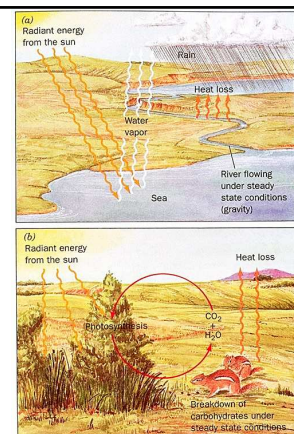
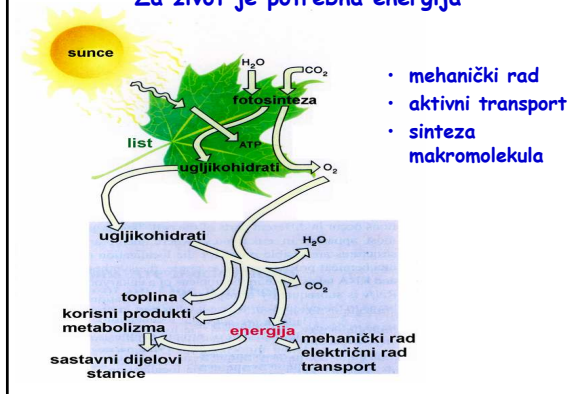


Temeljne postavke metabolizma i prijenosa signala

Živi organizam nalazi se u ustaljenom stanju (steady-state) daleko od točke ravnoteže

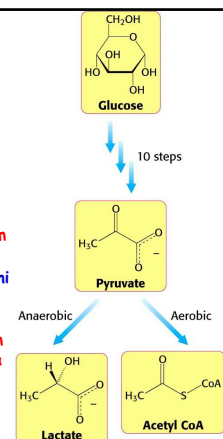


Za život je potrebna energija

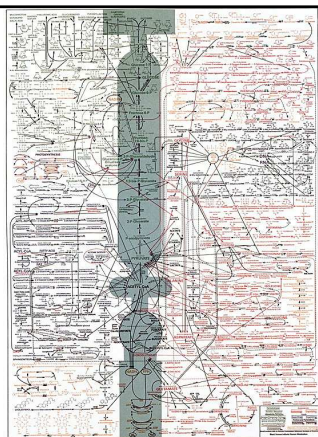


Kemotropni organizmi energiju dobivaju oksidacijom hrane

- energiju koja se oslobađa oksidacijom hrane (egzergone reakcije) nije moguće izravno prenijeti reakcijama koje ju troše (endergone reakcije)
- energija se pohranjuje u specijaliziranim molekulama (ATP, GTP, NADH, FADH₂)
- značajan dio energije pohranjene u hrani oslobađa se u obliku topline (i preko 50%)
- male molekule koje nastaju razgradnjom složenih molekula iz hrane koriste se za izgradnju potrebnih makromolekula



Metabolički putevi koji omogućuju život izuzetno su složeni i međusobno isprepleteni



Metabolizam možemo podijeliti u dva dijela: katabolizam i anabolizam

Katabolizam

- skup metaboličkih putova koji složene makromolekule razgrađuju na manje molekule
- oslobađa se energija
- uglavnom oksidacijski procesi

Anabolizam

- biosinteza složenih makromolekula iz manjih molekula - preteča (prekursora)
- troši energiju pohranjenu u visoko-energetskim molekulama kao što je ATP
- uglavnom se radi o reakcijama redukcije

Svi metabolički putevi moraju udovoljiti dvama uvjetima

1. individualne reakcije moraju biti **specifične**
 - mora dati željene produkte
2. skup reakcija koje čine metabolički put mora biti **termodinamički povoljan**
 - negativna promjena slobodne energije

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

ΔG je određen **prirodom** reaktanata i njihovim **koncentracijama**.

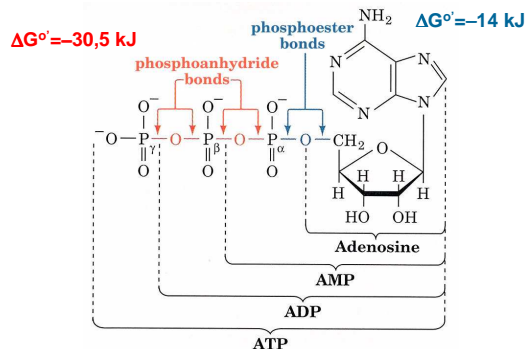
Ukupna promjena slobodne energije **spregnutih reakcija** jednaka je zbroju promjene slobodne energije pojedinih koraka



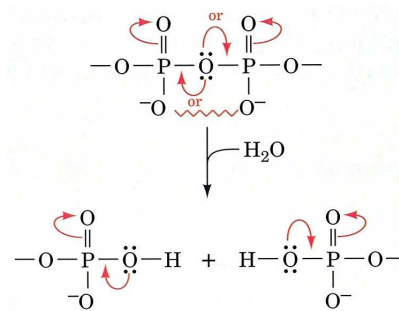
Sprega **energijski nepovoljne** reakcije s **energijski povoljnom** reakcijom može tu reakciju učiniti spontanom.

Reakcije mogu biti povezane zajedničkim reaktantima (B) ili djelovanjem specifičnog enzima koji povezuje inače nepovezane reakcije.

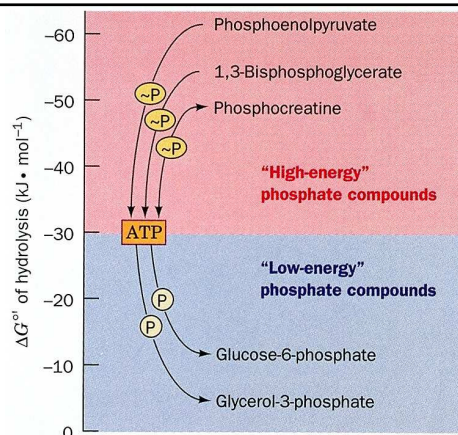
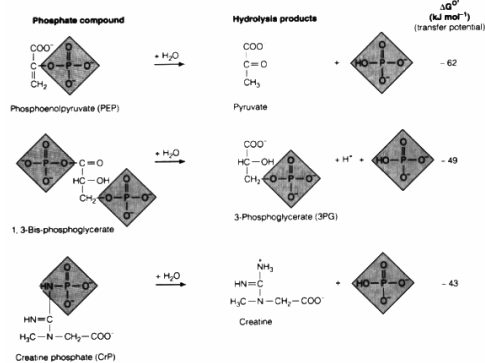
Adenzin-trifosfat (ATP) univerzalna je valuta slobodne energije u biološkim sustavima



Kompeticija rezonancije i odbijanje naboja čini P-P vezu **energijski nepovoljnom**



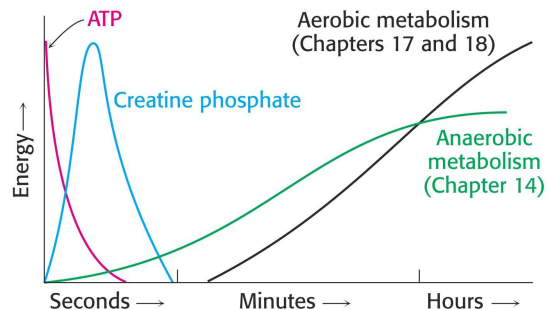
Visokoenergijski fosfatni spojevi imaju visok potencijal prijenosa fosfatne skupine



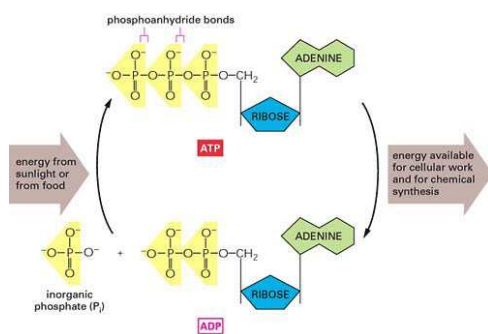
ATP nije molekula koja služi kao spremište energije

- čak i mišićne stanice koje troše najviše energije imaju svega oko 5 μmol ATP po gramu tkiva
- odrasli čovjek dnevno hidrolizira 40 kg (80 mol) ATP
- potrošnja ATP može narasti i do 0.5 kg/min
- ADP nastao hidrolizom ATP odmah se ponovo fosforilira u ATP
 - dio ATP nastaje na račun hidrolize ADP (adenilat-kinaza)
 - nastali AMP važna je signalna molekula u stanicama
 - visokoenergijski kreatin-fosfat važni je pričuveni oblik energije u mozgu i mišićima (kreatin-kinaza fosforilira ADP)

Pričuve visokoenergijskih fosfatnih skupina dostatne su za manje od 1 min mišićne aktivnosti



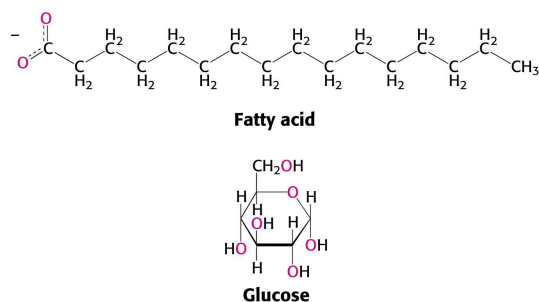
ATP se stalno troši i ponovo sintetizira fosforilacijom ADP



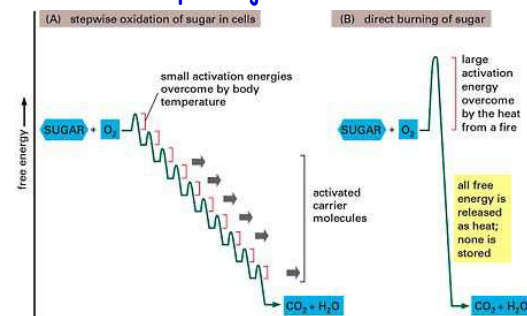
Reducirani atomi ugljika imaju visok potencijal prijenosa elektrona (oksidacije)

	most energy				least energy
	<chem>CH4</chem>	<chem>CH3OH</chem>	<chem>HCHO</chem>	<chem>HCOOH</chem>	<chem>CO2</chem>
	Methane	Methanol	Formaldehyde	Formic acid	Carbon dioxide
$\Delta G^\circ_{\text{oxidation}}$ (kcal mol $^{-1}$)	-196	-168	-125	-68	0
$\Delta G^\circ_{\text{oxidation}}$ (kJ mol $^{-1}$)	-820	-703	-523	-285	0

Masti su bolji izvor energije od šećera jer je ugljik u mastima reduciraniji od ugljika u šećerima

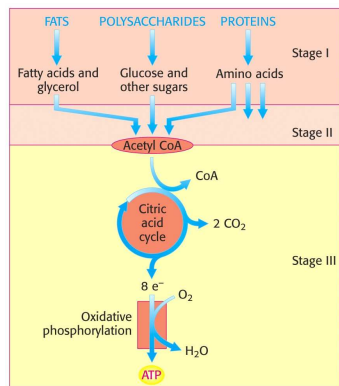


Postupna oksidacija koja se odvija u stanicama omogućava visoko iskorištenje energije pohranjene u hrani

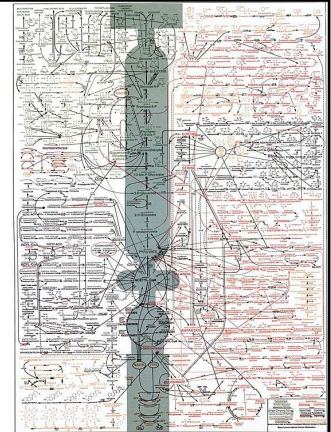


Shematski prikaz katabolizma

Složeni metaboliti kao što su ugljikohidrati, masti i proteini razgrađuju se prvo na monomerne jedinice (većinom glukozu, aminokiseline, masne kiseline i glicerol), a zatim do acetil-CoA koji ulazi u ciklus limunske kiseline.

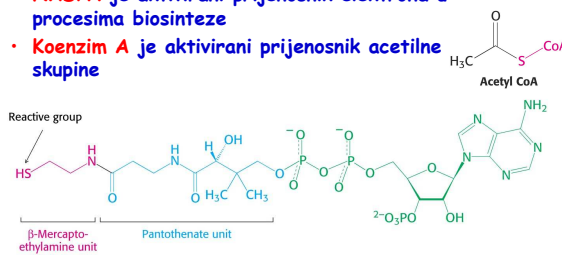


Metabolizam je vrlo složen, no svi se putovi temelje na nekim zajedničkim principima

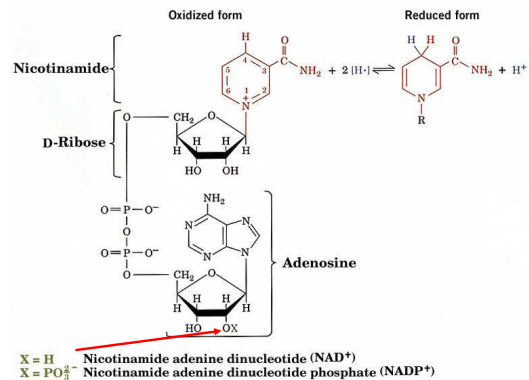


Primjena aktiviranih prijenosnika jedan je od temeljnih biokemijskih principa

- **NADH i FADH₂** su aktivirani prijenosnici elektrona u procesu oksidacije hrane
- **NADPH** je aktivirani prijenosnik elektrona u procesima biosinteze
- **Koenzim A** je aktivirani prijenosnik acetilne skupine



Struktura i reakcija reakcije NAD⁺ i NADP⁺



Reakcije flavin-adenin dinukleotida (FAD)

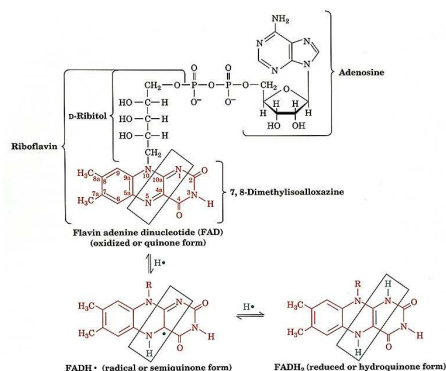
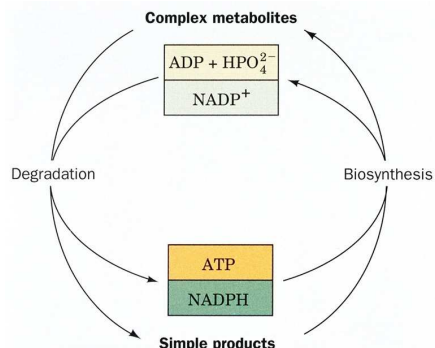


TABLE 14.2 Some activated carriers in metabolism

Carrier molecule in activated form	Group carried	Vitamin precursor
ATP	Phosphoryl	
NADH and NADPH	Electrons	Nicotinate (niacin)
FADH ₂	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
FMN	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
Coenzyme A	Acyl	Pantothenate
Lipoamide	Acyl	
Thiamine pyrophosphate	Aldehyde	Thiamine (vitamin B ₁)
Biotin	CO ₂	Biotin
Tetrahydrofolate	One-carbon units	Folate
S-Adenosylmethionine	Methyl	
Uridine diphosphate glucose	Glucose	
Cytidine diphosphate diacylglycerol	Phosphatidate	
Nucleoside triphosphates	Nucleotides	

Note: Many of the activated carriers are coenzymes that are derived from water-soluble vitamins (Section 8.6.1).

ATP i NADPH su izvori slobodne energije za reakcije biosinteze

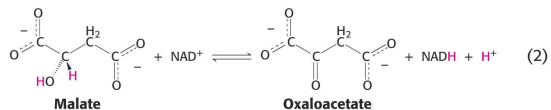
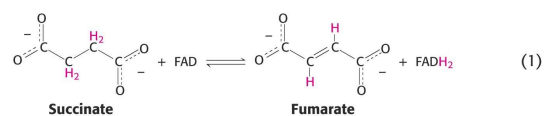


Omjer koncentracija oksidiranih i reduciranih koenzima određuje smjer oksidoredukcijskih reakcija

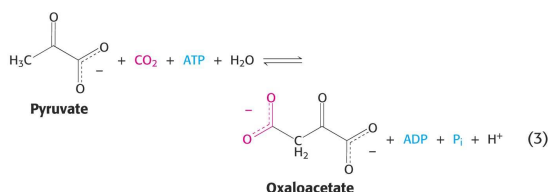
- suma koncentracija NAD^+ i NADH je oko $10\mu\text{M}$
- omjer koncentracija $\text{NAD}^+ : \text{NADH}$ je oko $500 : 1$
 - potiče redukciju (primanje elektrona) NAD^+
 - NAD^+ je idealni koenzim za reakcije oksidacije
- suma koncentracija NADP^+ i NADPH je oko $1\mu\text{M}$
- dominantan je reducirani oblik
 - potiče oksidaciju (otpuštanje elektrona) NADPH
 - NADPH je idealni koenzim za reakcije redukcije

Čitav metabolizam sačinjen je od svega nekoliko tipova kemijskih reakcija

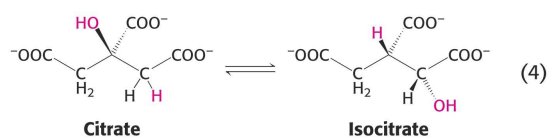
1. Oksidoredukcijske reakcije



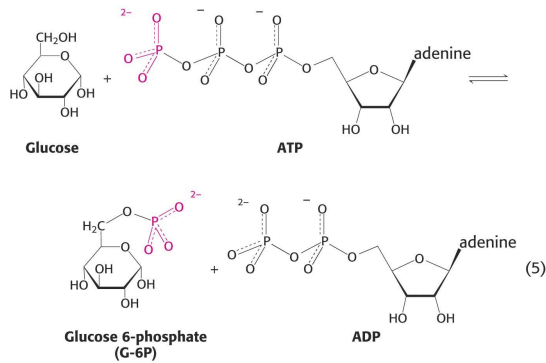
2. Reakcije ligacije



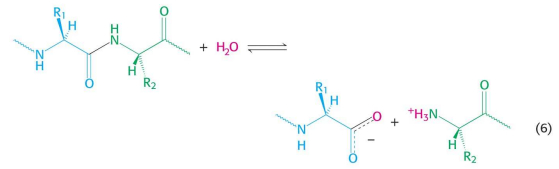
3. Reakcije izomerizacije



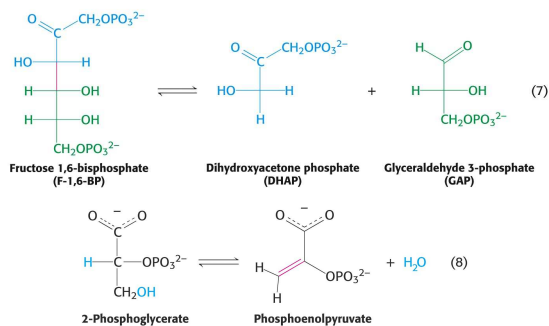
4. Reakcije prijenosa skupine



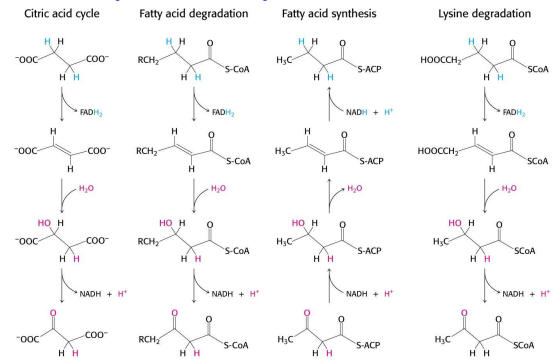
5. Reakcije hidrolize



6. Reakcije adicije na dvostruku vezu ili uklanjanja skupine uz stvaranje dvostruke veze



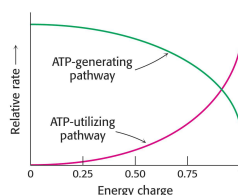
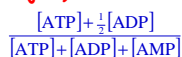
Različiti metabolički putovi često koriste iste sljedove reakcija (metaboličke motive)



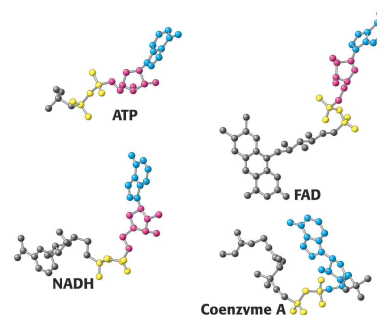
Metabolički putovi regulirani su na tri temeljna načina:

1. Količinom raspoloživog enzima
 - Regulacija genske ekspresije
2. Katalitičkom aktivnošću enzima
 - regulacija inhibicijom povratnog spregom
 - regulacija reverzibilnom kovalentnom modifikacijom
3. Dostupnošću supstrata
 - kompartmentalizacija

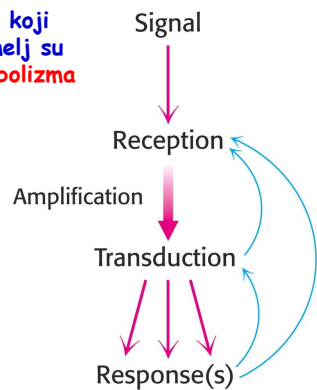
Mnoge reakcije regulirane su i energijskim stanjem (nabojem) stanice



Ključna uloga adeninskih dinukleotida u aktiviranim prijenosnicima podržava teoriju RNA kao evolutivne preteče i DNA i proteina



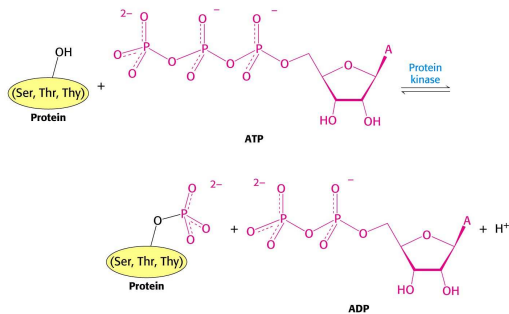
Metabolički putovi koji prenose signale temelj su informacijskog metabolizma



Signalne molekule reguliraju brojne funkcije

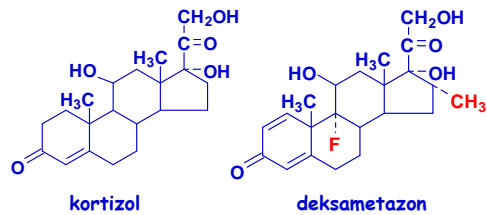
1. Održavanje homeostaze
 - probavu i raspodjelu hrane
 - inzulin i glukagon održavaju razinu glukoze
 - održavanje homeostaze vode i elektrolita
2. Odgovor na podražaje izvana
 - zacjeljivanje rana
 - odgovor na infekciju virusima i bakterijama
 - odgovor na stres
 - katekolamini, kortikosteroidi
3. Uspostavljanje cikličkih i razvojnih procesa
 - spolni hormoni reguliraju spolnu diferencijaciju, sazrijevanje, menstrualni ciklus i trudnoću
 - cirkadieni ciklusi

Jedan od osnovnih načina prijenosa signala unutar stanice je fosforilacija



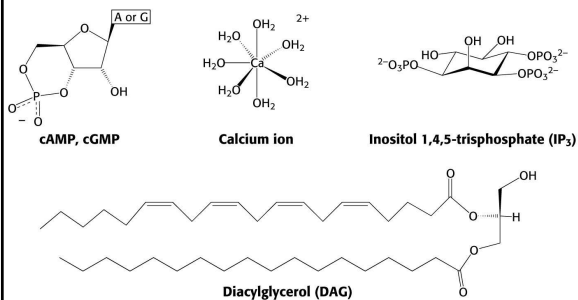
Protein-fosfataze uklanjaju fosfatne skupine i tako prekidaju signalni proces.

Samo mali broj signalnih molekula može proći kroz staničnu membranu



Membranski receptori prenose informaciju sa stanične površine u unutrašnjost stanice.

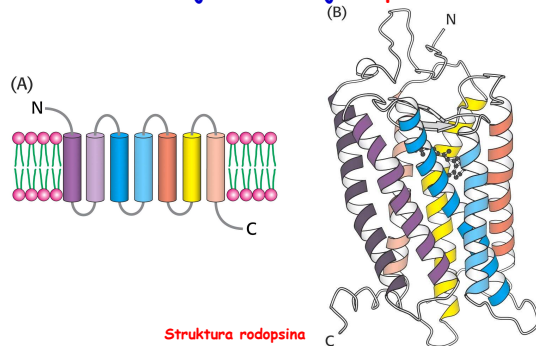
Drugi glasnici su unutarstanične molekule čija se koncentracija mijenja kao odgovor na signale iz okoline



Razmjerno malen broj drugih glasnika prenosi velik broj različitih informacija

- tri komponente doprinose točnoj interpretaciji signala
 - svaka stanica ima receptore samo za određen broj hormona
 - vezanje hormona uzrokuje specifične promjene
 - unutarstanični enzimi specifično reagiraju na druge glasnike
- interpretacija signala koji stiže na membranu je svojstvo stanice i različite stanice mogu potpuno drugačije tumačiti isti signal

Receptori sačinjeni od sedam transmembranskih uzvojnica (7TM) nakon vezanja liganda mijenjaju konformaciju i aktiviraju G-proteine



Porodica 7TM receptora ima više tisuća članova koji prenose različite signale

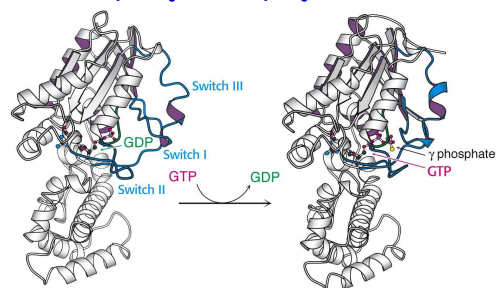
TABLE 15.1 Biological functions mediated by 7TM receptors

- Smell
- Taste
- Vision
- Neurotransmission
- Hormone secretion
- Chemotaxis
- Exocytosis
- Control of blood pressure
- Embryogenesis
- Cell growth and differentiation
- Development
- Viral infection
- Carcinogenesis

G-(GTP)-proteini

- svi G-proteini sastoje se od α , β , i γ podjedinica
- nakon vezanja hormona na vanjskoj strani membrane dolazi do promjene konformacije α -podjedinice na unutarnjoj strani membrane
- dolazi do otpuštanja vezanog GDP i vezanja GTP
 - promjena konformacije uzrokuje disocijaciju α -podjedinice s $G\beta\gamma$ kompleksa i ona difundira po unutrašnjoj strani membrane
- α -podjedinica veže se na enzim (primjerice adenilat-ciklazu) i mijenja njegovu aktivnost
 - signal je kratkoživi jer α -podjedinica ima GTPaznu aktivnost i vrlo brzo hidrolizira GTP u GDP te ponovo ulazi u $G\beta\gamma$ kompleks

Vezanje GTP uzrokuje konformacijsku promjenu $G\alpha$ podjedinice



Aktivirani membranski receptori kataliziraju izlazak GDP i ulazak GTP u G-protein

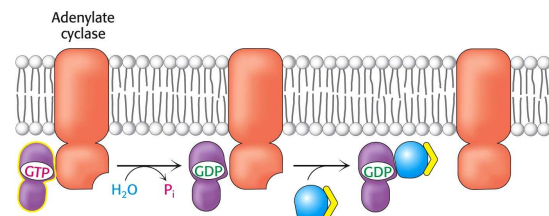
Aktivirani G-proteini prenose signal vežući se na druge proteine

TABLE 15.2 G-protein families and their functions

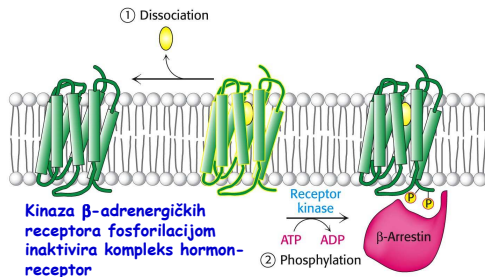
G α class	Initiating signal	Downstream signal
G α_s	β -Adrenergic amines, glucagon, parathyroid hormone, many others	Stimulates adenylate cyclase
G α_i	Acetylcholine, α -adrenergic amines, many neurotransmitters	Inhibits adenylate cyclase
G α_t	Photons	Stimulates cGMP phosphodiesterase
G α_q	Acetylcholine, α -adrenergic amines, many neurotransmitters	Increases IP $_3$ and intracellular calcium
G α_{13}	Thrombin, other agonists	Stimulates Na $^+$ and H $^+$ exchange

Source: Z. Farfel, H. R. Bourne, and T. Iiri. *N. Engl. J. Med.* 340(1999):1012.

G-proteini se spontano deaktiviraju hidrolizirajući GTP u GDP



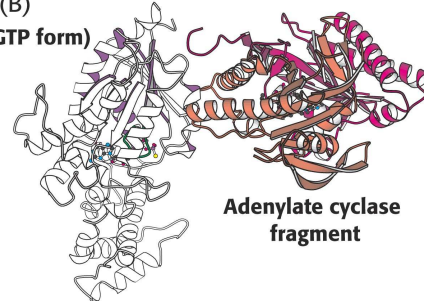
Osim nedostatka signala, 7TM receptore mogu inaktivirati i specifični regulatorni proteini



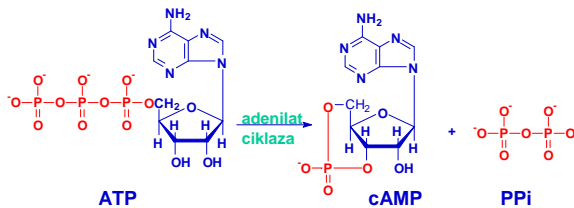
Adaptacija receptora omogućava da oni reagiraju na promjenu razine signala, a ne na apsolutnu razinu signala u okolini.

$G_{\alpha s}$ proteini aktiviraju adenilat-ciklazu

(B)
 $G_{\alpha s}$ (GTP form)



Adenilat-ciklaza katalizira stvaranje cikličkog AMP



Signal koji odašilje cAMP prekida cAMP-fosfodiesteraza koja hidrolizira cikličku fosfatnu vezu uz oslobađanje 5'-AMP.

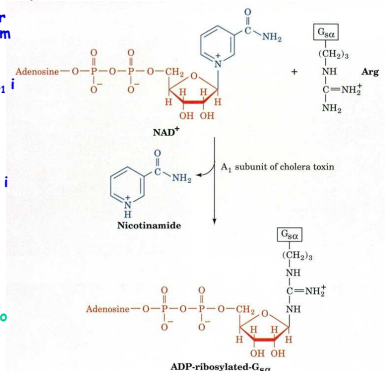
Kolera toksin trajno aktivira G_s protein i tako stimulira adenilat-ciklazu

Kolera toksin je pentamer s 4 B podjedinice i jednom A podjedinicom (AB_5). B podjedinice specifično prepoznaju ganglioizid GM_1 i tako se pričvršćuju na stanicu.

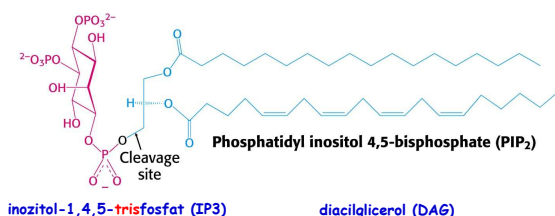
A podjedinica ulazi u stanicu i modificira G_s protein tako da on gubi sposobnost hidrolize GTP i postaje trajno aktivan.

Pertusis toksin vrlo je sličan (također AB_5), ali modificira G_i protein i onemogućava mu da inhibira adenilat-ciklazu.

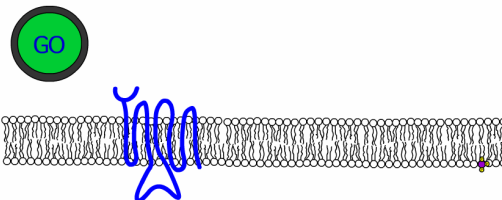
Velik broj bakterija ima toksine AB tipa koji slično djeluju.



Hidrolizom fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata (PIP_2) fosfolipazom-C nastaju dvije različite glasničke molekule (IP_3 i DAG)



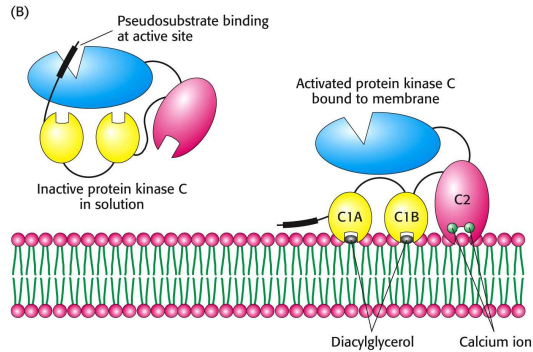
Inozitol-1,4,5-trisfosfat otvara kanale i otpušta kalcij iz unutarstaničnih spremišta



This animation will help you understand the IP_3 signal transduction pathway.

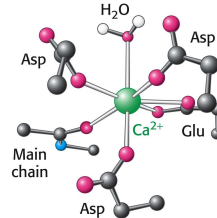
Use the mouse (click) to identify the components of this image before clicking GO to advance the movie.

Diacilglicerol aktivira protein-kinazu C (PKC) koja fosforilira brojne ciljne proteine



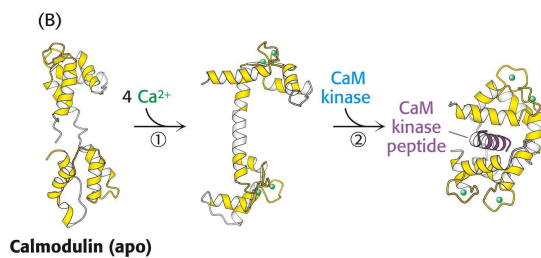
Ioni kalcija su univerzalni glasnici u citoplazmi

Koncentracija Ca^{2+} u citoplazmi (100 nM) je nekoliko redova veličine niža no u krvi (5 mM). Takav gradijent kroz membranu omogućava nagle promjene unutarstanične koncentracije otvaranjem membranskih kanala.

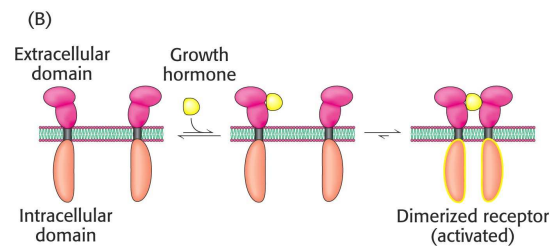


Ioni Ca^{2+} mogu koordinirati 6-8 atoma kisika što značajno utječe na konformaciju proteina na koji se vežu.

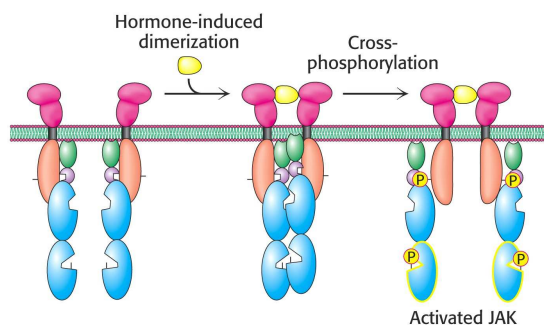
Vezanje Ca^{2+} aktivira kalmodulin koji modificira aktivnost brojni proteina



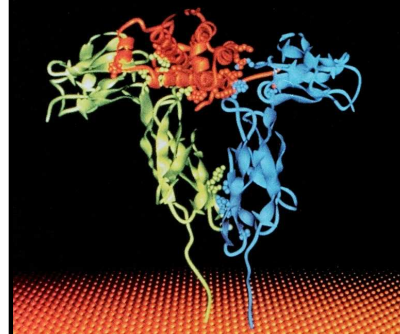
Aktivacija nekih hormona uključuje dimerizaciju receptora



Nakon dimerizacije dolazi do autofosforilacije koja aktivira receptor



Za prijenos signala hormona rasta kroz membranu nužna je dimerizacija receptora

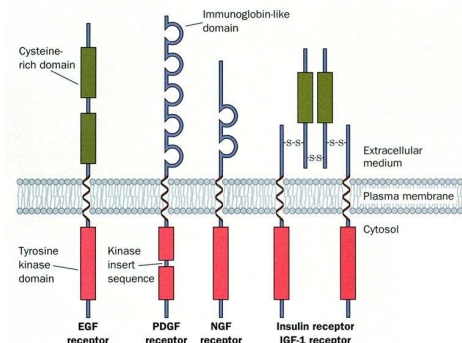


Nedovoljna količina hormona rasta uzrokuje patuljasti rast.

Povišena razina hormona rasta uzrokuje gigantizam

Ukoliko do povišenja razine hormona rasta dođe kada je kostur već formiran, rast će samo meka tkiva što nazivamo akromegalijom

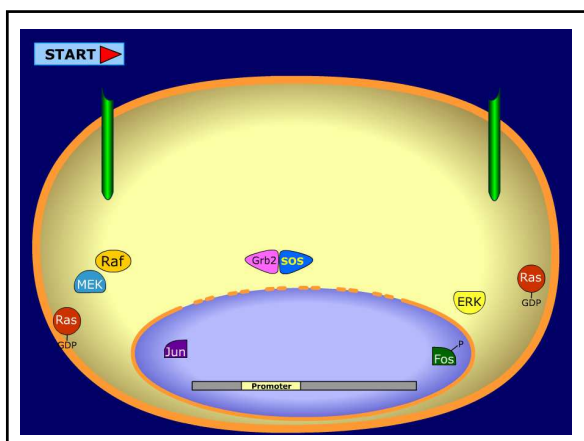
Neki receptori u citoplazmatskoj domeni imaju aktivnost tirozin-kinaze - obitelj receptora tirozin-kinaze (RTK)



Ras-superporodica malih G-proteina ključna je u regulaciji brojnih staničnih funkcija

TABLE 15.3 Ras superfamily of GTPases

Subfamily	Function
Ras	Regulates cell growth through serine-threonine protein kinases
Rho	Reorganizes cytoskeleton through serine-threonine protein kinases
Arf	Activates the ADP-ribosyltransferase of the cholera toxin A subunit; regulates vesicular trafficking pathways; activates phospholipase D
Rab	Plays a key role in secretory and endocytotic pathways
Ran	Functions in the transport of RNA and protein into and out of the nucleus



Specifični inhibitori protein-kinaza mogu biti učinkoviti protutumorski lijekovi

