $K_m$ ). Jest ona wielkością charakterystyczną dla różnych enzymów i ich substratów.

Równanie, opisujące szybkość ( $v$ ) omawianej reakcji enzymatycznej, ma postać:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Schemat 1.2

Zależność aktywności enzymu od stężenia jego substratów, produktów, inhibitorów itp. nazywamy kinetyką enzymu. Wyżej przedstawiona kinetyka nosi nazwę kinetyki hiperbolicznej. Niektóre enzymy posiadają inny typ kinetyki, mianowicie kinetykę sigmoidalną, gdzie istnieje pewne progowe stężenie substratu, powyżej którego szybkość reakcji gwałtownie wzrasta (ilustruje to poniższa rycina).



Ryc. 1.5

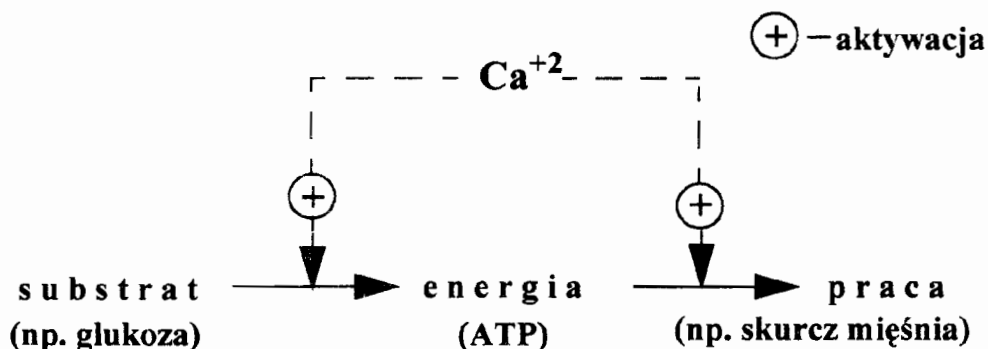
Kinetyka sigmoidalna jest charakterystyczna dla enzymów zbudowanych z wielu podjednostek, pomiędzy którymi zachodzi kooperacja (oznacza to, że związanie substratu przez jedną z pod-

jednostek przyspiesza wiązanie substratu przez pozostałe). Enzymy takie często odpowiedzialne są za regulację szybkości przepływu metabolitów przez drogi metaboliczne (mała zmiana stężenia substratu w rejonie stężenia progowego może znacznie przyspieszyć lub opóźnić reakcję).

Omówione kinetyki dotyczą reakcji enzymatycznych z jednym substratem. Reakcje z wieloma substratami mają bardziej skomplikowane kinetyki.

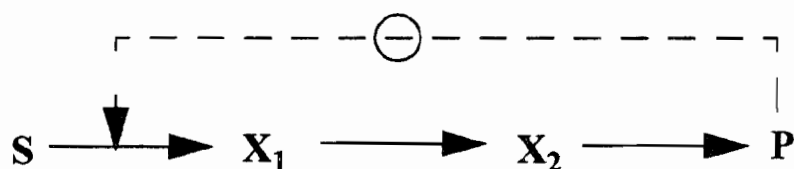
### 1.2.4 Wpływ modyfikatorów (inhibitorów i aktywatorów)

Szybkość reakcji enzymatycznych w organizmach żywych podlega regulacji w celu dopasowania produkcji i rozkładu różnych metabolitów do potrzeb komórki. Regulacji podlegają te enzymy w szlakach metabolicznych, które jako "wąskie gardła" ograniczają szybkość przepływu metabolitów przez cały szlak (mówimy, iż mają one dużą kontrolę metaboliczną nad strumieniem przepływu). Enzymy takie są najczęściej zlokalizowane na początku dróg metabolicznych lub przy ich rozgałęzieniu. Czynnikiem regulacyjnym, modyfikatorami aktywności enzymów, są często metabolity pośrednie, będące produktami bądź substratami różnych szlaków metabolicznych. Modyfikatory dzielimy na aktywatory, które zwiększają szybkość reakcji, oraz inhibitory, hamujące przemiany metaboliczne. Na przykład, aktywatorami wielu szlaków katabolicznych są ADP,  $\text{NAD}^+$  i CoA, a inhibitorami – ATP, NADH oraz acetylo-CoA. Uniwersalnym aktywatorem wielu procesów w komórce zwierzęcej związanych z produkcją energii i wykonywaniem pracy, takich jak oddychanie, rozkład glikogenu i skurcz mięśnia, są jony wapnia ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Ich stężenie w komórce może wzrosnąć pod wpływem takich hormonów, jak adrenalina, glukagon lub wazopresyna, a także na skutek stymulacji nerwowej (na przykład przy skurczu mięśnia). Jony wapnia działają jednocześnie w wielu miejscach, aktywując równolegle wiele enzymów i szlaków metabolicznych:



Służy to do wzajemnego “dopasowania” szybkości produkcji energii (głównie w postaci ATP) i jej zużycia.

Natomiast końcowe produkty wielu szlaków są inhibitorami początkowych etapów tych szlaków (enzymów katalizujących pierwsze reakcje w szlaku):



Schemat 1.4

- ⊖ - inhibicja
- S** - substrat
- P** - produkt
- X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>** - metabolity pośrednie

W ten sposób, kiedy taki produkt obecny jest w komórce w wystarczającej ilości, daje on sygnał do zaprzestania swojej dalszej syntezy. Stanowi to przykład **sprzężenia zwrotnego ujemnego**. Tego typu mechanizm regulacyjny występuje w szlakach biosyntezy wielu aminokwasów, gdzie dany aminokwas jest inhibitorem początkowych etapów szlaku metabolicznego prowadzącego do jego powstawania.

Dotychczas mówiliśmy o inhibitorach i aktywatorach fizjologicznych, to znaczy naturalnie występujących i działających w organizmach żywych. Znanych jest jednak wiele sztucznych inhibitorów, normalnie nie występujących w komórkach, lecz służących naukow-

com jako wygodne narzędzie do celów badawczych. Należą do nich na przykład jony metali ciężkich (ołowiu, wanadu, rtęci), KCN (cyjanek potasu, groźna trucizna, inhibitor oksydazy cytochromowej), oraz chloramfenikol, hamujący syntezę białek (translację) u bakterii.

Ze względu na mechanizm działania inhibitory dzielimy na dwie zasadnicze kategorie:

- inhibitory kompetycyjne; inhibitory te wiążą się do centrum aktywnego enzymu, rywalizując z substratem o dostęp do tego centrum; szybkość reakcji enzymatycznej ulega zahamowaniu na skutek zwiększenia wartości  $K_m$ ; ten typ regulacji zwany jest czasem regulacją izosteryczną;
- inhibitory niekompetycyjne; wiążą się one z inną częścią cząsteczki enzymu, często z centrum allosterycznym; inhibicja polega tu na obniżeniu wartości  $V_{max}$ ; jest to przykład regulacji allosterycznej (to znaczy, odbywającej się poza miejscem wiązania substratu).

### 1.3 Klasyfikacja enzymów

Enzymy podzielono na sześć głównych grup, oznaczonych numerami od 1 do 6:

1. oksydoreduktazy – enzymy katalizujące reakcje utleniania i redukcji;
2. transferazy – enzymy katalizujące przenoszenie grup chemicznych pomiędzy różnymi związkami (z jednej cząsteczki na drugą);
3. hydrolazy – enzymy katalizujące rozpad wiązań chemicznych z udziałem cząsteczki wody;
4. liazy – enzymy katalizujące rozpad wiązań chemicznych bez udziału cząsteczki wody;
5. izomerazy – enzymy katalizujące przekształcenia wewnątrzcząsteczkowe (zmianę jednego izomeru w drugi);
6. ligazy – enzymy katalizujące syntezę wiązań pomiędzy substratami (łączenie substratów w jeden związek).

W każdej z wymienionych grup wyróżniamy podgrupy, których symbol złożony jest z dwóch cyfr, na przykład podgrupa 1.1 to oksydoreduktazy działające na grupę CH–OH. W podgrupach wyróżniamy podgrupy niższego rzędu, oznaczone trzema cyframi; podgrupy te zawierają poszczególne enzymy. Każdemu z nich odpowiada "nazwa" złożona z czterech cyfr. Na przykład symbol 1.1.1.1 oznacza dehydrogenazę alkoholową, a symbol 4.1.1.2 – dekarboksylazę szczawianową. Tego rodzaju klasyfikacja pozwoliła ujednoczyć nomenklaturę enzymów.

## **1.4 Metabolizm jako suma reakcji enzymatycznych**

Praktycznie całe funkcjonowanie żywej komórki, jej wzrost, podział i różnicowanie się, produkcja energii oraz synteza związków organicznych jest pochodną zachodzących w niej reakcji enzymatycznych (oraz kilku prostych procesów fizycznych, takich jak dyfuzja czy osmoza). Do reakcji enzymatycznych zaliczamy tutaj, oprócz procesów katalizowanych przez enzymy w ścisłym znaczeniu tego słowa, także procesy transportu metabolitów (w których pośredniczą podobne do enzymów białka, zwane nośnikami) przez rozmaite błony białkowo – lipidowe obecne w komórce. Enzymy odpowiedzialne są za sporządzanie kopii informacji genetycznej (zakodowanej w DNA), rozdzielanych w czasie podziału komórki do komórek potomnych; za "odczytywanie" tej informacji i syntezę na jej podstawie wszystkich białek wchodzących w skład żywej komórki, w tym także samych enzymów; za syntezę innych związków budulcowych, takich jak tłuszcze i węglowodany; za produkcję energii i jej zużytkowanie na napędzanie różnych procesów, za pracę mechaniczną – ruch witki i wrzeciona podziałowego, skurcz mięśnia; za przewodzenie impulsów nerwowych i za wiele innych procesów.

Wszystkie wymienione wyżej funkcje enzymów odpowiadają cechom, jakie uważamy za charakterystyczne dla organizmów żywych. Istota życia nie jest zatem niczym tajemniczym ani nadprzyrodzonym – sprowadza się ona do pewnego, bardzo skomplikowa-



nego systemu reakcji metabolicznych, tak ukształtowanego przez ewolucję, aby był on zdolny do przetrwania w otaczającym go środowisku oraz do pozostawienia możliwie dużej liczby podobnych do niego systemów potomnych (przez system rozumiemy tu pewną całość, materialnie i funkcjonalnie wyodrębnioną ze środowiska). Oznacza to, iż zachowanie się komórki jako całości da się wyprowadzić poprzez złożenie razem poszczególnych reakcji enzymatycznych (filozoficzny pogląd, że funkcjonowanie całego systemu da się sprowadzić do funkcjonowania jego elementów, nazywamy redukcjonizmem). "Złożenie" metabolizmu z jego elementów nie jest jeszcze możliwe praktycznie w odniesieniu do całej komórki, ze względu na ogromną liczbę procesów zachodzących w komórce. Zostało to jednak dokonane dla wielu szlaków metabolicznych, takich jak glikoliza, fosforylacja oksydacyjna lub przemiana energii w czerwonych ciałkach krwi (erytrocytach).

Aby całkowicie opisać funkcjonowanie jakiegoś układu biochemicznego, trzeba znać wszystkie składające się na ten układ enzymy i reakcje, stężenia substratów, produktów oraz metabolitów pośrednich, a także kinetyki reakcji enzymatycznych (to znaczy ich zależność od stężenia substratów, produktów, inhibitorów i aktywatorów). Dane te służą do zbudowania modelu matematycznego badanego systemu. W celu symulowania zachowania się takiego systemu, zmianę w czasie wszystkich wchodzących w skład tego systemu parametrów (np. stężenia poszczególnych metabolitów) opisuje się za pomocą układu równań różniczkowych. Do przeprowadzania symulacji (a więc do naśladowania funkcjonowania układu jako całości, przede wszystkim jego zmian w czasie pod wpływem bodźców zewnętrznych) używa się komputera (który rozwiązuje wspomniany układ równań różniczkowych). Zbudowanie modelu systemu biochemicznego, który wiernie naśladuje funkcjonowanie tego systemu, stanowi istotny dowód na to, że naprawdę rozumiemy, jak ten system działa.

# Niektóre związki istotne dla metabolizmu komórki

---

W metabolizmie komórki uczestniczy ogromna liczba związków chemicznych – enzymów, koenzymów oraz metabolitów, czyli związków podlegających przemianom. Wszystkie one odgrywają ważną rolę w funkcjonowaniu komórki. Możemy jednak wśród nich wyróżnić kilka grup związków o specjalnej funkcji, uczestniczących w produkcji i przemianach energii. Grupy te to:

- nośniki energii (ATP, fosfokreatyna),
- koenzymy enzymów w różnych szlakach metabolicznych (NAD, NADP, FMN, FAD, CoA),
- składniki łańcucha oddechowego i fotosyntetycznego,
- barwniki fotosyntetyczne.

Ponizej omówimy kolejno te grupy.

## 2.1 Nośniki energii

### 2.1.1 ATP

Najbardziej rozpowszechnionym nośnikiem energii w komórce jest **adenozynotrójfosforan (ATP)**. ATP jest **nukleotydem**, czyli związkem składającym się z trzech części:

1. zasady azotowej, pochodnej puryny lub pirymidyny,
2. monosacharydu (cukru prostego),
3. jednej lub więcej grup fosforanowych.

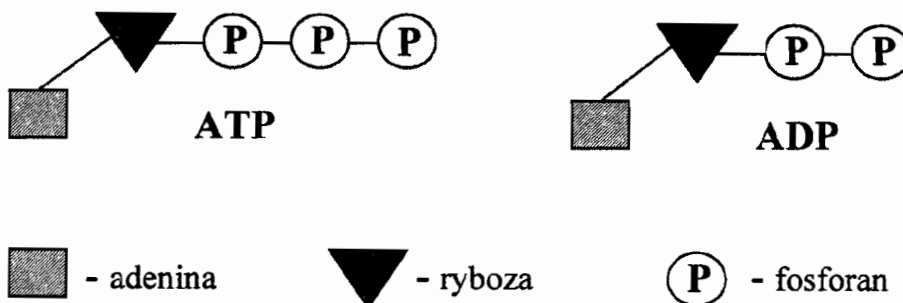
ATP zawiera (jak wskazuje jego nazwa) 3 grupy fosforanowe. Powstaje on przez przyłączenie fosforanu nieorganicznego ( $P_i$ ) do adenosynodwufosforanu (ADP). Reakcja ta jest odwracalna, albowiem ATP może ulec hydrolizie na ADP i  $P_i$ :



Schemat 2.1

Hydroliza ATP wiąże się z wyzwoleniem dużych ilości energii (szczegóły omówione są w rozdziale 3), natomiast synteza tego związku wymaga dostarczenia energii. Dlatego ATP jest uniwersalnym przenośnikiem energii w komórce, biorącym udział w ogromnej ilości przemian, zarówno w reakcjach produkujących energię, jak i reakcjach, które wymagają energii do swego przebiegu.

Schemat budowy ATP i ADP przedstawia następująca rycina:



Ryc. 2.1

Widzimy na niej, że oba nukleotydy zbudowane są z adeniny (zasada azotowa), rybozy (pięciowęglowy cukier prosty) oraz dwóch lub trzech grup fosforanowych. ATP i ADP zwane są nukleotydami adenyłowymi ze względu na posiadaną zasadę azotową. Znamy także analogiczne do nich nukleotydy guanylowe (GTP i GDP, zawierające guaninę), cytydylowe (CTP i CDP, zawierające cytozynę) oraz urydylowe (UTP i UDP, zawierające uracyl). Nukleotydy te, jako nośniki energii, odgrywają o wiele mniejszą rolę niż ATP i występują w znacznie niższych stężeniach. Wszystkie wymienione nukleotydy (adenylowe, guanylowe, cytydylowe i urydylowe) wchodzi w skład kwasów nukleinowych. Nukleotydy będące składnikami kwasu rybonukleinowego (RNA) zawierają cukier rybozę, natomiast nukleotydy budujące kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) – dezoksyrybozę (w DNA uracyl jest zastąpiony przez tyminę). Nazwa nukleotydów zawierających dezoksyrybozę zawiera literę “d” na początku, na przykład: dATP. Niektóre nukleotydy pełnią specyficzne role, na przykład UTP i UDP uczestniczą w syntezie wielocukrów.

W komórkach występuje także adenozymonofosforan (AMP), będący produktem odwracalnej przemiany dwóch cząsteczek ADP w ATP i AMP czyli przeniesienia fosforanu z jednej cząsteczki ADP na drugą. Zawiera on tylko jedną resztę fosforanową. AMP jest aktywatorem niektórych szlaków metabolicznych, na przykład glikolizy.

### 2.1.2 Fosfokreatyna

W mięśniach (oraz niektórych innych tkankach) dodatkowym nośnikiem energii, obok ATP, jest fosfokreatyna, której stężenie kilkakrotnie przewyższa stężenie ATP. Powstaje ona poprzez przeniesienie reszty fosforanowej z ATP na kreatynę (Cr), z uwolnieniem ADP:



Reakcja ta jest odwracalna, reszta fosforanowa może być zatem przeniesiona z powrotem z kreatyny na ADP. Główną funkcją fosfokre-

atyny jest zwiększenie puli nośników energii, a więc zasobu energii łatwo dostępnej dla komórki.

## **2.2 Koenzymy wspólne dla wielu szlaków metabolicznych**

Niektóre koenzymy biorą udział w reakcjach enzymatycznych zlokalizowanych w wielu różnych szlakach metabolicznych. Przenoszą one określone grupy chemiczne pomiędzy różnymi reakcjami, stanowią zatem ogólnie dostępną pulę tych grup. Poniżej omówimy koenzymy najistotniejsze dla metabolizmu komórki. Wszystkie one mają zbliżony schemat budowy, oparty na strukturze nukleotydu.

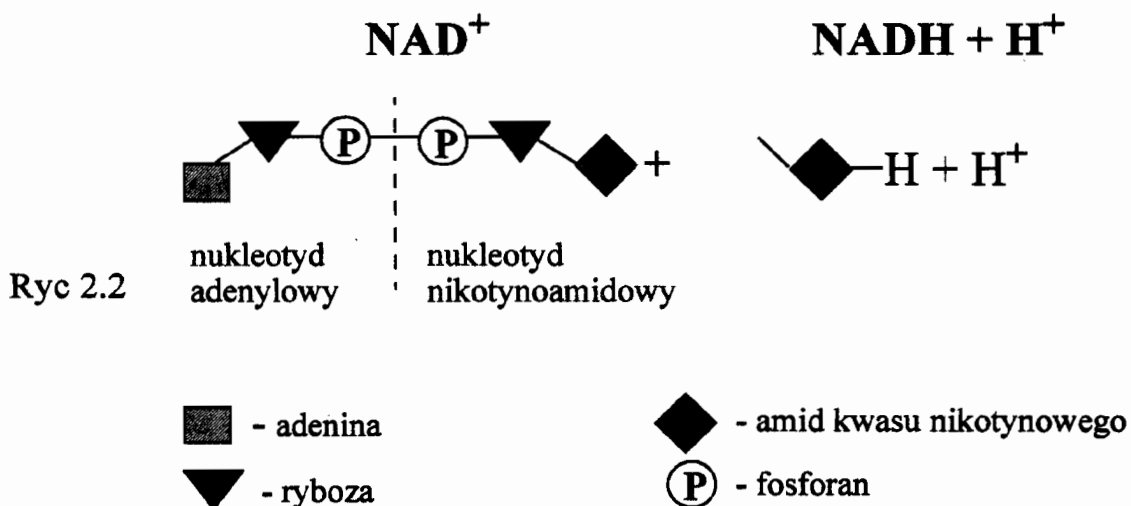
### **2.2.1 Ekwiwalenty (równoważniki) redukcyjne**

Ekwiwalenty redukcyjne swą nazwę biorą stąd, że przenoszą wodór, przekazując go na różne związki organiczne, co jest równoważne z ich redukcją. Do równoważników redukcyjnych należą: NAD (dwunukleotyd nikotynoamidoadeninowy), NADP (fosforan dwunukleotydu nikotynoamidoadeninowego), FMN (mononukleotyd flawinowy) oraz FAD (dwunukleotyd flawinowy). Związki te mogą występować w formie utlenionej oraz zredukowanej, odpowiednio:  $\text{NAD}^+$  i  $\text{NADH} + \text{H}^+$ ,  $\text{NADP}^+$  i  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , FMN i  $\text{FMNH}_2$ , FAD i  $\text{FADH}_2$ . Formy zredukowane są zdolne do oddawania wodoru na różne związki (a więc do ich redukcji), podczas gdy same ulegają utlenieniu. Biorąc NAD jako przykład ekwiwalentu redukcyjnego, reakcję tę można zapisać następująco:

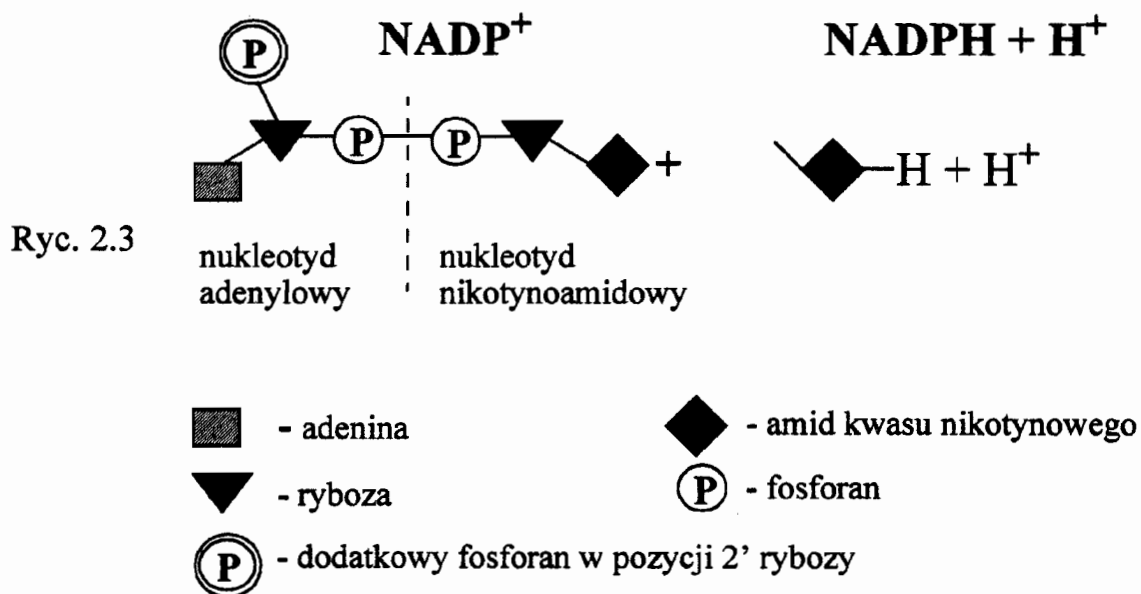


gdzie A to akceptor wodoru, czyli związek ulegający redukcji.

W innych procesach zachodzi reakcja przeciwna, to znaczy redukcja  $\text{NAD}^+$  do  $\text{NADH} + \text{H}^+$  połączona z odwodorowaniem (utlenieniem) jakiegoś donora wodoru. To samo dotyczy innych ekwiwalentów redukcyjnych.

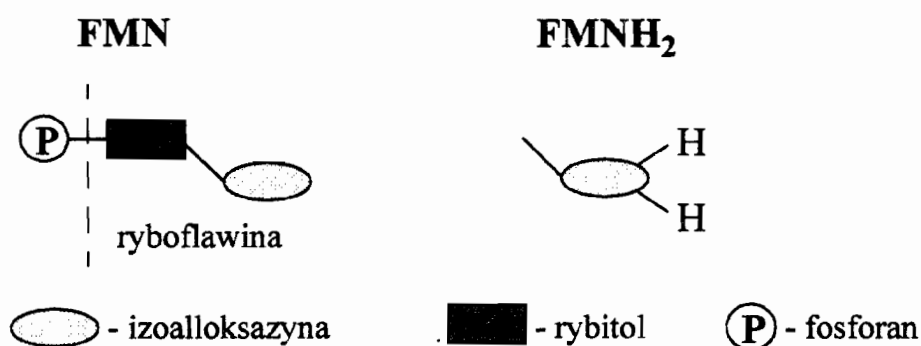


Wszystkie wymienione ekwiwalenty redukcyjne są dwunukleotydami, to znaczy związkami zbudowanymi z dwóch nukleotydów, z wyjątkiem FMN, będącego pojedynczym nukleotydem. W skład NAD (struktura tego związku jest przedstawiona na rycinie 2.2)



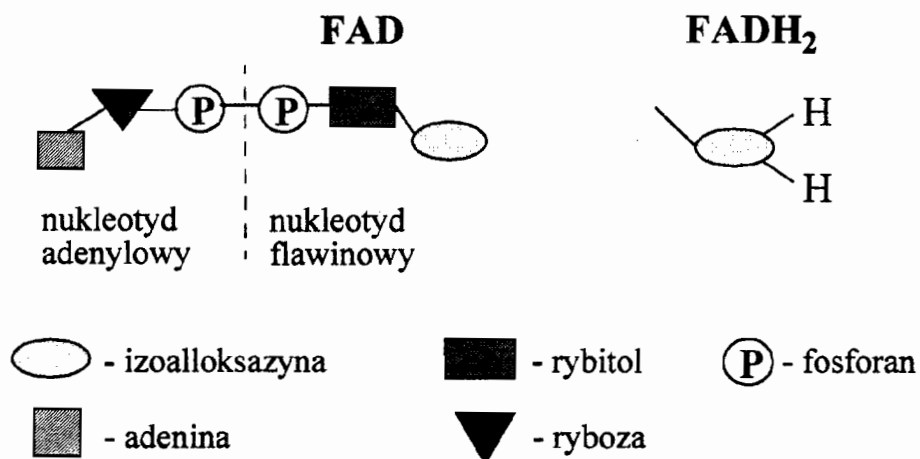
wchodzi nukleotyd adenylowy (znany nam już z ATP i ADP) oraz nukleotyd nikotynoamidowy, w którym adeninę zastępuje amid kwasu nikotynowego (on to ulega utlenieniu i redukcji poprzez odłączenie lub przyłączenie grup wodorowych). Amid kwasu nikotynowego znany jest także jako witamina PP. Struktura NADP (patrz rycina 2.3) jest analogiczna do struktury NAD, z tą różnicą, że w miejscu 2' rybozy w nukleotydzie adenylowym przyłączona jest dodatkowa reszta fosforanowa.

FMN to pojedynczy nukleotyd flawinowy (patrz rycina 2.4), składający się z izoalloksazyny (zasada azotowa), rybitolu (pięciowęglowego alkoholu występującego w miejsce monosacharydu) oraz grupy fosforanowej.



Ryc. 2.4

Połączenie dwóch pierwszych związków (izoalloksazyny i rybitolu) to ryboflawina (witamina B2). FAD jest dwunukleotydem, w którego skład wchodzi nukleotyd flawinowy oraz nukleotyd adenylowy (rycina 2.5).



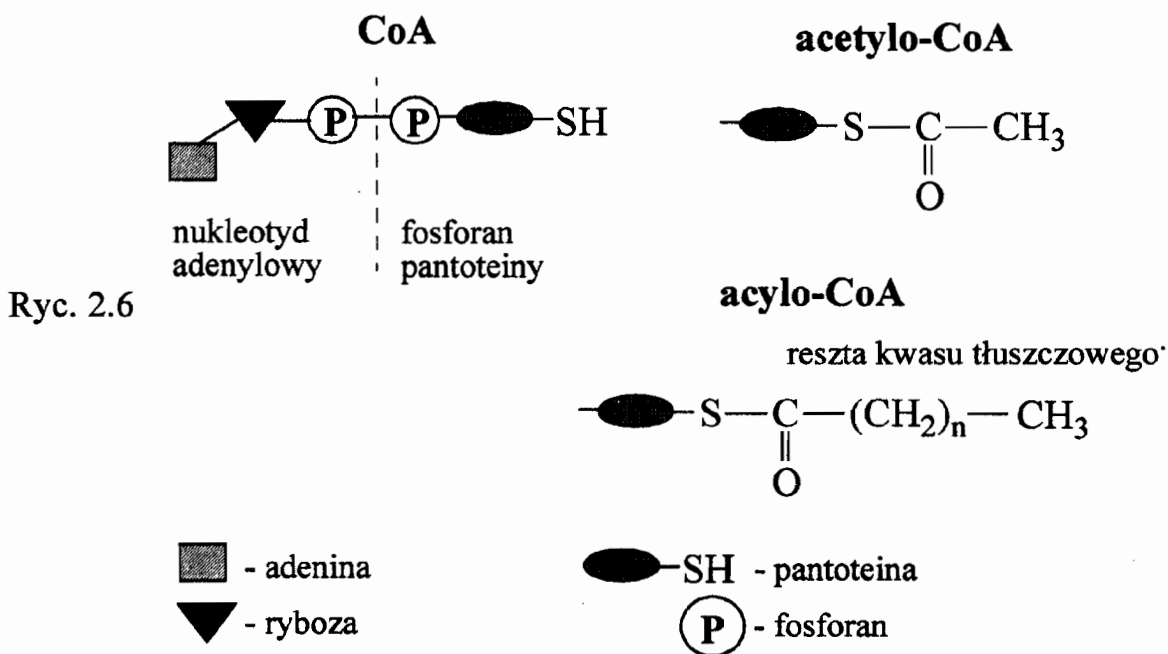
Ryc. 2.5

W obu związkach (FMN i FAD), grupą ulegającą utlenianiu i redukcji jest izoalloksazyna.

NAD jest uniwersalnym koenzymem przenoszącym wodór dla ogromnej ilości reakcji biosyntezy oraz dostarczającym wodór (protony i elektrony) dla fosforylacji oksydatywnej (konkretnie – do łańcucha oddechowego) z cyklu Krebsa i  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych. FAD także bierze udział w przenoszeniu wodoru z cyklu Krebsa i  $\beta$ -oksydacji na łańcuch oddechowy. NADP przenosi wodór pomiędzy jasną (światłą) i ciemną fazą fotosyntezy oraz bierze udział w syntezie kwasów tłuszczowych. FMN wreszcie, jako składnik kompleksu I w łańcuchu oddechowym (patrz rozdział 4), bierze udział w przenoszeniu elektronów i jonów wodorowych z NAD na UQ (ubichinon).

### Koenzym A

Koenzym A (CoA) jest koenzymem przenoszącym grupę octanową, reszty kwasów tłuszczowych oraz wiele innych podobnych związków organicznych. CoA z przyłączoną grupą octanową nazywa się **acetylo-CoA** (lub "czynny octan"), natomiast CoA wiążący resztę kwasu tłuszczowego to **acylo-CoA**. Budowę koenzymu A przedstawia poniższa rycina.





W skład tego związku wchodzi wielokrotnie już wymieniany nukleotyd adenyłowy oraz fosforan pantoteiny (będący składnikiem pantoteiny kwas pantotenowy jest witaminą z grupy witamin B). Miejscem wiążącym przenoszone grupy (grupę octanową, reszty kwasów tłuszczowych) jest grupa  $-SH$  w pantoteinie.

Koenzym A bierze udział w oddychaniu komórkowym, przenosząc (jako acetylo-CoA) grupę octanową z glikolizy i  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych do cyklu Krebsa. Zarówno acetylo-CoA, jak i acylo-CoA odgrywają podstawową rolę w utlenianiu ( $\beta$ -oksydacji) i syntezie kwasów tłuszczowych. CoA jest także koenzymem dla niektórych reakcji cyklu Krebsa i szlaku syntezy ciał ketonowych.

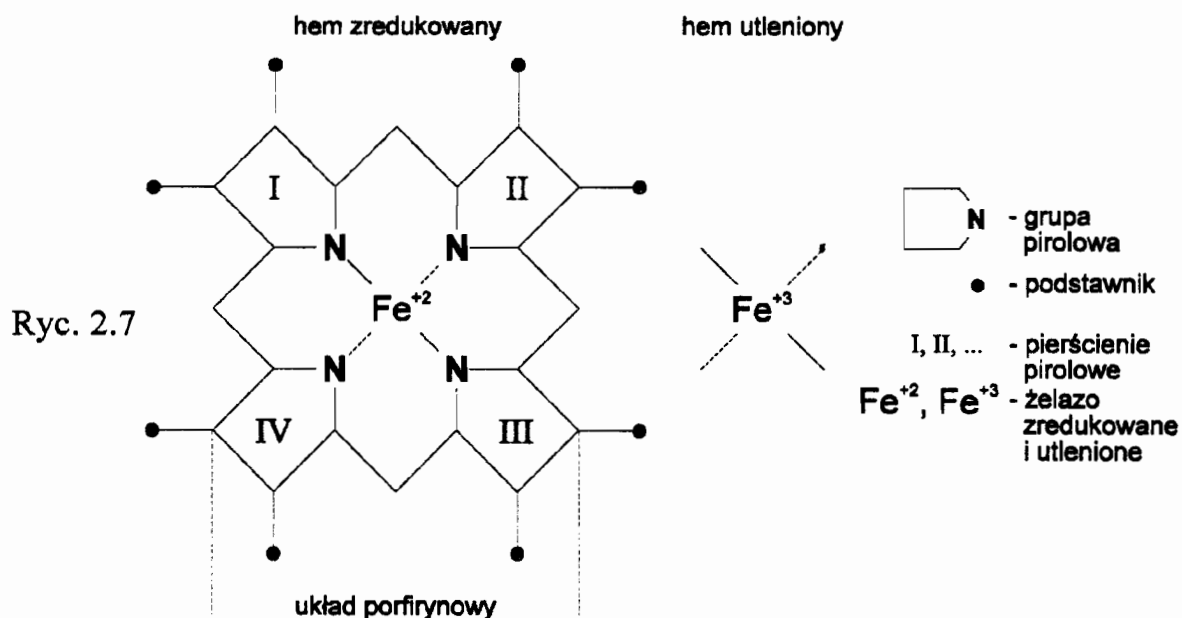
Na przykładzie budowy nośników energii (ATP), ekwiwalentów redukcyjnych (NAD, NADP, FAD, FMN), koenzymu A oraz kwasów nukleinowych (DNA i RNA) widzimy, że prosty schemat budowy nukleotydu (który jest podstawą struktury wymienionych związków) został przez organizmy żywe wykorzystany z powodzeniem do bardzo rozmaitych celów – przenoszenia energii i grup fosforanowych, wodoru, rozmaitych grup organicznych oraz do zapisu informacji genetycznej. Na tym się rola nukleotydów nie kończy. Cykliczny adenozynomonofosforan (cAMP) pełni rolę pośrednika w działaniu takich hormonów, jak glukagon (antagonista insuliny). cAMP jest nukleotydem adenyłowym zawierającym jedną grupę fosforanową, związaną do rybozy w dwóch miejscach, co prowadzi do utworzenia zamkniętego pierścienia (stąd nazwa “cykliczny”). Rola cAMP w komórce stanowi kolejny przykład umiejętności ewolucji przystosowania pewnego rodzaju prostych związków chemicznych (w tym wypadku nukleotydów) do pełnienia najrozmaitszych funkcji (innym, jeszcze bardziej spektakularnym przykładem wielości zastosowań są białka; jednakże ich budowa jest, w porównaniu z nukleotydami, o wiele bardziej złożona).

## 2.3 Elementy łańcucha transportu elektronów

W skład zarówno oddechowego, jak i fotosyntetycznego łańcucha transportu elektronów (patrz rozdział 4 i 5) wchodzi wiele związków przenoszących elektrony (niektóre z nich przenoszą także jony wodorowe  $H^+$ ), zdolnych do utlenienia i redukcji. Związki te możemy zasadniczo zaklasyfikować do trzech grup. Są to cytochromy, metaloproteidy i chinony.

### 2.3.1 Cytochromy

Cytochromy są białkami złożonymi, zawierającymi grupę prostetyczną zwaną grupą hemową. Hem jest to układ porfirynowy, złożony z czterech połączonych ze sobą pierścieni pirolowych, z centralnie związanym atomem żelaza (patrz rycina 2.7).



Żelazo może występować w formie zredukowanej ( $Fe^{2+}$ ) i utlenionej ( $Fe^{3+}$ ). Do układu hemowego (czyli porfiryny + centralny atom żelaza) mogą być dołączone różne podstawniki (podstawnikami

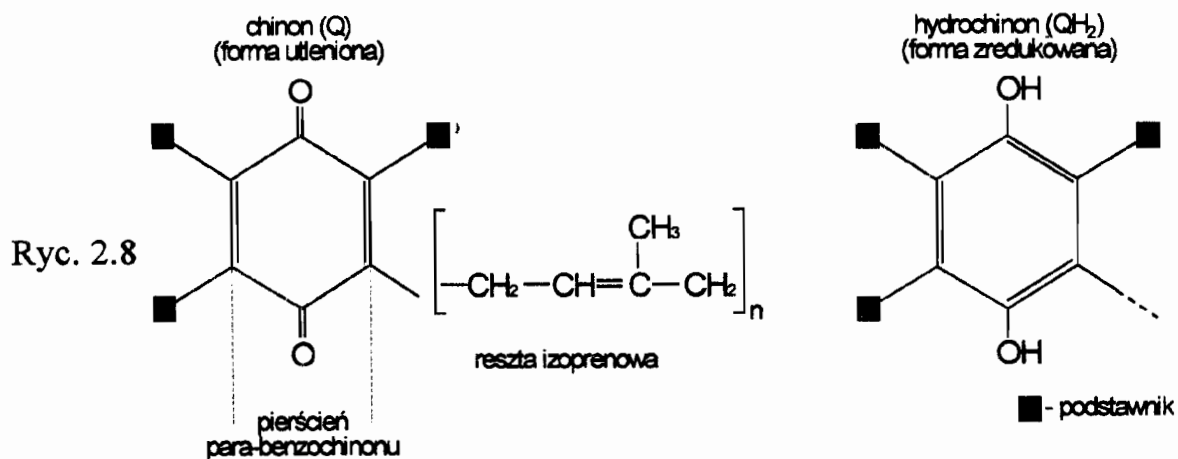
są proste grupy chemiczne, na przykład  $-\text{CH}_3$  lub  $-\text{OH}$ , które wiążą się do atomu węgla stanowiącego fragment pierścienia, zastępując wodór  $-\text{H}$ ). Ze względu na rodzaj tych podstawników (oraz na charakter części białkowej) cytochromy dzielimy na grupy. Poszczególne grupy posiadają odmienne maksima absorpcji promieniowania elektromagnetycznego (długość fali dla której następuje największe pochłanianie tego promieniowania przez cytochrom). Główne wyróżnione grupy to cytochromy a, b i c. W łańcuchu oddechowym kompleks IV tego łańcucha (oksydaza cytochromowa) zawiera dwa cytochromy z grupy a (cytochrom a i  $a_3$ ). W skład kompleksu III wchodzi dwa cytochromy b ( $b_k$  i  $b_L$ ) oraz cytochrom  $c_1$ . Łącznikiem przenoszącym elektrony pomiędzy kompleksem III i IV jest cytochrom c. W łańcuchu fotosyntetycznym kompleks bf (analogiczny do kompleksu III w łańcuchu oddechowym) zawiera dwa cytochromy b i cytochrom f (w miejsce cytochromu  $c_1$ ).

### 2.3.2 Metaloproteidy

W metaloproteidach grupą prostetyczną jest związany atom metalu. W łańcuchu transportu elektronów występują żelazoproteidy i miedzioproteidy (zawierające, odpowiednio, żelazo i miedź). Do pierwszej grupy (zawierającej tzw. żelazo niehemowe, związane do grupy  $-\text{SH}$  aminokwasu cysteiny) należą kompleksy I, II i III w łańcuchu oddechowym oraz ferredoksyna w łańcuchu fotosyntetycznym. Jony miedzi zawiera oksydaza cytochromowa (kompleks IV łańcucha oddechowego) oraz plastocyjanina (składnik łańcucha fotosyntetycznego). Jony metali w metaloproteidach, podobnie jak żelazo hemowe, uczestniczą w reakcjach oksydoredukcyjnych, przenosząc elektrony w łańcuchu transportu elektronów.

### 2.3.3 Chinony

Chinony występujące w łańcuchach transportu elektronów są związkami złożonymi z pierścienia para-benzochinonu i łańcucha bocznego, złożonego z pewnej liczby reszt izoprenowych (rycina 2.8).



Do pierścienia przyłączone są także różne podstawniki. Zredukowaną formą chinonu jest hydrochinon.

Ubichinon (UQ, CoQ, koenzym Q), przenoszący w łańcuchu oddechowym elektrony z kompleksu I i II na kompleks III, ma 10 reszt izoprenowych. Będący składnikiem łańcucha fotosyntezy plastochinon (PQ) różni się od niego podstawnikami i długością łańcucha bocznego (9 reszt izoprenowych). Przenosi elektrony z fotosystemu II na kompleks bf.

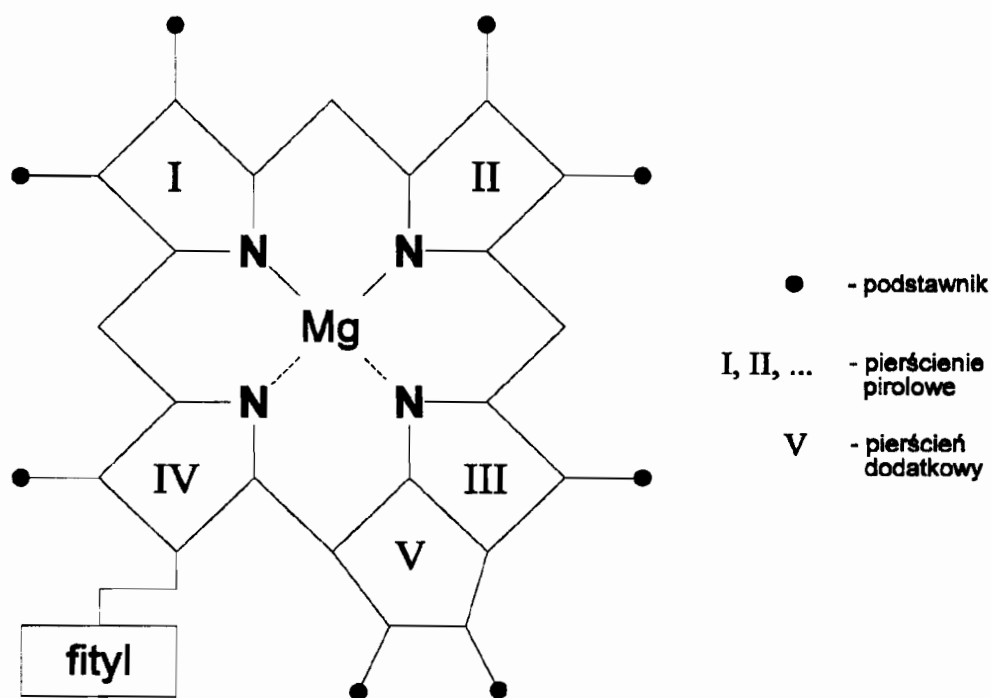
## 2.4 Barwniki fotosyntetyczne

### 2.4.1 Chlorofil

Głównym barwnikiem fotosyntetycznym jest chlorofil, posiadający barwę zieloną (on to nadaje kolor liściom). Jego strukturę przedstawia rycina 2.9.

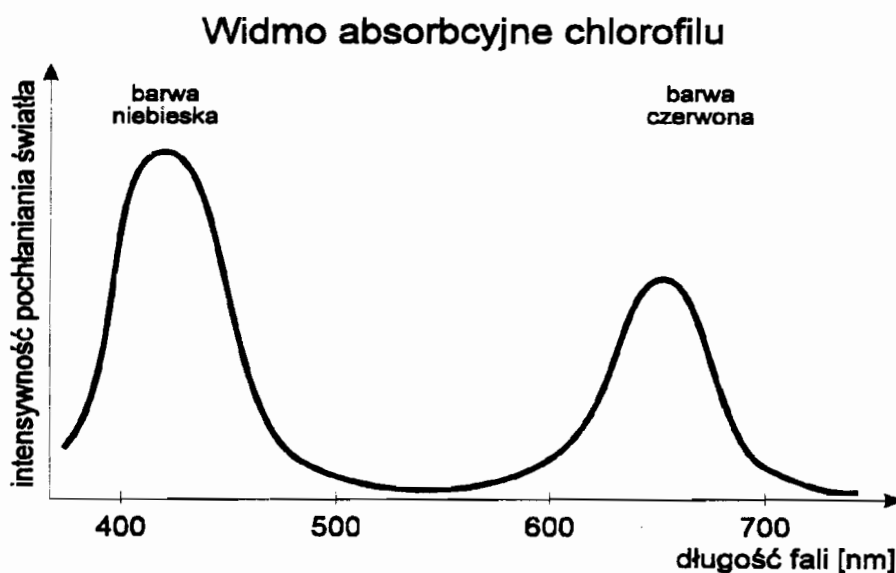
Podobnie jak grupa hemowa w cytochromach, chlorofil składa się z układu porfiryнового, zbudowanego z czterech pierścieni pirolowych, do których przyłączone są różne podstawniki. Atomem centralnym jest jednak, w odróżnieniu od hemu, magnez. Do czwartego pierścienia pirolowego związany jest alkohol fitylowy, zawierający 20 atomów węgla. Poza tym, w cząsteczce chlorofilu

występuje dodatkowy, piąty pierścień.



Ryc. 2.9

Widmo absorcyjne chlorofilu wykazuje 2 szczyty (maksima), jeden w czerwonej i jeden w niebieskiej części promieniowania widzialnego (patrz rycina 2.10).



Ryc. 2.10

Odpowiadające tym szczytom długości fali elektromagnetycznej są najbardziej wydajne w procesie fotosyntezy. Rolą chlorofilu jest pochłanianie kwantów promieniowania widzialnego (przede wszystkim o długości fal odpowiadającej maksimum absorpcji) oraz przekształcanie energii tego promieniowania (za pośrednictwem łańcucha fotosyntetycznego) w energię wiązań chemicznych w ATP i NADPH (to, na czym polega energia wiązań chemicznych, jest omówione w rozdziale 3).

W roślinach występuje chlorofil **a** i chlorofil **b**, natomiast w bakteriiach fotosyntetyzujących – bakteriochlorofil. Różnią się one między sobą podstawnikami oraz maksimumami absorpcji fali świetlnej (to ostatnie powoduje pewne różnice w barwie, na przykład chlorofil **a** jest nieco niebieskozielony, natomiast chlorofil **b** ma odcień żółtozielony). Układ porfirynowy, oprócz cytochromów i chlorofilu, występuje także w hemoglobinie (jest to, podobnie jak w cytochromach, grupa hemowa), gdzie bierze udział w wiązaniu tlenu. Układ ten jest więc, podobnie jak nukleotydy, przykładem wykorzystania tego samego planu budowy do rozmaitych celów.

## 2.4.2 Pomocnicze barwniki fotosyntetyczne

Chlorofil spełnia podstawową rolę w procesie fotosyntezy. Oprócz niego występuje szereg pomocniczych barwników fotosyntetycznych. U roślin zielonych są nimi karotenoidy (pomańczowe karoteny i żółte ksantofile), u sinic i krasnorostów – fikobiliny (czerwona fikocerytryna i niebieska fikocyjanina), a u brunatnic – brązowa fukoksantyna. Karoten jest barwnikiem nadającym barwę marchwi.

Pomocnicze barwniki fotosyntetyczne spełniają dwa główne zadania:

- wspomagają chlorofil w absorpcji promieniowania; są, obok chlorofilu, składnikami anten (kompleksów) zbierających światło;
- chronią chlorofil przed uszkodzeniami chemicznymi.

# Zarys przemian energetycznych w komórce

---

## 3.1 Przemiany kataboliczne i anaboliczne

Każda żywa komórka, aby: pełnić swoje funkcje, rosnąć, różnicować się i ulegać podziałom, potrzebuje dwóch rzeczy: energii oraz substancji budulcowych. Energia jest niezbędna do wykonywania takich zadań, jak: skurcz mięśnia, przewodzenie sygnałów nerwowych, produkcja i wydzielanie hormonów lub enzymów trawiennych, wprawienie w ruch wrzeciona podziałowego oraz wielu innych. Zużytkowanie energii wymaga także syntezy związków organicznych, z których komórka jest zbudowana i które umożliwiają jej funkcjonowanie, takich jak białka, kwasy nukleinowe, cukry i tłuszcze. Za budulec służą organizmom rozmaite, pobierane ze środowiska, substancje nieorganiczne i organiczne, natomiast źródłem energii mogą być bądź związki chemiczne (nieorganiczne lub organiczne), bądź promieniowanie świetlne. Różne organizmy korzystają z różnych substancji budulcowych i źródeł energii. Stanowi to podstawę do podziału świata żywego na:

- **autotrofy** – substancjami budulcowymi, pobieranymi ze środo-

wiska, są u nich związki nieorganiczne; z nich syntetyzowane są substancje organiczne, z których zbudowany jest organizm; autotrofy dzielimy na:

- a. chemoautotrofy – źródłem energii są związki nieorganiczne,
- b. fotoautotrofy – źródłem energii jest promieniowanie świetlne, emitowane przez Słońce;
- **heterotrofy** – pobierają one ze środowiska głównie związki organiczne, służące im zarówno jako źródło energii, jak i substancje budulcowe.

Odpowiednio, przemiany metaboliczne w komórce możemy podzielić na dwa rodzaje:

- **przemiany kataboliczne** – prowadzą one do rozkładu związków organicznych na substancje nieorganiczne lub prostsze związki organiczne; ich skutkiem jest produkcja energii, głównie w postaci ATP;
- **przemiany anaboliczne** – prowadzą do syntezy związków organicznych z substancji nieorganicznych lub prostszych związków organicznych, zużywając energię w postaci ATP dostarczaną przez fotosyntezę, chemosyntezę lub przemiany kataboliczne.

### 3.1.1 Przemiany kataboliczne

Do przemian katabolicznych zaliczamy następujące procesy:

- **oddychanie tlenowe** – w procesie tym rozmaite substancje organiczne są utleniane głównie do dwutlenku węgla i wody;
- **fermentacja** – przemiana ta prowadzi do rozkładu cukrów na prostsze związki organiczne, takie jak kwas mlekowy, kwas octowy, kwas masłowy lub alkohol etylowy.

Utlenianie biologiczne, którego przykładami są przytoczone procesy, jest zjawiskiem analogicznym do prostego utleniania chemicznego. Jeżeli w piecu spalimy węgiel, to, przy stałym dopływie tlenu, otrzymamy dwutlenek węgla ( $\text{CO}_2$ ) oraz duże ilości ciepła. Gdybyśmy zamiast węgla użyli glukozy lub tłuszczu (jak, na przykład, w lampce oliwnej), jako produkt spalania otrzymalibyśmy, oprócz dwutlenku węgla, także wodę ( $\text{H}_2\text{O}$ ), jako że wspomniane związki organiczne zawierają wodór. Dokładnie takie same rodzaje paliwa (cukry, tłuszcze, a także białka i inne związki) są utleniane

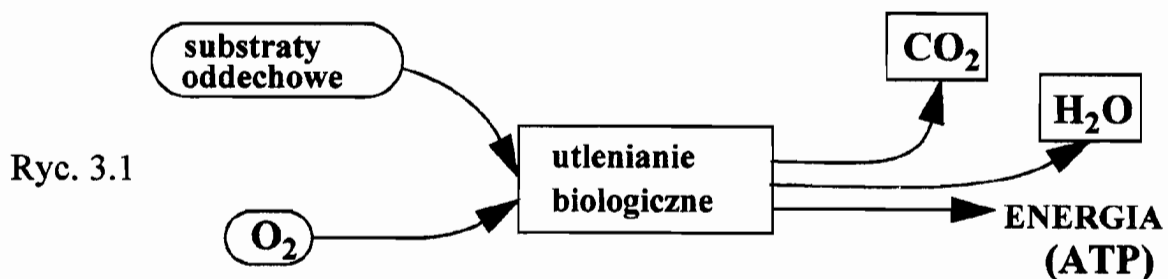


przez żywe komórki i składające się z nich organizmy (zwłaszcza zwierzęce) oraz takie same związki ( $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ ) stanowią produkty zachodzącego w nich procesu. Podobnie również, jak w przypadku pieca, w którym możemy palić węglem, drewnem, torfem itp., żywe komórki są w stanie korzystać z różnych źródeł energii (węglowodanów, tłuszczów, białek).

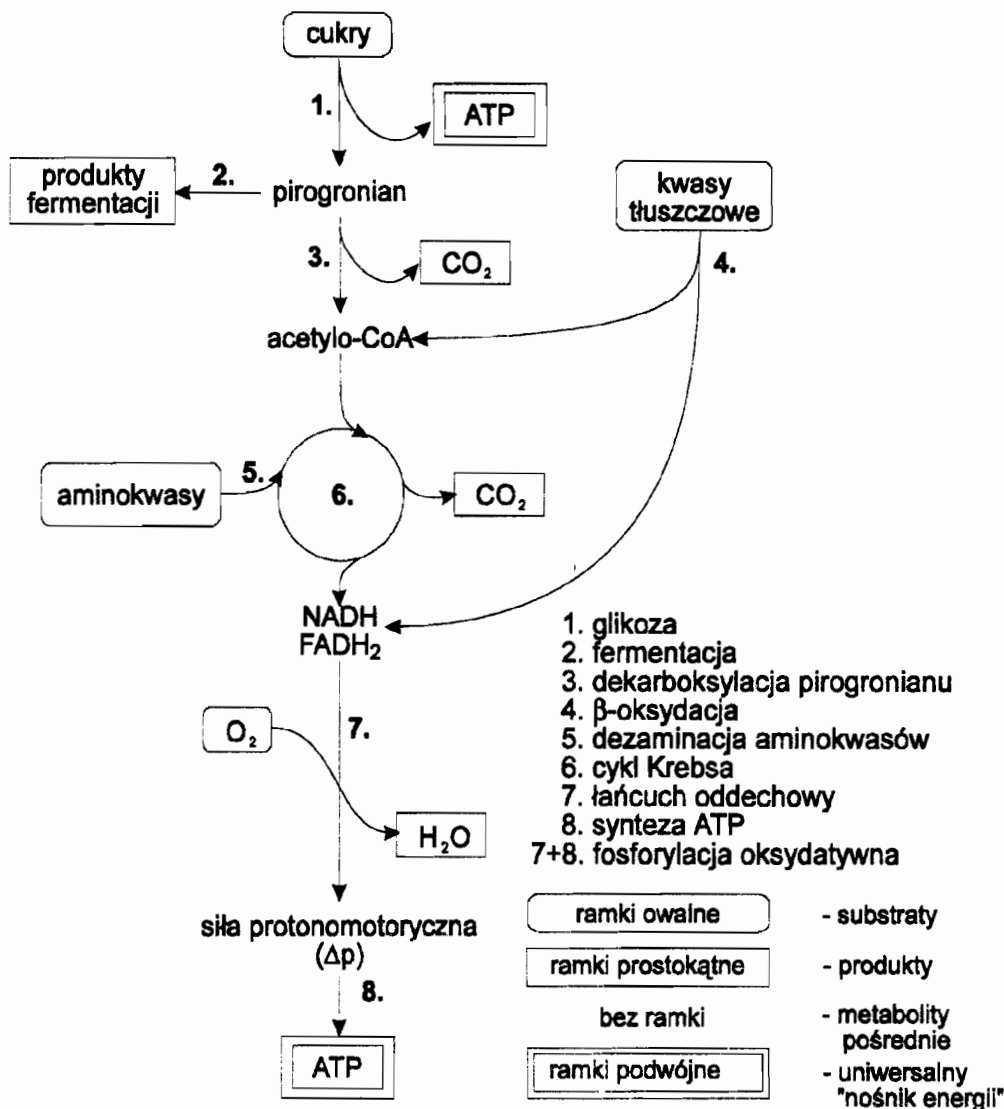
Istnieje jednak zasadnicza różnica pomiędzy spalaniem chemicznym, a utlenianiem zachodzącym w organizmach żywych. O ile cała energia wydzielona w procesie spalania w piecu jest rozpraszana w postaci ciepła, to w komórce żywej duża część tej energii zostaje zmagazynowana w postaci wiązań chemicznych, przede wszystkim w cząsteczkach ATP, powstających poprzez przyłączenie cząsteczek fosforanu nieorganicznego ( $\text{P}_i$ ) do cząsteczek ADP. Związek ten (ATP) jest uniwersalnym “nośnikiem energii”. Poza tym, o ile spalanie chemiczne jest procesem gwałtownym i jednostopniowym, to utlenianie biologiczne zachodzi stopniowo i jest rozdzielone na wiele etapów. Energia chemiczna zawarta w ATP może być przekształcona w rozmaite inne rodzaje energii, co jest sprzężone z hydrolizą ATP na ADP i fosforan. Energia uwolniona z ATP jest wydatkowana na:

- syntezę różnych związków organicznych (białek, kwasów nukleinowych itp.) w przemianach anabolicznych,
- pracę mechaniczną, na przykład w przypadku skurczu mięśnia, ruchu witki lub przemieszczania się chromosomów w trakcie podziału komórki,
- transport rozmaitych substancji do i na zewnątrz komórki,
- tworzenie potencjału elektrycznego na błonie komórkowej (w poprzek tej błony), na przykład w komórkach nerwowych,
- produkcję ciepła.

Proces utleniania biologicznego (podobnie jak chemicznego) można przedstawić ogólnie w postaci prostego schematu, zamieszczonego na poniższej rycinie.



Proces ten zachodzi jednak (w przeciwieństwie do spalania chemicznego) w wielu etapach. Składają się nań rozmaite szlaki metaboliczne, z których każdy zawiera reakcje katalizowane przez odpowiednie enzymy. Rozmaite szlaki biochemiczne połączone są wspólnymi metabolitami, które powstają jako produkty jednych szlaków, a zostają zużywane jako substraty innych. Na rycinie 3.2 przedstawiono schemat głównych przemian katabolicznych w komórce.



Ryc. 3.2

Widzimy, że początkowe etapy utleniania różnych substratów (cukrów, tłuszczów, białek) przebiegają w odmiennych szlakach

metabolicznych (odpowiednio: w **glikolizie**,  **$\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych** i **dezaminacji**). Wszystkie jednak drogi katabolicznego rozkładu różnych substancji zbiegają się w **cyklu Krebsa**, zwanym też czasem “centralnym młynem metabolicznym”. W przypadku cukrów ciąg przemian zawiera w sobie takie metabolity pośrednie, jak pirogronian i acetylo-CoA (acetylo-koenzym A). Produktem rozkładu kwasów tłuszczowych jest acetylo-CoA, z ominięciem pirogronianu, natomiast aminokwasy są przekształcane na skutek dezaminacji (oraz często pewnych dodatkowych przekształceń) bezpośrednio w kwasy organiczne będące metabolitami wchodzącymi w skład cyklu Krebsa. W cyklu tym  $\text{NAD}^+$  i  $\text{FAD}$  są redukowane na  $\text{NADH}$  i  $\text{FADH}_2$ . Te z kolei, za pośrednictwem łańcucha oddechowego, przekazują otrzymane w procesie redukcji elektrony na tlen, co, po przyłączeniu jonów wodorowych, prowadzi do powstania wody. Przeniesienie elektronów z  $\text{NADH}$  i  $\text{FADH}_2$  na tlen połączone jest z tworzeniem **siły protonomotorycznej**, czyli gradientu protonów w poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej (w skrócie  $\Delta p$ ). Siła protonomotoryczna napędza fosforylację ADP do ATP, czyli syntezę ATP z ADP i fosforanu nieorganicznego. Owo sprzężenie przenoszenia elektronów na tlen (czyli jego redukcji) z syntezą ATP nosi nazwę **fosforylacji oksydatywnej**. ATP powstaje także w procesie glikolizy. Dla odmiany, jako że nie dochodzi tam do redukcji tlenu, lecz przekazanie grupy fosforanowej z substratu na ADP, proces ten nazywamy fosforylacją substratową.

Proces glikolizy oraz fermentacji przebiega w cytoplazmie, natomiast cała reszta przedstawionych przemian katabolicznych zachodzi w mitochondriach. Dlatego też organelle te są często nazywane “energetycznym centrum komórki”.

Szybkość przemian katabolicznych musi być dostosowana do zapotrzebowania na ATP, do szybkości jego zużycia przez komórkę. Szybkość ta zmienia się wydatnie w czasie, w zależności od intensywności wykonywanej pracy (skurcz mięśnia, przewodzenie impulsów nerwowych), etapu w cyklu podziałowym komórki, natężenia produkcji związków organicznych (białek, kwasów nukleinowych) itp. Przemiany kataboliczne muszą więc w jakiś sposób “wiedzieć”, ile ATP dostarczać w danej chwili. Innymi słowy, szybkość tych przemian musi być regulowana. Rolę sygnałów w tej regulacji spełnia

stężenie ATP i NADH, oraz produktów ich “rozpadu”: ADP i  $\text{NAD}^+$ . Kiedy wzrasta zużycie ATP przez komórkę, spada jego stężenie, rośnie natomiast stężenie ADP, powstałego na skutek hydrolizy ATP. Analogicznie jest ze stężeniami NADH i  $\text{NAD}^+$ . W rezultacie maleje stosunek  $[\text{ATP}]/[\text{ADP}]$  i  $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$ . ADP i  $\text{NAD}^+$  są aktywatorami pewnych enzymów w takich szlakach metabolicznych, jak glikoliza lub cykl Krebsa, natomiast ATP i NADH hamują reakcje katalizowane przez te enzymy (są ich inhibitorami). Zatem, ogólnie rzecz biorąc, wzrost zużycia ATP prowadzi do spadku jego stężenia. To z kolei aktywuje szlaki kataboliczne syntetyzujące ATP, powodując wzrost stężenia ATP, a zatem przeciwdziałając jego spadkowi spowodowanemu przyspieszoną hydrolizą ATP. Taki mechanizm, powodujący utrzymanie wartości jakiegoś parametru (w tym przypadku stężenia ATP) na względnie stałym poziomie poprzez przeciwdziałanie zmianom tej wartości nazywamy sprzężeniem zwrotnym ujemnym (innym przykładem takiego mechanizmu jest utrzymywanie stałej temperatury w lodówce przez termostat). Ogólnie zaś, zdolność do utrzymywania stałych warunków w komórce żywej (lub całym organizmie), bez względu na zakłócenia zewnętrzne, nazywamy jej **homeostazą**.

Jeżeli przyjrzymy się rycinie 3.2, zobaczymy że sumarycznie jest ona prawie tożsama z ryciną 3.1, przedstawiającą schemat zarówno utleniania biologicznego, jak i chemicznego. Mamy więc tu substraty oddechowe (cukry, tłuszcze, białka), które wraz z tlenem wchodzą w różnych punktach do zespołu przemian katabolicznych. Mamy również produkty tych przemian, także powstające w różnych miejscach, mianowicie  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  i energię, przynajmniej częściowo zakumulowaną w postaci ATP. Jednocześnie jednak rycina 3.2 pokazuje, że nie wszystkie przemiany kataboliczne prowadzą do całkowitego rozkładu substratów oddechowych na związki nieorganiczne i do redukcji tlenu z wydzieleniem wody. Rozkład cukrów w procesie glikolizy może być na etapie pirogronianu skierowany nie ku syntezie acetylo-CoA, lecz ku produkcji różnych substancji organicznych, takich jak alkohol, kwas mlekowy, masłowy lub octowy jako metabolitów końcowych. Tego rodzaju proces nazywamy **fermentacją**. Występuje on często u drobnoustrojów (bakterii, grzybów) żyjących w środowisku o małym dostępie tlenu. U zwierząt (w tym także

u człowieka) jeden z rodzajów fermentacji, zwany fermentacją mlekową (produkowany jest kwas mlekowy), zachodzi w mięśniach podczas długotrwałego wysiłku, kiedy organizm nie nadąża z dostarczaniem do mięśni poprzez krwiobieg wystarczającej ilości tlenu. Fermentacja zachodzi więc z natury w warunkach, kiedy nie może nastąpić całkowite utlenienie związków organicznych z braku tlenu. Pewną analogią jest niepełne spalanie węgla w piecu, kiedy to przy ograniczonym dostępie tlenu (powietrza) produkowany jest zamiast dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) – tlenek węgla ( $\text{CO}$ ). Oczywiście niepełne spalanie prowadzi do produkcji mniejszej ilości energii, w przypadku organizmów żywych – ATP. W oddychającej tlenowo komórce heterotrofa większość ATP produkowana jest w procesie fosforylacji oksydatywnej, a tylko nieznaczna część w fosforylacji substratowej. Dlatego, w obecności tlenu, organizmy żywe preferują oddychanie tlenowe, a nie fermentację.

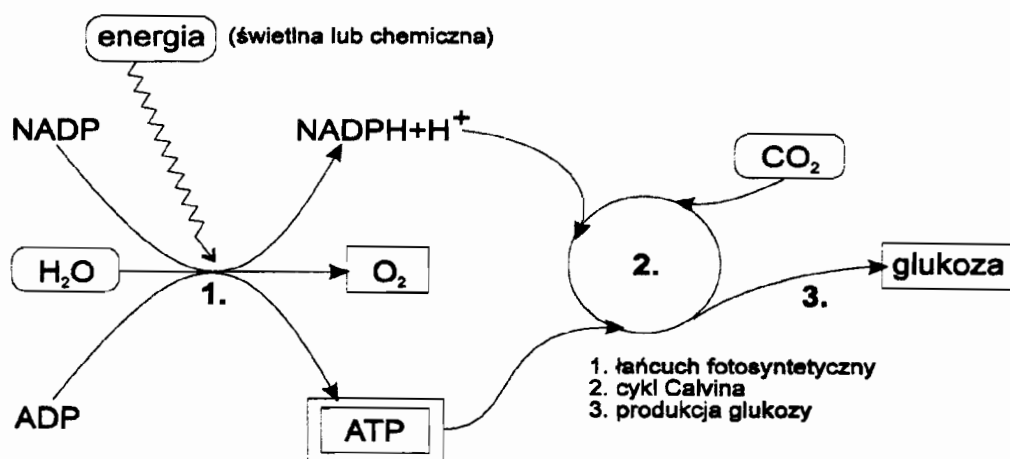
Powyżej naszkicowany został ogólny obraz przemian katabolicznych, a więc jakby panorama całości. W dalszych rozdziałach przedstawimy “najazd kamery” na poszczególne szlaki metaboliczne oraz mechanizmy produkcji i gromadzenia energii – każdy z nich zostanie opisany w detalach. Aby bowiem zrozumieć funkcję, “sens” jakiegoś procesu biochemicznego, nie wystarczy go dokładnie opisać. Trzeba najpierw pokazać jego miejsce w całości metabolizmu komórki i powiązania z innymi procesami.

### 3.1.2 Przemiany anaboliczne

Jak wspomnieliśmy, przemiany anaboliczne prowadzą do syntezy złożonych związków organicznych z substancji nieorganicznych i prostszych związków organicznych. Należy do nich ogromna ilość rozmaitych reakcji, takich jak: synteza białek, kwasów nukleinowych, tłuszczów, cukrów złożonych, a także ich cegiełek budulcowych, odpowiednio: aminokwasów, nukleotydów, kwasów tłuszczowych i glicerolu oraz cukrów prostych. Energii do tych reakcji, w postaci ATP, dostarczają u heterotrofów (do których należą zwierzęta, grzyby oraz większość bakterii) przemiany kataboliczne, u fotoautotrofów (rośliny, sinice, niektóre bakterie) – jasna faza fotosyntezy, natomiast u chemoautotrofów (nieliczne bakterie) – proces chemo-

syntezy (chemiczny rozkład niektórych związków nieorganicznych). Ze wszystkich tych procesów omówimy dokładnie tylko syntezę cukrów prostych (glukozy) z dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) i wody ( $\text{H}_2\text{O}$ ) w procesie fotosyntezy, opiszemy także pobieżnie proces chemosyntezy. Musimy jednak pamiętać, iż w żywych komórkach bakteryjnych, roślinnych i zwierzęcych, zachodzi ogromna liczba różnych przemian anabolicznych. O niektórych z nich wspomnimy w innych miejscach, na przykład o syntezie glukozy u zwierząt (glukoneogenezie) przy okazji omawiania glikolizy, a o syntezie kwasów tłuszczowych powiemy w rozdziale poświęconym  $\beta$ -oksydacji tych związków. Synteza kwasów nukleinowych (procesy replikacji DNA i transkrypcji DNA na RNA) oraz synteza białek (proces translacji sekwencji nukleotydów w mRNA na sekwencję aminokwasów w białkach) będą omówione w opracowaniu poświęconym genetyce.

Ogólny schemat przykładowej reakcji anabolicznej, jaką jest fotosynteza, przedstawiamy na rycinie 3.3 (schemat chemosyntezy jest analogiczny, z tym wyjątkiem, że energia dostarczana jest nie przez światło, lecz przez utlenianie związków nieorganicznych). Widzimy, że proces fotosyntezy możemy podzielić na dwa główne etapy: fazę jasną (światłą), dostarczającą ATP oraz NADPH i fazę ciemną, stanowiącą właściwą reakcję anaboliczną.



Ryc. 3.3

Faza ciemna polega na syntezie glukozy z  $\text{CO}_2$ . Oprócz dwutlenku węgla, który jest źródłem węgla, do procesu tego potrzebna

jest energia (synteza glukozy jest reakcją endoergiczną) oraz źródło wodoru (glukoza zbudowana jest z węgla, tlenu i wodoru, podczas gdy w skład dwutlenku węgla wchodzi tylko węgiel i tlen). Obie te rzeczy produkowane są w jasnej (świetlnej) fazie fotosyntezy. Energia dostarczana jest w postaci ATP, natomiast źródło wodoru stanowi NADPH. Faza ciemna zawiera cykl Calvina oraz tworzenie glukozy z aldehydu 3-fosfoglicerynowego. W fazie jasnej energia świetlna zaabsorbowana przez chlorofil powoduje transport elektronów przez łańcuch fotosyntetyczny oraz jonów wodorowych (protonów) z wody na  $\text{NADP}^+$  (powstaje tlen i NADPH). Proces ten jest sprzężony z syntezą ATP.

Glukoza wytworzona w procesie fotosyntezy może być później odłożona w postaci skrobi – pełniącej funkcję substancji zapasowej (np. w bulwie ziemniaka), wejść w skład celulozy – stanowiącej główny budulec ściany komórkowej, zostać przekształcona w inny cukier prosty itd. Wszystkie te procesy są przemianami anabolicznymi.

Ogólny schemat fazy ciemnej fotosyntezy jest odwróceniem procesów glikolizy i cyklu Krebsa w oddychaniu komórkowym (jednak szczegóły tych procesów są odmienne). Substratami fazy ciemnej są ATP, NADPH oraz  $\text{CO}_2$ , natomiast produktem – glukoza. W przypadku bloku reakcji glikoliza + cykl Krebsa jest odwrotnie: glukoza stanowi substrat, natomiast ATP, NADH i  $\text{CO}_2$  – produkty. Także łańcuch fotosyntetyczny jest, ogólnie rzecz biorąc, w pewnym stopniu odwróceniem łańcucha oddechowego. Jednakże w obu tych łańcuchach następuje synteza ATP z ADP i  $\text{P}_i$ . Synteza ATP w jasnej fazie fotosyntezy przy odwróconym kierunku transportu elektronów i jonów  $\text{H}^+$  (protonów) z  $\text{H}_2\text{O}$  na  $\text{NADP}^+$  jest możliwa dzięki “aktywacji” cząsteczki wody związanej do chlorofilu przez kwant promieniowania świetlnego (co z endoergicznego reakcji hydrolizy wody na tlen i wodór czyni reakcję egzoergiczną).

Powyżej opisany został tylko ogólny schemat reakcji anabolicznej na przykładzie fotosyntezy. Podobnie jak w przypadku reakcji katabolicznych, dokładny opis poszczególnych etapów nastąpi w kolejnych rozdziałach. Także tutaj, wiedząc, jaka jest funkcja całości, łatwiej nam będzie zrozumieć rolę kolejnych przemian w metabolizmie komórki.

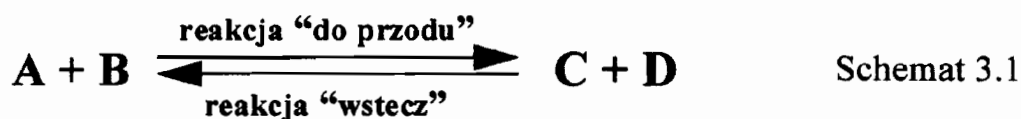
## 3.2 Mechanizmy syntezy ATP

Energia w komórkach organizmów żywych jest produkowana przede wszystkim w postaci ATP. Dotyczy to produkcji energii w oddychaniu tlenowym i glikolizie, a także w świetlnej fazie fotosyntezy oraz w chemosyntezie. Obecny rozdział będzie dotyczył fizykochemicznych podstaw i mechanizmów syntezy tego związku, a także ogólnych zasad produkcji i przetwarzania energii w układach biochemicznych.

### 3.2.1 Gromadzenie energii – – elementy termodynamiki

Często używa się stwierdzenia, że ATP jest nośnikiem energii, ponieważ zawiera w sobie “wiązaną wysokoenergetycznie”, łączącą fosforan nieorganiczny ( $P_i$ ) z resztą cząsteczki (czyli ADP). Okazuje się jednak, że stwierdzenie to jest uproszczeniem. Fakt, że ATP jest nośnikiem energii wyjaśnia nauka zwana **termodynamiką**. Nauka ta zajmuje się takimi rzeczami, jak kierunek i szybkość zachodzenia przemian fizycznych i chemicznych oraz aspektami energetycznymi tych procesów.

Przeanalizujmy prostą reakcję chemiczną, z dwoma substratami A i B oraz dwoma produktami C i D:



W reakcji tej szybkość reakcji “do przodu” (czyli syntezy C i D z A i B) zależy od stężenia substratów A i B, natomiast szybkość reakcji “wstecz” (czyli produkcja A i B z C i D) zależy od stężenia produktów C i D. Ogólna szybkość procesu jest równa szybkości “do przodu” minus szybkość “wstecz”. Jeżeli tak dobierzemy stężenia A, B, C i D, że szybkość reakcji do przodu będzie równa szybkości reakcji “wstecz”, to ogólna szybkość reakcji będzie zerowa – tyle samo A i B zostanie w jednostce czasu przekształcone w C i D, ile C



i D przejdzie w A i B. Stan taki nazywamy równowagą termodynamiczną (w przytoczonej sytuacji jej przypadkiem szczególnym jest równowaga chemiczna; równowaga termodynamiczna jest pojęciem szerszym, jako że dotyczy ona także szeregu procesów fizycznych, na przykład osmotycznych, elektrycznych itp.). Opisywana jest ona stałą równowagi K:

Schemat 3.2

$$K = \frac{[C]_r [D]_r}{[A]_r [B]_r}$$

gdzie indeks "r" oznacza "w stanie równowagi".

Inaczej mówiąc, stała równowagi jest równa iloczynowi stężeń produktów podzielonemu przez iloczyn stężeń substratów w stanie równowagi. Jeżeli w stanie równowagi dodamy substratów (lub produktów), to ogólna szybkość procesu przestanie być zerowa i reakcja zacznie zachodzić do przodu (wstecz). Nastąpi odsunięcie reakcji od stanu równowagi, tym większe, im więcej substratów (produktów) dodamy. Procesy znajdujące się z dala od stanu równowagi wykazują naturalną skłonność do powrotu do tego stanu. Otóż termodynamika mówi nam, że tylko reakcje odsunięte od równowagi mogą wykonać jakąś pracę, a więc tylko te reakcje posiadają jakąś energię (pamiętamy, że energia jest to zdolność do wykonania pracy). Energia reakcji jest tym większa, im bardziej ta reakcja jest odsunięta od równowagi. Miarą zdolności jakiejś reakcji do wykonania pracy, a zatem jej odsunięcia od równowagi jest tak zwana **zmiana energii swobodnej Gibbsa** ( $\Delta G$ ). Zdefiniujemy aktualny stosunek stężeń produktów do stężeń substratów  $\Gamma$  (może on dotyczyć reakcji w stanie równowagi lub odsuniętej od tego stanu) jako:

Schemat 3.3

$$\Gamma = \frac{[C]_a [D]_a}{[A]_a [B]_a}$$

gdzie indeks "a" oznacza aktualne stężenie związku. Miarą odsunięcia od równowagi jest stosunek  $K/\Gamma$ . Jeżeli jest on równy 1, re-

akcja znajduje się w stanie równowagi, jeżeli zaś większy (mniejszy) od 1, to reakcja jest odsunięta od równowagi i reakcja będzie zachodzić do przodu (wstecz). Zmiana energii swobodnej Gibbsa jest proporcjonalna do logarytmu ze stosunku  $K/\Gamma$ :

$$\Delta G = -RT \ln (K/\Gamma)$$

Schemat 3.4

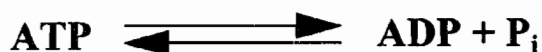
gdzie  $\ln$  to logarytm naturalny,  $R$  – stała gazowa, a  $T$  – temperatura bezwzględna (w stopniach Kelvina). Zmianę energii swobodnej Gibbsa wyraża się kilodżulach na mol (kJ/mol), lub, dla zjawisk elektrycznych, w miliwoltach (mV). Z własności logarytmu wynika, że  $\Delta G$  jest równe 0 w stanie równowagi (kiedy  $K/\Gamma=1$ ), ma natomiast tym większą wartość ujemną (dodatnią), im dalej reakcja jest odsunięta od równowagi w kierunku powodującym zachodzenie reakcji do przodu (wstecz). Zatem, im niższa (bardziej ujemna) jest zmiana energii swobodnej Gibbsa danej reakcji, tym większa jest jej zdolność do wykonania pracy. Reakcja o dodatniej wartości  $\Delta G$  nie może zachodzić spontanicznie w kierunku do przodu – potrzebuje w tym celu dostarczenia energii z zewnątrz. Wiąże się z tym podział reakcji na egzoergiczne i endoergiczne. Reakcja **egzoergiczna** to proces o ujemnej wartości  $\Delta G$ , zdolny do wykonania pracy, a więc wydzielania energii, na przykład w postaci ciepła, pracy mechanicznej lub chemicznej (poprzez dostarczenie energii do przeprowadzenia jakiejś reakcji endoergicznej). Natomiast reakcja **endoergiczna** to przemiana o dodatniej zmianie swobodnej energii Gibbsa, potrzebująca energii do swego zajścia (energia ta może być uzyskana poprzez sprzężenie reakcji endoergicznej z reakcją egzoergiczną).

### 3.2.2 Dlaczego ATP może wykonać pracę?

Teraz jesteśmy przygotowani, aby odpowiedzieć na pytanie, dlaczego ATP jest uniwersalnym nośnikiem energii, zdolnym do wykonania rozmaitego rodzaju pracy: chemicznej, mechanicznej, osmotycznej (transport substancji rozpuszczalnych przez błony biologiczne) itd.

Stała równowagi reakcji hydrolizy ATP:

Schemat 3.5

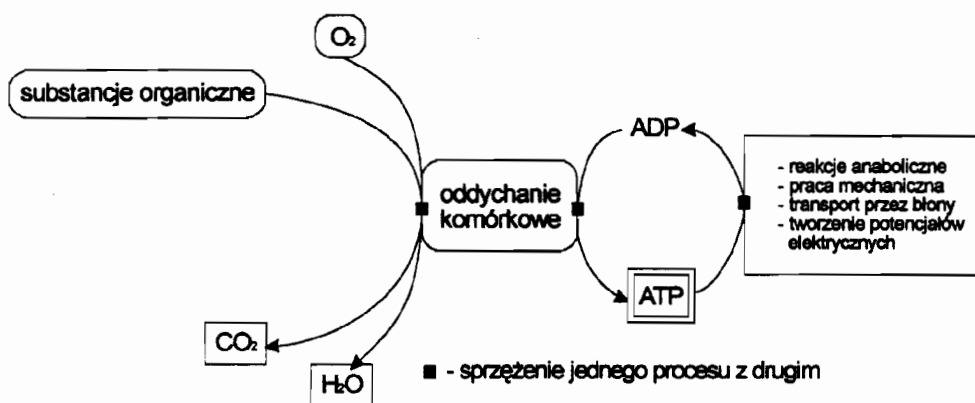


wynosi (w przybliżeniu)  $K = [\text{ADP}][\text{P}_i]/[\text{ATP}] = 10^5 \text{ M}$ . Natomiast stosunek stężeń produktów do substratów tej reakcji ( $\Gamma$ ) jest równy w warunkach fizjologicznych w komórce około  $10^{-3} \text{ M}$ . Daje to wartość  $K/\Gamma$  wynoszącą  $10^8$ , co oznacza, że reakcja ta jest odsunięta od równowagi sto miliardów razy. Proces hydrolizy ATP jest więc silnie egzoergiczny, ale tylko przy fizjologicznym stosunku stężeń jego substratów i produktów. Natomiast ocean wypełniony mieszaniną ATP, ADP i  $\text{P}_i$  o równowagowej proporcji stężeń nie byłby zdolny do wykonania najmniejszej pracy. Zatem to nie ATP jest “nośnikiem energii”, lecz odpowiednio wysoki stosunek  $[\text{ATP}]/[\text{ADP}][\text{P}_i]$ . Stwierdzenie więc, iż energia chemiczna w komórce gromadzona jest w postaci ATP, stanowi pewne uproszczenie, a wiązanie łączące (w obrębie ATP) ADP z grupą fosforanową jest “wysokoenergetyczne” tylko dla fizjologicznych proporcji stężeń ATP, ADP i fosforanu nieorganicznego.

Odpowiadając krótko na pytanie postawione w tytule tego rozdziału: ATP jest w żywej komórce uniwersalnym nośnikiem energii, zdolnym do wykonania pracy, ponieważ reakcja hydrolizy tego związku jest, dla fizjologicznych stężeń ATP, ADP i  $\text{P}_i$ , silnie egzoergiczna. Może być ona zatem sprzężona z endoergicznymi reakcjami syntezy rozmaitych związków organicznych, służyć do napędzania procesów wykonujących pracę mechaniczną (np. skurcz mięśnia), transportu związków organicznych i jonów przez błony oraz wielu innych procesów.

Z kolei synteza ATP (jako reakcja przeciwna do hydrolizy ATP jest to proces endoergiczny) jest możliwa dzięki sprzężeniu z silnie egzoergiczną reakcją utleniania związków organicznych (np. glukozy), przede wszystkim przez stopniowe “spalanie” tych związków w procesie oddychania przy udziale tlenu, czemu towarzyszy wydzielanie wody i dwutlenku węgla. Mówiąc krótko, spalanie

cukrów, tłuszczu i innych związków organicznych przy udziale tlenu dostarcza energii do syntezy ATP z ADP, natomiast hydroliza ATP dostarcza energii dla rozmaitych procesów w komórce, na przykład reakcji anabolicznych. Ilustruje to rycina poniżej:



Ryc. 3.4

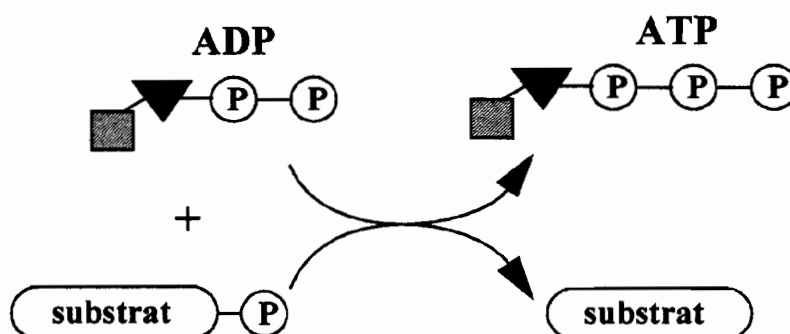
W tym miejscu ujawnia się ogólny sens przemian katabolicznych – dostarczają one, za pośrednictwem ATP, energii wszystkim procesom w komórce (na przykład reakcjom anabolicznym), które tej energii potrzebują.

### 3.2.3 Fosforylacja substratowa, oksydacyjna i fotosyntetyczna

Proces syntezy ATP nazywamy fosforylacją – nazwa ta odzwierciedla fakt przyłączenia fosforanu organicznego do ADP. Zostały wyróżnione trzy typy fosforylacji: substratowa, oksydacyjna i fotosyntetyczna. Teraz wyjaśnimy bliżej na czym polegają różnice pomiędzy tymi typami.

**Fosforylacja substratowa** polega na przeniesieniu grupy fosforanowej związanej do jakiegoś związku organicznego (substratu) na ADP, przy powstaniu ATP oraz substratu pozbawionego grupy fosforanowej. Proces ten można przedstawić jak na schemacie 3.6.

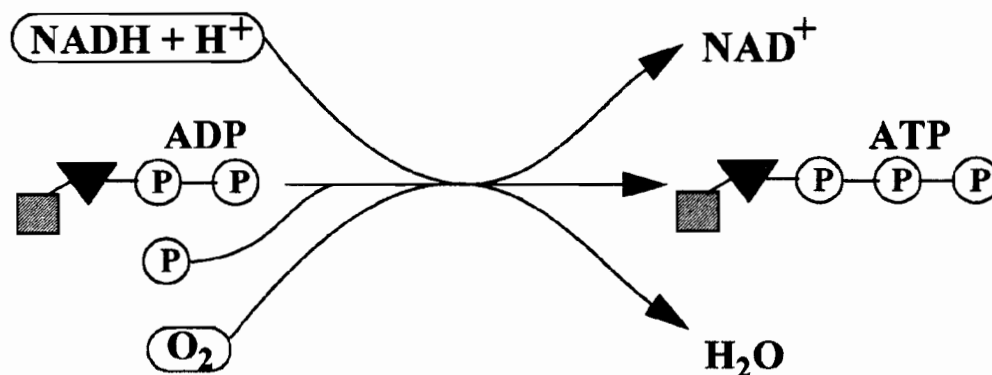
Schemat 3.6



Przykładami fosforylacji substratowej są dwie reakcje będące częścią szlaku metabolicznego glikolizy. W pierwszej kwas 1,3-dwufosfoglicerynowy po przeniesieniu fosforanu na ADP przechodzi w kwas 3-fosfoglicerynowy, w drugiej – kwas 2-fosfoenolopirogronowy w kwas enolopirogronowy.

W procesie **fosforylacji oksydatywnej** powstały w cyklu Krebsa lub w  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych NADH (ewentualnie  $\text{FADH}_2$ ) przekazuje jony wodorowe (protony) oraz elektrony na tlen, co prowadzi do powstania  $\text{NAD}^+$  ( $\text{FAD}$ ) oraz wody. Następuje zatem utlenienie (oksydacja) NADH. Ilustruje to schemat 3.7. Energia tej silnie egzoergicznej reakcji zostaje zużyta na syntezę ATP z ADP i fosforanu nieorganicznego, nie związanego do żadnego substratu. Mechanizm tego procesu, tak istotnego dla większości zwierząt łącznie z człowiekiem, przez długie lata pozostawał nieznan.

Schemat 3.7



Trzecim wyróżnionym rodzajem fosforylacji jest **fosforylacja fotosyntetyczna**. Zachodzi ona w chloroplastach i jest częścią procesu fotosyntezy. Energii do syntezy ATP dostarcza tutaj promieniowanie świetlne, absorbowane przez barwnik fotosyntetyczny – chlorofil. Podobnie, jak w przypadku fosforylacji oksydatywnej, także mechanizm fosforylacji fotosyntetycznej stanowił przez długi okres zagadkę.

### 3.2.4 Teoria chemiosmotyczna

Poprawne rozwiązanie tej zagadki zaproponował w latach sześćdziesiątych naszego stulecia Peter Mitchell. Koncepcja jego, zwana **teorią chemiosmotyczną**, tak bardzo wzbogaciła naszą wiedzę o wytwarzaniu energii w komórkach zwierzęcych, roślinnych oraz bakteryjnych i wyjaśniła tak wiele innych procesów (na przykład mechanizm transportu związków organicznych i jonów przez wewnętrzną błonę mitochondrialną), że za jej sformułowanie i doświadczalne potwierdzenie Mitchell otrzymał w 1978 roku nagrodę Nobla.

Główna teza tej teorii to stwierdzenie, iż pośrednikiem pomiędzy reakcją przenoszenia protonów i elektronów na tlen, a fosforylacją ADP, jest **siła protonomotoryczna** (w skrócie  $\Delta p$ ), czyli gradient jonów  $H^+$  (protonów) w poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej. Przenoszenie elektronów z NADH na tlen odbywa się za pośrednictwem łańcucha oddechowego, którego składniki są ulokowane w tejże błonie. Transport elektronów przez poszczególne składniki łańcucha oddechowego sprzężony jest z przenoszeniem protonów z wnętrza na zewnątrz mitochondriów. Protony te, ponieważ wewnętrzna błona mitochondrialna jest w dużym stopniu dla nich nieprzepuszczalna, wracają z powrotem do matriks mitochondrialnej poprzez znajdujący się w tej błonie enzym zwany syntetazą ATP, co z kolei sprzężone jest z tworzeniem ATP z ADP i  $P_i$ . Syntetaza ATP ma kształt grzybka, którego “nóżka” zakotwiczona jest w błonie, a “główka” skierowana do matriks mitochondrialnej; enzym ten posiada specjalny kanał umożliwiający przepływ protonów. Spontaniczny powrót protonów jest możliwy, ponieważ, na skutek działania łańcucha oddechowego, stężenie protonów na zewnątrz mitochondriów jest większe, niż w ich wnętrzu, istnieje zatem gradient protonów.

Wyobraźmy sobie pudełko przedzielone przegrodą na dwie komory. Jeżeli, używając pompy napędzanej silniczkami, będziemy przepompowywać cząsteczki powietrza z jednej komory do drugiej, to ciśnienie powietrza w tej ostatniej (stężenie jego cząsteczek) będzie większe, niż w pierwszej. Gdybyśmy teraz zrobili otworek w przegrodzie, to powietrze spontanicznie wracałoby do pierwszej komory. Umocowanie w tym otworze dynama z łopatkami spowodowałoby, że przepływające powietrze, poruszając łopatki dynama, prowadziłoby do wytwarzania energii elektrycznej. W omówionej analogii pompa z silniczkami odpowiada łańcuchowi oddechowemu, który pompuje protony, napędzany przepływem elektronów. Powstała różnica ciśnień w komorach można przyrównać do gradientu protonów, a produkcję prądu elektrycznego przez dynamo – do syntezy ATP przez syntetazę ATP.

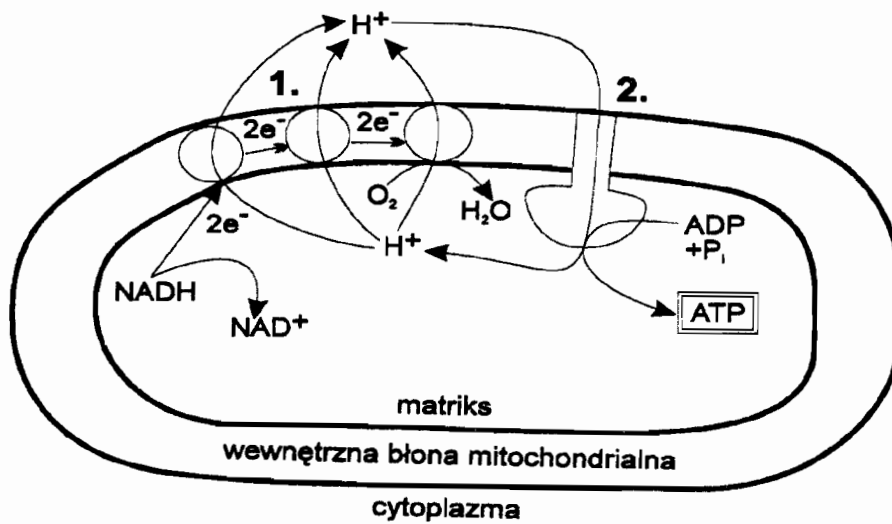
Różnica stężeń protonów po obu stronach wewnętrznej błony mitochondrialnej to tylko jeden z dwóch składników siły protonomotorycznej ( $\Delta p$ ). Ponieważ protony są obdarzone ładunkiem dodatnim, wewnątrz mitochondrium jest naładowane ujemnie w stosunku do jego otoczenia ze względu na mniejsze stężenie protonów. W poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej powstaje zatem potencjał (napięcie) elektryczny, będący drugim składnikiem  $\Delta p$  (naładowane dodatnio protony są przyciągane przez ujemne wewnątrz mitochondrium, mają zatem zdolność, wracając do wnętrza mitochondrium, do wykonania pracy).

Siła protonomotoryczna składa się zatem z komponenty osmotycznej (gradient protonów) i komponenty elektrycznej (potencjał błonowy). Jej wartość jest z reguły wyrażana w miliwoltach i wynosi w warunkach fizjologicznych około 200 mV (0.2 wolta).

Ogólny schemat fosforylacji oksydacyjnej jest przedstawiony na rycinie 3.5.

Transport elektronów z NADH na tlen przez trzy składniki (kompleksy) łańcucha oddechowego powoduje wyrzucenie na zewnątrz mitochondriów pewnej ilości protonów (obecnie przyjmuje się liczbę 10 protonów na 2 przepływające elektrony). Powrót protonów do matriks mitochondrialnej poprzez syntetazę ATP prowadzi do syntezy ATP. Prawdopodobnie 3 protony są potrzebne do syntezy 1 molekuly ATP, oraz jeden dodatkowy proton na transport ATP na zewnątrz mitochondriów, co razem daje 4 protony. Przeniesienie 2

elektronów z cząsteczki NADH na tlen przez łańcuch oddechowy prowadzi zatem do syntezy 2,5 cząsteczek ATP (10 wyrzuconych na zewnątrz protonów podzielone przez 4 protony potrzebne na syntezę i transport ATP). Opisany proces fosforylacji oksydacyjnej dotyczy mitochondriów. Analogiczny mechanizm ma jednak fosforylacja w komórkach bakterii i chloroplastach. Ponieważ mitochondria i chloroplasty uważa się obecnie za potomków bakterii i sinic żyjących kiedyś w symbiozie z komórkami eukariotycznymi, podobieństwo tych mechanizmów wydaje się naturalne.



Ryc. 3.5

$e^-$  - elektron  
 $H^+$  - jon wodorowy (proton)

1 - trzy "pompy protonowe" w łańcuchu oddechowym (kompleks I, III i IV)  
 2 - syntetaza ATP

W chloroplastach, w procesie fosforylacji fotosyntetycznej, energia promieniowania świetlnego zostaje zaabsorbowana przez chlorofil i użyta do wybicia z cząsteczki wody dwóch elektronów i dwóch protonów, co prowadzi do przekształcenia wody w tlen. Elektrony z kolei przekazywane są na łańcuch fotosyntetyczny, którego składniki, podobnie jak kompleksy łańcucha oddechowego, pompują protony do wewnątrz gran chloroplastów (a więc odwrotnie, niż to czynią mitochondria). Prowadzi to do powstania siły protonomotorycznej (gradientu protonów w poprzek błon gran), która napędza syntezę ATP, katalizowaną przez syntetazę ATP.

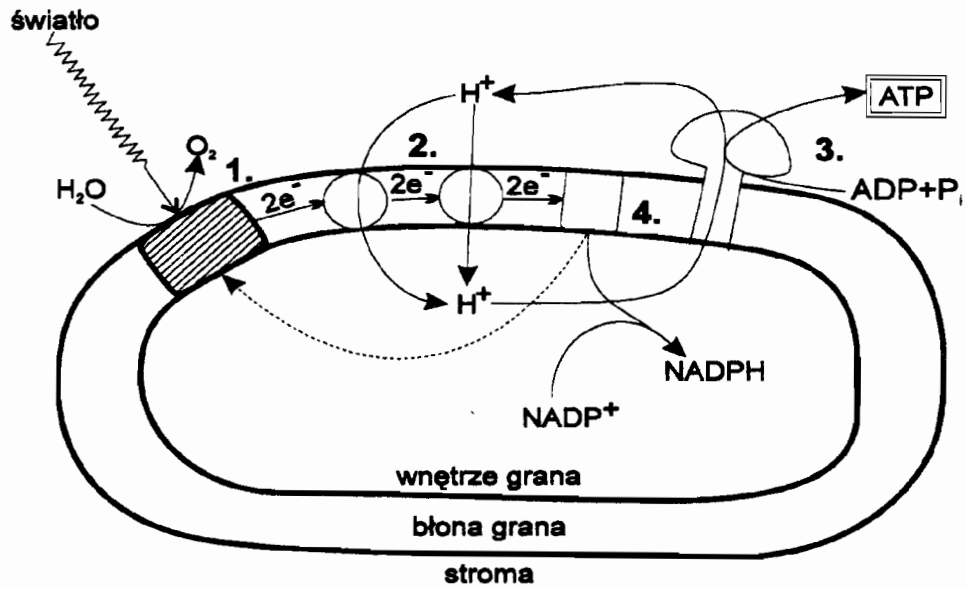


Ze względu na odwrócenie kierunku pompowania protonów w porównaniu z mitochondriami, synteza ATP w chloroplastach sprzężona jest ze spontanicznym przepływem protonów na zewnątrz gran chloroplastów. Ogólny mechanizm fosforylacji fotosyntetycznej jest więc bardzo zbliżony do mechanizmu fosforylacji oksydatywnej. Trzy główne różnice to:

- inne źródło (donor) elektronów; fotosynteza – elektrony są wybijane z wody przez promieniowanie świetlne, co prowadzi do powstania tlenu; oddychanie – elektrony pochodzą z NADH (i FADH<sub>2</sub>), powstałego w procesie utleniania glukozy i innych związków organicznych;
  - inny akceptor elektronów; fotosynteza – elektrony są ostatecznie przekazywane z fotosystemu I na NADP<sup>+</sup>, przy czym powstaje NADPH; akceptorem elektronów z fotosystemu II jest fotosystem I; oddychanie – akceptorem elektronów (i protonów) jest tlen, przekształcany w cząsteczkę wody; donory i akceptory oraz kierunek przepływu elektronów w fotosyntezie i oddychaniu są więc odwrócone:
1. w oddychaniu elektrony przekazywane są przez łańcuch oddechowy z NADH na tlen, przy czym powstaje NAD<sup>+</sup> i H<sub>2</sub>O;
  2. w fotosyntezie, przeciwnie, elektrony wybijane z wody przez światło (co prowadzi do produkcji tlenu) przenoszone są przez łańcuch fotosyntetyczny na NADP<sup>+</sup>, tworząc NADPH;
- odwrotnie skierowany gradient protonów (grana – większe stężenie protonów wewnątrz gran, mitochondria – większe stężenie protonów na zewnątrz mitochondriów).

Schemat fosforylacji fotosyntetycznej przedstawiony jest na rycinie 3.6.

Teoria chemiosmotyczna tłumaczy mechanizm zarówno fosforylacji oksydatywnej, jak i fosforylacji fotosyntetycznej, ma ona zatem podstawowe znaczenie dla wyjaśnienia procesu produkcji energii w komórce roślinnej i zwierzęcej. Jak wspomnieliśmy, opisuje ona także główny mechanizm powstawania ATP u wielu bakterii. Większość tych mikroorganizmów jest heterotrofami, niektóre z nich są zdolne do fotosyntezy. Rolę błony mitochondrialnej lub błony gran pełni u nich błona komórkowa.



Ryc. 3.6

1. chlorofil (fotosystem I lub II)
2. łańcuch fotosyntetyczny
3. syntetaza ATP
4. końcowy prekaźnik elektronów  
 fotosystem II - przekazywanie elektronów na fotosystem I  
 (linia przerywana)  
 fotosystem I - przekazywanie elektronów na NADP<sup>+</sup>

# Szczegółowy opis przemian katabolicznych

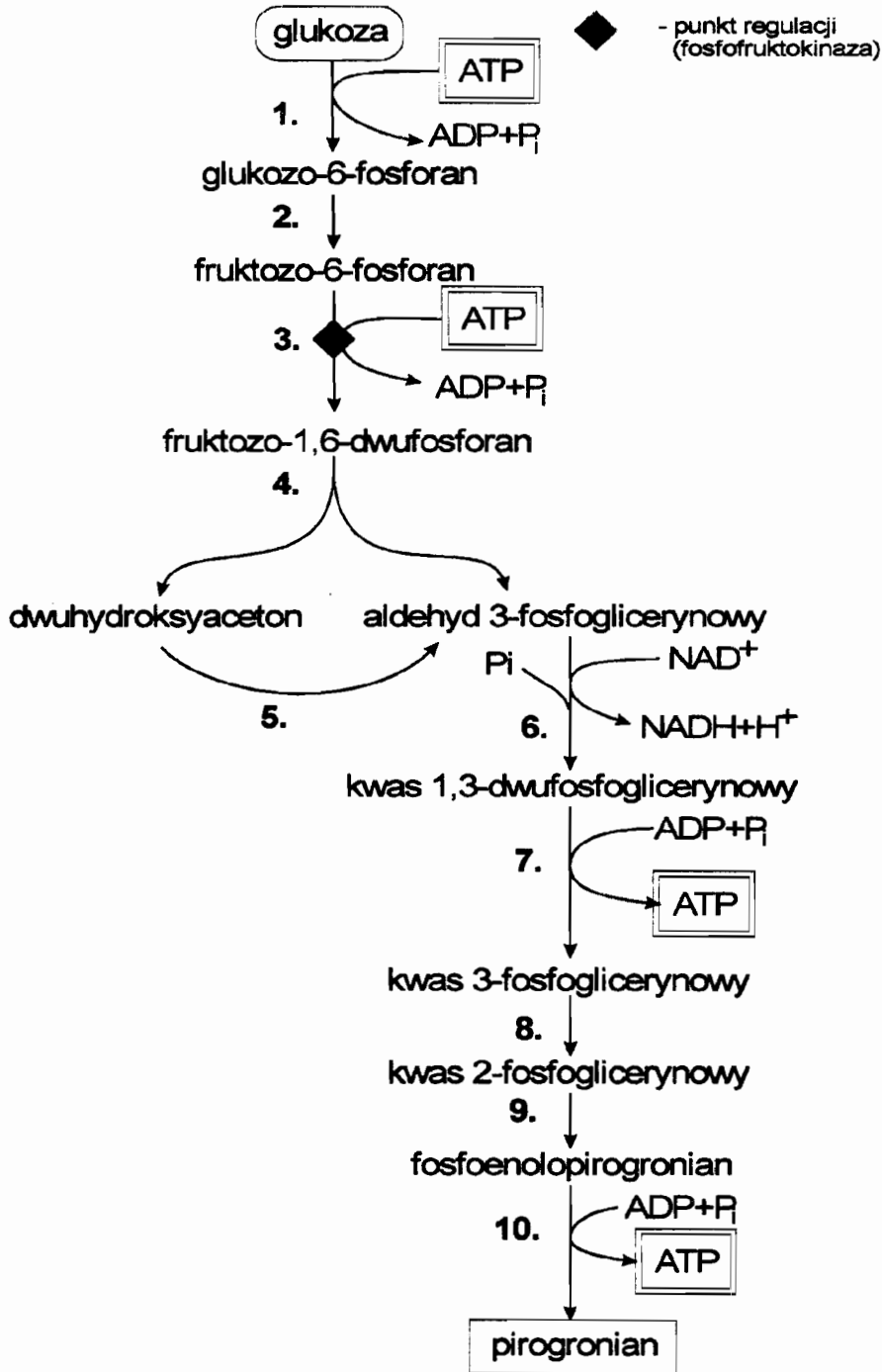
---

Jak wspomnieliśmy w poprzednim rozdziale, zadaniem przemian katabolicznych jest dostarczanie energii w postaci ATP poprzez utlenianie rozmaitych substratów oddechowych (glukozy, kwasów tłuszczowych, aminokwasów). Całość katabolizmu podzieliliśmy na kilka szlaków metabolicznych, odpowiedzialnych za poszczególne etapy produkcji energii. Teraz przyjrzymy się bliżej, jak wspomniane zadanie jest realizowane w poszczególnych etapach.

## 4.1 Glikoliza

- Przebieg: 1 glukoza → 2 pirogronian.
- Miejsce: cytoplazma.
- Zysk energetyczny: 2 ATP na 1 glukoza.
- Równoważniki redukcyjne: +2 NADH.
- Aktywacja: AMP.
- Inhibicja: ATP.

Glikoliza jest szlakiem metabolicznym przekształcającym jedną cząsteczkę glukozy w dwie cząsteczki pirogronianu. Proces ten zachodzi poprzez szereg metabolitów pośrednich. Składa się nań 10 reakcji (patrz poniższa rycina).



Ryc. 4.1

W reakcjach 1 i 3 dochodzi do przeniesienia grupy fosforanowej z ATP na heksozę (w reakcji 1 na glukozę, a w reakcji 3, po izomeryzacji mającej miejsce w reakcji 2 – na fruktozę). Na tym etapie dochodzi więc do zużycia 2 cząsteczek ATP na jedną cząsteczkę glukozy. Powstały fruktozo-1,6-dwufosforan (posiadający 6 atomów węgla) zostaje w reakcji 4 rozszczepiony na dwa związki zawierające po 3 atomy węgla: aldehyd 3-fosfoglicerynowy i dwuhydroksyacetone. Ten ostatni zostaje w etapie 5 przekształcony w aldehyd 3-fosfoglicerynowy. Ogólnie powstają zatem dwie cząsteczki aldehydu 3-fosfoglicerynowego z jednej cząsteczki glukozy. Reakcja 6 prowadzi do redukcji  $\text{NAD}^+$  do  $\text{NADH}$ . W reakcjach 7 i 10 zachodzi proces fosforylacji substratowej, prowadzący do produkcji dwóch cząsteczek ATP na każdą cząsteczkę aldehydu 3-fosfoglicerynowego, a więc czterech cząsteczek ATP na cząsteczkę glukozy. Pamiętajmy, iż wcześniej dwie cząsteczki ATP zostały zużyte. Ogólny zysk energetyczny glikolizy wynosi zatem 2 cząsteczki ATP na jedną cząsteczkę glukozy. Końcowym produktem glikolizy jest pirogronian.

Glikoliza spełnia dwie podstawowe funkcje w komórce:

- wstępny rozkład 6-węglowej glukozy na dwie 3-węglowe cząsteczki pirogronianu,
- produkcja energii w postaci ATP (jednakże, jak zobaczymy później, glikoliza jest pod tym względem znacznie mniej wydajna, niż fosforylacja oksydacyjna).

Głównym enzymem regulującym szybkość glikolizy jest fosfofruktokinaza, katalizująca reakcję 3. Enzym ten jest aktywowany przez AMP i hamowany przez ATP. Ponieważ zwiększone zapotrzebowanie komórki na energię (czyli hydroliza ATP) prowadzi do obniżenia stężenia ATP, przy jednoczesnym wzroście stężenia ADP i AMP, glikoliza jest w stanie odpowiedzieć przyspieszoną syntezą ATP na wzmożone zużycie tego związku.

Proces glikolizy zachodzi w cytoplazmie. W niektórych tkankach, na przykład w wątrobie, często ma miejsce przemiana przeciwna (synteza glukozy z pirogronianu), czyli glukoneogeneza. Przebiega ona przez te same etapy (oczywiście w odwróconej kolejności), przy udziale tych samych metabolitów pośrednich. W glukoneogenezie biorą udział te same enzymy, co w glikolizie, za wyjątkiem nieodwracalnych reakcji 1, 3 i 10, katalizowanych w glukoneogenezie przez odmienne biokatalizatory.

## 4.2 Fermentacja

- Przebieg: pirogronian  $\rightarrow$  produkt fermentacji (kwas mlekowy, kwas masłowy, alkohol etylowy i inne).
- Równoważniki redukcyjne:  $-1 \text{ NADH}$ .

W mięśniach, w warunkach niedoboru tlenu, pirogronian nie może być dalej utleniany w procesie oddychania tlenowego. Następuje wtedy redukcja pirogronianu do kwasu mlekowego przy udziale  $\text{NADH}$  (powstaje  $\text{NAD}^+$ ), czyli zachodzi **oddychanie beztlenowe**:

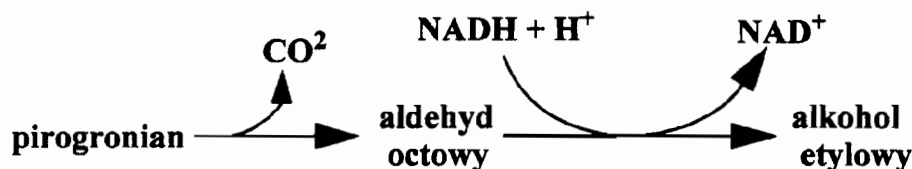


Schemat 4.1

Kwas mlekowy jest następnie gromadzony w mięśniach, aż do czasu, kiedy przy zwiększonym dostępie tlenu będzie on mógł zostać utleniony do  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$  w oddychaniu tlenowym.

Bardzo podobny proces zachodzi u niektórych bakterii (*Lactobacillus* i *Streptococcus*). Jest on tu zwany **fermentacją mlekową** i znajduje zastosowanie w kiszeniu ogórków, kapusty i kwaszeniu mleka.

U drożdży, pirogronian (3 atomy węgla) podlega dekarboksylacji (odłączenie  $\text{CO}_2$ ), przy czym powstaje 2-węglowy aldehyd octowy, przekształcany następnie (redukcja przy udziale  $\text{NADH}$ ) w alkohol etylowy:



Schemat 4.2

Proces ten, zwany fermentacją alkoholową, jest wykorzystywany do produkcji napoi alkoholowych.

Istnieje jeszcze kilka innych rodzajów fermentacji, na przykład fermentacja masłowa, której produktem jest kwas masłowy, przebiegająca u beztlenowych bakterii *Clostridium*, lub fermentacja propionianowa, w której powstaje kwas propionowy.

Fermentacja nie prowadzi do produkcji żadnej dodatkowej energii (ATP), ponad tą zachodzącą podczas glikolizy. Jej rola to utlenienie NADH do  $\text{NAD}^+$ , który jest niezbędny w reakcji 6 glikolizy (w oddychaniu tlenowym NADH zostaje utleniony przez łańcuch oddechowy) oraz wytworzenie produktu końcowego, następnie wydzielanego przez drobnoustroje do środowiska. Fermentacja jest formą produkcji energii (w procesie glikolizy) w warunkach beztlenowych. W warunkach tlenowych preferowane jest znacznie bardziej wydajne oddychanie tlenowe, które ponadto nie prowadzi, tak jak fermentacja, do zatrucia organizmu lub jego środowiska produktami końcowymi (na przykład kwasem mlekowym w mięśniach podczas długotrwałego wysiłku lub alkoholem w naczyniu, w którym rozwijają się drożdże).

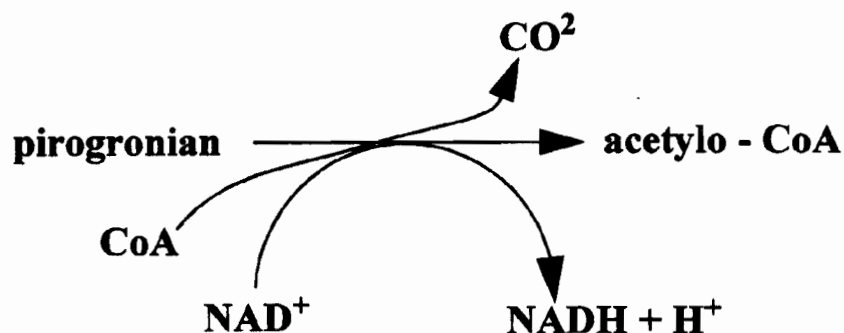
### 4.3 Dekarboksylacja pirogronianu

- Przebieg: pirogronian  $\rightarrow$  acetylo-CoA.
- Miejsce: mitochondria.
- Równoważniki redukcyjne: +1 NADH (+2 NADH na 1 glukoza).
- Aktywacja:  $\text{Ca}^{2+}$ , ADP.
- Hamowanie: ATP, acetylo-CoA, NADH.

W oddychaniu tlenowym zawierający 3 atomy węgla pirogronian ulega dekarboksylacji (odłączeniu atomu węgla w postaci  $\text{CO}_2$ ) oraz dehydrogenacji (odwodowaniu; odbywa się ono poprzez przekazanie wodoru na  $\text{NAD}^+$ ). Pozostająca dwuwęglowa reszta kwasu octowego łączy się z CoA dając acetylo-CoA (patrz schemat 4.3).

Zarówno dekarboksylacja, jak i dehydrogenacja są katalizowane przez kompleks wieloenzymatyczny – dehydrogenazę pirogronianu. Aktywna forma tego kompleksu może ulec odwracalnej inaktywacji (unieczynnieniu) poprzez fosforylację (przyłączenie grupy fosforanowej). Procesowi temu sprzyja ATP (inhibitor kompleksu),

zapobiegają mu zaś: ADP i jony wapnia (aktywatory). Inhibitorami nie działającymi poprzez fosforylację są NADH i acetylo-CoA.



Schemat 4.3

Dekarboksylacja pirogronianu następuje w mitochondriach, musi być on zatem przetransportowany z cytoplazmy przez nieprzepuszczalną dla większości związków wewnętrzną błonę mitochondrialną. Odpowiada za to białko nośnikowe zwane nośnikiem pirogronianu.

Rolą dekarboksylacji pirogronianu jest dalszy rozkład glukozy poprzez uwolnienie dwutlenku węgla z powstałych z tego cukru dwóch cząsteczek pirogronianu. Na tym etapie zatem, z 6 atomów węgla, wchodzących pierwotnie w skład glukozy, 2 zostają uwolnione w postaci dwóch cząsteczek  $\text{CO}_2$ , a pozostałe 4 wchodzi w skład dwóch reszt octanowych związanych z dwoma cząsteczkami koenzymu A jako acetylo-CoA. Ten ostatni związek jest substratem cyklu Krebsa.

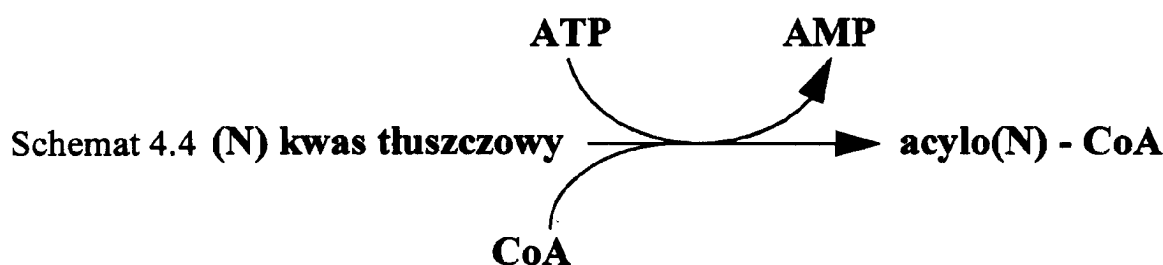
## 4.4 $\beta$ -oksydacja kwasów tłuszczowych

- Przebieg: kwas tłuszczowy (N atomów węgla)  $\rightarrow$  N/2 acetylo-CoA.
- Miejsce: mitochondria (matriks).
- Równoważniki redukcyjne: N/2 NADH, N/2  $\text{FADH}_2$ .
- Aktywacja: CoA.



Kwasy tłuszczowe, pochodzące z rozkładu tłuszczów, są jednym z podstawowych substratów oddechowych w komórce. Ulegają one rozkładowi w procesie  $\beta$ -oksydacji. Produktem rozkładu 1 cząsteczki kwasu tłuszczowego zawierającego  $N$  atomów węgla jest  $N/2$  reszt kwasu octowego związanych do koenzymu A (czyli  $N/2$  cząsteczek acetylo-CoA).

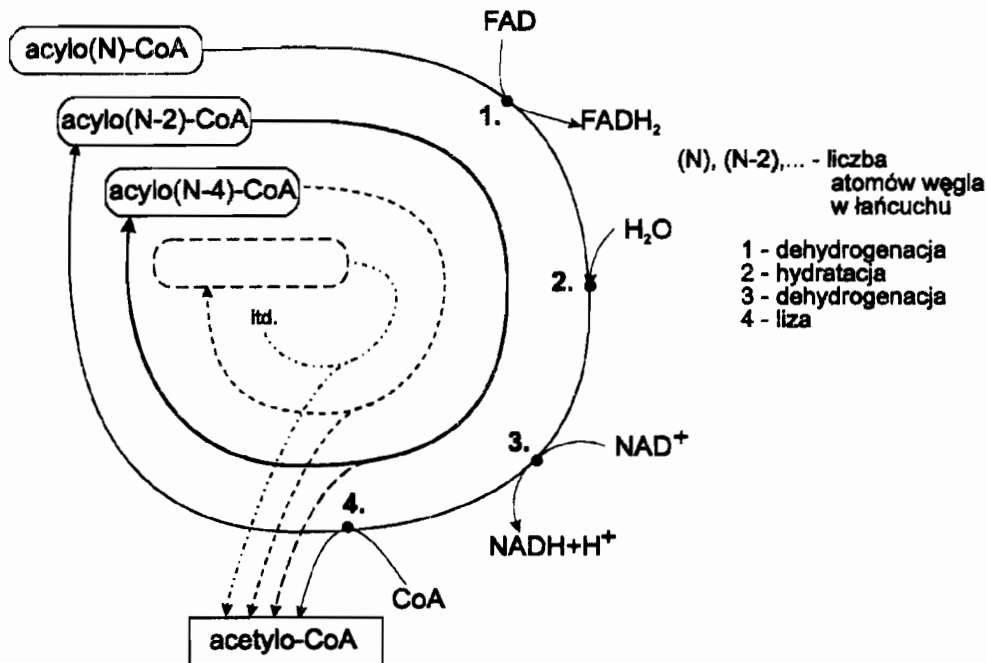
$\beta$ -oksydacja jest procesem cyklicznym, który w każdym obiegu cyklu skraca łańcuch kwasu tłuszczowego o 2 atomy węgla. Aby wejść do tego cyklu, kwasy tłuszczowe muszą ulec aktywacji poprzez przyłączenie CoA (powstaje acylo-CoA), co jest związane z hydrolizą ATP na AMP:



gdzie  $N$  oznacza ilość atomów węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego.

Każdy obieg cyklu składa się z czterech etapów, zaznaczonych na rycinie 4.2. Najpierw zachodzi dehydrogenacja (odwodowanie) acylo-CoA, w którym bierze udział FAD (etap 1). Następnie ma miejsce przyłączenie cząsteczki wody (hydratacja, etap 2). Etap 3 to powtórna dehydrogenacja, tym razem z udziałem NAD. W końcu następuje liza (rozszczenie) acylo-CoA o  $N$  atomach węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego na acetylo-CoA (2 atomy węgla w reszcie kwasu octowego) i acylo-CoA o  $N-2$  atomach węgla (w procesie tym bierze udział dodatkowy koenzym A). Skrócony o dwa atomy węgla acylo-CoA wchodzi ponownie do cyklu i znowu zostają od niego odłączone 2 atomy węgla w postaci acetylo-CoA. Proces ten trwa dotąd, aż cały łańcuch kwasu tłuszczowego zostanie rozłożony na reszty kwasu octowego.

Szybkość procesu  $\beta$ -oksydacji kontrolowana jest głównie przez jej pierwszy etap, to znaczy aktywację kwasów tłuszczowych (tworzenie acylo-CoA). Reakcja ta jest regulowana przez stężenie wolnego koenzymu A (CoA), będącego jej aktywatorem (patrz rycina 4.2).



Ryc. 4.2

Celem  $\beta$ -oksydacji jest częściowy rozkład kwasów tłuszczowych na reszty kwasu octowego (pamiętamy, że całkowity rozkład związku organicznego to rozłożenie tego związku na  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ ). Reszta kwasu octowego, związana z CoA jako acetylo-CoA, zostaje potem dalej rozłożona przez cykl Krebsa. Utlenianie kwasów tłuszczowych w procesie  $\beta$ -oksydacji jest zatem analogiczne do utleniania glukozy w glikolizie (oraz w następującej po niej dekarboksylacji pirogronianu) – produktem obu tych szlaków metabolicznych jest acetylo-CoA.

Drugi cel to przekazanie wodoru na utlenione formy równoważników redukcyjnych  $\text{NAD}^+$  i  $\text{FAD}$ , czyli redukcja tych równoważników do  $\text{NADH}$  i  $\text{FADH}_2$ . Są one później substratami dla łańcucha oddechowego.

Reakcją anaboliczną, przeciwną do  $\beta$ -oksydacji jest biosynteza kwasów tłuszczowych. Jest ona w dużej mierze odwróceniem  $\beta$ -oksydacji i polega na kolejnym dodawaniu do krótszego łańcucha 2-węglowych reszt kwasu octowego przenoszonych w postaci acetylo-CoA, przez co następuje wydłużanie tego łańcucha. W czasie jednego cyklu następuje dwukrotna redukcja, w której donorem wodoru jest NADPH (utleniający się do  $\text{NADP}^+$ ). Całość procesu katalizowana jest przez kompleks wieloenzymatyczny, zwany syntetazą kwasów tłuszczowych.

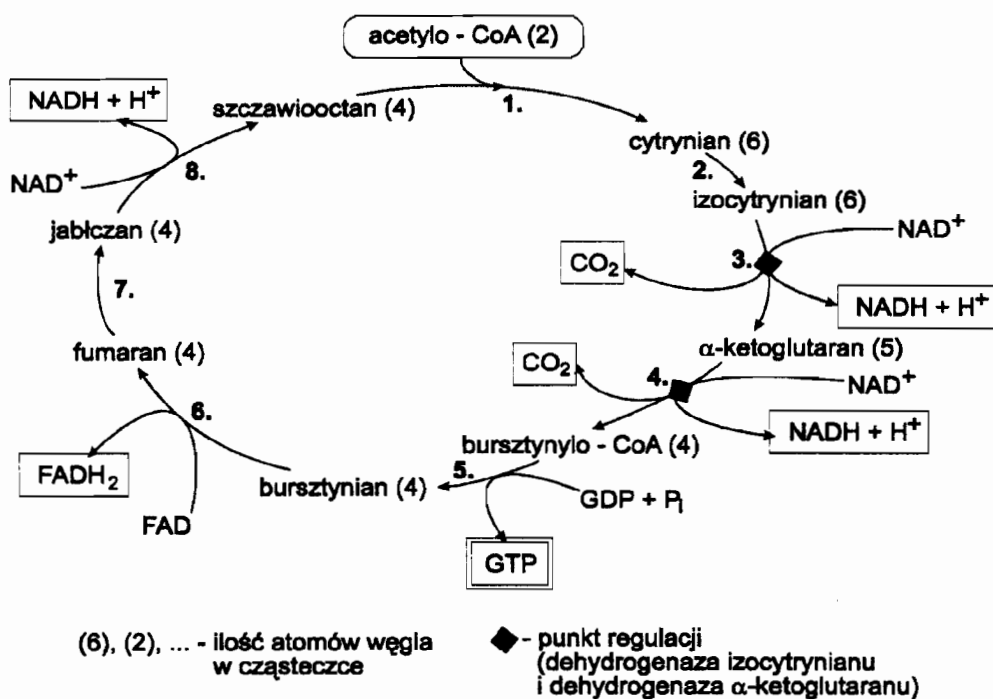
## 4.5 Cykl Krebsa

- Przebieg: acetylo-CoA  $\rightarrow$  2  $\text{CO}_2$  (+ NADH i  $\text{FADH}_2$ ).
- Miejsce: mitochondria (matriks).
- Zysk energetyczny: 1 GTP (2 GTP na 1 glukoza).
- Równoważniki redukcyjne: 3 NADH + 1  $\text{FADH}_2$  (6 NADH + 2  $\text{FADH}_2$  na 1 glukoza).
- Aktywacja:  $\text{NAD}^+$ , ADP,  $\text{Ca}^{2+}$ .
- Hamowanie: NADH, ATP.

Cykl Krebsa (zwany także cyklem kwasu cytrynowego) jest centralnym szlakiem metabolicznym, w którym zbiegają się drogi procesów utleniania podstawowych substratów oddechowych: cukrów, kwasów tłuszczowych i aminokwasów. Produktem glikolizy i  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych jest acetylo-CoA, substrat cyklu Krebsa, natomiast wiele aminokwasów zostaje przekształconych w procesie dezaminacji (usunięcia grup aminowych) prosto w metabolity pośrednie tego cyklu (zobacz następny rozdział). Całość cyklu ma miejsce w matriks mitochondrialnej.

Schemat cyklu Krebsa jest przedstawiony na rycinie 4.3. W pierwszej reakcji cyklu reszta kwasu octowego (2 atomy węgla) zostaje przeniesiona z acetylo-CoA na szczawiooctan (4 atomy węgla), co prowadzi do powstania cytrynianu (6 atomów węgla). W czasie cyklu następuje dwukrotna dekarboksylacja (odłączenie  $\text{CO}_2$ ), co w końcu prowadzi do odtworzenia 4-węglowego szcza-

wiooctanu. Dekarboksylacja zachodzi w reakcji 3, gdzie 6-węglowy izocytrynian zostaje przekształcony w 5-węglowy  $\alpha$ -ketoglutaran, oraz w reakcji 4, gdzie tenże  $\alpha$ -ketoglutaran przechodzi w 4-węglowy bursztynilo-CoA. W czasie jednego obiegu cyklu Krebsa dochodzi czterokrotnie do dehydrogenacji. W trzech reakcjach (3,4,8) wodory są przekazywane na  $\text{NAD}^+$  z wytworzeniem NADH, natomiast w czwartej reakcji (etap 6) redukcji ulega FAD i powstaje  $\text{FADH}_2$ . Etap 5 cyklu Krebsa jest przykładem fosforylacji substratowej. Tworzony tutaj GTP jest całkowicie równoważny ATP pod względem energetycznym. Ostatni z metabolitów cyklu Krebsa, szczawiooctan, ponownie wchodzi w reakcję z acetylo-CoA, zamykając w ten sposób koło cyklu (patrz poniższa rycina).



Ryc. 4.3

Metabolity pośrednie cyklu pełnią rolę substratów dla syntezy wielu związków w komórce (na przykład aminokwasów). Spowodowany tym ubytek metabolitów może zostać skompensowany przez tak zwane reakcje uzupełniające (anaplerotyczne). Zaliczamy do nich syntezę szczawiooctanu i jabłczanu z pirogronianu i  $\text{CO}_2$  oraz bur-

sztynianu z propionianu i  $\text{CO}_2$ . Reakcje te wymagają dopływu energii z hydrolizy ATP. Są one przykładem heterotroficznej asymilacji dwutlenku węgla do mniejszych związków organicznych.

Dwa atomy węgla, które wchodzi do cyklu Krebsa w postaci reszty kwasu octowego (związanej w acetylo-CoA), zostają tu całkowicie utlenione do dwóch cząsteczek  $\text{CO}_2$ . Z kolei wodory z reszty octanowej są przekazywane na równoważniki redukcyjne (NAD i FAD). Dodatkowo, cykl Krebsa dostarcza pewną ilość energii w postaci GTP.

Omawiany cykl pełni zatem dwie podstawowe role w przemianach katabolicznych. Jest on końcowym etapem utleniania cukrów, kwasów tłuszczowych i aminokwasów, prowadzącym do całkowitego utlenienia tych związków do  $\text{CO}_2$ . Dostarcza ponadto wodór z utlenianych substancji (za pośrednictwem NADH i  $\text{FADH}_2$ ) do łańcucha oddechowego, gdzie powstaje drugi produkt kompletnego rozkładu związków organicznych –  $\text{H}_2\text{O}$ .

Cykl Krebsa ma również duże znaczenie jako pula metabolitów dla przemian anabolicznych, na przykład dla syntezy aminokwasów lub glukoneogenezy (pirogronian, substrat glukoneogenezy może być syntetyzowany ze szczawiooctanu). To, czy cykl Krebsa uczestniczy głównie w przemianach katabolicznych, czy anabolicznych, zależy w dużej mierze od tkanki. Na przykład, w mięśni przeważa "opcja" kataboliczna, a w wątrobie – anaboliczna.

Regulacja szybkości przepływu metabolitów przez cykl Krebsa zależy przede wszystkim od dwóch enzymów: dehydrogenazy izocytrynianu (etap 3) i dehydrogenazy  $\alpha$ -ketoglutaranu (etap 4). Oba te enzymy są aktywowane przez jony wapnia,  $\text{NAD}^+$  i ADP, zaś hamowane przez NADH i ATP. Dopływ metabolitów do cyklu Krebsa jest kontrolowany przez wspomnianą uprzednio dehydrogenazę pirogronianu, katalizującą przekształcenie pirogronianu w acetylo-CoA, substrat tego cyklu. Co ciekawe, enzym ten posiada prawie identyczny zestaw aktywatorów i inhibitorów, jak wspomniane dwie dehydrogenazy cyklu Krebsa. Świadczy to o równoległej regulacji tego szlaku metabolicznego na różnych jego etapach, co zapewnia większą efektywność regulacji i względnie niezmiennie stężenie metabolitów pośrednich. Podobna równoległa aktywacja całego systemu oddychania tlenowego przez jony wapnia została omówiona w rozdziale 3.

## 4.6 Dezaminacja aminokwasów

- Przebieg: aminokwas  $\rightarrow$  metabolit cyklu Krebsa + amoniak.

Proces biologicznego utleniania aminokwasów polega przede wszystkim na ich przemianie w różne metabolity pośrednie cyklu Krebsa, gdzie ulegają one dalszemu rozkładowi. Przemiana ta polega na dezaminacji albo transaminacji aminokwasów oraz kilku dodatkowych przemianach. Dezaminację, czyli odłączenie grupy aminowej, można zilustrować następującym schematem:



Powstały w tej reakcji amoniak zostaje potem u ssaków związany w cyklu mocznikowym w formie mocznika i w tej postaci usunięty z organizmu. W procesie dezaminacji, na przykład, glutaminian jest przekształcany w  $\alpha$ -ketoglutaran, izoleucyna – w bursztynian, a tyrozyna – w fumaran. Alanina, po przemianie w pirogronian, wchodzi do cyklu Krebsa poprzez acetylo-CoA.

W procesie transaminacji grupa amidowa zostaje przeniesiona z aminokwasu na ketokwas, przy czym produktami tej reakcji jest inny aminokwas i inny ketokwas:



Przykładem takiej reakcji jest odwracalna przemiana glutaminianu (aminokwas) i szczawiooctanu (ketokwas) na asparaginian (aminokwas) i  $\alpha$ -ketoglutaran (ketokwas).

Zadaniem procesu rozkładu aminokwasów jest produkcja energii (rozkład aminokwasów w cyklu Krebsa prowadzi do redukcji ekwiwalentów redukcyjnych, które, przenosząc wodór na łańcuch oddechowy, powodują syntezę ATP) oraz pozbycie się niepotrzebnego nadmiaru aminokwasów, których komórka akurat nie potrzebuje.

## 4.7 Fosforylacja oksydacyjna

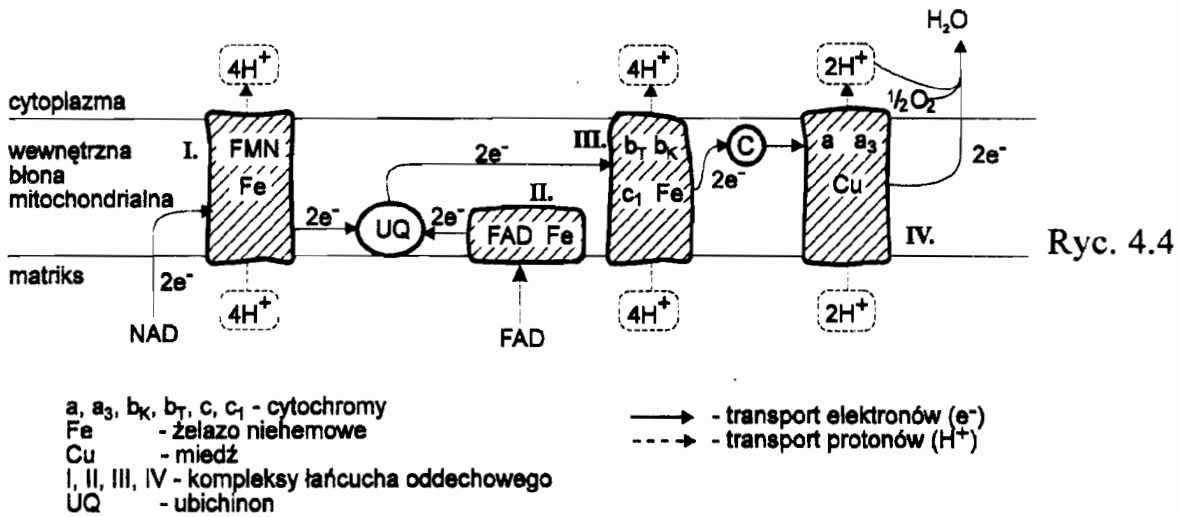
- Przebieg:  $\text{NADH} + \text{H}^+$  (lub  $\text{FADH}_2$ ) +  $1/2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+$  (lub  $\text{FAD}$ ) +  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Miejsce: wewnętrzna błona mitochondrialna.
- Zysk energetyczny:
  - 2.5 ATP na 1 NADH,
  - 1.5 ATP na 1  $\text{FADH}_2$ ,
  - 28 ATP na 1 glukoza.
- Aktywacja: ADP,  $\text{Ca}^{2+}$ .
- Hamowanie: ATP.

Fosforylacja oksydacyjna, czyli synteza ATP z ADP i  $\text{P}_i$  w oddychaniu tlenowym, składa się z dwóch głównych etapów. Pierwszy z nich to transport elektronów z NAD na tlen przez łańcuch oddechowy, połączony z tworzeniem siły protonomotorycznej. Siła ta zużywana jest w drugim etapie do syntezy ATP oraz transportu tego związku na zewnątrz mitochondriów.

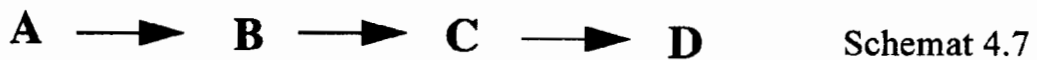
### 4.7.1 Łańcuch oddechowy

Jak wspomnieliśmy wcześniej, całkowite utlenienie węgla i wodoru w związkach organicznych prowadzi do powstania  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ . Kompletnie utlenianie węgla zostało zakończone już w cyklu Krebsa. Wodór jednakże “opuścił” ten cykl w formie NADH i  $\text{FADH}_2$ , a więc w pół drogi do ostatecznego utlenienia. Zachodzi ono dopiero w łańcuchu oddechowym, w którym elektrony i jony  $\text{H}^+$  zostają przeniesione z równoważników redukcyjnych na tlen, co prowadzi do utworzenia  $\text{H}_2\text{O}$ .

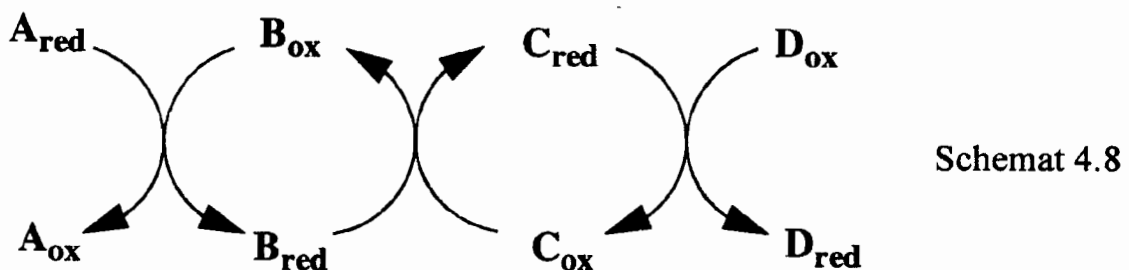
Łańcuch oddechowy jest zlokalizowany w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Składa się on z czterech dużych kompleksów białkowych (oznaczonych liczbami rzymskimi od I do IV), oraz dwóch małych cząsteczek będących (ze względu na dużą ruchliwość w błonie) łącznikami pomiędzy tymi kompleksami – ubichinonu (UQ) i cytochromu c (patrz rycina 4.4).



Transport elektronów przez łańcuch oddechowy można przedstawić jako przekazywanie elektronów z jednego składnika łańcucha na drugi:



i taką uproszczoną konwencję zastosowano na rycinie 4.4. Jeżeli uwzględnimy jednak fakt, że przekazanie elektronów (i ewentualnie jonów H<sup>+</sup>) na jakiś związek jest równoważne z jego redukcją, natomiast związek oddający elektrony ulega utlenieniu, to przepływ elektronów przez łańcuch oddechowy reprezentuje naprzemienne przechodzenie jego składników z formy zredukowanej w utlenioną i z powrotem:





gdzie “red” oznacza “zredukowany”, a “ox” – utleniony. Należy o tym pamiętać interpretując rycinę 4.4.

Jak pamiętamy, dwa równoważniki redukcyjne przekazują wodór z różnych reakcji katabolicznych na łańcuch oddechowy – są to NADH i FADH<sub>2</sub>. Pochodzące z tego wodoru elektrony wchodzi do łańcucha i są przezeń transportowane, natomiast jony H<sup>+</sup> zostają wydzielone do matriks mitochondrialnej (wracają one do łańcucha oddechowego w jego ostatnim etapie – tworzeniu wody z tlenu, elektronów i jonów wodorowych). Elektrony ze zredukowanej formy NAD (to znaczy z NADH) są przekazywane na kompleks I łańcucha oddechowego. Jest on dużym białkiem złożonym, zawierającym 1 cząsteczkę FMN i około 20 atomów żelaza niehemowego jako grupy prostetyczne. Wszystkie one uczestniczą w transporcie elektronów. Przepływowi dwóch elektronów (z NADH + H<sup>+</sup>) przez kompleks I towarzyszy wyrzucenie 4 jonów H<sup>+</sup> (protonów) z matriks mitochondrialnej na zewnątrz mitochondrium. Jak wspomnieliśmy w rozdziale 3, prowadzi to do powstawania siły protonomotorycznej. Kompleks I przekazuje elektrony na ubichinon (UQ).

Elektrony z FAD (ściślej mówiąc, z jego zredukowanej formy – FADH<sub>2</sub>) odbierane są przez kompleks II, zawierający jedną związaną cząsteczkę FAD oraz 8 atomów żelaza niehemowego. Kompleks ten nie pompuje protonów, a więc nie przyczynia się bezpośrednio do syntezy ATP. Podobnie jak kompleks I, przekazuje on elektrony na UQ. Zatem elektrony zarówno z NADH, jak i FADH<sub>2</sub> przenoszone są na ubichinon niezależnymi drogami. Natomiast elektrony nie są przekazywane w łańcuchu oddechowym z NAD na FAD, jak to wciąż uparczywie powtarza wiele podręczników.

Elektrony z ubichinonu trafiają na kompleks III łańcucha oddechowego. Kompleks ten zawiera 2 cytochromy **b**, cytochrom **c1** oraz 2 atomy żelaza niehemowego jako grupy prostetyczne przenoszące elektrony. Kompleks III wypompowuje 4 protony z matriks mitochondrialnej na każde 2 przechodzące elektrony. Elektrony te są dalej przekazywane na cytochrom **c**, będący małym białkiem szybko poruszającym się w obrębie wewnętrznej błony mitochondrialnej.

Ostatnim składnikiem łańcucha oddechowego, odbierającym elektrony z cytochromu **c** i przekazującego je na tlen, jest oksydaza cyto-

chromowa (kompleks IV). Zawiera ona 2 cytochromy typu **a** oraz 2 atomy miedzi. Kompleks IV, podobnie jak kompleksy I i III, funkcjonuje jako pompa protonowa, wyrzucając 2 protony na 2 przepływające elektrony. Elektrony są ostatecznie przekazywane na tlen ( $O_2$ ), który przy udziale jonów  $H^+$  zostaje przekształcony w wodę (będącą przecież niczym innym, jak zredukowaną formą tlenu).

W tym momencie ma miejsce ostatni etap całkowitego utlenienia glukozy, a także kwasów tłuszczowych, aminokwasów i innych związków organicznych do  $CO_2$  i  $H_2O$ . Pozostaje jeszcze doprowadzenie do końca najważniejszego zadania przemian metabolicznych, a więc wykorzystania rozkładu związków organicznych do produkcji uniwersalnego nośnika energii – ATP.

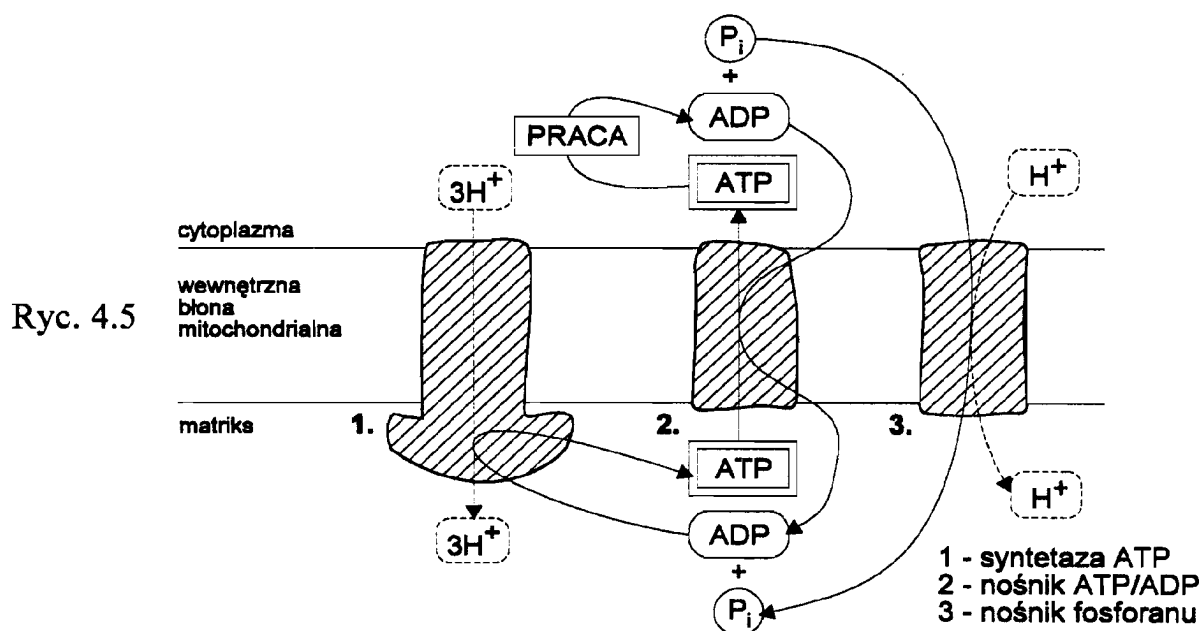
Omawiając łańcuch oddechowy doszliśmy do etapu tworzenia siły protonomotorycznej, a więc gradientu stężenia protonów w poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej. Protony mogą być wyrzucane “pod prąd” ciśnienia wywieranego przez gradient protonów tylko w tych miejscach łańcucha oddechowego, gdzie reakcja przekazania elektronów z jednego składnika łańcucha na drugi posiada wystarczająco dużą ujemną zmianę energii swobodnej Gibbsa, a więc może dostarczyć wystarczająco dużo energii (porównaj rozdział 3). Zachodzi to dla pewnych grup prostetycznych w niektórych kompleksach łańcucha oddechowego. W pompowaniu protonów, a więc tworzeniu tego gradientu, uczestniczą trzy takie kompleksy: kompleks I, III i IV, natomiast nie bierze w tym udziału kompleks II. Wiąże się to z inną ilością protonów wyrzuconych na zewnątrz mitochondrium przy utlenianiu NADH i  $FADH_2$ . Dwa elektrony przekazywane z NADH na tlen przechodzą przez kompleksy I, III i IV, co prowadzi do wypompowania  $4 + 4 + 2$ , to znaczy 10 protonów. Natomiast droga elektronów z  $FADH_2$  do  $O_2$  to kompleksy II, III i IV, co daje  $0 + 4 + 2$ , to znaczy 6 protonów.

Funkcją łańcucha oddechowego jest zatem przeprowadzenie do końca procesu całkowitego utleniania wodoru pochodzącego ze związków organicznych oraz wytworzenie siły protonomotorycznej, służącej do syntezy ATP.

## 4.7.2 Synteza ATP

Protony wyrzucone przez pompy protonowe łańcucha oddechowego na zewnątrz mitochondriów mają naturalną tendencję do powrotu do matriks, gdzie, na skutek gradientu protonowego, ich stężenie jest znacznie mniejsze. Właśnie powrotny przepływ protonów do matriks jest sprzężony z procesem syntezy ATP (zobacz rozdział 3). Ujemna zmiana energii swobodnej Gibbsa odpowiadająca sile protonomotorycznej równa jest około 1/3 wartości dodatniej zmiany energii swobodnej dla reakcji syntezy ATP (obie wartości określamy dla warunków fizjologicznych). Do sprzężenia syntezy ATP z powrotem protonów do matriks potrzebne są zatem 3 protony na 1 ATP i taka ilość jest obecnie przyjmowana.

Ponieważ wewnętrzna błona mitochondrialna jest zasadniczo nieprzepuszczalna dla protonów, ich powrót do matriks odbywa się poprzez enzym syntetazę ATP, który posiada odpowiedni kanał umożliwiający przepływ protonów. Kanał ten jest tak skonstruowany, że energia transportowanych protonów zostaje przenoszona na centrum aktywne enzymu, gdzie dochodzi do syntezy ATP. Szczegóły tego procesu nie są jeszcze poznane.



Syntetaza ATP ma kształt grzybka, którego nóżka jest zakotwiczona w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i zawiera kanalik transportujący protony, natomiast w kierowanej do matriks główce zachodzi synteza ATP. Ponieważ zużycie ATP do wykonania rozmaitego rodzaju pracy ma miejsce przede wszystkim w cytoplazmie, zachodzi konieczność transportu ATP z matriks do cytoplazmy, a produktów jego hydrolizy – ADP i  $P_i$  – z cytoplazmy do matriks, aby mogły one ponownie służyć do syntezy ATP.

Zapewniają to dwa nośniki. Nośnik ATP/ADP transportuje ATP do cytoplazmy na wymianę z ADP, transportowanym do mitochondrium. Takie sprzężenie przenoszenia jakiegoś związku na jedną stronę błony z jednoczesnym przeniesieniem innego związku na stronę przeciwną nazywamy **antytransportem**. Nośnik fosforanu transportuje do matriks mitochondrialnej fosforan nieorganiczny razem z jodem  $H^+$ . Jest to przykład **kotransportu**, czyli połączonego transportu dwóch związków. Sumarycznym skutkiem działania obu nośników jest zatem przeniesienie 1 ATP na zewnątrz, oraz 1 ADP i 1  $P_i$  do wewnątrz mitochondrium. Proces ten związany jest z powrotem 1 protonu do matriks.

Ogólnie zatem, synteza 1 cząsteczki ATP w cytoplazmie wymaga przeniesienia 4 protonów z cytoplazmy do wnętrza mitochondrium. Trzy z nich zużywane są na synteze ATP w mitochondrium, natomiast czwarty pochłania transport substratów do syntezy ATP z cytoplazmy do matriks, a samego ATP w przeciwnym kierunku. W cytoplazmie ATP zostaje wykorzystany do wykonania rozmaitego rodzaju pracy (patrz rozdział 3).

Znając ilość protonów wyrzucanych przez łańcuch oddechowy w czasie utleniania NADH i  $FADH_2$  oraz ilość powracających protonów potrzebnych na synteze 1 ATP, łatwo obliczyć ilość otrzymanych cząsteczek ATP. Przeniesienie 2 elektronów z NADH na tlen dostarcza  $10/4$ , czyli 2,5 cząsteczki ATP. Dla  $FADH_2$  wartość ta wynosi  $6/4$ , czyli 1,5 cząsteczki ATP (obecnie uznawane wartości są nieco niższe od wcześniej przyjmowanych liczb: 3 i 2 cząsteczki ATP powstałe w utlenianiu, odpowiednio: NADH i  $FADH_2$ ).

Głównymi aktywatorami fosforylacji oksydatywnej są ADP i jony wapnia. Jony wapnia są odpowiedzialne za wspomnianą już równoległą aktywację rozmaitych reakcji w komórce (zużycia ATP,

np. skurczu mięśnia, dekarboksylacji pirogronianu, cyklu Krebsa i właśnie fosforylacji oksydatywnej). ADP natomiast jest substratem fosforylacji oksydatywnej. Aktywacja szlaków metabolicznych przez ich substraty oraz inhibicja przez produkty stanowi ogólną regułę. Cykl Krebsa jest na przykład hamowany przez swój główny produkt – NADH oraz aktywowany przez  $\text{NAD}^+$ , utlenianie kwasów tłuszczowych jest stymulowane przez jeden z substratów – CoA itd.

Synteza ATP stanowi zakończenie i ukoronowanie skomplikowanego systemu przemian katabolicznych – dostarcza ona komórce uniwersalnego i łatwo dostępnego źródła energii. Bez tej energii komórka żywa nie mogłaby funkcjonować, tak jak nie może funkcjonować samochód bez benzyny, telewizor bez prądu lub elektrownia atomowa bez izotopów radioaktywnych.

## 4.8 Zysk energetyczny przemian katabolicznych

Bilans energetyczny przemian katabolicznych zależy bardzo istotnie od tego, jakie substraty są utleniane i w jakim procesie: oddychaniu tlenowym, czy beztlenowym. Poniżej porównamy zysk energetyczny oddychania beztlenowego (fermentacji) oraz tlenowego utleniania glukozy i kwasów tłuszczowych.

W procesie fermentacji (włączając w to oddychanie beztlenowe w mięśniach przy braku tlenu) produkowane są 2 cząsteczki ATP na jedną cząsteczkę glukozy. 2 NADH wyprodukowane w glikolizie są zużywane do redukcji pirogronianu przy produkcji końcowego metabolitu fermentacji. Ogólny zysk fermentacji wynosi zatem 2 ATP na jedną cząsteczkę glukozy.

Tlenowe utlenianie glukozy daje 4 cząsteczki ATP powstałe w procesie fosforylacji substratowej (2 ATP w glikolizie i 2 GTP w cyklu Krebsa), 10 NADH (2 w glikolizie, 2 w dekarboksylacji pirogronianu i 6 w cyklu Krebsa) oraz 2  $\text{FADH}_2$  (w cyklu Krebsa). Pamiętając o tym, że utlenienie 1 NADH daje 2,5 ATP, a utlenienie 1  $\text{FADH}_2$  - 1,5 ATP, otrzymujemy ogólną ilość ATP równą 4 (fosforylacja substratowa) + 25 (z NADH) + 3 (z  $\text{FADH}_2$ ), czyli 32 cząste-

czki ATP. Zysk energetyczny z utlenienia 1 cząsteczki glukozy wynosi zatem 32 cząsteczki ATP, z czego 28 w fosforylacji oksydatywnej (wcześniej przyjmowano nawet większą wartość tego zysku ze względu na brana do obliczeń zawyżoną ilość cząsteczek ATP powstałych w procesie utlenienia NADH i FADH<sub>2</sub>). Tlenowe utlenianie glukozy dostarcza zatem aż 16 razy więcej energii, niż proces fermentacji.

Aby porównać utlenianie 6-węglowej glukozy z rozkładem kwasów tłuszczowych, rozważymy 6-węglowy odcinek łańcucha takiego kwasu. Jego utlenianie (przypomnijmy, iż zachodzi ono poprzez rozłożenie tego odcinka na 3 reszty kwasu octowego, związane w trzech cząsteczkach acetylo-CoA) dostarcza 3 ATP (3 GTP w cyklu Krebsa), 12 NADH (3 w β-oksydacji i 9 w cyklu Krebsa) oraz 6 FADH<sub>2</sub> (3 w β-oksydacji i 3 w cyklu Krebsa). Daje to łącznie 3 + 30 + 9, czyli 42 cząsteczki ATP na 6-węglowy odcinek łańcucha kwasu tłuszczowego. Zysk energetyczny utleniania kwasów tłuszczowych jest zatem większy, niż zysk utleniania glukozy. Wiąże się to z tym, że glukoza jako związek jest już częściowo utleniona – zawiera ona 6 atomów tlenu, podczas gdy łańcuch kwasów tłuszczowych nie zawiera tlenu w ogóle.

# Szczegółowy opis przemian anabolicznych

---

Różnorodność reakcji anabolicznych jest ogromna. Staje się to zrozumiałe, jeśli uwzględnimy wielką ilość związków organicznych wchodzących w skład komórki. Większość (u heterotrofów), lub nawet wszystkie (u autotrofów) takie związki muszą zostać przez komórkę zsyntetyzowane. Niektóre spośród najważniejszych szlaków anabolicznych zostały wspomniane w rozdziale poprzednim, przy okazji omawiania przeciwnych do nich szlaków katabolicznych. Chodzi tu o glukoneogenezę (przemianę odwrotną do glikolizy), biosyntezę kwasów tłuszczowych (przeciwieństwo  $\beta$ -oksydacji) i syntezę aminokwasów (przeciwieństwo dezaminacji). Odczytywanie informacji genetycznej i związana z nią synteza DNA, RNA i białek zostanie omówiona w opracowaniu poświęconym genetyce.

W obecnym rozdziale ograniczymy się do omówienia początkowego etapu przemian anabolicznych u organizmów autotroficznych, czyli do produkcji cukrów prostych (w szczególności glukozy) z  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$  oraz uzyskiwania energii niezbędnej do tego procesu. Procesami, którymi się zajmiemy, będą fotosynteza i chemosynteza.

## 5.1 Fotosynteza

Fotosynteza jest procesem anabolicznym zachodzącym u roślin zielonych, sinic i bakterii fotosyntetyzujących. Polega ona na syntezie związków organicznych (aldehydu 3-fosfoglicerynowego i glukozy) ze związków nieorganicznych – dwutlenku węgla i wody. Energii do tego procesu dostarcza promieniowanie świetlne. Proces fotosyntezy, będący w swej istocie przemianą energii fali elektromagnetycznej w energię wiązań chemicznych, dostarcza ogromną większość energii zużytkowywanej przez całą ziemską biosferę. Bezpośrednio z tej energii korzystają organizmy, w których fotosynteza zachodzi (fotoautotrofy), pośrednio zaś organizmy odżywiające się innymi urządzeniami żywymi lub martwą energią organiczną (heterotrofy). Także energia wyzwolana w czasie spalania węgla kamiennego to zasymilowana (przyswojona) przez rośliny żyjące na Ziemi w minionych epokach (zwłaszcza w karbonie) energia promieniowania słonecznego. Chemosynteza dostarcza biosferze o wiele mniej energii, niż fotosynteza.

Anaboliczny szlak syntezy cukrów z dwutlenka węgla i wody składa się w procesie fotosyntezy z dwóch głównych etapów. W ciemnej (nie wymagającej światła) fazie fotosyntezy zachodzi właściwa reakcja anaboliczna – tworzenie aldehydu 3-fosfoglicerynowego i glukozy. Jasna (świetlna) faza fotosyntezy służy produkcji tak zwanej “siły asymilacyjnej”, czyli energii w postaci ATP oraz równoważnika redukcyjnego – NADPH, wykorzystywanych później w fazie ciemnej.

### 5.1.1 Faza jasna (świetlna) fotosyntezy

- Przebieg:  $\text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+ \rightarrow 1/2 \text{O}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+$ .
- Miejsce: błona tylakoidów.
- Zysk energetyczny: 4/3 ATP na 1  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Równoważniki redukcyjne: 1 NADPH

W jasnej fazie fotosyntezy energia świetlna wykorzystywana jest do wybicia z wody elektronów (oraz jonów  $\text{H}^+$ ), które dalej przeka-



zywane są przez łańcuch fotosyntetyczny na  $\text{NADP}^+$ , redukując ten związek do NADPH. Przepływowi elektronów towarzyszy pompowanie protonów do wnętrza gran tylakoidów, co prowadzi do powstania gradientu protonowego, zużywanego do produkcji ATP.

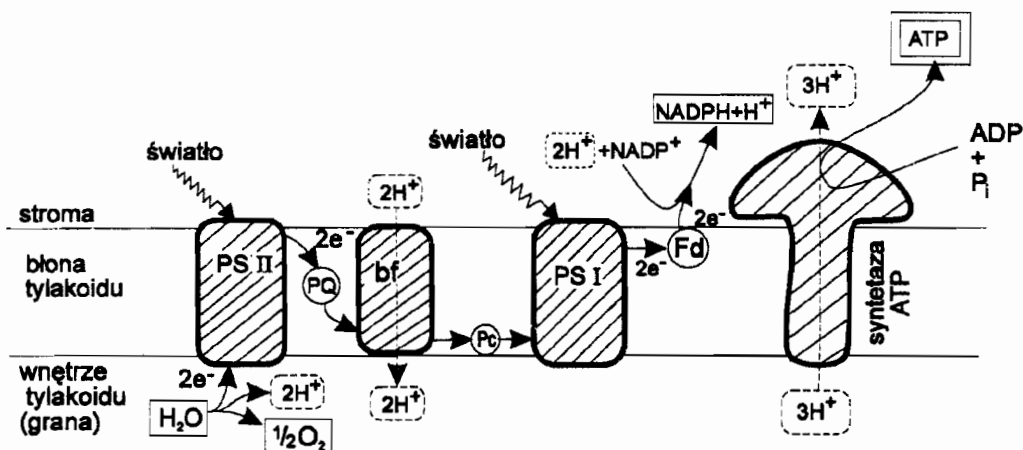
Promieniowanie świetlne jest absorbowane (pochłaniane) przez kompleksy pochłaniające światło (anteny), znajdujące się w błonach tylakoidów i utworzonych przez nie gran. U roślin zielonych składają się one z kilkuset cząsteczek chlorofilu a i b oraz pomocniczych barwników fotosyntetycznych: karotenów i ksantofili. Pochłonięcie kwantu promieniowania świetlnego przez cząsteczkę barwnika (chlorofilu lub barwnika pomocniczego) prowadzi do wzbudzenia tej cząsteczki. Wzbudzenie to może być przekazywane na sąsiednie elementy anteny (cząsteczki barwników) na zasadzie rezonansu. W końcu dociera ono do "centrum reakcji" anteny, w którym znajduje się cząsteczka chlorofilu. Tutaj energia wzbudzenia wykorzystana jest do przeniesienia elektronu na wyższy poziom energetyczny i przekazania go na fotosyntetyczny łańcuch transportu elektronów. Funkcją kompleksów zbierających światło jest zwiększenie powierzchni pochłaniania promieniowania świetlnego. Dodatkowo, obecność barwników pomocniczych pozwala na pochłanianie światła o długościach fali nie absorbowanych przez chlorofil (karotenoidy mają odmienne widmo absorbcyjne od chlorofilu, o czym świadczy chociażby ich barwa), a więc na bardziej efektywne wykorzystywanie energii promieniowania słonecznego.

U roślin zielonych występują dwa rodzaje anten, zwane fotosystemami, różniące się przede wszystkim budową "centrów reakcji". Fotosystem I (PS I) zawiera chlorofil  $\text{P}_{700}$ , natomiast fotosystem II (PS II) – chlorofil  $\text{P}_{680}$ . Nazwy te pochodzą od długości fali elektromagnetycznej (w nanometrach), dla której te chlorofile wykazują największe pochłanianie (absorbację).

Schemat świetlnej fazy fotosyntezy jest przedstawiony na rycinie 5.1.

W fazie tej uczestniczy fotosyntetyczny łańcuch transportu elektronów oraz syntetaza ATP, oba zlokalizowane w błonie tylakoidów. Łańcuch fotosyntetyczny zawiera dwa wspomniane fotosystemy, kompleks bf (analogiczny do kompleksu III w łańcuchu oddechowym) oraz trzy małe związki, będące łącznikiem pomiędzy

kompleksami: plastochinon (PQ), plastocyjaninę (Pc) i ferredoksyne (Fd).



Ryc.5.1

PS I	- fotosystem I	Pc	- plastocyjanina	----->	- przenoszenie protonów
PS II	- fotosystem II	Fd	- ferredoksyna	----->	- przenoszenie elektronów
bf	- kompleks bf	$e^-$	- elektron		
PQ	- plastochinon	$H^+$	- proton		

Kwant światła padający na fotosystem II (Chlorofil P<sub>680</sub>) dostarcza energii dla reakcji fotolizy (czyli rozpadu pod wpływem światła) wody na tlen, jony wodorowe (protony) i elektrony. Z jednej cząsteczki H<sub>2</sub>O dwa elektrony przekazywane są na fotosystem II, natomiast dwa protony zostają uwolnione do wnętrza tylakoidu. Elektrony z fotosystemu II przenoszone są na plastochinon.

Odbiorcą elektronów z PQ jest kompleks bf. Zawiera on, jako grupy prostetyczne, dwa cytochromy b oraz cytochrom f (należący do grupy cytochromów c). Przypuszcza się, iż kompleks ten przenosi do wnętrza tylakoidu 2 protony na dwa przepływające elektrony, powstałe na skutek rozpadu jednej cząsteczki wody. Protony te są właściwie przenoszone przez plastochinon, który, przyjmując elektrony od fotosystemu I, redukuje się do PQH<sub>2</sub>, pobierając dwa protony ze stromy. Następnie, oddając elektrony na kompleks bf ulega utlenieniu do PQ i uwalnia protony do wnętrza tylakoidu. Kompleks bf przekazuje elektrony na plastocyjaninę, będącą metaloproteidem zawierającym miedź.

Dalej elektrony są przekazywane na fotosystem I. Tutaj, ponownie, kwant promieniowania powoduje wzbudzenie chlorofilu

w "centrum reakcji" (tym razem jest to chlorofil P<sub>700</sub>) i przeniesienie elektronów na wyższy poziom energetyczny. Mają one dzięki temu wystarczająco dużą energię, aby służyć do redukcji NADP<sup>+</sup>, przy czym powstaje NADPH + H<sup>+</sup> (protony pobierane są ze stromy). W procesie tym pośredniczy ferredoksyna (metaloproteid zawierający żelazo), przenosząca elektrony z fotosystemu I na NADP.

Ogólnie, łańcuch fotosyntetyczny przenosi do wnętrza tylakoidu (lub grana) 4 protony na każde 2 przepływające elektrony. Dwa protony są transportowane przez plastochinon, oddający elektrony na kompleks bf. Rozkład wody prowadzi do uwolnienia 2 protonów we wnętrzu tylakoidów, natomiast redukcja NADP<sup>+</sup> do NADPH + H<sup>+</sup> – do pobrania 2 protonów ze stromy. Jest to równoważne przeniesieniu dalszych dwóch protonów ze stromy do wnętrza tylakoidu.

Przenoszenie protonów do wnętrza tylakoidu prowadzi do powstania gradientu protonów (siły protonomotorycznej). Powoduje ona ucieczkę protonów z tylakoidów i gran, gdzie ich stężenie jest ogromne (podobnie, powietrze ucieka przez dziurkę z balonika, gdzie ciśnienie jest znacznie większe, niż na zewnątrz). Protony, podobnie jak w mitochondriach, przepływają przez kanalik w syntezie ATP, co jest sprzężone z reakcją przyłączania fosforanu nieorganicznego do ADP, czyli syntezy ATP. Ponieważ 3 protony są potrzebne do powstania ATP (w chloroplastach nie zachodzi zużycie czwartego protonu na transport fosforanu, ADP i ATP, bowiem ATP powstaje na zewnątrz gran), zysk energetyczny opisanego procesu wynosi 4/3 ATP na 2 przepływające elektrony (lub na 1 rozłożoną cząsteczkę H<sub>2</sub>O).

Przedstawiony wyżej proces fosforylacji fotosyntetycznej zwany jest fosforylacją niecykliczną. Charakteryzuje się ona:

- liniowym transportem elektronów (z wody na NADP),
- syntezą ATP oraz NADPH,
- fotolizą wody,
- uczestnictwem obu fotosystemów (PS I i PS II).

U roślin zielonych, w warunkach dużego zapotrzebowania na energię (ATP), przy jednoczesnym wysokim stężeniu NADPH, a także u bakterii fotosyntetyzujących, ma miejsce fosforylacja cykliczna. Jej przebieg przedstawia rycina 5.2.



W normalnych warunkach w świetlnej fazie fotosyntezy u roślin zielonych przeważa fosforylacja niecykliczna. Dostarcza ona "siły asymilacyjnej" (ATP + NADPH), zużywanej do związania (asymilacji) dwutlenku węgla oraz produkcji cukrów w ciemnej fazie fotosyntezy.

### 5.1.2 Faza ciemna fotosyntezy

- Przebieg:  $\text{CO}_2 \rightarrow$  aldehyd 3-fosfoglicerynowy  $\rightarrow$  glukoza (przy udziale ATP i NADPH).
- Miejsce: stroma chloroplastów.

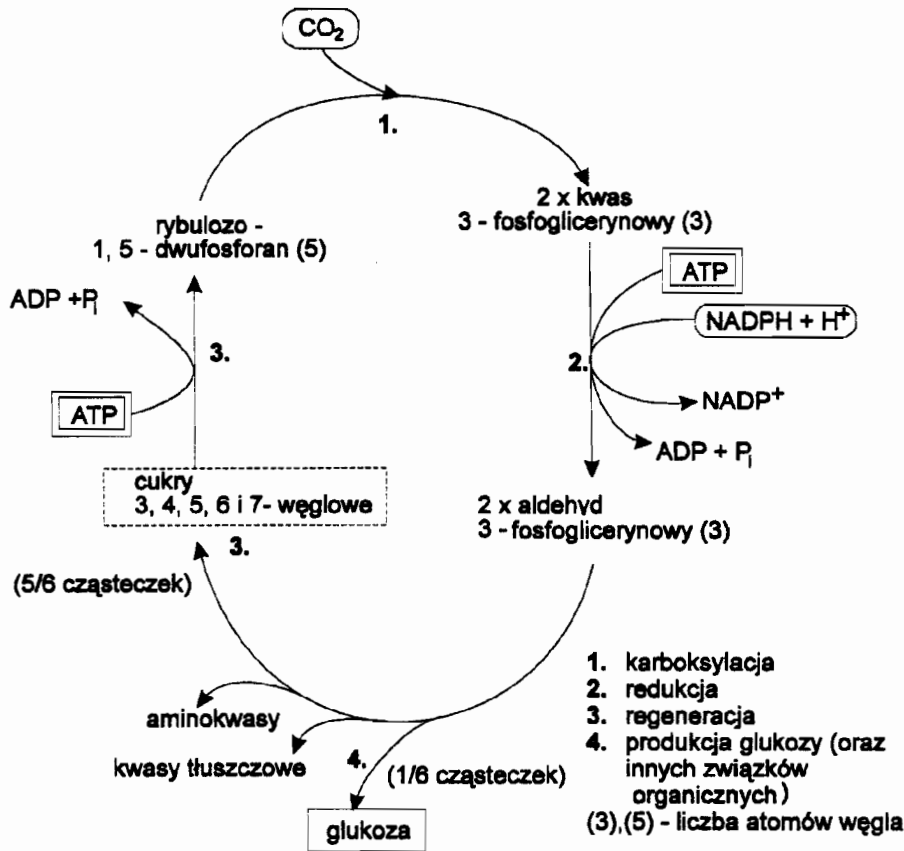
Ciemna faza fotosyntezy, czyli właściwa reakcja anaboliczna syntezy cukrów z dwutlenku węgla i wody, zachodzi w stromie chloroplastów. Rośliny zielone, ze względu na rodzaj reakcji zachodzących w fazie ciemnej, dzielimy na dwa typy:

- rośliny  $\text{C}_3$  – pierwszymi trwałymi produktami asymilacji  $\text{CO}_2$  są związki 3-węglowe (kwas 3-fosfoglicerynowy, aldehyd 3-fosfoglicerynowy);
- rośliny  $\text{C}_4$  – pierwszymi produktami asymilacji  $\text{CO}_2$  są związki 4-węglowe (przede wszystkim szczawiooctan).

U roślin  $\text{C}_3$  asymilacja dwutlenku węgla zachodzi w cyklu Calvina. Jego schemat jest przedstawiony na rycinie 5.3.

Dwutlenek węgla wiązany jest w reakcji karboksylacji do rybulozo-1,5-dwufosforanu, zawierającego 5 atomów węgla. Powstały 6-węglowy związek jest bardzo nietrwały i szybko rozpada się na dwie cząsteczki kwasu 3-fosfoglicerynowego (3 atomy węgla). Przy udziale "siły asymilacyjnej" (ATP i NADPH) kwas ten zostaje w reakcji redukcji przekształcony w aldehyd 3-fosfoglicerynowy. Pięć z sześciu jego cząsteczek wchodzi ponownie do cyklu Calvina. W procesie regeneracji z pięciu 3-węglowych cząsteczek aldehydu 3-fosfoglicerynowego powstają trzy 5-węglowe cząsteczki rybulozo-1,3-dwufosforanu. Regeneracja odbywa się poprzez tzw. cykl pentozowy, w którym metabolitami pośrednimi są cukry 3,4,5,6 i 7-węglowe. Cykl Calvina zawiera zatem 3 główne procesy: karboksylację, w której wiązany jest dwutlenek węgla, redukcję,

w której zużywana jest "siła asymilacyjna", oraz regenerację, prowadzącą do odtworzenia związku wiążącego CO<sub>2</sub> (rybulozo-1,5-dwufosforanu).



Ryc. 5.3

Jak wspomnieliśmy, pięć na sześć cząsteczek aldehydu 3-fosfoglicerynowego jest dalej przekształcanych w cyklu Calvina. Natomiast pozostała jedna szóstka cząsteczek jest substratem do syntezy ogromnej ilości związków organicznych w komórce, przede wszystkim glukozy i jej pochodnych, ale także aminokwasów, kwasów tłuszczowych itd. Dlatego też aldehyd 3-fosfoglicerynowy jest nazywany pierwotnym produktem fotosyntezy, natomiast powstałe z niego związki organiczne – wtórnymi produktami fotosyntezy.

Glukoza powstaje w wyniku połączenia dwóch cząsteczek aldehydu 3-fosfoglicerynowego (oraz kilku dodatkowych reakcji, będących odwróconym fragmentem szlaku glikolizy). Może ona dalej być przekształcona w inne monosacharydy, wejść w skład disacharydów (sacharoza) lub polisacharydów (skrobia, celuloza).

Powstałe z aldehydu 3-fosfoglicerynowego aminokwasy wchodzą potem w skład białek, kwasy tłuszczowe – tłuszczów, nukleotydy – kwasów nukleinowych itd. Cała ogromna różnorodność związków organicznych w komórce roślinnej powstaje z jednego tylko związku – pierwotnego produktu fotosyntezy – aldehydu 3-fosfoglicerynowego.

U roślin  $C_4$  (należy do nich kukurydza, trzcina cukrowa i niektóre trawy) nieco odmiennie wygląda wiązanie  $CO_2$ . Mają one co prawda normalnie funkcjonujący cykl Calvina, który, podobnie jak u roślin  $C_3$ , produkuje aldehyd 3-fosfoglicerynowy przy udziale ATP i NADPH. Dwutlenek węgla jednak nie jest pobierany bezpośrednio z powietrza, lecz dostarczany poprzez dekarboksylację jabłczanu, która to reakcja jest częścią cyklu Hatcha, Slacka i Kortchaka.

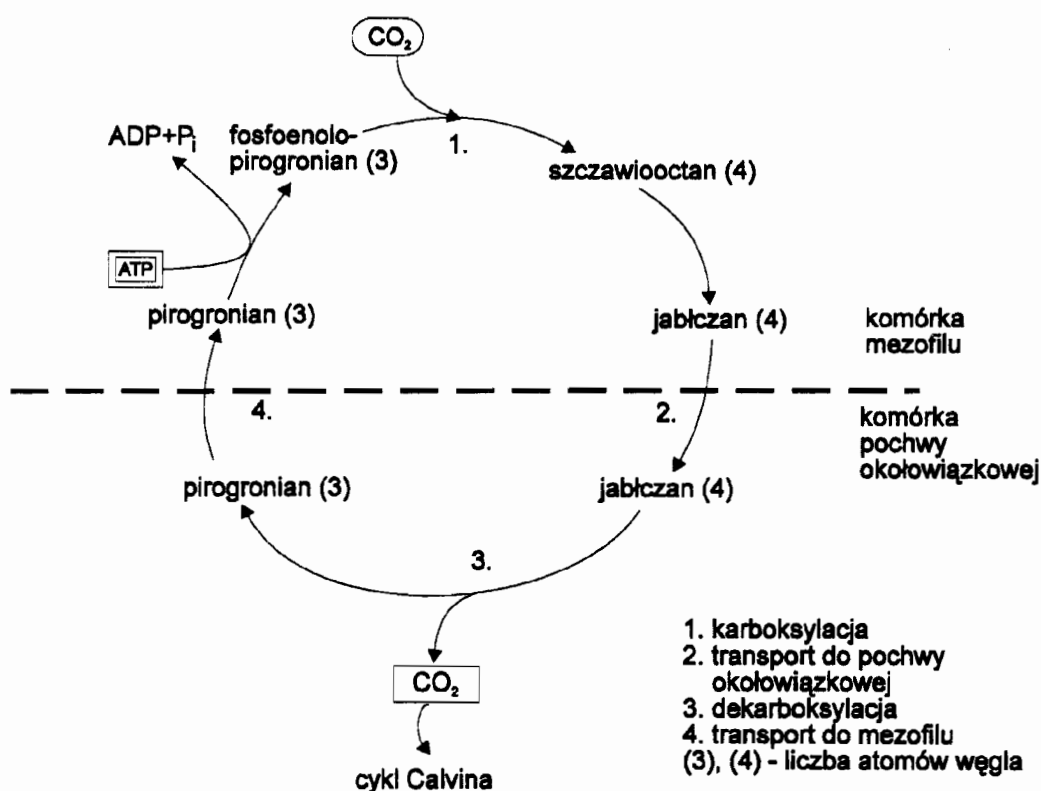
Schemat tego cyklu jest przedstawiony na rycinie 5.4.

U roślin  $C_4$  procesy wiązania (asymilacji) dwutlenku węgla oraz jego redukcji i przekształcania w aldehyd 3-fosfoglicerynowy są rozdzielone przestrzennie. Wiązanie  $CO_2$  zachodzi w chloroplastach komórek mezofilu, natomiast cykl Calvina ma miejsce w chloroplastach komórek pochwy okołowiązkowej. Cykl Hatcha, Slacka i Kortchaka, pośredniczący w wiązaniu dwutlenku węgla dla cyklu Calvina, musi być zatem także rozdzielony pomiędzy te dwa typy komórek.

Wiązanie  $CO_2$  zachodzi u roślin  $C_4$  w reakcji karboksylacji fosfoenolopirogronianu (związek 3-węglowy) w komórkach mezofilu, co prowadzi do powstania szczawiooctanu (4 atomy węgla). Związek ten ulega przekształceniu w jabłczan, który jest transportowany do komórek pochwy okołowiązkowej. Tutaj związany dwutlenek węgla jest “oddawany”, czyli uwalniany w procesie dekarboksylacji jabłczanu i wchodzi w przemiany cyklu Calvina. Natomiast powstały w tym procesie pirogronian ulega transportowi z powrotem do komórek mezofilu, gdzie, po przekształceniu w fosfoenolopirogronian, może ponownie wiązać  $CO_2$ .

Powstaje pytanie, po co w ogóle zachodzi cykl Hatcha, Slacka i Kortchaka, skoro cykl Calvina może równie dobrze wiązać dwutlenek węgla bez jego pomocy. Odpowiedzią na to pytanie jest fakt, że asymilacja  $CO_2$  u roślin  $C_4$  zachodzi znacznie efektywniej, niż u roślin  $C_3$ . Stężenie dwutlenku węgla w pochwie okołowiązkowej tych pierwszych jest wielokrotnie większe, niż zawartość tego gazu

w powietrzu. Wiązanie tego gazu za pośrednictwem cyklu Hatcha, Slacka i Kortchaka charakteryzuje zatem znacznie wyższa wydajność. Potwierdzeniem tego jest duża produktywność (przyrost biomasy w jednostce czasu) roślin  $C_4$ , istotnie przekraczająca produktywność roślin  $C_3$ .



Ryc. 5.4

Podsumowując, fotosynteza jest początkowym etapem całości przemian anabolicznych w komórce roślinnej. Pierwotny produkt fotosyntezy, aldehyd 3–fosfoglicerynowy, powstaje w ciemnej fazie fotosyntezy ze zasymilowanego dwutlenku węgla. Wodoru do redukcji tego związku (w postaci NADPH) oraz energii (ATP) dostarcza jasna (świetlna) faza fotosyntezy.



### 5.1.3 Czynniki wpływające na intensywność fotosyntezy

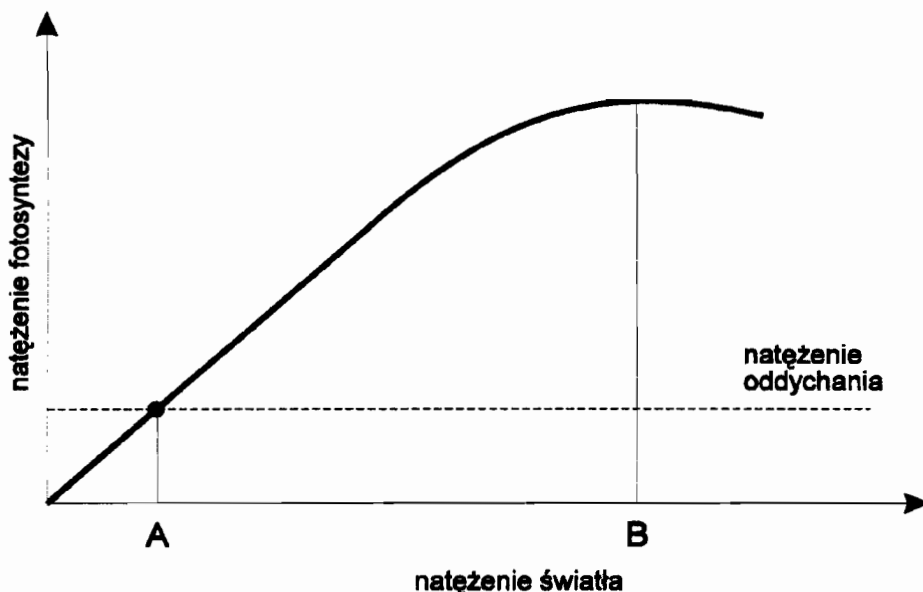
Natężenie fotosyntezy mierzy się ilością wydzielonego tlenu lub pobranego dwutlenku węgla przez roślinę albo jej część. Podaje się je najczęściej w jednostkach objętości wydzielonego (pobranego) gazu ( $\text{cm}^3$ ,  $\text{mm}^3$ ) przypadającą na jednostkę masy rośliny (np. 1 gram świeżej lub suchej masy) w jednostce czasu (min lub h). Do pomiaru wydzielania tlenu używa się najczęściej metod manometrycznych, za pomocą których rejestruje się zmiany objętości lub ciśnienia w zamkniętym układzie, w którym umieszczono badaną próbkę. Najbardziej znanym urządzeniem tego typu jest aparat Warburga. Naczyńko z badanym materiałem jest w tym aparacie połączone z rurką w kształcie litery "U", częściowo wypełnionej płynem. Wydzielanie tlenu przez rośliny powoduje obniżenie poziomu płynu w ramieniu rurki połączonym z naczynkiem, przy jednoczesnym podwyższeniu tego poziomu w drugim ramieniu. Zmiany poziomu płynu odczytuje się na podziałce. Opisany układ zawiera także bufor węglanowy, zapewniający stałe stężenie  $\text{CO}_2$ . Przy obliczaniu ilości tlenu wyprodukowanego w procesie fotosyntezy bierze się poprawkę na tlen pochłonięty w zachodzącym równolegle procesie oddychania.

Do pomiaru zawartości tlenu w wodzie (co znajduje zastosowanie dla pomiaru natężenia fotosyntezy u roślin wodnych) stosuje się metody polarometryczne, na przykład elektrodę tlenową Clarka. Szybkość asymilacji dwutlenku węgla można mierzyć badając tempo wbudowywania do liści  $\text{CO}_2$  znakowanego radioaktywnym izotopem węgla  $^{14}\text{C}$ .

Używając wyżej wymienionych technik odkryto, że intensywność fotosyntezy zależy od wielu czynników, w tym od natężenia światła, stężenia  $\text{CO}_2$ , temperatury oraz stopnia uwodnienia tkanek roślinnych. Poniżej opiszemy pokrótce te zależności.

Zależność intensywności fotosyntezy od natężenia światła (rycina 5.5) wykazuje wzrost szybkości fotosyntezy ze wzrostem natężenia światła aż do pewnego punktu, zwanego świetlnym punktem wysycenia, po przekroczeniu którego dalsze zwiększanie intensywności oświetlenia nie prowadzi do przyspieszenia fotosyntezy. Należy pamiętać, iż mówimy tutaj o fotosyntezie całkowitej, czyli brutto.

Jednakże, mierząc wydzielanie tlenu, badamy intensywność fotosyntezy netto, to znaczy po odjęciu ilości tlenu zużywanego w procesie oddychania. Przy zerowym natężeniu światła (w ciemności) tlen jest przez rośliny konsumowany, jako że potrzebują one energii produkowanej w procesie fosforylacji oksydatywnej (fotosynteza jest w tych warunkach wyłączona). Zwiększając powoli intensywność oświetlenia osiągamy punkt, zwany świetlnym punktem kompensacyjnym, w którym szybkość fotosyntezy dokładnie równoważy szybkość oddychania, a zatem roślina ani nie pobiera, ani nie wydziela tlenu.



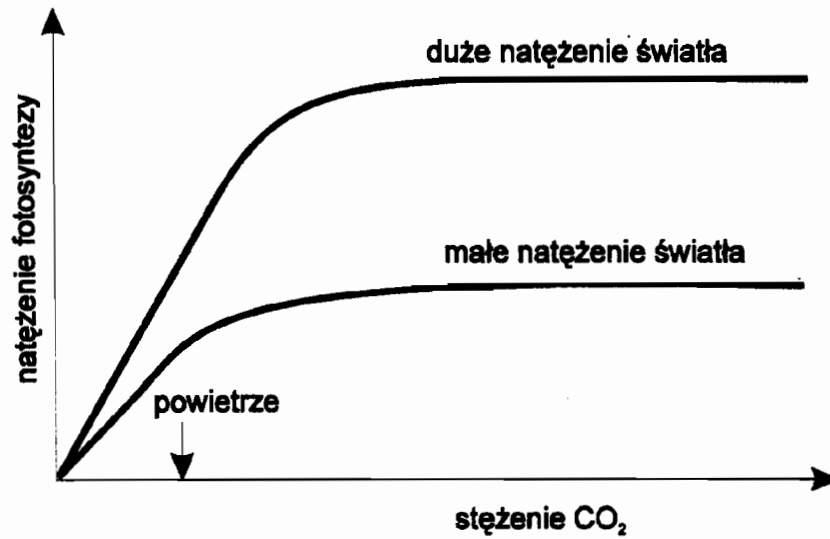
Ryc. 5.5

A - świetlny punkt kompensacyjny  
B - świetlny punkt wysycenia

Zależność szybkości fotosyntezy od stężenia dwutlenku węgla także charakteryzuje się wysyceniem przy pewnym stężeniu  $\text{CO}_2$  (rycina 5.6). Zależność ta jest odmienna dla różnych natężeń światła – inna jest maksymalna osiągnięta intensywność fotosyntezy oraz punkt wysycenia (wartość obu tych parametrów jest wyższa dla większych natężeń światła). Dla stężenia dwutlenku węgla także występuje punkt kompensacji, przy którym szybkość fotosyntezy jest równa szybkości oddychania. Co interesujące, jest on niższy dla

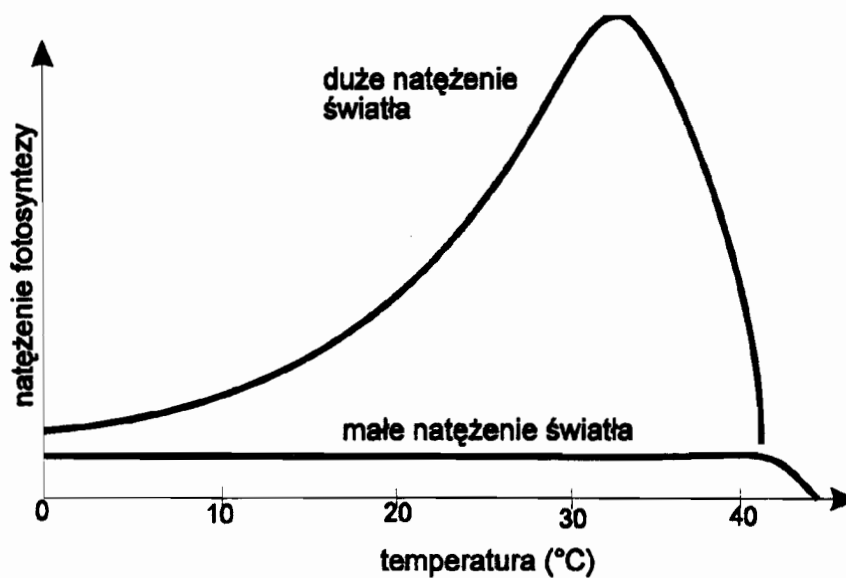
roślin  $C_4$ . Jest to skutkiem większego powinowactwa tych roślin do  $CO_2$ .

Ryc. 5.6



Przy wysokim natężeniu światła zależność szybkości fotosyntezy od temperatury wykazuje optimum (maksymalną wartość) przy około  $30\text{ }^{\circ}C$ .

Ryc. 5.7



W niższych i wyższych temperaturach intensywność fotosyntezy spada. Spowodowane jest to w większości zależnością szybkości reakcji enzymatycznych od temperatury. Natomiast przy niskim natężeniu światła fotosynteza jest praktycznie niezależna od temperatury, albowiem w tych warunkach światło staje się czynnikiem ograniczającym.

Stopień uwodnienia tkanki roślinnej (zawartość wody w tej tkance) także wpływa na natężenie fotosyntezy. Spadek zawartości wody prowadzi do zamykania się aparatów szparkowych, co ogranicza dostęp CO<sub>2</sub>, substratu fotosyntezy. Jak stwierdziliśmy przed chwilą, spadek stężenia dwutlenku węgla prowadzi do spowolnienia fotosyntezy.

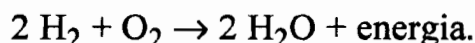
## 5.2 Chemosynteza

Chemosynteza, podobnie jak proces fotosyntezy, składa się z dwóch głównych części:

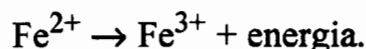
- właściwej reakcji anabolicznej, prowadzącej do syntezy związków organicznych z wody i dwutlenku węgla (odpowiadającej ciemnej fazie fotosyntezy);
- reakcji utleniania związków nieorganicznych (lub prostych związków organicznych), przy czym produkowana jest energia (odpowiadającej świetlnej fazie fotosyntezy).

Chemosynteza zachodzi w niektórych bakteriach i sinicach. Pomimo ogólnego podobieństwa do fotosyntezy, różni się od niej w szczegółach. Przede wszystkim, energia w chemosyntezie czerpana jest z utleniania związków chemicznych, a nie, jak w fotosyntezie, z absorpcji kwantów światła. Poza tym, asymilacja dwutlenku węgla odbywa się nieco odmiennie, niż w ciemnej fazie fotosyntezy.

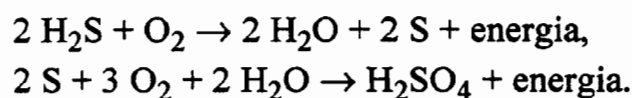
Organizmy chemosyntetyczne wykorzystują bardzo różnorodne związki nieorganiczne w celu zdobycia energii. Bakterie wodorowe utleniają wodór, co prowadzi do produkcji wody:



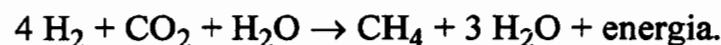
Bakterie żelazowe utleniają żelazo na drugim stopniu utlenienia (II) do żelaza na trzecim stopniu utlenienia (III):



Bakterie siarkowe utleniają różne nieorganiczne związki siarki, lub nawet samą siarkę:



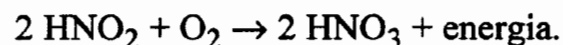
Bakterie metanowe produkują metan z wodoru i dwutlenku węgla (z udziałem wody):



Bakterie nitryfikacyjne z rodzaju *Nitrosomonas* utleniają amoniak do azotanów z azotem na trzecim stopniu utlenienia (III):



natomiast bakterie z rodzaju *Nitrobacter* oraz *Nitrococcus* utleniają je dalej do azotanów na piątym stopniu utlenienia (V):



Chemosynteza odgrywa bardzo ważną rolę w krążeniu pierwiastków w przyrodzie. Natomiast jej udział w produkcji biomasy jest znacznie mniejszy, niż fotosyntezy.

---

# Zakończenie

---

Niniejsze opracowanie z pewnością nie wyczerpuje całości tematu określonego przez jego tytuł, a mianowicie kwestii metabolizmu organizmów żywych. Metabolizm, zdefiniowany jako całokształt procesów zachodzących na poziomie biochemicznym, jest zjawiskiem niezmiernie skomplikowanym. Składają się nań setki i tysiące reakcji chemicznych, w których uczestniczy porównywalna liczba enzymów oraz różnego rodzaju metabolitów. Wiele z tych ostatnich bierze udział w ogromnej ilości reakcji wchodzących w skład bardzo różnych szlaków metabolicznych, których liczba także idzie w setki. Mapa metabolizmu komórki zwierzęcej, zawierająca tylko typowe drogi biochemiczne, reakcje i metabolity, do złudzenia przypomina laikowi schemat elektronicznych połączeń w telewizorze (jakoż udało mi się wmówić kilku moim znajomym, że wielka mapa metabolizmu wydana przez firmę Boehringer, zajmująca pół ściany w moim pokoju, stanowi właśnie plan telewizora), z tą tylko różnicą, że jest od takiego schematu bardziej skomplikowana. Z drugiej strony, w niniejszym opracowaniu omówione zostało zaledwie kilkanaście szlaków metabolicznych i kilkadziesiąt reakcji,

a o kilku dalszych zdażyłem tylko napomknąć. Co więcej, na zwierzętach, a nawet roślinach, różnorodność metabolizmu nie ulega wyczerpaniu – bogactwo przemian biochemicznych u drobnoustrojów jest co najmniej równie wielkie. Dysproporcja pomiędzy rzeczywistym skomplikowaniem metabolizmu a tym, co zostało przedstawione jako metabolizm w niniejszym opracowaniu, wydaje się zatem uderzająca.

Na taki stan rzeczy składa się kilka powodów. Przede wszystkim, książka ta jest skierowana głównie do kandydatów na wyższe uczelnie. Jej zawartość nie może więc znacząco przekraczać zakresu materiału obowiązującego w szkołach średnich. Choć więc wiele z przedstawionych tu problemów zostało potraktowanych szerzej, niż w podręczniku licealnym, a także zaprezentowanych w nowym świetle, to liczba omówionych szlaków metabolicznych pozostała w zasadzie taka sama. Zależało mi bowiem bardziej na unaocznieniu kilku ogólnych zasad funkcjonowania metabolizmu oraz na pokazaniu czym metabolizm właściwie jest i do czego służy, niż na obciążaniu Czytelnika dużą ilością niezbyt jasno powiązanych ze sobą faktów, nie dających się ogarnąć inaczej, niż pamięciowo. Jeżeli niniejsze opracowanie okazałoby się pomocne w intuicyjnym zrozumieniu sensu oraz istoty przemian biochemicznych w organizmach żywych, to cel jego zostałby zrealizowany.

Gdyby ktoś chciał wyjaśnić w terminach ogólnych, co to jest telewizor, nie musiałby podawać szczegółowego planu jego budowy. Zamiast tego, powinien on powiedzieć, do czego telewizor służy, omówić zasadę funkcjonowania podstawowych jego elementów (diod, oporników, kondensatorów, kabli) oraz scharakteryzować podzespoły mające zasadnicze znaczenie dla działania całości (np. kineskop). Wiele podzespołów, realizujących funkcje szczegółowe lub pomocnicze, oraz dokładny plan połączeń można przy tym pominąć, bez popadania w ryzyko zbytich uproszczeń. W niniejszym opracowaniu poświęconym metabolizmowi, podobnie, zostały scharakteryzowane przede wszystkim podstawowe elementy składowe metabolizmu – enzymy oraz katalizowane przez nie reakcje chemiczne, omówione pewne najważniejsze szlaki metaboliczne, realizujące poszczególne funkcje całości, a także przedstawione ogólne cele metabolizmu. Natomiast ogromna większość przemian metabolicznych została po prostu pominięta. Mimo to mam nadzieję,

iz książka ta daje, przynajmniej w zarysie, odpowiedź na pytanie “co to jest metabolizm?”.

Uważny Czytelnik zauważył zapewne, że główny nacisk położony został na przemiany dostarczające energii komórce (oddychanie tlenowe i beztlenowe, jasna faza fotosyntezy), podczas gdy zużywające tę energię procesy prowadzące do syntezy tysięcy najrozszybszych związków wchodzących w skład żywej komórki, w tym szlak metaboliczny o tak podstawowym znaczeniu, jak synteza białek, zostały zaledwie wspomniane lub też całkowicie pominięte. Jedną z przyczyn jest to, iż procesów dostarczających energii w postaci ATP jest stosunkowo bardzo niewiele (u większości zwierząt, łącznie z człowiekiem, jest to właściwie jeden podstawowy proces – oddychanie tlenowe), natomiast różnorodność przemian zużywających ATP w procesach anabolicznych jest ogromna. Te pierwsze są więc bardziej uniwersalne i przez to łatwiej je omówić. Co do syntezy białek, to jest ona nieodłącznie związana z powielaniem (replikacją), przepisywaniem (transkrypcją) oraz odczytem (translacją) informacji genetycznej w organizmach żywych. Jako taka, zostanie ona opisana w detalach, w książce tej serii poświęconej genetyce. Jest to o tyle uprawomocnione, że produkcja enzymów (które, jak pamiętamy, wszystkie są białkami), chociaż sama także stanowi proces enzymatyczny, odbywa się niejako na wyższym poziomie, niż “normalny” metabolizm, albowiem prowadzi do powstawania cegiełek budulcowych tego metabolizmu. Także pewne inne procesy, wchodzące w skład metabolizmu, jak na przykład synteza mocznika, zostaną przedstawione w kolejnych tomach w odpowiednich kontekstach.

Podsumowując, ze względu na problemy “podziału kompetencji” (unikanie dublowania materiału w różnych opracowaniach), a także z powodu nacisku położonego na zrozumienie całości zjawiska metabolizmu, w niniejszym tomie skupiłem się na ogólnych cechach przemian biochemicznych oraz na tych procesach, które prowadzą do produkcji energii w żywych komórkach. Tak jak znajomość diody, kondensatora oraz kineskopu daje, w pewnym zakresie, pogląd na działanie telewizora, tak przedstawiony wyżej materiał powinien wyrobić ogólne zrozumienie istoty metabolizmu. Ponieważ jednak metabolizmu nie da się rozpatrywać w izolacji od pozostałych aspektów życia, pełne zrozumienie metabolizmu nie



może być wyrwane z kontekstu życia jako całości, jego ewolucji oraz funkcjonowania na rozmaitych poziomach (fizjologicznym, genetycznym, populacyjnym itd.). Problemom tym zostaną poświęcone kolejne tomy niniejszej serii.

**Autor**