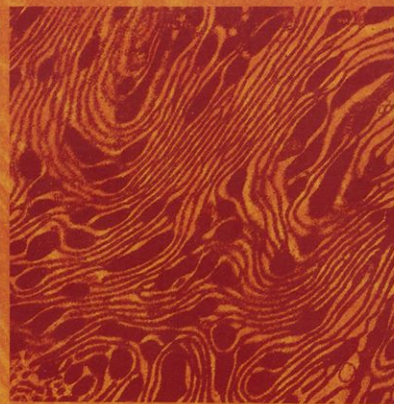
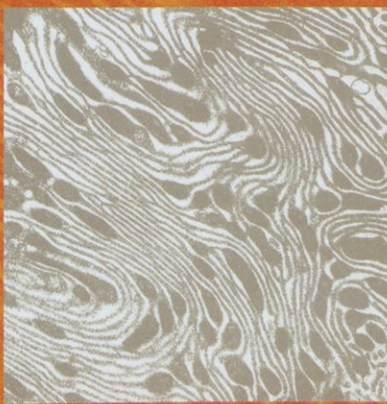
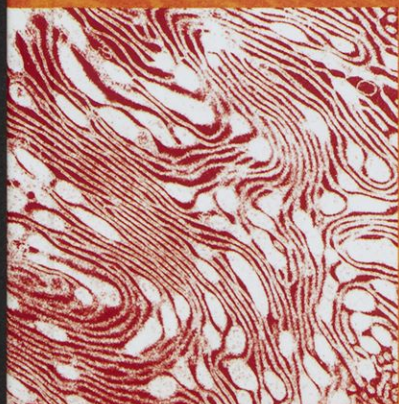


Jasna Štrus,  
Rok Kostanjšek

**BIOLOGIJA**  
**ŽIVALSKÉ CELICE**



scripta



ISSN 078-941-245-174-1  
 I. Korošček, Rok  
 214637700  
 Jasna Štrus,  
 Rok Kostanjšek

# BIOLOGIJA ŽIVILSKO CELICE



Založba  
 Študentska založba  
 1000 Ljubljana  
 t: (01) 2510-132  
 f: (01) 2522-518



Študentska založba

Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska založba, Ljubljana, 2008

Študentska  
 založba

scripta

CIP - Kataložni zapis o publikaciji  
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

576.3(075.8)

ŠTRUS, Jasna

Biologija živalske celice / Jasna Štrus, Rok Kostanjšek. -Ljubljana : Študentska založba, 2008. - (Knjižna zbirka Scripta / Študentska založba)

ISBN 978-961-242-179-2

1. Kostanjšek, Rok

239637760

Knjižna zbirka

scripta

**Odgovorni urednik:**

Boštjan Resinovič

**Izdajatelj:**

Študentska založba

Beethovnova 9

1000 Ljubljana

tel: (01) 2510-332

fax: (01) 2522-618

 Študentska  
založba

<http://www.studentskazalozba.si>

**Za založbo:**

Igor Brlek

 ŠOU  
V LJUBLJANI

 Študentski  
servis

Ustanovitelj Študentske založbe je  
Študentska organizacija Univerze v Ljubljani

**Recenzenti:**

doc. dr. Peter Veranič

doc. dr. Marjanca Starčič Erjavec

doc. dr. Peter Stušek

**Lektorica:**

Milanka Trušnovec

**Računalniško oblikovanje:**

Jana Kuharič

**Naslovnica:**

Bojan Senjur

**Tisk:**

Ulčakar & JK

Ljubljana, 2008

© Študentska založba, 2008. Vse pravice pridržane.

Brez predhodnega pisnega dovoljenja Študentske založbe je prepovedano reproduciranje, distribuiranje, dajanje v najem, javna priobčitev, predelava ali druga uporaba tega avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnem koli obsegu ali postopku, vključno s fotokopiranjem, tiskanjem, javnim interaktivnim dostopom ali shranitvijo v elektronski obliki.

Jasna Štrus,  
Rok Kostanjšek

# BIOLOGIJA ŽIVALSKKE CELICE



I 703612

CIP - Katalogi republike Slovenije  
 Republika Slovenija  
 Ljubljana  
 1994  
 Rok Kostanjšek  
 Jazna Štira

ZIVALSKA ČILICA  
 GEOLOGIJA



200901076

Q

# VSEBINA

Zahvala	7
Uvod	9
1. Biologija celice, znanost o življenju celice	11
1.1 Kaj je življenje?	13
1.2 Deset zapovedi za razlikovanje živega od neživega	15
1.3 Kemijska zgradba celic	20
1.4 Prve celice – protobionti	22
1.5 Prokariotska in evkariotska celica	23
1.6 Živalska celica kot enocelični organizem ali gradbena enota večceličarjev	27
2. Biološka membrana in transport snovi	30
2.1 Zgradba plazmaleme in endomembran	31
2.2 Transport skozi membrano	33
2.3 Diferenciacije celične membrane	36
2.4 Vzdražne lastnosti membran	39
2.5 Membranski receptorji	40
3. Celični organeli in njihove funkcionalne povezave	42
3.1 Notranje celično okolje; kemijska sestava citoplazme	42
3.2 Jedro; informacijski in regulacijski center celice	45
3.3 Mitohondriji; celične elektrarne	47
3.4 Peroxisomi; center celičnih oksidacij in razstrupljanja	49
3.5 Endoplazemski retikulum; proizvodnja proteinov in lipidov, logistični in transportni center celice	50
3.6 Golgijev aparat; procesiranje in razvrščanje celičnih produktov	52
3.7 Lizosomi; prebavni centri celice	53
3.8 Endocitoza in eksocitoza; transport snovi z vezikli	55
4. Presnova in energijski procesi v celici	57
4.1 Proces presnove, delovanje encimov in vitaminov	57
4.2 Presnova ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin	59
4.3 Proizvodnja energije v mitohondrijih	63
4.4 Biosintetski procesi v celici	65
5. Celično ogrodje in gibljivost celic	66
5.1 Zgradba in funkcija citoskeleta	66
5.2 Intermediarni filamenti	68
5.3 Mikrotubuli	69
5.4 Mikrofilamenti	72
6. Dednost in pretok genetske informacije	76
6.1 Nukleinske kisline, geni in genom	76
6.2 Izražanje genske informacije (ekspresija genov)	81

6.3	Regulacija sinteze beljakovin	87
6.4	Replikacija, mutacije in popravljanje DNA	89
6.5	Rekombinantna DNA in genski inženiring	92
7.	Razmnoževanje celic	94
7.1	Celični cikel	94
7.2	Mitoza	95
7.3	Mejoza	99
7.4	Regulacija celičnega cikla	101
7.5	Celična smrt	102
7.6.	Matične celice	103
8.	Celično sporočanje; komuniciranje med celicami in okoljem	105
8.1	Delovanje sporočilnih molekul	105
8.2	Vezava sporočilnih molekul na receptorje	107
8.3	Transdukcija; pretvorba informacij na membrani v znotrajcelična sporočila	108
8.4	Celični odziv in regulacija celične aktivnosti	111
	Literatura	112



# ZAHVALA

Kot študentko prvega letnika biologije me je pred tridesetimi leti v svet živali popeljal **prof. Janez Matjašič**. Z zanimivimi in slikovitimi predavanji nas je vodil »iz življenja najmanjših« v svet velikanov. Po diplomi sem kot asistentka pri vajah iz splošne zoologije pridobivala znanje ob delu s študenti in pogovorih z mentorjem, predavateljem splošne zoologije **prof. Pavlom Ličarjem**. Z nazornimi, preglednimi in duhovitimi predavanji je navduševal številne generacije biologov. Ko sem pred desetimi leti prevzela predmet Splošna zoologija, sem se zavedla, da je naslediti tako dobra predavatelja zelo težavna naloga.

Z dobro osnovo, vzornimi zgledi in veliko vzpodbude z veseljem nadaljujem njuno delo.

Izkušnje pridobivam tudi v stiku s predavatelji v tujini. **Prof. Volker Storch** predava zoologijo na Univerzi v Heidelbergu v Nemčiji. Je avtor številnih priznanih učbenikov s področja splošne in sistematske zoologije. Z njim sodelujem že vrsto let. Hvaležna sem mu za številne pogovore in razprave o tem, kako se napiše učbenik. Večji del učbenika sem napisala med študijskim obiskom Zoološkega inštituta Univerze v Heidelbergu, s finančno podporo štipendije programa Socrates-Erasmus.

Z uvedbo triletnega prvostopenjskega programa Biologija na Biotehniški fakulteti UL smo predmet Splošna zoologija razdelili v dva semestrski predmeta. Predmet Biologija živalske celice in histologija obsega področje biologije živalske celice in zgradbe ter delovanja tkiv živali. Poglavje biologije celice iz učbenika Splošna zoologija je tako razširjeno in predstavljeno v novem učbeniku z naslovom BIOLOGIJA ŽIVALSKÉ CELICE. Dodani sta sodobni poglavji iz molekulske biologije in razmnoževanja celice, ki jih je pripravil doc. Rok Kostanjšek. Posodobljena so tudi poglavja o celičnih organelih, zgradbi in delovanju membran in celičnem sporočanju. Slikovno gradivo je v pretežni meri ohranjeno iz predhodnega učbenika, dodane so avtorske mikrofotografije celične ultrastrukture in prirejene nekatere sheme iz temeljnih učbenikov s področja biologije celice.

Jasna Štrus

Avtorja se zahvaljujeva sodelavkama **Nadi Žnidaršič** in **Magdi Tušek – Žnidarič** za kakovostne ultrastrukturne posnetke. Sodelavcema **Luki Malenšku** z Oddelka za biologijo in **Giseli Adam** z Zoološkega inštituta Univerze v Heidelbergu iskrena hvala za vztrajno in učinkovito podporo pri pripravi slikovnega gradiva. Hvala recenzentom za pripombe in razprave. Hvala **generacijam študentov**, ki naju spremljajo od leta 1977 oziroma 1997 in usmerjajo najino zanimanje za poučevanje biologije. Hvala tudi vsem najinim za podporo in razumevanje.

Ljubljana, 2008

Avtorja



# UVOD

Skripta vsebujejo zgoščeno vsebino predavanj iz biologije živalske celice in so namenjena študentom, ki začenjajo študij na različnih področjih naravoslovja, predvsem biologom, bodočim učiteljem biologije in kemije, biotehnologom, živilskim tehnologom in biokemikom. Namen skript je kratka predstavitev zgradbe in delovanja živalske celice kot samostojne biološke enote in povezav celic v njihovem socialnem okolju. Vsebina poglavij je zgoščena in je izhodišče za poglobljen študij iz dodatnih virov, predvsem iz učbenikov s področja celične biologije. Slikovno gradivo je omejeno, saj je obsežno gradivo dostopno v navedenih virih in preko spletnih knjižnic. Vsebina je razdeljena na osem poglavij:

- v prvem poglavju je na kratko predstavljen razvoj celične biologije in njen pomen za razumevanje osnovnih življenjskih procesov in nastanka življenja, z vso pestrostjo oblik in funkcij. Predstavljeni so osnovni tipi celic, njihove podobnosti in razlike;
- v drugem poglavju avtorja obravnava zgradbo celičnih membran, izmenjavo snovi med celicami in okoljem ter osnovne mehanizme celične vzdražnosti;
- tretje poglavje vsebuje osnovna dejstva o zgradbi in delovanju živalske celice, vlogo jedra in celičnih organelov za normalno delovanje celice;
- četrto poglavje obravnava celični metabolizem in energijske procese v celici;
- v petem poglavju je predstavljen citoskelet v povezavi s celičnim gibanjem, razporejanjem celičnih organelov in vzdrževanjem celične oblike;
- v šestem poglavju je predstavljeno ključno biološko vprašanje o tem, kako celica shranjuje, uporablja in prenaša dedne informacije;
- v sedmem poglavju obravnava osnovne procese celičnega razmnoževanja in regulacijo celičnega ciklusa, celično smrt in matične celice;
- osmo poglavje zajema komunikacijo in sporočanje med celicami in okoljem.

Namen skript je predstavitev osnovnih konceptov v celični biologiji, ki so ključni za razumevanje delovanja organizmov. V vsakem poglavju je vključen kratek odstavek z naslovom "KAJ JE NOVEGA BRUCKI". Z vprašanji v odstavku želiva vzbuditi zanimanje za študij in usmeriti študente v iskanje aktualnosti in zanimivih tem s področja celične biologije v dodatnih študijskih virih. Študirati pomeni iskati znanje kjerkoli: na predavanjih, v razpravah s kolegi, v knjižnicah, revijah, v laboratoriju, predvsem pa v naravi, ki je naše primarno okolje. Ko se porodijo vprašanja, se študij začne, odprejo se nove razsežnosti misli in idej, ki vodijo do novih odkrivanj in spoznanj. Motiv in radovednost sta gonilni

sili v raziskovanju in spoznavanju. Učitelj in študent sodelujeta v teh procesih in pomembno je, da se oba zavedata, da je glavni namen študija kakovostno znanje, ki omogoča ustvarjalnost. Če bodo skripta kakorkoli prispevala k lažjemu študiju, bo najin namen dosežen. Kjer je volja, je tudi pot!

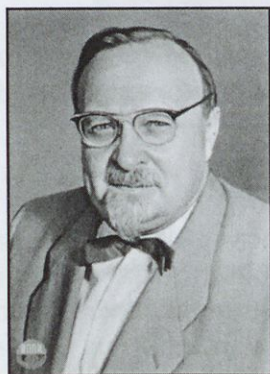
Avtorja

## PRVO POGlavJE

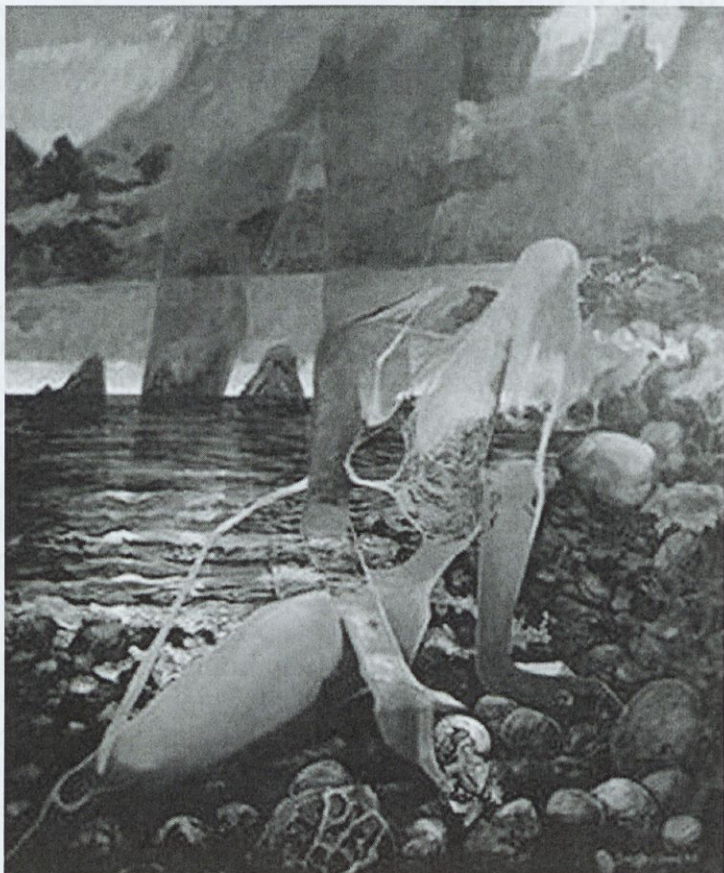
# BIOLOGIJA ČELICE, Znanost o ŽIVLJENJU CELICE

Fosilov, ki bi potrdili obstoj prvih celic, ne poznamo. Umetnega življenja še ne znamo ustvariti v laboratoriju, lahko pa simuliramo nekatere procese, ki vzdržujejo življenje. S pomočjo fosilov, primerjalne biologije in sodobne paleontologije smo uspeli rekonstruirati zgodnjo evolucijo živega. Stromatoliti so slojevite združbe mikroorganizmov, podobni današnjim cianobakterijam, ki pričajo o prvih prebivalcih planeta. Primerjalne biološke študije temeljijo predvsem na primerjavi podobnosti zaporedij DNA, biokemijske in strukturne analize pa jih dopolnjujejo.

Novejši izsledki kažejo, da so prvi organizmi živeli v ekstremnih okoljih. Poznavanje ekstremofilnih organizmov je velikega pomena za razumevanje nastanka življenja. S simulacijo razmer skušajo astrobiologi ugotoviti, v kakšnih razmerah so živela prva bitja na zemlji in v vesolju in kako se življenje v vesolju ohranja.



**Slika 1.1:** Portret biokemika Alexandra Ivanoviča Oparina (1894–1980), očeta teorije o izvoru življenja na zemlji (Hutchinson Dictionary of Scientific Biography, Helicon Publications, Access Science, Mc Graw Hill)



**Slika 1.2:** Umetniško delo Lifeorigin2, avtor Douglas Chown 1983, Holland (<http://www.daviddarling.info/encyclopedia/L/lifeorigin.html>)

»There is no fundamental difference between a living organism and lifeless matter. The complex combination of manifestations and properties so characteristic of life must have arisen in the process of the evolution of matter.« (Oparin, A. I. *The Origin of Life*. New York: Dover (1952) (prva izdaja 1938))

»Med živimi bitji in neživo snovjo ni bistvenih razlik. Kompleksnost pojavov in lastnosti, ki so značilne za živo, izvira iz evolucije snovi.«

V 21. stoletju je biologija kot znanost o življenju izpostavljena novim zahtevam.

Pomembna odkritja v genetiki in na področju molekularne biologije v zadnjih desetletjih, hiter razvoj informacijskih tehnologij in vedno večji vpliv človeka na okolje postavljajo pred biologe vedno zahtevnejše naloge. Reševanje zapletov, ki jih povzroča človek z nepremišljenim in nenadzorovanim delovanjem, zahteva nova znanja in njihovo smotrno uporabo za ohranjanje ravnotežja v naravi. Poznavanje in obvladovanje naravnih zakonitosti, razumevanje in ohranjanje življenja niso le dolžnosti in privilegiji biologov, pač pa dolžnost vsakega človeka, ki v tem trenutku biva na zemlji. Biologija skuša odgovoriti na zelo preprosto vprašanje »Kako deluje življenje?«. Odgovor še zdaleč ni preprost. Iščejo ga

raziskovalci v številnih vedah in panogah, ki z načrtovanimi in ponovljivimi poskusi preverjajo svoje predpostavke in z ugotovitvami prispevajo kamenčke in bisere v kraljestvo znanj o življenju. Odgovor na vprašanje, kaj je življenje in kako delujejo živa bitja, lahko poiščemo s pogledom v celico.

»The key to all ultimate biological problems must, in the last analysis, be sought in the cell.« (Wilson, E. B. *The Cell in Development and Heredity*. 3rd ed. New York: The Macmillan Company; 1925)

»Ključ do vsakega biološkega vprašanja je na koncu treba iskati v celici.«

## POMEMBNA ODKRITJA NA PODROČJU KLASIČNE CITOLOGIJE

Hooke (1665) je prvi uporabil izraz celica, opisal je pluto (*Micrographia*).

Purkyne (1837) je definiral protoplazmo (»protoplast je celično telo«).

Schleiden, Schwann (1839) sta postavila celično teorijo (»celica je temeljna enota organizmov«).

Virchow (1855) je potrdil, da je celica osnova življenja (»*omnis cellula e cellula*«).

Flemming (1879) je opisal živalske kromosome med mitozo.

Chatton (1937) je razlikoval med prokariontsko in evkariontsko celico.

Gey (1951) je vzgojil prve človeške celice v kulturi (celice HeLa).

Miller - Urey (1953) sta izvedla laboratorijski poskus nastanka organskih snovi - simulacija kemijske evolucije.

## 1.1 KAJ JE ŽIVLJENJE?

Pojmovanje življenja se je spreminjalo s časom in prav tako tudi odnos do biologije. Do začetka 20. stoletja je prevladoval vitalistični pogled na življenje. Vitalizem (animizem) je vse pojave povezoval z neko nadnaravno »vitalno silo«, ki biva v organizmu in usmerja njegovo delovanje. Že nekateri grški in tudi drugi filozofi (Aristotel, Descartes) so zagovarjali mehanicistični princip nastanka življenja, ki življenje razlaga s fizikalnimi in kemijskimi zakoni. Ta pogled je v začetku 20. stoletja razvil in dopolnil nemški biolog Jacques Loeb, ki je s poskusi na jajčecih morskih ježkov pokazal, da lahko z ustreznimi kemijskimi snovmi sproži embrionalni razvoj organizma iz ene same celice. Bil je celo prepričan, da je življenje možno ustvariti v laboratoriju. S ponovnim odkritjem Mendlovih zakonov so mehanicisti našli podporo za svoje trditve, namreč da dednost usmerjajo molekule. Rezultati dela znanstvenikov 19. stoletja, kot so Darwin, Pasteur, Mendel idr., so osnova za raziskave v biologiji današnjega časa. Začetek molekularne biologije sega v leto 1953, ko sta Watson in Crick predstavila model

dvojne vijačnice DNA in s tem postavila fizikalno osnovo za Mendlove gene, temeljne enote, na katere deluje naravna selekcija. Od tu naprej štejemo obdobje sodobne biologije, ki v raziskave s področij sistematike, anatomije, fiziologije, ekologije, evolucije in drugih vključuje novejša dognanja s področja molekularne biologije. Odkritju strukture DNA je sledilo obdobje hitrega razvoja na področju genetike, dešifriranje univerzalnega genskega koda, sekvenciranje genomov številnih organizmov, poznavanje regulacije izražanja genov, razumevanje imunskega sistema in manipulacije genskega materiala. Raziskave na področju molekularne biologije so omogočile razumevanje kemijske narave raznolikosti, ki je osnova za naravno selekcijo, poznavanje delovanja fizioloških sistemov in nenazadnje tudi razumevanje zakonitosti v ekologiji ter reševanje problemov, ki jih povzročajo nenadzorovani posegi v okolje.

Če torej skušamo odgovoriti na zastavljeno vprašanje, kaj je življenje, je odgovor lahko zelo preprost ali pa skrajno zapleten. Racionalist lahko življenje definira kot lastnost, ki loči živo od neživega. Kreacionist ga definira kot lastnost, ki je božji dar. Idealist vidi življenje kot idealno priložnost ...

Fizik in kemik življenje definirata, kot rezultat fizikalnih in kemijskih procesov, ki potekajo v celicah (primera: Zubay, *Origins of Life*, 2000: »Živa bitja so visoko organizirani kemijski sistemi«, Schrödinger 1944: »Živa bitja so sistemi, ki jih vzdržuje dednost in termodinamski zakoni«).

Molekularni biolog lahko življenje definira kot delovanje kompleksnih molekularnih strojev, ki jih nadzorujejo geni, v katerih je zgodovinski zapis vrste (Godwin, 1995).

Celični biolog življenje definira kot celični organizem s kompleksno kemijsko zgradbo in z univerzalno informacijo, skupno vsem živim bitjem, ki so se razvila iz »praelice«, ki je živel pred več kot tremi milijardami let (Alberts et al. 2004).

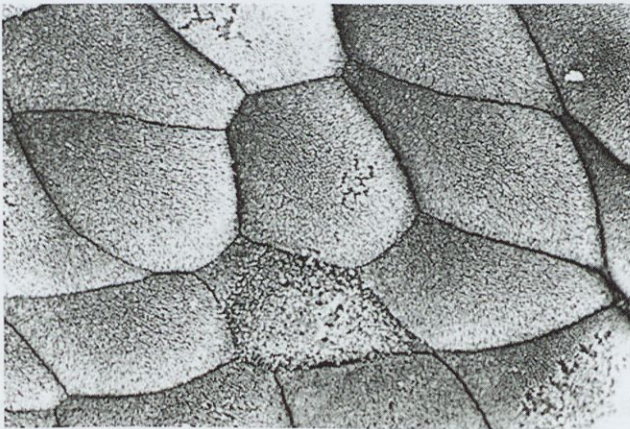
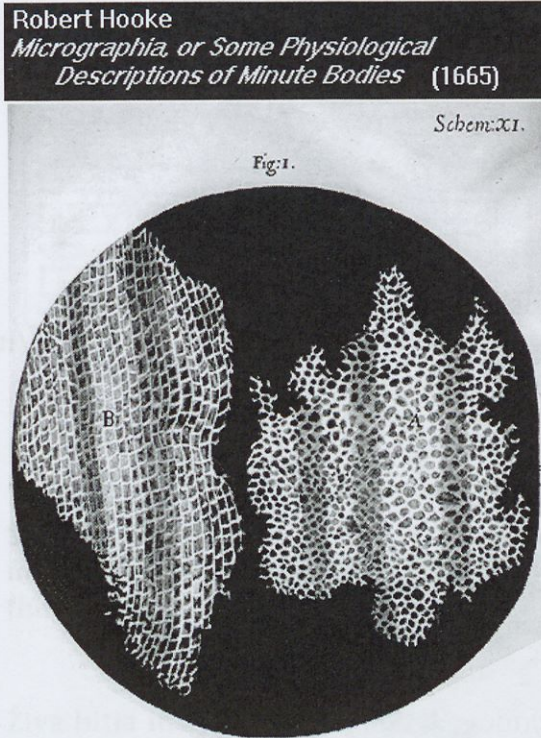
Integrativni biolog primerja živo z neživim in ugotavlja, katere lastnosti so skupne vsem živim organizmom od bakterije do človeka in kako na vse to deluje evolucija.

Zelo enostavna definicija življenja, ki vključuje tudi viruse in druge genetske elemente (npr. plazmide), je nasledstvo z modifikacijo (descent with modification), to je sposobnost živega, da ustvarja potomstvo, ki je podobno staršem, z možnostjo priložnostnih variacij.



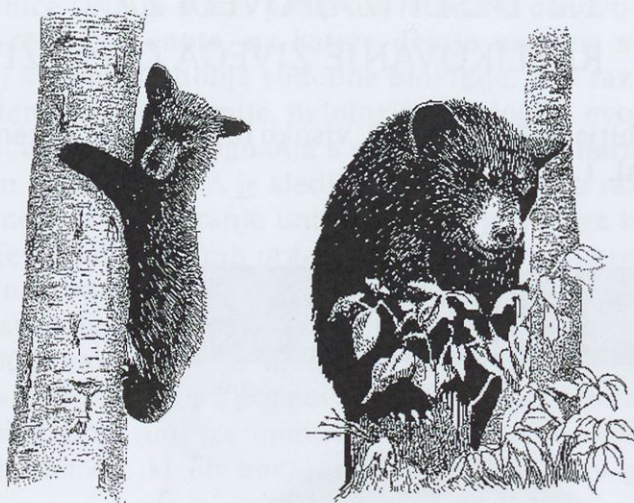
## 1.2. DESET (ZA)POVEDI ZA RAZLIKOVANJE ŽIVEGA OD NEŽIVEGA

Živa bitja so kompleksni, visoko organizirani sistemi, zgrajeni iz celic (sl. 1.3a, b).



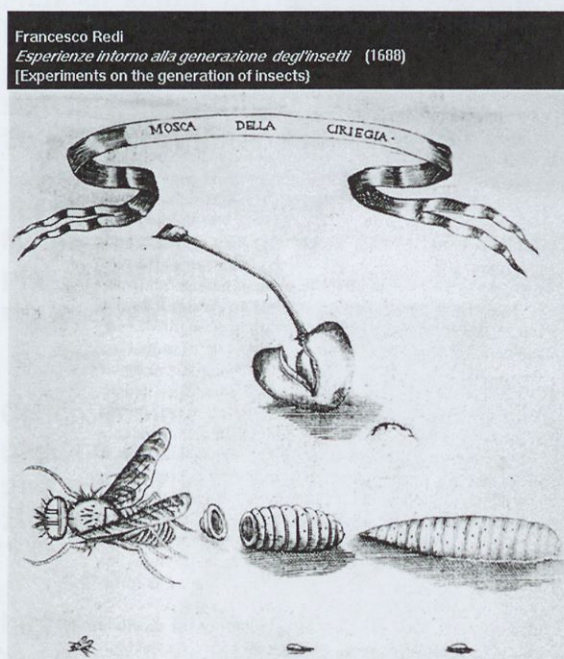
**Slika 1.3:** Rastlinske in živalske celice. a) Robert Hooke 1665, faksimile dela *Micrographia*, s posnetkom celičnih sten celic, ki tvorijo pluto (reprodukcija Smithsonian Institute, 1995); b) površina epitelnih celic v prebavilu rakov enakonožcev

Živa bitja rastejo tako, da se povečuje količina žive snovi v organizmu (sl. 1.4)



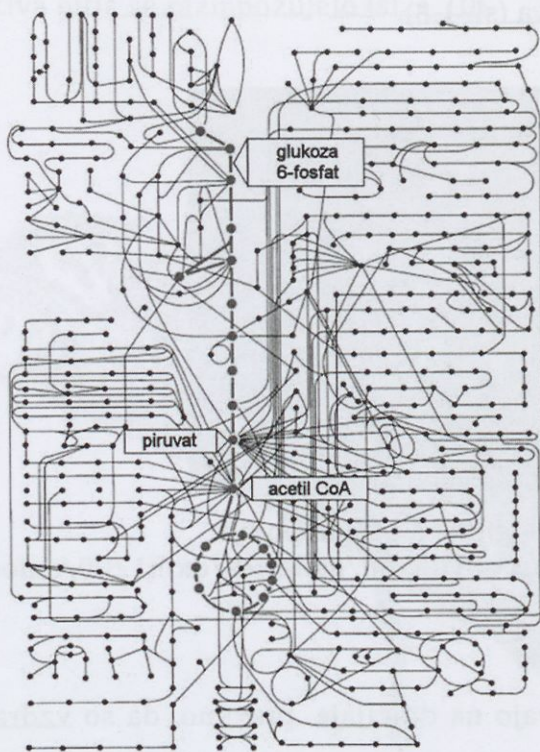
**Slika 1.4:** Grafična risba mladiča in odraslega medveda (Robert Savannah, U.S. Fish and Wildlife Service, <http://images.fws.gov>)

Živa bitja se z razvojem spreminjajo (sl. 1.5).



**Slika 1.5:** Francesco Redi 1688, faksimile dela *Esperienze intorno alla generazione degl'insetti* (1688) [Experiments on the generation of insects] (reprodukcija Smithsonian Institution, 1995)

Živa bitja presnavljajo, v njih poteka serija kemijskih reakcij razgradnje (disimilacije) in sinteze (asimilacije) s pretvorbo energije (sl. 1.6).



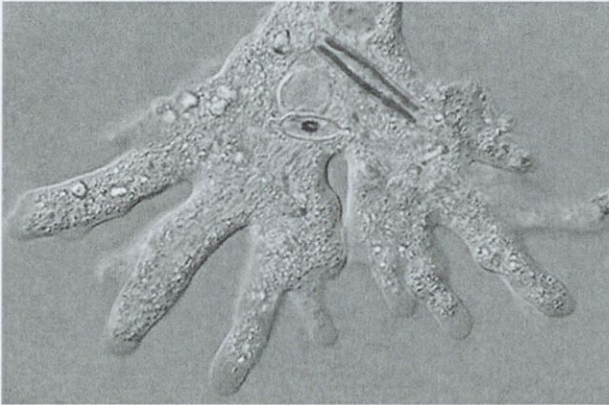
**Slika 1.6:** Omrežje okrog 500 kemijskih reakcij, ki potekajo med presnovo (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

Živa bitja imajo regulacijsko sposobnost ohranjanja stalnosti notranjega okolja - homeostazo (sl. 1.7).



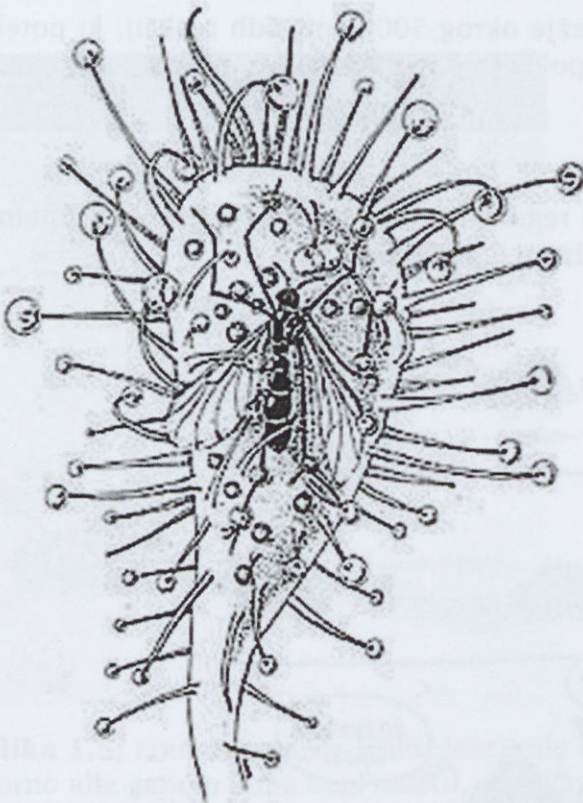
**Slika 1.7:** Homeostaza? Leif Saul: Biology Cartoons: Homeostasis (1998), <http://www.easternct.edu/personal/faculty/saull/sect9/resous9/cartos9/homeos9.html>

Živa bitja so gibljiva (sl. 1.8).



**Slika 1.8:** Ameba se giblje s pseudopodiji.  
(<http://www.microscopyu.com/galleries/dxm1200/amoeba-large.html>)

Živa bitja se odzivajo na dražljaje, pravimo, da so vzdražna (sl. 9).



**Slika 1.9:** Mesojeda rastlina z ujeto žuželko, Richard Rauh,  
([http://www.science-art.com/image.asp?id=55&pagename=Sunday\\_capturing\\_insect](http://www.science-art.com/image.asp?id=55&pagename=Sunday_capturing_insect))

Živa bitja se razmnožujejo (sl. 1.10).



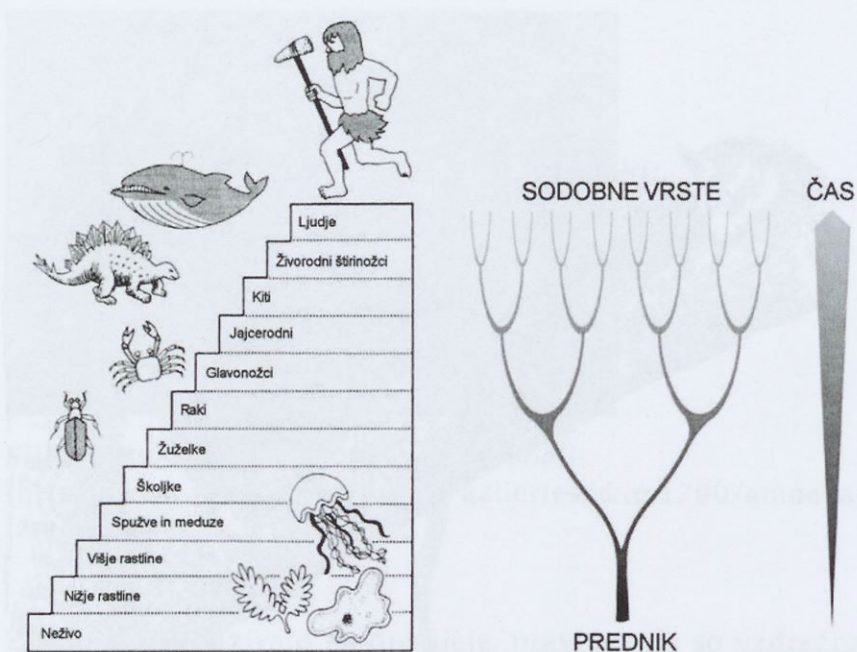
**Slika 1.10:** Grafična risba družine oposumov (Robert Savannah, U.S. Fish and Wildlife Service, <http://images.fws.gov>)

Živa bitja imajo genski program, ki usmerja zgradbo, presnovo in razmnoževanje in se spreminja z evolucijo (sl. 1.11).



**Slika 1.11:** Vloga teorije v biologiji, Fuller Nicolle Rager, ([http://www.science-art.com/image.asp?id=3383&pagename=Theorys\\_Role\\_in\\_Biology](http://www.science-art.com/image.asp?id=3383&pagename=Theorys_Role_in_Biology))

Živa bitja evoluirajo, se spreminjajo v generacijah (sl. 1.12).



**Slika 1.12:** Prikaz razvoja živih bitij:

Aristotel: the “steps of nature”, or the “hierarchy of nature” (<http://www.tparents.org/Library/Unification/Books/EvolTheo/EvolTheo-01.htm>);

drevo življenja (povzeto po Brown T., Genomes 3, 2006)

Vsa živa bitja imajo naštetih lastnosti, a jih je težko razvrstiti po pomembnosti za definicijo življenja. Neživo ima lahko katero od navedenih lastnosti, vendar ne vseh hkrati.

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Kako bi definirali življenje? Kam bi uvrstili viruse in prione? Poiščite nekaj virov, ki govorijo v prid življenju na drugih planetih. Od kod življenje na Zemlji? Ugotovite, kakšna kemijska spojina je PNA, in jo primerjajte z DNA. Razloži Oparinovo teorijo o nastanku življenja na zemlji. Kaj je dokazal Miller s poskusi simulacije kemijske evolucije?

## 1.3 KEMIJSKA ZGRADBA CELIC

Vsa živa bitja imajo celično zgradbo. Molekularna biologija celice proučuje procese v celici predvsem z vidika kemijskih in fizikalnih reakcij, ki potekajo na subceličnem nivoju. Celice so iz vode, organskih molekul in anorganskih snovi. Snovi, ki jih tvo-

rijo živi organizmi, imenujemo biokemijske substance. Snovi, ki nastajajo med celično presnovo, so metaboliti.

## Enostavne molekule

Osnovni elementi, ki gradijo živo snov, so C, O, N, H, ki se na različne načine povezujejo v enostavne molekule, gradnike kompleksnih organskih spojin.

**Enostavni ogljikovi hidrati** s strukturno formulo  $C_n(H_2O)_n$  so osnovna hrana celice, vir energije (glukoza) in gradniki (riboza, deoksiriboza) kompleksnih makromolekul. Vezani na proteine so lahko signalne molekule in označevalci za razpoznavanje med molekulami.

**Maščobne kisline** gradijo lipide, so vir energije, pomembna sestavina fosfolipidnih membran in sporočilne molekule.

**Aminokisline** so gradniki beljakovin in pomembne puferske spojine. Beljakovine gradi 20 osnovnih aminokislin, ki jih lahko razdelimo v štiri skupine, glede na lastnosti stranskih verig: nopolarne (10), polarne (5), bazične (3) in kisle (2) aminokisline. **Nukleotidi** so gradniki nukleinskih kislin, energijsko bogatih spojin in koencimov. Nukleotidi so pomembni v procesih bioloških oksidacij kot skladišča energije, ki jo celica potrebuje za delovanje (ATP, GTP, CTP, TTP, UTP). Pomembni so tudi kot koencimi pri prenašanju elektronov in protonov v oksi-redoks reakcijah (nikotinamid dinukleotid NAD, nikotinamid dinukleotid fosfat NADP in flavin adenin dinukleotid FAD).

## Kompleksne molekule

Enostavni ogljikovi hidrati se z O-glikozidno vezjo povezujejo v **di-** in **polisaharide**. Škrob in glikogen sta polimera glukoze in pomembni rezervni substanci rastlin in živali. Celuloza in hitin sta osnovna strukturna polisaharida. Sladkorji se lahko povežejo s proteini in tvorijo **glikoproteine**, ki pokrivajo zunanje celične površine, medtem ko **proteoglikani** sestavljajo medceličnino (glikozaminoglikani, npr. heparin) in so pomembne signalne molekule v celici. Pomembni celični glikoproteini so lektini, ki prepoznajo specifične snovi, ki vsebujejo ogljikove hidrate. Pogosti so v hemolimfi, v izločkih in plazmalemi. Fibronektini so glikoproteini, ki so pogosti v telesnih tekočinah, vezivu in bazalni lamini. Pomembni so za povezavo celic in izvenceličnega matriksa.

Maščobne kisline in glicerol sestavljajo **trigliceride**, nevtralne maščobe, ki so zelo ekonomičen vir energije v celici (dvakrat več energije na gram kot ogljikovi hidrati). **Fosfolipidi**, sfingolipidi in holesterol so gradniki celičnih membran. Fosfolipidi so iz glicerola, dveh maščobnih kislin in aminoalkohola s fosfatno skupino. Alkohol je lahko holin, etanolamin ali inozitol, nekateri fosfolipidi pa vsebujejo aminokislino serin. Sfingolipidi, ki so pogosti v membranah živčnih celic (sfingomielin), imajo sfingozin namesto glicerola. **Karotenoidi** so pomembni rastlinski pigmenti in predhodniki vitamina A. **Steroidi** so signalne molekule, hormoni in gradniki membran (holesterol).

Aminokisline se s peptidno vezjo povezujejo v **polipeptide**. Beljakovine so polipeptidi, ki so na specifičen način zviti v prosto-

ru. Primarno zgradbo proteina določa zaporedje aminokislin, ki ga gradijo. Sekundarna zgradba proteina nastane zaradi vodikovih vezi med določenimi odseki polipeptidne verige in je lahko v obliki vijačnice alfa ali beta nagubanega lista. Zaradi interakcij med stranskimi verigami aminokislin se funkcionalna področja proteina (domene) z različno sekundarno zgradbo z linearnimi odseki povezujejo v značilno konformacijo. To je terciarna zgradba proteina. V celici so prisotni pomožni proteini molekularni **šaperoni**, ki omogočajo specifično zvijanje proteinov v celicah. Beljakovine s kvartarno zgradbo (npr. hemoglobin) so iz več polipeptidnih podenot. Beljakovine so osnovni strukturni elementi v celicah, transportne molekule, encimi, receptorji, hormoni in protitelesa. Celoten arzenal proteinov, ki nastaja v organizmu, imenujemo **proteom**. Dejavnost, ki se ukvarja z raziskavami celičnih ali tkivnih proteinov, se imenuje **proteomika**.

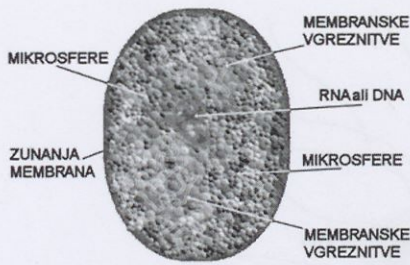
Nukleotidi so iz dušikove baze (purini: adenin in gvanin, pirimidini: citozin in timin/uracil), sladkorja (riboza, deoksiriboza) in fosfatne skupine. Nukleotidi se povezujejo v **nukleinske kisline** s 5´-3´ fosfodiestrsko vezjo. Nukleinske kisline so informacijske molekule, informacija je kodirana v specifičnem zaporedju nukleotidov. Nukleinske kisline sodelujejo pri sintezi beljakovin kot nosilke dednih zasnov (DNA), prenašalke informacij (mRNA) in aminokislin (tRNA) ter sestavine ribosomov (rRNA).

V celici stalno potekajo procesi razgradnje kompleksnih snovi v osnovne gradnike (katabolizem) in sinteza kompleksnih snovi iz osnovnih enot (anabolizem). Energija, ki se sprošča pri razgradnji (oksidaciji), se veže v energijsko bogate spojine v sklopljenih reakcijah in se porablja pri biosintezi. Snovi se v živih sistemih stalno spreminjajo, na primer ogljik v procesu dihanja prehaja iz reducirane oblike (glukoza) v oksidirano (ogljikov dioksid) in obratno pri fotosintezi.

## 1.4 PRVE CELICE - PROTOBIONTI

Organske molekule, enostavni sladkorji, aminokisline in nukleotidi, ki so osnova živega, so nastajale v pramorju pred tremi milijardami let v atmosferi, ki je verjetno vsebovala metan, ogljikov dioksid, amoniak in vodno paro (teoriji Oparin, Haldane). Energijske pretvorbe pod vplivom UV-svetlobe in razelektritev so omogočile povezave enostavnih molekul v makromolekule, ki so jih obdale lipidne membrane in jih tako ločile od vodnega okolja. Manjše molekule (hranila) so prehajale skozi lipidni ovoj in prinašale atome ter energijo. To so bili protobionti (sl. 1.13). Obdržali so se le tisti, ki so vsebovali informacije za identično replikacijo, torej nukleinske kisline. Protobiont z osnovnimi značilnostmi življenja je torej skupek molekul, obdanih z lipidno membrano, ki izmenjuje snovi in energijo z okoljem in se lahko replicira. Prvi bionti so verjetno izkoriščali nukleinske kisline kot encime za produkcijo beljakovin. Tako so nastajale kompleksne celične strukture. Prve celice so verjetno nastale pred dvema milijardama let.



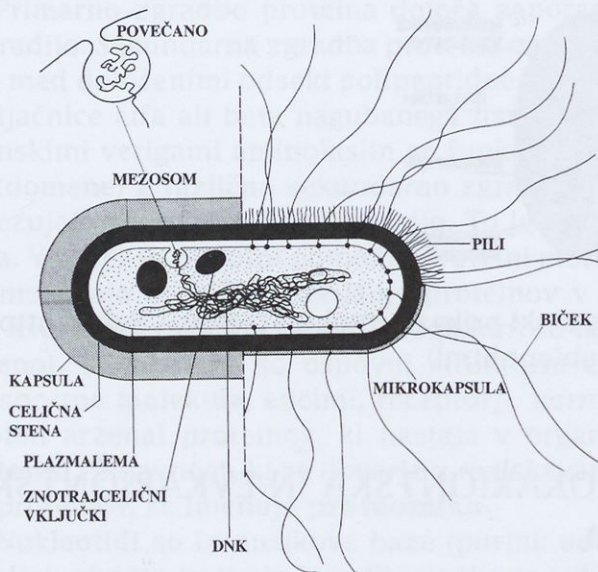


**Slika 1.13:** Shematski prikaz protobionta (Nasif Nahle, <http://biocab.org/Protobiont.html>)

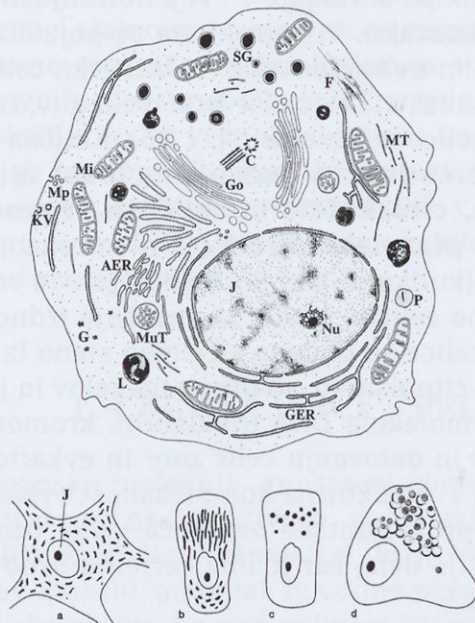
## 1.5 PROKARIONTSKA IN EVKARIONTSKA CELICA

Živa bitja, od preprostih enoceličarjev do kompleksno zgrajenih večceličarjev, so iz celic, gradbenih in funkcionalnih enot organizmov. Morfološka raznolikost večceličarjev je rezultat celične diferenciacije in povezav celic v tkiva ter organe.

Celice so odprti sistemi, ki izmenjujejo snovi, energijo in informacije z okoljem, pri tem pa ohranjajo v svoji notranjosti čim bolj stalne razmere, **homeostazo**. V razvoju sta se pojavila dva tipa celic, **prokariontske** in **evkariontske**. Bakterijska celica je prokariontska ali **protocita** (sl. 1.14), celice praživali, gliv, rastlin in živali so evkariontske celice ali **evcite** (sl. 1.15). Celična snov evkariontskih celic je diferencirana v **jedro (nucleus)** in **citoplazmo**, ki je iz **citosola**, **citoskeleta** in **celičnih organelov**. Živalska celica je obdana s **plazmalemo**, celično membrano, ki je pogosto pokrita z izločki (kutikulo, sluzjo). Celice gliv in rastlin imajo hitinsko ali celulozno celično steno, ki vzdržuje trdnost in obliko celice. Bakterijske celice so obdane s celično steno iz peptidoglikanov, imajo zrnato citoplazmo, so brez organelov in jedra. Dedni material je krožna molekula DNA (nukleotid, kromosom). Bistvene razlike v zgradbi in delovanju celic pro- in evkariontov so prikazane v preglednici 1. Strukturna kompleksnost evkariontske celice v primerjavi s prokariontsko omogoča večjo funkcionalnost, povezano z delitvijo dela, kar je bila verjetno osnova za razvoj pravih večceličarjev.



**Slika 1.14:** Zgradba prokariotske celice. Osnovne strukture v bakterijski celici. Na levi strani črtkane linije je s kapsulo obdana paličasta bakterija, na desni pa bakterija z bički in pili (Štrus, Splošna zoologija, 1999)



**Slika 1.15:** Zgradba živalske celice (Štrus, Splošna zoologija, 1999). Prikazana je ultrastruktura celice, kot je vidna s transmisijskim elektronskim mikroskopom: J: jedro, Nu: nukleolus, P: peroksisom, MT: mikrotubuli, F: filamenti, SG: sekrejska granula, Mi: mitohondrij, C: centriola, Go: Golgijev aparat, Mp: mikropinocitotski vezikli, Kv: klatrinski vezikli, AER: agranulirani endoplazemski retikulum, MuT: multivezikularno telesce, G: glikogen, L: lizosom, GER: granulirani endoplazemski retikulum. Spodaj: različni celični organeli, vidni s svetlobnim mikroskopom: a) Granulirani endoplazemski retikulum (Nisslova zrnca) v živčni celici, J: jedro; b) mitohondriji v epitelni celici tankega črevesa; c) lizosomi v epitelni celici tankega črevesa; d) Golgijev aparat in sekrejske granule v epitelni celici pankreasa

**Preglednica 1:** Značilnosti evkariontskih in prokariontskih celic

Značilnost	Celice evkariontov	Celice prokariontov
velikost	med 10 in 100 $\mu\text{m}$	med 1 in 10 $\mu\text{m}$
dedni material	je ločen od citoplazme z jedrnim ovojem, ki vsebuje porne komplekse	ni ločen od citoplazme
organizacija DNA	linearni kromosomi iz DNA povezane s proteini	krožni kromosom
citoplazma	vsebuje celične organele	nediferencirana
citoskelet	Aktinski, intermediarni filamenti in mikrotubuli	beljakovinski filamenti (protein MreB)
metabolizem	večinoma so aerobne	so aerobne in anaerobne
razmnoževanje	mitoza, mejoza	cepitev

### Bakterije - strukturno preproste in biokemijsko kompleksne prokariontske celice

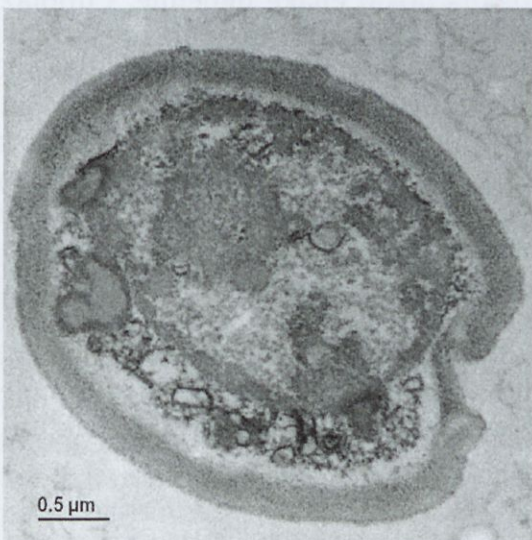
Bakterije nas spremljajo v vsakdanjem življenju. Razlikujemo jih lahko po obliki, še bolj pa glede na presnovo. Podrobna zgradba bakterij je zelo enostavna (sl. 1.16). Razen nekaj izjem so vse bakterije obdane s celično steno, ki jih ščiti in nadzoruje komunikacijo z okoljem. Celična stena je iz peptidoglikanov, kar je osnova za ločevanje bakterij s svetlobno mikroskopskimi metodami, na osnovi barvanja po Gramu. S tehniko krioelektronske mikroskopije lahko dobro razlikujemo steno Gram pozitivnih in negativnih bakterij. Celična stena Gram pozitivne bakterije je iz debelega sloja peptidoglikana dokaj enake debeline. Citoplazma je homogene gostote in jo težko ločimo od DNA plazme. Gram negativne bakterije, kot npr. *Escherichia coli*, imajo večslojno celično steno, kjer je tanek sloj peptidoglikana kovalentno vezan z zunanjo membrano, ki vsebuje lipopolisharide, zasidrane v membrano z lipidi. Bakterije imajo pogosto tudi bičke in različne pritrjevalne strukture, ki omogočajo gibljivost ali interakcijo z gostiteljem. S transmisijskim elektronskim mikroskopom lahko opazujemo omenjene strukture, ohranitev struktur pa je odvisna od priprave vzorca. Kljub uporabi različnih tehnik priprave je razlikovanje bakterij zgolj na osnovi ultrastrukture zelo težavno. Z uvajanjem imunocitokemijskih tehnik in označevanjem specifičnih molekul s protitelesi so možnosti za biokemijsko razlikovanje bakterij bistveno večje.



**Slika 1.16:** TEM mikrografija rikecije *Rickettsia slovaca*, ki se deli v celici klopa

### Kvasovke - strukturno preproste in biokemijsko kompleksne evkariontske celice

Kvasovke rodu *Saccharomyces* so eden ključnih organizmov v celični biologiji, predvsem v raziskavah celičnega ciklusa (sl. 1.17). V živilski industriji so nenadomestljive. Ultrastrukturne raziskave celic kvasovk z uporabo metode zamrzovanja pod visokim pritiskom in kriosubstitucije ter vklapljanja v smolo so razkrile podrobno zgradbo teh biokemijsko kompleksnih evkariontov. Nad plazmalemo je celična stena iz hitina, fibrilarne strukture na zunanji površini celične stene so fimbrije iz glikoproteinov. Celično jedro je veliko in obdano z vakuolami in maščobnimi kapljami. Navadno je prisoten en sam velik mitohondrij, plazmalema je pogosto nagubana.



**Slika 1.17:** TEM mikrografija kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*

## KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

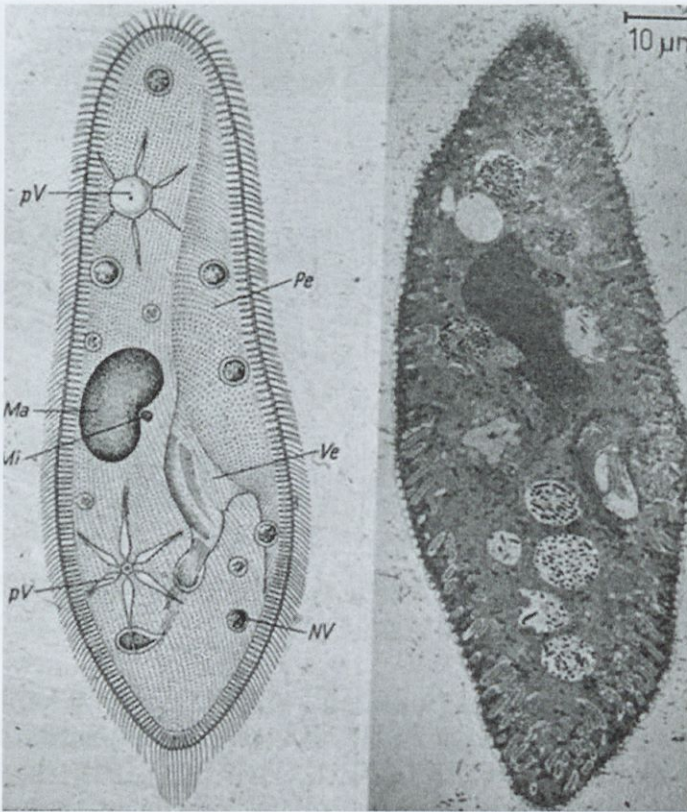
Kdaj so se pojavili prvi evkarionti? Kako so nastale evkariotske celice? V literaturi poišči različne razlage za nastanek rastlinske, glivne in živalske celice. V čem je prednost evkariontov pred prokarionti?

## 1.6. ŽIVALSKA CELICA KOT ENOCELIČNI ORGANIZEM ALI GRADBENA ENOTA VEČCELIČARJEV

### Praživali - strukturno in biokemijsko kompleksne evkariotske celice

Svet s prostim očesom nevidnih enoceličarjev oživi v kapljici vode, telesne tekočine ali koščku tkiva, ki jih opazujemo s svetlobnim mikroskopom.

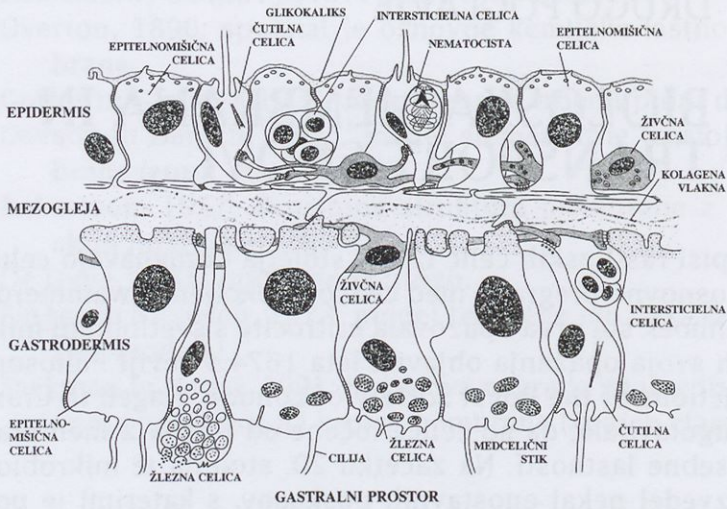
Paramecija lahko opazujemo ure in ure, ne da bi se nehali čuditi pestrosti funkcij ene same celice. Z mikroskopiranjem v temnem polju lahko sledimo gibanju paramecija in primerjamo tokovnice in vzorce gibanja posameznih osebkov ali opazujemo prehranjevanje in sledimo ciklozi prebavnih vakuol. S spreminjanjem ozmolarnosti okoljske tekočine lahko opazujemo delovanje kontraktilnih vakuol. In kakšen je ta svet videti z elektronskim mikroskopom? Migetalkarji so kompleksni enoceličarji s številnimi organeli, katerih zgradba in delovanje kažeta na visoko stopnjo celične diferenciacije (sl. 1.18). Celični korteks je iz pelikule, celične membrane, pod katero je sistem sploščenih alveolov, migetalk, kinetosomov, trihocist in fibrilarnih struktur. Migetalkke imajo značilno strukturo iz mikrotubulov in koordinirano delujejo v času in prostoru. Trihociste so specializirane obrambne strukture, celični izločki, ki nastajajo kot produkt v cisternah Golgijevega aparata. Še bolj kompleksno je zgrajena kontraktilna vakuola paramecija. Voda in ioni se zbirajo v centralnem kanalu, v katerega vodijo zbiralni kanali, obdani s trakovi mikrotubulov. Ob zbiralnih kanalih je sistem kanalčkov in veziklov, ki ga označujemo kot spongiom in je del endoplazemskega retikuluma, ki zbira vodo in produkte presnove. Jedrni dimorfizem je značilnost migetalkarjev in makronukleus ločimo od mikronukleusa že po velikosti. Makronukleus nadzira presnovo in vzdržuje homeostazo; med konjugacijo razpade. Vsebuje številna jedrca in drobne skupke heterokromatina. Mikronukleus je pomemben za gensko raznolikost paramecijev, ki je rezultat konjugacije. V njem poteka zaprta mitozna, kromatin kondenzira v zgodnji profazi, v nadaljnjih fazah pa se formira delitveno vreteno, ki razporedi kromosome na pola znotraj jedra. Med zaprto mitozo se jedrni ovoj ohrani. Vse te kompleksne, visoko organizirane strukture omogočajo potek raznolikih funkcij, ki vzdržujejo homeostazo enoceličnega organizma.



**Slika 1.18:** Risba in TEM mikrografija paramecija z oznako celičnih organelov. Pe: peristom, Ve: vestibulum, MA: makronukleus, Mi: mikronukleus, Nv: prebavna vakuola, Pv: krčljiva vakuola (avtor: Volker Storch, Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)

### Večcelični organizmi, diferenciacija in povezava celic v tkiva in organe

V telesu večceličarjev so celice med seboj povezane na različne načine: direktno so povezane z medceličnimi stiki, posredno pa s proteinskimi molekulami ali z medceličnino. Celice si izmenjujejo sporočila in tako ohranjajo organiziranost strukture ter preprečujejo vdor tujkov. V primeru, da je sporočanje prekinjeno, se lahko začnejo celice nebrzdano deliti, kar pripelje do deorganizacije in nastanka rakastih tkiv. Zelo nazoren primer sodelovanja različnih tipov celic v živalskem telesu je telesna stena ožigalkarja hidre (sl. 1.19), kjer so različne celice razporejene v dveh slojih in delujejo skladno, kljub temu da opravljajo popolnoma različne funkcije. Zunanja plast (ektoderm) je iz epitelnomišičnih celic, ki se krčijo in ščitijo organizem, iz ožigalnih celic knidoblastov s poudarjeno žlezno funkcijo, ki producirajo ožigalke ali knide, iz receptorskih celic, ki zaznavajo dražljaje, in iz bazalno nameščenih živčnih celic, ki prevajajo impulze. Nediferencirane vmesne ali intersticielne celice so s citoplazemskimi mostički povezane s knidoblasti. Notranja plast (endoderm) iz absorpcijskih krčljivih celic z migetalkami, žleznih celic in nediferenciranih bazalnih celic ima ključno vlogo pri presnovi in transportu snovi.



**Slika 1.19:** Shematski prikaz celične zgradbe telesne stene hidre. Epidermis ustreza integumentu, mezo gleja je tanka plast veziva, gastrodermis ima vlogo prebavila (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Kdaj so se pojavili prvi večceličarji? Poišči razlage za njihov nastanek. V čem je prednost večceličnega organizma v primerjavi z enoceličarjem? Kateri je najpreprostejši danes živeči živalski večceličar? Ali obstajajo večcelični kloni? V čem so prednosti in v čem slabosti takih organizmov? Poišči in citiraj vir, ki opisuje živalsko vrsto *Tyrannosus imperator* na sl. 1.20.

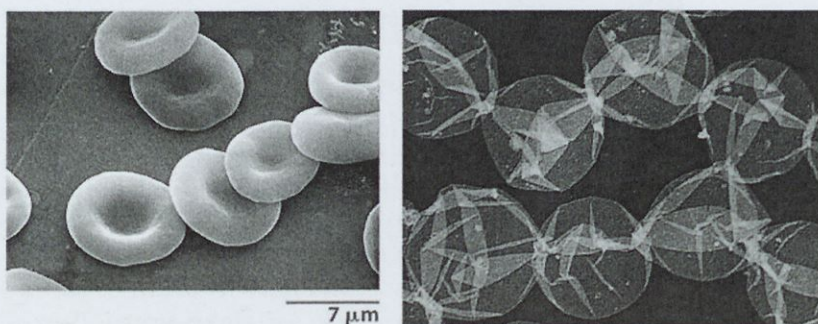


**Slika 1.20:** Risba živali vrste *Tyrannosus imperator*

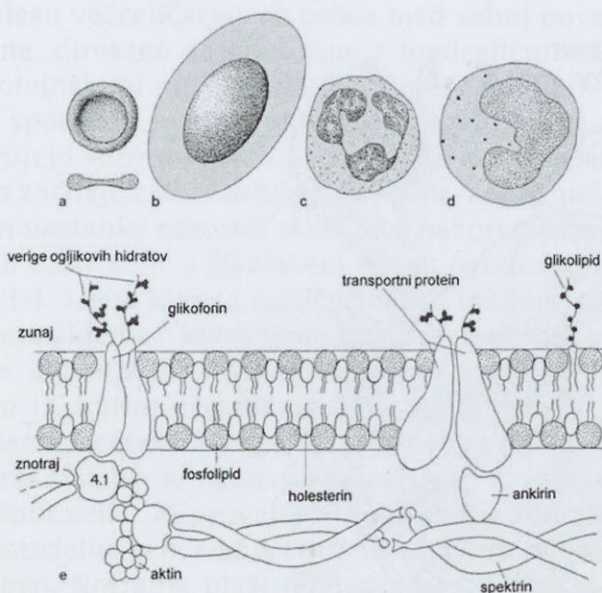
## DRUGO POGLAVJE

# BIOLOŠKA MEMBRANA IN TRANSPORT SNOVI

Prvi opisi rastlinskih celic iz 17. stoletja obravnavajo celično steno kot osnovno pregrado med celico in okoljem. Swammerdam in Leeuwenhoek sta prva opazovala eritrocite s svetlobnim mikroskopom in svoja opažanja objavila leta 1674 v reviji *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. Nageli in Cramer sta 1855 ugotavljala, da so celice ločene od okolja z membrano, ki ima posebne lastnosti. Na začetku 20. stoletja je mikrobiolog Overton izvedel nekaj enostavnih poskusov, s katerimi je pokazal lipidno naravo membrane. Šele z uvedbo učinkovite metode »eritrocitnih duhkov« za pripravo membran so začeli intenzivno raziskovati membranske proteine. Vse do danes so eritrociti ostali ključni model za raziskave zgradbe in delovanja celične membrane (sl. 2.1a, b).



**Slika 2.1:** a.) SEM posnetek sesalčjih eritrocitov in hemoliziranih celic (povzeto po Karp, *Cell and Molecular Biology*, 2005)



b.) Shema prikazuje različne krvne celice: a) eritrocit; b, c, d) levkociti; e) zgradba plazmaleme eritrocita (povzeto po Storch V. in Welsch U., *Kurzes Lehrbuch der Zoologie*, 2005)



## POMEMBNA ODKRITJA NA PODROČJU MEMBRAN

Overton, 1890: spoznal je osnovne kemijske lastnosti membrane.

Gorter in Grendel, 1925: membrana je trden lipidni dvosloj.

Davson in Danielli, 1935: model elementarne troslojne membrane (»unit membrane«).

Robertson, 1957: dvoslojna struktura membrane z elektronskim mikroskopom.

De Duve, 1963: opisal endocitozo.

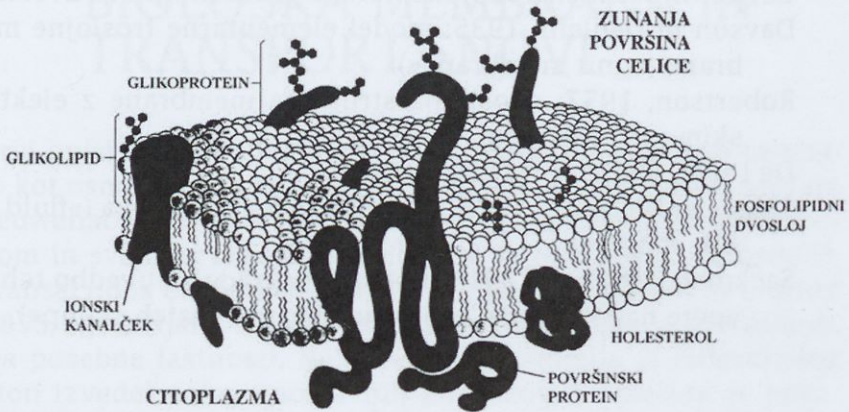
Singer in Nicolson, 1972: model tekočega mozaika (»fluid mosaic model«).

Sackman in Neher, 1991: Nobelova nagrada za uvedbo tehnike vpete napetosti na krpici membrane (»patch clamp«).

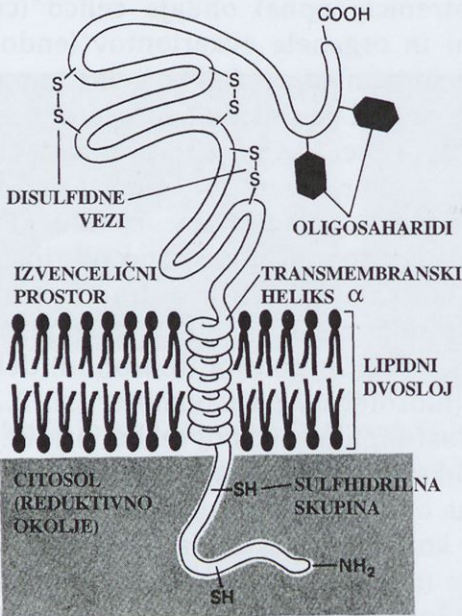
## 2.1 ZGRADBA PLAZMALEME IN ENDOMEMBRAN

Biološka membrana (mrenica, opna) obdaja celico (celična membrana ali plazmalema) in organele evkariontov (endomembrane) ter omogoča prehod snovi med predelki v celici in med celico ter okoljem. Pomembna je tudi za celično sporočanje, energijske procese, rast in gibljivost celice. Kemijska zgradba bioloških membran je precej enotna. Membrane so od 5 do 10 nm debele plasti iz fosfolipidov, holesterola, glikolipidov in različnih proteinov. Razmerje med lipidi in proteini je odvisno od tipa membrane in je lahko 3:1, 1:1 ali celo 1:3 kot v notranji membrani mitohondrija. Fosfolipidi so amfipatske molekule, ki so v vodnem okolju urejene v dvosloj tako, da so polarni (hidrofilni) deli obrnjeni navzven, nepolarni (hidrofobni) pa navznoter (sl. 2.2). Pri zmernih temperaturah je fosfolipidni dvosloj tekoč, pri nižjih pa je bolj viskozen in je v obliki kristalne rešetke. Viskoznost ali tekočnost dvosloja je odvisna od števila nenasičenih maščobnih kislin, vrste fosfolipidov in količine holesterola. Več nenasičenih, krajših maščobnih kislin in manj holesterola vzdržuje tekočnost in zmanjšuje viskoznost. Fosfolipidni dvosloji so prepustni za manjše in nepolarne molekule (pline, vodo) in za molekule, topne v lipidih (lipofilne snovi, glicerol). Holesterol povečuje čvrstost membran in hkrati zmanjšuje njihovo prepustnost. Celice spreminjajo tekočnost membran tako, da spreminjajo lipidne sestavine membrane. Membrane bakterijske in rastlinske celice ne vsebujejo holesterola, čvrstost celične površine vzdržujejo peptidoglikani in celuloza v celični steni. Sestavni del membrane so tudi proteini, ki so lahko razporejeni v membrani in nekovalentno povezani z lipidi (integralni, transmembranski proteini) ali pa so s šibkimi ionskimi vezmi povezani s površino lipidnega dvosloja (periferni proteini). Vloga proteinov je raznolika, lahko so strukturne molekule, encimi, receptorji ali pa delujejo kot kanalčki in prenašalci. Membranski transportni proteini so pomembni za prenos ionov, polarnih nizkomolekularnih snovi in makromolekul. Transmembranski proteini so lahko enkrat prehajajoči (sl. 2.3) ali večkrat prehajajoči, iz ene ali več polipeptidnih podenot, ki v pasovih (navadno v obliki vijačnice alfa) segajo skozi fosfolipidni dvosloj.

Tudi proteini lahko difundirajo vzdolž membrane, vendar so večina s posebnimi molekulami vezani na specifična mesta v membrani (domene).



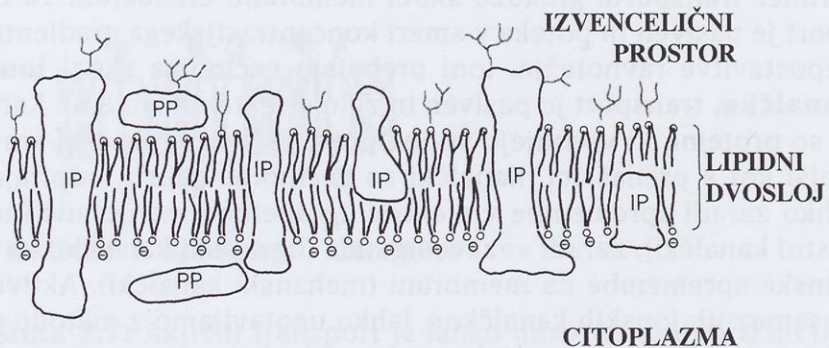
**Slika 2.2:** Zgradba celične membrane živalske celice (Štrus, Splošna zoologija, 1999)



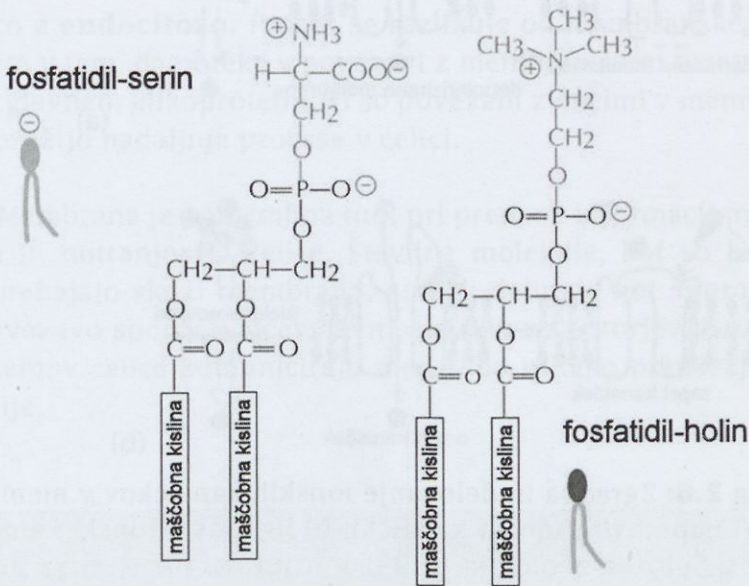
**Slika 2.3:** Zgradba enkrat prehajajočega transmembranskega glikoproteina. Polipeptidna veriga prečka fosfolipidni sloj kot desnosučna vijačnica alfa, oligosaharidne verige in disulfidne vezi so na zunanji strani membrane (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Membrana je dinamična struktura, lipidne in proteinske molekule se lahko gibljejo v različnih smereh (vrtenje, upogibanje, gibanje vzdolž membrane), redkejša pa so gibanja »flip-flop«, kjer lipidne molekule prehajajo z ene na drugo stran dvosloja. Membrana je **asimetrična** (sl. 2.4), saj so molekule v dvosloju različno razporejene. Molekule fosfatidilholina, sfingomieline in glikolipidov so razporejene na zunanji strani dvosloja, fosfatidilserina in fosfatidiletanolamina pa na citoplazemski strani membrane (sl.

2.5). Asimetrično razporejeni so tudi proteini in ogljikovi hidrati. Glikozilirani hormonski receptorji, signalni proteini in glikolipidi so vedno na zunanji strani membrane. Fluidnost membrane je pomembna lastnost, ki vpliva na njeno prepustnost.



**Slika 2.4:** Membrana je asimetrična zaradi različne razporeditve fosfolipidov in proteinov v obeh slojih. IP: integralni protein; PP: periferni protein; Glikokaliks je iz razvejanih glikoproteinov na zunanji strani membrane (Štrus, Splošna zoologija, 1999)



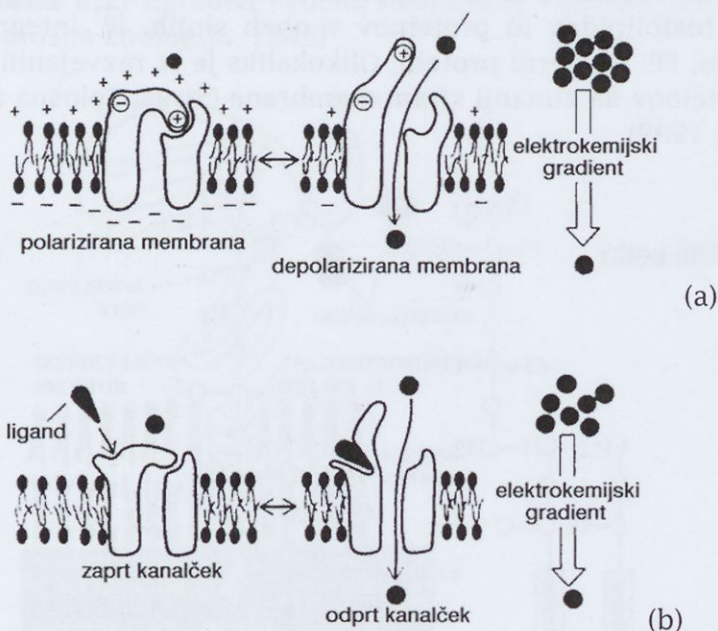
**Slika 2.5:** Fosfolipidi so različno razporejeni v notranjem in zunanjem sloju membrane.

Fosfatidilserin je večinoma na citoplazemski strani membrane, fosfatidilholin pa na zunanji strani (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

## 2.2 TRANSPORT SKOZI MEMBRANO

Biološka membrana je selektivno prepustna in omogoča nadzorovan prehod manjših molekul, tako da vzdržuje kemijsko sestavo citoplazme. Snovi prehajajo skozi membrano na tri načine. Majhne, nepolarne molekule ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$ ) prehajajo skozi membrano s **pasivnim transportom**, ki je lahko **enostavna difuzija** ali

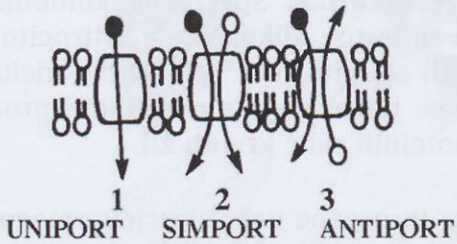
**pospešana (facilitirana) difuzija.** Molekule difundirajo v smeri koncentracijskega gradienta, skozi prostore v lipidnem dvosloju (teorija rešetke) ali skozi vodne pore. Večje, polarne molekule, npr. sladkorji in aminokisliline, ter manjši ioni prehajajo hitreje s pospešeno difuzijo, ki poteka s specifičnimi prenašalnimi proteini (primer transporta glukoze skozi membrano eritrocita). Ta transport je pasiven in poteka v smeri koncentracijskega gradienta do vzpostavitve ravnotežja. Ioni prehajajo večinoma skozi **ionske kanalčke**, transport je pasiven in zelo selektiven (sl. 2.6). Kanalčki so proteini, ki vsebujejo vodne pore, prehod je do 100-krat hitrejši kot s prenašalci. Kanalčki so večinoma zaprti, odpirajo se lahko zaradi spremembe v električni napetosti membrane (napetostni kanalčki), zaradi vezave liganda (ligandski kanalčki) ali mehanske spremembe na membrani (mehanski kanalčki). Aktivnost posameznih ionskih kanalčkov, lahko ugotavljamo z metodo vpete napetosti na krpici membrane («patch clamp»).



**Slika 2.6:** Zgradba in delovanje ionskih kanalčkov v membrani: a) napetostni ionski kanalčki; b) ligandski ionski kanalčki (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Za razliko od pasivnega transporta je za **aktivni transport** snovi potrebna energija, ki izvira direktno iz metabolizma celice (npr. hidroliza ATP). Ioni in molekule prehajajo v smeri, ki je nasprotna koncentracijskemu gradientu. Z aktivnim transportom celice vzdržujejo dinamično ionsko ravnotežje in s tem celično homeostazo. Aktivni transport ionov poteka z ionskimi črpalkami, ki so prenašalni proteini in za delovanje lahko porabljajo tudi nad 50 % dostopne celične energije (delovanje  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATP-aze). Mehanizmi aktivnega transporta so različni (sl. 2.7). Snovi lahko prehajajo **direktno**, v povezavi s hidrolizo ATP (transport  $\text{Na}^+$  in  $\text{K}^+$  ionov) ali z vezavo fosfatne skupine (transport glukoze v bakterijah) in **indirektno** kot kotransport. Simport je sočasni transport obeh molekul v isti smeri, medtem ko je antiport sočasni prenos ene molekule v smeri koncentracijskega gradienta in druge mole-

kule v smeri, ki je nasprotna koncentracijskemu gradientu. Transport glukoze v črevesu poteka vzajemno s transportom  $\text{Na}^+$  ionov (simport), transport  $\text{Na}^+$  in  $\text{Ca}^{++}$  ionov v srčni mišici pa poteka v nasprotni smeri (antiport).



**Slika 2.7:** Aktivni transport je lahko direkten (uniport) ali indirekten, ki lahko poteka v isti smeri (simport) ali v nasprotni smeri (antiport) (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Večje hidrofilne molekule (nad 1 nm) ne morejo skozi membrano. Številni hormoni, nevrottransmiterji in protitelesa prehajajo v celico z **endocitozo**. Proces se razlikuje od membranskega transporta v tem, da poteka v povezavi z membranskimi receptorji, ki so v glavnem glikoproteini. Ti so povezani z encimi v membranah, ki sprožijo nadaljnje procese v celici.

Membrana je pomembna tudi pri prenosu informacij med okoljem in notranjostjo celice. Številne molekule, kot so hormoni, ne prehajajo skozi membrano, ampak delujejo kot sporočevalci. S povezavo sporočevalcev, membranskih receptorjev in različnih proteinov celice komunicirajo med sabo in tako prenašajo informacije.

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Poišči podatke v literaturi in ugotovi, kateri tipi ionskih kanalčkov so najbolj raziskani.

Ugotovi, kaj so akvaporini. Katere ionske črpalke so pomembne v mišični celici in zakaj?

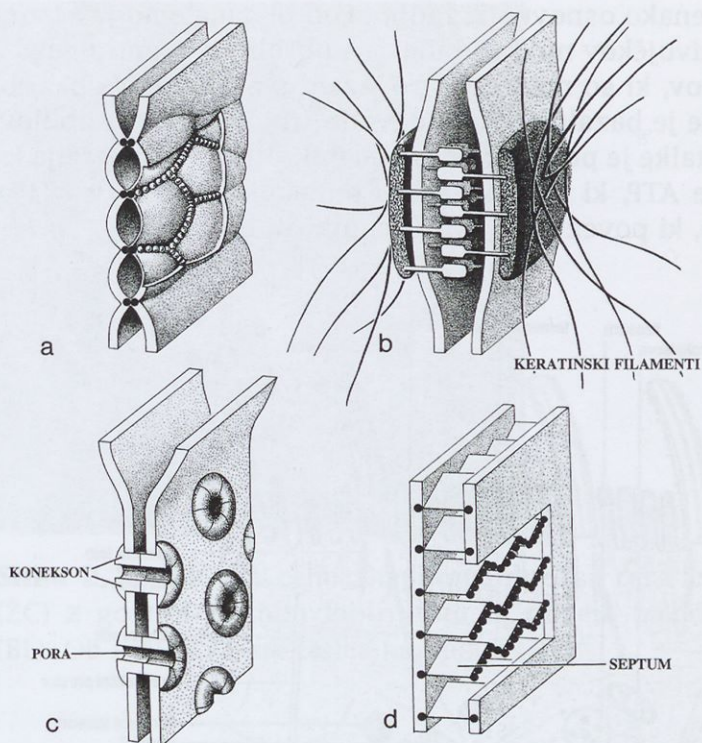
Ugotovi, kaj je klatrin in kakšno vlogo ima v transportu veziklov. Opiši, kako poteka transport glukoze skozi črevesni epitel.

## 2.3 DIFERENCIACIJE CELIČNE MEMBRANE

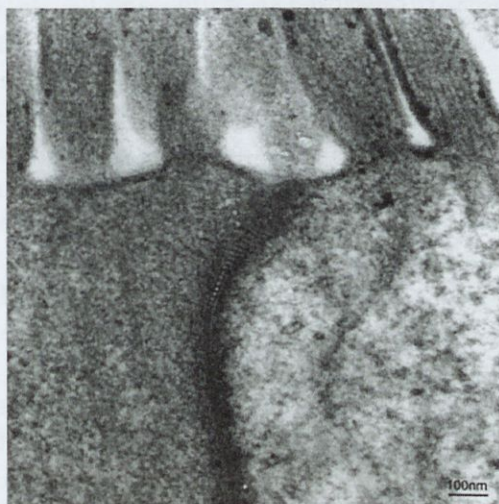
Prepoznavanje med celicami omogočajo glikoproteini in glikolipidi, ki na zunanji površini celice tvorijo zunanji plašč iz ogljikovih hidratov, imenovan **glikokaliks**. Specifične kombinacije terminalnih delov ogljikovih hidratov glikokaliksa eritrocitov so osnova za razlikovanje krvnih skupin ABO. Levkociti sodelujejo pri vnetjih v tkivih tako, da se povezujejo s posebnimi proteini (selektini) v glikokaliksu endotelnih celic krvnih žil.

Organizacijo celic v tkiva in organe večceličarjev omogočajo **medcelični stiki**, specializirani predeli celične membrane. Selektivne povezave celic omogočajo specifični adhezijski proteini (selektini, integrini, kadherini). Celice živali se direktno povezujejo na tri načine (sl. 2.8): z neprehodnimi stiki (**tesnimi in septiranimi stiki**), s sidrnimi stiki (**dezmosomi in priležnimi stiki**) in s prehodnimi stiki (**presledkovnimi stiki**).

Tesni stiki (zonula occludens) so povezave, kjer sta membrani sosednjih celic povezani z omrežjem razvejanih, transmembranskih beljakovin v obliki letev (TEM), ki se na določenih mestih povezujejo in tako približajo membrani sosednjih celic, da preprečujejo transport snovi skozi medcelični prostor. Taki stiki so značilni predvsem za epitelne celice vretenčarjev (manj jih je pri nevretenčarjih), in to v predelih, kjer je transport snovi skozi medcelični prostor v apikalno bazalni smeri celice omejen (črevo, ledvice, krvne žile). Dezmosomi (maculae adherens) so točkovne mehanske povezave med celicama. V tem predelu je medcelični prostor razširjen in vsebuje transmembranske proteine kadherine. Na citoplazemski strani sta membrani obeh celic ojačani s proteini dezmosomskega plaka, kamor se pritrjujejo intermediarni filamenti (tonofilamenti). Drugi tip sidrnih stikov so priležni stiki, ki lahko v obliki obroča obdajajo subapikalni del celice (zonula adherens). Na priležne stike se pripenjajo snopi aktinskih filamentov. Celice se s podobno obliko sidrnih stikov lahko povezujejo tudi z izvenceličnim matriksom (na primer s fibronektinom) preko beljakovin integrinov. Ti proteini so urejeni v dva tipa stikov: hemidezmosome (povezane z intermediarnimi filamenti) ali fokalne stike (povezane z aktinskimi filamenti). Posebnega fiziološkega pomena za živalska tkiva so presledkovni stiki, pri katerih sta celični membrani zblížani na razdaljo 2-4 nm. V tem predelu so številni koneksioni (nad 100), v 1,5 nm kanalčke organizirani transmembranski proteini iz družine koneksinov, skozi katere prehajajo manjše molekule (molska masa pod 1000 daltonov). Koneksioni prevajajo tudi električne impulze in so številni v predelih električnih sinaps. Za nevretenčarje so značilni **septirani (pregradni) stiki** (sl. 2.9), ki so zelo različni po zgradbi. Lahko so v obliki nagubanih letev, ki povezujejo sosednji celici (mehkužci, členonožci) ali pa v obliki kompleksnega tridimenzionalnega sistema paličastih struktur (ožigalkarji).



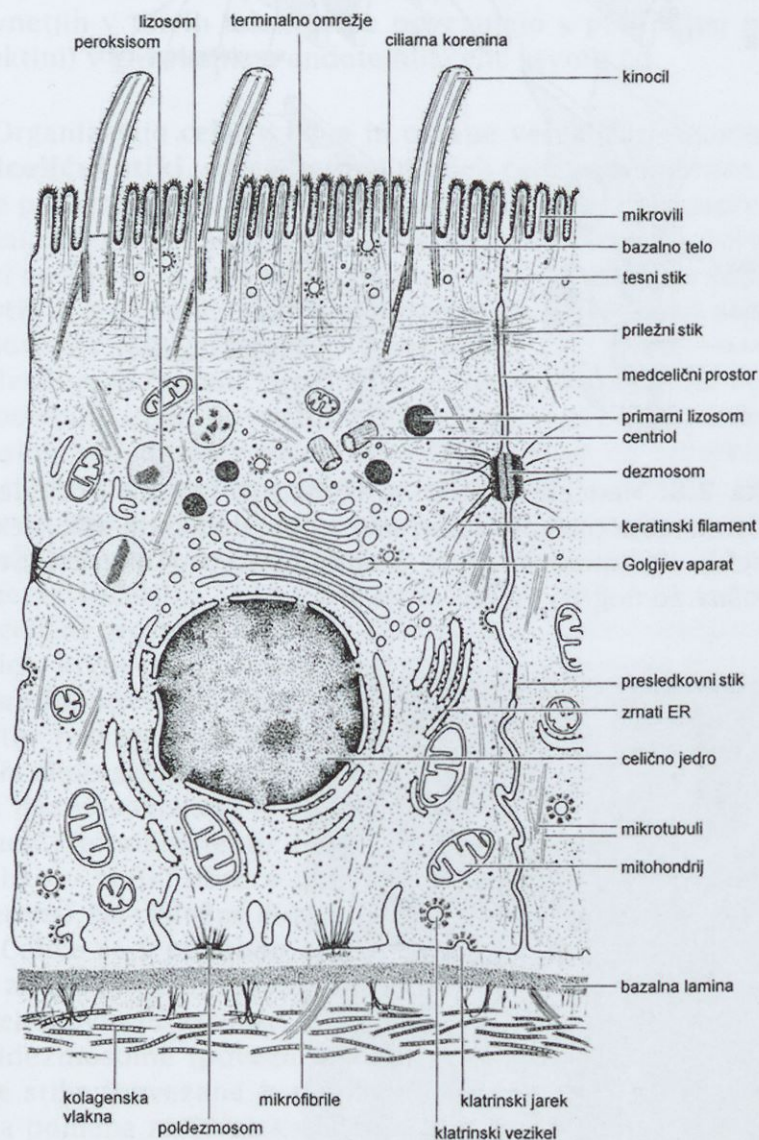
**Slika 2.8:** Medcelični stiki: a) tesni stik (zonula occludens); b) dezmosom (macula adherens); c) presledkovni stik, neksus (macula communicans); d) pregradni (septirani) stik (Štrus, Splošna zoologija, 1999)



**Slika 2.9:** TEM mikrografija pregradnega stika med epitelima celicama hepatopankreasa raka enakonožca

Plazmalema je na površinah polariziranih celic različno organizirana in vsebuje specifične proteine, odvisno od celične funkcije (sl. 2.10). Na **apikalni strani** so pogoste strukture, ki povečujejo površino v zvezi z absorpcijo ali sekrecijo. Prstasti izrastki plazmaleme na površini črevesnih celic so **mikrovili**, ki vsebujejo snope aktinskih filamentov, povezanih z različnimi proteini. Poseben tip mikrovilov so negibljive stereocilije, ki so pogoste strukture čutilnih celic (mehanoreceptorjev v ušesu). **Bički** in **migetalke (kinocilije)** so večji, gibljivi izrastki plazmaleme, ki imajo

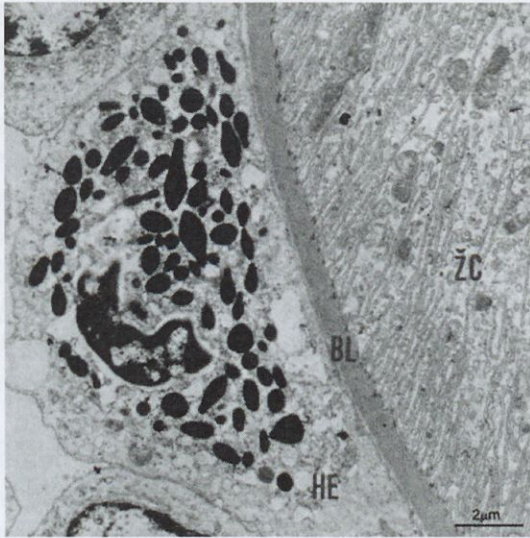
pri živalih enako osnovno zgradbo. Pod plazmalemo je aksonema iz devetih dvojčkov mikrotubulov na obrobju in centralnega para mikrotubulov, ki so med sabo povezani s proteini. Na bazi bička in migetalke je bazalno telo iz devetih trojčkov mikrotubulov. Gibanje migetalke je posledica drsenja mikrotubulov, energija izvira iz hidrolize ATP, ki jo omogočajo molekule dineina z ATP-azno aktivnostjo, ki povezujejo dvojčke mikrotubulov.



**Slika 2.10:** Diferenciacije celične površine in ultrastrukturne značilnosti epitelne celice živali (povzeto po Storch V. in Welsch U., Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)

Bazalni deli celic so pogosto izoblikovani v **bazni labirint** v obliki gostega omrežja kanalov, ki nastanejo z uvijanjem plazmaleme v baznem delu celice (sl. 2.11). Značilen je predvsem za epitelne celice z intenzivnim transportom snovi v baznem delu (ledvice, Malpighijeve cevke žuželk). Na bazi epitelnih celic je **bazalna lamina** iz mreže proteinov med katerimi prevladuje kolagen IV, ki povezuje celice z vezivom.





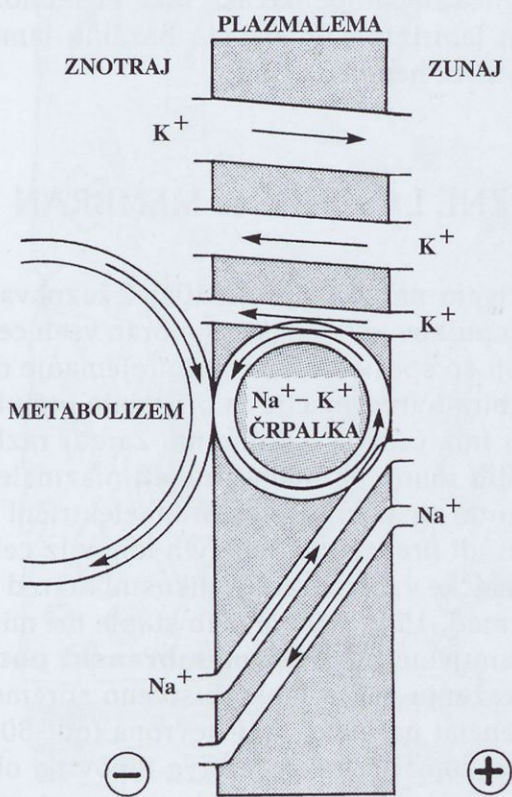
**Slika 2.11:** Žlezna celica hepatopankreasa raka enakonožca (ŽC) z gostim baznim labirintom in debelo bazalno lamino (BL). Ob njej je krvna celica hemocita (HE)

## 2.4 VZDRAŽNE LASTNOSTI MEMBRAN

Vsi organizmi se odzivajo na zunanje dražljaje, zaznavanje dražljajev in prevajanje impulzov je lastnost membran vseh celic. Čutilne celice ali receptorji so specializirane za sprejemanje dražljajev, živčne celice pa zbirajo informacije in prevajajo impulze. Pomembno vlogo pri tem ima celična membrana. Zaradi razlike v koncentracijah in nabojih ionov na obeh straneh plazmaleme (elektrokemijskega gradienta) nastane na membrani električni potencial, ki je negativen zaradi prehajanja kalijevih ionov iz celice v zunanje okolje skozi kanalčke v membrani. Velikostni razred potenciala različnih celic je med  $-15$  in  $-100$  mV. To stanje pri mišičnih in živčnih celicah imenujemo **mirovni membranski potencial (MPP)**, ki se po vzdraženju celice lahko bistveno spremeni. Mirovni membranski potencial na membrani nevrona (od  $-60$  do  $-90$  mV) je posledica neenakomerne razporeditve ionov na obeh straneh plazmaleme. K nastanku tega potenciala prispevajo trije mehanizmi: elektrogena ionska črpalka, Donnanovo ravnotežje in difuzijski potencial. Najpomembnejši je difuzijski potencial, ki je posledica visoke koncentracije  $K^+$  ionov v celici in visoke koncentracije  $Na^+$  ionov v okolju (sl. 2.12). Koncentracijske razlike ionov so posledica privlačnosti negativno nabitih molekul v celici, prepustnosti membrane za ione in delovanja ionske črpalke. Membrana je bolj prepustna za  $K^+$  ione, ki uhajajo iz celice. Na membrani se ustvarja napetostni gradient. Zunanost je v primerjavi z notranostjo nabita pozitivno, membrana je polarizirana. Mirovni membranski potencial v bistvu ustreza ravnotežnemu potencialu za  $K^+$  ione. Koncentracijsko razliko ionov vzdržuje  $Na^+ - K^+$  črpalka, ki vrača  $Na^+$  ione v okolje, hkrati pa črpa  $K^+$  ione nazaj v celico. Črpalka za delovanje potrebuje ATP in pri nekaterih celicah lahko porabi tudi do 70 % ATP, ki nastaja v celici. Če se membranski potencial zmanjša, govorimo o **depolarizaciji**, če se poveča, pa

o **hiperpolarizaciji membrane**. V nasprotju z MPP, ki ga celica stalno vzdržuje, pa trenutna sprememba v napetosti na membrani sproži živčni impulz ali **akcijski potencial**, ki potuje po aksonu in sproži val depolarizacije vzdolž aksona. Prepustnost membrane za  $\text{Na}^+$  ione se poveča do 500-krat, celična notranjost postane pozitivna. Vrh akcijskega potenciala je dosežen, ko se stopnja depolarizacije približa vrednosti ravnotežnega potenciala za  $\text{Na}^+$  ione. Hkrati se spremeni tudi prepustnost za  $\text{K}^+$  ione, ki vdrejo iz celice, kar spet povzroči spremembo napetosti (repolarizacija). Končno stanje, ki usteza MPP, vzpostavi ionska črpalka. Takoj nato lahko sledi nov akcijski potencial. Akcijski potencial se širi s konstantno, za določen tip celice značilno hitrostjo.

Večina poskusov, ki so pojasnili mehanizme prevajanja vzbujenj po aksonih živčnih celic, je bila izvedena na orjaških aksonih lignjev.



**Slika 2.12:** Mirovni membranski potencial: pasivni in aktivni transport kalijevih in natrijevih ionov skozi membrano. Pasivni transport skozi ionske kanalčke poteka v smeri koncentracijskega gradienta. Aktivni transport v smeri, ki je nasprotna koncentracijskemu gradientu omogoča ionska črpalka (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

## 2.5 MEMBRANSKI RECEPTORJI

Vse celice sprejemajo signale iz okolja in se nanje odzivajo, čutilne celice pa zaznavajo specifične dražljaje s posebnimi membranskimi strukturami, ki sprejemajo dražljaje različnih modalitet in jih pretvorijo (transducirajo) v električne signale.

Številni transmembranski proteini delujejo kot receptorji in dražljaje iz celičnega okolja ali notranjosti telesa spreminjajo v informacije, ki se prenašajo preko različnih sporočevalcev. Membranski receptorji so receptorji za rastne faktorje, peptidne hormone, neurotransmitterje, interleukine in interferone. Delimo jih v več skupin, glede na strukturne in funkcionalne lastnosti. **Receptorji, povezani z ionskimi kanalčki**, so najpreprostejši in so prisotni predvsem v membranah živčnih in mišičnih celic. Kemijski signal, ki prihaja do receptorja v obliki neurotransmitterja (acetilholina, adrenalina), se pretvori v električni signal, tako da se spremeni napetost na membrani tarčne celice, kar sproži nastanek akcijskega potenciala. Z vezavo neurotransmitterja pride do spremembe v strukturi receptorja in to vpliva na odpiranje ali zapiranje ionskega kanalčka. Primer takega receptorja je nikotinski receptor za acetilholin v membrani skeletne mišične celice. Z vezavo acetilholina se odpre ionski kanalček, natrijevi ioni vdrejo v celico in depolarizirajo membrano, tako nastane akcijski potencial, ki vpliva na odpiranje kalcijevih kanalčkov, zaradi vdora kalcija v celico pride do krčenja mišičnega vlakna. **Receptorji, vezani s proteinom G**, se odzivajo na peptidne hormone, neurotransmitterje ter na snovi, ki jih okušamo in vohamo. Podobno delujejo tudi receptorji za vid. Številni membranski receptorji, vezani s proteinom G, imajo zelo podobno zgradbo. Večinoma so sestavljeni iz odsekov vijačnic alfa, ki sedemkrat predrejo plazmalemo. Nekateri membranski **receptorji so direktno povezani z encimi** v celici. To so transmembranski proteini, ki se odzivajo na rastne faktorje in snovi, ki regulirajo rast, diferenciacijo in migracije celic v živalskih tkivih. Napake v delovanju teh receptorskih poti so pogosto povezane z nastankom rakastih obolenj. Najbolj raziskana skupina takih receptorjev so **receptorski proteini-tirozin kinaze**, ki fosforilirajo tarčne celične proteine na tirozinskih stranskih verigah. Nekateri receptorji (npr. za citokine/interferone) se povezujejo s citoplazemskimi proteini-tirozin kinazami ali pa z drugimi encimi v celici, kot so gvanil ciklaze, protein-tirozin fosfataze, ki se aktivirajo z vezavo liganda.

Membranski receptorski proteini so razporejeni v membranah čutilnih celic in se odzivajo na specifične dražljaje ali ligande (agoniste), npr. membranski proteini (rodopsini) v paličicah in čepkih se odzivajo na svetlobo, proteini v ciliarnih celicah notranjega ušesa se odzivajo na mehanske spremembe, receptorji v okušalnih brbončicah jezika zaznavajo kemijsko sestavo snovi.

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Ugotovite, kako je zgrajen in kako deluje inzulinski receptor. V čem se razlikujeta receptorja za acetilholin v membranah skeletne in srčne mišice? Kakšne so povezave adrenalina z receptorji v membranah maščobnih in mišičnih celic?

## TRETJE POGLAVJE

# CELIČNI ORGANELI IN NJIHOVE FUNKCIONALNE POVEZAVE

Celice, ki gradijo tkiva in organe živali vsebujejo številne celične strukture (organele ali predelke), obdane z eno ali dvema membranama, ki ločujeta njihovo notranjost od citosola. Z nastajanjem celičnih organelov je prišlo v celici do ločevanja področij s specifičnimi biokemijskimi lastnostmi in s tem do specializacije celičnih funkcij.

### POMEMBNA ODKRITJA CELIČNIH ORGANELOV

Camillo Golgi, 1898, je opisal Golgijev aparat.

Keith R. Porter, 1945, je opisal endoplazemski retikulum.

Christian de Duve, 1950, je opisal lizosome.

Palade, 1960, je razložil vlogo ER v procesiranju in sortiranju proteinov.

Gurdon, 1966, je ugotovil, da je v jedru shranjen ves genom organizma.

Sabatini in Blobel, 1971, sta postavila signalno hipotezo v sintezi proteinov.

Claude, de Duve, Palade, 1974, Nobelova nagrada za raziskave strukturne in funkcionalne organizacije celice.

Brown in Goldstein, 1974, Nobelova nagrada (1986) za razlago molekularskih mehanizmov receptorsko posredovane endocitoze.

Smith, 1984, mapiranje jedrnega lokalizacijskega signala za transport proteina skozi jedrne pore.

## 3.1 NOTRANJE CELIČNO OKOLJE; KEMIJSKA SESTAVA CITOPLAZME

Citoplazma živalskih celic je iz citosola, celičnih organelov in dinamičnega omrežja proteinov, ki jih imenujemo celično ogrodje ali citoskelet (sl. 3.1). **Celični organeli** so biokemijski, strukturni in funkcionalni predelki evkariontske celice, ki so z membrano ločeni od citosola (sl. 3.2). V celici je mnogo z membrano obdanih transportnih veziklov, ki prenašajo snovi iz enega predelka v drugega.

**Citosol** ali osnovna plazma je tekoči del citoplazme, ki lahko zavzema do 55 % celične prostornine. V citosolu so prisotne različne organske spojine (30 % celične mase) in anorganske snovi (70 % celične mase).

**Voda** je najpomembnejša anorganska snov v celici. V vodnem okolju potekajo biokemijske reakcije, voda je pomemben vir protonov. Fizikalne lastnosti vode, kot so površinska napetost, kapilarnost, gostota, toplotna kapaciteta, vplivajo na procese v celici (termoregulacija, pretok telesnih tekočin).

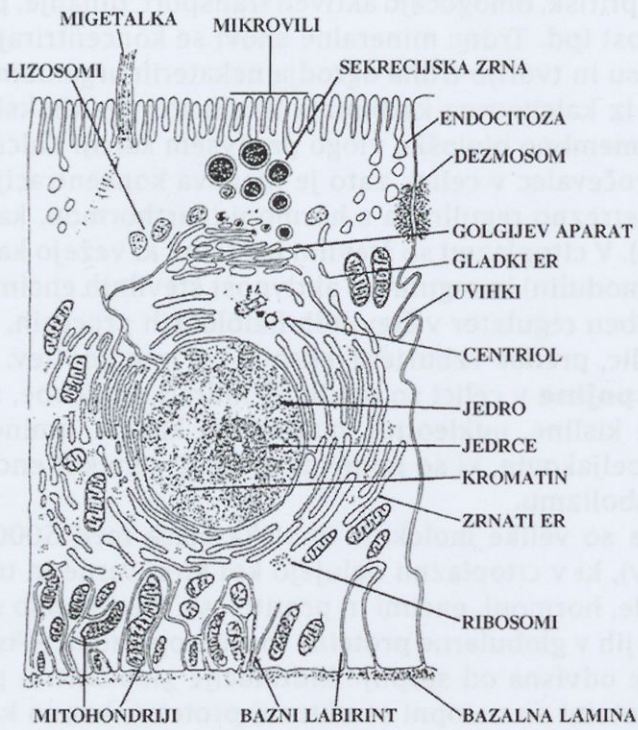
**Anorganski ioni**, predvsem natrijevi, kalijevi, magnezijevi, kalcijevi, kloridni, fosfatni in hidrogenkarbonatni ioni so ključni za vzdrževanje ionskega ravnovesja v celicah, regulirajo pH, vzdržujejo osmotski pritisk, omogočajo aktiven transport, dihanje, prevodnost, krčljivost ipd. Trdne mineralne snovi se koncentrirajo v celičnem matriksu in tvorijo trdna ogrodja nekaterih organizmov, ki so predvsem iz kalcijevega karbonata in silicijevega dioksida. Med ioni ima pomembno biološko vlogo predvsem kalcij. Kalcij je sekundarni sporočevalec v celici, zato je njegova koncentracija v celici nizka in ustrezno regulirana s hormoni (parthormon, kalcitonin, vitamin D). V citoplazmi so številni proteini, ki vežejo kalcij (troponin C, kalmodulin) in regulirajo aktivnost številnih encimov. Kalcij je pomemben regulator v številnih fizioloških procesih, kot so krčljivost mišic, prenos vzbujenj, eksocitoza in oploditev.

**Organske spojine** v celici so ogljikovi hidrati, maščobe, steroidi, maščobne kisline, nukleotidi, nukleinske kisline, aminokisljine, večina je beljakovin, ki so pomembne predvsem kot encimi v celičnem metabolizmu.

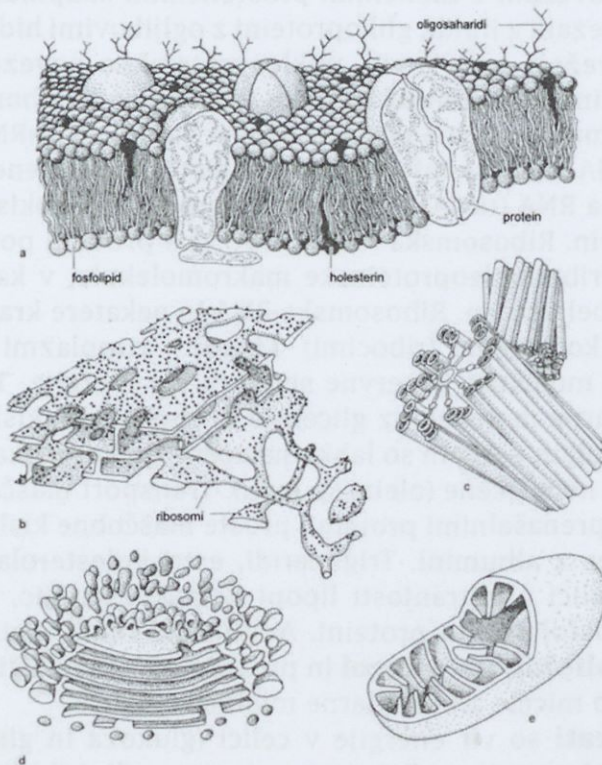
**Beljakovine** so velike molekule (molska masa med 5000 in milijon daltonov), ki v citoplazmi delujejo kot strukturne in transportne molekule, hormoni, encimi in protitelesa. Razlikujejo se v zgradbi, delimo jih v globularne proteine in skleroproteine. Viskoznost citosola je odvisna od stopnje hidratacije globularnih proteinov. Skleroproteini so netopni strukturni proteini, kot so kolagen, keratin, miozin. Ti proteini imajo nitasto zgradbo, večinoma v obliki vijačnice. Globularni proteini (npr. histoni, albumini) so topni, s številnimi hidrofiličnimi stranskimi verigami na površini. Proteini so lahko povezani z različnimi prostetičnimi skupinami. Lipoproteini so povezani z lipidi, glikoproteini z ogljikovimi hidrati, metaloproteini vežejo ione kovin, nukleoproteini so povezani z nukleinskimi kislinami. **Ribonukleinske kisline** so iz ribonukleotidov. V celici imajo različne vloge. Informacijska RNA (mRNA) je prepisan del DNA in nosi informacijo za sintezo določenega proteina. Prenašalna RNA (tRNA) je ključna za prenos aminokislin pri sintezi beljakovin. Ribosomska RNA (rRNA) se s proteini povezuje v **ribosome**, ribonukleoproteinske makromolekule, v katerih poteka sinteza beljakovin. Ribosomske RNA in nekatere krajše RNA delujejo tudi kot encimi (ribocimi). **Lipidi** v citoplazmi so predvsem signalne molekule, rezervne snovi in vir energije. **Trigliceridi** so nepolarne molekule iz glicerola in maščobnih kislin, ki so večinoma iz dolgih verig in so lahko nasičene (palmitinska in stearinska m.k.) ali nenasičene (oleinska m.k.). Transport maščobnih kislin poteka s prenašalnimi proteini, proste maščobne kisline so večinoma vezane z albumini. Trigliceridi, estri holesterola in karotenoidi so v celici v notranjosti lipoproteinskih kapljic, večinoma obdani s fosfolipidi in proteini. Amfipatski lipidi, kot so **fosfolipidi, sfingolipidi, holesterol** in proste maščobne kisline, v citoplazmi tvorijo micele ali lamelarne mielinske figure.

**Ogljikovi hidrati** so vir energije v celici (glukoza in glikogen) in strukturni elementi v celici ter na njeni površini (hitin in proteoglikani). Med monosaharidi sta za organizme najpomembnejši pentozni riboza in deoksiriboza, ki gradita nukleotide, med heksozami pa glukoza, fruktoza in galaktoza, ki so vir energije. Oligosaharidi so iz dveh do šestih molekul monosaharidov, biološko najpomembnejši so disaharidi maltoza, laktoza in saharoza.

Polisaharidi so predvsem rezervne snovi v celici, **glikogen** je navadno v obliki zrnč razporejen v citoplazmi.



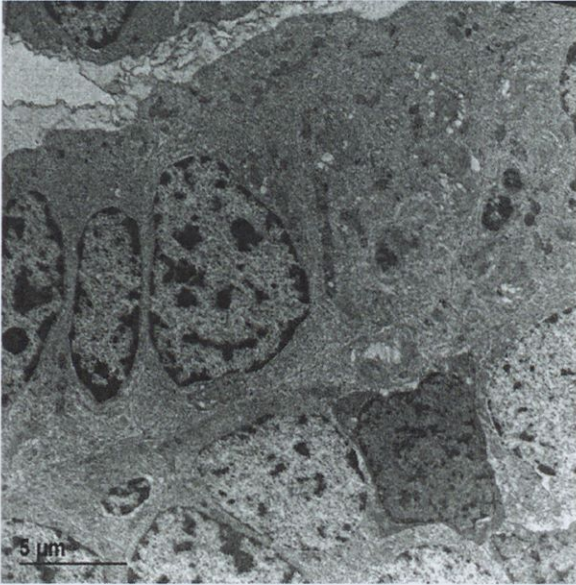
**Slika 3.1:** Ultrastruktura epitelne celice živali (Štrus, Splošna zoologija, 1999)



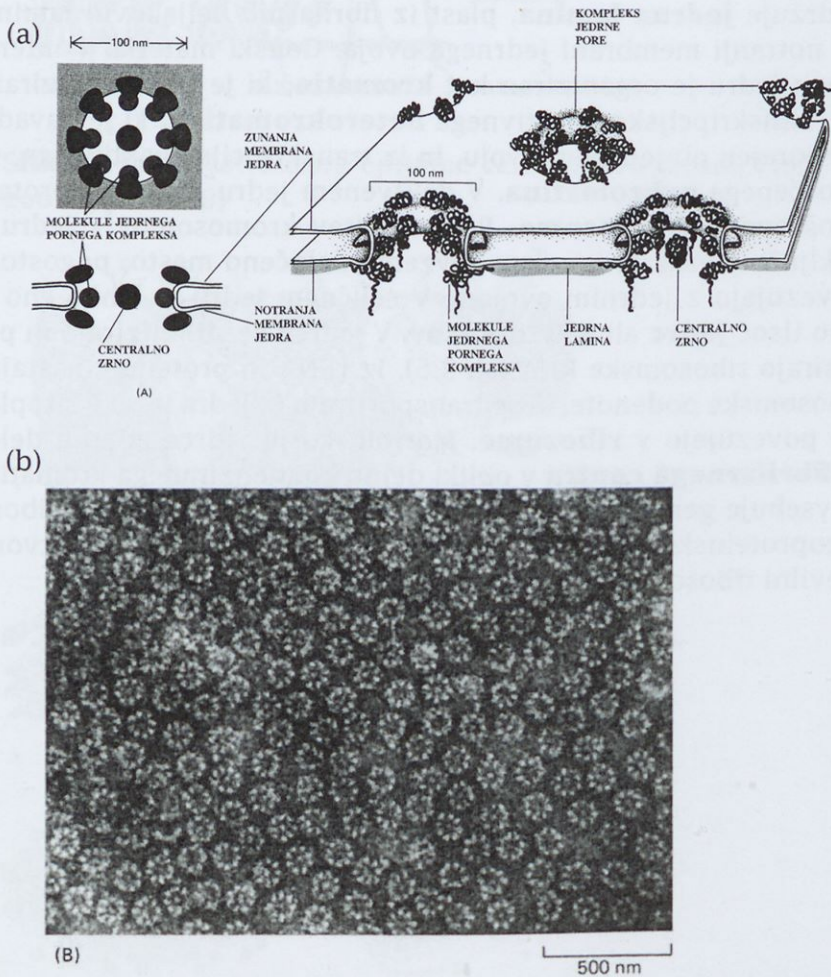
**Slika 3.2:** Zgradba celične membrane in nekaterih celičnih organelov v živalski celici: a) celična membrana; b) zrnati endoplazemski retikulum; c) centrioli; d) Golgijev aparat; e) mitochondrij (povzeto po Storch V. in Welsch U., Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)

## 3.2 JEDRO; INFORMACIJSKI IN REGULACIJSKI CENTER CELICE

Delovno ali interfazno jedro je ključni organel v celicah evkariotov (sl. 3.3). V jedru je shranjena glavna celična DNA. Jedro je obdano z **jedrnim ovojem** iz dveh membran, med katerima je perinuklearni prostor, ki je povezan z zrnatim endoplazemskim retikulumom. Jedrni ovoj vsebuje **komplekse por** (premera do 120 nm), skozi katere prehajajo večje molekule iz jedra v citoplazmo (ribosomske podenote in RNA) in v obratni smeri (različni proteini). Transport skozi pore je nadzorovan in je pomemben za regulacijo izražanja genov. Pore so sestavljene iz 50 do 100 beljakovinskih molekul (sl. 3.4a,b), ki spreminjajo obliko in s tem tudi velikost kanala, skozi katerega poteka transport. Manjše molekule pasivno difundirajo skozi vodne kanale v pori, večje molekule, proteini in RNA molekule pa prehajajo aktivno. Jedrni proteini vsebujejo specifične jedrne lokalizacijske signale in se prenašajo skozi pore s pomočjo transportnih receptorjev. **Nukleoplazma** je po sestavi drugačna kot citosol. Vsebuje skelet iz intermediarnih filamentov in topne proteine. Obliko in mehansko trdnost jedra vzdržuje **jedrna lamina**, plast iz fibrilarnih beljakovin laminov ob notranji membrani jedrnega ovoja. Genski material v interfaznem jedru je organiziran kot **kromatin**, ki je iz kondenziranega, transkripcijsko neaktivnega **heterokromatina**, ki je navadno razporejen ob jedrnem ovoju, in iz transkripcijsko aktivnega, nezgoščenega **evkromatina**. V delitvenem jedru je DNA s proteini zgoščena v **kromosome**. Razporeditev kromosomov v jedru ni naključna, vsak kromosom zavzema določeno mesto, pogosto se povezujejo z jedrnim ovojem. V celičnem jedru je lahko eno ali celo tisoč **jedrc** ali **nukleolusov**. V jedrcu se sintetizirajo in procesirajo ribosomske RNA (sl. 3.5). Iz rRNA in proteinov nastajajo ribosomske podenote, ki se transportirajo iz jedra in se v citoplazmi povezujejo v **ribosome**. Morfološko je jedrce iz treh delov: iz **fibrilarnega centra** v obliki delno kondenziranega kromatina, ki vsebuje gene za rRNA, iz **fibrilarnega dela** iz nitastih ribonukleoproteinskih molekul in iz **granularnega dela**, ki ga tvorijo številni ribosomalni delci v pozni fazi zrelosti.

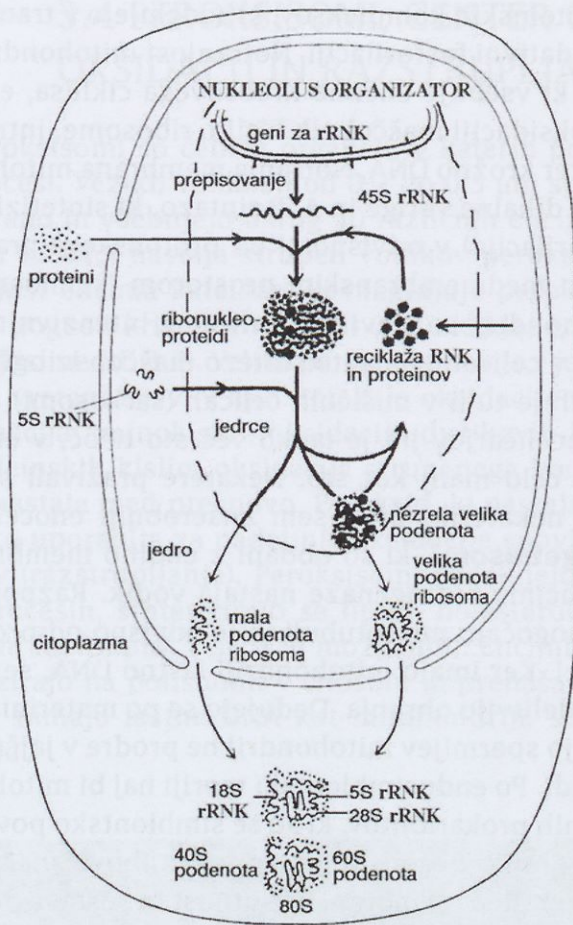


**Slika 3.3:** TEM mikrografija epitelnih celic črevesa embrija raka enakonožca z interfaznimi (delovnimi) jedri



**Slika 3.4:** a) Shema jedrnih pornih kompleksov; b) elektronsko mikroskopski posnetek (negativno barvanje) kompleksov jedrnih por (Štrus, Splošna zoologija, 1999)





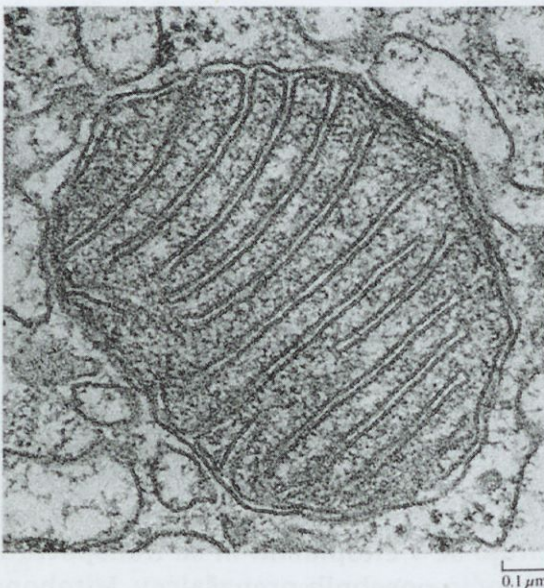
**Slika 3.5:** Shema celice z jedrom in jedrcem, kjer poteka prepisovanje rRNA in nastajanje ribosomskih podenot (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

### 3.3 MITOHONDRIJI; CELIČNE ELEKTRARNE

Mitochondriji proizvajajo večji del celične energije z oksidativno razgradnjo ogljikovih hidratov in lipidov ter sintezo ATP v procesu oksidativne fosforilacije.

Mitochondriji (sl. 3.6) so veliki celični organeli s premerom enega mikrometra in dolžino od enega do pet mikrometrov. So različnih oblik in zelo spremenljivi. Imajo lastno DNA, ki vsebuje informacije za sintezo nekaterih encimov oksidativne fosforilacije in gene za rRNA ter tRNA. Rezultati sekvenčne analize mitohondrijske DNA so pokazali, da je zelo podobna DNA znotrajceličnih bakterij rikecij. Večji del mitohondrijskih proteinov je kodiran v jedrni DNA, sintetizirajo se v citoplazmi in se transportirajo skozi mitohondrije s pomočjo posebnih prenašalcev. Mitochondriji so obdani z dvema membranama, med katerima je medmembranski prostor, ki vsebuje predvsem encime za fosforilacijo nukleotidov. Zunanja membrana je neselektivna in prepustna za večino manjših molekul, vsebuje proteine porine, ki so podobni poram v bakterijski membrani. Notranja membrana je selektivno prepustna in oblikovana v kriste ali cevke, v primerjavi z zunanjo membrano

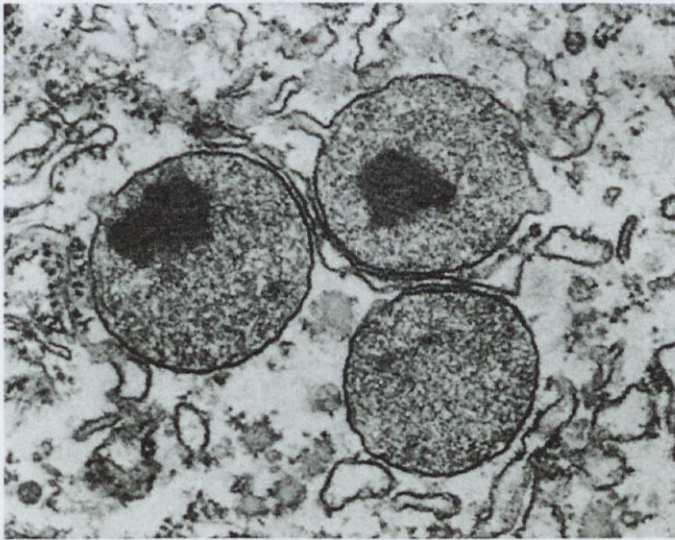
vsebuje veliko proteinskih kompleksov, ki sodelujejo v transportu elektronov in oksidativni fosforilaciji. Notranjost mitohondrija zapolnjuje matriks, ki vsebuje encime Krebsovega ciklusa, encime, ki sodelujejo v  $\beta$  oksidaciji maščobnih kislin, ribosome, intramitohondrijska zrnca ter krožno DNA. Notranja membrana mitohondrija vsebuje encime dihalne verige in ATP sintazo, ki sintetizira ATP (oksidativna fosforilacija) v odvisnosti od protonskega gradienta med matriksom in medmembranskim prostorom (kemiosmotsko sklapanje). Mitohondriji so številni v celicah z intenzivnim transportom snovi ali v celicah z bogato sintezo maščob iz ogljikovih hidratov. Veliko jih je tudi v mišičnih celicah (sarkosomi). V celicah nekaterih enoceličarjev jih je lahko več sto tisoč, v endotelnih celicah jih je celo manj kot sto. Nekateri praživali so brez mitohondrijev. V nekaterih, predvsem anaerobnih enoceličarjih so pogosti **hidrogenosomi**, ki so obdani z enojno membrano. V njih s pomočjo encima hidrogenaze nastaja vodik. Razporejanje mitohondrijev omogočajo mikrotubuli in je odvisno od procesov, ki potekajo v celici. Ker imajo mitohondriji lastno DNA, se njihov genski material z delitvijo ohranja. Dedujejo se po materini strani, ker med oploditvijo spermijev mitohondrij ne prodre v jajčno celico ali pa se razgradi. Po endosimbiontski teoriji naj bi mitohondriji nastali iz aerobnih prokariotov, ki so se simbiotsko povezali z večjimi heterotrofnimi celicami. To potrjujejo njihove značilnosti, kot so specifična zgradba membran, prisotnost in sestava dednega materiala in posebni ribosomi. Nekateri hipoteze predpostavljajo, da izvirajo iz plazmidov, ki so se vključili v celice in se razvili v kompleksne oblike.



**Slika 3.6:** Kristni tip mitohondrija iz epitelne celice podgane (Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

### 3.4 PEROKSISOMI; CENTER CELIČNIH OKSIDACIJ IN RAZSTRUPLJANJA

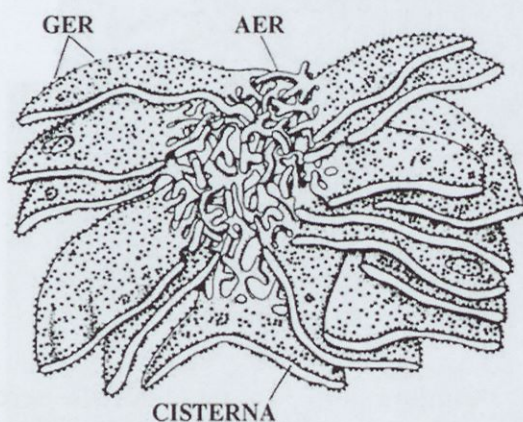
Peroksisomi so celični organeli, v katerih potekajo oksidacijski procesi. Vežikli velikosti od 0,2 do 0,5  $\mu\text{m}$  so obdani z eno membrano in vsebujejo okrog 50 različnih encimov. Ker pri oksidacijah v celici nastaja strupen vodikov peroksid, je pomembna prisotnost encima katalaze, ki razgrajuje peroksid. V peroksisomih so pogosti kristalni vključki urat oksidaze, ki razgrajuje soli urične kisline (sl. 3.7). Veliko peroksisomov je v jetrnih in ledvičnih celicah vretenčarjev. V njih potekajo oksidacije maščobnih kislin, deaminacija aminokislin, oksidacija dušikovih baz, ki nastanejo iz nukleinskih kislin, oksidacija strupenega vodikovega peroksida, ki nastaja med presnovo. Peroksid, ki nastaja v peroksisomih, se lahko uporablja za nadaljnje oksidacije snovi, npr. alkohola in fenolov (razstrupljanje). Peroksisomi sodelujejo tudi v biosintetskih procesih, sintetizirajo se lipidi, holesterol in plazmalogeni (posebni fosfolipidi v srcu in možganih). Encimi peroksisomov se sintetizirajo na polisomih v citosolu in prenašajo v peroksisome. Čeprav nimajo lastne DNA kot mitohondriji, se razmnožujejo z delitvijo.



**Slika 3.7:** Elektronskomikroskopski posnetek treh peroksisomov v jetrih podgane. Dva vsebujeta izrazit nukleoid, ki vsebuje oksidacijske encime (povzeto po Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 2002)

### 3.5 ENDOPLAZEMSKI RETIKULUM; PROIZVODNJA PROTEINOV IN LIPIDOV, LOGISTIČNI IN TRANSPORTNI CENTER CELICE

Endoplazemski retikulum (sl. 3.8) prepreda celico kot obsežno omrežje cistern in kanalov, s številnimi transportnimi vezikli. Omrežje je povezano z jedrnim ovojem, njegovo prostorsko ureditev v celici pa vzdržujejo številni mikrotubuli. Endoplazemski retikulum je morfološko in funkcionalno iz raznolikih predelov. **Zrnati ali granulirani endoplazemski retikulum (GER)** je večinoma oblikovan v cisterne in ima na površini membrane številne ribosome, tu se sintetizirajo, modificirajo in transportirajo membranske in sekrecijske beljakovine. V prehodnem delu retikuluma se odcepljajo vezikli, ki potujejo v Golgijev aparat. Citoplazemski proteini, ki ostanejo v celici, se sintetizirajo v citoplazmi na prostih ribosomih (polisomih), povezanih z mRNA. **Gladki ali agranulirani endoplazemski retikulum (AER)** je v obliki kanalov in ni povezan z ribosomi. Njegove funkcije so predvsem biosinteza fosfolipidov in steroidnih hormonov (v celicah spolnih in endokrinih žlez) ter razstrupljanje (v jetrnih celicah poteka hidrosilacija strupov, ki jih katalizirajo oksidaze v membrani ER). Specializirana oblika AER je sarkoplazemski retikulum (SER) v prečno progastih mišičnih vlaknih. V sarkoplazemskem retikulumu, ki mrežasto obdaja posamezne miofibrile, se kopičijo kalcijevi ioni, ki regulirajo krčenje mišičnih vlaken.

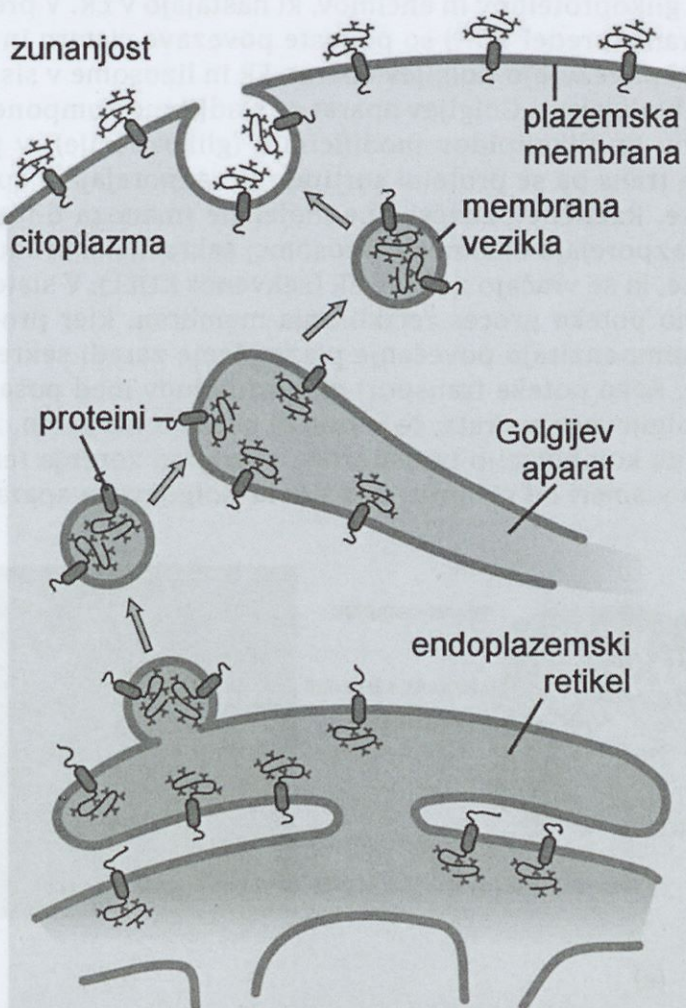


**Slika 3.8:** Kanali agranuliranega (AER) in cisterne granuliranega endoplazemskega retikuluma (GER) (povzeto po Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 2002)

#### Sinteza membranskih in sekrecijskih proteinov ter proteinov za lizosome

Proteini, ki se sintetizirajo na ribosomih, vezanih na membrano ER, se v ta organel transportirajo kotranslacijsko. Sinteza vseh proteinov se začne na ribosomih v citosolu.

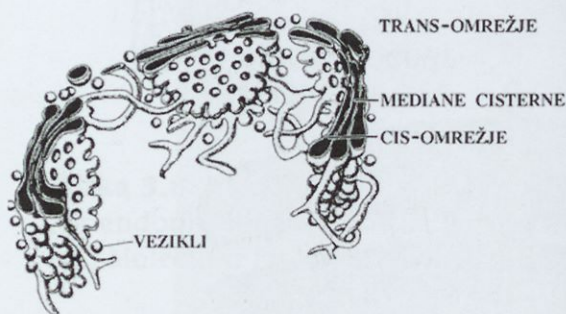
Sekrejski proteini so označeni s signalnimi zaporedji iz približno 20 aminokislin. Pri kotranslacijskem transportu to zaporedje prepoznajo delci SRP (iz polipeptidov in RNA), ki ustavijo sintezo polipeptida, ko se vežejo na ribosom in ga usmerijo na receptor SRP, ki je v membrani ER. Ribosom se veže na translokacijski kompleks v membrani ER, delec SRP pa se sprostí z ribosoma. Polipeptid vstopi skozi kanalček v membrani (translokon) v notranjost ER. V nadaljevanju encim signalna peptidaza odcepi signalno zaporedje in polipeptid se sprostí v lumen ER. Membranski proteini se ne sprostijo, ampak ostanejo zasidrani v membrani (sl. 3.9). Postranslacijski transport proteina poteka brez posredovanja SRP, skozi poseben proteinski kompleks, povezan s translokonom v membrani. Proteini v lumnu ER se nato s pomočjo šaperonov zvijejo v ustrezno konformacijo, glikozilirajo (dodajo se sladkorji) in podenote se povežejo. Pravilno zviti in sestavljeni proteini se transportirajo naprej v Golgijev aparat ali ostanejo funkcionalni v ER, drugi pa se razgradijo. Pomembna funkcija ER je **kontrola kvalitete proteinov**, torej prepoznavanje nepravilno zvityh proteinov in usmeritev v razgradnjo.



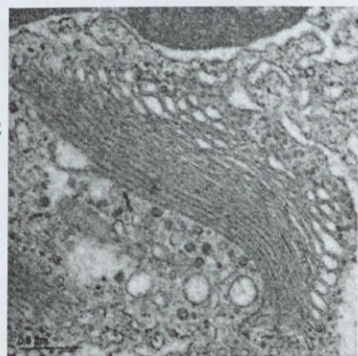
**Slika 3.9:** Sinteza glikoproteinov v GER in transport skozi sistem endomembran do plazmaleme (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2005)

### 3.6 GOLGIJEV APARAT; PROCESIRANJE IN RAZVRŠČANJE CELIČNIH PRODUKTOV

Golgijev aparat je membranski kompleks (sl. 3.10), sestavljen iz sploščenih cistern, naloženih v obliki skladovnice, in številnih veziklov. Takih skladovnic je lahko le nekaj ali pa več tisoč, odvisno od tipa celice. Golgijev aparat je polarni organel (sl. 3.11). Na konveksni, nezreli strani, ki jo tvorijo cisterne *cis*, je povezan z endoplazemskim retikulumom, kjer so v predelu ERGIC številni prehodni vezikli, ki izmenjujejo snovi med obema organeloma. Membrana je v tem delu tanjša (6 nm) in podobna membrani ER. Ta del Golgijevega aparata je prva sortirna postaja, t. i. omrežje *cis* (predel CGN), kjer se proteini vračajo v ER ali pa nadaljujejo pot v druge dele Golgijevega aparata. Konkavna ali zrela stran Golgijevega aparata, ki jo tvorijo cisterne *trans*, je bližje plazmalemi, tu se odcepljajo številni sekretijski vezikli, ki vsebujejo glikoproteine. Membrana je v tem delu debelejša (10 nm). Med obema stranema so medialne cisterne, med katerimi poteka intenzivna izmenjava veziklov. Polarnost Golgijevega aparata je povezana s transportom glikoproteinov in encimov, ki nastajajo v ER. V predelu omrežja *trans* (predel TGN) so pogoste povezave cistern in mikrotubulov, ki povezujejo Golgijev aparat, ER in lizosome v sistem GERL. Pri prehodu skozi Golgijev aparat se sladkorne komponente glikoproteinov in glikolipidov modificirajo (glikozilacije), v predelu omrežja *trans* pa se proteini sortirajo in razporejajo v specifične razdelke. Različne označevalne molekule (manoza 6-fosfat) določajo in razporejajo encime za lizosome, sekretijske produkte in beljakovine, ki se vračajo nazaj v ER (sekvenca KDEL). V sistemu GERL nenehno poteka proces recikliranja membran, kjer procesi endocitoze kompenzirajo povečanje plazmaleme zaradi sekrecije z eksocitozo. Kako poteka transport glikoproteinov med posameznimi deli Golgijevega aparata, še vedno ni popolnoma jasno, zelo verjetno gre za kombinacijo transporta z vezikli in zorenja ter gibanja cistern v smeri od *cis* proti *trans* delu Golgijevega aparata.

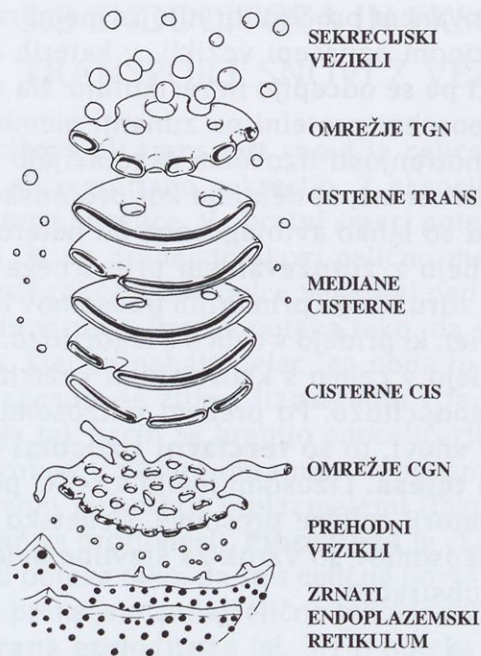


(a)



(b)

**Slika 3.10:** a) Shema Golgijevega aparata iz večih diktiosomov (Štrus, Splošna zoologija, 1999); b) TEM mikrografija diktiosoma v žlezni celici embrija raka enakonožca



**Slika 3.11:** Shematski prikaz polarne ureditve Golgijevega aparata (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

### Sekretna pot proteinov iz Golgijevega aparata

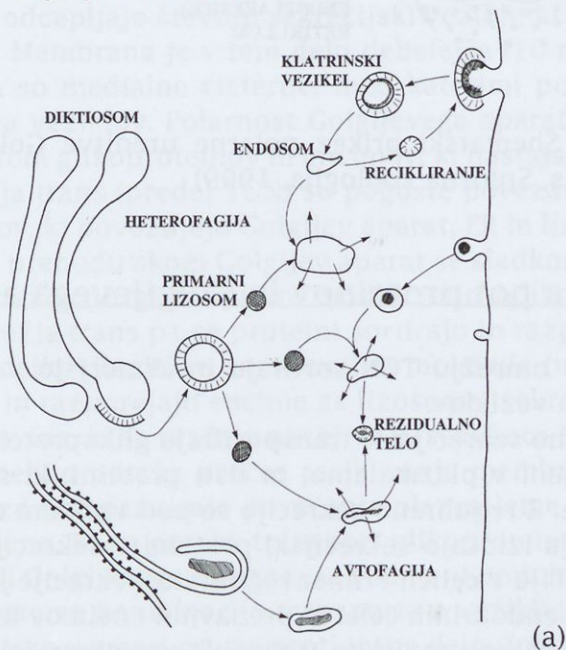
Proteini se v omrežju TGN sortirajo in usmerjajo v različne tipe transportnih veziklov.

S konstitutivno sekrecijo se transportirajo glikoproteini in glikolipidi, namenjeni v plazmalemo, in tisti proteini, ki se stalno izločajo iz celice. Z regulirano sekrecijo se pod vplivom različnih signalov iz okolja izločajo sekretni proteini v sekretnih veziklih, ki se kopičijo v celici. Primer regulirane sekrecije je izločanje hormonov iz endokrinih celic in prebavnih encimov iz žlezni celic pankreasa. Najbolj raziskan transport proteinov iz omrežja TGN je selektiven transport encimov v lizosome.

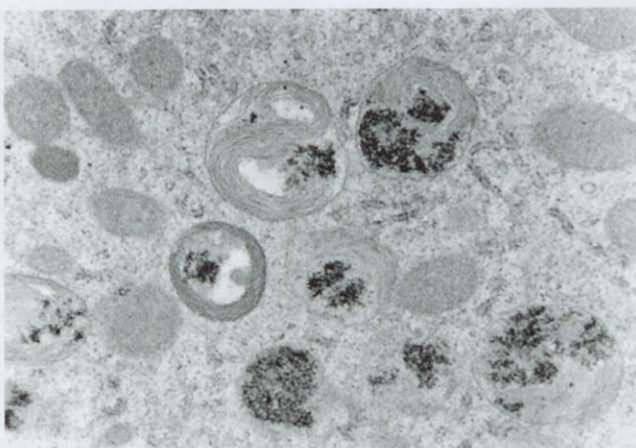
### 3.7 LIZOSOMI; PREBAVNI CENTRI CELICE

Lizosomi so vezikli, obdani z membrano, ki vsebujejo hidrolitične encime za razgradnjo proteinov, nukleinskih kislin, ogljikovih hidratov in lipidov. Osnovni funkciji lizosomov sta **heterofagija**, razgradnja snovi, ki vstopajo v celico z endocitozo, in **avtofagija**, razgradnja lastnih snovi in nefunkcionalnih celičnih organelov. Oblika in funkcija lizosomov sta zelo raznoliki, odvisno od strukture snovi, ki jo prebavljajo (sl. 3.12). **Primarni lizosomi** so majhni vezikli, ki vsebujejo kisle hidrolaze, encime, ki delujejo v kislem okolju (pH = 5). Nastajajo z odcepljanjem veziklov v TGN predelu Golgijevega aparata. Hidrolitični encimi se v obliki cimoenov (neaktivnih predhodnikov encimov) sintetizirajo v GER in s transportnimi vezikli potujejo v Golgijev aparat, kjer se povežejo z manoza 6-fosfatnimi skupinami (označevalci za lizosomske encime).

V receptorsko posredovanem procesu brstijo iz membrane Golgi-jevega aparata s klatrinom označeni vezikli, v katerih se encimi aktivirajo, označevalci pa se odcepijo in reciklirajo. Na specifična mesta jih usmerjajo posebni proteini na zunanji membrani lizosoma. Kislo okolje v notranjosti lizosoma zagotavljajo specifični proteini v membrani lizosoma, ki delujejo kot protonske črpalke. **Sekundarni lizosomi** so lahko avtofagosomi ali heterolizosomi. Heterolizosomi nastanejo z združevanjem primarnega lizosoma in **endosoma** ali pa z združitvijo primarnih lizosomov in **fagosomov** (prebavne vakuole), ki pridejo v celico s fagocitozo. Endosom vsebuje snovi, ki pridejo v celico s klatrinskimi vezikli, z receptorsko posredovano endocitozo. Po prebavi v lizosomu pogosto ostanejo nepredelane snovi, to so **terciarni lizosomi (telolizosomi)** ali **rezidualna telesa**. Lizosomi imajo v celici pomembne funkcije, saj so regulatorji celične presnove. Genetsko pogojene motnje v delovanju lizosomov so vzrok za številne bolezni kopičenja nerazgrajenih substratov.



**Slika 3.12:** a) Shematski prikaz nastajanja lizosomov in endocitotskih procesov v celici (Štrus, Splošna zoologija, 1999);



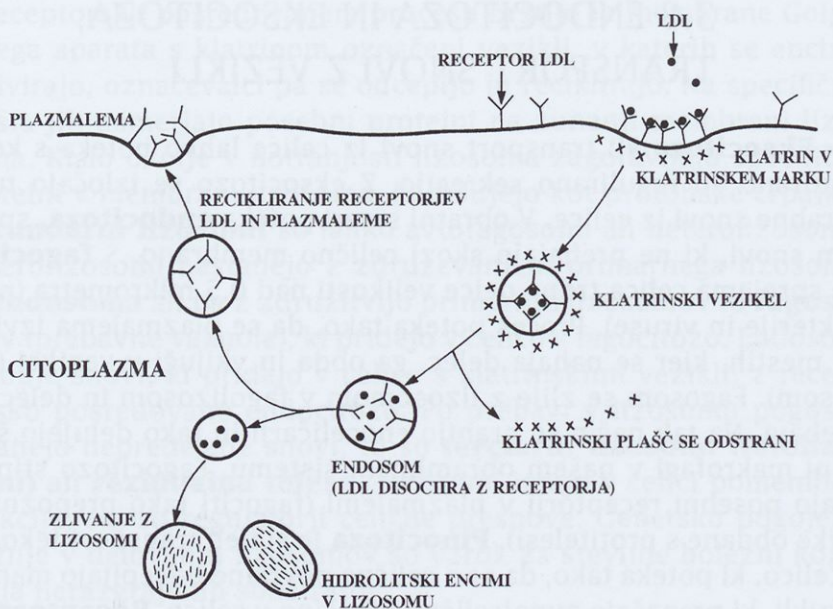
b) TEM mikrografija sekundarnih lizosomov v žlezni celici hepatopankreasa rakov enakonožcev



### 3.8 ENDOCITOZA IN EKSOCITOZA; TRANSPORT SNOVI Z VEZIKLI

**Eksocitoza** ali transport snovi iz celice lahko poteka s kontinuirano ali regulirano sekrecijo. Z eksocitozo se izločajo tudi nerabne snovi iz celice. V obratni smeri poteka **endocitoza**, sprejem snovi, ki ne prehajajo skozi celično membrano. S **fagocitozo** sprejema celica trdne delce velikosti nad 0,5 mikrometra (npr. bakterije in viruse). Proces poteka tako, da se plazmalema izviha na mestih, kjer se nahaja delec, ga obda in vključi v vezikel (fagosom). Fagosom se zlije z lizosomom v fagolizosom in delec se prebavi. Na tak način se hranijo enoceličarji in tako delujejo številni makrofagi v našem obrambnem sistemu. Fagocitozo stimulirajo posebni receptorji v plazmalem (fagociti tako prepoznajo tujke obdane s protitelesi). **Pinocitoza** je stalen transport tekočin v celico, ki poteka tako, da se s celične površine odcepljajo manjši vezikli, ki prenašajo zunajcelično tekočino v celico. **Receptorsko posredovana endocitoza** (sl. 3.13) poteka tako, da se molekule ligandi (hormoni, rastni faktorji, encimi) vežejo na specifična mesta v membrani, kjer so receptorji zbrani v klatrinskih jamicah. Na citoplazemski strani jamice je membrana ojačana s proteinom klatrinom. Na tem mestu se s pomočjo posebnih proteinov, ki vežejo GTP, odcepi vezikel, obdan s klatrinom, ki v celico zelo hitro prenese večje količine molekul. Molekule se v endosomih sprostijo, receptorji pa se z vezikli lahko vrnejo in vključijo v membrano. **Endosomi** so z membrano obdani predelki, v katerih se zbirajo snovi, ki vstopajo z endocitozo. Zgodnji endosomi so tubularne strukture, razporejene ob površini celice, s kislim pH v notranjosti organela. Delujejo kot sortirni organeli, od koder snovi prehajajo v lizosome ali nazaj na membrano. Pozni endosomi ležijo ob jedru in se zlivajo z lizosomi. Najbolj raziskan model za razumevanje receptorsko posredovane endocitoze je transport holesterola v sesalčje celice. Holesterol se v krvi prenaša kot lipoproteinski kompleksi (delci LDL). Celice sprejemajo delce LDL z receptorsko posredovano endocitozo. Ko pride LDL v lizosome, se holesterol sprosti, receptorji za LDL pa se iz zgodnjih endosomov vrnejo v plazmalemo.

V procesih endo- in eksocitoze sodelujejo številni vezikli, ki prenašajo molekule v celico in iz nje ter posredujejo med celičnimi organeli. Za prenos molekul iz vezikla v celični organel je pomemben proces zlivanja membran. Transportni vezikli vsebujejo specifične transmembranske proteine SNARE, ki se povezujejo s proteini v membrani tarčnih organelov in omogočajo zlitje membran.



**Slika 3.13:** Receptorsko posredovana endocitoza lipoproteinskega delca LDL. Transport poteka s klatrinskimi vezikli z recikliranjem receptorjev LDL in plazmaleme (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Ugotovite, kaj je vzrok za povečane količine holesterola v krvi pri bolnikih z družinsko hiperholesterolemijo (FH). Ali se vsi receptorji za ligande po endocitozi reciklirajo? Poišči primere, kjer se receptorji razgradijo, in razloži, zakaj. Ugotovi, kaj so proteini SNARE in kakšno vlogo imajo pri zlivanju membran.

## ČETRTO POGLAVJE

# PRESNOVA IN ENERGIJSKI PROCESI V CELICI

### 4.1 PROCESI PRESNOVE, DELOVANJE ENCIMOV IN VITAMINOV

Presnova ali metabolizem je celota kemijskih reakcij v celici. Celice so odprti sistemi in vzdržujejo dinamično ravnotežje ali homeostazo. Za učinkovito presnovo je nujna izmenjava snovi med celico in okoljem, ki poteka skozi celično površino ali skozi specializirane organele. Z razgradnjo snovi, ki jih celice dobijo s hrano in oksidacijo, se sprošča energija, proces imenujemo **katabolizem**. V procesih sinteze ali **anabolizma** se energija porablja za nastanek celici lastnih snovi. Energijsko bogate snovi se v celici razgradijo v procesih **bioloških oksidacij**, kjer se sprošča energija. Tvorba in poraba energije med presnovo sta osnovni za delovanje celic. Največ energije se sprošča pri oksidaciji maščob (39 kJ/g), pri oksidaciji sladkorjev in beljakovin pa manj (17 kJ/g). Oksidacije lahko potekajo **aerobno**, v prisotnosti kisika, ali **anaerobno**, brez kisika. Energija, ki se pri tem sprošča, se pretvori v energijsko bogate vezi v molekulah, kot so nukleozid fosfati (ATP, GTP), ali v ionske gradiente. Intenziteta presnove je med organizmi različna. Počasne in sesilne živali imajo zelo nizek metabolizem, živalne in gibljive pa visokega. Z **respiracijskim kvocientom (RQ)** lahko določimo, katera vrsta organskih snovi se oksidira v določenem času. RQ je razmerje med količino izdihanega CO<sub>2</sub> in porabljenega O<sub>2</sub> v enakem časovnem obdobju (RQ za sladkorje je 1, za proteine 0,8 in za maščobe 0,7). Količino energije, ki se sprosti pri oksidaciji določene količine snovi, pa lahko ugotovimo direktno iz porabe kisika.

Vse reakcije presnove imajo nekaj skupnih značilnosti: katalizirajo jih encimi, so univerzalne, vključujejo le nekaj osnovnih tipov kemijskih reakcij, nadzorujejo jih regulacijski encimi, ki spreminjajo aktivnost, potekajo v specifičnih celičnih organelih.

## Encimi

Pospeševalci in regulatorji kemijskih reakcij so **biokatalizatorji** ali **encimi**, ki delujejo tako, da znižujejo aktivacijsko energijo reakcij. Večina katalizatorjev so proteini, nekatere reakcije pa katalizirajo tudi RNA molekule. Encimi nastajajo v celici, razlikujejo se v strukturi in delovanju. Delimo jih glede na substrat, na katerega delujejo, in reakcijo, ki jo katalizirajo. V celici je šest osnovnih skupin encimov: **oksidoreduktaze** katalizirajo reakcije, v katerih se prenašajo elektroni (oksidaze, reduktaze), **transferaze** katalizirajo prenos različnih kemijskih skupin (kinaze), **hidrolaze** cepijo kemijske vezi ob prisotnosti vode (fosfataze, peptidaze - prebavni encimi), **liaze** katalizirajo razgradnjo

molekul brez prisotnosti vode (katalaza), **izomeraze** katalizirajo prenose skupin med molekulami, **ligaze** povezujejo molekule ob cepitvi energijsko bogatih vezi.

Za delovanje encima je potrebna ustrezna prostorska zgradba, z aktivnim centrom, kamor se veže substrat. Encimi spreminjajo konformacijo substrata. Pogoj za nastanek produkta je nastanek kompleksa encim-substrat. Najpreprostejši model za razlago delovanja encima je model ključa in ključavnice, kjer se substrat prilega aktivnemu mestu encima. Velikokrat pa ob vezavi substrata pride do spremembe v zgradbi obeh, to je model inducirane prileganja. Veliko encimov ima za delovanje prostetično skupino, neproteinski **koencim**, ki se veže na aktivni center. Vitamini so pogosto predstopnje koencimov, ki jih višje živali lahko dobijo le s hrano. Nekateri encimi imajo v aktivnem centru kovinske ione. Posebnost encimov je njihova katalitična specifičnost za reakcijo in substrat. Encimske reakcije potekajo v določenem okolju, kjer sta pomembna dejavnika predvsem temperatura in pH. Večina kemijskih reakcij v celici poteka do temperature 40°C, pri višji temperaturi se encimi denaturirajo. Optimalni pH za delovanje večine encimov je okrog 7, nekateri delujejo tudi v zelo kislem okolju (hidrolaze, pepsin). Delovanje encimov lahko pospešujejo ali zavirajo tudi določene snovi, **efektorji**, ki so produkti presnove. Eden od efektorjev je tudi ATP. Če se poveča njegova koncentracija v celici, se ustavi razgradnja substrata. Ko se poveča razgradnja ATP, delujejo produkti AMP, ADP in fosfat kot aktivatorji in razgradnja substrata ter sinteza ATP se povečata. Mutacije vplivajo na spremembe v zgradbi proteinov tako, da ti izgubijo katalitsko aktivnost. Pri tem so lahko blokirane določene presnovne poti in s tem normalno fiziološko delovanje organizma.

## Vitamini

Vitamini so za organizem, ki jih ne more sintetizirati sam, ključnega pomena. Dobiva jih s hrano, tako kot esencialne aminokisliline in maščobne kisline. Potreba po vitaminih je pri živalih različna. Večina živali lahko sintetizira vitamin C, opice, morski prašički in človek ga dobijo s hrano. Vitamini so topni v vodi in maščobah. V maščobah so topni: **vitamin A (retinol)** ščiti epitele in je pomemben pri tvorbi vidnega pigmenta (retinal); **vitamin D (kalciferol)** je steroid in regulira resorpcijo kalcija in fosfata v organizmu; **vitamin E (tokoferol)** je antioksidant, ki zmanjšuje toksičnost prostih radikalov v membranah, **vitamin K (antihemorigični vitamin)** je pomemben za sintezo snovi, ki so potrebne za strjevanje krvi. Ostali vitamini so topni v vodi in če so v prebitku, se lahko izločajo z urinom. **Vitamini kompleksa B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> in B<sub>6</sub>)**, **pantotenska kislina**, **niacin** so pomembni koencimi, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> in niacin predvsem pri celičnem dihanju, **vitamin H (biotin)** je prostetična skupina encimov dekarboksilaz, **vitamin C** je biološki redoks sistem, v citoplazmi in matriksu deluje kot antioksidant in je pomemben za sintezo kolagena. Veliko vitaminov sintetizirajo bakterije v prebavnem traktu, zato lahko večje količine antibiotikov povzročijo pomanjkanje vitaminov.

## 4.2 PRESNOVA OGLJIKOVIH HIDRATOV, MAŠČOB IN BELJAKOVIN

Hrana je osnovni vir energije, ki jo celice pridobivajo z razgradnjo različnih molekul.

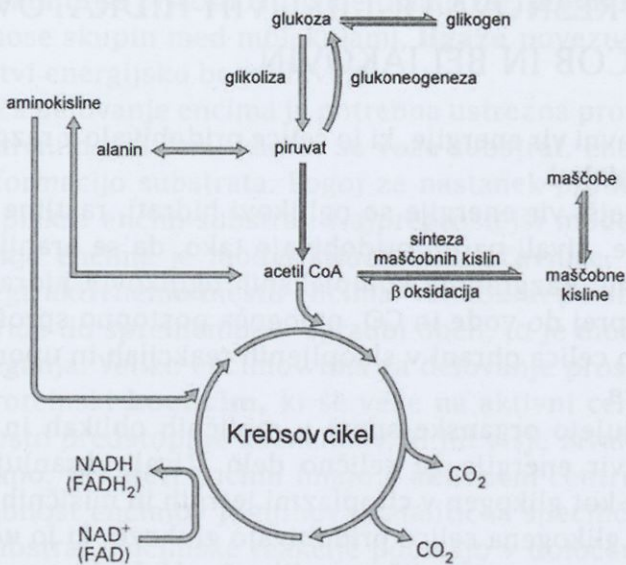
Najpomembnejši vir energije so ogljikovi hidrati, rastline jih sintetizirajo same, živali pa jih pridobivajo tako, da se hranijo z drugimi organizmi. Razgradnja kompleksnih ogljikovih hidratov do glukoze in naprej do vode in  $\text{CO}_2$  omogoča postopno sproščanje energije, ki jo celica ohrani v sklopljenih reakcijah in uporabi v procesih sinteze.

Celice shranjujejo organske snovi v različnih oblikah in jih uporabljajo kot vir energije za celično delo. Živali shranjujejo ogljikove hidrate kot glikogen v citoplazmi jetrnih in mišičnih celic. Z razgradnjo glikogena celice pridobivajo glukozo, ki jo učinkovito razgradijo v procesu celičnega dihanja. Maščobe so zelo bogat in ekonomičen energijski vir, saj vsebujejo več energije in so lažje od glikogena. V celicah so shranjene kot maščobne kaplje v citoplazmi. Večinoma so prisotne v maščobnih celicah, v jetrih se lahko kopičijo tudi kot posledica zastrupitve. Rjava maščoba je prisotna pri dojenčkih in v tkivih živali, ki prezimujejo, in je pomembna pri namenski tvorbi toplote za ohranjanje telesne temperature. Posebne maščobne celice, ki so namenjene hitremu sproščanju toplote, so rjave barve zaradi številnih mitohondrijev, ki vsebujejo citokrome. V teh celicah med dihanjem ne nastaja ATP, pač pa se sprošča veliko toplote.

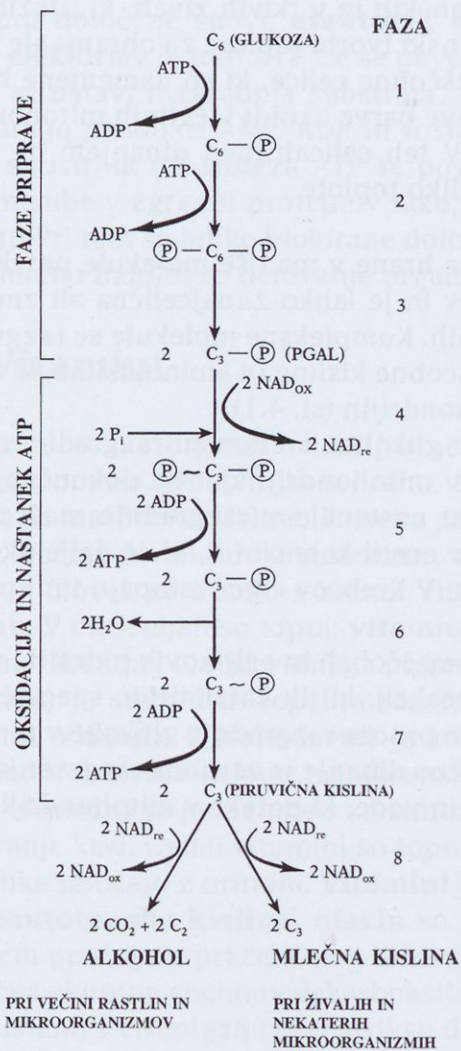
Prebava ali razgradnja hrane v manjše molekule poteka s pomočjo prebavnih encimov in je lahko zunajcelična ali znotrajcelična, ki poteka v lizosomih. Kompleksne molekule se razgradijo v enostavne sladkorje, maščobne kisline in aminokisline, ki se oksidirajo v citosolu in mitohondrijih (sl. 4.1).

Glukoza se v procesu glikolize v citosolu razgradi v molekuli piruvata, ki prehajata v mitohondrij, kjer se dokončno oksidira. Maščobne kisline, ki nastanejo z razgradnjo maščob, se v mitohondriju oksidirajo v acetil-koencim A, ki se dalje oksidira v procesu Krebsovega cikla. V Krebsov cikel vstopajo tudi produkti razgradnje beljakovin.

Energija, shranjena v maščobah in ogljikovih hidratih, se sprošča postopoma, v seriji reakcij, ki jih katalizirajo specifični encimi. Glikoliza je anaeroben proces razgradnje glukoze v piruvat, ki poteka v citoplazmi. Celično dihanje je aerobna razgradnja hranilnih snovi v celici do  $\text{CO}_2$  in vode, ki poteka v mitohondrijih.



**Slika 4.1:** Shema prikazuje osnovne procese presnove, ki potekajo v citosolu in mitohondrijih (povzeto po Bolsover et al., Cell Biology, 2004)



**Slika 4.2:** Shematski prikaz glikolize in fermentacije (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

## Glikoliza

Glukoza je stabilna molekula z veliko vsebnostjo energije (2804 kJ/mol). Razgradnja se začne z aktivacijo glukoze z ATP, pri čemer nastane fosforilirana molekula glukoze. Potek glikolize prikazuje shema (sl. 4.2).

Bistvene faze v glikolizi so:

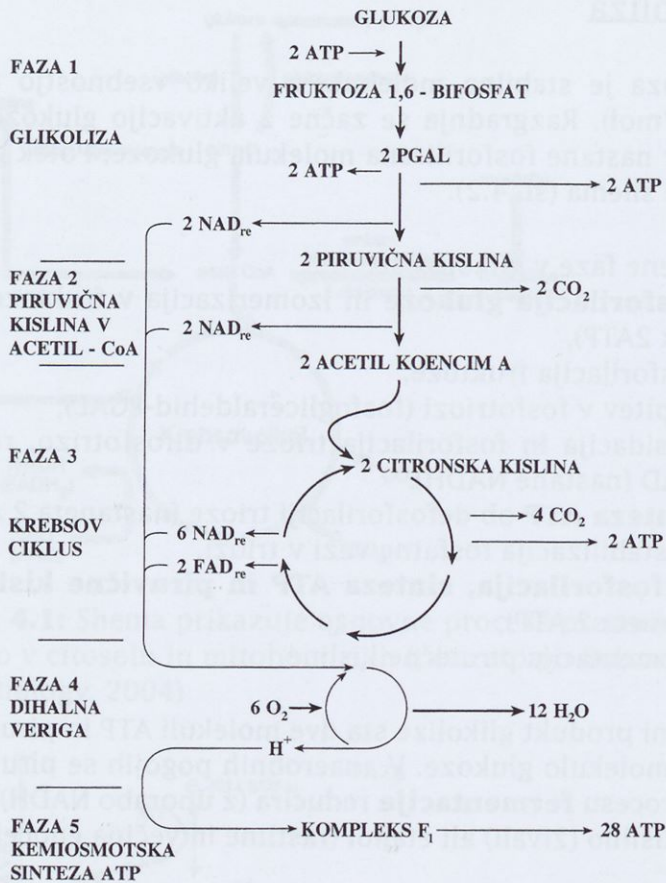
- 1- **fosforilacija glukoze** in izomerizacija v fruktozo (dodatek 2ATP),
- 2- fosforilacija fruktoze,
- 3- cepitev v fosfotriizi (fosfogliceraldehid-PGAL),
- 4- oksidacija in fosforilacija triize v difosfotriizo, redukcija NAD (nastane NADH),
- 5- **sinteza ATP** ob defosforilaciji triize (nastaneta 2 ATP),
- 6- destabilizacija fosfatne vezi v triizi,
- 7- **defosforilacija, sinteza ATP in piruvične kisline** (nastaneta 2 ATP),
- 8- fermentacija piruvične kisline.

Končni produkt glikolize sta dve molekuli ATP in piruvične kisline na molekulo glukoze. V anaerobnih pogojih se piruvična kislina v procesu **fermentacije** reducira (z uporabo NADH) bodisi v mlečno kislino (živali) ali etanol (rastline in večina enoceličarjev).

## Celično dihanje

V celicah evkariontov poteka aerobno celično dihanje v mitohondrijih. Kisik je končni akceptor elektronov, encimi dihalne verige v mitohondrijih pa s prenosom elektronov na kisik sproščajo prosto energijo, vezano v NADH. Ta energija se porabi za sintezo ATP. Proces imenujemo **oksidativna fosforilacija**, ATP pa nastaja s kemiosmotskim sklapljanjem. Aerobno dihanje je dolg proces, ki poteka v petih fazah (sl. 4.3):

- faza 1: glikoliza,
- faza 2: oksidacija piruvične kisline v acetil koencim A,
- faza 3: Krebsov cikel,
- faza 4: prenos elektronov v dihalni verigi,
- faza 5: kemiosmotska sinteza ATP.



**Slika 4.3:** Aerobno dihanje in energijska bilanca razgradnje glukoze do CO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Z glikolizo nastane v citoplazmi piruvična kislina, ki je energijsko bogata spojina (2469 kJ/mol) in skozi obe membrani preha v matriks mitohondrija. V prisotnosti kisika se piruvična kislina razgradi (multiencimski kompleks piruvat dehidrogenaze je v notranji membrani mitohondrija) v CO<sub>2</sub> in očetno kislino, ki se veže s koencimom A (derivatom pantotenske kisline) v acetil CoA. V reakciji oksidacije nastaja NADH. Acetil CoA vstopa v serijo reakcij, imenovanih **Krebsov cikel** ali cikel citronske kisline, ki poteka v matriksu mitohondrijev. Krebsov cikel je središče oksidativnega metabolizma, kjer se zbirajo oksidacijski produkti sladkorjev, maščob in proteinov kot acetil CoA in se popolnoma oksidirajo v CO<sub>2</sub> in vodo. Pri tem nastajajo energijsko bogate molekule, reduciran NAD (NADH) in FAD (FADH<sub>2</sub>) ter molekula GTP.

Cikel poteka tako, da se acetil koencim A poveže z oksaločetno kislino v citronsko kislino (C<sub>6</sub>). V seriji oksidacij citronske kisline nazaj v oksaločetno se odcepi dve molekuli CO<sub>2</sub>, vodikovi atomi pa se vežejo s tremi molekulami NAD in eno molekulo FAD. V Krebsovem ciklusu nastane tudi molekula GTP. Ker se glukoza razgradi v dve molekuli piruvične kisline, za popolno oksidacijo glukoze Krebsov cikel poteče dvakrat, število končnih produktov tega dela celičnega dihanja je tako dvakrat večje.

Večina energije, ki jo vsebuje glukoza (neto produkcija ATP do te faze je le 4 molekule na glukozo), je v tej fazi shranjena v visokoenergijskih intermediatih NADH in FADH<sub>2</sub>.

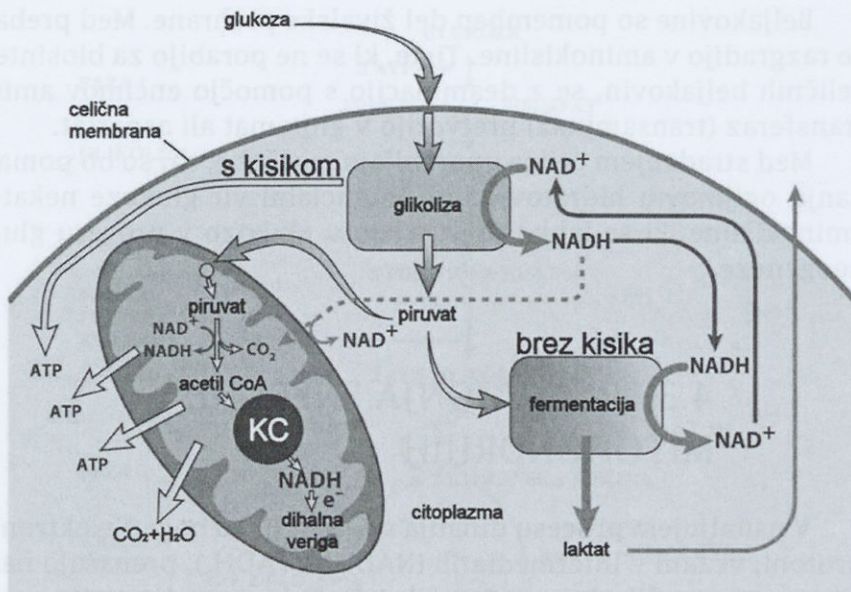


Beljakovine so pomemben del živalske prehrane. Med prebavo se razgradijo v aminokisliline. Tiste, ki se ne porabijo za biosintezo celičnih beljakovin, se z deaminacijo s pomočjo encimov aminotransferaz (transaminaz) pretvorijo v glutamat ali aspartat.

Med stradanjem celice uporabljajo maščobe, saj so ob pomanjkanju ogljikovih hidratov edini potencialni vir glukoze nekatere aminokisliline, ki se lahko pretvarjajo v glukozo v procesu glukoneogeneze.

### 4.3 PROIZVODNJA ENERGIJE V MITOHONDRIJAH

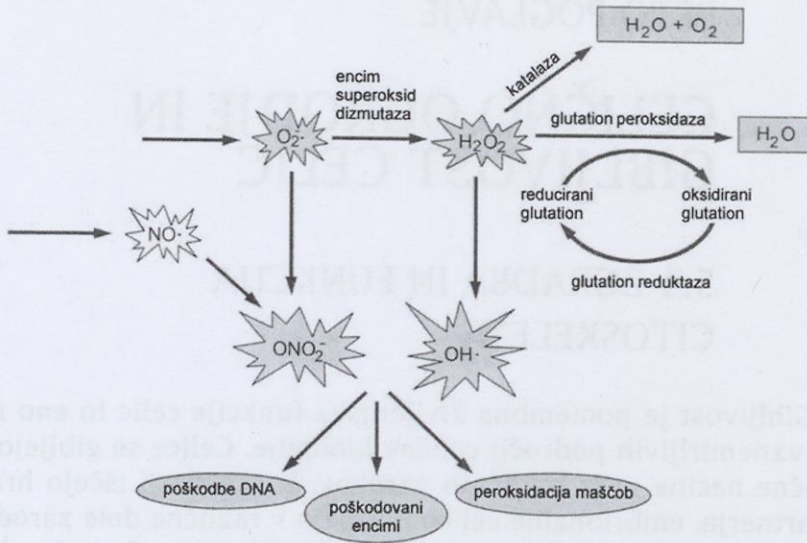
V nadaljnjem procesu dihanja se energijsko bogati elektroni in protoni, vezani v intermediatih (NADH in  $FADH_2$ ), prenašajo na kisik v **procesu dihalne verige** (sl. 4.4), ki jo sestavlja serija encimskih kompleksov, od katerih je največ **citokromov**, ki vsebujejo železo. Encimi dihalne verige so razporejeni v notranji membrani mitohondrijev. NADH prenaša elektrone v notranjo membrano do kompleksa encimov NADH dehidrogenaze (iz 22 polipeptidov), kjer se oksidira in odda elektron flavoproteinu, vodik pa se razcepi v proton in elektron. Protoni se kopičijo v intermembranskem prostoru mitohondrija, elektroni pa prehajajo na drug encim, ki vsebuje FeS. Elektroni potujejo od donorja do akceptorja v smeri naraščajočega redoks potenciala (afiniteta molekule do elektrona) preko ubikinona (koencima Q) do kompleksa citokromov b-c<sub>1</sub> (iz 8 polipeptidov) in na koncu do citokroma a<sub>3</sub>, ki je del kompleksa citokrom oksidaze (iz 9 polipeptidov). Ta uporabi energijo prenosa štirih elektronov za oksidacijo kisika, ki se nato s protoni veže v vodo, ki je končni produkt dihanja. Encimski kompleksi v membrani mitohondrija delujejo kot protonske črpalke, protoni se kopičijo v intermembranskem prostoru in **ustvarjajo protonski gradient**. Ta elektrokemijski (elektrostatski in osmotski) gradient na notranji membrani mitohondrija (negativno nabit matriks in pozitivno nabit intermembranski prostor) deluje kot molekulska baterija, ki izkorišča razliko v naboju za sintezo ATP in druge membranske procese (transport ionov in substratov). Koncentracija ADP v mitohondriju je pomembna za regulacijo hitrosti dihanja. Kompleks ATP sintetaze (kompleks F<sub>1</sub>) v notranji membrani mitohondrija prenaša protone v smeri kemiosmotskega gradienta in pri tem iz ADP in P<sub>i</sub> sintetizira ATP v procesu kemiosmotskega sklapljanja. Celoten proces sinteze ATP imenujemo **oksidativna fosforilacija**. Poskusi z različnimi tkivi kažejo, da z oksidacijo ene molekule NADH lahko nastane 2,5 - 3 molekul ATP, z oksidacijo molekule  $FADH_2$  pa 1,5 - 2 molekul ATP. Celotna energijska bilanca aerobnega celičnega dihanja, vključno z glikolizo, je torej 32 - 38 ATP na molekulo glukoze, kar je 16-krat več energije iz glukoze kot pri glikolizi. Učinkovitost aerobnega dihanja z energijskega stališča je torej okrog 35 %, (glukoza vsebuje 2804 kJ/mol, 32 ATP ustreza 970 kJ/mol), ostalo se sprosti kot toplota.



**Slika 4.4:** Shema presnove ogljikovih hidratov v evkariontski celici. Z glikolizo nastaneta v citosolu piruvat in NADH. V anaerobnih razmerah se piruvat reducira v mlečno kislino (ali v etanol v kvasovkah) v procesu fermentacije. V aerobnih razmerah prehaja piruvat v matriks mitohondrija, kjer se dekarboksilira in poveže s koencimom A, ki vstopi v Krebsov cikel, kjer nastaneta NADH in FADH<sub>2</sub>. Elektroni iz teh molekul prehajajo skozi dihalno verigo encimov v notranji membrani mitohondrija do molekularnega kisika (O<sub>2</sub>). Med prenosom elektronov se sprošča energija, ki ustvarja protonski gradient in omogoči sintezo ATP v procesu kemiosmotskega sklapanja (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

## Oksidativni stres

Med aerobnim dihanjem prihaja tudi do nevarnosti nastajanja kisikovih radikalov (sl. 4.5). V procesu oksidacije glukoze se ne porablja ves kisik, približno 2 % se ga ne reducira v vodo, ampak lahko tvori proste radikale, ki povzročajo poškodbe DNA, membran in proteinov. Zelo reaktiven je superoksidni anion, ki nastaja v dihalni verigi v mitohondriju. Encim superoksid dismutaza ga pretvori v vodikov peroksid, ki se nato reducira v vodo. Prosti radikali (ROS = reactive oxygen species), ki ostanejo, povzročajo škodo v mitohondrijih, predvsem na encimih dihalne verige. Poleg prostih kisikovih radikalov nastaja predvsem v možganskih celicah dušikov monoksid, ki s superoksidnim radikalom tvori peroksininitrit, enega najmočnejših oksidantov v celici.



**Slika 4.5:** Shema procesov, ki povzročajo oksidativni stres v celici. Prosti radikali nastanejo kot produkt metabolizma in delujejo na celične strukture in procese (povzeto po Storch V. in Welsch U., Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)

#### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Raziščite mehanizem oksidacije maščobe v rjavem maščobnem tkivu. Ugotovite, zakaj se sprošča toplota in ne nastaja ATP. Kako poteka presnova nukleotidov? Ugotovite, katere membranske procese omogoča protonski gradient na notranji membrani mitohondrija.

## 4.4 BIOSINTETSKI PROCESI V CELICI

Osnovne sestavine kompleksnih molekul, kot so glukoza, maščobne kisline, aminokisline in nukleotidi, se lahko po potrebi sintetizirajo iz drugih molekul. Glukoza lahko nastaja iz nekaterih aminokislin (alanina), iz mlečne kisline ali iz glicerola. V procesu glukoneogeneze nastaja glukoza iz piruvata, vendar je to energijsko zahteven proces. V citoplazmi poteka sinteza nekaterih maščobnih kislin, tako da se na začetku acetil CoA karboksilira v malonil CoA in nato s pomočjo proteina APC, ki nosi acilni ostanek, veriga maščobne kisline raste z dodajanjem enote iz dveh C atomov. Nekatere maščobne kisline so esencialne in jih morajo sesalci dobiti s hrano. Aminokisline lahko nastajajo iz alfa ketokislin z dodajanjem amino skupine s transaminazami. Proces transaminacije je pomemben za pretvarjanje aminokislin med sabo in za nastanek alfa ketokislin (npr. s transaminacijo glutaminske kisline nastane alfa ketoglutarina kislina, ki je pomemben intermediat v Krebsovem ciklu).

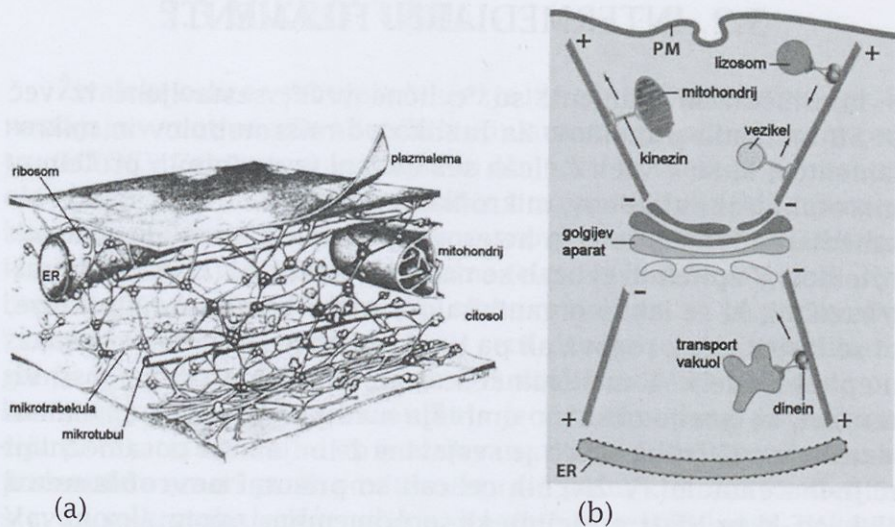
Edmund Fischer, Edwin Krebs, 1992, Nobelova nagrada za raziskave encimske aktivnosti s fosforilacijo/defosforilacijo.

# CELIČNO OGRODJE IN GIBLJIVOST CELIC

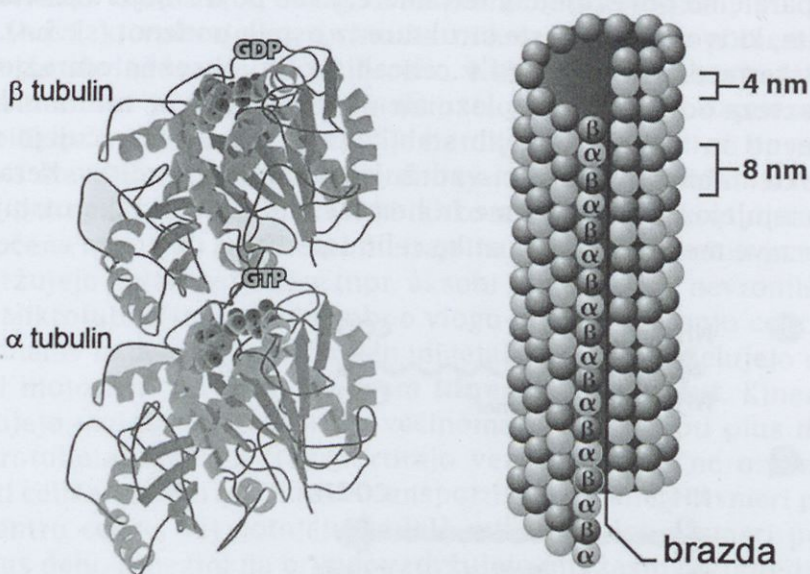
## 5.1 ZGRADBA IN FUNKCIJA CITOSKELETA

Gibljevost je pomembna življenjska funkcija celic in eno najbolj vznemirljivih področij celične biologije. Celice se gibljejo na različne načine in iz različnih vzrokov. Enoceličarji iščejo hrano in partnerja, embrionalne celice potujejo v različne dele zarodka, rakaste celice tvorijo metastaze, spermiji iščejo pot do jajčne celice, v na videz mirujočih celicah lahko opazujemo gibanje celičnih organelov. Skupna lastnost vseh naštetih primerov je prisotnost celičnega ogrodja ali citoskeleta, ki vzdržuje čvrstost celice in hkrati omogoča celično dinamiko. Citoskelet vzdržuje obliko celice, omogoča gibanje celic in organelov, sodeluje pri celični delitvi, omogoča pritrjanje celic in medcelično povezovanje. Citoskelet je iz različnih strukturnih beljakovin, ki so razporejene v citosolu kot omrežje različno organiziranih vlaken, povezanih z različnimi motoričnimi proteini (sl. 5.1). Osnovni elementi celičnega ogrodja so mikrotubuli, mikrofilamenti in intermediarni filamenti.

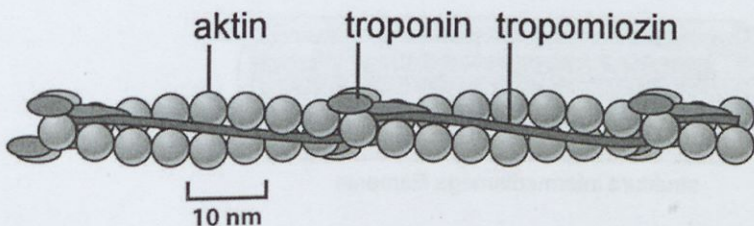
**Mikrotubuli** so cevaste strukture iz beljakovine tubulina, premera 25 nm. Zgrajeni so iz 13 protofilamentov, ki jih tvorijo nanizane dimerne molekule iz tubulina alfa in tubulina beta (sl. 5.2.a). Linearni protofilamenti se v vzporednih vrstah povezujejo v cilinder (sl. 5.2b). Mikrotubuli so polarne strukture, ki se daljšajo in krajšajo z dodajanjem in odvzemanjem dimerov tubulina. Mikrotubuli se povezujejo v snope ali kompleksne strukture, kot so bički in migetalke. Pomembni so za vzdrževanje celične oblike, gibljevost, razvrščanje organelov in celično delitev. **Mikrofilamenti** so aktinski filamenti debeline 8 nm, ki nastanejo s polimerizacijo globularnega aktina G. So dinamične strukture, vzdržujejo obliko celice in omogočajo gibljevost. Povezani so s številnimi drugimi proteini, predvsem z miozinom, troponinom in tropomiozinom v mišičnih in drugih celicah s poudarjeno krčljivostjo (sl. 5.3). **Intermediarni filamenti** so pogosti v celicah vretenčarjev in imajo vlogo zaščite in mehanske čvrstosti. Vlakna so premera 10 nm in urejena v snope.



**Slika 5.1:** a) Citoskelet je iz kompleksnega tridimenzionalnega omrežja različnih vlaken, ki se razvejujejo v citosolu; b) shema različnih organelov in veziklov, ki se s pomočjo motoričnih proteinov (kinezini, dineini) premikajo vzdolž mikrotubulov (Štrus, Splošna zoologija, 1999).



**Slika 5.2:** Zgradba mikrotubulov: a) tridimenzionalna zgradba heterodimera tubulina alfa in beta ; b) longitudinalni preiz mikrotubula iz 13 protofilamentov iz tubulinskih heterodimerov (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

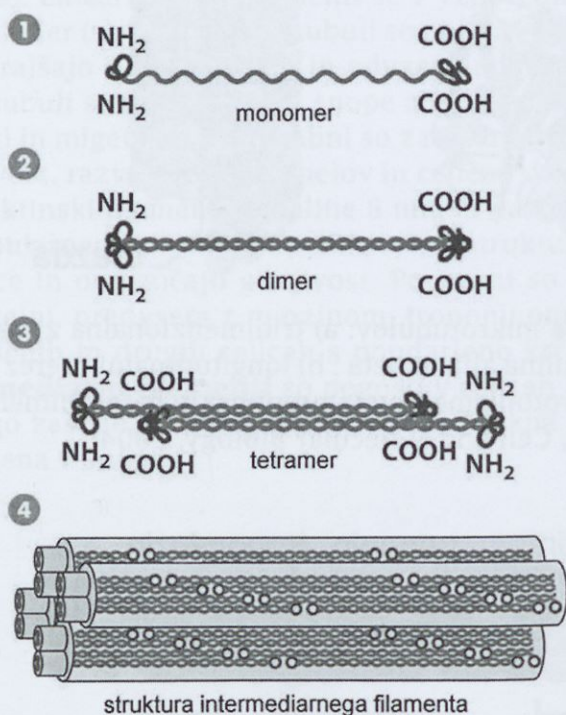


**Slika 5.3:** Molekulska organizacija aktinskih filamentov, povezanih s troponinom in tropomiozinom v mišičnem vlaknu (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

## 5.2. INTERMEDIARNI FILAMENTI

Intermediarni filamenti so "celične vrvi", sestavljene iz več kot 50 različnih proteinov. Za razliko od mikrotubulov in mikrofilamentov, ki so v vseh celicah sestavljeni iz podobnih proteinov (mikrotubuli iz tubulinov, mikrofilamenti iz aktinov), sestavlja intermediarne filamente zelo heterogena skupina tkivno specifičnih proteinov. V epitelnih celicah se nahajajo **keratini** (kisli in nevtralni/bazični), ki se lahko organizirajo v trdne keratinske strukture, kot so lasje, nohti, rogovi, ali pa tvorijo mehke keratine v citoplazmi epitelnih celic. V mišičnih celicah in fibroblastih so pogosti **vimentini**, ki tvorijo obsežno omrežje med jedrom in plazmalemo. **Dezmin** v mišičnih celicah je sestavina Z-linije med posameznimi krčljivimi enotami. V živčnih celicah so prisotni **nevrofilamenti** (NF-L, NF-M in NF-H proteini), ki so pomembna opora aksonov. V matičnih celicah centralnega živčnega sistema je prisoten **nestin**. Jedrni **lamini** tvorijo čvrsto jedro lamino ob jedrnem ovoju večine evkariontskih celic. Vsi proteini, ki tvorijo intermediarne filamente imajo podobno zgradbo iz centralnega dela v obliki vijačnice alfa, ki se končuje z amino- (glava) in karboksi- (rep) terminalnima deloma. Po dve enoti se med sabo ovijata v dimere, te se z zamikom in antiparalelno povezujejo v tetramere, ki se povezujejo v protofilamente, ki tvorijo vrvičaste strukture iz osmih podenot (sl. 5.4).

Intermediarni filamenti v celicah tvorijo obsežno omrežje, ki se razteza od jedra proti plazmalemi. Povezujejo se tudi z mikrofilamenti in mikrotubuli, jih stabilizirajo in tako povečujejo mehansko stabilnost celice in vzdržujejo notranjo ureditev. Keratini se pritjujejo na dezmosome in hemidezmosome in tako utrjujejo povezave med celicami in stike celic s podlago.



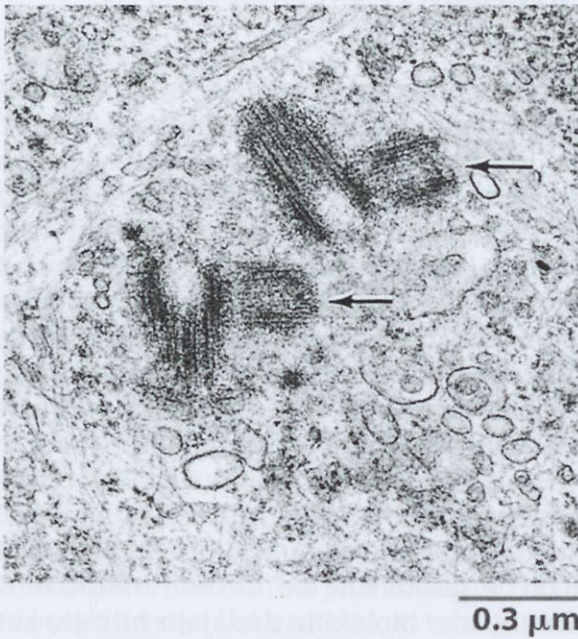
**Slika 5.4:** Prikaz paralelnega povezovanja monomernih molekul v dimere in antiparalelnega, zamaknjeneega povezovanja dimerov v tetramere, ki so osnovne podenote intermediarnih filamentov (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

## 5.3 MIKROTUBULI

Živalske celice vsebujejo omrežje iz več tisoč mikrotubulov, ki nastajajo v centrosomu ali mikrotubularnem organizacijskem centru (MTOC). Centrosom je navadno ob jedru in vsebuje par centriolov (sl. 5.5), ki so urejeni v cilinder z razporeditvijo 9x3 mikrotubulov in obdani s pericentriolarno snovjo (centrosfero). Centrioli imajo podobno zgradbo kot bazalna telesa bičkov in migetalk. Njihova vloga v celičnem ciklusu je slabo raziskana, so pa pomembni za nastanek bičkov in migetalk. V centrosomu je prisoten tubulin gama, ki inducira polimerizacijo mikrotubulov. Mikrotubuli so polarni, negativni pol (-) mikrotubula je v centrosomu, polimerizacija poteka tako, da se ob sodelovanju GTP dodajajo tubulinske podenote v smeri proti pozitivnemu (+) polu, kjer mikrotubul raste. Za mikrotubule je značilna dinamična nestabilnost, nekateri rastejo hitro, drugi počasi, se skrajšajo in celo popolnoma razgradijo. Hitrost polimerizacije je odvisna od hitrosti hidrolize GTP. Če se z GTP vezane tubulinske molekule dodajajo hitreje, kot se hidrolizira GTP, mikrotubuli rastejo. Zelo hitremu spreminjanju mikrotubulov lahko sledimo med razporejanjem kromosomov v mitozii. Med mitozo se mikrotubuli reorganizirajo, tako da nastane **delitveno vreteno**, ki omogoči ločevanje kromosomov.

Snovi, ki vplivajo na dinamiko mikrotubulov, so pomembne tudi za obvladovanje rakastih celic. Kolhicin zavira sestavljanje mikrotubulov in s tem blokira mitozo, taksol pa jih nepovratno stabilizira in tako tudi preprečuje mitozo. Mikrotubuli se povezujejo s številnimi proteini, ki spreminjajo njihovo stabilnost. Najbolj poznani so proteini MAP, ki lahko usmerjajo mikrotubule na določena mesta ali pa jih stabilizirajo na določenih mestih in tako vzdržujejo polarnost celice (npr. aksoni in dendriti v nevronih).

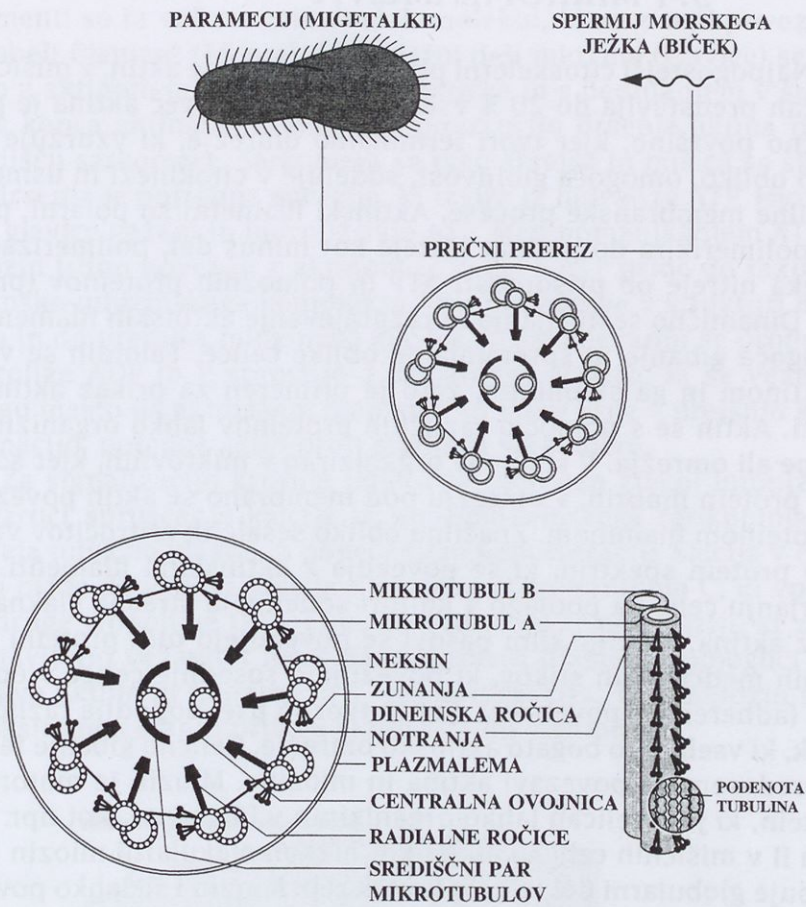
Mikrotubuli imajo pomembno vlogo pri razporejanju celičnih organelov in delovanju bičkov in migetalk. Pri tem sodelujejo različni motorični proteini, predvsem **kinezini** in **dineini**. Kinezini potujejo vzdolž mikrotubulov večinoma v smeri proti plus delu mikrotubula, tako da transportirajo vezikle in celične organele proti celični periferiji. Dineini transportirajo organele v smeri proti centru celice, saj potujejo vzdolž mikrotubulov v smeri proti minus delu. Kinezini na primer vzdržujejo mrežasto razporeditev endoplazemskega retikuluma, dineini pa centralno lego Golgijevega aparata.



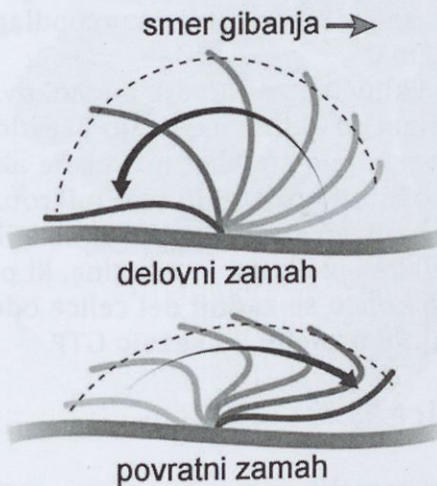
**Slika 5.5:** Struktura parnih centriolov, zgrajenih iz mikrotubulov. Vidni so hčerinski centrioli, ki nastajajo v fazi S celičnega cikla (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

**Bički in migetalke (kinocilije)** so večji, gibljivi izrastki plazmaleme, ki vsebujejo mikrotubule in imajo pri živalih enako osnovno zgradbo. Bički so lahko do dvajsetkrat daljši od migetalk (do 200 mikrometrov) in delujejo valujoče. Pod plazmalemo je **aksonema** iz mikrotubulov in spremljajočih proteinov. Mikrotubuli so urejeni v vzorcu  $9 \times 2 + 2$ , kar pomeni, da je centralni par obdan z dvojčki mikrotubulov na obodu aksoneme. Dvojčki mikrotubulov so med sabo povezani s proteini neksini, med njimi pa so dvojne ročice dineina (sl. 5.6). S centralnim parom so povezani preko radialnih ročic. Na bazi bička in migetalke je ob minus delu mikrotubulov bazalno telo iz mikrotubulov, urejenih v vzorec  $9 \times 3$ , pomembno za organizacijo aksoneme. Gibanje migetalke je posledica drsenja zunanjih dvojčkov mikrotubulov, energija izvira iz hidrolize ATP, ki jo omogočajo molekule dineina z ATP-azno aktivnostjo. Molekule dineina povežejo sosednje dvojčke in se gibljejo v smeri proti minus polu. Zato pride do drsenja tubula A v dvojčku proti bazi tubula B v sosednjem dvojčku. Ker so dvojčki povezani z neksinom, se upognejo in tako omogočijo koordinirano delovanje migetalk (sl. 5.7).





**Slika 5.6:** Prečni prerez bička ali migetalke z razporeditvijo mikrotubulov v vzorcu  $9 \times 2 + 2$  (Štrus, Splošna zoologija 1999)



**Slika 5.7:** Različne faze v delovanju migetalke. Migetalke delujejo v metakronalnih valovih; medtem ko so migetalke v eni vrsti v delovni fazi zamaha, so migetalke v sosednji vrsti v povratni fazi zamaha (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

## 5.4 MIKROFILAMENTI

Najpogostejši citoskeletni protein v celicah je aktin, v mišičnih celicah predstavlja do 20 % vseh proteinov. Največ aktina je pod celično površino, kjer tvori terminalno omrežje, ki vzdržuje celično obliko, omogoča gibljivost, sodeluje v citokinezi in usmerja številne membranske procese. Aktinski filamenti so polarni, plus del polimerizira do petkrat hitreje kot minus del, polimerizacija poteka hitreje ob prisotnosti ATP in pomožnih proteinov (profilin). Dinamično sestavljanje in razgrajevanje aktinskih filamentov omogoča gibanje in spreminjanje oblike celice. Faloidin se veže z aktinom in ga stabilizira, zato je primeren za prikaz aktina v celici. Aktin se s pomočjo različnih proteinov lahko organizira v snope ali omrežja. V snope je organiziran v mikrovilih, kjer sodeluje protein fimbrin, v omrežju pod membrano se aktin povezuje s proteinom filaminom. Značilno obliko sesalčjih eritrocitov vzdržuje protein spektrin, ki se povezuje z aktinskimi filamenti. Pri pritrtanju celic na podlago v kulturi sodelujejo stresna vlakna, ki so iz aktina. Z aktinskimi pasovi se povezujejo tudi proteini priležnih medceličnih stikov, ki povezujejo sosednje celice v epitelijih (adherentne povezave). Celice tvorijo psevdopodije različnih oblik, ki vsebujejo bogato aktinsko omrežje. Celično gibanje temelji predvsem na povezavi aktina in miozina. Miozin je motorični protein, ki je v celicah lahko organiziran v filamente, kot npr. miozin II v mišičnih celicah ali pa kot nizkomolekularni miozin I, ki vsebuje globularni del in zelo kratek rep. Miozin I se lahko poveže z vezikli ali celičnimi organeli in jih prenaša vzdolž aktinskih filamentov. V celicah so še drugi tipi miozinov, katerih funkcije še niso dobro poznane.

### Celične migracije in ameboidno gibanje

Številni enoceličarji, ameboidne celice v večceličnem organizmu (npr. makrofagi) in embrionalne celice se gibljejo po podlagi in potujejo v različne dele organizma.

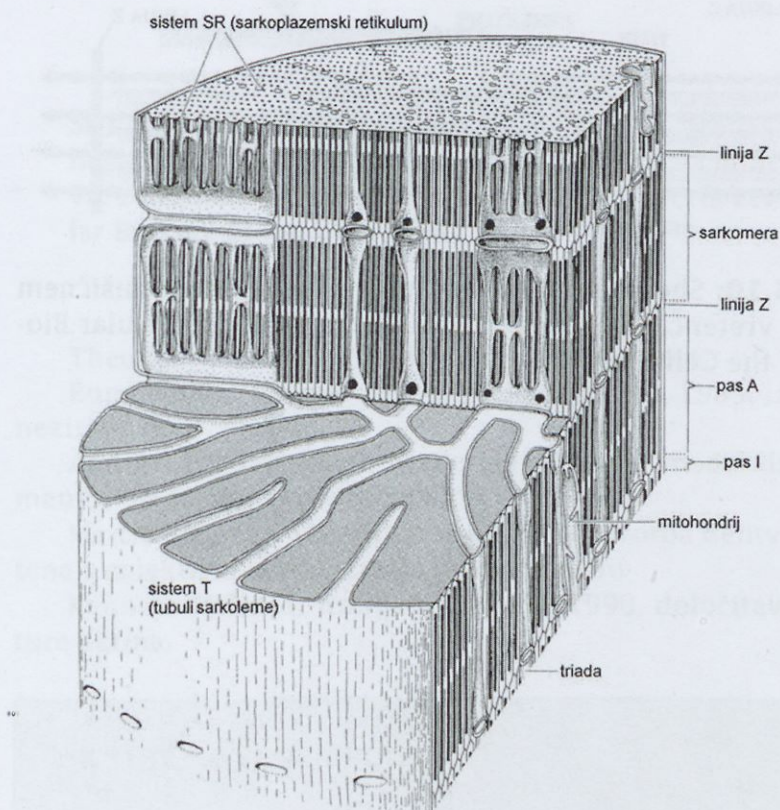
Gibanje je koordinirano in vključuje zaporedje dogodkov. Na vodilnem delu celice s polimerizacijo aktina nastajajo psevdopodiji ali podobne strukture, ki vsebujejo številne razvejane aktinske filamente, povezane s pomožnimi proteini in tudi mikrotubule. Psevdopodiji se pritrldijo na podlago s pomočjo fokalnih stikov. Na te stike so vezana stresna vlakna iz aktina in miozina, ki potegnjejo celico v željeno smer. Na koncu se zadnji del celice odcepi od podlage, kar omogočajo majhni proteini, ki vežejo GTP.

### Krčenje skeletne mišice

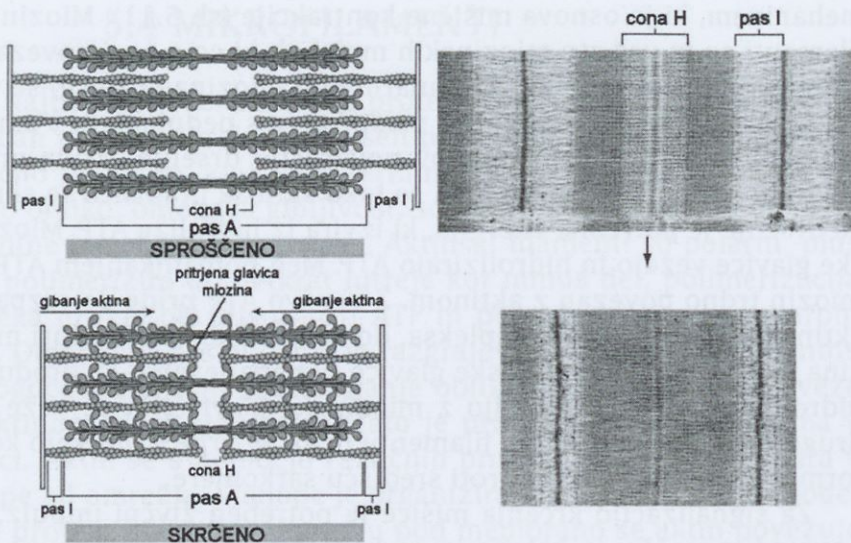
Najbolj raziskan proces, ki temelji na povezavi aktinskih in miozinskih filamentov, je krčenje mišičnih celic. V mišičnih vlaknih skeletnih mišic so aktinski in miozinski filamenti organizirani v cilindrične snope, ki tvorijo miofibrile (sl. 5.8). Osnovna strukturna in funkcionalna enota miofibrile je **sarkomera**, ki daje skeletni mišici progast videz (sl. 5.9). Ureditev in vzdrževanje strukture sarkomere omogočajo številni proteini, nebulin, titin, alfa-aktinin (5.10). Model drsečih filamentov razlaga molekularni

mehanizem, ki je osnova mišične kontrakcije (sl. 5.11). Miozinski filamenti so iz več sto miozinskih molekul, ki so z repi povezane v debeli filament (15 nm). Globularni deli miozina (glavice) se vežejo z aktinom tako, da tvorijo mostičke in s pednjanjem v smeri plus konca aktinskih filamentov povzročijo drsenje aktina proti središču sarkomere. Sarkomera se tako skrajša in mišica se skrči. Za drsenje je potrebna energija, ki izvira iz hidrolize ATP. Miozinske glavice vežejo in hidrolizirajo ATP. Med pomanjkanjem ATP je miozin trdno povezan z aktinom. Z vezavo ATP pride do razpada aktinsko-miozinskega kompleksa, do spremembe v strukturi miozina in do premika miozinske glavice. V nadaljevanju se produkti hidrolize ADP in  $P_i$  sprostijo z miozinske glavice, ki se veže na drugo mesto na aktinskem filamentu in ko se vrne v prejšnjo konformacijo, potegne aktin proti središču sarkomere.

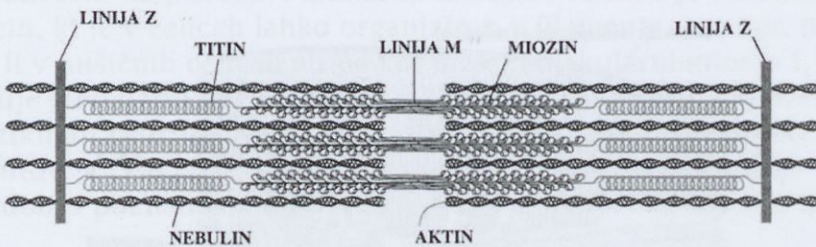
Za signalizacijo krčenja mišice je potreben živčni impulz, ki povzroči sproščanje kalcija iz sarkoplazemskega retikuluma, ki obdaja mišično vlakno. S povečanjem koncentracije kalcija v citosolu pride do vezave kalcija s proteinom troponinom C, ki vpliva na druge troponine (I in T) in posredno na tropomiozin, ki z izpostavitvijo vezavnih mest na aktinskem filamentu omogoči povezavo aktina in miozina in s tem kontrakcijo. Tropomiozin se v relaksiranem stanju prilega aktinskemu filamentu.



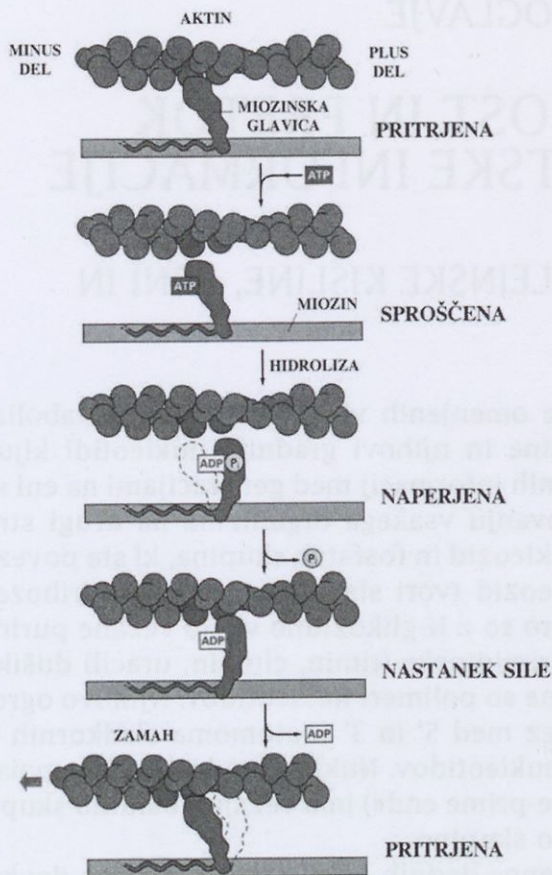
**Slika 5.8:** Organizacija filamentov aktina in miozina v miofibrili prečno progastega mišičnega vlakna (povzeto po Storch V. in Welsch U., Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)



**Slika 5.9:** Zgradba sarkomere in njeno krajšanje med krčenjem prečnoprogaste mišice. Razlika v zgradbi sarkomere sproščene in skrčene mišice. TEM posnetek vzdolžnega prereza sproščene in skrčene mišice (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)



**Slika 5.10:** Shema sarkomere v prečno progastem mišičnem vlaknu vretenčarjev (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)



**Slika 5.11:** Molekulski mehanizem krčenja progastega mišičnega vlakna; ciklične spremembe povezovanja miozinskih glav z aktinskim filamentom (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

Theodore Boveri, 1888, prvi opisal centrosom.

Ronald Vale, Thomas Reese, Michael Sheetz, 1985, izolacija kinezinov.

Andrew Huxley, Ralph Niedergerke, 1954, model drsečih filamentov za razlago krčenja mišice.

Marc Kirschner, Tim Mitchinson, 1986, tvorba delitvenega vretena s selektivno stabilizacijo mikrotubulov.

Kenneth Holmes, Wolfgang Kabsch, 1990, določitev 3D strukture aktina.

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Poišči razlago za obolenja (npr. EBS), ki se izražajo kot luščenje kože in zmanjšana mehanska stabilnost epitela. Ali bi mutacije v zgradbi nekšina vplivale na delovanje bičkov in migetalk? Razloži. Opiši zgradbo motorične ploščice in prenos vzbujenja iz živca v mišično celico.

## ŠESTO POGLAVJE

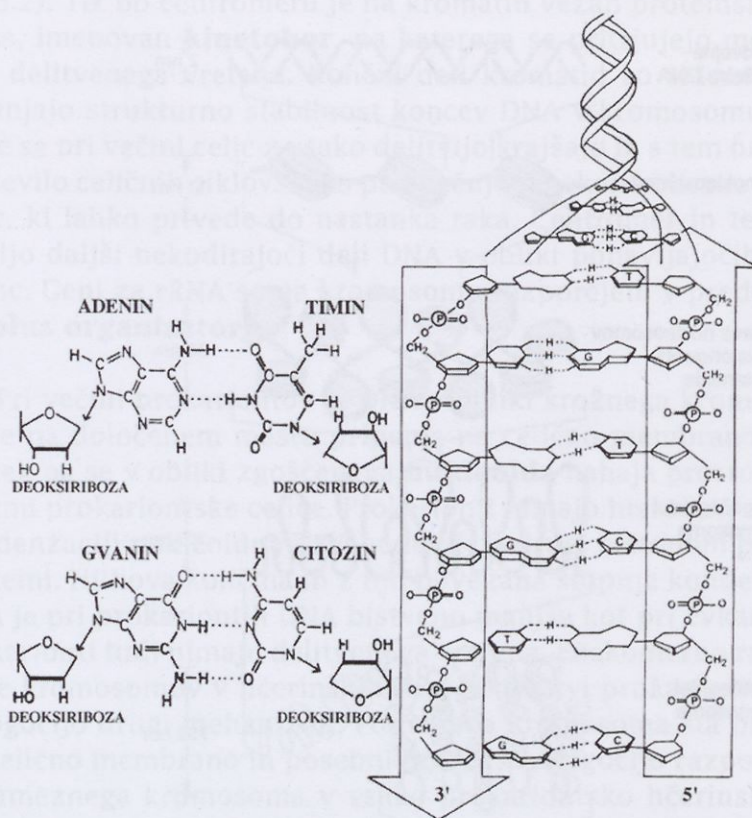
# DEDNOST IN PRETOK GENETSKE INFORMACIJE

## 6.1 NUKLEINSKE KISLINE, GENI IN GENOM

Poleg nekaterih že omenjenih vlog v celičnem metabolizmu imajo nukleinske kisline in njihovi gradniki nukleotidi ključno vlogo pri prenosu dednih informacij med generacijami na eni strani ter zgradbi in delovanju vsakega organizma na drugi strani. Nukleotid sestavlja nukleozid in fosfatna skupina, ki sta povezana z estrsko vezjo. Nukleozid tvori sladkorna molekula (riboza ali deoksiriboza), na katero so z N-glikozidno vezjo vezane purinske (adenin, gvanin) ali pirimidinske (timin, citozin, uracil) dušikove baze. Nukleinske kisline so polimeri nukleotidov. Njihovo ogrodje tvori fosfodiesterška vez med 5' in 3' C atomoma sladkornih molekul dveh sosednjih nukleotidov. Nukleinska kislina ima polarno zgradbo, 5' konec (»five-prime end«) ima vezano fosfatno skupino, 3' konec pa hidroksilno skupino.

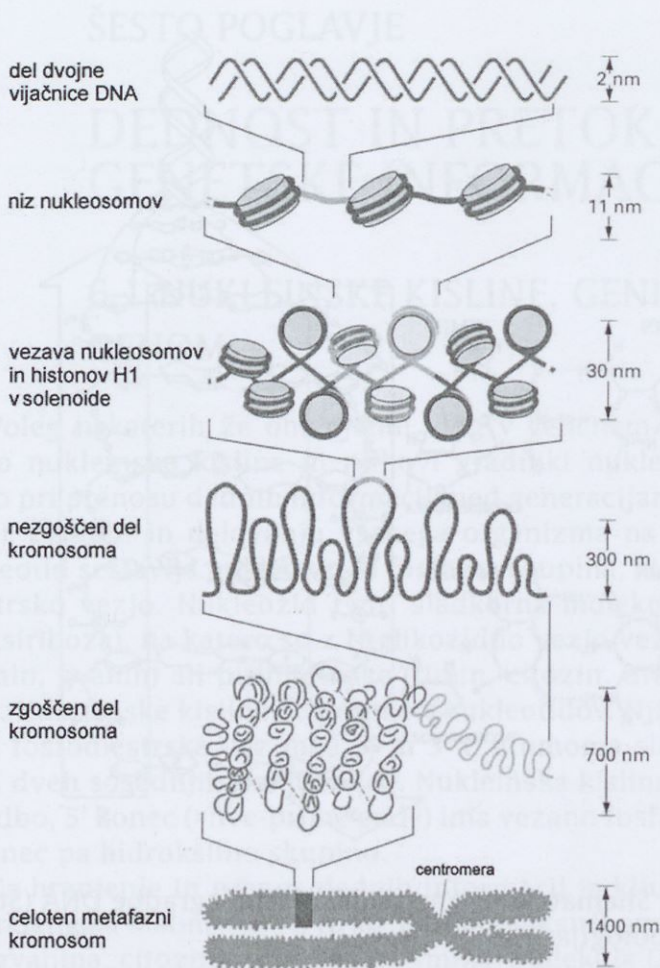
Za hranjenje in prenos dednih informacij je ključna deoksiribonukleinska kislina (DNA) iz sladkorja deoksiriboze in dušikovih baz gvanina, citozina, adenina in timina. Molekula DNA je oblikovana kot dvojna vijačnica premera 2 nm, katere verigi nukleotidov potekata antiparalelno (sl. 6.1). Pri evkariontih je DNA v jedru, pri prokariontih pa prosto v citoplazmi. Komplementarne dušikove baze obeh verig so med seboj povezane z dvojnimi (A=T) ali trojnimi (C≡G) vezmi. Delež nukleotidnih parov GC in AT v DNA različnih organizmov se razlikuje, zaradi česar je omenjeno razmerje uporabno tudi kot taksonomski znak.





**Slika 6.1:** Shematski prikaz molekularne zgradbe DNA (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Pri evkariontih se DNA nahaja v jedrih celic v obliki linearnih kromosomov. Teh je na primer pri človeku 46, pri čemer jih polovico podedujemo po očetovi in polovico po materini strani. Skupna dolžina DNA vseh 46 kromosomov diploidne človeške celice je približno 2 m. Ker je omenjena količina DNA omejena na prostor celičnega jedra s premerom približno 10  $\mu\text{m}$ , mora biti DNA zelo zgoščena. Zgoščevanje DNA v **kromatin** poteka v več stopnjah, kjer se DNA povezuje s histoni in nehistonskimi proteini. V prvi stopnji kondenzacije se dvojna vijačnica DNA tesno navije okoli oktamera histonskih proteinov in oblikuje strukturo, imenovano **nukleosom** (sl. 6.2). Tesno navitje je posledica aminokislinske sestave histonov (arginin in lizin), ki jim daje pozitiven naboj in s tem privlačnost z negativno nabito DNA. V nukleosomu so histoni oblikovani v oktamere, ki jih tvorita po dve molekuli histonov tipa H1A, H1B, H2 in H4. Okoli oktamera je približno enainpolkrat navit del DNA dolžine približno 150 baznih parov. Med dvema sosednjima histonoma so odseki povezovalne DNA (»linker DNA«) dolžine približno 60 baznih parov. Tako organizirana DNA daje videz verižice z razmaknjenimi nukleosomi (»beads on string«). V drugi stopnji kondenzacije se peti tip histona, imenovan H1, veže na prosto DNA med nukleosomi ter jih poveže v kromatinska vlakna premera 30 nm, imenovana tudi **solenoidi**. V naslednjih stopnjah nehistonski proteini omogočijo dodatno zvijanje solenoidne strukture najprej v spiralasto obliko, kasneje pa v tvorbo izredno zgoščene (supernavite) oblike.



**Slika 6.2:** Stopnje kondenzacije kromatina (povzeto po Alberts et al., Essential Cell Biology, 2004)

V jedrih interfaznih celic je kromatin v dveh oblikah. **Evkromatin** je nezgoščena oblika kromatina, ki omogoča dostopanje transkripcijskim encimom do DNA, s katere se prepisuje dedna informacija. **Heterokromatin** pa je zelo zgoščena in zato transkripcijsko neaktivna oblika kromatina. Ta je zaradi gostote na mikrofotografih videti temnejši od evkromatina in se navadno razporeja ob notranji strani jedrnega ovoja.

Tik pred celično delitvijo pride do dodatne kondenzacije kromatina, ki privede do nastanka metafaznih kromosomov, ki so vidni s svetlobnim mikroskopom. V tej fazi je DNA celice podvojena, zato je vsak od kromosomov sestavljen iz dveh enakih **kromatid**. Ti se ob delitvi razporedita v hčerinski celici in zagotovita, da vsaka prejme celotno garnituro kromosomov materske celice.

Celice evkariontov so praviloma diploidne in vsebujejo dvojno garnituro kromosomov, urejeno v **homologne pare**, pri čemer en kromosom v paru podedujemo od matere in drugega od očeta. Metafazni kromosomi evkariontov imajo nekatere strukturne značilnosti, ki omogočajo njihovo razlikovanje in oblikovanje vrstno specifičnih kromosomskih kart ali **kariotipov**. Kromatidi sta med seboj povezani na mestu **centromera** ali **primarnega zažetka**



(sl. 6.2). Tik ob centromeru je na kromatin vezan proteinski kompleks, imenovan **kinetohor**, na katerega se pritrjujejo mokrotubuli delitvenega vretena. Končni deli kromatid so **telomere**, ki ohranjajo strukturno stabilnost koncev DNA v kromosomu. Telomere se pri večini celic z vsako delitvijo krajšajo in s tem omejujejo število celičnih ciklov. Tako preprečujejo nekontrolirano delitev celic, ki lahko privede do nastanka raka. Centromer in telomere tvorijo daljši nekodirajoči deli DNA v obliki ponavljajočih se sekvenc. Geni za rRNA so na kromosomu razporejeni v predelu  **nukleolus organizatorja**.

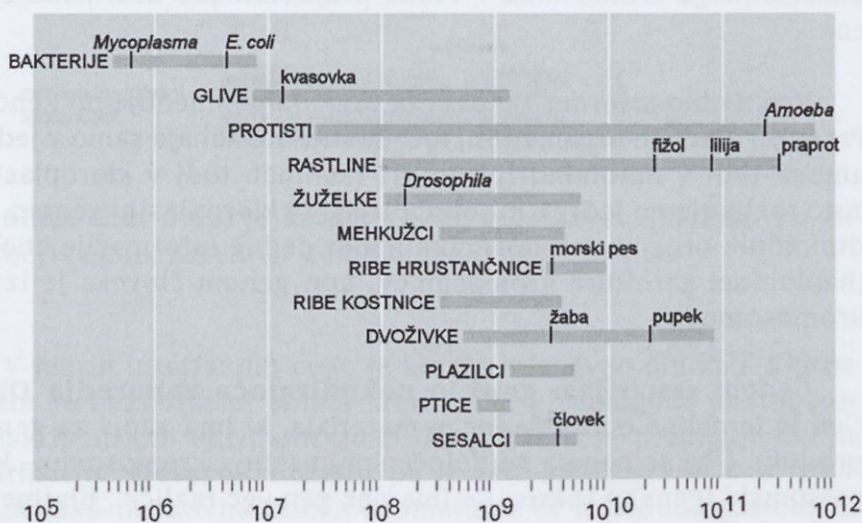
Pri večini prokariotov je DNA v obliki krožnega kromosoma. Ta se na določenem mestu pripenja na celično membrano, preostanek pa se v obliki zgoščenega **nukleoida** nahaja prosto v citoplazmi prokariotske celice. Prokarioti nimajo histonov, zato pri kondenzaciji nukleoidne DNA sodelujejo drugi histonom podobni proteini. Njihova količina in z njo povezana stopnja kondenzacije DNA je pri prokariotih DNA bistveno manjša kot pri evkariontih. Prokarioti tudi nimajo delitvenega vretena. Enakomerno razporejanje kromosomov v hčerinski celici ob delitvi prokariotov zato omogočijo drugi mehanizmi. Podvojena kromosoma sta pritrjena na celično membrano in posebni proteini omogočijo razporeditev posameznega kromosoma v vsako prokariotsko hčerinsko celico.

Vso dedno informacijo nekega organizma imenujemo genom. Pri evkariontskih organizmih, kjer se DNA ne nahaja samo v jedru, ampak tudi v mitohondrijih in pri rastlinah tudi v kloroplastih, zato razlikujemo jedrni, mitohondrijski in kloroplastni genom. Pri diploidnih organizmih je genom nabor dedne informacije enojne (haploidne) garniture kromosomov, npr. genom človeka je iz 23 kromosomov.

Genom sestavljajo **geni in nekodirajoča zaporedja DNA**. Gen je temeljna enota dednega materiala, ki ima zapis za genski produkt. Gen se nahaja na določenem mestu v kromosomu – kromosomski (genski) **lokus**. Če ima nek gen več različic, jih imenujemo **aleli**, na primer gena istega lokusa na homolognih kromosomih sta alela. Genski produkt gena je lahko mRNA, ki se nato prevede v aminokislinsko zaporedje (strukturni geni), rRNA, ki tvori ribosome (ribosomski geni), tRNA, ki igra ključno vlogo pri sintezi proteinov, ali druge molekule RNA, ki so pomembne pri regulaciji izražanja genov. Med nekodirajoča zaporedja RNA uvrščamo regulacijska zaporedja. Ta se ne prepisujejo, temveč služijo encimom in drugim proteinom za označevanje razpoznavnih mest za podvajanje, prepisovanje, popravljanje in druge procese na DNA. Preostanek genoma je sestavljen iz nekodirajoče DNA, katere funkcija še ni povsem pojasnjena, kljub temu da tvori večino evkariontskih genomov (pri človeku na primer od 80 do 90 % celotnega genoma). V nekodirajoči DNA najdemo tudi krajša ponavljajoča se zaporedja nukleotidov. Ta so lahko ponovljena tudi več milijonkrat in se imenujejo satelitska DNA. Nekodirajoče dele DNA najdemo tudi znotraj evkariontskih genov. Imenujejo se **introni** in se pred prehodom mRNA iz jedra v citoplazmo izrežejo. Kodi-

rajoči deli genov **eksoni** pa tvorijo mRNA strukturnih genov in se prepisujejo v aminokislinska zaporedja. Tudi pomen intronov ni v celoti pojasnen. Po vsej verjetnosti je njihova prednost v lažji rekombinaciji delov DNA, ki kodirajo isti protein, kar omogoča hitrejšo evolucijo genov in z njo povezano sposobnost prilagajanja. Poleg tega različno izrezovanje intronov omogoča nastanek različnih mRNA iz ene same prekursorke mRNA (v nadaljevanju).

Najmanjši genom med prostoživečimi organizmi imajo bakterije rodu *Mycoplasma*, ki je iz manj kot 600 000 nukleotidov, medtem ko je velikost genoma večine bakterij nekaj milijonov nukleotidov (sl. 6.3). Genomi evkariontov so bistveno večji, saj večina poznanih evkariontskih genomov, vključno s človeškim, obsega med  $10^8$  in  $10^{10}$  nukleotidov. Velikosti evkariontskih genomov so zelo različne. Tako je na primer genom kvasovk velik le  $10^7$  nukleotidov, medtem ko ta pri nekaterih amebah, rastlinah in ribah obsega celo več kot  $10^{11}$  nukleotidov, kar kaže, da velikost genoma ne odraža kompleksnosti organizma. K velikim razlikam med genomi prokariontov in evkariontov poleg večjega števila strukturnih genov pri slednjih prispeva zlasti odsotnost intronov pri prokariontih ter velike količine nekodirajoče DNA pri evkariontih.



**Slika 6.3:** Primerjava velikosti genomov nekaterih organizmov (povzeto po Alberts et al., Essential Cell Biology, 2004)

#### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Kaj določa prostorsko zgradbo nukleinskih kislin? Poišči podatke o poskusih, s katerimi so raziskovalci F. Griffith, O. Avery, M. McCarty in C. MacLeod opredelili vlogo DNA.

Kateri evkariontski genom je bil prvi sekveniran? Primerjaj število genov v genomu bakterije *E. coli*, vinske mušice in človeka. Ugotovi, kako znanstveniki poimenujejo gene.

## 6.2 IZRAŽANJE GENSKJE INFORMACIJE (EKSPRESIJA GENOV)

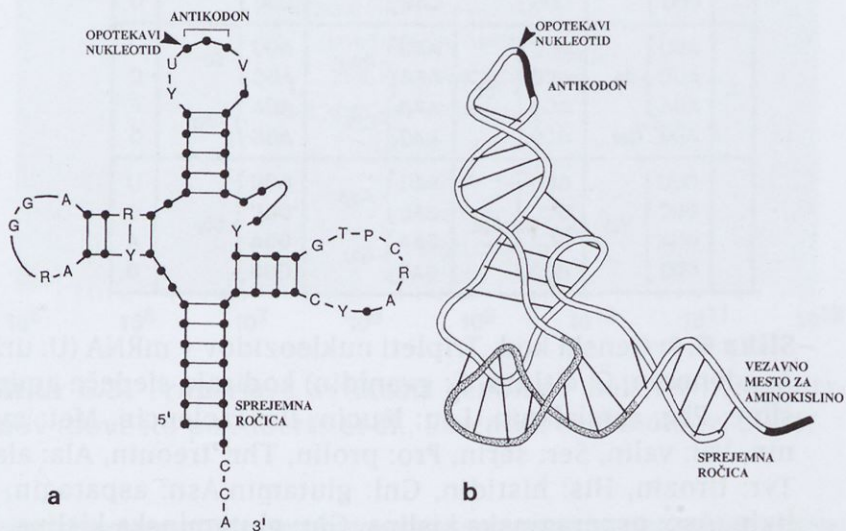
Zaporedja nukleotidov v strukturnih genih DNA kodirajo linearna zaporedja aminokislin v proteinih. Skupina treh zaporednih nukleotidov, imenovana **kodon**, kodira eno od 20 osnovnih aminokislin. Ker je dedna informacija v DNA zapisana kot kombinacija štirih različnih nukleotidov (G, A, C in T), je vseh možnih kombinacij nukleotidov v kodonih 64 (4 x 4 x 4). Omenjenih 64 tripletov nukleotidov tvori **genski kod** (sl. 6.4). Genski kod je univerzalen, saj je pomen posameznih kodonov praktično enak pri vseh organizmih. Genski kod je tudi degeneriran, saj veliko večino aminokislin kodira več različnih kodonov. V kodonu sta tako za kodiranje aminokislina ključna prva dva nukleotida, tretji pa je v okviru kodonov, ki kodirajo isto aminokislino lahko različen in ga zato imenujemo opotekavi nukleotid. Trije kodoni v kodu ne kodirajo aminokislin. Pravimo, da so nesmiselni ali stop-kodoni in določajo konec polipeptidne verige.

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA t.k. UAG t.k.	UGU } Cys UGC } UGA t.k. UGG Trp	U C A G
C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

**Slika 6.4:** Genski kod. Tripleti nukleozidov v mRNA (U: uridin, A: adenzin, C: citidin, G: gvanidin) kodirajo sledeče aminokislina: Phe: fenilalanin, Leu: leucin, Ile: izoleucin, Met: metionin, Val: valin, Ser: serin, Pro: prolin, Thr: treonin, Ala: alanin, Tyr: tirozin, His: histidin, Gln: glutamin, Asn: asparagin, Lys: lizin, Asp: asparaginska kislina, Glu: glutaminska kislina, Cys: cistein, Trp: triptofan, Arg: arginin, Gly: glicin, t.k.: stop kodoni (Štrus, Splošna zoologija 1999)

Ker so aminokislina kodirane s tremi nukleotidi, je lahko zaporedje nukleotidov v mRNA prebrano v treh bralnih okvirjih. Tako lahko posamezna mRNA kodira tri različna zaporedja aminokislin, odvisno od začetka branja, pri čemer je za sintezo končnega proteina pravilno le eno. Začetek branja nukleotidnih tripletov je kombinacija nukleotidov AUG ali start-kodon (AUG), ki pri evkariotih sicer kodira aminokislino metionin.

Zaporedje aminokislin v proteinih določa DNA, za sintezo proteinov pa je potrebno posredovanje ribonukleinskih kislin (RNA), ki so iz ribonukleotidov, sestavljenih iz riboze in uracila, ki nadomešča timin. Tudi v RNA so nukleotidi povezani s 5'-3' fosfodiestrsko vezjo. RNA se ne ureja v dvojno vijačnico, temveč je praviloma v obliki enojne verige. Zaradi povezovanja krajših homolognih delov iste RNA molekule se pogosto lahko oblikujejo zanke in druge sekundarne strukture. Poznanih je več tipov RNA, ki imajo v celici različne vloge. Informacijska ali **mRNA** je prepis nukleotidnega zaporedja gena z DNA in informacija za prevod genskega zapisa v protein, ki poteka na ribosomih. Molekula mRNA je različno dolga in pogosto povezana s proteini. Ribosomska ali **rRNA** s proteini tvori ribosomski podenoti, v katerih ima poleg strukturne tudi encimsko funkcijo pri sintezi proteinov. Prenašalna ali **tRNA** je iz 70 do 90 nukleotidov in ima posebno obliko iz štirih zank, z nekomplementarnimi bazami in pet predelov, kjer se komplementarne baze med seboj povezujejo (sl. 6.5). Pomembna je za prenos ustreznih aminokislin do mesta prevajanja na ribosomih. Aminokislina se veže na 3' terminalni del, druga zanka pa vsebuje baze, ki tvorijo antikodon, ki se med sintezo beljakovin poveže s kodonom mRNA. V različnih stopnjah proteinske sinteze sodelujejo tudi krajše molekule RNA, ki so z beljakovinami vezane v **ribosome**, ribonukleinske komplekse z encimskimi lastnostmi. Ti na primer omogočajo prehod polipeptidov v endoplazemski retikulum, sodelujejo pri izrezovanju intronov ob procesiranju mRNA in kemičnih modifikacijah rRNA.

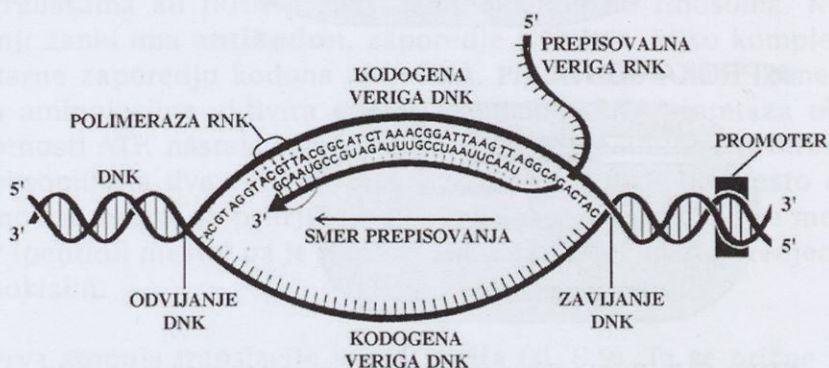


**Slika 6.5:** Zgradba prenašalne RNA (mRNA): a) shema sekundarne zgradbe s štirimi ročicami, ki so urejene v obliki dvojne vijačnice, in štirimi zankami, kjer je molekula enovijačna (A: adenin, C: citozin, P: psevdouridin, R: purinska baza, T: ribotimidin, V: spremenjen purin, Y: pirimidin); b) tridimenzionalni model tRNA (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Mehanizem izražanja ali ekspresije genske informacije je sestavljen proces, v katerem se genska informacija kodirajoče verige

DNA najprej prepíše v mRNA, ki informacijo prenese do ribosomov v citoplazmi, kjer se ob sodelovanju tRNA prevede v aminokislinsko zaporedje.

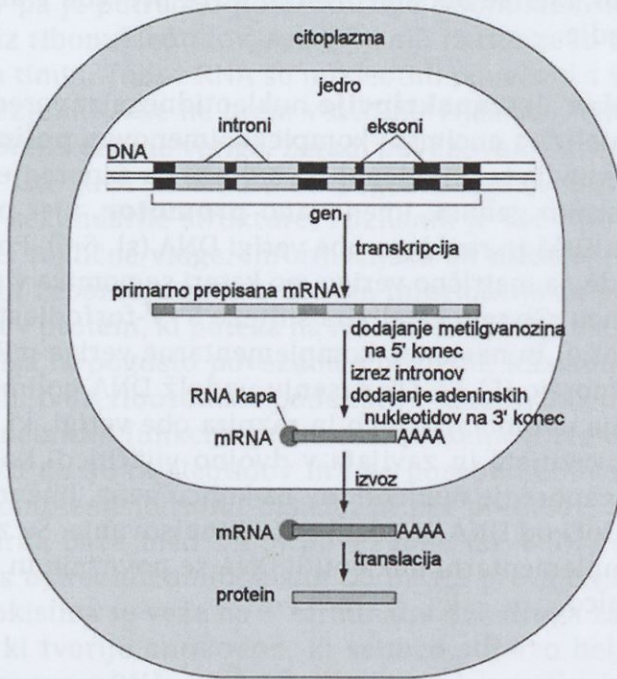
Proces **prepisa** ali **transkripcije** nukleotidnega zaporedja iz DNA v mRNA katalizira encimski kompleks, imenovan **polimeraza RNA**, ki ga sestavlja šest podenot. Ta se veže na zaporedje DNA tik pred strukturnim genom, imenovano **promotor**, kjer odvijte dvojno vijačnico DNA in razkrene obe verigi DNA (sl. 6.6). Polimeraza RNA se usede na matrično verigo, po kateri se pomika v smeri od 3' proti 5' koncu. Ob tem katalizira sintezo 5'-3'-fosfodiestrskih vezi med nukleotidi in nastanek komplementarne verige mRNA z nasprotno polarnostjo (5'-3'). Ob drsenju vzdolž DNA polimeraza RNA sproti odvijata dvojno vijačnico in razpira obe verigi, ki se za njo ponovno povezujeta in zavijata v dvojno vijačnico. Ko polimeraza doseže zaporedje nukleotidov na koncu gena, imenovano **terminator**, se loči od DNA in tako konča prepisovanje. Še zadnji nepovezani komplementarni nukleotidi DNA se povežejo in tvorijo dvojno vijačnico.



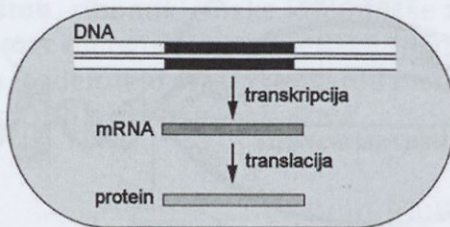
**Slika 6.6:** Transkripcija DNA v mRNA (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Mehanizem prepisovanja mRNA je univerzalen za vse organizme, kljub temu pa obstajajo nekatere razlike med prepisovanjem prokariotske in evkariotske mRNA (sl. 6.7). Pri prokariotih se nukleoid nahaja v citoplazmi, zato se lahko ribosomi vežejo neposredno na novonastajajočo verigo mRNA ter prično s prevajanjem v aminokislinsko zaporedje. Evkarionti imajo tri različne tipe RNA polimeraze. Prepis večine rRNA katalizira polimeraza I, polimeraza II katalizira prepis strukturnih genov in RNA nekaterih ribosomov, medtem ko polimeraza III prepisuje tRNA. Poleg tega se pri evkariontih primarno prepisana ali prekurzorska mRNA v jedru pred prenosom v citoplazmo še predela oziroma procesira. Primarnemu prepisu mRNA se na 5' koncu doda metilgvanozin, imenovan kapa (ang. »cap«), na 3' koncu pa zaporedje od 100 do 200 adeninskih nukleotidov, imenovano rep (ang. »poly-A tail«). Iz prekurzorske mRNA se izrežejo tudi nekodirajoči introni, kodirajoči eksoni pa se s pomočjo ribosoma snRNP povežejo v zrelo ali funkcionalno mRNA, ki zapusti jedro.

### (A) EVKARIONTI

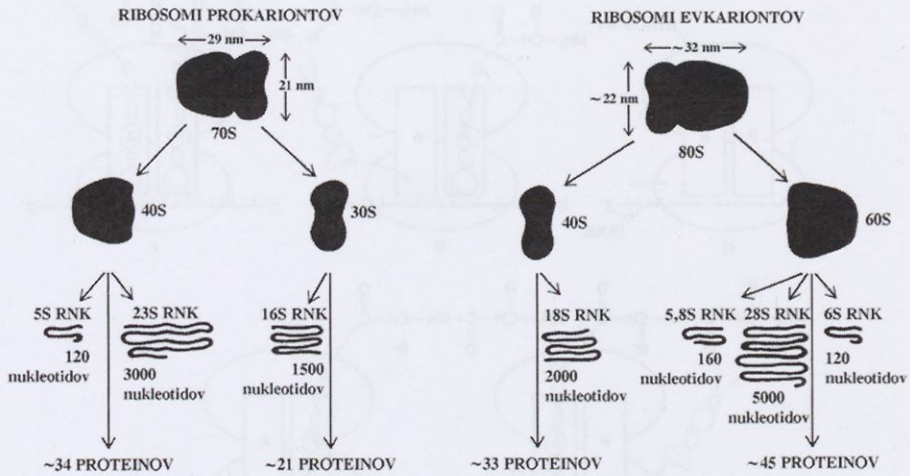


### (B) PROKARIONTI



**Slika 6.7:** Primerjava proteinske sineze v evkariontski in prokariontski celici (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

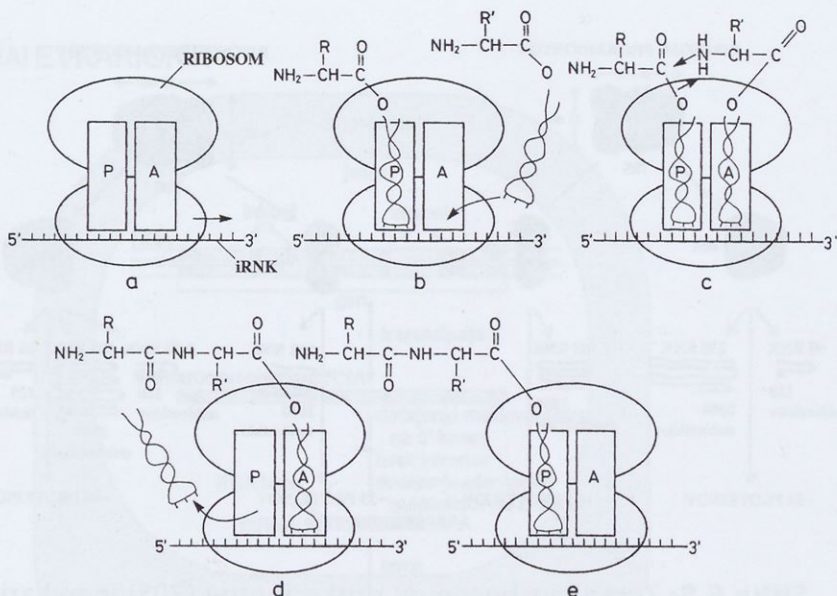
**Prevajanje** ali **translacija** je proces dekodiranja nukleotidnega zaporedja mRNA v aminokislinska zaporedja. Poteka na ribosomih, v procesu sodelujejo še mRNA, tRNA in številni encimi. Ribosomi so ribonukleoproteinski kompleksi iz rRNA, encimov in strukturnih proteinov, ki oblikujejo dve podenoti (sl. 6.8). Ribosomi prokariontov so velikosti 70 S, ribosomi evkariontov pa so nekoliko večji in so 80 S (S = enota hitrosti usedanja pri ultracentrifugiranju). Večjo podenoto ribosoma prokariontov (50 S) sestavljata molekuli 5 S in 23 S rRNA ter 34 proteinov, manjšo (30 S) pa 16 S rRNA in 21 proteinov. Pri evkariontih je večja podenota (60 S) sestavljena iz 5 S, 5,8 S in 28 S rRNA ter 49 proteinov, manjša (40S) pa iz 18 S rRNA in 33 proteinov.



**Slika 6.8:** Zgradba ribosomov prokariontov (70S) in evkariontov (80S) (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Prenašalna ali tRNA prenaša aminokislino do ribosoma. Na srednji zanki ima **antikodon**, zaporedje treh baz, ki so komplementarne zaporedju kodona na mRNA. Pred vezavo na 3' konec tRNA aminokislino aktivira encim aminoacil tRNA sintetaza ob prisotnosti ATP, nastala struktura pa se imenuje aminoacil-tRNA. V ribosomu sta dve vezavni mesti za tRNA, A in P. Na mesto A (aminoacil mesto) se pritrjujejo ustrezne aminoacil-tRNA, na mestu P (peptidil mesto) pa je tRNA z vezanim rastočim zaporedjem aminokislin.

Prva stopnja translacije je **iniciacija** (sl. 6.9). Ta se prične z nastankom iniciacijskega kompleksa, ki ga tvorijo manjša ribosomska podenota, posebni proteini (iniciacijski faktorji), mRNA in iniciacijska tRNA. Ta je vezana na mesto P manjše podenote ribosoma, medtem ko je mesto A v tej fazi še nezasedeno. Iniciacijska tRNA pri evkariontih prenaša aminokislino metionin, pri prokariontih pa formilmetionin. Obe se v kasnejših fazah sinteze peptidov encimsko odstranita. Nastali kompleks se veže na 5' konec mRNA tako, da rRNA manjše podenote prepozna komplementarna mesta na mRNA. Omenjeni kompleks nato drsi proti 3' koncu mRNA, dokler antikodon iniciacijske tRNA ne prepozna start kodona (AUG) na mRNA. Ob vezavi kodona in antikodona se kompleksu priključi še večja ribosomska podenota in iniciacijska faza se s tem zaključi.



**Slika 6.9:** Translacija: a) ribosom z mestoma P (peptidil) in A (aminoacil), manjša podenota je povezana z mRNA; b) prva aminoacil-tRNA je na mestu P, druga molekula prihaja na mesto A; c) povezava aminokislin s peptidno vezjo; d) sprostitev prve tRNA z mesta P; e) druga aminoacil-tRNA se prenese na mesto P (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Translacija se nadaljuje kot **elongacija**, pri kateri se ribosom pomika proti 3' koncu mRNA tako, da se na mesto A ribosoma dodajajo nove tRNA z antikodoni, ki ustrezajo zaporedju na mRNA. Vezavo aminokislino na mestu A z aminokislino na mestu P katalizira encim peptidil transferaza, ki je večja RNA molekula (ribocim) velike ribosomske podenote. Pri procesu sodelujejo tudi proteini, imenovani elongacijski faktorji, energijo pa zagotavlja GTP. Ob tem se tRNA z mesta P sprosti, ribosom pa se pomakne vzdolž mRNA za en kodon tako, da se tRNA z vezano peptidno verigo prenese z mesta A na mesto P. Sproščeno mesto A pa zasede naslednja tRNA z ustreznim antikodonom. Elongacija poteka, dokler do mesta A ne pride stop-kodon (UAA, UAG, UGA), ki ustavi podaljševanje peptidne verige. Proces uravnava proteini, imenovani terminacijski faktorji, ki se vežejo neposredno na stop-kodon in spremenijo delovanje peptidil transferaze. Ob tem se peptidna veriga sprosti z zadnje aminoacil tRNA na mestu P. Sprosti se tudi mRNA in ribosom ponovno razpade na podenoti.

Tako pri prokariontih kot pri evkariontih je sinteza aminokislinskih zaporedij pospešena tako, da po isti mRNA hkrati drsi več ribosomov. Ti oblikujejo strukturo, imenovano **polisom**. Hitrost sinteze proteinov je pri evkariontih približno 2 aminokislini na sekundo, pri prokariontih pa je ta hitrost tudi do desetkrat večja.



## KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Na primeru bioluminiscence, ki jo povzroča bakterija *Vibrio fischeri*, ki se naseli v svetlobnih organih lignja, razloži regulacijo prepisovanja gena za encim luciferazo. Razišči katalitsko vlogo molekul RNA.

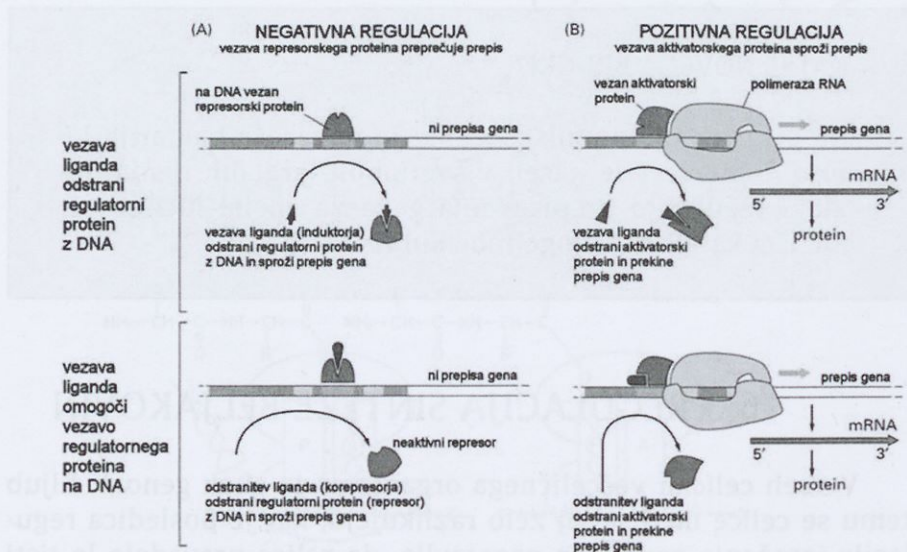
## 6.3 REGULACIJA SINTEZE BELJAKOVIN

V vseh celicah večceličnega organizma je enak genom. Kljub temu se celice med seboj zelo razlikujejo, kar je posledica regulacije izražanja genov. Ta zagotavlja, da celice prevedejo le tisti del dedne informacije, ki ga v danem trenutku potrebujejo, velika večina genoma pa zaradi prihranka energije ostaja neizražena.

Izražanje genov pri evkariontih je lahko regulirano na več nivojih. Tako lahko regulacija poteka v fazi transkripcije mRNA, procesiranja mRNA in njenega transporta v citoplazmo, translacije, razgradnje mRNA ali dokončnega oblikovanja proteinov in njihove aktivnosti. Proces ekspresije genov je na podoben način nadzorovan tudi pri prokariontih.

Zaradi manjšega genoma in števila proteinov, ki jih kodira, so mehanizmi regulacije genske ekspresije, zlasti na nivoju transkripcije mRNA, najbolj preučeni pri bakterijah. Pri prokariontih so geni z informacijami za encime ali druge proteine, ki sodelujejo pri posameznem presnovnem procesu običajno skupaj, v isti transkripcijski enoti – **operonu**. Vsa skupina genov določene metabolne poti se zato praviloma prepiše v eno mRNA in informacije se v enakem vrstnem redu, kot potekajo v metabolni poti, tudi prevajajo. Prepisovanje skupine genov operona se začne nekoliko pred prvim strukturnim genom v predelu DNA, kjer sta **promotor** in **operator**. Promotorska regija je mesto DNA, kamor se veže polimeraza RNA. Med njo in prvim strukturnim genom leži operator, kamor se veže regulacijski protein (**efektor**), ki sproži (**aktivator**) ali zavre (**represor**) prepisovanje RNA strukturnih genov.

Izražanje strukturnih genov je nadzorovano z vplivom na aktivnost efektorja in njegovo vezavo na operator. V primeru **negativne regulacije** vezava represorja prepreči/prekine prepis mRNA. V primeru **pozitivne regulacije** vezava regulacijskih proteinov na del DNA pred promotorjem omogoča vezavo polimeraze RNA in s tem začetek prepisa mRNA (sl. 6.10).



**Slika 6.10:** Mehanizmi regulacije prepisa genov pri prokariontih. Vezava liganda lahko sproži prepis gena z inaktivacijo represorskega proteina (zgoraj levo) ali aktivacijo aktivatorskega proteina (spodaj desno). Vezava inhibitornega liganda pa prepreči prepis z inaktivacijo aktivatorskega proteina (zgoraj desno) ali aktivacijo represorskega proteina (spodaj levo). (povzeto po Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 2002)

Negativna regulacija operonov je lahko uravnana na dva načina: z **indukcijo** ali s **korepresijo**. **Induktor** je snov, ki se veže na represor tako, da ta ne more zavirati začetka prepisa in transkripcija lahko poteka. Tako je uravnan laktozni operon bakterije *Escherichia coli*, katerega induktor je laktoza. Ob odsotnosti laktoze v celici je represor vezan na operator in preprečuje prepis encimov za razgradnjo laktoze. Ko pa je laktoza v celici prisotna, se veže na represor in s tem onemogoči njegovo vezavo na operator tako, da se lahko prične sinteza encima za razgradnjo laktoze. **Korepresor** je snov, ki aktivira represor in mu tako omogoči, da prekine prepisovanje operona. V primeru korepresije je operon normalno aktiven in šele prisotnost **korepresorja** omogoči represijo. Korepresor je pogosto končni produkt metabolne poti, ki jo katalizirajo encimi, kodirani v operonu, ki je uravnan s tem korepresorjem. Tak je primer regulacije bakterijske sinteze aminokislina triptofana, kjer je triptofan korepresor. Ko je triptofana v celici dovolj, se veže na represor in ga aktivira. Tako aktiviran represor pa se veže na operator operona za sintezo triptofana in jo prekine.

Pozitivna regulacija je znana zlasti pri bakterijskem metabolizmu sladkorjev. Ko ima celica na primer na voljo energijsko ugodnejši sladkor glukozo, ta preprečuje indukcijo operonov za razgradnjo vseh drugih sladkorjev. Proces je nadzorovan posredno preko proteina CAP. Njegovo aktivacijo in vezavo na DNA omogoči šele vezava cAMP, katerega količina je v obratnem sorazmerju s količino glukoze v celici. Ko količina razpoložljive glukoze pade

in se v celici poveča količina cAMP, pride do sinteze kompleksa CAP-cAMP, ki deluje kot aktivator. Veže se na DNA pred promotorjem in omogoči vezavo polimeraze RNA na promotor ter začetek prepisa operonov, ki kodirajo gene za razgradnjo drugih sladkorjev (na primer laktoze). Laktozni operon ima tako pozitivno in negativno regulacijo. Drugi način pozitivne regulacije pa je, da na DNA vezani aktivatorji normalno omogočajo vezavo polimeraze RNA na promotor in s tem prepis genov v operonu. Vezava določenih snovi na aktivatorje pa te blokira, zato se povezava aktivatorja z DNA prekine, s čimer je prekinjena tudi transkripcija strukturnih genov.

Regulacija genske ekspresije pri evkariontih, zlasti pri večceličnih, je bolj zapletena. Posamezna celica mora poleg razmer v okolju pri izražanju genov upoštevati tudi svojo specifično vlogo v organizmu. Poleg zunanjih dejavnikov izražanje genov v večceličnih evkariontskih organizmih nadzirajo tudi s hormoni. Poleg tega evkariontska polimeraza sama ni sposobna prepoznavanja promotorja, temveč za začetek prepisovanja potrebuje posebne proteine, imenovane transkripcijski faktorji. Vezavo teh nadzirajo številne druge molekule, vezane na DNA (ojačevalci), ki pa so od promotorja lahko tudi zelo oddaljeni. Bistvena razlika je tudi povezava evkariontske DNA s histoni in njena organizacija v kromatin, kar otežuje dostopnost do DNA in s tem njen prepis.

#### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Ugotovi, v čem se razlikujeta aktivni in neaktivni kromosom X v ženski celici.

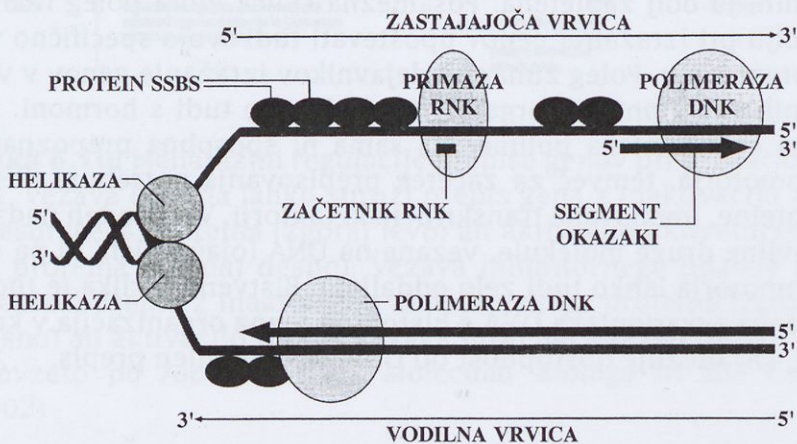
Razloži mehanizem delovanja virusa hepatitisa C. Kaj je proteomika?

## 6.4 REPLIKACIJA, MUTACIJE IN POPRAVLJANJE DNA

Pomembna lastnost DNA je njeno podvajanje (replikacija), ki v celici poteka pred delitvijo jedra (mitozo). Produkt replikacije je kopija dednega materiala, ki zagotavlja prenos celotne dedne informacije na hčerinski celici. Replikacija je kompleksen encimski proces, v katerem se verigi DNA ločita tako, da se razklenejo vodikove vezi med nukleotidi. Ker vsaka od verig služi kot matrica za izdelavo nove, komplementarne verige, je vsaka podvojena vijačnica sestavljena iz stare in nove, komplementarne verige. Tak način podvajanja imenujemo **semikonzervativna replikacija**.

Replikacija se prične tako, da specifični proteini prepoznajo »ori« mesto DNA (replikacijska točka), kjer se začne podvajanje, ki pa ni nujno na začetku DNA (sl. 6.11). Na tem mestu encimi topozomeraze odvijajo dvojno vijačnico, encim helikaza pa jo

odpira. Na mestu odprte stare (matrične) DNA nastane struktura, imenovana **replikacijske vilice**, kjer se verigama začno dodajati komplementarni nukleotidi. Za začetek replikacije je potrebno približno deset nukleotidov dolgo zaporedje RNA, imenovano **začetnik** (ang. »primer«), ki ga sintetizira encim primaza. Začetnik je potreben za vezavo in delovanje encima **polimeraze DNA**. Ta lahko nukleinske kisline le podaljšuje z dodajanjem novih nukleotidov v obliki deoksiribonukleotidnih fosfatov (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) na proste OH skupine 3' konca obstoječe nukleotidne verige, ni pa sposobna sintetizirati začetka verige. Polimerizacija novonastajajoče verige DNA torej vedno poteka v smeri od njenega 5' proti 3' koncu.



**Slika 6.11:** Replikacija DNA bakterijskega kromosoma: encim RNA primaza sintetizira kratke odseke RNA (začetnike) vzdolž enojne verige DNA. Encim DNA polimeraza III dodaja nukleotide zvezno na vodilni vrvi in kot kratke segmente na zastajajoči vrvi. Encim DNA polimeraza I odstrani začetnike in jih zamenja z DNA. Encim DNA ligaza poveže fragmente nove DNA (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Podvajanje na nasprotnih verigah matrične DNA, imenovanih vodilna (ang. »leading«) in zastajajoča (ang. »lagging«) veriga, poteka različno. Na vodilni verigi, ki se odvija in odpira v smeri svojega 5' konca, polimeraza lahko zvezno dodaja nukleotide. Na zastajajoči verigi pa zaradi orientacije matrične DNA polimeraza lahko dodaja le kratke, približno tisoč nukleotidov dolge fragmente DNA (Okazakijeve fragmente). Te nato encim ligaza poveže v enotno verigo. Ko je dodajanje nukleotidov na obeh verigah končano, polimeraza DNA odstrani še začetnike. Zaradi večje količine dednine pri evkariontih replikacija DNA poteka na več mestih hkrati.

Dejansko imajo organizmi več različnih polimeraz DNA. Tako imajo prokarionti tri polimeraze DNA, evkarionti pa vsaj štiri ali več. Vse polimeraze omogočajo podaljševanje nukleotidne verige DNA v smeri od 5' proti 3' koncu DNA. Poleg tega imajo tudi eksonukleazno aktivnost v smeri od 3' proti 5' koncu DNA. Ta omogoča

sprotno odstranjevanje morebitnih napačnih, (nekomplementarnih) nukleotidov na novonastajajoči verigi in njihovo zamenjavo s pravimi (ang. »proofreading«). Poleg samopopravljalne lastnosti polimeraze DNA obstajajo v celici tudi drugi mehanizmi popravljanja napačno podvojenih delov DNA. Tak je na primer mehanizem **izrezovalnega (ekscizijskega) popravljanja**, pri katerem se iz dvojne vijačnice odstrani od 12 do 14 nukleotidov dolg del enojne DNA, v katerem je poškodba. Izrezani del nadomesti pravilno prepisani del s homologne verige. Pri poškodbah obeh verig istega odseka vijačnice DNA pa nastopi mehanizem **rekombinacijskega popravljanja**, pri katerem se izgubljena informacija nadomesti s sestrskse kromatide. Mehanizem je kljub haploidnosti mogoč celo pri bakterijah, saj imajo bakterije, ki se delijo, običajno dva ali celo tri identične kromosome hkrati.

**Mutacije** so dedne spremembe genskega materiala. Nastajajo lahko **spontano**, na primer kot posledica napak v replikaciji, saj polimeraze DNA pri replikaciji na približno vsakih sto tisoč nukleotidov vgradijo napačen nukleotid. Zaradi eksonukleazne aktivnosti polimeraze DNA in tako zmožnosti popravljanja lastnih napak je dejanska frekvenca napak pri replikaciji minimalna (1 od  $10^{10}$  nukleotidov). Poleg tega pri odpravljanju napak sodelujejo tudi drugi mehanizmi. Kljub temu določen delež napak ostane nepopravljen. Mutacije so lahko tudi **inducirane** z izpostavitvijo celic mutagenim dejavnikom. Ti so lahko fizikalni (npr. UV-sevanje, ionizirajoče sevanje), kemijski (npr. iperit, akridini, akrolein) ali biološki (virusi).

Mutacije lahko prizadenejo dedni material na različnih nivojih. Tako ločimo genske, kromosomske in genomske mutacije.

Posledica **genskih mutacij** je lahko zamenjava ali **substytucija** nukleotida, izpad ali **delecija** nukleotida ter vstavitvev ali **insercija** nukleotida. Medtem ko imata slednji dve za posledico premik bralnega okvirja, ki vodi v nefunkcionalen gen, pa substitucije praviloma povzročajo manjše posledice. Njihova posledica je lahko zamenjava kodona za eno aminokislino s kodonom za drugo aminokislino. Če sta ti dve aminokislini iz različnih skupin (npr. kislila in bazična), je to **drugačnosmiselna mutacija** (ang. »missense«), če sta ti dve aminokislini iz iste skupine, je to **nevtralna mutacija**. Če substitucija kodon za aminokislino spremeni v stop-kodon, je proteinska veriga skrajšana in praviloma nefunkcionalna, zato govorimo o **nesmiselni** (ang. »nonsense«) **mutaciji**. Zaradi degeneriranosti genetskega koda se lahko takšna mutacija tudi ne izrazi (**tiha mutacija**). Prav tako se tudi ne izražajo mutacije na nekodirajočih delih genoma. Poseben primer so **supresijske mutacije**, pri katerih je učinek ene mutacije omiljen z drugo, nasprotno mutacijo. Tak je primer omilitve insercije z delecijo. Ta pomakne bralni okvir v prvotno stanje in s tem omili posledice prve mutacije seveda le, če sta mutaciji dovolj blizu skupaj.

V primeru **kromosomskih mutacij** pride do sprememb delov kromosomov. Ti se lahko izgubijo (**delecija**), podvojijo (**duplikacija**) ali obrnejo (**inverzija**) v kromosomu.

Pri **genomskih mutacijah** pride do sprememb števila kromosomov. Posamezen kromosom v telesnih celicah tako ni zastopan dvakrat, kot je normalno, temveč enkrat (**monosomija**), trikrat (**trisomija**) ali celo večkrat. Primer trisomije 21. kromosomskega para se pri človeku izrazi kot Downov sindrom. V nekaterih primerih se lahko pomnoži tudi število celotne garniture kromosomov v celici. Pravimo, da gre za **poliploidijo** (npr. triploidija, tetraploidija). Ta lahko privede do večjih organizmov, zato je umetno vzpostavljena poliploidija pogost pristop v biotehnoloških postopkih (npr. pri žlahtnjenju rastlin).

Mutacije so običajno škodljive in se praviloma izločijo iz populacije v nekaj generacijah. Možno je, da se mutacije sploh ne izrazijo in se tako lahko ohranijo. Mutacije pa so lahko, čeprav redko, tudi koristne. Koristne mutacije se ob pritisku okolja razširijo na večji del populacije in so gibalno evolucije.

#### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Kateri encimi omogočajo rotacijo DNA med podvajanjem? Katera znanstvenika sta prejela Nobelovo nagrado za ugotovitev, da je podvajanje DNA semikonzervativno? Opiši njun poskus.

## 6.5 REKOMBINANTNA DNA IN GENSKI INŽENIRING

Univerzalnost zgradbe DNA omogoča prenos in vgrajevanje delov genetske informacije v drugo DNA. Izrezovanje, prenos in vgradnja dela DNA v genom druge celice privede do sestavljene ali **rekombinantne DNA**, ki ima lahko za posledico spremenjene lastnosti organizma.

Primer naravne rekombinacije je **prekrižanje** («crossing-over») kromatid homolognih kromosomov v mejozi (sl. 7.6). Ta zagotavlja heterogenost potomcev in je glavna prednost spolnega razmnoževanja. Procesi naravnega prenosa genetske informacije med celicami in nastanka rekombinantne DNA so dobro preučeni pri bakterijah. Med prokariotskimi celicami prenešana DNA ima lahko zapis za dodatne informacije, pomembne za njihovo prilagoditev na okolje, kar je lahko ključno za njihovo preživetje ob nenadnih spremembah v njihovem okolju (npr. odpornost proti antibiotikom). Dednina lahko med celicami prehaja na različne načine. Prenos gole DNA med celicami prokariotov imenujemo **transformacija**. V primeru **transdukcije** pri prenosu sodelujejo

fagi, v primeru **konjugacije** pa gre za prenos DNA med prokariotskima celicama v fizičnem stiku.

Poznavanje genetskih mehanizmov in razvoj molekularskih tehnik sta omogočila tudi nadzorovan prenos in vgradnjo želenih delov DNA v genome organizmov ter sta osnova genskega inženiringa in biotehnoloških procesov. Umetna izboljšava genetskih lastnosti organizmov lahko poteka z uporabo klasičnega pristopa, s križanjem osebkov z želenimi lastnostmi. Križanje je mogoče le med sorodnimi vrstami, poleg želenih pa se s križanjem pogosto prenašajo tudi nekatere neželene lastnosti. Zato so se z razvojem ustreznih tehnik uveljavili molekularski postopki genskega inženirstva, ki omogočajo *in vitro* modifikacijo genov in njihov prenos v organizme. Poleg tega omenjene tehnike omogočajo prenose genov tudi med nesorodnimi organizmi in zato lahko privedejo do povsem novih, v naravi nepoznanih kombinacij genskih informacij. Tako nastale organizme imenujemo **transgeni** ali **genetsko spremenjeni** organizmi.

## SEDMO POGLAVJE

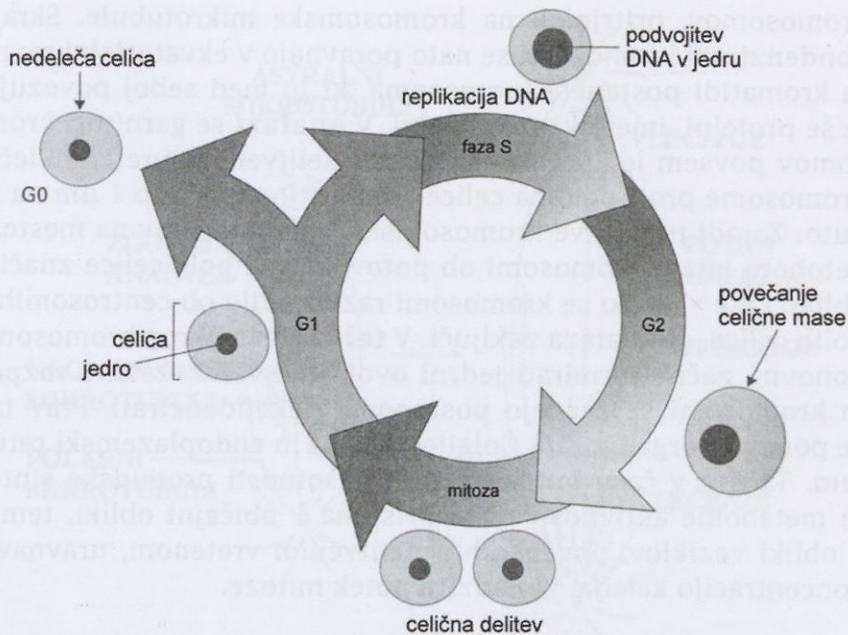
# RAZMNOŽEVANJE CELIC

### 7.1 CELIČNI CIKEL

Celični cikel je obdobje med dvema zaporednima celičnima delitvama in je pri različnih celicah različno dolg. Embriionalne celice se na primer delijo zelo pogosto, večina evkariontskih celic se deli približno vsakih 18 do 24 ur, medtem ko se mišične in živčne celice sploh ne delijo. Z dolžino celičnega cikla je povezana tudi sposobnost regeneracije tkiv in diferenciranost celic v njih. Tako so na primer epiteli in zarodna tkiva slabo diferencirani in imajo visoko stopnjo regeneracije, medtem ko je število zelo diferenciranih celic (živčne in mišične celice) v telesu praktično končno.

V celičnem ciklu se v celicah zvrstijo različna obdobja, povezana s spremembami v organizaciji in razporeditvi dednega materiala, organelov ter snovi v celici. Glede na omenjene spremembe v celici je cikel razdeljen v faze (sl. 7.1). **Interfaza** je obdobje med dvema celičnima delitvama. V njej celica raste, je metabolno aktivna in se pripravlja na delitev. Interfazno jedro ima jedrni ovoj, v njem so vidna jedrca, dedni material pa je v obliki evkromatina in heterokromatina. V bližini jedra sta vidna centriola. Interfaza traja približno 23 ur v 24-urnem celičnem ciklu in je razdeljena na tri podfaze. V prvi podfazi ali **fazi G<sub>1</sub>**, ki neposredno sledi mitozii, celica raste in se diferencira, procese pa nadzirajo različne snovi s skupnim imenom rastni dejavniki. Dednina kromosomov se de-kondenzira, prične se aktiven prepis DNA, sintetizirajo se proteini in ribosomske podenote, celica je metabolno aktivna. Faza G<sub>1</sub> je različno dolga in celice lahko v določenih primerih ali ob neugodnih razmerah v tem obdobju preidejo v fazo mirovanja ali G<sub>0</sub>. Ta lahko traja več dni, tednov ali celo let, preden se celice prično ponovno deliti. V nekaterih primerih lahko celice povsem izgubijo sposobnost delitve in v fazi G<sub>0</sub> preživijo vse življenje. Fazi G<sub>1</sub> sledi ključna faza priprave na naslednjo delitev ali **faza S**. V njej poteče replikacija DNA in v celici s 24-urnim ciklom traja od 10 do 12 ur. V tej fazi se lahko centriola podvoji in se sintetizirajo histoni. Ko je DNA uspešno podvojena, nastopi krajša faza **G<sub>2</sub>**, v kateri se celica pripravlja na delitev in metabolizem celice se zato upočasni. S fazo G<sub>2</sub> se interfaza zaključi in sledi **faza M**, ki obsega mitozo (delitev jedra) in citokinezo (delitev celice).





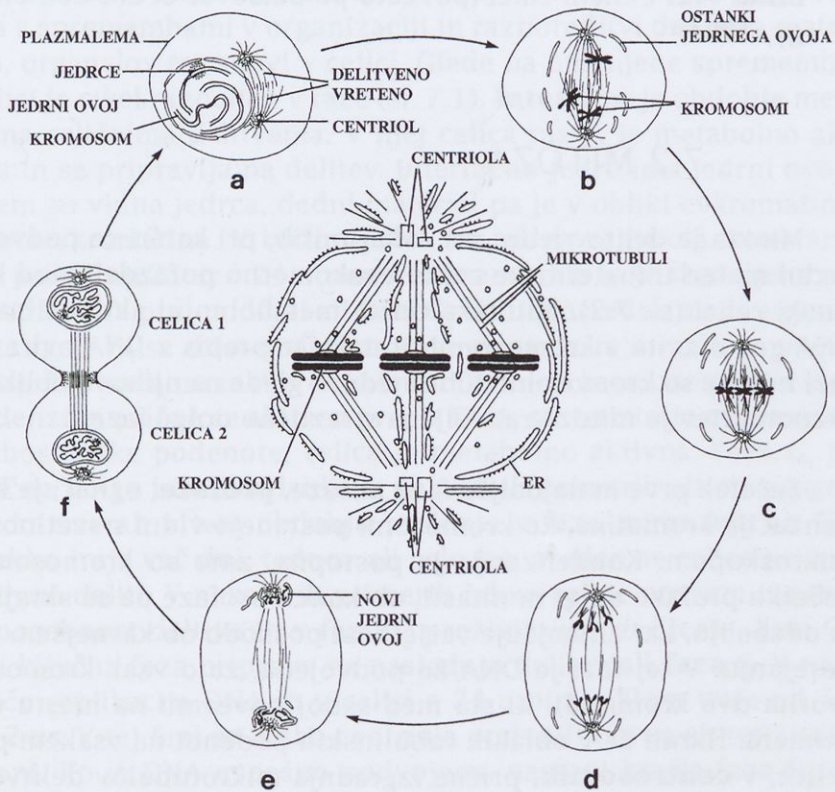
**Slika 7.1:** Celični cikel (povzeto po Bolsover et al., Cell Biology, 2004)

## 7.2 MITOZA

Mitoza je delitev jedra pri evkariontih, pri kateri se podvojen dedni material materinske celice enakomerno porazdeli med hčerinski celici (sl. 7.2). Mitotska celica metabolno ni aktivna, saj je DNA gosto zvita v kromosomih in tako je prepis z DNA oviran. V fazi mitoze so kromosomi dobro vidni – glede na njihovo obliko in razporeditev je mitoza razdeljena v različno dolge faze.

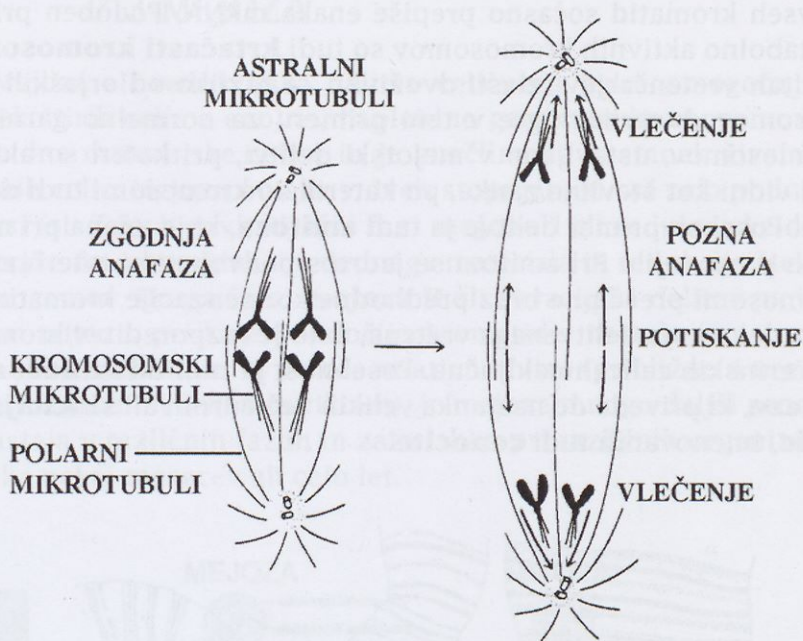
Začetek prve in najdaljše faze mitoze, **profaze**, označuje kondenzacija kromatina, ko kromosomi postanejo vidni s svetlobnim mikroskopom. Kondenzacija je postopna, zato so kromosomi v začetku profaze dolgi in nitasti, ob koncu profaze pa se skrajšajo in odebelijo, kar zmanjšuje verjetnost poškodb ob kasnejšem razporejanju. V tej fazi je DNA že podvojena, zato vsak kromosom tvorita dve kromatidi, ki sta med seboj povezani na mestu centromera. Hkrati se v oblakih tubulinskih podenot na vsakem polu celice, v **centrosomih**, prične izgradnja mikrotubulov delitvenega vretena. V **prometafazi** jedrni ovoj in jedrce razpadeta tako, da kromosomi postanejo dostopni mikrotubulom delitvenega vretena. Ti se pritrdijo na kinetohore kromosomov in jih vlečejo in potiskajo. V **metafazi** se delitveno vreteno dokončno izoblikuje. Tvorijo ga trije tipi mikrotubulov (sl. 7.3). **Kromosomski (kinetohorni) mikrotubuli** povezujejo kromatide s centrosomoma. Ti se zaradi odvzemanja tubulinskih podenot krajšajo in tako vlečejo kromosome proti ekvatorialni ravnini. **Polarni mikrotubuli** pa se raztezajo od enega centrosoma proti drugemu tako, da se prekrivajo v ekvatorialni ravnini. Ti se z dodajanjem tubulinskih podenot daljšajo in tako potiskajo centromera narazen proti polom celice. **Astralni mikrotubuli** se žarkasto raztezajo iz centrosomov na vsakem polu in sodelujejo pri nameščanju ter obračanju

kromosomov, pritrjenih na kromosomske mikrotubule. Skrajno kondenzirani kromosomi se nato poravnajo v ekvatorialni ravnini in kromatidi postaneta kromosoma, ki ju med seboj povezujejo le še proteini, imenovani kohezini. V **anafazi** se garnituri kromosomov povsem ločita in mikrotubuli delitvenega vretena vlečejo kromosome proti poloma celice s hitrostjo približno 1  $\mu\text{m}$  na minuto. Zaradi pritrditve kromosomskih mikrotubulov na mesto kinetohora imajo kromosomi ob potovanju na pole celice značilno obliko črke »V«. Ko se kromosomi razporedijo ob centrosomih na polih celice, se anafaza zaključi. V **telofazi** se okrog kromosomov ponovno začne formirati jedrni ovoj, delitveno vreteno razpade in kromosomi se začnejo postopoma dekondenzirati. Prav tako se ponovno organizirata Golgijev aparat in endoplazemski retikulum. Ta dva v času mitoze zaradi odsotnosti proteinske sinteze in metabolne aktivnosti nista prisotna v običajni obliki, temveč v obliki veziklov, povezanih z delitvenim vretenom, uravnava koncentracijo kalcija, ki nadzira potek mitoze.



**Slika 7.2:** Mitoza: a) profaza; b) prometafaza; c) metafaza; d) anafaza; e) telofaza; f) citokineza; v sredini: shematski prikaz sistema membran v metafazi;

ER: endoplazemski retikulum (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

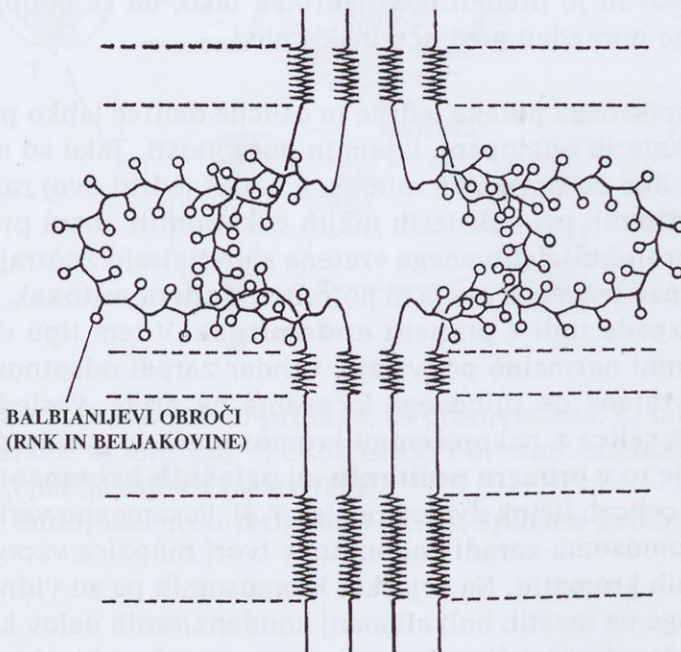
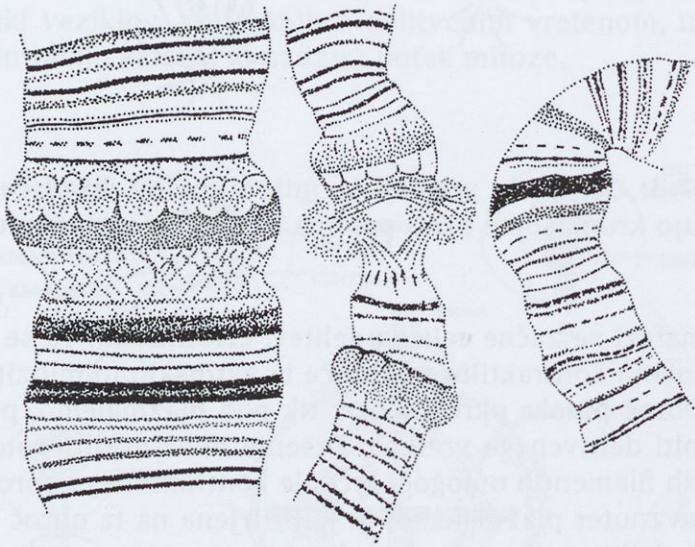


**Slika 7.3:** Delitveno vreteno iz mikrotubulov, ki vlečejo in potiskajo kromosome proti poloma (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

Že v anafazi se začne celična delitev, **citokineza**. Ta se prične z nastankom kontraktilnega obroča iz aktinskih in miozinskih molekul. Obroč poteka okrog celice, tik pod plazmalemo, pravokotno na niti delitvenega vretena. Drsenje miozinskih proteinov po aktinskih filamentih omogoči krčenje kontraktilnega obroča in potegne navznoter plazmalemo, ki je pritrjena na ta obroč tako, da nastane delitvena brazda. Brazda se postopoma zajeda v delečo se celico in jo predeli med jedroma tako, da se citoplazma enakomerno porazdeli med hčerinski celici.

Poleg opisanega poteka jedrne in celične delitve lahko prihaja tudi do nekaterih odstopanj, izjem in posebnosti. Tako so na primer, za razliko od normalne mitoze, v kateri jedrni ovoj razpade (**odprta mitoza**), pri nekaterih nižjih evkariontih znani primeri, kjer se mikrotubuli delitvenega vretena sintetizirajo znotraj jedra in zato razpad jedrnega ovoja ni potreben (**zaprta mitoza**). Jedrni ovoj ne razpade tudi v primeru **endomitoze**. V tem tipu delitve se kromosomi normalno podvajajo, vendar zaradi odsotnosti delitvenega vretena do njihovega ločevanja ne pride. Posledica je poliploidna celica z nakopičenimi kromosomskimi garniturami v jedru, kot je to v primeru **politenih** ali **orjaških kromosomov** v somatskih celicah ličink dvokrilcev (sl. 7.4). Posamezno verigo orjaškega kromosoma zaradi endomitoze tvori množica vzporedno razporejenih kromatid. Na orjaških kromosomih pa so vidne tudi prečne proge na mestih bolj ali manj kondenziranih delov kromosoma. Kondenzirani deli so **kromomere**, manj kondenzirani deli med njimi pa **interkromomere**. Ker so orjaški kromosomi prisotni tudi v interfazi, prepis z njih poteka tako, da se v predelih interkromomer, kjer je v več kopijah zapisana določena informacija, oblikujejo zanke (ang. »puffs« ali Balbianijevi obroči), s katerih se

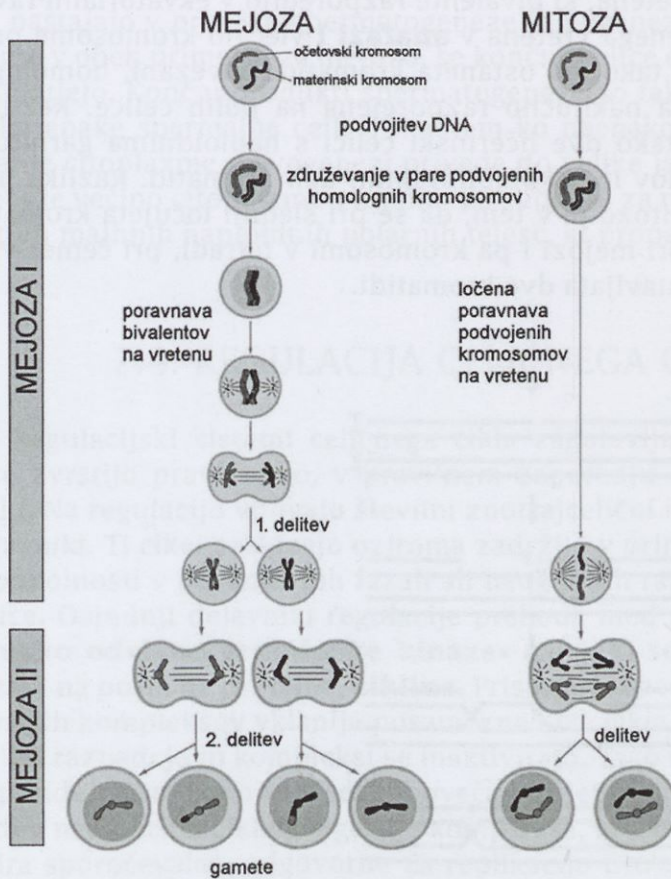
iz vseh kromatid sočasno prepíše enaka mRNA. Podoben primer metabolno aktivnih kromosomov so tudi **krtačasti kromosomi** v oocitah vretenčarjev (zlasti dvoživk). Za razliko od orjaških kromosomov dvokrilcev gre v tem primeru za normalno garnituro kromosomov, ustavljeno v mejotski delitvi, pri kateri so aktivni deli vidni kot številne zanke, po katerih so kromosomi tudi dobili ime. Poseben primer delitve je tudi **amitoza**, ki je znana pri nekaterih protozoidih. Pri amitozi se jedro s podvojenimi interfaznimi kromosomi prešči brez predhodne kondenzacije kromatina in brez delovanja delitvenega vretena, zato je razporeditev kromatid v hčerinskih celicah naključna. Posebnost je tudi **odsotnost citokineze**, ki privede do nastanka velikih večjedrnih ali **sincicijskih celic**, imenovanih tudi **cenocite**.



**Slika 7.4:** Izseki orjaškega kromosoma dvokrilca trzače (*Chironomus*); shematski prikaz nastanka Balbianijevih obročev (»puffs«); prikazane so štiri kromatide (Štrus, Splošna zoologija, 1999)

## 7.3 MEJOZA

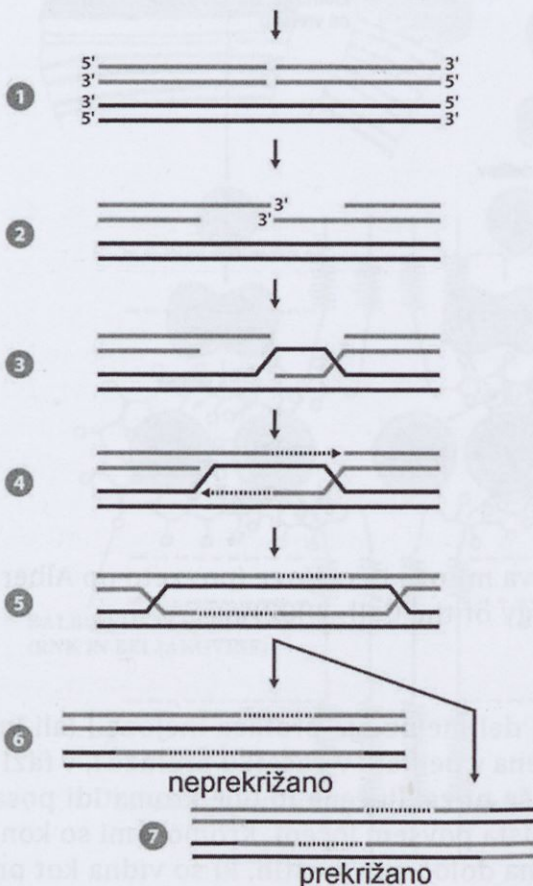
Mejoza ali redukcijska delitev celičnega jedra omogoča nastanek štirih celic z eno, haploidno garnituro kromosomov iz diploidne materske celice in je značilna za nastanek živalskih spolnih celic. Mejoza poteka v dveh stopnjah, ki sta zelo podobni mitozii (sl. 7.5). V prvi, ključni fazi **mejoze I** ali redukcijske delitve pride do rekombinacije dednega materiala in redukcije števila kromosomov. Druga faza, **mejoza II** ali ekvacijska delitev pa je v bistvu mitotična, pri kateri se ločijo kromatide, nastale v mejozi I. Za razliko od mitoze, ki poteče relativno hitro (približno 4 ure pri celici s 24-urnim celičnim ciklom), je mejoza mnogo daljši proces, ki zastaja v različnih fazah in zato lahko pri različnih organizmih poteka nekaj mesecev ali celo let.



**Slika 7.5:** Primerjava mitoze in mejoze (povzeto po Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 2002)

Ključni in najdaljši del mejoze je profaza mejoze I (ali krajše profaza I), ki je razdeljena v pet faz. V začetku profaze I, v fazi **leptoten** replikacija DNA še ni zaključena in obe kromatidi posameznega kromosoma še nista povsem ločeni. Kromosomi so kondenzirani in odebeljeni le na določenih mestih, ki so vidna kot prečni pasovi, imenovani kromomere. V fazi **zigoten** se pari homolognih kromosomov razporedijo vzporedno in vzdolžno povežejo (konjugacija). Povezavo omogočajo proteini, ki homologne kromatide povežejo v strukturo, imenovano **sinaptonemični kompleks**.

Ob tem se dokončno podvoji vsa DNA, tako povezani pari kromosomov pa tvorijo strukture, imenovane **bivalenti** ali **kromatidne tetrade**. Sledi faza **pahiten**, v kateri pride do prekrižanja (ang. »crossing-over«) med homolognimi deli nesestrskih kromatid v tetradi (sl. 7.6). Na mestih prekrižanja pride do prekinitve kromatid, izmenjave odsekov DNA ter njihovega lepljenja na nova mesta (nastanek rekombinantne DNA). Mesta prekrižanja kromatid so določena s proteinskimi kompleksi, imenovanimi **rekombinacijski noduli**, ki ležijo vzdolž sinaptonemičnega kompleksa. V fazi **diploten** začno sinaptonemični kompleksi razpadati in mesta prekrižanja kromatid ali **kjazme** so dobro vidne. V zadnji fazi profaze I, **diakinezi**, se kromosomi ločijo in kondenzirajo, pojavi se delitveno vreteno in jedrni ovoj razpade. Analogno z mitozo so v metafazi I kromosomi bivalentov povsem kondenzirani, na kinetohore vsakega homolognega kromosoma pa so pritrjene niti delitvenega vretena, ki bivalente razporedijo v ekvatorialni ravnini. Niti delitvenega vretena v **anafazi I** vlečejo kromosome proti poloma celice tako, da ostaneta kromatidi povezani, homologna kromosoma pa naključno razporejena na polih celice. Rezultat mejoze I sta tako dve hčerinski celici s haploidnima garnitura kromosomov in rekombiniranimi deli kromatid. Razlika med mejozo I in mitozo je v tem, da se pri slednji ločujeta kromatidi kromosoma, pri mejozi I pa kromosomi v tetradi, pri čemer vsak kromosom sestavljata dve kromatidi.



**Slika 7.6:** Mehanizem genetske rekombinacije (»crossing over«) nesestrskih kromatid (povzeto po Karp, Cell and Molecular Biology, 2004)

Mejozi I sledi kratko obdobje interkineze. Ta ustreza interfazi med mitozama, le da v njej ne prihaja do podvajanja dednine. Mejoza II ali ekvacijska delitev je dejansko mitoza, v kateri se v profazi II, metafazi II in anafazi II ločijo kromatide kromosomov, nastalih v mejozi I. Končni produkt mejoze so tako štiri celice z enojno garnituro kromosomov, ki zaradi rekombinacije niso povsem enaki, med hčerinske celice pa so razporejeni naključno.

Mejoza omogoča nastanek haploidnih gamet in rekombinacijo genoma, ki zagotavlja raznolikost potomcev in je ena glavnih prednosti spolnega razmnoževanja. Brez redukcijske delitve bi v vsaki generaciji potomcev število kromosomov eksponentno naraščalo, nastala poliploidija pa bi zmanjšala reprodukcijsko stabilnost organizmov.

Tipičen produkt mejoze so spolne celice ali gamete, ki pri sesalcih nastajajo v procesu spermatogeneze in oogeneze. Kljub temu da gre v obeh primerih za mejozo, se končne celice obeh procesov razlikujejo. Končni produkti spermatogeneze so tako štiri morfološko enake spermalne celice, medtem ko neenakomerno razporejanje citoplazme v ovogenezi privede do velike jajčne celice, ki vsebuje večino citoplazme s hranili, potrebnimi za razvoj zarodka in treh majhnih haploidnih polarnih teles, ki propadejo.

## 7.4. REGULACIJA CELIČNEGA CIKLA

Regulacijski sistemi celičnega cikla zagotavljajo, da se vse faze zvrstijo pravočasno, v pravilnem zaporedju in le enkrat v ciklu. Na regulacijo vplivajo številni znotrajcelični in zunajcelični dejavniki. Ti cikel prekinejo oziroma zadržijo v primeru napak ali nepopolnosti v posameznih fazah ali neugodnih razmer v okolici celice. Osrednji dejavniki regulacije prehoda med fazami so »**ciklinsko odvisne proteinske kinaze**« (cdc), ki se aktivirajo ob vezavi na posebne proteine, **cikline**. Prisotnost specifičnih cdc-ciklinskih kompleksov vklaplja posamezne faze cikla. Ob koncu faz ciklini razpadejo in kompleksi se inaktivirajo. Tako na primer faza  $G_1$  preide v fazo S, ko se v celici poveča koncentracija ciklina S. Ta vodi v nastanek S-ciklinskega cdc kompleksa, ki s fosforilacijo aktivira sporočevalce, odgovorne za replikacijo DNA. Ob zaključku faze S se postopno aktivirajo M-ciklinski cdc kompleksi, ki sprožijo začetne faze mitoze. Na aktivnost cdc-ciklinskih kompleksov vplivajo različni celični mehanizmi, kot je na primer fosforilacija cdc, vezava inhibitornih proteinov na cdc-ciklinske komplekse, razpad ciklinov ali omejevanje prepisa ciklinov.

## KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Ugotovi, kaj je Downov sindrom in zakaj pride do te napake. Zakaj uporabljajo taxol (generično ime palitaxel) kot sredstvo za zdravljenje raka? Kateri organizmi so bistveno prispevali k raziskavam celičnega cikla? Primerjaj procesa citokineze v rastlinski in živalski celici.

## 7.5 CELIČNA SMRT

Tako kot organizmi imajo tudi posamezne celice svoj življenjski krog: nastanejo z delitvijo materinske celice, rastejo, so metabolno aktivne, se delijo in propadejo. Propad celic je sestavni in nujni del življenjskega cikla, ki omogoča diferenciacijo in nastanek organov ter preprečuje neomejeno in nenadzorovano rast organizma. Podobno kot organizmi tudi celice lahko propadejo po naravni poti z **apoptozo** ali kot posledica poškodbe z **nekrozo**.

Nekroza je lahko posledica mehanske poškodbe, okužbe, rakavosti, prekinjenega dovoda krvi (infarkta), zastrupitve ali vnetja. Zanj je značilno znižanje nivoja ATP in prenehanje delovanja Na/K ATP-aznih črpalk, kar privede do napihovanja celic. V nekrozi prihaja tudi do razpada kromatina, membranskih poškodb organelov in v zadnji fazi tudi plazmaleme. Ključno je sproščanje hidrolitskih encimov iz lizosomov, ki pričnejo s prebavljanjem celične vsebine in DNA, ki vodi do nekontrolirane vakuolizacije citoplazme in lize celice. Ostanke nekrotičnih celic odstranijo celice imunskega sistema. Zaradi odsotnosti komunikacije med nekrotično celico in okoliškimi makrofagi je njihovo odstranjevanje v primerjavi z apoptozo počasnejše in manj učinkovito. Neodstranjena vsebina nekrotičnih celic pa sproži verižno nekrotično reakcijo v sosednjih celicah.

Programirana celična smrt ali apoptoza je postopen, genetsko nadzorovan proces z vnaprej določenim potekom dogodkov in je sestavni del življenja vsake celice. V normalnih tkivih deluje kot protiutež celičnim delitvam ter vzdržuje konstantno število celic v telesu, njena prekinitev pa vodi v nekontrolirano deljenje celic in nastanek rakavih tkiv. Za razliko od nekroze, ki prizadene večje število celic, je apoptoza omejena na posamezne celice ali skupine celic. V telesu poteka neprestano, na primer pri obnavljanju epitelov, ključna pa je tudi pri oblikovanju organov v embriogenezi.

Apoptoza poteka v več stopnjah. Celica najprej prekine stik s sosednjimi celicami. Njeno jedro se zmanjša in DNA značilno razpade na manjše delce (nukleosome), ki se zberejo ob robu jedra. Celični organeli se zgostijo, celica zaradi krčenja dobi značilno nagubano obliko. Nato celica prične postopno razpadati tako, da iz nje brstijo delci citoplazme, obdani s plazmalemo, imenovani



**apoptotska telesca.** Te učinkovito fagocitirajo okoliški makrofagi, ki jih apoptotska celica s signalizacijo privabi v svojo bližino.

Postopen razpad apoptotskih celic je posledica delovanja posebne skupine celičnih proteinaz, **kaspaz**, ki razgradijo celično vsebino. Te so v inaktivni obliki v celici prisotne že pred apoptozo in zato ob začetku apoptoze njihova sinteza ni potrebna. Aktivacijo kaspaz lahko sprožijo **zunanji** ali **notranji dejavniki**. Primer zunanje aktivacije kaspaz je samouničenje z virusi okuženih celic, ki jo sprožijo limfociti. Ko ti prepoznajo virusne proteine na celični površini okuženih celic, vežejo ligand **Fas** na specifične membranske receptorje, ki aktivirajo kaspaze v okuženih celicah in sprožijo apoptozo, s čimer omejijo širitev virusne okužbe v organizmu. Notranja aktivacija kaspaz je ključen mehanizem odstranjevanja nepotrebnih ali poškodovanih celic v organizmu. V tem primeru kaspaze v citoplazmi aktivira encim dihalne verige, **citokrom C**. Ta se normalno nahaja v notranji membrani mitohondrijev, pri njegovem sproščanju v citoplazmo pa sodelujejo proteini iz družine **bcl-2**. Njihova aktivacija je lahko posledica večjih poškodb DNA, stresa ali odtegnitve določenih rastnih dejavnikov.

#### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Raziskave mehanizmov celične smrti so bile v veliki meri narejene na celicah gliste *Caenorhabditis elegans*. Ugotovi, zakaj je ta organizem primeren za tovrstne raziskave.

## 7.6 MATIČNE CELICE

Matične celice (ang. »stem cells«) so nediferencirane celice s sposobnostjo praktično neomejenega števila mitotskih delitev (velikim delitvenim potencialom) in diferenciacije v različne tipe celic. Pri sesalcih se delijo na **embrionalne matične celice**, ki jih najdemo v zgodnjih fazah embrionalnega razvoja, in **matične celice razvitih tkiv**. V razvijajočem se zarodku matične celice služijo kot vir celic, ki se tekom embrionalnega razvoja razvijajo in diferencirajo v različna tkiva. V odraslih organizmih pa so matične celice potrebne za nadomeščanje in dopolnjevanje celic v tkivih z visoko stopnjo regeneracije, kot so na primer epiteli in kri.

Glede na sposobnost diferenciacije matične celice delimo na več skupin. **Totipotentne celice** najdemo v zgodnjih fazah embrionalnega razvoja in se lahko razvijajo v katerikoli tip celic. **Pluripotentne** celice so potomke totipotentnih celic in se lahko razvijajo v katerikoli tip celic posamezne zarodne plasti (endoderma, ektoderma ali mezoderma). Iz **multipotentnih** celic se lahko diferencirajo le tesno sorodni tipi celic (na primer razvoj krvnih

celic iz zarodnih hematopoetskih celic kostnega mozga). Iz **unipotentnih** celic lahko nastane le isti tip celic, kot so matične celice same, od nematičnih celic pa se razlikujejo po tem, da ohranjajo visok delitveni potencial.

Razumevanje delovanja matičnih celic, njihovo gojenje v celičnih kulturah, indukcija njihove diferenciacije v določena tkiva in uvajanje kloniranja v terapevtske namene bodo nedvomno privedle do širše uporabe matičnih celic v medicinske namene. Navedeni pristopi omogočajo nadomeščanje ali regeneracijo tudi tkiv z nizko stopnjo obnavljanja, kot so na primer mišice in živčno tkivo, med primernimi kandidati za vir matičnih celic pa so tkiva zarodnih celic popkovine in hematopoetsko tkivo kostnega mozga.



## OSMO POGLAVJE

# CELIČNO SPOROČANJE; KOMUNICIRANJE MED CELICAMI IN OKOLJEM

Vse celice, tako prokariotske kot evkariotske, komunicirajo med seboj in se odzivajo na signale iz okolja. Pri večceličarjih je sporočanje med celicami pogoj za obstoj organizma. Rastlinske in živalske celice so lahko direktno povezane z medceličnimi stiki, živalske celice se prepoznavajo tudi preko sporočilnih molekul na celični površini (npr. celice imunskega sistema). Celice komunicirajo večinoma s kemijskimi sporočili. Sporočilne (signalne) molekule so zelo različne in z vezavo na receptor sprožijo niz reakcij, ki usmerjajo metabolizem, delitev, rast in diferenciacijo celic. Sporočila iz okolja se prevedejo v znotrajcelične odzive. Proces, v katerem se sporočilo na površini celice prevede v specifičen celični odgovor, je **sporočilna transdukcijska pot**. Transdukcijska pot poteka v treh fazah: sprejem sporočila, prenos sporočila ali transdukcija in celični odziv.

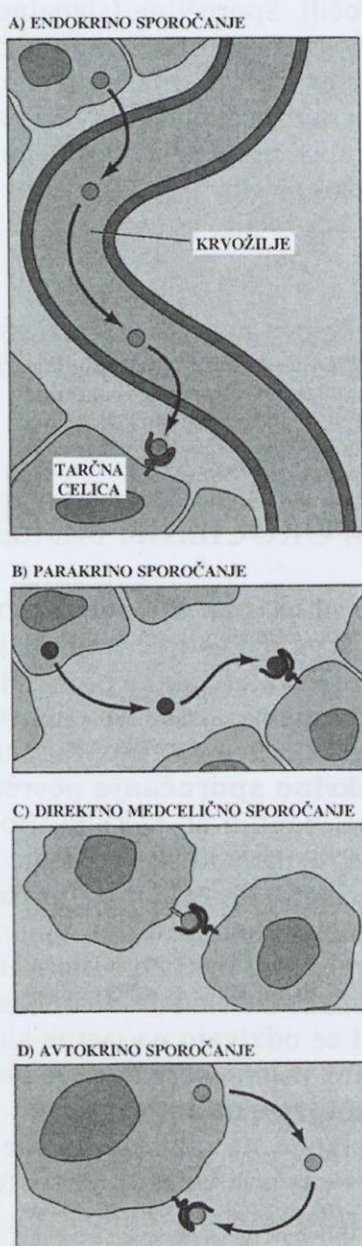
Sutherland, Earl W., 1971 – Nobelova nagrada za razlago sporočilne transdukcijske poti adrenalina pri razgradnji glikogena v jetrih in mišicah

## 8.1 DELOVANJE SPOROČILNIH MOLEKUL

Sporočilne molekule so lahko plini (npr. NO) ali pa kompleksne beljakovinske, steroidne in druge molekule. Razlikujejo se v tem, kako delujejo na tarčne celice. Nekatere lahko prehajajo skozi plazmalemo, druge se vežejo na membranske receptorje. Glede na to, kako se prenašajo signali iz celice v celico, razlikujemo tri tipe sporočanja (sl. 8.1). **Endokrino sporočanje** posredujejo hormoni, ki so lahko aminokisliline, peptidi ali steroidi. Hormoni so molekule, ki sporočajo na večje razdalje in se prenašajo po krvotoku ali živčevju (npr. nevrohormoni). **Parakrino sporočanje** je značilno za celice, ki izločajo molekule, s katerimi vplivajo na bližnje celice. Tako sporočanje je pogosto med živčnimi celicami, ki izločajo neurotransmitterje, in med embrionalnimi celicami, ki izločajo rastne faktorje. Celice, ki se odzivajo na lastne signalne molekule, sporočajo **avtokrino**. Tak način sporočanja je značilen za odziv imunskega sistema vretenčarjev na antigene.

Sporočilne molekule lahko delujejo na različne načine. Večinoma se povezujejo z receptorji v tarčnih celicah. Receptorji so lahko membranski ali intracelularni proteini v citoplazmi ali jedru. Steroidni hormoni (spolni hormoni, ekdizoni, kortikosteroidi) večinoma prehajajo skozi plazmalemo in se vežejo na receptorje v citoplazmi ali jedru tarčnih celic. Ti receptorji so transkripcijski faktorji, ki delujejo kot aktivatorji ali represorji genov. Skozi plazmalemo lahko prehajajo tudi plini, ki delujejo direktno na tarčne

encime v celici. Dušikov oksid je parakrina signalna molekula, ki deluje lokalno, tako da povzroča širjenje krvnih žil zaradi relaksacije gladkih mišičnih vlaken v steni žile. Deluje preko aktivacije encima gvanilat ciklaze, ki katalizira nastanek sekundarnega sporočevalca cGMP, ki deluje na gladka mišična vlakna. Nevrotransmiterji (adrenalin, glutamat, GABA, histamin) in peptidni hormoni ter rastni faktorji so signalne molekule, ki ne prehajajo skozi plazmalemo. Delujejo v povezavi z membranskimi receptorji. Receptorje delimo na **ionotropne** (ionski kanalčki), **metabotropne** (receptorji, vezani s proteinom G) in **receptorje, povezane z encimom** (imajo lastno encimsko aktivnost ali so povezani z drugim encimom). Metabotropni receptorji lahko delujejo preko regulacije ionskih kanalčkov (receptorji za nevrotransmiterje) ali pa preko encimov (receptorji za peptidne hormone).



**Slika 8.1:** Načini medceličnega sporočanja: a) endokrino sporočanje; b) parakrino sporočanje; c) sporočanje preko medceličnih povezav (ligand-receptor); d) avtokrino sporočanje (povzeto po Cooper G. M., The Cell, 1997)

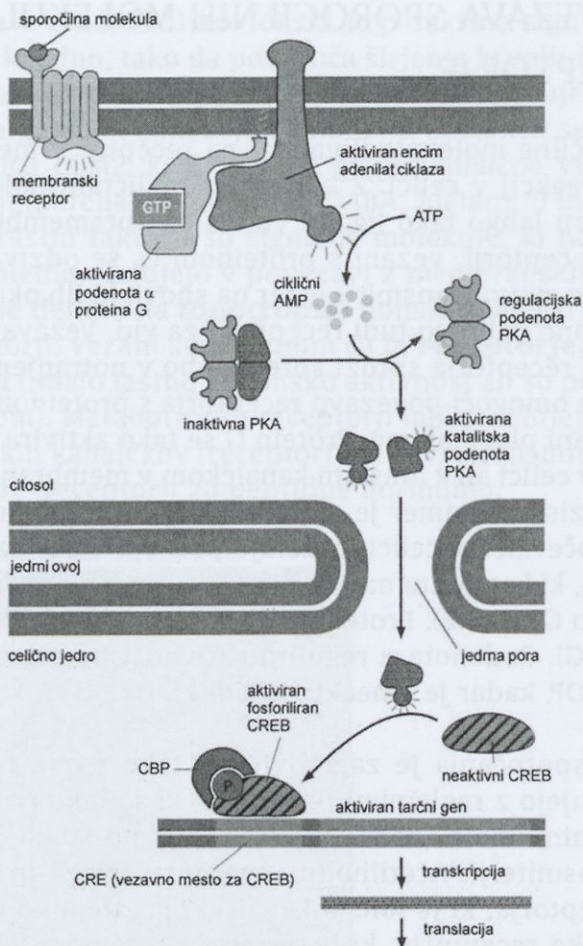
## 8.2 VEZAVA SPOROČILNIH MOLEKUL NA RECEPTORJE

Vezava sporočilne molekule (liganda) na receptor v membrani sproži serijo reakcij v celici. Z aktivacijo različnih molekul v citoplazmi in jedru lahko tako ligand vpliva na spremembe v izražanju genov. Receptorji, vezani s proteinom G, se odzivajo na peptidne hormone, nevrottransmitterje ter na snovi, ki jih okušamo in vohamo. Podobno delujejo tudi receptorji za vid. Vezava liganda na zunanji del receptorja sproži spremembo v notranjem delu molekule in s tem omogoči povezavo receptorja s proteinom G, ki je na notranji strani plazmaleme. Protein G se tako aktivira in poveže z encimom v celici ali z ionskim kanalčkom v membrani. Značilen in dobro raziskan primer je sinteza cAMP, ki je pomemben sekundarni sporočevalec v celici in deluje pod vplivom različnih hormonov. Encim, ki katalizira nastanek cAMP, je adenil ciklaza, ki jo aktivira protein G (sl. 8.2). Protein G je iz treh podenot (heterotrimerni protein G). Podenota  $\alpha$  regulira aktivnost proteina tako, da se poveže z GDP, kadar je v neaktivni obliki, in z GTP, kadar je v aktivni obliki.

Selektivnost sporočanja je zagotovljena, tako da se različni proteini G povezujejo z različnimi receptorji, ki so tako povezani z različnimi tarčnimi molekulami v celici. Podobno lahko delujejo tudi nevrottransmitterji. Acetilholin v progasti mišici in živcih deluje preko receptorja, ki je ionski kanalček, medtem ko v srčni mišici deluje preko receptorja, ki je vezan s proteinom G. Podenota  $\alpha$  proteina G inhibira encim adenil ciklazo, podenoti  $\beta$  in  $\gamma$  pa odpirata  $K^+$  kanalčke v membrani in tako upočasnita delovanje srca. Nekateri površinski receptorji so lahko direktno povezani z encimi v celici. Najbolj raziskana skupina takih receptorjev so receptorski proteini-tirozin kinaze, ki fosforilirajo tarčne proteine na tirozinskih ostankih. To so predvsem receptorji za številne rastne faktorje, ki regulirajo rast in diferenciacijo celic. Nekateri receptorji (npr. receptorji za citokine) se povezujejo z nereceptorskimi proteini-tirozin kinazami ali pa z drugimi encimi v celici, kot so gvanil ciklaze, protein-tirozin fosfataze idr. Ti se aktivirajo z vezavo liganda.

Znotrajcelični receptorji so molekule v citoplazmi ali celičnem jedru. Majhne in hidrofobne sporočilne molekule lahko prehajajo skozi celično membrano. V celici se povežejo z receptorskimi molekulami in preko transkripcijskih faktorjev regulirajo izražanje genov.

Primer takega delovanja je spolni hormon testosteron, ki ga izločajo celice v testisih. Hormon potuje po krvi v različne dele telesa in se veže s specifičnimi receptorji v celicah, aktivirajo receptorske proteine, ki vstopijo v jedro in vplivajo na izražanje genov, ki nadzirajo izražanje moških spolnih znakov.



**Slika 8.2:** Sporočilna pot poteka z vezavo sporočila na membranski receptor, povezan s proteinom G. Aktivna podenota alfa proteina G se poveže z adenilat ciklazo, ki sintetizira cAMP. Ta aktivira encim protein-kinazo A (PKA), katere aktivirani del potuje v jedro in fosforilira protein CREB, ki se veže na CRE mesto DNA. Z vezavo koaktivatorja CBP se začne prepisovanje DNA (povzeto po Storch V. in Welsch U., Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 2005)

### 8.3 TRANSDUKCIJA; PRETVORBA INFORMACIJ NA MEMBRANI V ZNOTRAJCELIČNA SPOROČILA

V živih sistemih poteka celično sporočanje večinoma tako, da specifični receptor v membrani prepozna sporočilo na zunanji strani membrane. Sporočilo se prenese na notranjo stran membrane in deluje tako, da aktivira specifične encime, vpliva na organizacijo citoskeleta, spremeni prepustnost membrane ali vpliva na izražanje genov.

Transdukcija lahko poteka kot sprememba napetosti na membrani, ko vezava sporočilne molekule povzroči prehod ionov skozi kanalček v membrani. Primer takega sporočanja je npr. sproščanje kalcija v citosol krvne ploščice med strjevanjem krvi. Ob vezavi sporočilne molekule  $IP_3$  (inozitol tri-fosfata) na receptor v

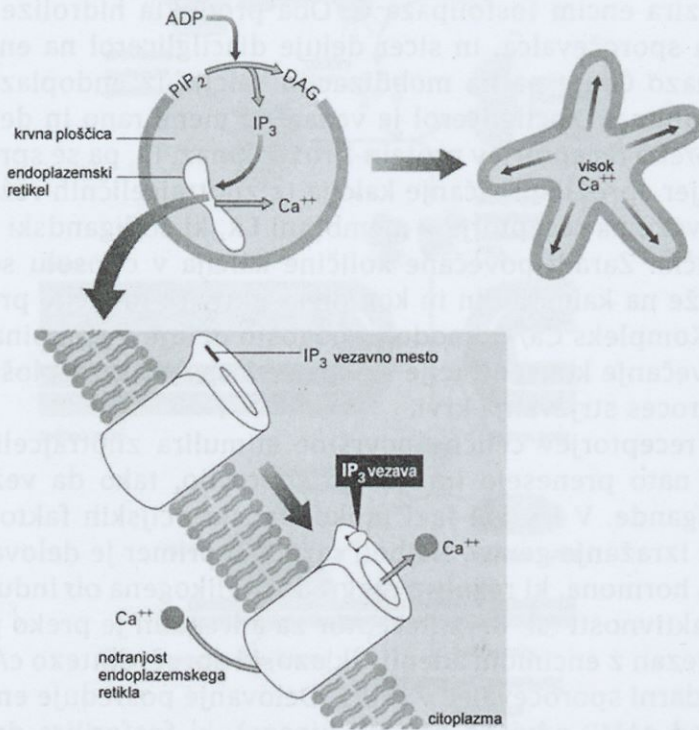
membrani ER, ki deluje kot kalcijev kanalček (sl. 8.3), vdre kalcij iz endoplazemskega retikuluma v citosol krvne ploščice. V tem primeru delujejo kot sekundarni sporočevalci membranski fosfolipidi. Fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat ( $\text{PIP}_2$ ) je lociran v notranji strani fosfolipidnega dvosloja. Veliko hormonov in rastnih faktorjev stimulira hidrolizo  $\text{PIP}_2$  v diacilglicerol in inozitoltrifosfat ( $\text{IP}_3$ ), ki jo katalizira encim fosfolipaza C. Oba produkta hidrolize sta sekundarna sporočevalca, in sicer deluje diacilglicerol na encim protein kinazo C,  $\text{IP}_3$  pa na mobilizacijo kalcija iz endoplazemskega retikuluma. Diacilglicerol je vezan na membrano in deluje večinoma preko receptorjev protein-tirozin kinaz.  $\text{IP}_3$  pa se sprosti v citosol, kjer sproži sproščanje kalcija iz znotrajceličnih rezerv, tako da se veže na receptorje v membrani ER, ki so ligandski kalcijevi kanalčki. Zaradi povečane količine kalcija v citosolu se ta pogosto veže na kalmodulin in kompleks aktivira različne protein kinaze. Kompleks Ca/kalmodulin pogosto deluje v kombinaciji s cAMP. Povečanje koncentracije kalcija v citosolu krvne ploščice vpliva na proces strjevanja krvi.

Večina receptorjev celične površine stimulira znotrajcelične encime, ki nato prenesejo in ojačajo sporočilo, tako da vežejo določene ligande. V končni fazi preko transkripcijskih faktorjev vplivajo na izražanje genov. Najbolj raziskan primer je delovanje adrenalina, hormona, ki regulira razgradnjo glikogena ob indukciji mišične aktivnosti (sl. 8.4). Receptor za adrenalin je preko proteina G povezan z encimom adenil ciklazo, ki sproži sintezo cAMP, ki je sekundarni sporočevalec v celici. Delovanje posreduje encim kinaza A (od cAMP odvisna protein kinaza), ki fosforilira druge encime na serinskih ostankih. Zadnji encim v seriji je glikogen fosforilaza, ki katalizira razgradnjo glikogena v glukozo-1-fosfat. Encim kinaza A deluje tudi v nasprotni smeri in vpliva na sintezo glikogena (preko glikogen sintaze). Začetna vezava molekule adrenalina na en receptor se proti koncu ojača, tako da nastane veliko molekul cAMP in na koncu veliko encima glikogen fosforilaze. Nekatere gene lahko cAMP inducira direktno preko vezave transkripcijskega faktorja CREB, ki ga fosforilira protein kinaza A. Ta naj bi imel pomembno vlogo pri učenju in spominu. cAMP lahko deluje tudi direktno na ionske kanalčke, pri zaznavanju različnih vonjev cAMP odpira  $\text{Na}^+$  kanalčke.

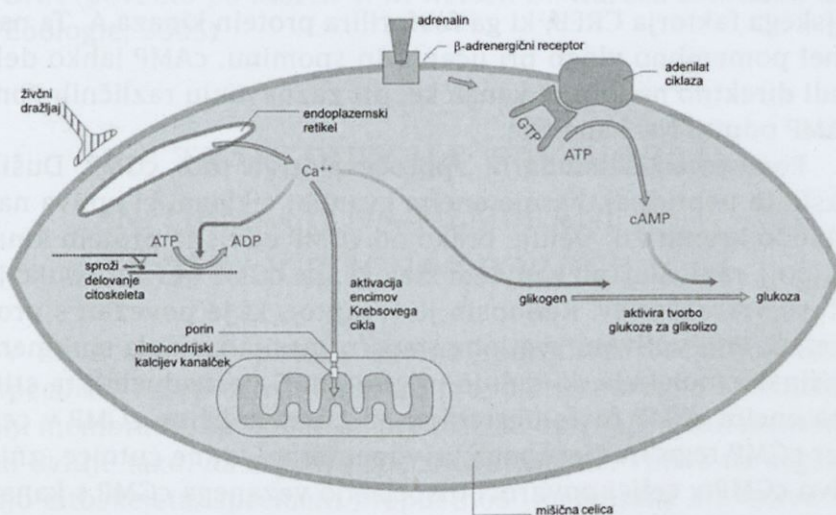
Pomemben sekundarni sporočevalec je tudi cGMP. Dušikov oksid in peptidi aktivirajo encim gvanilat ciklazo, ki vpliva na dilatacijo krvnih žil. Deluje preko od cGMP odvisne protein kinaze. Najbolj razložen mehanizem delovanja cGMP je transdukcija v očesu vretenčarjev. Rodopsin je receptor, ki je povezan s proteinom G. Pod vplivom svetlobe transformacija retinala spremembo opsinske molekule, ki deluje na protein G (transducin), ta stimulira encim cGMP fosfodiesterazo, ki zniža količino cGMP v celici. Ker cGMP regulira  $\text{Na}^+$  kanalčke v membrani vidne čutnice, znižan nivo cGMP v celici povzroči disociacijo vezanega cGMP s kanalčkov in s tem njihovo zapiranje.

Zelo pomembni regulatorji rasti in diferenciacije pri vretenčarjih so encimi MAP kinaze. Poleg regulacije metabolizma in izražanja genov je pomemben mehanizem celičnega sporočanja tudi preko citoskeleta. Receptorji, ki omogočajo povezave celic, tudi vplivajo na znotrajcelično sporočanje. Integrini so povezani z ne-

receptorskimi proteini-tirozin kinazami (FAK), ki delujejo preko aktivacije MAP kinaz. Rastni faktorji vplivajo na celično gibljivost, tako da vplivajo na citoskelet preko regulatornih proteinov Rho, ki vežejo GTP.



**Slika 8.3:** IP<sub>3</sub> ligandski receptor v membrani endoplazemskega retikuluma krvne ploščice je selektivni kalcijev kanalček, ki ob vezavi molekule inozitol trifosfata (IP<sub>3</sub>) omogoča tok kalcija iz ER v citosol (povzeto po Bolsover et al., Cell Biology, 2004)



**Slika 8.4:** Kalcijev ion in cAMP aktivirata ločene, a povezane procese v prečno-progasti mišici (povzeto po Bolsover et al., Cell Biology, 2004)



## 8.4. CELIČNI ODZIV IN REGULACIJA CELIČNE AKTIVNOSTI

Transdukcijska pot se zaključi z regulacijo ene od celičnih aktivnosti v citoplazmi ali jedru.

V citoplazmi poteka regulacija celične aktivnosti z odpiranjem ali zapiranjem ionskih kanalčkov v membranah, s prerazporejanjem citoskeleta ali pa na nivoju sprememb metabolizma z aktivacijo encimov. Veliko sporočilnih poti deluje tako, da transkripcijski faktorji (npr. steroidni hormoni) regulirajo sintezo encima preko aktivacije ali inhibicije genov v jedru. Ojačitev sporočila in specifičnost celičnega odgovora zagotavljajo številne stopnje v transdukcijski kaskadi. Različni tipi celic se na enaka sporočila odzivajo različno, ker vsebujejo različne proteine. Na primer jetrna celica se na delovanje adrenalina odziva z aktivacijo presnovne poti, ki omogoči razgradnjo glikogena v glukozo, medtem ko se celica srčne mišice odzove s kontrakcijo in povečanim srčnim utripom.

Posebne kombinacije proteinov zagotavljajo specifičnost celičnega odziva. Učinkovitost transdukcije zagotavljajo predvsem proteini (»scaffolding proteins«), ki imajo vezavna mesta za membranske receptorje in za različne znotrajcelične protein kinaze. Celični odziv na sporočilo je reverzibilen, odziv se hitro zaključi in z deaktivacijo receptorja in drugih molekul, ki sodelujejo pri prenosu sporočila, celica postane odzivna za novo sporočilo.

### KAJ JE NOVEGA BRUCKI?

Ugotovi, kaj pomeni angleški izraz »Quorum sensing«. Razloži delovanje zdravila viagra! Primerjaj delovanje toksinov na sinapse pri bolnikih s tetanusom in botulizmom! Kako poteka signalizacija preko receptorjev za inzulin? Kakšno vlogo imajo kaspaze v procesu apoptoze?

## LITERATURA

- Alberts B. D., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science Publishing
- Alberts B. D., Bray D., Hopkin K., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Walter P. (2004). *Essential cell Biology*. Garland Science Publishing
- Bielka H., Börner T. (1995). *Molekulare Biologie der Zelle*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Berlin
- Bolsover S. R., Hyams J. S., Shepard E. A., White H. A., Wiedemann C. G. (2004). *Cell Biology – a short course*. A John Willey & sons, Inc., Publication, Hoboken, New Jersey
- Brown T., (2006). *Genomes 3*, Garland Science Publishing, New York/London
- Cooper G. M. (1997). *The Cell. A Molecular Approach*. ASM Press, Oxford University Press
- Karp G. (2005). *Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments*. John Willey and Sons, Inc., New York
- Storch V., Welsch U. (2005). *Kurzes Lehrbuch der Zoologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Štrus J., (1999). *Splošna zoologija*. Knjižna zbirka Scripta. Biologija, Študentska založba, Ljubljana
- Ude J., Koch M. (2002). *Die Zelle. Atlas der Ultrastruktur*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin





# scripta

Mitja Saje: **ZGODOVINA KITAJSKJE, OBDOBJE QING. OD TRADICIONALNE DO MODERNE KITAJSKJE.**

Alojzija Židan: **AKTIVNO UČENJE MLADIH V DRUŽBOSLOVJU**

Juš Kocijan: **PRAKTIKUM REGULACIJSKE TEHNIKE**

Frane Adam: **KOMPENDIJ SOCIOLOŠKIH TEORIJ**

Igor Grdina: **STAREJŠA SLOVENSKA NABOŽNA KNJIŽEVNOST**

Marjanca Kos, Boris Bulog: **EMBRIOLOGIJA VREtenČARJEV**

Mirko Zupančič: **TEORETSKE OSNOVE MEŠČANSKE DRAME V 18. STOLETJU**

Igor Jerman, Artur Štern: **EVOLUCIJA S TEORETIČNO BIOLOGIJO IN TEMELJI MOLEKULARNE EVOLUCIJE**

Jasna Štrus: **NAVODILA ZA VAJE IZ SPLOŠNE ZOOLOGIJE: 1.del**

Marina Dermastia, Boris Turk: **BOTANIKA – DELOVNI ZVEZEK**

Kristina Sepčič, Gregor Anderluh, Tom. Turk, Peter. Maček: **BIOKEMIJSKI PRAKTIKUM**

Alojzija Židan: **DIDAKTIZACIJA DRUŽBOSLOVJA ZA MLADE**

Marija Štefančič, Vida Pohar: **EVOLUCIJA ČLOVEKA, OKOLJE IN KULTURE V PLEISTOCENU**

Rajko Bratož: **GRŠKA ZGODOVINA**

Dejan Jelovac: **POSLOVNA ETIKA**

Blagajana Herzog - Velikonja, Kristina Gruden: **PRAKTIKUM IZ MOLEKULARNE BIOLOGIJE**

Dominik Vodnik: **SIMBIOZE IN PARAZITIZEM. Laboratorijske in terenske vaje**

Karmen Šterk: **O TEŽAVAH Z MANO. Antropologija, lingvistika, psihoanaliza**

Tomaž Perovič, Špela Šipek: **TV NOVICE**

Miha Janc, Maja Rupnik: **SPLOŠNA MIKROBIOLOGIJA. Navodila za vaje**

več avtorjev: **UVOD V UMETNOSTNO ZGODOVINO**

Goran Bervar: **C++ NA KOLENIH**

Gerhard Jäger: **UVOD V KLASIČNO FILOLOGIJO**

Jasna Štrus, Damjana Drobne, Primož Zidar: **NAVODILA ZA VAJE IZ SPLOŠNE ZOOLOGIJE: 2.del**

Simona Prevorčnik: **NAVODILA ZA VAJE IZ SISTEMATSKE ZOOLOGIJE NEVREtenČARJEV**

Jasna Štrus: **SPLOŠNA ZOOLOGIJA. Učbenik**

Igor Jerman, Artur Štern: **MOLEKULSKA EVOLUCIJA**

Igor Jerman, Artur Štern: **EVOLUCIJA S TEORETIČNO BIOLOGIJO**

več avtorjev: **PLIOCENSKI IN PLEISTOCENSKI HOMINIDI. Nove evolucijske razlage**

več avtorjev: **PODOBA, POGLED, POMEN**

Tadej Praprotnik: **IDEOLOŠKI MEHANIZMI PRODUKCIJE IDENTITET. Od identitete k identifikaciji.**

A. Bavec, J. Stojan, M. Zorko: **NAVODILA ZA LABORATORIJSKE VAJE IZ BIOKEMIJE**

Svetlana Slapšak: **ZA ANTROPOLOGIJO ANTIČNIH SVETOV. Uvod h knjigi PODOBA, POGLED,**

**POMEN**

Herbert Grundmann: **ZGODOVINOPISJE V SREDNJEM VEKU**

več avtorjev: **WAR DISCOURSE, WOMEN'S DISCOURSE**

Miran Štuhec: **NARATOLOGIJA. Med teorijo in prakso**

Boštjan Marko Turk: **BERGSONIZEM IN NJEGOV POLOŽAJ V DUHOVNI ZGODOVINI SLOVENCEV**

Martin Juvan, Matjaž Zaveršnik: **VAJE IZ PROGRAMIRANJA. C, C++ in Mathematica**

Blagajana Herzog - Velikonja, Kristina Gruden: **PRAKTIKUM IZ MOLEKULARNE**

**BIOLOGIJE. Teoretični del**

Andrej Pogačnik: **UREJANJE PROSTORA ZA TRETJE TISOČLETJE**

Blagajana Herzog - Velikonja, Kristina Gruden, Lejla Pašič: **PRAKTIKUM IZ MOLEKULARNE**

**BIOLOGIJE**

Maja Rupnik, Polona Zalar, Miha Janc: **SPLOŠNA MIKROBIOLOGIJA. Navodila za vaje**

Tanja Žigon: **NEMŠKO ČASOPISJE NA SLOVENSKEM**

Štefan Vevar: **TEMELJNI ASPEKTI IN PRINCIPI TEORIJE LITERARNEGA PREVAJANJA**

več avtorjev: **NASTAJANJE STROKOVNIH IN ZNANSTVENIH BESEDIL. Med pisanjem in družbenim**

**kontekstom**

Miha Pintarič: **TRUBADURJI**

več avtorjev: **COOLTURA: UVOD V KULTURNE ŠTUDIJE**

Darja Zaviršek, Jelka Zorn, Petra Videmšek: **INOVATIVNE METODE V SOCIALNEM DELU:**

**Opolnomočenje ljudi, ki potrebujejo podporo za samostojno življenje**

Polona Zalar, Nina Gunde - Cimerman: **TAKSONOMIJA IN IDENTIFIKACIJA GLIV**

Ana Plemenitaš, Bronislava Črešnar, Marija Žakelj - Mavrič: **BIOKEMIJA USTNE VOTLINE**

Tomaž Makovec: **BIOKEMIJA I. Navodila za vaje**

Jernej Logar: **PROTOZOLOGIJA**

Majda Hrzenjak: **SIMBOLNO – IZBRANA POGlavJA IZ FRANCOŠKEGA STRUKTURALIZMA**

Jasna Štrus: **SPLOŠNA ZOOLOGIJA. Učbenik** (druga, popravljena izdaja)

Jasna Štrus: **NAVODILA ZA VAJE IZ SPLOŠNE ZOOLOGIJE: 1. del** (druga, popravljena izdaja)

Jasna Štrus, Damjana Drobne, Primož Zidar: **NAVODILA ZA VAJE IZ SPLOŠNE ZOOLOGIJE: 2. del**  
(druga, popravljena izdaja)

Bojan Žalec: **SPISI O VEBRU**

več avtorjev: **STATISTIČNI TERMINOLOŠKI SLOVAR**

Gorazd Urbanič, Mihael J. Toman: **VARSTVO CELINSKIH VODA**

Matevž Likar, Marjana Regvar: **PRAKTIKUM FIZIOLOGIJE RASTLIN**

Vida Miloševič Arnold, Milko Poštrak: **UVOD V SOCIALNO DELO**

Simona Prevorčnik: **NAVODILA ZA VAJE IZ SISTEMATSKE ZOOLOGIJE NEVRETENČARJEV** (druga,  
dopolnjena izdaja)

Rajko Bratož: **GRŠKA ZGODOVINA** (druga, dopolnjena izdaja)

Nike Kocijančič Pokorn: **MISLITI PREVOD. Izbrana besedila iz teorije prevajanja od Cicerona do Derridaja**

Tomaž Makovec: **UVOD V BIOKEMIJO. Naloge z rešitvami**

Mitja Velikonja: **MITOGRAFIJE SEDANJOSTI. Študije primerov sodobnih političnih mitologij**

Jasna Dolenc Koce: **SPLOŠNA BOTANIKA**

več avtorjev: **MEDIJSKA KULTURA**

Frane Adam, Matevž Tomšič: **KOMPENDIJ SOCIOLOŠKIH TEORIJ** (druga, dopolnjena in popravljena  
izdaja)

Darja Kobal, Janez Kolenc, Nada Lebarič, Bojan Žalec: **SAMOPODOBA MED MOTIVACIJO IN  
TEKMOVALNOSTJO. Interdisciplinarni pristop**

Kristina Sepčič: **BIOKEMIJSKI PRAKTIKUM ZA PEDAGOGE**

Florica Hrubaru, Primož Grešak, Janez Rebec, Martina Nemarnik: **UČBENIK ROMUNSKEGA JEZIKA ZA  
SLOVENCE**

Tadeja Trošt Sedej: **EKOLOGIJA RASTLIN. Priročnik za vaje**

Urška Batista: **GOJENJE SESALSKIH CELIC V IN VITRO POGOJIH**

Maja Rupnik, Polona Zalar, Martina Turk, Miha Janc: **SPLOŠNA MIKROBIOLOGIJA. Navodila za vaje**  
(tretja, dopolnjena izdaja)

Peter Trontelj: **VRETENČARJI SLOVENIJE. Gradivo za vaje iz zoologije strunarjev**

Rodney F. Boyer: **TEMELJI BIOKEMIJE**

Anton Mlinar: **EVTANAZIJA**

Stane Kavčič, Luka Juvančič, Urban Sila: **AGRARNA EKONOMIKA IN EKONOMIKA KMETIJSKIH  
GOSPODARSTEV. Računske naloge z rešitvami**

Valentina Hlebec, Tina Kogovšek: **MERJENJE SOCIALNIH OMREŽIJ**

Ksenija Vidmar Horvat: **GLOBALNA KULTURA**

Andrej Vilfan, Gojmir Lahajnar: **ZBIRKA RAČUNSKIH NALOG IZ BIOFIZIKE Z NAKAZANIMI  
REŠITVAMI**

več avtorjev: **TEMATOLOGIJA. Izbrana poglavja**

Boris A. Novak: **POGLEDI NA FRANCOŠKI SIMBOLIZEM**

Tomaž Makovec in sodelavci: **BIOKEMIJA I. Navodila za vaje** (druga, popravljena in dopolnjena izdaja)

Marjanca Starčič Erjavec, Nina Gunde - Cimerman, Blagajana Herzog Velikonja: **PATOGENI MIKROBI**

Rajko Bratož: **RIMSKA ZGODOVINA I**

Aljoša Bavec, Matjaž Zorko, Jure Stojan: **NAVODILA ZA LABORATORIJSKE VAJE IZ BIOKEMIJE S  
TEORETIČNIM DODATKOM**

Miha Javornik: **ZLATI VEK RUSKE KULTURE. Poti ruske umetniške besede 1670-1840**

Jasna Štrus, Rok Kostanjšek: **BIOLOGIJA ŽIVALSKÉ CELICE**





NARODNA IN UNIVERZITETNA KNJIŽNICA

GS

II 703 612



200901076

COBISS

 Študentska  
založba

CENA: 15€



9 789612 421793

ISBN 978-961-242-179-2

scripta