

# ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE CZYNNNE POCHODZENIA NATURALNEGO

WYKŁAD DLA SPECJALIZACJI:  
**BIOTECHNOLOGIA LEKÓW**

**DR INŻ. TOMASZ LASKOWSKI**

KATEDRA TECHNOLOGII LEKÓW I BIOCHEMII

WYDZIAŁ CHEMICZNY POLITECHNIKI GDAŃSKIEJ

**CZĘŚĆ III:**  
**BIOMAKROMOLEKUŁY**

# RANGA ZWIĄZKÓW NATURALNYCH

Pod względem rangi, związki naturalne można podzielić na trzy grupy:

RANGA ZWIĄZKÓW NATURALNYCH		
BIOMAKROMOLEKUŁY	METABOLITY PIERWOTNE	METABOLITY WTÓRNE
RNA (mRNA, tRNA, etc.)	aminokwasy i peptydy	fenole i polifenole
DNA	cukry	flawonoidy
białka strukturalne	lipidy	terpeny i terpenoidy
enzymy	nukleotydy	alkaloidy
rybozymy	...oraz wiele ich pochodnych	pochodne poliketydów
...i inne (?)		steroidy
		...oraz niezliczone ilości ich pochodnych

# BIOMAKROMOLEKUŁY

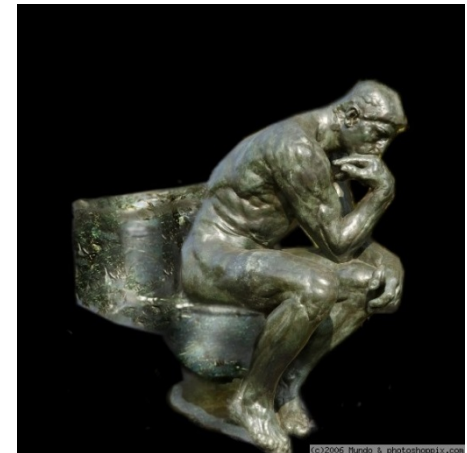
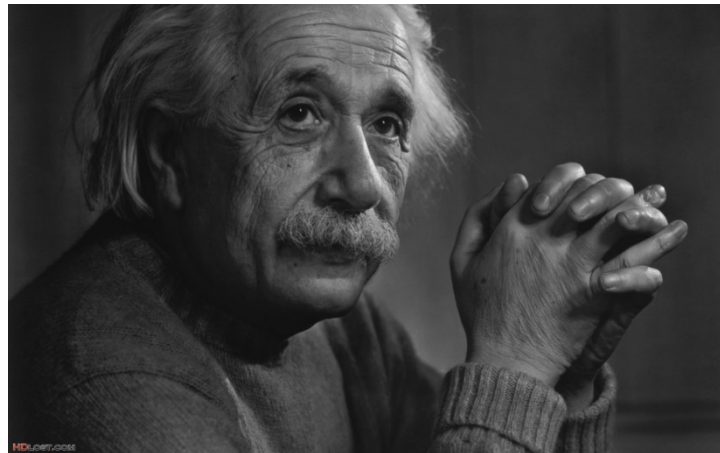
## MASZYNERIA ŻYCIA

Biomakromolekuły, czyli **kwasy nukleinowe** oraz **białka**, tworzą maszynę życia. Ich rola polega na **magazynowaniu**, **kopiowaniu**, **przekazywaniu** i **ekspresji informacji genetycznej**, a także **katalizowaniu** niemal wszystkich reakcji, którym podlegają metabolity pierwotne oraz wtórne.

Prócz tego wiele białek pełni funkcje **strukturalne**.

Maszynieria ta jest w pełni **zoptymalizowana**, zabójczo **precyzyjna**, **skuteczna** i **dostosowana** do warunków panujących na Ziemi.

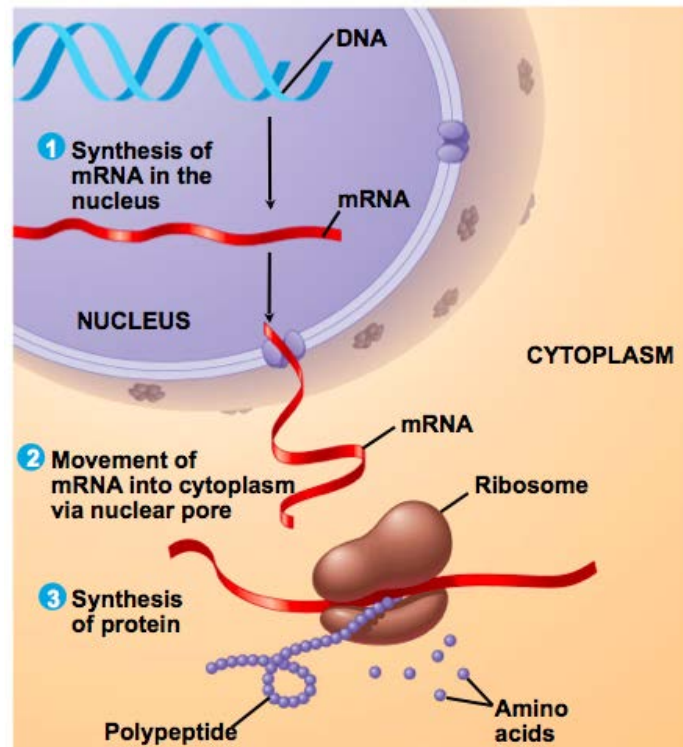
## JAK, CHOROBA JASNA, POWSTAŁA TA MASZYNERIA?



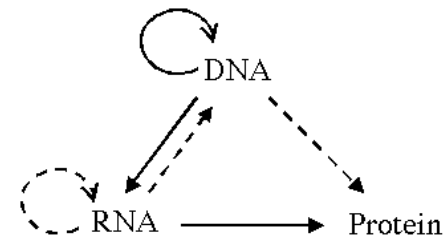
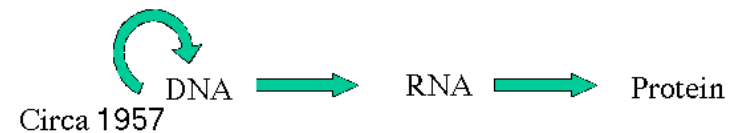
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## MASZYNERIA ŻYCIA

Zależność między kwasami nukleinowymi a białkami wygląda mniej więcej tak:

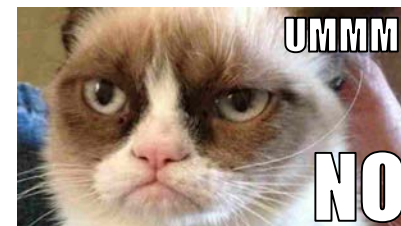


### CENTRALNY DOGMAT BIOLOGII MOLEKULARNEJ



Circa 1970, solid arrows=transfers that occur in all cells, Dotted arrows=transfers that occur in special cases

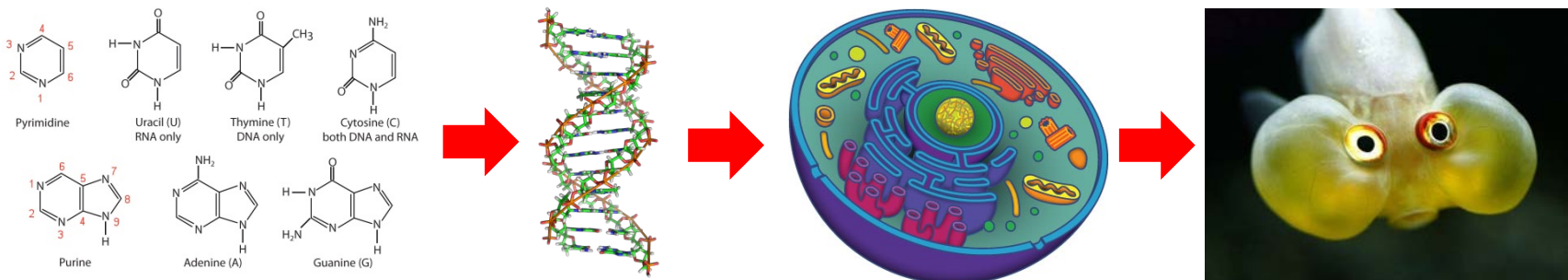
Czy te zależności zawsze wyglądały w taki sposób?



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA

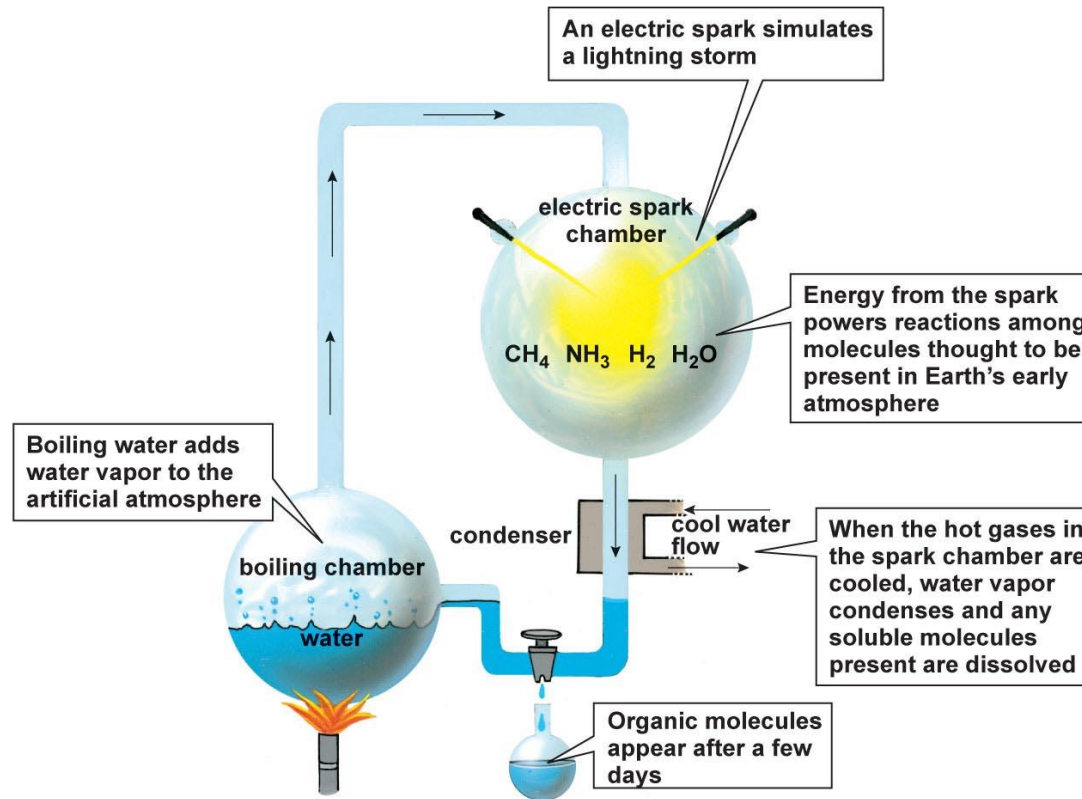
- I. Wytworzenie, w procesach niebiologicznych, cząsteczek kluczowych dla życia (**kwasy nukleinowe, białka, cukry, lipidy**).
- II. Wytworzenie, w wyniku reakcji prebiotycznych, **systemów samoreplikujących się**.
- III. Opanowanie przez systemy samoreplikujące się procesów **przetwarzania energii słonecznej i chemicznej** do postaci możliwych do wykorzystania w reakcjach biochemicznych → **organizmy jednokomórkowe**.
- IV. Wytworzenie **mechanizmów adaptacyjnych** do zmian środowiska → **kolonie komórek** → **[specjalizacja komórek]** → **organizmy wielokomórkowe**.



**Każdy z etapów ewolucji chemicznej, mimo dziesięcioleci badań, niesie ze sobą wiele niejasności i kontrowersji.**

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP I: WYTWORZENIE CZĄSTECZEK ŻYCIA



© 2011 Pearson Education, Inc.

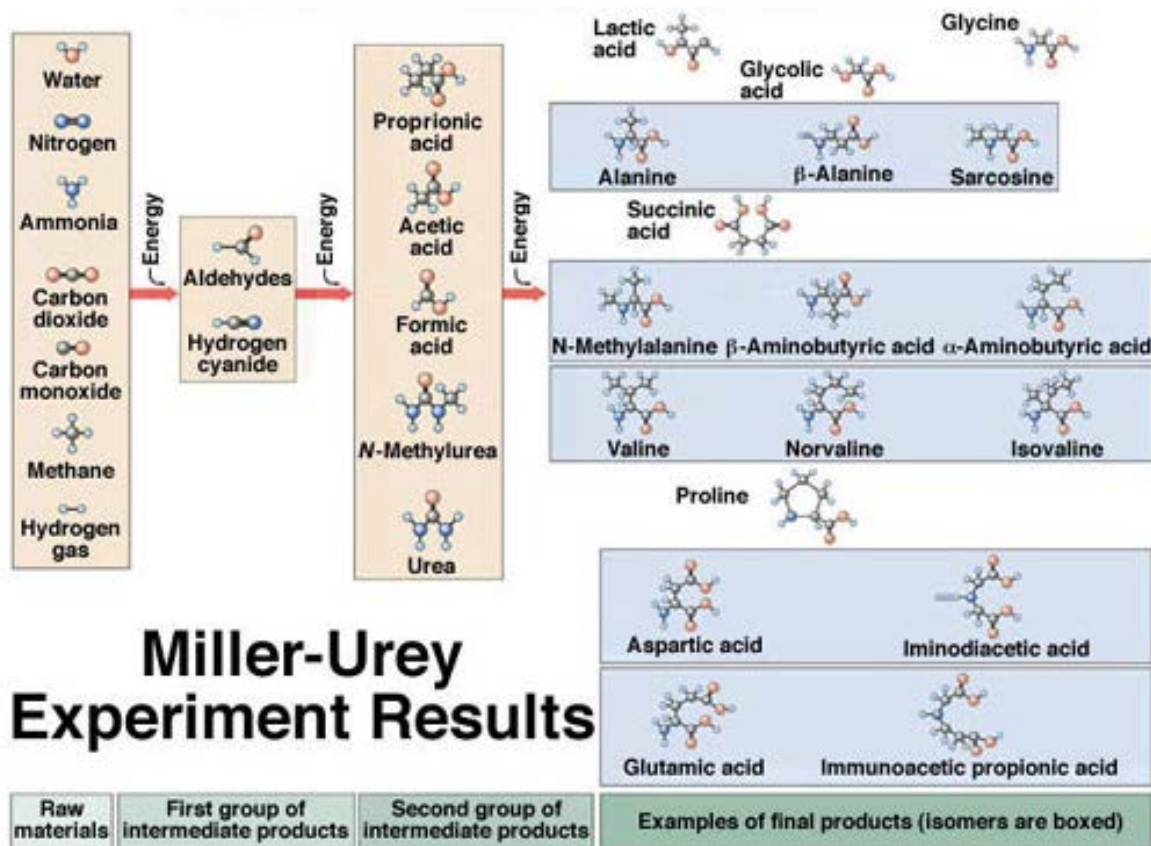
### DOŚWIADCZENIE UREY'A-MILLERA

Symulacja warunków panujących na prebiotycznej Ziemi ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2$ )



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP I: WYTWORZENIE CZĄSTECZEK ŻYCIA



### WNIOSEK:

podstawowe budulce cząsteczek życia można uzyskać w reakcjach niebiologicznych.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP I: WYTWORZENIE CZĄSTECZEK ŻYCIA

### Wnioski z doświadczenia Urey'a-Millera:

1. Najbardziej fundamentalne cegiełki cząsteczek życia: **formaldehyd** i **cyjanowodór** tworzą się w pierwszym etapie.
2. Cegiełki te pod wpływem wyładowań atmosferycznych mogą, w kolejnych etapach i wobec atmosfery redukującej, przekształcać w związki bardziej skomplikowane, np.: **kwasy octowe**, **mocznik**, niektóre **aminokwasy** (glicyna, alanina, walina, etc.).

### Powstanie życia wyjaśnione?

#### Dlaczego NIE?

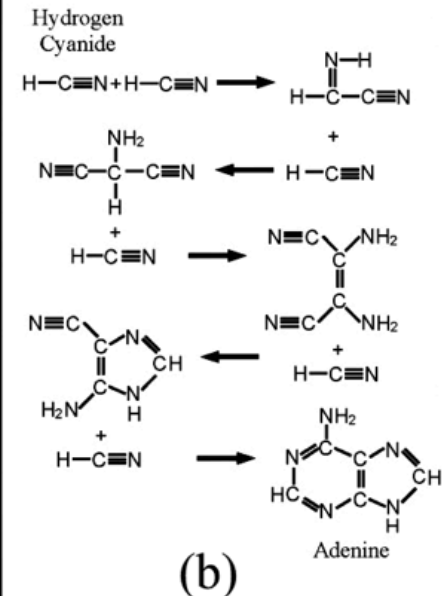
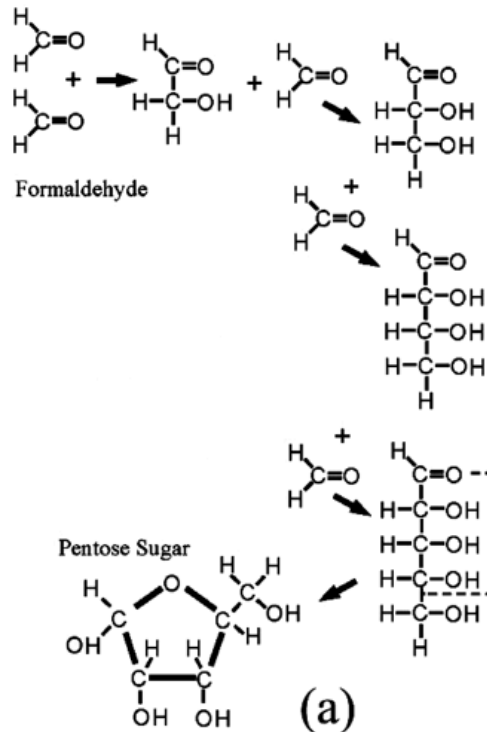
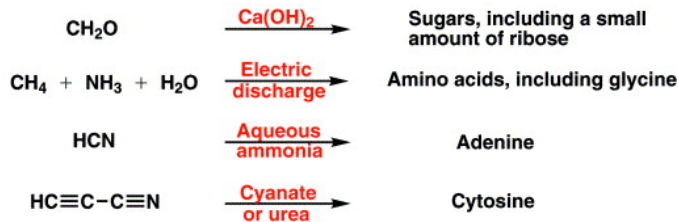
1. Istnieją wątpliwości co do atmosfery prebiotycznej. Coraz więcej dowodów geologicznych sugeruje, że jednak nie była ona redukująca (zawierała  $O_2$ ).
2. Problem amoniaku – niska stabilność i dobra rozpuszczalność w wodzie (a może to zaleta?).
3. Wątpliwe warunki – wyładowania atmosferyczne mogły być zbyt słabe.
4. Problem prebiotycznej chłodnicy.
5. Bardzo niska wydajność procesu.
6. Powstaje mieszanina racemiczna aminokwasów. Nie znaleziono cukrów ani amin purynowych i pirymidynowych.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP I: WYTWORZENIE CZĄSTECZEK ŻYCIA

Dużo hałasu o nic?

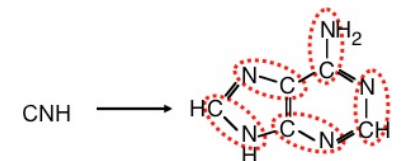


Jakie wyniki eksperymentalne dodatkowo wspierają hipotezę Urey'a-Millera?

Niedawno przeprowadzone badania wskazują, że pewne rejony „starych genów” – wspólne dla wszystkich organizmów – kodują sekwencje aminokwasowe bardzo bogate w aminokwasy uzyskane w omawianym doświadczeniu.

Wygląda na to, że pradawny kod genetyczny był oparty na dużo mniejszej ilości aminokwasów, niż obecnie.

Ponadto, nowsze wersje eksperymentu pozwoliły na otrzymanie większej ilości aminokwasów.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP I: WYTWORZENIE CZĄSTECZEK ŻYCIA

Założmy, że mamy kompletny zestaw cukrów, aminokwasów, amin purynowych i pirymidynowych, a nawet lipidów.

Teraz trzeba je ze sobą połączyć tak, aby zbudować układ samoreplikujący.



CO BYŁO PIERWSZE: **JAJKO** CZY **KURA**?

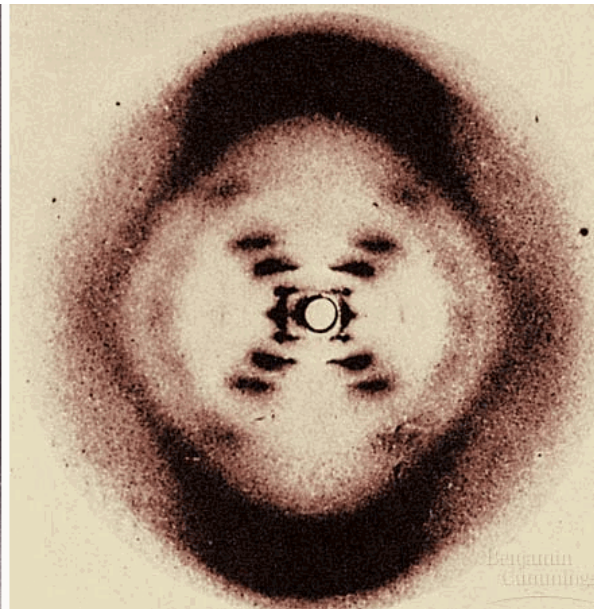
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## CO BYŁO PIERWSZE: JAJKO CZY KURA?

**Kwasy nukleinowe** zostały odkryte w 1869 roku przez Friedricha Mieschera, który nazwał je **nukleinami**. Pierwszy również stwierdził ich **kwasowy charakter** (są rozpuszczalne w alkaliach).

Rola **DNA** w **magazynowaniu** i **przekazywaniu informacji genetycznej** została dowiedziona dopiero w latach 1944-1952 (eksperymenty ze szczepami *R* i *S* bakterii *Pneumococcus* oraz z bakteriofagiem *T2* znakowanym  $^{35}\text{S}$  i  $^{32}\text{P}$ ). Wcześniej myślano, że magazynem informacji genetycznej są białka histonowe.

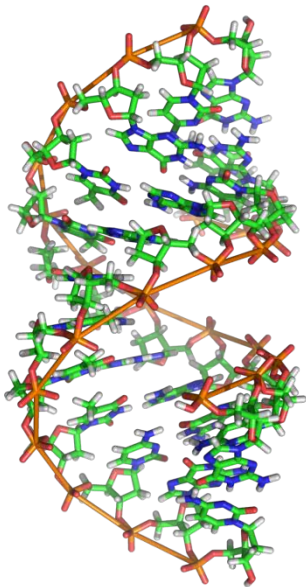
**Strukturę DNA** wydedukowano rok później (Watson & Crick, Wilkins, Franklin, 1953).



# BIOMAKROMOLEKUŁY

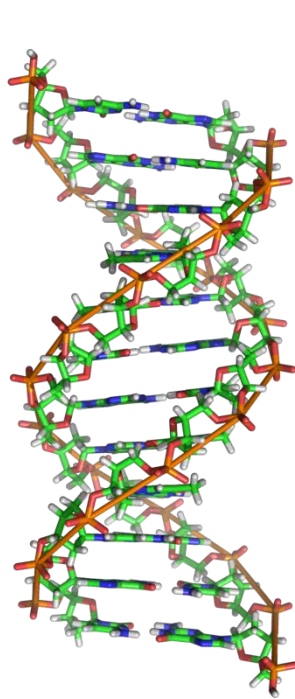
CO BYŁO PIERWSZE: **JAKO** CZY **KURA**?

**Kwasy nukleinowe** tworzą wiele ciekawych struktur:



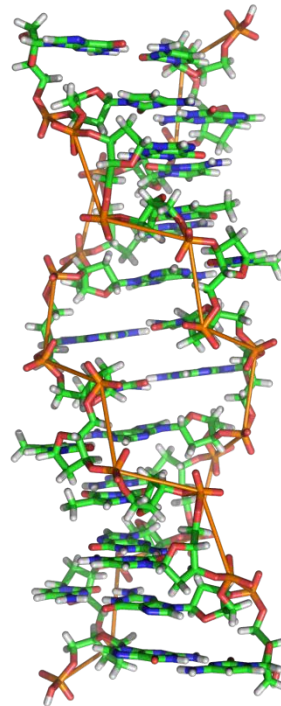
## A-DNA

Prawoskrętna helisa,  
nie odnaleziona w  
żywych organizmach



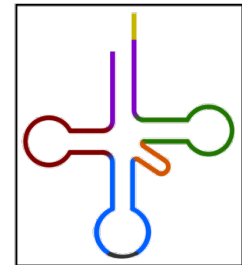
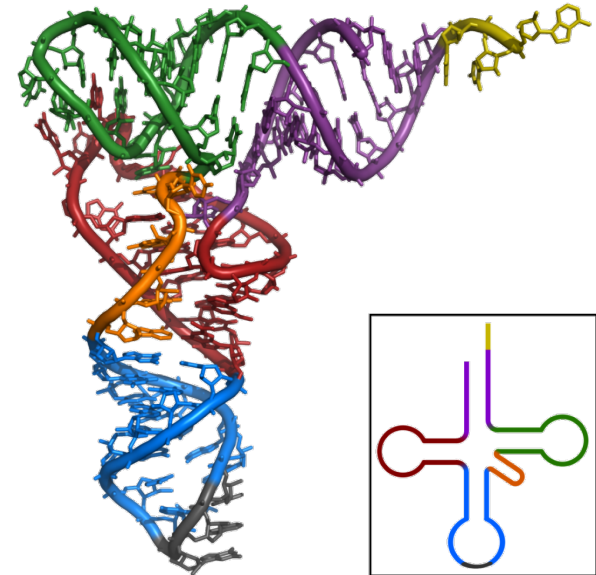
## B-DNA

Podstawowa forma  
DNA, helisa prawo-  
skrętna, 10 bp na skręt



## Z-DNA

Helisa lewoskrętna,  
odnaleziona u muszki  
owocowej



## t-RNA

Struktura wyższego  
rzędu, składająca się  
z kilku ramion (spinek)



# BIOMAKROMOLEKUŁY

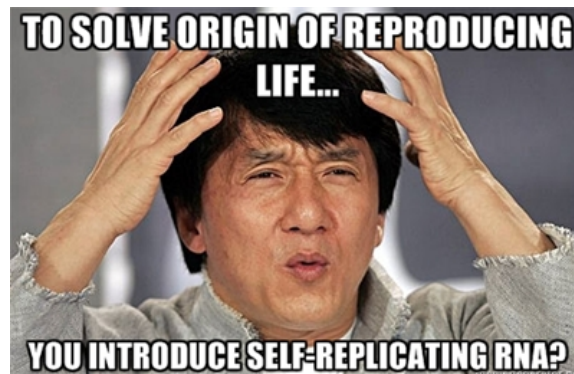
## CO BYŁO PIERWSZE: JAJKO CZY KURA?

W chwili obecnej w świecie nauki panuje konsensus, że **DNA** jest jako magazyn informacji genetycznej jest **tworem wtórnym względem RNA**.

Jedną z hipotez bazujących na tym konsensusie jest istnienie w przeszłości tzw. **świata RNA** – przedkomórkowego „życia” opartego na RNA jako **nośniku i magazynie informacji genetycznej** oraz **katalizatorze reakcji samopowielania**.

Hipoteza ta ma swoje słabe strony:

- **samoistne wytworzenie RNA jest mało prawdopodobne (niestabilność rybozy);**
- **RNA jest stosunkowo mało stabilne i łatwo ulega reakcji hydrolizy;**
- **RNA nie jest przesadnie wydajnym katalizatorem;**
- **informacja uzyskana w wyniku samopowielenia RNA nie jest w pełni zgodna z oryginałem.**

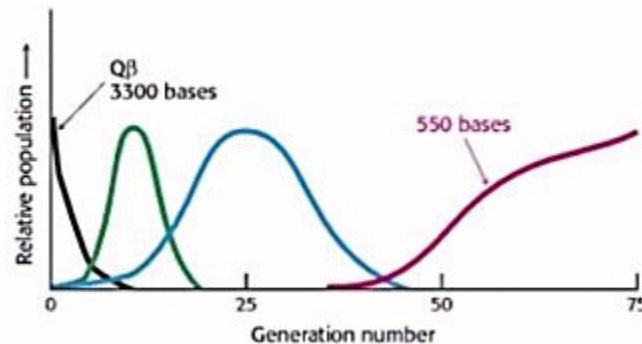


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

### Doświadczenie Sola Spiegelmana:

- Spiegelman wyizolował **RNA bakteriofaga Q $\beta$**  i umieścił w roztworze zawierającym **RNA-replikazę, sole mineralne i wolne nukleotydy**.
- W tych warunkach **RNA zaczęło się spontanicznie replikować!**
- Co więcej, RNA zaczęło reagować na „stres” zewnętrzny w postaci ograniczenia czasu replikacji. W efekcie **łańcuch RNA zaczął się skracać!**



- Po 74 pokoleniach pozostał łańcuch RNA o długości 218 zasad. Został on nazwany **Potworem Spiegelmana**, ponieważ jest zdolny do zadziwiająco szybkiej samoreplikacji w sztucznych warunkach.
- **Eigen, Sumper i Luce poszli krok dalej: stworzyli mieszaninę zawierającą RNA-replikazę i wolne nukleotydy. W odpowiednich warunkach SPONTANICZNIE wytworzył się samoreplikujący łańcuch RNA, a następnie zaczął ewoluować do postaci bardzo podobnej do Potwora Spiegelmana!**



# BIOMAKROMOLEKUŁY

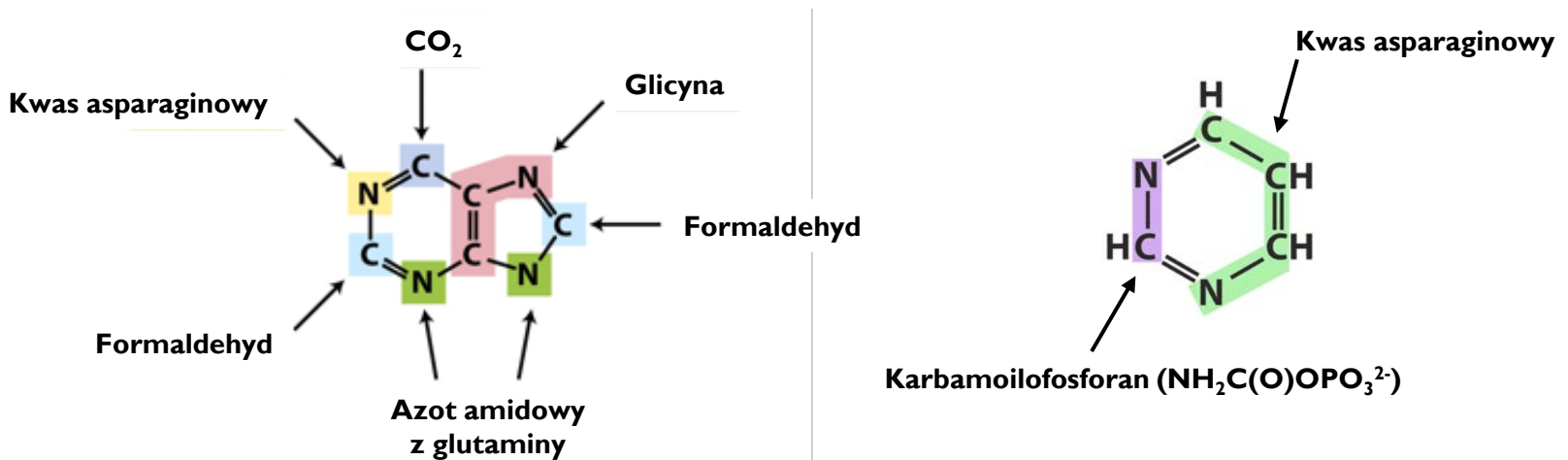
## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

W latach 80. XX wieku Cech i Altman odkryli **rybozomy** – enzymy oparte na RNA.

Wcześniej myślano, że enzym = białko.

To bardzo silny argument na korzyść hipotezy świata RNA. Okazało się bowiem, że w centrum aktywnym rybosomów – machinerii syntetyzującej białka – znajduje się RNA!

Okazało się także, że **aminokwasy** – np. glicyna – w układach biologicznych są prekursorami puryn i pirymidyn.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA



CO BYŁO PIERWSZE: **JAJKO** CZY **KURA**?

Wygląda na to, że ani jedno, ani drugie. RNA oraz białka rozwijały się równolegle, ale prekursorem zjawiska samoreplikacji było RNA.

Wykazano bowiem, że możliwa jest spontaniczna synteza nowej nici RNA bez żadnych kofaktorów na matrycy już istniejącej nici.

Niektóre peptydy mogą wspomagać taki proces, np. stabilizować produkt. Taki był prawdopodobny początek białek – enzymów.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

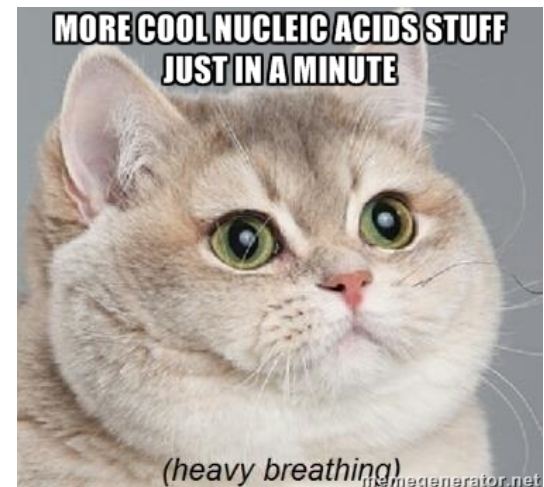
## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Fundamentami ewolucji biochemicznej (i nie tylko) są:

- **replikacja i reprodukcja;**
- **zmienność;**
- **dobór naturalny** (współzawodnictwo o zasoby).

Fundamenty takie tłumaczą między innymi:

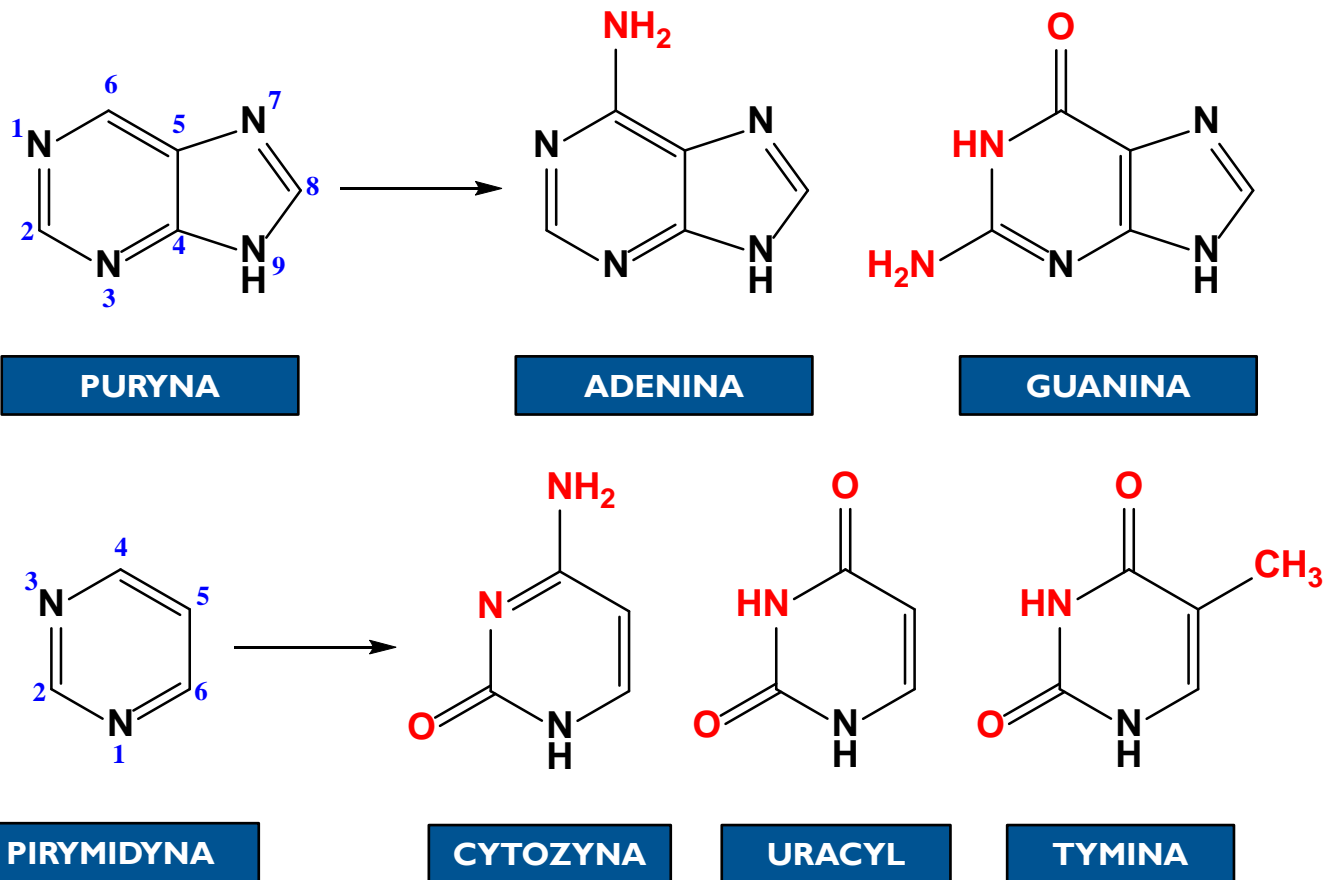
- **specjalizację tRNA do różnych aminokwasów** (następującą w wyniku duplikacji genu tRNA i jego dostosowania do roli transportera określonego aminokwasu);
- **optymalizację kodu genetycznego** (skonstruowanego pod kątem częstości występowania danego aminokwasu w syntetyzowanych białkach);
- **obecność uracylu w RNA i tyminy w DNA;**
- **obecność enzymów o identycznym** (lub podobnym) **mechanizmie działania u bardzo odległych organizmów** (wspólny przodek).



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

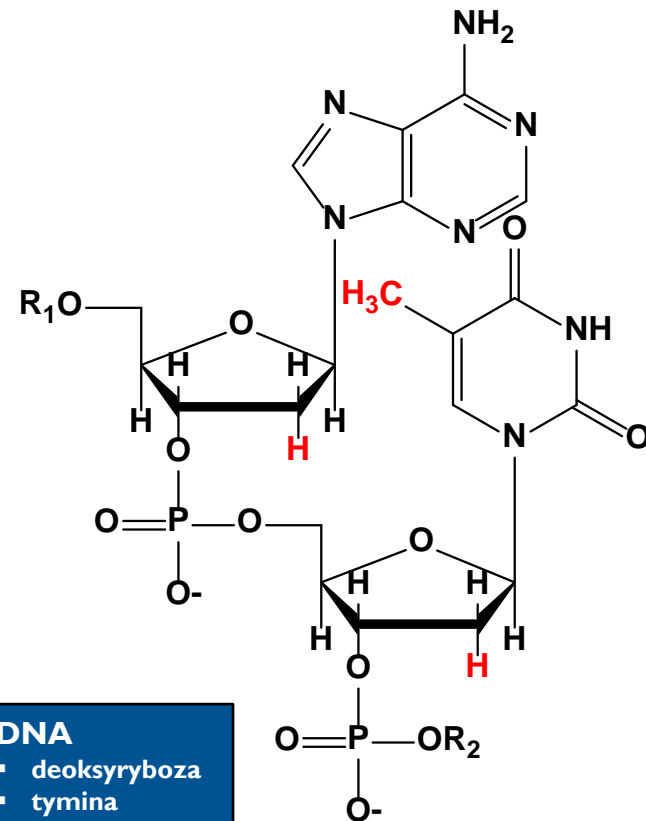
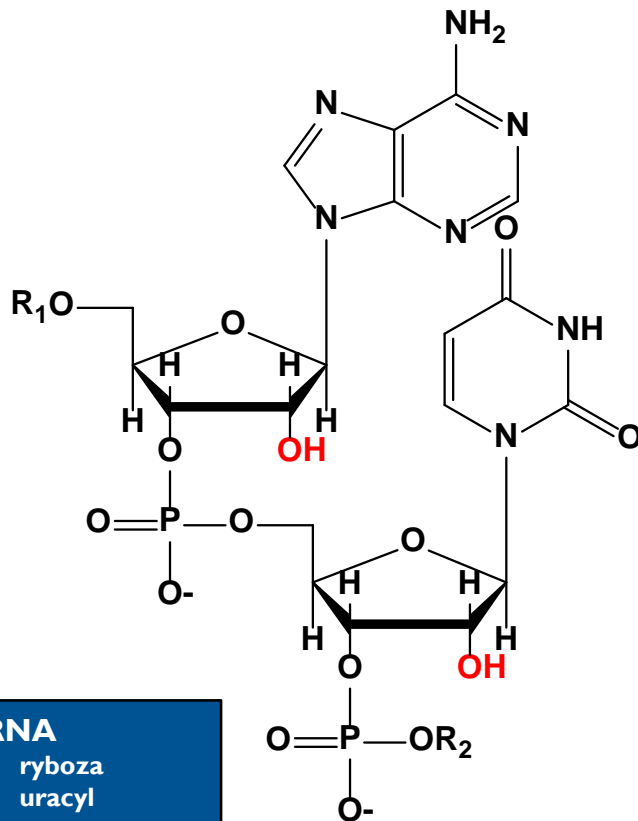
Chemia kwasów nukleinowych:



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Chemia kwasów nukleinowych:

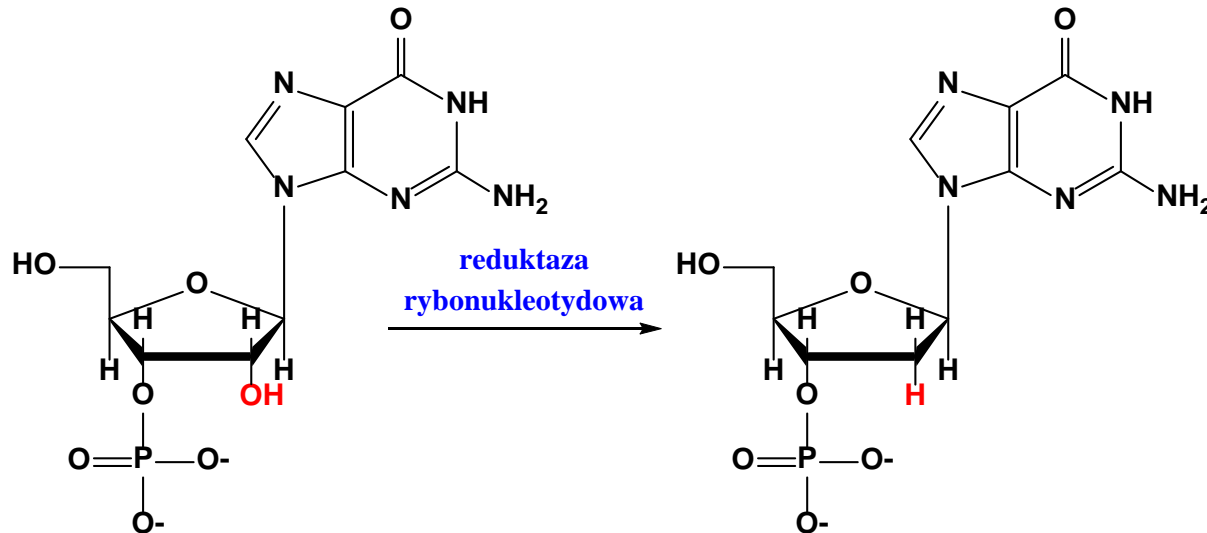


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

### Chemia kwasów nukleinowych:

W organizmach żywych **deoksyrybonukleotydy** są syntetyzowane z **rybonukleotydów** przy udziale odpowiednich enzymów:



Reduktazy rybonukleotydomowe pod względem struktury różnią się zasadniczo w zależności od gatunku, ale mają wspólny mechanizm działania, a co za tym idzie – **wspólnego enzym-przodka**.

Mechanizm syntezy deoksyrybonukleotydów stanowi dość **mocny argument na korzyść hipotezy światła RNA**.

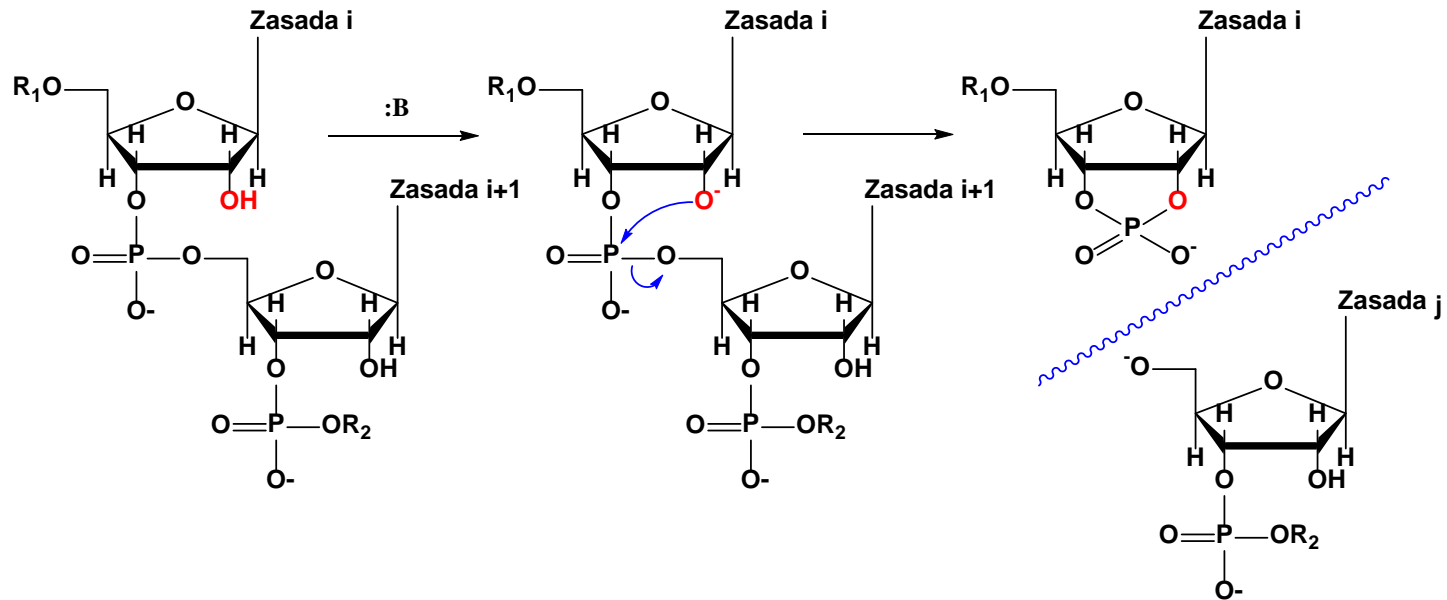
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Chemia kwasów nukleinowych:

*Dlaczego układy biologiczne zadają sobie trud syntezy DNA? Dlaczego nie polegają wyłącznie na RNA?*

- **RNA nie jest stabilnym tworem.** Połączenie fosfodiesterowe w RNA łatwo ulega zerwaniu w obecności zasady:



- **DNA, z uwagi na brak grupy –OH w pozycji 2', jest niepodatne na hydrolizę zasadową, a co za tym idzie – jest dużo bardziej stabilne.**



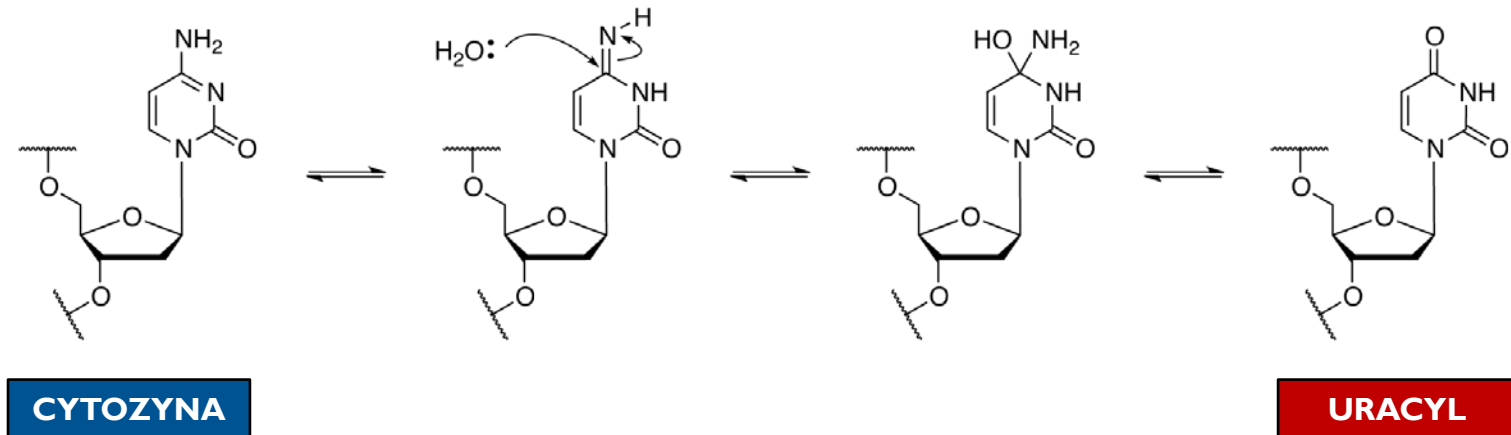
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Chemia kwasów nukleinowych:

*Dlaczego układy biologiczne zadają sobie trud syntezy DNA? Dlaczego nie polegają wyłącznie na RNA?*

- **DNA, w wyniku braku grupy –OH w pozycji 2', traci właściwości katalityczne.** Nadaje się już „tylko” do pełnienia funkcji magazynu informacji genetycznej, z którego można korzystać w miarę potrzeb. **Ale...**
- ...niezależnie od błędów replikacji bądź transkrypcji, **kwasy nukleinowe mutują w wyniku spontanicznej deaminacji cytozyny**, która zachodzi w środowisku wodnym – powoli, ale w stałym tempie:



- **Jest to proces nadzwyczaj niefortunny, ponieważ prowadzi do powstania uracylu.**

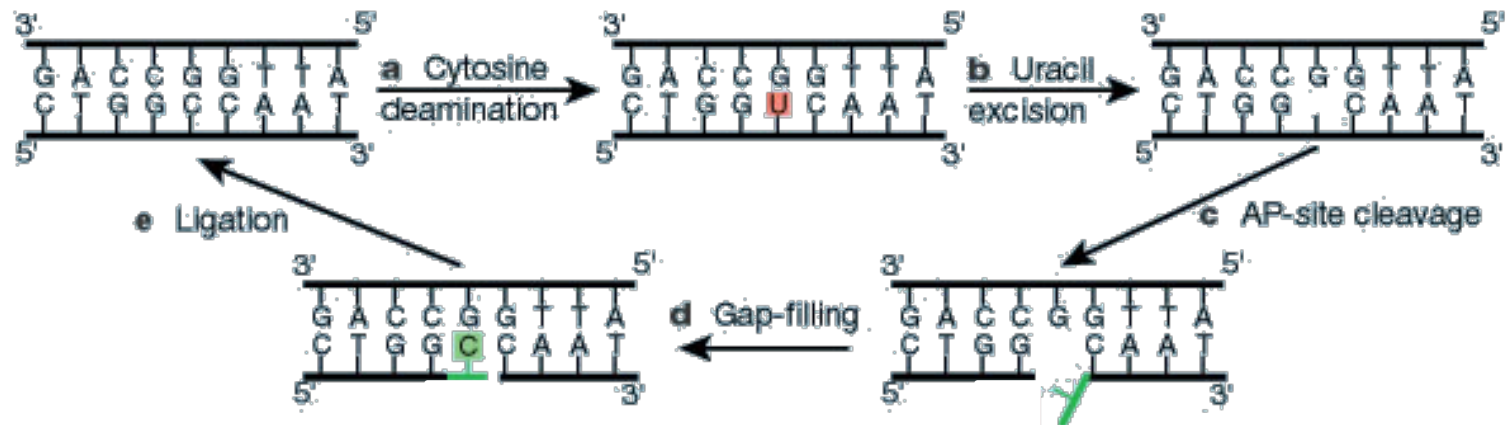
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Chemia kwasów nukleinowych:

*Dlaczego układy biologiczne zadają sobie trud syntezy DNA? Dlaczego nie polegają wyłącznie na RNA?*

- Natura nigdy nie wypracowała mechanizmów naprawy RNA, ponieważ jest ono zbyt mało stabilne. **Czas życia RNA jest na tyle krótki, że deaminacja cytozyny nie stanowi poważnego problemu.**
- Stabilność DNA jest na tyle wysoka, że jest ono nieomal wieczne – **stąd też organizmy wypracowały wiele mechanizmów naprawczych DNA.**
- **Jednym z nich jest usuwanie uracylu pojawiającego się w DNA przez enzym glikozylazę uracylo-DNA:**



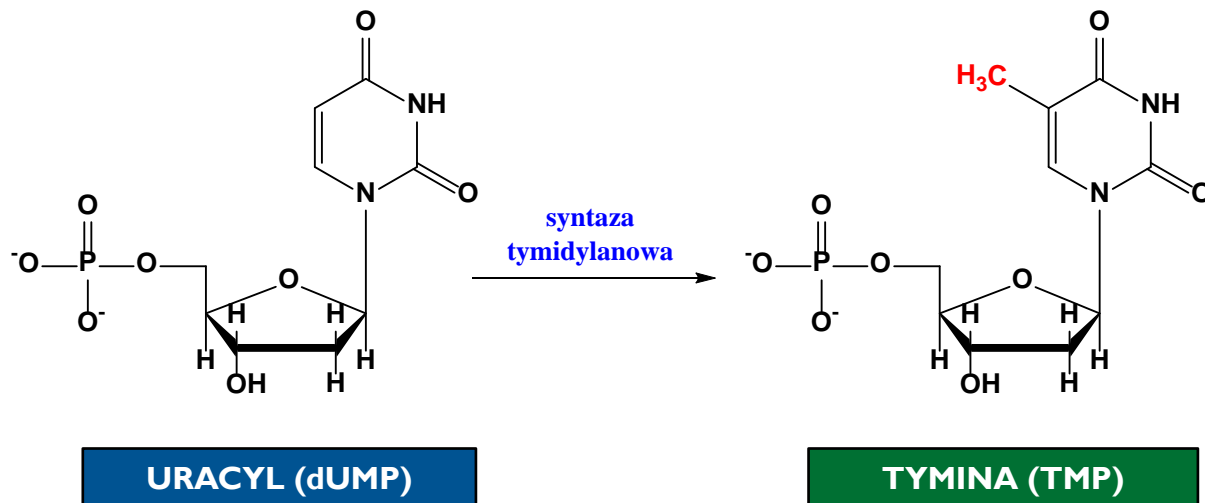
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: ŚWIAT RNA

Chemia kwasów nukleinowych:

*Dlaczego układy biologiczne zadają sobie trud syntezy DNA? Dlaczego nie polegają wyłącznie na RNA?*

- Wycinanie uracylu niepowstałego w wyniku deaminacji cytozyny natychmiast załamałoby funkcję DNA jako magazynu informacji genetycznej. **Aby ochronić te „właściwe” nukleotydy uracylowe przed usunięciem, zostały one oznakowane grupą metylową w pozycji 5. W ten sposób powstała tymina:**

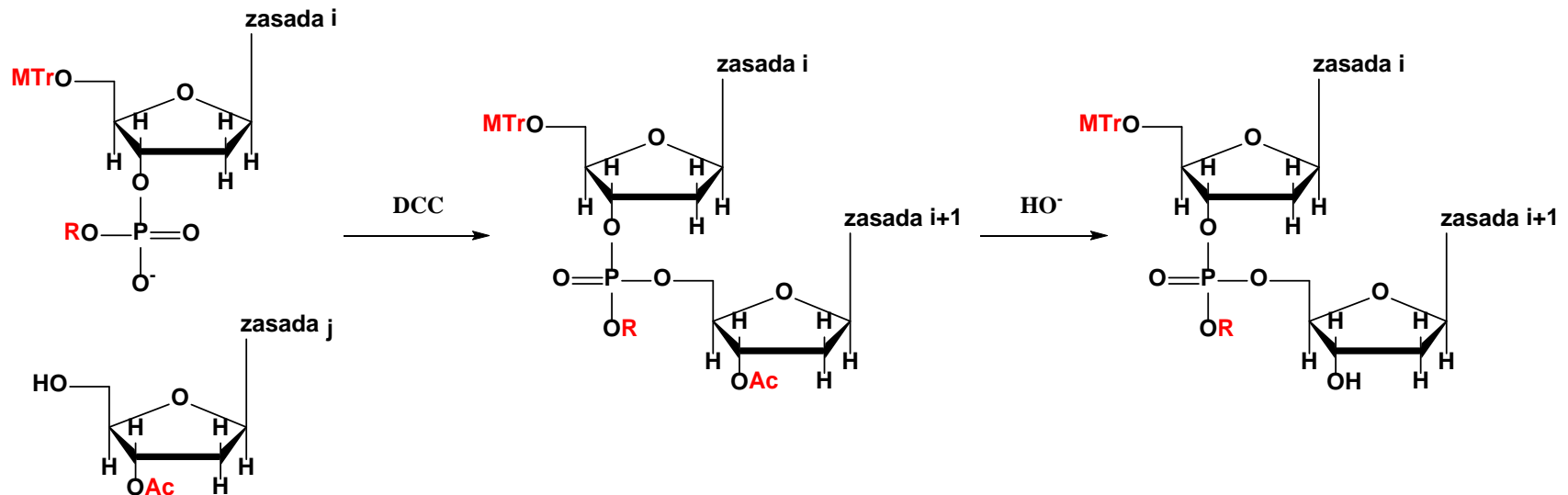


- Synteza tyminy z uracylu to kolejny argument na korzyść hipotezy świata RNA.**

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## CHEMICZNA SYNTEZA KWASÓW NUKLEINOWYCH

Podójście klasyczne (w roztworze; I):



### Zalety:

- no... metoda działa.

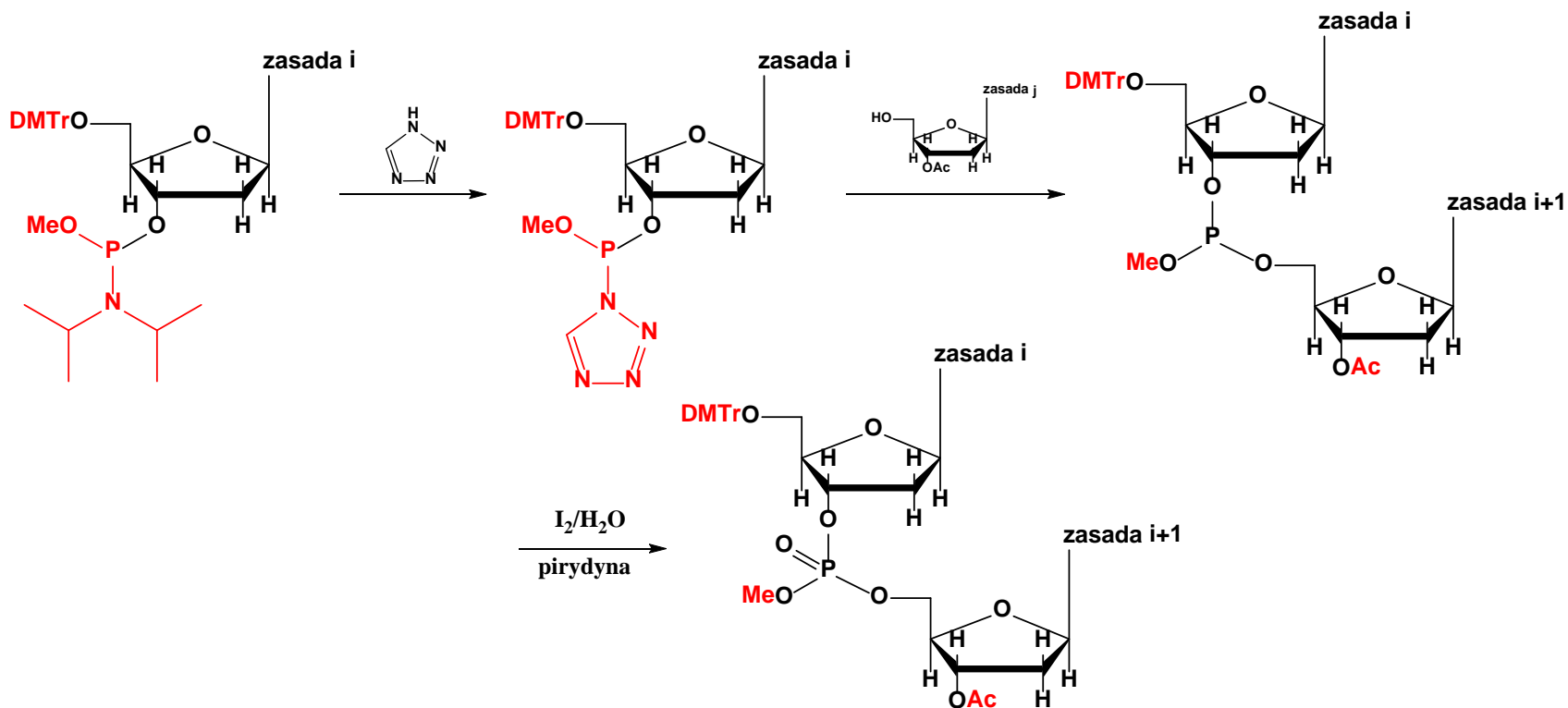
### Wady:

- niska wydajność, a co za tym idzie – możliwość syntezy wyłącznie krótkich oligonukleotydów;
- czasochłonna i pracochłonna.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## CHEMICZNA SYNTEZA KWASÓW NUKLEINOWYCH

Podejście klasyczne (w roztworze; II):



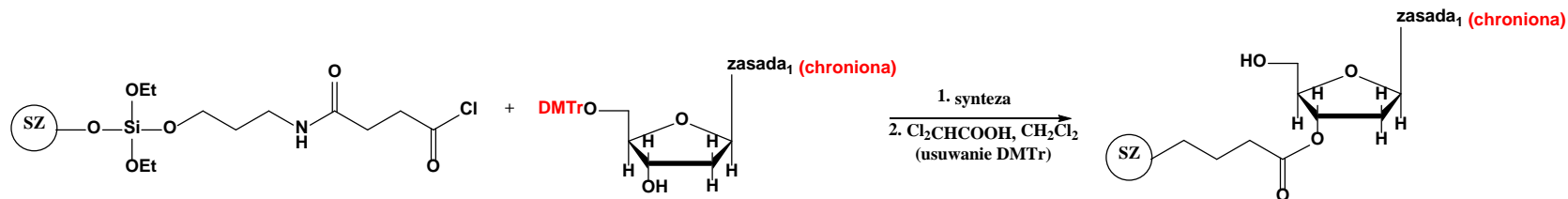
Dużo wyższa wydajność w porównaniu do podejścia I.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

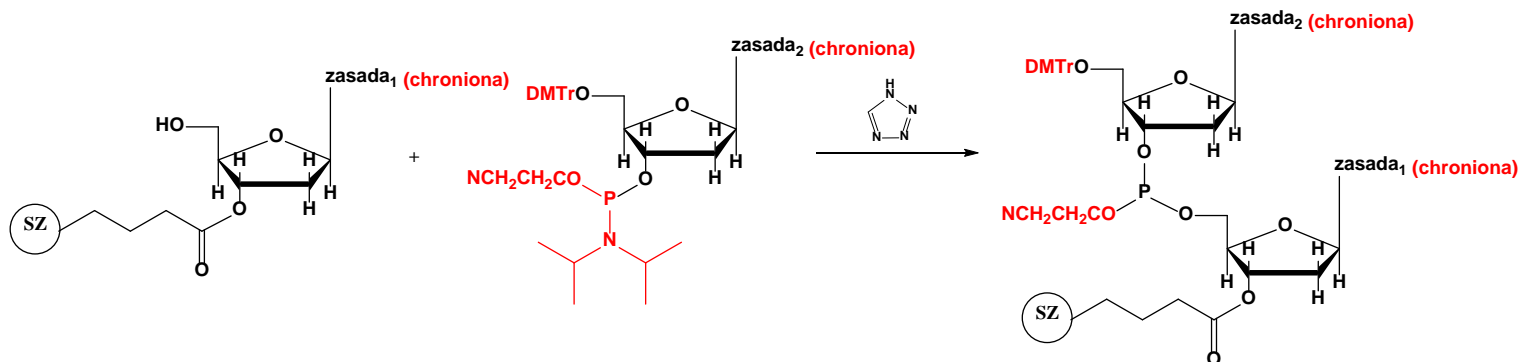
## CHEMICZNA SYNTEZA KWASÓW NUKLEINOWYCH

Podejście nowoczesne (na fazie stałej, twórcze rozwinięcie metody II w roztworze):

1. Podłączenie I. nukleotydu do fazy stałej:



2. Kondensacja:

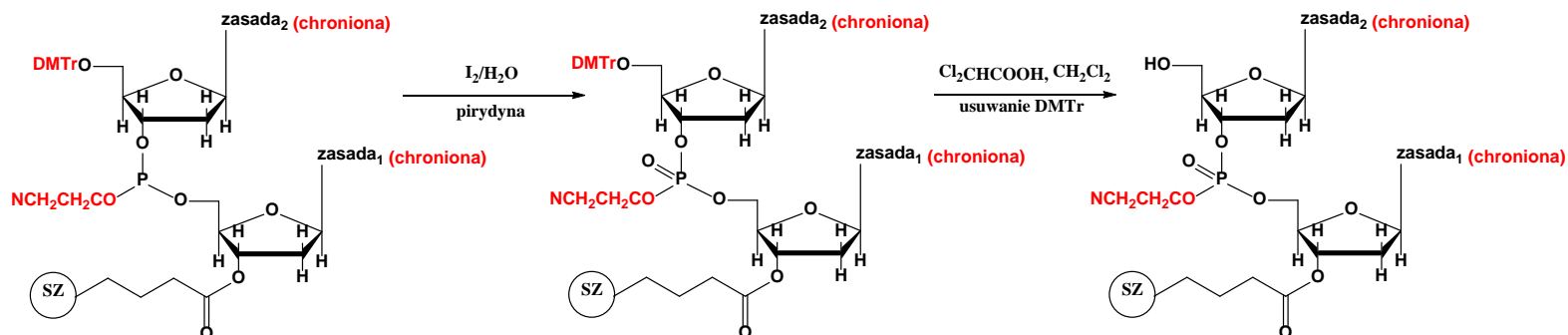


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## CHEMICZNA SYNTEZA KWASÓW NUKLEINOWYCH

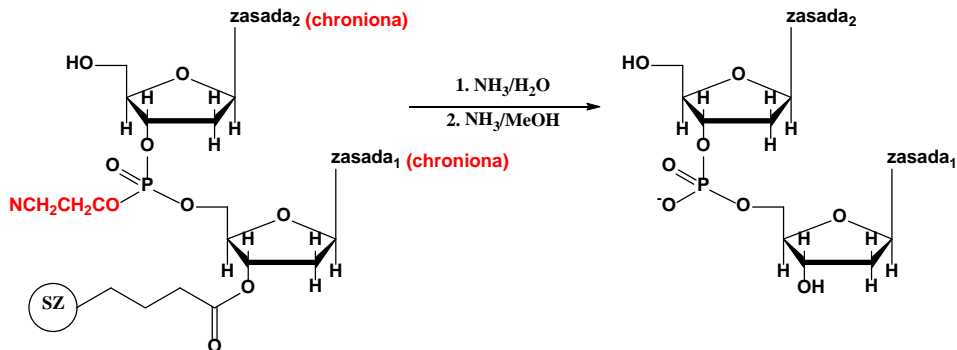
Podejście nowoczesne (na fazie stałej, twórcze rozwinięcie metody II w roztworze):

3. Utlenianie fosforu oraz usuwanie osłony DMT:



4. Powtarzanie kroków 2. oraz 3. → elongacja łańcucha polinukleotydowego.

5. Uwalnianie polinukleotydu:



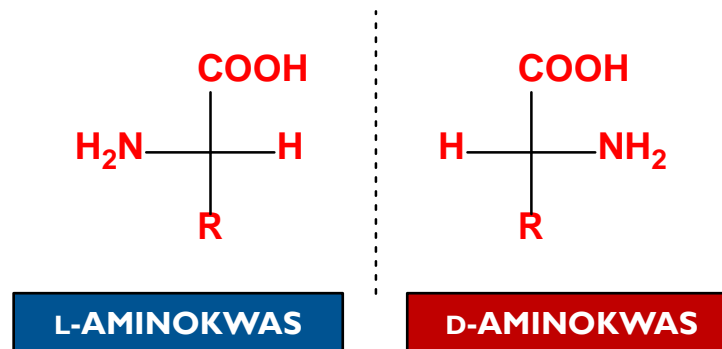


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

Równoległe z ewolucją RNA, w sposób spontaniczny (?) tworzyły się pewne połączenia aminokwasów, które zdawały się mieć stabilizujący wpływ na powstające łańcuchy RNA.

Połączenia te, które przetrwały do naszych czasów i wyewoluowały do postaci peptydów i białek, zbudowane są prawie wyłącznie z L-aminokwasów.



- **Białka powstające w wyniku translacji zawierają wyłącznie 20 L-aminokwasów biogennych.**
- Niektóre modyfikacje post-translacyjne mogą prowadzić do D-aminokwasów.
- D-seryna jest jednym z ważniejszych neuroprzekazników.
- D-aminokwasy występują również w ścianach komórkowych bakterii.

**Dlaczego dominuje forma L?**

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Dominacja formy L-aminokwasów:

- Wykazano (1977), że **elektrony spolaryzowane w sposób charakterystyczny dla ziemskiego rozpadu  $\beta$**  nieomal wybiórczo **usuwiają enancjomer D-aminokwasu** (leucyny) z mieszaniny racemicznej. Zatem rozpad  $\beta$ , zachodzący na przykład jako konsekwencja obecności izotopu węgla  $^{14}\text{C}$  w cząsteczkach prebiotycznych, mógł zadecydować o dominacji formy L-aminokwasów.
- Galaktyka jest spiralą i posiada moment magnetyczny (spin), przez co cząsteczki pyłu kosmicznego polaryzują światło gwiazd kołowo tylko w jedną stronę. Wykazano (2005), że **światło tak spolaryzowane w dużo większym stopniu niszczy D-aminokwasy** niż L-aminokwasy, dzięki czemu w naszej galaktyce preferowane są L-aminokwasy.
- W kometach i meteorytach również odnaleziono aminokwasy w formie L.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Podział aminokwasów:

Aminokwasy można podzielić na kilka sposobów, biorąc pod uwagę ich:

#### ▪ WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE

- hydrofilowe,
- hydrofobowe,
- obdarzone ładunkiem elektrycznym.

#### ▪ STRUKTURĘ

- alifatyczne;
- aromatyczne.

#### ▪ WYSTĘPOWANIE

- białkowe;
- niebiałkowe.

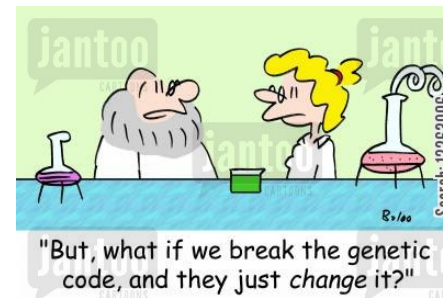
#### ▪ BIOGENEZĘ i WIEK

- aminokwasy typu I;
- aminokwasy typu II.

Trzy pierwsze typy podziału aminokwasów mają związek z:

- funkcjami pełnionymi w żywym organizmie;
- roli przy zwijaniu się łańcuchów polipeptydowych do postaci białek;
- funkcjami katalitycznymi białek.

Czwarty typ podziału dotyczy pochodzenia oraz wieku aminokwasów, oraz – co za tym idzie – ewolucji kodu genetycznego.

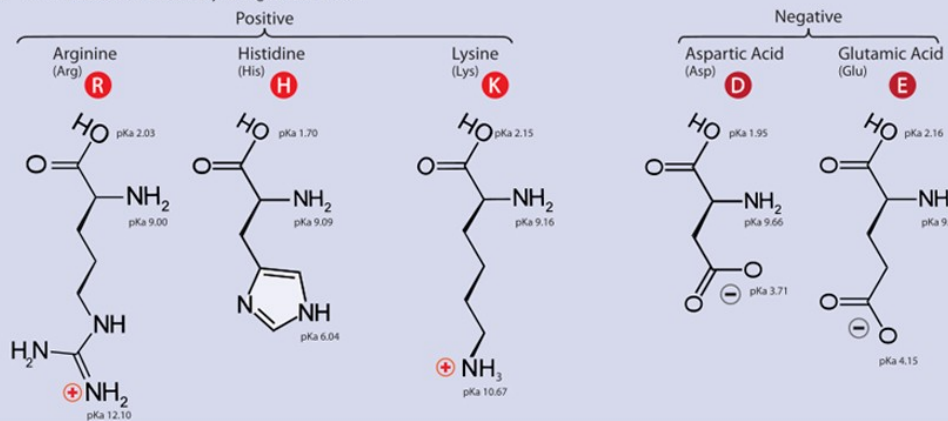


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

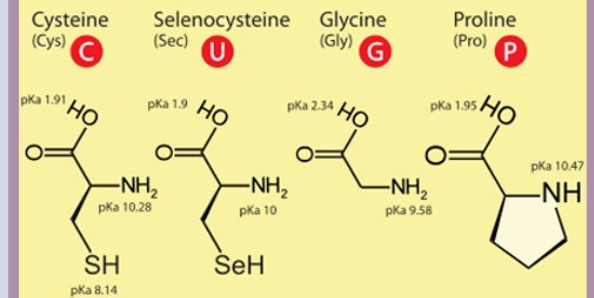
### Twenty-One Amino Acids

#### A. Amino Acids with Electrically Charged Side Chains

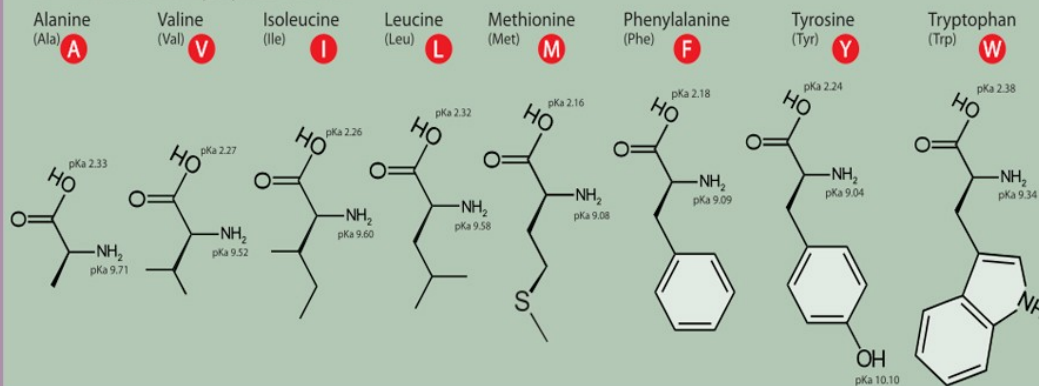


⊕ Positive      ⊖ Negative  
• Side chain charge at physiological pH 7.4

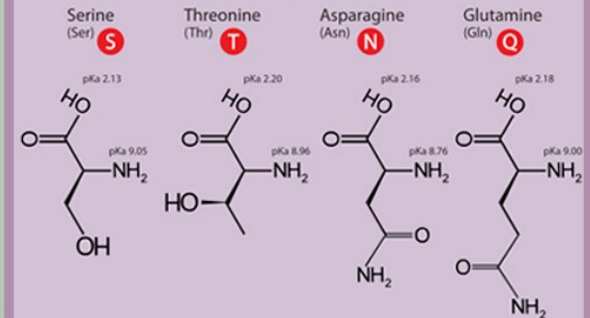
#### C. Special Cases



#### D. Amino Acids with Hydrophobic Side Chain



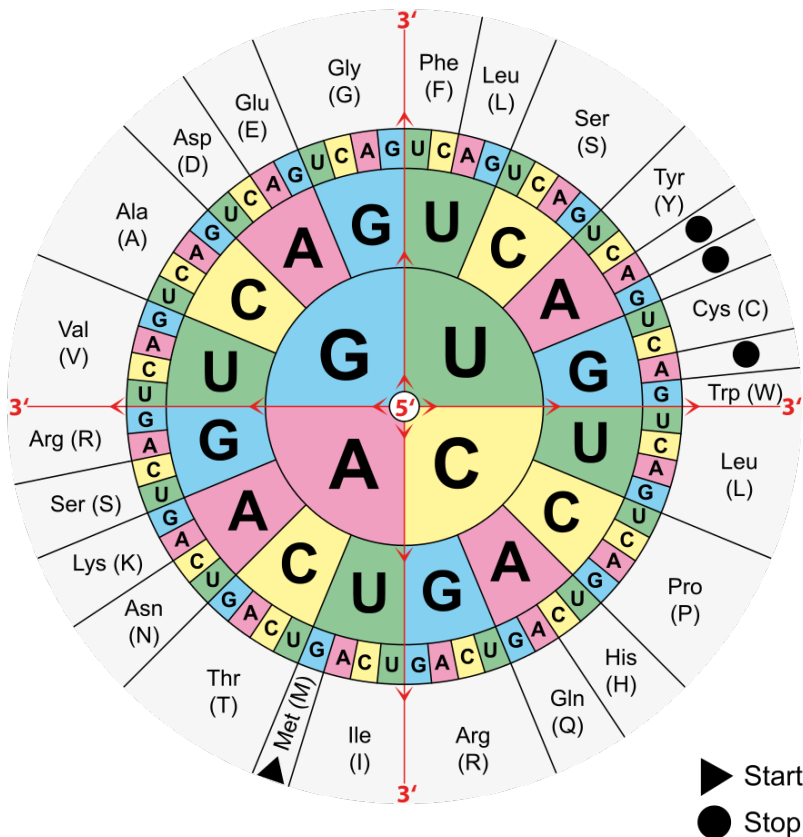
#### B. Amino Acids with Polar Uncharged Side Chains



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Biogeneza aminokwasów:



**ZNANY, LUBIANY I PRAWIE UNIWERSALNY  
KOD GENETYCZNY**

Aminokwasy można również podzielić pod względem ich wieku oraz biogenezy. Podział ten ma swoje źródło w fundamentalnych różnicach strukturalnych **syntetaz aminoacylo-tRNA**, enzymów odpowiedzialnych za wiązanie aminokwasów z odpowiadającym im tRNA.

- aminokwasy typu I: arginina, cysteina, glutamina, izoleucyna, leucyna, kwas glutaminowy, lizyna, metionina, tryptofan, tyrozyna i walina.
- aminokwasy typu II: alanina, asparagina, kwas asparaginowy, glicyna, histydyna, lizyna, fenyloalanina, prolina, seryna i treonina.

Wszystkie aminokwasy pełniące fundamentalną rolę przy „zwijaniu” białek (Gly, Pro, Ala, Asp, Thr i Ser) należą do aminokwasów typu II. Aminokwasy te są z reguły mniejsze (inaczej: „prostsze” w syntezie).

**NCN** → II; **NUN** → I (poza fenyloalaniną)

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Biogeneza aminokwasów:

Table 1  
Classification of the aminoacyl-tRNA synthetases

	Class I		Class II
	ValRS		GlyRS
	LeuRS		ThrRS
	IleRS		AlaRS
Ia	CysRS	IIa	ProRS
	MetRS		HisRS
	ArgRS <sup>a</sup>		SerRS
	GluRS		AspRS
Ib	GlnRS	IIb	AsnRS
	LysRS-I <sup>b</sup>		LysRS-II <sup>b</sup>
	TyrRS		PheRS
Ic	TrpRS	IIC	

<sup>a</sup>ArgRS deserves a special place among class I aaRSs. The anticodon-binding module of the ArgRS displays high structural similarity to those of subclass Ia, yet its catalytic domain is related to subclass Ib.

<sup>b</sup>LysRS is the only known to date violation of the class rule; LysRS-II is found in the majority of the eukaryotes and bacteria, while archaea and some bacteria incorporate lysine by “special” LysRS-I.

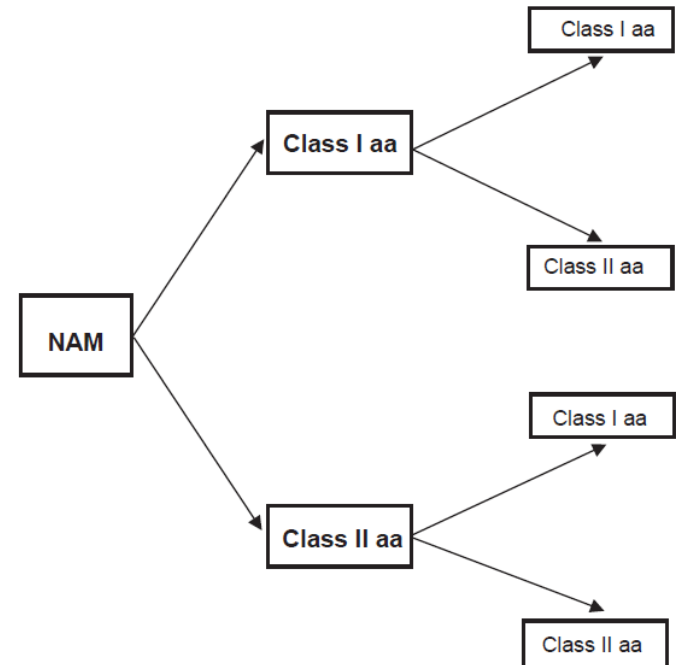
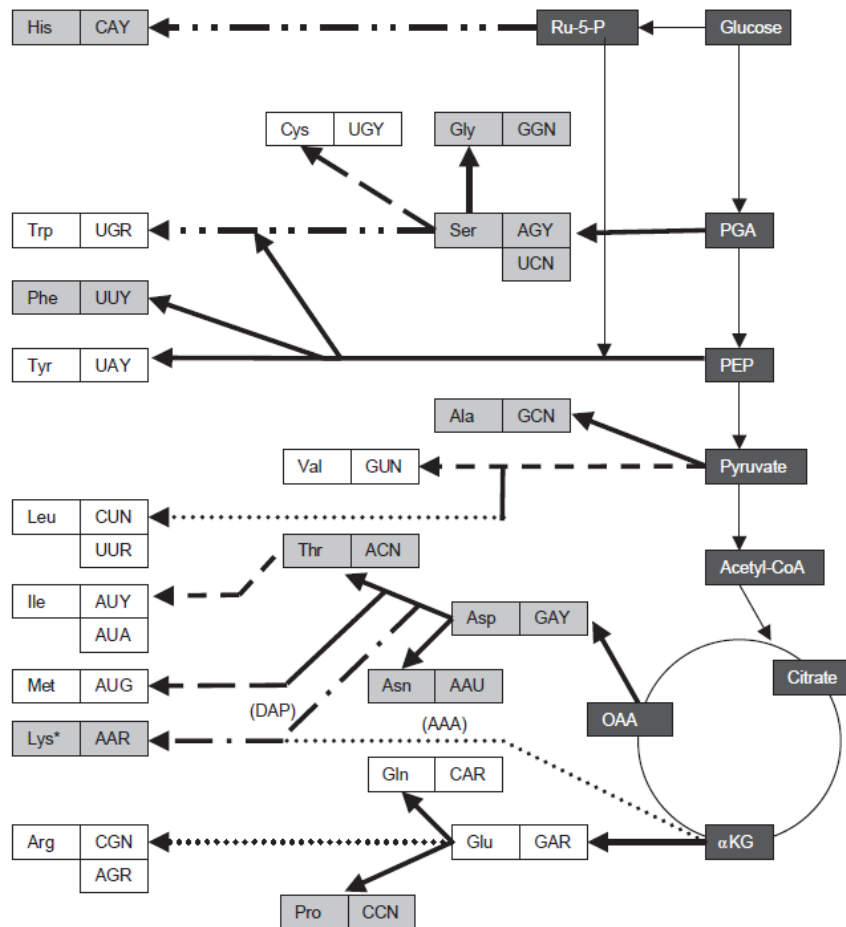


Fig. 2. Incorporation of amino acids associated with two different classes AA-I and AA-II into biosynthetic pathways. It is well known that carbon backbones of amino acids come from intermediates of glycolysis, the citric acid cycle, and pentose phosphate pathway. All possible non-amino acid precursors at the initial stage of biosynthetic reactions are marked as NAM. At the next stage, after NAM, all the intermediates are amino acids and as such should be attributed to one of the two possible classes I or II. All the subsequent transitions occur between amino acids that stand for precursors or products.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Biogeneza aminokwasów:



Schematic representation of the amino acid biosynthetic pathways. Next to each amino acid its corresponding codons are depicted (G for guanine, C for cytosine, A for adenine, U for uracil, R for purine, Y for pyrimidine and N for any base). The AA-I are shown in white rectangles and AA-II are shown in gray ones. The pathways employing a group of similar enzymes are marked identically: biosynthetic reactions for Arg/Lys/Leu are marked by dotted lines, set of reactions for Ile/Val pair are depicted by short dashed lines, for those of Trp/His pair are depicted by dashed with two dots and for the Met/Cys pair the routes of reactions are depicted by long dashed lines. AAA, alpha-amino-adipate pathway; DAP, diaminopimelic acid pathway; Ru-5-P, ribulose-5-phosphate; PGA, 3-phosphoglycerate; PEP, phosphoenolpyruvate;  $\alpha$ KG,  $\alpha$ -ketoglutarate; OAA, oxaloacetate.

L. Klipcan, M. Safro / *Journal of Theoretical Biology* 228 (2004) 389–396



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

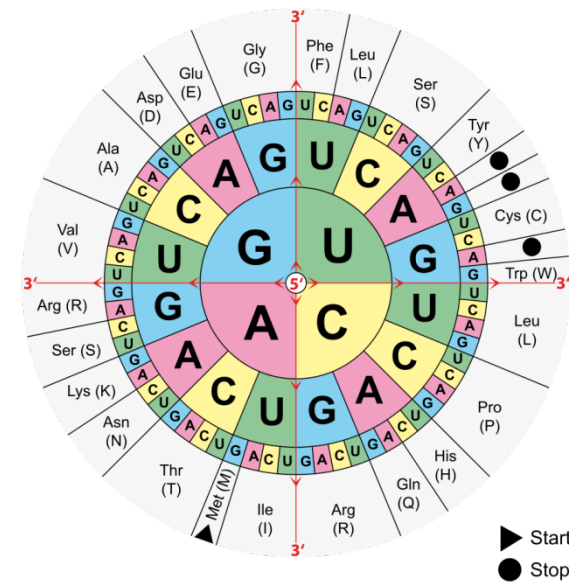
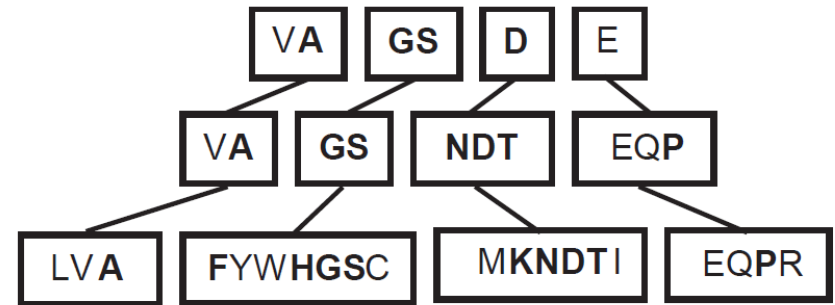
### Biogeneza aminokwasów:

Table 3  
Genetic code of AA-I and AA-II and the number of biosynthetic reactions

Amino acid	Class	Codons are made up of G and C only	Codons are made up of G, C and A	Four letter code G, C and U	BSN
Gly	II	GGC, GGG			1
Ala	II	GCC, GCG			1 X = 3.2
Pro	II	CCC, CCG			3
Arg	I	CGC, CGG			8
Asp	II		GAC		1
Asn	II		AAC		1
Thr	II		ACC, ACR		5
Ser	II		AGC		3 X = 3.8
His	II		CAC		10
Lys	I+II		AAR		9
Glu	I		GAR		1
Gln	I		CAR		
Phe	II			UUY	10
Tyr	I			UAY	10
Trp	I			UGG	13
Ile	I			AUA, AUY	5 X = 7.3
Leu	I			UUR, CUN	8
Val	I			GUN	4
Met	I			AUG	7
Cys	I			UGY	2

BSN is the number of the biosynthetic reactions for a given amino acid; X is the average number of reactions of a given group of amino acids; Y stands for pyrimidine, R stands for purine and N stands for any base.

### GENERACJE AMINOKWASÓW:



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Biogeneza aminokwasów - wnioski:

- I. Najstarsze aminokwasy należą do typu II i są tymi samymi aminokwasami, które zostały otrzymane w eksperymencie Urey'a-Millera (!).
- II. Aminokwasy te są kodowane przez trójki bogate w reszty guaniny (G) oraz cytozyny (C), co jest charakterystyczne dla tzw. „starych genów” (bogatych w pary GC).
- III. Aminokwasy typu II wymagają średnio ponad 2x mniej reakcji biochemicznych niezbędnych do ich syntezy, niż aminokwasy typu I (AA-II: 2,1 reakcji; AA-I: 4,6 reakcji).
- IV. Możliwe są wzajemne przekształcenia aminokwasów grupy II w aminokwasy grupy I, I w II, etc.:

Precursor-product pairs<sup>a</sup>

NAM > AA-II	NAM > AA-I	AA-II > AA-II	AA-II > AA-I	AA-I > AA-I	AA-I > AA-II
Pyr > Ala 1 <sup>b</sup>	KG > Glu 1	Ser > Gly 1	Ser > Cys 2	Glu > Gln 1	Glu > Pro 3
OAA > Asp 1	Pyr > Val 5	Asp > Asn 1	Thr > Ile 5	Glu > Arg 8	
PGA > Ser 3	Pyr > Leu 8	Asp > Thr 5	Asp > Met 7		
<b>Ru5 &gt; His 10</b>	<b>Pep &gt; Trp 13</b>	<b>Asp &gt; Lys 9<sup>c</sup></b>			
<b>PEP &gt; Phe 10</b>	<b>Pep &gt; Tyr 10</b>				
<i>X</i> = 5 (1.67)	7.4 (4.67)	4(2.3)	4.7	4.5	3

The *X*-values are the average number of biosynthetic reactions for a given transition NAM > AA-II, or NAM > AA-I, etc. In brackets are the average numbers of intervening stages not counting the group of the residues that were added to the set at the last stage of genetic code formation. Lately added residues are in bold.

<sup>a</sup>The 20 precursor-product pairs of amino acids biosynthetic pathways as defined in Fig. 1.

<sup>b</sup>Number of the reactions between the specified precursor and product pairs (Pyr > Leu, Thr > Ile, etc.).

<sup>c</sup>The biosynthesis of lysine passes through the two alternative pathways. The amino acids that possibly were added later are in bold.

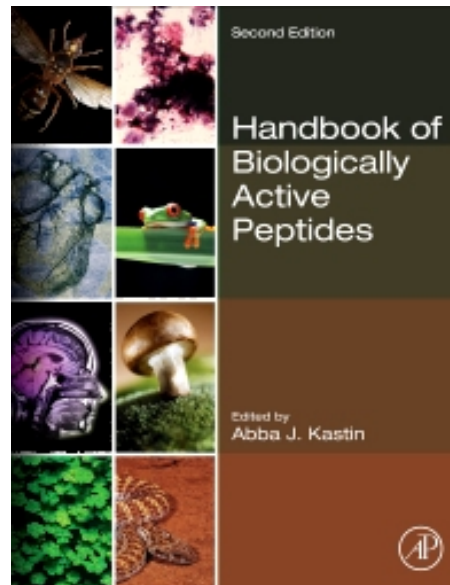
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Połączenie co najmniej dwóch aminokwasów przy pomocy wiązania amidowego nosi nazwę **peptydu**.

Niskocząsteczkowe peptydy, tj. peptydy składające się z kilku- do kilkudziesięciu aminokwasów, pełnią wiele ważnych funkcji biologicznych: są **hormonami**, pełnią funkcje **regulatorowe** i **sygnałowe**, bywają też **toksynami**, etc. Peptydy są również **prekursorami** wielu **metabolitów wtórnych**, np. **penicylin**, **cefalosporyn**, **alkaloidów**, etc.

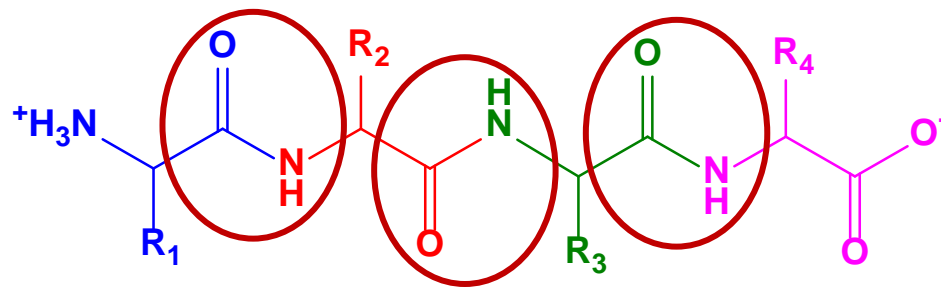


# BIOMAKROMOLEKUŁY

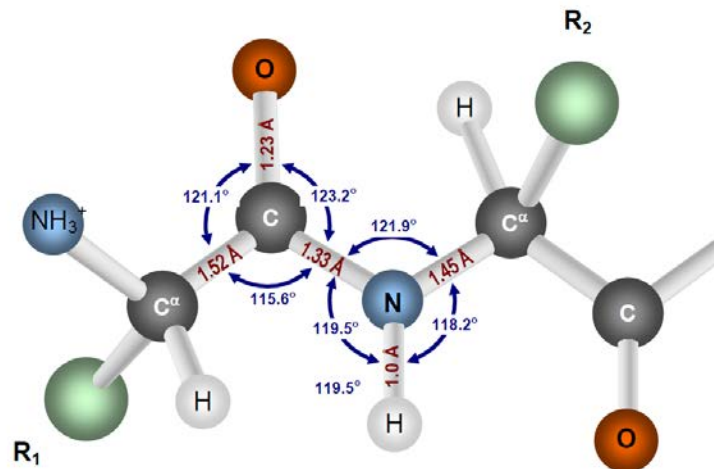
## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Ogólny schemat peptydu:



Szkielet danego aminokwasu, ( $\text{N}-\text{C}_\alpha-\text{C}_{\text{karb}}$ ), leży zawsze w jednej płaszczyźnie:

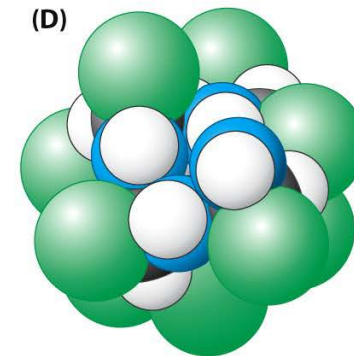
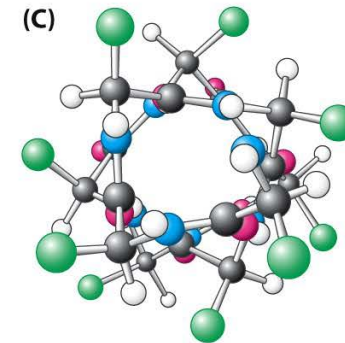
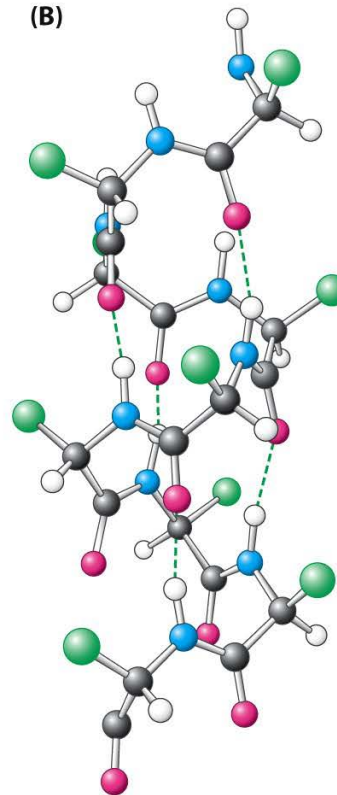
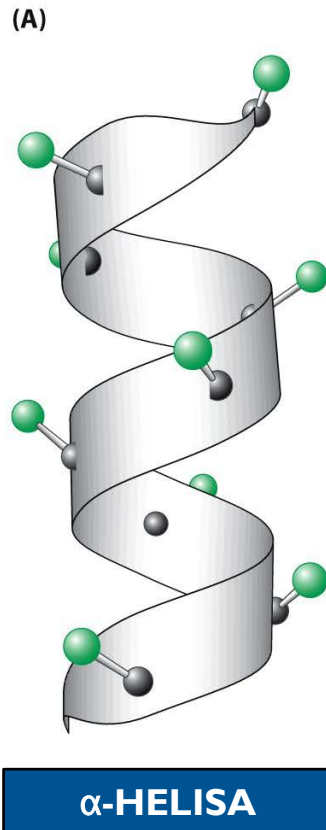


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Dłuższe peptydy, w zależności od sekwencji, tworzą **struktury drugorzędowe**:

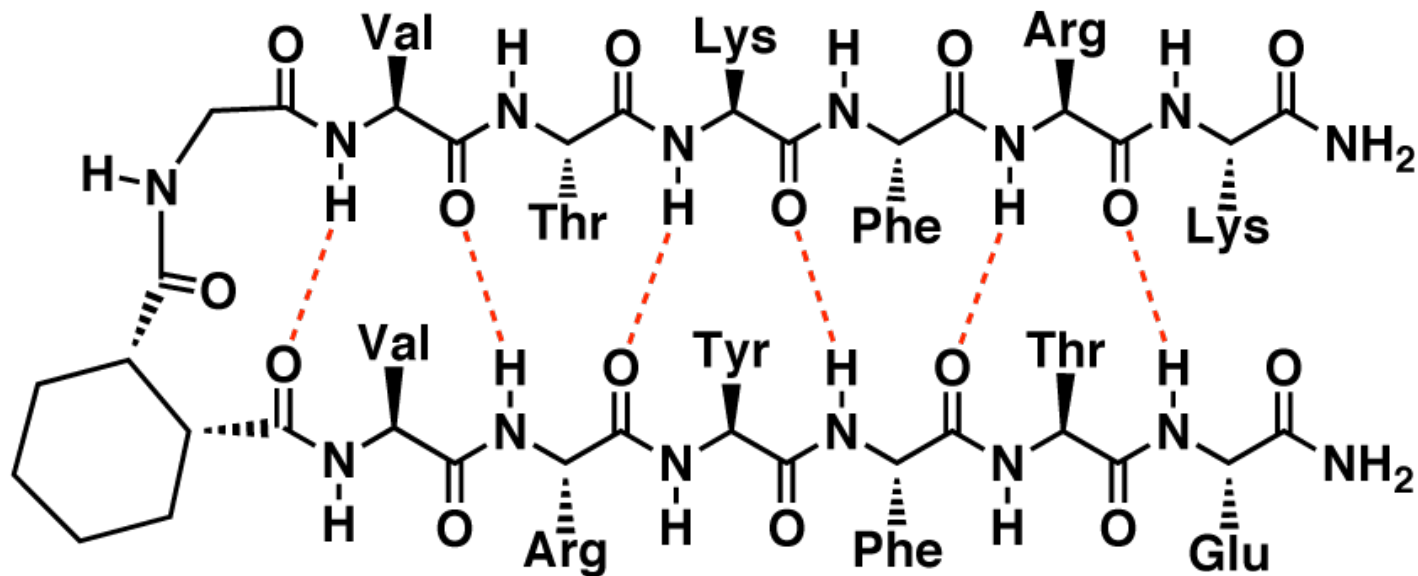


# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Dłuższe peptydy, w zależności od sekwencji, tworzą **struktury drugorzędowe**:



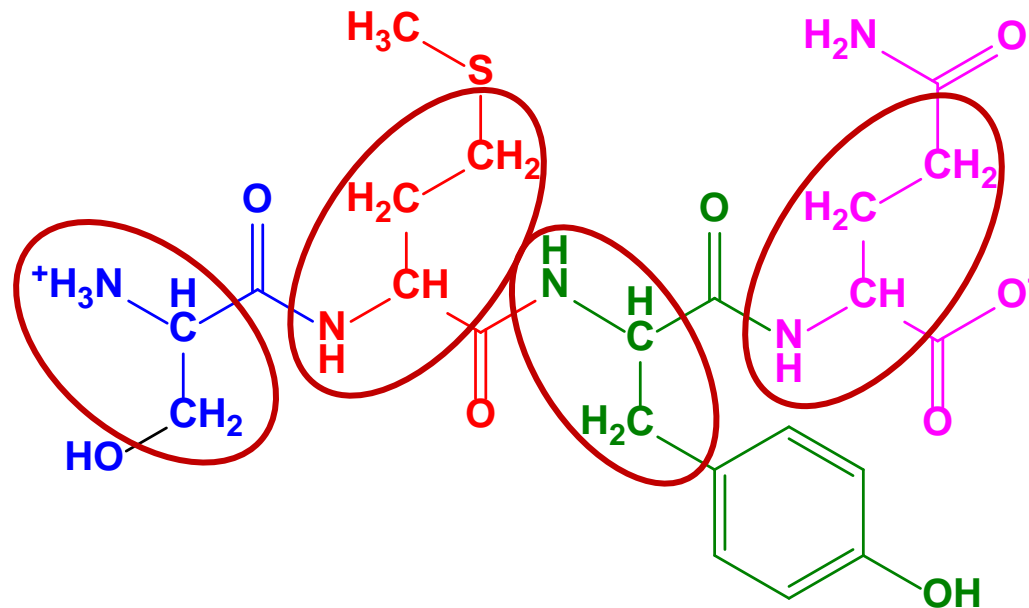
$\beta$ -KARTKA

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Badania spektroskopowe (NMR) peptydów:



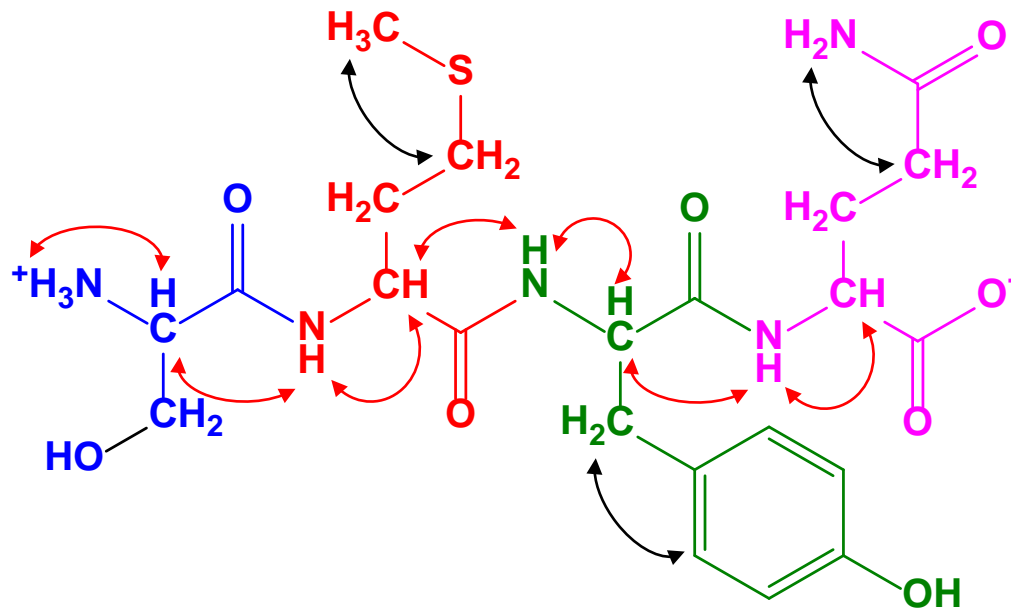
- Rozpoznanie **układów spinowych reszt aminokwasowych** jest możliwe dzięki **eksperymentowi TOCSY**...
- ... ale on nie wystarcza.

# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Badania spektroskopowe (NMR) peptydów:



- Kluczowych informacji do badań **sekwencji** i **stereostruktury** peptydów oraz białek dostarczają **eksperymenty NOESY/ROESY**.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

*Przykłady peptydów aktywnych biologicznie:*

- **glutation** → Glu-Cys-Gly; składnik wielu koenzymów, przeciwutleniacz, niszczytel nadtlenków, występuje we wszystkich komórkach zwierząt wyższych oraz w większości roślin i mikroorganizmów;
- **enkefaliny** → np. Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (Leu-enkefalina); pentapeptydy o działaniu zbliżonym do morfiny (oddziałują na te same receptory); niestety również uzależniające;
- **endorfiny** → Thr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu (31-peptyd, ludzka  $\beta$ -endorfina); hormony szczęścia (egzogenne endorfiny uzależniają);
- **oksytocyna** i **wazopresyna** → cykliczne nonapeptydy, np. Cys<sup>1</sup>-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys<sup>6</sup>-Pro-Leu-Gly, pętla 1-6 (oksytocyna); tzw. neuropeptydy, pełnią funkcje przekaźnikowe;
- **gastryna** → amid 17-peptydu, wytwarzany przez błonę śluzową żołądka, stymulujący wydzielanie HCl, enzymów trzustkowych oraz pracę mięśni przewodu pokarmowego;
- **insulina** → 51-peptyd zbudowany z dwóch łańcuchów (21 AA i 30 AA); hormon wydzielany przez trzustkę, reguluje metabolizm cukru i tłuszczów; podstawowy lek dla diabetyków;
- **somatotropina** → hormon wzrostu; u ludzi: 191-peptyd (w zasadzie białko); produkowana na świecie w celu leczenia karłowatości wynikającej ze schorzeń przysadki mózgowej;

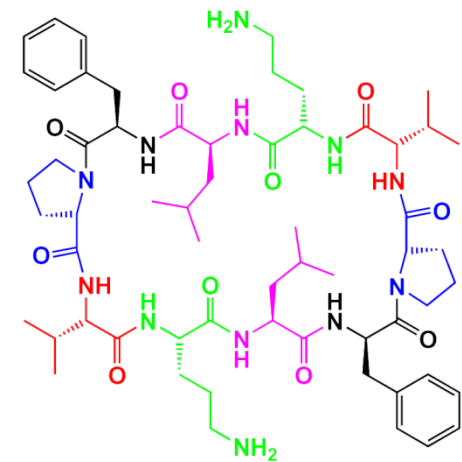
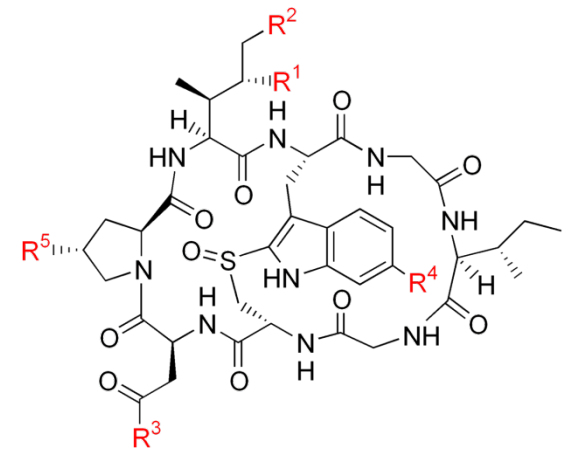
# BIOMAKROMOLEKUŁY

## EWOLUCJA BIOCHEMICZNA, ETAP II: POLIPEPTYDY, BIAŁKA I ENZYMY

### Peptydy

Przykłady peptydów aktywnych biologicznie:

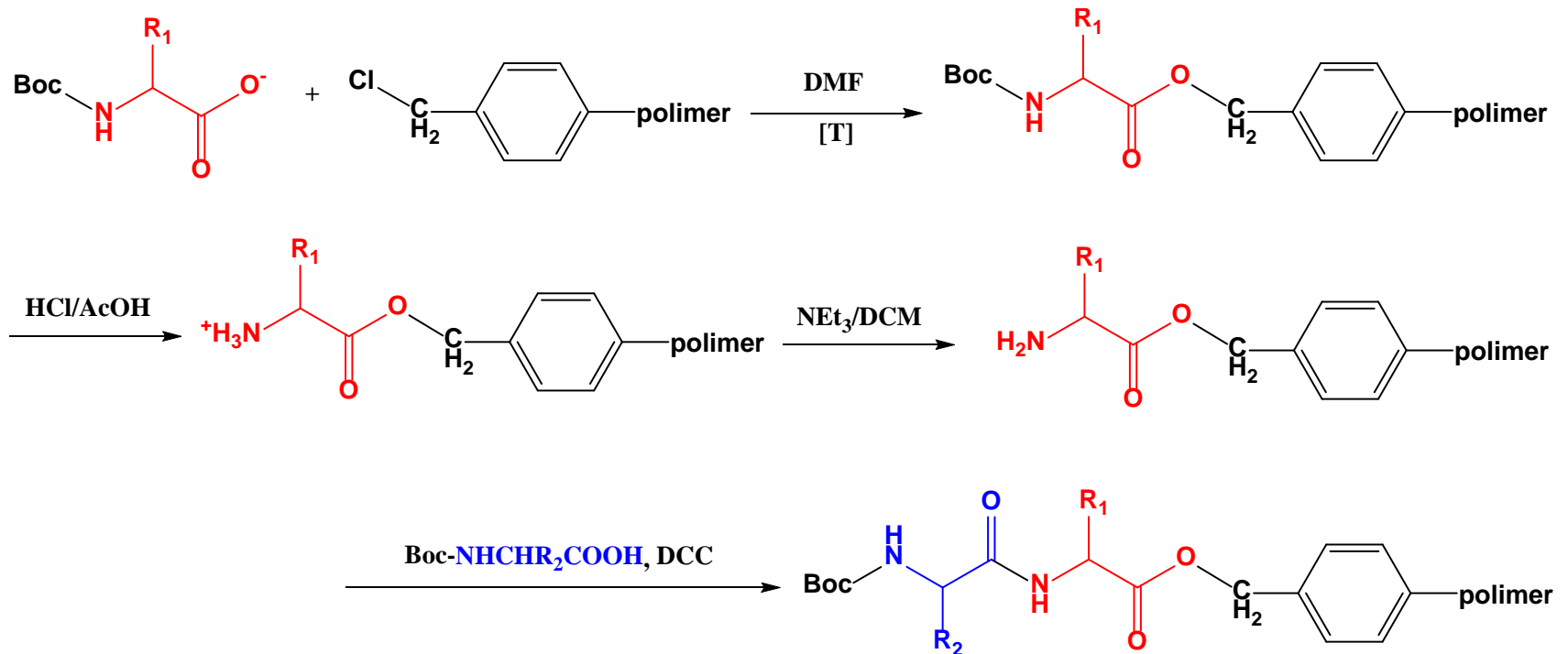
- **aspartam** → Asp-Phe-COOCH<sub>3</sub>; dipeptyd; 200-krotnie słodszy w smaku niż cukier, stosowany jako słodzik;
- **amatoksyny** → bicykliczne oktapeptydy, zawyczaj zawierają aminokwasy niebiałkowe; silne toksyny pochodzenia np. grzybiczego;
- **antybiotyki peptydowe** → np. gramicydyna S (cykliczny dekapeptyd; zawiera D-feniloalaninę); walinomycyna (cykliczny dodekapeptyd); nizyna (19-38-peptyd);
- **toksyny zwierzęce** → np. jady węży (60-70-peptydy zbudowane z aminokwasów białkowych); melityna (jad pszczoł, os i szerszeni, 26-peptyd); jady pająków (robustoksyna; latrotoksyna, nekrotoksyna – enzymy białkowe);
- **muramylopeptydy** → składniki ściany komórkowej roślin i grzybów;
- **alkaloidy i antybiotyki pochodzenia peptydowego** → metabolity wtórne wielu roślin i mikroorganizmów; będą omówione później i bardziej szczegółowo.



# BIOMAKROMOLEKUŁY

## CHEMICZNA SYNTEZA POLIPEPTYDÓW

Synteza na fazie stałej - metoda Merrifielda:



Modyfikacje podejścia Merrifielda: **złozę, grupy ochronne, deprotekcja.**

Największym zsyntetyzowanym dotychczas peptydem (białkiem) jest **somatotropina** (192 aa).

# METABOLITY PIERWOTNE

Metabolity pierwotne to te niskocząsteczkowe związki naturalne, **bez których niemożliwe jest funkcjonowanie danego organizmu żywego.**

Metabolity pierwotne można (z grubsza) podzielić na:

- **nukleoaminy;**
- **aminokwasy i peptydy;**
- **cukry (mono-/di-/polisacharydy);**
- **alkohole (w tym poliole), niskocząsteczkowe kwasy organiczne;**
- **lipidy (kwasy tłuszczowe, steroidy, poliketydy, prenole);**
- **kombinacje i pochodne wyżej wymienionych, np.: nukleozydy i nukleotydy (w tym ATP, NAD<sup>+</sup>/NADH, NADP<sup>+</sup>/NADPH, FAD/FADH<sub>2</sub>, etc.), sacharolipidy; glicerolipidy, glicerofosfolipidy, sfingolipidy;**
- **witaminy;**
- *...i wiele innych.*

**Metabolity pierwotne są zaangażowane we wszystkie funkcje żywego organizmu (wzrost, oddychanie, odżywianie, wydalanie, reprodukcja, wysyłanie i odbieranie sygnałów, zmysły, etc.).**

**Metabolity pierwotne są również prekursorami biomakromolekuł oraz metabolitów wtórnych.**

# METABOLITY WTÓRNE

Metabolity wtórne **nie są niezbędne do przeżycia żywego organizmu**, ale pełnią zazwyczaj **istotne funkcje ekologiczne**.

Podział metabolitów wtórnych ze względu na biogenezę:

- **fenole i polifenole;**
- **flawonoidy;**
- **alkaloidy;**
- **terpeny i terpenoidy;**
- **steroidy;**
- **pochodne poliketydów;**
- *...i wiele innych.*

**Metabolity wtórne pełnią funkcje obronne, alleopatyczne, sygnałowe, barwiące (ostrzegawcze) i inne – służą przede wszystkim interakcji ze środowiskiem. Występują przede wszystkim w organizmach niższych (bakterie, promieniowce, grzyby, porosty) oraz w roślinach.**

Ponieważ o funkcjach metabolitów pierwotnych oraz wtórnych nie da się powiedzieć więcej w oderwaniu od ich struktury oraz biogenezy, zagadnienia ta zostaną poruszone na kolejnych wykładach.