

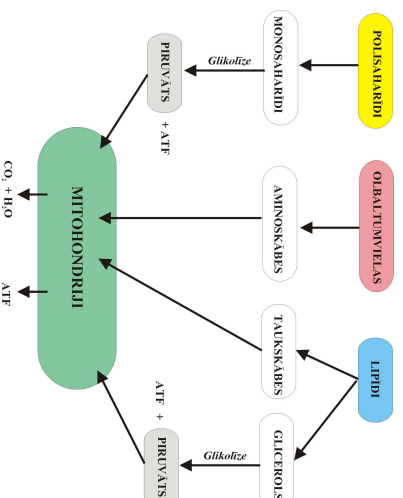
Vielas un enerģijas maiņa citoplazmā

11. tēma

- Šūnās gandrīz visi vielu sintēzes un transporta procesi notiek, izmantojot ATF vai GTF enerģiju, vai arī reducējot tādus koenzīmus kā NADH, NADPH vai FADH₂. Lielākā daļa no šūnām šos savienojumus iegūst, importējot kompleksas organiskās vielas, tādās kā polisaharīdi tauki vai olbaltumvielas. Vienīgais izņēmums ir šūnas, kas satur hlorofīlu. Tās savukārt izmanto gaismas enerģiju, lai sintezētu šūnām nepieciešamās organiskās vielas.

- Saliktus ogļhidrātus, tādus kā cieti, pārvērš par monosaharīdiem, olbaltumvielas pārvēršas aminoskābēs, bet lipīdi sadalās taukskābēs un glicerolā. Vielas sadala ar oksidēšanas un reducēšanas reakciju palīdzību.
- Ķīmisko reakciju, kurā zaudē elektronus sauc par oksidāciju, bet reakciju, kurā iegūst elektronus - par reducēšanu.*

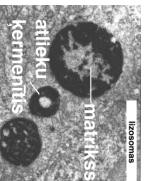
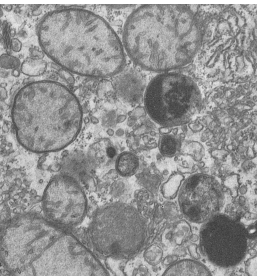
- Vielu un enerģijas maiņa
 - Lizosomas
 - Heterofāģija
 - Autofāģija
 - Mikroķermenīši
 - Olbaltumvielu imports peroksisomās
 - Vakuolas
 - Proteosomas
 - RNāze
 - Glikolīze



- Dažādi katabolisko reakciju etapi notiek dažādos šūnu nodalījumos:**
 - Organelli jeb polimēru sadalīšana notiek lizosomās, vakuolās un peroksisomās.
 - Citosolā esošās olbaltumvielas noārda proteosomās, RNS noārda nukleāzes kodolā, hloroplastos, mitohondrijos un citosolā.
 - Glikozes sadalīšanu veic citosolā izvietotie fermenti, noārdot to līdz piruvātam(piruvīnogskābei).
 - Daudzi starpprodukti, kas rodas olbaltumvielu, nukleīnskābju un lipīdu sadalīšanas procesos, arī var iesaistīties glikolīzē.

Lizosomas

Lizosomas atklāja K. De Duivs un R. Novikoffs šī gadsimta 50-os gados. Atšķirībā no citām organelām, lizosomas atklāja, izmantojot šūnu saturu centrifugācijas un biokīmiskās analīzes metodes. Konstatēja, ka, mainot centrifugācijas ātrumu, no mitohondriju frakcijas var izdalīt nečelas organelas, kas saturēja hidrolāzes. Lizosomas ir konstatētas lielākajā daļā eukariotisko šūnu. Īpaši daudz tās ir tajās dzīvnieku šūnās, kas nodarbojas ar fagocitozi. Augu šūnās lizosomas ir novērojamas novēcošanas laikā. Lizosomām var būt ļoti atšķirīga forma, izmēri un tekšēja struktūra. Lizosomu izmēri parasti ir no 0,2 - 0,5 μm. Lizosomu galvenā funkcija ir veikt tekššanas sagremošānu.



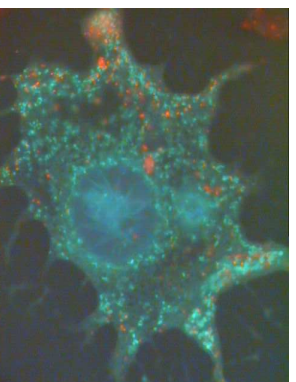
Lizosomas šūrtku niertu šūnās.

Filmā redzama endosomu pievienošānās lizosomām. Izmantois himerisks proteins no lizosomālā membrānas proteina Lamp1 un zaļā fluorescēntā proteīna. Lizosomālīe proteīni Lamp 1 ir glikozilēti. Tie ir novērojami lizosomās un nobriedušās endosomās.

<http://www.fmt.ch/group/pohrer/jmonica/klissantirnanon>



Lizosomu fermenti spēj sadalīt praktiski visus dabīgos organisko vielu polimērus. Ir izdalītas vairāk nekā 60 lizosomu hidrolāzes (proteāzes, lipāzes u.c.). No citoplazmas šos aktīvos fermentus atdala lizosomas membrāna. Membrānu barjeras loma tiek papildināta ar dažādiem fermentu inaktivācijās mehānismiem. To sasniedz, piemēram, ar noteikta pH līmeņa uzturēšanu lizosomas iekšienē, kas neaizliet fermentu darbības optimūmam. Apmēram 20% no hidrolāzēm ir inaktivētas, izmantojot to saistību ar membrānu lipīdiem. Pārējā fermentu daļa atrodas lizosomu matērisā, kuru veido mukopolisaharīdi, un tos inaktivē, piemēram, glikozamīnglikonāts. Dažādo hidrolāžu daudzuma attiecība lizosomā ir sugu un šūnu specifiska. Hidrolāžu sastāvs var pat atšķirties vienas šūnas ietvaros. Lizosomām piemīt spēja ātri pārīet aktīvā stāvoklī. To nodrošina lizosomu membrānu receptoru sistēma. Hidrolāzes aktīvē, samazinot pH.

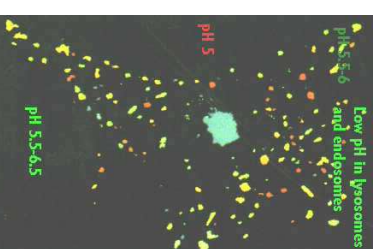


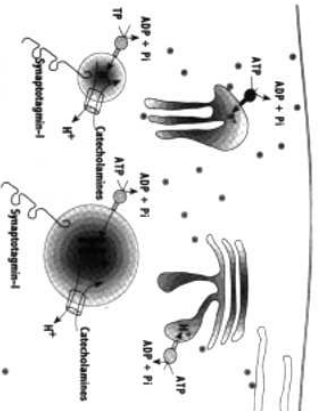
Kāmiņu olīšūnas. Lizosomas krāsotas ar sarkano LysoTracker Red DND-99, (Molecular Probes # L-7528). Mitochondriji krāsoti ar zaļi ar MitoTracker Green FM (Moleculār ar Probes # M-7514). Kodols - zils, ar Hoechst 33342 (Molecular Probes # H-1399).

<http://dtp.kennedy.edu/projects/cell/linnages3.htm>

Prokariotu šūnās hidrofiliska sistēma ir atšķirīga. Šo sistēmu veido daudzu jaudīgu hidrofilisko fermentu komplekss, kas darbojas periplazmatiskajā telpā, t.i., ārpusšūnas vidē. Šāda sistēma nodrošina prokariotisko šūnu plastisko un enerģētisko maiņu. Bez šīs ārpusšūnas sistēmas, baktēriju šūnas stieņnās vēl ir latentu (neaktīvu) hidrolāžu grupu, kura nodrošina baktēriju šūnas stieņnās sadalīšanu baktēriju vairošanās procesā. Šāda veida hidrolāzes ir arī augu šūnu stieņnās. Tur latentās hidrolāzes aktīvizē, mainot pH līmeni šūnu stieņnās. Augu šūnās lizosomu lomu var spēlēt arī centrālā vakuola. Tomēr gadījumos, kad šūnas sadalās, var novērot ķermenīšus, kas atgādina lizosomas. Līdz ar to var redzēt, ka lizosomas ir visvairāk raksturīgas dzīvnieku šūnām.

Lizosomas - sarkanās (PH5). Endosomas(lizosomas) - zilas un zaļās (PH 6).
Molecular Biology of the Cell by Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and James D. Watson, Garland Publishing, NY 1994.





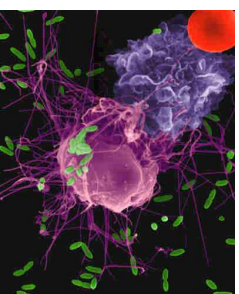
http://neuroscience.med.uc.edu/MAGES/Dean_07f3s1f

Lizosomu fermentus sintezē granulārais endoplazmatiskais tīds. Pēc tam tie pārvietojas uz Golģi aparātu, kur notiek to "procesings". No Golģi aparāta tiek eksportētas nelielas vezikulas, kuras sauc par primārajiem lizosomām. Tās dažkārt veic iekšējās gremošanas funkcijas vai eksportē sekretorus produktus. Šāds fermentu eksports notiek, kad, piemēram, kaulandi nomaina skrimšāndus. Analogska parādība arī ir, kad tiek noārdīti bojātie kaulandi. Šāda veida lizosomas ir raksturīgas osteoklastu šūnām. Lizosomas nodrošina trīs šūnas procesus - heterofāģijas, autofāģijas un autolīzes, norisi.

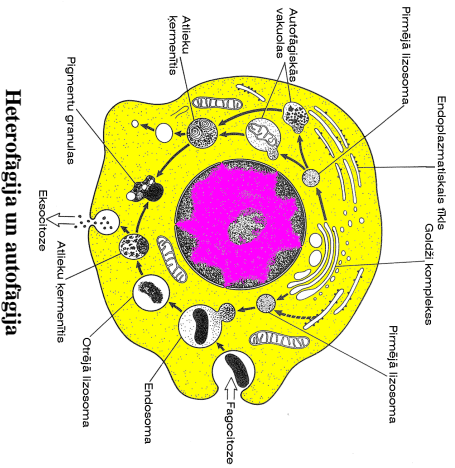
Heterofāģija

Heterofāģijas procesā endosomas, t.i., vezikulas, kas satur no šūnas ārpusē nākošās vielas, saplūst ar pirmējām lizosomām. Šādas lizosomas sauc par otrējām vai sekundārām lizosomām. Otrējās lizosomas aktīvējās hidroītiskie fermenti, un lizosomu saturs tiek sadalīts. Dažiem vienkārtšāķajiem organismiem, tādiem kā amēbas, endocitoze ir galvenais vielu iegūšanas veids. Citos gadījumos tas var izplīst arī aizsargfunkciju. Piemēram, specializētie leikocīti satver un sagremo organisma nonakūšās baktērijas. Mugurkaulniekiem var izdalīt divu tipu elementus - mikrofāģus un makrofāģus. Mikrofāģi satur lielu skaitu pirmējo lizosomu. Peritērijā esošās lizosomas spēj izkļūt no šūnas kopā ar citoplazmas fragmentiem. Šajā procesā piedalās aktīna-miozīna fibrilārā sistēma. Savukārt lizosomas no šūnas centra uz perifēriju pārvieto mikrocaurules.

Makrofāģi



Makrofāģis-pūrpurkrāsas baktērijas-zaļas.
www.bacter-globe.net/13d1.com/

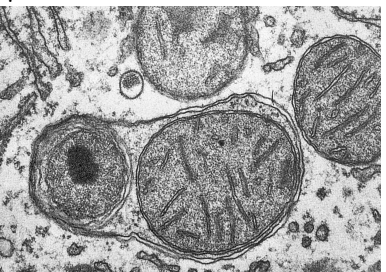


Heterofāģija un autofāģija

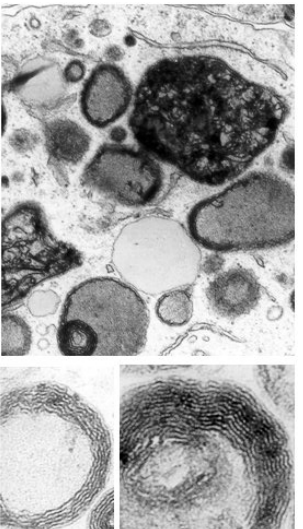
Makrofāģiem neaktīvajā stāvoklī ir salīdzinoši neliels lizosomu skaits. Tācu, kad šūna tiek aktivēta, tad ļoti strauji notiek lizosomālo olbaltumvielu sintēze, un palielinās lizosomu skaits. Hidroītiskie fermenti aktivizējas un atbrīvojas, līdz ar to sadalot arī pašu šūnu. Tādējādi makrofāģu lizosomas ir īsasistītas adaptīvas imunitātes nodrošināšanā. Otrējo lizosomu var saukt arī par gremošanas vakuolu. Sagremojamais produktus ņem no citoplazmas, tomēr daļa no vielām paliek nesadalītā veidā. Otrējo lizosomu, kura satur lielu daudzumu nesadalītā veidā. Otrējo lizosomu, kura satur lielu daudzumu parasti tiek transportēti plazmatiskās membrānas virzienā no to saturu izvīzē no šūnas. Dažos šūnu tipos, piemēram, aknās, šādi atlieku ķermeņi var arī uzkrāties.

Autofāģija

Par autofāģiju sauc procesu ar kura palīdzību šūna sadala tai nevēlamdzīgās un bojātas struktūras. No sākuma šādu struktūru ietver vienkārša membrāna, kas atdalās no gludā endoplazmatiskā tīkla. Pēc tam membrānu sistēma saplūst ar pirmējo lizosomu. Tā rezultātā veidojas otrējā lizosoma vai autofāģiskā vakuola, kurā bojātas struktūras tiek sadalītas

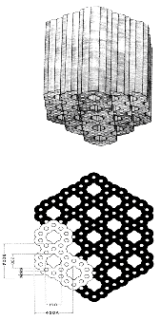


Autofāģiskā vakuola ar mitohondrijiem.

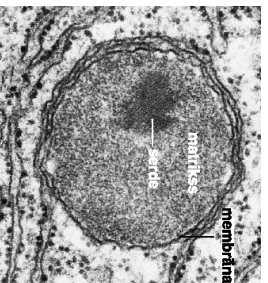


Krievajā pusē fibroblastu šūna, kas kultivēta vidē ar azirromicīnu un rāda elektronbīvūs ieslēgumus lizosomas membrānas tuvumā. Lielāka palielinājuma pa labi var novērot, ka tie sastāv no membrānām.

Peroksissomas.



Katalāzes kristāla uzbuve.



Peroksissoma nienu šūnās.

Šādā veidā šūnās nomainās novecojušie vai bojātie organeli, membrānas, ribosomas, mitohondriji u.c. Autofāģija šūnās ir tipiska parādība, jo lielāko organeli, tādu kā mitohondriji, dzīves laiks ir dažas dienas, bet olbaltumvielas dzīves laiks ir dažas stundas vai vienu diennakti. Autofāģiju visbiežāk var novērot šūnās, kurās notis reorganizācija, kas ir saistīta ar diferenciāciju vai arī pēc šūnu paklausšanas stresa apstākļiem.

Mikroķermenīši

Jau kopš sešdesmito gadu sākuma ir pazīstamas nelielas ovālas šūnas organelas, kuras nosauca par mikroķermenīšiem. Taču, atbilstoši to pamatfunkcijai, tās tiek sauktas arī par peroksissomām. To lielums svārstās starp 0,3 - 2 μm. Neskatoties uz savu plašo izplatību, mikroķermenīši ir sastopami tikai noteiktu veidu šūnās. Zirdītajiem - aknās un nierēs, augos - lapās un krāģaudos. Mikroķermenīšus aptver viena membrāna, un parasti tos piepilda samērā amorfs matricas. Dažos šūnu tipos mikroķermenīšu matricā ir bīva kristāliska serde (kodols). Eksistē vairāki mikroķermenīšu tipi, un katrs no tiem ir saistīts ar primīvu metabolisko reakciju kopumu. Var izdalīt dzīvnieku peroksissomas, augu lapu peroksissomas, gliksosomas, gliksosomas un hidrogenosomas.

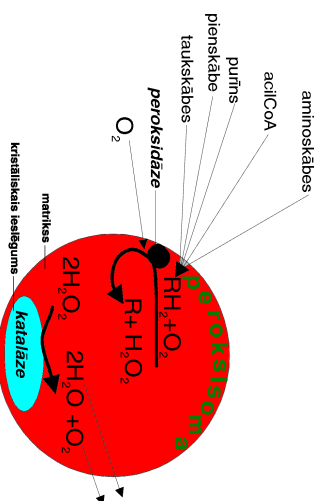
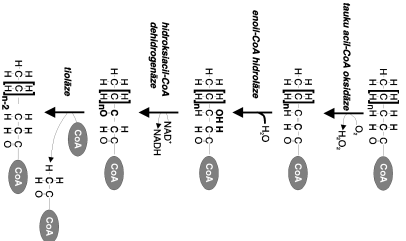
Tas ir visizplatītākais mikroķermenīšu tips. Nosaukums ir radies no udeņraža peroksīda, kurš peroksissomās ir galvenais starpprodukts oksidatīvajā metabolismā. Udeņraža peroksīds rodas lielas fermentu grupas darbības rezultātā. Šos fermentus sauc par H tipa oksidāzēm. Tie ir vairāku flavoproteīnu vai arī varu saturošu olbaltumvielu kompleksi. Tie izmanto molekūlāro skābekli kā elektronu akceptoru un to reducē līdz udeņraža peroksīdam. Šo reakciju elektronu donori var būt aminoskābes, acilkoferments A, tauku atvasinājumi, purīni un daži ogļhidrātu metabolisma starpprodukti, tādi kā pienskābe.

Ūdeņražā peroksīds, kas ir radies peroksisomās, tālāk tiek metabolizēts ar fermenta katalāzes starpniecību. Katalāze reducē ūdeņražā peroksīdu līdz ūdeņim. Par elektronu donoru var izmantot vairākas neielas molekulas, tādas kā etanols, metanols, skidrskābe. Gadījumos, kad trūkst šādu molekulu, par elektronu donoru kalpo pats ūdeņražā peroksīds. Šī shēma ir ārkārtīgi vienkārša, saīsdzīvējumā ar mitochondriālo elpošanu. Rezultāts abos gadījumos ir vienāds - tiek oksidēti noteikti produkti, kam seko skābekļa un ūdens atjaunošana. Tāču, ja mitochondrijs lielākā daļā no atbrīvotās enerģijas tiek izmantota ATF sintēzei, tad peroksisomās tā izdalās kā siltums.

Taukskābju oksidācija peroksisomās

Taukskābju oksidācija peroksisomās noris līdzīgi kā mitochondrijos. Tāču, atšķirībā no mitochondrijem, aktīvāk noris tādu taukskābju oksidācija, kas ir garākas par 10 oglekļa atomiem. Nereti sāsinātās taukskābes pēc tam tiek transportētas uz mitochondrijiem tālākai oksidēšanai.

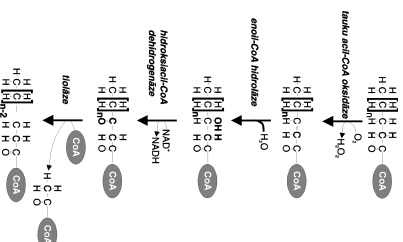
Tālākajos etapos daļa no brīvās enerģijas tiek uzkrāta reducētājā NADH, kas bieži tiek transportēts uz mitochondrijiem un izmantots ATF sintēzei. Oksidācijas gala produkts ir tauku acil-CoA, kas ir sašināts par diviem oglekļa atomiem. Taukskābes oksidācija var atkārtoties līdz tā ir pārveidota par acetiil-CoA. Ja oksidējamai taukskābei bija nepāra skaits oglekļa atomu, tad izveidojas savienojums, kas satur 5 oglekļa atomus - acetiil-CoA, kam pievienota 3 C atomus saturoša propionil grupa.



Peroksisomas darbības shēma.

Peroksisomas taukskābju oksidācija sākas ar taukskābju importu no citosola.

Transportējot taukskābi caur membrānu, tai tiek pievienots acil-CoA. Pirmajā reakcijā tauku acil-CoA oksidāze izmanto skābekli kā elektronu akceptoru un izveido enoīl-CoA. Savukārt ūdeņražā peroksīdu, kas veidojas reakcijā, sadala katalāze. Visa brīvā enerģija šajā reakcijā atbrīvojas siltuma veidā.



Dzīvnieku peroksisomas

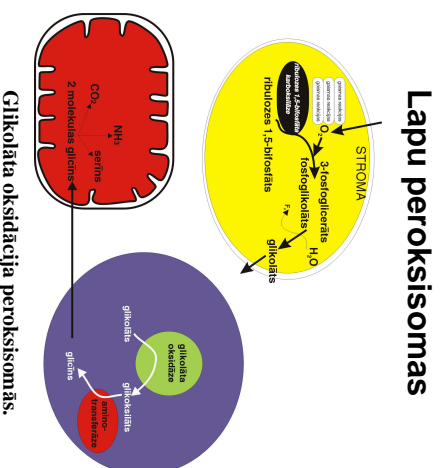
Mugurkaulnieku peroksisomām parasti ir mazāks fermentu skaits, piemēram, ir izzdudis glikosilāta cikls. Tās izpilda svarīgas funkcijas: 1) peroksisomas ir iesaistītas dažos lipīdu metabolisma ceļos (holesterīna veidošanā); 2) piedalās aminoskābju sadalīšanā, tai skaitā var sadalīt arī D aminoskābes, kas ir raksturīgas baktērijām; 3) piedalās purīnu katabolismā; 4) alkalohola metabolisma aknu šūnās.

Peroksisomas nenodrošina šūmas ar enerģiju, bet siltumam, kas izdalās, var būt liela fizioloģiska nozīme. Uzskata, ka Driņķie taukauti, kuri palīdz norvēģu žurkām pārciest ziemas aukstumu, savu termotabilitāti nodrošina, izmantojot peroksisomas. Peroksisomām ir būtiska loma, realizējot noteiktu fosfolipīdu sintēzi. Peroksisomu trūkumu mērēs un aknās sauc par Celvēģera slimību. Jaundzimušie ar šo ģenētisko slimību dzīvo tikai dažus mēnešus. Zemākajiem dzīvniekiem un viensīņiem peroksisomas ir vēl daudzveidīgākas un nozīmīgākas.

Augu peroksisomas

Augos mikroķermenīši specializējas dažādās metaboliskās funkcijās. Glioksisomas ir specializētas peroksisomas, kuras atrodas krājānos un satur taukskābju β-oksidācijas un glioksilāta cikla enzīmus, lai pārveidotu sāļu rezerves lipīdus cukuros. Lapu peroksisomas ir specializētas peroksisomas, kuras atrodas fotosintezējošos audos un piedalās fotorespirācijas reakcijās, to diametrs ir 2 - 5 μm. Tās ir pildītas ar rupju, granuļāru matricu, citas satur nelielus ieslēgumus.

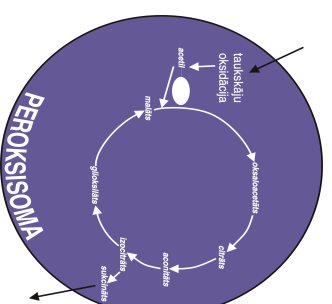
Abi peroksisomu veidi var pāriet viens otrā, t.i., peroksisomas var pārveidoties par glioksisomām un otrādi.



Glikolāta oksidācija peroksisomās.

Glioksisomas

Glioksisomas satur oksidatīvos fermentus, līdzīgi kā pārējās peroksisomas. Tāču tajās atrodas arī glioksilāta cikla (Krebsa cikla variants) fermenti. To uzdevums ir pārveidot taukus par ogļhidrātiem. Sukcīnāta tālāk var pārveidot par glikozi vai transportēt uz mitohondrijiem, kur to izmanto Krebsa ciklā. Augiem šis process palīdz sāktu dīgšanas laikā ar enerģiju bagātos taukus pārveidot ogļhidrātos un tālāk mitohondrijos iegūt ATP enerģiju. Glioksilāta cikls ir sastopams arī zemākajiem dzīvniekiem.



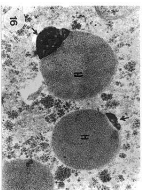
Fotosintezes procesā ribulozes 1,5-bisfosfāts var pievienot arī skābekli. Tādā veidā hloroplastos izveidojas fosfoglikolāta molekulas. Stromas enzīmi to defosforē un pārveido par glikolātu. Glikolāts tiek transportēts ārā no hloroplastiem. Tas tiek lūst peroksisomās un tur to pārveidē par glioksilātu. Glioksilātu tālāk var pārveidot par aminoskābi gliocīnu, kuru tālāk transportē uz mitohondrijiem un pārveidē par serīnu. Šajā procesā izdalās CO₂. Dažos augos fotorespirācija aiziet pat 50% no gaismas enerģijas.

Hidrogenosomas

Daži organismi par elektronu akceptoru izmanto protonu.

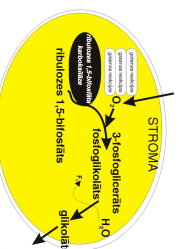


Tas ir neizdevīgs akceptors. Šāds veids eksistē nelielā obligātu anaerobu organismu grupā - klostrīdijām, kuras sintezē ūdeņradi. Starp šiem organismiem ir arī patogēni organismi, kuri izsauc gāzes gangrēnu. Ūdeņradi ražo arī neliela dzīvnieku grupa - trihomonādes, kuras parazītē dzīvnieku dzimnieceļos. Šie parazīti spēj eksistēt gan skābekļa klātbūtnē, gan bez tā. Anaerobos apstākļos tie apmierina savas enerģētiskās vajadzības ar specifisku reakciju palīdzību, kur pirovīnogskābe oksidējas līdz etiķskābei un CO₂, bet aldrovīte elektroni satīst ar ūdeņradi. Aerobos apstākļos trihomonādes pārstrāj ražot metābolīsmu. Pirmhivū, jo šiem organismiem nav mitohondriju. Trihomonādu mikroķermenīšus sauc par hidrogenosomām, t.i., tās satur visu fermentu sistēmu, kuri nodrošina pirovīnogskābes sašķeļšanu, kurā veidojas molekularais ūdeņradis.



Līdzīgi darbojas arī sēņu hidrogenosomas.

Lapu peroksisomas



Glikolāta oksidācija peroksisomās.

Peroksisomu veidošanās un olbaltumvielu imports

Peroksisomas šūnā dalās.

Izveidojas organelas (peroksisomas priekštecī) ar diametru 0,1 μm.

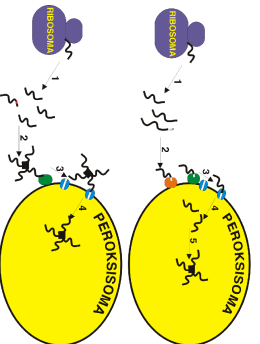
Tās aug un no citoplazmas uzņem olbaltumvielas. Peroksisomu olbaltumvielas sintezē citoplazmas ribosomās. Membrānai nepieciešamos lipīdus peroksisomas saņem no endoplazmatiskā tīkla membrānām.

Olbaltumvielu imports peroksisomās



Konstatēts, ka peroksisomu matricas olbaltumvielām ir divas aminoskābju signālsekvences, kas nodrošina to nokļūšanu organeliā. Pirmais sekvence atrodas molekulas karboksilterminālajā galā. Šī sekvence saglabājas arī pēc olbaltumvielas importa peroksisomā. Sekvenci veido Ser-Lys-Leu. Tātā daudzos gadījumos šajā sekvencē vienas aminoskābes var būt aizvietotas ar citām. Piemēram, raugiem (*Saccharomyces cerevisiae*) katalāzei signālsekvenči veido Ser-Lys-Phe. Otrā signālsekvence atrodas molekulas aminoterminālajā daļā. To veido 26 - 30 aminoskābes. Drīz pēc molekulas nonākšanas peroksisomu matricā, šo signālsekvenči atdala no molekulas. Signālsekvences sākumu veido (Arg/Lys) un (Leu/Me), bet beigu daļu (His/Gln-Leu).

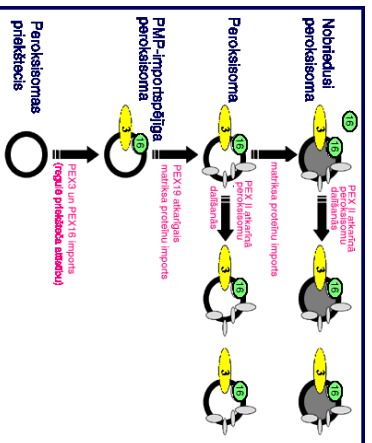
Olbaltumvielu monomēru iekļūšana peroksisomās.



Olbaltumvielu kompleksu iekļūšana peroksisomās.



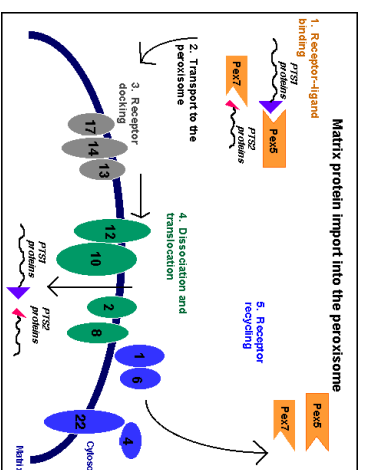
Peroksisomu biogēnēze



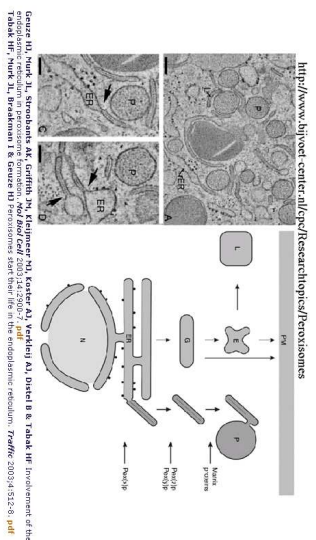
Olbaltumvielu imports peroksisomās

Olbaltumvielas var iekļūt peroksisomās trijos veidos:

- Pirmaajā gadījumā olbaltumvielas monomēri satīstās ar peroksisomas membrānas receptoriem. Tad tie caur translokātoru nokļūst matricā, kur notiek monomēru apvienošanās.
- Otrajā gadījumā, izmantojot receptorus un translokātorus, peroksisomas nokļūst olbaltumvielu kompleksi.



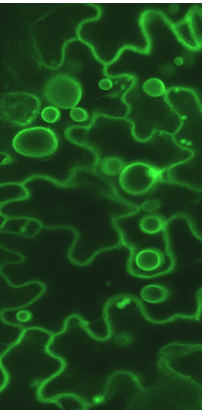
ET un peroksisomu biogēnēze



Vakuolas

Dzīvnieku šūnās ir samērā sīkas vakuolas - fagocitārās, gremošanas un autofāgiskās vakuolas. Šajos gadījumos būtu pareizāk lietot terminu lizosomas. Augu un sēņu šūnās var būt dažāds vakuolu skaits un lielums. To kopējais tilpums var būt starp 20 un 90% no šūnas tilpuma. Augu šūnās, it īpaši parenhīmā un kolehīmā, var redzēt, ka šūnās ir viena liela centrālā vakuola. Vakuola ir ar šūnsulu pildīta un vienkāršu membrānu pārklāta cisterņa. Vakuolu ietverošo membrānu sauc par tonoplastu. Šūnsula ir koncentrētis šķidrums, kas satur minerāl sāļus, cukurus, organiskās skābes, O_2 , CO_2 , pigmentus un daudzveidīgus otrreizēji metabolisma starpproduktus un akritumproduktus. Bieži var konstatēt, ka vienas šūnas ietvaros vakuolām var būt dažādas funkcijas.

Vakuolas augu šūna



Vakuolu subpopulācijas *Arabidopsis thaliana* epidermas šūnās.

Atšķiras to pH un, iespējams, funkcijas.

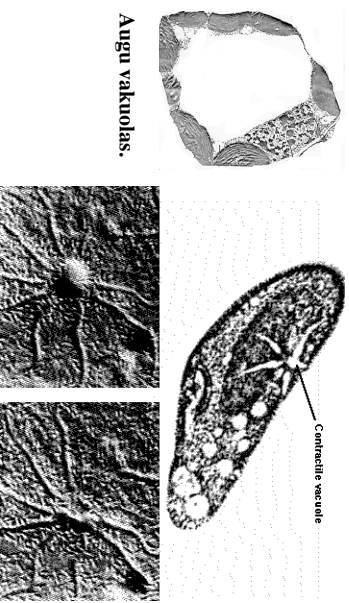
<http://www.brookes.ac.uk/schools/bms/research/molecular/hawes/gfp/pmo/viepage.html>

Vakuolu funkcijas

Vakuolām organismā var izdalīt piecas funkciju grupas:

Vakuolas rada šūnas turgora spiedienu un nodrošina šūnas tūdens režīmu. Ūdens iekļūst vakuolā caur daļēji caurraidīgo tonoplastu osmozes ceļā. Tā rezultātā palielinās vakuolas tilpums, šūnā rodas turgora spiediens, un citoplazma piespiež plazmatisko membrānu pie šūnas sienas. Daži autori uzskata, ka augu šūnu stiešanās vairāk nodrošina osmotiska ūdens uzņemšana, nevis citoskeleta darbība.

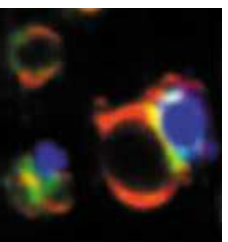
Vakuolu veidi



Augu vakuolas.

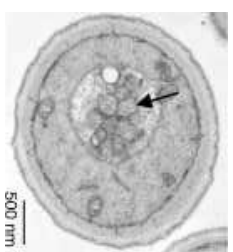
Kontraktilās vakuolas *Paramecium* šūnās

Vakuolas raugu šūnās



1. attēls

•1. attēls: Peroksisomu sadalīšana raugu šūnas *Pichia pastoris* vakuolās. Peroksisoma-zila, vakuola-sarkana.



2. attēls

•2. Attēls: Autofagosomas raugu *Saccharomyces cerevisiae* vakuolās slāpekļa bada ietekmē.

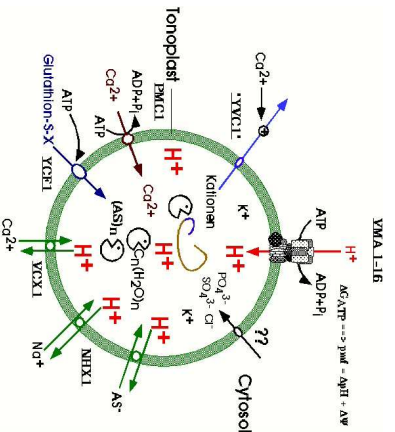
www.grc.utri.edu/programs/2003/amao.htm

Vakuolām piemīt lītiska funkcija. Tas ir tādēļ, ka vakuolas satur hidrolītiskos fermentus, kuri ir līdzīgi lizosomu fermentiem. Līdz ar to vakuolas var darboties analogiski dzīvnieku lizosomām. Šūnai novecojot, tonoplasts pamazām zaudē savas puscaurlaidīgās īpašības, un fermenti, kuri izkļūst no vakuolas, stūmūt šūnas autolīzi.

Angļos un novecojošos vai specializētos audos vakuolām var būt galaproduktu uzkrāšanas funkcija. Vakuolās uzkrājas nevajadzīgās vielas un otrreizējie metabolisma produkti. Piemēram, kalcija oksalāta kristāli. Daži no šiem produktiem izpilda organisma aizsargfunkciju, atbaidot zāldājus. Vakuolās balts emušiņas veidā var uzkrāties arī latekss (augu piensula). Tas ir raksturīgi pieneim, kaučukkokiem un daudzām citām augiem.

Vielu apmaiņa starp vakuolu un citoplazmu

Šūnās notiek ātra un efektīva vielu apmaiņa starp citoplazmu un vakuolu. Vakuolā vielas var iekļūt un izkļūt, izmantojot tonoplasta puscaurlaidīgās īpašības, aktīvā vielu transporta mehānismus vai eksociitozi. Vakuolās var transportēt protonus, neorganisko vielu jonus, cukurus, organiskās skābes un aminoskābes. Šūnu sadalīšanās produkti vakuolās var iekļūt eksociitozes ceļā. Protonu pārnesšanu vakuolā nodrošina ar H^+ pārnesamu saistītā ATFāze, kas atšķiras no chloroplastu un mitochondriju iekšējā membrānā esošajām, kā arī plazmatiskajā membrānā esošajām ATFāzēm. Līdzīgi citām ATFāzēm, tā darbojas kā protonu pumpis, radot transmembrānas potenciālu. Līdz ar to vakuolās tiekšiene ir skābāka un pozitīvi lādēta. Gradients kalpo kā dzinējspēks, lai transportētu metabolītus vakuolās.

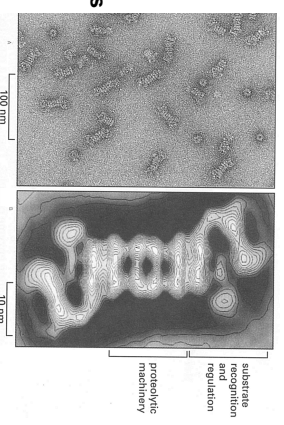


Gandrīz visu šūnu tipu vakuolās notiek barības vielu uzkrāšana. Daži no citoplazmas produktiem var būt uz laiku noglabāti vakuolās un vēlāk savukārt var atkal ieslēgties citoplazmas metabolismā. Pie šādām vielām pieder saharoze, minerālsāļi inulīns, aminoskābes u.c. vielas. Vakuolās šūnsula angļos un ziedos var saturēt daudzus pigmentus, tādos kā antociānus, kuriem ir sarkana, zila vai purpursarkana krāsa, un radniecīgus savienojumus ar dzeltenu vai krēmkrāsu. Šie savienojumi lielā mērā nosaka ziedu, lapu un augļu krāsu, kas kalpo augu apputeksnēšanai un seklu izplatīšanai.

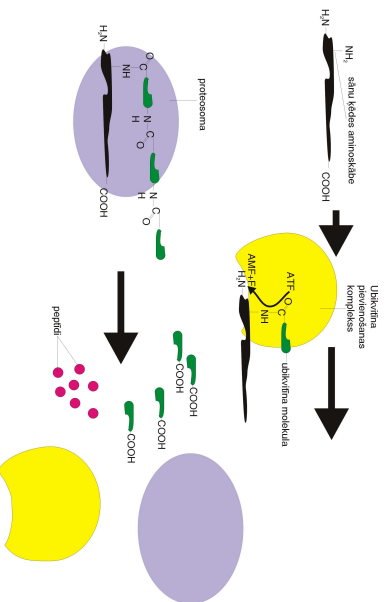
Gadījumos, kad augi uzņem pārliecinātus sāļu daudzumus, vakuolās palielinās sāļu koncentrācija. Neorganisko vielu transports caur tonoplastu nosaka šūnu turgošcētās īpašības. Tomēr, neskatoties uz šī procesa lielo nozīmi, vielu transporta mehānismi vēl ir neskaidri. Vakuolās pret koncentrācijas gradientu var transportēt kalciju, sulfātu, hlorīda, kalcija un nitrāta jonus. Kalcija jonu uzkrāšana vakuolās ir viens no mehānismiem, lai samazinātu brīvā kalcija daudzumu citoplazmā. Vairumā gadījumu šo jonu pārnesšanu nodrošina ar H^+ pārnesamu saistītā ATFāze.

Proteosomas

- A - negatīvi iekrāsoti proteosomu kompleksi.
- B - proteosomas uzbūves 3D modelis.

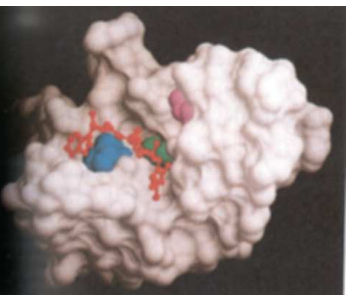


- Lielāko daļu no olbaltumvielām sadala citoplazmā izvietotos olbaltumvielu kompleksos - proteosomās.
- Proteosomu diametrs ir 25 nm un tās ir veidotas no vairākām proteāzēm. Proteosomu viena puse ir spējīga pievienot kļūdainas uzbuves olbaltumvielai, savukārt otra puse nodrošina bojāto olbaltumvielu peptīdu saišu pārraušanu. Proteosomas pievienojas pie olbaltumvielām, kurām ir pievienota neliela olbaltumviela - ubikvitīns.



RNāze

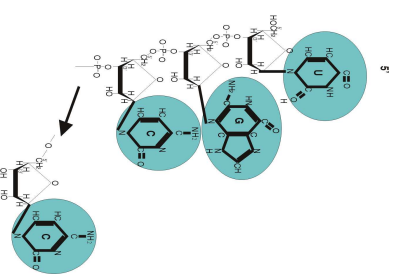
- RNāzes ir sastopamas kodolā, mitochondrijos, hloroplastos, citosolā, lizosomās. Viena no vislabāk izpētītajām RNāzēm ir ribonukleāze A. Tas ir neliels 13,7 kD liels enzīms. To sekretē aizkuņģa dziedzeris. Ribonukleāze A katalizē fosfodieстера saišu hidrolīzi RNS molekulās.



- Proteosomas pievienojas pie olbaltumvielām, kurām ir pievienota neliela olbaltumviela - ubikvitīns. Pēc tam olbaltumviela tiek pakāpeniski pārvietota uz proteosomas centrālo daļu, kurā proteāzes veic peptīdsaišu pārraušanu. Parasti ubikvitīns kovalenti saistās ar olbaltumvielām, kurām nav tipiskās molekulas trīsdimensionālās struktūras.

- Pievienošanu nodrošina ubikvitīna konjugēšanas enzīmi, kuriem ir apazīšanas subvienība. Tie spēj saistīties ar denaturētām, kļūdaini sakārtotām, oksidētām vai arī neatbilstošas aminoskābes saturētām olbaltumvielu molekulām. Pirmajā etapā ubikvitīna konjugēšanas enzīmi pārbauda olbaltumvielu un saistās ar to.
- Otrajā etapā pie molekulas pakāpeniski tiek pievienotas ubikvitīna molekulas. Molekulu pievienošanai tiek izmantota enerģija, ko dod ATF hidrolizēšana par AMF. Ubikvitīna molekulas pievieno pie olbaltumvielas sānu ķēdes amino grupas. Trešajā etapā komplekss pievienojas pie proteosomas. Proteosoma atdala no kompleksa ubikvitīnu, bet olbaltumvielu sadala nelielos peptīdos.

- Reakcija sākas ar RNS piesaistīšanu katalītiskajai RNāzes daļai. Tad ribonukleāzes A aminoskābes piesaistīta protonu no RNS ribozes molekulas. Tad tiek pārrauta saite starp ribozes molekulas 5' vietā novietoto fosforu un skābekli.



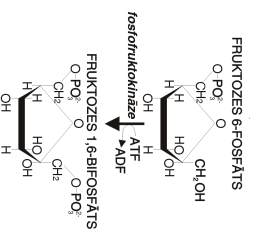
Glikolīze

- Visos prokariotū un eikariotū šūnu tipos ATF enerģijas iegūšanai izmanto glikozi. Procesu, kurā sadala glikozes molekulas, sauc par glikolīzi. Glikolīzes procesā tiek veiktas 9 secīgas fermentatīvas reakcijas. Procesa summāra formula ir sekojoša:

$$F_n + neorganiskais\ fosfāts$$

$$+ 2ATF$$
- F_n - neorganiskais fosfāts
- Glikolīzes gaitā katras molekulas sadalīšanai sākotnēji hidrolizē 2 ATF molekulas. Vēlāk glikolīzes gaitā tiek reducētas 2 NAD^+ molekulas un izveidotas 4 ATF molekulas.

- Glikolīze sākas ar ATF molekulas sadalīšanu un fosfāta grupas pievienošanu glikozes molekulai, veidojot glikozes 6-fosfātu. Glikoze pati ir samērā neaktīva, tāpēc šajā procesā iesaistās ferments - *heksokināze*. Heksokināzes aktivitāti regulē reakcijas produkta, glikozes 6-fosfāta, koncentrācija šūnā. Ja ir kavēti tālākie glikolīzes etāpi, paliecinās glikozes 6-fosfāta koncentrācija un tas inhibē heksokināzes aktivitāti.

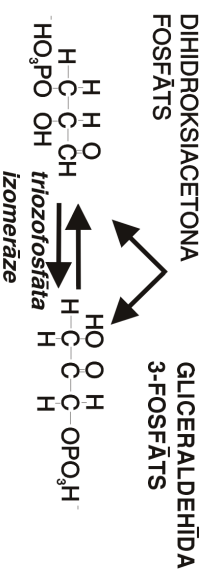
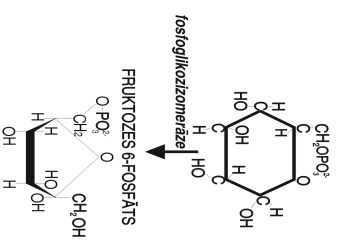


Nākamajā etāpā hidrolīzē vēl vienu ATF molekulu un pievieno fosfāta grupu fruktozes 6-fosfātam, izveidojot fruktozes 1,6-difosfātu. To veic *fosfotransferāze*. So fermentu regulē ATF koncentrācija šūnā. Ja palielinās ATF koncentrācija, tad fermenta darbība tiek inhibēta. Tas noved pie tālāko glikolīzes reakciju apstāšanās un samazina substrātu ATF sintēzi mitohondrījos.

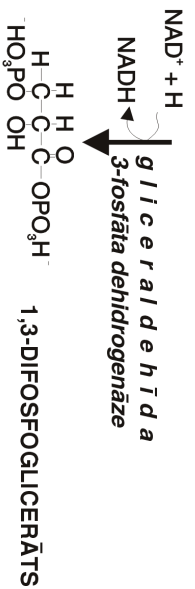
Līdzīgi fosfotransferāzes aktivitāti regulē arī citrāta, $NADH$ un citu oksidatīvā metabolisma starpproduktu daudzums citoplazmā. Savukārt šī fermenta aktivitāti palielina augsta ADP koncentrācija. Abās reizes ATF hidrolīzē atbrīvotā enerģija tiek uzkrāta cukura molekulā. Līdz ar to tā ir ķīmiski tik aktīva, ka tālākās reakcijas varētu norisināties bez fermentu klātbūtnes.

Aninācija:
<http://www.northland.cc.mt/as/biology/biology111/laminations/glycolysis.html>
<http://www.glycolysis.com/111/laminations/glycolysis.html>

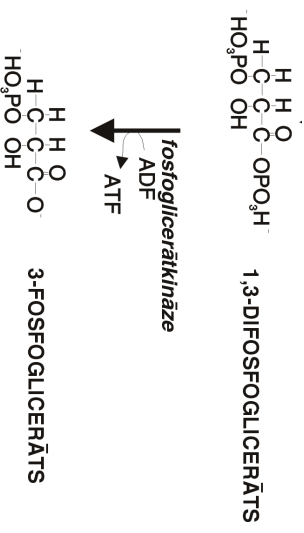
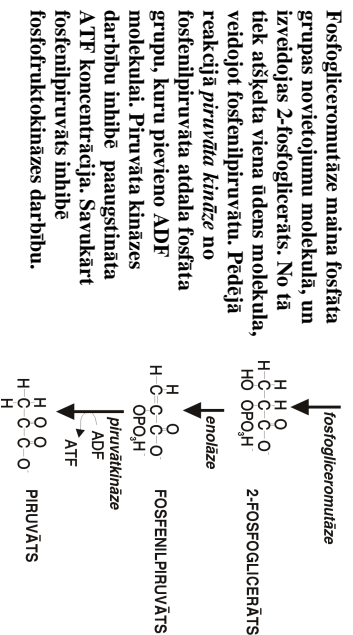
- Glikozes 6-fosfāts samērā viegli iesaistās nākamajā reakcijā, kurā tiek mainīta molekulas struktūra, veidojot fruktozes 6-fosfātu.



Nākamajā rekcijā fruktozes 1,6-bifosfātu sadala divās dažādās molekulās: glicerāldehīda 3-fosfātā un dihidroksiacetona fosfātā. Katra no tām satur 3 ogļekļa atomus. *Triozofosfāta izomerāze* pārverš dihidroksiacetona fosfātu par glicerāldehīda 3-fosfātu.



Gliceraldehīda 3-fosfāta dehidrogenāze pārveido gliceraldehīda 3-fosfātu par **1,3-difosfoglicerātu**. Šajā reakcijā daļa no gliceraldehīda 3-fosfāta molekulas enerģijas tiek izmantota, lai pievienotu no citoplazmas neorganiskā fosfāta grupu, atbrīvotu 2 elektronus un 2 ūdeņraža jonus. Viens no H^+ joniem nokļūst citoplazmā, bet otrs tiek izmantots NAD^+ reducēšanai par NADH .



- No **1,3-difosfoglicerāta** atdala vienu fosfāta grupu, un izveidojas **3-fosfoglicerāts**. Brīvā enerģija tiek izmantota, lai šo fosfāta grupu pievienotu **ADF** molekulai, veidojot vienu **ATF** molekulas.

- Glikolīzes gaitā katras molekulas sadalīšanai hidrolizē **2 ATF** molekulas. Vēlāk glikolīzes gaitā tiek reducētas **2 NAD⁺** molekulas un izveidotas **4 ATF** molekulas.