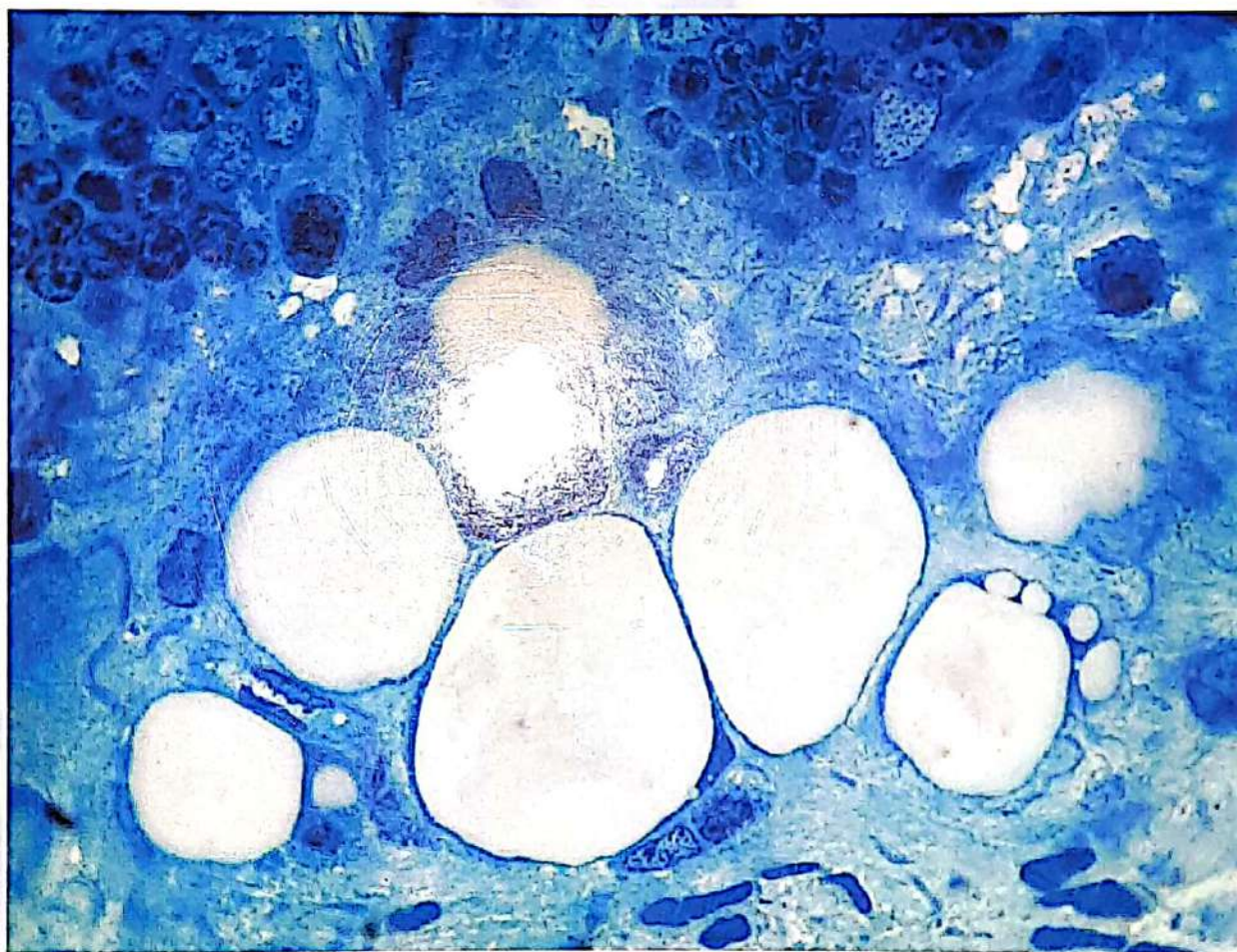


SMILJANA PARAŠ

# CITOLOGIJA I



PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
UNIVERZITET U BANJA LUCI



**PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
UNIVERZITET U BANJA LUCI**

# **CITOLOGIJA I**

**dr Smiljana Paraš**

Recezeni:

dr Mirela Ukropina, vanredni profesor, Biološki fakultet u Beogradu,  
Univerzitet u Beogradu  
dr Ljiljana Toplalović-Trivunović, vanredni profesor, Tehnološki fakultet u Banja Luci,  
Univerzitet u Banja Luci

Autor:

dr Smiljana Paraš, docent,  
Prirodno-matematički fakultet u Banja Luci, Univerzitet u Banja Luci  
kontakt adresa autora: smiljana.paras@pmf.unibl.org

Tehnička priprema:

dipl. grafički dizajner Jovan Mandić

Konsultant:

mr Nataša Vojinović

Izdavač:

Prirodno-matematički fakultet u Banja Luci, Univerzitet u Banja Luci

Poštovani studenti, kolege i čitaoci udžbenika CITOLOGIJA I koji je pred vama plod je mog dugogodišnjeg iskustva iz oblasti citologije. Želja mi je da vam kroz ovu knjigu na jednostavan i moderan način približim znanja iz citologije koja nisu nimalo jednostavna kako se čine na prvi pogled. Čelija nije oblik života koji srećemo oko sebe svakodnevno, koji možemo da dodirnemo, omirišemo ili čujemo i koji će reagovati ako je zagolicamo ili je umočimo u vodu.

Knjiga CITOLOGIJA I u potpunosti prati nastavni program predmeta Biologija ćelije za studente prve godine na studijskim programima Biologija i Ekologija i zaštita životne sredine, Prirodno -matematičkog fakulteta u Banja Luci. Takođe, može da se koristi i kao pomoćni udžbenik za druge predmete kao što su Anatomija biljaka, Morfologija biljaka, Fiziologija biljaka, Fiziologija životnja i Genetika na studijskim programima Biologija i Ekologija i zaštita životne sredine. Kolegama sa medicinskih, veterinarski, poljoprivrednih, šumatskih i tehnoloških nauka takodje knjiga CITOLOGIJA I može da posluži kao osnovna i dodatna literatura.

Možda će rukopis knjige CITOLOGIJA I delovati komplikovan studentima na prvo čitanje, međutim to je moja želja da probudim u njima istraživački duh i da svaki pojam koji im nije jasan istraže ili hrabro pitaju predavače. Nemojte studenti da vas nejasan pojam ili reakcija obeshrabe u čitanju jer će se sigurno razjasniti tek nakon pročitane cele knjige. Studenti ne želim da budete inertni i nezainteresovani, već da budete nemirni, uporni i radoznali da proširite svoja znanja, a da vam ova knjiga bude vodič.

U knjizi CITOLOGIJA I kroz tekst spominjem opravdano i zasluženno imena i dostignuća naučnika iz oblasti hemije, biohemije, fizike, biologije, medicine, patologije, paleontobiologije, citologije, ekološke, molekularne biologije koji su svoje radne i životne vekove posvetili istraživanju istina, a koje su vama predstavljene u ovom udžbeniku. Nije potrebno učiti njihova imena napamet, preporučujem da potražite njihove biografije na internetu ili u bibliotekama i saznate koliko je bio trnovit put u toku njihovih istraživanja kada su dolazili do novih otkrića. Njihova saznanja su dostupna sada vama da ih proširujete i prenosite na sledeće generacije.

Čitaoci želim vam puno uspeha u savladavanju gradiva koje je predstavljeno u ovom udžbeniku, takođe želim da ova knjiga bude nešto čemu ćete se često vraćati. Studenti naučne istine iz udžbenika dorađujte vremenom i primenjujete ih u vašem radu. Očekujem da ćete iz nje učiti i da ćete ispisati njene margine novim saznanjima iz citologije. Neka vam ona bude uvek pri ruci: u vašim stručnim bibliotekama, na radnim i laboratorijskim stolovima ili u kabinetima biologije u školama, iz razloga da uvek mozete da proverite neku nedoumicu, podsetite se savladanog gradiva ili neke ilustracije.

Raskupusajte CITOLOGIJU I od silnog listanja, nemojte da ostane zabačena u nekoj vitrini odmah nakon polaganja ispita. Molim vas, budite slobodni da me kontaktirate i obavestite o svakom novom znanju iz citologije sa kojim se upoznate kako bi njena buduća izdanja bila još bolja.

Autor

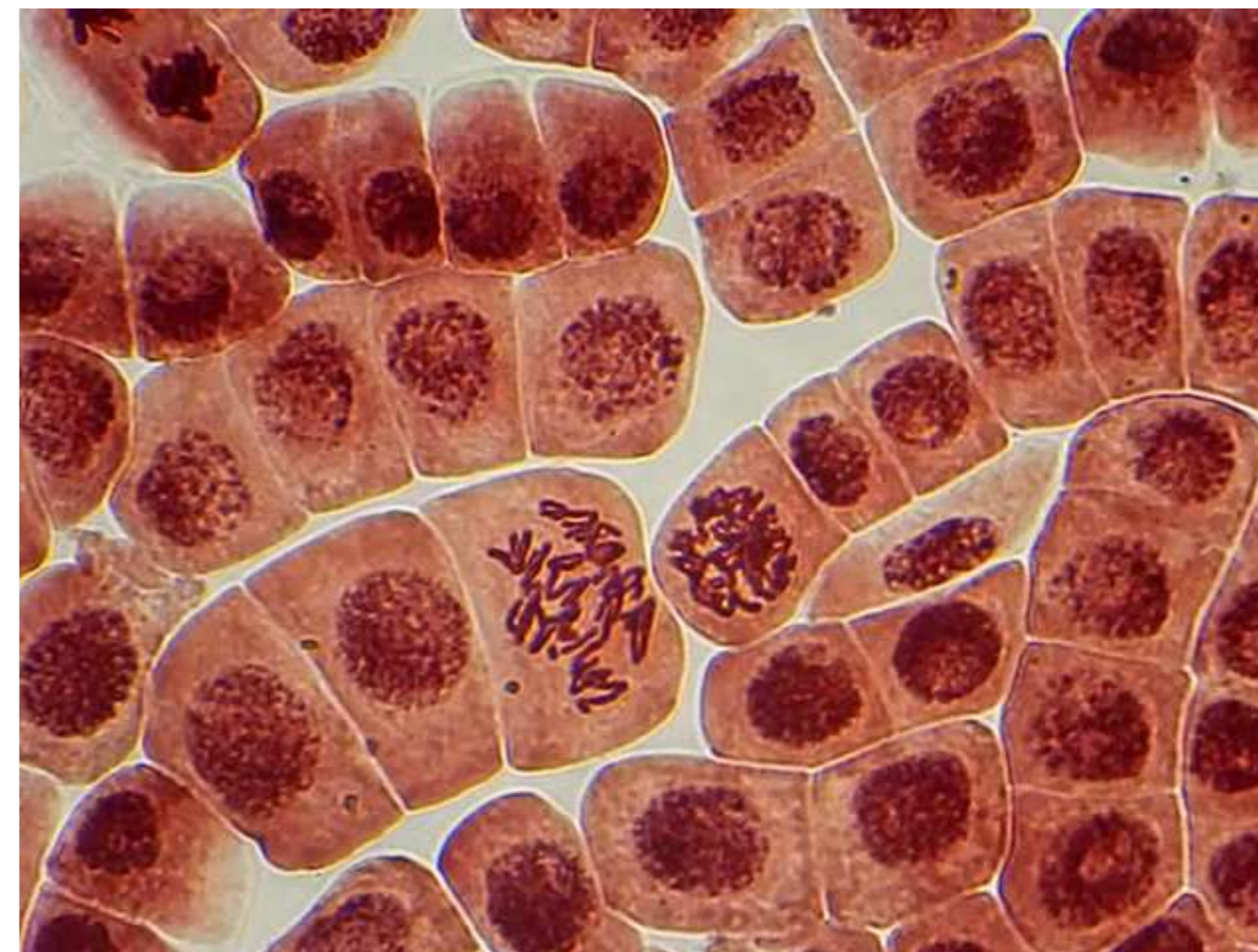


#### SADRŽAJ:

NAUKA O ĆELIJI	7
Uslovi za posmatranje ćelije	10
Bojenje preseka tkiva	13
Svetlosni mikroskopi	15
Elektronski mikroskopi	18
POSTANAK BIOMAKROMOLEKULA	22
Prebiotička faza	25
Hemijske veze bogate energijom	28
RNK i DNK faza	29
PRVE ĆELIJE	31
Protoćelije	33
LUCA	34
HEMIJSKA OSNOVA ĆELIJE	38
Neorganska jedinjenja ćelije	39
Organska jedinjenja ćelije	40
ugljeni hidrati	41
lipidi	44
proteini	45
nukleinske kiseline	48
PROKARIOTSKA ĆELIJA	52
Građa prokariotske ćelije	53
Deoba prokariotske ćelije	56
Raznolikost prokariotskih ćelija	57
NASTANAK ORGANELA	61
Endosimbiontska teorija	62
Eukariotska ćelija	65
BIOMEMBRANE	69
Građa biomembrana	72

Razmena supstanci kroz biomembrane	84
prosta difuzija	84
olakšana difuzija	85
aktivni transport	86
vezikularni transport	89
CITOPLAZMA	100
Funkcija citoplazme	104
CITOSKELET	107
Mikrofilamenti	111
Intermedijarni filamenti	120
Mikrotubule	126
kooperacija između mikrotubula i mikrofilamenata	134
specifičnosti citoskeleta biljne ćelije	135
CENTRIOLE, CILIJE I FLAGELE	137
Centriole	138
Cilije	141
Flagele	145
bakterijske flagele	145
eukariotske flagele	148
NUKLEUS	150
Nukelusni omotač	154
nukleusna lamina	156
nukleusne pore	157
Nukleoplazma	161
Nukleoskelet	163
Nukleolus	164
Hromatin	166
RIBOZOMI	170
Građa ribozoma	172
Formiranje ribozoma	173
Poliribozomi	174
ENDOPLAZMATIČNI RETIKULUM	178
Granulirani endoplazmatični retikulum	181
Agranulirani endoplazmatični retikulum	185
GOLDŽI APARAT	189
Uloga Goldži aparata	192
LIZOZOMI	197
Proteazomi	198
Endozomi	199
Lizozomi	202
heterofagija	206
autofagija	207
MITOHONDRIJE	210
Građa mitohondrija	212
Deoba mitohondrija	215
Mitohondrijalna DNK	216

Funkcionisanje mitohondrija	217
PLASTIDI	221
Proplastidi	222
Etioplasti	223
Hloroplasti	224
Hromoplasti	227
Leukoplasti	228
Amiloplasti	228
ĆELIJSKE DEOBE	230
Mitoza	232
Mejoza	240
LITERATURA	248



[1]

# NAUKA O ĆELIJI

Uslovi za posmatranje ćelije  
Bojenje preseka tkiva  
Svetlosni mikroskopi  
Elektronski mikroskop

Ćeliju kao elementarnu, strukturnu i funkcionalnu jedinicu života, proučava nauka koja se zove CITOLOGIJA. Citologija objedinjuje znanja o fizičkim osobinama i ultrastrukturnoj građi ćelije služeći se svetlosnim i elektronskim mikroskopom. Metabolizam, fiziologiju, životni ciklus, genetiku i evoluciju, kao i komunikaciju između ćelija; i komunikaciju ćelija sa spoljašnjom sredinom izučava BIOLOGIJA ĆELIJE. Biologija ćelije je naučna oblast koja objedinjuje naučne discipline kao što su i razviće; dinamičke promene ćelija; praktičnu primenu znanja iz citologije i povezanost citologije sa životinjskom i biljnom histologijom, morfologijom, anatomijom i patologijom. Pored svega ona povezuje najnovija znanja iz oblasti života ćelije primenjenih u savremena tehnološka dostignuća i biotehnologiju. Termin citologija je složenica grčkih reči: κύτος- “kytos” = šupljina i λογία – “logia” = nauka, zajedno označavaju nauku koja se bavi istraživanjem golim okom nevidljivih struktura koje ispunjavaju naizgled prazne i nesegmentisane prostore tkiva. Otac citologije je engleski naučnik Robert Hooke (1635-1703) [2], prvi je video ćeliju, ali kao šupalj i prazan prostor na preseccima plute. Tako je Robert Hooke (1665) na mikroskopu veoma skromnog uvećanja posmatrao mrtve ćelije plute koje su ga podsetile na manastirske ćelije - “kelije”. Tada u svet biologije on uvodi pojam “ćelija”, kako bi imenovao minijaturne jedinice od kojih je bilo izgrađeno tkivo plute. Danas se zna da praznih prostora ili šupljina u tkivima i ćelijama nema, jer su tkiva organa izgrađena od ćelija i međućelijske supstance, a da su ćelije sačinjene od ćelijskih struktura i biomakromolekula.

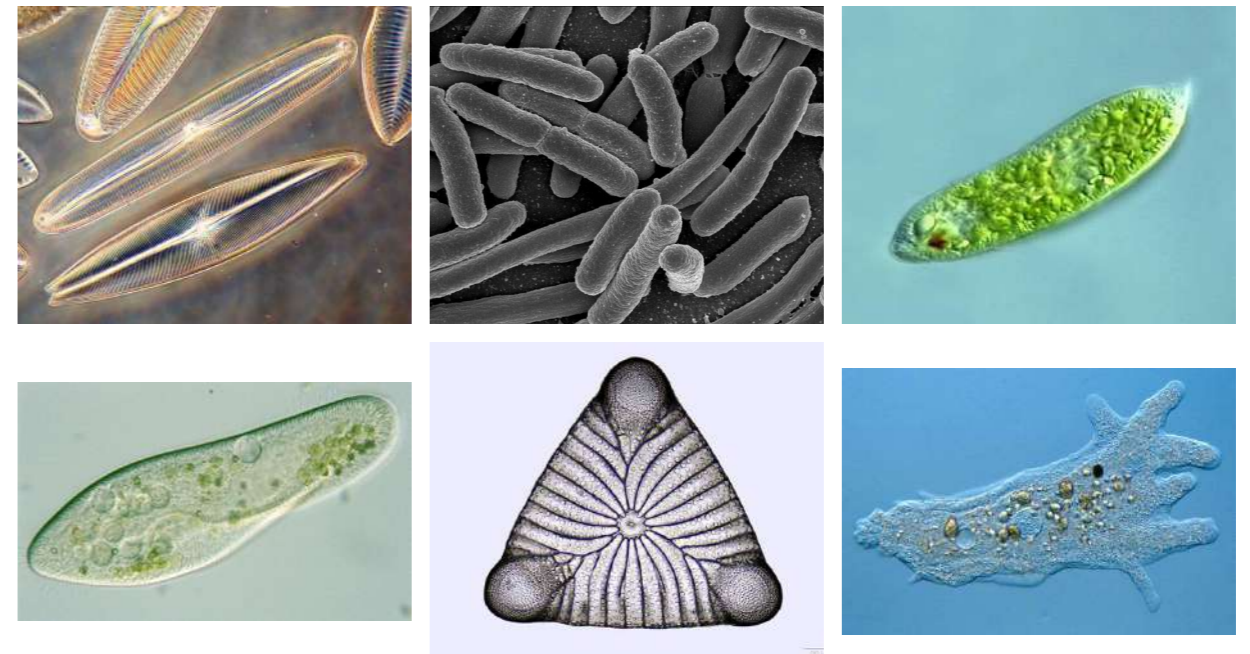


[2] *Portret naučnika Roberta Hooke, engleskog fizičara i astronoma. Pored toga što je prvi put uočio ćelije pomoću mikroskopa Robert Hooke je dokazao i kretanje planeta Sunčevog sistema putanjom u obliku elipse*

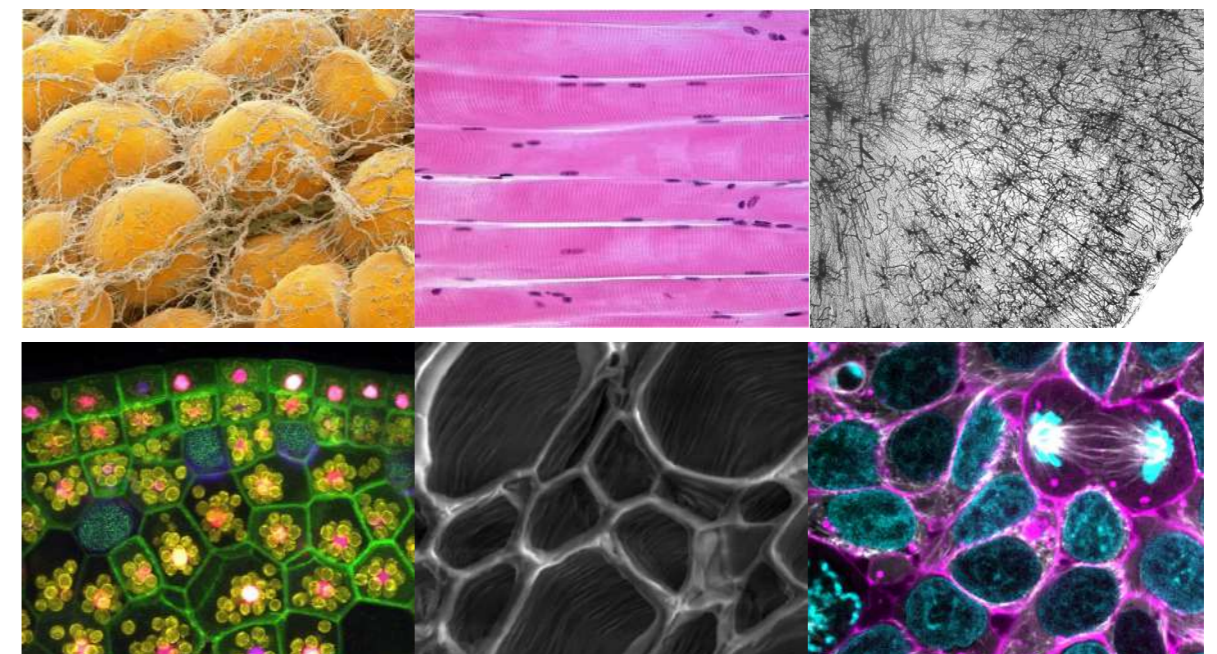
Dvestotine godina nakon otkrića Roberta Hooke, botaničar Matthias Schleiden (1838) i biolog Theodor Schwann (1839) prvi jasno i potkrepljeno činjenicama definišu ćeliju kao osnovnu jedinicu biljnih i životinjskih organizama. Ovu definiciju embriolog Oscar Hertwig (1892) proglašava tačnom i naziva je teorija ćelije, tvrdeći da su svi procesi u organizmima refleksija ćelijskih procesa. On je izdvojio citologiju za posebnu granu biologije. Kasnije su genetičar Walter Sutton i zoolog Theodor Boveri (1903) osnovali citogenetiku, novu naučnu disciplinu, istražujući biologiju hromozoma i pokazujući povezanost između ćelijske deobe i nasleđivanja osobina.

Znanja citologije koriste se u mnogim primenjenim naukama i naučnim oblastima: medicini naročito patologiji, veterine, poljoprivrede i to u stočarstvu i ratarstvu, šumarstvu, biotehnologiji, farmaciji, vodoprivredi i dr. Sa druge strane citologija koristi znanja i prilagođene metode hemije, biohemije, fizike, molekularne biologije, fiziologije, mikrobiologije, genetike i dr. formirajući na taj način multidisciplinarnu mrežu znanja, koja se svakodnevno obogaćuje novim činjenicama i traži njihovu primenu za dobrobit čovečanstva. Životni procesi koji se odvijaju na nivou elementarne jedinice života daju citologiji fundamentalno mesto u biologiji i omogućavaju bolje shvatanje znanja iz botanike, zoologije, genetike, ekologije, antropologije, mikrobiologije i drugih bioloških disciplina. Neophodni i zajednički životni minimum za sve ćelije je prisustvo ćelijske membrane, citoplazme, enzima, ribozoma i genetičkog materijala u njihovoj građi. Osim zajedničkog životnog minimuma ćelije poseduju strukturne specifičnosti koje ih čine različitim. U kom stepenu će se ogledati različitost ćelija i koje će unutrašnje morfo-funkcionalne komponente one imati, zavisi prvenstveno od njihove uloge i načina života. Oblik i veličina ćelija koje grade jednoćelijske ili višećelijske organizme zavise od njihovog metabolizma, homeostaze, reagovanja na nadražaj, rasta i razvića, razmnožavanja i evolucije, što su ujedno i karakteristike koje ćeliju definišu živom.

Organizmi čije telo gradi samo jedna visokospecijalizovana i diferencirana ćelija su jednoćelijski ili jednocelularni, npr. takvi organizmi su: euglena, papučica ili različite vrste bakterija. Različite vrste jednoćelijskih organizama imaju vrlo različite oblike i veličine svojih ćelija. Ćelije su im specijalizovane tako da sebi obezbeđuju samostalan život. *Pokušaj u odnosu na dosadašnje znanje o ćelijama koje imaš da prepoznaš neke od jednoćelijskih organizama na slikama [3].*



[3] *Različiti oblici jednoćelijskih organizama*



[4] *Različiti oblici ćelija koje grade višećelijske organizme*

Višćelijski ili multicelularni organizmi građeni su od mnogo tipova manje ili više specijalizovanih ćelija koje se između sebe udružuju u tkiva, organe i organske sisteme. Takođe, pojedinačne ćelije višćelijskog organizma moraju zajedno da funkcionišu jer njihovi životi međusobno zavise jedni od drugih, kao i život organizma koji grade. Ove ćelije po svojoj građi i obliku vrlo su različite. Kod višćelijskih organizama broj ćelija koje ih izgrađuju veoma je različit od nekoliko ćelija, kao kod nekih vrsta algi, pa do nekoliko milijardi ćelija, koliko imaju krupni sisari. *Pokušaj u odnosu na dosadašnje znanje o ćelijama koje imaš da prepoznaš neke od ćelija koje grade višćelijske organizme sa slika [4].*

## USLOVI ZA POSMATRANJE ĆELIJE

Kao što je rečeno počeci citologije usko su povezani sa pojavom mikroskopa i dinamika daljeg razvoja uslovljena je usavršavanjem ovog optičkog instrumenta. Otkrića iz oblasti fizike, pre svega optike i elektronike, a zatim hemije, kao i biologije, u najširem smislu direktno i indirektno su doprineli i svakodnevno doprinose razvoju citologije. Do sredine dvadesetog veka mikroskopske analize u citologiji vršene su isključivo na neživim ćelijama, jer je ćelija morala da se pripremi za analizu, a to je podrazumevalo njeno izdvajanje iz živog sistema. Danas napredak tehnologije modernizuje citologiju i omogućava posmatranje živih ćelija i njihovog metabolizma pod mikroskopom. Kako bi slika ćelije koja se dobija u mikroskopu što više odgovarala realnoj, izgledu žive ćelije, treba osigurati zaustavljanje autolitičkih procesa same ćelije, koji nezaustavljivo nastupaju odmah nakon njenog izolovanja iz živog sistema tj. njene smrti. U tim trenucima ćelija počinje samu sebe da destruiše pomoću svojih enzima. Što je vreme nakon smrti ćelija duže u odnosu na vreme njenog posmatranja, slika uzete ćelije je manje tačna u odnosu na onu kad je ona bila živa i deo tkiva. Ova činjenica ne ide u prilog tačnoj deskripciji morfo-funkcionlanih karakteristika bilo kog tipa ćelije.

Sredinom osamnaestog veka optika je napredovala i konstruisana su bolja i jaća sočiva koja su se ugrađivala u složenije mikroskope sa sve većim uvećanjem. Od tog vremena do danas nije se bitno menjao osnovni plan gradnje i mehanizma funkcionisanja mikroskopa, samo je rasla jačina uvećanja sočiva. Svi savremeni svetlosni mikroskopi funkcionišu na istom principu prelamanja svetlosti u sočivima u cilju razdvajanja dve tačke objekta koje se bez mikroskopa čine kao jedna. Svetlosni mikroskopi imaju tri glavne grupe sočiva za uvećanje objekta: kondenzator, objektiv i okular. Kondenzator kondenzuje, sabira, svetlost i usmerava je na objekat koji se mikroskopira, dok objektiv i okular povećavaju sliku objekta. Prvi konstruisani mikroskopi kao i mnogo modela nakon njih bili su sa svetlim poljem, što znači da je sva svetlost iz izvora bila usmeravana prema posmatranom objektu koji ju je upijao ili odbijao i postajao vidljiv. Međutim, objekti bez pigmenta, potpuno providni, nisu upijali sunčevu svetlost, propuštali su je i posmatrač nije mogao da ih vidi i prouči im strukturu, iako su oni bili prisutni na predmetnom staklu. Kasnije kako bi se omogućilo posmatranje bezbojnih ili slabo obojenih objekata upotrebljavan je kondenzator sa dijafragmom, koji modifikuje svetlosni snop i omogućava viđenje objekta. Ovi principi osvetljenja i mehanizma mikroskopiranja pomoću svetlosnog mikroskopa koji koristi sunčevu i veštačku svetlost koriste se i dan danas [5].

Danas se za najbolje viđenje bezbojnih ili slabo obojenih objekata pod mikroskopom, a takvih je najviše, koriste različiti mikroskopi i metode bojenja objekta. Bojenje tkiva zasniva se na principu selektivnog vezivanja obojenih jona za ćelijske ili međućelijske strukture. Boje kojima se boje objekti biljnih ili životinjskih tkiva, kao i mikroorganizmi u cilju boljeg uočavanja njihove građe neizostavne su u citološkim istraživanjima.

Studiranje citologije danas podrazumeva proučavanje citoloških i histoloških preparata i elektronmikrografija, uz primenu metoda molekularne biologije, kao i ćelijske fiziologije. Citološke metode koje se koriste u praksi dele se na četiri grupe: metode koje omogućavaju posmatranje živih ćelija, isečaka organa ili čitavih organa pod mikroskopom; biohemijske metode koje diferencijalnim centrifugiranjem izdvajaju



*[5] Objekat koji se posmatra na mikroskopu nalazi se na predmetnom staklu i postavlja se na stočić mikroskopa. Tako objekat zauzima položaj između izvora svetlosti koji je dole u postolju mikroskopa i objektiv koji su fiksirani u njegovom revolveru. Mikroskop obično ima više objektiv i svaki od njih ima drugačiju moć uvećanja objekta. Do viđenja objekta koji se posmatra dolazi kada se makrometarskim i mikrometarskim zavrtnjem lik objekta dovede u žižu mikroskopa tj. njegov lik se vidi u okularu. Na mikroskopu objekat se posmatra kroz okular odnosno sočivo najbliže oku posmatrača*

delove ćelija ili ćelijske organele za dalja posmatranja na elektronskom mikroskopu; histochemijske metode koje imaju za cilj da prouče hemijske supstance koje ulaze u sastav ćelijskih struktura, a uočavaju se prilikom obavljanja određenih funkcija ćelije; i metode koje se primenjuju za pravilnu izradu trajnih preparata tkiva, nakon čega se isti posmatraju i analiziraju na mikroskopu. Kako bi histološki preparati bili dobro pripremljeni za posmatranje na mikroskopu potrebno je da se isečak tkiva, od kojeg će se praviti preparati, što brže odstrani iz žive biljke ili životinje. Životinje pri tom postupku ne bi trebale da budu ni opijene.

Nakon odstranjivanja isečak se potapa u fiksativ i njegova veličina ne bi trebala da bude veća od kockice ivica 5 mm. Postoji izuzetak u slučaju veličine isečka tkiva koje se fiksira, a to je situacija kada je u medicinskoj dijagnostici neophodno analizirati ceo organ tada se on ne seče i ceo se potapa u tačno određen fiksativ, kako bi se kasnije kompletan sekao i analizirao. Potapanje isečka u fiksativ naziva se fiksacija uzorka tkiva i fiksativ vrši što je brže moguće "ubijanje" ćelija ali tako da ćelijska organizacija ostaje što sličnija organizaciji koju je imala dok su ćelije bile žive. Fiksacijom se sprečava isparavanje i osmotsko bubrenje ćelija, pucanje ćelijskih membrana, bakterijska i gljivična infekcija, kao i autoliza ćelija i tako se sprečava destrukcija tkiva. U citološkoj praksi koriste se različiti fiksativi koji su hemijski rastvori. Alkohol se koristi najčešće kao fiksativ za biljna, a formalin za životinjska tkiva. Važnost brze i kvalitetne fiksacije tkiva i ćelija je velika, iz razloga što bi nefiksirana tkiva i ćelije dali pogrešnu sliku o sebi. Ćelije i tkiva koja nisu prošla fikseciju su iskrivljenog oblika sa ispucalim ćelijskim membranama, nepravilne veličine i sa netačnim položajem ćelijskih komponenti.

Posle fiksacije tkivo se prožima parafinom, parafinskim smesama ili sintetičkim voskovima kako bi se lakše i tačnije seklo u histološke preseke. Tkivo prožeto parafinom ima oblik kocke ili kvadra i naziva se parafinski kalup. Ukalupljeno tkivo se seče na aparatu koji se zove mikrotom [6] na preseke debljine 3-10  $\mu\text{m}$ . Nož na mikrotomu je veoma oštar i njegova oštrica je mikrometarski uska. Proces sečenja

ukalupljenog tkiva veoma je precizna i teška tehnika koja iziskuje mnogo praktičnog rada. Isečeni preseći se hvataju tankom četkicom i stavljaju na površinu tople vode vodenog kupatila kako bi se maksimalno razvukli i popravile eventualne neravnine nastale u procesu sečenja. Važno je ovde skrenuti pažnju da su preseći tkiva dobijeni na mikrotomu toliko tanki da je moguće izvršiti analizu njihovih ćelija. Sa vodenog kupatila preseći se hvataju direktno predmetnim staklom i proces sečenja uzoraka tkiva je završen i sledi njihovo bojenje.



[6] Rotacioni mikrotom najčešći je u upotrebi za sečenje parafinskih kalupa, jer osoba koja radi na njemu može da kontroliše brzinu sečenja okretanjem ručice. U rotacioni mikrotom fiksira se čvrsto nosač parafinskog kalupa sa tkivom koje se seče i kalup prelazi preko noža koji ga seče u tanke preseke. Debljina preseka može da bude različita. Iako je rad rotacionog mikrotoma isključivo mehaničke prirode zahteva stručnost i obučenosť osobe koja radi na njemu. Preseći na rotacionom mikrotomu dobijaju se povezani jedan iza drugog što olakšava kontrolisanje njihovog kvaliteta i brže prenošenje na vodeno kupatilo

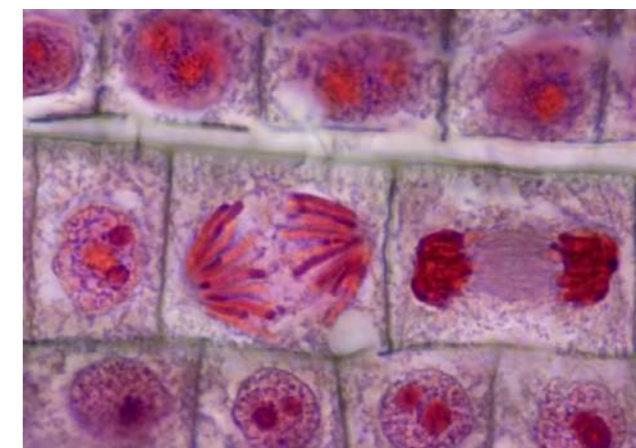
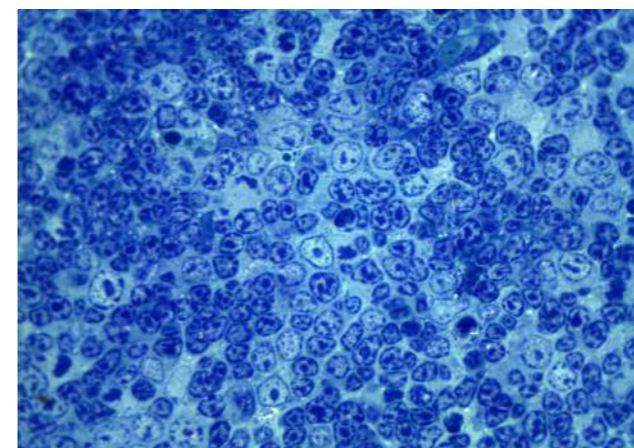


[7] Kutija za čuvanje trajnih histoloških preparata

Da bi presek tkiva na preparatu bio što bolje vidljiv on se priprema za bojenje i boji. Posle bojenja preparat se dehidrira odnosno izvlači se iz njega sva voda i ispira mu se višak boje, ksilolom. Presek tkiva tako postaje svetliji, tj. manje obojen, pa se ovaj postupak još naziva i prosvetljavanje preparata. Preko obojenog i prosvetljenog preseka tkiva stavlja se sintetička smola i preko nje pokrovna ljušpica. Potrebno je nekoliko dana da se smola osuši i stvrdne i tako zauvek učvrsti i konzervira presek. Histološki preparat je tad spreman za posmatranje, može da traje mnogo godina, uz uslov da se predmetno staklo sačuva od lomljenja. Histološki preparati čuvaju se u specijalnim kutijama, u suvim, hlanim i tamnim prostorijama [7].

## BOJENJE PRESEKA TKIVA

Bojenje histoloških preseka je hemijski proces tokom kog se obojeni joni boja vezuju za molekule tkivnih i ćelijskih struktura. Joni boje mogu da budu pozitivni i tada se vezuju za negativno naelektrisane molekule struktura tkiva i ćelija; ili mogu da budu negativni i tada se vezuju za pozitivno naelektrisane molekule struktura tkiva i ćelija. Proces bojenja preseka tkiva vrši se ručno direktno na predmetnom staklu, kada se stakla sa presekom pomoću pincete potapaju u prethodno pripremljene boje ili se boje automatizovano u specijalnim aparatima za bojenje. Aparati za bojenje po definisanom programu potapaju stakla sa presecima u tačno određenim vremenski intervalima u boje. Karakteristično za bojenje histoloških preseka je to da različite ćelije iz različitih tipova tkiva mogu da se oboje istim bojama, što u mnogome olakšava posao bojenja, jedino što varira je vreme bojenja i intenzitet primljene boje. Neka tkiva brže primaju boju, ona lakše i brže prolazi kroz njihove strukture, dok je drugim tkivima potrebno mnogo više vremena da prime boju. Preseći tkiva mogu da se boje jednom bojom ili kombinacijom od više boja u zavisnosti šta je potrebno izdvojiti da bude uočljivo. Primenljiva boja u histologiji i citologiji za bojenje animalnih tkiva je toluidin plava [8] ili za bojenje biljnih tkiva karmin crvena [1,9]. Najveći broj animalnih i humanih preparata u histologiji boji se hematoksilin-eozin bojenjem, to je bojenje preseka tkiva sa dve boje: hematoksilinom i eozinom. Prvo se preseći potapaju u hematoksilin, koji je po hemijskoj strukturi hematein. Hematein je bazna boja sa viškom pozitivno naelektrisanih jona koji se kače za negativno naelektrisane fosfatne grupe DNK molekula i tako se hromatin i jedro ćelije oboje u plavo. Posle bojenja hematoksilinom isti presek se stavlja u drugu boju eozin, koja je kisela boja sa viškom negativno naelektrisanih jona koji se vezuju za pozitivno naelektrisane jone citoplazme i boje je u crveno [10]. Pored razlike u vrstama boja gde jedna boja boji jedne regione ćelije, a druga boja boji druge regione ćelije, postoji i različita prijemčivost ćelijskih struktura prema istoj boji. To znači da kad se presek tkiva oboji jednom bojom tada će različiti regioni ćelije biti obojeni različitim nijansama te iste boje u zavisnosti od gustine strukture koju boje i njenog afiniteta prema boji. Afinitet prema boji znači prijemčljivost boje prema hemijskom sastavu strukture ćelije koja se boji npr. DNK i RNK su kisela jedinjenja, kolagen je bazan a proteini mišića su neutralno naelektrisani, što znači da će svi oni imati različit afinitet prema istoj boji.

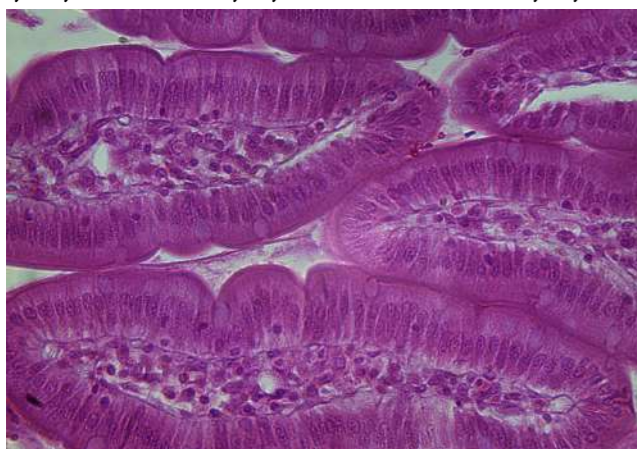


[8] Veoma primenljiva boja u histologiji i citologiji za bojenje animalnih tkiva je toluidin plava (levo).

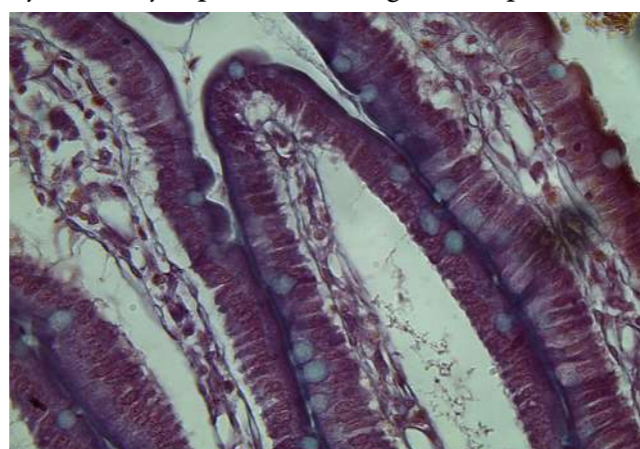
[9] U bojenju biljnih tkiva najširu primenu ima boja karmin crvena. Ona je najbolja za vitalno bojenje tkiva tj. bojenje živih biljnih tkiva koja nisu fiksirana i ukalupljena (desno). Obe boje su bazne i vezuju se za kisele grupe nukleinskih kiselina, a obe slike pokazuju i različitu prijemčljivost boje za različite strukture ćelija



Pored hematoksilin-eozin bojenja animalnih i humanih tkiva koje daje različite nijanse roze i plave boje u citološkoj praksi, za naučne svrhe često se koristi Mallory-Azan trihromno bojenje [11]. Kao što samo ime kaže ovo bojenje podrazumeva korišćenje tri kisele boje (crvene, narandžaste i plave) od kojih svaka ima afinitet za drugu strukturu tkiva. Crvena boja boji ćelijske membrane, intenzivno-tamno crvena oboji jedra, narandžasta boji citoplazmu, dok plava boji kolagena vlakna i hrskavicu. Interesantno je da toniranje ove tri boje i njihovo mešanje (narandžaste i plave) dovodi do pojave zelene boje rastresitog vezivnog tkiva i vezivnog tkiva oko krvnih sudova. Ovako širok spektar različito obojenih tkiva na jednom preseku organa služi za njihovu vizuelizaciju i detekciju. Takođe, crvena i plava boja uvek sjedinjavanjem, tj. zajedničkim bojenjem iste strukture daju ljubičastu kojom se boje npr. određeni regioni citoplazme.

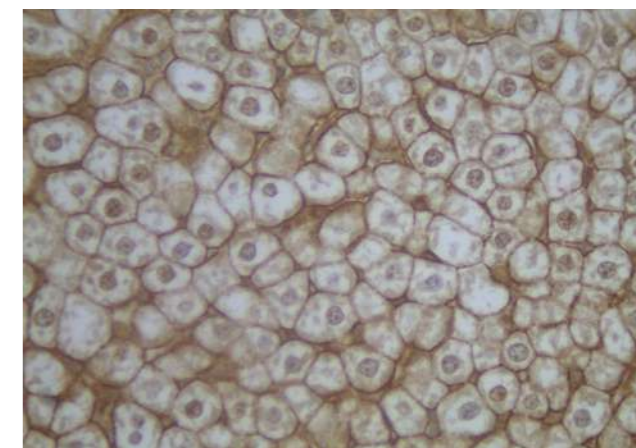
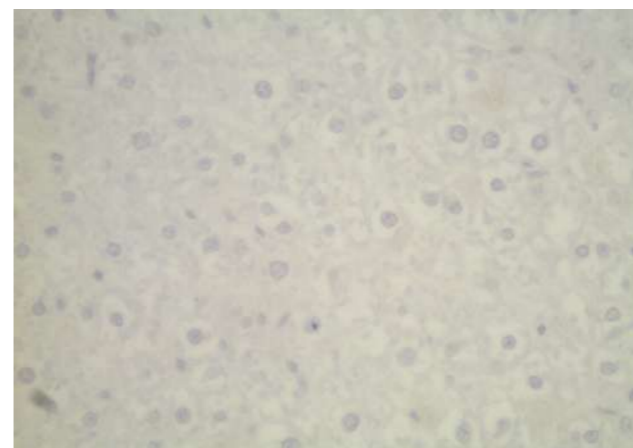


[10] Presek crevnih resica obojenih hematoksilin-eozin tehnikom, ističu se roze obojene citoplazme i plavo obojena jedra ćelija (levo)



[11] Presek crevnih resica obojenih Mallory-Azan tehnikom, ističu se ljubičasto obojene citoplazme i crveno obojena jedra ćelija, kao i zeleno obojeno vezivno tkivo i sadržaj u žlezdanim ćelijama (desno)

Ideja sa trihromnim bojenjem gde dolazi do bojenja različitih tkiva u preseku organa ili struktura u ćelijama tkiva različitim bojama, dovela je do pojave viskospesijalizovanih bojenja koja se nazivaju imunohistoheмиjska bojenja tkiva. Osnovni princip na kojem se zasniva imunohistoheмиjsko bojenje je princip imunologije, da se antitelo uvek veže za svoj antigen. U imunohistoheмиjskom bojenju se kreće od odabira antigena u ćelijama koji će se bojiti npr. lanci gradivnih proteina, enzimi, razni produkti metabolizma, proteini na biomembranama organela ili ćelija. Zatim se taj antigen izoluje i u drugoj vrsti životinja proizvedu antitela za taj antigen. Proizvedena antitela se hemijskim putem vežu za neku fluorescentnu boju ili enzim obeleživač i tako se dobija imunohistoheмиjska boja. Kada želimo da detektujemo ili samo da obojimo početni antigen u bilo kojoj ćeliji ili tkivu, neophodno je inkubirati tkivo koje sadrži antitelo sa pripremljenom imunohistoheмиjskom bojom. Nakon određenog vremena specifično antitelo sa bojom će se vezati za željeni antigen i antigen će postati vidljiv. Imunohistoheмиjske metode imaju veoma široku primenu u medicini u detekciji promena na ćelijama gde promene dovode do stvaranja target antigena u ćelijama. Na slici 12 prikazan je presek tkiva jetre pacova obojen hematoksilinom, dok slika 13 pokazuje presek te iste jetre obojen imunohistoheмиjskom metodom BCL-XL koja koristi braon obojena antitela za vizuelizaciju mitohondrija u citoplazmi. Mitohondrije u citoplazmi ćelija jetre uopšte nisu uočljive ako je presek jetre obojen hematoksilin-eozin bojenjem, dok na desnoj imunohistoheмиji u potpunosti jasno izdvaja regione sa mitohondrijama od ostalog dela citoplazme [12 i 13]. Antitela koja za sebe imaju vezanu braon boju vezala su se za određene proteine na membranama mitohondrija ćelija jetre i tako ih izdvojila od okolnih struktura. Antitela za ovu metodu su proizvedena od proteina (on je antigen) membrane mitohondrija pacova u krvnom serumu koze. Imuni sistem koze je proizveo antitela na proteine membrane mitohondrija pacova, jer imuni sistem koze doživljava ove proteine kao strano telo.



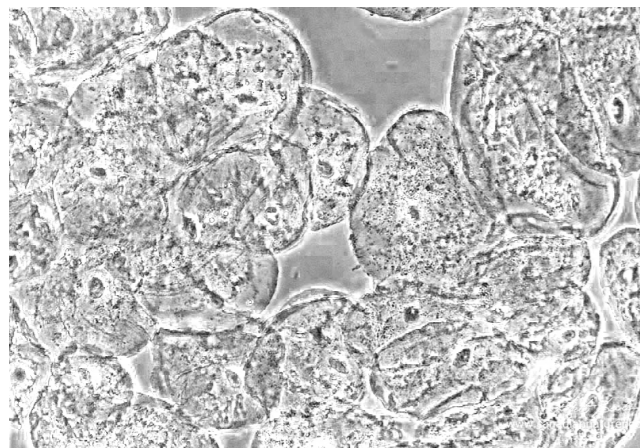
[12] Preseci jetre obojeni hematoksilinom, ističu se plavo obojena jedra ćelija (levo)

[13] Preseci jetre obojeno imunohistoheмиjskom BCL-XL tehnikom, ističu se tamno smeđe obojene mitohondrije u citoplazmi ćelija (desno)

## SVETLOSNI MIKROSKOPI

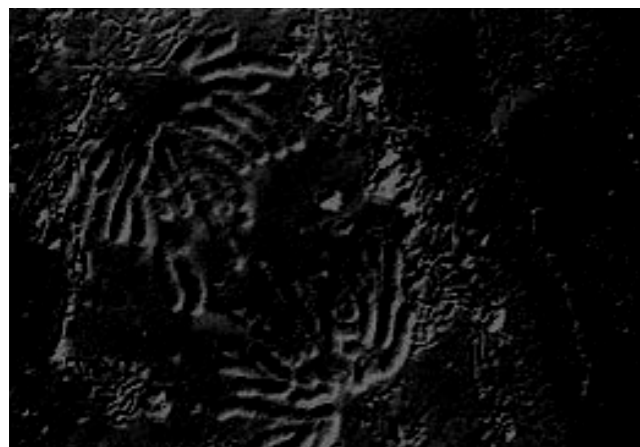
Usavršavanje sistema za uvećavanje rezolucije svetlosnog mikroskopa nije omogućilo posmatranje žive ćelije, jer je ona bez boje, providna. Zbog nemogućnosti da se prate preseci u realnom vremenu za posmatranje žive ćelije dovelo je do pronalaska mikroskopa sa faznim kontrastom. Suprotno od mikroskopa sa svetlim poljem [5] koji je već ranije opisan i kojim se posmatraju obojene i mrtve ćelije, mikroskopom sa faznim kontrastom mogu se jasno uočavati brojne strukture u živim neobojenim ćelijama [14 i 15]. Mikroskop sa faznim kontrastom omogućava gledanje sitnih uzoraka koji vrše difrakciju svetlosti kao što su dijatomejske alge, bakterije i njihove flagele, izolovane ćelijske organele ili metafazni hromozomi [16 i 17], pa čak i čestice zlata i srebra u hemijskim analizama. Faznokontrastni mikroskop se odlikuje sposobnošću da različite talasne dužine svetlosnog spektra, koje prolaze kroz različite ćelijske strukture, pretvori u vidljive razlike u nijansama sive boje. Ovo se postiže posebnom vrstom okulara i objektiva koji pokazuju providnu i živu ćeliju kao složenu jedinicu sa svim svojim komponentama. Oni sprečavaju osvetljavanje vidnog polja uz pomoć svetlosti koja dolazi odozdo i zbog toga ono ostaje tamno, a objekat koji se posmatra je osvetljen i upadljiv. Ovo je potpuno obrnut princip od rada običnog svetlosnog mikroskopa, tako da je slika kod fazno kontrastnog mikroskopa ustvari kontrastna slika od prave slike objekta sa mikroskopa sa svetlim poljem. Fazno kontrastni mikroskop ne koristi boju za preparat nego difrakcione zrake da osvetli preparat. Difrakcioni zraci su zraci koji su skrenuli od svog pravca pružanja nailaskom na prepreke tj. ivice otvora filtera na faznokontrastnom mikroskopu kroz koje prolaze.

Specijalizacija fazno kontrastnog mikroskopa je interferentni mikroskop koji takođe služi za posmatranje živih ćelija, posebno je značajan za ćelije gajene u kulturi. Interferentni mikroskop omogućava istovremeno i određivanje debljine posmatranog objekta kao i merenje koncentracije suve materije i vode u njemu. Ovaj mikroskop daje trodimenzionalnu sliku objekta uz pomoć njegovog osvetljenja sa dve različite talasne dužine monohromske svetlosti. U slučaju da dva zraka različitih talasnih dužina osvetljavaju objekat doći će do interferencije, međusobnog pojačavanja ili poništavanja što dalje utiče na jasnoću slike. Na intrefarentnom mikroskopu se dobijaju dve slike objekta za svaku talasnu dužinu svetlosti po jedna koje se dalje povezuju sistemom sočiva u jednu sliku koju vidi posmatrač. Iz tog razloga je slika koju vidi posmatrač reljefna i trodimenzionalna sa poboljšanim kontrastom. Relativno složen optički sistem



[14] Nebojene nativne ćelije epitela grlića materice na svetlosnom mikroskopu (levo)

[15] Nebojene nativne ćelije epitela gliča materice na fazno kontrastnom mikroskopu (desno)



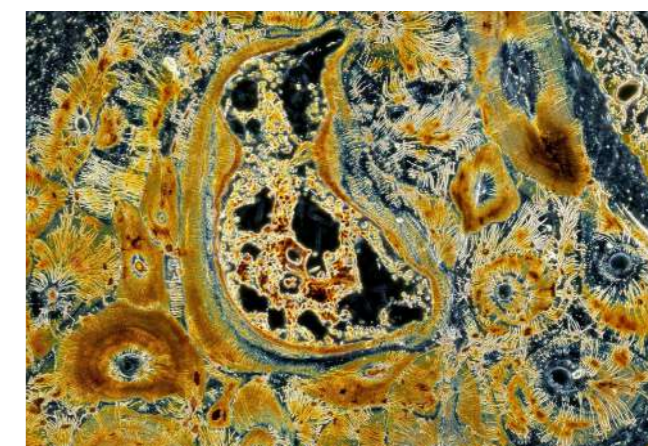
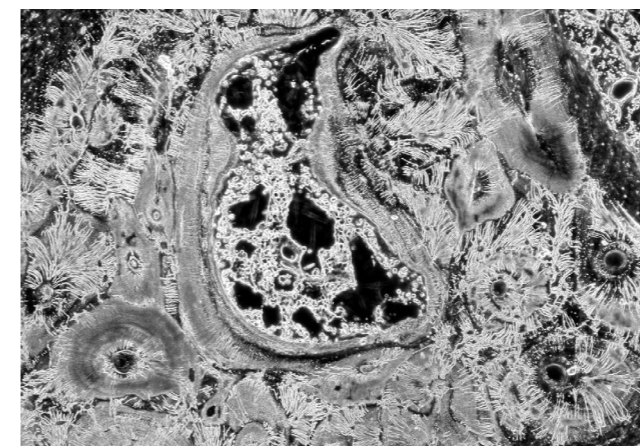
[16] Hromozomi u mitozu na fazno kontrastnom mikroskopu (levo)

[17] Isti hromozomi u mitozu na interferentnom mikroskopu, ističe se treća dimenzija struktura (desno)

proizvodi sliku objekta koji se pojavljuje crno-belo prikazan na sivoj podlozi. Slika dobijena na ovom mikroskopu je slična onoj na fazno kontrastnom samo što nema sjajnog halo efekta oko objekta, a vidi se njegova treća dimenzija. Interferentni mikroskop se još naziva i Nomarski interferentni mikroskop po poljskom fizičaru Georgesu Nomarskom koji ga je 1952. godine konstruisao.

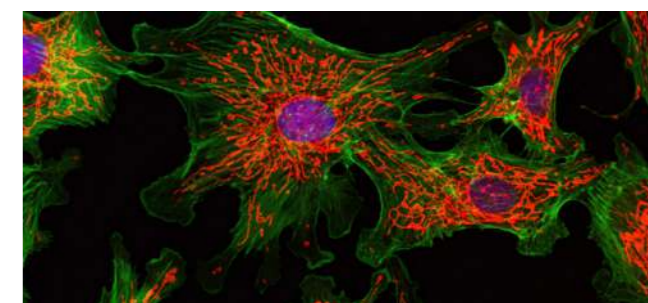
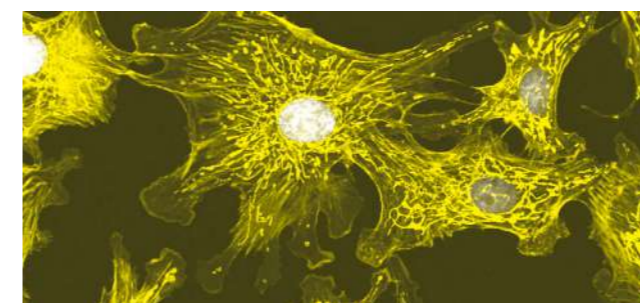
Interesantno je da je interferentni mikroskop u prošlosti postao osnova za konstruisanje sledeće generacije mikroskopa, a to je polarizacioni mikroskop. Jedinствен mikroskop za posmatranje pravilno orjentisanih bioloških struktura je polarizacioni mikroskop. Ovim mikroskopom najbolje se uočavaju vlakna, tubule, intracelularni matriks, koštane strukture i kristali u ćeliji ili u vanćeljskom matriksu [18 i 19]. Kao što mu i samo ime kaže polarizacioni mikroskop koristi polarizovanu svetlost za svoj rad. Obična svetlost prolaskom kroz posebne kristalne filtere i analizatore na mikroskopu postaje polarizovana i vibrira, nakon čega prolazi kroz objekat. Pomoću polarizacionog mikroskopa se izučava orijentacija struktura ćelija i tkiva u prostoru, npr. orijentacija osteocita u koštanom tkivu. Polarizacioni mikroskop ispod kondenzatora ima polarizator, za polarizaciju svetlost koja polarizovana prolazi kroz kondenzator i dolazi do objekta. Postoje svetlost polarizuje tj. rasprši i osvetli objekat, onda analizator sakupi zrake koji su prošli kroz preparat, osvetlili ga samo određenim talasnim dužinama i formira sliku objekta u okularu.

Najmoderniji i najinteresantniji svetlosni mikroskop je fluorescentni mikroskop koji je sve više u upotrebi. Glavna karakteristika ovog mikroskopa je da omogućava istraživanje žive ćelije koja je pre posmatranja bila podvrgnuta imunohistohemijskoj detekciji svojih struktura dok je bila još u živom sistemu. Osnovni princip rada fluorescentnog mikroskopa je da preparat biva osvetljen zracima jedne talasne dužine (npr. ultraljubičastim zracima) kako bi imunohistohemijski pripremljeni objekti absorbovali ove zrake, ali obavezno u isto vreme i reemitovali zrake veće talasne dužine i manje energije (npr. crvene zrake). Ova reemisija tako daje utisak da je svetlost došla od samog objekta tj. preseka te se čini da on zrači prelepom bojom. Kod fluorescentnog mikroskopa važno je poznavati pravilan odabir talasnih dužina zračenja sa kojima se osvetljavaju objekti kako bi se on najbolje uočio. Iz tog razloga moguće je predhodno u preparat inkorporirati i fluorescentne boje koje se vežu za molekule tkiva koji se posmatra. Fluorescentna boja se može ugraditi u živ organizam tako što on putem ishrane ili apsorpcije unosi je u sebe i ugrađuje je u svoje telo. Takva boja može da se ugradi u hranljivu podlogu kod bakterija i ishranom bakterije je unose u svoje ćelije i vezuju za određene strukture u citoplazmi ili ćelijskoj membrani. Posmatranjem ovako obojenih ćelija ili bakterija može da se uoči željeno označena struktura pomoću fluorescentne boje. Postoje biološki objekti koji su fluorescentni sami po sebi kao što su neki vitamini, pigmenti, hormoni. Njih ne treba bojiti već samo osvetliti odgovarajućom svetlošću na fluorescentnom mikroskopu i oni sami fluoresciraju. Fluorescentni mikroskop koristi se za posmatranje npr. citoskeleta velikih nervnih ćelija ili fibroblasta u kulturi ćelija [20 i 21].



[18] Presek kosti na fazno kontrastnom mikroskopu (levo)

[19] Presek iste kosti na polarizacionom mikroskopu, ističe se koštano tkivo zlatno-žute boje u odnosu na elastično vezivo i krvne sudove koji su ostali crni i sivi (desno)

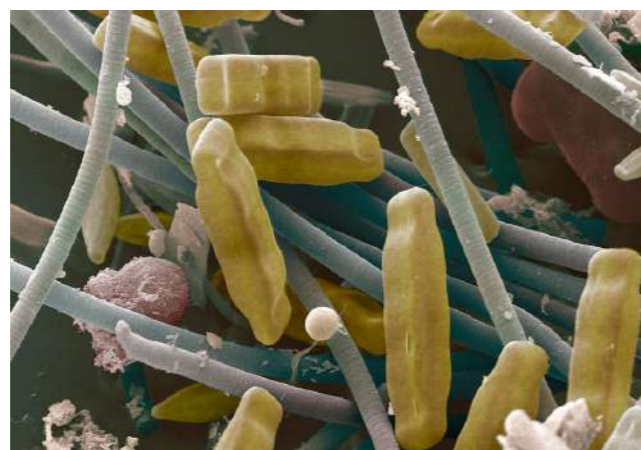


[20] Fibroblasti u kulturi na polarizacionom mikroskopu (levo)

[21] Fibroblasti u kulturi na fluorescentnom mikroskopu (desno)

## ELEKTRONSKI MIKROSKOPI

Mogućnost viđenja objekta određene veličine pomoću bilo kog do sad opisanog tipa svetlosnog mikroskopa zavisi od talasne dužine vidljive svetlosti koja se uoptrebljava za njegovo osvetljenje. Najmanji predmet razdvojen od okoline koja ga okružuje, prikazan svetlosnim mikroskopom veličine je koja odgovara polovini talasne dužine vidljive svetlosti koja ga osvetljava. Plava svetlost je deo vidljivog spektra za ljudsko oko i ona ima najkraću talasnu dužinu od 400 nm, tako da najmanja struktura koja se može videti pomoću ove plave svetlosti je dimenzija oko 200 nm ili 0,2  $\mu\text{m}$ . Tako da plava svetlost spektra omogućava viđenje najsitniji objekata posmatranih pomoću vidljive svetlosti koja nas okružuju. Sve strukture koje su manje od 200 nm ne mogu se videti nijednim tipom standardnog svetlosnog mikroskopa ni pri korištenju najvećeg uvećanja. Za tako sitne i još sitnije strukture koristi se potpuno drugačiji tip mikroskopa - elektronski mikroskop. Elektronski mikroskop je aparat koji omogućava da se vidi objekat pomoću snopa elektrona, a ne pomoću vidljivog spektra svetlosti. Sama veličina elektrona kao i talasne dužine energije koju oni proizvode omogućavaju da se pomoću elektronskog mikroskopa vide i najmanje strukture objekata čije dimenzije iznose samo 0,2 nm. To znači da se elektronskim mikroskopom mogu videti strukture koje su 1 000 puta manje od onih koje mogu da se vide najjačim savremenim svetlosnim mikroskopom.



[22] Elektronmikrografija snimljena skening mikroskopom jednoćelijskih silikatnih, naknadno žuto obojenih i zelenih, naknadno sivo obojenih algi, na kojoj se detaljno vidi trodimenzionalni oblik ćelija

Elektronskim mikroskopom mogu se analizirati najsitniji detalji na strukturama koje su viđene svetlosnim mikroskopima [22]. On može da prikaže sve organele jedne ćelije, strukturu organela, spiralno upakovane hromozome, lipidne kapljice ili polisaharide u citoplazmi ćelije. Takođe, elektronskim mikroskopom su otkrivene i opisane nove strukture koje pre njegove konstrukcije nisu bile uočljive i nije ih bilo moguće opisati. S druge strane ovaj mikroskop je omogućio i da se detaljno opišu strukture za koje se znalo da postoje. Neke od tih struktura su npr. citoskelet koji prožima ćeliju u svim smerovima i daje joj čvrstinu; ili spiralizovani oblik molekula DNK u hromozomima; ili trodimenzionalni izgled kapsida virusa.

Znači, za razliku od snopa vidljive svetlosti iz veštačkog ili prirodnog izvora koja se koristi kod svetlosnih mikroskopa, preparat na elektronskom mikroskopu je vidljiv pomoću snopa ubrzanih elektrona [23]. Elektronski mikroskop ima deo koji se zove akcelerator u kojem se proizvode i ubrzavaju elektroni pre dolaska do objekta. Snop elektrona iz akceleratora prolazi kroz sistem magnetna na mikroskopu, magneti stvaraju elektromagnetno polje koje usmerava taj snop elektrona prema objektu. Kad elektroni dođu do objekta koji se posmatra oni prolaze kroz njegove delove u potpunosti ili u određenom procentu, apsorbiraju se ili se odbijaju od njega. Zbog toga nastaju obrisi elektrona različite jačine na fluorescentnom

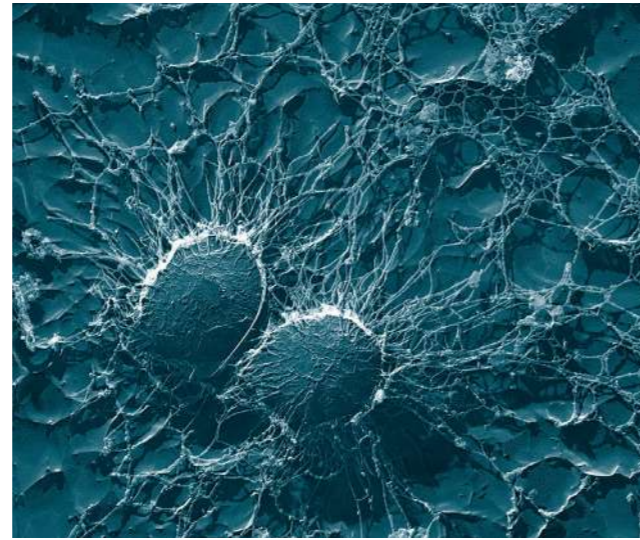
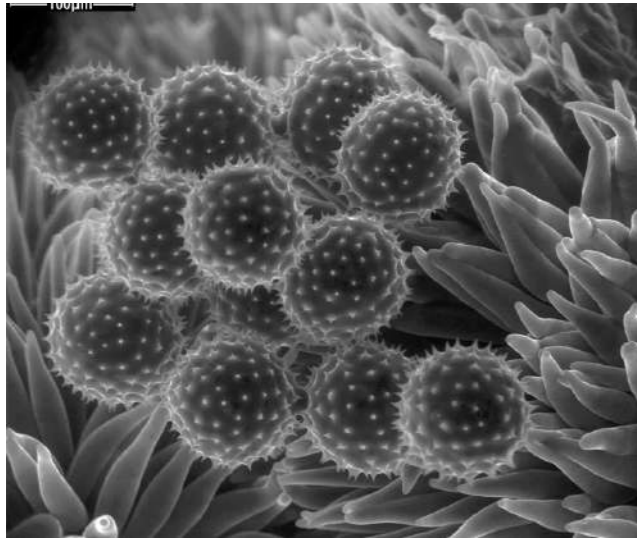


[23] Na slici je moderan elektronski mikroskop sa vakuum pumpom koja stvara vakuum za prolazak elektrona, akceleratorom za ubrzavanje elektrona, postoljem za bakarnu mrežicu, ležištem za film na kojem elektroni prave sliku i pratećom softverskom podrškom za prenos slike na ekran. Isečeni preseki uzorka kod elektronske mikroskopije ne montiraju se na predmetno staklo već na bakarnu mrežicu koja se zajedno sa uzorkom "bombarduje" snopom elektrona

ekranu iza objekta, koji je zapravo slika posmatranih struktura. Biološki objekti veoma slabo odbijaju i upijaju elektrone, jer nisu guste i čvrste strukturne građe, elektroni uglavnom prolaze kroz njih i tako otežavaju detekciju i verifikaciju struktura na ekranu. Ovaj problem se rešava specijalnim kontrastiranjem posmatranog objekta pomoću teških metala. Joni teških metala se pre mikroskopiranje impregniraju u najfinije strukture objekta, vezivanjem za njihove molekule. Kontrastirani delovi upijaju elektrone i na njima nastaju elektrongusta područja koja na ekranu jako svetle, npr. tako svetle ribozomi, biomembrane i hromozomi ćelije jer se za njih lako vezuju atomi teških metala.

Pripremanje preparata za elektronsku mikroskopiju je potpuno drugačije od pripremanja preparata za svetlosno mikroskopiranje. Uzorak tkiva za elektronsku mikroskopiju uzima se pod lupom jer mora da bude dimenzija kocke čija je ivica oko milimetar. Fiksacija uzorka vrši se u fikativima: glutaraldehidu ili osmijum-tetraoksidu. Nakon fiksacije, uzorak se seče na instrumentu koji se zove ultramikrotom jer on pravi veoma tanke preseke od 50 do 100 nm. Nož ultramikrotoma nije od čelika kao kod mikrotoma koji seče uzorke za svetlosnu mikroskopiju, već od veštačkog dijamanta ili stakla. Razlog za ovo je što nijedan material u prirodi ne može da se naoštiri tako da mu debljina vrha oštrice kojom se seče uzorak bude tanja od debljine preseka uzorka. Veštački dijamant i staklo se ne oštire za sečenje već se specijalnim noževima lome i na površini loma se prirodnim cepanjem materijala dobijaju šiljci veoma tanki spermni da seku uzorke tkiva za elektronsku mikroskopiju.

Postoje dva tipa elektronskih mikroskopa: TEM – transmisioni elektronski mikroskop kod kojeg se elektroni apsorbiraju ili prolaze kroz objekat [90,120,122,175] i SEM – skening elektronski mikroskop kod kojeg se površina objekata pre mikroskopiranja obloži teškim metalima i onda se svi elektroni u zavisnosti od reljefa površine različito odbijaju i stvaraju sliku površine posmatrane strukture [24,25,234,162]. Elektronska mikroskopija je zajedno sa drugim biološkim metodama postala nezamenljiva u istraživanju ćelija, virusa, ćelijskih struktura i biomakromolekula. Pored citologije, elektronski mikroskop se koristi i u istraživanjima molekularne biologije, mikrobiologije, imunologije; ali i u istraživanjima hemije, tekstilne i prehrambene tehnologije, fizike, medicine, građevine i dr.



[24] *Skening-elektronmikrografija polenovih zrna pamuka, ističe se trodimenzionalna bodljikava arhitektura površine zrna (levo)*

[25] *Skening-elektronmikrografija eukariotskih ćelija u deobi, ističu se citoplazmatični produžeci oko njih (desno)*

*Pogledaj sve elektronmikrografije u ovom udžbeniku pa sa strane napiši da li su sa SEMa ili TEMa i onda rezultate prodiskutuj na času sa nastavnikom.*

Poslednjih godina proces digitalizacije umogome je moderizovao i poboljšao posmatranje objekata na mikroskopima. Istraživački mikroskopi sa kamerom i softverom u mogućnosti su da prenesu sliku viđenu na mikroskopu na ekran računara. Tako prenesena slika služi za mikroskopiranje i analizu objekta direktno na ekranu računara [26]. Digitalni zapis slike visoke rezolucije i njen prenos na računar omogućava njenu potpunu verodostojnosti, maksimalan kvalitet, kao i dodatno uvećanje fotografisanog objekta pomoću moći uvećanja samog programa za mikroskopiranje na računaru. Računarski programi mogu posmatranom objektu izoštriti i istaći ivice, osenčiti regione, posvetliti površine, pojačati kontraste između svetlijih i tamnijih zona i napraviti negativ, izmenjati boje slici i orijentisati je u prostoru. Veoma bitna stvar za zapise sa mikroskopa je ugradnja razmerne skale, to je linija koju računar u odnosu na primenjeno uvećanje dodaje slici [103,111,118] i ona služi posmatračima da imaju uvid u veličinu struktura koje analiziraju. Živ objekat u mikroskopu može se snimati kamerom dugo i tako se pratiti kretanje živih jednoćelijski organizama ili pratiti procesi na ćelijama u kulturama. Fotografija dobijena sa mikroskopa može se stereološki i morfometrijski analizirati (merenje veličine i volumena ćelija) sa mnogo većom tačnošću nego ako se merenje vrši direktno dok je objekat na mikroskopu. Detalji sačuvanog objekta mogu se iseći i istaći u odnosu na okolinu. Velika prednost prenosa živih slika sa mikroskopa na računar daje mogućnost njihovog skladištenja, broj slika koje mogu da se uskladište je neograničen ako se zna da su danas u upotrebi i eksterne memorije. Digitalne fotografije uvek mogu da se povuku iz fajlova i ponovo analiziraju ili eventualno iskoriste za dodatno poređenje sa živim slikama koje su na mikroskopu aktuelne. Fotografije mogu da se šalju putem elektronskih mreža širom sveta u druge citološke laboratorije i centre za dijagnostiku promena na tkivima.



[26] *Istraživački mikroskop sa kamerom i softverom za prenos slike na ekran računara*

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*



[27]

# POSTANAK BIOMAKROMOLEKULA

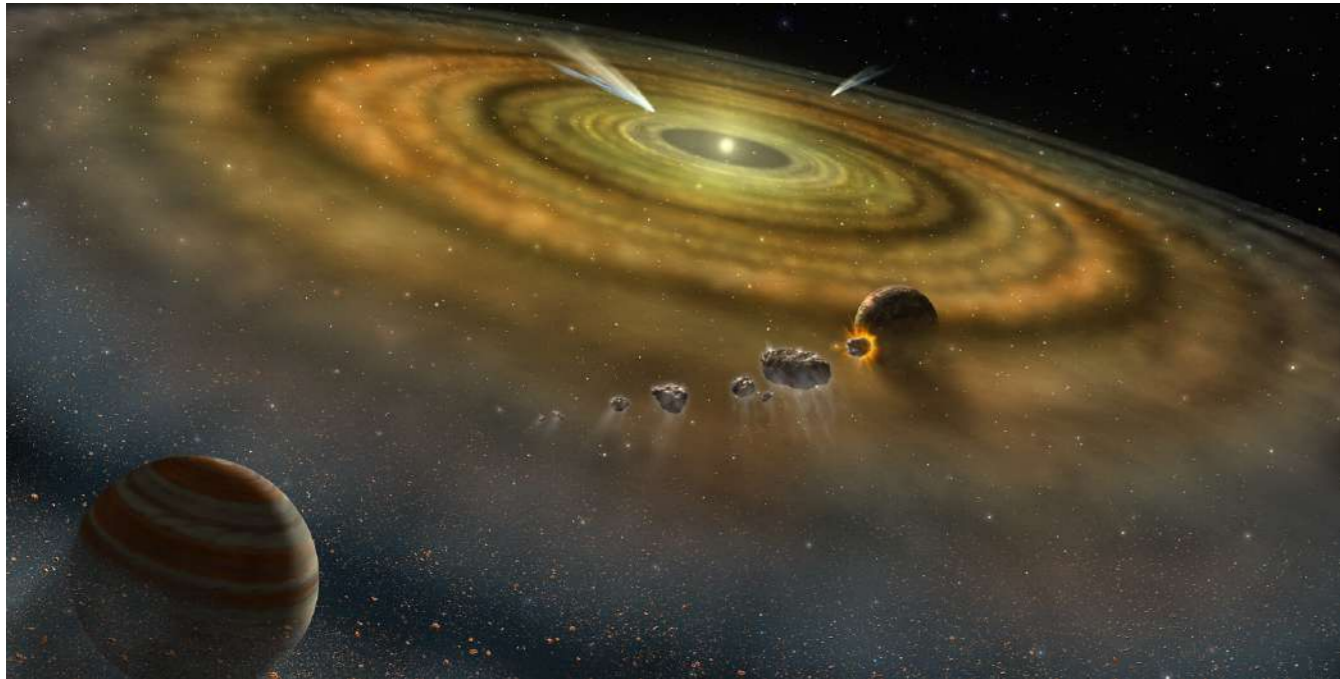
Prebiotička faza  
Hemijske veze bogate energijom  
RNK i DNK faza

Hrana ostavljena neko vreme na pogodnom mestu obično se ubuđa, razvijaju se plesni na njoj; u na oko potpuno čistoj vodi iz rečnog izvora, ako sadrži samo mikroskopski vidljiva jaja rakova, nakon nekoliko dana u pogodnim uslovima mogu da se razviju vidljivi rakovi; ako se sveže meso ostavi nezaštićeno, pogotovo leti, za nekoliko dana će se na njemu izlegnuti crvi iz veoma sitnih jaja muva ili potreban je samo jedan bliski kontakt zdrave osobe sa naizgled zdravom osobom ali prenosio-  
cem zaraze da se za nekoliko dana i sama razboli. Sve su ovo primeri iz prirode koji su vekovima budili ljudsku radoznalost i inspirisali ih da veruju kako živi organizmi mogu da se stvore sami od sebe iz nežive materije koja ih okružuje. Aristotel je prvi uočio ove pojave i tumačio ih spontanom nastankom života, prema kojima životinje ne nastaju samo od drugih životinja, njihovih roditelja, već i od nežive materije uz prisustvo neke žive sile koju naziva entelehija i koja po njemu oživljava neživu materiju. Životi nastali bilo kada i bilo gde iz nežive materije naučnici nazivaju spontane generacije.

Mnogo godina kasnije (1865) Louis Pasteur [28] je oborio ovu Aristotelovu hipotezu dokazavši da su patogeni i nepatogeni mikroorganizmi, gljive, kao i jaja organizama mikroskopske veličine zaslužni za formiranje života na neživoj materiji. Sa druge strane ako živo ne postaje spontano iz neživog ono je moralo oduvek postojati na planeti Zemlji i verovatno je onda nastalo negde u svemiru i samo preneseno na našu planetu. Mnogi naučnici smatraju da život nije nastao samo na našoj planeti. Sunčev sistem ima pored Zemlje još tri mesta gde je moguće naći tragove života: Mars jer je nekad imao vodu na sebi; Evropa - Jupiterov satelit jer je potpuno pokrivena ledom; i Titan - Saturnov satelit jer ima atmosferu. Ova činjenica je zamka iz koje se teško izlazi, jer ako je život na Zemlji stvarno začeo sporom bakterijom, polenom biljaka ili jajima životinja poreklom sa drugih planeta, kako je onda nastao na tim planetama? Materija svemira nalazi se neravnomerno raspoređena u galaksijama gde je gušća i međugalaktičkom prostoru gde je veoma retka. Masu galaksija čini oko 70% vodonika, 29% helijuma i samo 1% svih ostalih elemenata zajedno, dok je međugalaktički prostor ispunjen retkim česticama gasova i prašine. Galaksije su porodice zvezda sa svojim sazvežđima, a zvezde su sačinjene od visoko jonizovanog helijuma i vodonika na izuzetno visokim temperaturama [27]. Naša galaksija, Mlečni put ili Kumova slama, jedna je od sedamnaest galaksija u jatu Virgo, čiji je prečnik oko dva miliona svetlosnih godina. U Mlečnom putu nalazi se zvezda Sunce, koja je u centru sistema putanja po kojima se kreće osam planeta: Merkur, Venera, Zemlja, Mars, Jupiter, Saturn, Uran i Neptun, kao i jedna patuljasta planeta Pluton. Po najnovijim podacima procenjuje se da je svemir nastao pre 14 milijardi godina. Ista procena govori da je pre oko 4,6 milijardi godina jedan galaktički oblak, obogaćen ostacima zvezdanih eksplozija, počeo da obrazuje Sunčev sistem. Veliki galaktički oblak prašine i gasa sakupljao se pod delovanjem sila sopstvene gravitacije vremenom formirajući manji diskoidalni solarni oblak koji se okretao oko svoje ose i bio veoma topao u centru, a progresivno sve hladnija prema periferiji [29]. Kružeći periferno oko centra solarnog oblaka bezbrojni atomi i čestice prašine međusobno su se sudarali formirajući tela u orbitama, dok se u centru solarnog oblaka formiralo protosunce.



[28] Fotografija naučnika Louis Pasteura, francuskog mikrobiologa i hemičara. Pokazao je ne-tačnost teorije o spontanom nastanku, patentirao vakcinu i dokazao da su bakterije izazivači bolesti.



[29] Prikaz predpostavljenog izgleda diskoidalni solarni oblak sa protosuncem u sredini

Sudaranaje i sraščivanje mnogobrojnih tela i partikula u orbitama dovelo je do formiranja danas poznatih osam planeta, koje su zbog gravitacije nastavile da se kreću po eliptičnim orbitama. Opisan način formiranja Sunčevog sistema u okviru hipoteze dali su Kant i Laplace i do danas je najprihvaćenija u naučnoj zajednici. Planete sunčevog sistema nisu izgrađene od istih elemenata iz razloga što je njihovo hlađenje uspostavilo gradijent gustine te su teži elementi ostali na planetama koje su bliže Suncu: Merkur, Venera, Zemlja i Mars, dok su se lakši elementi tokom kondenzacije našli na planetama koje su dalje od Sunca: Jupiter, Saturn, Uran i Neptun. Kondenzacija i stepen Sunčeve radijacije bili su različiti kod planeta, što je uslovalo da one bliže Suncu izgube svoje atmosfere od vodonika i helijuma, te da im se stvori kameniti materijal na površini koji je zatvorio različite gasove i čestice u svojoj sredini – kameniti tip planeta. Planete dalje od Sunca zadržale su svoje atmosfere od vodonika i helijuma i nikada im se nije stvorio kameniti materijal na površini, ostale su u gasovitom stanju – gasoviti tip planeta.

Zemlja pripada kamenitom tipu planeta gde je postepeno hlađenje dovelo do oslobađanja različitih gasova iz njene unutrašnjosti, tokom vulkanskih erupcija i stvaranje sekundarne atmosfere. U početku oslobađanje vodonika inače najčešćeg elementa u Svemiru, na Zemlji je omogućilo stvaranje, za život važnih jedinjenja: metana ( $\text{CH}_3$ ), vode ( $\text{H}_2\text{O}$ ) i amonijaka ( $\text{NH}_3$ ). Kasnije su se u Zemljinoj atmosferi formirali i drugi elementi i jedinjenja od kojih su najvažnija: azot u gasovitom obliku ( $\text{N}_2$ ) ugljenmonoksid ( $\text{CO}$ ), ugljendioksid ( $\text{CO}_2$ ), hlorovodonična kiselina ( $\text{HCl}$ ) i vodoniksulfid ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Tokom, daljeg hlađenja Zemlje došlo je do formiranja sve veće količine tečne vode, kondenzacijom vodene pare iz tadašnje atmosfere.

Voda je u reakcijama sa ugljenoksidima iz atmosfere stvarala kiseline ugljenika, koje su dalje sa silikatima iz kamenite podloge stvarale karbonate, što je dovelo do smanjenja ugljenoksida u atmosferi. Međutim, topli oblaci vodene pare, koja se oslobađala iz središta Zemlje, ostajali su u gasovitom stanju sve do vremena kada se Zemlja ohladila ispod  $100^\circ\text{C}$ . Dalje hlađenje Zemlje dovelo je do pojave kiša iz oblaka vodene pare i stvaranja okeana, jezera i reka, a voda u njima je menjala svoj sastav otapanjem karbonata ili silikata iz kamene podloge.

Danas se smatra da je život na Zemlji nastao kada se ona ohladila do temperature nešto ispod  $100^\circ\text{C}$ , u periodu između 4,2 i 3,8 milijardi godina, kao rezultat fizičkih i hemijskih promena materija na njoj. Na Zemlji je hemijska evolucija predhodila biološkoj kroz niz postepenih i kontinuiranih hemijskih promena koje su bile preduslov za postanak života. Hemijska evolucija je opisana u hipotezi kontinuiteta koju su nezavisno jedan od drugog u istom obliku dali dva naučnika Aleksandar Oparin (1924) i John Holdane (1925). Oba naučnika su zaključila da je bilo potrebno vreme i mnogo ostvarenih preduslova kako bi se stvorili uslovi za pojavu živih bića na veoma negostoljubivoj, toploj, meteorima i munjama često pogađanoj Zemlji bez kiseonika u atmosferi [30]. Svi dokazi navode da je život nastao u takozvanom najpovoljnijem trenutku iz nežive materije koja je postojala na planeti Zemlji pre oko 3,7 milijardi godina. Sa druge strane treba napomenuti da ima mnogo drugih teorija o nastanku života na Zemlji, što svakako ostavlja slobodu da se pročitaju i analiziraju i druge teorije iz naučne literature.

Pronađi i pročitaj ostale teorije o nastanku života na Zemlji (npr. [astrobiology.nasa.gov/news/in-search-of-panspermia/](http://astrobiology.nasa.gov/news/in-search-of-panspermia/)), uporedi opisane procese koji se u tim teorijama opisuju i izdvoj sličnosti i razlike u njima.



[30] Prikaz predpostavljenog izgleda površine Zemlje pre 3,7 milijardi godina

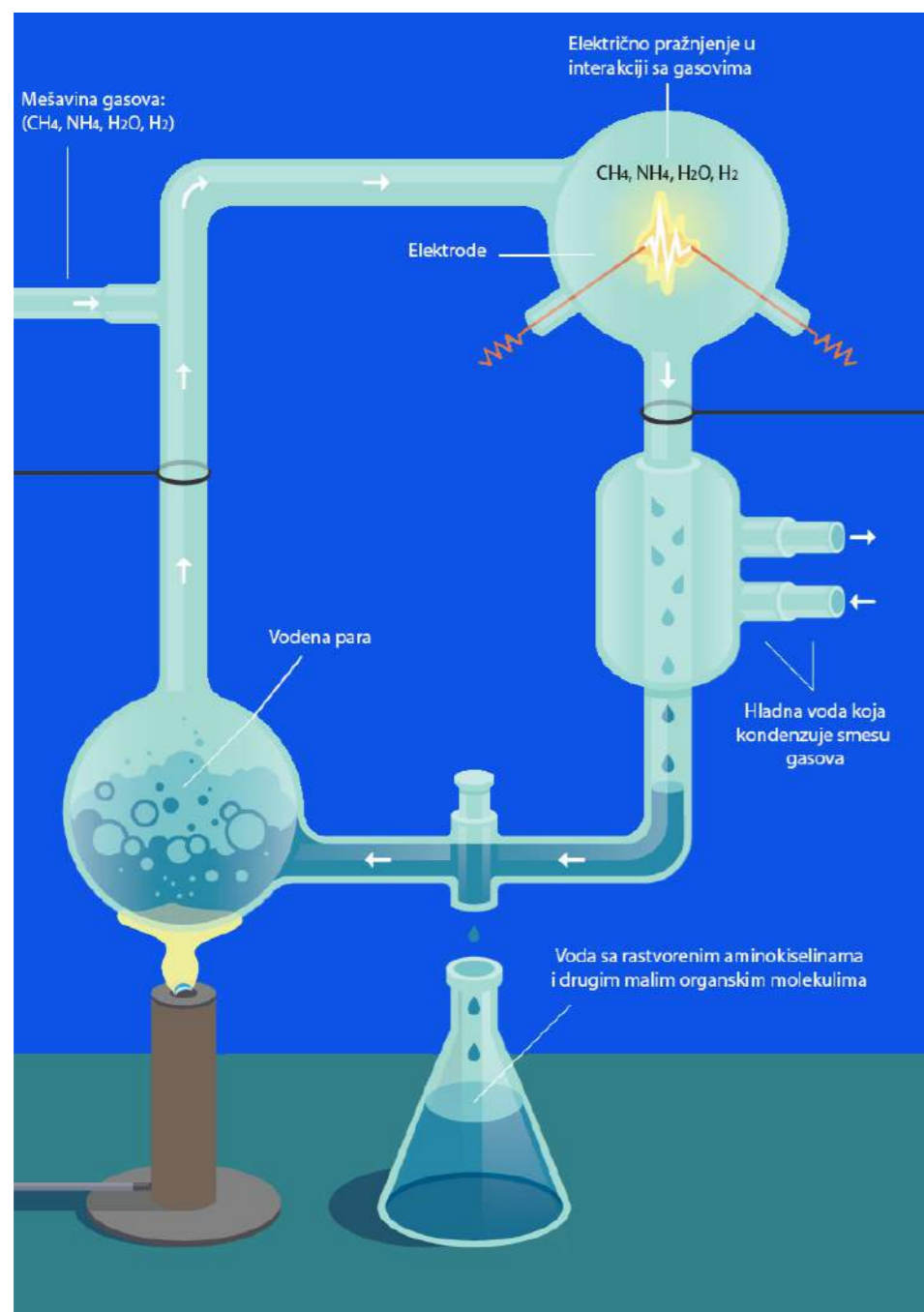
Kontinuirane hemijske i biohemijske promene koje su bile preduslov za nastanak života obuhvatale su četiri faze nastanka malih i velikih molekula, neophodnih za život na Zemlji koji danas poznajemo. Faze kontinuiranog postanka biomakromolekula su: prebiotička faza, faza stvaranja hemijskih veza bogatih energijom, RNK faza i DNK faza.

Pogledaj link o jednom od scenarija nastanka života na Zemlji: [www.youtube.com/watch?v=xyhZcEY5PCQ](http://www.youtube.com/watch?v=xyhZcEY5PCQ)

### PREBIOTIČKA FAZA

Biohemičari su najbolje proučili procese prebiotičke faze koji su doveli do pojave biološki značajnih molekula – biomakromolekulskih monomer. Monomeri biomakromolekula bili su: aminokiseline, azotne baze, nukleotidi, prosti šećeri i mali lipidni molekuli. Urađeni su brojni laboratorijski eksperimenti u kojima je, uz simulaciju uslova od pre više 3,8 milijardi godina na prvobitnoj Zemlji, uspešno izvršena nebiološka sinteza malih organskih molekula.

Uslovi za nebiološku sintezu na prvobitnoj Zemlji bili su: redukujuća atmosfera, prisustvo vode i prekur-



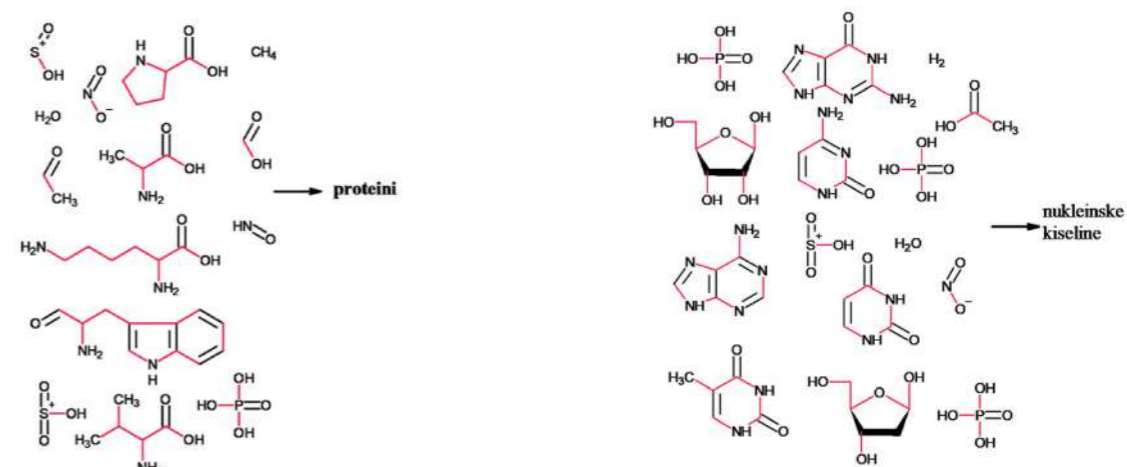
[31] Model Miller-ove aparature za simulaciju prebiotičkih uslova na Zemlji i sintezu prvih biološki važnih molekula. Bunzenov plamenik zagreva vodu, čije pare u kontaktu sa mešavinom gasova  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$  stvaraju smesu. Smesa gasova ulazi u prostor sa električnim pražnjenjem sa elektroda, nakon čega se hladi u kondenzatoru i gde nastaje rastvor sa smesom prvih nosintetisanih biološki važnih molekula. Rastvor se ponovo vraća u početni sud nad plamenikom i proces se ponavlja veliki broj puta. Sistem sudova Miller-ove aparature je zatvoren kako ne bi došlo do gubitka gasovitih jedinjenja. Iz ohlađenog rastvora uzima se uzorak u erlenmeyerovu tikvicu za analizu i detekciju nosintetisanih prvih biološki važnih molekula

sorskih molekula kao i različitih vrsta energije.

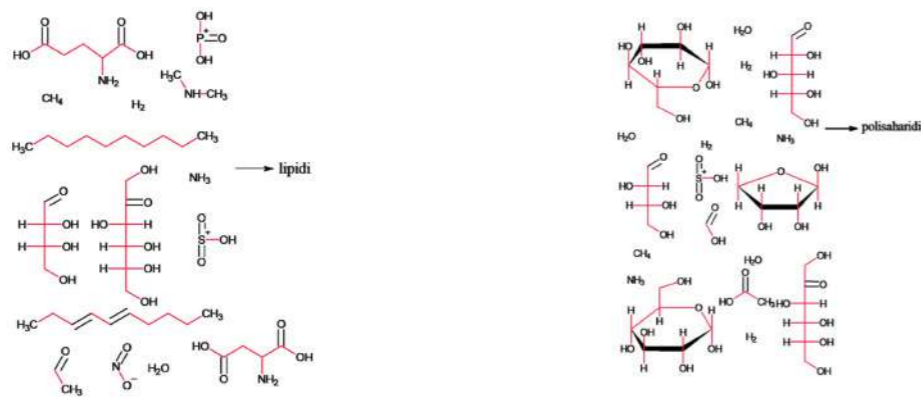
Redukujuća atmosfera tadašnje Zemlje nije imala u svom sastavu kiseonik i omogućavala je novostvorenim organskim molekulima stabilnost. U suprotnom oni bi se brzo vezivali za reaktivan kiseonik i prelazili u sasvim drugačija jedinjenja. Iako je temperatura na Zemlji pre 3,7 milijardi godina bila visoka u odnosu

na današnju, prisustvo vode i vodene pare na njoj bilo je značajno. Prekursorski molekuli za stvaranje prvih biomolekula bili su molekuli metana, vode, amonijaka, azota, ugljenmonoksida, ugljendioksida, hlorovodonične kiseline i vodoniksulfida. Izvori energije bili su UV zračenje Sunca, električna pražnjenja munja i toplota iz toplih izvora podzemnih voda i vulkanskih erupcija.

Uspešnu nebiološku sintezu malih organskih molekula u laboratorijskim uslovima izvršio je hemičar Stanley Miller 1953. godine. Miller je napravio aparaturu od više laboratorijskih posuda u kojoj je simulirao prebiotičke uslove prema scenariju koji su dali Oparin i Holdejn. U svom eksperimentu Miller je napravio smesu od vodene pare – izvor kiseonika, metana – izvor ugljenika, amonijaka – izvor azota i vodonika, što je pretpostavljeni sastav smese jedinjenja na prebiotičkoj Zemlji. Zatim je smesu u zatvorenoj aparaturi naizmenično zagrevao i hladio, od  $0^\circ\text{C}$  do  $100^\circ\text{C}$  i tako izazivao promene njenog agregatnog stanja, simulirajući takođe uslove na tadašnjoj Zemlji. U isto vreme dok je smesu zagrevao i hladio propuštao je i kroz prostor sa energijom varnica dobijenim električnim pražnjenjem. Električno pražnjenje je bilo slabog intenziteta i dobijano je sa dve elektrode. Varnice sa elektroda vršile su ulogu električnih pražnjenja munja ili vulkanskih erupcija koje su bile česta pojava na prebiotičkoj Zemlji. Nakon nekoliko nedelja cikličnog i neprekidnog trajanja eksperimenta, gde je početna smesa mnogo puta prolazila kroz sistem posuda aparature, Miller je uspeo da u toj smesi dobije veliki broj nosintetisanih organskih jedinjenja. Organska jedinjenja najinteresantnija za dokaz nebiološke sinteze a koja su se sintetisala u Miller-ovom eksperimentu bila su aminokiseline: glicin, alanin, asparaginska i glutaminska kiselina [31]. Posle Miller-ovog uspeha da nebiološkim putem stvori organske molekule veliki broj naučnika je ponovio njegov eksperiment i uspeali su da sintetišu iste i druge za život važne biomakromolekule kao što su purinske i pirimidinske baze, lipide male molekulske mase i šećere. Prvosintetisani molekuli važni za život na planet Zemlji i u trenutku svog stvaranja bili su veoma jednostavni i raznovrsni, da bi kasnije njihovim kombinovanjem došlo do formiranja i sinteze biomakromolekula. Strukturna forma biomakromolekula: proteina, nukleinskih kiselina, lipida i polisaharida izgrađena je nakon formiranja malih biogenih molekula. Sinteza proteina zavisi od molekula aminokiselina,  $\text{NO}_2$ , vode i neorganskih soli koje vrše ulogu pufera; sinteza nukleinskih kiselina [32] zavisi od fosfata, prostih šećera, purinskih i pirimidinskih baza,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{H}_2$  i katalizatora u obliku soli; sinteza lipida zavisi od estara, alkohola (npr. glicerola za trigliceride), aminokiselina, zasićenih i nezasićenih masnih kiselina,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , neorganskih soli i neorganskih kiselina; sinteza polisaharida zavisi od prostih ugljovodonika,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , prostih šećera, alkohola, vode, neorganskih i organskih soli [33]. Kad se svemu nabrojanom doda još potreba za tačno definisanim temperaturnim opsegom i idealnim opsegom pH sredine, dobija se slika o komplikovanosti sistema nastanka biomakromolekula.



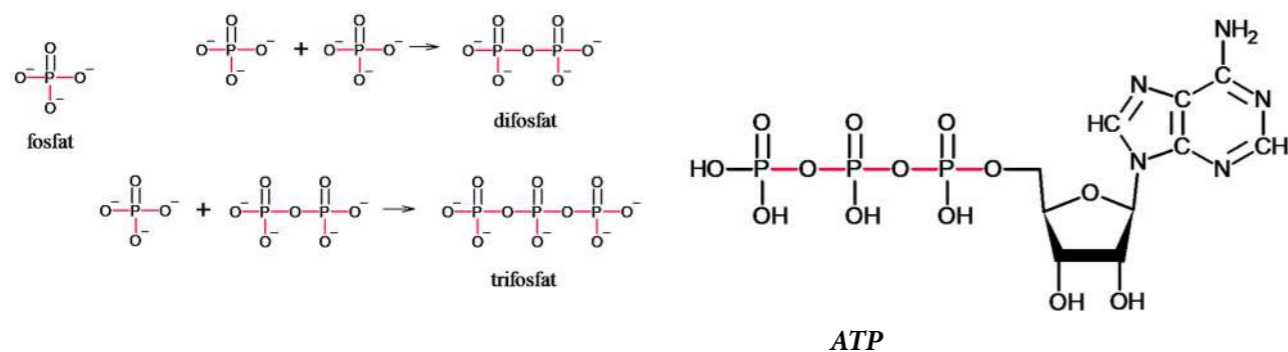
[32] Strukturne hemijske formule prvostetisanih biogenih molekula koji svojim kombinovanjem i vezivanjem daju biomakromolekule nepohodne za život na Zemlji: proteine i nukleinske kiseline



[33] *Strukturne hemijske formule prvostetisanih biogenih molekula koji svojim kombinovanjem i vezivanjem daju biomakromolekule nepohodne za život na Zemlji: lipide i polisaharide*

### HEMIJSKE VEZE BOGATE ENERGIJOM

Prvostetisani, biološki važni organski molekuli stvoreni u vodenoj sredini uz pomoć električnih pražnjenja, UV zračenja ili temperaturnog gradijenta vode od 0°C do 350°C akumulirali su se vremenom u okeanima i jezerima prvobitne Zemlje. Međutim, ova vrsta energije koja je učestvovala u sintezi bioloških molekula nije bila pogodna za dalje napredovanje biogenih procesa jer je bila nekontrolisana, nepredvidiva i neuniformisana. Iz tog razloga u biogenezi se javlja faza stvaranja hemijskih veza bogatih energijom, koja je omogućila ubacivanje energije u biohemijske sisteme u obliku hemijskih veza. Po biohemičaru Lipmannu faza stvaranja hemijskih veza bogatih energijom desila se pre prebiotičke faze i tako govori koliko je faktor energije bitan u stvaranju života. Danas se svi biohemičari slažu da je u biogenezi života korišćen oblik energije hemijskih veza iz fosforilacije molekula pirofosfata (difosfat). Kasnije u biološkoj evoluciji molekul pirofosfata je zamenjen molekulom nukleotida adenozintrifosfata - ATP, koji tako postaje univerzalna molekulska jedinica unutarćelijskog prenosa energije [34].



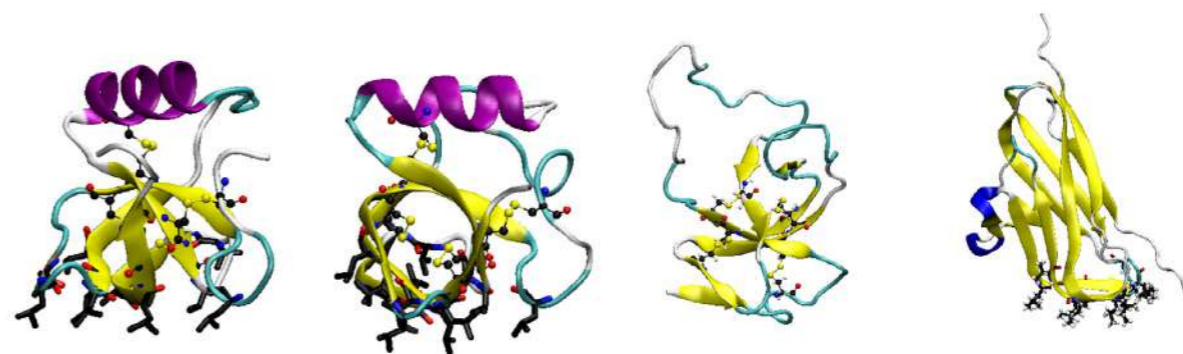
[34] *Strukturne hemijske formule fosfata: fosfat, difosfat-pirofosfat (levo) i trifosfat kao i adenzin trifosfata-ATP (desno), crvenom bojom obeležene su hemijske veze bogate energijom*

Pored ATP-a formiran je još jedan molekul sa hemijskim vezama bogatim energijom to je GTP - guanozin tri fosfat. Njegova hemijska građa razlikuje se od ATP-a u tome što umesto adenina ima vezan guanin za ribozu i tri fosfatne grupe. GTP je izvor energije ili aktivator supstrata u metaboličkim reakcijama, kao ATP, ali je daleko specifičniji od njega. GTP molekuli se koriste kao izvori energije isključivo za transport biomakromolekula kroz nukleusne pore kao i sintezu proteina u ćelijama.

### RNK I DNK FAZA

Savremeni istraživači dokazuju da je nastajanje ribonukleinske kiseline - RNK prethodilo nastanku dezoksiribonukleinske kiseline - DNK, jer aktivnost DNK zavisi od RNK, dok RNK može samostalno da deluje. U biogenezi RNK faza je stvorila preduslove za funkcionisanje i prenos genetičkog materijala u ćelijama. RNK molekuli omogućavaju: ubrzanje procesa u ćelijama pomoću molekula ATP-a, sintezu proteina na ribozomima potrebnih ćeliji, obnavljanje drugih molekula RNK u ćeliji i ugradnju delova svog molekula kod kofaktora različitih metaboličkih reakcija. U RNK fazi biogeneze nastao je mehanizam prenosa informacije sa molekula RNK na redosled aminokiselina u procesu sinteze proteina na ribozomima. Naime, položaj svake od dvadeset aminokiselina u lancu proteina određen je redosledom nukleotida (strukturnih jedinica RNK) na lancu RNK što se još naziva genetički kod. Genetički kod, je uniforman i standardan, odnosno isti, kod svih organizama na planeti Zemlji. Prvobitni genetički kod je nastao veoma rano u biohemijskoj evoluciji i dostigao je svoju današnju strukturu pre postanka prvih organizama. Molekuli RNK u vremenu svog nastanka imali su mogućnost samoudvajanja i omogućavanja odvijanja drugih biohemijskih procesa, kao i prenosa genetičke informacije [35]. Međutim, molekule RNK karakteriše hemijska nestabilnost, veliki potencijal za akumulaciju grešaka tokom samoudvajanja i ograničena sposobnost za ispravku istih.

Hemijska nestabilnost molekula RNK se ogleda u postojanju hidroksilne grupe u molekulu riboze, koja ne ulazi u sastav molekula dezoksiriboze kod DNK [47,62], pa je iz tog razloga molekul DNK stabilniji od molekula RNK. Iz tog razloga je biohemijska selekcija, vrlo rano u istoriji života, počela da favorizuje molekule DNK umesto molekula RNK u cilju skladištenja i tačnijeg funkcionisanja genetičke informacije, čime počinje DNK faza. Vremenom su se DNK molekuli prostorno odvojili u ćeliji od ostalih citoplazmatičnih organela i njihovih procesa. Tako je došlo do raspodele funkcija: molekuli DNK u ćelijama će nositi informacije za sintezu biomakromolekula potrebnih ćeliji, dok će prenos informacija za sintezu i proces sinteze obavljati molekuli RNK. Pojava DNK molekula omogućava da se genetičke informacije ćelija čuvaju u jednoj ili minimalnom broju kopija. Po potrebi se informacije sa DNK molekula prepisuju na RNK molekul u adekvatnom broju prepisa u najbržem vremenskom intervalu. Tako se omogućio prostor za specijalizaciju molekula RNK koje se u ćeliji javljaju u velikom broju kopija sa kojih se sintetišu proteini, informaciona RNK - iRNK; učestvuju u izgradnji ribozoma, ribozomalna RNK - rRNK; ili vrše prenos aminokiselina, transportna RNK - tRNK.



[35] *Modeli prvobitnih molekula RNK*



Prenos genetičke informacije sa RNK molekula na DNK omogućio je veću kontrolu i tačnost, zbog tačnijeg procesa udvajanja DNK, prepisivanja informacija sa nje i njene stabilnosti. Prema naučniku Aleksandru Oparinu u vodenoj sredini bila je velika koncentracija organskih molekula, biomakromolekula, i bile su velike šanse za izgradnju, poboljšanje i opstanak DNK i RNK molekula kroz dug vremenski period. Molekularni biolog John Chaput (2012) prikazuje da su osim DNK i RNK molekula postojali i drugi tipovi molekula nukleinskih kiselina: TNA - treoza nukleinska kiselina, ANA - arabinoza nukleinska kiselina, FANA - 2-fluoroarabinoza nukleinska kiselina, LNA - L-riboza analog nukleinske kiseline, CeNA - ciklo-heksan nukleinska kiselina i HNA - anhidro-haksitol nukleinska kiselina. Isti autor objašnjava kako su spomenuti tipovi nukleinskih kiselina imali istu ulogu koju danas vrše RNK i DNK molekuli. Činjenica je da kao što je postojao veliki broj različitih malih biološki važnih molekula koji su ušli u stvaranje biomakromolekula, tako je postojao i veliki broj različitih tipova biomakromolekula koji su se vremenom izgrađivali i poboljšavali. Ova velika raznolikost u tipovima molekula važnim za život omogućila je vremenom izbor najfunkcionalnijih i najstabilnijih biomakromolekula koji izgrađuju ćelije i omogućavaju njen metabolizam i dan danas. Danas je moguće sintetisati genetičke polimere TNA i HNA koji su sposobni da evoluiraju u laboratorijskim uslovima.

*Pogledaj linkove i pokušaj da pronađeš slične o scenarijima nastanka života na Zemlji:*

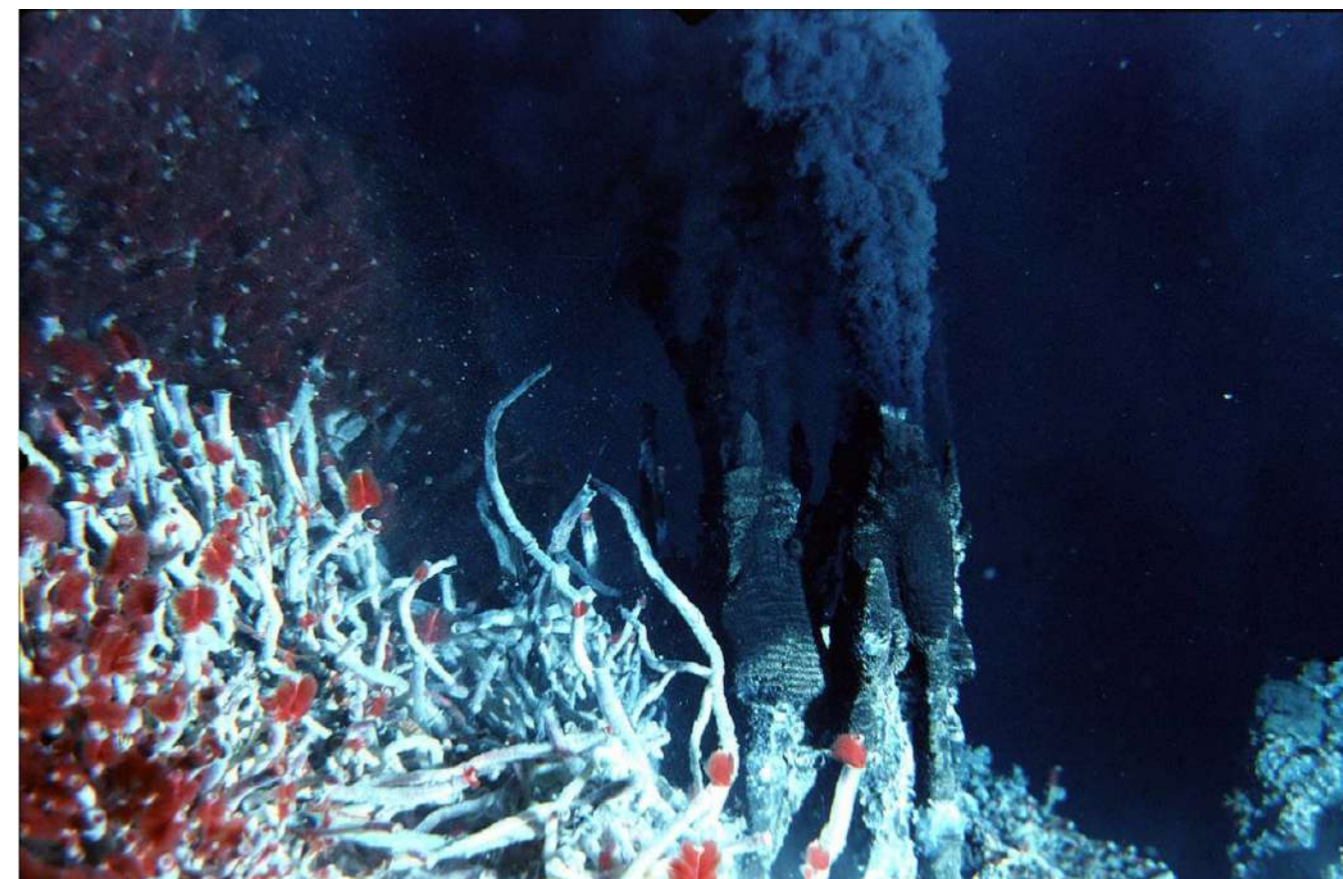
*[www.youtube.com/watch?v=NNijmxxKGbc](http://www.youtube.com/watch?v=NNijmxxKGbc),*

*[www.youtube.com/watch?v=\\_uAJY1mqtw4](http://www.youtube.com/watch?v=_uAJY1mqtw4) i*

*[www.youtube.com/watch?v=K1xnYFCZ9Yg](http://www.youtube.com/watch?v=K1xnYFCZ9Yg)*

*nakon gledanja prodiskutuj o njima na času sa kolegama i nastavnikom.*

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*



[36]

## PRVE ĆELIJE

Protoćelije  
LUCA

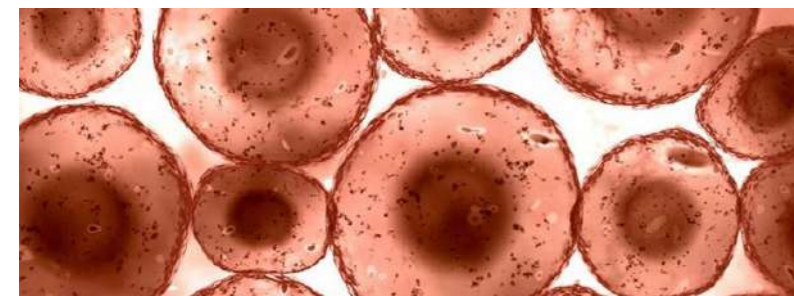
Postoje razne hipoteze o tome koji je ključni događaj u postanku života na planeti Zemlji: hemičar Stanley Miller (1953) tvrdi da je to sinteza prvih biomakromolekula u vodenoj sredini; po fizičaru Bernal Desmond John (1967) početak života je u stvaraju minerala gline, zatim slobodnoj sintezi proteina, kasnije nastanku ćelija i tek na kraju formiranju nukleinskih kiselina koje bi bile preteča gena; biohemičar Frite Albert Lipmann (1971) smatra da je vezivanje hemijske energije u obliku energije hemijskih veza velikih molekula prvi preduslov za nastanak života; dok biohemičar Manfred Eigen (1981) smatra da je prvi i ključni događaj u postanku ćelijskog života formiranje ćelijske membrane. Dosadašnja istraživanja nisu dokazala koji je od ovih autora u pravu, međutim sa sigurnošću se zna da su svi nabrojani preduslovi morali da budu ostvareni pre pojavljivanje prvih oblika života. Ono što je sigurno jeste da je za postanak prvih oblika života trebalo veoma mnogo vremena, oko 800 miliona godina nakon nastanka planete Zemlje.

Prvi oblik života na Zemlji imao je veoma jednostavnu građu i morao je da zadovolji osnovne kriterijume živog koji su ga odvajali od nežive prirode: ćelijsku građu, reagovanje na nadražaj, metabolizam, homeostazu, rast i razviće, razmnožavanje i evoluciju. Mnogi biolozi danas se slažu sa hipotezom da je početak života vezan za formiranje nekog oblika primitivne protoćelije, koju biohemičar Aleksandar Oparin (1957) naziva koacervat [37]. On smatra da su koacervati glavni ključ za razumevanje postanka života: ako se u prebiotičkim uslovima formirao veliki broj različitih oblika koacervata, sačinjenih od različitih kombinacija biomakromolekula, onda su koacervati koji su bili u stanju da sintetišu sebi slične biomakromolekule, ubrzo i preovladali nad ostalim oblicima koji to nisu mogli. Tako je došlo do pojave metabolizma i nakupljanja metabolita u sistemu zatvorenom membranom.



[37] Fotografija naučnika Aleksandra Ivanoviča Oparina, ruskog biologa i biohemičara. Osim što je postavio teoriju abiogenog nastanka života na Zemlji, dokazao je ulogu većine enzima biljne ćelije i osnovao oblast industrijske biohemije

Oparin daje nov scenario nastanka života koji obuhvata formiranje ćelijske organizacije koja podrazumeva postojanje biomembrana, zatim sposobnosti sinteze proteina i tek na kraju vremenom pokretanje mehanizama nasleđivanja nukleinskih kiselina. Istraživanja Oparina se slažu sa radovima njegovog mlađeg kolege takođe biohemičara Eigen (1981) koji potvrđuje da su ćelijske membrane ili biomembrane odigrale važnu ulogu u formiranju života, jer su sa svojom strukturom zaštitile sadržaj protoćelije od spoljašnje sredine. Tako je hipoteza o protenoidnim mikrosferama i koacervatima dobila na važnosti, jer su one imale mogućnost da u svom zatvorenom sistemu obezbede siguran metabolizam protoćelijama. Protenoidne mikrosfere su agregati protenoida nastali od monomera aminokiselina pod jednim setom geoloških uslova, dok koacervatne kapljice nastaju od polimera u savremnim organizmima. Proces u kojem nastaju koacervati naziva se koacervacija i ona je karakteristična samo za velike biomolekule koji imaju hidrofobne i hidrofilne regione [38].



[38] Prikaz različitih oblika pretpostavljenih oblika koacervata

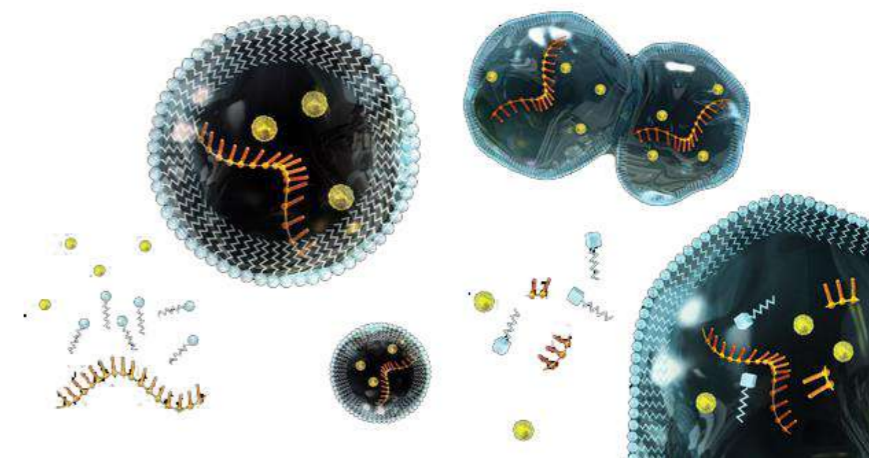
koacervati naziva se koacervacija i ona je karakteristična samo za velike biomolekule koji imaju hidrofobne i hidrofilne regione [38].

Pogledaj sadržaj sledećih linkova:  
[poincare.matf.bg.ac.rs/~olga/oaf/seminarski/M.Micic.pdf](http://poincare.matf.bg.ac.rs/~olga/oaf/seminarski/M.Micic.pdf) i  
[www.physicsoftheuniverse.com/scientists\\_oparin.html](http://www.physicsoftheuniverse.com/scientists_oparin.html)

Biomolekuli koji imaju hidrofobni i hidrofilni deo a učestvuju u koacervaciji su fosfolipidi i proteini. Biohemičar Sidney Fox (1965) eksperimentalno je dokazao proces koacervacije potopivši u hladnu vodu predhodno zagrejane aminokiseline na oko 150°C i dobio protenoide ili kako ih je on nazvao termalne proteine. U ohlađenom rastvoru vode sa proteonidima pod mikroskopom su se uočavala neživa mikrosferična telašca dimenzije ćelija, koja isu mala svojstva slična živim ćelijama. Ova telašca su mogla međusobno da se fuzionišu, da rastu i spontano da se podele na dva nova telašca.

## PROTOĆELIJE

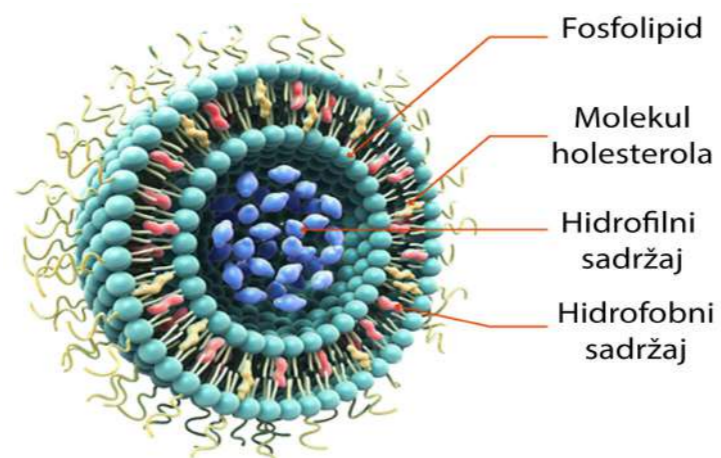
Naučnik Fox smatra da su se protenoidi na planeti Zemlji formirali od aminokiselina u plitkim, toplim i Sunčevim zračenjem često isušanim barama i u barama u blizini vulkana [36]– slično kao zagrejane aminokiseline iz njegovog eksperimenta koje su se međusobno vezivale. Nakon obilnih kiša ove bare su se punile velikom količinom vode i hladile sredinu, u njima bi tad spontano nastajale micide sa sadržajem u sebi – protoćelije. Veliki broj slobodno plivajućih molekula RNK na kojima se dešavala sinteza proteina, slobodni proteini i fosfolipidi rastvoreni u vodenoj sredini, joni i molekuli prostih šećera našli su se u protoćeliji. Ova protoćelija je morala da poseduje specijalan fosfolipidni jednosloj u obliku micide, kako bi sačuvala svoj sadržaj i odvojila ga od spoljašnje sredine, to je značilo da je i fosfolipidni jednosloj morao da prođe kroz niz specijalizacija i da bude podvrgnut selekciji u velikom vremenskom periodu [39]. Jedna od najbitnijih osobina svakog fosfolipidnog jednosloja je njegova propustljivost jer svaki oblik života mora da komunicira sa spoljašnjom sredinom. Tako da bez obzira na vreme i mesto postanka fosfolipidnog jednosloja morao je da bude to vrlo dug i precizan proces, jer danas biomembrane poseduju veoma složene i jedinstvene fizičko-hemijske i funkcionalne karakteristike. Biomembrane živih sistema danas čine dva veoma tanka i bliska sloja lipida u koje su ugrađeni različiti proteini. Lipidi koji grade biomembrane su amfipatični što znači da njihovi molekuli imaju polaritet, sa jedne strane molekul lipida je hidrofoban a sa druge strane je hidrofilan. Zbog ove karakteristike lipidi biomembrana u vodenoj sredini uvek formiraju dvoslojne strukture, tako da su im hidrofilni krajevi okrenuti prema spoljašnjosti – spoljašnjoj sredini i unutrašnjosti živog sistema, sa druge strane.



[39] Prikaz različitih pretpostavljenih oblika micela sa jednim slojem fosfolipida na površini

Hidrofobni krajevi iz oba lipidna sloja su okrenuti jedan prema drugom između hidrofilnih krajeva. Dva lipidna sloja imaju osobinu da spontano formiraju veoma fleksibilne strukture, zatvorene sfere, koje mogu da se podele na više delova ili da se međusobno spajaju, a da pri tome zadržavaju oblik. Ove sfere ograničene lipidima nazivaju se lipozomi. Danas biomembrane nastaju iz već postojećih biomembrana u živim sistemima. Međutim, ako biomembrane ne mogu nastati iz neživih makromolekula, a lipozomi mogu, tada možda smemo da lipozome smatramo pretečama biomembrana.

Ako se snažno protrese vodena suspenzija amfipatičnih lipida, više njih će se spontano povezati i izgraditi lipozome u obliku sferičnih vezikula. Citolog i biohemičar De Duve (1991) smatra da upravo lipozomi predstavljaju oblik biomakromolekula koji su preteča biomembrana. Formiranje lipozoma u biogenezi značilo je potpuno zatvaranje sistema sa raspoloživim biomakromolekulima i kompleksima biomakromolekula u bezbroj različitih kombinacija, a neki od njih su bili i prazni. Biolog Kavalier Smith (2001) proširuje scenario po kom su nastale prve micela, strukture sa jednim slojem fosfolipida. Svojom hipotezom dokazuje da su se biomakromolekuli i kompleksi biomakromolekula vezivali za spoljašnji fosfolipidni sloj prvobitnih praznih micela. Vezivanje za spoljašnji sloj fosfolipidnog jednosloja micela omogućilo je uvlačenje biomakromolekula ka unutrašnjosti micela i istovremeno formiranje lipozoma sa fosfolipidnim dvoslojem [40].

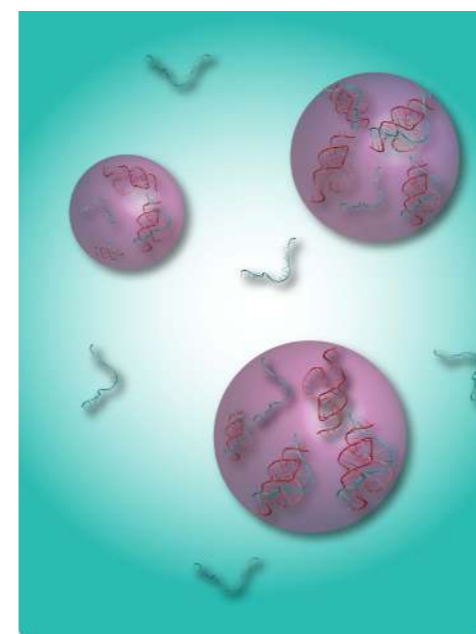


[40] Šematski prikaz lipozoma

Lipidne membrane u lipozomima bile su u stanju da rastu vezujući za sebe nove molekule lipida i proteina. One su bile u stanju i da se dele na dve potpuno različite lipidne vezikule. Nakon određenog vremena došlo je do formiranja velikog broja različitih vezikula lipozoma koji su dalje dali različite oblike protoćelija. One su svakako bile drugačije od savremenih ćelija, ali je samo jedan njihov oblik opstao i dao današnji oblik ćelije. Osnovni razlog za prihvatanje ovakve tvrdnje je prisustvo istih osnovnih molekulskih karakteristika i genetičkog koda kod svih živih bića danas.

## LUCA

Protoćelije nisu poslednji zajednički predak svih živih bića iz razloga što ne poseduju potpunu organizaciju i metabolizam kao kod savremenih ćelija. Između protoćelije i najstarijih poznatih fosila ćelija postoji bar još jedan oblik daleko organizovanije ćelije od protoćelije koja se naziva "poslednji univerzalni zajednički predak" – LUCA (engl. Last Universal Common Ancestor). LUCA je imao lipoproteinsku membranu, genom sačinjen od DNK, ribozome, univerzalni genetički kod, metabolizam, ćelijski zid i najviše je bio sličan obliku savremenih bakterija [41]. Na osnovu savremenih analiza, koje su zasnovane na pručavanju biomakromolekulskih struktura, zaključuje se da je životna sredina LUCA bila ekstremna za danasnje prilike. To je bila sredina sa visokom temperaturom, niskom pH vodene sredine i velikom koncentracijom sumpora dostupnim za metabolizam. Ova činjenica je bitna iz razloga što LUCA nije bio fotoautotrofan, znači da nije vršio fotosintezu, jer nije posedovao hlorofil, već je bio hemoautotrofan. Hemoautotrofan znači da je energiju za svoj život i sintezu biomakromolekula dobijao putem oksidacije neorganskih jedinjenja kao što su amonijak, nitriti, nitrati, soli gvožđa, vodoniksulfid, vodonik ili metan. Sva nabrojana neorganska jedinjenja su se nalazila u spoljašnjoj sredini u kojoj je živeo LUCA kao što je već rečeno u predhodnom poglavlju.

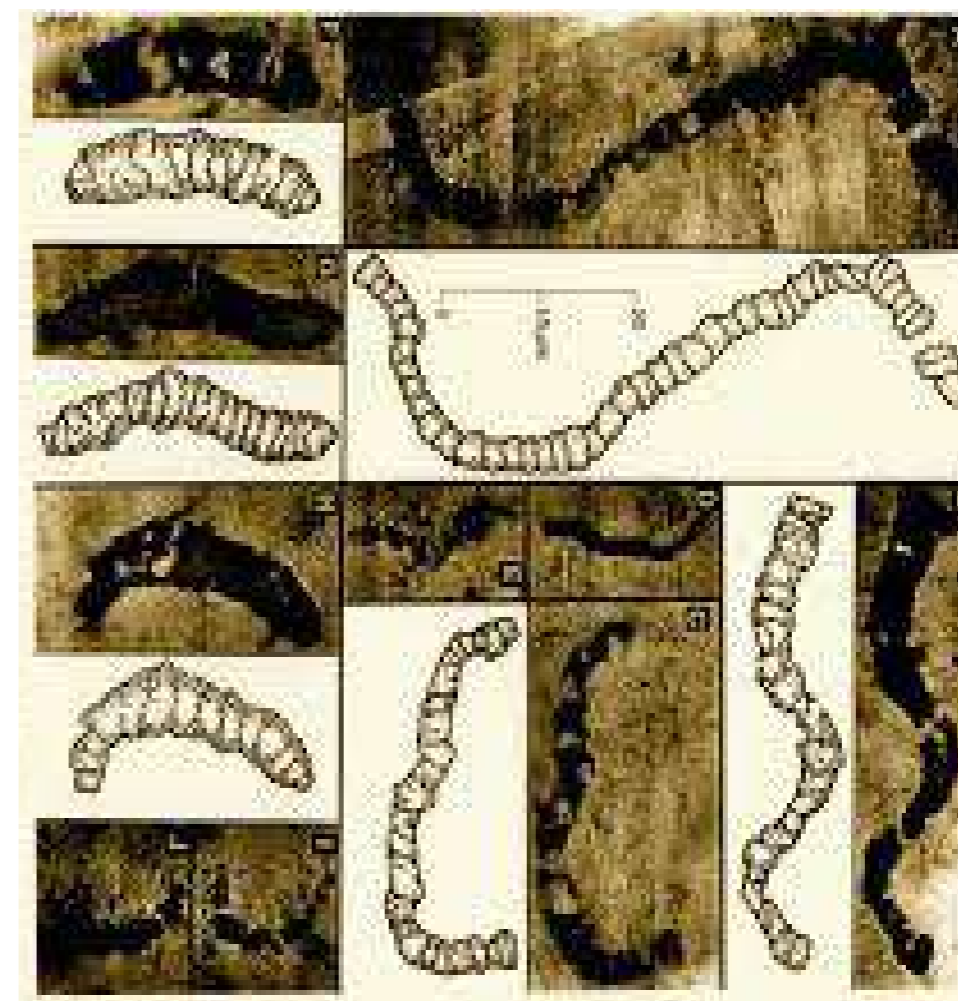


[41] Šematski prikaz LUCA ćelija

Paleontolog i biolog Willam Schopf, (1993) u stenama zapadne Australije pronašao je i opisao najstarije poznate fosile ćelija, čija se starost procenjuje na oko 3,47 milijardi godina. Njihova veličina varira od nekoliko mikrometara do nekoliko desetina mikrometara i podsećaju na končaste oblike prokariotskih ćelija, cijanobakterije [42].

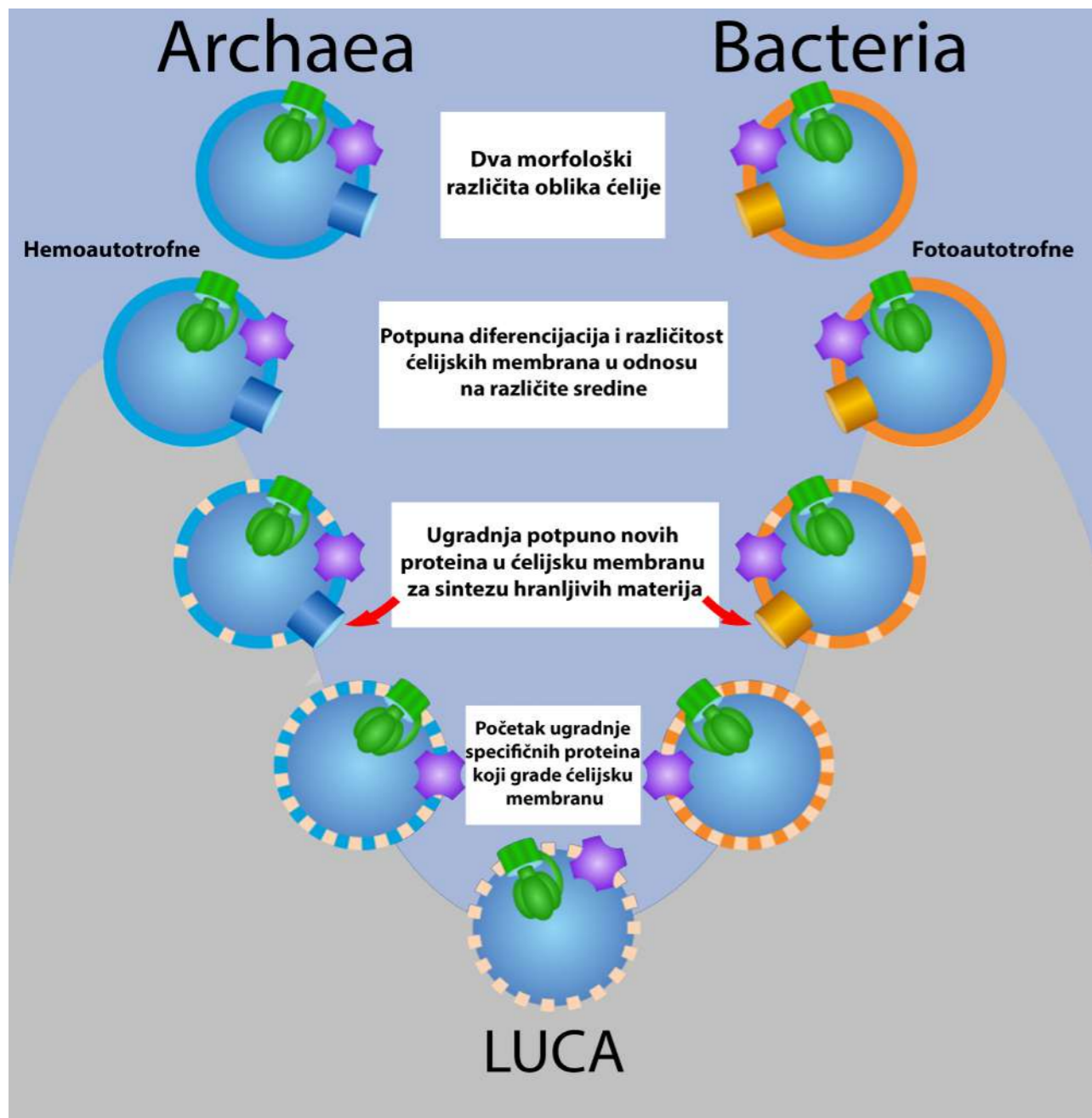
Ako su ovo zaista bile cijanobakterije to znači da su vršile fotosintezu. Na fotosintetski način života presao je njihov predak LUCA [43]. Temperatura na planeti Zemlji se u doba ovih fosilnih cijanobakterija smanjila i atmosfera koja je bila potpuno bez kiseonika polako je počela da se puni sa njim. Kiseonik koji se oslobađao u tadašnju atmosferu produkt je metabolizma cijanobakterija, koje su zamenile LUCA oblike života. Cijanobakterija je bilo mnogo i postojale su veoma dug vremenski period na Zemlji, a i njihov metabolizam je izmenio sastav atmosfere tadašnje Zemlje.

Pročitaj tekst sa linka: [newsroom.ucla.edu/releases/ancient-fossil-microorganisms-indicate-that-life-in-the-universe-is-common](http://newsroom.ucla.edu/releases/ancient-fossil-microorganisms-indicate-that-life-in-the-universe-is-common)



[42] Mikrografije i crteži najstarijih poznatih fosilnih ćelija po paleontobiologu Šopu

U narednim poglavljima ovog udžbenika biće mnogo više reči o ultrastrukturnoj građi, metabolizmu i načinu života kako prokariotskih tako i eukariotskih ćelija, ovde se samo skreće pažnja na teorije o njihovom nastanku. Procenjuje se da su pre oko 1,6 milijardi godina nastale prve eukariotske ćelije sa svojom osnovnom karakteristikom: prisustvom jedarne membrane. Jedarna membrana je deo složenog membranskog sistema eukariotske ćelije, ovaj sistem deli citoplazmu ćelije na funkcionalne oblasti – citoplazmatične partikule, nemembranske organele (ribozomi), organele, membranske organele (endoplazmatični retikulum, Golđi aparat, sekretorne granule, lizozomi, plastidi, mitohondrije i dr.) i difuzne citoplazmatične komplekse (citoskelet, centrozomi).



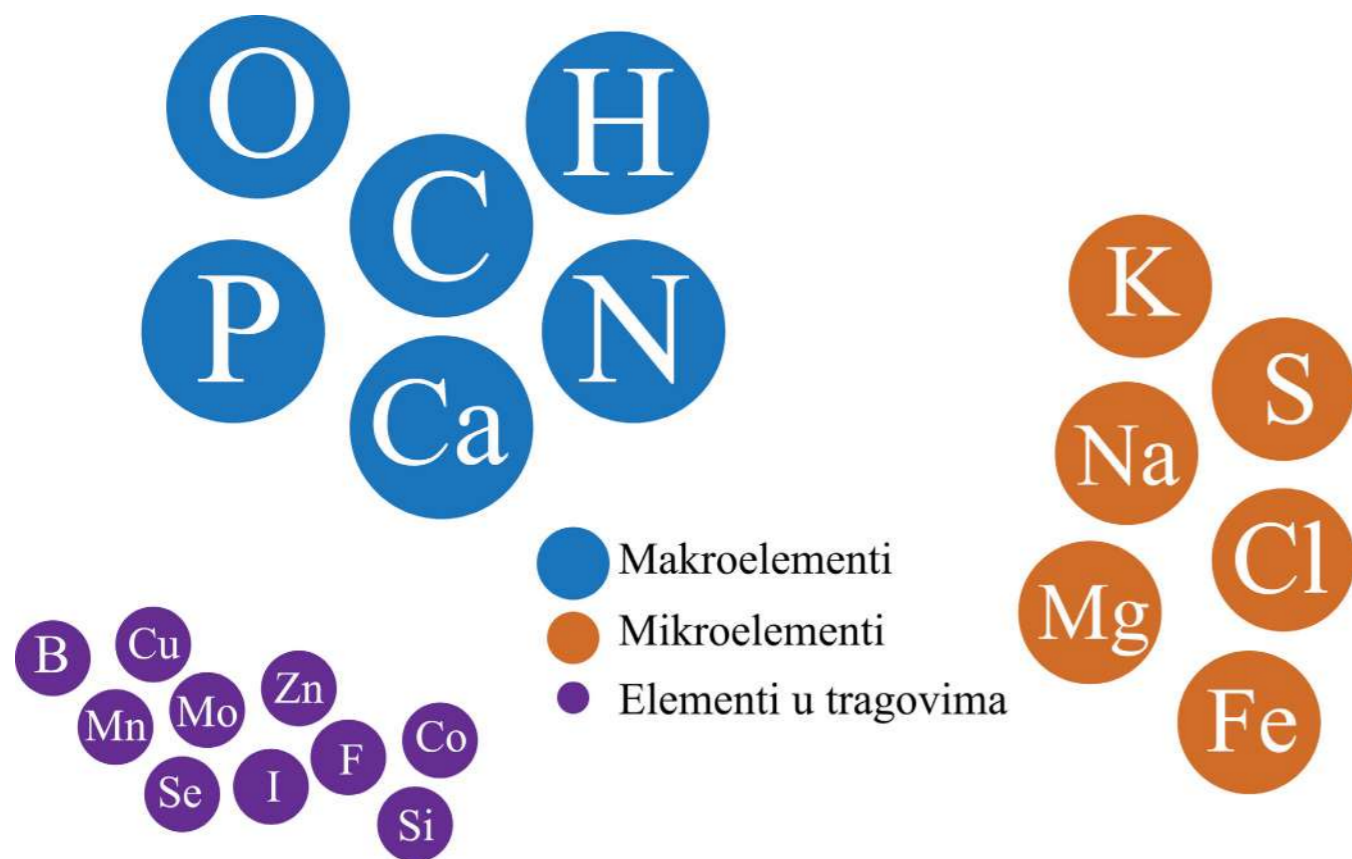
[43] Šema scenarija usložnjavanja biomembrana LUCA ćelije preko nekoliko međuoblika do jednoćelijskih oblika života Archaea i Bacteria. Promene LUCA ćelije nastaju prvo na njihovim ćelijskim membranama tj. u sastavu proteina u njima koji imaju ulogu jonskih pumpi. Vremenom se ovi proteini toliko diferenciraju u različitim smerovima da postaju potpuno drugačiji kod arhea u odnosu na bakterijsku ćeliju

U odnosu na prokariotske ćelije eukariotske ćelije su vremenom povećale svoje dimenzije, tako da su i danas mnogo većih dimenzija od njih. Na povećanje dimenzije eukariotskih ćelija najviše su uticali procesi uvijanja, vezikulacije i diferencijacije predačke plazma membrane prokariotskog tipa u citomembranski sistem eukariotske ćelije. Smatra se da je veoma bitan korak u nastanku eukariotskih ćelija bio gubitak ćelijskog zida kojeg su imale arheobakterije i LUCA-e, što je rezultiralo u olakšanom usvajanju organskih i neorganskih materija iz spoljašnje sredine pri biološkoj sintezi biomakromolekula eukariotskih ćelija. Eukariotska ćelija je u potpunosti zavisna od neživih hemijskih jedinjenja koja je okružuju jer je ona izgrađuju i održavaju joj metabolizam.

Nema sumnje da su prvi oblici života imali jednoćelijsku formu. Prema nekim procenama ta je forma trajala tri milijarde godina ako se računa period od nastanka prvih protoćelija do nastanka prvih višećelijskih organizama. Bakterije su bile jedini oblici života i gospodarile su planetom Zemljom 1,87 milijardi godina ili polovinu dužine istorije života sve do pojave eukariotskih ćelija. Tako su bakterije održale svoj oblik i formu prilagodjenu za život i u najekstremnijim uslovima i do dana danasnjeg u veoma malo izmenjenom obliku.

Sva živa bića koja žive i koja su živela na planeti Zemlji dele se na tri velika supercarstva: Archea, Bacteria i Eucariota u odnosu na svoje ćelijske, biohemijske i genetičke karakteristike. Ekolog Whittaker (1969) podelio je ova tri supercarstva na šest carstava živih bića u odnosu na organizaciju ćelije i način ishrane: Archeobacterie, Eubacterie, Protisti, gljive, biljke i životinje. Prve hipoteze naučnika bile su da su jednoćelijski prokariotski i eukariotski organizmi nastali od LUCA zasebno svako na svoju stranu, međutim danas je prihvaćena hipoteza mikrobiologa Woese-a i Fox-a po kojoj je od LUCA nastalo najmanje tri oblika života: arheobakterije koje su hemoautotrofne i fotoautotrofne i najbližije LUCA-u, eubakterije koje su autofototrofne i eukariotski jednoćelijski organizmi [43]. Prema ovoj hipotezi prokariotski oblik ćelije nije nastao u jednom obliku u praistoriji, nego je nastao u više oblika u zavisnosti od uslova sredine i načina ishrane. Takođe ova hipoteza objašnjava nastanak eukariotske ćelije od arheobakterijskih predaka najbližijih LUCA-u, kao specijalizacija na uslove sredine. Teorija da je eukariotska ćelija nastala od visokospecijalizovane prokariotske ćelije eubakterija, kako se dugo smatralo prema naučniku Grayu (2002) je netačna.

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.



[44]

## HEMIJSKA OSNOVA ĆELIJA

Neorganska jedinjenja ćelije

Organska jedinjenja ćelije

ugljeni hidrati

masti

proteini

nukleinske kiseline



[45] Na slici je portret naučnika Friedricha Wöhler, nemačkog hemičara. Pored uspešne sinteze organskih jedinjenja od biogenih elemenata, Friedrich Wöhler je izolovao i otkrio aluminijum, berilijum, itrijum i titanijum

jenja i to vode i mineralnih materija, kao i organskih jedinjenja: ugljenih hidrata, lipida, proteina i nukleinskih kiselina a podeljeni su u tri kategorije: makroelementi, mikroelementi i elemnti u tragovima. Kiseonik, vodonik, ugljenik, azot, kalcijum i fosfor se nazivaju makroelementi jer izgrađuju 98% žive materije. Sumpor, kalijum, magnezijum, hlor, natrijum i gvožđe se nazivaju mikroelementi jer čine svega 1-2% težine živie materije. Sumpor ulazi u sastav nekih aminokiselina, pa samim tim i proteina, kalijum, natrijum i hlor učestvuju u transportu kroz ćelijsku membranu i regulaciju ćelijske zapremine, magnezijum ulazi u sastvav hlorofila kod biljaka i nekih enzima kod životinja, a gvožđe učestvuje u izgradnji hemoglobina. Pored svih nabrojanih elemenata tu su i elementi u tragovima koji svi ukupno čine manje od 0,01% težine žive materije. Biogeni elementi u tragovima su: bor (B), bakar (Cu), mangan (Mn), molibden (Mo), selen (Se), jod (I), cink (Zn), kobalt (Co), fluor (F) i silicijum (Si) [44].

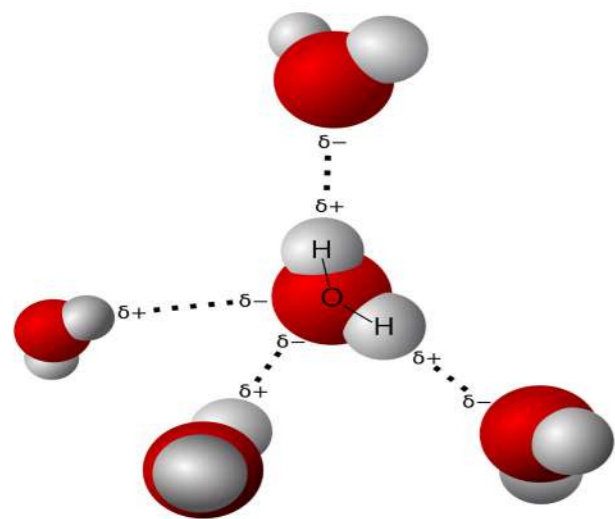
Kriterijum za podelu na makroelemente, mikroelemente i elemente u tragovima je isključivo njihova količina u biomasi, pošto je značaj svih nabrojanih elemenata u jednom organizmu podjednak bez obzira na njihovu procentualnu zastupljenost. U prilog ovoj značajnosti mikroelemenata i elemnata u tragovima govori i činjenica da živi organizmi ne bi mogli uopšte da funkcionišu bez njih.

### NEORGANSKA JEDINJENJA ĆELIJE

Biogeni elementi međusobnim kombinovanjem stvaraju neorganska jedinjanja koja ulaze u sastav živih bića, najvažnija od njih su: voda i mineralne soli, kao i jone: katjone i anjone. Voda je najbitniji sastavni deo svake ćelije i organizma u celini i najznačajnije je neorgansko jedinjenje koje omogućava njihovo funkcionisanje. Mnoge biološke funkcije vode kao jedinjenja proističu iz hemijske strukture i fizičkih

Priroda koja nas okružuje izgrađena je od 118 hemijskih elemenata, a samo njih 25 ulaze u građu svih živih bića. Interesantna je činjenica da tako mali broj od ukupnog broja elemenata gradi živi svet kao i to da su sva živa bića bez obzira da li su bakterije, biljke, životinje ili gljive najvećim delom izgrađena od potpuno istih elemenata iz prirode. Zbog prisustva određenih elemenata u živim organizmima oni se nazivaju biogenim elementima, od grčkih reči βίος (bios=život) и γενεσις (genesis=postanak). Biogeni elementi različito su procentualno zastupljeni u živoj prirodi: kiseonika (O) u živoj prirodi ima slično kao i u neživoj oko 65%, dok ugljenika (C), vodonika (H) i azota (N) ima značajno više u živoj prirodi nego u neživoj, ukupno 21%. Ova četiri elementa zajedno sa kalcijumom i fosforom učestvuju u izgradnji 98% žive prirode. Pored spomenutih šest biogenih elemenata u izgradnji žive materije učestvuju i sumpor (S), kalijum (K), natrijum (Na), hlor (Cl), magnezijum (Mg) i gvožđe (Fe) [44].

Davne 1828. godine nemački hemičar Friedrich Wöhler shvativši važnost organskih jedinjenja od kojih su izgrađeni živi organizmi pokušavao je da ih sintetiše u laboratorijskim uslovima od biogenih elemenata [45]. Uspeo je u svojoj nameri sintetišući ureu i time postavio temelje biohemije, hemije života. Biogeni elementi su zastupljeni u živoj materiji u obliku neorganskih jedin-



[46] Modeli molekula vode povezanih međusobno vodoničnim vezama, kohezija

osobina jedinstvenih samo za nju. Činjenica da je i sam život nastao u vodi i da voda i dan danas predstavlja stanište za veliki broj organizama govori o njenom značaju. Pod odgovarajućim uslovima voda na Zemlji postoji u tri agregatna stanja: gasovitom, tečnom i čvrstom. Molekul vode ( $H_2O$ ) formiraju dva atoma vodonika i jedan atom kiseonika deleći elektrone između sebe u kovalentnim vezama. Iz razloga što atomi ne dele elektrone podjednako voda je polarno jedinjenje, iako je neutralno naelektrisano [46]. Atom kiseonika ima veći afinitet da privuče zajedničke elektrone prema sebi, pa je deo molekula vode gde je atom kiseonika negativnog naelektrisanja, dok tamo gde su atomi vodonika, delimično je pozitivno naelektrisan. Za postanak i funkcionisanje bilo kog oblika života za koji do sada znamo na planeti Zemlji, apsolutno je neophodna voda u tečnom stanju. Polarna priroda vode omogućava joj da rastvara polarna jedinjenja u sebi kao što su šećeri, soli ili protein, pa se molekuli koji grade ova jedinjenja nazivaju hidrofili molekuli.

Sa druge strane voda ne rastvara nepolarna jedinjenja u sebi kao što su ulja i masti pa se molekuli koji grade ova jedinjenja nazivaju hidrofobni molekuli. Bitna posledica polarnosti molekula vode je da se oni međusobno privlače jakim vodoničnim vezama i da se drže zajedno. Privlačna sila koja drži molekule jedne supstance, pa i vode zajedno naziva se kohezija. Jedna od posledica kohezije molekula vode je mogućnost njihovog kretanje nagore, suprotno sili gravitacije, kod biljaka od korenovog sistema prema listovima. Pojava koju izaziva kohezija molekula na površini vode naziva se površinski pritisak.

Najzastupljenije mineralne soli u živim sistemima su karbonati, fosfati i sulfati koje prvenstveno imaju ulogu u stvaranju katjona i anjona u ćelijama. Karbonati i bikarbonati imaju ulogu u održavanju konstantne kiselosti ćelija, fosfati učestvuju u stvaranju anjona neophodnih za sintezu molekula ATP-a i molekula nukleinskih kiselina, joni sulfata učestvuju u sintezi aminokiselina. Katjoni:  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  i  $Ca^{2+}$  i anjoni:  $Cl^-$ ,  $PO_3^{2-}$  i  $CO_3^{2-}$  omogućavaju niz hemijskih procesa u živim organizmima i održavaju biološke strukture u funkcionalnom stanju.

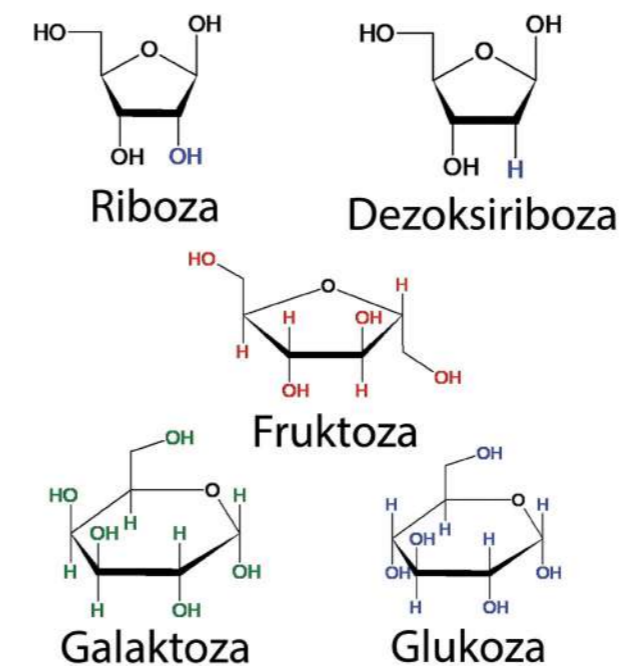
## ORGANSKA JEDINJENJA ĆELIJE

Za hemijsku organizaciju žive materije najveći značaj ima element ugljenik. Značaj je potkrepljen činjenicom da atom ugljenika ima karakteristiku da gradi hemijska jedinjenja lako, vezujući se kovalentnim vezama za druge atome ugljenika ili atome drugih biogenih elemenata. Pri međusobnom povezivanju atomi ugljenika formiraju nerazgranate i razgranate nizove kao i prstenove. Oni na taj način obrazuju osnovu velikog broja različitih organskih jedinjenja. Od svih organskih jedinjenja u prirodi samo četiri grupe njih učestvuju u izgradnji i funkcionisanju ćelija i žive materije uopšte a nazivaju se biomakromolekuli. Pored činjenice da grade žive organizme ovi molekuli su i makromolekuli jer su veliki i nastaju polimerizacijom specifičnih monomera. U biomakromolekule su ubrajaju: ugljeni hidrati, lipidi, protein i nukleinske kiseline. Lipidi su izuzetak jer ne nastaju linearnom polimerizacijom monomera kao proteini, nukleinske kiseline i polisaharidi, ali su biomakromolekuli zbog velike molekulske mase i prisustva u važnim ćelijskim strukturama, poput biomembrana. Znači polimerni biomakromolekuli su proteini, nukleinske kiseline i polisaharidi, izgrađeni od kovalentno povezanih manjih molekula - monomera. Molekuli

polimera čija je molekulska masa veća od 1.000 g/mol smatraju se makromolekulima. Lipidi kao heterogena grupa ćelijskih komponenti nisu međusobno slični po hemijskoj strukturi i funkciji.

## Ugljeni hidrati

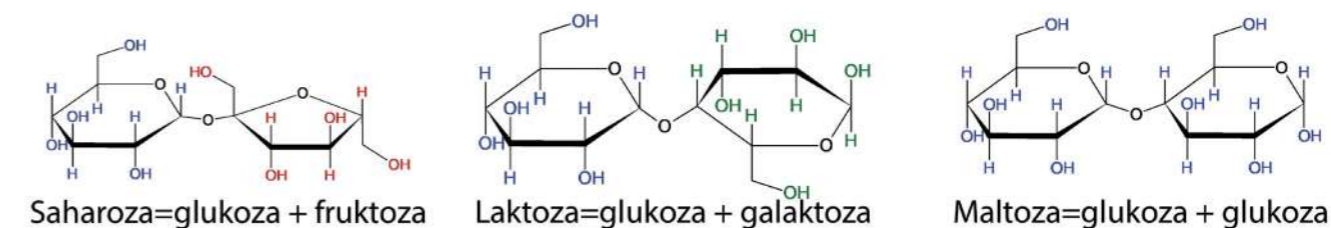
Šećeri ili ugljeni hidrati su velika grupa organskih jedinjenja, biomolekula i biomakromolekula, koji imaju sličan sastav hemijskih elemenata: ugljenika, vodonika i kiseonika, ali se veoma razlikuju po veličini molekula, hemijskim osobinama i ulozi u biološkim sistemima. Ugljeni hidrati su izvor energije za sva živa bića, a imaju i strukturnu ulogu u građi ćelijske membrane svih ćelija i ćelijskih zidova biljaka i gljiva, kao i u izgradnji egzoskeleta kod insekata. Postoje tri grupe biološki bitnih ugljenih hidrata: monosaharidi, oligosaharidi i polisaharidi.



Monosaharidi ili prosti šećeri građeni su od tri - trioze, četiri - tetroze, pet - pentoze, šest - heksoze i sedam - heptoze ugljenikovih atoma [47]. Biološki najznačajnije pentoze su: riboza i dezoksiriboza i heksoze: glukoza, fruktoza i galaktoza. Riboz i dezoksiriboza ulaze u sastav nukleinskih kiselina, molekula ATP-a i nekih drugih biomakromolekula. Sva živa bića koriste molekule glukoze u svojim ćelijama kao izvor energije. Glukoza se u nizu hemijskih reakcija razlaže na vodu i ugljen-dioksid pri čemu se otpušta i energija hemijskih veza, koju ćelija koristi za svoje potrebe. U slobodnom stanju, van ćelije, glukoza se nalazi u biljnim provodnim sudovima za skladištenje organske materije, kao i u krvi kod životinja i čoveka. Najsladši monosaharid je fruktoza koja se zove voćni šećer zato što je ima u voću, dok je galaktoza najmanje sladak šećer.

## [47] Strukturne formule biološki važnih monosaharida

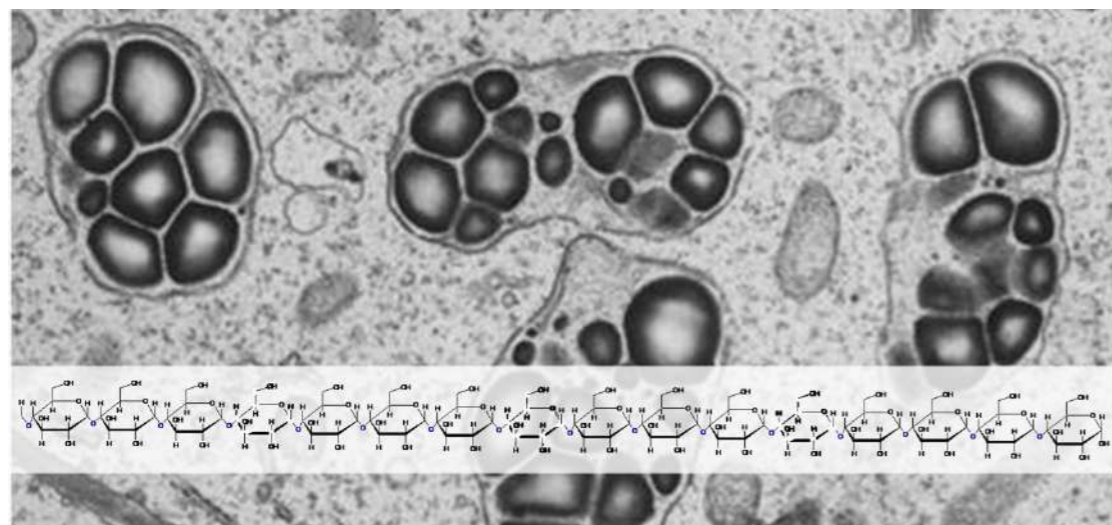
Oligosaharidi su šećeri građeni od dva do deset monosaharida. Prva i najznačajnija grupa oligosaharida su disaharidi građeni od dva monosaharida. U živom svetu najznačajniji disaharidi su: saharoza, laktoza i maltoza. Saharozu grade po molekul glukoze i fruktoze, laktozu grade po molekul glukoze i galaktoze, a maltozu grade dva molekula glukoze [48].



[48] Strukturne formule biološki važnih disaharida

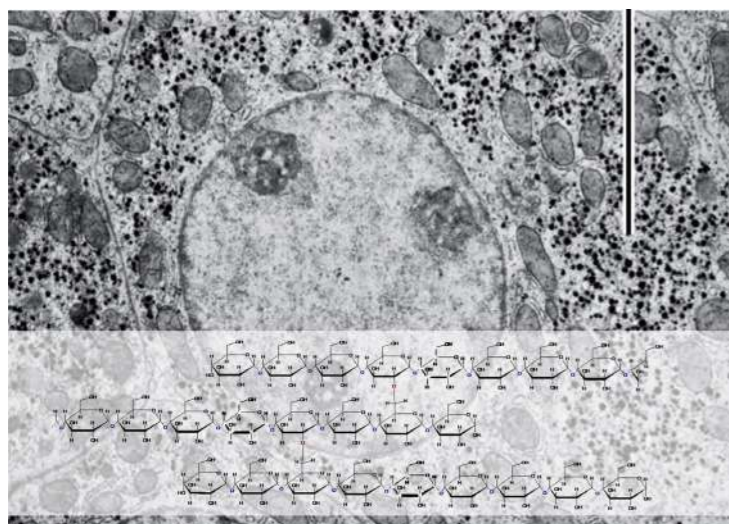
Polisaharidi su polimeri izgrađeni od nekoliko hiljada monomera monosaharida. Najznačajniji polisaharidi u živom svetu izgrađeni od molekula glukoze i njenih derivata su: skrob, glikogen, celuloza i hitin. Interesantno za polisaharide je da nisu ratvorljivi u vodi i nemaju sladak ukus za razliku od monosaharida i disaharida. Polisaharidi u živim ćelijama imaju dve bitne uloge, a to je njihova gradivna i zaštitna uloga koju imaju celuloza i hitin i uloga zalihe energije u ćeliji koju imaju skrob i glikogen.

Skrob je polisaharid biljaka koji predstavlja zalihu energije i koju one mogu po potrebi da oslobode. Makromolekuli skroba izgrađeni su od dve strukturne komponente: amiloze linerne [49] i nerazgranate; i amilopektina razgranate. Oslobođanje energije iz molekula skroba dešava se raskidanjem hemijskih veza između dva molekula glukoze. Kasnije ovi molekuli glukoze ulaze u process ćelijskog disanja u kojem se proizvodi energija u obliku molekula ATP-a. Skrob se u biljnim ćelijama deponuje u obliku skrobnih zrna kojih najviše ima u ćelijama semena (npr. grašak), plodova (kukuruz, pšenica) i u ćelijama podzemnih delova biljaka kao što su krtole krompira.



[49] Elektronmikrografija biljne ćelije sa skrobnim zrnima u citoplazmi, preko nje strukturna formula molekula amiloze

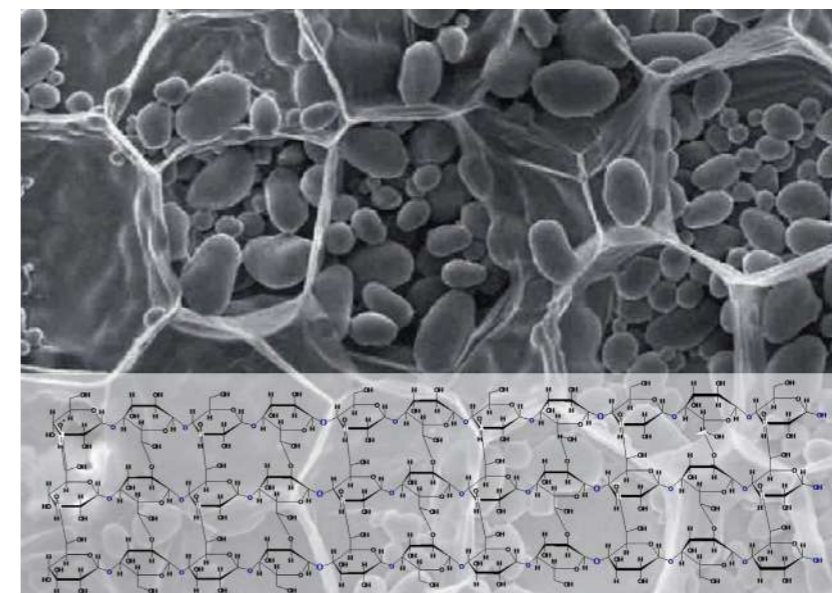
Za razliku od biljnih ćelija životinjske ćelije skladište glukozu u obliku glikogena. Molekul glikogena je sličan molekulu skroba, dugačak razgranat lanac povezanih molekula glukoze. Ćelije koje najviše imaju glikogena [50] u sebi su ćelije jetre i mišića.



Pogledaj linkove i proširi znanja o polisaharidima i lipidima:  
[polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/21.-Hemija-Ugljeni-hidrati.pdf](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/21.-Hemija-Ugljeni-hidrati.pdf)  
 i  
[polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/22.-Hemija-lipidi.pdf](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/22.-Hemija-lipidi.pdf)

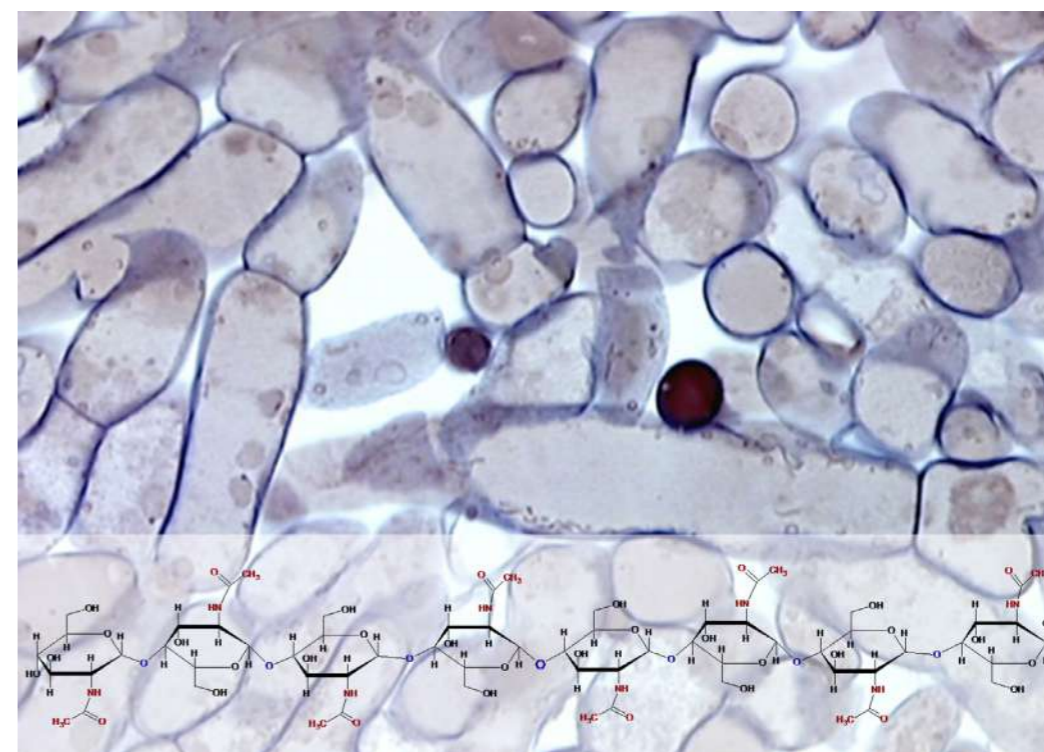
[50] Elektronmikrografija životinjske ćelije, hepatocita, sa glikogenskim česticama u citoplazmi, preko nje strukturna formula molekula glikogena

Celuloza ulazi u sastav ćelijskog zida svih biljaka i hifa nekih gljiva [51]. Takođe celuloza daje čvrstinu i rigidnost ćelijskom zidu biljaka i učestvuju u preko 50% u građi drvene mase stable.



[51] Elektronmikrografija biljne ćelije sa istaknutim ćelijskim zidovima koji su izgrađeni od celuloze, preko nje strukturna formula molekula celuloze

Hitin je polisaharid koji ulazi u sastav ćelijski zidova gljiva i nekih bakterija, kao i u sastav egzoskeleta zglavkara. Građen je od molekula N-acetilglukozamina, to je derivat beta glukozamina, a on je molekul glukoze na kome je OH grupa na drugom C atomu zamenjena amino grupom [52]. Hitin ima zaštitnu ulogu za ćelije iz razloga što je veoma otporan na mnoge rastvarače.

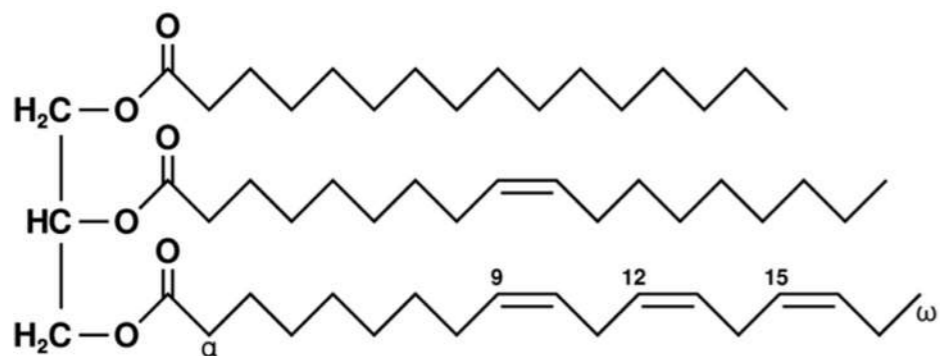


[52] Mikrografija ćelija gljiva čiji su ćelijski zidovi izgrađeni od hitina, preko nje strukturna formula molekula hitina

## Lipidi

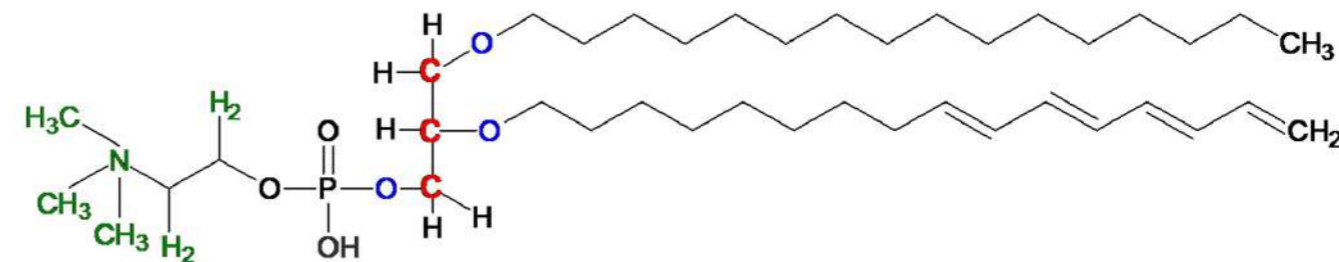
Druga grupa organskih jedinjenja su lipidi, izgrađeni od nepolarnih molekula koji se ne rastvaraju u vodi. Osnovni molekuli u izgradnji lipida su masne kiseline koje svojim kombinovanjem međusobno i kombinovanjem sa drugim molekulima formiraju lipide karakteristične za ćelije a to su: trigliceridi, fosfolipidi, steroli, voskovi, terpeni i neke vrste pigmenta. Masne kiseline su organska jedinjenja izgrađena od ugljovodoničnog lanca koji čini hidrofoban region-rep kiseline i karboksilne grupe koja čini hidrofilni region-glavu. Ovo je razlog što su molekuli masnih kiselina amfipatični, glava je polarna a rep je nepolaran. Masne kiseline se dele na: zasićene i nezasićene. Zasićene su na primer palmitinska i stearinska kiselina kod kojih je svaki atom ugljenika vezan za maksimalan broj atoma vodonika, tako je ugljenik zasićen pa se i kiselina naziva zasićenom. Sa druge strane nezasićene su na primer linolna i arahidonska kiselina koje imaju ugljenikove atome unutar ugljenikovog lanca povezane sa susednim atomima ugljenika dvostrukim, nezasićenim vezama i tako veze između dva ugljenika nisu zasićene i kiselina se naziva nezasićenom.

Trigliceridi su lipidi izgrađeni od tri molekula masnih kiselina povezanih estarskim vezama sa molekulima kiseonika iz alkohola glicerola. Postoje dve vrste triglicerida: zasićene i nezasićene. U sastav zasićenih triglicerida ulaze samo zasićene masne kiseline, u čvrstom su agregatnom stanju na sobnoj temperaturi i imaju visoku tačku topljenja. Primeri za ovaj tip triglicerida i masti životinjskog porekla su puter ili kokosova mast. U sastav nezasićenih triglicerida ulaze i zasićene i nezasićene masne kiseline, u tečnom su agregatnom stanju na sobnoj temperaturi i imaju nisku tačku topljenja [53]. Primer za ovaj tip triglicerida su ulja biljnog porekla u semenkama i plodovima biljaka gde služe kao izvor i depo energije i ugljenika za biljku tokom embionalnog razvića.



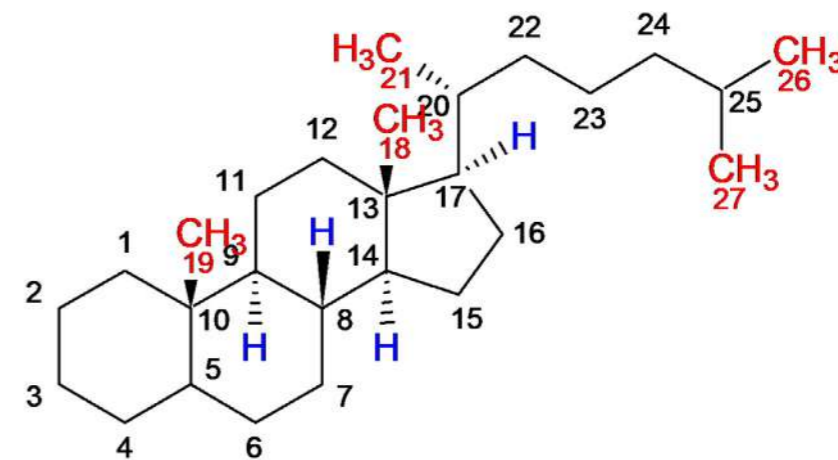
[53] Strukturalna hemijska formula nezasićenog triglicerida

Fosfolipidi su još složeniji lipidi koji se formiraju od molekula glicerola čija dva ugljenikova atoma vezuju dve masne kiseline, a za treći je vezana fosfatna grupa. Ako se za fosfatnu grupu veže molekul holina, dobija se jedna od osnovnih građivnih jedinica u izgradnji ćelijskih membrana svakog živog sistema: fosfatidilholin [54]. Za fosfolipide je karakteristično da zadržavaju polarnost koju su imale na početku masne kiseline koje ih grade. Polarnost fosfolipida se ogleda u hidrofilnoj glavi sačinjenoj od malog hidrofilnog alkohola glicerola, fosfatne grupe i aminokiseline; kao i u hidrofobnom repu sačinjenom od lanaca masnih kiselina. Veoma je važno ovde istaći da su fosfolipidi zbog pomenute osobine polarnosti molekula amfipatični. Naime, hidrofilna glava u odnosu na hidrofoban rep određuje specifičnu orijentaciju fosfolipida u vodenom rastvoru, pogotovo ako ih ima mnogo, tada oni u vodi formiraju micelle ili liposome.



[54] Strukturalna hemijska formula fosfatidilholina

Voskovi su strukturalni lipidi građeni od masnih kiselina koje imaju veliki broj ugljenikovih atoma vezane hemijskim vezama za alkohole koji takođe imaju veliki broj ugljenikovih atoma u svom molekulu. Voskovi su vodonepropusni lipidi koji grade zaštitne omotače kako kod biljaka tako i kod životinja. Kod biljaka se na primer nalaze na površini listova i sprečavaju veliko isparavanje iz listova, a kod životinja se stvaraju u ušnim kanalima sisara gde sprečavaju ulazak bakterija, gljivica, čestica prašine.



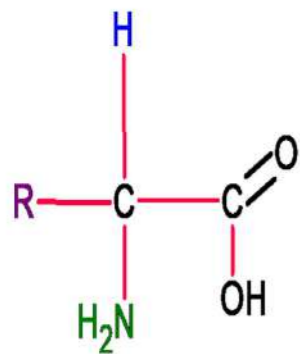
[55] Strukturalna hemijska formula molekula holesterola

Za razliku od svih prehodnih lipida koji su građeni od masnih kiselina, steroidi su lipidi koji su građeni od četiri povezana ugljenikova prstena koji za sebe imaju vezane različite hemijske grupe. Holesterol je steroid [55], hemijsko jedinjenje koje ima uticaj na mnoge metaboličke procese u organizmu i sintetiše se u jetri. On je sastavni deo svih ćelijskih membrana i membranskog sistema ćelija životinja.

## Proteini

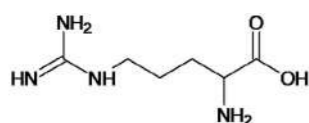
Treća grupa organskih jedinjenja su proteini sačinjeni od ugljenika, vodonika, kiseonika i azota, a monomeri ovih makromolekula zovu se aminokiseline. Aminokiseline čine oko 20% od svih organskih molekula koji izgrađuju ćelije živih sistema. Molekul aminokiseline građen je od centralno postavljenog atoma ugljenika koji je četvorovalentan i vezuje: atom vodonika (plavo), amino grupu - NH<sub>2</sub> (zeleno), karboksilnu grupu - COOH (crno) i R grupu (ljubičasto). R grupa predstavlja bočni lanac, ostatak, po kojem se aminokiseline između sebe razlikuju [56]. R grupa može biti veoma jednostavna na primer samo -CH<sub>3</sub> grupa ili veoma složena sa ugljovodoničnim nizom od deset ugljenika ili sa ugljenikovim prstenom. U prirodi



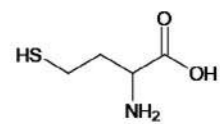


postoji više od petstotina različitih aminokiselina, u ćelijama se nalazi oko 60, ali se samo 20 koristi za sintezu proteina. U nekim organizmima pronađene su još dve aminokiseline: selenocistein i pirolizin, tako da kod tih organizama u sintezi proteina učestvuju 22 aminokiseline. Sve aminokiseline imaju isti plan građe, jedina razlika između njih je građa R grupe. Ova raznolikost aminokiselina ako se posmatra u odnosu na njihov različit raspored u povezivanju, daje proteinima raznovrstan sastav i oblike, što im omogućava da obavljaju veliki broj različitih funkcija [57].

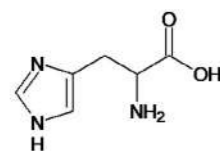
[56] Opšta strukturna i hemijska formula molekula aminokiselina



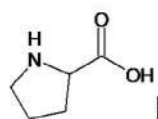
Arginin



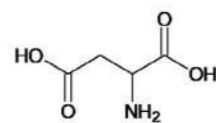
Homocistein



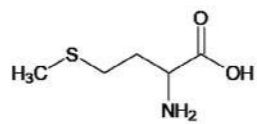
Histidin



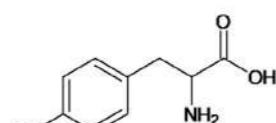
Prolin



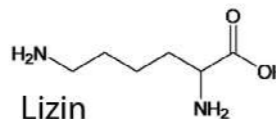
Asparaginska kiselina



Metionin



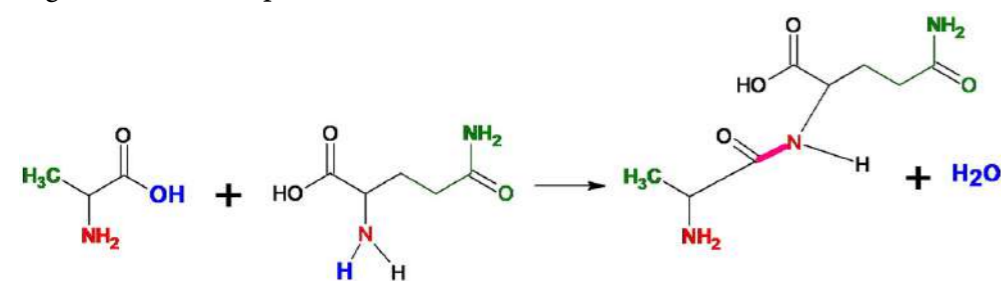
Tirozin



Lizin

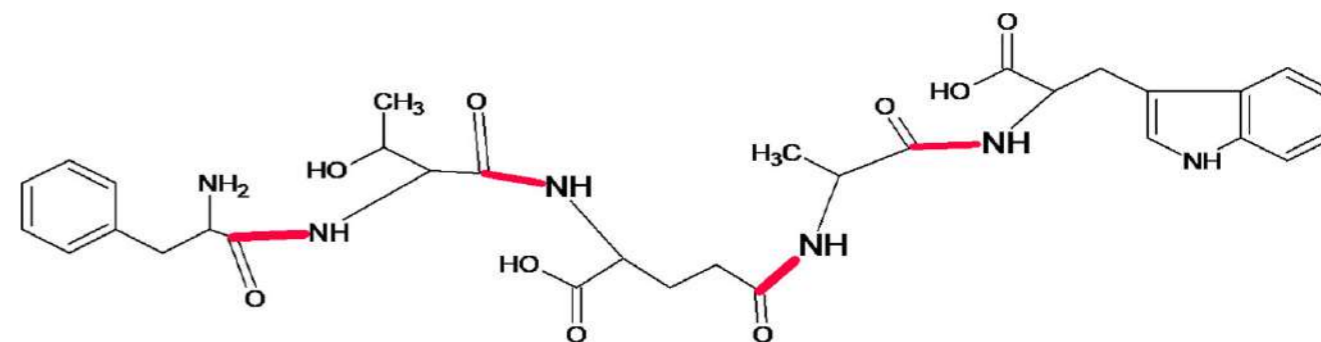
[57] Strukturna različitost nekih molekula aminokiselina

Pojedinačne aminokiseline se povezuju peptidnim vezama u izgradnji proteina, to su jake kovalentne veze [58]. U građenju peptidne veze učestvuje karboksilna grupa jedne i amino grupa druge aminokiseline uz obavezno oslobađanje molekula vode. Spajanjem dve aminokiseline nastaje dipeptid, a spajanjem velikog broja aminokiselina nastaje polipeptidni lanac. Proteini su građeni od jednog ili više polipeptidnih lanaca i u slučaju multimernih proteina postoje četiri nivoa organizacije proteinskih lanaca: primarna, sekundarna, tercijerna i kvaternarna. Primarna struktura proteina je najjednostavnija i određena je polipeptidnim lancem koji čine linearno vezane aminokiseline [59]. Sekundarnu strukturu stvaraju vodonične veze između amino i karboksilnih grupa nesusednih aminokiselina polipeptidnog lanca, stvarajući tako alfa heliks ili oblik ploče proteina. Tercijerna struktura proteina formira se od sekundarne, savijanjem alfa heliksa ili beta ploča zbog interakcije između R ostatka aminokiselina, čime se postiže nativna konformacija - najstabilnija 3D struktura za tu specifičnu sekvencu aminokiselina tj. finalno foldovanje, savijanje proteina. Tako se dobijaju filamentozni ili globularni oblici proteina.



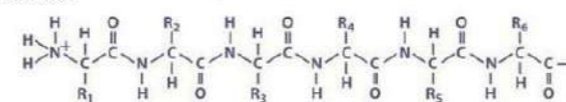
[58] Strukturno hemijska formula formiranja peptidne veze (crvena)

Kvaternarna struktura proteina se dobija kada se više polipeptida, subjedinica proteina povezuju i interaguju međusobno čineći funkcionalan protein [60]. Ne postoji aktivnost u bilo kojoj ćeliji organizma ili aktivnost organizma u celini a da nju ne obavlja bar delom protein. Oni izgrađuju žive organizme ali i učestvuju u gotovo svim metaboličkim procesima u njima. Radi lakšeg sagledavanja velikog broja proteina u živim organizmima podeljeni su u nekoliko grupa, a neke od njih su: transportni, odbrambeni, gradivni, hormoni i enzimi. Transportni proteini prenose molekule i jone kroz ćelijsku membranu ili prenose fosfolipide po citoplazmi. Recimo proteini u membranama tilakoida hloroplasta vrše prenos energije koja se dalje ugrađuje u molekule šećera, dok glukozni transporter služi za ulaz glukoze u ćeliju. Odbrambeni proteini, antitela, učestvuju u imunom odgovoru organizma na infekcije, oni se vezuju i onesposobljavaju

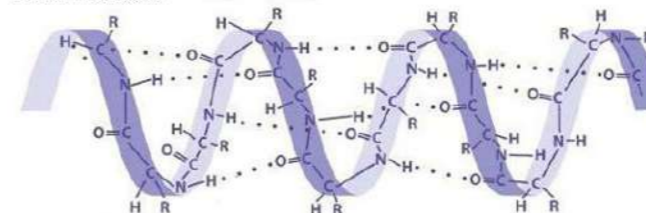


[59] Strukturno hemijska formula peptida izgrađenog od pet aminokiselina

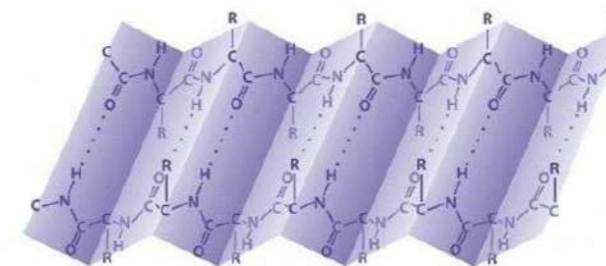
Primarna struktura



Sekundarna struktura

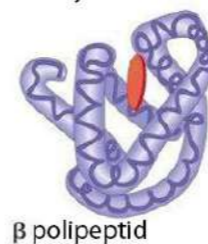


Alfa heliks



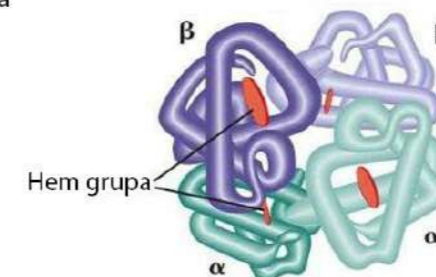
Oblik ploče

Tercijerna struktura



β polipeptid

Kvaternarna struktura



Hem grupa

[60] Različiti nivoi strukturne organizacije proteinskih lanaca

Pogledaj linkove i proširi znanja o proteinima i nukleinskim kiselinama:

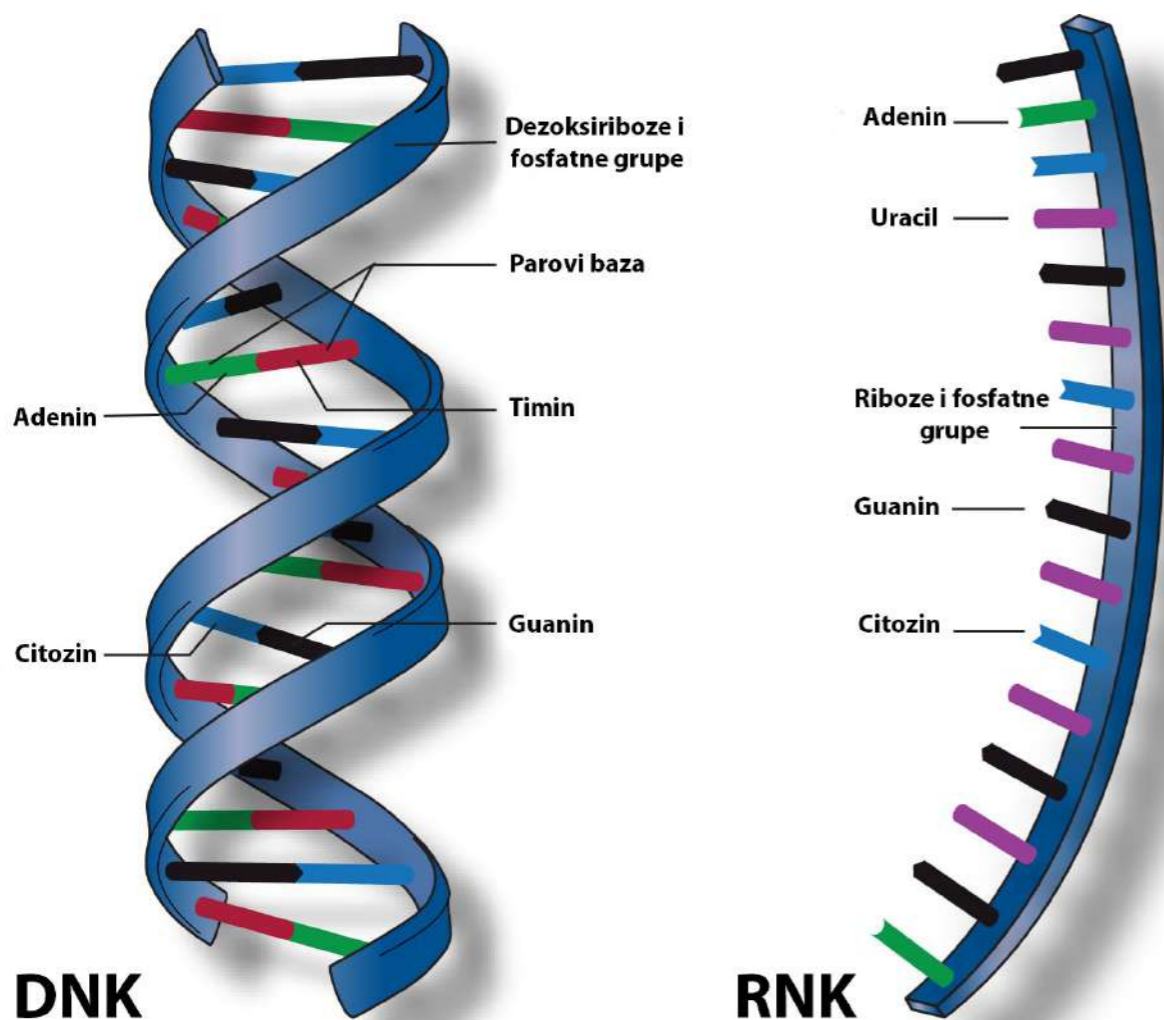
[polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/24.-Hemija-Proteini.pdf](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/24.-Hemija-Proteini.pdf)

[polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/25.-Hemija-Nukleinske-kiseline.pdf](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/04/25.-Hemija-Nukleinske-kiseline.pdf)

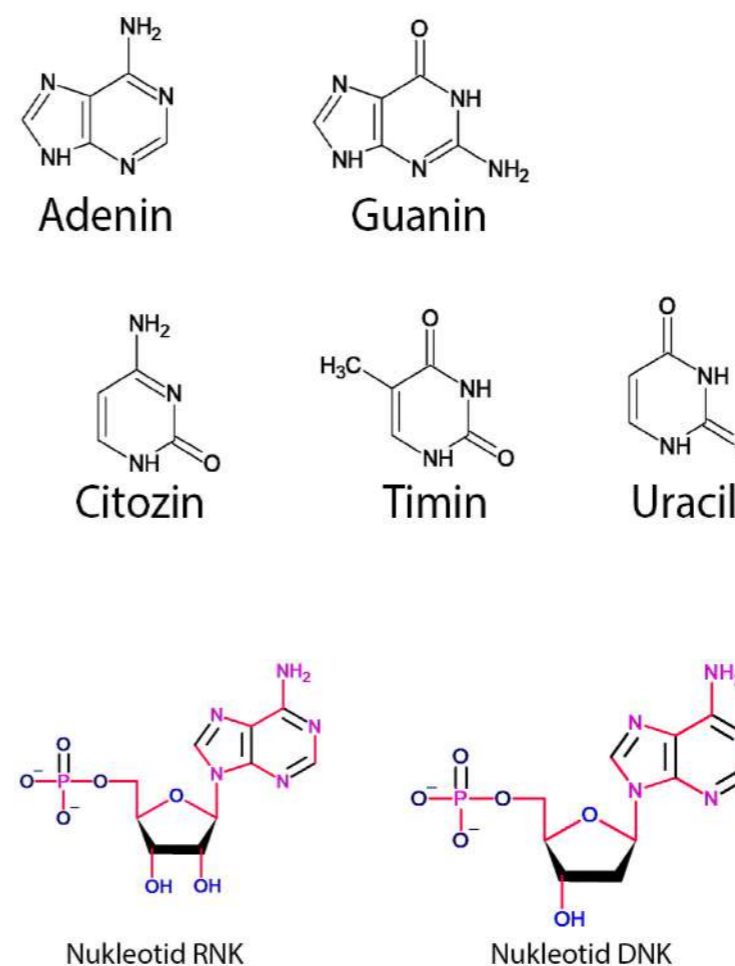
strano telo. Gradivni tj. strukturni proteini učestvuju u izgradnji ćelijskih struktura, kao što je citoskelet ili elastična i kolagena vlakana vanćelijskog matriksa. Proteini su veliki rezervoari aminokiselina što proširuje njihovu gradivnu ulogu. Hormoni tj. biološki regulatori u ćeliji takođe su proteini, na primer: somatotropin je hormon rasta i on kontroliše rast ljudskog organizma u pubertetu. Enzimi, biološki katalizatori su isto proteini, omogućavaju i ubrzavaju sve hemijske reakcije u organizmu i ima ih mnogo. Supstanca na koju enzim deluje naziva se supstrat i on ima specifičan oblik i građu. Molekul enzima ima deo na sebi tzv. aktivno mesto, koje ima afinitet jedino da se veže za svoj karakterističan supstrat.

### Nukleinske kiseline

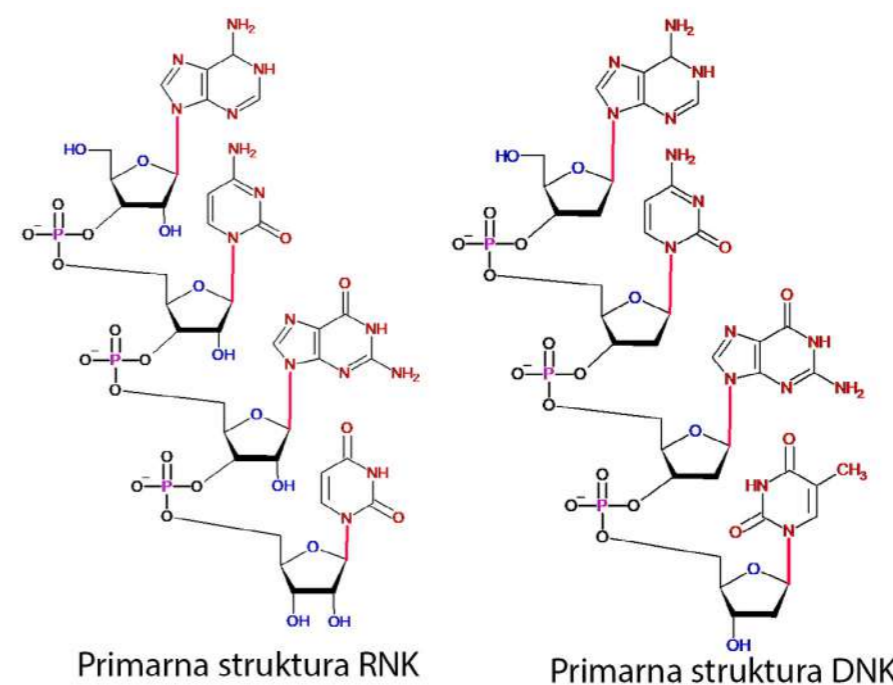
Nukleinske kiseline kao organska jedinjenja u ćeliji predstavljaju polimere izgrađene od monomera koji se nazivaju nukleotidi [61]. Nukleotidi su mali organski molekuli izgrađeni od pentoznog šećera ribose ili dezoksiriboze, azotne baze purinske ili pirimidinske i jedne fosfatne grupe. Purinske azotne baze su veći molekuli i grade ih po dva ugljenikova prstena i tu spadaju: adenine i guanine, dok su pirimidinske azotne baze manji molekuli jer ih gradi samo po jedan ugljenikov prsten i tu spadaju: timin, citozin i uracil [62].



[61] Trodimenzionalno šematski prikaz molekula nukleinskih kiselina



[62] Strukturne hemijske formule azotnih baza, nukleotida i primarnih struktura nukleinskih kiselina



Primarna struktura RNK

Primarna struktura DNK

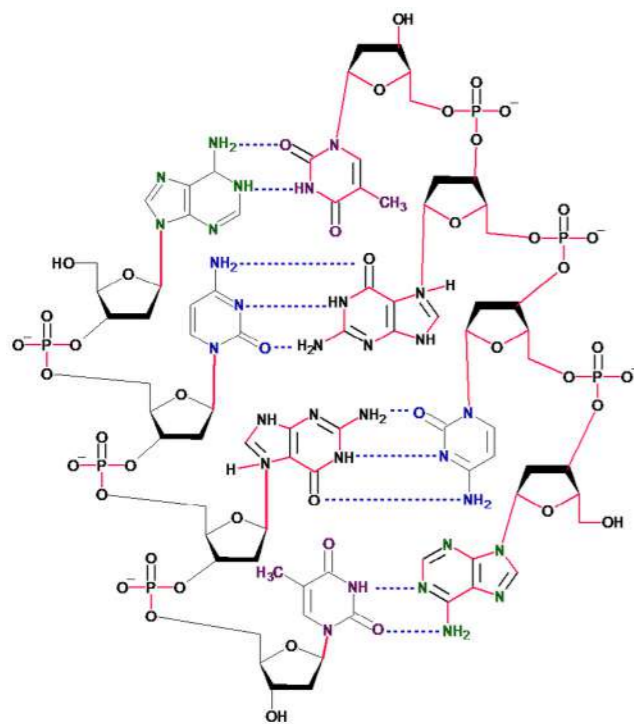
Nukleotidi u molekulu nukleinske kiseline povezani su međusobno tako da formiraju polinukleotid [62]. Kostur zavojnice sačinjen je od pentoznih šećera i fosfatnih grupa, dok su okosnice ili prečke ovog molekula azotne baze. Postoje dva tipa nukleinskih kiselina: ribonukleinska kiselina - RNK i dezoksiribonukleinska kiselina - DNK. Jedan lanac polinukleotida formira RNK molekul, a dva lanca polinukleotida DNK molekul. Oba tipa nukleinskih kiselina su specijalizovane za čuvanje i prenošenje genetičkih informacija kroz generacije i za prevođenje genetičke informacije u primarnu strukturu proteina. Razlika između RNK i DNK molekula je u tome što RNK molekul u svom nukleotidu pored fosfatne grupe sadrži pentozni šećer ribozu i jednu od azotnih baza: guanin, adenin, citozin i uracil. Molekul DNK gradi nukleotid koji pored fosfatne grupe sadrži pentozni šećer dezoksiribozu i jednu od azotnih baza: guanin, adenin, citozin i timin. Analogno proteinima i molekuli RNK i DNK imaju primarnu, sekundarnu, tercijernu i kvaternu strukturu.

### 1. Primarna struktura:

Primarna struktura molekula RNK i DNK je jednolančani, linearni polinukleotid i određena je redosledom nukleotida u lancu [62].

### 2. Sekundarna struktura:

Sekundarna struktura jednolančane RNK postiže se uspostavljanjem vodoničnih veza, po principu komplementarnosti, između nesusednih azotnih baza na istom lancu na ograničenom prostoru RNK, čime ona postaje na određenim mestima dvolančana. Sekundarna struktura DNK podrazumeva povezivanje baza po principu komplementarnosti između dva lanca polinukleotida. Lanci se drže jedan za drugi vodoničnim vezama koje se formiraju između azotnih baza koje pripadaju različitim lancima.



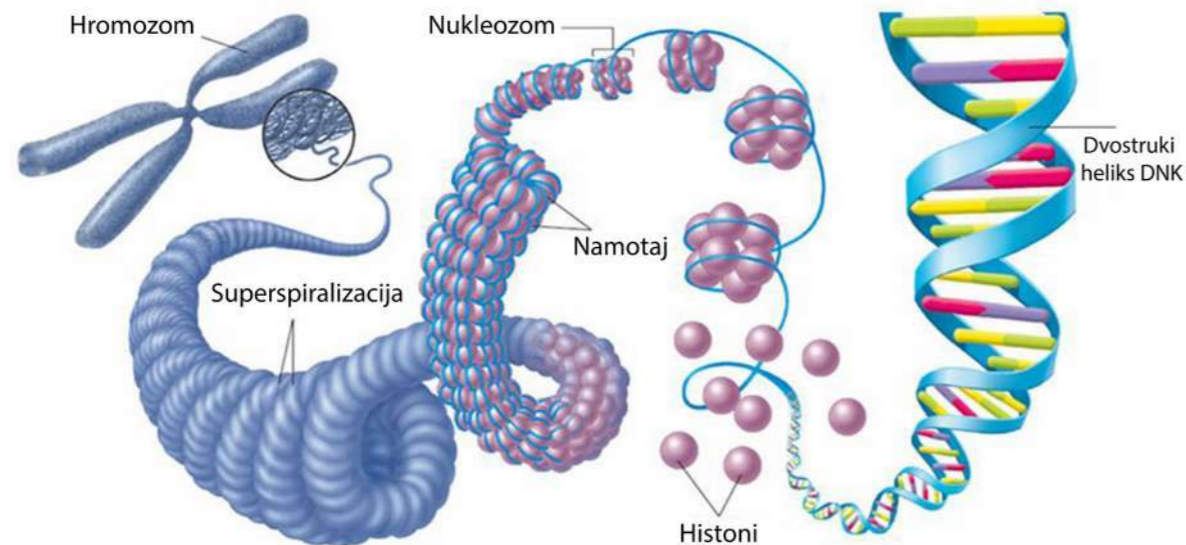
[63] Hemijska formula sekundarne strukture DNK molekula

Ključ za sparivanje azotnih baza između dva lanca DNK u molekulu je komplementarnost odnosno uvek se sparuje purinska baza jednog lanca sa pirimidinskom bazom drugog lanca i obrnuto, tako se timin uvek sparuje sa adeninom, a citozin sa guaninom [63].

### 2. Tercijerna struktura

Tercijerna struktura RNK postiže se obrazovanjem vodoničnih veza između baza koje nisu sparene u sekundarnoj strukturi i molekul RNK dobija trodimenzionalan izgled u prostoru kao slovo L.

Inače u ćelijama postoji tri vrste molekula RNK: informaciona RNK (iRNK), ribozomalna RNK (rRNK) i transportna RNK (tRNK). Informacione RNK su sekundarne strukture i na sebi prenose informacije, u obliku redosleda nukleotida o redosledu amino-kiselina koje će se vezivati jedna za drugu u sintezi proteina.

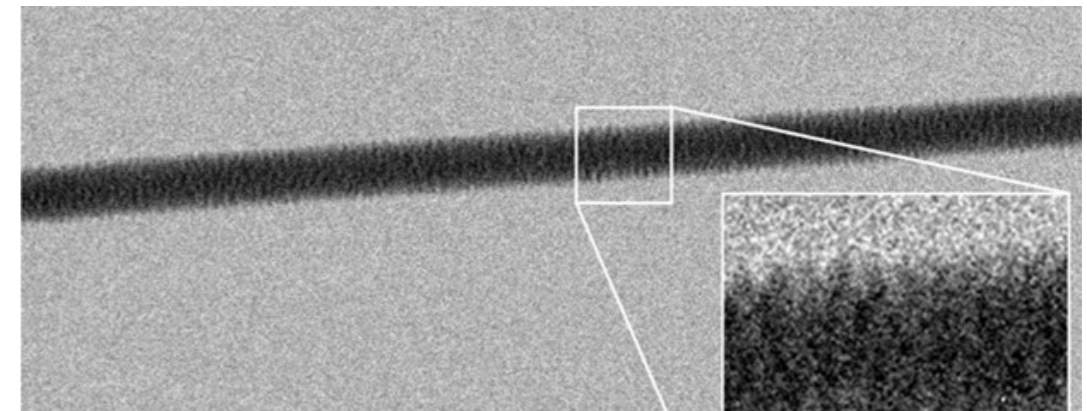


[64] Način pakovanja molekula DNK u hromosome

Ribozomalne RNK su tercijerne strukture i nalaze se ugrađene u strukturu ribozoma u okviru proteinoribozomalnog kompleksa. Transportne RNK su tercijerne strukture one su prevodioci i čitači informacija sa jezika nukleotida koji je zapisan na iRNK, na jezik amino kiselina koji će biti zapisan na lancima proteina. Tercijerna struktura DNK izražava se u pravilnoj dvolančanoj zavojnici tj. dva polinukleotidna lanca koji grade jedan molekul DNK spiralno su uvijeni udesno, jedan oko drugog.

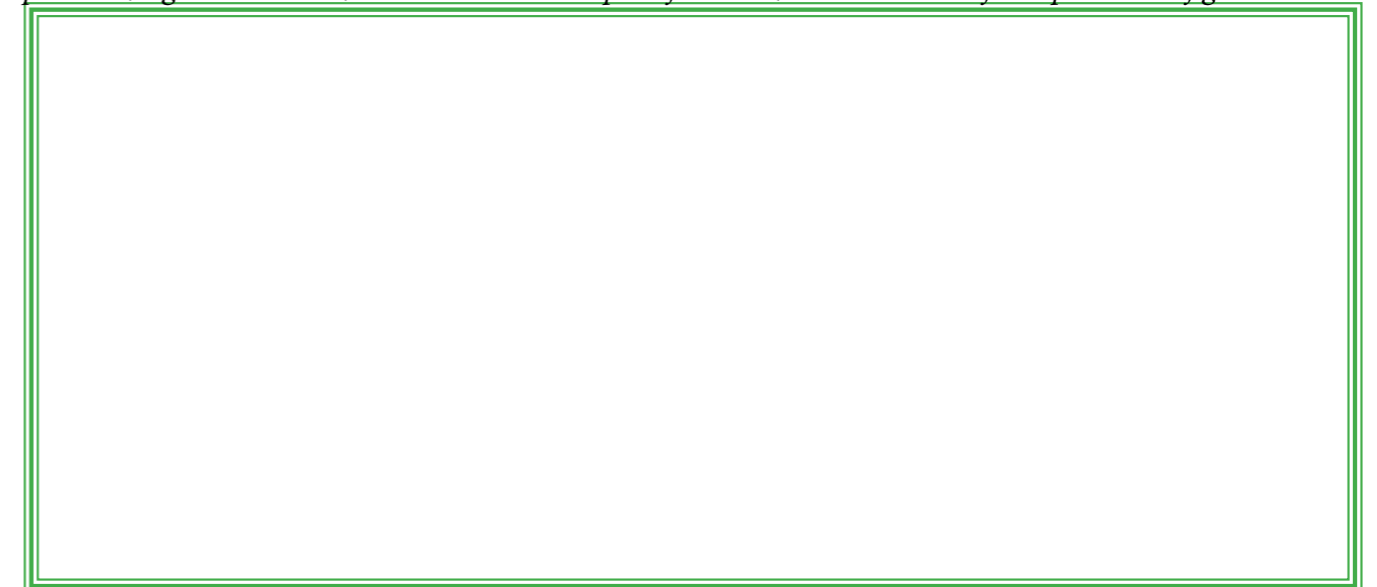
### 4. Kvaternerna struktura

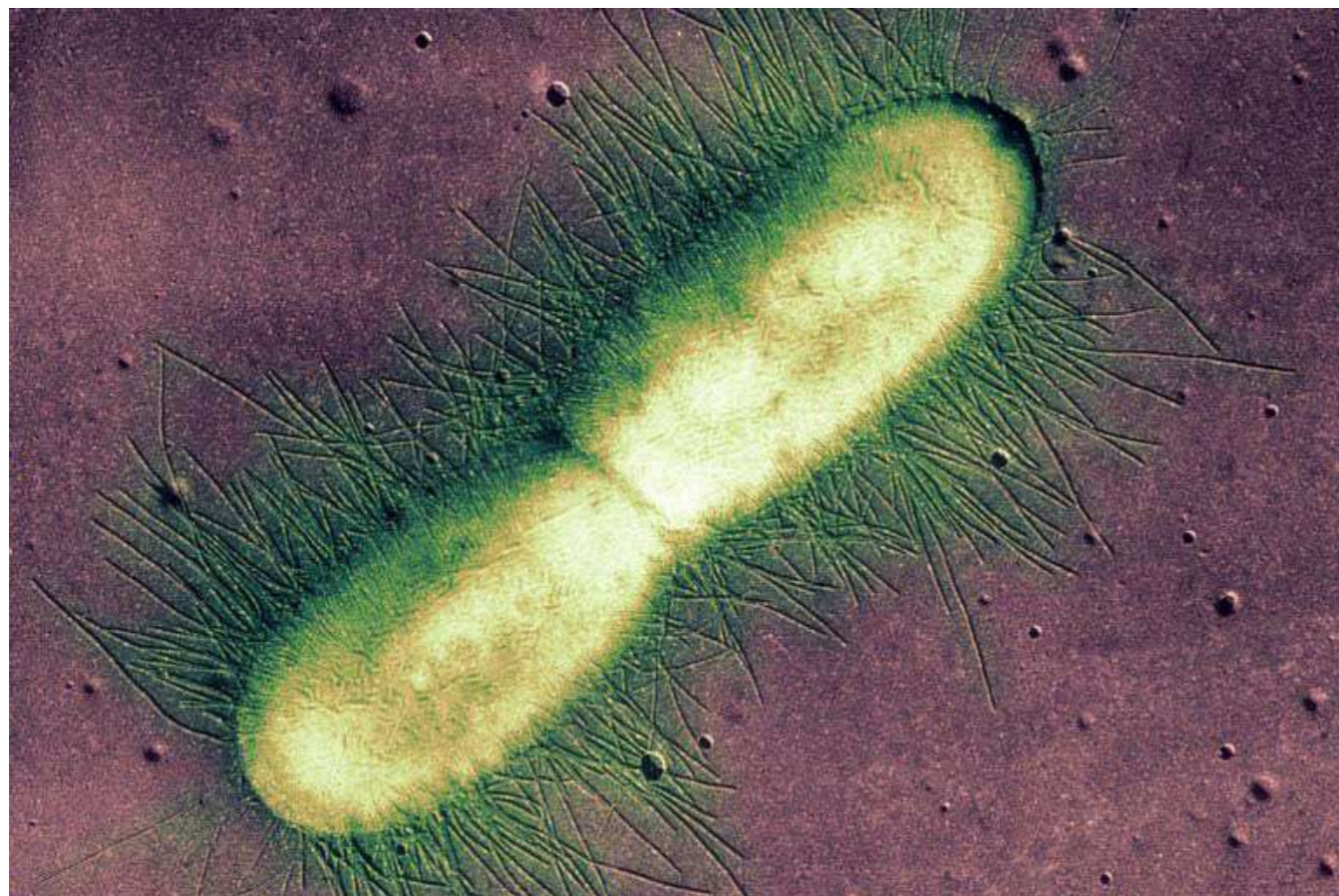
Kvaternerna struktura RNK nalazi se u ribozomima tako što dolazi do intrakcije većeg broja rRNK molekula. Pošto dužina molekula DNK u ćelijama svih tipova eukariotskih ćelija višestruko prevazilazi prečnik jedra, on mora biti dobro ispresavijan i spakovan kako bi stao u jedro. Kvaternerna struktura molekula DNK je pakovanje ovog molekula u hromosome uz pomoć histonskih proteina [64]. Mehanizam ovog pakovanja se zasniva na tome da se negativno naelektrisana DNK kao klupko namotava na pozitivno naelektrisane male molekule proteine histone. Tako upakovani molekuli kvaternerne strukture DNK formiraju hromosome, strukture karakterističnog oblika koje se jasno uočavaju u eukariotskim ćelijama samo tokom ćelijske deobe [65].



[65] Elektronmikrografija namotaja molekula DNK u eukariotskoj ćeliji

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.





[66]

# PROKARIOTSKA ĆELIJA

Građa prokariotske ćelije  
Deoba prokariotske ćelije  
Raznolikost prokariotskih ćelija

Pre oko 3,47 milijardi godina na planeti Zemlji formirala se prokariotska ćelija, koja u vrlo sličnom obliku postoji i dan danas. Organizacija prokariotske ćelije je veoma jednostavna. Naziv prokariota potiče od grčkih reči:  $\pi\rho\acute{o}$  (pro) "pre" i  $\kappa\acute{\alpha}\rho\upsilon\omicron\nu$  (karyon) "jedro" što bi u prevodu značilo, prejedro, odnosno organizmi pre pojave jedra [67]. Prokarioti su jednoćelijski organizmi, jednostavne strukturne organizacije, bez membranom ograničenog jedra i membranskih organela. Najčešće oko ćelije imaju čvrst ćelijski zid i ćelijska deoba karakteristična za prokariote je fisiona deoba. Veličina prokariota je uglavnom od 0,5 do 5 mikrometara, sadrže ribozome tipa 70S i ćelijsku membranu ispod ćelijskog zida koja pravi invaginacije u citoplazmi.

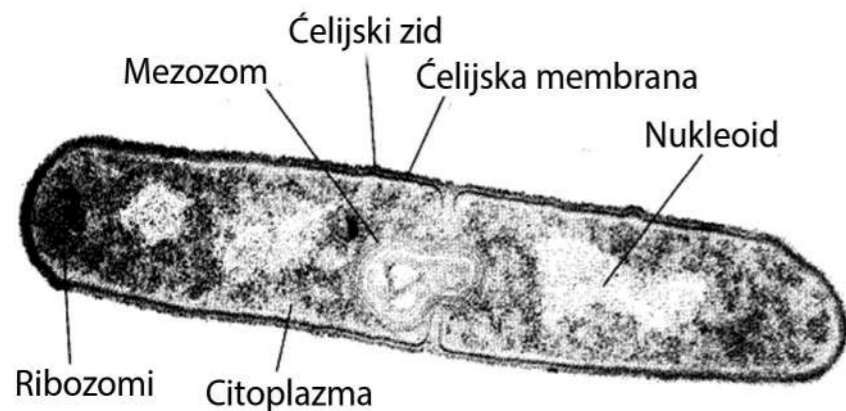
Na ćelijskoj membrani i u citoplazmi prokariotske ćelije nalaze se supramolekulske strukture velike molekulske mase koje vrše respiraciju, digestiju, sintezu proteina, fotosintezu ili hemosintezu. Važno je napomenuti da je ćelijska membrana prokariotske ćelije gotovo ista kao i ćelijska membrana eukariotske ćelije. Ćelijska membrana prokariotske ćelije je fluidno mozaični fosfolipidni dvosloj u koji su uronjeni proteini. Fluidno mozaički fosfolipidni dvosloj, gde je mozaik proteina uronjen u fluidni lipidni dvosloj, 71. strana ovog udžbenika. Njena debljina je od 5 do 10 nm, polupropustljiva je i selektivna, što znači da kontroliše kretanje materije u ćeliju i iz nje.



[67] Fotografija naučnika Andreasa Franz Wilhelma Schimpera, nemačkog botaničara i fitogeografa. Osim što je istraživao evoluciju prokariota na cijanobakterijama, skovao je naziva za guste šume istočne Azije nazvaši ih tropskim kišnim šumama i ovaj naziv se i dan danas koristi za sve šume tog tipa

## GRAĐA PROKARIOTSKE ĆELIJE

Citolazma prokariotske ćelije je koloid vode (oko 80%) i ugljenih hidrata, proteina, lipida, kristala, soli i jona (oko 20%). U citoplazmi prokariotske ćelije nalazi se slobodan, membranom neograničen genetički materijal, a prostor u kome se prostire naziva se nukleoid. Genetički materijal prokariota tipično čini jedan molekul DNK molekul u obliku prstena tj. cirkularna DNK, vezan slabim hemijskim vezama za proteine koji nisu histoni i izrazito je dinamičan. U citoplazmi prokariotske ćelije nema formiranih i membranom izdvojenih organela. Jedine citoplazmatske organele koje se nalaze u prokariotskoj ćeliji su ribozomi - nemembranske organele. Ribozomi prokariotskih ćelija su veoma slične građe kao i ribozomi eukariotskih samo što su sitniji – 70S ribozomi. Oznaka S je simbol Svedbergove konstante tj. konstante sedimentacije i ona definiše veličinu i brzinu taloženja ribozoma pri centrifugiranju. Većina proteina u prokariotskim i eukariotskim ćelijama imaju Svedbergovu konstantu 1-100, dok ribozomi eukariotske ćelije imaju 80, a prokariotske ćelije imaju 70. Veoma je bitno znati da ukoliko se neka proteinska partikula sastoji od više manjih delova njena Svedbergova konstanta nije prost zbir Svedbergovih konstanti svake partikule posebno, jer konstanta ne zavisi samo od težine sastavnih delova nego i od njihovih pojedinačnih oblika. Ribozom prokariota se sastoji od dva dela tj. subjedinica: manje subjedinice koja je 30S i velike subjedinice koja je 50S. Ribozomi mogu da budu vezani i slobodni u citoplazmi ćelija. Veliku subjedinicu ribozoma prokariota grade dva rRNK i oko 34 molekula proteina, dok malu subjedinicu gradi jedna rRNK i oko 21 molekul proteina [201]. Molekuli rRNK imaju vrednosti sedimentacije 5S, 16S i 23S. Ribozomi se u prokariotskoj ćeliji nalaze razbacani po celoj citoplazmi ili vezani za ćelijsku membranu sa citoplazmatske strane. Prokariotske ćelije mogu da imaju različit broj ribozoma, npr. samo jedna ćelija bakterije Escherichia coli, koja je prokariotska, ima oko 15 000 ribozoma u svojoj citoplazmi.

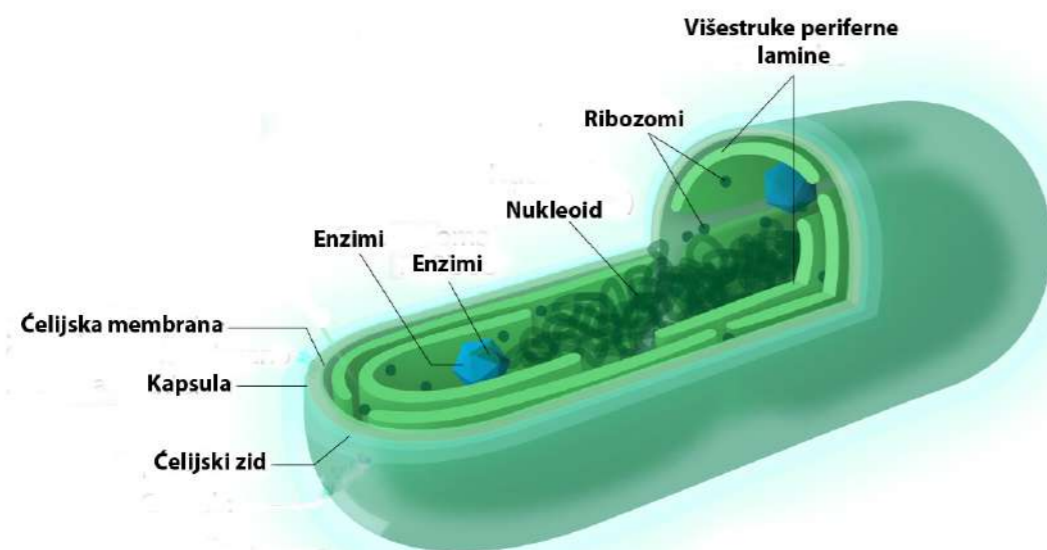


[68] Šematski prikaz građe prokariotske ćelije

Osim u ćelijama prokariota prokariotski tip ribozoma se nalaze u mitohondrijama i plastidima eukariotskih ćelija.

Prokariotske ćelije ne poseduju membranom ograničene organele kao što ih poseduju eukariotske ćelije, ali poseduju citoskelet, visoko specijalizovanu mrežu proteina, analogno citoskeletu eukariotskih ćelija. Uloge koje imaju ćelijske organele u eukariotskim ćelijama, kod prokariotskih ćelija obavljaju proteini i enzimi vezani za ćelijske membrane [68] i oni slobodni u citoplazmi.

Premda imaju relativno jednostavnu strukturu, prokariotske ćelije su u biohemijskom pogledu veoma raznovrsne i dinamične, tako da se kod njih mogu sresti svi glavni metabolički putevi uključujući tri glavna procesa u kojima se sintetišu molekuli ATPa: glikolizu, respiraciju i oksidativnu fosforilaciju. Glikoliza je proces od niza reakcija u kojima se fermentisanjem molekula glukoze dobija energija u obliku ATP-a i razni molekuli fermentacije. Respiracija ili ćelijsko disanje je proces u kojem se jedinjenja oksiduju sa kiseonikom kao terminalnim akceptorom elektrona i proces je praćen proizvodnjom molekula ATPa. Oksidativna fosforilacija je proces u kome nastaju molekuli ATPa iz energije protoka protona kroz ćelijsku membranu. Protok protona tj. vodonikovog jona formira se njegovim transportom i transportom elektrona iz organskih ili neorganskih donora.

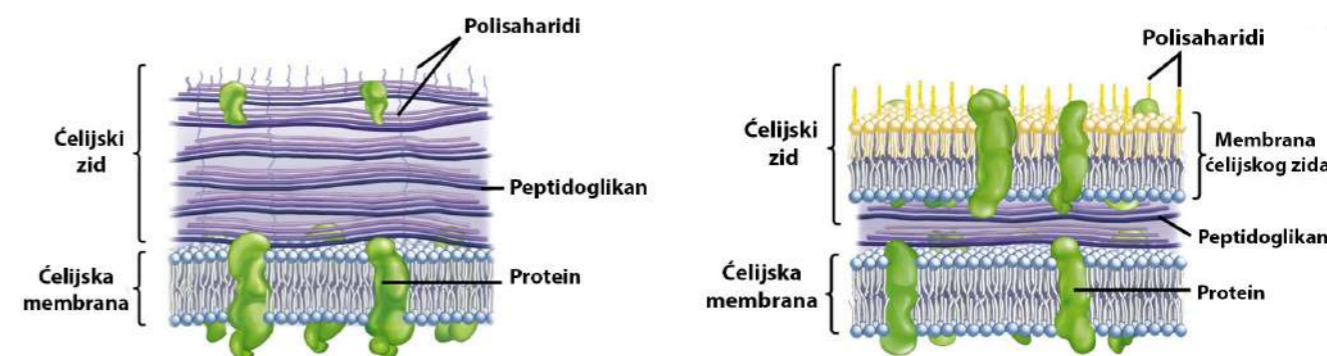


[69] Elektronmikrografija fotosintetičke bakterijske ćelije sa višestrukim perifernim laminama biomembrane

Ćelijsko disanje prokariotske ćelije obavlja niz enzima koji grade respiratorni lanac a vezani su na unutrašnju stranu ćelijske membrane. Takođe, glikolizu i fosforilaciju u prokariotskoj ćeliji vrše grupe enzima vezanih za unutrašnju stranu ćelijske membrane ili su slobodni u citoplazmi. Na isti način kako su respiratorni lanci enzima vezani za unutrašnju stranu ćelijske membrane, tako su vezani i enzimi i pigmenti koji vrše fotosintezu u prokariotskim ćelijama. Ne retko ćelijske membrane u citoplazmi fotosintetičkih

prokariotskih ćelija formiraju duboke invaginacije koje se pod elektronskim mikroskopom uočavaju kao pravilno [69], lamelarno uređene membrane. One na sebi nose fotosintetske pigmente i enzime a nazivaju se višestruke periferne lamine.

Mezozomi su invaginacije membrane [68] koji nose enzime za obavljanje raznih funkcija prokariotske ćelije. Prokariotske ćelije mogu da imaju jedan ili više mezozoma. Postoje mezozomi koji su analogni mitohondrijama, jer nose lanac citohroma. Mezozomi mogu ponekad da budu značajnih dimenzija pa se lepo uočavaju na elektronskom mikroskopu u prokariotskim ćelijama. Povećavanje ukupnog intenziteta i brzine procesa vezanih za ćelijsku deobu povećava veličinu i broj mezozoma. U toku ćelijske deobe prokariotske ćelije mezozomi su mesta na kojima će se formirati septa koja će podeliti majku ćeliju na dve ćerke ćelije. Za ćelijsku membranu prokariotske ćelije sa unutrašnje strane, najmanje na jednom njenom mestu, vezan je molekul cirkularne DNK, kao i enzimi koji učestvuju u njenoj replikaciji i ćelijskoj deobi. Mezozom je mesto za koje se prikači molekul DNK tokom replikacije naslednog materijala. Takođe, mezozomom nastaje na onim mestima gde je kompromitovana adhezija membrane ćelije i ćelijskog zida. U citoplazmi prokariotskih ćelija nalaze se slobodni molekuli RNK koji učestvuju u sintezi proteina, iRNK i tRNK ili izgradnji ribozoma, rRNK. Pored njih u citoplazmi prokariotskih ćelija nalazi se jedan ili više plazmida, malih kružnih molekula dvolančane DNK. Plazmidi su veoma različiti po veličini i pod određenim uslovima u konjugaciji mogu da prođu kroz ćelijsku membranu prokariotske ćelije i da izađu iz nje. Plazmidi ne pripadaju nukleoidu i nisu vezani za njega, iako imaju ulogu naslednog materijala prokariotske ćelije. Oni se udvajaju nezavisno od nukleoida prokariotske ćelije i nose gene koji bakterijama daju neku kompetitivnu prednost npr. čine ih otpornim na antibiotike, teške metale ili ultraljubičasto zračenje.



[70] Šematski prikaz građe ćelijskih zidova Gram pozitivnih (levo) i Gram negativnih (desno) bakterija

Prokariotske ćelije mogu da imaju ćelijski zid [70], ali i ne moraju, grupa organizama koje su prokariote ali ne sadrže ćelijski zid nazivaju se mikoplazme. Ćelijski zid prokariotskih ćelija ih okružuje i štiti njihovu unutrašnjost od mehaničkih oštećenja i promene pritiska. On je jedinstven po sastavu jer je građen od N-acetilglukozamina, N-acetilmuraminske kiseline i peptidnih lanca. Molekul glikozaminoglikan (GAG) je dugačak nerazgranat polisaharid koji se sastoji od ponavljajućih disaharidnih jedinica povezanih kovalentnim vezama. Ponavljajuće jedinice koje grade disaharide su heksoze ili heksozamini, to su heksoze sa vezanom azotnom grupom. U prirodi postoje Gram pozitivne i Gram negativne bakterije, razlikuju se po građi njihovih ćelijskih zidova. Gram negativne bakterije imaju sloj lipopolisaharida, membrana ćelijskog zida [70] koji pokriva njihov ćelijski zid, dok Gram pozitivne bakterije nemaju taj sloj. Znači oba tipa bakterijskih ćelija imaju ćelijsku membranu pa oko nje ćelijski zid, koji je deblji kod Gram pozitivnih bakterija. Gram negativne imaju još membranu ćelijskog zida preko svog ćelijskog zida izgrađenu

od lipida i polisahatida. Čelijski zid prokariotske ćelije u svojoj građi nikada ne sadrži celulozu, kao čelijski zid eukariotskih ćelija biljaka. Oštećenje čelijskog zida dovodi do smrti prokariotske ćelije i ova pojava se koristi u farmaciji pri proizvodnji antibiotika, jer neki antibiotici inhibiraju sintezu čelijskog zida. Neke prokariotske ćelije su pored čelijskog zida obavijene kapsulom, čvrstim ili sluzavim omotačem izgrađenim od polisaharida ili polipeptida. Kapsule dodatno štite prokariotske ćelije od nepovoljnih uticaja okoline: suše, visokog ili niskog pH, visoke ili niske temperature, pritiska ili kod patogenih bakterija imunog i odbrambenog odgovora obolelog organizma. Takođe, kapsule služe za pričvršćivanje patogenih prokariotskih ćelija za tkivo domaćina, npr. sluznicu digestivnog, urinarnog ili respiratornog trakta. Prokariotske ćelije mogu na svojoj površini da obrazuju na stotine proteinskih filamenata, pila i fimbrija koje polaze iz



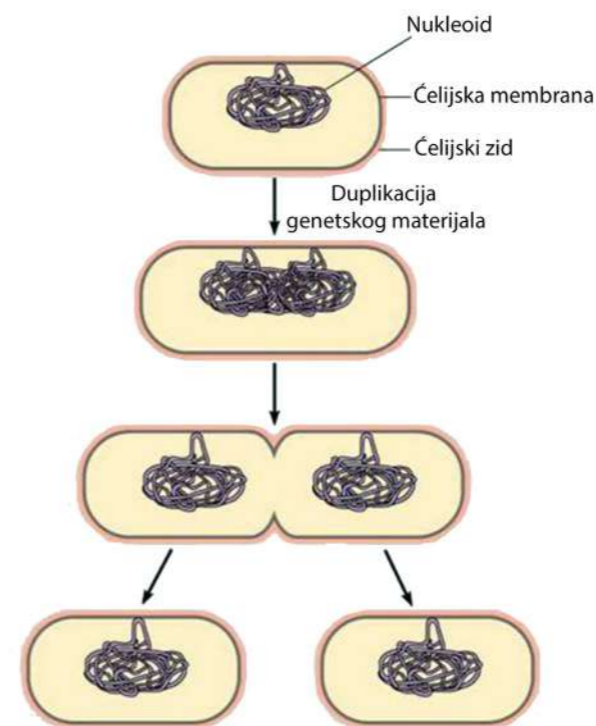
[71] Elektronmikrografija bakterijske ćelije sa fimbrije

## DEOBA PROKARIOTSKE ČELIJE

citoplazme i prolaze kroz čelijski zid i kapsulu. Fimbrije i pile [66] služe za pričvršćivanje prokariotske ćelije za podlogu, hranljivi supstrat ili za međusobno pripajanje dve jedinice pri razmeni plazmida. Raspored pila po površini prokariotske ćelije ne mora da bude ravnomeran, često se dešava da ih ima više na polovima [71]. Osim pila prokariotske ćelije mogu da imaju bičeve, flagelume, koji su složenije građe od pila, nisu pokriveni čelijskom membranom, polaze iz citoplazme i prolaze kroz čelijski zid i kapsulu. Bičevi su dugi i tanki izraštaji izgrađeni od proteina flagelina kojima se bakterije kreću pomoću rotacionih pokreta [171].

Prokariotski organizmi se razmnožavaju amitozom tj. fisijom deobom, to je oblik bespolnog razmnožavanja. Čelijske deobe: mitoza i mejoza karakteristične za eukariotske ćelije ne postoje kod prokariotskih. Fisijom deoba naziva se još i binarna deoba ili binarna fisija, jer nakon nje od jedne prokariotske ćelije nastaju dve i karakterističan je načina razmnožavanja prokariota, nekih protozoa i deobe nekih organela kao što su mitohondrije, plastidi ili peroksizomi. Ova deoba, kod bakterija, može da se odigrava veoma brzo, na svakih 15-20 minuta. Najvažnije za fisijom deobu je to što su novonastale ćerke ćelije genetski klonovi majke ćelije jer nose potpuno isti genetski materijal. Ovaj naizgled jednostavan proces ustvari je veoma složen i precizno regulisan mehanizam. Prokariotska ćelija obezbeđuje vremensku i prostornu usaglašenost svog fiziološkog stanja i spremnosti za deobu tako što obavi udvajanje svog kružnog molekula DNK i pripremi citoplazmu za deobu. Pre deobe molekul DNK prokariotske ćelije se pričvrsti za proteine na unutrašnjoj strani čelijske membrane u neposrednoj blizini mezozoma gde počne da se replicira, udvaja. Replikacija kružnog molekula DNK prokariotske ćelije počinje tako što se njegovi lanci razdvoje i prema svakom od njih po principu komplementarnosti sintetišu se po jedan nov molekul DNK. Dva novosintetisana molekula DNK su semikonzervativna što znači da su formirana od po jednog lanca starog molekula DNK od majke i jednog novog lanca. Takođe, ova dva nova molekula DNK prokariotske ćelije su međusobno potpuno ista čime su obezbedili da nove ćelije imaju apsolutno iste osobine, isti genetički materijal, kao i majka ćelija od koje su nastale. Sledeći korak u fisijom deobi prokariotske ćelije je razdvajanje i pričvršćivanje novosintetisanih molekula DNK za dva zasebna proteina na unutrašnjoj strani čelijske membrane koji su veoma blizu. U sledećem trenutku dva novosintetisana kružna molekula DNK se razdvajaju jedan od drugog tako što se novi molekul fosfolipida i proteina čelijske membrane ugrađuju između dva proteina nosača kružnih DNK i tako ih razdvajaju jedan od drugog. Tako se, u isto vreme između

molekula DNK gradi nova čelijska membrana budućih ćerki ćelija. Kada prokariotska ćelija dostigne dvostruku zapreminu i kada se molekuli DNK potpuno razdvoje počinje uvrtnanje i rast čelijske membrane ka unutrašnjosti ćelije, nakon čega se ćelija podeli na dve jednake ćelije sa po jednim molekulom DNK u svakoj i polovinom citoplazme [72]. Podela čelijske citoplazme je pod kontrolom grupe proteina koji zauzimaju položaj na mestu gde će se majka ćelija podeliti formirajući prsten i kasnije pregradu, koja će stezati citoplazmu do njene konačne podele. Prokariotske ćelije koje imaju čelijski zid nakon završene deobe citoplazme i čelijske membrane sintetisaće svaka sebi nov čelijski zid. Kod prokariotskih ćelija postoje dva tipa fisijom deoba: apikalna i radijalna, koje se razlikuju samo po početnom mestu formiranja čelijske membrane.



[72] Šematski prikaz fisijom deobe bakterijske ćelije

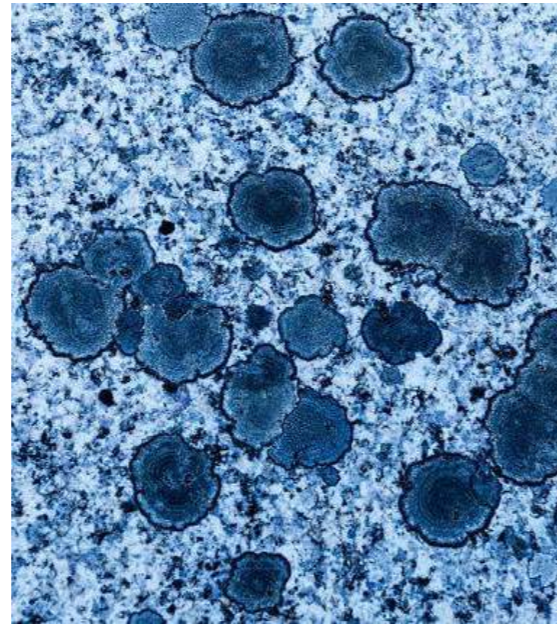
## RAZNOLIKOST PROKARIOTSKIH ČELIJA

Kod apikalne fisijom deobe početno mesto formiranja čelijske membrane su krajevi, dok kod radijalne početno mesto formiranja čelijske membrane je sredina majke ćelije. Kao što je predstavljeno rezultat fisijom deobe prokariotske ćelije su dve novonastale ćerke ćelije sa identičnim genetičkim materijalom kao majka, međutim prokariotske bakterijske ćelije karakteriše i proces u kojem dolazi do promene genetičkog materijala. Ovaj proces se naziva konjugacija nakon koje dolazi do razmene genetičkog materijala između dve bakterijske ćelije. Konjugacija je veoma važan proces u evoluciji bakterijskih vrsta jer se nakon nje dobijaju nove bakterije koje do tad nisu postojale. Konjugacija se odvija kada se uspostavi bliski kontakt između dve bakterijske ćelije pomoću pila. Čelije se povezuju pomoću proteina koji se nalaze u membranama čelijskih zidova formirajući na taj način između sebe konjugacionu vezu. Kroz konjugacionu vezu vrši prenos plazmida iz jedne ćelije u drugu. Značaj pila je veliki jer omogućavaju uspostavljanje bliskog kontakta dve bakterijske ćelije preko proteina receptora, koji predhodi prenosu plazmida ili dela bakterijskog nukleoida i nastanku novog oblika bakterijske ćelije.

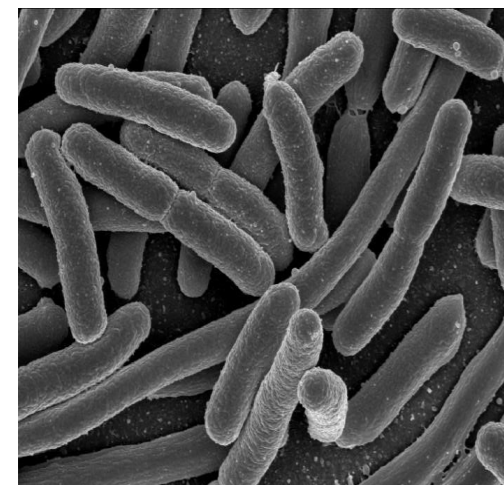
Prokarioti se dele na dva domena: Archaea i Bacteria, koji su se rano razdvojili tokom evolucije [73,74]. Archaea ili arhebakterije žive svuda na planeti Zemlji pa i u sredinama ekstremnih uslova za život. Neke od tih sredina su: sumporni izvori sa temperaturom do 80° C; mesta gde je niska ili visoka pH vrednost; okruženja sa izuzetno malom količinom ili u potpunosti bez kiseonika. Uopšteno arhebakterije su najslabije po čelijskoj organizaciji bakterijama ali imaju i karakteristike protoćelija i LUCA ćelija. Arhebakterije se razlikuju od bakterija prema građi ćelija jer imaju drugačiju čelijsku membranu i čelijski zid. One koriste amonijak, metalne jone i gasoviti vodonik kao izvore energije u ćeliji, a razmnožavaju se i pupljenjem ćelija. Arhebakterije danas žive u okeanima, slatkim i slanim jezerima, močvarama, vrelinama, baricama pored vulkana i vodama sa ekstremnim vrednostima pH, kao i u zemljištu [73].



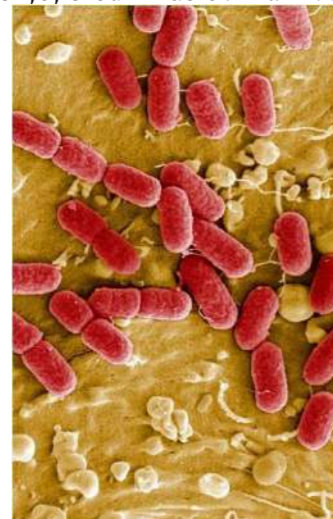
[73] Elektronmikrografija kolonija arhebakterija



Bacteria ili eubakterije su velika grupa prokariota i veoma stara grupa organizama na planeti Zemlji [74]. Prve eubakterije nastale su pre oko 3,7 milijardi godina i za tako dug vremenski period do danas prilagodile su se na sve uslove i sva staništa na Zemlji, ima ih u zemljištu, u vodi, vazduhu, u drugim organizmima od polova do ekvatora, na svim meridijanima, od morskih dubina do najviših planinskih vrhova. Rast bakterijskih ćelija podrazumeva povećanje veličine i zapremine njihovih ćelija i ovo povećanje je vrlo malo. Dok se pod rastom bakterija podrazumeva porast broja bakterija u jedinici zapremine. Bakterije u povoljnim uslovima počinju brzo da se razmnožavaju, kada njihove ćelije narastu do veličine karakteristične za datu vrstu one odmah počinju da se dele na dve nove. Nepovoljni uslovi životne sredine: nedostatak hrane i vode, nepovoljna pH vrednost ili temperatura, toksični agensi i zračenja utiču na smanjenje razmnožavanja bakterija. Neke vrste bakterija u nepovoljnim uslovima u mogućnosti su da formiraju endospore unutar svojih bakterijskih ćelija. Stvaranja endospora podrazumeva gubljenje pila, flagela i kapsule sa površine bakterijske ćelije, stvaranje zaštite za genetički materijal i drugih struktura za preživljavanje nepovoljnih uslova. Kada u spojašnoj sredini uslovi za život bakterijske ćelije postanu povoljni iz



[74] Elektronmikrografija kolonija eubakterija



spore se ponovo formira bakterijska ćelija i ovaj proces se naziva germinacija.

Mikoplazme su bakterije koje nemaju ćelijski zid, veličine su svega 0,2 do 0,3 mikrometara [75]. U ćelijama mikoplazmi ima deset puta manje genetičkog materijala i 50 do 100 puta manje ribozoma u odnosu na ostale bakterije. Genetički materijal mikoplazmi je organizovan u okviru dvostranog kružnog molekula DNK u

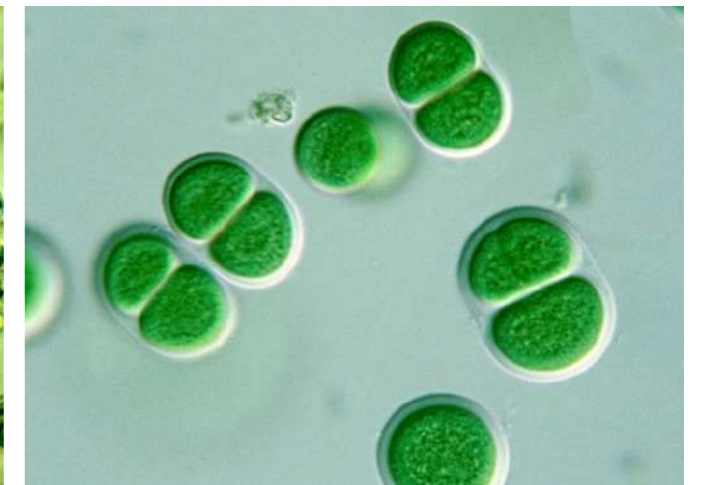
citoplazmi koja sadrži razne mehuriće i zrnca. Za razliku od eubakterija i arhebakterija mikoplazme ne podnose sredinu sa velikim temperaturnim promenama, prilagođene su da žive na telesnim temperaturama njihovih domaćina na kojima parazitiraju, životinja i ljudi. Nekoliko vrsta mikoplazmi su veoma patogene za ljude i životinje, njihova detekcija je otežana, izazivaju teška oboljenja respiratornih sistema jer su otporne na većinu antibiotike.



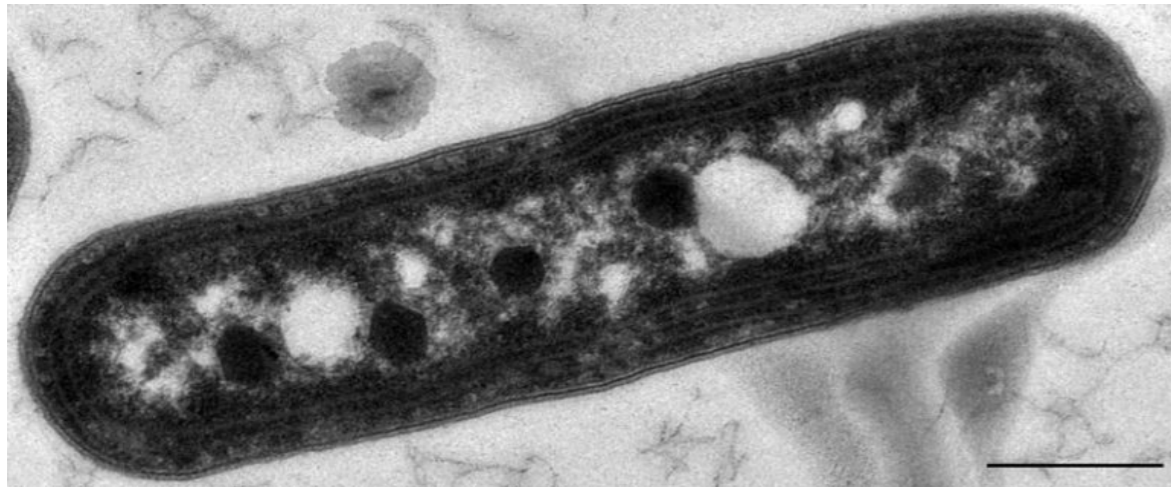
[75] Elektronmikrografija mikoplazmi



[76] Mikrografija modrozelenih bakterija



Modrozeleni alge, modrozeleni bakterije ili cijanofite su drugačiji nazivi za istu grupu fotoautotrofnih organizama koji imaju prokariotsku građu ćelija [76]. Ćelijska organizacija modrozelenih bakterija je nešto složenija nego kod ostalih bakterija, zato što imaju višestruke periferne lamine biomembrane na kojima se vrši fotosinteza [69]. Modrozeleni bakterije se razmnožavaju fisijom deobom i nemaju pokretnih oblika. Sa spoljne strane ćelija modrozelenih bakterija nalazi se višeslojni ćelijski zid, a neke vrste imaju i sluzav omotač koji ih štiti od isušivanja. Modrozeleni bakterije sadrže fotosintetičke pigmente: hlorofile vezane za periferne lamine biomembrane [77]; karotene i ksantofile u višestrukim laminama; i fikobiline koji se nalaze na površini perifernih lamina u vidu granula. Citoplazma modrozelenih algi sadrži ribozome, kristale i gasne vakuole karakteristične za planktonske vrste.



[77] Elektronmikrografija mdrozelene bakterije sa višestrukim perifernim laminama ćelijske membrane sa fotosintetičkim sistemima

Nacrtaj šemu konjugacije bakterijske ćelije:

Nacrtaj šemu transdukcije bakterijske ćelije:

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.



[78]

## NASTANAK ORGANELA

Endosimbiontska teorija  
Eukariotska ćelija



Telesna organizacija i funkcionisanje svih živih jednoćelijskih [78] i višećelijskih organizama bez obzira na stepen njihove anatomske složenosti zasnovani su na postojanju, harmoničnoj organizaciji i funkcionisanju ćelije. Ona ima sposobnost rasta do veličine koja je karakteristična za dati tip diferencirane ćelije i sposobnost obavljanja osnovnih metaboličkih procesa. Ukoliko je ćelija deo višećelijskog organizma, poseduje sposobnost ispunjavanja posebnih zadataka jer se ne ponaša kao izdvojen sistem, ona prima signale iz svoje okoline i na njih odgovara na adekvatan način. Svoj životni ciklus ćelija okončava bilo deobom koja dovodi do pojave dve nove ćelije; diferenciranjem u visokospecijalizovanu ćeliju koja nema sposobnost deobe, u izvršavanju svoje odbrambene, regenerativne ili sekretorne uloge; procesom programiranog ćelijskog umiranja. Sve navedene osnovne životne procese ćelija obavlja unutar svoje zapremine koja je izuzetno savršeno uređena, prostora u kojem su pojedine funkcije raspodeljene na manje morfološke odeljke.

U prokariotskoj ćeliji proces respiracije obavljaju supramolekule velike molekulske mase u ćelijskoj membrani; fotosintezu vrše fotosintetički pigmenti integralni delovi više lamelarnog sistema membrana modrozelenih bakterija; kao što se i oksidativna fosforilacija u istim ćelijama odigrava na intermembranskim proteinima ćelijske membrane. Upravo ova činjenica o nužnosti ćelijske membrane u svim životnim procesima prokariotske ćelije u kontaktu sa strukturama iz njene citoplazme predstavlja osnovu jedne od hipoteza o mogućoj evoluciji prokariotske ćelije u eukariotsku.

## ENDOSIMBIONTSKA TEORIJA

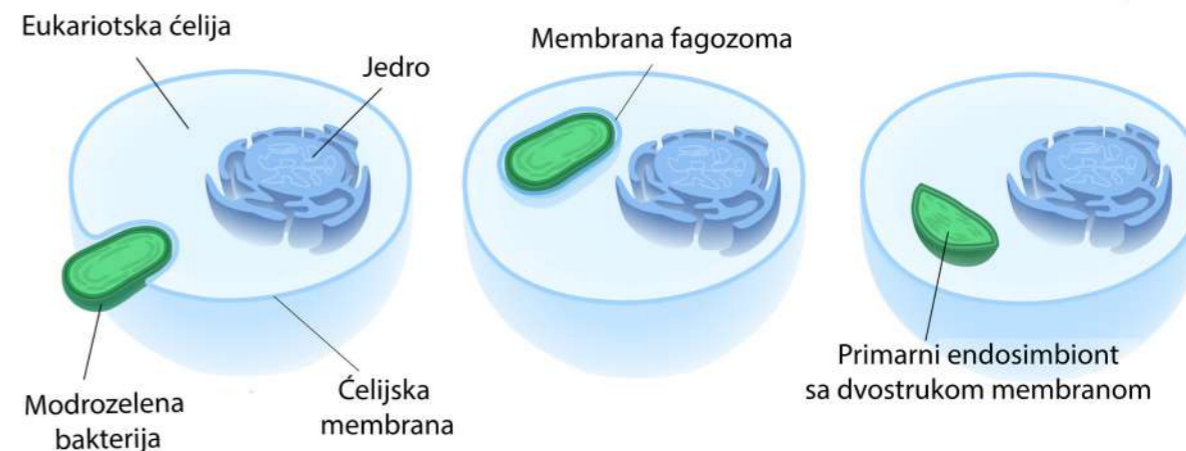
Opšteprihvaćeno je gledište prema kome su određeni delovi ćelijske membrane prokariotske ćelije za koje su bili vezani ribozomi, DNK molekul, fotosintetički pigmenti ili partikule iz citoplazme bili funkcijiski vezani i invaginirani u vidu mezozoma u unutrašnjost ćelije i kasnije su se morfološki odvojili, izgubili kontinuitet sa ćelijskom membranom. Verovatno su ti delovi ćelijske membrane ograničavali delove citoplazme i dalje evoluirali u sa jedne strane endoplazmatični retikulum kome su bili pridruženi ribozomi, a sa druge strane dublje u citoplazmi stvarali jedrov omotač koji je opkolio molekul DNK sa kojim je bio u kontaktu. Doprinos ovoj hipotezi nastanka eukariotske ćelije usloženjavanjem i transformacijom jedne



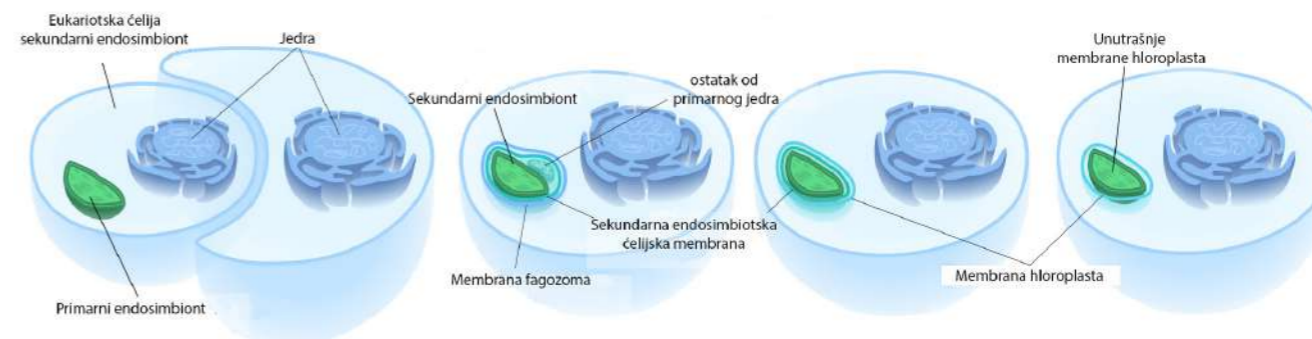
[79] Fotografija naučnice Lynn Margulis, američki mikrobiolog i evolucionista. Osim što je predložila novu endosimbiontsku teoriju, branila i potkrepljivala je evolutivne procese nastanka vrsta na planeti Zemlji

prokariotske daje podatak da su vrste proteina u ćelijskim membranama prokariotskih i eukariotskih ćelija gotovo iste.

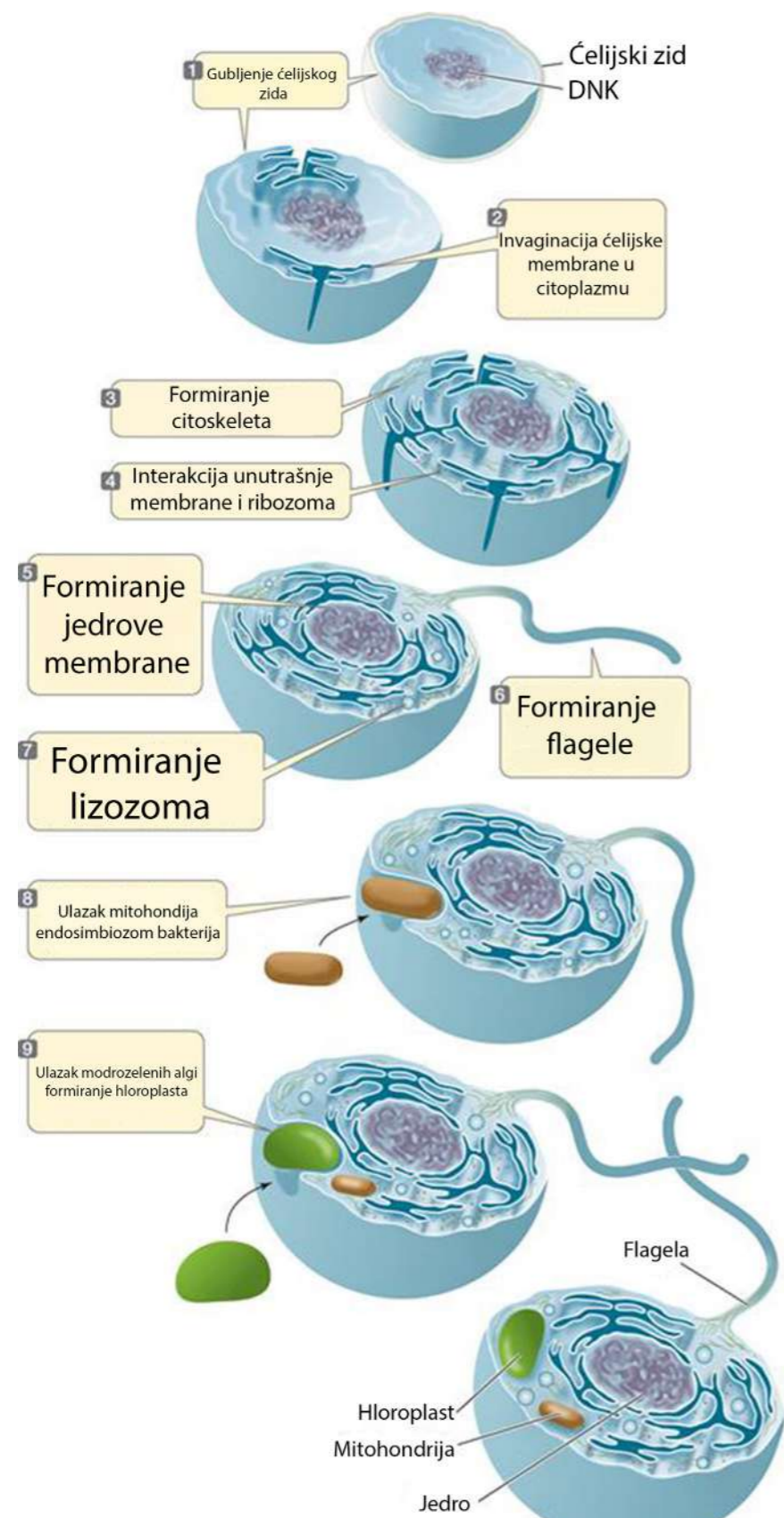
Promenu osnovne šeme ove hipoteze moglo bi da da proučavanje koje navodi da je nastanak eukariotske ćelije vezan za ujedinjavanje dve predačke prokariotske ćelije. Jedna od njih je pripadala grupi arheobakterija a druga grupi eubakterija i to onih koje su imale jednostavan ćelijski zid i nastale su u evoluciji od LUCA predačke ćelije. Prema ovoj drugoj, novijoj hipotezi jedna od bakterija eubakterija je izgubila svoj bakterijski ćelijski zid i bila obuhvaćena drugom bakterijom. Od obuhvaćene bakterije smatra se da su nastale mitohondrija i plastid. Dok su prevoji ćelijskih membrane učestvovali u formiranju endoplazmatičnog retikuluma i jedrove membrane. Do sinhronizacije genoma ove dve predačke bakterijske ćelije došlo je kasnije, dok do njihovog morfološkog ujedinjenja nije došlo ni dan danas jer jedro sadrži svoj a mitohondrije i plastidi svoje DNK. Ove prve dve hipoteze o nastanku eukariotske ćelije bile su osnova za kreiranje treće, koja potvrđuje načn nastanka mitohondrija i plastida u eukariotskoj ćeliji.



[80] Gore: šematski prikaz pretpostavljenog ulaska modrozeleni bakterije u predačku eukariotsku ćeliju, gde je obuhvata membrana fagozoma i od nje nastaje primarni endosimbiont sa dve membrane dok se cela ćelija naziva sekundarni endosimbiont. Dole: šematski prikaz pretpostavljenog ulaska sekundarnog endosimbionta u novu predačku eukariotsku ćeliju, gde se skuplja njegova biomembrana i postaje sekundarna endosimbiontska ćelijska membrana, koja postaje membrana hloroplasta dok dvostruka membrana primarnog endosimbionta postaje unutrašnja membrana hloroplasta koji ima i svoju DNK



Do simbioze je moglo da dođe na više načina: jedna od dve predačke prokariotske ćelije mogla je da bude agresivni predator koji je "progutao" drugu ćeliju; ili je došlo do obostrane invazije gde su obe ćelije miroljubive ali je jedna progutala drugu; ili je u pitanju bilo obostrano korisno udruživanje predačkih ćelija; ili je došlo do fuzije dve predačke prokariotske ćelije. Ulaskom jedne ćelije u drugu obe ćelije pretrpele su određene evolucionarne promene i tako postale preci savremenih eukariotskih ćelije. Preci mitohondrija su ušli u ćeliju pre nego što su to uradili preci hloroplasta. Lynne Margulis [79] ovu tvrdnju zasniva na činjenici da svi savremeni eukarioti koji imaju plastide imaju i mitohondrije, a obrnuto nije obavezno. Osim toga mitohondrije pošto su imale dužu evolucionu istoriju imaju manje sličnosti sa savremenim bakterijama nego što imaju hloroplasti. Ideja o višestrukim simbiozama prokariotskih ćelija koje su dovele do morfološkog uobličavanja eukariotskih ćelija kakve su danas poznate [80], postulirala je Lynne Margulis. Ona kaže kako se eukariotske ćelije mogu razmatrati kao dobro uklopljene bakterijske zajednice koje su evoluirale, čime je istakla da se simbioza može smatrati jednim od najznačajnijih i najbržih mehanizama u evoluciji. Bilo kako bilo ova hipoteza je hipoteza o endosimbiontskom prokariotskom poreklu mitohondrija i plastida. Endosimbiontska hipoteza je prihvaćena i mnogostruko potvrđena ne samo na osnovu veličine ovih organela koja odgovara veličini prokariotskih ćelija, nego i na osnovu činjenice da poseduju DNK, ribozome i funkcionalnu organizaciju sličnu onoj koja karakteriše današnje prokariotske ćelije.

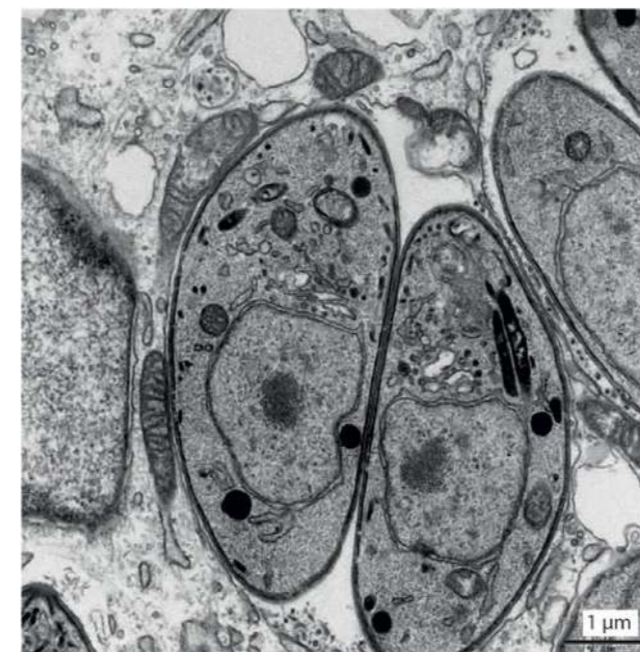


[81] Šematski prikaz pretpostavljene endosimbotske teorije u kojoj od pređačke eukariotske ćelije nastaje autotrofna eukariotska ćelija sa organelama (po Christian de Duva)

Međutim, hipotezama o poreklu eukariotske ćelije nije ni iz bliza kraj, belgijski biohemičar Christian Rene Marie Joseph Viscount de Duve oslanjajući se na sve dotadašnje hipoteze o nastanku eukariotskih ćelija iznosi svoju [81]. Po njegovoj hipotezi neke od pređačkih prokariotskih ćelija su izgubile sposobnost sinteze komponenti svog bakterijskog zida. Bez spoljašnjeg, rigidnog omotača one više nisu bile sposobne da održe stalan oblik ćelije niti stalnu zapreminu, a njihova ćelijska membrana je tako bila u direktnom fizičkom dodiru sa okolnom sredinom. Christian de Duve smatra da su ribozomi ovih ćelija, vezani za membranu, mogli da sintetišu specijalan tip enzima. Enzimi su sekretovani u spoljašnju sredinu gde su razlagali ostatke drugih ćelija i tako obezbeđivali hranljive supstance svojoj ćeliji.

Nepostojanje bakterijskog ćelijskog zida omogućilo je heterotrofnim pređačkim prokariotskim ćelijama da stvaraju duboke prevoje ćelijske membrane prema citoplazmi. Od ovih prevoja prvo je po Christian de Duve nastala jedrova membrana, pa endoplazmatični retikulumi i Goldži aparati. Bitno je da se naglasi u ovom delu da je ova sad već pređačka eukariotska ćelija bila heterotrof. Sledeći korak u nastanku potpune eukariotske ćelije bila je pojava komponenata unutrašnjeg skeleta. Unutrašnji skelet je omogućio predhodničkoj formi eukariotskih ćelija da bude aktivnija i brža kao i da razgrađuje ostatke drugih ćelija, vrši fagocitozu, aktivno zahvata čestice iz spoljašnje sredine i da razgrađuje unetu materiju u svojoj unutrašnjosti. Unutrašnji ćelijski skelet u obliku mikrotubula i aktinskih filamenata pružao je strukturnu potporu ćeliji, obrazovanje prevoja i ulegnuća ćelijske membrane i na kraju "gutanje" drugih prokariotskih ćelija koje će kasnije preuzeti ulogu mitohondrija i plastida.

Ovde Christian de Duve ističe veoma važan moment u procesu stvaranja eukariotskih ćelija a to je moment formiranja lizozoma i peroksizoma. Sredina u kojoj su živele pređačke prokariotske ćelije bila je anaerobna. Proces pojave prokariotskih ćelija koje su u na svojim ćelijskim membranama vršile fotosintezu i oslobađale kiseonik u svojoj okolini bio je problem za anaerobne prokariote. Kiseonik za anaerobne prokariote bilo je toksično u sredini u kojoj su živeli. Vremenom, životom fotosintetičkih prokariota, sredina se menjala iz anaerobne u aerobnu i primorala prokariotske ćelije koje nisu imale sposobnost fotosinteze da se sklone u ekstremne sredine bez kiseonika (kao što su duboke vode, zemljište, probavni traktovi drugih organizama) ili na pojavu primitivnih sistema detoksikacije u njihovoj citoplazmi. Pojavom sistema za detoksikaciju nastale su primitivne anaerobne bakterije koje su preživele u sredinama bez kiseonika. Pređačke eukariotske ćelije su fagocitirale ove anaerobne bakterije i tako kasnije u svojoj unutrašnjosti



[82] Elektronmikrografija eukariotske ćelije

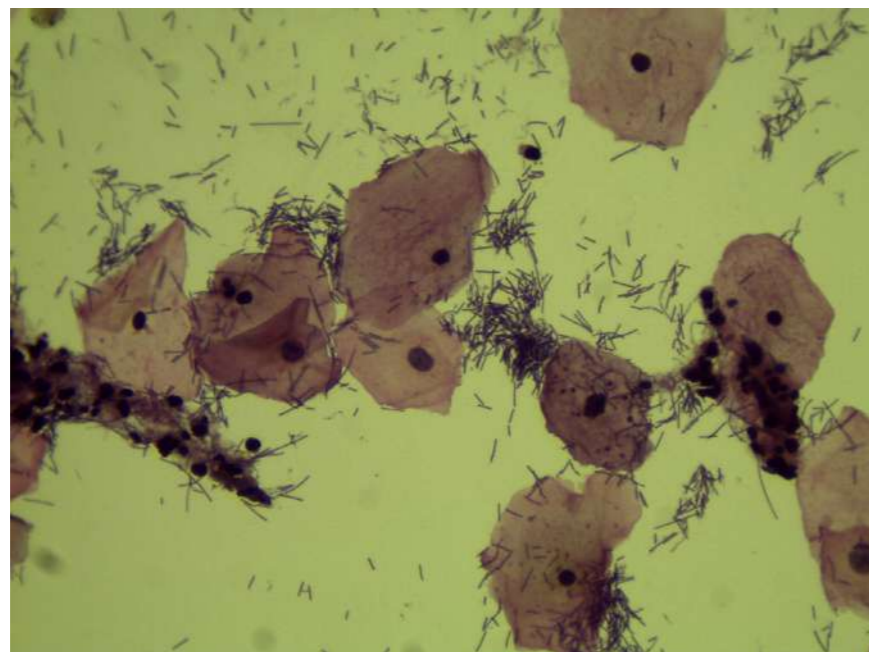
stekle zaštitinika od toksičnog delovanja kiseonika. Protoćelija u toku fagocitoze opkoljava anaerobnu bakteriju delom svoje ćelijske membrane, kasnije bakterijska ćelija jednim delom eliminiše a drugim delom izmeni ćelijsku membranu pređačke eukariotske ćelije i prilagođava sebi i svojim potrebama. U krajnjem obliku saradnje između primitivne anaerobne bakterije i pređačke eukariotske ćelije dobija se funkcionalan peroksizom koji i dan danas ima ulogu u detoksikaciji ćelije.

## EUKARIOTSKA ĆELIJA

Osnovna karakteristika eukariotskih ćelija jeste prisustvo jedra. Naziv eukariota potiče od grčkih reči: eũ (eu) "pravi" and kápuov (karyon) "jedro" što bi u prevodu značilo organizmi sa pravim jedrom. Eukariotska ćelija nastala je pre oko 1,6 milijardi godina na planeti Zemlji [82]. Jedarov omotač je deo složenog

membranskog sistema, koji omogućava eukariotskim ćelijama podelu na nekoliko funkcionalnih oblasti. Upotrebljen je termin "funkcionalna oblast" a ne "organela" kako se često nazivaju morfološki i funkcionalni delovi eukariotskih ćelija iz razloga što je vrlo teško napraviti jasnu razliku između membranske organele kao što je npr. lizozom, nemembranske organele, ranije nazivane partikule kao što je npr. ribozom ili difuznog kompleksa ćelije kao što je npr. citoskelet. Sve funkcionalne oblasti jedne eukariotske ćelije uključujući i ćelijsku membranu međusobno komuniciraju formirajući jedinstven citoplazmatsko membranski sistem. Postojanje membranskih i nemembranskih struktura povećava dimenzije eukariotske ćelije u odnosu na prokariotsku. Tako su eukariotske ćelije znatno većih dimenzija od prokariotskih: veličina prokariotske ćelije je u proseku od 1 do 10 µm, dok je veličina eukariotske ćelije u proseku od 10 do 100 µm [83]. Sve eukariotske ćelije imaju proteinski citoskelet koji im daje oblik i omogućava transport unutar ćelije, kao što je kretanje hromozoma tokom ćelijske deobe, premeštanje položaja organela unutar ćelije ili odvijanje fagocitoze.

Ako su eukariotske ćelije nastale u procesu endosimbioze od prokariotskih ćelija, postavlja se pitanje koje građe je mogla da bude ćelija domaćin u tom procesu. Prvo ona je morala da bude dovoljno velika da može da uhvati i smesti endosimbionta - prokariotsku ćeliju. Primitivni fagocitni sistemi nastali su progresivnim nastankom membranskog i citoskeletnog sistema koji je fagocitozu mogao da podrži. Pored svega nabrojanog ćelija domaćin je morala da ima i diferencirano jedro i sve više da liči na eukariote nego na prokariote, to je bila predačka eukariotska ćelija. Takve ćelije postoje i danas, poznate su vrste protista koji imaju organele u citoplazmi ali su i domaćini za parazitske bakterije, koje u njih uđu na agresivan način i žive kao simbioziti. U prošlosti slični sitni prokariotski organizmi ulazili su u aerobne i anaerobne ćelije domaćine i imali su koristi od njih hraneći se hranljivim materijama iz protoplasta domaćina. Međutim, u jednoj od kombinacija simbioze prokariotska ćelija nije samo parazitirala u domaćinu nego



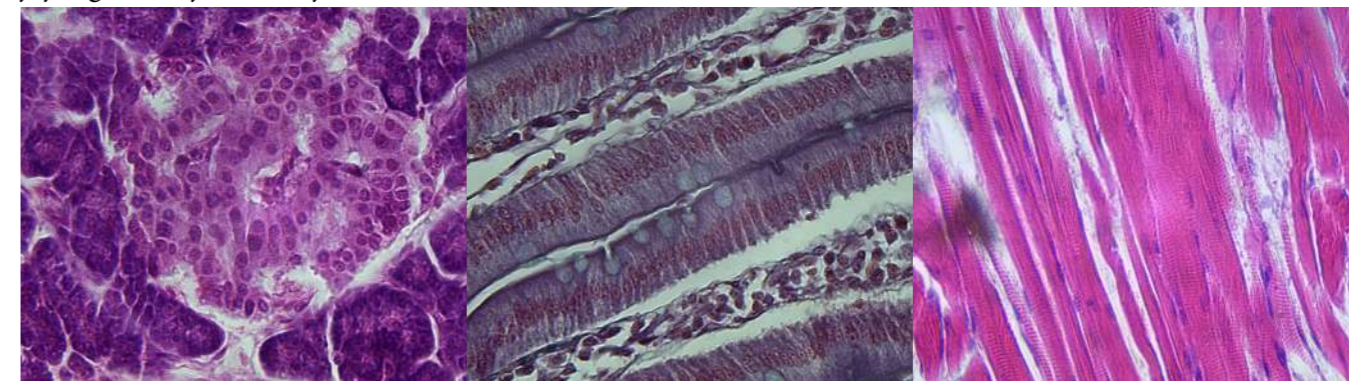
[83] Mikrografija eukariotske ćelije epitela grlića materice (ljubičasto) i bakterijske ćelije (crno)

mu je bila korisna tako što je koristila kiseonik koji je on stvarao, vršeći detoksikaciju njegove ćelije. Najbitnija uloga prokariotske ćelije koja je ušla u predačku ćeliju domaćina bila je vršenje procesa fotosinteze i snabdevanje domaćina dovoljnom količinom energije. Tako nastaje prava eukariotska ćelija sa svim svojim organelama. Dokaz endosimbiotske hipoteze evolucije eukariotske ćelije su morfološke i fiziološke specifičnosti nekih endoparazita iz roda *Plasmodium*. Nedavno je pokazano da se u njihovoj citoplazmi

pored endoplazmatskog retikuluma sa ribozomima, Goldži aparata, jedne mitohondrije i jedra susreće i plastid. Ovaj plastid je visokospecijalizovan i naziva se apikoplast. Apikoplast je opkoljen sa tri ili četiri membrane, a u njegovoj stromi koja izgleda homogeno, prisutan je molekul DNK. Ribozomi u apikoplastu su po tipu mitohondrijski i plastidni tj. prokariotski. Funkcija ove organele nije poznata iako njena DNK kodira funkcionalne proteine, bitne za preživljavanje endoparazita. Primećeno je da se pre početka ćelijske deobe apikoplast podeli tako da svaka ćerka ćelija po obavljenom razdvajanju citoplazme stiče po jedan apikoplast. Pretpostavlja se da bi plasmodijumi mogli da predstavljaju rezultat dvostepene endosimbioze. Prva endosimbioza je mogla da podrazumeva ujedinjavanje ćelije koja je bila predačka eukariotska i cijanobakterije i dobijena je ćelija koja je imala plastid i to hloroplast. Druga endosimbioza je podrazumevala ujedinjenje ćelije dobijene u prvoj endosimbiozi sa opet predačkom eukariotskom gde je došlo do transformacije hloroplasta u apikoplast koji je od ostale citoplazme odvojen većim brojem membrana [80].

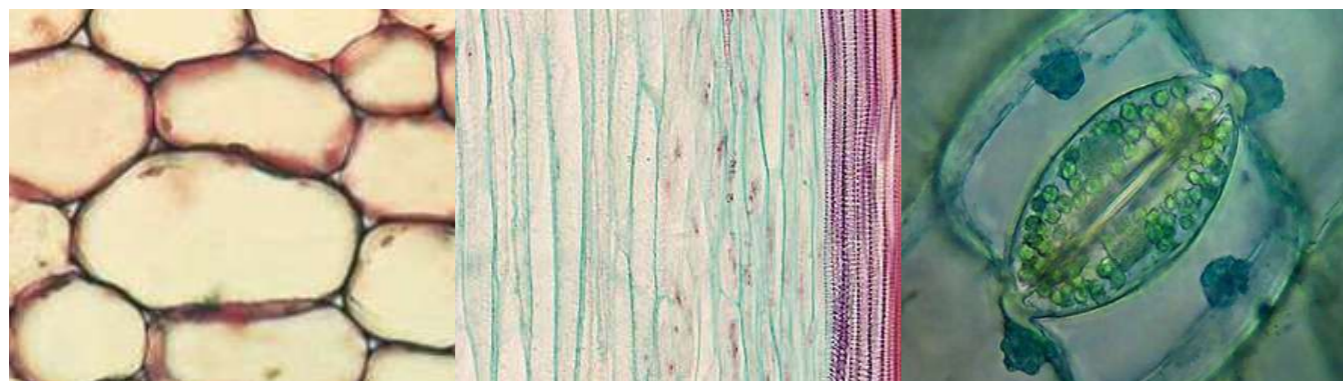
Konstituisanje, usloznavanje i grupisanje eukariotskih ćelija u evoluciji dovelo je kasnije do formiranja prvih višćelijskih organizama, koji su u početku bili jednostavnije a kasnije sve složenije građe. Oblik, građa i funkcionalnost eukariotskih ćelija mogli su da odgovore na zahtevne procese koji se odvijaju u višćelijskim organizmima. Međutim, glavnu ulogu u kooperaciji ćelija u tkivima, organima i organskim sistemima organizama imaju ćelijske organele koje su se i same usloznavale i diferencirale. Stepenski specijalizacije i diferencijacije organela, a samim tim i njihov morfološki izgled zavise od specijalne uloge koju vrše ćelije.

Sve ćelije višćelijskog organizma u toku polnog razmnožavanja potiču od jedne oplodene jajne ćelije. Njenom deobom nastaju nespecijalizovane ćelije identične po svojim morfološkim i funkcionalnim karakteristikama. U daljem procesu rasta i razvića višćelijskog organizma nastaju ćelije specijalizovane da obavljaju jednu ili više specifičnih funkcija. Skup svih promena koje se dešavaju pri nastanku specijalizovanih ćelija od nespecijalizovanih označavaju se kao diferencijacija. Procesu diferencijacije ne podležu samo ćelije višćelijskog organizma koje će se u toku celog svog života deliti iznova, npr. ćelije koštane srži ili germinativnog epitela tzv. matične ćelije. Putem diferencijacije ostvaruje se sveukupna strukturalna i funkcionalna raznovrsnost višćelijskog organizma. Na primer ljudski organizam je izgrađen od nekoliko triliona ćelija koje pripadaju jednom od 200 ćelijskih tipova koje se razlikuju po obliku, veličini, unutrašnjoj organizaciji i funkciji.



[84] Mikrografije niskoprizmatičnih, cilindričnih i vretenastih animalnih ćelija

Ćelije prema svom obliku dele se na: pljosnate (ćelije koje grade kapilare), kockaste (ćelije koje grade sabirne kanaliće bubrega), loptaste (sunderasto tkivo lista), cilindrične (ćelije koje grade površinu creva) [84], poligonalne (ćelije jetre), sferične (jajne ćelije kod životinja i ljudi), vretenaste (ćelije glatkih mišića), cevaste (traheje i traheidi), nepravilnog oblika kokice ili cvetića sa laticama (biljni aerenhim), piramidne (ćelije koje grade folikule štitne žlezde), kruškase (Purkinjeove ćelije), zmijolike (spermatozoidi sisara), diskoidalne (eritrociti), pasuljaste (ćelije zatvaračice stominog aparata) [85] ili zvezdaste (ćelije vezivnog tkiva). Oblik nekih ćelija je nepravilan jer sa njihove površine polaze brojni produžeci, takvi su neuroni ili biljne ćelije korenske dlake.



[85] Mikrografije loptastih, cevastih i pasuljastih biljnih ćelija

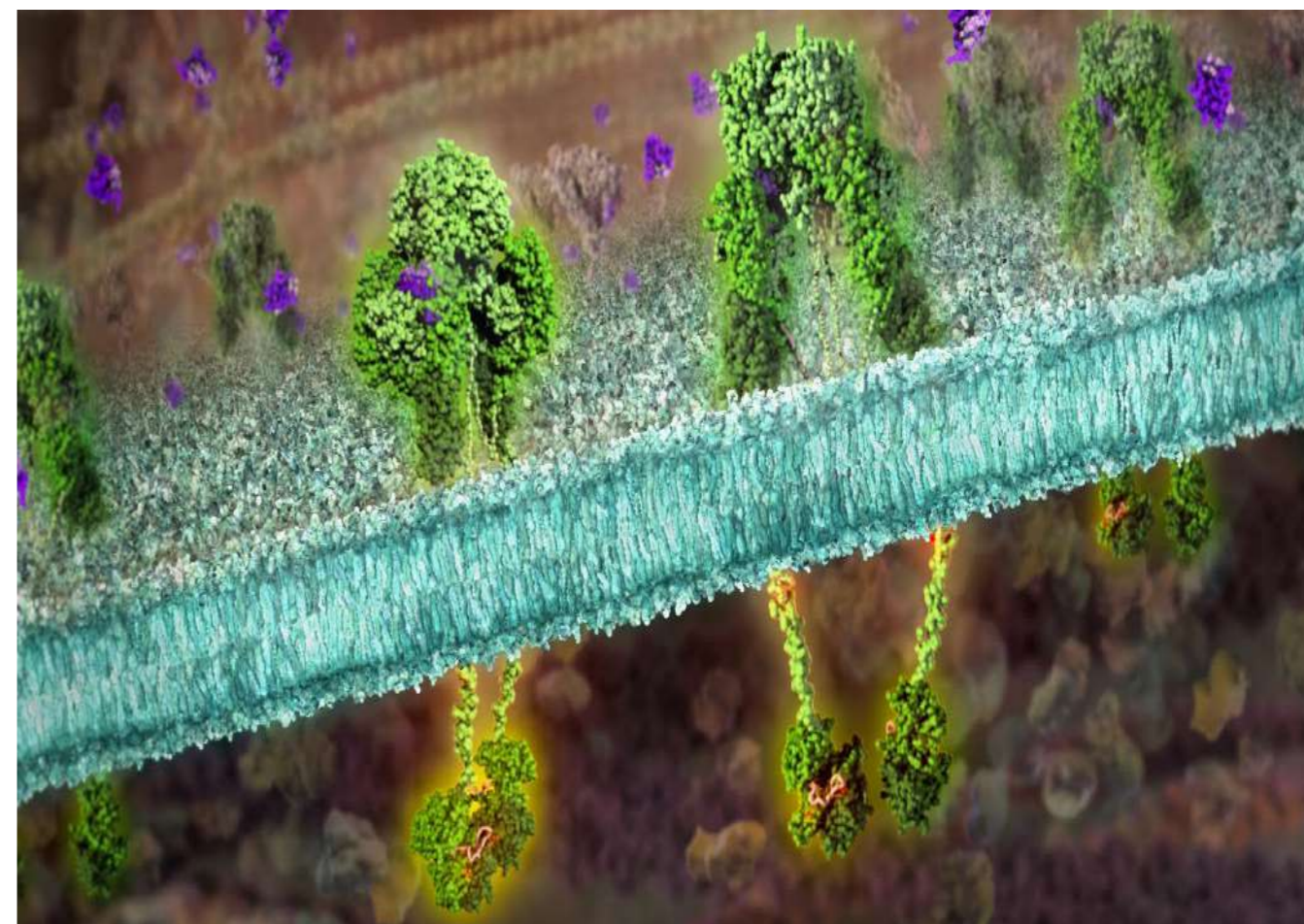
U prazna polja nacrtaj, oboj i obeleži nekoliko različitih oblika ćelija koje si do sad upoznao kako iz ovog udžbenika, tako i sa praktičnih vežbi iz citologije.

--	--	--

--	--

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.

--



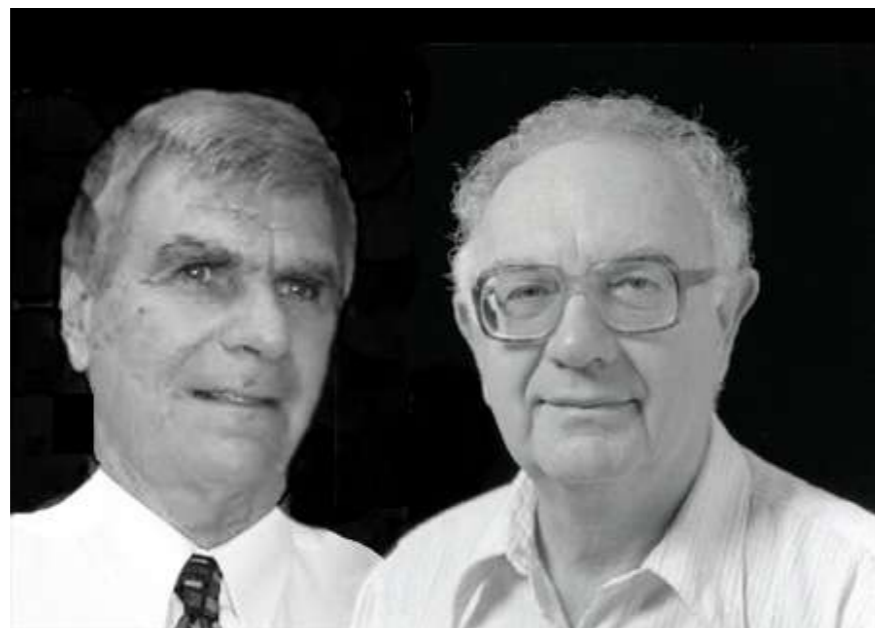
[86]

# BIOMEMBRANE

- Građa biomembrana
- Razmena supstanci kroz biomembrane
  - prosta difuzija
  - olakšana difuzija
  - aktivni transport
  - vezikularni transport

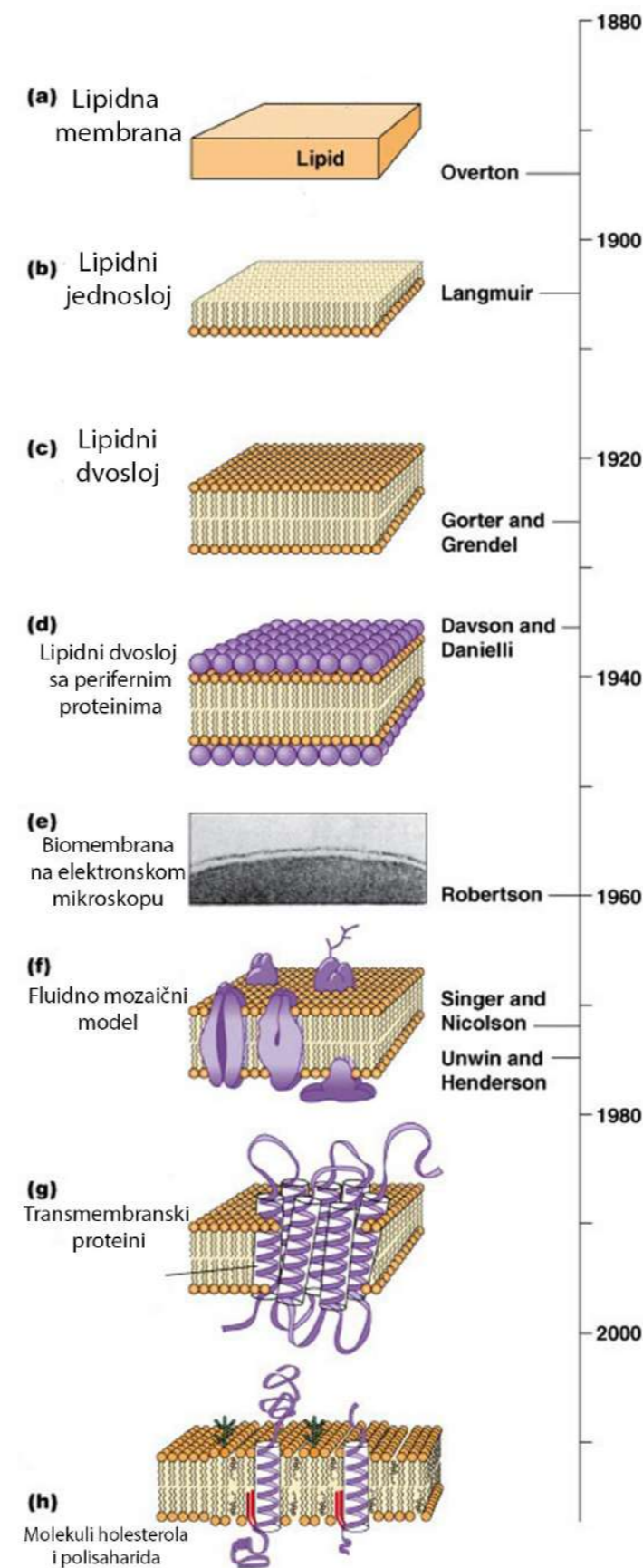
Biomembrane su metaboločki aktivne membrane koje razdvajaju citoplazmu žive ćelije od vanćelijske sredine, grade jedrovu membranu, membrane membranskih ćelijskih organela i vezikula i tako čine membranski sistem ćelije. U prokariotskim ćelijama biomembrane grade ćelijsku membranu i kod modrozelenih bakterija višestruke periferne lamine. Biomembrane prokariotskih i eukariotskih ćelija imaju isti plan građe što je još jedna potvrda o zajedničkom poreklu i evoluciji ova dva tipa ćelija. Sve biomembrane ćelija izgrađene su od lipida i proteina kojima su pridruženi ugljeni hidrati i njihova prosečna debljina kreće se od 7 do 10 nm.

Ćelijska membrana, plazmalema ili plazmamembrana je različit naziv za istu biomembranu prisutnu na površini svake ćelije i ona ograničavaju prostor u kojem se u kontrolisanim uslovima odigravaju životni procesi. Sa druge strane ćelijska membrana učestvuje u održavanju balansa između unutarćelijske i vanćelijske sredine i uspostavljanju kontakata sa drugim ćelijama i vanćelijskom sredinom. Otuda se ćelijska membrana ne može smatrati barijerom koja postojeće stanje unutar ćelije kruto brani od neprekidnih promena oko i u njoj, već je dinamičan, vitalan i nezamenljiv deo svake ćelije.



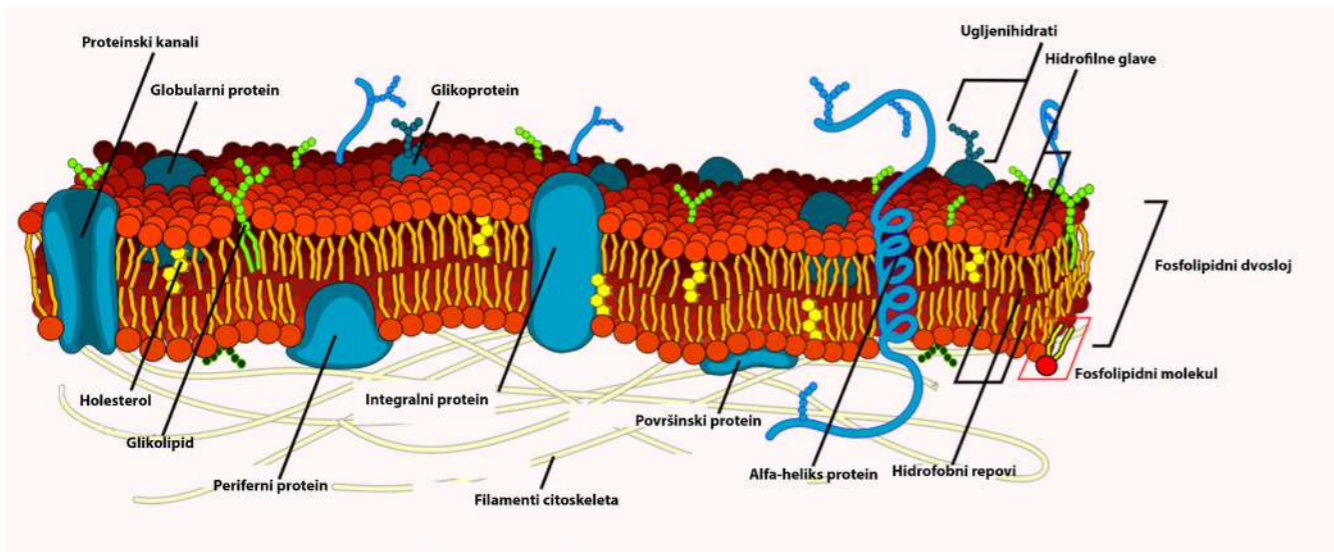
[87] Fotografija naučnika Garth Nicolson (levo) i Seymour Jonathan Singer (desno) američkih biohemičara. Osim što su pojasnili detaljnu građu ćelijske membrane uz pomoć slike sa elektronskog mikroskopa pored svih do tad poznatih znanja o njoj, prikazali su promenjen oblik molekula hemoglobina kod srpaste anemije i mehanizme starenja ljudskih ćelija

Građa ćelijske membrane ne može se uočiti na svetlosnom mikroskopu već na elektronmikrografijama dobijenim na elektronskom mikroskopu. Elektronmikrografije prikazuju troslojnu građu ćelijske membrane u obliku dve elektro-tamne kontinuirane pruge razdvojene nešto širom elektro-svetlom nekontinuiranom prugom. Objasnjenje prostorne organizacije strukturnih elemenata ćelijske membrane dali su naučnici Singer i Nicolson 1972. godine i nazvali ga fluidno-mozaičnim modelom [87]. Model ćelijske membrane je definisan u obliku mozaika od proteina koji su uronjeni u fluidni dvosloj lipida, sa pridruženim ugljenim hidratima. Mozaik se odlikuje pokretljivošću budući da se njegovi osnovni elementi, lipidi i proteini, neprekidno pomeraju, klize u zavisnosti od trenutnih funkcijskih potreba ćelije i zato se kaže da je ćelijska membrana fluidna. Pored toga, raspored lipidnih, proteinskih i ugljeno hidratnih komponenata je takav da je ćelijska membrana asimetrična. Molekuli ugljenih hidrata vezani su kako za lipide tako i za proteine i prisutni su samo na spoljašnjoj strani ćelijske membrane.



[88] Hronološki pregled saznanja o građi biomembranama

Istraživanja građe biomembrana počela su devedeset i dve godine pre radova i otkrića naučnika Singera i Nikolsona [88], kada su naučnici na osnovu oblika lipozoma i biohemijskih analiza definisali ćelijske membrane kao lipidne omotače ćelija. 1895. godine naučnik Charles Ernest Overton izneo je da su žive ćelije okružene lipidima, jednoslojnim membranama izgrađenim od molekula lipida i holesterola. 1905. godine naučnik Langmuir odredio je hemijski sastav biomembrana, dokazavši da su lipidi pored holesterola u jednoslojnim membranama fosfolipidi, sa hidrofilnim glavama i hidrofobnim repovima. Dva deset godina kasnije, 1925. godine, naučnici Gorter i Grendel nakon biohemijskih analiza dokazuju da biomembrane nisu jednosloji, već dvosloji organizovanih lipidnih molekula. 1940. godine naučnici Danielli i Davson daju najraniji model biomembrana gde su u lipidni dvosloj uključeni i molekuli proteina, s tim što su smatrali da se dvosloj lipida nalazi između dve celovite i krute ploče molekula proteina, tzv. "sendvič" model membrana. 1960. godina pripada eri elektronske mikroskopije kada je naučnik Robertson video ćelijsku membranu na TEM-u i definisao njenu građu gde su dva sloja proteina uronjena u lipidni dvosloj. Ovaj naučnik je takođe u svoje doba izneo tvrdnju koja je tačna i dan danas, a to je da su sve membrane unutrašnje i spoljašnje u jednoj ćeliji iste građe. Konačno, 1972. godine naučnici Singer i Nicolson daju definiciju i danas prihvaćenog modela biomembrane a to je fluidno-mozaični model, gde je mozaika proteina uronjen u fluidni lipidni dvosloj [89] sa prisustvom lipidnih ostrvaca, raftova. Od 1990. godine pa do danas naučnici su uz pomoć TEM i biohemijskih metoda dokazali detaljnu građu transmembranskih proteina, kao i položaj molekula holesterola i ugljenih hidrata u ćelijskoj membrani.



[89] Šematski prikaz fluidno-mozaičnog modela biomembrane prema Singeru i Nicolsonu

## GRADA BIOMEMBRANA

Biohemijska ispitivanja su pokazala da kvantitativni odnos lipida i protein u biomebranama zavisi od vrste ćelije i veoma varira, ali uopšteno gledano proteina ima koliko i lipida [90]. Ukoliko se analizira odnos broja lipidnih molekula prema broju proteinskih molekula, lipidnih ima mnogo više zbog njihovih daleko manjih dimenzija. Ćelijsku membranu prokariotske ćelije odlikuje veća prosečna zastupljenost proteina, ima ih oko 75%, dok lipida ima svega 25%, zbog toga ćelijska membrana prokariota ima veću prosečnu debljinu od ćelijske membrane eukariotske ćelije. Naime, ćelijska membrana eukariotske ćelije je debljine 7-8 nm dok je prokariotske 8-10 nm. Prokariotske ćelije imaju veći udeo proteina u svojim ćelijskim membranama od eukariotskih ćelija zato što njihovi proteini formiraju raznovrsne proteinske komplekse na kojima se vrši oksidacija, fotosinteza ili sinteza proteina, dok tu ulogu kod eukariotske ćelije vrše organele.



[90] Elektronmikrografija ćelijskih membrana

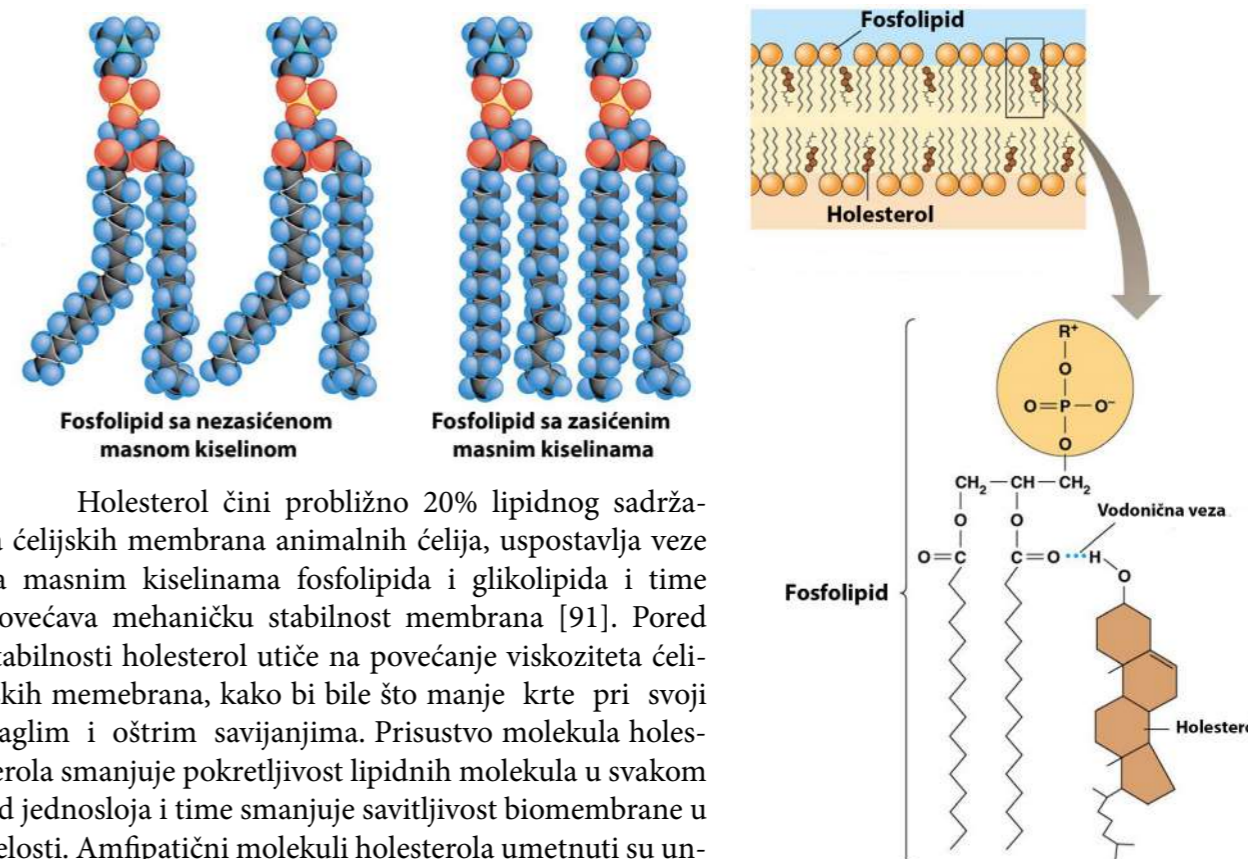
### Lipidi biomembrana

Ranije je već objašnjeno da su lipidni molekuli koji učestvuju u izgradnji biomembrana polarizovani, jer poseduje hidrofilan region - glavu i hidrofoban region - rep. Ovakvi amfipatični lipidni molekuli u vodenoj sredini se ponašaju karakteristično jer grade spontano orga-

nizovane membranoličke površine ili loptaste micelle. Te strukture mogu da budu formirane od jednog ili dva lipidna sloja. U slučaju da jedan lipidni sloj formira micelu onda su glave lipidnih molekula okrenute spolja a repovi u unutrašnjosti micelle [39]. Dok ako dva lipidna sloja formiraju lipozom onda su glave unutrašnjeg jednosloja okrenute prema unutrašnjosti lipozoma i glave spoljašnjeg jednosloja okrenute prema spoljašnjosti, a hidrofobni repovi oba lipidna jednosloja okrenuti jedni ka drugima. Površina lipozoma je obrazovana od lipidnog dvosloja dok je u unutrašnjosti zarobljen deo vodene sredine u kojoj su nastali [40]. Veštački lipozomi pokazali su se izuzetno značajnim u izučavanju osobina biomembranskih lipida. Kombinacija različitih lipidnih molekula u izgradnji različitih modela lipozoma objašnjava osobine koje imaju prirodne biomembrane. Pored naučne lipozomi imaju i praktičnu primenu jer u njihovu unutrašnjost mogu da se unesu lekovi ili katalizatori hemijskih reakcija u ćeliji. Tako formirani lipozomi sa odgov-

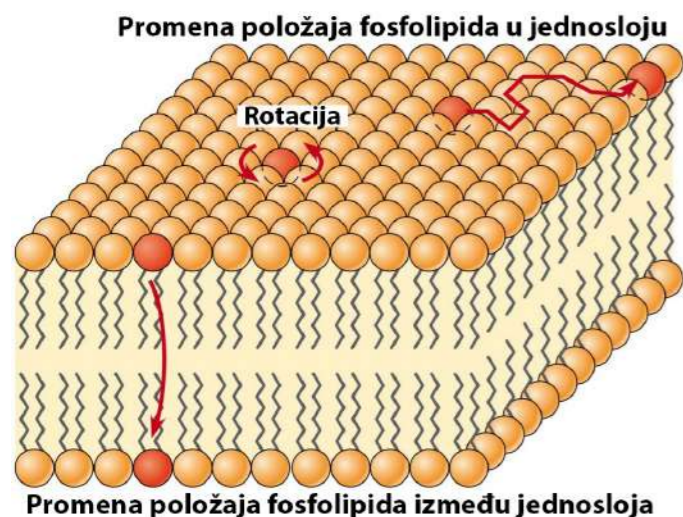
arajućom hemijskom supstancom u svojoj unutrašnjosti lako ulaze u ćeliju jer se njena ćelijska membrana fuzioniše sa lipozomima. U organizmu lipozomi ulaze lako u ćelije gde oslobađaju svoj sadržaj. Ćelije imunog odgovora organizma ih ne prepoznaju kao strano telo jer su izgrađeni od lipidnih molekula istih kao i ćelijska membrana, a i ako ih prepoznaju onda oni svoj sadržaj prazne u ćelije imunog sistema nakon što ih ćelije imunog sistema "progutaju". Lipidni molekuli biomembrana eukariotskih ćelija su: fosfolipidi, glikolipidi i u životinjskim ćelijama holesterol. U ćelijskim membranama prokariotskih ćelija prisutni su fosfolipidi i glikolipidi. Fosfolipidi ćelijske membrane dele se na glicerofosfolipide i sfingofosfolipide. Najprisutniji glicerofosfolipidi su fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin (kefalin), fosfatidilholin (lecitin), a najvažniji sfingofosfolipid je sfingomijelin. Glikolipidi uvek učestvuju u izgradnji spoljašnjeg, vanćelijskog jednosloja, dok ih u unutrašnjem jednosloju prema citoplazmi nikada nema. Glikolipide odikuju ugljeni hidrati koji su za njih vezani u nivou njihovih glava. Oni su uglavnom elektro neutralni molekuli oligosaharida sa jednim ili više ostataka sijalinske kiseline.

Procenat zastupljenosti pojedinih fosfolipida i glikolipida, kao i holesterola umnogom zavisi od tipa ćelije i najveća je razlika između prokariotske i eukariotske animalne ćelije. Prokariotske ćelije u svojim ćelijskim membranama imaju veći procenat fosfolipida od ukupnog procenta lipida od animalnih ćelija. Ova karakteristika doprinosi do sad već spomenutoj asimetričnosti biomembrana. Fosfolipidni molekuli biomembrana pored gradivne uloge imaju i ulogu u održavanju njenog permeabiliteta. U središtu ćelijske membrane fosfolipidni repovi se sučeljavaju i povezuju nekovalentnim vezama koje sprečavaju cepanje ćelijske membrane na dva lista: na spoljašnji i unutrašnji jednosloj. Fosfolipidi obrazuju lipidni dvosloj i tako formiraju ležišta za proteine biomembrana koji su uključeni u mnoge metaboličke procese. Takođe, fosfolipidi često imaju aktivnu ulogu jer direktno utiču na osobine i stanje proteina biomembrana [91].



[91] Šematski prikaz fosfolipida i veze fosfolipida sa holesterolom

Molekuli holesterola stabilizuju lipidni dvosloj ćelijske membrane i ograničavaju kretanje okolnih fosfolipidnih molekula. Prisustvo molekula holesterola u ćelijskoj membrani animalnih ćelija obezbeđuje stalnost lipidnog sastava oko proteina u membrani što je neophodno za enzimsku aktivnost proteinskih molekula. Lipidni molekuli su pokretni i značajno doprinose fluidnosti biomembrana. Na stepen fluidnosti lipidnog dvosloja utiče zastuljenost zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. Zasićene masne kiseline u lipidnim molekulima biomembrana čine ih krućim i manje pokretljivim i obrnuto, nezasićene masne kiseline čine ih fluidnijim i pokretljivijim. Temperatura je bitan faktor za fluidnost biomembrana, naime, utvrđeno je da su biomembrane viskoznije na nižim temperaturama. Važnost temperature u građi biomembrana pokazana je na primeru ćelija bakterija i kvasca, koje prilagođavaju sastav masnih kiselina i lipida u izgradnji svojih biomembrana u odnosu na temperaturu koja ih okružuje. Ako su ove ćelije na nižim temperaturama u svoje biomembrane ugrađuju lipide izgrađene od nezasićenih masnih kiselina i obrnuto, ako su na višim temperaturama u svoje membrane ugrađuju lipide od zasićenih masnih kiselina.



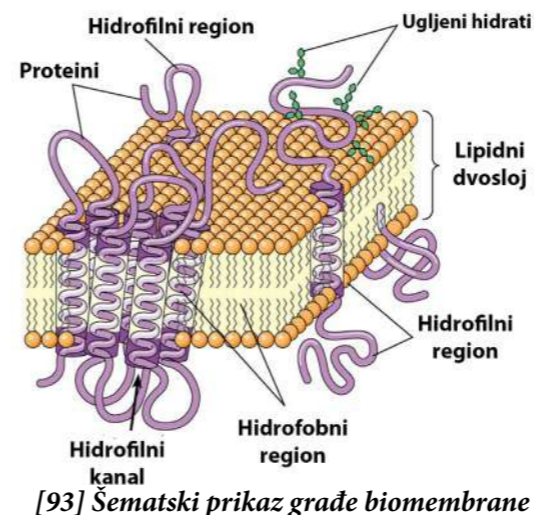
[92] Šematski prikaz tri moguća načina promene položaja lipida u biomembrani

### Proteini biomembrana

Molekuli proteina koji izgrađuju sve biomembrane uronjeni su u lipidni dvosloj ili su postavljeni na njegovoj površini, a svi zajedno doprinose mozaičnom izgledu biomembrana. Proteini biomembrana imaju vitalni značaj za nju osim što je izgrađuju, učestvuju u transportu materija kroz membranu i komunikaciji ćelija se okolinom [93]. Zbog svih uloga koje proteini imaju u biomembranama veoma su raznovrsni. Kako bi se ova raznovrsnost što bolje predstavila i objasnila proteini se dele na osnovu pozicije i funkcije. Prema poziciji u odnosu na lipidni dvosloj razlikuju se dve kategorije molekula proteina u biomembranama: periferni i integralni.

1. Periferni membranski proteini su prisutni sa obe strane biomembrana i međusobno se razlikuju po svom položaju u odnosu na lipidni dvosloj i po molekulskoj masi koja se kreće od 20 do 240 kDa. Raznoliki su u odnosu na svoj položaj prema integralnim proteinima biomembrana kao i prema pridodatim ugljenim hidratima. Ovi proteini se nalaze van lipidnog dvosloja, nisu uronjeni između lipidnih molekula ali su slabim elektrostatičkim silama vezani za hidrofilne glave fosfolipida ili za integralne proteine ćelijske membrane. Kako vanćelijski tako i citoplazmatski periferni proteini mogu uspostavljati nekovalentne veze sa transmembranskim proteinima ili biti vezani za lipidni dvosloj posredstvom ugljene hidratne komponente, tj. adsorbovanih glikoproteina. Najveći deo ovih proteina raspoređen je na unutrašnjoj cito-

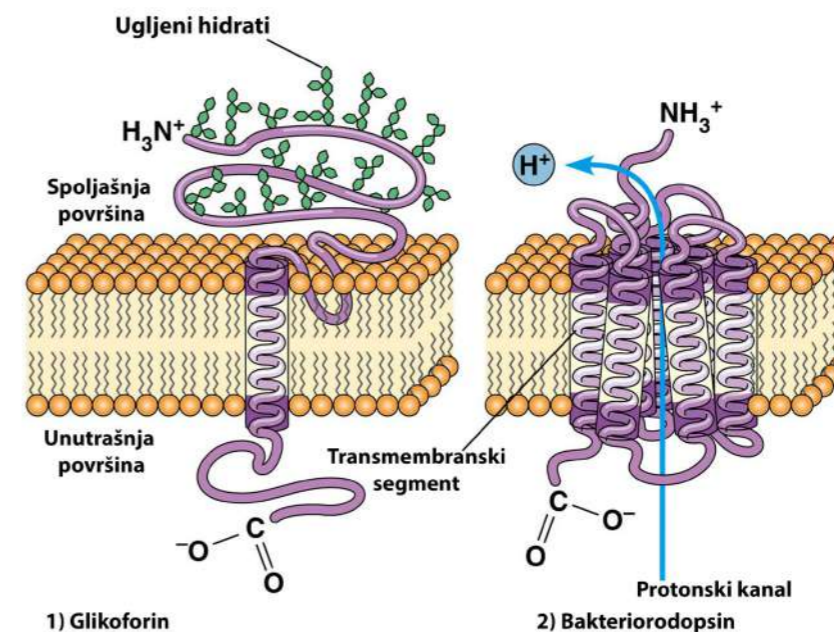
Ako su pokretljivost lipidne komponente biomembrana ostvaruje se pokretanjem pojedinačnih lipidnih molekula u okviru oba lipidna jednosloja. Lipidi u okviru jednosloja mogu da se rotiraju oko svoje ose, a mogu se pokretati bočno u ravni svog lipidnog jednosloja. Lipidni molekuli mogu da razmenjuju mesto sa drugim lipidnim molekulima iz jednog jednosloja u drugi [92]. Sfingolipidi i holesterol u biomembranama udružuju se i obrazuju pokretne platforme, tj. lipidna ostrvca - raftove koji se dalje udružuju sa proteinima ćelijske membrane i stvaraju veoma pokretne mikrokomplekse koji primaju signale iz okoline ćelije.



[93] Šematski prikaz građe biomembrane

Integralni proteini uspostavljaju kovalentne veze sa fosfolipidima iz ćelijske membrane, tako što se ove veze formiraju između hidrofobnih regiona proteina i hidrofobnih regiona fosfolipida.

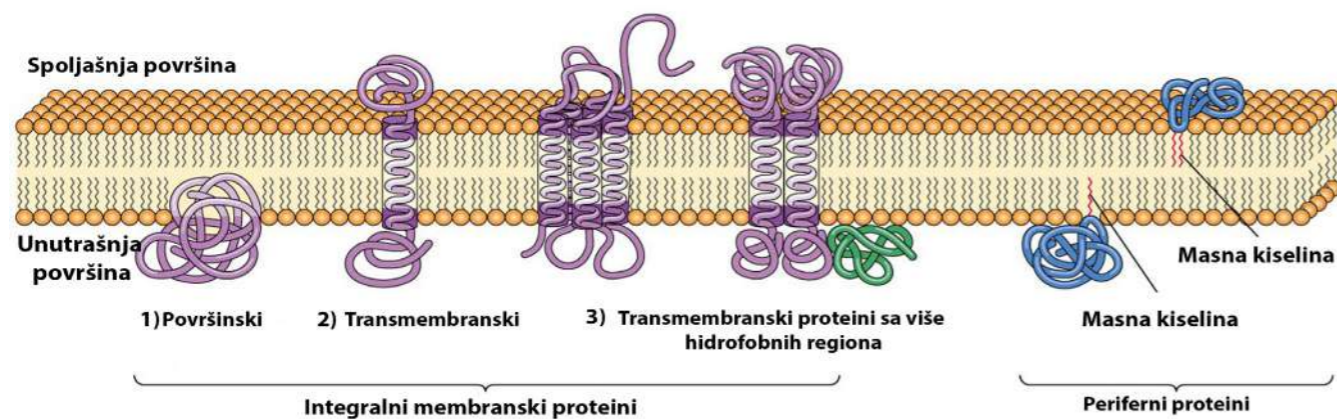
Transmembranski proteini prolaze kroz ćelijsku membranu i iz nje u manjoj ili većoj meri izviruju sa jedne strane u citoplazmu a sa druge u vanćelijsku sredinu. Oni često imaju za sebe vezane oligosaharidne komponente i tako obrazuju glikoproteine. U slučaju da se za integralne proteine prikače oligosaharid, tj. kratki granati ugljeni hidrati, tada nastaju glikoproteini. Međutim, ako se za integralne proteine prikače polisaharidi, tj. dugački nerazgranati ugljeni hidrati, time nastaju proteoglikani. Integralni transmembranski proteini ćelijskih membrana su amfipatični molekuli, jer poseduju hidrofilne i hidrofobne regione. Hidrofilan region izviruje u citoplazmu ili vanćelijsku sredinu dok se hidrofoban region nalazi u ćelijskoj membrani.



[94] Šematski prikaz građe integralnih proteina u biomembrani

Primer integralnog transmembranskog proteina koji poseduje samo jedan hidrofobni region smešten u lipidnom dvosloju je glikoforin [94]. On je protein biomembrane crvenih krvnih zrnaca koja je najbolje izučena i smatra se model-sistemom za izučavanje biomembrana. Glikoforin pripada grupi glikoproteina, lanac mu je izgrađen od 131 aminokiseline, prolazi kroz lipidni dvosloj samo jednom i taj region koji

prolazi kroz lipidni dvosloj obrazovan je od 22 aminokiseline organizovanih u alfa zavojnicu. Hidrofilni deo koji štrči u vanćelijsku sredinu obuhvata veći broj aminokiselina od hidrofilnog citoplazmatičnog dela. Vanćelijski hidrofilni region na sebi nosi oligosaharidnu komponentu koja predstavlja oko 60% molekulske mase glikoforina. Glikoforinski molekuli su brojni u ćelijskim membranama eritrocita i ima ih oko million na jednom eritrocitu, a njihova oligosaharidna komponenta određuje M i N krvne grupe ljudi. Ćelijska membrana crvenih krvnih zrnaca ima još jedan karakterističan protein koji se naziva traka 3 i koji kroz lipidni dvosloj prolazi čak četrnaest puta. Protein traka 3, nosi ovo ime jer je dugačak kao traka a broj 3 nosi jer zauzima treću poziciju u odnosu na ostale proteine pri njihovom elektroforetskom ispitivanju. Hidrofobni regioni polipeptidnog lanca proteina traka 3 organizovani su u alfa zavojnice i postavljene su u vidu dimera. Postojanje brojnih perifernih i integralnih transmembranskih protein kao i glikoproteina i svih razlika koje postoje između njih doprinosi asimetričnosti biomembrana. Naime, lipidni dvosloj prema spoljašnjoj sredini ćelije razlikuje se od lipidnog dvosloja prema citoplazmi iste biomembrane. Takođe, lipidni dvosloj je asimetričan i zbog različitog rasporeda fosfolipida u lipidnim dvoslojevima [95].

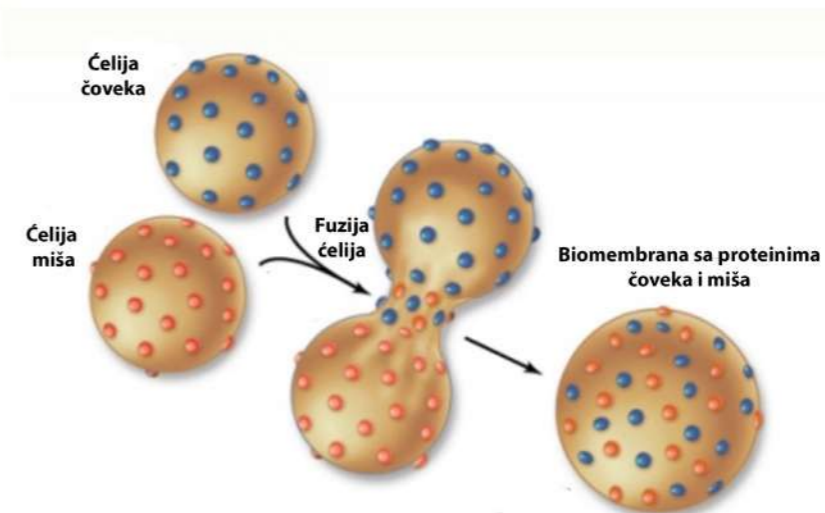


[95] Položaj proteina u biomembrani

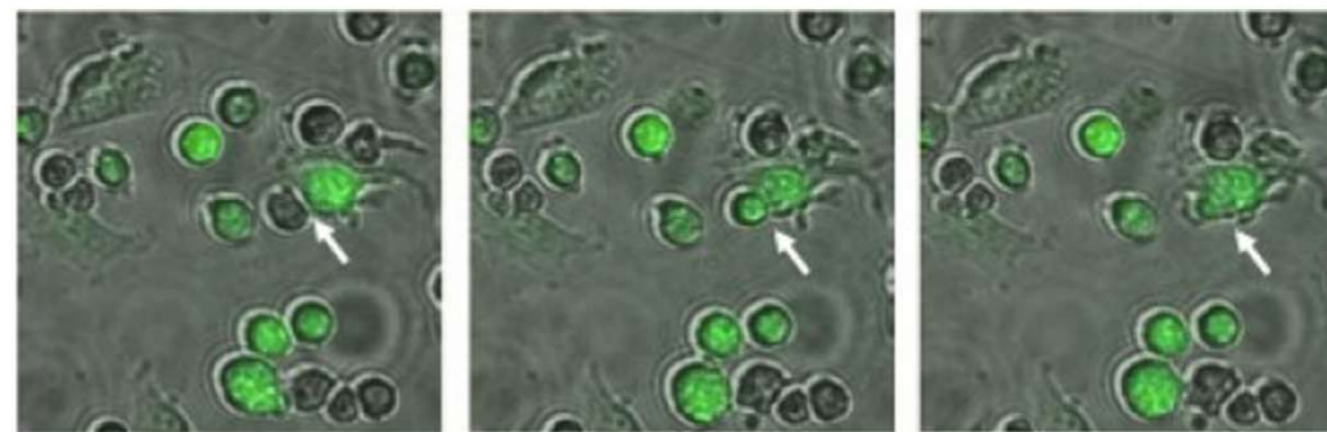
Kretanje proteinskih molekula u lipidnom dvosloju doprinosi fluidnosti biomembrana. Proteinski molekuli mogu da se slično lipidnim molekulima u membrani pokreću na više načina. Neki od njih mogu da klize u dvosloju nošeni fluidnošću lipidnih molekula. Transmembranski proteini mogu da se rotiraju oko svoje duže ili kraće ose u fosfolipidnom dvosloju. Drugi su onemogućeni da se pomeraju zahvaljujući svojoj povezanosti sa citoplazmatičnim perifernim proteinima unutrašnjeg ćelijskog skeleta. Sposobnost kretanja proteina biomembrana dokazana je eksperimentalno pomoću antitela proizvedenim na određen membranski protein ili pomoću molekula obeleživača koji se vezuju za oligosaharidnu komponentu glikoproteina. Ukoliko se za antitelo na proteine biomembrane veže fluorescentna boja na površini ćelije videće se fluoresciranje boje i uočiće se promena mesta proteina. Postoje i multivalentna fluorescentna antitela ona povezuju za sebe više proteina biomembrana u isto vreme i proizvode njihovo veštačko grupisanje. Tako da će na površini ćelije nakon nekog vremena fluorescirati grupe proteina privučeni anitelom i izgledaće kao svetleća ostrvca.

Klasičan i veoma ilustrativan eksperiment koji pokazuje fenomen pokretljivosti integriranih proteina kroz biomembrane je fuzionisanje dve ćelije koje potiču od dva različita tipa ćelija, npr. fuzionisanje ćelije čoveka i ćelije miša. Ćelijske membrane ove dve ćelije odlikuju se različitim specifičnim proteinima koji se još dodatno oboje različitim bojama. Proteini ćelijske membrane čoveka oboje se rodaminom, dok se protein ćelijske membrane miša oboje fluoresceinom. Nakon fuzije ove dve ćelije dobijamo ćeliju koja u početku na svom jednom kraju ima samo proteine sa rodaminom, a na drugom kraju ima proteine sa fluores-

centinom. Međutim, nakon samo četrdeset minuta na površini fuzionisane ćelije dolazi do pregrupisanja membranskih proteina i mešanja proteina sa rodaminom i fluorescentinom. Ovaj eksperiment slikovito prikazuje sličan opšti plan građe biomembrana i njihovih proteina, jer proteini ne raspoznaju koji je deo ćelijske membrane ljudski a koji mišiji nakon fuzije i kreću se po oba [96 i 97]. Takođe, eksperiment bez sumnje dokazuje pokretljivost proteina u biomembranama nakon njihovog fuzionisanja.



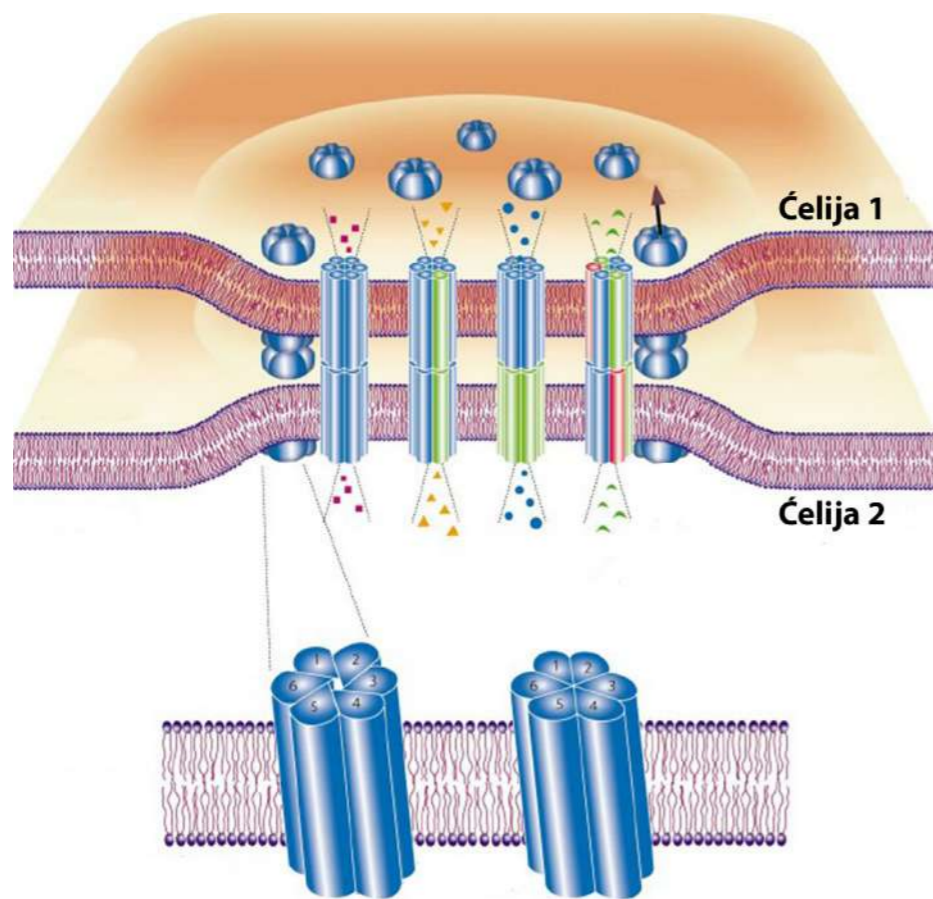
[96] Šematski prikaz fuzionisanja dve ćelije



[97] Mikrografija fuzionisanja dve različite ćelije u jednu (bele strelice)

Pokretljivost integralnih transmembranskih proteina biomembrana eukariotskih ćelija može biti sprečena ili umanjena. Neki od transmembranskih proteina mogu biti povremeno ili stalno udruženi sa kompleksima proteina citoskeleta iz citoplazme. Sa ekstracelularne (vanćelijske) strane biomembrana može doći do povremenog udruživanja transmembranskih proteina sa molekulima koji su prisutni u vanćelijskoj sredini. Takođe, brojne su ćelije koje privremeno ili stalno uspostavljaju komunikacijski kontakt sa susednim ćelijama posredstvom transmembranskih proteina i zbog toga je pomeranje proteina u lipidnom dvosloju sprečeno. Međusobni kontakti između dve ili više ćelija mogu da budu toliko jaki kad formiraju kanale koji prolaze kroz obe ćelije i fiksni su [98].





[98] Šematski prikaz udruženih transmembranskih proteina ćelijske membrane između dve ćelije

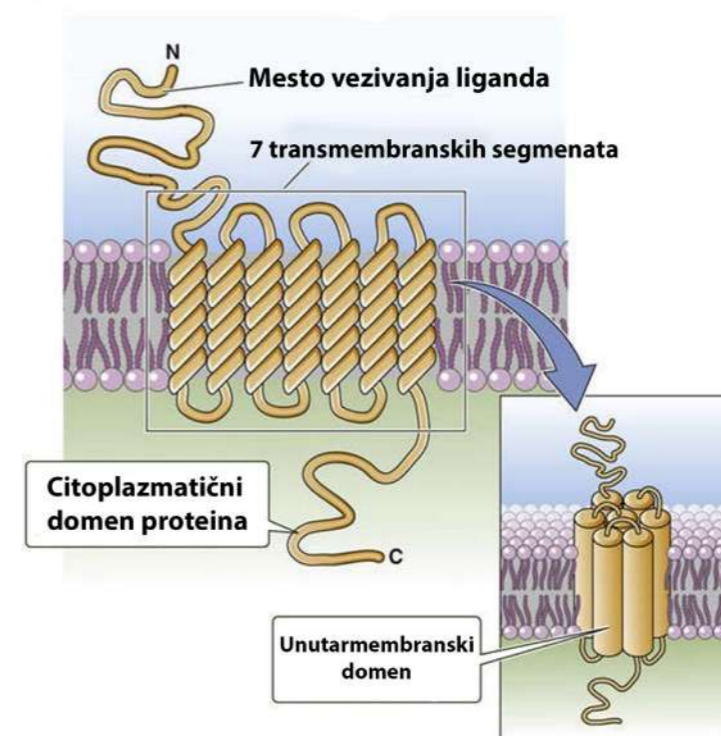
Na osnovu funkcije proteini ćelijske membrane dele se na četiri grupe: transportni, receptori, enzimi i strukturni. Važno je napomenuti da neki od membranskih proteina mogu da vrše veći broj funkcija istovremeno i time otežavaju svrstavanje u jednu od grupa.

#### 1. Transportni protein

Integralni proteini biomembrana uključeni u prenosu supstanci kroz ćelijsku membranu pripadaju grupi transportnih proteina. Ovi proteini biomembrana dele se na kanalne proteine i proteine nosače.

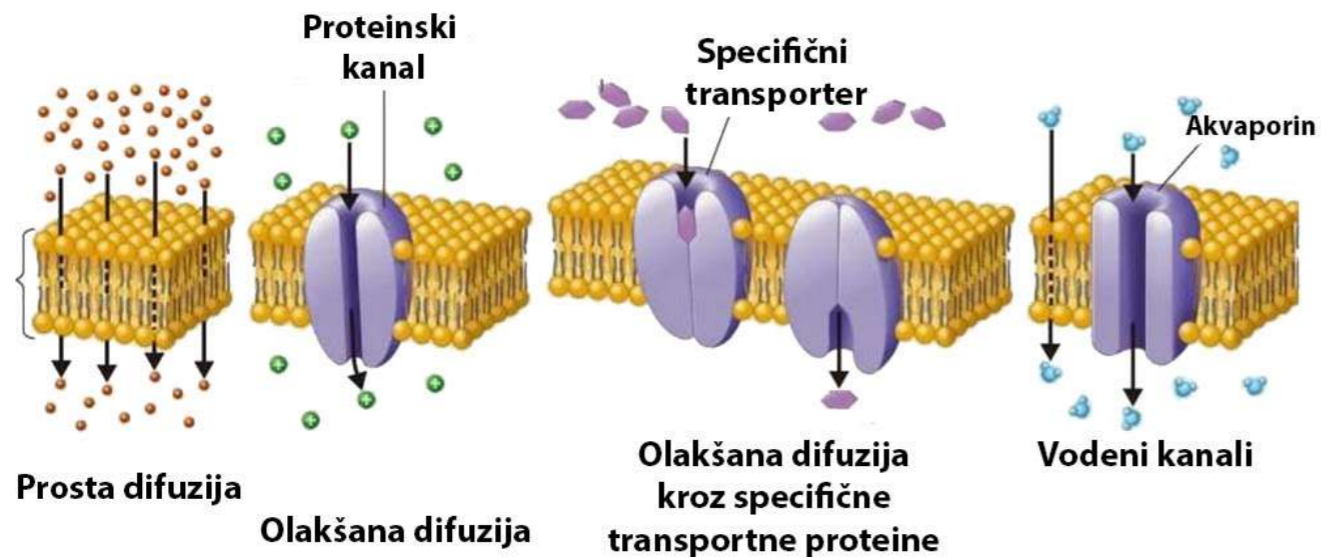
**a. Kanalni proteini** ili proteiniski kanali su organizovani tako da kroz ćelijsku membranu formiraju hidrofилne tunele za prenos jona ili manjih molekula, kao što su molekuli vode ili ugljendioksida. Tako se kanalni proteini za prenos jona zovu jonski kanali. Kanalni proteini imaju specifičnu građu: njihove hidrofилne aminokiseline smeštene su ka njenoj spoljašnjosti i ostvaruju interakcije sa repovima fosfolipidnih molekula, dok su hidrofилne aminokiseline orijentisane ka unutrašnjosti i oblažu unutrašnjost njegovu poru. Kroz jonske kanale prolaze joni i hidrosolubilni (rastvorljivi u vodi) molekuli odgovarajuće veličine, oblika i naelektrisanja. Postoji više od sto različitih tipova jonskih kanala od kojih neki propuštaju samo jednu vrstu jona, dok drugi dozvoljavaju prolaz nekoliko različitih vrsta jona. Jonski kanali su osetljivi prema uticajima iz spoljašnje okoline, ti uticaji deluju na njihovo otvaranje i zatvaranje, pa su oni senzitivni. Senzitivni jonski kanali raspolažu mehanizmima za kontrolisanje njihovog otvaranja i zatvaranja. Pravilo koje vredi za rad kanala je trenutno stanje ćelijske citoplazme, tj. količina jona koji se jonskim kanalom transportuje u ćeliji ili van nje. Ovom tipu kanala pripadaju voltažno zavisni  $K^+$ -kanali kroz koje

neprekidno cure joni  $K^+$  u smeru njihove niže koncentracije (niz elektrohemijski gradijent) nekad cure iz ćelije u spoljašnju sredinu, a nekad obrnuto. Senzitivni jonski kanali u okviru svoje proteinske građe imaju na sebi aktivno mesto ili "vrata" koja se otvaraju u kontaktu sa različitim nadražajima. Ćelija poseduje mehanizme za kontrolu aktivnog mesta i otvaranja i zatvaranja ovih kanala. Protok jona kroz senzitivne jonske kanale moguć je samo u vreme kad su oni otvoreni. Ovi kanali osetljivi su na različite nadražaje pa se prema tome i dele na: voltažno-senzitivne kanale, osetljivi su na promenu naelektrisanje, otvaraju se pri depolarizaciji ćelijske membrane, a zatvaraju se odmah po prestanku depolarizacije; ligand-senzitivni, osetljivi su na dejstvo signalnih supstanci, otvaraju se pri vezivanju specifičnih signalnih molekula koji se nazivaju ligandi za kanalne proteine i ostaju otvoreni sve dok se ta veza ne raskine [99]. Postoje dve vrste liganada - neurotransmiteri (npr. acetilholin i nukleotidi npr. ciklični AMP i ciklični GMP) i mehano-senzitivni kanali, otvaraju se pod uticajem mehaničkih faktora (npr. jonski kanali slušnih ćelija unutrašnjeg uha otvaraju se pri savijanju stereocilija).



[99] Šematski prikaz transportnih proteina u biomembranama

**b. Proteini nosači** su integralni proteini ćelijske membrane koji poseduju u svojoj građi vezujuća mesta za vezivanje jona ili odgovarajućih molekula aminokiselina i monosaharida. Transport kroz jonske kanale ostvaruje se mnogo brže u odnosu na transport proteinima nosačima jer protein nosač uspostavlja slabe veze sa molekulima koji se transportuju. Kada se transportovani joni ili molekuli vežu za protein nosač, on doživljava privremenu konformacionu promenu oblika koja mu omogućava da vezane jone ili molekule oslobodi na drugoj strani ćelijske membrane. Kad oslobodi vezani jon ili molekul protein nosač vraća se u prvobitan oblik. Transport jona ili molekula proteinima nosačima može da bude pasivan ili aktivan. Pasivan transport proteinima nosačima odigrava se niz gradijent koncentracije jona ili molekula koji se prenosi. Aktivan transport proteinima nosačima dešava se nasuprot koncentracionom gradijentu jona ili molekula koji se prenosi. Proteini nosači uključeni u aktivan transport zovu se pumpe, u ćelijskim membranama najzastupljenija je  $Na^+/K^+$ -pumpa. Proteinski nosači se dele na: uniport - kada vrše jednosmerni prenos samo jednog molekula; simport - kada vrše jednosmerni prenos većeg broja molekula; i antiport - kada vrše prenosu u oba smera većeg broja molekula.

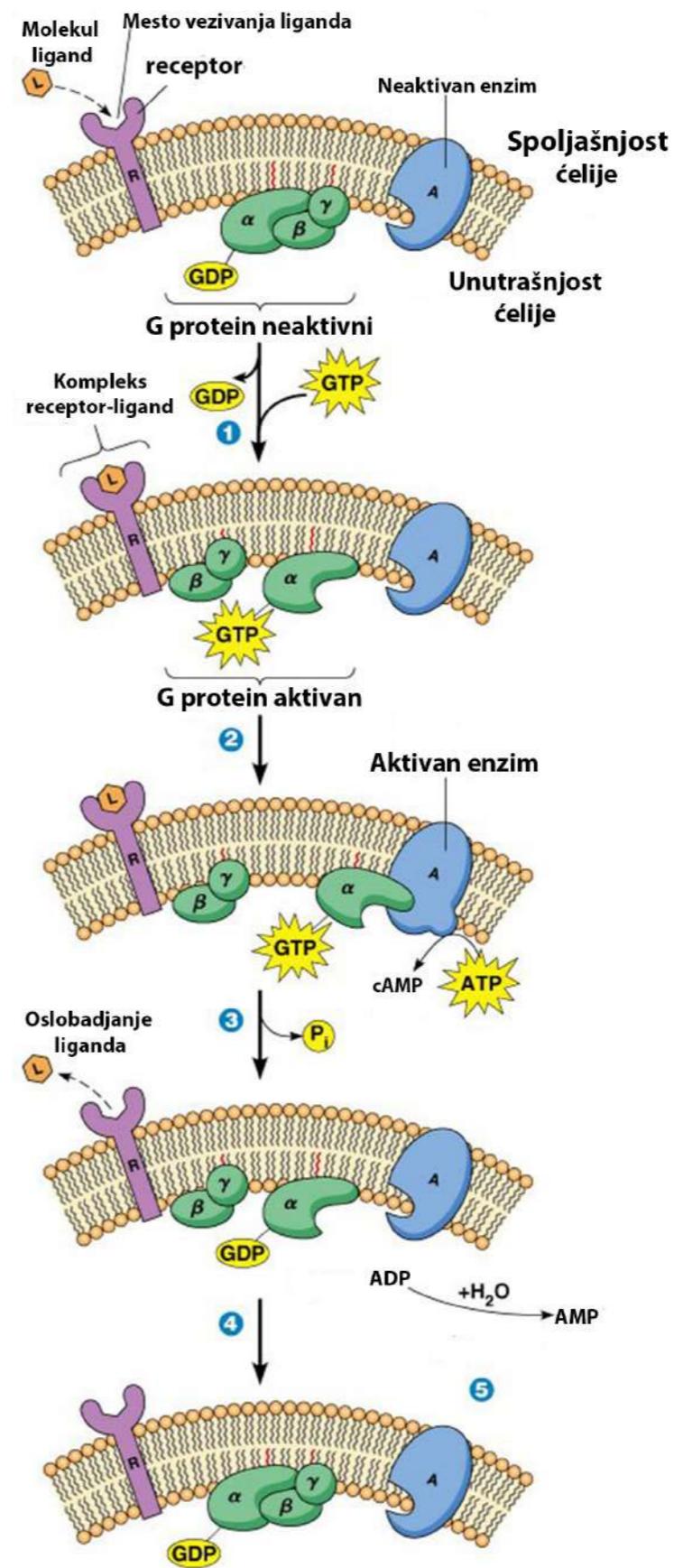


[100] Šematski prikaz različitih oblika transporta molekula kroz biomembrane

## 2. Receptorni proteini

Sve supstance koje koriste mehanizme transmembranskog transporta, ulaze u ćeliju i utiču na procese koji se u njoj događaju [100]. Međutim, brojni makromolekuli ne moraju ući u ćeliju da bi podstakli ili zaustavili neki od procesa nego se zahvaljujući postojanju specifičnih receptora na njenoj površini za koje mogu da se vežu [86], ponašaju kao signali koji u ćeliji posredno pokreću odgovarajuće reakcije. Zahvaljujući receptornim proteinima ćelija prepoznaje druge ćelije, bakterije, viruse, ekstracelularne produkte i promene u ekstracelularnom sadržaju i sa njima uspostavlja kontakte. Receptori su integralni protein ili glikoproteini ćelijske membrane koji poseduju mesto za vezivanje signalnih molekula - liganada i sposobni su za prenošenja signala u unutrašnjost ćelije. Kada signal dospe u ćeliju izaziva reakciju u vidu promena metaboličkih aktivnosti ćelije, iniciranja deobe ćelije ili pokretanje mehanizama programirane ćelijske smrti. Ćelije imunog sistema preko receptornih proteina ili glikoproteina razlikuju sopstvene od stranih ćelija. Pored receptora u ćelijskoj membrani ćelija sadrži i receptore u svojim unutrašnjim biomembranama i oni se nazivaju intracelularni receptori. Premda je spektar signalnih molekula ćelijske aktivnosti veliki, receptori na unutrašnjim mebranama ni iz daleka ne pokazuju toliku raznolikost u načinu na koji u nivou ćelijske membrane primaju signale iz vanćelijske sredine. U osnovi, za to postoje tri tipa receptora: receptori-primaoci signala mogu biti istovremeno i kanali za transport jona; mogu biti funkcijski povezani sa nekim od G-proteina; ili povezani sa enzimima. No bez obzira na te razlike, ovi specifični receptori najčešće su transmembranski proteini [101].

Za jedan broj neurotransmitera tj. supstanci koje sintetišu nervne ćelije i oslobađaju u nivou hemijske sinapse, specifični receptori su transmembranski proteini koji više puta prolaze kroz lipidni dvosloj membrane i njihove podjedinice obrazuju kanal za prolaz određenog jona. Kanal se, kada je signalni molekul vezan za jednu od podjedinica, privremeno otvara, a joni koji tako uđu u ćeliju dovode do odgovarajućih promena. Za razliku od receptora koji su istovremno i kanali za prolaz jona, površinski receptori funkcionišu povezani sa G-proteinom i posredno regulišu aktivnost ciljnog proteina, proteina-mete (enzima ili kanala za prolaz jona), sa kojim nisu u direktnom dodiru. Posrednik je regulatorini protein, G-proten, za koji se vezuje guanozin-trifosfat, GTP. Kada se odgovarajući makromolekul veže za receptor, dolazi do aktivacije G-proteina koji tada aktivira ciljni protein. Svi receptori funkcijski povezani sa G-proteinima su transmembranski proteini koji prolazle dvosloj ćelijske membrane sedam puta [102].



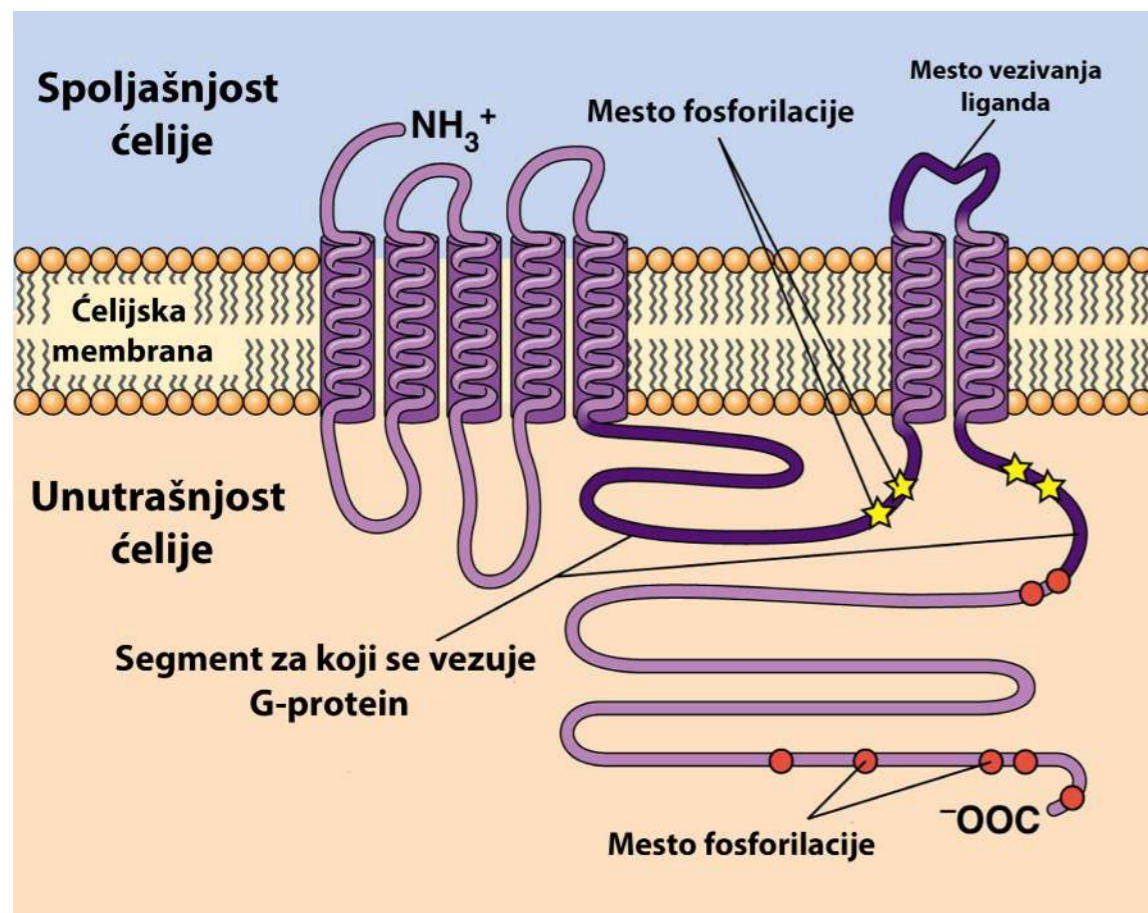
[101] Šematski prikaz uloge G proteina i cAMP-a u prenošenju signala. Aktiviranje enzima na biomembrani pomoću ligand-zavisnog transmembranskog receptora: L-molekul ligand vezuje se za spoljašnju stranu ligand zavisnog transmembranskog proteina i pokreće aktivaciju specifičnog G-proteina izgrađenog od  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  subjedinice; aktivan G-protein uz utrošak energija GTP-a aktivira enzimski transmembranski protein koji vrši svoju funkciju oslobađanja vezanog liganda; kad se ligand oslobodi iz ligand zavisnog transmembranskog proteina, ponovo preko G-proteina završava se i aktivnost enzima

## 3. Proteinski enzimi

Enzimi su integralni proteini ćelijske membrane koji ispoljavaju katalitičko dejstvo na odgovarajući supstrat: dipeptidaze učestvuju u terminalnoj digestiji proteina, a disaharidaze u digestiji ugljenih hidrata. Specifični površinski receptori mogu biti enzimi ili da asociiraju direktno sa enzimom. Svoja katalitička svojstva iskazuju kada se za njih veže odgovarajući signalni makromolekul. Ova grupa receptora odlikuje se raznolikošću, ali je njihova aktivnost najčešće povezana sa protein-kinazama, enzimima koji fosforiluju određene proteine unutar ćelije. U najjednostavnijem slučaju sam receptor je protein-kinaza. Preko ovakvih receptora na aktivnost ćelije deluju insulin, faktor rasta epiderma ili pak faktor rasta krvnih pločica.

## 4. Strkturni proteini

Integralni i transmembranski proteini ćelijske membrane koji učestvuju u formiranju međućelijskih veza, vezvanju citoskeleta za unutrašnju stranu ćelijske membrane i pričvršćivanju ćelije za vanćelijski matriks su strkturni proteini. Ovi proteini su prisutni u specijalizovanim regionima ćelijske membrane i najznačajniji među njima su transmembranski proteini integrini, kadherini i koneksini.



[102] Šematski prikaz receptora na ćelijskoj membrani koji se vezuje za G- protein

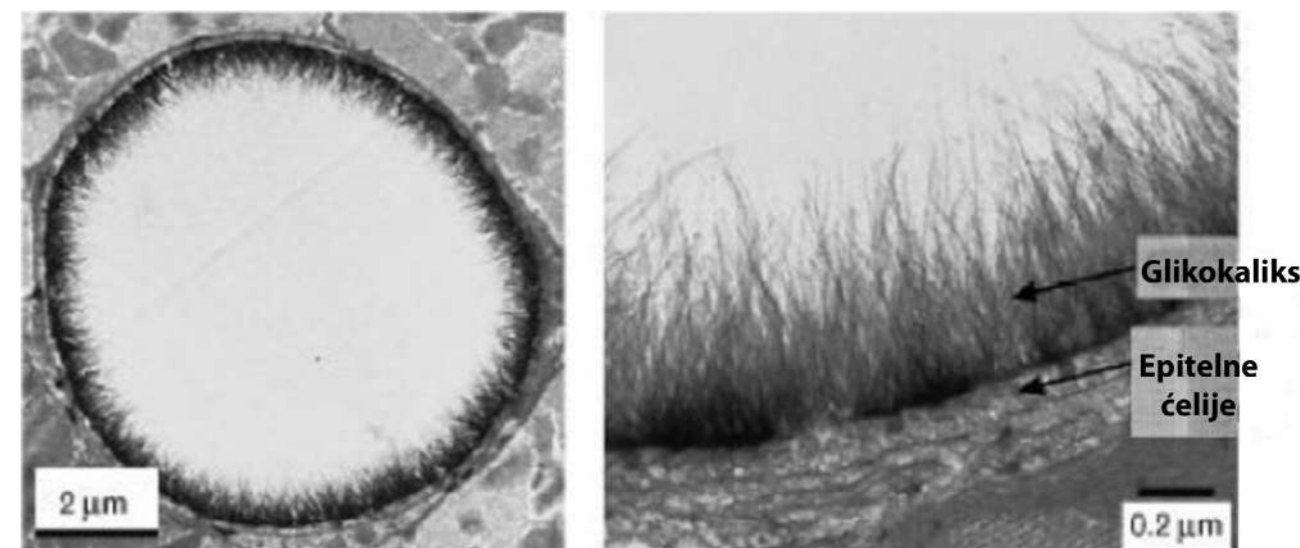
### Ugljeni hidrati biomembrana

Stalna komponenta svih biomembrana su ugljeni hidrati prisutni isključivo na spoljašnjoj, vanćelijskoj površini lipidnog dvosloja, vezani za spoljašnji jednosloj. Na elektronmikrografijama sa transmission-og elektronskog mikroskopa vide se kao somotast omoač priljubljen uz površinu ćelije. Pošto je omotač formiran od ugljenih hidrata biomembrana naziva se još i glikokaliks ili "slatki omotač" [103]. Debljina i gustina glikokaliksa je različita kod različitih ćelija, od onih u obliku četke, mogo njih, pa do diskretnih pojedinačnih. Glikokaliks ima debljinu 2-50 nm, mada na mikrovilama apsorptivnih ćelija u tankom crevu ovaj omotač može biti debeo i do 100 nm. Glikokaliks ima mnogo značajnih uloga za ćeliju, štiti ćeliju od mehaničkih, hemijskih i bioloških faktora. Zbog svog negativnog naelektrisanja glikokaliks odbija negativno naelektrisane čestice. Zaštitna uloga glikokaliksa naročito je značajna kod ćelija koje grade površinski sloj jednjaka, želuca i creva, gde su te ćelije izložene direktno mehaničkom dejstvu hrane, uticaju digestivnih enzima, hlorovodonične kiseline i bakterija. Pored zaštitne uloge, glikokaliks ima i receptorsku i enzimsku funkciju u ćeliji, kao i ulogu u ćelijskoj adheziji, u deobi ćelije, njenom rastu i diferencijaciji.

U izgradni ugljeno hidratne komponente membrane učestvuje dvanaest različitih prostih šećera, kao što su glukoza, manoz, fruktoza, galaktoza... i dr. koji se na veoma različite načine međusobno povezani formirajući pravolinijske polisaharide ili razgranete oligosaharide. Stepenn oligosaharidne i polisaharidne raznolikosti i složenosti je toliki da premašuje raznolikost nukleinskih kiselina. Oligosaharidi povezani za proteine ćelijske membrane formiraju glikoproteine, dok vezivanjem polisaharida za pro-

teine membrane nastaju proteoglikani. U oba slučaja vezivanjem ugljenih hidrata za proteine uspostavlja se kovalentna hemijska veza.

Proteoglikani i glikoproteini su molekuli koji se nalaze u ćelijskoj membrani ali su sastavni deo i vanćelijskog matriksa. Neki od proteoglikana se sekundarno vezuju za ugljene hidrate biomembrana i tako povećavaju somotasti omotač ćelije. Ugljeni hidrati predstavljaju najistureniji deo ćelije jer su prisutni na njenoj površini, oni prvi susreću sve ono što povremeno ili stalno okružuje ćeliju. Kako su proteoglikani sastavni deo vanćelijskog sadržaja, postavlja se opravdano pitanje gde se završava ćelijska membrana a počinje vanćelijska sredina. Ugljeni hidrati svojom lokalizacijom samo sa jedne strane ćelijske membrane doprinose njenoj asimetriji. Iako se sami ne kreću, u ravni ćelijske membrane ugljeni hidrati menjaju svoj položaj posredno zahvaljujući kretanju lipidnih i proteinskih molekula. Preko ugljenih hidrata ćelija prepoznaje i vezuje molekule prisutne u vanćelijskoj sredini i prima signale iz okoline koji utiču na održavanje stabilnosti membranskih glikoproteina. Pored glikoproteina i proteoglikana u izgradnji ugljeno hidratne komponente ćelijskih membrana učestvuju i glikolipidni molekuli.



[103] Elektronmikrografija epitelne ćelije sa glikokaliksnim, omotač od ugljenih hidrata

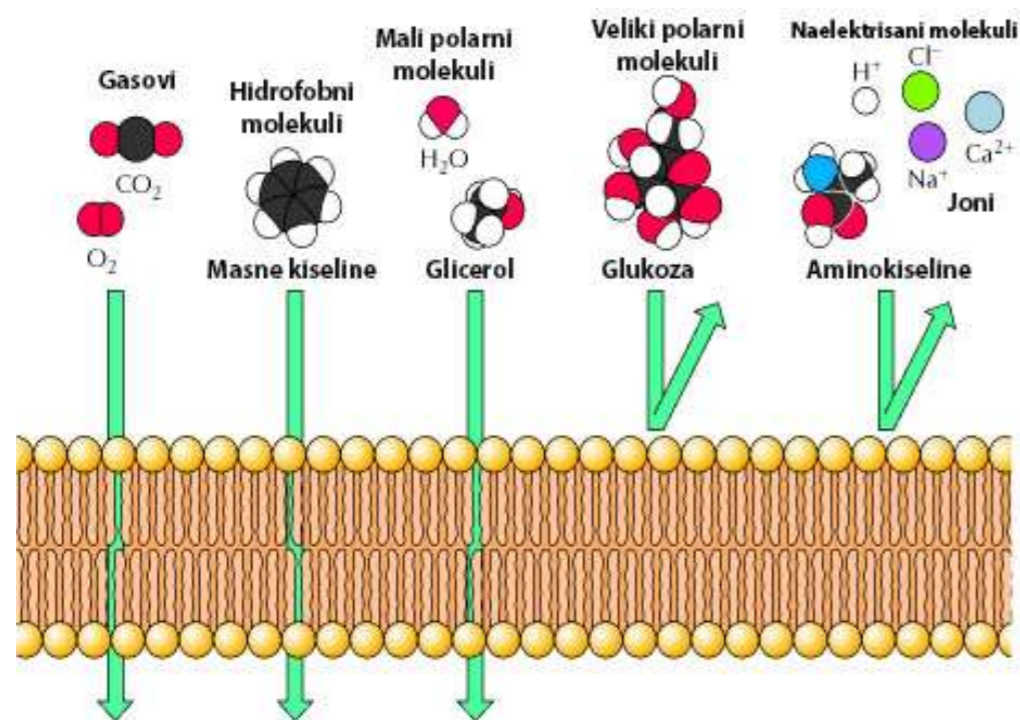
U prepoznavanju i uspostavljanju kontakata između ćelija posredstvom ugljenih hidrata značajnu ulogu imaju lektini. To su proteinski molekuli biomembrana koje odlikuje sposobnost brzog, selektivnog i reverzibilnog vezivanja za ugljeno hidratne komponente druge ćelije. Lektini su ugljeni hidrati koji imaju sposobnost modifikovanja svog molekula u skladu sa fiziološkim ili patološkim stanjem ćelije na čijoj ćelijskoj membrani se nalaze. Ugljeni hidrati ćelijskih membrana menjaju se tokom razvoja organizma, kao i tokom diferencijacije i starenja njegovih ćelija. Oni se razlikuju kod normalnih i patološki promenjenih ćelija. Kod zrelih i diferenciranih ćelija postoji razlika u morfološkom obliku ugljenih hidrata ćelijske membrane u odnosu na mlade i nediferencirane ćelije. U isto vreme postoje razlike između molekula ugljenih hidrata prisutnih na ćelijskim membrana ćelija koje imaju različite fiziološke funkcije u organizmu.

## RAZMENA SUPSTANCI KROZ BIOMEMBRANE

Biomembrane na selektivan i visokouređen način omogućavaju razmenu raznih supstanci između unutrašnje i spoljašnje sredine ćelije. Sve supstance bilo da ulaze ili izlaze iz ćelije moraju da prođu kroz ćelijsku membranu tako što prolaze kroz lipidni dvosloj biomembrana, prenose se kroz njene transportne proteine ili se transportuju pomoću transportnih vezikula. Transport supstanci kroz ćelijsku membranu zavisi od njihove veličine, naelektrisanja i liposolubilnosti - rastvorljivosti u lipidima. Supstance se transportuju kroz biomembrane bez utroška i sa utroškom hemijske energije ćelije. Postoje četiri osnovna načina za razmenjivanje supstanci kroz ćelijske membrane: prosta difuzija, olakšana difuzija, aktivni transport i vezikularni transport. Prosta (prolazak kroz fosfolipidni dvosloj) i olakšana (prolazak kroz proteine membrane) difuzija su dva vida pasivnog transporta za koji se ne troši energija.

### 1. Prosta difuzija

Kretanje molekula i čestica supstanci kroz biomembrane zasnovano na postojanju razlika u njihovoj koncentraciji između unutrašnje i spoljašnje strane biomembrana je prosta difuzija. Molekuli i čestice prolaze kroz biomembranu sa tendencijom da se izjednače njihove koncentracije sa obe strane membrane [100]. Oni se uvek kreću iz sredine sa višom koncentracijom ka sredini u kojoj je njihova koncentracija niža - niz koncentracioni gradijent. Prostim difuzijom u ćeliju transportuju se mali nepolarni molekuli kao što su:  $O_2$ ,  $CO_2$  i  $N_2$ , liposolubilni molekuli poput masnih kiselina i mali polarni nenaelektrisani molekuli kao što su: voda, etanol ili glicerol, za koje lipidni dvosloj ćelijske membrane ne predstavlja prepreku. Naelektrisani molekuli kao što su glukoza ili aminokiseline i joni: vodonika, hlora, kalcijuma, natrijuma ili kalijuma ne mogu proći kroz lipidni dvosloj pasivnom difuzijom čak ni u odnosu na činjenicu da im je molekulska masa veoma mala [104]. Njihov transport odvija se preko već opisanih jonskih kanala.



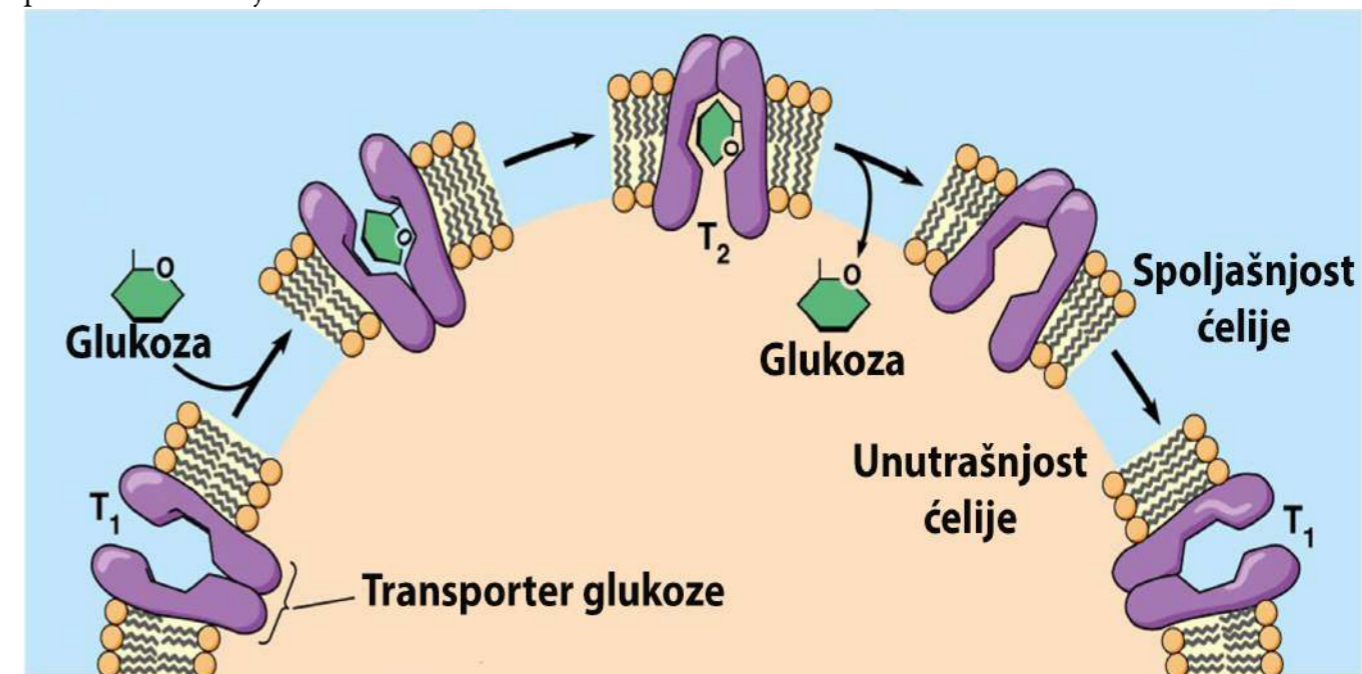
[104] Šematski prikaz mogućnosti prolaska nekih od molekula i jona kroz ćelijsku membranu

Pogledaj link sa animacijom prolaska molekula kroz ćelijsku membranu: [watch?v=ufCiGz75DAk](https://www.youtube.com/watch?v=ufCiGz75DAk)

### 2. Olakšana difuzija

Ovaj tip difuzije može da se odvija kroz proteinski kanal ili kroz prenosnik (transporter) na ćelijskoj membrani, koji olakšavaju difuziju. Ovim mehanizmom transportuju se molekuli glukoze i nekih aminokiselina. Olakšanom difuzijom se transportuju molekuli kroz ćelijsku membranu niz gradijent koncentracije, velikom brzinom iako supstanca nije rastvorljiva u lipidima. Slično prostoj difuziji, transport supstanci olakšanom difuzijom ne zahteva utrošak ćelijske energije, zbog čega se prosta i olakšana difuzija jednim imenom označavaju kao pasivni transport. Prenošenje molekula supstanci olakšanom difuzijom odigrava se posredstvom specifičnih transmembranskih proteina koji su najčešće obrazovani od većeg broja proteinskih podjedinica. Transmembranski proteini mogu formirati prenosnike (transportere) i kanale [105].

Protein prenosnik poseduje specifično mesto za koje se vezuju molekuli koji se prenose. Samo vezivanje molekula koji se prenosi dovodi do konformacione promene celog transmembranskog proteina i ona omogućava da molekul bude ubačen u ćeliju a da pri tome ne dođe u dodir sa lipidnim dvoslojem. Kako hidrofilni molekuli glukoze ili aminokiseline ne bi došli u dodir sa hidrofobnim delom ćelijske membrane, transmembranski protein koji učestvuje u olakšanoj difuziji ima centralnu šupljinu. Na primer molekul glukoze koji je centralni izvor energije i elementarni monomer za izgradnju ugljeno hidratnih polimera, kroz plazmalemu prolazi mehanizmom olakšane difuzije. Posrednik u transportu molekula glukoze je transmembranski glikoprotein čiji polipeptidni lanac formiraju 492 aminokiseline i on dvanaest puta prolazi kroz lipidni dvosloj. Šest od tih dvanaest regiona su hidrofobni transmembranski segmenti koji okružuju šupljinu kanala. Ova šupljina kanala je uvek sa jedne strane membrane dostupna za glukoze, nebitno sa koje. Šupljina kanala obložena je hidrofilnim bočnim lancima koji formiraju vodonikove veze sa molekulima glukoze dok se kreću kroz membranu. Kad se molekul glukoze veže na vanćelijskoj strani za posrednik u transportu, komponente šupljine kanala postepeno ga otvaraju prema citoplazmi i glukoza polako ulazi u ćeliju.



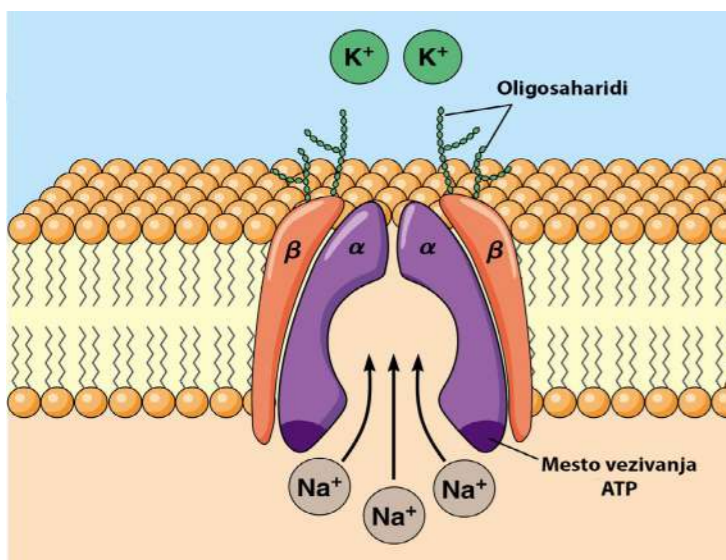
[105] Šematski prikaz olakšane difuzije za prenos molekula glukoze: transporter glukoze je transmembranski glikoprotein prenosnik, T1 je pozicija transportera kada je otvoren prema spoljašnjosti ćelije i spreman za preuzimanje molekula glukoze, T2 je pozicija transportera kada je zatvoren prema spoljašnjoj sredini ali se otvara prema unutrašnjosti ćelije da bi oslobodio molekul glukoze koji je preuzeo

Mikroorganizmi sintetišu hidrofobne proteinske molekule - jonofore, koji su rastvorljivi u lipidima, nalaze se u ćelijskoj membrani i povećaju propustljivost za određene jone. Jonofore su mnogo korišćene za ispitivanje mehanizma prolaska jona kroz membrane i to jonofore: gramicidin A i valinomycin. Gramicidin A je protein organizovan u vidu jonofore koje formiraju pore kroz koji prolazi protoni. Valinomycin je pokretni jonofora-nosač jona kalijuma, on klizi kroz lipidni dvosloj. Na spoljnoj strani membrane "uhvati" jon kalijuma, uvlači se zajedno sa jonom u lipidni dvosloj, potom difunduje kroz njega i izlazi na unutrašnjoj strani, citoplazmatičnoj, lipidnog dvosloja i tamo "ispusti" jon u citoplazmi. Ovaj način prenosa materije je olakšana difuzija i naziva se još i šatl sistem prenosa.

### 3. Aktivni transport

Prenos supstanci kroz biomembranu nasuprot njihovom gradijentu koncentracije, supstance prelaze iz sredine u kojoj su u nižoj koncentraciji u sredinu u kojoj su prisutne u višoj koncentraciji ili transport "uzbrdo" [106] predstavlja aktivni transport. Za ovaj vid transporta neophodna je energija obezbeđuje na račun hidrolize ATP-a, transmembranskog gradijenta ili kuplovanim transportom elektrona. Kuplovani transport elektrona je reakcija između dva jedinjenja gde usled preraspodele njihovih elektrona jedinjenje koje nastaje je u mogućnosti da absorbuje svetlosnu energiju.

Normalno odvijanje biohemijskih procesa u ćeliji zasnovano je na održavanju razlika u jonskom sastavu između unutarćelijske i vanćelijske sredine. Koncentracija jona natrijuma, kalijuma i hlora značajno se razlikuje u ove dve sredine. Tako u citoplazmi ima mnogo više jona kalijuma i vodonika dok u vanćelijskoj sredini ima daleko više jona natrijuma, hlora, kalcijuma i magnezijuma. Održavanje stalnog pH ćelija u granicama između 7,1 i 7,2 nužnog za normalno odvijanje enzimskih procesa u mnogome je zasnovano na razmenjivačima jona natrijuma i vodonika, kao i na razmenjivačima jona hlora i bikarbonatnih jona. Transporteri jona su transmembranski proteini i funkcijски su selektivni - neke jone propuštaju a druge ne. Ovi transmembranski proteini su proteini nosači, jonski razmenjivači i zovu se pumpe. Najznačajnija među njima je natrijumsko-kalijumska pumpa -  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpa. Ona je prisutna u većini ćelija životinja i odgovorna je za održavanje razlike u koncentraciji jona  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  između unutarćelijske i vanćelijske sredine. Pumpe su svi transporteri koji učestvuju u aktivnom transportu a ne samo one koje prenose jone.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpa sa vanćelijske sredine poseduje dva vezujuća mesta za jone  $\text{K}^+$ , a na citoplazmatičnoj strani tri vezujuća mesta za jone  $\text{Na}^+$  i deo koji ispoljava ATP-aznu aktivnost (natrijum-kalijum ATP-aza). Kada se tri jona  $\text{Na}^+$  vežu za pumpu dolazi do hidrolize molekula ATP-a na ADP i fosfatnu grupu.

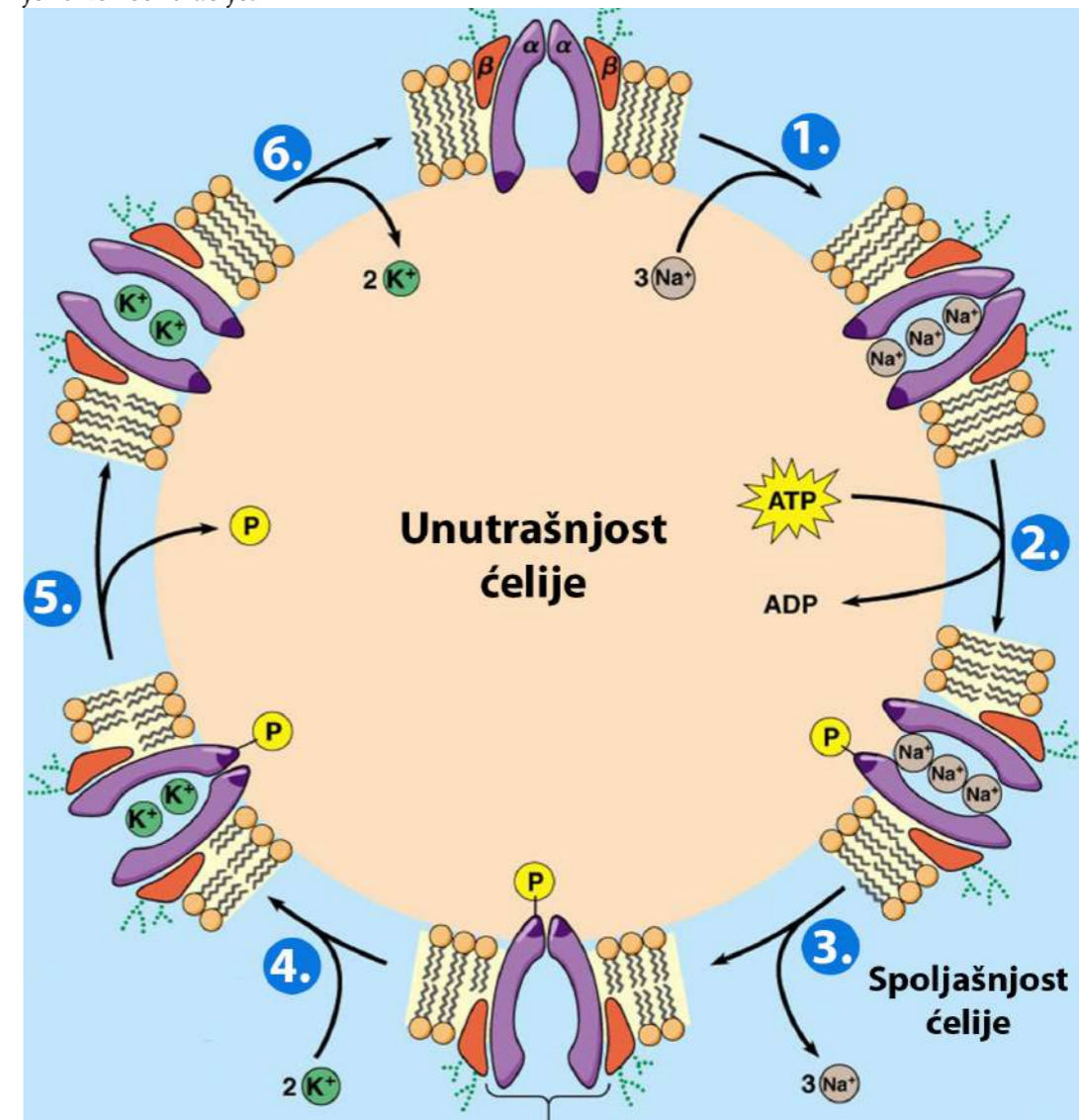


[106] Šematski prikaz transmembranskog proteina  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-aze u aktivnom transportu kroz ćelijsku membranu

Pogledaj link sa animacijom aktivnog transporta kroz ćelijsku membranu: [watch?v=YfoiHrv57b0](https://www.youtube.com/watch?v=YfoiHrv57b0)

Oslobodeni fosfatni jon vrši fosforilaciju  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-aze i dovodi do konformacione promene pumpe koja rezultuje izbacivanjem jona  $\text{Na}^+$  van ćelije. Vezivanje dva jona  $\text{K}^+$  za spoljašnju stranu pumpe izaziva defosforilaciju ATP-aze i vraćanje pumpe u pređašnje stanje praćeno transportom dva jona  $\text{K}^+$  u ćeliju. Dakle,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpa u svakom ciklusu ispumpava tri jona  $\text{Na}^+$  iz ćelije i upumpava dva jona  $\text{K}^+$  u ćeliju. Ovim mehanizmom uspostavlja se negativan električni potencijal u ćeliji i visok koncentracioni gradijent za jone  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  [107].

U nekim tipovima ćelija proteinski prenosioци функциониšu na principu aktivnog ko-transporta, istovremenog transporta na primer određene vrste molekula i određenog jona tako što se jedan od njih prebacuje uz a drugi niz gradijent koncentracije. Primer za ko-transport je unošenje molekula glukoze iz vanćelijske sredine u ćeliju, ali sa molekulom glukoze na istoj proteinskoj pumpi u ćeliju ulaze i joni natrijuma [108]. Transport se odvija tako što joni natrijuma idu niz, a molekuli glukoze uz koncentracioni gradijent. [109] Koncentracija glukoze je viša u ćeliji i potrebno je da molekuli glukoze uđu u ćeliju, ali uneti jon natrijuma menjaju razliku koja u njihovoj koncentraciji postoji između unutarćelijske i vanćelijske sredine. Joni natrijuma se sekundarno izbacuju  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-aznim membranskim pumpama van ćelije. Ko-transportni mehanizmi omogućavaju i prolaz malih molekula aminokislini kroz membranu. Uneti joni natrijuma zajedno sa molekulom aminokiselina se sekundarno vraćaju u vanćelijsku sredinu uz gradijent koncentracije.



[107] Šematski prikaz rada  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpe:

1-vezivanje tri jona natrijuma iz ćelije,

2-hidroliza molekula ATP-a, konformaciona promena i fosforilacija pumpe,

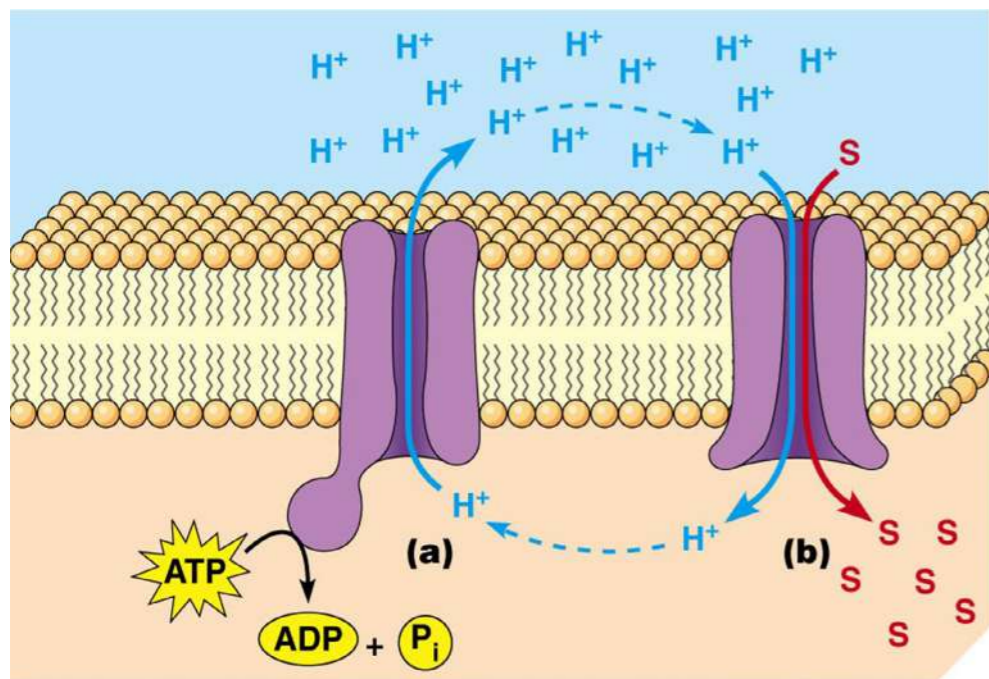
3-izbacivanje jona natrijuma u spoljašnju sredinu,

4-vezivanje dva jona kalijuma iz spoljašnje sredine,

5-konformaciona promena i defosforilacija pumpe i

6-ubacivanje jona kalijuma u ćeliju

Pogledaj link animacije  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpe: [watch?v=uf-CiGz75DAk](https://www.youtube.com/watch?v=uf-CiGz75DAk)



[108] Šematski prikaz ko-transporta za unos supstrata uz pomoć jona vodonika: uz utrošak energije ATP-a, aktivnim transportom, joni vodonika se izbacuju kroz jonski kanal iz ćelije u vanćelijsku sredinu; u vanćelijskoj sredini koncentracija jona vodonika olakšava unos supstrata (S) u ćeliju, tako što zajedno sa njim prolazi kroz drugi protein prenosioč; supstrat nikad ne bi mogao da uđe u ćeliju bez jona vodonika jer mu je koncentracija manja van ćelije nego u njoj

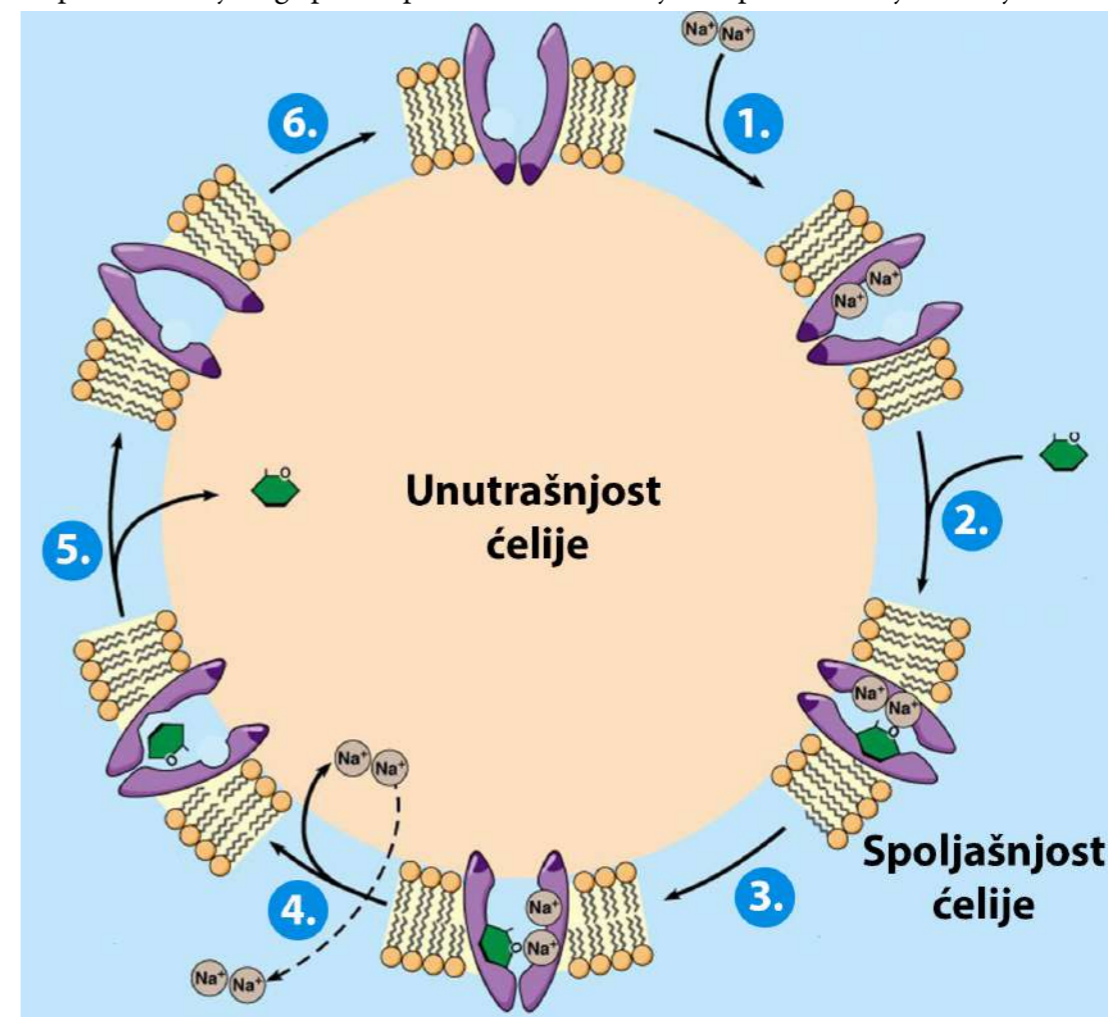
Ćelijsku membranu biljnih ćelija odlikuje prisutvo protonske  $H^+$ -ATP-azne pumpe koja obezbeđuje izbacivanje protona- $H^+$  iz ćelije. Energija koja proističe iz tako uspostavljenog gradijenta veće koncentracije sa spoljašnje strane ćelijske membrane koristi se, uz posredstvo specifičnih prenosnika, za ulazak u vodi rastvorenih molekula šećera i aminokiselina u ćeliju. Ovi prenosnici povezuju pasivan povratak protona u ćeliju sa kretanjem u vodi rastvorenih molekula koji mogu da uđu uz svoj gradijent koncentracije. Protomska  $H^+$ -ATP-azna pumpa onda ponovo izbacuje proton iz ćelije. Voda je nesumljivo glavni sastojak kako ćelija tako i sredine u kojoj se one nalaze, u njih ulazi i iz njih izlazi voda tokom brojnih procesa poput respiracije, regulisanja telesne temperature, odstranjivanja toksičnih materija ili procesa razlaganja. Molekuli vode kroz ćelijsku membranu prolaze na dva načina: prostom difuzijom i posredstvom specifičnih kanala. Lipidni dvosloj je hidrofoban i u maloj meri propustljiv za vodu i ona kroz njega u toj meri prolazi prostom difuzijom. Ovaj vid transpota prevashodno je zasnovan na maloj zapremini i nenaelektrisanosti molekula vode. Smatra se da na njega u najvećoj meri utiče organizacija lipidnih molekula i smanjenje fluidnosti lipidnog dvosloja izazvano temperaturama nižim od fizioloških.

Voda kroz ćelijsku membranu nekih ćelija u najvećoj meri prolazi posredstvom kanala koje obrazuju transmembranski proteini nazvani akvaporini. Ovi kanali služe isključivo za transport molekula vode i odlikuju se tetramernom organizacijom. Proteinski monomeri tetramera akvaporina potpuno su jednaki i svaki ima poru prečnika 0,3 nm. Molekuli vode prolaze kroz pore na monomerima a ne kroz poru na sredini tetramera, ona služi za stabilizaciju akvaporina u lipidnom dvosloju.

Pogledaj link sa animacijom akvaprina ćelijske membrane: [watch?v=6flphGQy498](https://www.youtube.com/watch?v=6flphGQy498)

Akvaporini u ćelijskoj membrani nekih biljnih ćelija učestvuju u kontroli transporta vode između ćelija i tkiva, kao i u osmoregulaciji na nivou pojedinačnih ćelija. Ova funkcija zasnovana je na prisustvu akvaporina ne samo u ćelijskoj membrani nego i na nivou tonoplasta, membrane koja ograničava vakuolu. Zahvaljujući svojoj hidrofobnoj prirodi lipidi kroz membranu prolaze prostom difuzijom. Specifični proteinski molekuli mogu da podstaknu transport lipida kroz mebranu utičući na njega aktivno i tada se on smatra olakšanom difuzijom. Ukoliko se on odvija uz gradijent koncentracije, proteini u njemu aktivno učestvuju a transport se smatra aktivnim. No ovi oblici transporta odnose se samo na nenaelektrisane lipide. Naelektrisani lipidni molekuli poput fosfatidilserina kroz membranu prolaze na način koji je uporediv

sa flip-flop premeštanjem lipidnih molekula iz jednog u drugi lipidni jednosloj. I u ovom slučaju nužni su proteini koji omogućavaju kretanje, dok sam proces zahteva utrošak energije. Identifikovana su bar dva proteina koji omogućavaju kretanje lipida u ćelijskoj membrani i to su flipaza i skramblaza. Molekul koji se umetnuo u spoljašnji vanćelijski lipidni jednosloj ćelijske membrane uspostavio bi kontakt sa proteinom-transporterom koji bi ga potom prebacio u unutrašnji, citoplazmatični jednosloj i obrnuto.



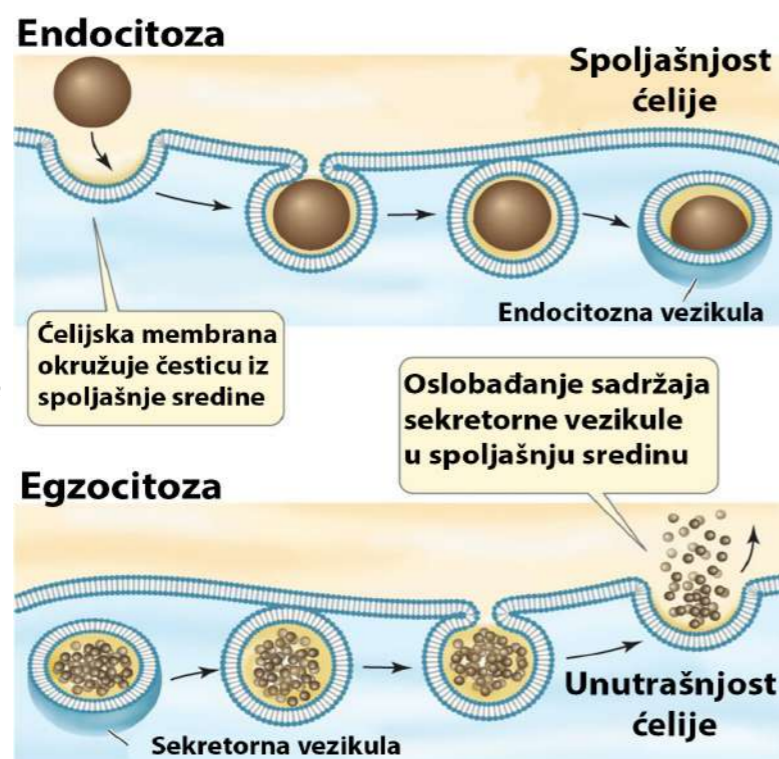
[109] Šematski prikaz ko-transporta molekula glukoze i jona natrijuma u ćeliju: 1-vezivanje dva jona natrijuma u specijalan transmembranski protein koji ima u svojoj strukturi tačno oblikovana mesta za dva jona natrijuma i jedan molekul glukoze, 2- vezivanjem dva jona natrijuma omogućava se vezivanje molekula glukoze iz spoljašnje sredine, 3-konformaciona promena transmembranskog proteina, 4-ulazak dva jona natrijuma u ćeliju (izbacivanje iz ćelije posredstvom  $Na^+-K^+$  pumpe), 5-oslobađanje molekula glukoze u unutrašnjost ćelije i 6-konformaciona promena transmembranskog proteina

#### 4. Vezikularni transport

Efekti prolaska jona, malih molekula, vode, gasova ili primanja signala mogu se lako konstatovati, ali sam proces njihovog prolaska kroz ćelijsku membranu ne može se uočiti na nivou elektronske mikroskopije. Ćelija iz spoljašnje sredine neprekidno uzima rastvorene supstance i makromolekule a u spoljašnju sredinu izbacuje proizvode svog metabolizma. Ovi procesi koji odlikuju većinu eukariotskih ćelija bez obzira na njene specifične funkcijske odlike, podrazumevaju aktivno učešće delova ćelijske membrane, membranskih vezikula i nekih komponenti ćelijskog skeleta. Takođe, procesi unosa i izbacivanja materija iz ćelija vidljivi su na mikrografijama elektronskog mikroskopa, kao i na ćelijama posmatranim na svet-

losnom mikroskopu. Uobičajeno je da se proces unošenja makromolekula i rastvorenih supstanci u ćeliju naziva endocitoza, dok se procesi izbacivanja specifičnih ćelijskih proizvoda ili nekih drugih sastojaka u vanćelijsku sredinu naziva egzocitoza [110].

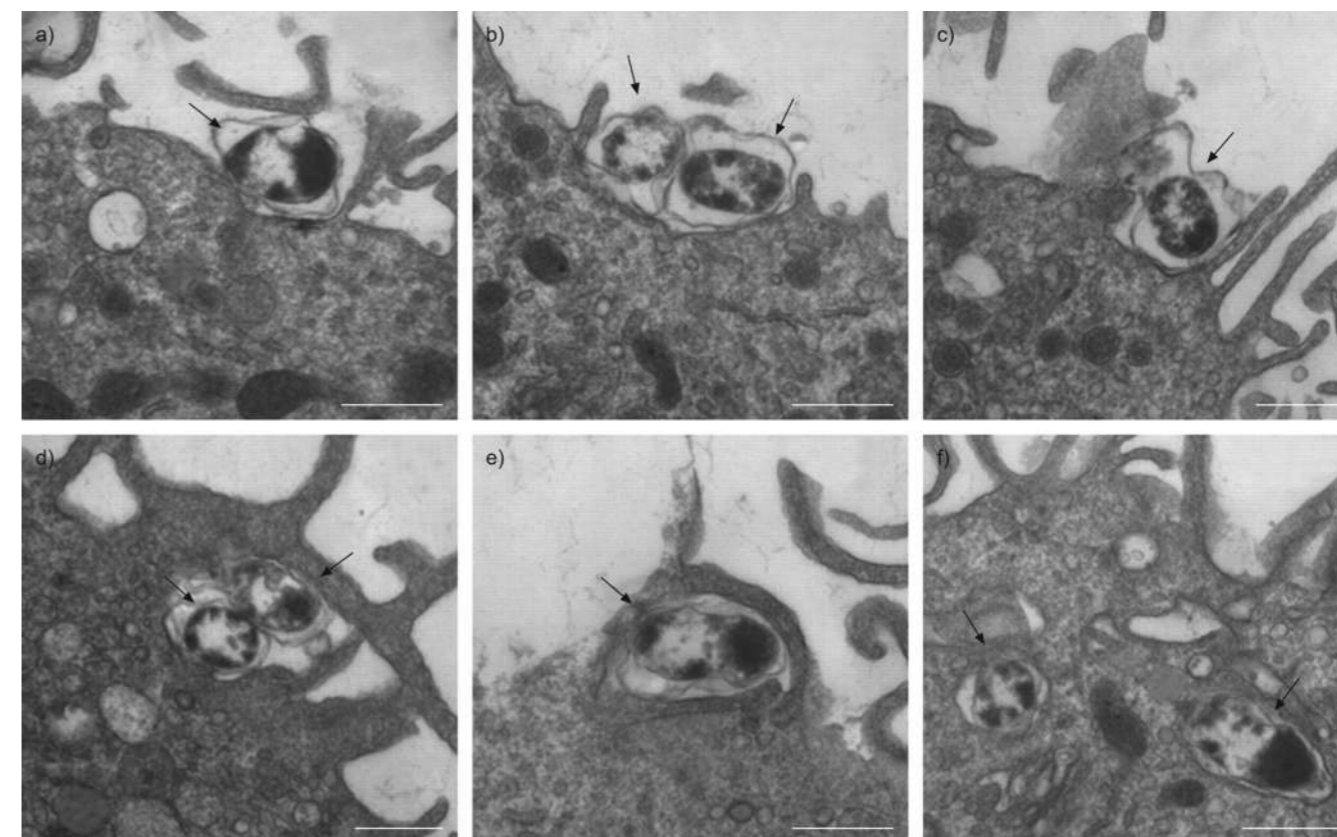
Smatra se da pojam endocitoza u osnovi obuhvata dva tipa procesa, jedan koji se naziva pinocitoza i drugi koji se naziva fagocitoza. Pinocitoza podrazumeva unošenje rastvorenih supstanci koje ćelija predhodno mora specifično da prepozna i odlikuje sve eukariotske ćelije, bez obzira na njihove specifične funkcijske odlike. Fagocitoza podrazumeva uzimanje krupnih partikula poput mikroorganizama ili delova drugih, najčešće mrtvih ćelija kao i nerastvorenih krupnih čestica koje ćelija-uzimalac prepoznaje kao strane. Kao i pinocitoza i kod fagocitoze ćelija mora prvo da specifično prepozna supstance koje unosi. Proces fagocitoze obavljaju kako ćelije koje su za to specijalizovane tako i neki tipovi ćelija koje su samo u određenim uslovima sposobne da ga obave.



[110] Šematski prikaz endocitoze i egzocitoze

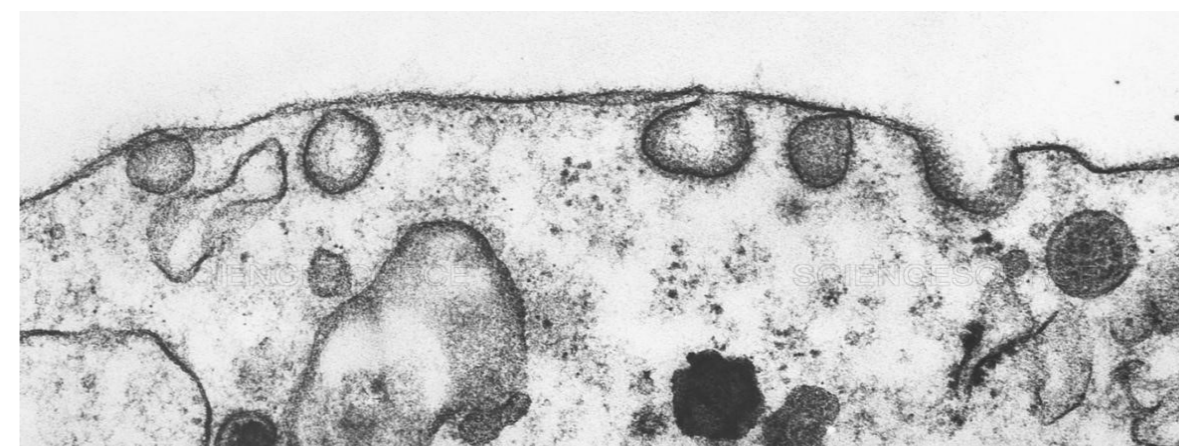
Pinocitoza dovodi do morfološki vidljivih promena na površini ćelije. Na jednom njenom delu prvo se zapaža pojava ulegnuća koje se potom produbljuje postupno obrazujući udubljenje, invaginaciju, unutar koje se nalazi ono što ćelija u sebe unosi. Udubljenje se sve više spušta u citoplazmu a kada se bočne površine membrane koja ograničava invaginaciju u toj meri međusobno približe da dođe do njihovog susretanja, kontinuitet između membrane na površini ćelije i one koja ograničava invaginaciju biva prekinut i u perifernom pojasu citoplazme obrazuje se endocitotska vezikula [110,111]. Veći broj ovako formiranih vezikula najčešće se ujedinjuje u strukturu nazvanu rani endozom.

Vezikule koje se obrazuju tokom pinocitoze mogu biti različitog prečnika i mogu se razmatrati kao makropinocitotne i mikropinocitotne vezikule. Makropinocitotne vezikule (makropinozomi) nazivaju se one pinocitotne vezikule čiji se prečnik kreće između 0,5 i 5  $\mu\text{m}$ . Formiranje makropinocitotnih vezikula omogućavaju mikrotubule i kod mnogih tipova ćelija dolazi do pojave nabora (nema udubljenja) na površini. Do obrazovanja mikropinocitotne vezikule dolazi u oblasti fronta napredovanja kod ćelija u kretanju pod dejstvom faktora rasta. Unutar makropinocitotnih vezikula prisutni su brojni rastvoreni molekuli pa se smatra da ovaj vid pinocitoze uglavnom predstavlja neselektivan način unošenja supstanci u ćelije.



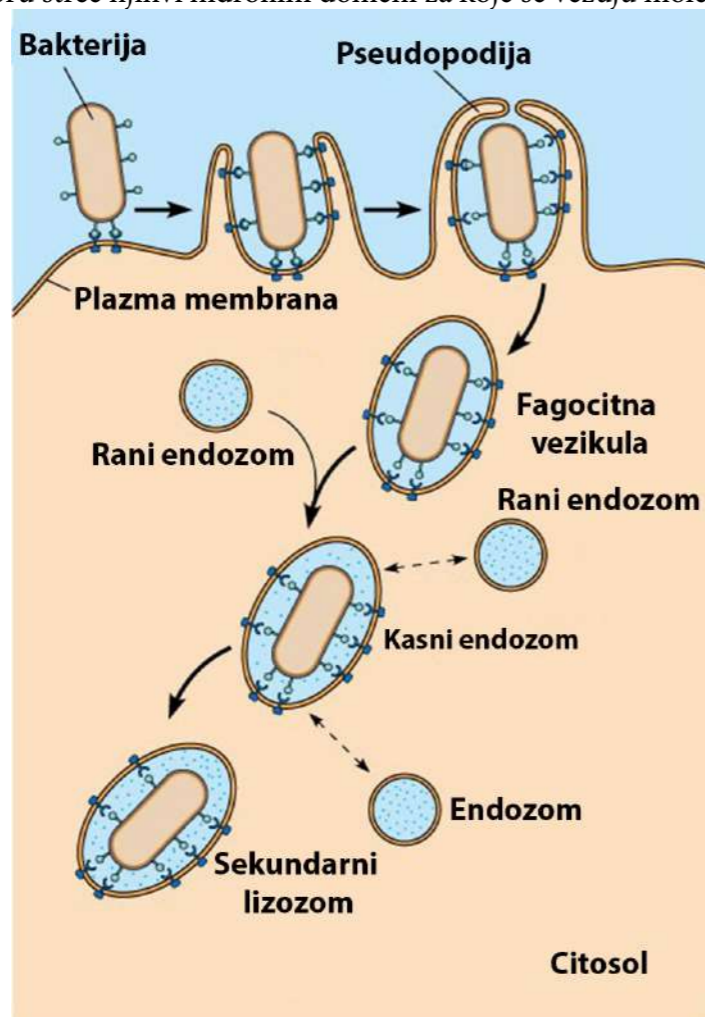
[111] Elektronmikrografija hronološkog ulaska makropinocitotne vezikule u ćeliju (strelice)

Mikropinocitotnim vezikulama nazivaju se vezikule čiji se prečnik kreće oko 0,1  $\mu\text{m}$ . Zavisno od njihovog prečnika, kao i toga da li je za unošenje supstanci nužno postojanje specifičnih receptora ili nije, mikropinocitotne vezikule se klasifikuju na klatrinske vezikule kod biljnih i životinjskih ćelija; kaveole kod većine ćelija vertebrata; i makropinozome kod ćelija životinja. Postoji podela mikropinocitotnih vezikula prema tome da li imaju specifične receptore na svojoj površini pa se nazivaju "ogrnutе" vezikule ili ih nemaju pa se nazivaju "ne ogrnutе" mikropinocitotne vezikule [112].



[112] Elektronmikrografija procesa formiranja endocitotne ("ogrnutе") vezikule

Brojni su makromolekuli ili bakterijske ćelije [113] čije unošenje zahteva predhodno uspostavljanje kontakata sa specifičnim receptorima-integriranim proteinima na ćelijskoj membrani. Taj vid pinocitoze poznat je pod imenom endocitoza posredovana receptorima. U ovom slučaju na jednom delu površine ćelijske membrane dolazi do formiranja ulegnuća koje se produbljuje u obliku supstrata koji se unosi, formiraju se pseudopodije od invaginacije ćelijske membrane i kada se prekine kontinuitet između udubljenja i ostalog dela ćelijske membrane u površinskom pojasu citoplazme konstatuje se prisustvo endocitotske vezikule. Premda etape formiranja ovih vezikula odgovaraju etapama i drugih vidova pinocitoze, na ekstracelularnoj i intracelularnoj (unutarćelijskoj, citoplazmatičnoj) površini ćelijske membrane koja učestvuje u ovom procesu mogu se na preparatima na TEM-u uočiti razlike. U delu ćelijske membrane uključenoj u endocitozu posredovanu receptorima konstatuje se prisustvo velikog broja istovrsnih transmembranskih proteina-specifičnih receptora za određeni makromolekul. Na spoljašnjoj površini ulegnuća, ka vanćelijskom prostoru štrče njihvi hidrofилni domeni za koje se vezuju molekuli koji se unose.



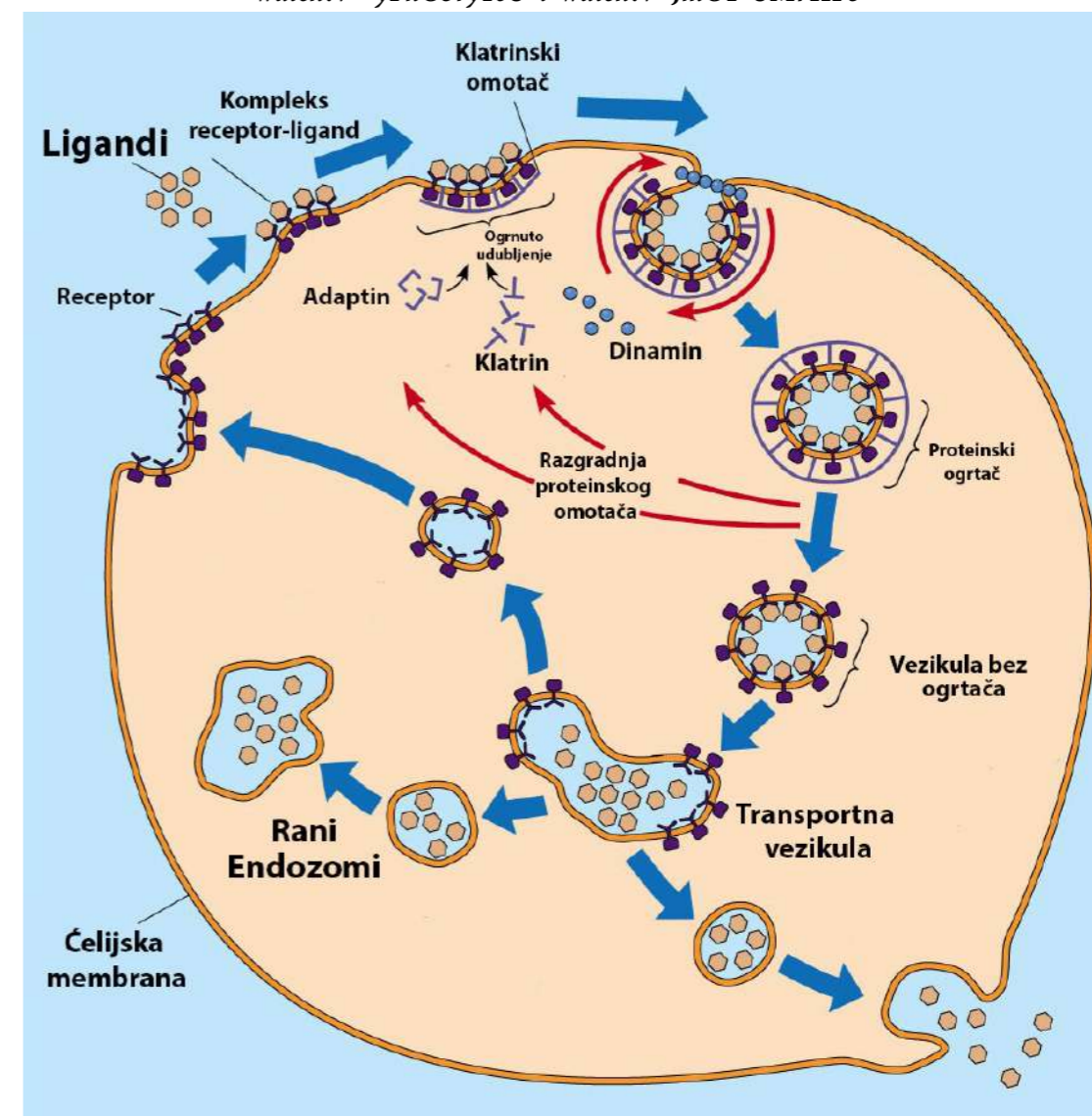
[113] Šematski prikaz fagocitoze bakterijske ćelije posredovane receptorom

Citoplazmatična površinu endocitotskog ulegnuća kasnije invaginacije i na kraju vezikule odlikuje pak prisustvo specifičnih receptora, "ogrtača" - klatrina. Ovi receptori ćelijskoj membrani pružaju mehaničku silu koja njoj omogućava da obrazuje pupoljak od kog se formira endocitotska vezikula. Takođe, oni istovremno pomažu i u hvatanju i prikupljanju specifičnih vanćelijskih receptora i za njih vezanih molekula koje treba uneti u ćeliju. Pored proteina klatrina i proteina pridruženih klatrinu koji se nazivaju adaptini i odlikuju specifični "ogrtač", za formiranje endocitotske vezikule bitan je i protein dinamin. Protein dinamin se vezuje u trenutku početka odvajanja endocitozne vezikule od ćelijske membrane i omogućava to odvajanje [114].

Molekul klatrina čine tri teška i tri laka lanca koji su pozicionirani tako da formiraju centralni vrh (teme) od kog polaze tri ručice savijene "u laktu" i zato se ovaj molekul često naziva triskelion. Klatrinski molekuli se na specifičan način udružuju obrazujući na citoplazmatičnoj površini membrane mrežoliku strukturu, formiranu od šestouglova i petouglova. Kada se posmatra mrežolika struktura oko endocitotske vezikule ona podseća na kavez ili rešetku.

Klatrinski molekuli ne stupaju u direktan dodir sa citoplazmatičnim domenima receptorskih molekula, u tome posreduju proteini adaptini, adaptorski proteini. Oni se sa jedne strane vezuju za klatrinske molekule, a sa druge za receptore na membrani. Na osobinama i razlikama koje između adaptina postoje zasnovana je uloga koju klatrinski omotač ima u procesu endocitoze posredovane receptorima. Bez obzira na svu raznolikost transmembranskih receptora i adaptina, klatrinski molekuli u svim slučajevima su isti. Vezivanje nekih adaptorskih proteina (AP2) za određene lipide (fosfolipide) ćelijske membrane dovodi do konformacione promene adaptorskog proteina, čime se formiraju vezna mesta preko kojih se AP2 vezuje za transmembranske proteine-receptore.

Pogledaj linkove sa animacijama molekula klatrina i njegove uloge: [watch?v=-yFnO5ry1cU](http://www.youtube.com/watch?v=-yFnO5ry1cU) i [watch?v=JmOY-UM7HFo](http://www.youtube.com/watch?v=JmOY-UM7HFo)



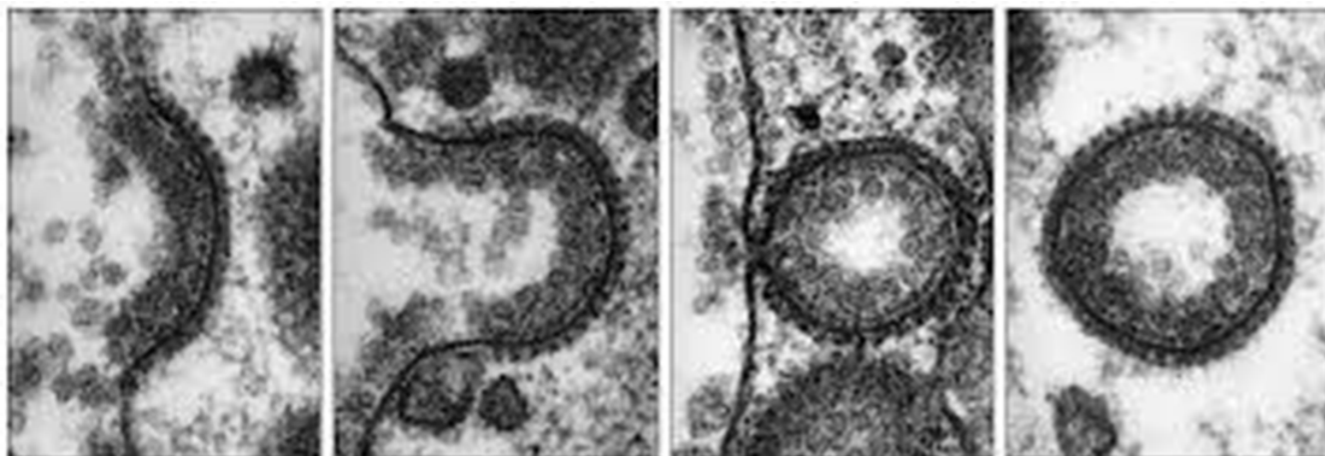
[114] Šematski prikaz formiranja endocitozne vezikule pomoću molekula klatrina, dinamina i adaptina



Klatrinski omotač je prisutan oko endocitotske vezikule [115]. Međutim, pre nego to se ona fuzioniše sa ranim endozomu klatrinski omotač se dezorganizuje-klatrinski molekuli i molekuli adaptina odvajaju se od membrane endocitotske vezikule. Treba istaći da klatrinski omotač ne odlikuje samo endocitotske vezikule nastale u procesu endocitoze posredovane receptorima nego i neke vezikule koje se fuzionišu sa membranama sakula Goldži aparata. Proces formiranja ogrnutih endocitotskih vezikula i njihovo fuzionisanje sa ranim endozomu vremenski traje veoma kratko. Segment ćelijske membrane koji u tom procesu učestvuje će zajedno sa specifičnim receptorima biti vraćen ćelijskoj membrani. Na taj način održava se relativno stalna površina ćelijske membrane kao i njen proteinski sastav što je veoma značajno, da ukupna površina i sastav ćelijske membrane budu uvek isti u ćeliji.

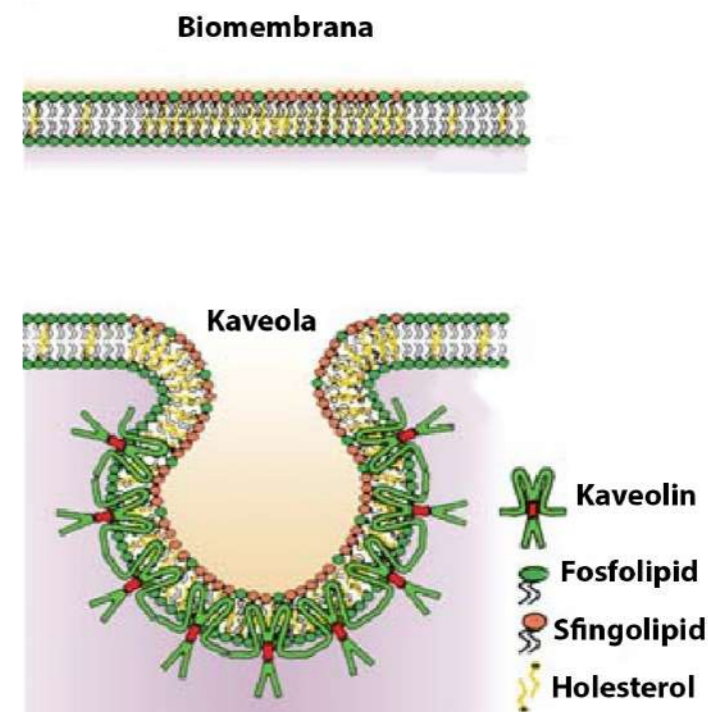
Brojni su primeri supstanci koje u ćeliju ulaze posredstvom specifičnog receptora. Sam način ulaženja supstanci u svim slučajevima je isti, ali kasnija sudbina unetih materija zavisi od njihove prirode i uloge koju imaju u određenom tipu ćelija. Ćelije unose neke supstance kako bi ih odmah ugrađivale i koristile, dok druge u ćeliji budu podvrgnute promenama a to je uvek unutar lizozomskog sistema. Endocitozom posredovanim receptorima u ćeliju, na primer, ulaze holesterol i transferin, dalje transferin kao posrednik omogućava da iz krvotoka ćelija preuzme gvožđe. Koncentracija molekula holesterola i transferina u ćeliji utiče na to da li će do endocitoze njihovih novih molekula doći ili neće doći. Ako u ćeliji ima dovoljno holesterola tada se on neće vezivati za receptor za endocitozu i neće se unositi više iz spoljašnje sredine i obrnuto. Nasuprot ovome je funkcionisanje faktora rasta epiderma - EGF, to je supstanca koja podstiče deljenje ne samo epitelnih nego i mnogih drugih tipova ćelija. Molekuli proteina EGFa se nalaze van ćelije i njihovo prisustvo izvan ćelije upravlja intenzitetom odvijanja endocitotskih procesa u ćeliji preko receptora. Količina receptora za EGF na ćelijskoj membrani ćelije direktno zavisi od količine EGFa u ekstraćelijskoj sredini. Ako se receptori za EGF razgrađuju zajedno sa molekulima proteina EGFa u procesu endocitoze ćelijske membrane, onda ekstracelularni molekuli EGFa indukuju njihovo ponovno stvaranje u ćelijskoj membrani.

Receptori uključeni u proces endocitoze imaju sposobnost lateralne difuzije u okviru fosfolipidnog dvosloja ćelijske membrane poput drugih transmembranskih proteina što dovodi do njihovog privremenog grupisanja. Zanimljivo je da rezultati praćenja dinamike te pokretljivosti u nekim slučajevima ukazuju na mogućnost postojanja povezivanja receptornih proteina u nivou ćelijske membrane. Takođe, je pokazano da na pokretljivost receptorskih molekula u značajnoj meri utiču elementi ćelijskog skeleta koji stupaju u kontakt sa proteinima membrane.



[115] Elektronmikrografija formiranja endocitotske vezikule pomoću molekula klatrina i dinamina

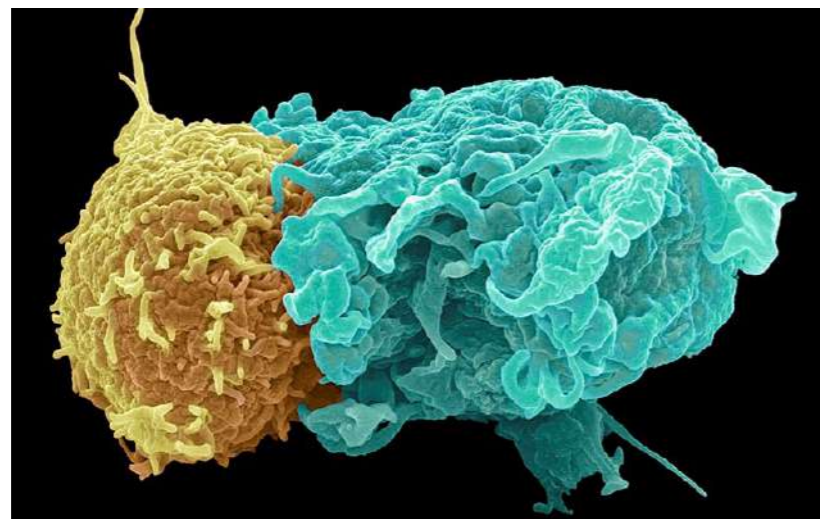
Smatra se da kaveole, mikropinocitotne vezikule najmanjeg prečnika između 50 i 80 nm, koje su brojne u mišićnim ćelijama ali odlikuju i mnoge druge tipove ćelija, učestvuju u procesima transcitoze. Veći broj kaveola međusodno se povezuju i tako formira transćelijski "tunel". Na ćelijskoj membrani koja učestvuje u obrazovanju kaveola prisutni su proteini kaveolini. Na njihovo prikupljanje utiče specifičan sfingolipidno-holesterolski sastav u mikrodomenima lipidnog dvosloja tako da neki istraživači smatraju kako kaveole nastaju u nivou već pominjanih platformi ćelijske membrane. Kaveole su nesumnjivo statične strukture iako se uz njih kao i u slučaju endocitoze posredovane receptorima, nalazi dinamin. U mišićnim ćelijama kaveole učestvuju u dopremanju jona kalcijuma do komponenata unutrašnjeg ćelijskog skeleta doprinoseći na taj način fenomenu kontrahovanja ćelija [116].



[116] Šematski prikaz kaveole

Proces fagocitoze odlikuje ćelije koje se zajednički zovu fagocitnim ćelijama kakve su na primer neutrofil i makrofagi. Proces fagocitoze vrše i jednoćelijski organizmi. Postoji i ne mali broj ćelija, poput fibroblasta i epitelnih ćelija koje nisu fagocitne ćelije ali imaju mogućnost i fagocitozu obavljaju povremeno. Ćelijsku membranu svih fagocitnih ćelija odlikuje prisustvo specifičnih receptora koji prepoznaju mrtve ćelije, krupne čestice, jednoćelijske organizme ili bakterijske ćelije i koje se jednim imenom zovu čestice supstrati. Nakon prepoznavanja nabrojanih čestica supstrata fagocitozne ćelije ih potom uvlače u sebe. Prepoznavanje čestica supstrata u nekim slučajevima je zasnovano na predhodno specifičnom obeležavanju njihovih površina posredstvom procesa koji se naziva opsonizacija. Opsonizacija podrazumeva vezivanje molekula opsonina iz porodice imunoglobulinskih molekula. Uspostavljanje kontakata između opsonizovane površine čestice koja će biti fagocitovana i specifičnog receptora na površini ćelije koji vrši fagocitozu dovodi do niza promena u samoj ćeliji. Ove promene se jednim delom odnose na komponente ćelijskog skeleta, ali i na niz biohemijskih procesa koji dovode do organizovanja same fagocitoze. Do fagocitoze dolazi posredstvom mehanizma koji se naziva "proces čaše" i predstavlja modifikovan i usložen mehanizam patent-zatvarača. Naime, naučnici su analizirali elektronmikrografije ćelija u fagocitozi, vršili posmatranja živih ćelija dok fagocituju čestice i merili dinamizam ćelijske membrane u procesu fagocitoze kako bi definisali mehanizam odvijanja fagocitoze.

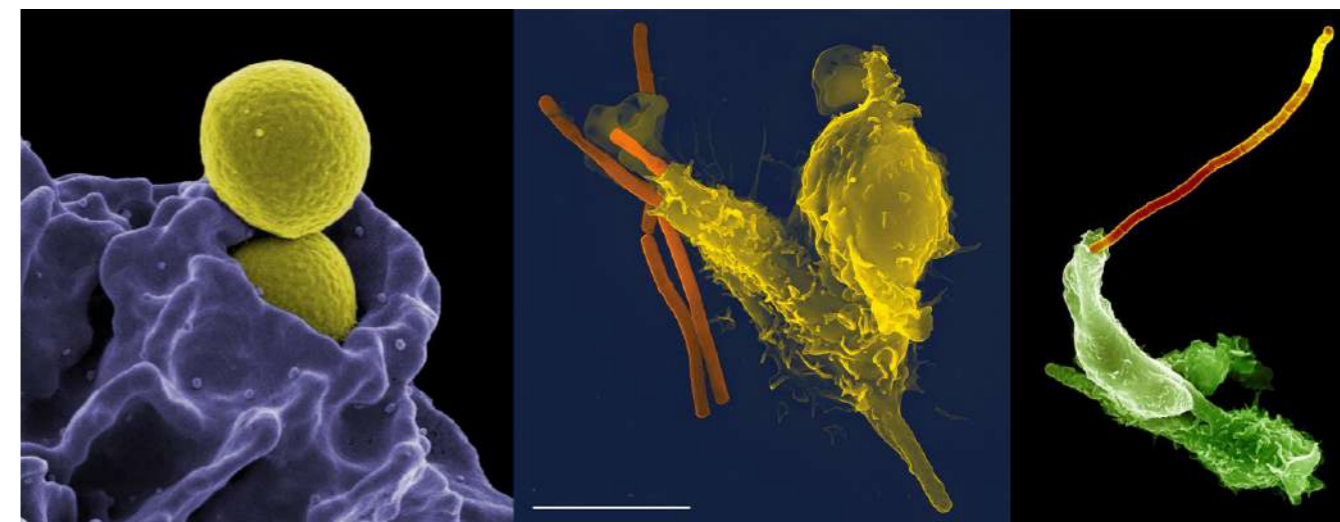
Proces “čaše” ili teorija “čaše” podrazumeva ostvarivanje potpunog kontakta između onog što se fagocituje npr. čestice i ćelije koja vrši fagocitozu. Drugim rečima dolazi do stvaranja brojnih kontakata koji zahvataju celokupnu površinu čestice supstrata od strane ćelije koja vrši fagocitozu. Iz tog razloga se ovaj mehanizam fagocitoze naziva i “patent-zatvarač” gde se misli na rajsfešlus koji na isti način kači zupce u cilju povezivanja dve strane tkanine. Danas se mehanizam naziva mehanizmom “čaše” jer se na površini fagocitne ćelije formira od ćelijske membrane oblik čaše kroz koji čestica supstrata upada. Ovaj mehanizam odlikuje fagocitozu kod makrofaga ili praživotinja roda Amoeba. Kontakt između ćelijske membrane fagocitne ćelije i površine čestice supstrata ostvaruje se postupno, tako što ona u početku formira pseudopodije, prstolike izvrate sa površine, koji se kasnije fuzionišu po obodu čestice i formiraju rub “čaše”. Pseudopodije počinju da se obrazuju tek kada je u dovoljnoj meri uspostavljena početna interakcija između receptora na membrani i odgovarajućih molekula na površini čestice supstrata. Za odvijanje ovog procesa nužno je učešće aktinskih filamenata i pridruženih im proteina. Fagozom koji tom prilikom nastaje svojim oblikom i veličinom odgovara obliku i veličini onoga što je fagocitovano. Ako površina onoga što može biti fagocitovano nije u potpunosti obeležena, opsonizovana, fagocitoza počinje ali ne biva u potpunosti ostvarena. To upravo pokazuju posmatranja vršena u in vitro uslovima na makrofagima i limfocitima. Ukoliko je površina limfocita u potpunosti obeležena molekulima imunoglobulina G, odgovarajući receptori na površini makrofaga vezuju se za njih i limfocit biva fagocitovan [117]. Ukoliko se molekuli imunoglobulina G uklone sa jednog dela površine limfocita, proces fagocitoze počne ali se ne završava već dolazi samo do njegovog nepotpunog uvlačenja koje je srazmerno površini obeleženoj sa imunoglobulinskim molekulima.



[117] Nepotpuna fagocitoza limfocita (žuto) makrofagom (plavo)

Kao što se ivice vode sakupljaju prema predmetu koji tone u njoj tako i receptori sa ćelijske membrane zahvataju sve veću površinu čestice koja se unosi fagocitozom. Dinamika uvlačenja čestice supstrata od strane fagocitne ćelije je u početku spora i jedna četvrtina čestice se uvlači jednu polovinu vremena fagocitoze [118]. Nakon početnog sporog uvlačenja ili propadanja supstrata u “čašu” sledi drugi veoma brza gde se preostalih tri četvrtine supstrata uvuče za drugu polovinu vremena. Vrh “čaše” se zatvara na kraju fagocitoze iznad progutanog supstrata, kao što se zatvara puna vreća na vrhu. Mehanizam fagocitoze pojedinačnih čestica istovetan je bez obzira na njihovu veličinu i međusobnu blizinu sa površinom fagocitne ćelije. Ukoliko su čestice supstrata malih dimenzija isti izvat na površini ćelije, čije je formiranje pokrenuto početnim uspostavljanjem kontakata između receptora i obeleživača, uvlači supstrat u ćeliju zajedno sa receptorom. Ako je pak partikula znatno većih dimenzija ona će biti uvučena sama. Fagozom do čijeg formiranja dovodi proces fagocitoze kasnije se u ćeliji spaja sa komponentama endolizozomskog sistema.

Treba pomenuti da ima podataka koji ukazuju na učešće kaveola u internalizaciji virusa ili toksina u ćeliju domaćina. Na taj način fagocitovan virus može da preživi u ćeliji domaćinu ako ne dolade do fuzije fagozoma sa komponentama lizozomskog sistema zbog specifičnog lipidno-proteinskog sastava membrane koja formira kaveolu. Neke vrste patogenih bakterija su razvile mehanizam za sprečavanje fagozom-lizozomske fuzije, tako što ubrizgavaju u ćeliju domaćina enzim koji modifikuju proteine odmah ispod ćelijske membrane. Modifikacija ovih proteina indirektno sprečava fuziju fagozoma i lizozoma, bakterija tako ne ulazi u lizozomsku degradaciju i ostaje u fagozomu, raste, deli se kao unutarćelijski patogen, zaštićen od imunološkog sistema.



[118] Elektronmikrografije fagocitoze bakterijskih ćelija

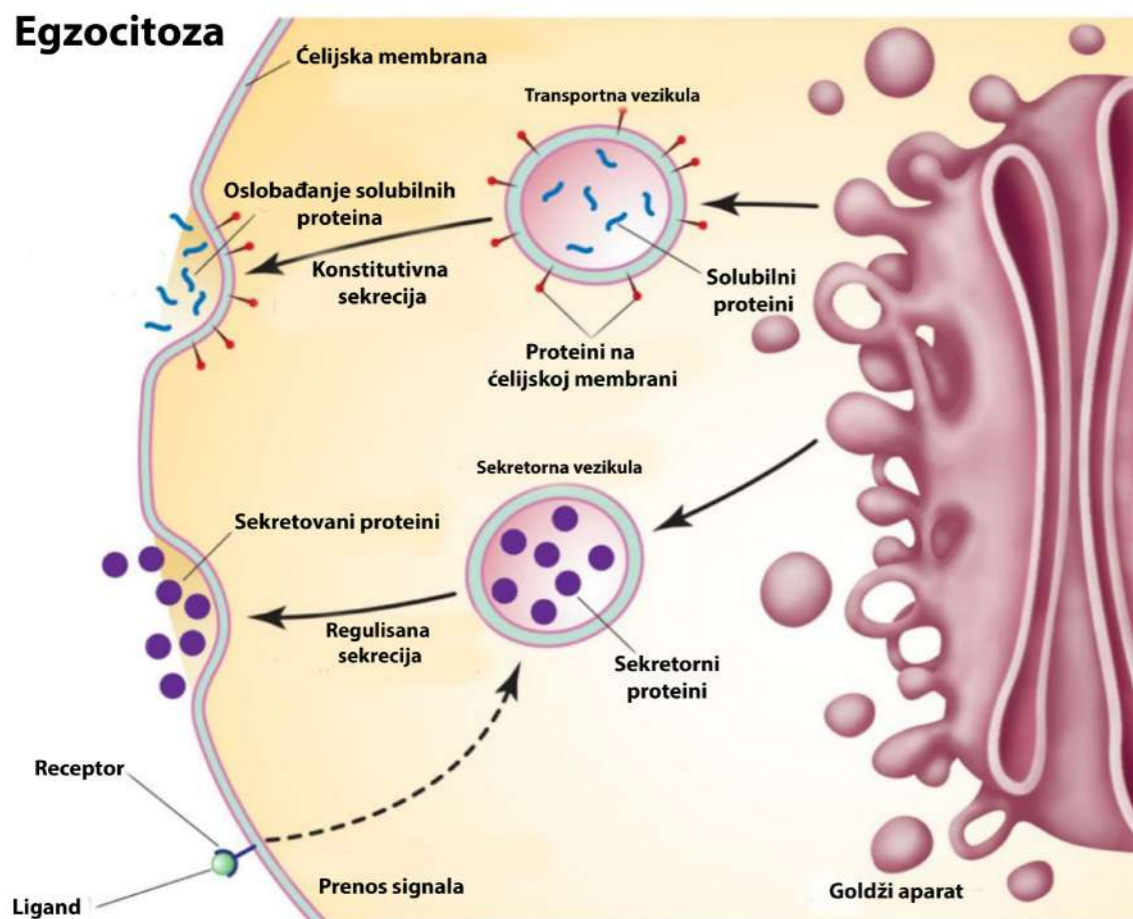
Egzocitoza, poput endocitoze posredovane receptorima i pinocitoze, predstavlja proces koji odlikuje eukariotske ćelije. Nakon završene egzocitoze u ćelijsku membranu ugrađuju se novi proteinski, lipidni i ugljeno hidratni molekuli, a u vanćelijsku sredinu dospevaju komponente osnovne supstance ili hormoni i enzimi čija se funkcija ispoljava izvan ćelije koja ih je sintetisala. Budući da omogućava izbacivanje molekula u vanćelijski prostor, egzocitoza se može opisati kao proces koji podrazumeva događaje suprotne endocitozi. Treba pomenuti da je na primeru polarizovanih epitelnih ćelija pokazano kako do egzocitoze dolazi na bilo kojoj površini ćelije, a ne samo u apikalnim zonama ćelijske membrane. Enterocite su polarizovane ćelije i na apikalnoj površini izbacuju digestivni enzim i mukus, a na bazalnoj dolazi do egzocitoze komponenti podepitelne lamine, tj. bazalne lamine kako se ranije nazivala ova struktura.

U procesu egzocitoze učestvuju vezikule koje u brojnim slučajevima, poput vezikula koje nastaju tokom endocitoze posredovane receptorima, na citoplazmatičnoj površini poseduju proteine ogrtača. Unutar tih vezikula do periferije ćelije i citoplazmatične površine ćelijske membrane dopremaju se svi oni molekuli koji na ovaj način napuštaju ćeliju. Vezikule se, stigavši do ćelijske membrane posredstvom elemenata ćelijskog skeleta uz nju priljubljuju i sa njom fuzionišu. Na taj način uspostavlja se kontinuitet između membrana koja ograničavaju vezikulu i ćelijsku membranu, a sadržaj vezikule biva izbačen, predat vanćelijskoj sredini. Ujedinjenju ovih dveju membrane predhodi približavanje njihovih lipidnih dvoslojeva na rastojanju od 1,5 nm i potiskivanje vode sa hidrofilnih površina membrana. U tom segmentu ovog, sa energetskog stanovišta krajnje nepovoljnog procesa, učestvuju specijalizovani proteini fuzije. Istovetni proces odvijaju se i unutar ćelije pri fuziji vezikula sa drugim membranskim organelama. Fuzija ćelijske membrane i sekretorne egzocitotne vezikule dešava se približavanjem i mešanjem fosfolipida iz obe membrane, međusobno i fuzionisanje proteinskih pora jedne membrane sa porama druge.

Od presudnog značaja u približavanju membrana u cilju izlaska sadržaja iz sekretne vezikule imaju molekuli lipidnog dvosloja. Prvo proteini dovode do dodirivanja lipidnih dvoslojeva djevu membrana približavajući ih do bliskog kontakta koji, kada je u dovoljnoj meri ostvaren, dovodi do dodirivanja njihovih molekula lipida. Pri dodiru dvaju lipidnih dvoslojeva dolazi do potiskivanja molekula vode sa površine membrana. Dalje dolazi do privremenog mešanja i interakcije između lipidnih molekula dva dvosloja i taj prelazni stepen fuzije često se označava kao polufuzija. Potom dolazi do stvaranja povezujuće drške od dva lipidna dvosloja i formiranja novog dvosloja koji proširuje fuzionu zonu. Novi fuzioni dvosloj veoma brzo se organizuje povlačeći za sobom proteine membrane i povećavajući svoju površinu. Kompleks proteina novog fuzionog dvosloja čije komponente zalaze u obe membrane, dovode do konformacione promene koja prvo podrazumeva formiranje hidrofilnog makromolekulskog kanala koji povezuje dva odeljka: lumen sekretne vezikule s jedne strane i vanćelijsku sredinu s druge. Potom bi razdvajanje podjedinica proteina koji formiraju kanal dovelo do reorganizacije u nivou lipidnih molekula i njihovog mešanja i ujedinjavanja između dva sloja ćelijske membrane i membrane vezikula. Na kraju rupturom novog dvosloja između membrana i prolazkom sadržaja egzocitotne vezikule u spoljašnju sredinu završava se reakcija njihove fuzije i početka izbacivanja sadržaja vezikule u spoljašnju sredinu. Postoje dve vrste vezikula transportne i sekretorne u zvisnosti od vrste proteina koji prenose. Transportne vezikule oslobađaju solubile proteine u konstitutivnoj sekreciji, dok sekretorne vezikule oslobađaju sekretorne proteine u regulisanoj sekreciji pomoću receptora na ćelijskoj membrani i prenosnog signala [119]. Konstitutivna sekrecija podrazumeva formiranje transportnih vezikula koje nose proteine koji će se ugrađivati u delove ćelijske membrane, dok sekretorna formira vezikule koje nose proteine koji se izbacuju van ćelije.

*Pogledaj linkove sa animacijama mehanizma endo i egzocitoze:*

*watch?v=570-s1750xA, "Mechanism exocytosis sticking" i watch?v=eWkFJx\_tz2w*



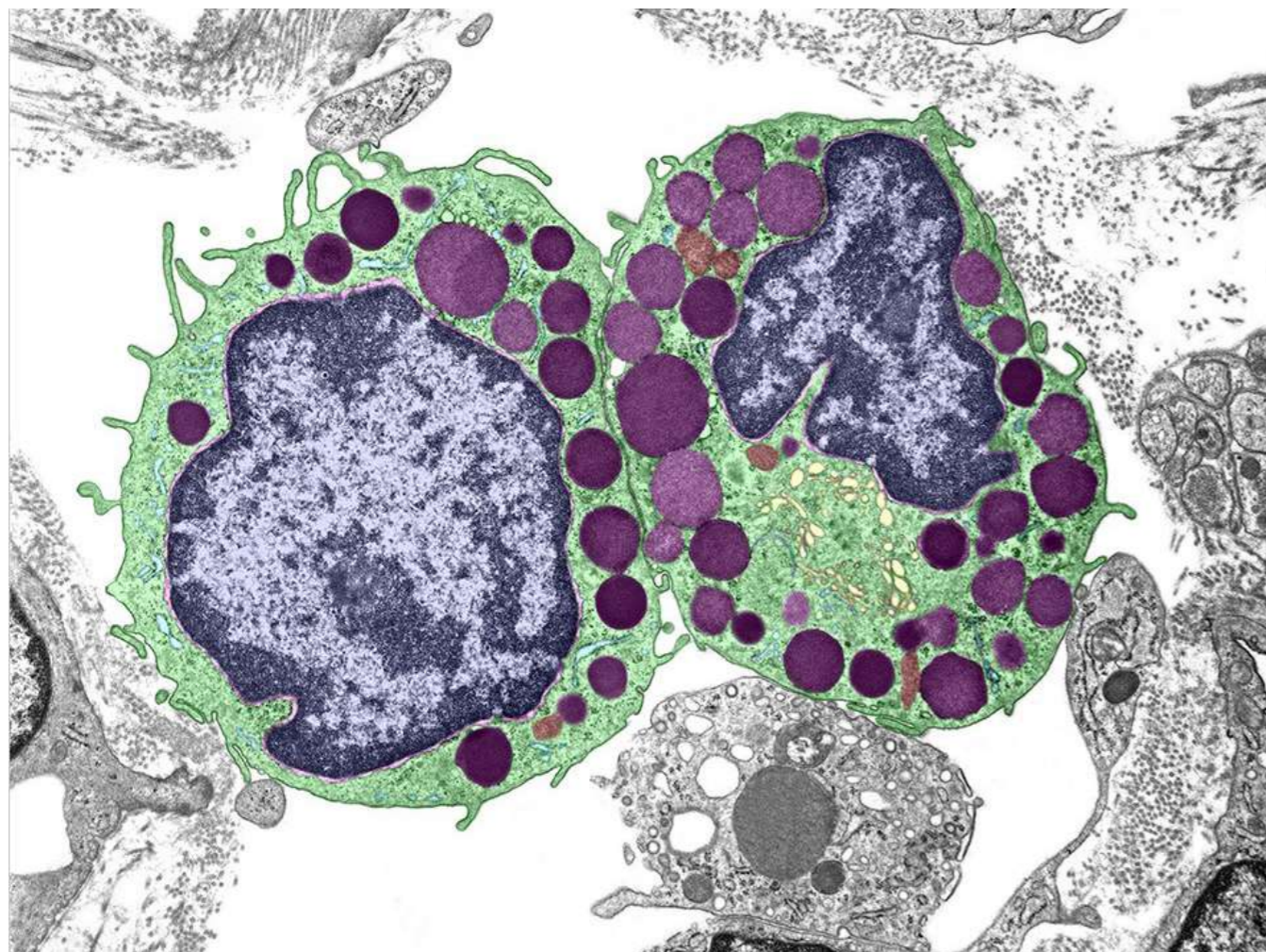
[119] Šematski prikaz egzocitoze transportne i sekretorne vezikule

U mnogim vrstama ćelija procesi egzocitoze i endocitoze međusobno su povezani tako što egzocitoza dovodi do povećanja površine membrane, ali se taj "višak" internalizuje endocitozom. Ispitivanja su pokazala kako se na onim mestima na kojima je prethodno obavljen proces egzocitoze formiraju brojne endocitotske invaginacije u čijem obrazovanju učestvuju molekuli adaptina, klatrina, dinamina, ako i kaveolina. Aktinski filament prisutni u perifernom region ćelije doprinose potiskivanju sadržaja iz sekretornih vezikula u vanćelijsku sredinu - egzocitoza s jedne strane, kao i procesu uvlačenja delova ćelijske membrane u unutrašnjost ćelije - endocitoza, sa druge.

Ćelijska membrana nekih ćelije životinja stalno je izložena mehaničkim povredama koje mogu dovesti do prekida njenog kontinuiteta i time ne samo ugroziti njenu vitalnu ulogu, ulogu selektivne barijere, nego dovesti i do ćelijske smrti. Posmatranja živih ćelija kod kojih je došlo do mehaničkih povreda ćelijske membrane pokazuju da se procesi "slepljivanja" odigravaju velikom brzinom, od nekoliko sekundi do nekoliko minuta i da zahtevaju prisustvo jona kalcijuma.

Kao što pokazuju posmatranja na TEM-u iznad oblasti prekida kontinuiteta ćelijske membrane dolazi do formiranja citoplazmatičnih nastavaka sličnih mikroresicama koji natkriljuju ovu oblast, i do pojave vezikula u citoplazmi oko mesta oštećenja. Ove vezikule mogu biti različitog prečnika, a vode poreklo od raznovrsnih citoplazmatičnih organela. U slučaju znatnih oštećenja, u citoplazmi ispod oštećenog mesta primećuje se formiranje vezikularnog "čepa" obrazovanog od gusto pakovanih vezikula. Vezikule se, naime, međusobno ujedinjuju stavrajući na taj način membransku površinu koja će premostiti prekid u nivou ćelijske membrane. Mehanizam koji dovodi do fuzije membrana sličan je mehanizmu koji odlikuje fuziju membrane sekretne vezikule sa ćelijskom membranom i naziva se mehanizmom egzocitotnog "slepljivanja". U ujedinjavanju vezikula svoj doprinos pružaju proteini homologni sa membranskim proteinima a pridruženi vezikulama. Odvijanje ovog vida egzocitoze kao i za svako drugi nužni su joni kalcijuma. U egzocitotnom slepljivanju učestvuju komponente citoskeleta, intremedijarni filamenti prisutni u citoplazmi neposredno ispod ćelijske membrane.

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.

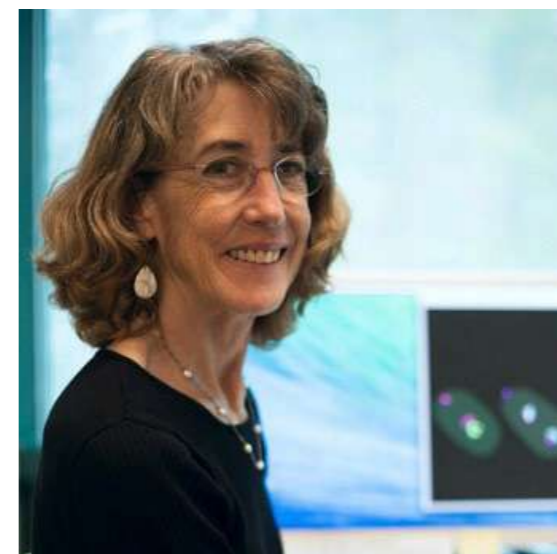


[120]

# CITOPLAZMA

## Funkcija citoplazme

Citoplazmu eukariotskih ćelija čini celokupan sadržaj ćelije koji je uspostavljen i zatvoren ćelijskom membranom, osim jedra. Osnovne komponente citoplazme su organele, citoskeletni elementi, inkluzije, depozicije i makromolekulske strukture kao što su ribozomi i proteazomi dok je sve nabrojano okruženo tečnošću tj. vodom sa različitim rastvorenim molekulima u njoj [120]. Kao kod eukariotskih ćelija citoplazma je od vitalnog značaja kao i kod prokariotskih gde ispunjava celu zapreminu ćelija. Ona je kod prokariotskih ćelija takođe zatvorena ćelijskom membranom i u nju su uneseni svi metabolički enzimi sa biomembrana, ribozomi, nukleoid, mezozom, ćelijski makromolekuli i inkluzije i iz nje polaze pili i flagele. Sasatav i viskozitet citoplazme ćelije određuju vrednost strujanja citoplazme, koja se definiše kao neravnomeran protok tečnosti u njoj. Pravilno strujanje citoplazme veoma je važno za svaku ćeliju jer ako se ono poremeti sadržaj citoplazme će se nepravilno distribuirati i normalan rad ćelije poremetiti. Raznovrsne vezikula i granula u citoplazmi ćelije mogu da uspore strujanje citoplazme, sa druge strane ne kreće se citoplazma sama od sebe, to je posledica pokretanja organela duž elemenata citoskeleta uz pomoć molekularnih motora. Molekularni motori citoskeleta stvaraju i "vrtloženje" citoplazme. Strujanje citoplazme animalnih ćelija posredstvom citoskeleta izaziva pomeranje ćelijskih vezikula i granula na periferiju citoplazme blizu ćelijske membrane. Na taj način ostaje središnji prostor ćelije rasterećen za pokretanje drugih metaboličkih procesa. Kod biljnih ćelija strujanje citoplazme po periferiji je dominantno, jer one poseduju centralno postavljenu vakuolu oko koje struji citoplazma. Naučnica Susan Strome (1988) eksperimentalno je dokazala važnost arhitekture i reorganizacije komponenta ćelijske citoplazme. Ona je pokazala da citoplazma nije samo smesa svojih komponenta već dinamična i organizovana sredina od vitalnog značaja za ćeliju. Takođe, ukazala je na postojanje mehanizama delovanja strujanja citoplazme čije karakteristike i brzina organizacije omogućavaju funkcionisanje ćelije [121].

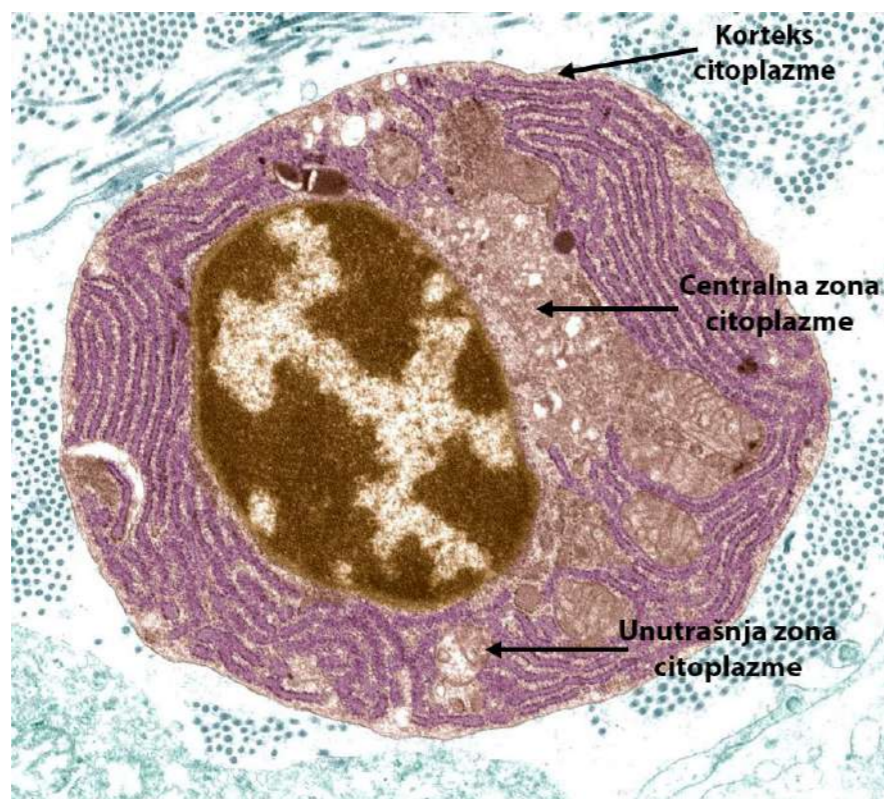


[121] Fotografija naučnice Susan Strome, američkog molekularnog biologa i embriologa, dokazala je da se u citoplazmi a ne u jedru nalaze mehanizmi koji reproduktivnim ćelijama omogućavaju besmrtnost.

Na elektronskim mikrofografijama ćelija razlikujemo tri zone citoplazme: usku perifernu zonu citoplazme, staklastog izgleda, ektoplazma ili ćelijski korteks u kojem nema organela; široku unutrašnju zonu citoplazme, granularnog izgleda ili endoplazmu koja sadrži organele; i centralnu zonu citoplazme ili ćelijski centar u kome se nalaze centriole sa pericentriolarnim amorfnim sadržajem i Golži aparata [122]. Centralna zona citoplazme kod biljnih ćelija se razlikuje u odnosu na centralnu zonu animalne ćelije, jer se u njoj ne nalaze centriole.

Citoskelet ćelije izgrađen je od filamenata i tubula uključenih u održavanju oblika i kretanju ćelija, kao i u kretanju makromolekula i organela unutar ćelija. Organele ćelija su metabolički aktivne strukture svake eukariotske ćelije i delimo ih na membranske i nemembranske. Karakteristika membranskih organela podrazumeva prisustvo metabolički aktivne biomembrane, dok kod nemembranskih organela ove biomembrane nema. Ćelijske inkluzije su metabolički neaktivni produkti ćelijskog metabolizma, strukture koje nemaju membranu i koje u zavisnosti od potrebe ćelije postaju aktivne ili ih koriste druge ćelije.

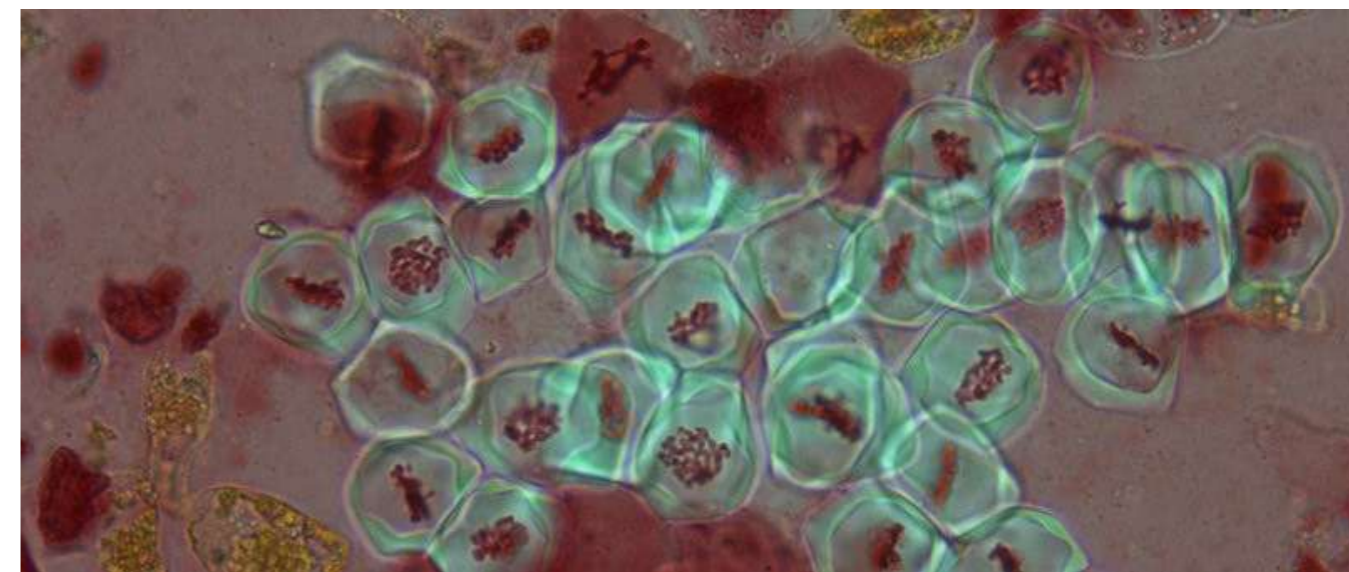
[122] *Animalna endokrini ćelija na transmisionom elektronskom mikroskopu sa obojenim granuliranim endoplazmatičnim retikulumom i obeleženim zonama citoplazme*



Standardni animalni histološki preparati obojeni hematoksilin-eozin tehnikom citoplazmu prikazuju plavo kad je bazofilna ili crveno kad je acidofilna. Bazofilno stanje citoplazme stvaraju ribozomi u njoj odnosno ribozomalna ribonukleinska kiselina. Zato takvu citoplazmu imaju ćelije koje intenzivno sintetišu proteine. Acidofilno stanje citoplazme stvara visoka koncentracija pozitivno naelektrisanih proteina. Eozin je najčešća boja u histologiji za bojenje citoplazme, to je kisela boja koja se vezuje za proteine iz nje. Bojenje eozinom daje svetlo ružičasto obojenu citoplazmu nasuprot tamno obojenom jedru.

Važna karakteristika citoplazme je interakcija njenih komponenti kako bi se omogućilo kretanje svih struktura u njoj, a da se pri tom ne poremeti struktura same ćelije. Protok i dinamičnost komponenti citoplazme su bitni za sve funkcije ćelije. Citoplazma direktno omogućava propustljivost molekula kroz ćelijsku membranu i primanje signala. Molekulima koji ulaze u ćeliju citoplazma mora da omogući prolaz kako bi ostvarili svoju ulogu. Tako manji molekuli lakše prolaze kroz citoplazmu, dok veći molekuli, makromolekuli i organele teže prolaze kroz nju i često zahtevaju pomoć specijalnih struktura za svoju lokalizaciju. Tečna komponenta citoplazme ili citoplazmatični matriks predstavlja fazu ćelije koja obliva unutrašnju stranu ćelijske membrane i spoljašnju stranu jedrovanog omotača; ispunjava prostor između njih kao i prostor oko organela, citoskeleta i ćelijskih inkluzija. Citoplazmatični matriks je providna tečnost i čini ga voda u kojoj su rastvoreni ili suspendovani različiti organski i neorganski molekuli: aminokiseline, proteini, lipidi, ugljeni hidrati, enzimi, koenzimi, vitamini, hormoni, nukleotidi, RNK, glukoza, ATP, soli neorganskih kiselina i elektroliti. Procenat vode u citoplazmatičnom matriksu ćelija je od 60-85%, u ćelijama vodenih biljaka do 90%, dok je u ćelijama semena i spora samo 5-15%.

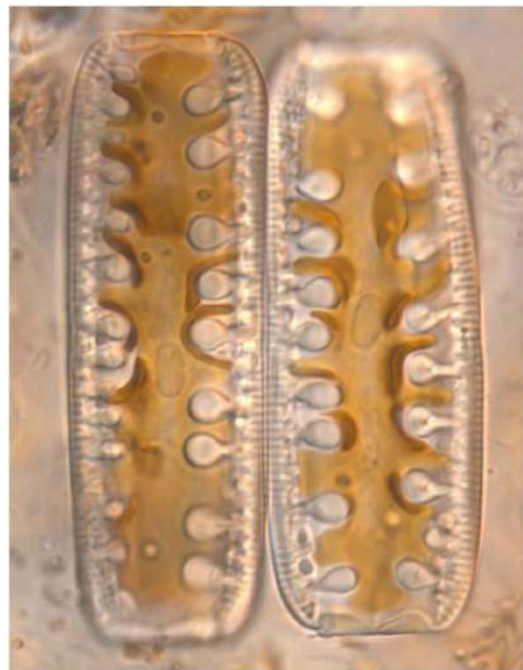
Sastav citoplazmatičnog matriksa čine različita rastvorena i koloidna hemijska jedinjenja i elementi, koja obezbeđuju izvođenje različitih procesa u njoj. Matriks citoplazme predstavlja složen kompleks jedinjenja sa promenljivom zastupenošću vode u sebi iz razloga što primljena voda u njemu neke komponente rastvara a neke ne rastvara. Ova karakteristika citoplazmatičnom matriksu daje viskozitet, on je oko deset puta viskozniji od vode i različito je viskozno kod različitih tipova ćelija. Pošto se u citoplazmatičnom matriksu odvijaju i ukrštaju mnogobrojni metabolički procesi i nalaze se sve ćelijske organele, on je krajnje dinamična komponenta ćelije [123]. Citoplazma ima ulogu prostora za skladištenje viška hranljivih materija, gradivnih biomakromolekula i metabolički nepotrebnih molekula u prokariotskim i eukariotskim ćelijama. Depozicije u citoplazmi su rezerve polisaharida u obliku glikogenskih čestica u animalnim ćelijama, a kod biljnih ćelija u obliku skroba; rezerve lipida u obliku lipidnih tela; i rezerve proteina u obliku proteinskih kristala. Pored rezervnih molekula citoplazma služi i za deponovanje raspadnutih produkata metabolizma ćelije u vidu inkluzija. Citoplazma i citoskelet u njoj omogućavaju ćeliji da ima definisan oblik i da održe organele u najboljem međusobnom položaju jer bi se u suprotnom organele međusobno sudarale. Ova fluidno viskozna komponenta ćelije zajedno sa citoskeletom omogućava transport hranljivih materija i metabolita kroz ćeliju do jedra, kao i transport iRNK iz jedra do ribozoma ili endoplazmatičnog retikuluma. Citoplazma ima direktnu ulogu u ćelijskom ciklusu, u njoj se odvija citokeneza i kroz nju se kreću hromozomi prema polovima ćelije. Ona je izuzetno dinamična sredina jer se u njoj odvijaju najveći deo ćelijske aktivnosti, anaboličke i kataboličke reakcije, sinteze i razgradnje biomakromolekula. Citoplazma je mesto sinteze proteina, polimerizacije i depolimerizacije mikrofilamenata, mikrotubula i pomoćnih proteinskih kompleksa citoskeleta.



[123] *Biljne parenhimske ćelije na polarizacionom mikroskopu sa istaknutim citoplazmama osvetljenim tirkiznom svetlošću*

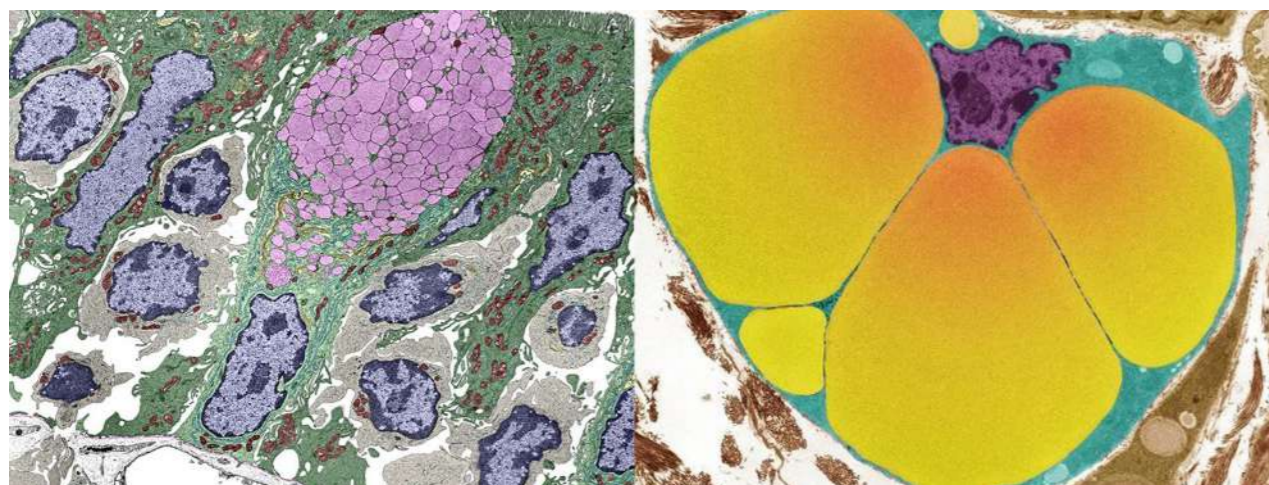
Konzistencija citoplazmatičnog matriksa može da bude u rasponu od sol - više tečnog, do gel - manje tečnog stanja i isključivo zavisi od stepena polimerizacije citoskeletnih elemenata i količine vode. Gel stanje citoplazmatičnog matriksa može da bude toliko gusto i čvrsto stanje se poredi sa stanjem tečnog stakla. Što je manja koncentracija citoplazmatičnih komponenti to je citoplazmatični matriks više tečan, a što ih je više to je on gušći i u retkim situacijama potpuno čvrst kao staklo. Prelazak citoplazmatičnog matriksa iz tečnog u gusto stanje je znak odsustva metaboličke aktivnosti ćelije u periodima njenog mirovanja ili odbrane od loših uslova okoline. U citoplazmatičnom matriksu odvija se stalno kretanje malih molekula i jona što je veoma značajno za intracelularni citoplazmatični protok materija. Iz tog razloga citoplazma je veoma dinamična struktura gde su njene komponente neprestano aktivne i često menjaju svoj

položaj. Citoplazmatični matriks štiti organele od međusobnih udara i trenja prilikom njihovog kretanja po ćeliji u zavisnosti od njihove funkcije i potreba ćelije. Citoplazma daje oblik i amortizuje sudar dva jednoćelijska organizma koji su bez ćelijskih zidova.



[124] Pinocitotički uvrati u citoplazmi dijatomeja

turni i regulatorni proteini formiraju dinamičnu strukturu u obliku prstena koja deli citoplazmu na dva dela u citokinezi. Citoplazma je veoma bitna u procesu deobe ćelije jer obezbeđuje sredinu za mikrotubule da u pravom trenutku i na pravom mestu obave citokinezu. Mitotičko vreteno u toku razdvajanja hromozoma za vreme mitoze pod uticajem je citoskeleta čija struktura zavisi od uslova u citoplazmatičnom matriksu. Ako je citoplazma viskozna to znatno otežava formiranje mitotičkog vretena, formiranje metafazne ploče kao i transport makromolekula i organela unutar ćelije. Biohemijska ispitivanja dokazala su da je bolji transport materije kroz citoplazmu ako molekuli materije koja se prenosi nisu povezani sa citoplazmatičnim organelama već citoskeletom [125].



[125] Elektronmikrografije prilagođenosti citoplazme za transport sekretnih vezikula (levo) i deponovanje masnih kapljica (desno)

Citoplazma je aktivan učesnik u svim vrstama vezikularnog transporta iz ekstracelularne sredine u ćeliju; iz intracelularne sredine ćelije u ekstracelularnu; kao i kroz citoplazmu [124]. Ona omogućava formiranje vezikula, njihovo zatvaranje i kretanje uz pomoć elemenata ćelijskog skeleta. Većina metaboličkih aktivnosti odvija se u citoplazmatičnom matriksu i na ćelijskim membranama eukariotskih i prokariotskih ćelija.

### FUNKCIJA CITOPLAZME

Tokom ćelijskog ciklusa menjaju se morfološka i funkcionalna svojstva citoplazme u prokariotskim i eukariotskim ćelijama, citoplazma prati i sve faze ćelijske deobe. Kao što je već rečeno veću aktivnost zajedno sa citoskeletom citoplazma ima za vreme citokineze u ćelijskoj deobi eukariotskih ćelija. Potpuna podela citoplazme na ćerke-ćelije počinje u anafazi a završava se u telofazi. Prva vidljiva promena u citoplazmi tokom citokineze je pojava deobnog useka na površini animalnih ćelija, usek se brzo produbljuje i širi sve dok potpuno ne podeli ćeliju na dva dela. Aktinski filamenti, filamenti miozina II i mnogi struk-

Organele koje najlakše prolaze kroz citoplazmu su lizozomi, razlog tome je povećan sadržaj lipida, pogotovo holesterola, u njihovim membranama, kao i aktivnost elemenata citoskeleta. Difuznost DNK molekula u citoplazmi prokariotske ćelije mnogo je manja u odnosu na difuznost DNK molekula u vještačkom rastvoru iste gustine i sastava kao što je citoplazma i nalazi se van žive ćelije u laboratorijskim uslovima. Razlog za ovo je specifičan viskozitet citoplazme i prisustvo citoskeleta u njoj. Molekul DNK-a u prokariotskoj ćeliji je dinamičan kada se sa njega prepisuje informacija za sintezu proteina ili kada se udvaja u procesu ćelijske deobe. Citoplazma prokariotske ćelije sprečava gomilanje i slepljivanje molekula DNK, kao i njegovu prekomernu difuziju u one regione gde nije potreban. Velika uloga citoplazme u čuvanju integriteta molekula DNK je bitna iz razloga što prokariotske ćelije ne poseduju histone kao eukariotske.

Citoplazma eukariotske ćelije je region u kojem su smešteni brojni molekuli proteina ogrtača među kojima su najznačajniji klatrin i adaptin. Kada su ovi proteini vezani za vezikule učestvuju u njihovom transportu, međutim kada nisu onda su slobodni i locirani na periferiji citoplazme čekajući signal iz nje da se međusobno ponovo povezuju u klatrinske ogrtače vezikula. Najbitnije je da citoplazma svojim viskozitetom i citoskeletnim filamentima sprečava gomilanje i slepljivanje molekula proteina u velike komplekse, koji tako ne bi bili funkcionalni.

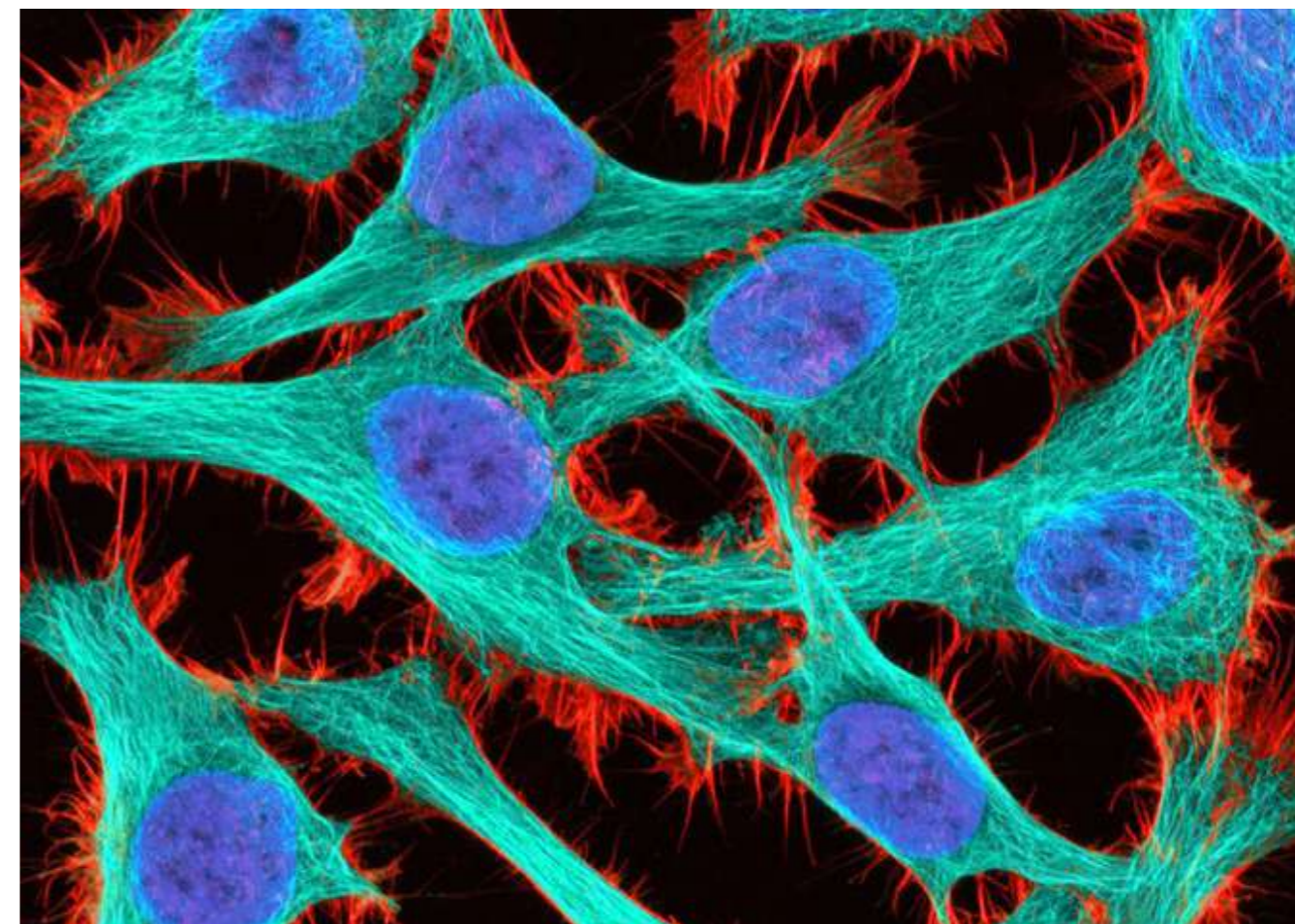
Stujanje citoplazme u eukariotskim ćelijama omogućeno je pomoću motornih proteina citoskeleta miozina i aktina. U nekim slučajevima postoje primeri pokreta citoplazme koje omogućavaju i mikrotubule. Strujanje citoplazme povećava brzinu metabolizma naročito u velikim ćelijama, gde je proces difuzije materije kroz citoplazmu nedovoljno brz i efikasan.



[126] Mikrografije biljnih ćelija sa prikazom puta citoplazme, pomoću crnih strelica, kod dve klase njenog strujanja: rotacionog (levo) i u obliku fontane (desno)

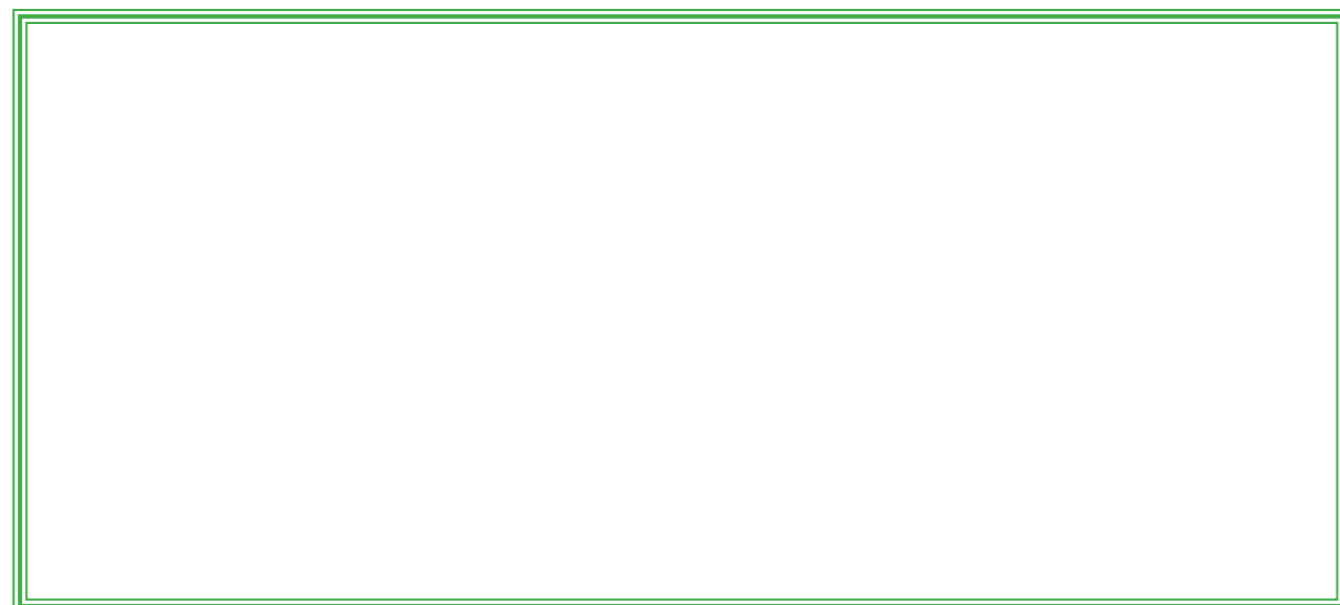
Pogledaj link strujanja citoplazme: [www.youtube.com/watch?v=BB5rvjZzgFU](http://www.youtube.com/watch?v=BB5rvjZzgFU)

Citoplazmatično strujanje javlja se u dva glavna oblika: ameboidno i neameboidno. Ameboidna citoplazmatično strujanje označava procese koji izazivaju promene u obliku ćelija. Ovo strujanje citoplazme javlja se na primer kod jednoćelijskih parazitskih Protista, plazmodijuma, koji na taj način traže hranu u svom okruženju. Ritmičko strujanje citoplazme stvara pseudopudije pomoću klizanja miozina i aktina. Neameboidno strujanje citoplazme ne izaziva promene u obliku ćelija i deli se na pet klasa zasnovanih na osnovu vizuelne karakterizacije: rotaciono, saltatorno, cirkulatorno, strujanje u obliku fontane i strujanje u više pravaca. Strujanje citoplazme se najbolje uočava u nativnim biljnim ćelijama koje sadrže hloroplaste, jer se na svežem biljnom tkivu jasno vide, dok se vakuola vidi kao prazan prostor u ćeliji. Strukture u citoplazmi žive biljne ćelije nakon određenog vremena promene svoj položaj zahvaljujući strujanju citoplazme koji sa sobom nosi organele i ćelijske inkluzije. Rotaciono strujanje citoplazme karakteriše ćelije algi iz roda Chara koje imaju centralnu krupnu vakuolu oko koje sadržaj citoplazme struji u dva smera. Ovo strujanje omogućavaju aktinski i miozinski filamenti tako što oraganizuju citoplazmu u dve trake koje su spirala jedna oko druge sa najvećom brzinom strujanja na periferiji ćelije [126]. Između traka strujanja citoplazme nalazi se uska indiferentna zona u kojoj nema kretanja citoplazme. Saltatorno strujanje je karakteristično po naizgled slučajnim skokovima citoplazmatskih čestica na veće udaljenosti, mnogo veće od onih koje odgovaraju fluktuacijama. Mikrotubule su uključene u ovaj vid strujanja citoplazme iz razloga što se ono javlja u blizini deobnog vretena, centrozoma i uz organele koje su povezane sa mikrotubulama. Cirkulatorno strujanje citoplazme karakteriše mnoge biljne ćelije sa jednom velikom centralnom vakuolom, gde sadržaj citoplazme struji duž ćelijskog zida i niti koje presecaju vakuolu. Strujanje u obliku fontane je strujanje citoplazme koje se odvija duž centralne ose ćelije i teče nazad uz ćelijski zid u suprotnom smeru od onog kog je imalo dok je strujalo po centralnoj osi. Elementi citoskeleta omogućavaju ovo veoma dinamično i brzo strujanje karakteristično za biljne ćelije korena. Strujanje u više pravaca karakteristično je za ćelije nekih vrsta gljiva i algi čije ćelije imaju veliku vakuolu i nekoliko širokih citoplazmatičnih traka. Strujanje se odvija po trakama citoplazme dvosmerno, tako što se citoplazma kreće trakama u različitim smerovima i onda nakon nekog vremena promeni pravac i kreće se u istim trakama u drugom smeru da bi nakon nekog vremena se opet vratila na prvi smer i tako naizmenično.



[127]

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*



## CITOSKELET

Mikrofilamenti  
 Intermedijerni filamenti  
 Mikrotubule  
 kooperacija između mikrotubula i mikrofilamenata  
 specifičnosti citoskeleta biljne ćelije

Trodimenzionalna mreža proteinskih filamenata i cevčica koja pruža potporu ćeliji, određuje njen oblik, kao i položaj organela u citoplazmi jednim imenom se naziva citoskelet. Citoskelet se proteže kroz citoplazmu ćelije između: ćelijskih organela; brojnih multimolekulskih struktura uključenih u procese sinteze i razgradnje biomakromolekula; molekulskih struktura koje učestvuju u metaboličkim procesima stvaranja energije u ćeliji; neposredno ispod ćelijske membrane; i kroz proteinske komplekse koji omogućavaju prokariotskim i eukariotskim ćelijama pokrete. Morfo-funkcionalni elementi citoskeleta učestvuju u transportu organela, makromolekula i ćelijskih produkata kroz citoplazmu ćelije; u aktivnim kontrakcijama ćelije i pokretanju njenih struktura kao što su pseudopodije, cilije i flagele eukariota; u procesu fagocitoze; u održavanju ćelijske polarizovanosti; promeni ćelijskog oblika; kao i u ostvarivanju citokeneze tokom deobe ćelije. Elementi citoskeleta su dinamično i čvrsto međusobno povezani filamenti i cevčice, kao što su povezani i sa elementima ćelijske membrane i ćelijskih organela. Citoskelet nije statična mreža već fleksibilna truktura, čiji su elementi u neprekidnom protoku i promeni oblika i položaja koji se ostvaruje njihovom kontinuiranom izgradnjom i razgradnjom od proteinskih subjednica.



[128] Fotografija naučnika Nikolaja Konstantinovič Koljcov (Николай Константинович Колъцов), ruskog biologa i genetičara. On dokazuje da je oblik ćelije određen mrežom tubula i globula proteinske prirode koju naziva citoskelet. Pord ovoga Nikolaj prvi u biološkoj nauci objašnjava nasledivost genetskog materijal eukariotske ćelije pomoću gigantskog molekula u obliku dve žice koji su po građi isti samo izgledaju jedan prema drugom kao lik i njegova slika u ogledalu, kako ih opisuje. Ovo objašnjenje je dokazano kao tačno 26 godina kasnije, gigantski molekuli iz opisa su hromozomi

Termin citoskelet prvi put je upotrebio ruski naučnik Nikolaj Konstantinovič Koljcov 1903. godine, iako nije znao tačno njegovu detaljnu građu okarakterisao ga je kao veoma važnu komponentu ćelijske citoplazme [128]. Proteiniski citoskelet se nalazi kod svih oblika prokariotskih i eukariotskih ćelija i usko je specifičan za svaki njen tip.

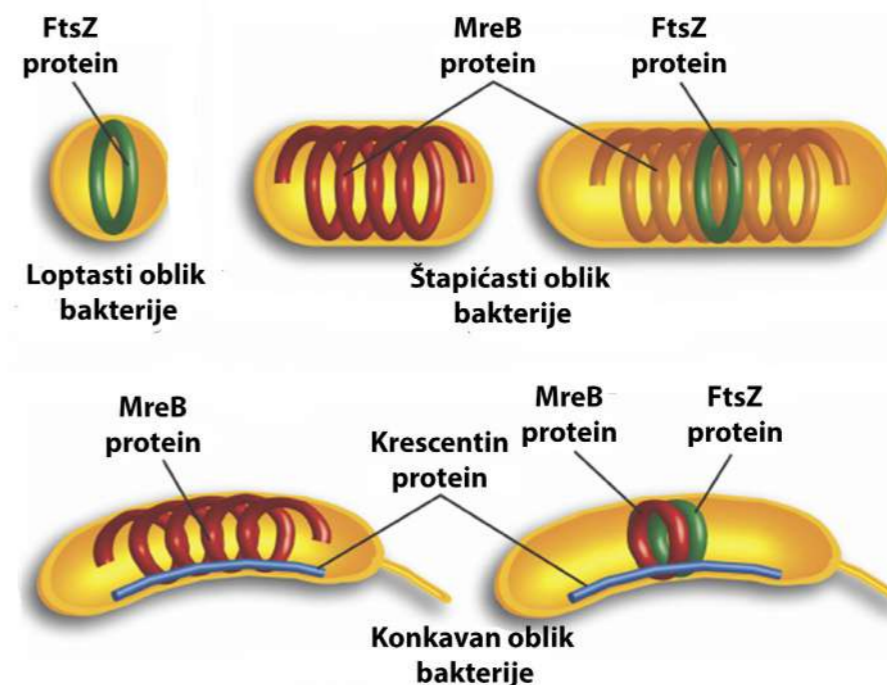
Prokariotske ćelije imaju citoskelet u obliku mreže proteinskih vlakana i globula, u potpunosti drugačijih po građi od eukariotskih, ali sa potpuno istom ulogom. Citoskelet daje prokariotskoj ćeliji oblik, omogućava njen metabolizam, ima ključnu ulogu u deobi ćelija, zaštiti ćelija od nepovoljnih spoljašnjih uticaja, ostvaruje aktivno kretanje i obezbeđuje polarnost prokariotske ćelije. Za sad postoji opisano nekoliko različitih proteinskih makromolekula prokariotskog citoskeleta: FtsZ, MreB, krescentin, parm i SopA, sistem MinCDE, baktofilin i krenaktin [129].

FtsZ su porodica proteina citoskeleta neophodnih u fisioj deobi prokariotskih ćelija i srodni su tubulinu kod eukariota. FtsZ proteini stupaju u međusobnu interakciju privlačenjem i polimerizacijom formirajući prsten tačno oko sredine ćelije. Molekuli ovih proteina stabilizuju prsten vezivajući ga za ćeli-

jsku membranu i kontrahuju se sužavajući prsten u toku deobe. Tako, FtsZ prsten izgrađen od FtsZ proteina služi kao organizator za izgradnju pregrade između ćerki ćelija u toku ćelijske deobe.

MreB su proteini bakterijskog citoskeleta sa sposobnošću polimerizacije i depolimerizacije svojih molekula u cilju kreiranja trodimenzionalne spiralne niti unutar ćelije, odmah ispod ćelijske membrane. MreB proteini imaju sposobnost povezivanja i sa drugim proteinima i nalik su na aktin kod eukariota. Inaktivacija gena koji kodira sintezu MreB proteina kod štapićastog oblika baktreije dovodi do toga da njihove ćelije imaju loptast oblik. Bakterijska ćelija MreB proteinskim molekulima iz pravca svoje citoplazme pruža otpor spoljnim uticajima, daje čvrstinu ćelijskoj membrani i oblikuje se u prostoru. Takođe, MreB proteini citoskeleta kreiraju fiziološki pol bakterijske ćelije to je pol ćelije na kojem se mnogo aktivnije obavljaju fiziološki i metabolički procesi. Spiralna struktura koju formiraju MreB proteini nije statična već se rotira unutar citoplazme i lokalizuje sintezu novog ćelijskog zida na nekoliko tačaka duž ćelije.

Krescentini su proteini prokariotskog citoskeleta sa manjom sposobnošću polimerizacije i depolimerizacije svojih filamenata i zato grade čvrste filamentozne strukture. Fimaneti krescentina su nepohodni kod vibrio bakterija jer im daju karakterističan zakrivljen ili savijen oblik. Molekuli krescentina se nagomilavaju na jednom ili više mesta sa unutrašnje strane ćelijske membrane u obliku polumeseca i na tim mestima bakterijska ćelija se savija u konkavan oblik.



[129] Šematski prikaz proteina prokariotskog citoskeleta

Parm i SopA su proteinski elemneti citoskeleta prokariotske ćelije koji imaju sposobnost polimerizacije svojih molekula u cilju omogućavanja organizacije, udvajanja, razdvajanja i prenosa udvojenog lanca plazmida u toku ćelijske deobe. U toku deobe bakterijske ćelije Parm i SopA proteini se okupe oko plazmida, zatim se vežu za njega i aktiviraju enzime njegovog udvajanja. Parm i SopA proteini nakon udvajanja plazmida učestvuju u njegovom prenošenju u drugu bakterijsku ćeliju u procesu konjugacije ako se za to stvore odgovarajući uslovi.

MinCDE sistem proteinskih filamenata prokariotskog citoskeleta izgrađenje od MinC, MinD i MinE molekula. Ovi proteini međusobno nteraguju kako bi pravilno na sredini bakterijske ćelije pozicionirali FtsZ prsten u toku njene deobe. MinD molekuli polimerizacijom formiraju spiralnu strukturu na unutrašnjoj površini ćelijske membrane kako bi lokalizovali mesta vezivanja MinC proteina za nju.

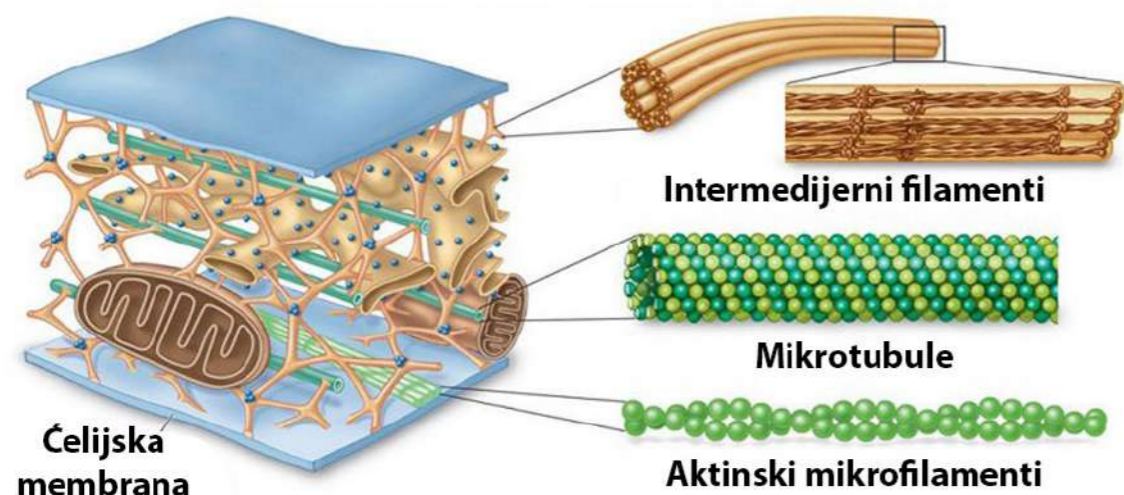


Spirala sa unutrašnje strane ćelijske membrane organizuje sadržaj citoplazme prokariotske ćelije koji se deli na dva jednaka dela u toku deobe. MinE molekuli kontrolišu pravilno pozicioniranje i vezivanje MinC i MinD molekula na sredini ćelije gde će se ona i podeliti, kako ne bi došlo do njihovog polimerizovanja na krajevima ćelije.

Baktofilin je proteinski element bakterijskog citoskeleta koji je neophodan za pravilno održavanje oblika ćelije i celovitosti njenog ćelijskog zida tako što kreira veoma čvrsta vlakna po celoj zapremini ćelije i svim pravcima. Ovaj protein prokariotskog citoskeleta bakterijama štapičastog oblika daje karakterističan štapičast oblik i ako je on mutiran i nije pravilno polimerizovan bakterijska ćelija ne može da preživi. Veoma dugačak proteinski molekul krenaktin, element je prokariotskog citoskeleta i ima oblik šipke ili igle, a ima važnu ulogu u održavanju oblika bakterijskih ćelija. Krenaktin je najsličniji od svih molekula prokariotskog citoskeleta po građi i ulozu sa mikrofilamentima eukariotskih ćelija. On učestvuje u određivanju oblika bakterijske ćelije od loptastog, preko štapičastog do spiralnog i za to koristi energiju u obliku ATPa ili GTPa.

Morfo-funkcionalne komponente ili elementi citoskeleta svih eukariotskih ćelija su proteinske prirode: mikrofilamenti, intermedijarni filamenti i mikrotubule, kao i mnogobrojni citoskeletni pridruženi proteini koji formiraju ćelijsku citoskeletnu mrežu [130]. Mikrofilamenti i mikrotubule izdužuju se i skraćuju u procesima izgradnje tj. polimerizacije i razgradnje tj. depolimerizacije njihovih monomerskih subjedinica, dok su intermedijarni filamenti znatno postojanije komponente ćelijskog skeleta. Mikrofilamenti i intermedijarni filamenti grade citoskelet i nukeloskelet, dok mikrotubule grade samo citoskelet eukariotske ćelije.

Citoskelet eukariotskih ćelija učestvuje u obrazovanju i očuvanju ćelijskog oblika vezivanjem njegovih proteinskih filamenata za proteine ćelijske membrane, uspostavljanjem kontakta ćelije sa vanćelijskom sredinom i doprinoseći u međusobnom komuniciranju ćelija [147]. Pored nabrojanih uloga citoskeleta ne treba izostaviti njegovu ulogu u razmeni signala između ćelija, u hromozomskoj segregaciji tokom ćelijske deobe, ćelijskoj migraciji u procesu ćelijske diferencijacije, promeni oblika ćelije tokom kretanja i u procesu izgradnje šablona za sintezu ćelijskog zida kod biljnih ćelija. Citoskelet je integralni deo citoplazme svake ćelije, a sve njene funkcije su posledice prisustva citoskeleta. Važnost citoskeleta u ćeliji je tolika da ako je njegova funkcija onemogućena iz bilo kog razloga ćelija ne može da preživi.



[130] Šematski prikaz komponenta citoskeleta eukariotskih ćelija

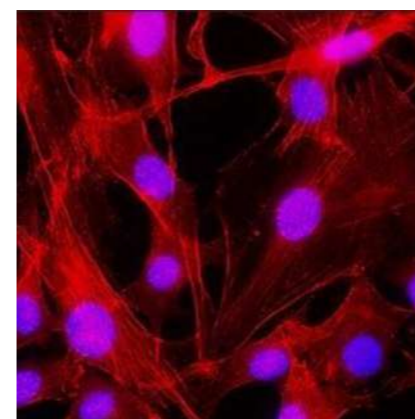
Udružene komponente ćelijskog skeleta doprinose gel stanju citoplazme, situaciji kada ona povećava svoju gustinu i može bez deformacija da izdrži mehanički pritisak. Samo nabiranje funkcija koje ćelijski skel-et ispunjava pokazuje da uprkos nazivu koji ukazuje na rigidnu, nepokretnu i nepromenljivu strukturu

njegovih elemenata, on naprotiv, predstavlja krajnje promenljivu i fleksibilnu ćelijsku komponentu. Tako, da bi citoskelet ćelije pre trebalo nazvati ćelijski pokretni skelet ili citomuskulatura, koja pojedinim ćelijskim organelama i ćeliji u celini pruža ne samo oslonac već im omogućava širok spektar arhitektonske preraspodele u prostoru.

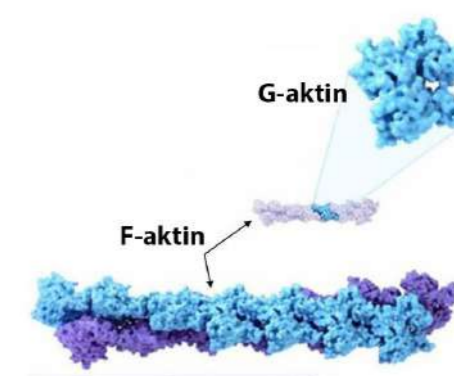
## MIKROFILAMENTI

Neprestani mehanički pritisci ćelija od strane vanćelijske sredine kao i okolnih ćelija u prvoj liniji odražavaju se u nivou ćelijske membrane i prenose se na citoskelet u citoplazmi ćelije. Budući da su elementi citoskeleta posredno povezani sa ćelijskom membranom, veoma brzo bivaju informisani o pritiscima i adekvatno reaguju na njih svojom prostornom reorganizacijom. Zato se o mikrofilamentima, elementima citoskeleta, govori kao o sistemu koji je, poput građevinskih konstrukcija, sposobnom da mehanički stabilizuje ćeliju [131]. Postoje brojni proteini mikrofilamenti, koji stabilizuju citoskelet u ćeliji. Tako što koliko je to maksimalno moguće neutrališu sile tenzije i kompresije. Ovakvo ponašanje mikrofilamenata u ćeliji opisuje se njihovom fleksibilnošću i stalnom dinamičnošću. Upravo ta dinamičnost i povezanost mikrofilamenata sa drugim elementima citoskeleta, kategorise ih komponentama citoskeleta. Postoje brojne supstance izolovane iz gljiva, među kojima su najpoznatije citohalazin i faloidin, one inhibitorno utiču na procese polimerizacije i depolimerizacije elemenata citoskeleta. Njihovo korišćenje mnogo je doprinelo sagledavanju prostornog rasporeda mikrofilamenata u različitim tipovima ćelija, kao i promenama tog rasporeda tokom različitih procesa koji se u ćelijama odvijaju.

Mikrofilamenti nazivaju se još i aktinski filamenti jer su izgrađeni od proteina aktina, njima su pridruženi brojni i raznovrsni aktin-vezujući proteini. Molekuli aktin-vezujućih proteina stupaju u strukturnu i funkcionalnu kooperaciju sa molekulima proteina aktina iz mikrofilamenata gradeći tako morfo-funkcionalne jedinice ćelijske mikrofilamentozne mreže. Monomeri mikrofilamenata su globularne subjedinice proteina aktina (G-aktin), koji čini od 5 do 30% od ukupne količine svih proteina u većini ćelija. Globularni monomeri G-aktina se udružuju polimerizacijom u dva lanca koji se spiralno jedan oko drugog uvijaju gradeći aktinski filament (F-aktin) [132].



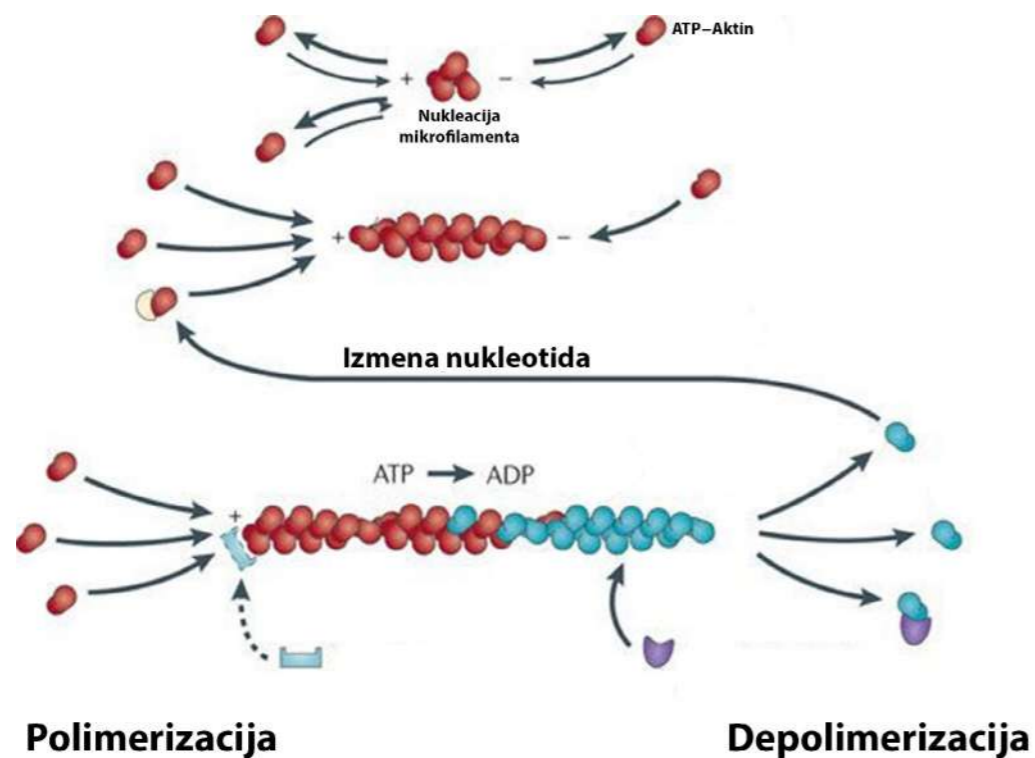
[131] Mikrografija mikrofilamenata (crveno)



[132] Šema udruživanja G-aktina u F-aktin

Dva molekula G-aktina prvo se vezuju jedan za drugi relativno slabo, nakon čega dolazi do vezivanja i trećeg molekula G-aktina gde nastaje trimer, a cela grupa je mnogo stabilnija. Vezivanje tri monomera mikrofilamenta tj. tri molekula G-aktina predstavlja proces začetka ili nukleacija mikrofilamenta. Prečnik aktinskog filamenta iznosi oko 8 nm, dok u formiranju jednog potpunog zavoja učestvuje oko 13 monomernih jedinica G-aktina.

Polovina molekula G-aktina od njegove ukupne količine u nemišićnoj ćeliji vertebrata nalazi se u polimerizovanoj formi u obliku aktinskih filamenata, dok je druga polovina nepolimerizovana i prisutna u citoplazmi u formi monomera. Pri promeni oblika ćelije prvo dolazi do depolimerizacije postojećih mikrofilamenata koji nisu potrebni ili smetaju pokretu i tek onda ubrzo do repolimerizacije i formiranja novih mikrofilamenata sa drugačijom orijentacijom i rasporedom neophodnim za pokret. Za svaki molekul aktina uvek je vezan molekul ATP-a ili molekul ADP-a i od njih, prema modelu koji je predložio Marc W. Kirschner zavisi polimerizacija odnosno depolimerizacija aktinskog filamena. Do polimerizacije dolazi kada je za G-aktin vezan molekul ATPa, tada se G-aktin hidrolizuje i vezuje za slobodan kraj mikrofilamena i u tom obliku ostaje vezan za aktinski molekul, dok ATP prelazi u ADP. Pri depolimerizaciji od mikrofilamena se odvajaju aktinski molekuli (G-aktini) sa vezanim ADP-om za sebe, G-aktini sa vezanim ATP-om biće sposobni za ponovnu polimerizaciju tek kada se molekul ADP-a zameni sa ATP-om [133].



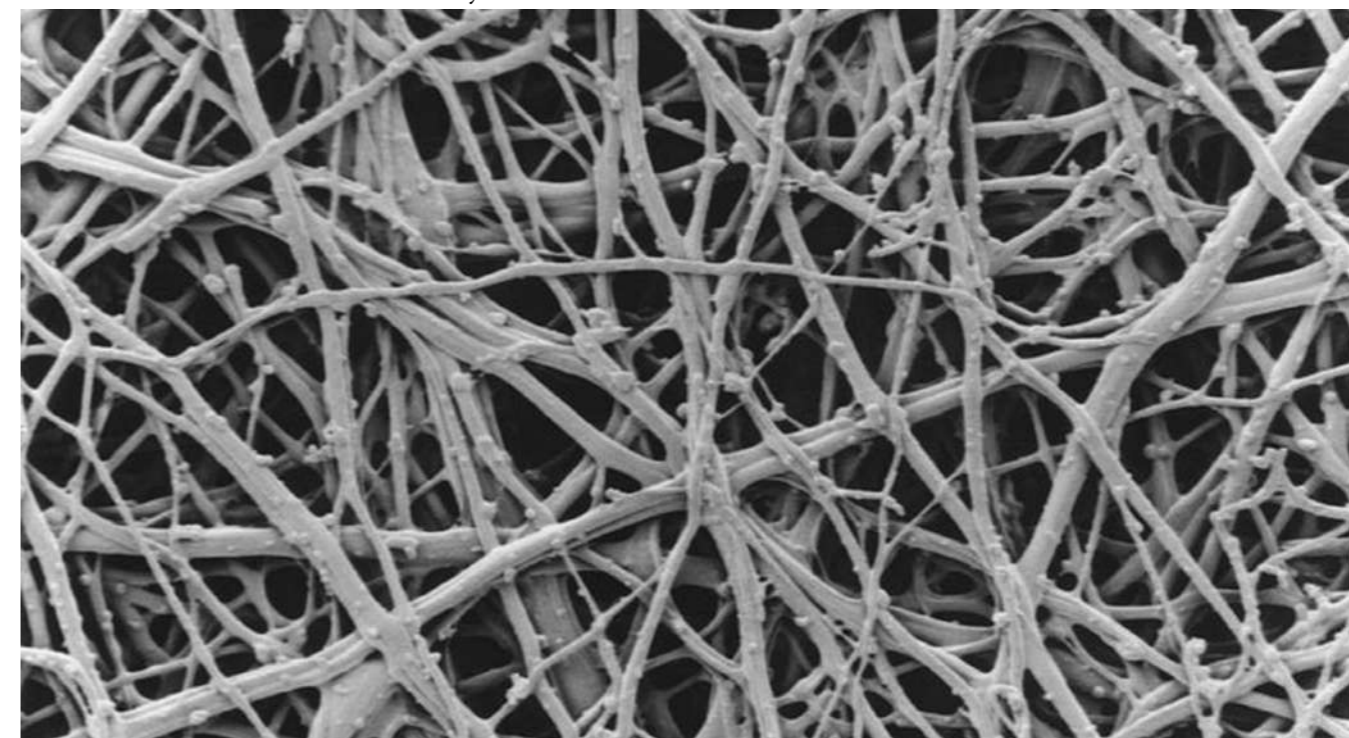
[133] Šema procesa polimerizacije i depolimerizacije mikrofilamenta

Aktin (G-aktin) je jedan od količinski najprisutnijih proteina u eukariotskim ćelijama, sintetiše se na polizomima gde odmah nakon sinteze pružima svoju definitivnu strukturu. U slučaju stresne situacije za ćeliju povećava se sinteza aktina koji ubrzano grade mikrofilamente citoskeleta i pripremaju ćeliju za odgovor. Treba naglasiti da iako mikrofilamenti postoje u svim ćelijama životinja, biljaka i gljiva aktinski molekuli koji ih stvaraju nisu isti. Oni nemaju identična svojstva, nazivaju se porodica aktinskih molekula i njihove razlike se ogledaju u regulatornim mehanizmima koji omogućavaju različite vrste unutarćelijskog i ćelijskog kretanja. Molekuli G-aktina javljaju se u šest izoformi:  $\alpha$ -skeletalni aktin u skeletnoj muskulaturi,  $\alpha$ -srčani aktin u srčanoj muskulaturi,  $\alpha$ -vaskularni aktin u glatkim mišićnim ćelijama krvnih sudova,  $\alpha$ -enterični aktin u glatkoj muskulaturi organa,  $\beta$ -citoplazmatski aktin u nemišićnim ćelijama i  $\gamma$ -citoplazmatski aktin takođe u nemišićnim ćelijama.

Na svakom mikrofilamentu razlikuju se brzorastući ili plus pol ili kraj i spororastući ili minus pol tj. kraj. Na polovima aktinskog filamena u toku polimerizacije dodaju se monomeri G-aktina sve dok on ne

dostigne odgovarajuću dužinu. Mikrofilamenti su nesimetrični zbog različite brzine polimerizacije, kao što je rečeno na jednom kraju aktinskog filamena ovaj proces je uvek intenzivniji, na plus kraju, za razliku od sporijeg, minus kraja filamena. Kad aktinski filament dostigne konačnu dužinu za njegov plus kraj vezuje se protein kape koji sprečava njegovu dalju elongaciju i čini ga stabilnim. Brojna ispitivanja ponašanja mikrofilamenata u in vitro uslovima pokazala su da procesi polimerizacije, rastežanja aktinskog filamena u dužinu dodavanjem novih molekula aktina, kao i procesi depolimerizacije, skraćivanja dužine filamena, ne odigravaju se istim intenzitetom na jednom odnosno drugom slobodnom kraju filamena. U mišićnim ćelijama aktinski filamenti su stabilni jer se sporo ili nikako ne depolimerizuju, dok su u nemišićnim ćelijama nestabilni i brzo se razgrađuju po obavljanju svoje uloge. Sposobnost aktinskih filamenata da se brzo po potrebi ćelije polimerizuju u svakom delu njene citoplazme i depolimerizuju po prestanku potrebe za njima dovodi do promene viskoznosti i povećanja dinamičnosti citoplazme.

Kao komponenta unutarćelijskog skeleta aktinski filamenti ne samo što su uključeni u procese kretanja eukariotskih ćelija, u fagocitozi, u ispoljavanju fenomena kontraktilnosti, promene oblika ćelija, kao i ostvarivanju citokineze tokom ćelijske deobe, već u svim nabrojanim procesima imaju centralnu ulogu. Raspored mikrofilamenata u ćelijama razmatra se na primeru u dva oprečna tipa - aktinski filamenti u pokretnoj ćeliji poput fibroblasta i u nepokretnoj ćeliji poput ćelije epitela. To pokazuje u kojoj meri ova komponenta unutrašnjeg ćelijskog skeleta učestvuje u stvaranju morfoloških razlika ćelija. Treba istaći da su aktinski monomeri i aktinski filamenti prisutni kako u citoplazmi tako i u jedru sa velikim strukturnim i funkcionalnim značajem.

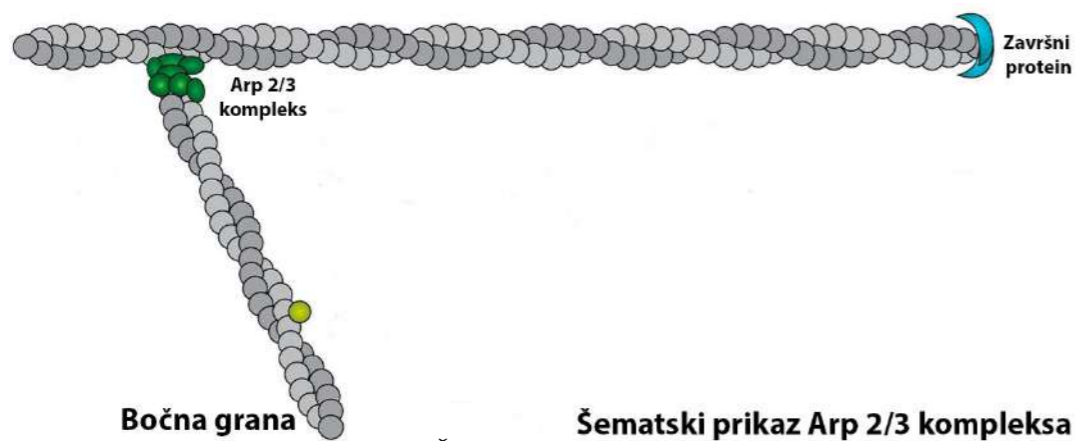


[134] Elektronmikrografija aktinskih filamenata sa aktin-vezujućim proteinima

Aktin-vezujući proteini [134] u kooperaciji sa aktinskim filamentima ostvaruju brojne aktivnosti ćelije zasnovane isključivo i jedino na njihovoj međusobnoj interakciji. Aktin-vezujući proteini pripadaju pratećim proteinima koji regulišu nastanak, rast i stabilnost citoskeletnih aktinskih filamenata. Oni su veoma raznovrsna grupa proteina, različita po svom aminokiselinskom sastavu, veličini molekula i trodimenzionalnom obliku. Takođe, oni su pokretači udruživanja aktinskih monomera, koordinatori signala usmerenih ka aktinskoj komponenti celog citoskeleta i odgovorni za signale koje prima citoskelet sa ćelijske membrane.

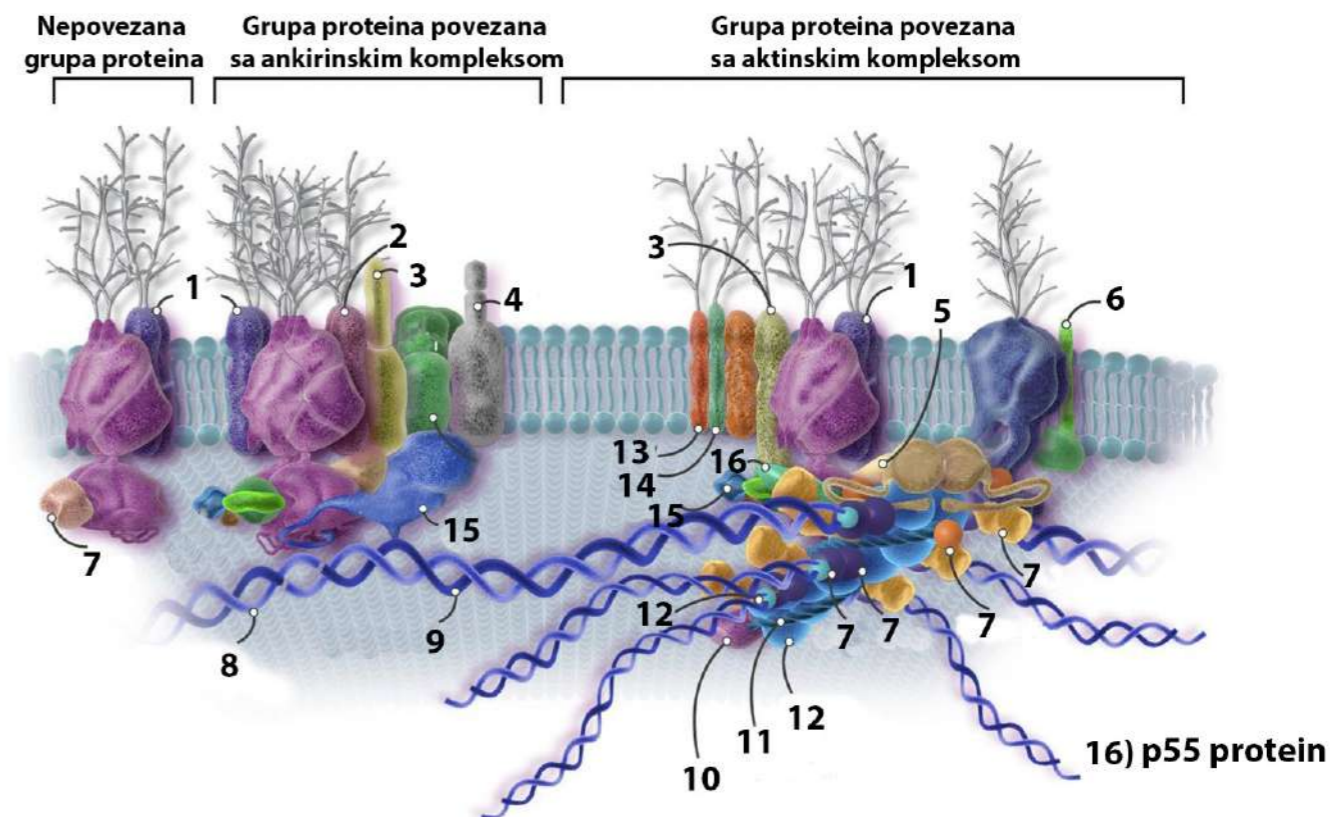
Različiti aktin-vezujući proteini inkorporirani u citoskelet primaju signal iz citoplazme i sa ćelijske membrane a utiču na aktiviranje i grupisanje posredničkih transmembranskih proteina ćelijske membrane koji ostvaruju kontakt sa vanćelijskom sredinom. Aktin-vezujući signalni proteini primaju signal sa ćelijske membrane ili iz citoplazme za na primer pokretanje procesa nukleacije odnosno začinjanja novih aktinskih filamenata ili proces depolimerizacije postojećih filamenata. Aktin-vezujući signalni proteini mogu da pokrenu na već postojećim aktinskim filamentima pojavu bočnih grana koje se izdužuju polimerizacijom. Na taj način se formira nova dinamična razgranata mreža citoskeleta koja je sve vreme pod kontrolom proteina ćelijske membrane i pozicionirana je submembranski. Svi aktin-vezujući proteini se dele u dve grupe: strukturne koji uspostavljaju i organizuju aktinske filamente i motorne koji omogućavaju aktinskim filamentima da funkcionišu u smislu kontraktilnosti i pokretanja.

Strukturni aktin-vezujući proteini zajedno sa aktinskim filamentima u većini ćelija životinja formiraju tanku mrežastu strukturu na periferiji citoplazme nazvan ćelijski korteks. Deo aktinskih filamenata citoplazme u vezi je sa transmembranskim proteinima ćelijske membrane i tako čini submembranski skelet. Brojni su aktin-vezujući proteini koji neposredno ili posredno učestvuju u polimerizaciji aktinskih filamenata, podstičući taj proces ili inhibirajući ga. Direktno na polimerizaciju mikrofilamenata utiče timozin koji se vezuje za G-aktin i približava ga plus kraju aktinskog filameta gde se G-aktin vezuje. Suprotno njemu aktin-vezujući protein profilin blokira polimerizaciju plus kraja aktinskog filameta i istovremeno taj kraj filameta vezuje za unutrašnju stranu ćelijske membrane. Aktinski filamenti ćelijskog korteksa kod ćelija životinja smeštene su neposredno ispod ćelijske membrane i umrežene su posredstvom aktin-vezujućeg proteina filamina. Kortikalna citoplazma može brzo da menja viskozitet, odnosno da prelazi iz sol (ređa faza, bez jake mreže mikrofilamenata) u gel (gusta faza, sa jakom mrežom mikrofilamenata) stanje i obrnuto iz gel u sol stanje. Filamini učestvuju u organizovanju trodimenzionalne mreže mikrofilamenata tako što je vezuju i daju potporu na onim mestima gde se mikrofilament ukrštaju i prevode citoplazmu iz sol u gel stanje. Obrnuti postupak, tj. prelazak iz gel u sol stanje naziva se likvefakcija ćelijskog korteksa i izaziva je protein gelsolin, presecanjem aktinskih filamenata i sprečavanjem njihove polimerizacije. Multifunkcionalni protein gelsolin može da preseče aktinske filamente na dva fragmenta, da se prikači za plus kraj slobodnog ili novopresečenog aktinskog filameta i tako prekine i spreči njihovu polimerizaciju. Svoju aktivnost gelsolin iskazuje kada je pod uticajem veće koncentracije jona kalcijuma ili pri vrednostima pH u sredini nižim od 6,5. Sličnu ulogu završnog proteina koji se vezuje za plus kraj aktinskog filameta u cilju zaustavljanja njegove polimerizacije imaju CapZ i tropomodulin aktin-vezujući protein koji se vezuju za minus kraj filameta. CapZ i tropomodulin prisutni su u poprečno-prugastim mišićnim ćelijama gde je neophodna stabilna i konstantna dužina aktinskih filamenata.



**Šematski prikaz Arp 2/3 kompleksa**  
[135] Šema Arp 2/3 kompleksa

Interesantan je Arp2/3 kompleks aktin-vezujućih proteina [135] koji inicira stvaranje bočnih grana na aktinskim filamentima, tako što se vezuje za postojeći filament i na tom mestu počinje da polimerizuje G-aktin pod uglom u odnosu na početni pravac filameta i daljom polimerizacijom stvara se grana filamentoznog lanca. Skelet mikrofilamenata ispod ćelijske membrane čini mreža međusobno i unakrsno povezanih aktinskih filamenata pomoću raznovrsnih aktin-vezujućih proteina među kojima su i spektrini alfa i beta. Ovi proteini vezuju se preko perifernih membranskih proteina za transmembranske proteine ćelijske membrane. Povezivanje perifernih proteina unutrašnjeg jednosloja ćelijske membrane u veće funkcionalne jedinice koje su u kontaktu sa citoskeletom vrši aktin-vezujući protein ankirin i protein traka 4.1. Submembranski citoskelet oblikuje i učvršćuje ćelijsku membranu, ali je čini i fleksibilnom [136].

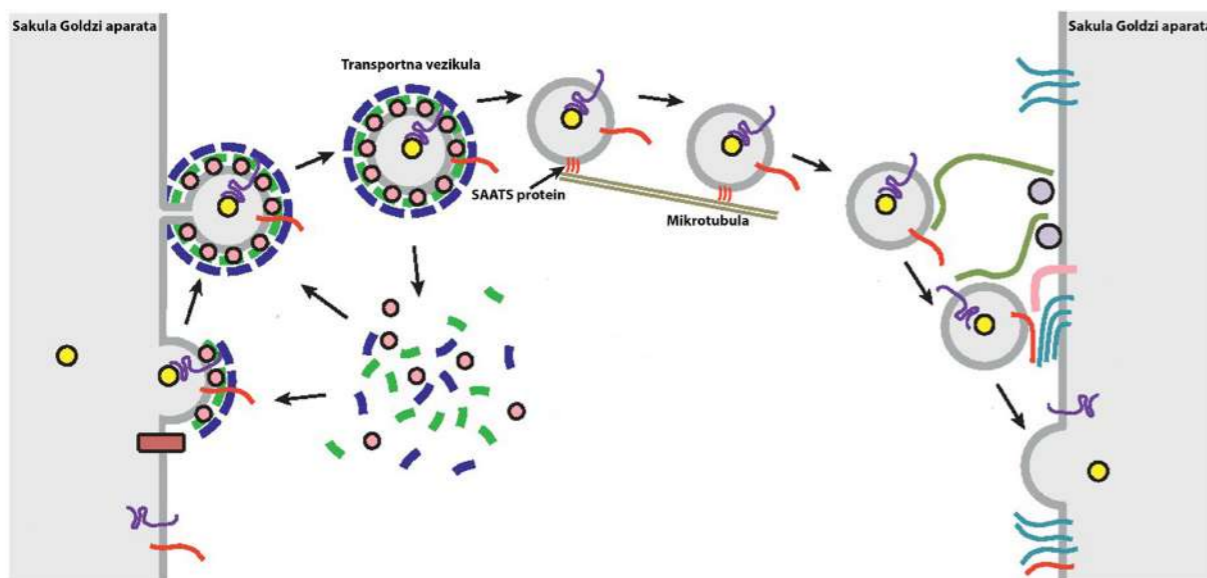


- |                             |                                      |                                |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| <b>1) Glikoporin A</b>      | <b>6) Stomatin</b>                   | <b>11) Tropomiozin</b>         |
| <b>2) Glikoporin B</b>      | <b>7) Aktin vezujući protein 4.1</b> | <b>12) F-aktin</b>             |
| <b>3) CD protein</b>        | <b>8) Alfa spektrin</b>              | <b>13) Membranski receptor</b> |
| <b>4) Receptor</b>          | <b>9) Beta spektrin</b>              | <b>14) Membranski receptor</b> |
| <b>5) Vezujući kompleks</b> | <b>10) Tropomodulin</b>              | <b>15) Ankirin</b>             |

[136] Šematski prikaz proteina submembranskog citoskeleta eritrocita

Aktinski filamenti mogu biti usnopljeni pomoću vezujućih proteina fimbrina i vilina, čineći srž i vrh mikrovila i stereocilija i komponente su međućelijskih veza. Fimbrin udružuje aktinske filamente tesno jedan pored drugog ali ih u isto vreme i održava na određenom rastojanju tako što se čvrsto umeću između njih, kao prečke. Na sličan način se između susednih paralelnih aktinskih filamenata postavlja i protein  $\alpha$ -aktinin i održava ih na većem međusobnom rastojanju nego fimbin. Treba spomenuti da je vilin jedan od proteina pridruženih aktinu koji poput gelsolina pokazuje multifunkcionalnost. On sa jedne strane učestvuje u formiranju aktinskih snopova dok sa druge u sadejstvu sa jonima kalcijuma utiče na fragmentisanje aktinskih filamenata, na aktiviranje početka njihove polimerizacije, kao i na izduživanje već

postojećih. Proučavanje veza uspostavljenih između membrana Goldžijevog aparata i aktinskih filamenata preko molekula spektrina pokazala su da u formiranju ove veze učestvuju niz citoplazmatičnih proteina koji sa spektrinom obrazuju multifunkcijske komplekse. Spektrin sa jedne strane obezbeđuje vezu sa aktinskim filamentima a sa druge sa motornim molekulima mikrotubula, ovaj kompleks aktin-vezujućih proteina naziva se SAATS (spektrin-ankirin-adaptirani-transportni-sistem). Sačinjen je od spektrina, ankirina i vezujućih proteina koji učestvuju u održavanju morfološki i funkcionalno jasne organizovanosti Goldži aparata, kao i u ostvarivanju protoka sintetisanih proteina od endoplazmetskog retikuluma preko Goldži aparata do ćelijske membrane. SAATS kompleks učestvuje u izgradnji proteinskih mostova prisutnih između sakula Goldži aparata [137].



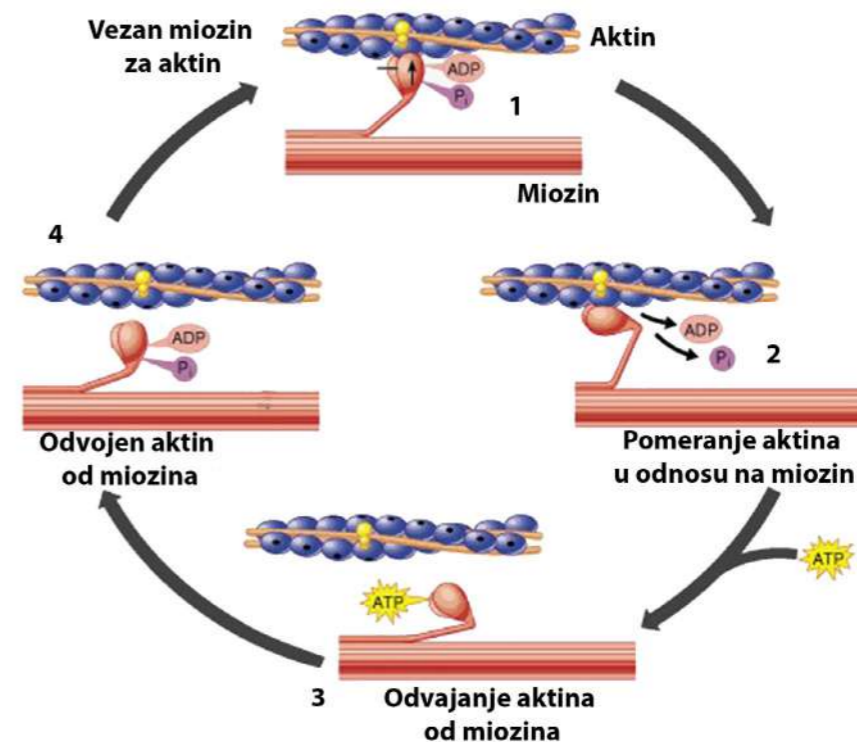
[137] Šematski prikaz uloge aktin-vezujućeg proteina SAATS kompleksa



Motorni aktin-vezujući proteini, miozini, u kooperaciji sa aktinskim filamentima imaju ulogu u kontrakcijama mišićnih i pokretima nemišićnih ćelija. Motorni miozini imaju ulogu i kretanju jednoćelijskih organizama čineći skeletnu mrežu u pseudopodijama, ćelijskim produžecima za kretanje [138]. Miozinski filamenti aktin-vezujućih proteina su prvo identifikovani u ćelijama poprečno-prugaste i glatke muskulature pa su tako i dobili ime, a danas je dokazano da praktično sve eukariotske ćelije sadrže izoforme miozina.

[138] Mikrografija pseudopodije kod amebe

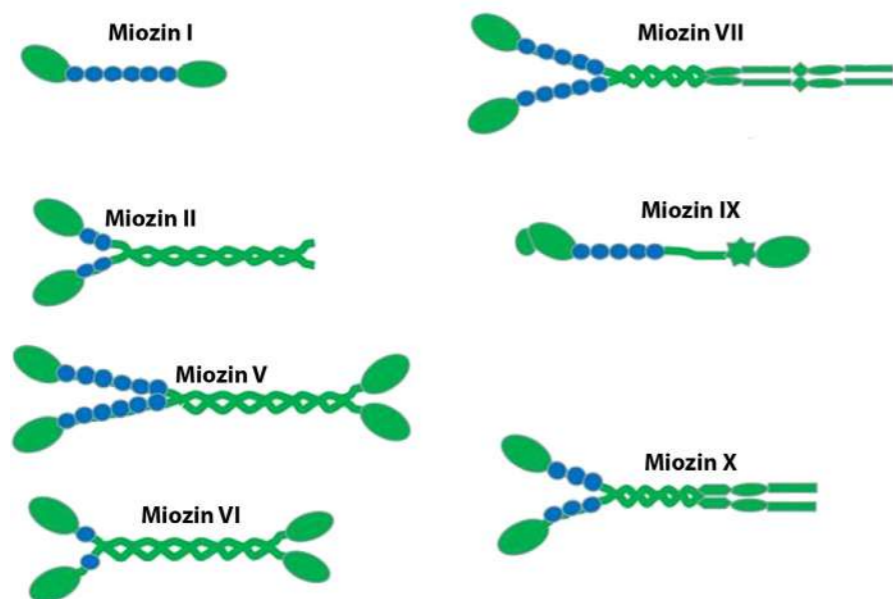
Aktinski filamenti udružuju se sa većim brojem proteina, među kojima su i tropomiozin i troponinski kompleks u poprečno-prugastim mišićnim ćelijama; i tropomiozin i kalmodulin u glatkim mišićnim ćelijama. Ovako građen aktinski filament interaguje sa miozinima i uz potrošnju ATP-a dolazi do njegovog kretanja, odnosno do kontrakcije. Miozini su superfamilija motornih aktin-vezujućih proteina najpoznatijih po ulozi u kontrakcijama mišića i širokom spektru drugih pokreta unutar eukariotskih ćelija. Molekule proteina miozina grade globularni i filamentozni segmenti. Miozini su građeni od globularne glave i repa koji može biti promenljive veličine. Miozin je protein koji poseduje ATPaznu aktivnost, pri čemu se oslobađa energija koja se koristi za klizanje filamenata aktina duž miozinskog filamenata. Miozini pretvaraju hemijsku energiju ATPa u mehaničku silu, koja proizvodi dalje snagu i kretanje [139]. Kontrakcije mišićnih i nemišićnih ćelija zasnivaju se na međusobnim interakcijama aktinskih i miozinskih filamenata i iz tog razloga se protein miozin označava kao "molekularni motor". Pravilo je da se miozinski molekuli uvek kreću ka plus kraju aktinskih filamenata, osim miozina IV koji se kreće ka minus kraju. Snopovi aktinskih filamenata u mišićnim ćelijama pogrešno se nazivaju i označavaju kao kontraktilni snopovi filamenata, s obzirom na to da se kontrakcija mišićnih ćelija ostvaruje klizanjem aktinskih filamenata preko miozinskih a ne njihovim skraćivanjem. Znači snopovi aktinskih filamenata u mišićnim ćelijama treba da se nazivaju klizeći snopovi filamenata. Evolutivno izoforme miozina [140] i njihovih odgovarajućih gena u raznim životinjskim i biljnim vrstama veoma su stare, konzervativne i teško se menjaju. Ovu činjenicu potkrepljuje dokaz da molekul aktina iz ameba može da polimerizuje u miozinski filament zeca u in vitro uslovima.



[139] Šematski prikaz pomeranja aktina u odnosu na miozin II

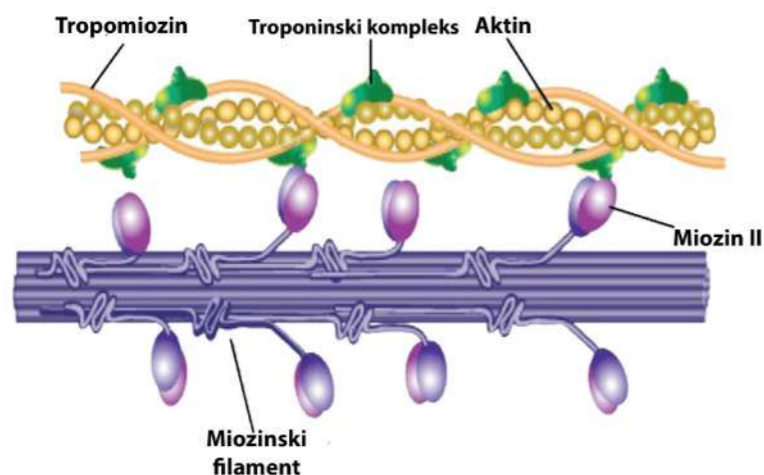
**Miozin I** zastupljen je u nemišićnim ćelijama, građen je od jednog teškog proteinskog lanca sa jednom glavom i nema sposobnost obrazovanja molekula u debele filamente. Miozin I učestvuje u izgradnji cito-skeleta Protozoa, ćelija kvasaca, kao i drugih vrsta diferenciranih ćelija poput fagocita, nervnih ili čulnih ćelija. Motorni aktin-vezujući protein miozin I vezuje se sa jedne strane za aktinski filament, a sa druge za ćelijsku membranu ili membranu organela i time omogućava pokrete membrane ili transport organela.

Takođe, miozin I uključuje se u unutarćelijsku organizaciju mikroresica na površini ćelijske membrane prema spoljašnjosti ćelija, kao i u komplekse ćelijskih proteina odmah ispod površine ćelijske membrane u cilju amortizovanja mehaničkog stresa ćelija.



[140] Crteži nekih od oblika molekula miozina

**Miozin II** je prvo identifikovani motorni aktin-vezujući protein u eukariotskim ćelijama i odgovoran je za omogućavanje kontraktilnosti u mišićnim i nemišićnim ćelijama [141]. Molekuli miozina II obrazovani su od dva teška lanca koji formiraju glave i rep ovog molekula, i od dva para lakih lanaca u vratnom regionu. Jedna od odlika molekula miozina II predstavlja njihovu sposobnost da se udružuju u filamente, koji u sadejstvu sa čitavim nizom drugih proteina i faktora omogućavaju klizanje aktinskih filemenata što dovodi do kontrakovanja mišićnih ćelija. Svaka glava miozina ima vezan molekul ATPa, kojeg može da hidrolizuje i dobije energiju za kretanja prema plus kraju aktinskog filameta. Miozin II takođe je veoma značajan u procesu ćelijske deobe, tokom citokineze kada se ćelija deli na dve ćerke ćelije.

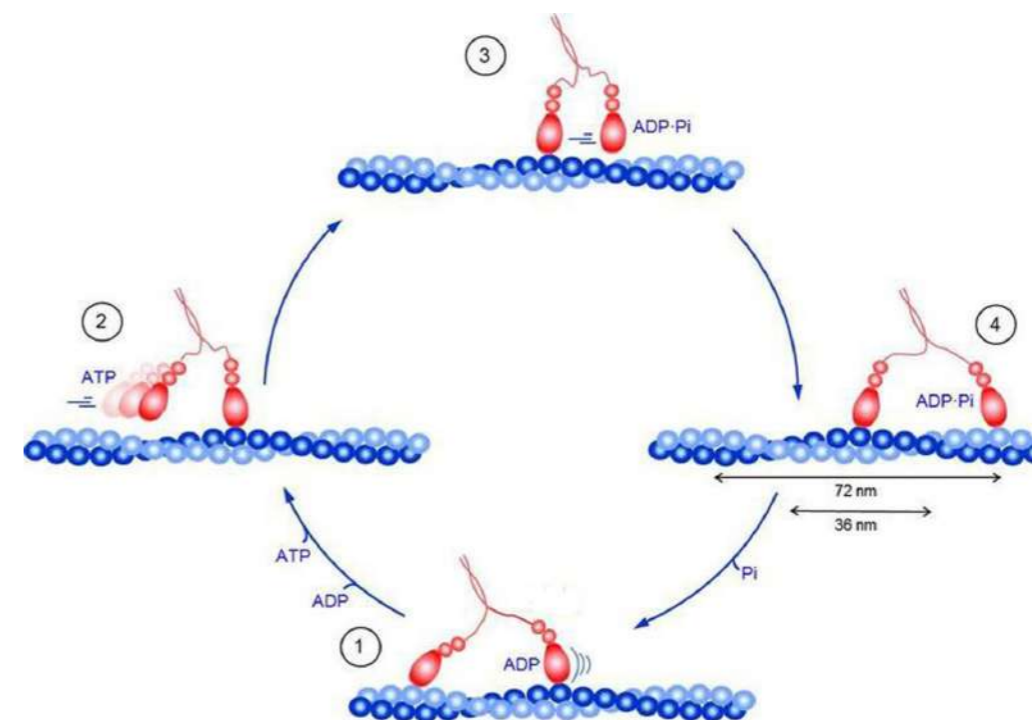


[141] Šematski prikaz položaja miozinskog filameta u odnosu na aktinski

**Miozin III** do sada je pronađen kod drozofila gde ima ulogu u prenosu svetlosnog nadražaja sa površine ćelijske membrane ćelije oka u citoplazmu.

**Miozin IV** ima funkciju u organizovanju začetaka polimerizacije aktinskih filamenata.

**Miozin V** udružuje svoja dva molekula u izgradnji filameta, uključenih u prenosu vezikula i transportnih organela kroz ćeliju. Miozin V prenosi molekule RNK, sve vrste vezikula, mitohondrije i lizosome od centra ćelije prema periferiji. Takođe, omogućava kretanje ćelija, vezikularni membranski transport i prenos signala sa površine ćelije u citoplazmu i dalje kroz ćeliju. Četiri molekula miozina V udružuju se u tetradu koje su jače i služe da zadržavaju i stabilišu organele na periferiji ćelije [142].



[142] Šematski prikaz pokreta miozina V po aktinkom filamentu

**Miozin VI** razlikuje od ostalih članova nadporodice motornih aktin-vezujućih molekula, miozina, jer se u toku kontrakcije kreće ka minus kraju aktinskih filamenata. Molekul miozina VI je dimer, ali se pojavljuje i kao monomer i on transportuje endocitozne vezikule kroz ćeliju. Ovi miozinski molekuli lokalizovani su u oblasti citoskeleta vršnih delova epitelnih ćelija i udružuju se sa komponentama Goldži aparata. Kao što je napomenuto u perifernom tj. korteksnom, regionu svih ćelija mikrofilamenti zajedno sa pridruženim aktin-vezujućim proteinima formiraju submembranski citoskelet, sposoban da ćeliji menja oblik.

**Miozin VII** je karakterističan molekul zato što ima dva segmenta repnog regiona sa mestom u obliku ručice za vezivanje molekula motornog aktin-vezujućeg proteina kalmodulina. Molekuli miozina VII neophodni su u procesu fagocitoze u ćelijama ameba, spermatogeneze u germinativnim ćelijama nematoda i funkcionisanju stereocilija u ćelijama miševa kao i nekih vrsta riba.

**Miozin VIII** je specifičan samo za biljne ćelije i učestvuje u lokalizaciji vezikula i fragmoplasta u toku ćelijskih deoba, kao i u regulaciji toka citoplazme između ćelija preko plazmodezmi.

**Miozin IX** motorni aktin-vezujući protein ima jednu glavu i učestvuje u transportu vezikula.

**Miozin X** veoma je karakterističan i jedinstven po svojoj građi iz razloga što se njegovi molekuli u obliku dimera povezuju antiparalelno. Glavna uloga motornog miozina X u eukariotskim ćelijama je u organizovanju pseudopodija. Za razliku od drugih članova nadfamilije miozina, miozin X klizi po dugačkim snopovima aktinskih filamenata, a ne po pojedinačnim filamentima.

**Miozin XI** je drugi tip miozina karakterističan za biljne ćelije, on omogućava strujanje citoplazme u njoj

oko centralno postavljene vakuole. Takođe, usmerava kretanje plastida i mitohondrija prema intenzitetu svetlosti u toku dana u cilju efikasnije fotosinteze. Budući da miozin XI aktivno učestvuje u formiranju citoskeletne mreže tako što povezuje aktinske filamente na mestu njihovog ukrštanja i povezuje aktinske filamente sa plastidima, on direktno olakšava dimaniku plastida.

**Miozin XIV** karakterističan je za parazitske Protozoe, lokalizovan je odmah ispod ćelijske membrane ćelija i uključen je u proces njenog prikačivanja za ćeliju domaćina. Pored ćelijske membrane ovaj miozin nalazi se i u citoplazmi Protozoa gde učestvuje u vezikularnom transportu fagozoma i egzocitozi.

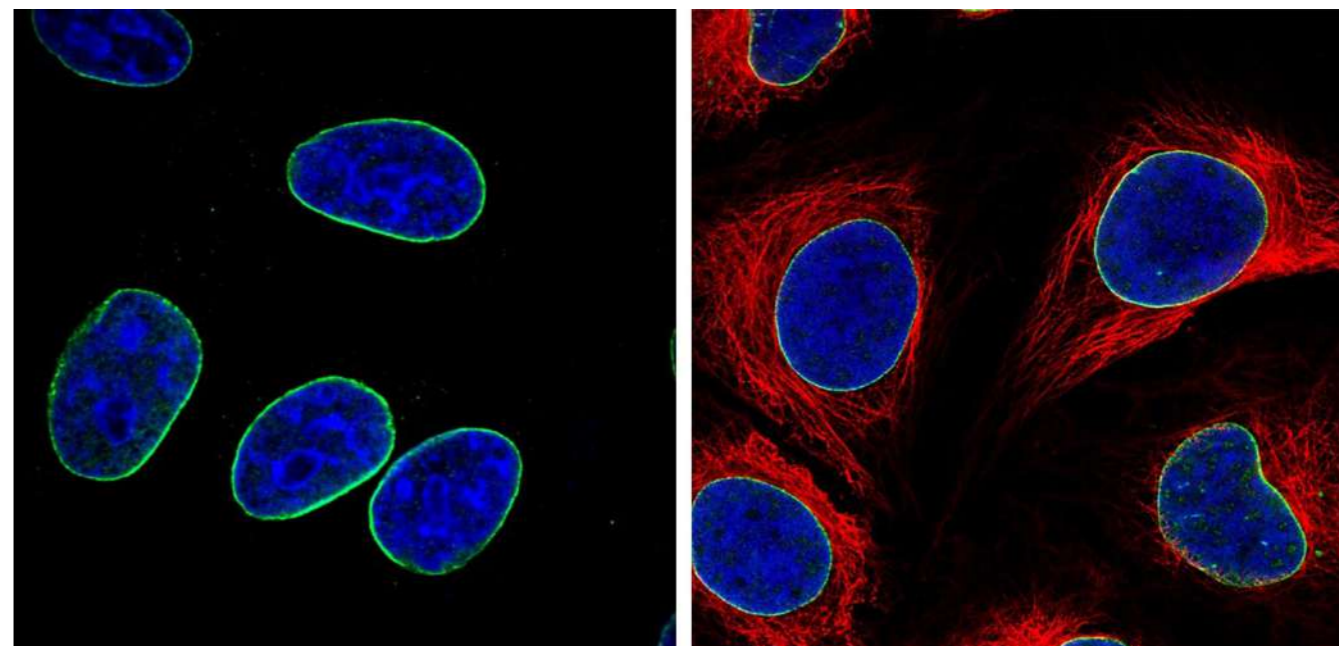
**Miozin XV** funkcioniše kao monomer jer nikad ne gradi dimerne ili tetramerne filamente, zahvaljujući svojoj maloj molekulskoj masi lako je pokretljiv i učestvuje u reorganizaciji jedrove opne nakon kariokineze eukariotske ćelije.

Paramiozin je motorni aktin-vezujući proteinski molekul sličan miozinu koji gradi zajedno sa molekulima miozina cilije ćelija beskičmenjaka. Zbog svoje mogućnosti da u miocitama beskičmenjaka proizvede snažne i kontinuirane kontrakcije koje ne troše mnogo energije miozin XV ima sposobnost da dugo ostane vezan za aktinski filament.

## INTERMEDIJARNI FILAMENTI

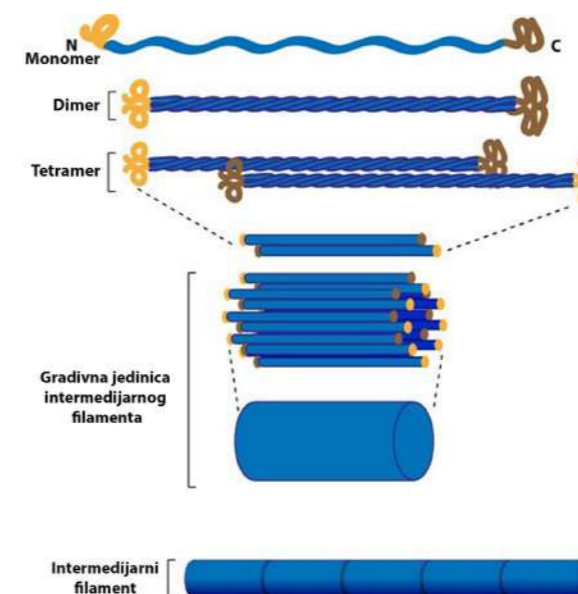
Grupa proteinskih filamenata međusobno sličnih ultrastrukturnih svojstava, a različitog biohemijskog sastava, sa prečnikom većim od mikrofilamenata i manjim od mikrotubula nazivaju se intermedijarni filamenti. Prečnik intermedijarnih filamenata iznosi od 8 do 12 nm, njihova osnovna uloga ogleda se u pružanju potpore i u zaštiti ćelije od istezanja. Oni prožimaju u vidu snopova ili mreže kako citoplazmu tako i nukleoplazmu ćelija svih životinja osim Arthropoda i Echinodermata koji imaju egzoskelet. Intermedijarni filamenti su najstabilnija i najmanje dinamična komponenta citoskeleta budući da nije svojstvena neprekidna polimerizacija i depolimerizacija njihovih proteinskih subjednica. Intermedijarni filamenti evolutivno predstavljaju najmlađu komponentu citoskeleta i tkivno su specifični tj. odlikuju samo određene tipove embrionalnih ili diferenciranih ćelija odraslih organizama [143]. Brojna ispitivanja su pokazala kako postoji fizička i funkcionalna povezanost između intermedijarnih filamenata prisutnih u citoplazmi i nukleoplazmi a koja je ostvarena preko kompleksa jedrove pore. Intermedijarni filamenti koji odlikuju citoplazmu pokazuju značajnu funkcionalnost i prilagodljivost sa ključnim komponentama jedra kao što su DNK i RNK molekuli i histoni. Budući da se intermedijarni proteini citoplazme strukturno povezuju sa proteinima nukleoskeleta i sa faktorima transkripcije, pretpostavlja se da oni pružaju svoj doprinos u procesima udvajanja DNK, njenog rekombinovanja i ispravljanja grešaka na njoj, kao i u procesima transkripcije iRNK. Otuda se intermedijarni filamenti strukturno i funkcionalno u kontinuitetu rasprostiru kroz čitavu zapreminu ćelije povezujući citoplazmatske i nukleoplazmatske elemente. Morfološki se intermedijarni filamenti jedra ne razlikuju od citoplazmatskih. Proteini koji učestvuju u izgradnji intermedijarnih filamenata u jedru obrazuju i nukleusnu laminu sa unutrašnje strane nukleusnog omotača.

Proteinski monomeri koji učestvuju u formiranju intermedijarnih filamenata poseduju zajedničku odliku da imaju središnji štapoliki region [144] izgrađen od oko 310 amino kiselina, organizovan u vidu  $\alpha$ -zavojnice. Razlike između proteinskih monomera koji grade intermedijarne filamente ogledaju se u broju i vrsti amino kiselina koje se nalaze na slobodnim krajevima ovih zavojnica. Kraj monomera intermedijarnog filameta na kome se nalazi NH grupa je glava, dok je kraj na kome je COOH grupa rep. Intermedijarni filamenti se organizuju prema istovetnom principu, dva monomerna molekula se u nivou svojih središnjih regiona spiralno uvijaju jedan oko drugog formirajući dimer kod kog se krajevi nalaze jedna uz drugi. Potom se dva dimera postavljaju jedan uz drugi obrazujući tetramer, koji je antiparalelan, jer su krajevi suprotno orijentisani. Ovakav način organizovanja tetramera intermedijarnih filamenata razlikuje se od mikrofilamenata i mikrotubula jer se na njima ne može razlikovati plus i minus kraj, nisu asimetrični. Dalje se tetrameri postavljaju jedan uz drugi sa faznom razlikom, tj. pomereni jedan u odnosu



[143] Intermedijarni filamenti u jedru, plavo obojeni (mikrografija levo) i u citoplazmi, crveno obojeni (mikrografija desno) fluorescentnim bojama

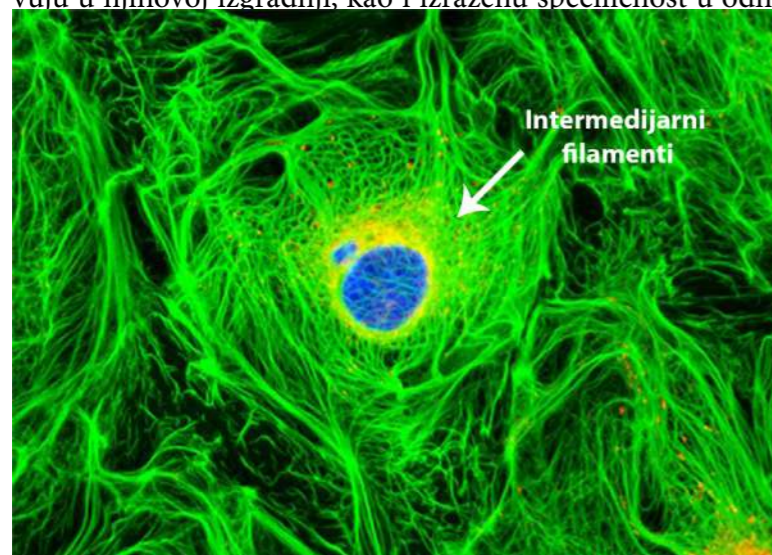
na drugog. Dimeri mogu da budu formirani po homotipskom principu da su oba monomera istovetna i filamenti koji oni formiraju nazivaju se homopolimerska i po heterotipskom principu da su monomeri različiti i filameta vlakna koja se tako formiraju se nazivaju heteropolimerska [144].



[144] Način organizovanja homopolimernih intermedijarnih filamenata

Intermedijarni filamenti ćelijama pružaju veliku mehaničku potporu pa ih ima mnogo u ćelijama koje su izložene mehaničkom pritisku. Čvrstinu dezmozomima i ćelijskoj adheziji daju povezani citokeratinski filamenti, dok vimentinski filamenti doprinose stabilnom pozicioniranju jedra u središte ćelije obrazujući oko njega jednu vrstu čvrstog i fleksibilnog kaveza [145].

Važno je napomenuti da su intermedijarni filamenti za razliku od mikrofilamenata i mikrotubula stabilne komponente citoskeleta, jer ne podležu fenomenu dinamičke ravnoteže koja sa jedne strane podrazumeva stalno ugrađivanje novih monomera uz odvajanje onih predhodno pridodatih sa druge strane filameta. Dinamička ravnoteža kod intermedijarnih filamenata se odigrava na specifičan način, po čitavoj površini filamenata, budući da se proteinski monomeri ne dodaju na slobodne krajeve filameta, već se dodaju po čitavoj površini intermedijarnog filameta. Ovaj mehanizam spontanog održavanja dinamičke ravnoteže ugradnje monomera u intermedijarne filamente ne zahteva učesće pomoćnog proteina ili faktora kao ni utrošak energije. Stalna razmena proteinskih monomera omogućava da se u ćelijama kontinuirano obavlja rearanžiranje i remodeliranje intermedijarnih filamenata na postepen i konstantan način. Ipak mreža intermedijarnih filameta remodelira se tokom dinamičke reorganizacije ćelije, npr. tokom ćelijskog kretanja ili ćelijske diferencijacije. Takođe, intermedijarni filamenti se tokom embrionalnog razvoja javljaju poslednji, znatno posle mikrotubula i mikrofilamenata. Intermedijarni filamenti odlikuju citoplazmu ćelija nekih životinja i ljudi i pokazuju značajnu raznolikost u pogledu proteina koji učestvuju u njihovoj izgradnji, kao i izraženu specifičnost u odnosu na tkivo koje grade. Iako je u formiranju



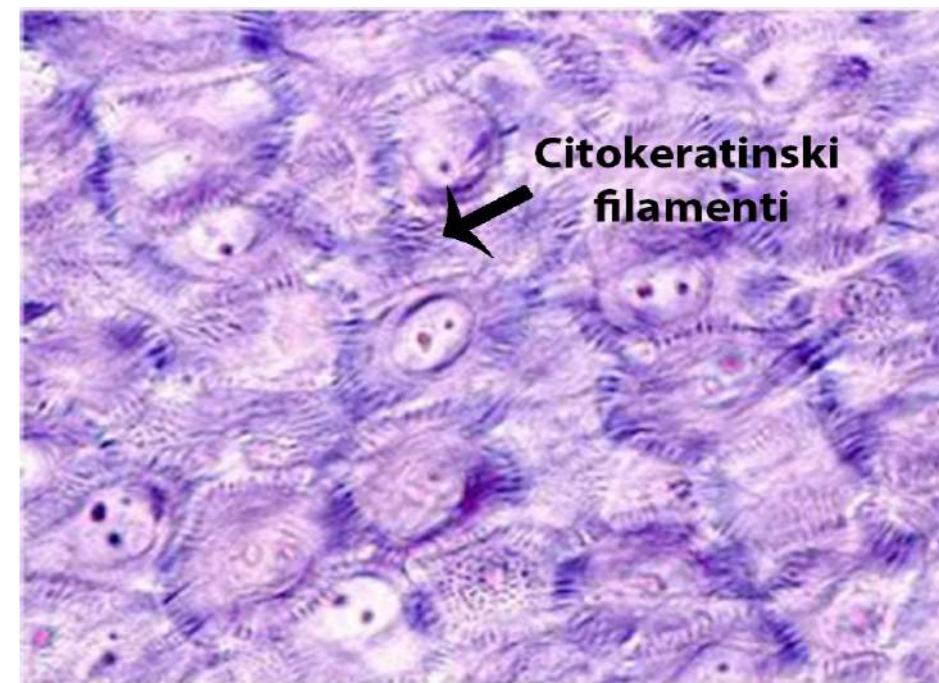
[145] Mikrografija fluorescentno obojenih intermedijarnih filamenata

intermedijarnih filamenata uključena heterogena porodica proteina koje kodira oko sedamdeset različitih gena, sličnost njihovih genetičkih sekvenci ukazuje da su potekli od jednog predačkog gena. Na osnovu brojnih odlika proteina intermedijarnih filamenata moguće je grupisati ih u šest klasa:

1. kiseli i bazni keratinski,
2. dezminski,
3. vimentin,
4. glijalni,
5. neurofilamenti i
6. nukleusni

**1. Kiseli i bazni keratinski** intermedijarni filamenti grupisani su zajedno u citokeratinske filamente. Citokeratinski filamenti prisutni su samo u epitelnim ćelijama i njihovim derivatima, najviše ih ima u keratinocitima epiderma po kojima su i dobili ime. Postoje dve porodice proteina koji grade citokeratinske filamente i to su porodica kiselih i porodica baznih keratina. U okviru ove dve porodice sadržano je više od pedeset različitih proteina keratina u čiji sastav ulazi 6-7 polipeptidnih jedinica koje se kombinuju na različite načine. U različitim stepenima diferencijacije jednog istog tipa keratinocita prisutni su delimično različiti tipovi keratina, ova činjenica olakšava prepoznavanje stepena diferencijacije keratinocita imunocitohemijskim bojenjem prisutnog tipa keratina. U epitelnim ćelijama epidermisa protein keratin je udružen sa drugim proteinima i ima važnu ulogu u procesu orožavanja ćelija a predstavlja i glavni protein u ćelijama dlake i nokta. U ćelijama epidermisa keratinski filamenti nazivaju se još i tonofilamenti koji u površinskim keratinocitima zauzimaju najveći deo citoplazme i daju im veliku čvrstinu.

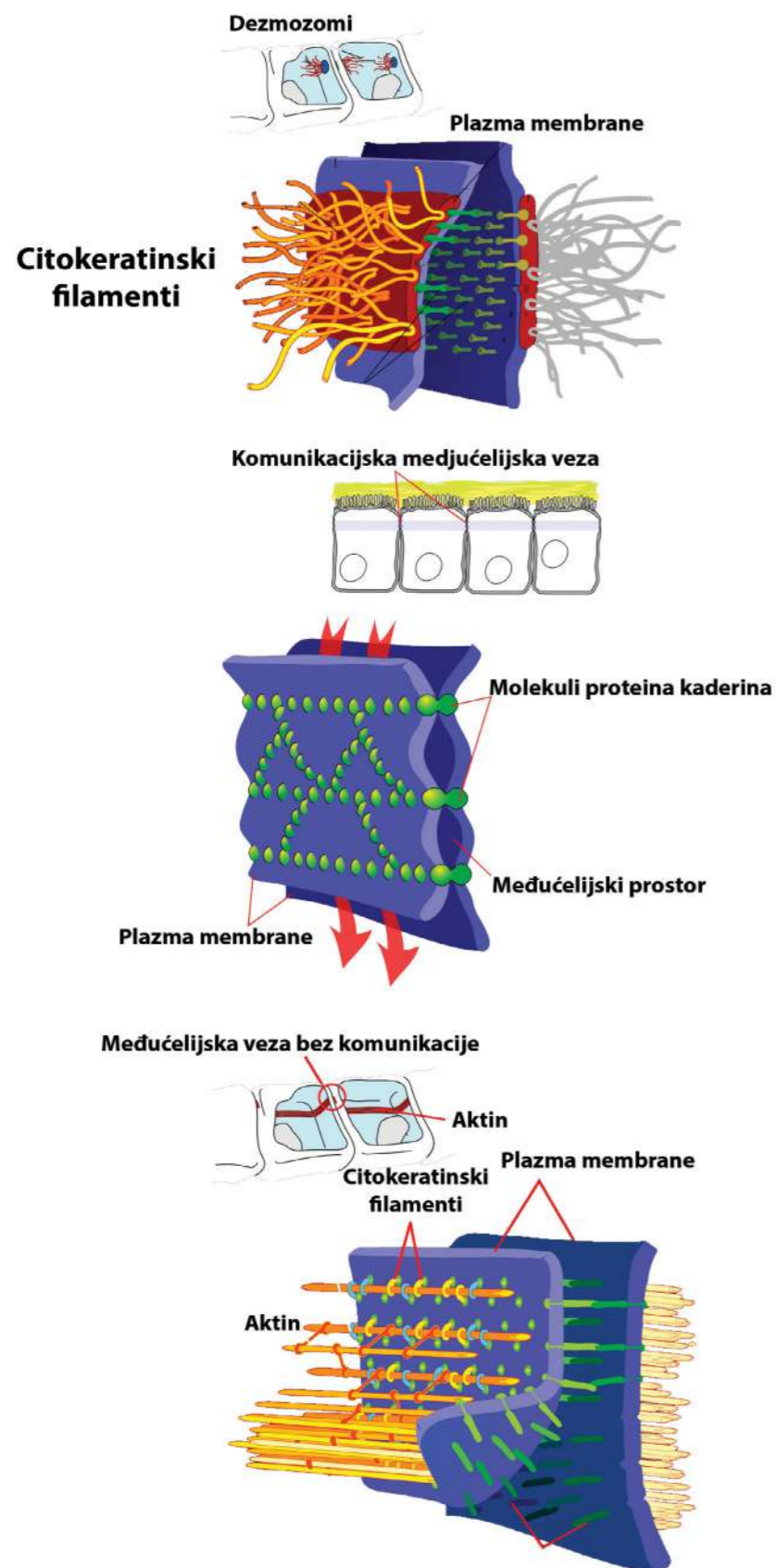
Sa druge strane keratinski filamenti u epitelnim ćelijama obrazuju mrežu oko jedra ili snopove koji se povezuju sa submembranskim proteinima u nivou dezmozoma i hemidezmozoma osiguravajući tako međusobno povezivanje epitelnih ćelija preko elemenata citoskeleta, tj. udruživanje u čvrsto i jako tkivo. Posredstvom keratinskih filamenata epitelne ćelije održavaju svoj oblik kao što i ojačavaju svoju vezu sa susednim ćelijama i podepiteljskom laminom [146, 147].



[146] Mikrografija citokeratinskih filamenata

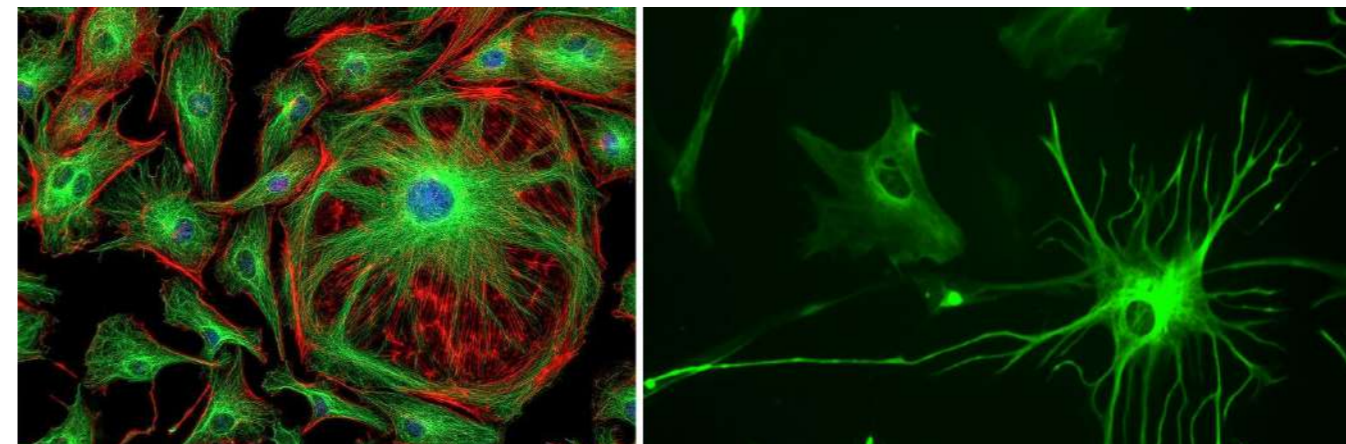
**2. Dezminski** filamenti izgrađeni su od proteina dezmina, karakteristični su za mišićne ćelije u kojima predstavljaju komponentu njenog citoskeleta ali ne učestvuje direktno u kontrakcijama poput aktinskih filamenata i miozinskih motornih proteina. Dezminski filamenti u skeletnim miocitima povezuju aktinske filamente sa ćelijskom membranom (sarkolemom), membranom nukleusa, mitohondrija i Goldži aparata. U srčanim miocitima ovi filamenti učestvuju u organizaciji aktinskih filamenata i povezuju ih za sarkolemu. U miocitima glatke muskulature dezminski filamenti u vidu tankih traka povezuju snopove aktinskih filamenata, čime obezbeđuju ujednačenu raspodelu sile mišićne kontrakcije kroz čitavu ćeliju.

Sličnu ulogu i građu kao dezmin ima i gradivni protein sinemin, on izgrađuje intermedijarne filamente i pomaže u kontrakciji glatko mišićnih ćelija. Sinemin je prvo izolovan iz glatkih mišićnih ćelija ptica, da bi kasnije bio pronađen u mišićnim ćelijama sisara. Protein paranemin u početku je smatran proteinom pridruženim intermedijarnim filamentima, međutim, njegovo prisustvo zajedno sa vimentinskim i dezminskim filamentima svrstalo ga je u gradivne proteine koji imaju regulatornu ulogu tokom razvika mišićnih ćelija.



[147] Šematski prikaz međućelijskih veza: a - dezmozomi sa citokeratinskim filamentima, b - zonula okludens sa kaderinom i aktinom i c - zonula adherens sa aktinskim i kaderinskim filamentima

3. **Vimentinski filamenti** [148 levo] izgrađeni su od proteina vimentina i prisutni su u svim ćelijama mezenhinskog porekla kao što su: fibroblasti, hondrociti, leukociti, endotelne ćelije, uključujući i mišićne ćelije i embrionalne ćelije. Ovi filamenti se javljaju najčešće u vidu mreže oko jedra mezenhinskih ćelija, dok su u glatkim mišićnim ćelijama udruženi sa proteinom dezminom. Protein koji najviše kopolimerizuje sa vimentinom je nestin, on odlikuje neuroepitelne embrionalne ćelije ali i mišićne ćelije. Posmatranje vimentinskih filamenata u živim ćelijama pokazalo je da su oni dinamične strukture koje se posredstvom mikrotubula u zavisnosti od stanja u kome se ćelija u datom trenutku nalazi, premeštaju ne prolazeći kroz periode depolimerizacije i repolimerizacije. Oni u ćeliji menjaju svoju konfiguraciju izduživanjem ili skraćivanjem ne dovodeći pri tome do promene oblika ćelije. Promena konfiguracije vimentinskih filamenata zavisna je od utroška energije u ćeliji i podrazumeva interakciju sa mikrotubulama i mikrofilamentima.



[148] Elektronmikrografije vimentinskih filamenata (levo), zeleno; i glijalnih filamenata (desno), zeleno

4. **Glijalni filamenti** izgrađeni su od glijskog kiselog fibrilarnog proteina i odlikuju glija ćelije [148 desno], prateće ćelije nervnog tkiva poput astrocita i Švanovih ćelija, gde imaju potpurnu ulogu i određuju njihov oblik. U slučaju embrionalnih nervnih ćelija koje odlikuju glijalni filamenti tokom njihovog diferenciranja može se konstatovati i prisustvo proteina vimentina koji potom delimično ili u potpunosti biva zamenjen glijskim proteinom. Protein koji je najbliži glijskom proteinu je periferin, prisutan takođe u različitim tipovima diferenciranih nervnih ćelija.

5. **Neurofilamenti** su grupa intermedijarnih filamenata koju čine tri proteina NF-L (low molecular weight neurofilament), NF-M (middle molecular weight neurofilament) i NF-H (high molecular weight neurofilament) koji heteropolimerizacijom formiraju neurofilemente. Oznake L - nizak, M - srednji i H - visok odnose se na njihove molekulske mase. Ova vlakna odlukuju isključivo nervne ćelije kako centralnog tako i perifernog nervnog sistema. Osnovna uloga neurofilamenta je u određivanju oblika neurona koga karakterišu telo i dve vrste citoplazmatskih nastavaka dendriti i aksoni. U aksonima i dendritima neurofilamenti su raspoređeni međusobno paralelno. Oni obezbeđuju jačinu i stabilnost nastavaka i omogućavaju održavanje njihovog cilindričnog oblika, dok u telima nervnih ćelija neurofilamenti čine mrežu koja ćeliji daje potporu. Neurofilamenti pozicioniraju i smeštaju proteine (receptorni i jonski kanali) u određene domene ćelijske membrane, što je neophodno za pravilno prenošenje signala. Preko pozicioniranih proteina na membranama održava se pravilna propustljivost jona, konstantan membranski potencijal i prenošenje električnog impulsa kroz neurone. Broj neurofilamenata srazmeran je debljini aksona jer oni kontrolišu promenu prečnika aksona nakon uspostavljanja hemijske sinapse. Kategoriji neurofilamentnih proteina pripada i protein  $\alpha$ -interneksin koji u nervnim ćelijama centralnog nervnog sistema povezuje neurofilemente.

6. **Nukleusni lamini** su grupa intermedijarnih filamenata koji grade nukleusnu laminu u jedru - mrežoliko rešetkastu dvodimenzionlanu strukturu. Nukleusna lamina naleže sa unutrašnje strane jedrovog omotača,

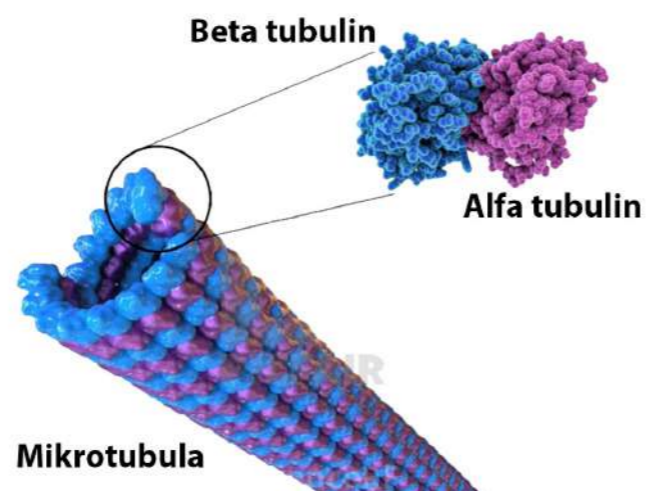
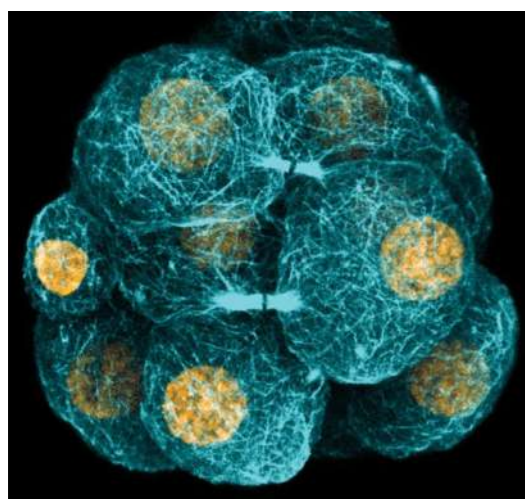


daje mu čvrstinu i omogućava funkcionalnost. Lamini A, B i C su posebna klasa filamentoznih proteina jedra čijom polimerizacijom se formiraju intermedijarni filamenti koji u interfazi ćelijskog ciklusa održavaju oblik jedra i raspored perifernog hromatina.

Proteini pridruženi intermedijarnim filamentima, plektin i filagrin, posreduju ne samo u međusobnom povezivanju intermedijarnih filamenata ili njihovom povezivanju sa drugim elementima citoskeleta, već i u uspostavljanju kontakata intermedijarnih filamenata sa nukleusnim omotačem i ćelijskom membranom. Plektin je količinski najzastupljeniji protein koji se susreće uz različite tipove intermedijarnih filamenata i predstavlja njihov glavni povezujući element. On učestvuje kako u međusobnom usnopljanju intermedijarnih filamentata tako i u njihovom ugrađivanju u ćelijsku membranu u oblasti dezmozoma i hemidezmozoma [147]. Takođe, proteini pridruženi intermedijarnim filamentima povezuju intermedijarne filamenate, preko specifičnih proteinskih kompleksa nukleusnog omotača, sa unutrašnjim komponentama nukleusa: laminom i hromatinom. Plektin stupa u kontakt i sa drugim citoskeletnim komponentama tj. mikrotubulama i mikrofilamentima na direktan ili indirektan način. On se indirektno preko molekula proteina miozina II, koji su mu pridruženi, vezuje za elemente citoskeleta. Filagrin odlikuje epitelne ćelije kože sisara gde učestvuje u formiranju snopova citokeratinskih intermedijarnih filamenata i obrazovanju ploča koje odlikuju međućelijske veze. Međusobno povezivanje intermedijarnih filamenata kao i njihovo udruživanje sa drugim komponentama citoskeleta ćelija posredovano je proteinima pridruženim intermedijarnim proteinima uz obaveznu fosforilaciju.

### MIKROTUBULE

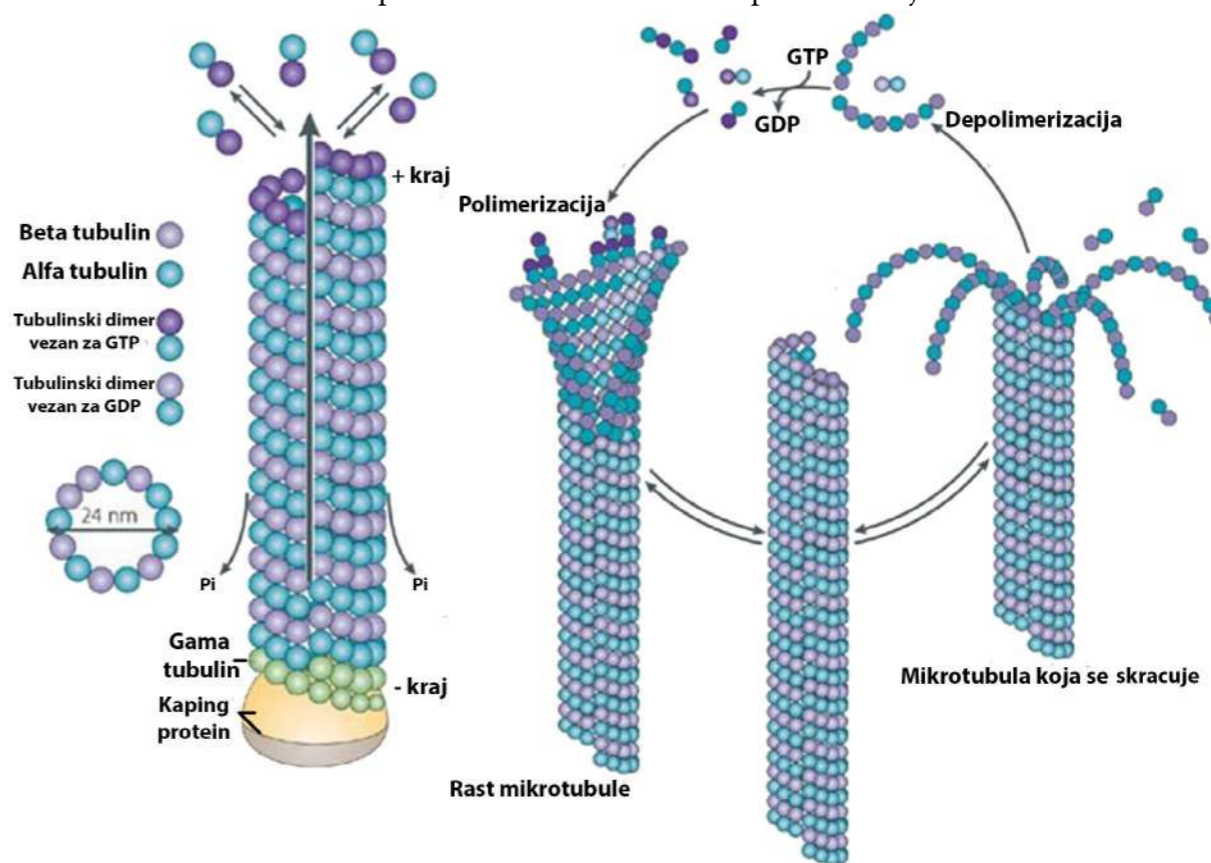
Odavno su posmatranjem ćelija u toku ćelijske deobe na svetlosnom mikroskopu uočene strukture u obliku cevčica koje organizuju deobno vreteno a nazvane su mikrotubule ili mikrocevčice. Njihov prečnik najveći je u odnosu na druge dve vrste citoskeletnih elemenata, sposobne su da se organizuju u stabilne strukture velikih dimenzija. Naziv mikrotubule odnosi se na njihov oblik, to je šupalj cilindar spoljašnjeg prečnika od oko 25 nm i debljine zida oko 5 nm. Dužina mikrotubula je promenljiva i u ćeliji se mogu formirati pojedinačne ili grupisane u snopove. Ako su mikrotubule organizovane u snopove postavljene su međusobno paralelno i to uvek na malom odstojanju jedna od druge [127,149].



[149] Mikrografija mikrotubula (plavo) [150] Šematski prikaz procesa udruživanja Alfa i Beta tubulina

Mikrotubule se nalaze u svim eukariotskim ćelijama, njihov zid je izgrađen od globularnog proteina tubulina, koji se javlja u formi heterodimera odnosno od po jednog molekula  $\alpha$  i  $\beta$  tubulina [150]. Tubulini predstavljaju evolutivno visokokonzervirane proteine kao i aktin, jer deo DNK koji kodira sintezu tubulina ima zajedničke sekvence kod veoma različitih organizama kao što su npr. morski jež, voćna mušica,

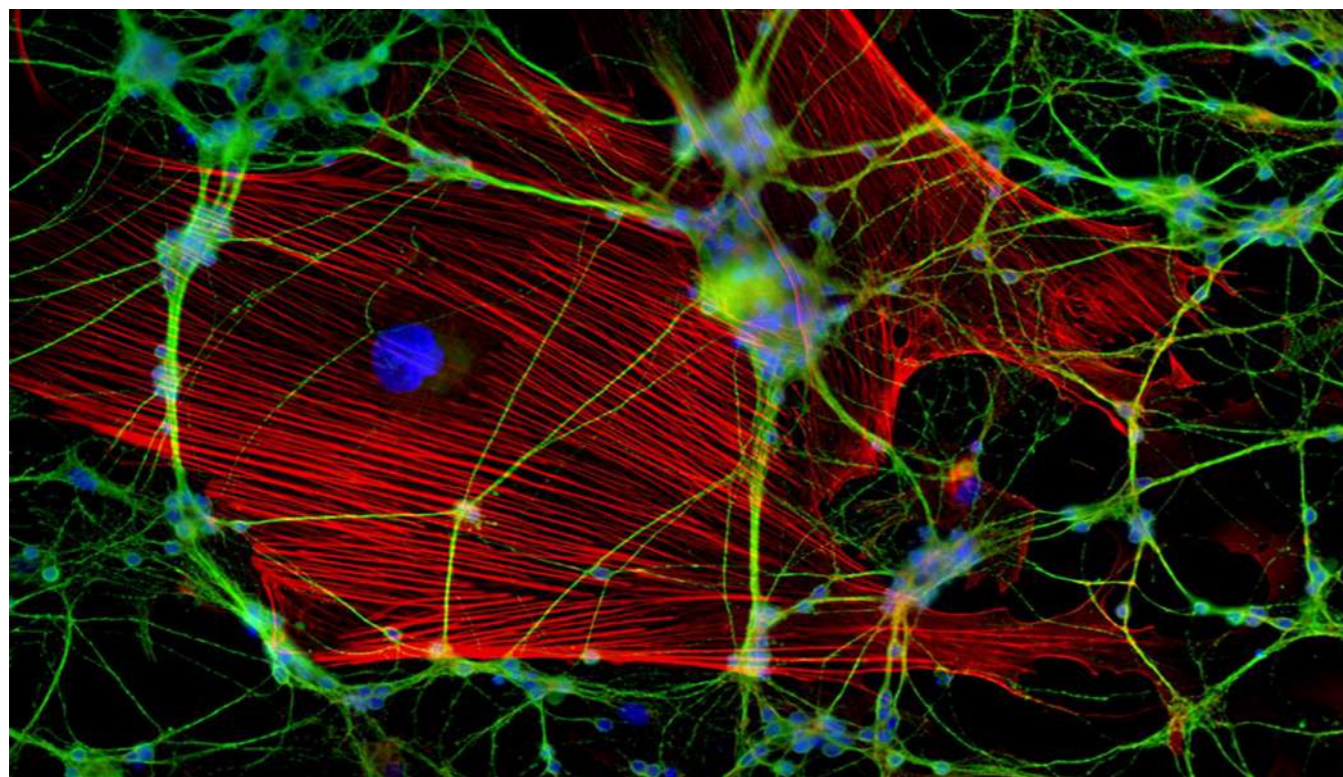
gušteri, ptice i svi sisari.  $\alpha$  i  $\beta$  globularni proteini tubulini se sintetišu na polizomima i za oba kad su zajedno heterodimer se vezuje po jedan molekul GTP-a i tako zajedno učestvuju u polimerizaciji mikrotubula. Za  $\alpha$  tubulin vezuje se jedan molekul GTP-a i za  $\beta$  tubulin se veže drugi molekul GTP-a, ukupno dva molekula po jednom heterodimeru. Tokom polimerizacije mikrotubule [151], za njen rastući kraj vezuje se heterodimer, zatim se GTP sa  $\beta$  tubulina hidrolizuje pri čemu se oslobađa energija hemijske veze potrebna za polimerizaciju i fosforna grupa, dok molekul GDP-a ostaje vezan za  $\alpha$  tubulin i biva ugrađen u zid mikrotubule. U procesu depolimerizacije oslobađaju se molekuli proteina tubulina koji naknadno zamenuju svoj GDP za GTP, čime nastaje heterodimer spreman za ponovnu polimerizaciju u zid mikrotubula. Molekul GTP-a vezan za molekul proteina  $\alpha$  tubulina se tokom polimerizacije mikrotubule ne hidrolizuje.



[151] Šematski prikaz polimerizacije i depolimerizacije mikrotubula

Proteinski molekuli  $\alpha$  i  $\beta$  tubulina vezani sa GTP molekulima naizmenično se nižu jedan na drugi formirajući tako protofilamente, dugačke prave niti koje se svaka za sebe polimerizuje. Protofilamente nikako ne treba smatrati podjedinicom mikrotubula jer ne postoje u citoplazmi samostalno. Dalje se protofilamenti bočno udružuju, što znači da se jedan protofilament poveže sa drugom dva susedna bočno i tako više njih povezanih formiraju zatvoreni cilindar mikrotubule. Mikrotubula u svom sastavu ima istu količinu  $\alpha$  i  $\beta$  tubulina, jer se u lancu protofilamenata uvek  $\beta$  tubulin vezuje na  $\alpha$  i  $\alpha$  na  $\beta$  tubulin. Susedni protofilamenti uspostavljaju između sebe bočne mostove koji povezuju  $\alpha$  tubulin iz jednog protofilamenta sa  $\alpha$  tubulinom iz susednog, kao i povezivanje  $\beta$  tubulina iz jednog protofilamenta sa  $\beta$  tubulinom iz susednog. Na ovaj način tubulini u zidu mikrotubule obrazuju zavojnicu, koja se na poprečnom preseku vidi kao krug. Transmisioni elektronski mikroskop na presecima mikrotubula ćelija kičmenjaka pokazuje da u izgradnji zida mikrotubula učestvuju 13 protofilamenata. Nemaju ćelije svih organizama 13 protofilamenata u zidu svojih mikrotubula, njihov broj može da varira od 10 do 15. Mikrotubule su kao i mikrofilamenti asimetrične, polarizovane strukture budući da se na jednom kraju nalazi  $\alpha$  tubulin, a na drugom  $\beta$  tubulin.

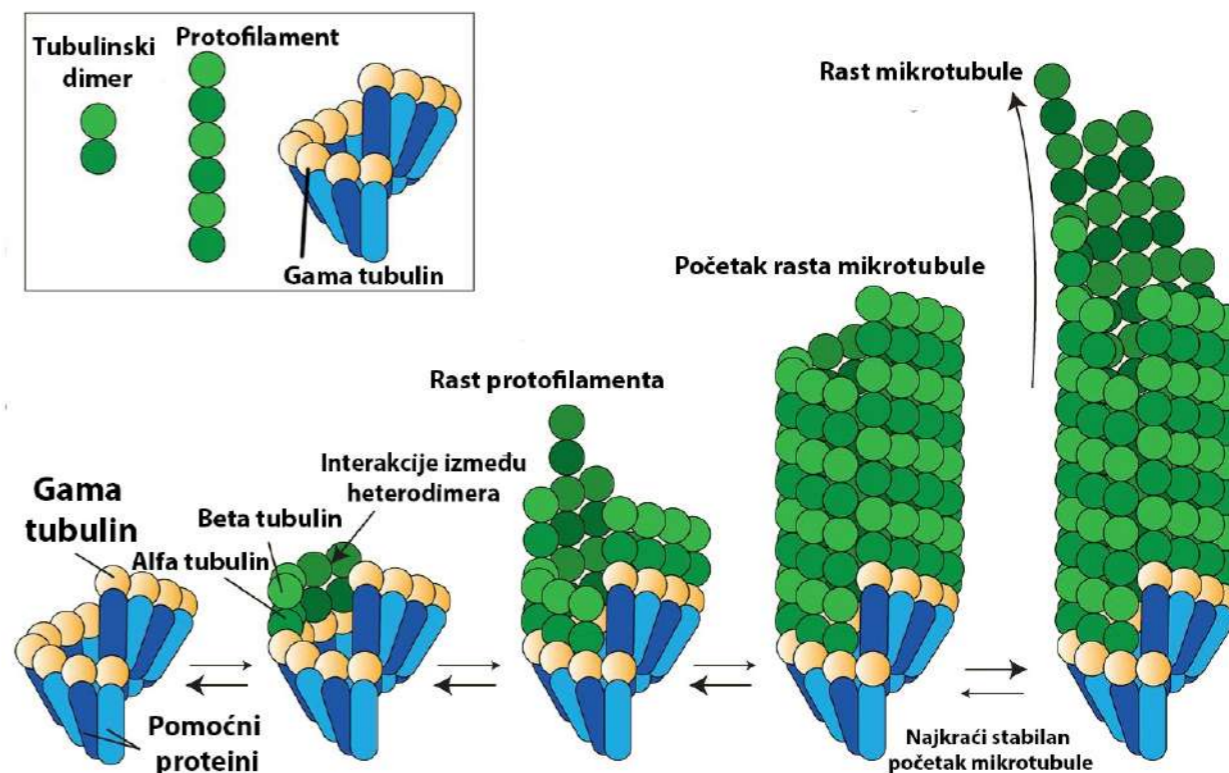
Polarizovanost mikrotubula je od suštinskog značaja za uloge koje ih odlikuju. Tokom polimerizacije konstatovano je da jedan kraj mikrotubule brže raste i to je plus kraj, dok drugi kraj sporije raste i to je minus kraj mikrotubule. Proučavanje procesa polimerizacije mikrotubula pokazalo je da su za njega od velikog značaja kako molekuli GTP-a tako i dvovalentni katjoni magnezijuma i kalcijuma. Dvovalentni joni deluju antagonistički na kreiranje mikrotubula tako što joni magnezijuma podstiču polimerizaciju, dok joni kalcijuma podstiču depolimerizaciju. Brzina polimerizacije direktno zavisi od koncentracije tubulinskih molekula i broja slobodnih krajeva protofilamena mikrotubula u jedinici zapremine. Izduživanje mikrotubula se odvija sve dok se ne postigne dinamička ravnoteža odnosno sve dok slobodni tubulinski monomeri ne dostignu koncentraciju ispod koje nema njihovog ujedinjavanja. U trenutku dinamičke ravnoteže broj molekula tubulina koji se polimerizuje isti je sa brojem koji se depolimerizuje. Princip dinamičke ravnoteže nije karakterističan samo za mikrotubule nego i za mikrofilamente i naučnik Kiršner (Mark W. Kirschner) ga je nazvao mlinski točak, iz razloga što može da se slikovito uporedi sa mlinskim točkom koji na jednom mestu uzima vodu iz reke a na drugom tu istu vodu izbacuje. Proces depolimerizacije mikrotubula izaziva na njihovim krajevima razdvajanje, širenje i zakrivljenje protofilamena.



[152] Mikrografija nervne ćelije sa mikrotubulama (crveno)

Nukelacija, odnosno začinjanje mikrotubula veoma je spor proces za razliku od izduživanja mikrotubula koji se odlikuje velikom brzinom. Najviše podataka o ovim brzinama dale su supstance kolhicin i kolcemid koje su inhibitori nukleacije i izduživanja mikrotubula u toku formiranja deobnog vretena. Naime, ovi inhibitori se uključuju u različitim periodima ćelijske aktivnosti i aktivnosti mikrotubula, kada ih one zaustavljaju. Tako tretirana ćelija se posmatra elektronskim mikroskopom kako bi se detektovani zaustavljeni procesi i analizirao stepen polimerizacije mikrotubula. Za proces nukelacije mikrotubula nužno je postojanje centra njihovog početnog organizovanja, jer ona ne može da počne sama od sebe da se polimerizuje, mora postojati centar koji će nopolimerizovane molekule heterodimerskog tubulina da navodi da se na tačno određen nači udruže. Glavni, ali ne i jedini, centar organizovanja mikrotubula [152] u najvećem broju animalnih i humanih ćelija nesumnjivo je centrozom.

On se nalazi u blizini jedra i podrazumeva par centriola koje leže u amorfnom prostoru nazvanom pericentrionalni prostor ili pericentrionalni matriks. Pericentrionalni matriks u sebi sadrži čitav niz različitih proteina kao što su centrozomin, pericentrin, ninein i protein koji pripada porodici tubulina,  $\gamma$ -tubulin. Prostor neposredno pored centrozoma pokreće polimerizaciju mikrotubula i služi za njihovu ugradnju u citoplazmu ili citoskelet. Broj centara organizovanja mikrotubula (COM) je različit kod različitih ćelija, tako epitelne ćelije imaju samo jedan, dok ih fibroblasti imaju od pet do deset. U slučaju da ćelija ima više COMa samo jedan je glavni i to je centrozom jer samo on ima centriolarni par u sebi, dok ih drugi ne poseduju. Međutim, bitno je naglasiti da centriole ne predstavljaju mesto pokretanja polimerizacije mikrotubula tu ulogu ima pericentrionalni matriks proteina u kojem leže centriole odnosno mesta u citoplazmi koja su bogata  $\gamma$ -tubulinom.

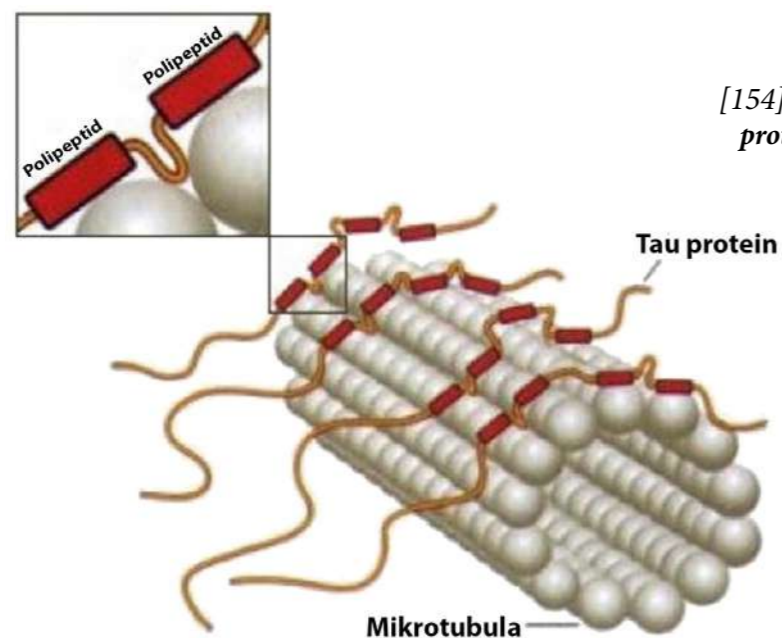


[153] Šematski prikaz nukleacije mikrotubule, prva tri oblika u nizu su nestabilne faze

Dokaz da centriole same po sebi nisu COMa već je dovoljan prostor bogat  $\gamma$ -tubulinom pružaju biljne ćelije koje ne poseduju ovu morfološku visokoorganizovanu strukturu a polimerizuju mikrotubule u svojoj citoplazmi. Za nukleaciju mikrotubula [153] nužni su molekuli  $\gamma$ -tubulin i čitav niz proteina koji se za njih direktno ili indirektno vezuju. Količina  $\gamma$ -tubulina je proporcionalna broju polimerizovanih mikrotubula, a ima ga najviše u periodu metafaze mitoze kada i mikrotubula ima najviše. U procesu nukleacije mikrotubula prvo se za dva molekula  $\gamma$ -tubulina vezuju dva pomoćna proteina čineći tako  $\gamma$ -tubulinski dimer, mali kompleks. Sedam malih  $\gamma$ -tubulin kompleksa formiraju spiralu prečnika koji približno odgovara prečniku mikrotubula i služi kao direktna osnova za izgradnju zida mikrotubula. Spirala se udružuje sa ugradnjom dodatnih pomoćnih proteina i formira se kompleks  $\gamma$ -tubulinskog prstena, koji je osnova i centar nukleacije za minus kraj mikrotubula. U njemu se ugrađuju protofilamenti buduće mikrotubule. Plus krajevi mikrotubula u svim ćelijama su orijentisani prema njenoj periferiji, dok su ka centru ćelija usmereni minus krajevi mikrotubula. Otuda se može reći da je minus kraj mikrotubula njihov proksimalni kraj, dok je plus kraj mikrotubule distalni. Nakon završene polimerizacije mikrotubula može ostati u kon-

taktu sa  $\gamma$ -tubulin prsten kompleksom ili se od njega može odvojiti, ali orijentacija proksimalno-distalno u odnosu na centar organizovanja mikrotubule ostaje. Molekuli gama tubulina predstavljaju samo deo pericentričnog matriksa centrozoma, jer se u matriksu nalaze još i kompleksi proteina za prilagođavanje i funkcionisanje centrozoma. To su proteini koji se odlikuju motornim svojstvima i omogućavaju čvršću ugradnju mikrotubula u pericentrični matriks. COMa sadrži i proteine koji odvajaju mikrotubule nakon polimerizaciji od  $\gamma$ -tubulinskog kompleksa i tako omogućavaju ponovno korišćenje kompleksa u procesu nukleacije druge mikrotubule. Jedan od proteinskih kompleksa koji omogućava odsecanje mikrotubula od  $\gamma$ -tubulinskih kompleksa je protein katanin.

Polarizovane epitelne ćelije odlikuju mikrotubule koje nisu smeštene u centrozomu i nemaju zračni raspored iz njega prema periferiji ćelije. One su postavljene u apiko-bazalnom pravcu, pri čemu je plus kraj mikrotubule usmeren ka apikalnoj, a minus kraj ka bazalnoj ćelijskoj membrani. Njihova nukleacija se obavlja u centru organizovanja mikrotubula, ali se one od njega potom odvajaju i premeštaju izvan centrozoma gde se i izdužuju. Proteini nineini predstavljaju komponente pericentriolarnog matriksa u epitelnim ćelijama u njenim vršnim regionima, i služe za smeštanje mikrotubula koje su se odvojile sa organizacionog centra. Nineini se vezuju za minus kraj mikrotubula kako bi ih pozicionirali ih u prostoru, održavali njihovu stabilnost i vezani za njihov minus kraj, zajedno sa njom, napuštali oblast centrozoma. Mikrotubule su neprestano u stanju dinamičke nestabilnosti koja podrazumeva da jedna mikrotubula alternira između sporog rasta i brzog depolimerizovanja. Dinamička nestabilnost mikrotubula zajedno sa neprestanom polimerizacijom i depolimerizacijom aktinskih filamenata olakšava prostornu preraspodelu monomera citoskeletnih elemenata, odnosno omogućava da određeni regioni citoplazme budu brzo snabdeveni monomerima koji će se koristiti za polimerizaciju citoskeletnih filamenata u tom delu citoplazme.



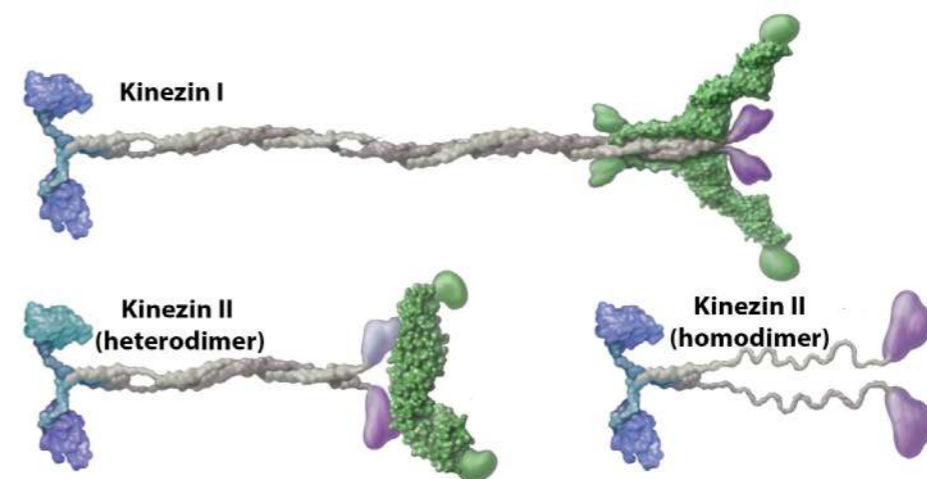
[154] Šematski prikaz tau proteina i mikrotubule

Formiranju mikrotubula i ispoljavanju njihovih funkcijskih odlika u velikoj meri doprinose proteini pridruženi mikrotubulama. Neki od njih imaju isključivo potporna i strukturnu ulogu dok drugi omogućavaju pokrete ćelijama i pripadaju motornim proteinima mikrotubula. Pored proteina pridruženih mikrotubulama postoji čitav niz faktora koji podstiču ili inhibiraju njihovo morfološko uobličavanje i funkcionisanje. Mikrotubule u citoplazmi javljaju se u pojedinačnom obliku ili je više njih organizovano u snopove unutar kojih se jedna na drugu naslanjaju bočno i indirektno, preko proteinskih mostovi. Naime, između mikrotubula koje se održuju u makrofilamentozne snopove formiranju se poprečno postavljeni

mostovi orijentisani pod pravim uglom u odnosu na njihov pravac pružanja. Mostovi istovremeno povezuju unutar snopa mikrotubule ali ih drže i na određenom rastojanju jednu od druge. Proteini mostova i pripadaju grupi proteina pridruženih mikrotubulama. Mostovi mogu da budu iz grupe potpornih i strukturnih proteina pridruženih mikrotubulama jer organizuju mikrotubule u veće funkcionalne sisteme. Najpoznatiji potporni i strukturni proteini pridruženi mikrotubulama, koji doprinose njihovom morfološkom uobličavanju, su MAP1 i MAP2, MAP4 i tau protein [154]. Lanci MAP i tau proteina prisutni su na površini mikrotubula i u ulegnućima između tubulinskih protofilemenata. Ovi proteini stabilišu mikrotubule, ali i omogućavaju interakcije mikrotubula sa drugim ćelijskim komponentama. MAP i tau proteini regulišu nivo polimerizacije i udruživanja mikrotubula sa drugim elementima citoskeleta i na taj način omogućavaju ćeliji da menja svoj oblik. Aktivnost MAP proteina pridruženih mikrotubulama zasnovana je na njihovoj fosforilaciji uz pomoć specifičnog tipa enzima iz porodice kinaza. Kinaza čija aktivnost zavisi od cikličnog AMPa fosforiliše MAP proteine koji tada pokazuju veći afinitet za komponente zida mikrotubula. Protein tau je u obliku lanca od četiri polipeptida, on pojačava stepen polimerizacije mikrotubula, kontroliše transport kroz ćeliju i utiče na motorne molekule. Povećana količina tau proteina u ćeliji dovodi do promene njenog oblika, usporavanja rasta i do značajne promene oblika i rasporeda organela. Protein tau sprečava transport mitohondrija u periferne regione ćelije.

Pored proteina koji stabilizuju i polimerizuju mikrotubule postoje i oni koji ih destabilizuju i ne dozvoljavaju polimerizaciju, kao što su proteini katanin i statmin. Proteini statmin i katanin su proteini pridruženi mikrotubulama, a protein katanin nazvan je po japanskom katana maču. Oni se uz pomoć energije iz molekula ATPa vezuju za molekule  $\beta$ -tubulina, monomere u sintezi mikrotubula, i onemogućavaju njihovo polimerizovanje. Takođe, katanin i statmin proteini vezuju se za već polimerizovane mikrotubule koje na primer grade deobno vreteno, sprečavaju njihovo dalje izduživanje i omogućavaju njihovu razgradnju nakon podele hromatida u mitozu.

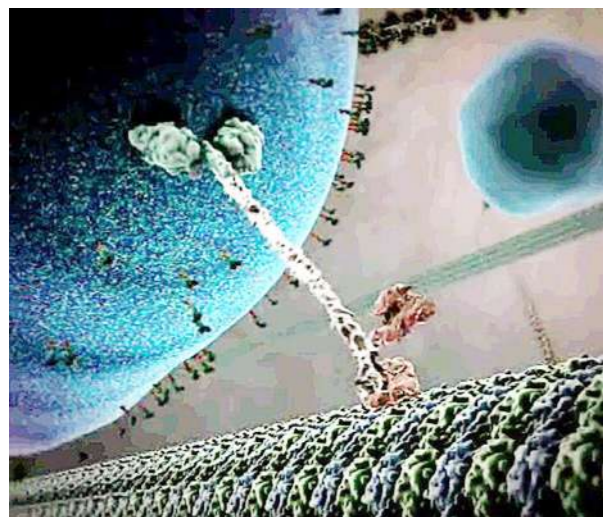
Mikrotubulama mogu da budu pridruženi i motorni proteini, nazvani tako jer omogućavaju kretanje različitih struktura duž mikrotubula kao što su druge mikrotubule ili membranske organele. Motorni proteini povezuju mikrotubule sa organelama i određuju im položaj u ćelijama. Povezivanje mikrotubula pomoću motornih proteina dešava se i kod sekretornih vezikula, koje se odvajaju od trans strane Goldži aparata. Ovo vezivanje je važno zbog pomeranja vezikula prema periferiji ćelije do ćelijske membrane preko koje vezikule u procesu egzocitoze izlivaju svoj sadržaj u vanćelijsku sredinu. Veliku pomoć u obavljanju celokupnog procesa egzocitoze u ćeliji mikrotubulama daju i aktin-vezujući proteini i mikrofilamenti. Mehanizam pomeranja vezikula pomoću motornih proteina mikrotubula sličan je kao kod aktin-vezujućeg proteina SAATS kompleksa [137].



[155] Crteži nekih molekula kinezina

Unutarćelijski vezikularni transport, transport proteinskih kompleksa i informacionih RNK obavlja se u ćelijama zahvaljujući brojnim članovima porodice motornih proteina mikrotubula. Motorni proteini ćelijskih mikrotubula podeljeni su u dve porodice: kinezinsku i dineinsku. Kinezinska i dineinska porodica obuhvataju veliki broj članova različitih motornih proteina koji svi imaju sposobnost da hemijsku energiju pretvore u mehanički rad. Razlika između ove dve porodice motornih mikrotubularnih proteina je u smeru prema kome omogućavaju kretanje membranskih struktura. Kinezinski proteini usmeravaju organele ka plus kraju, dok dineinski ka minus kraju mikrotubula, što znači da kinezini omogućavaju transport organela i vezikula ka ćelijskoj periferiji, dok dineini obezbeđuju transport istih struktura ka centru ćelije.

**Kinezini** su motorni proteini sa ATPaznim svojstvima budući da energiju za njihovo kretanje pruža hidroliza ATPa, koja se odvija na globularnim glavama njihovih molekula [155]. Kinezinska porodica motornih proteina od vitalnog je značaja za formiranje deobnog vretena i razdvajanje hromozoma u mitozu i mejozi. Pored navedenog kinezinski proteini odgovorni su za lokalizaciju i orijentaciju membranskih organela u ćelijama pod određenim uglom suprotno od delovanja gravitacije u cilju omogućavanja obavljanja svoje uloge. Morfološki kinezini su građeni tako što na jednom svom kraju poseduje dve globularne glave sa kojih polazi repni region. Mesto na kome je uspostavljena veza između glava i repnog regiona kinezinskog molekula pokretno je i ono je veoma bitno za njegov pokret i vraćanje u početan položaj. Motorni domen kinezinskog molekula lokalizovan je u njegovim glavama i oslanja se direktno na površinu mikrotubule, dok je za suprotni kraj kinezina vezana površina strukture čije transportovanje omogućava [156]. Opisani kinezinski molekuli omogućavaju kretanje različitih membranskih organela, mikrotubula, vezikula ili molekula iRNK ka plus kraju mikrotubula. Treba napomenuti da postoje kinezinski proteini koje odlikuju dva globularna regiona, za razliku od onih koji imaju samo jedan. Kinezinski molekuli koji poseduju dva globularna motorna domena omogućavaju kontinuirano kretanje vezikula niz mikrotubule. Ovakav način transporta odgirava se tako što pri svakom koraku koji kinezin ostvari jedan od njegovih motornih domena je u kontaktu sa površinom mikrotubule. Molekul kinezina vezuje jedan svoj globularni motorni domen za površinu mikrotubule, u sledećem koraku vezuje se drugi globularni motorni domen dok se odvaja prvi povezani globularni motorni domen i ostvaruje se pokret, korak kinezina po mikrotubuli. Oni kinezinski molekuli koji poseduju jedan globularni region ne ostvaruju kontinuirano kretanje, kod njih se kretanje ostvaruje udruživanjem i koordinacijom četiri do šest ovakvnih kinezinskih molekula.

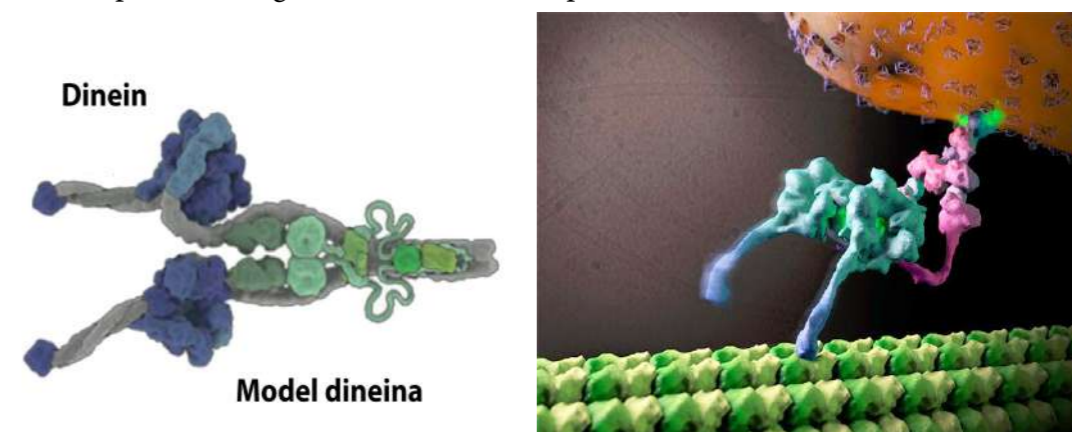


Molekul motornog proteina kinezina svojim repnim regionom prepoznaje i vezuje organelu ili mikrotubulu koju će da transportuje pomoću regulatornog proteina kinektina. Kinektin se vezuje za repni region kinezina i tačno prepoznaje teret koji kinezin treba da prenese preko mikrotubule sa njenog minus kraja prema plus kraju [156].

[156] Slika mehanizma povezane vezikule i mikrotubule pomoću proteina kinezina

Pogledaj link: [www.youtube.com/watch?v=tMKIPDBRJ1E](http://www.youtube.com/watch?v=tMKIPDBRJ1E)

**Dineini** su motorni proteini mikrotubula takođe sa ATPaznim svojstvima budući da im energiju za kretanje pruža hidroliza ATPa. Molekuli dineinske porodice proteina dele se u dve podporodice: citoplazmatični dineini i dineini prisutnih u aksonemi cilija i bičeva. Molekul dineina je veći od molekula kinezina, obrazovan je od većeg broja podjedinica, tako što ga čine dva teška, tri srednja i četiri laka intermedijarna lanca [157]. Molekul citoplazmatičnog dineina poseduje na jednoj svojoj strani dva globularna motorna regiona kojima se oslanja na mikrotubulu, dok se druga strana dineina vezuje sa strukturom čije kretanje omogućava: mikrotubula, iRNK ili membranska organela. Dineini su motorni proteini sposobni za retrogradne klizne pokrete, što znači da vezikula kojoj omogućavaju kretanje klizi ka minus kraju mikrotubule u pravcu od periferije prema centru ćelije, odnosno kreću se ka neposrednoj blizini jedra ćelije. Posredstvom dineina u negativnom pravcu transportuju se kasni endozomi i komponente lizozomskog sistema. Dineini takođe privlače i Goldži aparat blizu centrozoma. Molekuli citoplazmatičnog dineina organizuju mikrotubule za kretanje vezikula kasnih endozoma i fagozoma, a u epitelnim ćelijama oni omogućavaju pomeranje membranskih vezikula koje vode poreklo od Goldži aparata ka vršnom delu ćelije. Ukoliko se aktivnost motornog proteina dineina inhibira dolazi do disperzije komponenti Goldži aparata, što znači da se rani i kasni endozomi raspoređuju u perifernoj oblasti ćelije, a dolazi i do sprečavanja transporta vezikula između endoplazmatičnog retikuluma i Goldži aparata.



[157] Šematski prikaz molekula dineina (levo)

i slika mehanizma povezane vezikule i mikrotubule pomoću proteina dineina (desno)

Citoplazmatični dineini grade kompleks sa dinaktinom koji omogućava povezivanje molekula dineina sa membranom organela čiji transport ovaj motorni protein obezbeđuje. Dinaktin je složen proteinski kompleks obrazovan od deset subjedinica, od kojih je jedna dinamitin. Dinamitin vezuje lake intermedijarne lance dineina sa pridruženim proteinskim kompleksima i Arp1 proteinom prisutnim na površini vezikule.

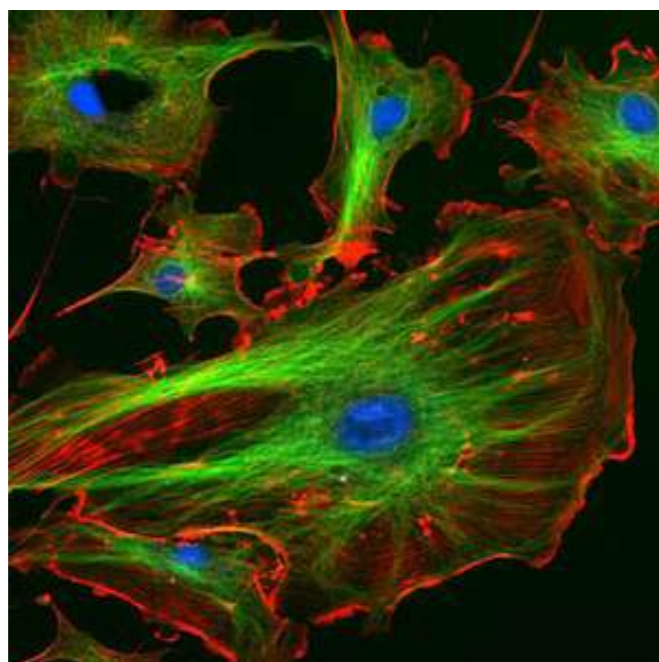


[158] Slika povezanosti mikrotubula (rozo) sa dineinima (zeleno) i kinezinima (plavo)

### Kooperacija između mikrotubula i mikrofilamenata

Na površini vezikula koje su nastale na membranama endoplazmatičnog retikuluma, na površini komponenata Goldži aparata i sekretiranih vezikula prisutni su molekuli Arp1 proteina. Dinaktin stupa u kontakt sa njima i preko citoplazmatičnog dineina povezuje ih sa mikrotubulama. Na ovaj način su mikrotubula i membranska organela ili vezikula međusobno u kooperaciji. Do ove kooperacije dolazi pri transportu vezikula i membranskih organela kroz ćeliju, ali i pri transportu i reorganizaciji mikrotubula. Međusobno povezivanje mikrotubula podrazumeva obrazovanje motornih kompleksa koji čine udružene motorne i pridružene proteine kako mikrotubula tako i aktinskih filamenata. Mogućnost dvosmernog kretanja struktura po površini mikrotubula podrazumeva istovremeno kretanje mikrotubule ili membranske organele prema plus i druge mikrotubule ili membranske organele prema minus kraju jedne iste mikrotubule. Svaka mikrotubula poseduje mehanizam koji omogućava regulisano vezivanje ili odvajanje motornih proteina kinezina i dineina od površine organela ili vezikula koje se transportuju u zavisnosti da li se transportuju ka njenom plus ili minus kraju. Regulacija procesa vezivanja ili odvajanja motornih proteina je zasnovana na fosforilaciji kinezina i dineina [158]. Prisustvo ili odsustvo čvrsto vezanog kinezina utiče na pravac kretanja organela ili mikrotubula tj. one se kreću ka pozitivnom kraju mikrotubule kad je kinezinski molekul vezan za njihovu površinu i obratno, ako nije vezan tada se kreću ka negativnom kraju mikrotubule. Vezivanje i aktiviranje motornih proteina na površini membranskih organela imaju i mali molekuli G-proteina i dinaktina.

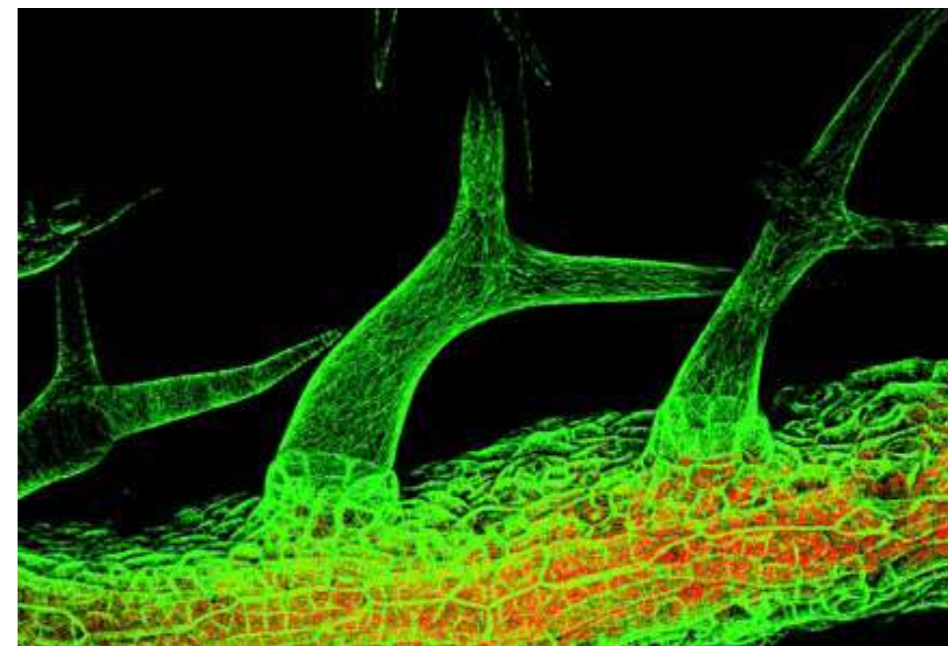
Mikrotubule u citoplazmi formiraju veliku proteinsku površinu, skoro jednaku onoj koju ima ćelijska membrana. Ova površina nesumnjivo pruža mogućnost za interakciju sa signalnim proteinima iz citoplazme koji utiču na ponašanje mikrotubula. Mikrotubule se dele u dve kategorije: labilne i stabilne u zavisnosti od svoje dinamičke ravnoteže tj. procesa njihove izgradnje, razgradnje i uloge koju imaju u ćeliji. Labilne mikrotubule karakteriše dinamička nestabilnost odnosno stalni procesi polimerizacije i depolimerizacije njihovih protofilamenata, kao i promena mesta u ćeliji. Sa druge strane stabilne mikrotubule učestvuju u izgradnji na primer centriola i aksonema bičeva i treplji ne podelžu procesima polimerizacije i depolimerizacije [159].



[159] Šematski prikaz stabilnih mikrotubula (beta tubulin - zeleno) u kooperaciji sa mikrofilamentima (aktinski filamenti - crveno) koje učestvuju u izgradnji citoskeleta, fluorescentno obojeni fibroblasti

### Specifičnosti citoskeleta biljnih ćelija

Ćelijski zid na površini biljnih ćelija u veliko onemogućava dinamičnost njihovih ćelijskih membrana, zato je uloga elemenata citoskeleta velika kako za membrane tako i za unutarćelijsko kretanje. Citoskelet u biljnim ćelijama je dinamična struktura koja značajno doprinosi prostornoj organizaciji i rasporedu organela u citoplazmi. U perifernom regionu biljne ćelije mikrotubule i mikrofilamenti uspostavljaju vezu sa integrisanim proteinima ćelijske membrane, submembranskim slojem [160], i tako doprinose njenoj stabilizaciji i funkcionisanju.



[160] Fluorescentno obojene mikrotubule submembranskog sloja biljnim ćelijama

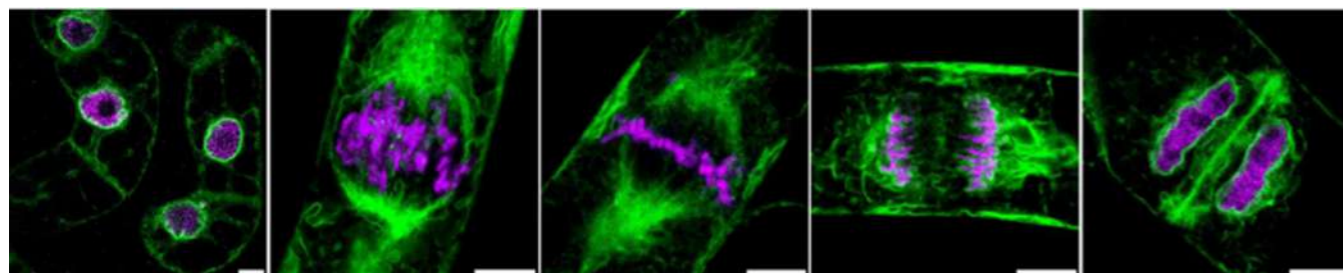
Diferencirane biljne ćelije sadrže krupnu, centralno postavljenu vakuolu u svojoj citoplazmi koja na određen način nameće i raspored elemenata citoskeleta. U korteksnom regionu citoplazme biljne ćelije uz ćelijsku membranu nalaze se mikrotubule, a malo dublje u ćeliji su mikrofilamenti. Analogno animalnim ćelijama mikrofilamentima i mikrotubulama citoskeleta biljnih ćelija pridruženi su motorni proteini slični kinezinu, miozinu i dineinu .

Interakcija mikrofilamenata sa ćelijskom membranom u sadejstvu sa motornim proteinima ostvaruje mehanizam koji reguliše transport vode i materija u biljnoj ćeliji. Mikrotubule prisutne uz citoplazmatičnu površinu ćelijske mebrane učestvuju u usmeravanju celuloznih mikrofibrila u nastanku ćelijskog zida. Pravac pružanja mikrotubula u perifernom regionu biljne ćelije je spiralan i može da se menja pod uticajem svetlosti ili ozleda biljnog tkiva. Postoje dve vrste kretanja u biljnim ćelijama: kretanje organela u citoplazmi i kretanje hromozoma posredovano mikrotubulama, slično kao kod životinjskih ćelija.

Kretanje citoplazmatičnih organela u interfaznoj biljnoj ćeliji često nazvano strujanje citoplazme zasniva se na interakciji organela sa aktinskim filamentima i molekularnim motorima aktinskih filamenata. Strujanje citoplazme biljnih ćelija još se naziva i ciklozno kretanje citoplazme, korteks biljne ćelije je stacionaran, kreće se sloj ispod korteksa [126], posredstvom aktina i miozina. Kod ovog kretanja organele se kreću duž međusobno paralelno postavljenih snopova aktinskih filamenata koji su istovremeno paralelni kako sa ćelijskom membranom tako i sa tonoplastom. Kretanje hloroplasta i drugih organela u biljnim ćelijama omogućavaju motorni proteinski molekuli miozinskog tipa. Inicijator pokretanja hloroplasta u biljnim ćelijama u prvom redu je svetlost tako da aktinski filamenti usmeravaju organele u smeru dolaska svetlosti na ćeliju. Strujanje citoplazme u ćelijama biljaka olakšava motroni protein sličan kinezinu koji se

vezuje za aktin i prisutan je na površini organela. Unutarćelijsko kretanje inhibira povećanje unutarćelijske koncentracije jona kalcijuma jer dovodi do inaktivacije motornih proteina pridruženih organelama. Posredstvom proteina spektrina kratki aktinski filamenti su u brojnim tipovima biljnih ćelija povezani svojim bočnim površinama za ćelijsku membranu sa jedne strane i sa membranama organela na drugoj strani filameta. Zanimljivo je pomenuti da je prisustvo molekula sličnih spektrinu pokazano u nukleusima biljnih ćelija.

Druga vrsta kretanja odnosi se na kretanje hromozoma tokom ćelijske deobe [161] biljne ćelije i zasnovana je na aktivnosti mikrotubula i motornih proteina. Tokom pripreme biljne ćelije za deobu, mikrotubule korteksnog submembranskog sloja citoplazme trpe značajno prostorno reorganizovanje. Mikrotubule, naime, obrazuju preprofaznu traku, dok aktinski filamenti dovode jedro, koje se obično nalazi van centra ćelije, u njeno središte gde će se podeliti. Treba napomenuti da biljne ćelije ne poseduju centrozome koji inače imaju veliku ulogu u organizovanju i nukleaciji mikrotubula i ćelijskoj deobi kod životinjskih ćelija.



[161] Položaj citoskeleta u biljnim ćelijama u toku mitoze, mikrotubule i mikrofilamenti zeleno, a hromozomi ljubičasto

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.



[162]

## CENTRIOLE, CILIJE I FLAGELE

Centriole  
 Cilije  
 Flagele  
 bakterijske flagele  
 eukariotske flagele

Upoznavanje sa građom i funkcijom centriola, cilija (treplji) i flagela (bičeva) na jednom mestu i zajedno opravdano je iz samo jednog razloga a to je njihova veoma sična građa. Ove visokodiferencirane ćelijske sturkure imaju veoma sličnu građu u čijoj organizaciji učestvuju stabilne mikrotubule, tj. mikrotubule koje nisu podložne procesima stalnog plomerizovanja i depolimerizovanja. Pored mikrotubula u izgradnji centriola, cilija i flagela svoj doprinos daje i čitav niz pridruženih proteina, čije se prisustvo odražava na njihove morfološke i funkcionalne karakteristike. Sa druge strane centriole, cilije i flagele pripadaju supraorganizovanim mikrotubulama koje omogućavaju na direktan ili indirektan način pokrete u ćelijama, pokrete delova ili celih ćelija. Centriole su sastavni deo deobnog vretena kod ćelija životinja i ljudi i tokom ćelijske deobe doprinose kretanju hromozoma, cilije su prisutne na površini epitelnih ćelija gde aktivno učestvuju u pokretanju tečnosti po lumenu koji njihove ćelijske membrane ograničavaju. Određen broj epitelnih ćelija međusobnim udruživanjem mogu da ograničavaju prostor, npr. lumen folikula. Sa površina ovih ćelija prema lumenu folikula pružaju se cilije koje tu aktivno učestvuju u pokretanju

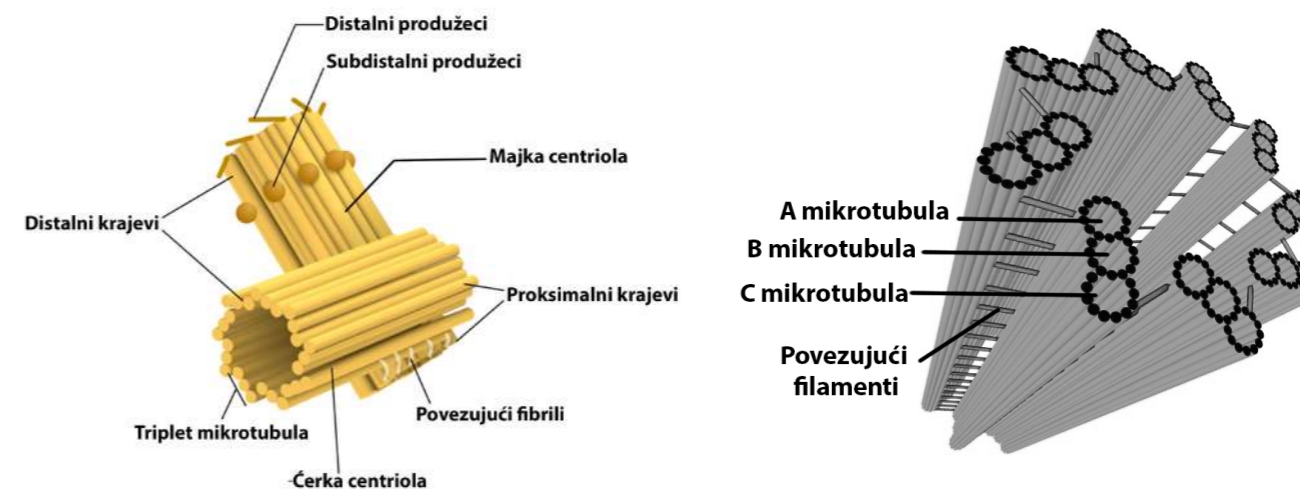


[163] Na slici je portret naučnika Theodora Boveria, nemačkog biologa i embriologa. Pored opisivanja i davanja imena centriolama Theodor Boveri je i definisao da kancerogeneza svakog organa počinje od poremećaja na nivou jedne njegove ćelije

## CENTRIOLE

Organizacije centre mikrotubula ćelija životinja, pa i ljudi, tj. centriole, prve je opisao, definisao ulogu i imenovao biolog Theodor Boveri [163]. Centriole su parne viskospecijalizovane nemembranske strukture supraorganizovanih mikrotubula u životinjskim i ljudskim ćelijama lokalizovane u blizini jedra. One su uronjene u amorfni, elektronski relativno gust i osmiofilan deo citoplazme nazvan pericentriolarni matriks. U interfazi ćelija sadrži jedan par centriola koji zajedno sa pericentriolarnim matriksom čini centrozom. U ovoj fazi ćelijskog ciklusa međusobni prostorni odnos centriola je stalan i uzdužne ose centriola zatvaraju ugao od 90°.

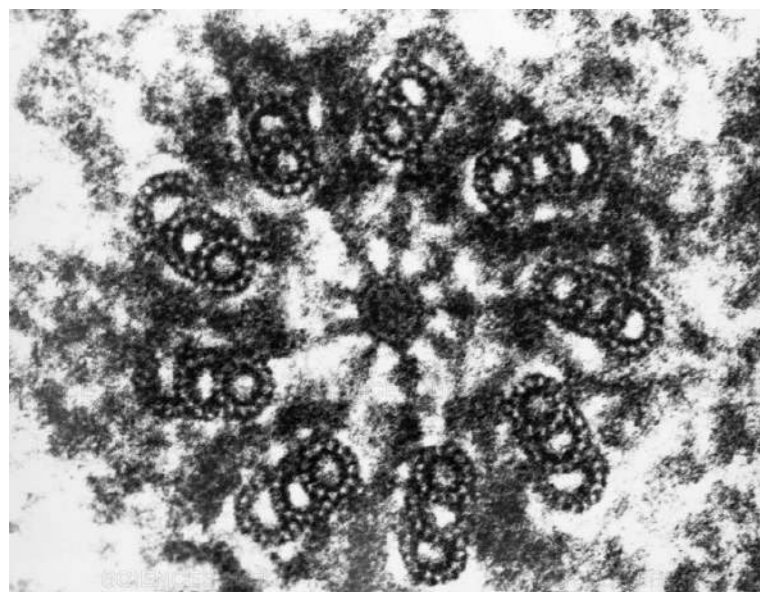
Centriola je struktura cilindričnog oblika, dužine oko 500 nm i prečnika oko 250 nm, sa zidom izgrađenim od stabilnih mikrotubula organizovanih uvek na isti način. Tri mikrotubule su međusobno povezane i udružene u triplet, devet tripleta čini zid jedne centriole.



[164] Prikaz međusobnog prostornog odnosa centriola (slika levo), struktura centriole (slika desno)

Unutrašnja mikrotubula tripleta naziva se mikrotubula A i izgrađena je od 13 protofilamenata i otuda na poprečnom preseku kroz triplet samo ona ima izgled punog kruga. Središnja mikrotubula naziva se mikrotubula B, a spoljašnja po analogiji mikrotubula C, njih gradi po 10 protofilamenata. Na poprečnom preseku ove dve mikrotubule izgledaju kao nepotpuni krugovi, jer se naslanjaju mikrotubula B na mikrotubulu A, a mikrotubula C na mikrotubulu B. Mikrotubule B i C koriste deo zida mikrotubule na koju se oslanjaju odnosno njena tri protofilamenta kako bi zatvorile svoj oblik nepotpunog cilindra [164, 165].

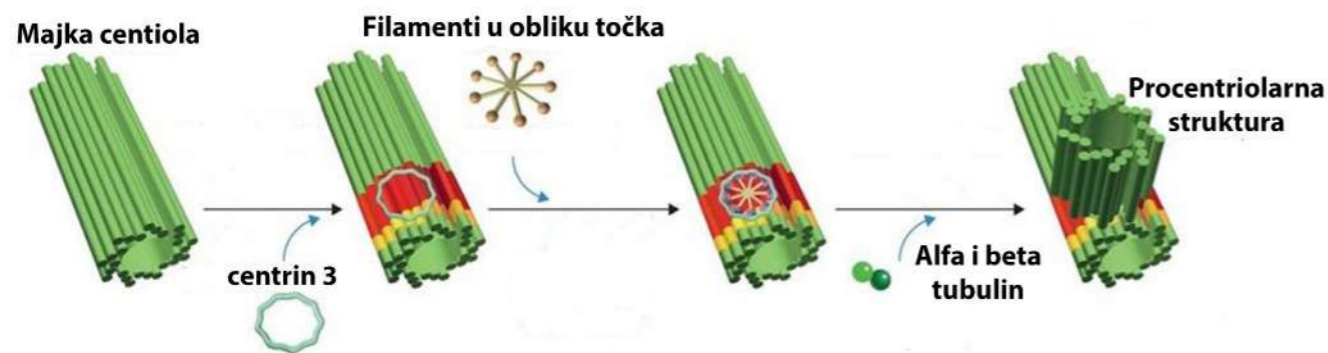
Pravac pružanja mikrotubularnih tripleta nije prav, oni se u odnosu na dužu osu centriole blago zakrivljuju. Devet mikrotubularnih tripleta postavljeno je u krug i to na tačno određenom i uvek istom međusobnom rastojanju i tako formiraju zid centriole. Građa centriole se uobičajeno predstavlja matematičkom formulom 9+0, gde je sa 9 označen broj tripleta u zidu centriole i sa nulom odsustvo mikrotubula u njenom centru. Oko svakog tripleta mikrotubula prisutan je omotač formiran od osmiofilnog dela citoplazme koji je amorfan ili vlaknast. Mikrotubule susednih tripleta nisu u direktnom kontaktu, već se između mikrotubule A jednog i mikrotubule C susednog tripleta obrazuje veza od povezujućih filamenata i tamno kontrastnog amornog materijala koji se proteže čitavom dužinom mikrotubula i naziva se linker A-C. Središnji prostor, lumen centriole nije ujednačeno organizovan, naime u distalnoj tj. gornjoj polovini centriole nalaze se proteini kao što je centrin, dok se u proksimalnoj polovini nalazi organizovan amorfni materijal. Proksimalni deo centriole je onaj njen deo bliži drugoj centrioli iz centriolarnog para tj. bliži nukleusu. Amorfn, tamno kontrastni materijal organizovan je u vidu središnje prstenaste strukture od koje se pružaju radijalne žbice ka svakom tripletu mikrotubula. Ova komponenta u središnjem prostoru centriole doprinosi devetozračnoj simetriji i u mnogome podseća na točak, pa se tako i naziva.



[165] Elektronmikrografija poprečnog preseka proksimalnog dela centriole

Uz zid centriole sa njene spoljašnje strane zapažaju se strukture koje se nazivaju distalni i subdistalni produžeci [164]. Organizovani su u kompaktne forme prečnika oko 70 nm, koje na elektronmikrografijama pokazuju poprečnu prugavost. Subdistalni produžeci centriola pričvršćeni su na zid mikrotubule C iz tripleta pomoću drške i upravljani su u pericentriolarni matriks na dužini od 0,1 do 0,2  $\mu\text{m}$ . Iako su distalni i subdistalni produžeci strukture oslonjene na centriole one ustvari predstavljaju kompaktan organizovan pericentriolarni materijal. Životinjske i ljudske ćelije koje ulaze u deobu udvajaju svoj par centriola, tako da ih sadrže po dva para pre podele, sam proces udvajanja centriolarnog para naziva se centriologenezom.

Posmatranja na transmisionom elektronskom mikroskopu pokazala su da tokom udvajanja centriola ni u jednom trenutku ne dolazi do morfoloških kontakata između već postojećih majki centriola i novoformiranih ćerki centriola. Takođe, mehanizam udvajanja centriola ne zasniva se na fisiji ili na pupljenju majke centriole, jer su majka i ćerka centriola za svo vreme udvajanja prostorno odvojene. Postojeća majka centriola služi kao model novoformiranoj ćerki i ne učestvuje materijalno u njenom formiranju [166]. Proces udvajanja centriolarnog para započinje formiranjem procentriola, one će nakon definitivnog formiranja ćerki centriola imati sve karakteristike već postojeće majke centriole ali bez prisustva distalnih i subdistalnih produžetaka. Protein centrin 3 inicira formiranje procentriola i tako predstavlja inicijalni faktor za udvajanje centriola u životinjskim i ljudskim ćelijama. Centrin 3 organizuje visokostrukturirani materijal pericentriolarnog matriksa isto kao što je organizovana središnja struktura proksimalnog dela centriole u obliku točka. Ovako organizovan pericentriolarni prostor predstavlja kalup koji pokreće polimerizovanja prvo devet unutrašnjih mikrotubula A, zatim središnjih mikrotubula B i na kraju spoljašnjih mikrotubula C. Važani faktori u centriologenezi su molekuli RNK koji se nalaze u središnjoj strukturi proksimalnog dela majke centriole i učestvuju u sintezi svih neophodnih proteina pogotovo proteina centrina.

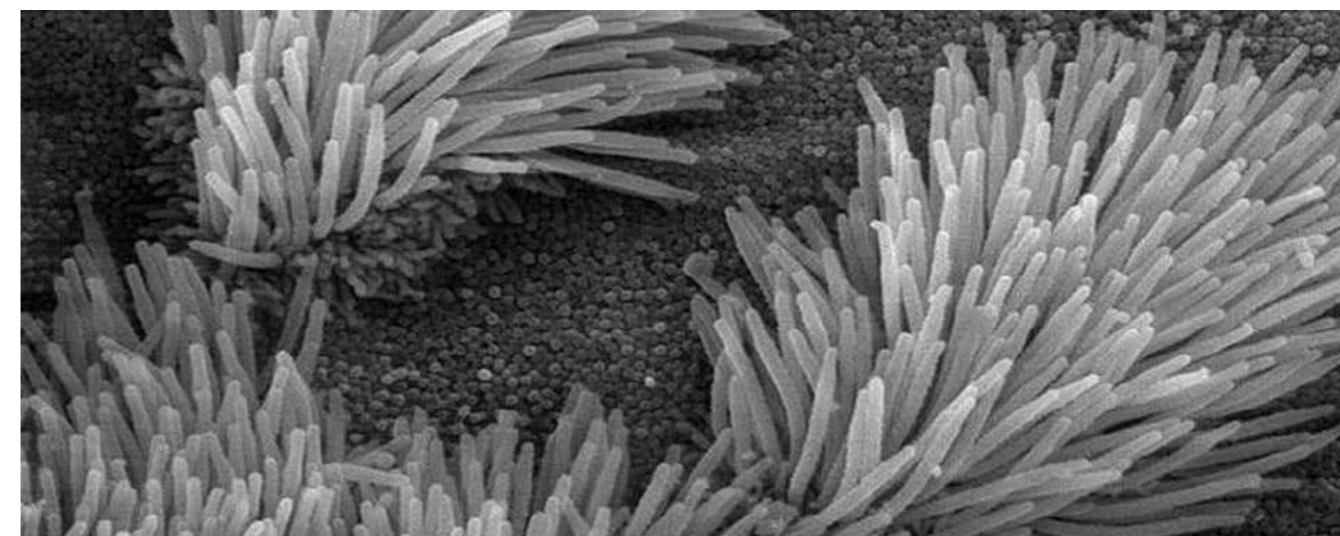


[166] Proces centriologeneze

Centriole su multifunkcionalne strukture jer doprinose izgradnji deobnog vretena, kao što i migriraju na ćelijsku membranu interaznih ćelija da počnu nukleaciju aksoneme. U trenutku deobe ćelije one se odvajaju od aksoneme i migriraju na spoljašnju periferiju jedra gde definišu suprotne polove mitotskog vretena.

## CILIJE

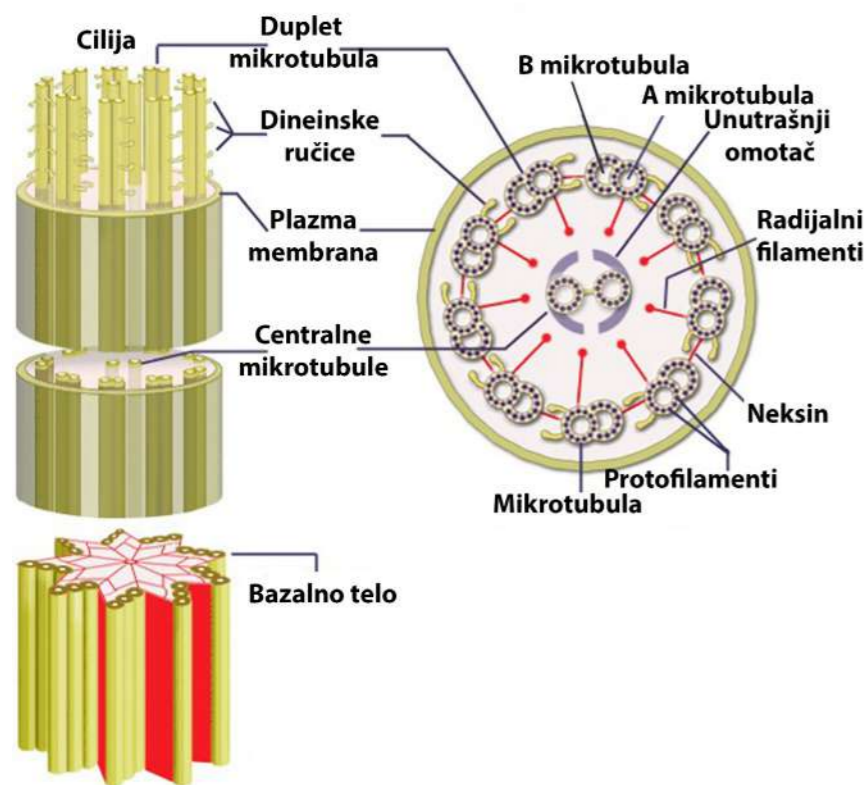
Izvrti ćelijske membrane manjeg prečnika i iste dužine čiju srž, aksonemu, grade paralelno uređeni aktinski filamenti i njima pridruženi proteini su mikroresice [162]. Prstolike strukture slične mikroresicama prisutne na površini nekih životinjskih i ljudskih epitelnih ćelija, koje se međusobno razlikuju po dužini i prečniku nazivaju se cilije [167]. Cilije su visokospecijalizovane strukture izgrađene od citoskeletnih elemenata. Cilije, odnosno treplje su izvrti ćelijske membrane većeg prečnika i dužine čiju aksonemu grade stabilne mikrotubule i njima pridruženi proteini. Osnovna građa cilija zasniva se na specifično prostorno raspoređenim stabilnim mikrotubulama stalnog broja i dužine, organizovanih u vršnom delu ćelijske citoplazme. Morfološka organizacija unutrašnjeg skeleta cilije obuhvata tri dela: bazalno telo, prelazni region i aksonema. Aksonema cilije podrezumeva specifično visoko organizovan citoskelet.



[167] Elektronmikrografija cilija

Bazalno telo cilije [168] je građeno slično kao centriola, zid njegove cilindrične forme obrazuje devet mikrotubularnih tripleta u čijem centralnom prostoru nema mikrotubula (9+0). Bazalno telo cilije ponaša se kao njen organizacioni centar. U distalnom regionu središta bazalnog tela prisutna je loptasta forma amornog materijala koja je označena kao granula. Bazalnom telu cilija pridruženi su i bazalno stopalo i koren cilije. Uz spoljašnju površinu središnjeg regiona bazalnog tela naleže bazalno stopalo koje je gust amorfni materijal isti kao granula distalnog regiona. Gust amorfni materijal ima ulogu u koordinisanju pokreta većeg broja cilija. Bazalno stopalo predstavlja centar organizovanja mikrotubula koje grade ciliju, ali nije centar njihove nukleacije. Od bazalnog tela polazi koren cilije usmeren u dubinu ćelije, i on pričvršćuje bazalno telo u apikalnu citoplazmu. Koren cilije se svojim slobodnim krajem umeće se između citokeratinskih filamenata prisutnih u vršnom regionu ćelije odmah ispod ćelijske membrane. U regionu korena cilije nalaze se molekuli APTa i joni kalcijuma. U nivou gde se završavaju mikrotubule C iz devet tripleta bazalno telo se povezuje sa proteinskim vlaknima na unutrašnju stranu ćelijske membrane. Tada od devet mikrotubularnih dubleta, sačinjenih od mikrotubula A i B, polaze vlakna prelaznih proteina u obliku raširenih krila i vezuju dublete za transmembranske proteine ćelijske membrane. Osim vlakana prelaznih proteina fiksaciju dubleta omogućavaju još i molekuli spektrina i miozina prisutni u citoplazmatičnom korteksu odmah ispod ćelijske membrane.



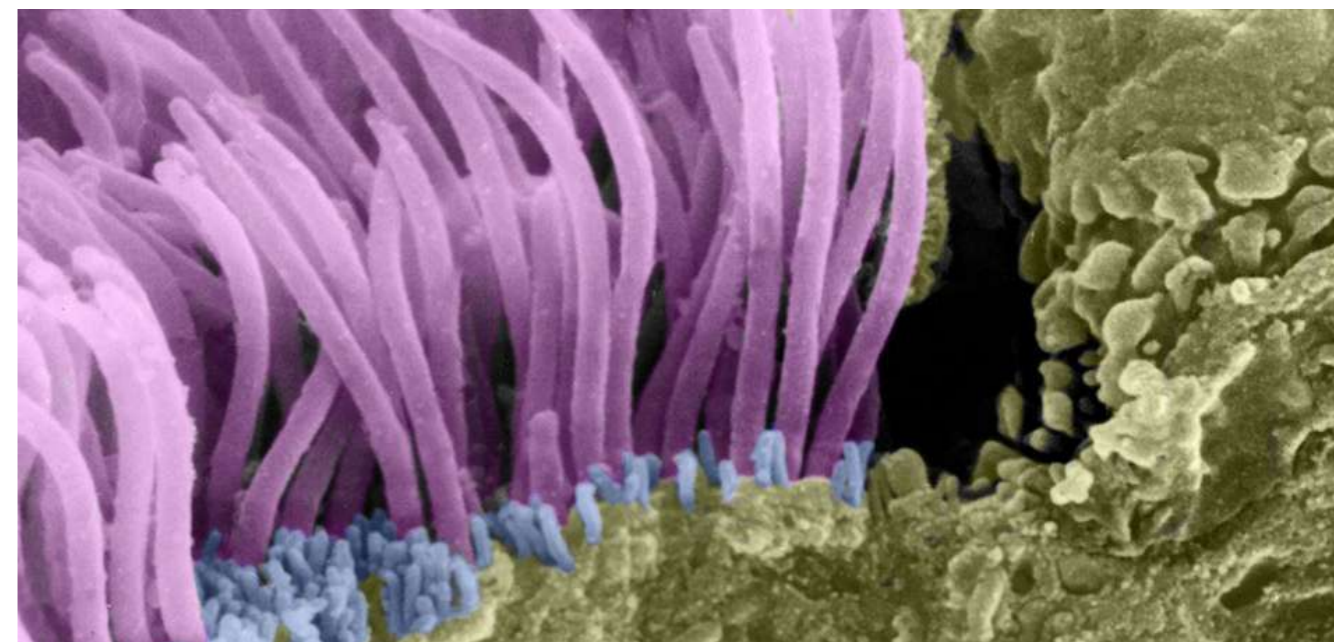


[168] Građa cilije na poprečnom preseku

Region cilije gde prestaju tripleti bazalnog tela i počinju dubleti aksoneme, tj. gde nestaje C mikrotubula, građen je od devet mikrotubularnih dubleta formiranih od mikrotubula A sačinjenih od 13 protofilamenata i mikrotubula B sačinjenih od 10 protofilamenata. Dubleti su međusobno povezani jedan za drugi proteinskim mostovima, tako što se mikrotubula A jednog dubleta vezuje za mikrotubulu B narednog neksinom. Mikrotubule ovog regiona cilije manje su stabilne od onih u bazalnom telu ali stabilnije od onih u aksonemi. Cilija u ovom prelaznom regionu uspostavlja kontakt sa ćelijskom membranom koja je okružuje, tako što sa svake završne C mikrotubule pruža po jedan fibril (krilati omotač) koji se dihotomo grana i stupa u direktan kontakt sa transmembranskim proteinima ćelijske

membrane.

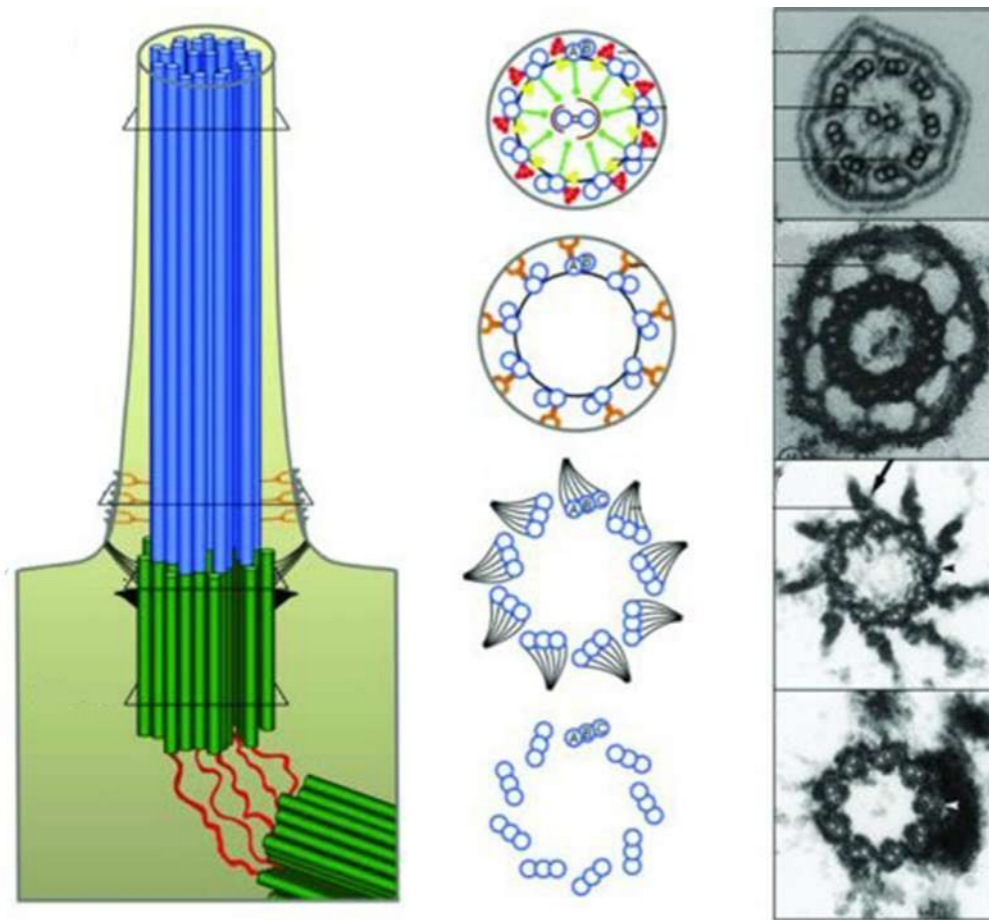
Srž cilije se naziva aksonema izgrađena od devet dubleta mikrotubula koji su raspoređeni u vidu prstena oko jednog para mikrotubula u sredini [168]. U poređenju sa bazalnim telom i vratnim regionom aksonema cilije odlikuje se složenijom organizacijom, koja se pomoću matematičke formule može zapisati kao  $9+2$ , gde je 9 broj dubleta na periferiji i 2 broj središnjih mikrotubula, tj. centralni mikrotubularni par. Mikrotubule centralnog para nisu u međusobnom kontaktu, zid im je izgrađen od po 13 protofilamenata i delimično su obavijene amorfnim, gušćim centralnim omotačem. Dubleti mikrotubula aksoneme povezani su jedan za drugi mostovima od proteina neksina, tako što se mikrotubula A jednog dubleta vezuje za mikrotubulu B susednog. Pored mostova za mikrotubule A svakog dubleta vezane su i po dve dineinske ručice različitog oblika, spoljašnja ručica se grana u tri nastavka, dok se unutrašnja dihotomo grana. Protein dinein koji gradi ručice ima ATPaznu aktivnost isto kao i citoplazmatični dinein koji omogućava unutarćelijsko kretanje. Spoljašnja dineinska ručica sa mikrotubule A obrazuje strukturu koja se vezuje za susedni dublet kada je cilija u pokretu i koja je slobodna, nije vezana za susedni dublet, kada je cilija u mirovanju. Od mikrotubula A dubleta aksoneme polaze i radijalni filamenti protina, žbice, upravljene ka centralnom mikrotubularnom paru. Žbice su čitavom dužinom mikrotubularnih dubleta raspoređene na ujednačenom rastojanju jedna od druge i na svojim slobodnim krajevima sadrže proširenja. Građa stabilnih mikrotubula koje izgrađuju unutrašnji skelet cilija nije ista kao građa labilnih mikrotubula koje grade citoskelet ćelije. Tubulin mikrotubula cilija nema vezujući protein tau niti pridružene proteine iz porodice MAP molekula. Fibrilarni protein tektin nalazi se kod svih mikrotubula u aksonemi, pored tubulina i ima ga više u dubletima.



[169] Elektronmikrografija cilija

Pokretanje cilija se odvija u dva koraka, u prvom one se aktivnim klizanjem dubleta mikrotubula u aksonemi pomeraju u jednom pravcu uz maksimalno savijanje, da bi se potom vratile u početni položaj talasastim pokretom suprotnim od prvog [169]. Ukoliko se na površini ćelije nalazi veliki broj cilija, one sve sinhrono prave ova dva koraka i pokreću se zajedno u istom smeru i na isti način. Klizanje mikrotubularnih dubleta zavisno je od prisustva dineinskih ručica koje vrše hidrolizu ATP-a u trenutku kad ručice sa mikrotubule A iz jednog dubleta dodirnu mikrotubulu B susednog. Aktiviranje dineinskih ručica, kako bi omogućile pokret, ne zavisi od jona kalcijuma, već od odnosa radijalnih filamentoznih proteina koji učestvuju u izgradnji žbica i centralnog mikrotubularnog para. Za klizanje dubleta tj. pomeranje jednog u odnosu na drugi neophodan je molekularni motor mikrotubula, cilijarni dinein. Takođe neophodne su i radijalne žbice i neksinski mostovi koji prevode klizanje dubleta u savijanje cilija. Ako na mikrotubula A ne postoje dineinske ručice do pokreta cilije ne dolazi, jer su ručice ključne za pokrete cilija [170]. Aktiviranje svih dineinskih ručica u aksonemi ne odvija se istovremeno čitavom njenom dužinom, već pojedinačno, segment po segment aksoneme i tako se omogućava talasasti pokret cilije.

Cilije nastaju u procesu ciliogeneze koji obuhvata četiri faze: centriologenezu, migraciju centriola, lokalizaciju centriola u blizini ćelijske membrane i izduživanje cilije i ćelijske membrane oko nje. Ciliogeneza je veoma komplikovan i precizan proces u kojem jedna ćelija može da obrazuje više stotina cilija na svojoj površini. Uočljiva morfološka sličnost koja se zapaža između bazalnog tela cilije i centriole ukazuje da bazalno telo cilije nastaje od centriole. Formiranje centriola koje predstavljaju u ciliogenezi predhodnike bazalnog tela može se obaviti centriolarnim ili češće necentriolarnim putem. Centriolarna ciliogeneza podrazumeva duplikaciju postojećih centriola iz centrozoma. Dve novoformirane centriole migriraju ka površini ćelije do mesta gde će početi da se stvara cilija. Tokom migracije one menjaju svoj položaj, što znači da su jedna u odnosu na drugu. Neposredno nakon svog formiranja centriole su pod uglom od  $90^\circ$ , dok se u toku migracije postavljaju paralelno jedna u odnosu na drugu; a upravno u odnosu na površinu ćelije. Pomoću svojih filamentoznih proteina i proteina miozina centriole uspostavljaju kontakt sa transmembranskim proteinima citoskeleta i citokeratinskim filamentima. Jedna ili obe centriole indukuju začetak cilije i one ne menjaju svoj oblik i građu kada uđu u građu cilije.



[170] *Poprečni preseki cilije u različitim nivoima: A-bazalno telo, B i C-prelazni region tj. kraj bazalnog tela i početak aksoneme i D-aksonema tj. telo cilije*

Necentriolarnim putem obrazuje se veliki broj cilija tako što se formiraju centriole bez učešća postojećih centriola iz centrozoma. Novoformirane centriole nastaju od granula u blizini Goldži aparata u citoplazmi ćelije. Na mestu formiranja cilijarnih centriola nalazi se veliki broj polizoma koji sintetišu komponente granularnih proteina. Granularni proteini dalje se fuzionišu u agregate koji mogu da imaju različite forme. Agregati se potom ujedinjuju i transformišu u pokretne proteinske komplekse, deuterozome. Deuterozomi mogu da budu loptastog ili cilindričnog oblika i oko njih se formiraju začeci centriola koji se zovu procentriole. Svaka procentriola u daljem procesu formiranja dobija centralnu radijalnu figuru, tj. figuru točka, koja odlikuje proksimalni region bazalnog tela cilija. Deuterozomi imaju ulogu analognu onoj koju imaju majke centriole u odnosu na ćerke centriole, u centriolarnoj ciliogenezi, on daje šemu po kojoj će se formirati ćerka centriola. Potpuno formirane centriole se odvajaju od deuterozoma, međusobno se razdvajaju i migriraju ka vršnoj površini ćelije, dok deuterozom za svo vreme formiranja centriola ne menja svoju veličinu i oblik. Migraciju centriola pomažu aktinomiozinski kompleksi i vezujuća vlakna na njihovim distalnim krajevima. Povezivanje centriola sa ćelijskom membranom i proces u kojem one postaju bazalna tela posredovan je citoplazmatičnim transportnim vezikulama za prenos koje se vezuju za vezujuća vlakna novosintetisanih centriola. Ovako povezana vezujuća vlakna centriola za vezikule fuzionišu sa ćelijskom membranom i pozicioniraju centriolu tj. buduće bazalno telo. Razmak između susednih bazalnih tela u ovoj fazi ciliogeneze je slučajna i tek kasnije se uspostavlja njihov precizan prostorni raspored u fluidno mozaičnoj ćelijskoj membrani. Znači, necentriolarnim putem procentriole tj. prekursori

centriola se izdužuju i daju centriolu, a one zatim migriraju u apikalni deo ćelije. Tu se distalnim i subdistalnim produžecima pričvršćuju za ćelijsku membranu i preuzimaju funkciju bazalnog tela.

Pozicionirano bazalno telo cilije ispod ćelijske membrane omogućava početak poslednje faze ciliogeneze, odnosno izduživanje aksoneme polimerizacijom mikrotubula A i B i formiranjem dve centralne mikrotubule. Mikrotubule izdužuju se polimerizacijom tj. dodavanjem tubulinskih heterodimera samo na distalnom (vršnom) kraju bazalnog tela. Polimerizacija mikrotubula aksoneme cilija prati promenu ćelijske membrane gde dolazi do pregrupisanja njenih lipidnih, proteinskih i polisaharidnih komponenti na mestu gde će se locirati cilija. Proteini cilije sintetišu se u dubljim delovima citoplazme na slobodnim poliribozomima, a do vršne površine cilija dospevaju poredstvom intraflagelarnog transporta. To je transport pomoću intraflagelarnih transportnih proteina koji grade svojevrzne platforme. Platforme koje se posredstvom kinezina i dineina transportuju anterogradno (u smeru rasta cilije) odnosno retrogradno (suprotno od smeru rasta cilije) duž dubleta mikrotubula. Potrebni molekuli se natovare na platforme i transportuju na željeno mesto. Kratka cilija u toku formiranja nije pokretna, sposobnost pokreta stiže tek kad dostigne više od polovine svoje konačne dužine. Takođe, u ovoj fazi ciliogeneze uspostavlja se konačno pozicioniranje bazalnog tela cilije i orijentacija bazalnog stopala u pravcu budućeg pokreta cilije.

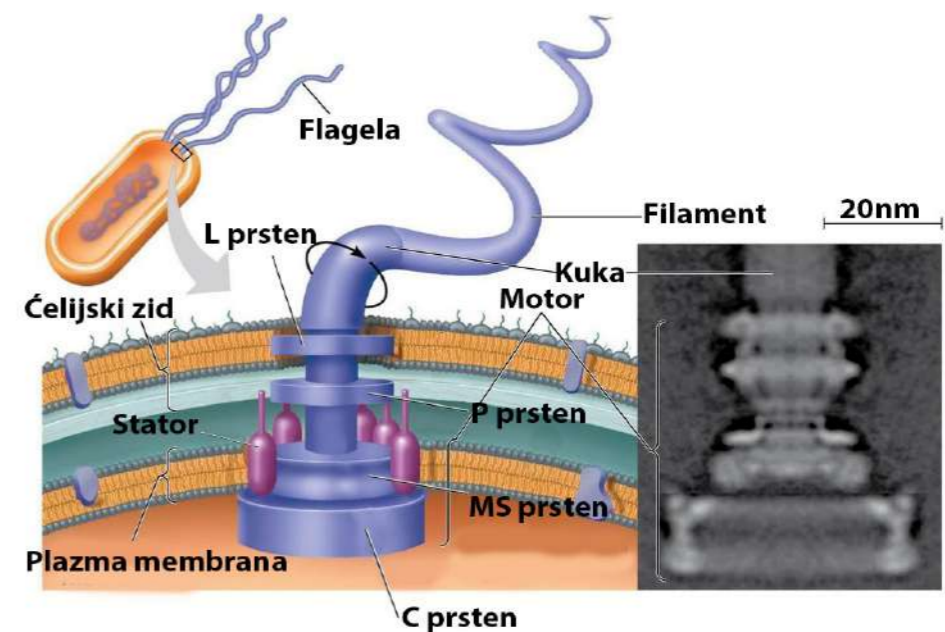
## FLAGELE

Postoje dva tipa flagela: bakterijske (prokariotske) i eukariotske. Arhitektura, sastav, mehanizam pokreta i flagelogeneza eukariotske flagele fundamentalno se razlikuju od bakterijske. Primarna uloga flagela je omogućavanje kretanja ćelijama, pokretanje vanćelijskog sadržaja koji ih okružuje, kao i čulna uloga jer su flagele antene za hemijske i temperaturne promene vanćelijske sredini i prenose informacije o promenama sredine u ćeliju.

### Bakterijske flagele

Organela koja omogućava kretanje bakterijskih ćelija je bakterijska flagela ili bič, po svom izgledu je talasasta struktura. Susreću se obično pojedinačno ili u većem broju i omogućavaju: kretanje bakterija kroz različito viskozne sredine, brzo pokretanje materijala preko svojih ćelijskih površina ili sekretornu funkciju koja dovodi do održavanja fiziološkog metabolizma ćelija. Nedostatak ili nepravilna funkcija flagela dovodi do disregulacije i patološkog stanja ćelija [171].

[171] *Prikaz šeme flagele kod Gram negativne bakterije*



Bakterijsku flagelu izgrađuju molekuli globularnog proteina flagelina polimerizovani spiralno u obliku šuplje cevi prečnika 15-20 nm. Svaka bakterijska flagela veoma je složena struktura izgrađena iz tri oblasti: bazalnog tela, kuke i filameta. Bazalno telo je smešteno u ćelijskoj membrani i ćelijskom zidu bakterijske ćelije i veoma je složeno i debelo. Gram negativne bakterije imaju složeniji i deblji ćelijski zid na svojoj površini za razliku od Gram pozitivnih koje imaju jednostavniji i tanji. Bazalno telo jednako prolazi kroz oba tipa ćelijskih zidova oba tipa bakterijskih ćelija. Kuka i filament bakterijske flagele nalaze se van ćelijske membrane koja ih ne okružuje, prema spoljašnjoj srednini. Kuka i filament su na transmisijom elektronskom mikroskopu vidljivi delovi bakterijske flagele [171,172].

Proteinski kompleks bazalnog tela prima senzorne promene sa distalnog (vršnog) kraja flagele i reaguje na promene pokretom ili sekretorecijom, zato se bazalno telo naziva još i sekretornim sistemom flagele ili sekretorna pora bakterijske ćelije. Bazalno telo je proksimalni (bliži ćeliji, donji) deo bakterijske flagele, na njemu je smeštena kuka i rotacioni motor pomoću kojeg se pokreće filament. Rotacioni motor u funkcionalnom smislu formiraju dva segmenta: stator i rotor, analogno mehaničkim motorima koji imaju sličan mehanizam rada i prenosa energije u pokret kao bakterijska flagela. Rotor se sastoji od osnove filameta i prstenova L, P, C i MS, dok se stator sastoji od MOT proteina koji okružuju bazalno telo i rotor i funkcionišu tako što generišu obrtni momenat flagele. Bakterijska flagela polazi sa bazalnog tela izgrađenog od kompleksa proteina koji je smešten u C prsten ili motorni transmembranski protein ćelijske membrane. Kompleks proteina koji povezuje filament sa bazalnim telom bakterijske flagele naziva se SM prsten, smešten u ćelijskoj membrani pomoću filamentoznih produžetaka. MS prsten je izgrađen od 26 molekula FLiF proteina, povezanih sa FLiG proteinima, koji su dalje povezani sa kompleksom FLiM i FLiN proteina. Porodica FL proteina: FLiF, FLiG, FLiM i FLiN su motorni miozinski filamentozni i globularni proteini koji su motorni prekidači, stvaraju kretanje i rotaciju filameta i preokreću smer rotacije flagele kao odgovor na intracelularne signale.

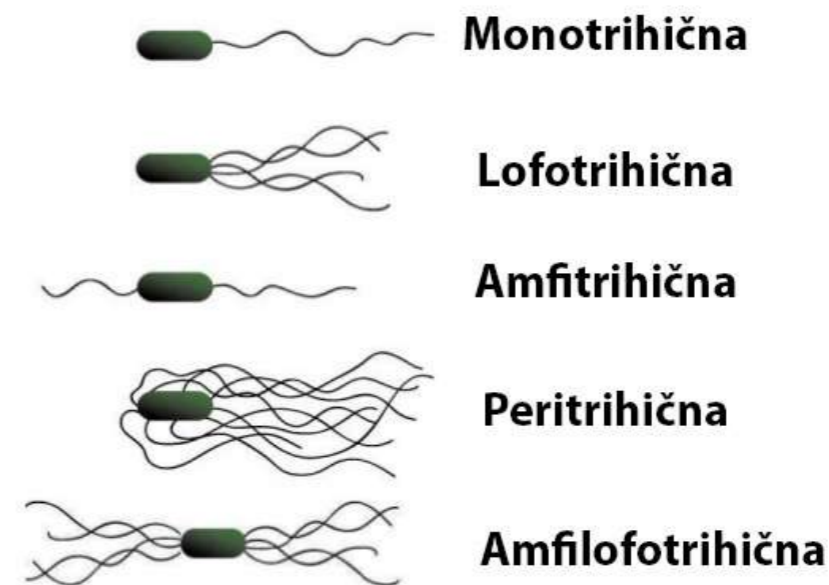


[172] Electronmikrografija bakterijske ćelije sa flagelom

Filament Gram negativne bakterijske flagele prolazi kroz periplazmatični prostor bakterijske ćelije u kojem se nalazi sloj peptidoglikana (ćelijskog zida) sa smeštenim sledećim proteinskim kompleksom, tzv. P prstenom koji ne postoji kod bakterijskih ćelija koje nemaju omotač od peptidoglikana, odnosno on ne postoji kod Gram pozitivnih bakterija. Poslednji prsten bazalnog tela bakterijske flagele je L prsten, njega imaju samo Gram negativne bakterije [171], on je smešten u lipopolisaharidni omotač pomoću transmembranskog proteinskog kompleksa. Kroz L prsten prolazi flagela Gram negativnih bakterija pre nego što izađe iz bakterijske ćelije. L i P prsteni učvršćuju osovinu flagele i ponašaju se kao ležajevi na motoru omogućavajući joj da direktno iz citoplazme izađe u spoljašnju sredinu, bez njenog kontakta i trenja sa ćelijskom membranom i ćelijskim zidom. Stator rotacionog motora bakterijske flagele izgrađen je od MOT motornih globularnih transmembranskih proteina smeštenih u isto vreme u ćelijskoj membrani i peptidoglikanski sloj bakterijske ćelije. MOT proteini se sastoje od dve gradivne komponente MOT1, smeštene u ćelijsku membranu i MOT2, ugrađene u peptidoglikanski sloj.

Međusobna promena položaja proteina rotora omogućena je pomoću snage obrtnog momenta proteina osovine bakterijske flagele. Snaga obrtnog momenta stvara se protokom vodonikovih ili natrijumovih protona kroz MOT proteine iz spoljašnje sredine u citoplazmu kroz ćelijsku membranu prema gradijentu koncentracije i uspostavljenom pravilnom ćelijskom metabolizmu. C prsten je nosioc celokupnog rotacionog motora a u isto vreme je i kontrolor okidača početka rada rotora. Kuka bakterijske flagele je širi kompleks proteina od filameta i omogućava flageli da pod oštrom krivinom izađe i pozicionira se iz ćelije što je veoma bitno za njeno efikasnije funkcionisanje. Filament je najduži deo bakterijske flagele, dugi spiralni vijak koji pokreće bakterijsku ćeliju kad ga rotor zarotira preko kuke. Filament se uglavnom sastoji od jedanaest protofilameta približno paralelnih i ose filameta, mada postoje filamenti i sa sedam protofilameta. Intraflagelarni transport omogućava prenos gradivnih ili sekretornih proteina duž unutrašnjosti flagele u cilju njenog pravilnog funkcionisanja, efikasnosti pokreta ili prenosa signala.

U toku flagelogeneze bakterijske flagele ona ne raste iz baze već sa vrha. Prvo se sintetiše MS prsten i smešta se u ćelijsku membranu. Zatim se sintetišu i lokalizuju drugi proteini bazalnog tela i kuke pre nego što počne da se sintetiše filament. Molekuli globularnog proteina flagelina sintetisani u citoplazmi prolaze kroz šuplje jezgro bazalnog tela i kuke na čijem vrhu počinje polimerizacija filameta. Polimerizacija filameta je na njegovom proksimalnom kraju ispod filamentozne kape na samom vrhu flagele. Proteinska kapa je prisutna svo vreme dok se filament sintetiše i njeni proteini pomažu proteinima flage-



[173] Sema različitih tipova flagelacija bakterijskih ćelija

linima da zauzmu pravilnu poziciju u rastućem filamentu. Polimerizacija flagelina se odvija manje ili više kontinuirano dok ne dostigne svoju konačnu dužinu. Slomljena flagela ima sposobnost rotacije i može da se popravi novim jedinicama flagelina koje su prošle kroz kanal filameta da bi zamenile izgubljene.

Neke vrste bakterijskih ćelija imaju različit broj i raspored flagela na sebi, ovo se naziva flagelacija [173]. Flagele mogu da budu pričvršćene na jednom kraju bakterijske ćelije - nepolarna flagelacija ili na oba kraja ćelije - polarna flagelacija. Kod nekih vrsta bakterija na jednom kraju ćelije nalazi se grupa flagela tj. pramen i to je tip nepolarne flagelacije nazvan lofotrichan. Kada se na oba pola bakterijske ćelije nalazi po pramen flagela to je polarni tip flagelacije nazvan amfitrichan. Na kraju postoji i tip flagelacije peritrichan kada se flagele nalaze ne više mesta po celoj površini bakterijske ćelije.

## Eukariotske flagele

Po mnogim svojim morfološkim i funkcionalnim karakteristikama flagele eukariotskih ćelija predstavljaju strukture koje su veoma slične cilijama. Arhitektura, sastav, mehanizam pokret i flagelogeneza eukariotske flagele fundamentalno se razlikuju od bakterijske. Analogno centriolama i cilijama i flagele eukariotskih ćelija pripadaju grupi viskospecijalizovanih nemembranskih organela, dok elementi od kojih su izgrađene pripadaju porodici citoskeletnih proteina. Osnovna karakteristika koja povezuje cilije i eukariotske flagele je aksonema, jer ona izgrađuje obe organele i u potpunosti im daje istu građu (9+2). Pored iste građe cilije i eukariotske flagele funkcionišu i stvaraju pokrete isto, pomoću klizeće sile dineina na mikrotubulama uz učešće molekula ATPa. Razlika između cilija i eukariotskih flagela je njihova dužina i broj, eukariotske flagele su duže od cilija, 10-200  $\mu\text{m}$  je dužina eukariotske flagele, dok je cilije svega 2-10  $\mu\text{m}$ . Međutim dijametar cilija i flagela je isti oko 0,25  $\mu\text{m}$ . Takođe, cilija ima više na jednoj ćeliji nego eukariotskih flagela, cilija često ima više od 100 dok flagela ima od jedne do nekoliko na jednoj ćeliji. Raznovrsnost proteinskih molekula eukariotskih flagela daleko je veća od bakterijske. Eukariotske flagele koriste silu klizanja dineina po mikrotubulama za svoje talasaste pokrete. Flagelogeneza kod bakterijskih ćelija zasniva se na samoorganizovanju bez centra i šeme organizovanja proteinskih filamenata, koji kasnije daju flagelu, dok je kod eukariotskih ćelija visokoorganizovana pomoću centriole, koja organizuje mikrotubule u flageli. Eukariotske flagela imaju svoja bazalna tela u citoplazmi odmah ispod ćelijske membrane, a nastaje od centriola.

Struktura flagele eukariotske ćelije ista je kao kod cilija: bazalno telo, prelazni region i telo flagele. Telo eukariotske flagele izgrađena je od devet dubleta mikrotubula međusobno povezanih oko dve pojedinačne mikrotubule u centru (9+2 strukture) i sve zajedno daje građu istu i karakterističnu za aksonemu cilija. Bazalno telo eukariotske flagele nalazi se neposredno ispod ćelijske membrane i povezano je sa citoplazmom ćelije [174]. Bazalno telo flagele ima ulogu organizacionog centra mikrotubula - aksoneme. Morfološka organizacija unutrašnjeg skeleta flagele obuhvata tri regiona analogna regionima cilije: bazalno telo, prelazni region i aksonema. Od svake spoljašnje mikrotubule A mikrotubulskog dubleta proteže se par dineinskih ručica ka susednoj mikrotubuli B. Ručice su odgovorne za proizvodnju sile koja vrši rotacione pokrete flagele tako što naizmenično i sinhrono vezuju i oslobađaju mikrotubule ispred sebe uz korišćenje energije ATP molekula. Pored ručica centralni deo aksoneme eukariotske flagele sadrži strukturu povezanih proteinskih filamenata u obliku točka takođe analognu aksonemi cilija [168, 170].



[174] Elektronmikrografija flagele spermatozoida

Ulogu u senzornim sposobnostima eukariotskih flagela kod grupe Hlamidomonas imaju proteini iz porodice IFT proteina (interflagelarni vezikularni transportni). Na molekularnom nivou IFT proteini se grupišu u tri osnovna kompleksa, IFT-A, IFT-B i BBCome, koji su izgrađeni od preko trideset različitih proteinskih molekula. Za pokretanje ovih proteinskih kompleksa, kao i za pokretanje samih flagela odgovorni su kinezin i dinein motorni proteini. Odnos između IFT proteina je osnova za vezikularni transport proteina flagela na centriole, što je osnova za senzornu aktivnost flagele. Kaskadni prenos signala preko IFT proteina flagela obezbeđuje ćeliji da brzo i veoma osetljivo reaguje na male promene u koncentracijama vanćelijske sredine.

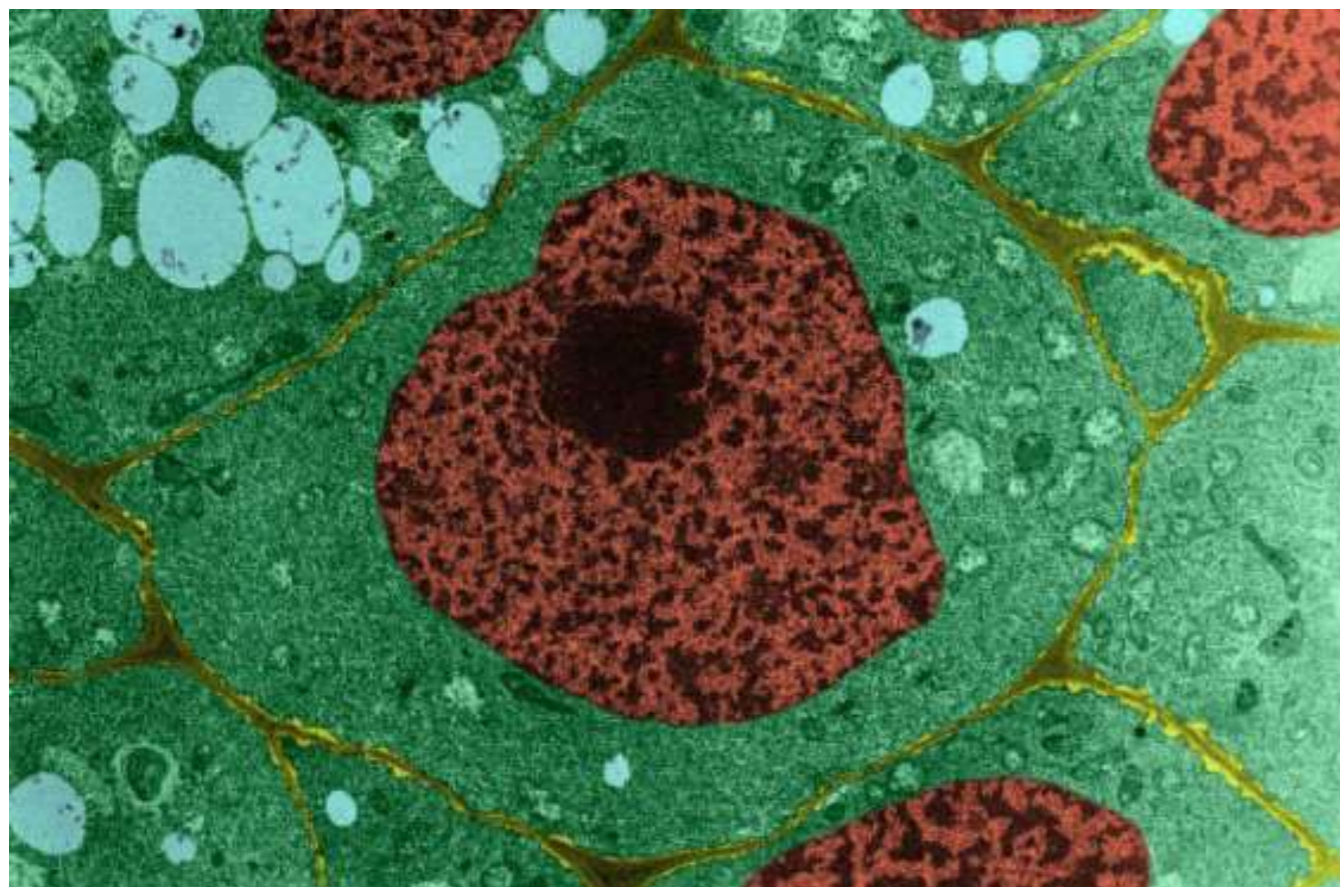
Interesantna je činjenica da sve flagele ćelija u prirodi nisu iste, postoje varijacije na arhitekturu aksoneme 9+2 tipa. Rep spermatozoida insekata često ima 9 dodatnih mikrotubula koje okružuju 9 dubleta i centralni par, što daje 9+9+2 tip aksoneme, dok rep spermatozoida pauka ima tri pojedinačne centralne mikrotubule, što daje 9+3 tip aksoneme. Ekstremi po tipu aksoneme su gameti nekih vrsta Protista kod kojih je ona građena od 6+0 ili 3+0 mikrotubula. Pokreti cilija i eukariotskih flagela veoma su slični iz razloga što im je i građa slična, uslovljeni su međusobnim klizanjem dubleta mikrotubula, podsećaju na pokrete vodenih talasa.

Određeni stepen morfološke sličnosti između aksonema cilija i flagela eukariotskih organizama sa flagelama jednoćelijskih prokariotskih organizama, kao i sličnosti u građi između centriola i bazalnih tela eukariotskih i prokariotskih flagela navela je naučnicu Lin Margulis da potkrepi svoju endosimbiotiku teoriju o postanku eukariotske ćelije. Ona je iznela hipotezu po kojoj bi cilije eukariotskih ćelija bile rezultat simbioze pokretnih bakterijskih ćelija koje poseduju flagelu i predačkih eukariotskih ćelija. Po istoj teoriji ovako absorbovani pokretni organizmi kasnije su učestvovali u obrazovanju mikrotubularne i centriolarne komponente citoskeleta današnje eukariotske ćelije.

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*

***Ako nemaš nejasnoća, onda pokšaj da šematizuješ flagelu Gram negativne bakterije u prostoru ispod.***





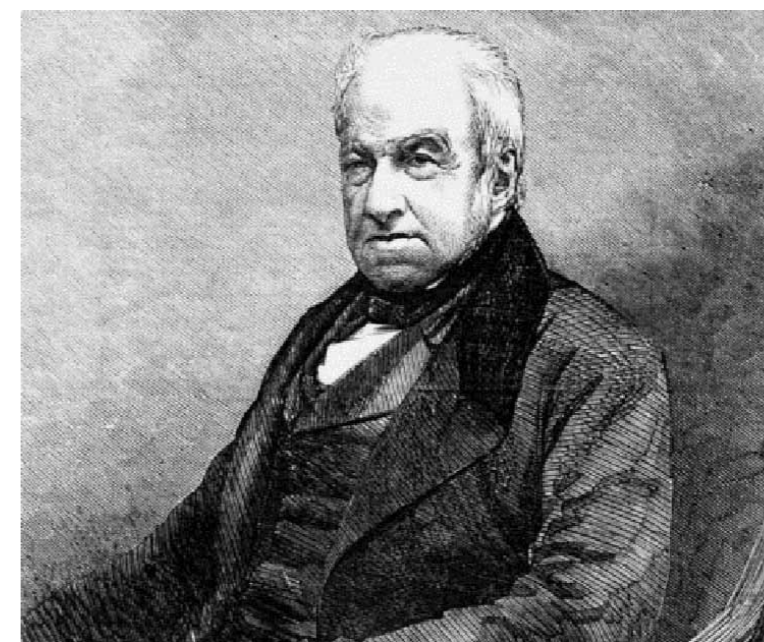
[175]

# NUKLEUS

Nukelusni omotač  
 nukleusna lamina  
 nukleusne pore  
 Nukleoplazma  
 Nukleoskelet  
 Nukleolus  
 Hromatin

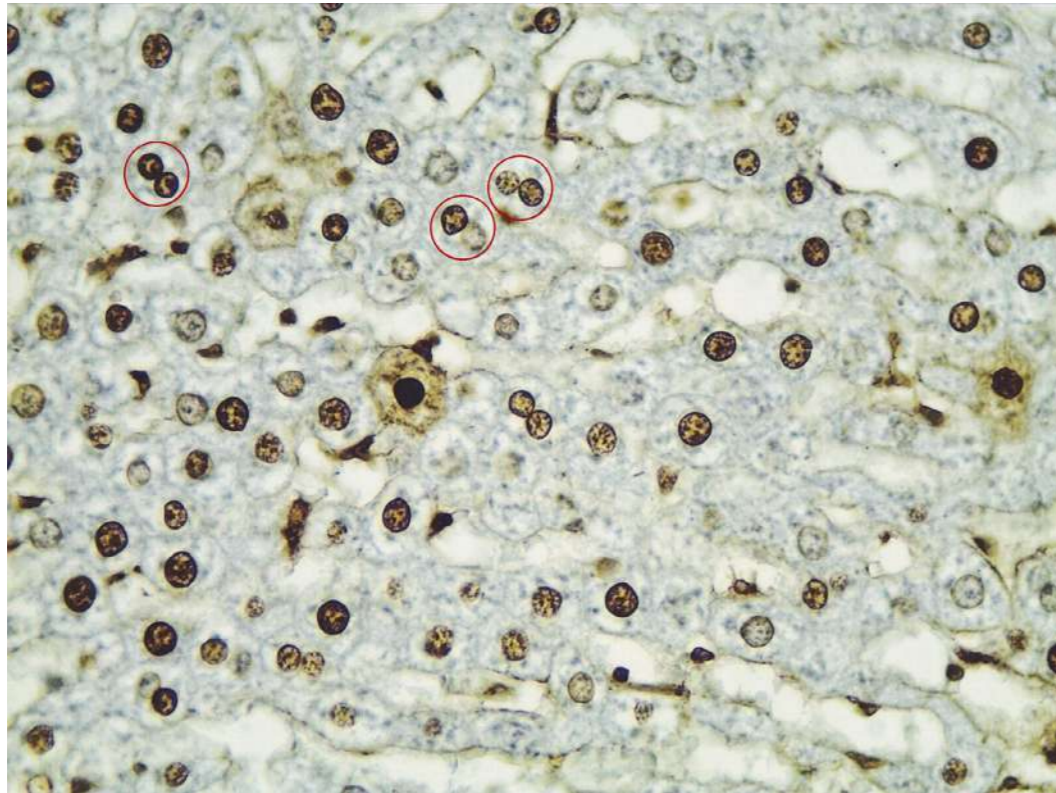
Kontrolni centar svake eukariotske ćelije iz koga potiču informacije o njenoj strukturi i funkciji naziva se jedro ili nukleus - reč poreklom od latinske reči *nucleus* = srž, jezgro. Već više od 330 godina jedro se definiše kao najuočljivija morfološka odlika svih eukariotskih ćelija i njegovo prisustvo odvaja eukariotske ćelije od prokariotskih koje ga nemaju [76,175]. U citoplazmi prokariotske ćelije nalazi se slobodan, bez membrane genetski materijal, nazvan nukleoid. Jedro eukariotske ćelije razdvaja u njoj dva funkcionalna prostora jedan - jedarni za čuvanje molekula genetskog materijala i drugi - citoplazmatični za ostvarivanje programa zapisanih na molekulima u jedru.

Davne 1682. godine holandski naučnik Antoni Phillips van Leeuwenhoek mikroskopirajući žive i nebojene ćelije krvi bakalara uočio je u njima okrugle strukture zaokružene jasnim prstenom. Kasnije na svojim crtežima on je ćelije predstavljao obavezno sa okruglom strukturom u centru. Mnogo godina kasnije 1832. godine naučnik Robert Brown [176] analizirajući crteže Antoni van Leeuwenhoek i mikroskopirajući i sam eukariotske ćelije opisao je detaljno i tačno okrugle strukture u njima i nazvao ih jedrima.



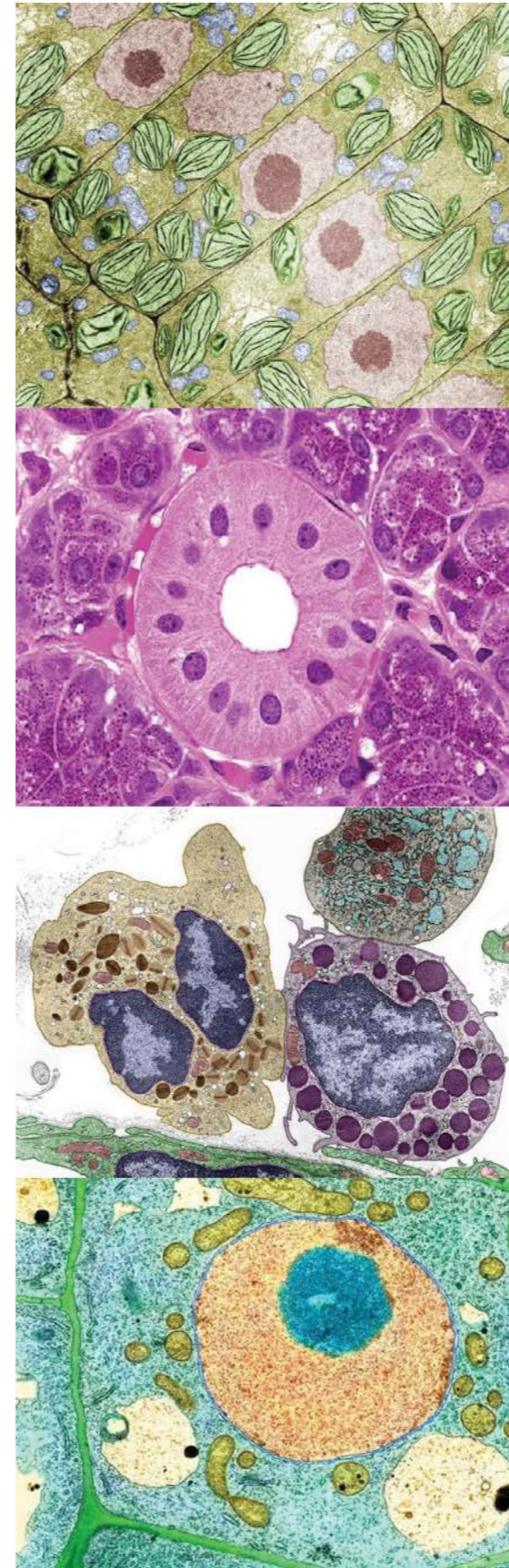
[176] Na slici je portret naučnika Roberta Brown, škotskog botaničara, pionira u mikroskopiranju i polinaciji. Robert Brown je prvi skovao termin "nukleus" po njegovoj centralnoj lokaciji u eukariotskoj ćeliji. Pored toga on je opisao morfologiju velikog broja biljnih vrsta na Australijskom kontinentu

U jedru se nalaze gotovo svi lanci DNK molekula koji ga nikada ne napuštaju, već svoju ulogu nosioca informacija ostvaruju posredstvom molekula RNK. Svi enzimi i veći deo strukturnih komponenti eukariotske ćelije su proteini, a informacije o njihovoj sintezi zapisane su na molekulima DNK, tako DNK molekuli direktno određuju građu i funkciju ćelije. Sinteza proteina odvija se u citoplazmi, a ne jedru. Jedro je od suštinskog značaja za održavanje ćelije u životu, za nesmetano i harmonično odvijanje svih životnih procesa u njoj. Eksperiment koji pokazuje vitalan značaj jedra za ćeliju dokazuje da ukoliko se ćelija u laboratorijskim uslovima veštački podeli na dva dela, tako da u jednom ostaje celo jedro, a u drugom ne ostane ni delić jedra, sudbina ova dva dela ćelije u potpunosti je drugačija bez obzira na identične i idealne uslove za njihovo gajenje. Naime, deo sa jedrom nastavlja normalno da funkcioniše (sintetiše proteine, raste, regeneriše se i kasnije deli) bez obzira što je izgubio veliki deo citoplazme i ćelijske membrane. On dostiže veličinu koja taj tip ćelije odlikuje i nadoknađuje izgubljenu citoplazmu sa organelama i ćelijsku membranu. Deo bez jedra živi samo kratko vreme bez obzira na sve uslove gajenja, prestaje da sintetiše proteine, ne raste, nikada ne nadoknađuje izgubljene organele i citoplazmu i na kraju umire.



[177] Mikrografija preseka jetre, zaokruženi hepatociti sa dva jedra (crveni krug)

Većina eukariotskih ćelija poseduje jedno jedro, mada postoje ćelije koje mogu imati po dva jedra kao što su hepatociti [177] ili kardiomiociti; ili ćelije sa više jedara kao što su osteoklasti ili skeletne mišićne ćelije. Broj, oblik, položaj i kontrastiranost hromatina u jedru svojstveni su za tip ćelije, stepen njene aktivnosti i funkcionalno stanje. Većinu potpuno diferenciranih ćelija odlikuje specifičan i stalan oblik jedra [178], kao i njegova veličina, što često nije pravilo sa nediferenciranim i mladim ćelijama. Veoma su retke ali ne i funkcionalno neznačajne eukariotske ćelije koje u svojoj visokodiferenciranoj formi ne sadrže jedro. U takvu kategoriju svrstavaju se: eritrociti svih sisara kod kojih zapreminu jedra zauzima molekul hemoglobina; keratinociti kod kojih se u toku diferencijacija rapidno smanjuje volumen ćelije; kao i ćelije ksilemskih provodnih sudova viših biljaka koje u diferenciranoj, zreloj formi ne poseduju ne samo jedro nego ni citoplazmu, kako bi što više ustupile svoju zapreminu prostoru za protok vode i neorganskih materija kroz biljno tkivo. Bezjedarne eukariotske ćelije u toku svoje diferencijacije kako bi stekle oblik maksimalno prilagodjen svojoj svrsi gube jedro, jer činjenica je da one nastaju deobom ćelija koje poseduju jedro i nakon deobe ga imaju. Ćelijski prostor kod bezjedarnih ćelija prilagođen je maksimalno ulozi koju one obavljaju u tkivu koje grade i funkciji koju imaju. Kao što je rečeno u većini eukariotskih ćelija prisutno je bar jedno jedro koje se razlikuje po svom obliku u zavisnosti od tipa ćelije. Ćelije kockastog epitela imaju okrugla jedra, u cilindričnom epitelu su jajolika, u endotelu diskoidalna, u skeletnim mišićnim ćelijama izdužena, u monocitima bubrežasta, u granulocitima reznjevita, u megakariocitima oblika kupine, u glatkim mišićnim vretenasta, a u biljnim parenhimskim ćelijama ovalna. Neaktivne ćelije imaju jedra sa glatkom površinom, dok aktivne povećavaju svoju površinu formiranjem brojnih udubljenja i izbočenja. Pored toga jedra pojedinih ćelija mogu da menjaju svoj oblik u zavisnosti od promene oblika samih ćelija, tako se menja oblik jedra u ćelijama glatke muskulature u zavisnosti da li ona vrši kontrakciju ili ne; ili u limfocitu kada se on provlači između dve epitelne ćelije.



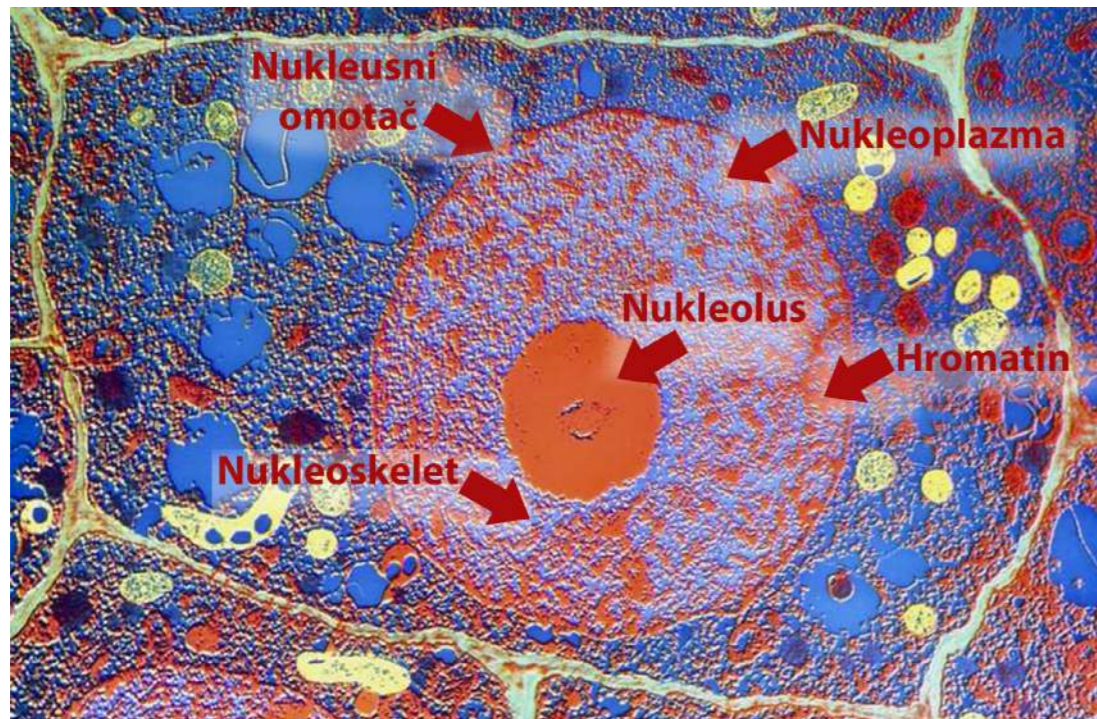
Visoka koncentracija DNK i RNK molekula daje jedru intenzivnu obojenost baznim bojama pri standardnom histološkom bojenju ćelija, pa se zato za jedro kaže da je bazofilno. Na nivo obojenosti jedra najviše utiče nivo angažovanja ćelije u sintezi proteina, sintetski aktivne ćelije imaju svetlo jedro jer su im DNK molekuli dekoncentrovani, dok sintetski neaktivne ćelije imaju tamna jedra jer su im DNK molekuli kondenzovani pa samim tim i gušće napakovani. Jedra istog oblika i istog tipa ćelija mogu da se razlikuju po stepenu obojenosti hromatinskog materijala, neka sadrže više tamno obojenih regiona, a manje svetlo obojenih, dok druga jedra sadrže mnogo više svetlije obojenih regiona i veoma malo tamno obojenih. Razlog za ovo je sintetska aktivnost i trenutni metabolizam ćelije.

Dijametar jedra je od 5-10  $\mu\text{m}$  i uglavnom varira u skladu sa stepenom aktivnosti ćelije, tako krupne epidermske ćelije lista imaju veoma sitna jedra, dok sitni limfociti imaju veoma krupna jedra u odnosu na svoju veličinu. Veličina jedra tako nije u korelaciji sa veličinom ćelije već sa njenom metaboličkom aktivnošću.

Odnos volumena jedra prema volumenu citolazme određenog tipa ćelije označava se kao nukleocitoplazmatski odnos (NCO) i on predstavlja fiziološku aktivnost ćelije i metaboličku aktivnost njenog hromatina. Što je vrednost ovog odnosa veća to je znak da je ćelija metabolički aktivnija i obrnuto. Ne postoji standard za NCO, ali se odnos od 1:5 do 1:4 smatra za normalno stanje metabolizma i fizioloških procesa ćelije. Takođe, NCO ukazuje i na zrelost ćelije, kako ćelija sazreva veličina njenog jedra se smanjuje. Primer za ovo smanjenje jedra i NCO su mladi oblici leukocita i trombocita čiji je NCO 4:1. Vremenom kako nabrojane ćelije sazrevaju i stare smanjuje im se veličina jedra a NCO pada na 1:1. Izgled jedra, dinamične ćelijske komponente, zavisi i od faze ćelijskog ciklusa u kojem se ona nalazi. Interfazno jedro izgrađeno je od nukleusnog omotača, nukleoplazme, nukleoskeleta, jednog ili više nukleolusa i hromatina [179]. U toku mitoze ćelijskog ciklusa jedro u potpunosti menja izgled, ono se dezintegriše, iscezavaju jedarce, nukleusni omotač i nukleoskelet, dok hromatin menja svoju formu, kondenzuje se u hromosome.

[178] Elektronmikrografije i mikrografija različitih oblika jedra

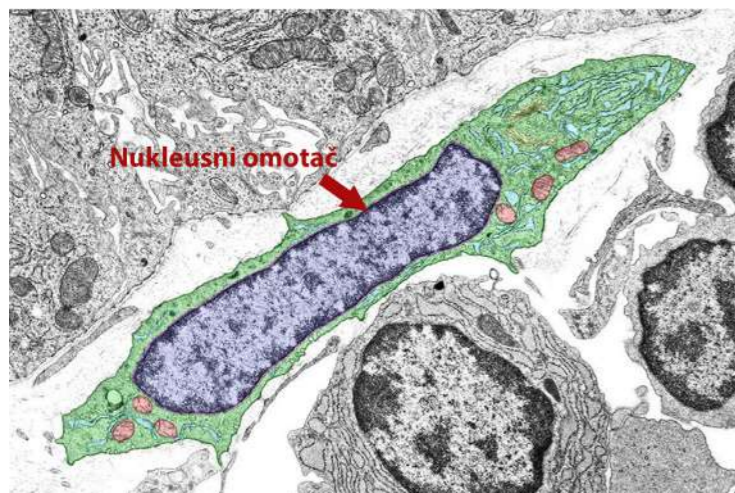
- uoč i strelicama obeleži jedra u ćelijama -



[179] Komponente interfaznog jezra (nukleoskelet se ne vidi na slici, strelica pokazuje njegovu lokaciju)

### NUKLEUSNI OMOTAČ

Membrana koja ograničava jedro od citoplazme je nukleusni omotač ili nukleusni ovoj [180]. To su strukture koje prostorno ali ne i funkcionalno razdvajaju unutrašnjost jezra od ostalih komponenti ćelije. Budući da se nalazi na granici dveju sredina nukleusni omotač odvaja prostorno nezavisne i povezuje prostorno zavisne procese koji se odvijaju u jedru i citoplazmi. U jedru se odvija proces prepisivanja informacija sa molekula DNK na molekule RNK i sazrevanje molekula RNK, dok se proces prevođenja prepisanih informacija sa molekula RNK u molekule proteina odvija u citoplazmi. Tako su ova dva procesa prostorno razdvojena i funkcionalno različita i nezavisna, međutim oni zajedno i neodvojivo čine proces sinteze proteina u eukariotskoj ćeliji. Uloga nukleusnog omotača jeste razdvajanje dve sredine unutar eukariotske ćelije, ali i stvaranje jedinstvene strukturne i funkcionalne komunikacije između njih. Nukleusni omotač obrazuju dve membrane - spoljašnja i unutrašnja membrana nukleusnog omotača, između



[180] Nukleusni omotač na elektronmikrografiji fibroblasta

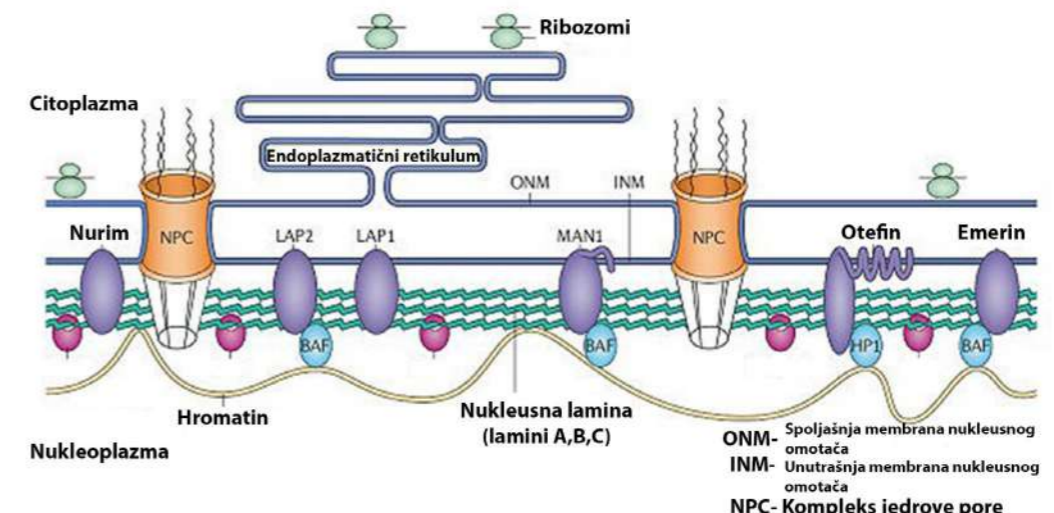
kod kojih se nalazi lumen - perinukleusni prostor tj. perinukleusna cisterna. Morfološkoj i funkcionalnoj složenosti nukleusnog omotača doprinose nukleusna lamina ali i nukleusne pore koje svojim prisustvom prekidaju perinukleusnu cisternu i istovremeno obezbeđuju komunikaciju između nukleoplazme i citoplazme. Membrane nukleusnog omotača pripadaju biomembranama izgrađenim od dvosloja lipida, proteina i polisaharida, univerzalne fluidno-mozične i asimetrične su građe.

Debljina biomembrana nukleusnog omotača je između 7 i 10 nm, zbog različitog sastava proteina u sebi, a ograničavaju prostor peri-

nukleusne cisterne širine 20-40 nm. Obe membrane nukleusnog omotača odlikuje prisustvo velikog broja proteinskih kanala za prolaz jona i prisustvo proteina receptora. Nukleusni omotač povezan je sa proteinskim komponentama ćelijskog skeleta kao što su aktinski u citoplazmi i intermedijerni filamenti u nukleoplazmi. Oni određuju položaj jezra i oblik u ćeliji i usmeravaju kretanje molekula prema jedru i u njegovoj unutrašnjosti. Veza između citoplazme i nukleoplazme prisna je tako da postoje filamentozne komponente ćelijskog skeleta koje prolaze kroz nukleusne pore i ulaze u unutrašnjost jezra.

Spoljašnja membrana nukleusnog omotača u kontinuitetu je sa membranama granuliranog endoplazmatičnog retikuluma, dok je perinukleusna cisterna u kontinuitetu sa njegovom cisternom [181]. Citoplazmatična površina spoljašnje membrane nukleusnog omotača ima na sebi pričvršćene ribosome koji sintetišu polipeptidne lance i ubacuju ih u perinukleusnu cisternu. Tako je spoljašnja membrana nukleusnog omotača morfološki i funkcionalno istovremeno barijerni deo nukleusnog omotača i deo granuliranog endoplazmatičnog retikuluma uključenog u sintezu proteina. Dokaz za njenu sintetsku sposobnost je prisustvo kompleksa proteina: citohroma b5, P450 kao i kalcijum-magnezijum zavisne ATPaze u njenom dvosloju.

Unutrašnja membrana nukleusnog omotača povezana je sa nukleusnom laminom, dok je za integralne proteine unutrašnje membrane pričvršćen periferni hromatin. Na elektronmikrografijama izgleda da su unutrašnja i spoljašnja nukleusna membrana iste, međutim one se razlikuju po mnogim odlikama. Za nukleoplazminu površinu unutrašnje membrane nukleusnog omotača nikada se ne vezuju ribozomi već na nju naleže nukleusna lamina. Takođe, mnogi tipovi transmembranskih proteina unutrašnje membrane nukleusnog omotača pokazuju veliku specifičnost i ne postoje u građi spoljašnje membrane. Neki od tih proteina su lamina receptorski proteini, kao što je lamin B receptor (LBR); ili lamina pridruženi proteini, kao što su LAP1 i LAP2, emerina, otefin i nurim koji učestvuju u pričvršćivanju hromatinskog materijala i nukleusne lamine za nukleusni omotač [181]. Protein LBR koji ima značajnu ulogu u organizovanju i održavanju nukleusne lamine u interfaznom jedru je evolutivno konzervativan protein i u neizmenjenoj formi postoji kod svih vrsta kičmenjaka. Unutrašnja membrana nukleusnog omotača predstavlja dinamičnu strukturu koja prati, omogućava i štiti procese koji se odvijaju u jedru. Površina ove membrane se uvećava ako su procesi u jedru aktivniji, tako što njen region ispod nukleusnih pora obrazuje duboke cevovolike uvrate usmerene prema unutrašnjosti jezra. Na taj način uvećana površina nukleusnog omotača omogućava intenzivniju razmenu molekula između jezra i citoplazme. Cevovolike uvrati nukleusnog omotača su dinamične i promenljive strukture tako da njihov broj i morfološka složenost variraju u zavisnosti od stepena metabolizma i faze ćelijskog ciklusa u kojoj se ćelija nalazi.



[181] Sema nukleusnog omotača, proteini nukleusnog omotača (nurim, LAP2, LAP1, MAN1, otefin i emerina) i kompleks nukleusne pore

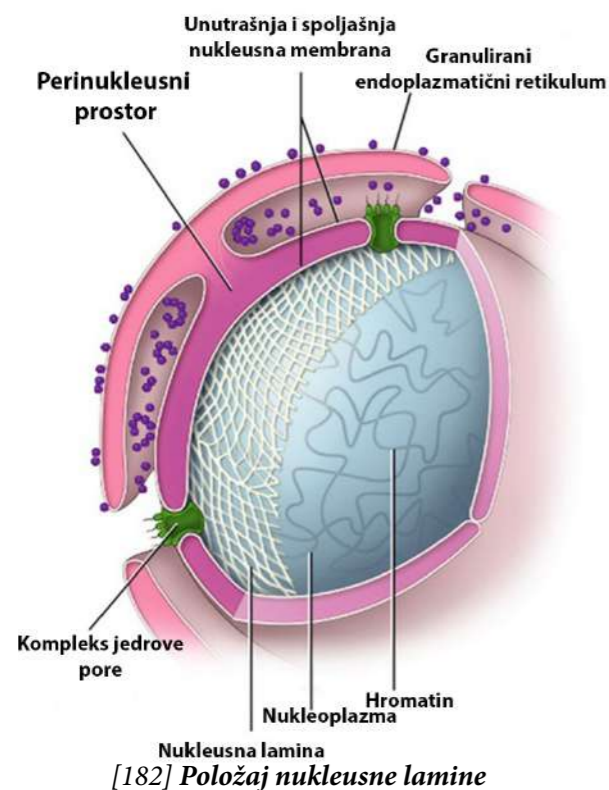
Perinukleusna cisterna je u isto vreme u kontaktu sa nukleoplazmom preko integralnih proteina unutrašnje membrane; i sa citoplazmom preko unutrašnje sredine cisterni granularanog endoplazmatskog retikuluma, posredstvom integralnih proteina spoljašnje membrane nukleusnog omotača. Postoje proteini unutrašnje i spoljašnje membrane nukleusnog omotača koji povezuju nukleus i citoplazmu kroz nukleusni omotač. Takođe, citoskelet citoplazme je preko nukleusnog omotača povezan sa nukleusnom laminom ili hromatinom posredstvom SUN i KASH proteina. Ovi proteini omogućavaju protok kalcijumovih jona koji su neophodni za rekonstrukciju nukleusnog omotača na kraju ćelijske deobe; za održavanje potrebne količine molekula ATPa potrebnih za sve procese u jedru i za protok anjona i katjona neophodnih u procesima razmene molekula između jedra i citoplazme.

### Nukleusna lamina

Tanka proteinska struktura koja naleže na površinu unutrašnje membrane nukleusnog omotača do nukleoplazme je nukleusna lamina [182]. Njena debljina varira zavisno od vrste ćelije i vrste organizama, tako u jedrima ćelija viših kičmenjaka ona se kreće između 10 i 20 nm, dok je u jedrima mnogih ćelija beskičmenjaka i nekih kičmenjaka mnogo deblja, čak 100 nm. U jedrima svih ćelija nukleusna lamina se ne nalazi u oblasti nukleusnih pora. Nukleusna lamina je struktura u obliku mreže sa četvorougaoanim okcima veličine između 10 - 50 nm i u ćelijama životinja, formiraju je proteini iz porodice lamina (lamin A, lamin B i lamin C). Lamini su isti kao i svi drugi citoplazmatski proteini koji obrazuju intermedijarne filamente, tako što se prvo udružuju u dimere a potom grade protofilamente prečnika 10 nm, koji na površini unutrašnje membrane nukleusnog omotača organizuju mrežu. Lamini se sintetišu u citoplazmi ćelije na ribozomima gde vezuju za sebe određen signalni niz aminokiselina uz pomoć kojeg ih importini iz citoplazme transportuju preko nukleusnih pora u nukleus. U jedru lamini učestvuju u izgradnji protofilamenata mreže nukleusne lamine ali i vlaknastih i mrežastih struktura koje fiksiraju položaj jedarca i ribonukleoproteinskih struktura. Među svim molekulima proteina koji učestvuju u obrazovanju intermedijarnih filamenata lamini su evolutivno jedni od najstariji i prvi se pojavljuju u toku embrionalnog

razvoja sisara. Nukleusni lamini značajni su za prostornu organizaciju komponenti nukleoplazme i za uspostavljanje njihovih kontakata sa citoplazmom. Svaki interfazni hromozom povezan je sa unutrašnjom membranom nukleusnog omotača posredstvom nukleusne lamine. Interakcija između hromozoma i lamine ima centralnu ulogu u njihovom prostornom organizovanju unutar nukleoplazme. Nukleusni lamini su vezani preko LB receptora prisutnim u unutrašnjoj membrani nukleusnog omotača za nju.

Nukleusna lamina utiče na ekspresiju gena u interfazi, dezorganizovanje i ponovo organizovanje nukleusnog omotača i nukleusnih pora tokom ćelijske deobe. Nukleusni lamini imaju aktivnu ulogu u inicijaciji apoptoze i tako imaju vitalnu ulogu u preživljavanju ćelije. U toku kariokineze ćelijske deobe, proteini lamini ispoljavaju osobinu koja ih razlikuje od ostalih proteina koji formiraju intermedijarne filamente citoskeleta. Kariokineza podrazumeva dezorganizovanje nukleusnog omotača, tada se lamini prvo fosforilišu pa tek onda raspliću iz laminske mreže i dolazi do odvajanja lamina A i C iz nje, dok lamin B ostaje vezan za nukleoplazminu stranu unutrašnje membrane

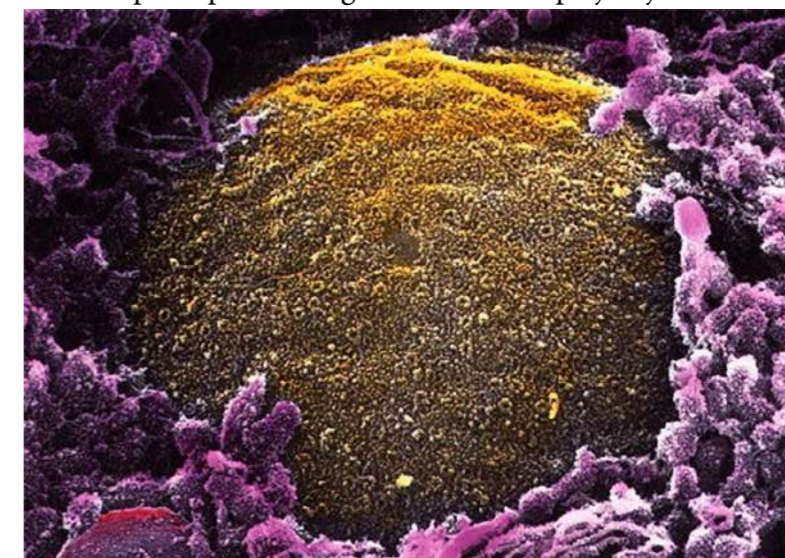


nukleusnog omotača. Kasnije u formiranju nukleusnih omotača za ćerke ćelije lamini se defosforilišu i tako ponovo organizuju u visokoređene proteine mreže nukleusne lamine. Ostali molekuli proteina intermedijarnih filamenata citoskeleta ne fosforilišu se pre svoje despiralizacije iz filamenata ili mreža. Dinamičnost nukleusne lamine ogleda se i tokom interfaze ćelijskog ciklusa neposredno nakon mitoze, kada jedro raste, organizuje se u njemu hromatin i reguliše se aktivnost gena. Lamini A, B i C nalaze se u stanju dinamičke ravnoteže tako što postoji na površini nukleusne lamine neprestana razmena njihovih solubilnih i polimerizovanih molekula. Molekuli proteina lamina A i C tipa prisutni su i izvan mreže nukleusne lamine, ima ih u unutrašnjosti nukleusa u kojoj formiraju laminski jedarni skelet koji doprinosi regulaciji geneske aktivnosti na euhromatinu. Protein plektin iz porodice proteina pridruženih intermedijarnim filamentima citoskeleta posredno se vezuje za nukleusnu laminu.

### Nukleusne pore

Nukleusne pore perforiraju nukleusni omotač i obezbeđuju stalnu i selektivnu komunikaciju između citoplazme i nukleoplazme [183]. Nukleusne pore predstavljaju morfološki i funkcionalni most koji omogućava da joni i mali molekuli, makromolekuli poput proteina i ribonukleoproteina, kao i makromolekulski kompleksi poput ribozomskih podjedinica u jedro uđu i iz jedra izađu. Preko nukleusnih pora iz citoplazme u jedro ulaze joni i mali biomolekuli od kojih su najzastupljeniji proteini: histoni, DNK- i RNK-polimeraze, regulatori aktivnosti gena, regulatori maturacije RNK ili steroidni receptori. Jedro napuštaju i u citoplazmu ulaze preko nukleusnih pora molekuli: iRNK, tRNK i ribonukleoproteinski kompleksi, podjedinice ribozoma. Broj nukleusnih pora po jedinici površine nukleusnog omotača predstavlja jednu od mera aktivnosti jedra i čitave ćelije. Budući da su nukleusne pore dinamične a ne rigidne strukture njihov broj zavisi i od stepena aktivnosti ćelije i funkcionalnosti citoskeleta. Na primer one zauzimaju samo 1,4% površine nukleusnog omotača u sintetski neaktivnoj fazi jedra hepatocita, dok u vreme njihove najveće aktivnosti one čine do 25% površine nukleusnog omotača.

Nukleusne pore su izgrađene od kompleksa transmembranskih proteina, ugrađenih u nukleusni omotač i koji se svi zajedno nazivaju kompleksom nukleusne pore (KNP). Komponentu pore u membrani nukleusa gradi cilindrični kompleks proteina ugrađen između spoljašnje i unutrašnje membrane nukle-

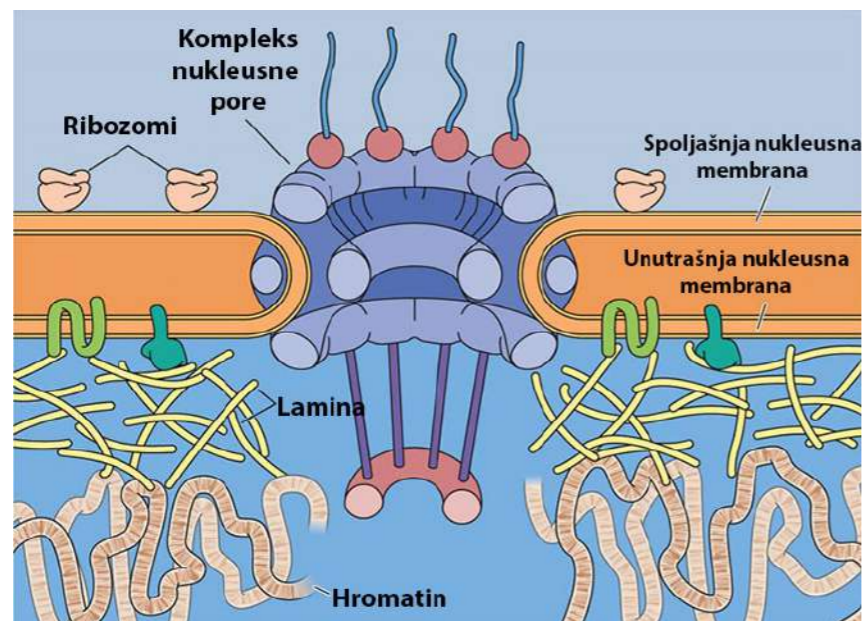


[183] Skening elektronmikrografija nukleusnih pora

usnog omotača i koji je povezan sa njima. U šupljinu formiranog cilindra smešten je KNP u obliku supramolekulskog kompleksa koji sadrži oko 1000 molekula proteina iz 30 različitih proteinskih tipova. Morfološki nukleusne pore predstavljaju globularno-fibrilarni kompleks visoko konzervativne arhitekture,



jer njene komponente i njihov međusobni odnos odlikuju nukleusne pore kako ćelija kvasca tako i ćelija sisara. KNP sadrži dva prstena izgrađena od međusobno povezanih globularnih proteinskih molekula, nukleoporina; jedan prsten je okrenut ka nukleoplazmi, a drugi koji je okrenut ka citoplazmi, pa se tako i nazivaju citoplazmatični i nukleoplazmatični prsteni [184].

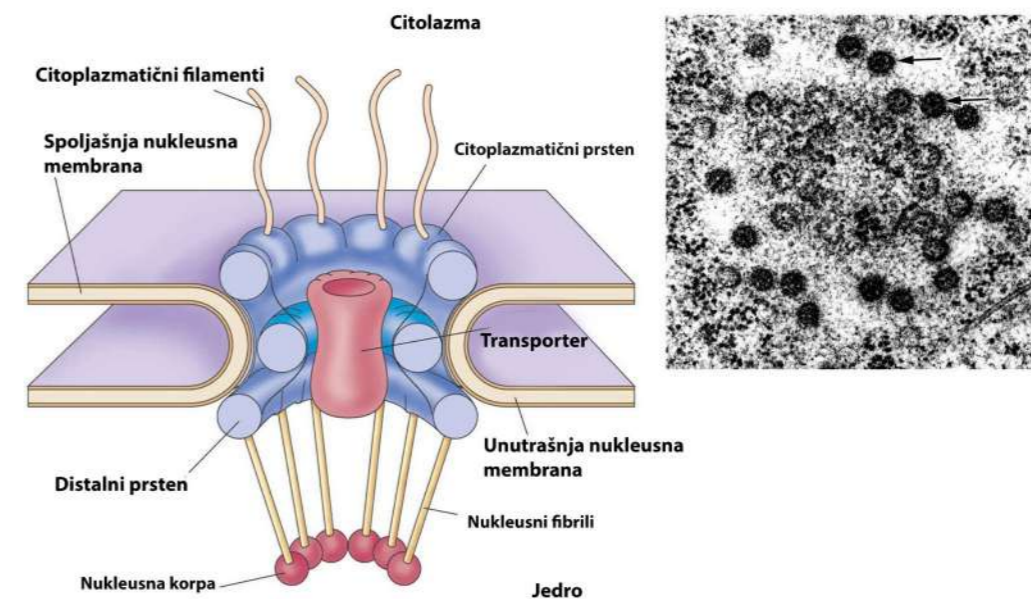


[184] Šematski prikaz položaja nukleusne pore

Prsteni su postavljeni u bazi i na vrhu cilindričnog kompleksa proteina koji obrazuju zidove pore i tako KNP najviše podseća na košarkašku mrežicu. KNP je osmozračno radijalno simetričan budući da je svaki od prstenova izgrađen od po osam globularnih nukleoporina. Citoplazmatični prsten koji se izdiže nad površinom spoljašnje membrane nukleusnog omotača nešto je veći od nukleoplazmatičnog iz razloga što su njegovi globularni nukleoporini veći. Osmostruka i dvostruka transverzalna simetrija objašnjava kako je tako velika struktura KNP formirana od samo 30 različitih proteina jer su mnogi nukleoporini prisutni u 8, 16 ili 32 kopije. Na osnovu njihove lokacije nukleoporini se klasifikuju na: nukleoporine transmembranskog prstena koji obuhvataju nukleusni omotač i učvršćuju KNP; nukleoporine koji formiraju prstenaste strukture, neki od njih imaju mogućnost savijanja kako bi stabilizovali oštru zakrivljenost nukleusnog omotača; i nukleoporine kanala koji povezuju centralni prostor pore. Paralelno između prstenova, središte cilindričnog kompleksa proteina KNP ispunjeno je zamršenom mrežom neuređenih domena polipeptidnih lanaca koji blokiraju pasivnu difuziju velikih makromolekula. Ovi polipeptidni lanci formiraju fibrile koji izlaze na citoplazmatičnu i nukleusnu strane KNP. Detaljnija ispitivanja strukture KNP zasnovanih na različitim metodama za pripremu preseka nukleusnog omotača za TEM mikroskopiju, koji omogućavaju posmatranje njenog reljefa u različitim nivoima, pokazala su da je zamršena mreža polipeptida u središtu cilindra KNP veoma složene građe.

Kao što je rečeno pored globularnih komponenti, nukleoporina, kompleks nuklearne pore grade i vlaknaste komponente, to su fibrilarni proteinski polimeri. Fibrilarne komponente polaze pored nukleoporina citoplazmatičnog prstena i upravljene su prema citoplazmi kao i pored nukleoplazmatičnog prstena gde su upravljene prema nukleoplazmi. Znači, pored svakog nukleoporina citoplazmatičnog prstena polazi po jedan citoplazmatični fibril, usmeren je prema citoplazmi, kratak je i slobodan. Analogno njemu, pored svakog nukleoporina nukleoplazmatičnog prstena polazi po jedan nukleoplazmatični fibril, upravljen je u nukleoplazmu, dugačak je i nije slobodan. Naime svih osam nukleoplazmatičnih fibrila povezani su prstenolikom strukturom - distalnim prstenom i zajedno formiraju korpu. Bilateralna nesimetričnost

KNP ogleda se u odnosu na nejednake dužine i arhitekturu njenih filbrila. Korpa KNP se ugrađuje i povezuje sa nukleusnom laminom i tako ima strukturnu ulogu jer učestvuje u izgradnji ukupne nukleusne lamine; i ima transportnu ulogu jer učestvuje u transportu struktura u i iz jedra [185]. Precizna raspodela pojedinačnih nukleoporina koji formiraju KNP još uvek je predmet intenzivne debate među naučnicima jer je tačnost podataka zasnovana na osetljivosti primenjene eksperimentalne metode. Metoda koja se koristi u analizi KNP-a je detaljno prečišćavanje nukleusnih omotača i izdvajanje KNP iz njih kako bi se one što bolje analizirale, međutim, ovaj postupak je veoma težak jer ostaje mnogo materijala u izolatu koji nije deo KNP. Tako su naučnici dugo smatrali da je zamršena mreža u KNP samo prostor u nukleusnoj pori u kojem se nalaze konstituenti nukleoplazme ili citoplazme, da su to bile prolazne i trenutne strukture, slučajno uhvaćene elektronskom mikroskopijom ili imunocitohemijskim bojenjem. Međutim, danas se sa sigurnošću zna da je zamršena mreža neuređenih domena polipeptidnih lanaca u KNP-e, jedan veoma komplikovan kompleks proteina koji je strukturne a ne privremene i slučajne prirode. Zato je naziv trenutne strukture zamenjen nazivom centralni prenosni sistem ili transporter. Danas se zna da ovaj kompleks sličan jonskim kanalima, može da reguliše svoj dijametar i može se po potrebi otvarati i zatvarati. U procesu rada transportera najznačajniju ulogu ima nukleusni prsten koji reguliše ulazak proteina u jedro ili izlazak RNK iz njega. Nukleusni prsten izgrađen je uglavnom od nukleoporina nazvanog Nup 153 i prsten funkcioniše slično dijafragmi koja se otvara pri povećanoj, a zatvara pri smanjenoj koncentraciji jona kalcijuma. Proteini koji učestvuju u izgradnji KNP nazvani su nukleoporini - Nup i pored izgradnje KNP-a učestvuju i u nukleocitoplazmatičnom transportu. Postoji veliki broj tipova različitih Nup: filamente prema citoplazmi gradi Nup 358, citoplazmatični prsten Nup 180, nukleoplazmatični prsten Nup 155, nukleoplazmatične filamente odlikuju dva nukleoporina: Nup 96 i Nup 107, dok Nup 153 obrazuje distalni prsten.

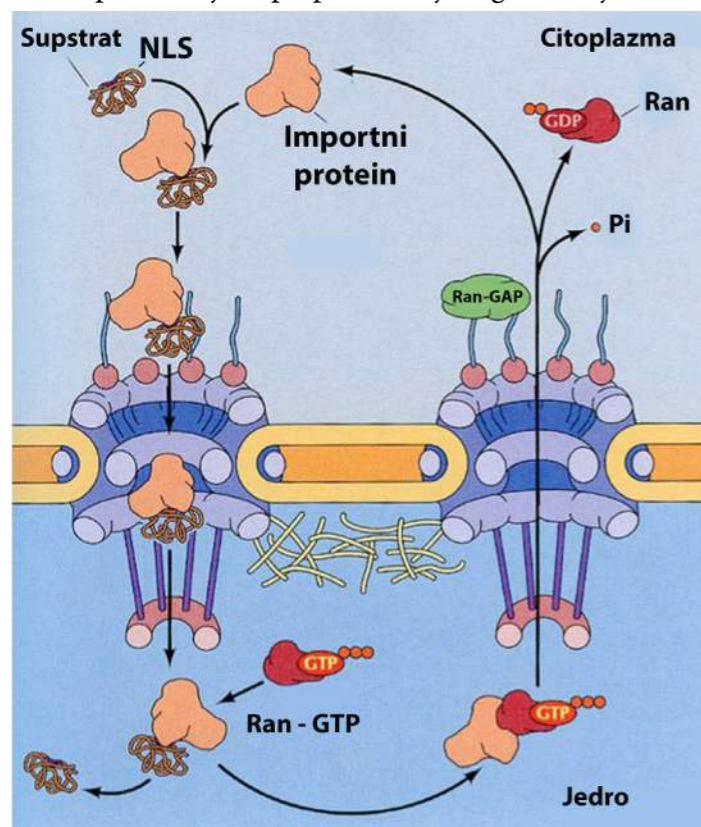


[185] Građa kompleksa nukleusne pore (levo), elektronmikrografija nukleusnih pora (strelice) na nukleusnom omotaču (desno)

Preko nukleusnih pora transportuju se molekuli različite veličine i građe u suprotnim smerovima pa je zato razmena kroz nukleusne pore asimetrična. Stanje da nosintetisani proteini prelaze iz citoplazme u jedro, a da se ribonukleoproteini premeštaju u suprotnom smeru održivo je na osnovu velike selektivnosti nukleusne pore. Ona određuje šta i pod kojim uslovima može da savlada barijeru koju formiraju komponente kompleksa nukleusne pore. Transporti u jedro odnosno iz jedra su visokoregulisani i veoma brzi procesi koji podrazumevaju često i odgovarajuću modifikaciju biomakromolekula koji se transportu-

ju. Prema jednom modelu prenosa: molekuli se jednostavno i neprekidno, slično šatl sistemu biomembrana, premeštaju iz citoplazme u jedro, jedino što može da ih spreči u prenosu je njihova eventualna fosforilacija posle koje njihov transport više nije moguć jer ih KNP ne prepoznaje. Međutim, postoje proteini i molekuli RNK koji moraju da se fosforiluju da bi se prebacili preko nukleusne pore jer u suprotnom kada fosforilacija izostaje, izostaje i prenos. Drugi model opisuje slučaj kada biomakromolekuli trpe modifikaciju svoje strukture nakon čega su prisutani u dve forme; jednoj koju prepoznaje sistem KNP i omogućava njihov ulazak u jedro iz citoplazme i drugoj koju prepoznaje sistem koji omogućava njihov izlazak iz jedra u citoplazmu. Na ovaj način se u jedro unose i iz jedra izlaze signalni molekuli i faktori transkripcije DNK molekula. Prema trećem modelu transportuju se biomakromolekuli koji su udruženi sa nekom stabilnom strukturom citoplazme ili nukleoplazme, tada je prvo neophodna modifikacija stabilne strukture kako bi se biomakromolekul razdvojio od nje i tek onda transportovao. Transport iz nukleoplazme u citoplazmu zavistan je i od molekula GTPa, ATPa i jona kalcijuma. ATP molekuli utiču na veličinu i oblik nukleusne pore, dok je distalni prsten KNP osetljiv na jone kalcijuma i molekule GTPa.

Specijalna vrsta nukleusnih pora formiraju rigidne kanale kroz koje se odvijaju veoma brzi nukleocitoplazmatični transporti pasivnom difuzijom malih molekula, to su transporti u oba smera, iz jedra u citoplazmu i obrnuto, kada kroz jednu poru u jednoj sekundi prođe više stotina molekula. Kroz slične proteinske kanale nukleusnih pora krupni molekuli prolaze zahvaljujući prilagođenom aktivnom transportu, koji se suštinski razlikuje od aktivnog transporta na transmembranskim proteinima biomembrana. Aktivni transport koji omogućava kretanje krupnih proteinskih molekula, makromolekula, različitih RNK, ribonukleoproteinskih čestica, histona i ribozomskih podjedinica, zasnovan je na postojanju transporter-  
skih proteina i veoma je selektivan proces. Transporterski proteini nalaze se u citoplazmi ili nukleoplazmi i posreduju u kretanju proteina i RNK između citoplazme i jedra, kroz nukleusne pore. Uloga transporter-  
skih proteina je u prepoznavanju signala koji određuju lokaciju molekula proteina koji se prenosi od



početka do kraja kretanja i obezbeđuju energiju u obliku molekula GTP za sve faze procesa transporta u kojima je to potrebno.

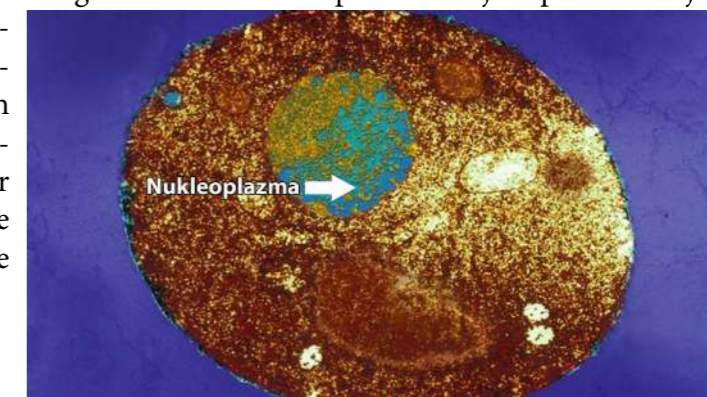
Transporterski proteini specifično i privremeno se vezuju za nukleoporine KNP a ima ih dve porodice: importini koji transportuju supstrat u jedro i eksportini koji transportuju supstrat iz jedra [186]. Pošto nukleoporini ugrađuju za sebe transporterske proteine i stupaju sa njima u interakciju znači da nukleoporini nisu samo strukturni već i funkcionalni proteini koji učestvuju u nukleocitoplazmatičnom transportu. Importni proteini u citoplazmi vezuju se za nukleus lokalizujuću sekvencu - NLS, na supstratu koji treba da se unese u nukleus, dok se u jedru eksportni proteini vezuju za nukleus eksportnu sekvencu - NES na supstratu koji treba da izađe iz nukleusa. Energija za usmereni transport kroz nukleusne pore obezbeđuje se iz koncentracionog gradijenta dve konformacione forme Ran-a: Ran-GTP-a i Ran-GDP-a. Kroz jednu nukleusnu poru u isto

vreme se odvija transport u oba smera: import iz citoplazme u jedro, pomoću importina tj. importnih proteina i eksport iz jedra u citoplazmu, pomoću eksportina tj. eksportnih proteina.

**1. Importni** imaju dva regiona:  $\alpha$  i  $\beta$ , za  $\alpha$  region vezuje se NLS protein, koji za sebe vezuje protein koji će se transportovati iz citoplazme u nukleoplazmu, dok  $\beta$  region za sebe vezuje molekul GDP. Ceo ovaj kompleks vezuje se za nukleoporin KNP i prolazi kroz njega u nukleoplazmu, gde se protein koji je transportovan odvaja od NLS proteina i ostaje u nukleoplazmi. GDP molekul kompleksa uz pomoć proteina GFP (nukleusni guanin faktor promene) i Ran gradijenta prelazi u GTP oblik i zatim se ceo kompleks vraća iz nukleoplazme kroz jedrovu poru u citoplazmu. U citoplazmi transportni kompleks se raspada na pojedinačne molekule koji nastavljaju da obavljaju svoje funkcije pojedinačno: importin čeka signal sa signalnog molekula NLSa da veže za sebe sledeći protein koji će da transportuje; NLS lokalizuje protein za transport; a molekul GTPa ponovo prelazi u GDP oblik uz pomoć GAP molekula uz izdvajanje jedne fosforne grupe i pomoću Ran gradijenta. Ran gradijent dobio je ime po malom Ran proteinu koji povezuje za sebe GDP molekule i prevodi ih u GTP stanje. GDP molekuli se nalaze u citoplazmi a GTP u nukleoplazmi i razlika u njihovoj energiji predstavlja gradijent koji daje nukleusnim porama energiju za transport i rad.

**2. Eksportini** imaju ulogu u potpunosti obrnutu od importina ali na potpuno sličan način, takođe imaju dva regiona i za sebe vezuju preko NES molekula protein ili RNK molekul koji se transportuje iz nukleoplazme u citoplazmu, kao i molekul GTPa. Kompletan ovaj kompleks vezuje se za nukleoporine KNP i prolazi kroz nju u citoplazmu, gde se protein koji je transportovan odvaja od NES proteina i ostaje u citoplazmi. GTP molekul kompleksa uz pomoć proteina GAP (guanozinski adaptirajući protein fosforne grupe) i Ran gradijenta prelazi u GDP oblik i zatim se ceo kompleks vraća iz citoplazme kroz jedrovu poru u nukleoplazmu. U nukleoplazmi transportni kompleks se raspada na pojedinačne molekule koji nastavljaju da obavljaju svoje funkcije pojedinačno: eksportin čeka signal sa signalnog molekula NESa da veže za sebe protein koji se transportuje; NES lokalizuje protein za transport; a molekul GDPa prelazi u GTP oblik uz pomoć GFP proteina i utroška jedne fosforne grupe i Ran gradijenta.

Citohemijska ispitivanja su omogućila različito bojenje nukleoplazmina, proteina nukleoplazme koji se sintetiše u citoplazmi i ulazi u jedro i molekula RNK koji se sintetiše u jedru i ulaze u citoplazmu; u cilju praćenja pravca njihovog transporta kroz nukleusne pore. Budući da su ove dve vrste molekula bili različito obojene a istovremeno praćen njihov transport, pokazale su nespecifičnost nukleusnih pora jer su u istoj nukleusnoj pori bili identifikovani molekuli obe boje. Što znači da su te nukleusne pore u isto vreme prenosile različite molekule u oba pravca. S druge strane nukleusne pore odlikuje i specifičnost jer određene pore služe za unošenje proteina iz citoplazme u nukleus, dok druge samo za transportovanje RNK molekula ili ribonukleoproteinskih jedinica iz jedra. Ova specifičnost je karakteristična kad su u pitanju ribozomske subjedinice jer one iz jedra izlaze samo kroz određene i uvek iste nukleusne pore i te nukleusne pore su specifične samo za njih.



[187] Šematski prikaz položaja nukleoplazme (plavo)

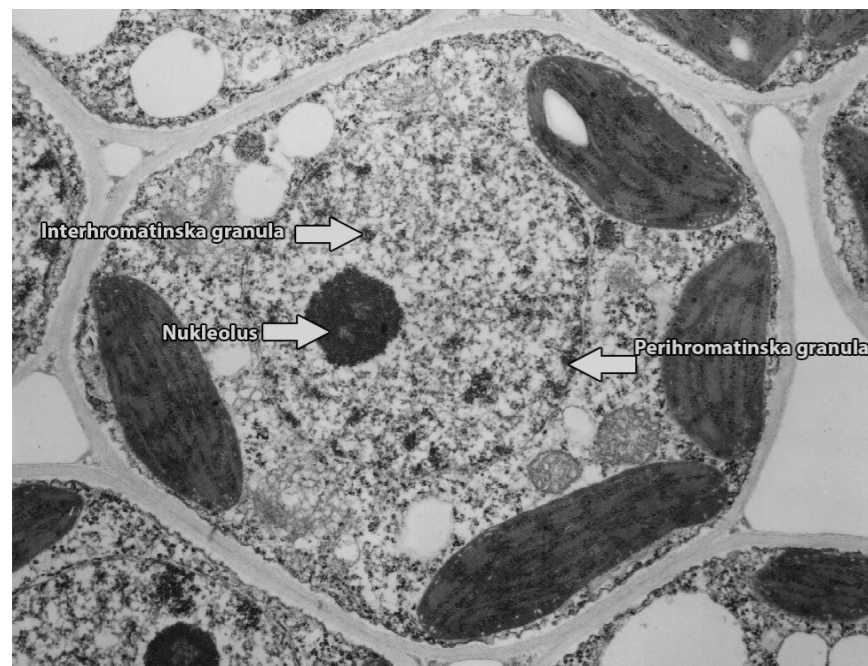
## NUKLEOPLAZMA

Prostor koji fizički zatvara nukleusni omotač i odvaja ga od citoplazme označava se kao nukleoplazma, to je sredina u kojoj je smešten hromatinski materijal [187]. Hromatinski materijal su molekuli jedarne dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) udružene sa histonskim i nehistonskim proteinima, koji su u interfaznim jedrima u obliku hromatinskih vlakana. Pored hromatinskog materijala nukleoplazma sadrži još i morfološke i funkcionalne komponente kao što su jedarce (nukleolus), perihromatinske granule (kod

[186] Transport supstrata kroz kompleks jedrove pore u jedro i vraćanje importina u citoplazmu- Pogledaj link: [www.youtube.com/watch?v=NilAgJ67tBc](http://www.youtube.com/watch?v=NilAgJ67tBc)

biljnih ćelija) i interhromatinske granule (kod biljnih i životinjskih ćelija) i Kahalova telašca. U nukleoplazmi su prisutne različite ribonukleinske kiseline, same ili udružene sa proteinima; strukturni i metabolički aktivni proteini; mali biomolekuli, enzimi i joni neophodni u procesima udvajanja DNK i prepisivanja u RNK, kao i kasnu obradu RNK molekula. U nukleoplazmi nalazi se nukleoskelet koji obezbeđuje pravilan i uređen prostorni raspored svih nukleusnih komponenti.

Nukleoplazma je mesto gde se nalazi veliki broj različitih malih ribonukleoproteinskih granula, jer se u nukleusu prepisuju različite vrste RNK sa molekula DNK. Prvobitni prepis informacionih RNK ne predstavlja njihovu funkcionalnu formu iz razloga što sadrži u sebi i delove koji za sintezu određenog proteina nisu potrebni. U nukleoplazmi se po obavljenoj transkripciji odvija i proces reorganizacije primarnih prepisa procesom koji podrazumeva odbacivanje nefunkcionalnih delova pre-iRNK i prilepljivanja jednog za drugi onih delova koji stvaraju funkcionalnu iRNK. U procesu sazrevanja iRNK učestvuje konglomerat molekula obrazovan od RNK male molekulske mase i proteina koji se zove mali nukleusni ribonukleoprotein (snRNP, snurp). Tokom obrade primarnog prepisa iRNK više snurpova se grupiše u velike i složene molekulske strukture nazivane splajsozomi, koji osiguravaju ispravno odsecanje nefunkcionalnih delova prepisane pre-iRNK (intra) i pravilno međusobno spajanje funkcionalnih delova (egzona) u iRNK. Mikrografije jedra sa transmissionog elektronskog mikroskopa pokazuju prisustvo interhromatinskih u jedrima biljnih i životinjskih ćelija i perihromatinskih granula u jedrima biljnih ćelija [188] u nukleoplazmi jedra. Interhromatinske granule se nalaze u prostoru u heterohromatinu, dok su perihromatinske granule lokalizovane na periferiji heterohromatina pred prelazak u euhromatin. Ove dve vrste granula razlikuju se samo po svom prečniku, interhromatinske granule su manje i imaju prečnik oko 20 nm, a perihromatinske granule su krupnije sa prečnikom 30-50 nm i svaka granula ima halo efekat širine oko 25 nm. Detaljna analiza obe vrste granula pokazala je da su izgrađene od gusto pakovanih fibrila čiji prečnik iznosi 3 nm. Po hemijskom sastavu su ribonukleoproteini grupisani zajedno sa faktorima transkripcije DNK molekula i molekulima enzima kao što su ATPaze i GTPaze. Uloga interhromatinskih i perihromatinskih granula je u procesima transkripcije i sazrevanja informacionih RNK.



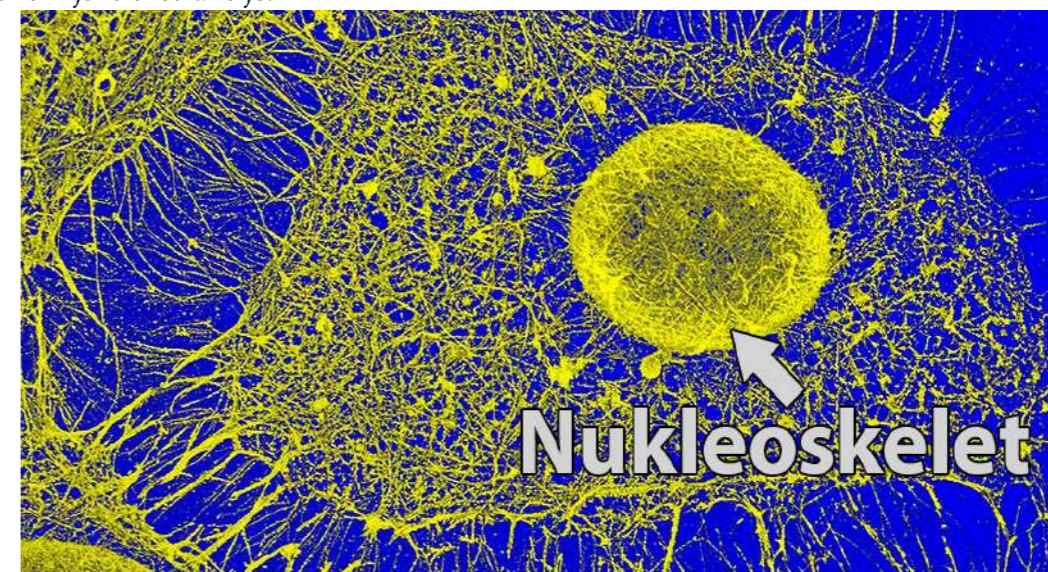
[188] Elektronmikrografija interhromatinskih i perihromatinskih granula u jedru biljne ćelije

Nukleoplazma sadrži u sebi strukture koje zauzimaju deo njenog trodimenzionalnog prostora, tako da pored spomenutih hromatinskih granula i jedarceta u te strukture pripadaju i Kahalova telašca. Kahalova telašca su zadužena za morfofunkcionalnu aktivnost jedra i sve češće u literaturi se sreće naziv za njih: "organele jedra". To su sferne jedarne strukture interhromatina prisutne u većini biljnih i životinjskih ćelija, izgrađene su od molekula proteina i RNK. Molekuli proteina i RNK u njima stvaraju mrežu koja

je visokopropusna za druge proteine i RNK molekule u nukleoplazmu. Ova telašca stvaraju biohemijska okruženja odabranih grupa makromolekula koja učestvuju u specifičnim fiziološkim procesima, direktno se vezuju za nukleusni omotač ili nukleusne pore. Naziv Kahalova potiče od neurobiologa koji ih je prvi opisao u jedrima piramidalnih ćelija mozga. Kao i nukleolus i dinamika Kahalovih telašca zavisi od potreba i dinamike ćelije, a njihov broj je promenljiv u toku života ćelije. U njima se vrši proces sazrevanja pre-iRNK i formiranje uslova za odvijanje procesa duplikacije DNK.

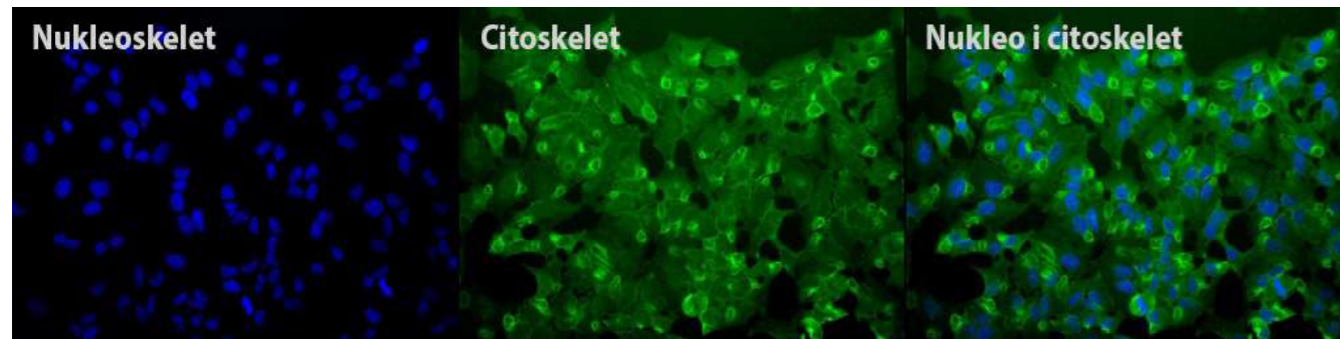
## NUKLEOSKELET

Trodimenzionalna pravilno organizovana mrežolika struktura od proteinskih vlakana prečnika oko 5 nm, potopljenih u nukleoplazmu je nukleoskelet [189]. Vlakna nukleoskeleta često za sebe imaju vezane globularne proteina i molekule RNK koji imaju ulogu u funkcionalnoj dinamičnosti hromatina. Nukleoskelet obuhvata više međusobno povezanih struktura: proteinska vlakna koja se vezuju za nukleusnu laminu i KNP nukleusnog omotača; proteinska vlakna koja formiraju mrežu ležišta jedarca i hromozomskih petlji; proteine koji povezuju hromozome sa drugim nukleusnim strukturama i proteinske mreže perihromatinskih i interhromatinskih granula kao i Kahalova telašca. Proteinska vlakna nukleoskeleta prožimaju celu nukleoplazmu u svim smerovima i međusobnim udruživanjem stvaraju sredinu za obavljanje funkcija nukleusa. Budući da su perihromatinske i interhromatinske granule molekuli ribonukleoproteinske prirode za njihovo funkcionisanje od vitalnog značaja je nukleoskelet. Neki naučnici definišu nukleoskelet kao nerastvorene strukture koje ostaju u nukleusu nakon završenih svih koraka njegove biohemijske ekstrakcije.



[189] Skening elektronmikrografija keratinocita sa obojenim proteinima cito i nukleoskeleta

Hromatinska vlakna stupaju direktno u kontakt sa nukleoskeletom i nukleusnom laminom jer oni omogućavaju međusobno odvajanje interfaznih hromozoma i stvaraju komunikaciju jedra preko pora nukleusnog omotača sa citoplazmom. Intermedijarni filamenti citoplazme u blizini jedra posredno ili neposredno uspostavljaju kontakt sa elementima nukleoskeleta [190]. Ovo povezivanje je premošćavanje i spajanje morfološkog i funkcionalnog prostora između dve unutrašnje sredine, nukleoplazme i citoplazme, koje deli nukleusni omotač. Komponente nukleoskeleta svakom od interfaznih hromozoma obezbeđuju posebno izdvojen prostor koji svedoči o postojanju morfofunkcionalne podeljenosti unutar jedra. Nukleoskelet ne služi samo za oslanjanje i omogućavanje funkcionisanja hromatinskim vlakanima, već sa njim u kontakt stupaju i različiti molekuli RNK, pojedinačno ili udruženi sa proteinima u obliku ribonukleoproteinskih čestica različite veličine.

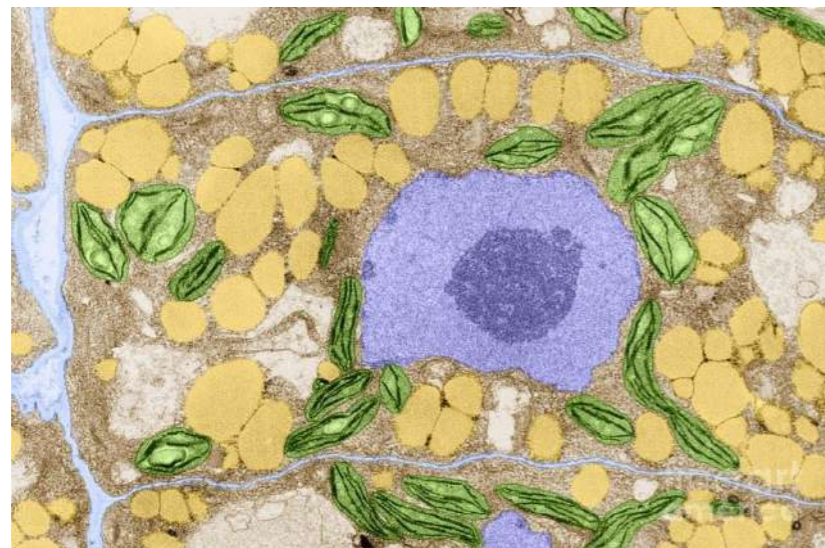


[190] Mikrografije sa obojenim proteinima cito i nukleoskeleta, odvojeno i zajedno

Spomenuto je da kontakti koji se uspostavljaju između komponenata nukleoskeleta i molekula DNK nemaju samo morfološki nego i funkcijski značaj. Često na mestima na kojima komponente nukleoskeleta i hromatinska vlakana ostvaruju kontakt počinju procesi udvajanja DNK ili prepisivanja RNK. Komponente nukleoskeleta aktivno utiču na procese koji se odvijaju na molekulima DNK, oni ih omogućavaju i od vitalnog su značaja. Tokom prelaska jedra iz interfaznog stanja u stanje deobe na proteinima nukleoskeleta dešavaju se promene koje dovode do precizne organizacije metafaznih hromozoma. Nukleoskelet ne samo da utiče na aktivnost svih oblika hromatina u jedru ćelije, već te aktivnosti prati, omogućava i katalizuje ih.

## NUKLEOLUS

Secijalizovana komponenta jedra u kojoj se vrši prepisivanje sa DNK i sazrevanje ribozomske RNK (rRNK), kao i njeno pakovanje zajedno sa specifičnim proteinima u ribozomske subjedinice naziva se nukleolus ili jedarce [191]. Pored navedenog prostor nukleolusa čuva proteine uključene u regulaciju ćelijskog ciklusa i na taj način on direktno utiče na aktivnosti nukleusa. Jedarce nije od ostalog dela nukleusa odvojeno membranom, niti membrane učestvuju u izgradnji bilo kojeg njegovog regiona. Na preparatima za svetlosnu ili elektronsku mikroskopiju nukleolus u jedrima predstavlja oblast koja se veoma jasno uočava budući da se jako boji primenjenim tehnikama. Ukoliko se primene histohemijske ili autoradiografske metode za dokazivanje molekula RNK u nukleolusu se dobija veoma intenzivna i pozitivno obojena reakcija. Zapremina i broj nukleolusa, kao i njihov položaj u jedru određenog ćelijskog tipa je stalan, tako je najčešći slučaj da jedro sadrži samo jedan nukleolus. Ćelije fibroblasta sadrže po dva nukleolusa, a jedra jajnih ćelija vodozemaca mogu da sadrže više stotina nukleolusa. Položaj nukleolusa u jedru ćelija



[191] Elektronmikrografija biljne ćelije, jedro predstavljeno plavom bojom i jedarce tamno plavom

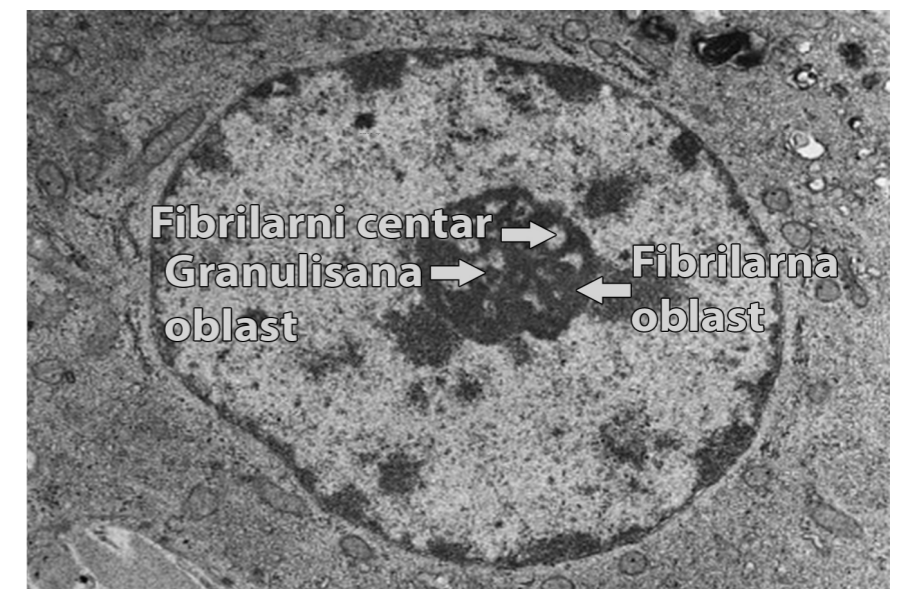
je uz nukleusni omotač ili u njegovoj blizini, kako bi produkti njegove aktivnosti mogli brže i efikasnije da stignu do citoplazme. Centralno postavljen nukleolus uvek pored sebe ima i duboki uvrat nukleusnog ovoja, koji se zove nukleusni kanal i u direktnom je dodiru sa površinom nukleolusa. Nukleusni kanal omogućava da se nukleolusu potpuno približi deo nukleusnog omotača na čijim se nukleusnim porama odvija transport ribozomskih subjedinica. Nukleolus ima precizno organizovanu morfološku građu sa tri osnovne oblasti: fibrilarni centar (pars chromosoma), fibrilarna oblast (pars fibrosa) i granulisana oblast (pars granulosa). Na elektronmikrografijama fibrilarni centri su najsvetlije oblasti nukleolusa, fibrilarne oblasti najintenzivnije kontrastirane u vidu sitnih fibrila, dok su granulisane oblasti srednje kontrastirane granulisane oblasti nukleolusa. Molekuli nukleoskeleta slični spektrinu učestvuju u morfološkom definisanju, strukturnom održavanju i ujedinjavanju sve tri oblasti nukleolusa. Oblasti nukleolusa nisu iste po svojoj morfologiji i različito se organizuju između sebe gradeći tri tipa nukleolusa: mrežolike, kompaktne i nukleoluse koji odlikuju jedra biljnih ćelija.

1. Nukleolusi mrežolikog tipa imaju organizovanu osnovnu fibrilarnu oblast u obliku mreže na koju su pričvršćene granulisane oblasti i tako zajedno doprinose trodimenzionalno mrežolikoj uređenosti nukleolusa. Fibrilarni centri ovog tipa nukleolusa su malih dimenzija, razbacani i uvek obavijeni fibrilarnim oblastima. Unutar ovako organizovane mreže nalaze se nukleolusni međuprostori nukleoplazme koji ne učestvuju u procesima prepisivanja rRNK sa DNK i njihove dalje obrade. Mrežoliki tip nukleolusa vezuje se za deo kompaktnog hromatina u vidu drške koja ga na svom drugom kraju pričvršćuje za unutrašnju stranu nukleusnog omotača.

2. Nukleolusi kompaktnog tipa sadrže fibrilarne centre objedinjene u nekoliko regiona većih dimenzija, smeštenih u centru jedarceta i na njih naleže gusta mreža fibrilarne oblasti u vidu velikog omotača. Dve ovakve fibrilarne oblasti uronjene su u granulisanu oblast, osnovnu masu nukleolusa. U zoni fibrilarne oblasti nalaze se prostori nukleoplazme koji ne učestvuju u procesima prepisivanja i obrade rRNK. Kompaktni hromatin kod jedarca kompaktnog tipa u potpunosti ga prepokriva u vidu ljušture, nazvan heterohromatinskim oblakom, koji kao i kod predhodnog tipa nukleolusa može da formira dršku za njegovo povezivanje sa nukleusnim omotačem.

3. Građa nukleolusa biljnih ćelija najviše podseća na kompaktni tip sa tom razlikom da nemaju heterohromatinski oblak i da nemaju grupisane fibrilarne centre u regione. Fibrilarni centri ovog tipa nukleolusa su pojedinačni i svi zajedno okruženi mrežom guste fibrilarne oblasti koja je uronjena u granularnu oblast tj. osnovnu masu nukleolusa [192].

[192] Elektronmikrografija nukleusa sa predstavljanim oblastima nukleolusa



Bez obzira na morfološke razlike koje se mogu uočiti između različitih tipova nukleolusa oni predstavljaju komponentu nukleusa u kojoj se odigravaju procesi stvaranja ribozomalnih subjedinića, prepisivanjem gena sa segmenata DNK iz oblasti nukleolusa za rRNK. Citohemijske metode dokazuju da su molekuli DNK prisutni u nukleolusu u mnogo manjem procentu nego molekuli RNK. Geni za sinezu molekula rRNK nalaze se na molekulima DNK, u blokovima, u fibrilarnom centru nukleolusa, gde su ponovljeni mnogo puta u jednom bloku. Svaki od ovih blokova, sa ponovcima gena za sintezu rRNK, predstavlja po jedan organizator nukleolusa. Sa organizatora nukleolusa prepisuje se rRNK u vidu primarnog transkripta, odnosno prekursora rRNK, koji je kombinacija funkcionalnih i nefunkcionalnih delova i ima sedimentacionu konstantu od 45S. Nakon obavljene transkripcije primarni transkript sedimentacione konstate 45S, podleže procesima fragmentisanja i sazrevanja uz pomoć niza proteina i na taj način se dobijaju tri ribozomalne RNK: 18S rRNK, 28S rRNK i 5,8S rRNK. Molekul 18S rRNK se zatim kombinuje sa proteinima i na taj način se formira mala subjedinića ribozoma, dok se 28S i 5,8S rRNK kombinuju takođe sa proteinima i jednim molekulom 5S rRNK i na taj način se formira velika subjedinića ribozoma. Molekul 5S rRNK prepisuje se sa DNK koja se nalazi izvan oblasti nukleolusa. Tako formirane ribozomalne subjediniće u nukleolusu transportuju se kroz nukleoplazmu i kroz kompleks nukleusnih pora napuštaju nukleus. Subjediniće ribozoma svoju funkciju vrše u citoplazmi formirajući slobodne ribozome, poliribozome ili ribozome vezane za membrane granuliranog endoplazmatičnog retikuluma.

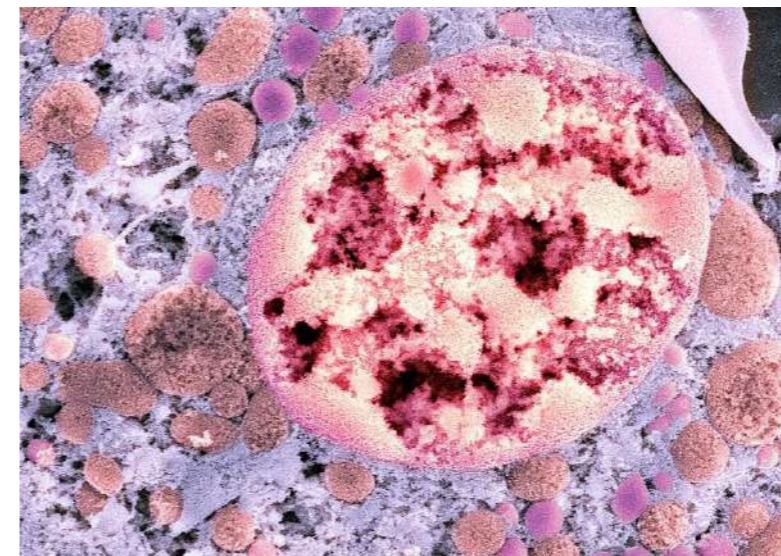
Pored DNK i rRNK u nukleolusu su prisutni molekuli enzimskih proteina, specifični molekuli iRNK i proteini koji učestvuju u sazrevanju i formiranju malih i velikih subjedinića ribozoma. Enzimski proteini nukleolusa: nukleolin i fibrilarin su fosfoproteini nužni za početno sečenje primarnog transkripta rRNK i uključeni su u brojne vankleolusne funkcije.

## HROMATIN

Preparati ćelija obojenih hematoksilin-eozin tehnikom i posmatrani na svetlosnom mikroskopu pokazuju neujednačeno obojene regione nukleusa, ako se ta ista nukleusa posmatraju na elektronskom mikroskopu u njima se jasno vide oblasti tamnije i svetlije kontrastiranog hromatinskog materijala. Naziv hromatin potiče od grčke reči *chromos* što znači boja i u slučaju nukleusa označava obojene molekule DNK. Intenzivnije obojen na svetlosnoj mikroskopiji i jače kontrastiran na elektronskoj mikroskopiji hromatin se označava kao heterohromatin, dok je bleđe obojen na svetlosnoj mikroskopiji i svetlije kontrastiran na elektronskoj mikroskopiji označen kao euhromatin [193]. Heterohromatinski region hromatina u jedru označava se još i kondenzovani hromatin, dok se euhromatin označava još i difuzni hromatin. Količina euhromatina u odnosu na heterohromatin nije ista tokom celog života ćelije i zavisi od njene sintetske aktivnosti. Ćelije čiji nukleus odlikuje slaba sintetska aktivnost imaju veliku količinu heterohromatina i malu količinu euhromatina, kao i sitnije jedarce i nukleusni omotač sa malim brojem nukleusnih pora; u citoplazmi tih ćelija zapaža se ili veoma malo citoplazmatskih organela uključenih u sintetske procese ili se njihovo prisustvo uopšte ne uočava. Heterohromatin nije transkripciono aktivan i postoji konstitutivan i fakultativan heterohromatin u jedru. Konstitutivni heterohromatin grupisan je uz unutrašnju stranu nukleusnog omotača u zonama između dve nukleusne pore, sužavajući svoj sadržaj prema centru jedra a u samom centru je u obliku manjih grupa. Kako se konstitutivan heterohromatin nalazi uz nukleusni omotač, fakultativni je dublje u nukleusu i on može lako da prelazi u euhromatin.

U jedrima ćelija koje se odlikuju velikom sintetskom aktivnošću prisutna je mala količina heterohromatina i velika količina euhromatina, kao i krupno jedarce i brojne nukleusne pore na nukleusnom omotaču; u citoplazmi tih ćelija prisutna je velika količina cisterni granulisanog endoplazmatičnog retikuluma i Goldži aparata. Euhromatin predstavlja onu formu hromatinskog materijala u okviru kog se prepisuju informacione i transportne RNK potrebne za sintetske procese u citoplazmi ćelije. Euhromatinske oblasti grupisane su uvek tačno ispod nukleusnih pora sa unutrašnje strane nukleusnog omotača,

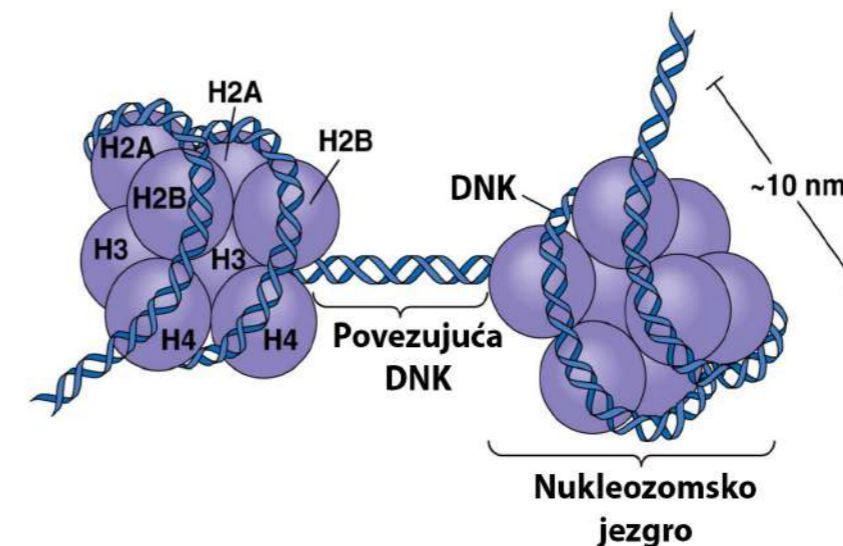
šireći svoj sadržaj prema centru jedra i u samom centru su u obliku velikih grupacija. Tokom najvećeg dela života ćelije hromozomi u jedru se ne mogu uočiti u obliku pojedinačnih struktura već predstavljaju deo euhromatinskih i heterohromatinskih regiona unutar kojih su u različitom stepenu decondenzovani. Ćelijske deobe izazivaju kondenzovanje i spiralizaciju hromatinskih vlakana u hromozome, tj. individualne strukture uočljive jedino u toku faza ćelijskih deoba u eukariotskim ćelijama.



[193] Elektronmikrografija heterohromatina i euhromatina u jedru

- strelicama obeleži regione jedra i ograniči njegov volumen-

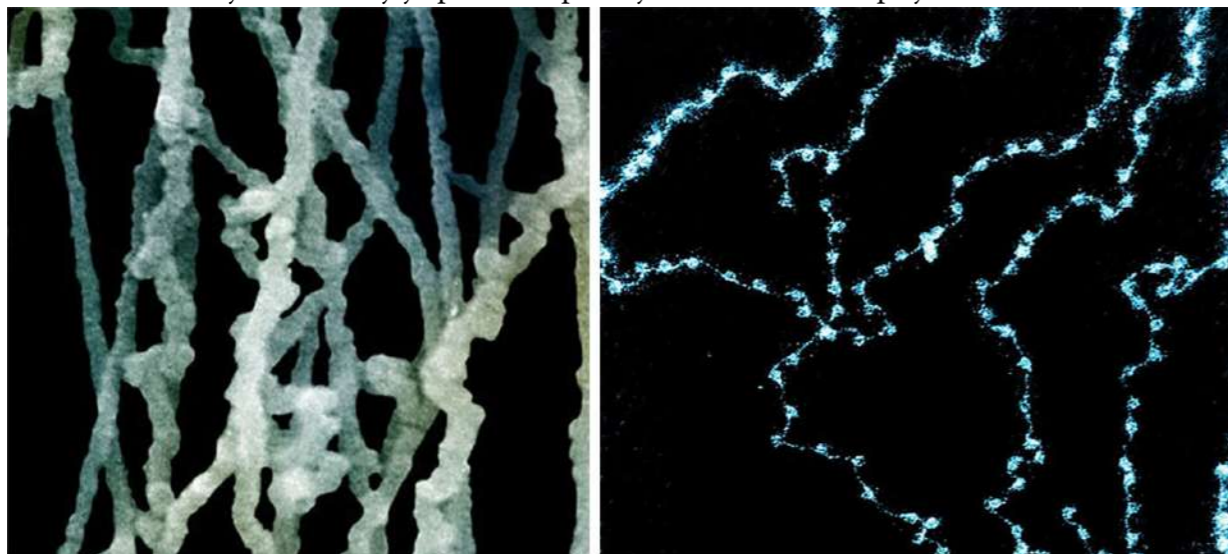
Tako mitotski ili metafazni hromozomi postaju vidljivi na nukleusima biljnih i animalnih ćelija posmatranim na svetlosnom mikroskopu. Osnova hromatinskog vlakna je molekul DNK kojem su pridruženi mnogobrojni proteini učesnici u njegovom morfološkom organizovanju, pravilnom funkcionisanju, replikaciji – udvajanju DNK; i transkripciji – prepisivanju DNK u RNK. Proteini predstavljaju dve trećine strukture hromatinskih vlakana, dok su molekuli DNK samo preostala jedna trećina. Ovi proteini se dele na histonske i nehistske, s tim što treba istaći da su histonski proteini esencijalne komponente strukturnog organizovanja hromatinskih vlakana. Histoni su bazni proteini male molekulske mase podeljeni radi lakše analize u pet klasa označenih skraćenicama H1, H2A, H2B, H3 i H4. Svi histonski proteini se odlikuju prisustvom velike količine baznih, pozitivno naelektrisanih aminokiselina lizina i arginina u svojoj građi. U izgradnji histona H1, H2A i H2B prevladuje lizin, dok su histoni H3 i H4 bogati arginom.



Po dva histonska molekula iz četiri klase histona: (H2A)<sub>2</sub>, (H2B)<sub>2</sub>, (H3)<sub>2</sub> i (H4)<sub>2</sub> udruženi su u oktameru strukturu koja se naziva nukleozomsko jezgro [194]. Oko svakog nukleozomskog jezgra molekul DNK se obavija približno dva puta što je ukupno 146 njenih baznih parova. DNK molekul uspostavlja najjaču vezu sa histonima H3 i H4. Dužina dela molekula DNK koji se nalazi između dva susedna nukleozomska jezgra je od 10 do 80 baznih parova i naziva se povezujuća DNK.

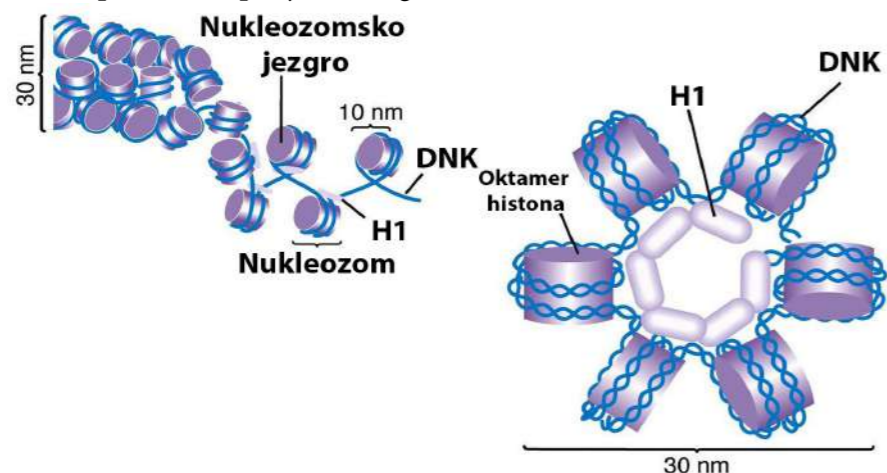
[194] Organizacija nukleozoma

Histonski molekuli organizovani u oktamerne strukture nisu pasivni oslonci molekula DNK već značajni činioci u procesima transkripcije informacione RNK. Histoni podležu konformacionim promenama u toku transkripcije DNK molekula. Nivo morfološke organizacije hromatina obrazovan od nukleozomskih jezgara obavijenih sa dva namotaja molekula DNK između kojih je povezujuća DNK promenljive dužine naziva se nukleozom. Odnosno nit DNK ne prolazi kroz nukleozom [195]. Na transmisionom elektronskom mikroskopu niz nukleozoma podseća na nisku perli s tom razlikom što je u stvarnosti nit molekula DNK postavljena na površini nukleozoma. Detaljnija analiza niza nukleozoma na istom mikroskopu pokazuje da su nukleozomska jezgra postavljena sa jedne i druge strane u odnosu na DNK molekul. Nukleozomski nivo organizacije hromatina odgovara euhromatinskim oblastima u interfaznom jedru, oblastima u kojima se odvijaju procesi repikacije DNK ili transkripcije RNK.



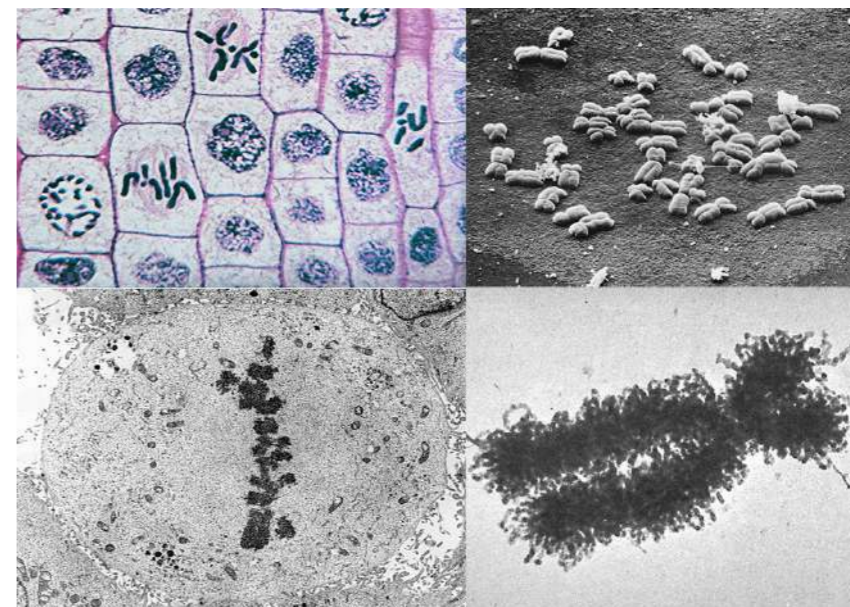
[195] Elektronmikrografije hromatina organizovanih u osnovno 30 nm hromatinsko vlakno (levo) i nukleozome (desno)

Histon H1 ne predstavlja komponentu nukleozomskog jezgara, on se vezuje za DNK tamo gde ona izlazi iz nukleozoma, pomaže pakovanje nukleozoma u 30 nm vlakno, tj. pomaže kondenzovanje i stabilizaciju hromatina. Histon H1 se postavlja na spoljašnjoj površini nukleozoma i to na onoj strani preko koje mu naležu po dva namotaja molekula DNK [196]. H1 na taj način povezuje dva navoja DNK na nukleozomu, ograničava pristup njihovim segmentima i sprečava dekonenzaciju DNK; a ovako obrazovana struktura [196] je osnovna nukleoproteinska podjedinica građe hromatina - osnovno 30 nm hromatinsko vlakno.



[196] Organizacija osnovnog 30 nm hromatinskog vlakna (levo) i položaj H1 histona u nukleozomima (desno)

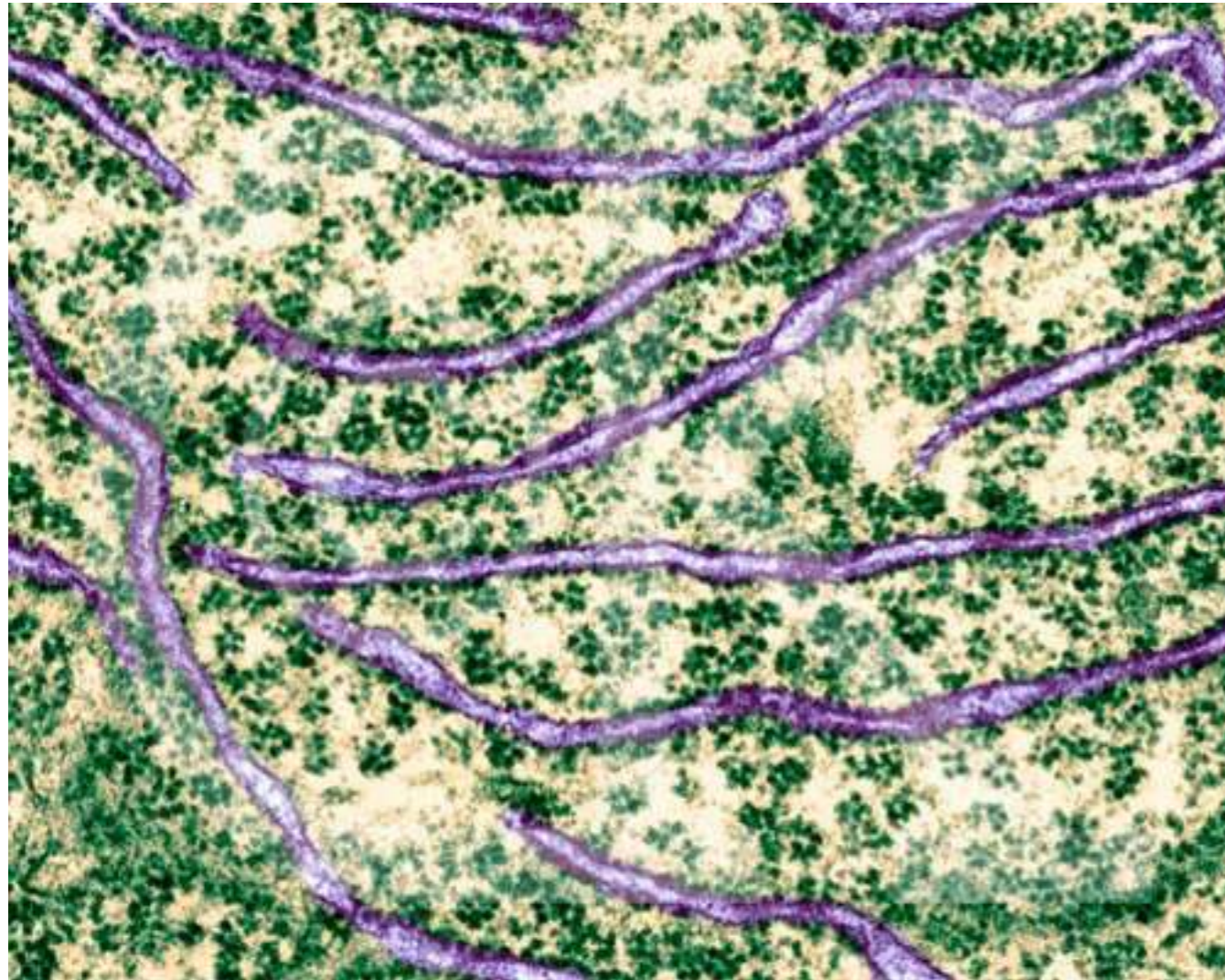
Molekuli DNK odlikuju se velikom dužinom, pa je neophodno da se sigurno kondenzuju, kako bi se omogućilo njihovo smeštanje u malu zapreminu jedra. Postoji nekoliko nivoa pakovanja tj. kondenzacije DNK molekula u jedru eukariotske ćelije. Prvi od njih se formira kada se DNK čija je debljina oko 2 nm obmota oko nukleozomskog jezgra čime se dobija nivo nukleozoma, deo oko 10 nm. Daljim pakovanjem tzv. foldovanjem se dobija tri puta deblja struktura - osnovno 30 nm hromatinsko vlakno, koje tokom deobe ćelije pravi petlje i savija se formirajući sestru hromatidu metafaznog hromozoma čija je debljina oko 700 nm [197].



[197] Elektronmikrografije hromozoma

Mitotski, metafazni hromozomi su vidljivi na preparatima posmatranim na svetlosnom mikroskopu i poseduju morfološke odlike koje ih čine specifičnim i jedinstvenim. Svaki metafazni hromozom čine dve hromatide, međusobno povezane u oblasti primarnog suženja koje se naziva centromera. Za hromatide je uobičajeno reći da su sestrinske jer su nastale udvajanjem jednog istog molekula DNK.

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.



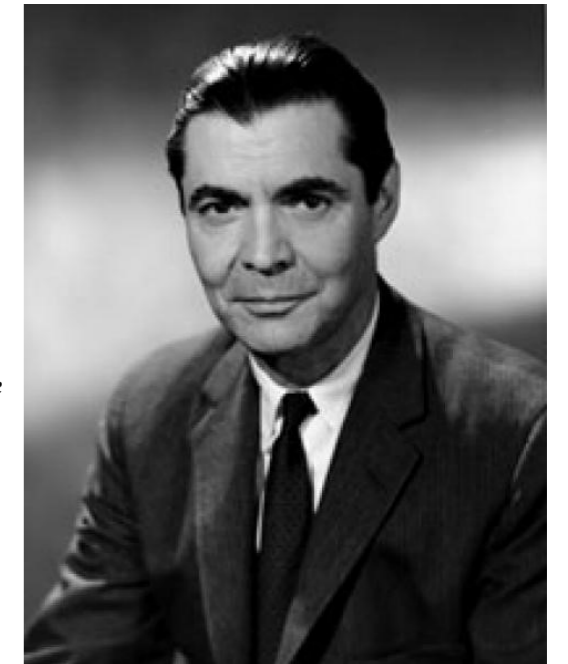
[198]

# RIBOZOMI

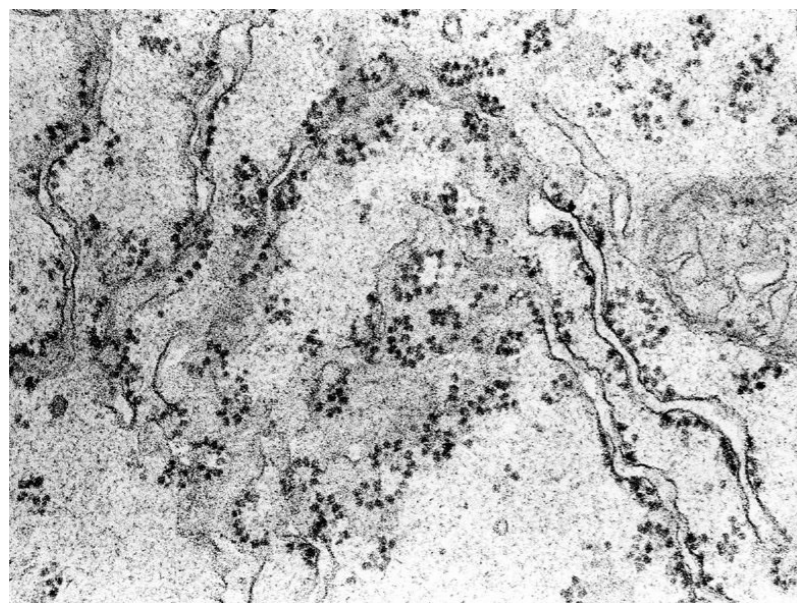
Grada ribozoma  
Formiranje ribozoma  
Poliribozomi

Ribozomi su nemembranske organele, što znači da nemaju membranu koja ih ograničava, prisutni su u citoplazmi prokariotskih i eukariotskih ćelija, odgovorni za proces sinteze svih proteina. U eukariotskim ćelijama ribozomi se osim u citoplazmi i na površinama endoplazmatičnog retikuluma nalaze i u mitohondrijama i plastidima pa se često takvi ribozomi nazivaju organelarni ribozomi. U jedrima eukariotske ćelije nalaze se subjedinice ribozoma ali ne i funkcionalni. Prečnik ribozoma iznosi između 20 i 30 nm, prokariotski ribozomi 20, nm a eukariotski od 25 do 30 nm. Ova činjenica je godinama bila ograničavajući faktor za njihovo otkivanje, iako je bilo poznato da u citoplazmi ćelija postoje strukture koje vrše sintezu polipeptidnih lanaca. Tek 1955. godine ribozome je prvi put video i zabeležio Emil Palade na elektronmikrografijama snimljenim pomoću elektronskog mikroskopa [199]. Otkriće ribozoma pripada eri otkrića mnogih ćelijskih struktura jer od tada upotreba elektronskog mikroskopa ulazi na velika vrata u svet citologije gde je i dan danas neizostavna metoda u citološkim istraživanjima. Molekuli proteina i ribonukleinskih kiselina (rRNK) grade nemembranske organele ribozome i zbog prisustva rRNK one se i zovu ribozomi. Ribozomi su univerzalne organele i njihovo prisustvo je obavezno u građi svih oblika i nivoa organizacije živih ćelija. Oni ne mogu da se vide pod svetlosnim mikroskopom, već se na ovom mikroskopu detektuju samo regioni gde se nalazi veliki broj njih [198]. Ribonukleinske kiseline u citološkim analizama boje se baznim bojama, najčešća u upotrebi je hematoksilin bazna boja, koja će sve regione u ćelijama gde se nalaze lokalizovani ribozomi da oboji u plavo.

[199] Na slici je naučnik George Emil Palade, rumunski ćelijski biolog, inovator u elektronskoj mikroskopiji, fiziologiji, medicini i utemeljivač molekularne biologije. Patentirao je postupak frakcionisanja ćelija što je omogućilo biohemijsko istraživanje njihovih komponenti koje do tad nije bilo moguće. Palade je elektronmikrografijama dokazivao postojanje struktura u prokariotskim i eukariotskim ćelijama i opisivao njihovu građu i ulogu

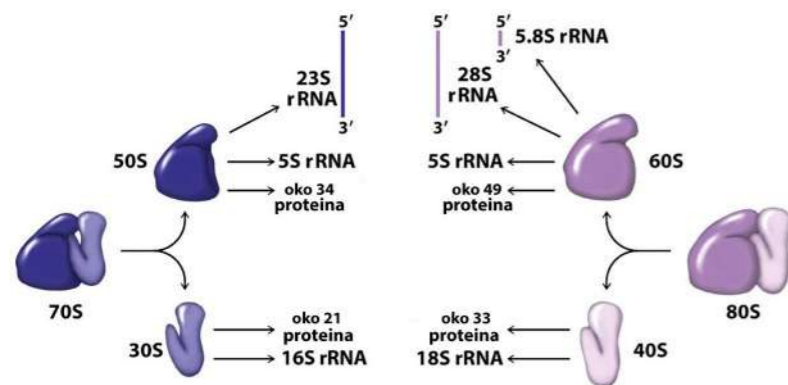


Značaj ribozoma u ćelijama otkriva činjenica da ako je usled određene genetske mutacije ćelija u nemogućnosti da obavi biogenezu dovoljnog broja ribozoma za svoje potrebe, ona tada više nije u mogućnosti da održi svoj metabolizam i ispuni svoju funkciju i ubrzo umire. Takođe, u protein sintetski aktivnim ćelijama masa ribozoma može da iznosi i do jedne četvrtine suve materije cele ćelije. Na primer u prokariotskim ćelijama *Escherichia coli* ima oko 15 000 i 20 000 ribozoma što je oko 25% ukupne mase ćelije ili oko 1/3 suve mase. Takođe eukariotske ćelije jetre pacova koje brzo rastu mogu da imaju i do 6 miliona ribozoma. Broj ribozoma zavisi isključivo od tipa ćelije, njenog metabolizma, diferencijacije i uloge. Primer za ovo su hepatociti koji u svom citoplazmi imaju i do 25 000 ribozoma u trenutku kad imaju najveći stepen ćelijske sinteze i produkcije proteina, dok sa druge strane su eritrociti koji u svom procesu diferencijacije u potpunosti gube sve organele iz svoje citoplazme pa tako i ribozome, od kojih funkcionalnom eritrocitu ne ostaje nijedan.



[200] Elektronmikrografija slobodnih poliribozoma i ribozoma vezanih za membrane u eukariotskoj ćeliji

prokariota je 70S, dok je kod eukariota 80S, pa iz tog razloga postoje dva tipa ribozoma: prokariotski i eukariotski. Pored ukupne ribozomi se razlikuju i po sedimentacionim konstantama svojih subjedinića: prokariotski imaju 50S velike i 30S male subjediniće, a eukariotski imaju 60S velike i 40S male subjediniće. Prokariotski tip ribozoma se osim u ćelijama prokariota nalaze još i u mitohondrijama i plastidima eukariotskih ćelija. Pored toga poznati su eukariotski organizmi koji imaju izmenjen tip ribozoma u svojim citoplazmama to su praživotinje iz grupe Microsporidia. One imaju eukariotsku građu ćelije ali jako male ribozome koji podsećaju na prokariotske. Njihova rRNK je redukovana zbog parazitskog načina života, ali i dalje gradi eukariotki ribozom jer sardži 18S rRNK. Prokariotski ribozomi su slobodni i nalaze se razbacani u većem ili manjem broju po celoj citoplazmi. Velika subjedinića ribozoma prokariotskih ćelija izgrađena je od dva molekula rRNK: 5S i 23S i oko 34 proteina, a malu subjediniću čini jedan molekul rRNK: 16S i oko 21 proteina.



[201] Šematski prikaz prokariotskog i eukariotskog ribozoma

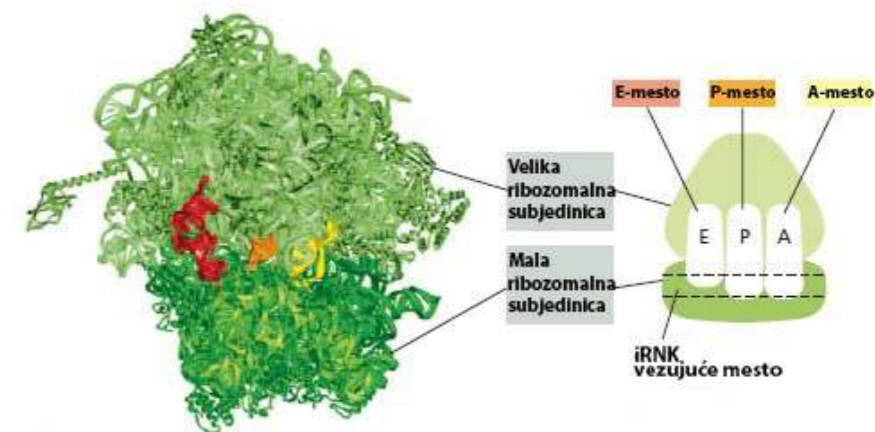
da se subjediniće međusobno razlikuju po svojoj veličini i obliku. Velika subjedinića ribozoma ima oblik sličan kruni koja poseduje tri uzdignuća na koja se kao oslonac prisanja mala subjedinića, ali tako da između njih ostaje veoma uzak slobodan međuprostor. Međuprostor ima oblik žljeba kroz koji naleže i

## GRAĐA RIBOZOMA

Biohemijske analize su pokazale da se ribozomi sastoje od 60-65% ribozomalne RNK (rRNK) i 35-40% proteina. Skoro celokupna količina RNK ćelije nalazi se u okviru rRNK. Za molekule rRNK vezani su ribozomalni proteini koji se za razliku od rRNK molekula odlikuju jakim baznim svojstvima. Molekuli rRNK su negativno naelektrisani a ribozomalni proteini pozitivno. Proučavanja na nivou TEM pokazala su da su eukariotski i prokariotski ribozomi izgrađeni od po dve subjediniće - velike i male [200]. Kao što je već ranije u knjizi spomenuto prokariotski i eukariotski ribozomi prisutni u citoplazmi razlikuju se međusobno po ukupnoj sedimentacionoj konstanti - kod

Eukariotski tip ribozoma se nalazi u citoplazmi eukariotskih ćelija, na membranama endoplazmatičnog retikuluma, koji tako postaje granulirani endoplazmatični retikulum. Kod praživotinja (Protista) ribozomi se nalaze na membranama vakuola. U eukariotskim ćelijama velika subjedinića ribozoma je izgrađena od tri molekula rRNK: 5S, 28S i 5,8S i oko 49 proteina, dok je mala izgrađena od jednog molekula rRNK: 18S i oko 33 proteina, broj molekula proteina zavisi od vrste organizma [201]. Trodimenzionalne analize izgleda ribozomalnih komponenti pokazale su

klizi iRNK molekul u trenutku njegovog prevođenja. Mesto vezivanja iRNK nalazi na maloj subjedinići ribozoma, kao i prostori u koje pristaju molekuli transportne RNK (tRNK) dok prinose aminokiseline. Tako u maloj subjedinići ribozoma postoji jedno vezno mesto za iRNK, a mala i velika subjedinića zajedno formiraju tri vezna mesta za tRNK: E, P i A mesto. Uzdignuća sa velike subjediniće nazivaju se još i ručice a preostali deo se naziva telo ribozoma i ono je zaobljenog izgleda. Elektronska mikroskopija je pokazala da velika subjedinića ribozoma svojom zaobljenom stranom povezuje se sa membranom endoplazmatičnog retikuluma, dok se njena suprotna strana vezuje sa malom ribozomalnom subjedinićom [202].



[202] Šematski prikaz vezujućih mesta na ribozomu

Ribozomi su najmanje organele u ćelijama i uopšte mnogo sitnije od svih ostalih organela, ali i pored toga oni obavljaju veoma važan, složen i precizan proces - sintezu proteina koji se ugrađuju i vrše vitalne uloge u ćelijama ili se sekretuju kao krajnji proizvod iz njih. Iz tog razloga bilo je bitno upoznati se sa strukturom ribozoma do molekularnog nivoa jer je tek taj nivo organizacije ovih organela pokazao kompletnu sliku složenosti njihovog funkcionisanja. Ribozomalne subjediniće mala i velika vezuju se, postoje i funkcionišu uz pomoć vodoničnih veza između baza tercijarne strukture molekula rRNK u subjedinićama i molekula ribozomalnih proteina. Ove veze stabilizuju joni kalcijuma i magnezijuma, a učvršćuju najmanji molekuli rRNK iz velike subjediniće ribozoma veličine 5S koji povezuju subjediniće jednu za drugu kao kopče.

## FORMIRANJE RIBOZOMA

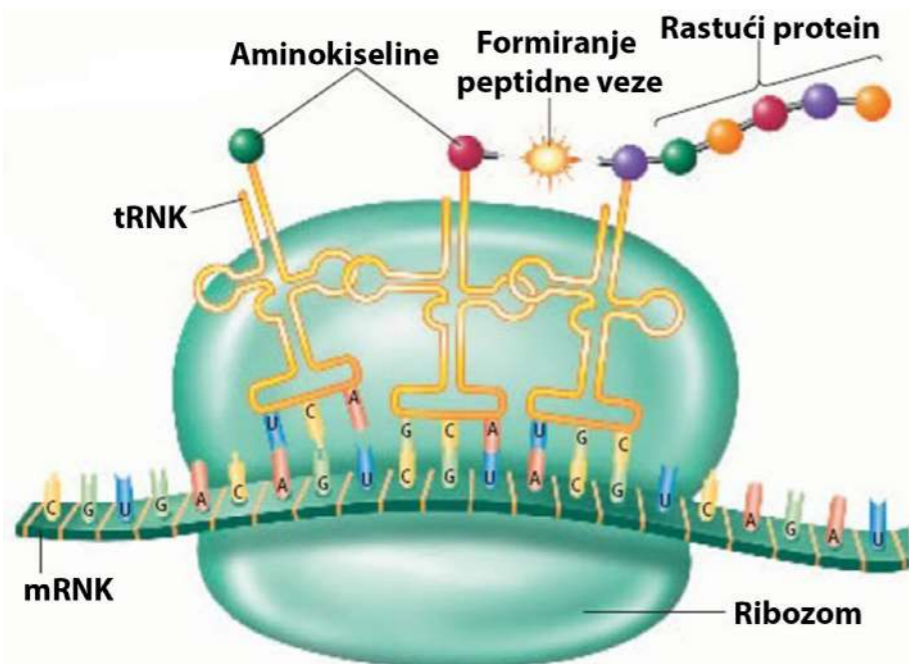
Ne tako davne 1968. godine japanski naučnik Masayasu Nomura uočio je da ribozomi mogu da nastanu u in vitro uslovima samoudruživanjem odgovarajućih molekula rRNK i ribozomalnih proteina. On je evidentirao da su se prečišćeni i razdvojeni molekuli ribozomalnih proteina i rRNK nakon određenog vremena i mešanja pod odgovarajućim uslovima ponovo formirali u funkcionalne ribozome. Eukariotski ribozomi su se formirali i postajali funkcionalni sporije u in vitro uslovima od prokariotskih, jer su složenije građe.

Molekuli ribozomalne RNK mehanizmom komplementarnog sparivanja nesusednih azotnih baza stvaraju sekundarnu strukturnu građu. Tercijarna, trodimenzionalna, strukturna građa ribozomalnih RNK molekula nastaje kada se sekundarna poveže sa ribozomalnim proteinima i zbog toga se dodatno kondenzuje. Molekuli rRNK tercijarne strukture su odgovorni za opštu strukturu i oblik ribozoma, pozicioniranje tRNK i iRNK, kao i za katalitičku aktivnost u procesima sinteze proteina. Molekuli rRNK su potpuno nepohodni za formiranje funkcionalnih ribozoma u in vitro uslovima, jer kad njih nema a prisutni su svi ribozomalni proteini neće doći do formiranja ribozoma. Takođe, ako se ekstrakcionom metodom odvoji veliki broj molekula ribozomalnih proteina iz ribozoma, a molekul rRNK se ne odvoji iz ribozoma, njegova funkcionalnost će biti samo smanjena nikako obustavljena.



Velike i male ribozomalne subjedinice mogu da katalizuju nastanak novih proteina čak i kad je 90% molekula proteina koji učestvuju u njihovoj izgradnji uklonjeno standardnim postupcima ekstrakcije proteina. Takođe, eksperimnet u kojem je primenjena ribonukleaza na molekul rRNK, to je enzim koji preseca molekule RNK, pokazuje da dolazi do potpunog prestanka funkcionalnosti ribozoma i nemogućnosti stvaranja peptidne veze između aminokiselina, što je još jedna potvrda nezamenljive i vitalne uloge rRNK molekula u ribozomima. Istraživanja molekulske strukture ribozomalnih subjedinica pomoću krio-EM omogućila su neosporno dokazivanje katalitičke aktivnosti molekula rRNK, jer su pokazala da molekuli proteina ribozoma nisu prisutni na mestu gde se odvija reakcija stvaranja peptidne veze, već samo molekul rRNK. Molekuli rRNK u aktivnom mestu ribozoma omogućavaju i katalizuju stvaranje peptidnih veza između aminokiselina u molekulima proteina.

Pored ribozomalne RNK (koja formira oslonac za molekul iRNK) za formiranje polipeptidnog lanca neophodna je još jedna kategorija RNK, transportna RNK (tRNK), koja ribozomima prinosi aminokiseline. Aminokiseline u skladu sa redosledom zapisanim na iRNK, međusobno se povezuju u polipeptidni lanac. Treba istaći da se specifičnost aminokiselinskog sastava i njihov redosled u polipeptidnom lancu ne zasniva na specifičnosti ribozoma ili rRNK, oni samo katalizuju procese povezivanja aminokiselina, specifičnost polipeptidnog lanca zavisi isključivo od zapisa na molekul iRNK. Informacija o redosledu aminokiselina u proteinu sadržana je u rasporedu nukleotida u iRNK. Nukleotidi na molekul iRNK čitaju se u grupama po tri i to su tripleti nukleotida ili šifre za aminokiseline koje se zovu kodoni.

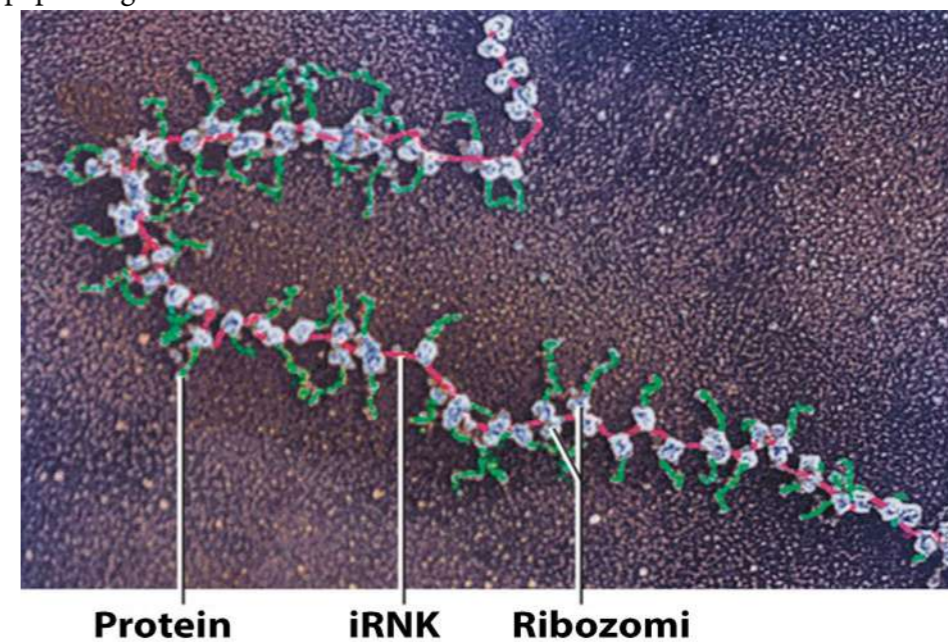


[203]  
Šematski prikaz  
građe sintetski  
aktivnog  
ribozoma

U trenutku vezivanja aminokiselina za polipeptidni lanac u ribozomu se nalaze tri kodona. Prevođenje šifre kodona sa molekula iRNK u redosled aminokiselina u proteinu vrši se uz pomoć molekula tRNK, koji na sebi nose antikodone. Antikodoni su tripleti nukleotida komplementarni kodonu iRNK. Svaka aminokiselna koja se dodaje na rastući polipeptidni lanac je izabrana uzajamnim prepoznavanjem kodona na iRNK i antikodona na tRNK. Nakon uspostavljanja peptidne veze između nove aminokiseline i već sintetisanog polipeptidnog lanca, dolazi do odvajanja te aminokiseline od tRNK. Postoji veliki broj jedinjenja koja sprečavaju rad ribozoma u ćelijama, jedan od mehanizama je sprečavanje sinteze rRNK ili ribozomalnih proteina.

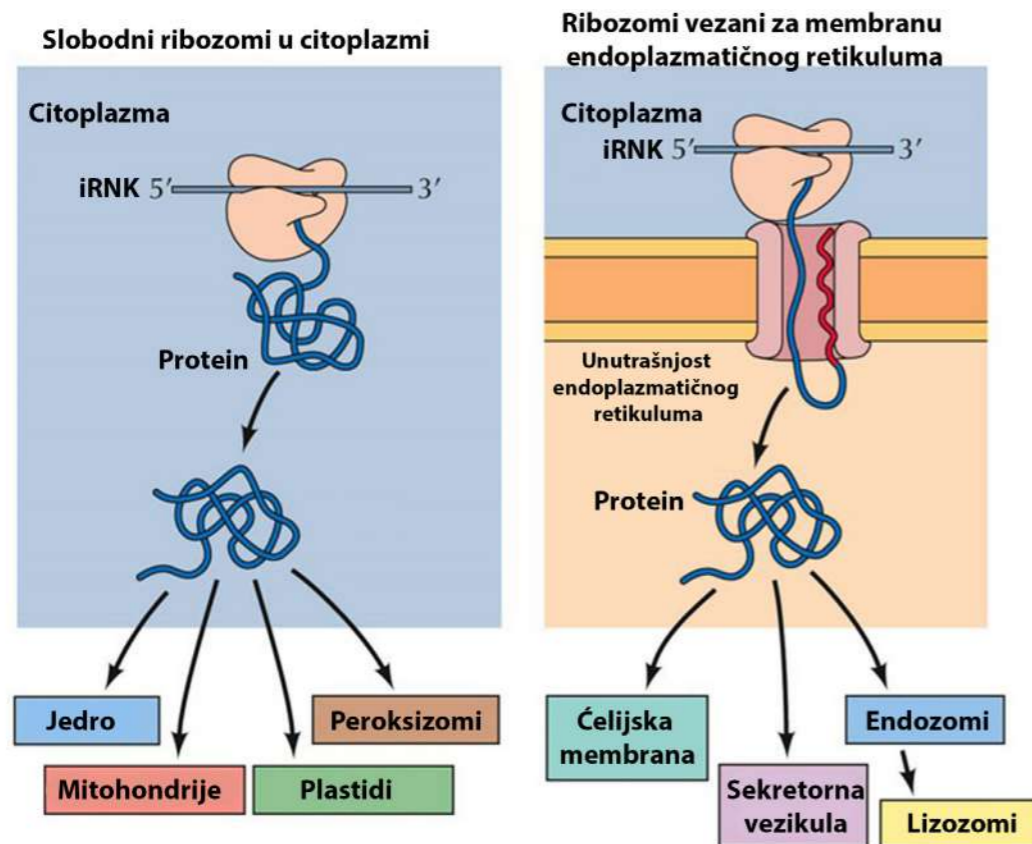
## POLIRIBOZOMI

Povezivanje ribozoma u poliribozome obavlja se na molekulima iRNK, a broj vezanih ribozoma zavisi od dužine molekula iRNK, dok je rastojanje između pojedinih ribozoma na molekul iRNK oko 80 nukleotida. Sinteza proteina počinje u onom momentu kada se u citoplazmi mala i velika subjedinica ribozoma udruže sa molekulom iRNK (koji klizi kroz malu subjedinicu) i sa adekvatnim tRNK molekulima. Veza između ribozoma i iRNK molekula ostvaruje se preko njenih fosfatnih grupa i aminoostataka adenina, citozina, uracila i guanina na molekulima iRNK i rRNK. Prikopčavanje prvog ribozoma za iRNK obavlja se preko njegove male subjedinice na tačno određenom mestu molekula iRNK uz prisustvo dvovalentnih katjona kalcijuma, magnezijuma i mangana. Nakon toga vezuje se i velika subjedinica u kompleks iRNK-mala subjedinica i u tom trenutku počinje sinteza proteina. U cilju brže i produktivnije sinteze proteina neretko veći broj ribozoma se povezuje na jednu istu iRNK i tada ova složena struktura predstavlja poliribozom. Ribozomi se u poliribozomu ne vezuju nasumično, već je njihov raspored precizan. Oni klize duž molekula iRNK a poliribozom tako predstavlja visokoorganizovanu strukturu [203]. Analize na TEMu pokazuju da su poliribozomi oblika nezatvorenog kruga ili spirale, kao i da su male subjedinice uvek okrenute ka unutrašnjoj strani kruga, dok su velike subjedinice okrenute ka spoljašnjoj strani kruga poliribozoma. Povezivanjem ribozoma u poliribozome oni postaju specijalizovani za sintezu jednog određenog polipeptidnog lanca.



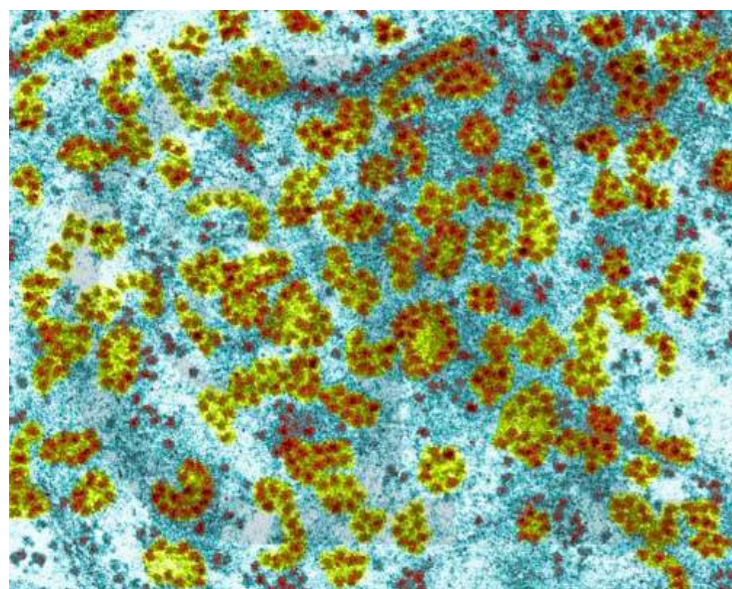
[204] Elektronmikrografija jednog poliribozoma

Poliribozomi nisu stalne strukture u citoplazmi ćelije, jer odmah nakon obavljene sinteze proteina u potrebnoj količini oni se deasembliraju na pojedinačne ribozome koji se dalje dezintegrišu na pojedinačne subjedinice [204]. Ovo je normalan fiziološki proces koji omogućava da ribozomske subjedinice mogu da se povežu sa drugim molekulom iRNK i počnu sa njega da sintetišu drugi molekul proteina. Međutim ako se u ćeliji dese velike deasembliracije poliribozoma, raspadanje i nagomilavanje usamljenih, nefunkcionalnih ribozoma ili njihovih subjedinica u ogromnom broju u citoplazmi je znak patološkog stanja ćelije. Na tankim presecima posmatranim na TEM-u kao što je spomenuto u citoplazmi eukariotskih ćelija mogu se zapaziti slobodni poliribozomi koji podsećaju na kratke niske perli koje najčešće formiraju nezatvorene kružnice, kao i oni koji su vezani za citoplazmatičnu stranu membrana endoplazmatičnog retikulima.



[205] Šematski prikaz funkcionalnih tipova ribozoma

Različita lokacija poliribozoma u ćeliji može da definiše njegov fiziološki tip, jer često različito lokalizovani ribozomi sintetišu različite proteine na sebi. Naime, ribozomi slobodnih poliribozoma su jedan fiziološki tip i sintetišu polipeptidne lance solubilnih citoplazmatičnih proteina; proteine koji izgrađuju komponente jedra; proteine lamine ćelijske membrane; skeleta; peroksizoma; polipeptidne lance najvećeg broja proteina koji učestvuju u izgradnji i funkcionisanju mitohondrija; kao i proteine koji izgrađuju u biljnim ćelijama plastide i obavljaju fiziološke procese na njihovim membranama [205, 206]. Sa druge strane ribozomi koji su vezani za membrane endoplazmatičnih retikuluma su drugi fiziološki tip i sintetišu eksportne proteine: transmembranske proteine; periferne proteine na vanćelijskoj strani ćelijske membrane i proteine lizozoma. Pored njih sintetišu i polipeptidne lance proteina svih biomembrana u ćeliji vezanih za njihovo funkcionisanje i regeneraciju; proteine



[206] Elektronmikrografija ribozoma i poliribozoma iz hepatocita jetre na kojoj su poliribozomi naknadno obojeni žutom bojom

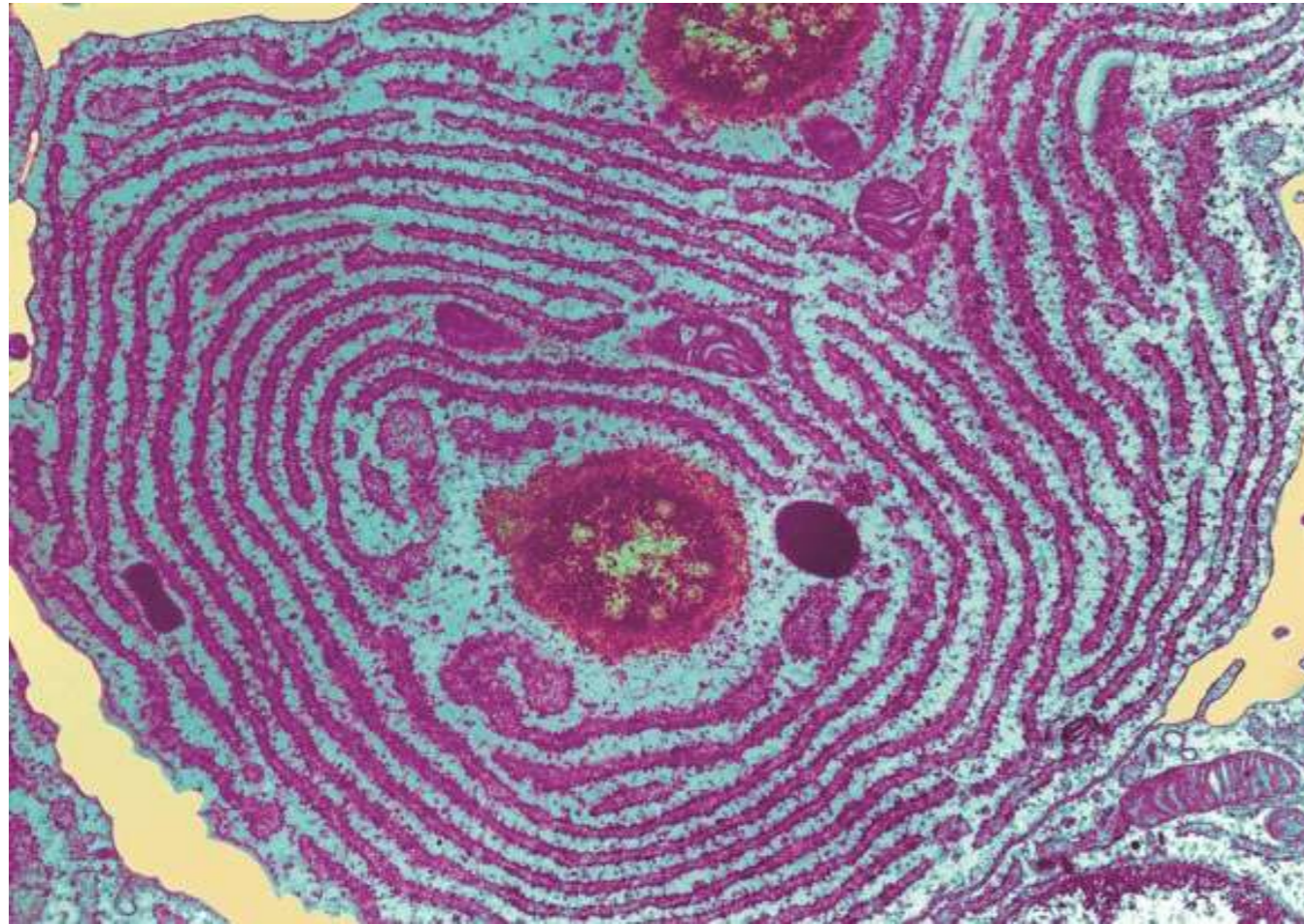
uključene u izgradnji i funkcionisanju sekretornih vezikula; proteine koji formiraju membrane endozoma i njihov transport kroz citoplazmu; kao i polipeptidne lance koji udruživanjem omogućavaju ostvarivanje uloge lizozoma u ćeliji. Pravilo da različito lokalizovani ribozomi sintetišu različite tipove proteina na sebi ima i izuzetaka jer postoje ribozomi i poliribozomi u citoplazmi koji su na jednoj lokaciji ali sintetišu različite proteine sa različitom funkcijom i različitom krajnjom lokacijom u ćeliji.

Brzina kojom se stvara neki protein zavisi primarno od dužine iRNK, tj. broja aminokiselina koje grade finalni protein, ali brzina ribozoma, efikasnost translacije, zavisi od drugih metaboličkih faktora u ćelijama. Eukariotski ribozomi u jednoj sekundi dodaju dve aminokiseline na polipeptidni lanac, a prokariotski su brži deset puta i dodaju oko 20 aminokiselina u sekundi.

*U prazan deo stranice šematizovano predstavi sintezu proteina počevši od molekula DNK:*

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*





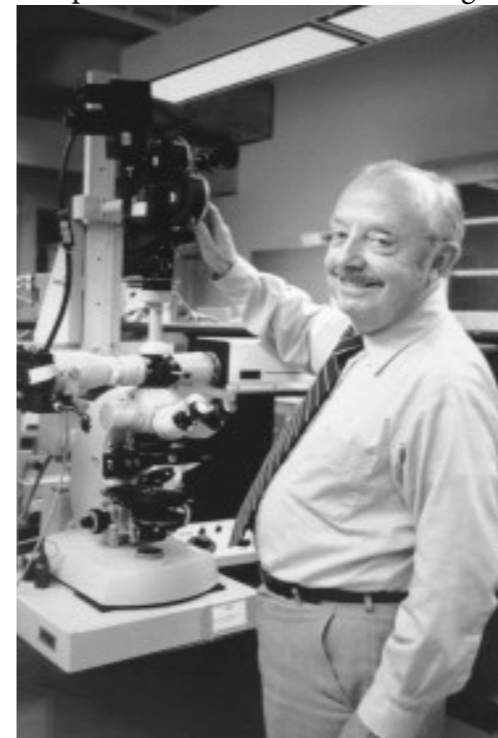
[207]

# ENDOPLAZMATIČNI RETIKULUM

Granulisani endoplazmatični retikulum  
Agranulisani endoplazmatični retikulum

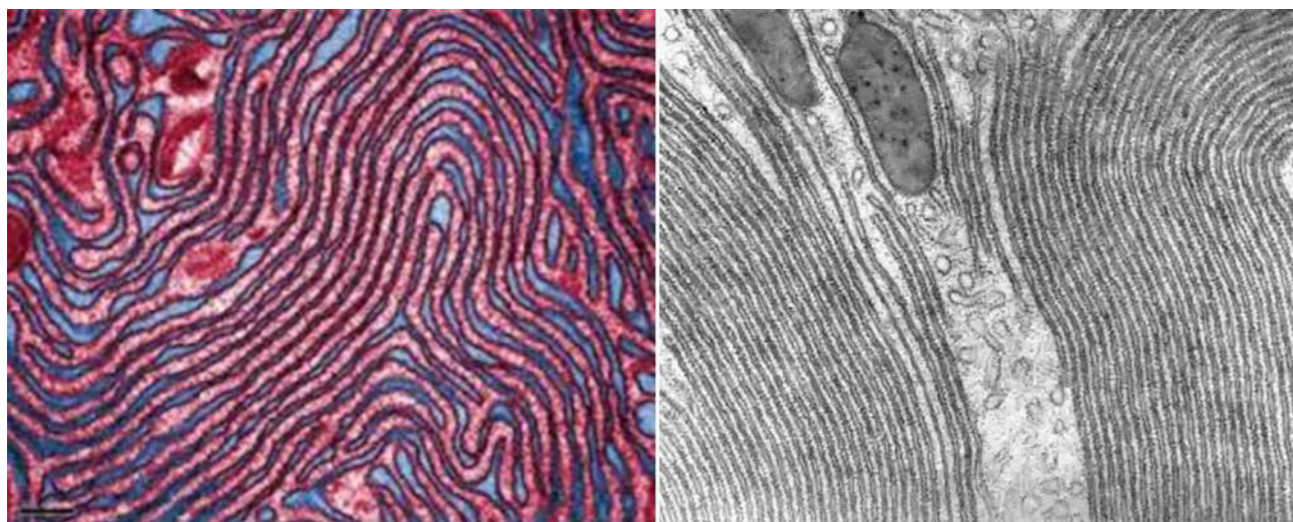
Biomembrane prisutne su na površini svake prokariotske i eukariotske ćelije gde ih morfološki i fiziološki odvajaju od njihove okoline, kao što i izgrađuju sve unutarćelijske membrane eukariotskih ćelija. Sve biomembrane ćelija imaju sličnu strukturno-funkcionalnu organizaciju bez obzira na svoj položaj; tj. da li ograničavaju samu ćeliju ili organele, jedro ili grade metaboličke membrane plastida i mitohondrija. Unutarćelijske membrane građene su od fluidno lipidnog dvosloja u koji je uronjen mozaik proteina i za samo neke od njih je karakteristično i prisustvo polisaharidnih molekula. Organizacijom unutarćelijskih membrana koje izdvajaju unutrašnji prostor ćelije u obliku cisterni od okolne citoplazme nastaje endoplazmatični retikulum. Hipoteza da su neke (ne važi za plastide i mitohondrije) unutarćelijske membrane koje okružuju organele i jedro u toku evolucije nastale invaginacijom ćelijske membrane koja je okruživala proeukariotsku ćeliju potvrđuje se u slučaju membrana koje grade endoplazmatični retikulum. Naime, ćelijska membrana u svom lipidnom dvosloju sadrži kompleks integrisanih membranskih proteina nazvanih CHIP28 i taj isti kompleks proteina sadrže i membrane endoplazmatičnog retikuluma, što samo govori u prilog činjenici da su endoplazmatične membrane u kontinuitetu sa ćelijskom membranom. Endoplazmatični retikulum tako pripada ćelijskim membranskim organelama (što znači da imaju membranu koja ih ograničava) i postoji samo kod eukariotskih ćelija a organizovan je u dva oblika - granulisanom i agranulisanom. Polisaharidne komponente membrane endoplazmatičnog retikuluma prisutne su uvek samo na onoj njenoj površini koja je okrenuta ka unutrašnjosti ove organele - cisterni, nikada ih nema prema citoplazmi.

Veliki broj cisterni endoplazmatičnog retikuluma u bazalnim delovima ćelija pankrasa i pljuvačnih žlezdi na svetlosnom mikroskopu prvi put je uočio 1897. godine francuski lekar i citolog Charles Garnier i nazvao ga ergastoplazma. Pod tim imenom se podrazumevala bazofilna oblast citoplazme ćelije oko jedra u kojoj se odigravala sinteza proteina. Četrdeset i osam godina kasnije, 1945. godine, sa konstruisanjem elektronskog mikroskopa i u eri njegove najveće upotrebe naučnik Keith Roberts Porter prvi je detaljno sagledao, definisao i opisao ergastoplazmu, zaključio da je u pitanju organela i dao joj ime endoplazmatični retikulum [208]. Prisustvo ove organele kasnije je dokazano kod svih biljnih i životinjskih ćelija, a izmerena debljina membrana njenih cisterni je oko 6 nm. U mnogim ćelijama pored sintetskih procesa endoplazmatični retikulum ima ulogu za unutarćelijsko održavanje homeostaze jona kalcijuma.



[208] Na slici je naučnik Keith Roberts Porter, kanadsko-američki ćelijski biolog, pored jednog od prvih elektronskih mikroskopa. Porter je naučnik-pionir u radu sa elektronskim mikroskopom, istraživao je sve strukture ćelije i opisivao ih, mnogo uspeha je imao i u prikazivanju građe eukariotskih ćelija. Kako bi unapredio istraživanja iz oblasti biologije ćelije Porter je prvi postavio i razvio citološku metodu kultura ćelije i transplantaciju jedra.

Pod elektronskim mikroskopom uočava se da su membrane endoplazmatičnog retikuluma prostorno organizovane na dva načina - u obliku ploča ili; u obliku dužih ili kraćih cevčica, tj. tubula, koje mogu da zauzmu i oblik vezikula [209]. Unutrašnjost ploča i tubula endoplazmatičnog retikuluma označava se kao cisterna. Oblik ploče endoplazmatičnog retikuluma organizovan je pomoću velikih površina membrana koje se pružaju koncentrično oko jedra u citoplazmi. Sa druge strane na TEM-u endoplazmatični retikulum zapaža se u vidu tankih vrpca, mehurića nepravilnog oblika ili većih balonastih struktura, to su oblici drugog tipa prostorne organizacije ove organele - cevčice. One su međusobno povezane, obrazuju mrežu koja se proteže kroz celu citoplazmu i karakteristične su za tip i stepen diferencijacije ćelije. Oblici cevčica su: izdužene i spljoštene kesice koje na poprečnom preseku imaju izgled uskih kanala, postavljenih paralelno; manje ili više proširene kesice koje se na određenim mestima sužavaju i proširuju pa dobijaju izgled niske vezikula povezanih kanalima; i oblik cevčice koji je i najheterogenija grupa oblika organizacije endoplazmatičnog retikuluma i obuhvata različite manje ili više razgranate oblike. U izgradnji jednog endoplazmatičnog retikuluma učestvuje kombinacija oba načina organizovanja opisanih struktura.

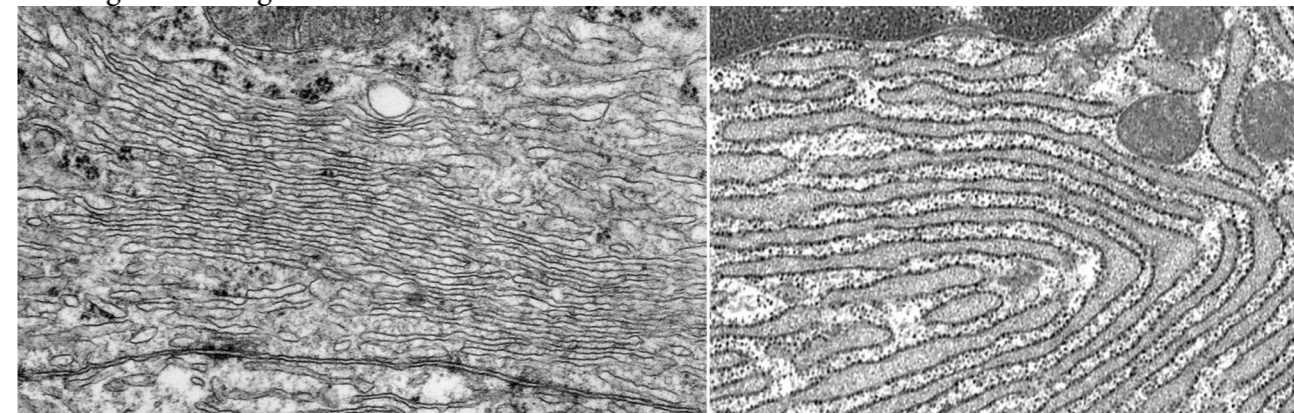


[209] Elektronmikrografija cisterni endoplazmatičnog retikuluma u obliku vezikula i tubula (levo) i ploča (desno)

Na citoplazmatičnoj površini membrana endoplazmatičnog retikuluma pričvršćeni su poliribozomi u obliku kružnih formacija, pa se ovakav endoplazmatični retikulum naziva hrapavi ili granulisan. Na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu odvija se sinteza polipeptidnih lanaca velikog broja proteina koji izgrađuju transmembranske, periferne i integralne proteine ćelijske membrane, polipeptidne lance proteina svih biomembrana u ćeliji u odnosu na njihovo funkcionisanje i regeneraciju, proteine koji formiraju membrane endozoma i njihov transport kroz citoplazmu, proteine uključene u izgradnju i funkcionisanju sekretornih vezikula, kao i polipeptidne lance koji udruživanjem formiraju lizosome i omogućavaju ostvarivanje njihove uloge u ćeliji. Svi sintetisani proteini na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu dospevaju u njegove cisterne ili bivaju integrisani u lipidni dvosloj njegovih membrana. Novosintetisani proteini u cisternama se dorađuju tako što na primer prelaze iz primarnog u sekundarni strukturni oblik ili se za njih vezuju oligosaharidne komponente i nastaju glikoproteini spremni da napuste cisterne.

U drugom slučaju na citoplazmatičnoj površini membrana endoplazmatičnog retikuluma ne pričvršćuju se ribozomi, pa se ovakav endoplazmatični retikulum naziva glatki ili agranulisani. Ovaj tip endoplazmatičnog retikuluma predstavlja mesto sinteze membranskih lipida, koji će izgrađivati ceo membranski sistem ćelije. Agranulisani endoplazmatični retikulum ima oblik cevolike mreže koja se proteže po celoj citoplazmi, najčešće oko mitohondrija i lipidnih kapi do ćelijske membrane. Ova dva tipa endoplazmatičnih retikuluma međusobno se razlikuju po prostornoj organizaciji, prisustvu ili odsustvu poliribozoma i po

vrsti sintetskih procesa koji se u i na njima odvijaju međutim. Pored sve različitosti membrane ova dva tipa endoplazmatičnih retikuluma su u kontinuitetu, a takođe su u kontinuitetu i njihove cisterne. Njihov kontinuitet je na nivou cevčica i ploča između kojih nema oštih granica i one prelaze iz jednog oblika u drugi. Cisterne granulisanog endoplazmatičnog retikuluma gube poliribozome sa svoje površine i prelaze u oblik agranulisaniog.



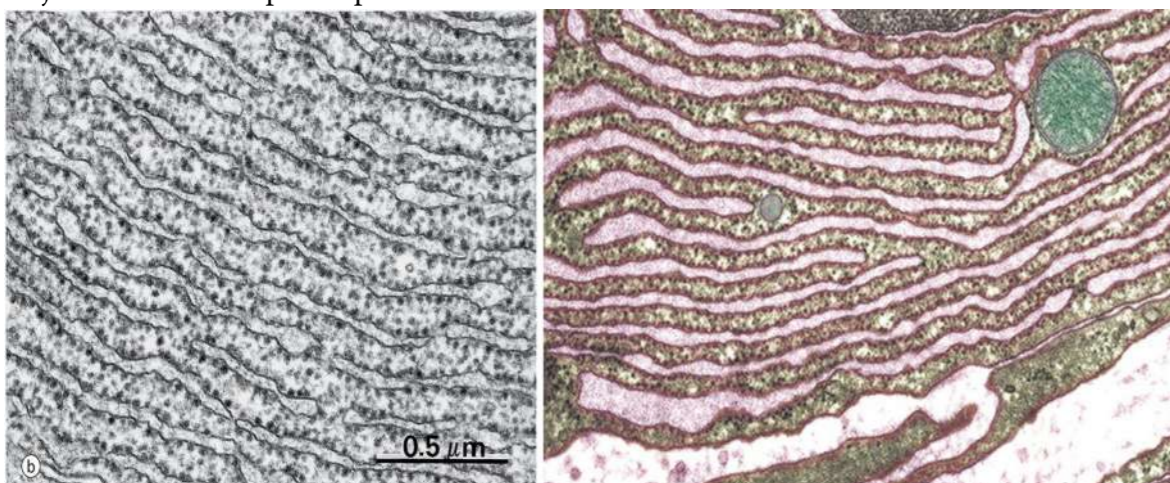
[210] Elektronmikrografije agranulisani (levo) i granulisan (desno) endoplazmatičnog retikuluma

Oblik, zastupljenost i raspored granulisanog i agranulisaniog endoplazmatičnog retikuluma menjaju se u zavisnosti od tipa, trenutnog metaboličkog intenziteta i stepena diferencijacije ćelije [210]. Citoplazma hepatocita ima promenljivu količinu oba tipa endoplazmatičnih retikuluma: ukoliko hepatociti proizvode velike količine proteina u njihovoj citoplazmi zastupljeno je puno granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, s druge strane ako hepatociti vrše procese detoksikacije, neutralizacije štetnih produkata metabolizma, tada je u njihovoj citoplazmi zastupljeno više agranulisaniog endoplazmatičnog retikuluma. Hepatociti iste vrste životinja sa različitim režimom ishrane imaju različitu zastupljenost i količinu granulisanog i agranulisaniog endoplazmatičnog retikuluma u citoplazmi, što potvrđuje zaključak da su ove organele direktno odgovorne za metabolizam ćelije. U citoplazmi plazmocita, ćelija vezivnih tkiva koje učestvuju u imunom odgovoru i sintetišu imunoglobuline, prisutna je velika količina granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, jer se na njemu sintetišu polipeptidi koji izgrađuju imunoglobuline. Adrenokortikociti su ćelije nadbubrežne žlezde koje sintetišu određene steroidne hormone i u svojoj citoplazmi imaju velike količine agranulisaniog endoplazmatičnog retikuluma, jer se na ovoj organeli sintetiše holesterol, koji se kasnije modifikuje u steroidne hormone. Kod biljnih i nekih životinjskih ćelija granulisan i agranulisani endoplazmatični retikulum slabo je razvijen u mladim, meristemskim ćelijama, dok se sa porastom veličine, fiziološke aktivnosti i diferencijacije ćelije ove organele sve više razvijaju i svoj maksimum dostižu u onim biljnim ćelijama koje se pripremaju za ćelijsku deobu. Najinteresantnije su diferencirani tip ćelija jednoćelijskih gljiva koje mogu da prouzrokuju fermentaciju, jer se kod njih povećava razvijenost endoplazmatičnog retikuluma u situacijama kada se one nađu u anaerbnim uslovima. Tada, ćelije ovih gljive prelaze delimično sa aerobnog na anaerobni metabolizam pri čemu cisterne njihovih endoplazmatičnih retikuluma preuzimaju ulogu mitohondrija i na sebi vrše procese ćelijskog disanja.

## GRANULISANI ENDOPLAZMATIČNI RETIKULUM

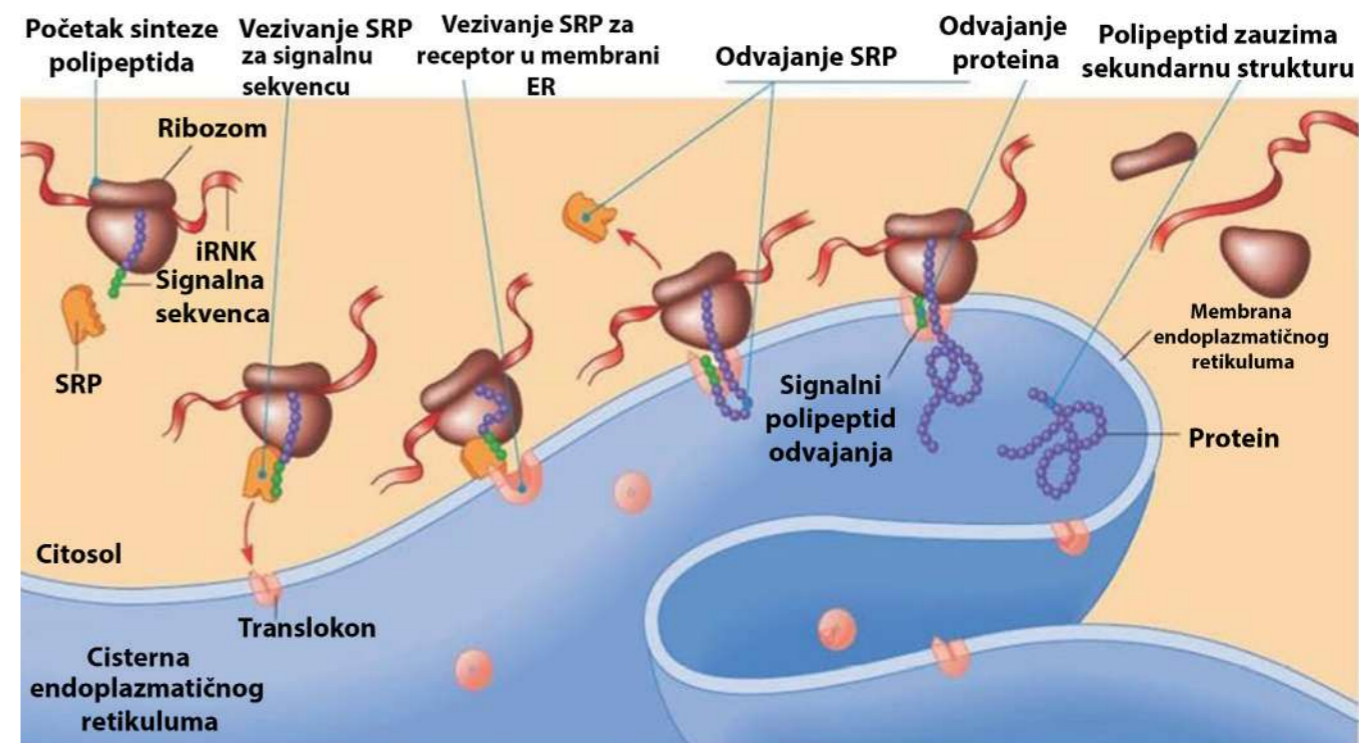
Paralelne pločaste membrane granulisanog endoplazmatičnog retikuluma na sebi imaju pričvršćene organizovane poliribozome sa svoje citoplazmatične strane. Prostor koji je membranom endoplazmatičnog retikuluma odvojen od citoplazme naziva se cisterna granulisanog endoplazmatičnog retikuluma [211]. Membrana granulisanog endoplazmatičnog retikuluma u kontinuitetu je sa spoljašnjom membranom nukleusnog omotača. Orijehtacija velike i male subjedinice ribozoma je veoma precizno organizovana gledano na poprečnom preseku membrane, sve velike subjedinice okrenute su prema membrani granuli-

sanog endoplazmatskog retikuluma dok su male okrenute prema citoplazmi; dok gledano u odnosu na tangencionalni presek sve male subjedinice okrenute su ka unutrašnjosti krive koju formira poliribozom, dok su velike subjedinice okrenute prema spoljašnjosti krive. Što znači da je položaj ribozoma u poliribozomu vezanom za membranu granulisanog endoplazmatskog retikuluma isti kao i u slobodnom citoplazmatskom poliribozomu. Granulisani endoplazmatski retikulum uključen je u sintezu tri osnovne grupe proteina: proteina koji izgrađuju sve biomembrane jedne ćelije - unutarćelijske membrane i ćelijsku membranu; proteina koji služe ćeliji za sve njene fiziološke procese i gradivne proteine granulisanog endoplazmatskog retikuluma, Goldži aparata, endozoma i lizozoma; i svih proteina koje ćelija sekretuje u vanćelijsku sredinu - eksportni proteini.



[211] Elektronmikrografije granulisanog endoplazmatskog retikuluma, na slici desno membrane granulisanog endoplazmatskog retikuluma obojene su bordo bojom, citoplazma je siva, unutrašnjost cisterne je roza i mitohondrija je zelena

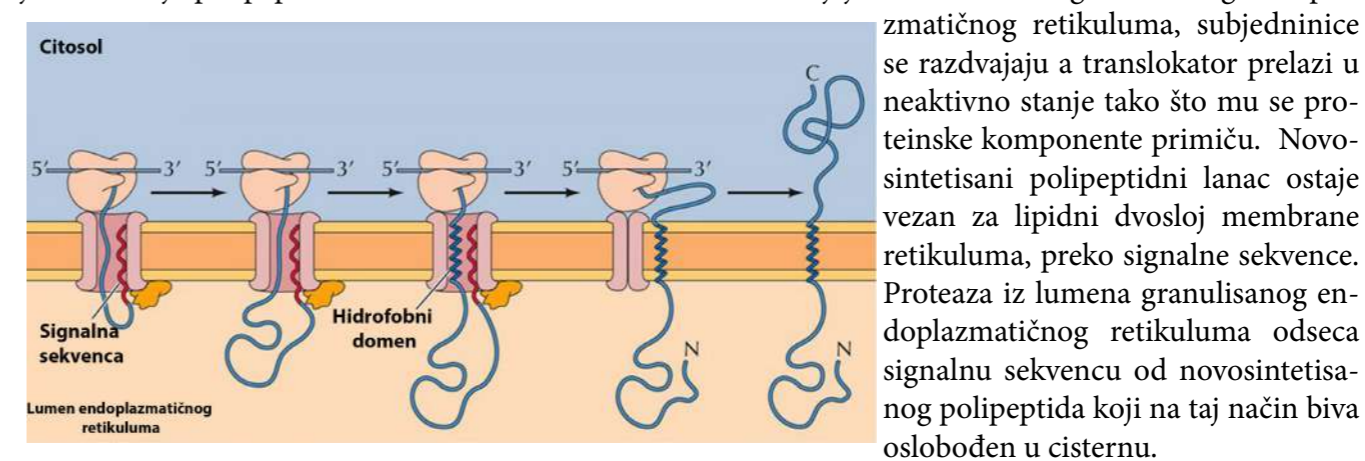
Proces sinteze proteina na ribozomima počinje još dok su ribozomske subjedinice u citoplazmi i nisu vezane za membranu granulisanog endoplazmatskog retikuluma. Sinteza proteina na granulisanom endoplazmatskom retikulumu počinje objedinjavanjem male i velike subjedinice ribozoma preko molekula iRNK u poliribozome. Pored slobodnih ribozoma u citoplazmi neophodno je prisustvo tRNK koje prinose za sebe vezane aminokiseline, enzimi i faktori specifični za procese sinteze proteina, kao i povezanost poliribozoma za citoplazmatičnu površinu membrana granulisanog endoplazmatskog retikuluma. Enzimi i faktori specifični za proces sinteze proteina su lokalizovani na membrani i u prostor cisterne granulisanog endoplazmatskog retikuluma. Nailaskom male subjedinice ribozoma na iRNK one se vezuju, nakon čega se ubrzo za njih vezuje i velika subjedinica i odmah još u tom stadijumu počinje sinteza polipeptida. Kratak tek oformljen početak polipeptidnog lanca sintetisan na ribozomu u citoplazmi naziva se signalna sekvenca i on se vezuje za ribonukleoprotein iz citoplazme koji se naziva signal raspoznavajuća partikula - SRP. Dalje, se SRP zajedno sa signalnom sekvencom i ribozomom povezuje za specifični transmembranski proteinski receptor za SRP. Specifični transmembranski proteinski receptor za SRP je prisutan na membrani granulisanog endoplazmatskog retikuluma [212]. Vezivanje SRP za receptor na membrani granulisanog endoplazmatskog retikuluma dovodi kompleks SRP-ribozom do slobodnog proteina translokatora u istoj membrani. Na ovaj visokospecifičan način omogućeno je da se ribozom sa svojom velikom subjedinicom poveže za membranu retikuluma. U isto vreme translokator širi svoje proteinske komponente od kojih je izgrađen u membrani i postaje funkcionalan. Nakon odvajanja SRPa i receptora za SRP, kroz translokator se provlači rastući polipeptidni lanac i ulazi u cisternu granulisanog endoplazmatskog retikuluma. U slučaju da se velika subjedinica ribozoma ne poveže preko translokatora i signalne sekvence sa membranom retikuluma, ribozom postaje neaktivan, razdvaja se na malu i veliku subjedinicu i oslobađa molekul iRNK u citoplazmi.



[212] Šematski prikaz vezivanja i odvajanja ribozoma od membrane granuliranog endoplazmatskog retikuluma u procesu sinteze proteina

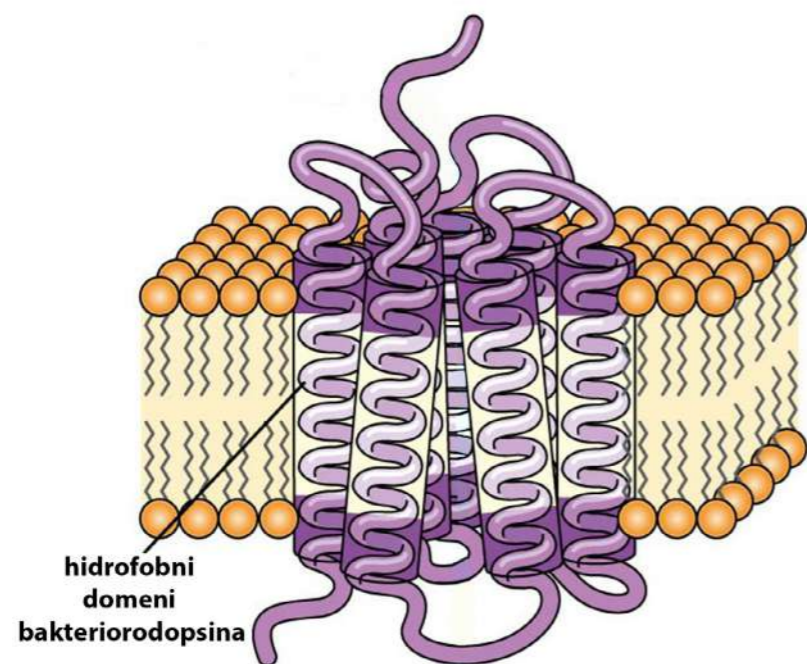
Kratka polipeptidna signalna sekvenca ostaje vezana za translokator, za sve vreme sinteze proteina i ona proteinu predstavlja pokazatelj kuda će prolaziti kako bi dospo u cisternu granulisanog endoplazmatskog retikuluma. S druge strane signal raspoznavajuća partikula (SRP) se odvajaju od celog proteinskog kompleksa u trenutku vezivanja signalne sekvence u specifični transmembranski proteinski receptor. Novosintetisani polipeptidni lanac izdužuje se direktno u cisternu gde odmah dolazi do uspostavljanja disulfidnih veza između njegovih nesusednih aminokiselina i njegovog savijanja čime dobija on sekundarnu strukturu organizaciju. Savijanje polipeptidnog lanca omogućavaju joni, enzimi i nukleotidi u cisterni granulisanog endoplazmatskog retikuluma.

Sinteza polipeptidnog lanca prestaje onog momenta kada se na ribozomu sa iRNK pročita stop-signal, to je znak da je polipeptid ceo sintetisan. Ribozomi se tada odvajaju od membrane granulisanog endoplazmatskog retikuluma, subjedinice se razdvajaju a translokator prelazi u neaktivno stanje tako što mu se proteinske komponente primiču. Novosintetisani polipeptidni lanac ostaje vezan za lipidni dvosloj membrane retikuluma, preko signalne sekvence.



[213] Šematski prikaz ugrđivanja novosintetisanog proteina u lipidni dvosloj membrane granuliranog endoplazmatskog retikuluma

Proteini koji ostaju kao konstituenti membrana imaju drugačiju sudbinu oslobađanja od ribozoma ili poliribozoma na kojima su sintetisani. Naime, tokom njihove sinteze sintetiše se i niz aminokiselina koji se naziva hidrofobni domen transmembranskog proteina i koji ostaje inkorporiran u membrani, pored signalne sekvence i oslonjen na unutrašnju površinu translokatora [213]. Hidrofobni domen trajno se vezuje za unutrašnji deo lipidnog dvosloja, translokator prelazi u neaktivno stanje tako što mu se proteinske komponente primiču a ribozom se na površini odvaja od njega i membrane granulisanog endoplazmatskog retikuluma. Postoji situacija kada transmembranski protein koji se sintetiše za izgradnju membrana više puta prolazi, izlazi i ulazi, kroz membranu, kao što je protein bakteriorodopsin [214]. Tada novosintetisani protein prilikom sinteze poseduje veći broj hidrofobnih domena, koji se zadržavaju u membrani, a sa sintezom proteina se nastavlja dok on ne dobije konačnu dužinu.



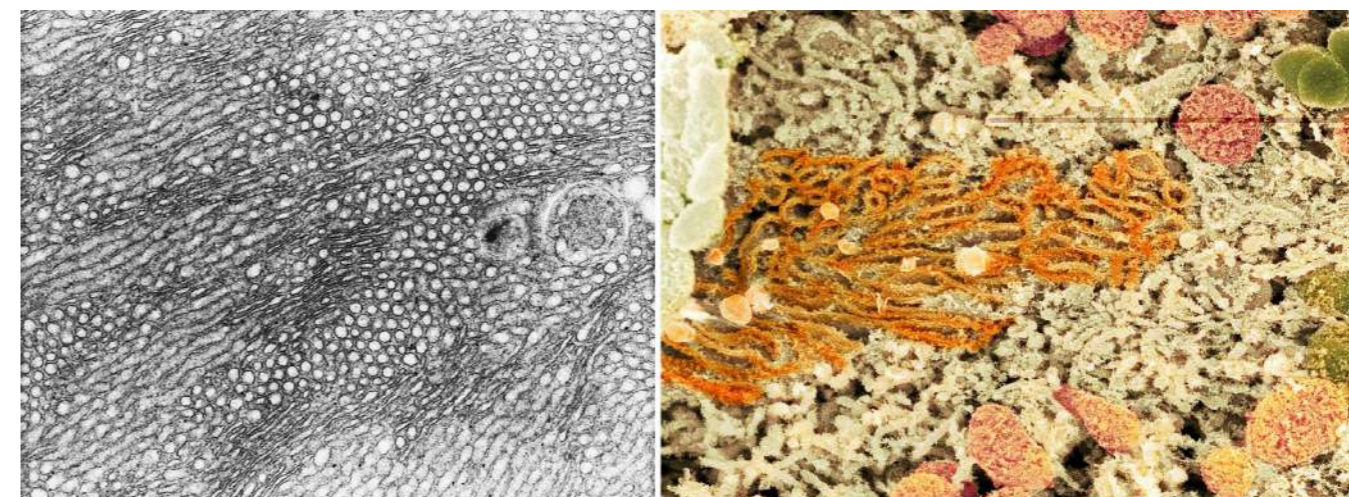
[214] Šematski prikaz bakteriorodopsina

Sudbina novonastalog proteina na granulisanom endoplazmatskom retikulumu zavisi od molekula proteina koji ih privremeno prihvataju, vezuju se za njih, usmeravaju ih dalje na obradu prema membrani retikuluma ili njenoj cisterni. Ukoliko je novosintetisani polipeptid budući glikoprotein, u cisterni granulisanog endoplazmatskog retikuluma počinje njegova glikolizacija. Glikolizacija se odvija vezivanjem oligosaharida od 14 molekula: N-acetil glukozamina, manoze i glukoze. Sinteza proteina neretko se ne završava na granulisanom endoplazmatskom retikulumu, već se oni transportuju do Goldži aparata, gde dolazi do njihove obrade, sortiranja i pakovanja. Izuzetak od svih načina obrade novosintetisanih polipeptida su lanci koji su iz bilo kog razloga pogrešno sintetisani ili foldovani (isavijani), oni se eksportuju iz granulisanog endoplazmatskog retikuluma u citoplazmu i tamo ih razgrađuju proteazomi.

Granulisani endoplazmatski retikulum ima značajnu ulogu u održavanju metabolizma jona kalcijuma u ćelijama iz razloga što su joni kalcijuma neophodni za odigravanje procesa na endoplazmatskim membranama. Joni kalcijuma regulišu sintezu proteina i uspostavljanje sekundarne strukture proteina u ćeliji takođe, omogućavaju sekreciju proteina u vanćelijsku sredinu, kao i funkcionisanje citoskeleta i odvijanje ćelijske deobe. Nivo koncentracije jona kalcijuma u ćelijama zbog svih nabrojanih metaboličkih procesa zavisi direktno od nivoa aktivnosti granulisanog endoplazmatskog retikuluma.

## AGRANULISANI ENDOPLAZMATIČNI RETIKULUM

Citoplazmatska površina membrana endoplazmatskog retikuluma bez pričvršćenih ribozoma ili poliribozoma na sebi kao što je već spomenuto naziva se agranulisani endoplazmatski retikulum [215, 216]. Širina tubula i vezikula agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma varira i neretko se tubule povezuju između sebe i formiraju lokalna proširenja pa se dobija izgled vezikula povezanih tubulama u sistem mreže. Elementi cevolikog agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma mogu međusobno da se povezuju u razgranatu strukturu, a i ne moraju tada su cevi složene paralelno jedna pored druge. Teško, praktično je nemoguće opisati tačnu građu agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma, jer ona varira u zavisnosti od tipa ćelije i njenog trenutnog metabolizma. Region citoplazme u kojem se proteže granulisan endoplazmatski retikulum kao što je spomenuto obojen je bazofilnim bojama, dok je region sa agranulisanim retikulumom obojen acidofilnim bojama iz razloga što su njegovi metaboliti bazni. Cevolike strukture ove organele protežu se oko mitohondrija i lipidnih kapi u citoplazmi iz razloga što su njihovi metaboliti nužni za sintezu lipidnih makromolekula, to su masne kiseline, acetil-koenzim A (CoA), glicerol, glicerol-fosfat, holin i mnogobrojni proteinski enzimi. Enzimi lipogeneze katalizuju etape sinteze lipida i nalaze u membrani endoplazmatskog retikuluma i njihova aktivna mesta su okrenuta ka citoplazmi, gde se nalaze svi potrebni metaboliti. Dakle, ovaj tip endoplazmatskog retikuluma predstavlja mesto sinteze membranskih lipida, posebno fosfolipida i holesterola i to u sloju citoplazme neposredno ispod ćelijske membrane.

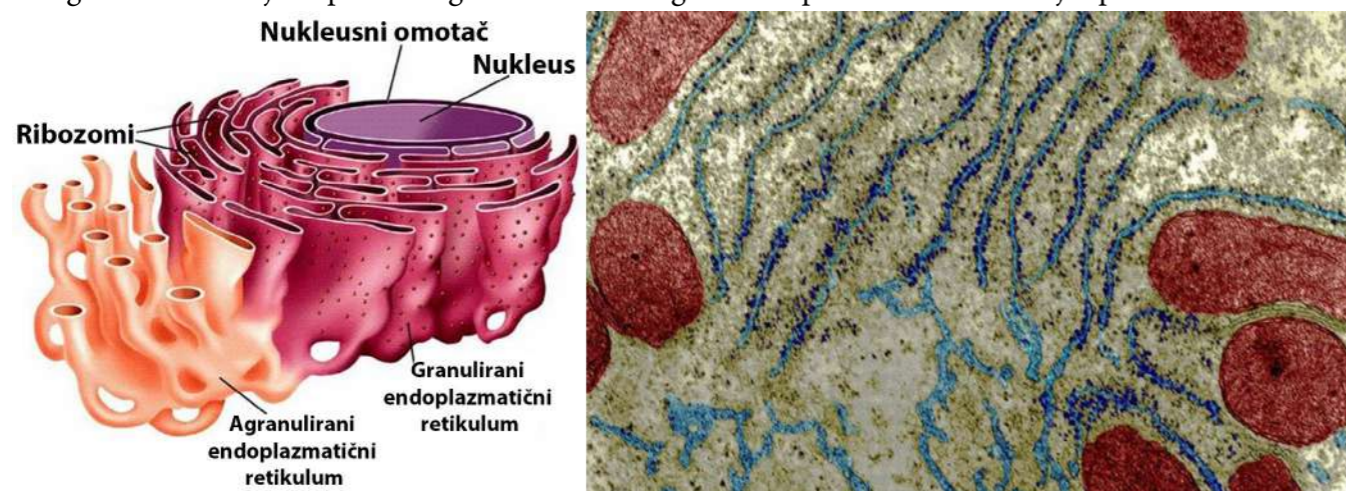


[215] Elektronmikrografije agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma (levo) i

[216] membrane agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma obojene naknadno narandžastom bojom (desno)

Građa tubula, vezikula i cisterni agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma usko je povezana sa njegovom ulogom u ćeliji. Naime, enzimi koji katalizuju faze sinteze lipidnih molekula prisutni su na citoplazmatskoj strani membrane ove organele; monomerni molekuli neophodni za sintezu lipida nalaze se u citoplazmi; dok su enzimi neophodni za doradu novosintetisanih molekula lipida, prelazni oblici lipida i joni prvenstveno kalcijuma nalaze u membranama i cisternama agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma. Neki od enzima uključenih u sintezu nezasićenih masnih kiselina i lipidnih molekula na membranama agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma su fosfataze, fosfotransferaze, citohrom b5, citohrom P450 i proteini prenosioci lipidnih molekula iz jednog jednosloja membrane u drugi - flipaze. Membrane agranulisiranog endoplazmatskog retikuluma povećavaju se ili smanjuju u ćelijama pod određenim fiziološkim uslovima. Tako je dokazano da se u hepatocitima embriona sisara nalazi velika količina granulisanog endoplazmatskog retikuluma, čiji se veliki deo po rođenju organizma prevodi u agranulisani endoplazmatski retikulum. Razlog ovakvom stanju je promena fiziologije hepatocita, dok su

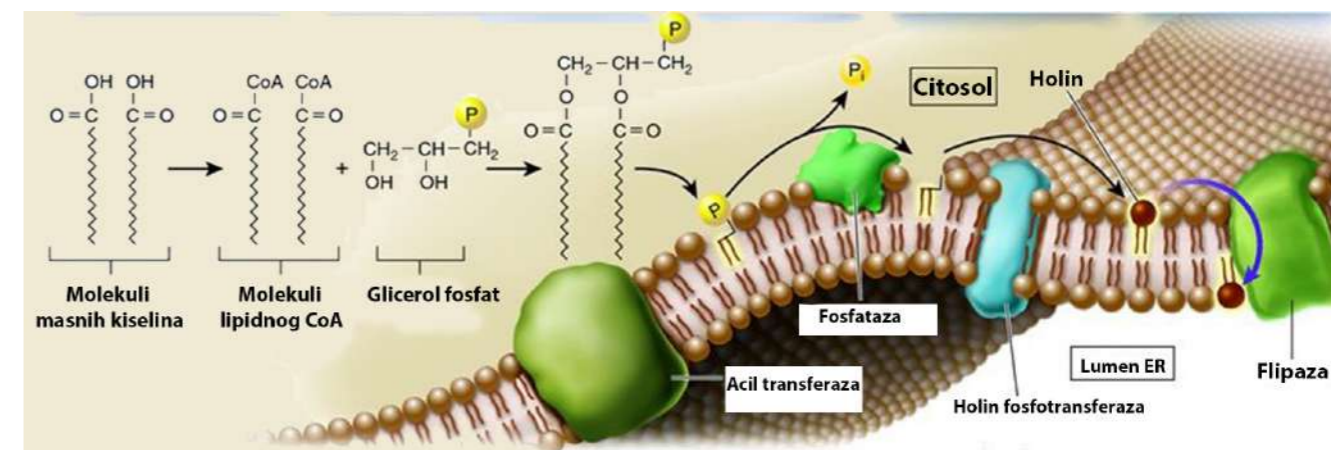
gradili jetru embriona, koji je morao da raste i razvija se bila neophodna velika količina novosintetisanih proteina, koji se stvara na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu. Rođenjem organizam počinje da bude aktivan, da se kreće, sisa, reaguje na spoljašnje uticaje i nepohodna mu je velika količina energije, hormona, ćelijskog varenja koje omogućava organela agranulisani endoplazmatični retikulum. Interesantno je da se ukupna površina endoplazmatičnog retikuluma ne povećava, nego se samo menja njegov oblik. Ovo je potvrda hipoteze da se membrane agranulisano retikuluma stvaraju od membrana granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, kao i da sve membrane u ćeliji imaju zajednično evolutivno poreklo [217, 218], osim membrana plastida i mitohondrija. Membrane koje su u jednom trenutku granulirane mogu kad god zatreba ćeliji da pređu u agranulisani oblik gubitkom poliribozoma sa svojih površina.



[217] Šematski prikaz povezanosti granularnog i agranularnog endoplazmatičnog retikuluma (levo) i [218] elektronska mikrofotografija koja pokazuje prelazak granularnog (tamno plavo) u agranularni (svetlo plavo) endoplazmatičnog retikuluma, crveno su obojene mitohondrije

Sinteza fosfolipida počinje u citoplazmi ćelije u neposrednoj blizini agranularnog endoplazmatičnog retikuluma. U prvom koraku se za slobodne molekule masnih kiselina veže po jedan molekul acetil koenzima A (CoA). Paralelno i nezavisno od ove sinteze odvija se vezivanje fosforne grupe za molekule glicerola i dobija se molekul glicerol-fosfat. Drugi korak sinteze fosfolipida odvija se na citoplazmatičnoj strani membrane agranularnog endoplazmatičnog retikuluma. On obuhvata vezivanje dva aktivirana molekula masnih kiselina sa molekulima acetil koenzima A i jednog molekula glicerol-fosfata u fosfoglicerolipid. Proces je omogućen uz pomoć enzima acil-transferaze koja učvršćuje novosintetisani molekul fosfoglicerolipida za lipidni jednosloj citoplazmatične strane agranularnog retikuluma. Treći korak sinteze lipida obuhvata oslobađanje fosforne grupe sa molekula fosfoglicerolipida enzimom koji se zove fosfataza i vezivanje molekula holina na poziciju gde je bila fosforna grupa uz pomoć enzima holinfosfo-transferaza [219]. U trećem koraku ne vezuje se uvek molekul holina, moguće je vezivanje i drugih aminokiselina koje ulaze u sastav lipida. Novosintetisani fosfolipid (holinglicerolipid u našem slučaju) ugrađen u citoplazmatičnu stranu membranskog jednosloja agranularnog endoplazmatičnog retikuluma, prelazi u njegovu cisternu i ostaje vezan za lipidni jednosloj cisterne. Tako proces sinteze lipida čini membranu agranularnog retikuluma asimetričnom, jer se novosintetisani lipidi prvo ugrađuju u spoljašnji jednosloj a onda raspoređuju ili u njemu ili u unutrašnji jednosloj. Premeštanje fosfolipida sa jedne na drugu stranu membrane, iz jednog u drugi jednosloj lipidnog dvosloja membrane agranularnog endoplazmatičnog retikuluma, obavlja se velikom brzinom i uz pomoć enzima flipaze. Flipaze prepoznaju specifične razlike u nivou glava fosfolipida, u odnosu na vezane aminokislinske grupe za njih i tako su direktno odgovorne za razmeštaj fosfolipida po membranama.

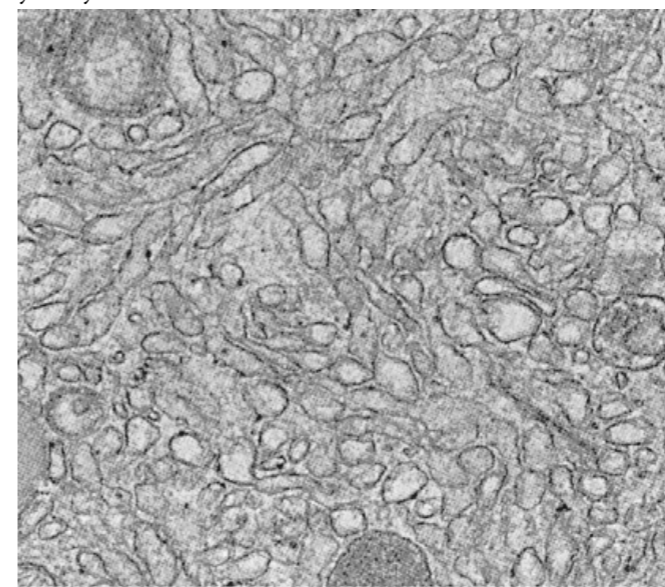
Enzim glicerol-acil transferaza koji katalizuje proces vezivanja dve masne kiseline vezane za CoA i glic-



[219] Šematski prikaz sinteze fosfolipida na membrani agranularnog endoplazmatičnog retikuluma

erolfosfata nalazi se kako u citoplazmi tako i u cisterni agranularnog endoplazmatičnog retikuluma, gde takođe, učestvuje u procesu sinteze fosfolipida. Već je napomenuto da je najvažnija uloga membrana i cisterni agranularnog endoplazmatičnog retikuluma sinteza svi membranski lipidi, posebno fosfolipida i holesterola. Pored agranularnog retikuluma u proces sinteze lipida uključene su i mitohondrije, peroksisomi i Goldži aparat.

Endokrine ćelije žlezda koje sintetisaju steroidne hormone imaju u svojoj citoplazmi zastupljeno mnogo agranularnog endoplazmatičnog retikuluma [220], gde se sintetisuje holesterol, i mitohondrije, gde se holesterol konvertuje u steroide. Konverzija holesterola u steroide obavlja se na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani.



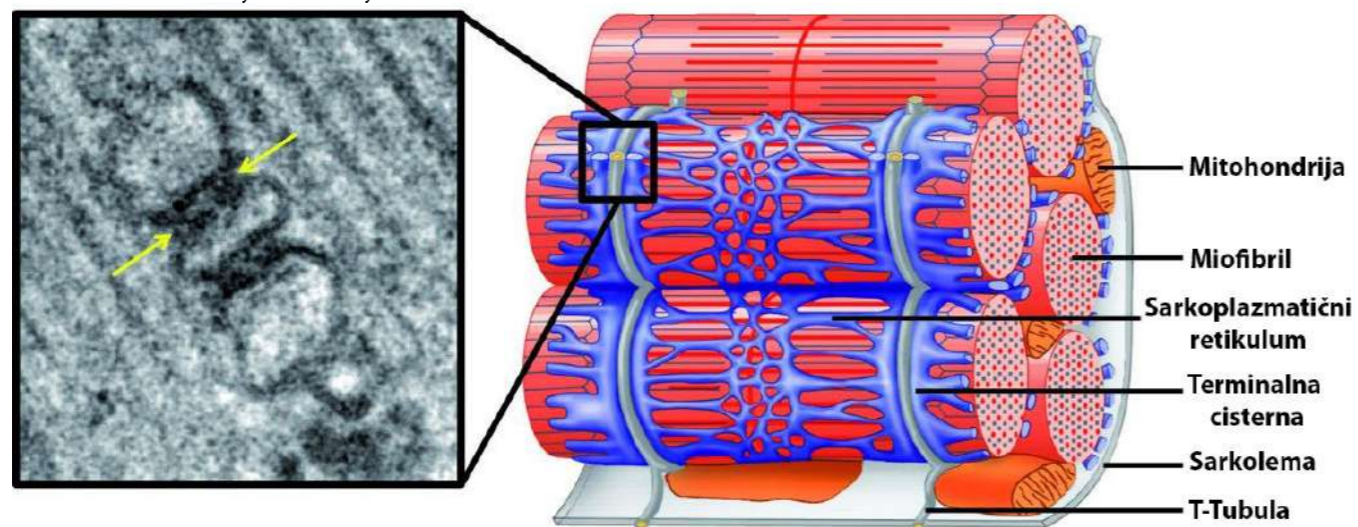
[220] Elektronska mikrofotografija agranularnog endoplazmatičnog retikuluma

Još jedna važna uloga agranularnog endoplazmatičnog retikuluma je u detoksikaciji. Štetna hidrofobna jedinjenja, poput pesticida ili nekih lekova (barbiturati) obično se hidrosilacijom prevode u jedinjenja rastvorljiva u vodi, čime je omogućeno njihovo izlučivanje iz organizma. Hidrosilacija štetnih jedinjenja obavlja se u agranularnom endoplazmatičnom retikulumu. Metaboliti nerastvorljivi u vodi akumulirali bi se u ćeliji (ćelijskoj membrani) do toksičnog nivoa - zato ih treba učiniti dovoljno rastvorljivim u vodi kako bi se izlučili putem urina.

Enterocite, apsorptivne ćelije crevnih resica odlikuje velika količina agranularnog endoplazmatičnog retikuluma u gornjoj polovini ćelije. Enterocite su polarizovane ćelije, što znači da im je jedna strana ćelije vezana za podepitelsku laminu, a druga naspramna prvoj slobodna i okrenuta ka lumenu creva. U ovim ćelijama agranularni retikulum je uključen u metabolizam triglicerida iz creva. Monogliceridi i slobodne masne kiseline (FFA) ulaze u ćelije difuzijom i putem proteinskog transporta. Molekuli holesterola ulaze u ćeliju endocitozom posredovanom klatrinom i dolaze do reciklirajućeg endozoma. Oslobođeni molekuli holesterola iz reciklirajućeg endozoma, monogliceridi i slobodne masne kiseline dolaze do agranularnog

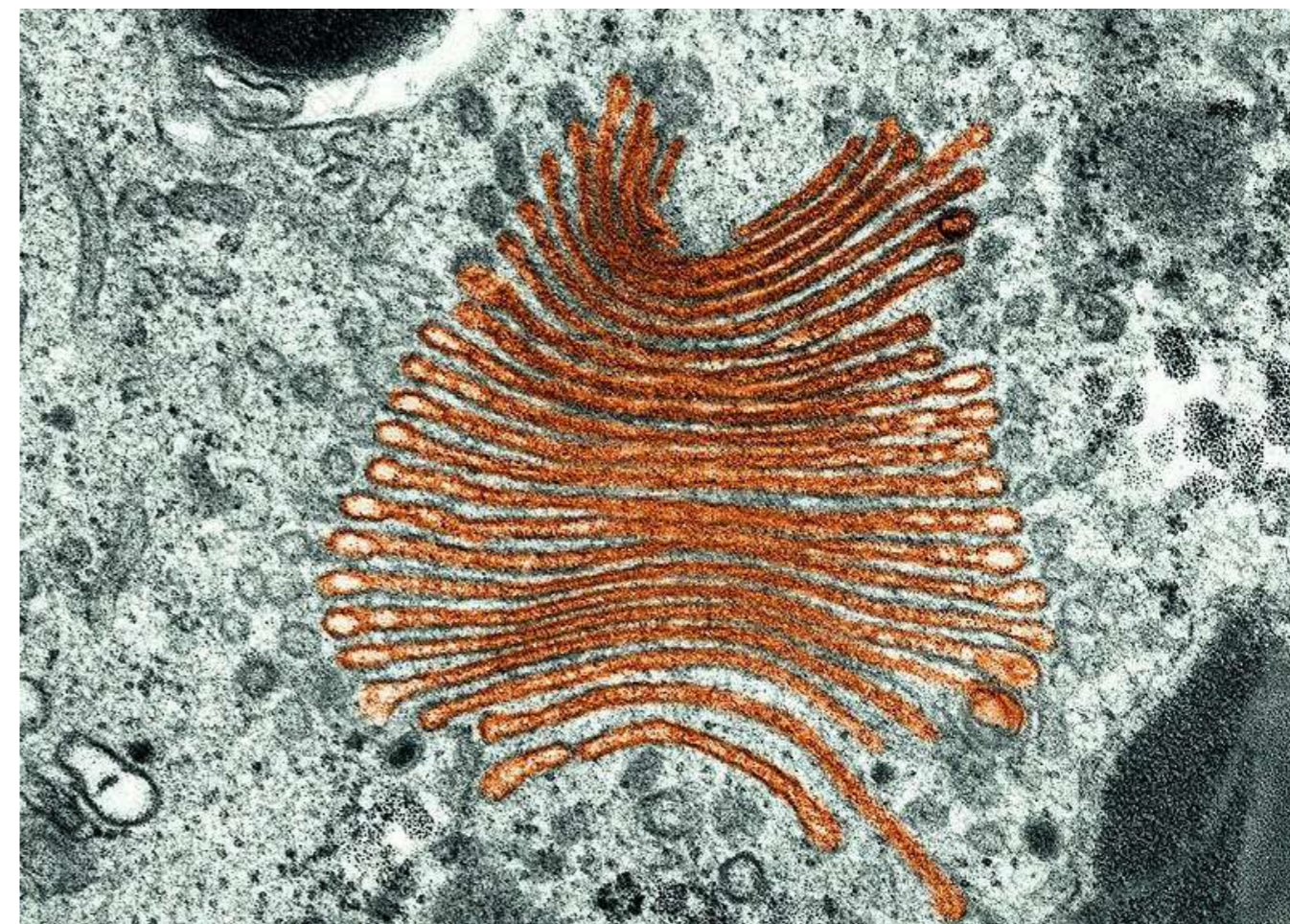
endoplazmetskog retikuluma. FFA dolaze do njega vezani za vezujuće proteine. Dalje se u agranulisanoj endoplazmatskoj retikulumu stvaraju trigliceridi, fosfolipidi, holesterol estri, koji se deponuju ili sekretuju nakon procesuiranja u Goldži aparatu. Agranulisani endoplazmatski retikulum veoma je zastupljen u citoplazmi želudačnih ćelija gde sintetizuje hlorovodoničnu kiselinu, jednu od glavnih produkata zeluca.

Pored svega nabrojanog agranulisani endoplazmatski retikulum ima važnu i specifičnu ulogu u poprečno-prugastim mišićnim ćelijama. Ove ćelije poseduju odlično razvijeni i precizno organizovan agranulisani endoplazmatski retikulum, jer on učestvuje u regulaciji koncentracije jona kalcijuma u procesu kontrahovanja i relaksacije poprečno-prugastih mišićnih ćelija. Ova vrsta agranulisanoj endoplazmatskog retikuluma naziva se sarkoplazmatski retikulum [221]. Sarkoplazmatski retikulum je podtip agranuliranog endoplazmatskog retikuluma od kojeg se razlikuje po sastavu proteina u membranama. Različiti sastav proteina daje sarkoplazmatskom retikulumu različitu ulogu i način funkcionisanja, on magacionira i otpušta jone kalcijuma. U cisternama sarkoplazmatskog retikuluma nalaze se kalcijum vezujućii proteini koji olakšavaju deponovanje kalcijuma. Oslobođanje jona kalcijuma iz agranulisanoj endoplazmatskog retikuluma jako burno pobuđuje (triguruje) kontrakciju, a njegovo ulaženje u cisternu agranuliranog retikuluma signal je za relaksaciju mišićne ćelije. Poprečno-prugaste mišićne ćelije ostvaruju kontrakciju uz pomoć visokospecijalizovanih elemenata citoskelata: molekula aktina i miozina, kao i molekula ATP-a i jona kalcijuma.



[221] Elektronmikrografija sarkoplazmatskog retikuluma (žute strelice, levo) i šematski prikaz sarkoplazmatskog retikuluma (desno)

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribelži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.



[222]

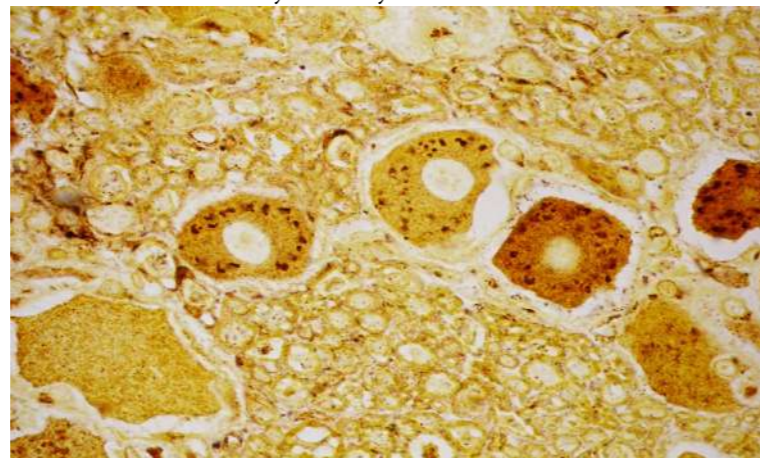
## GOLDŽI APARAT

Uloga Goldži aparata



Davne 1898. godine patolog Kamilo Goldži [223] analizirajući histološku građu malog mozga sove primenio je tehniku bojenja solima srebra. Metoda je omogućila savršenu vizuelizaciju Purkinjeovih ćelija i u njima karakteristične strukture u obliku mreže potkovic lokalizovane u blizini jedra [224]. Šezdeset godina kasnije, pedesih godina dvadesetog veka, u istim ćelijama na TEM-u viđene su organele identično opisane kao u beleškama naučnika Goldžija i u njegovu čast su dobile ime Goldži aparati. Ova citoplazmatična organela ima ogromnu morfološku i funkcijsku složenost, budući da se u njoj vrši modifikovanje proteina, metabolizam ugljenih hidrata, biosinteza lipida, glikolizacija proteina i lipida, kao i procesi usmeravanja svih nosivih molekula preko vezikula ili lizozoma u odnosu na njihovu ulogu u citoplazmi ili vanćelijskoj sredini. Goldži aparat je bio dugo slabo vidljiva organela na preparatim obojenim standardnim baznim i kiselim bojama, jer se prikazivao kao slabo obojena, providna, teško uočljiva oblast citoplazme. Međutim, transmisioni elektronski mikroskop jasno pokazuje položaj i građu Goldži aparata, najčešće smeštenog u blizini jedra. Veličina ove organele zavisi od vrste ćelije u kojoj se nalazi, stepena njene sintetske aktivnosti i diferenciranosti. Interesantno je da forma i veličina Goldži aparata u hepatocitima pacova zavisi od koncentracije estrogena u organizmu, tako da se ova organela razlikuje u hepatocitima mužjaka u odnosu na ženu.

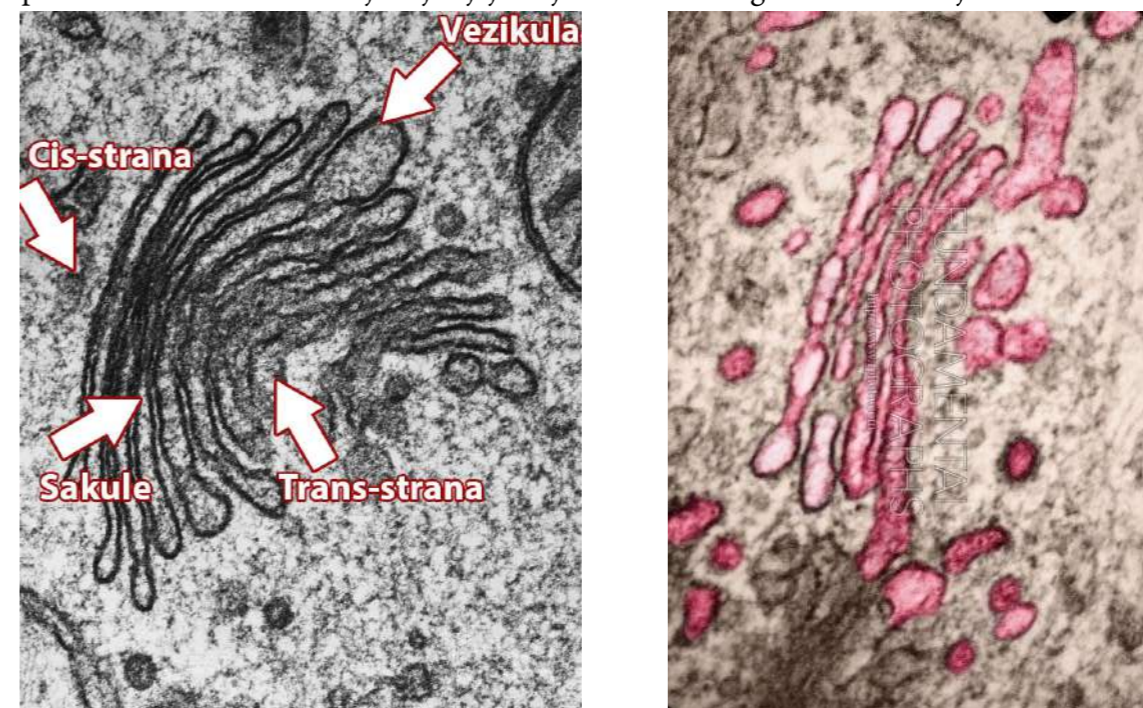
Složena organela Goldži aparat građena je od više pojedinačnih, spljoštenih, diskoidalnih, vrećastih struktura naslaganih jedna na drugu kao tanjiri - sakule i vezikula koje se nalaze periferno oko sakula ili su još vezane za njihove krajeve. Goldži aparat pripada membranskim organelama čije su komponente ograničene membranama jer svaka sakula i vezikula ograničavaju zapreminu svoje cisterne od okolne citoplazme membranom fluidno lipidnog dvosloja u koji je uronjen mozaik proteina. Broj sakula u Goldži aparatu je promenljiv i zavisi od metaboličke funkcije ćelije, ako one sintetišu veliki broj eksportnih enzima ili hormona i broj sakula je velik.



[224] Mikrografija Purkinjeovih ćelija malog mozga obojenih srebrom u kojima Goldži aparat sintetiše neurotransmiter (crne zrnaste strukture)

[223] Na slici je naučnik Camillo Golgi, italijanski biolog i patolog, pored toga što je uspeo bojenjem nervnih ćelija srebrom da u njima vidi organele koje su po njemu dobile ime, bio je i pionir neurobiologije. Dao je veliki doprinos u opisivanju ćelija nervnog sistema, nervnih vlakna i moždanih ovojnica. Pored toga pronašao je tehniku za bojenje nervnog tkiva - Goldžijeva metoda.

Goldži aparat je polarizovana organela to znači da u citoplazmi zauzima uvek isti položaj, konvektna strana mu je uvek okrenuta ka granulisanom endoplazmatičnom retikulumu i ona se naziva cis-strana ili formirajuća strana; dok je konkavna strana uvek okrenuta ka ćelijskoj membrani i ona se naziva trans-strana ili sazrevajuća strana. Tako se sakula najbliža retikulumu naziva cis-sakula, a ona najdalja od retikuluma naziva trans-sakula i ove dve sakule se razlikuju po svojoj morfologiji i funkciji. Između cis i trans - sakula nalaze se najuže središnje sakule. Sakule Goldži aparata u središnjem delu su sužene a u perifernom regionu proširene, na nekim mestima se membrane sakula dodiruju pa daju utisak na mikrogramijama da su iskidane. Sakule su međusobno postavljene blizu jedna uz drugu, čvrsto spojene između sebe proteinskim mostovima koji se javljaju najčešće u oblasti gde su sakule najuže.

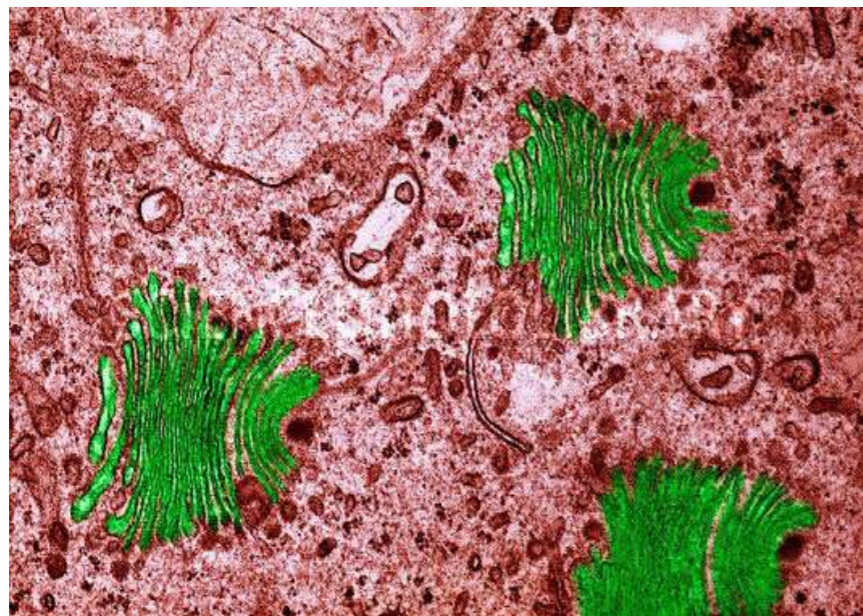


[225] Elektronmikrografije osnovnih komponenti Goldži aparata (levo) i [226] različitih naknadno obojenih crveno sakula i bočnih vezikula (desno)

Oko sakula Goldži aparata nalaze se tri vrste vezikula: prenosne - prisutne u prostoru između endoplazmatičnog retikuluma i cis-strane Goldži aparata; bočne - uz bočne strane na periferiji sakula; i sekretne - prisutne od trans-strane Goldži aparata prema citoplazmi do svih oblasti ćelije uglavnom prema periferiji ćelije [225, 226]. Prenosne, bočne i sekretne vezikule su uvek približnih i manjih dimenzija do 50 nm, dok se sekretne vezikule mogu fuzionisati u sekretne granule, koje su većih dimenzija i imaju na svojim površinama proteine za transport. Proteine za prenos granula koji komuniciraju sa citoskeletom u cilju lakšeg i preciznijeg transporta neretko imaju i prenosne vezikule, ali u mnogo manjoj količini. Kamilo Goldži je još u svojim analizama i opisima Goldži aparata zabeležio da oko celog kompleksa Goldži aparata postoji mreža i zato je ovoj organeli dao naziv "unutrašnji mrežasti aparat". Struktura koju je on opisao definisana je mnogo kasnije, to je splet uskih cevolikih i vezikularnih sakula. Sa cis - sakule prema granulisanom endoplazmatičnom retikulumu i sa trans - sakule prema perifernom regionu ćelije i sa bočnih strana prema agranulisanom endoplazmatičnom retikulumu ili drugom Goldži aparatu polazi splet uskih cevolikih struktura. Struktura nosi naziv cis - mreža na cis - strani i u kontinuitetu je sa njom; i trans - mreža na trans - strani Goldži aparata i u kontinuitetu sa tom njegovom stranom. Membrane koje ograničavaju sakule i komponente Goldži aparata nisu sve iste debljine, tako one koje omeđavaju cis - mrežu, cis - sakule i prenosne vezikule imaju debljinu istu kao i debljina membrane granulisanog endoplazmatičnog retikuluma oko 6 nm, dok su membrane trans - mreže, trans - sakula,

bočnih i sekretornih vezikula deblje, oko 7,5 nm. Komponente citoskeleta vezane su za citoplazmatičnu površinu membrana Goldži aparata, npr. spektrin uspostavlja kontakt između elemenata citoskeleta sa membranskim proteinima Goldži aparata.

Takođe, endokrine ćelije koje neprestano sintetizuju veliku količinu hormona imaju u svojoj citoplazmi znatan broj Goldži aparata međusobno povezanih vezikulama i sinhronizovanih u svom radu, ovakva struktura se tada naziva Goldži polje, a broj Goldži aparata u Goldži polju može da bude od nekoliko do sto [227].



[227] Elektronmikrografija se naknadno obojenim Goldži aparatima (zeleno)

## ULOGA GOLDŽI APARATA

Modifikovanje proteina sintetisanih na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu na primer kod endokrinih ćelija i koji služe kao krajnji proizvod njene sekracije odvija se na Goldži aparatu [228, 229]. Tokom svoje sinteze proteini se premeštaju i doraduju od granuliranog retikuluma preko Goldži aparata i sekretornih vezikula do površine ćelije na kojoj će se izlučiti u prostor izvan nje odmah, ili po prijemu odgovarajućeg stimulusa.

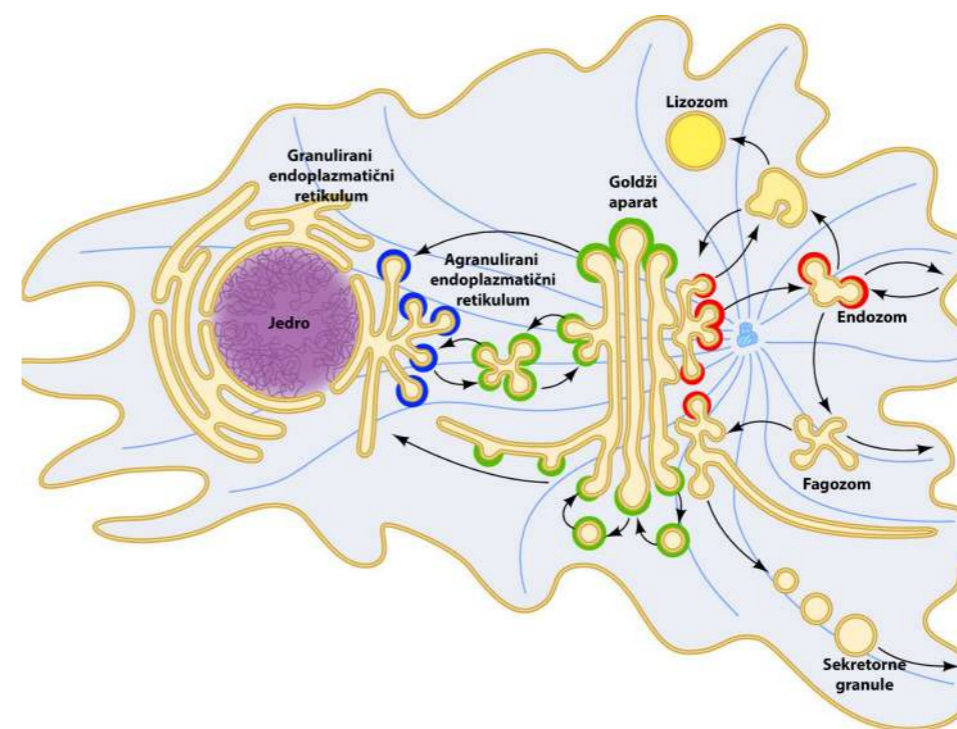
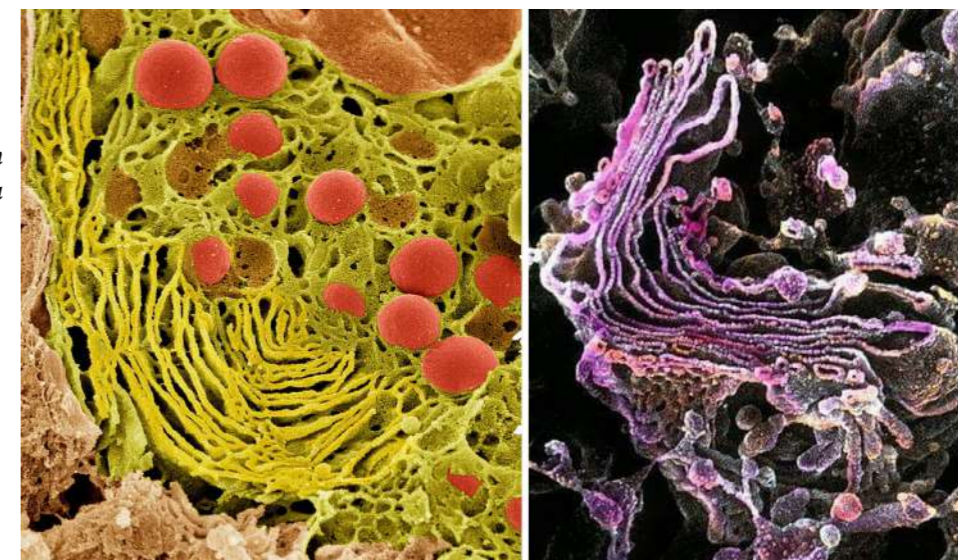
Potpunu kvaternu strukturu stižu proteini u oblasti Goldži aparata i kasnije se ugrađuju u: membrane i cisterne granulisanog i agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma; membrane Goldži aparata; membrane i komponente endozomskog i lizozomskog sistema; transmembranski i periferni proteini spoljašnje i unutrašnje površine ćelijske membrane; kao i proteoglikanski molekuli. U Goldži aparatima ćelija obrađuje se sve što stiže iz granulisanog endoplazmatičnog retikuluma i zbog toga postoji prostorna bliskost između ove dve organele. Goldži aparat obrađuje sadržaj vezikula koje su pristigle sa agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma tako što vrši glikozilaciju molekula lipida sintetisanih u ovom retikulumu. Prostorna bliskost između Goldži aparata i agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma ukazuje na ostvaren direktan prenos lipida iz agranulisanog retikuluma preko trans - mreže u oblast Goldži aparata gde se lipidi definitivno obrađuju.

Sinteza fosfolipida i sterola odigrava se u agranulisanom endoplazmatičnom retikulumu, dok sinteza sfingolipida počinje u njemu ali se završava u središnjim i cis-sakulama Goldži aparata. Fosforilacija proteina iz granulisanog endoplazmatičnog retikuluma obavlja se u središnjim sakulama Goldži aparata, zatim ti isti proteini sa dodatim fosfatnim grupama prelaze u periferni deo sakule gde se oko njih stvara vezikula - endozom ili rani lizozom. Sličan je mehanizam dodavanja sulfatne grupe polisaharidnim komponentama proteoglikana, tj. polipeptid koji je sintetisan na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu dobija

polisaharidni region u cisterni te iste organele i naziva se proteoglikan. Proteoglikan onda transportnom vezikulom dolazi do središnjih sakula Goldži aparata gde mu se vrši sulfatacija polisaharidnog regiona i prelazi u periferni deo sakule koja stvara oko njega endozom.

Region cis - mreže Goldži aparata predstavlja mesto na kojem dolazi do priključivanja transportnih vezikula sa granulisanog i agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma na Goldži aparat; kao i mesto gde se vrši fosforilacija proteina koji tako postaju hidrolitički enzimi karakteristični za lizozome. Sa druge strane region trans - mreže predstavlja mesto gde dolaze molekuli proteina koji su već prošli kroz sistem sakula Goldži aparata i stekli svoju struktuiranost dobivši grupe molekula koje su trebali da dobiju na tom putu. U regionu trans - mreže modifikovani protini dobijaju još samo molekule sijalinske kiseline i sulfatne grupe, nakon čega se odvajaju od trans - sakula Goldži aparata.

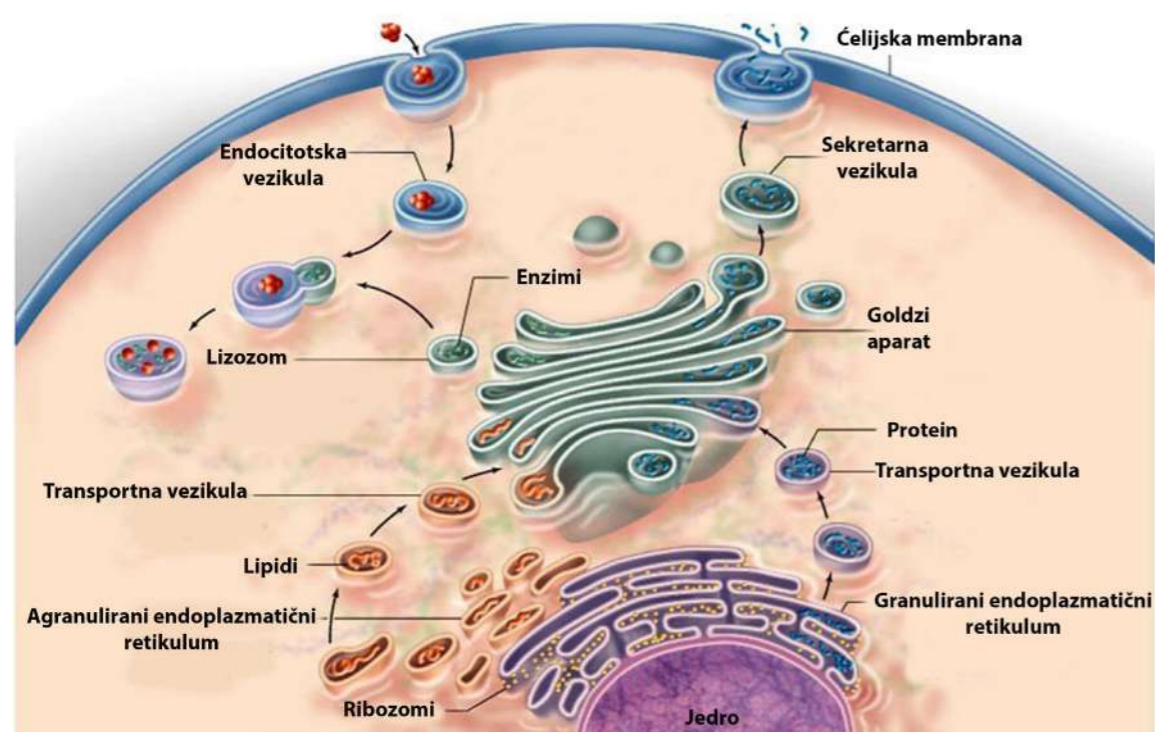
[228] Trodimenzionalni snimak na elektronskom mikroskopu Goldži aparata u acinusnoj ćeliji pankreasa (levo) i [229] u olfaktornoj ćeliji (desno)



[230] Šematski prikaz puta doradivanja proteina u vezikulama: protein je sintetisan na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu po informaciji iz jedra sa molekula iRNK (nalazi se u plavo ogrnutim vezikulama), nakon toga transportovan je do agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma gde mu je ugrađen polisaharidni region (u zeleno ogrnutim vezikulama), na kraju transportovan je do Goldži aparata gde je fosforilovan i odvojen u obliku endozomske vezikule (u crveno ogrnutim vezikulama) u citoplazmu.

Biohemijska i molekularna ispitivanja pokazala su nedvosmisleno da je sinteza transmembranskih proteina, proteina koji se nalaze u lizozomima ili peroksizomima i proteina koje ćelije skretuju u vanćeljsku sredinu prostorno različito lokalizovana na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu pa i na Goldži aparatu. Savršen sklad i organizovanost ove dve organele pojedinačno ali i u zajedničkom funkcionisanju ogleda se u sposobnosti da uobliče i distribuiraju proteine na tačno određenu poziciju. Naime, nikada se ne napravi zabuna da protein koji treba da se sekretuje iz ćelija završi u vezikuli lizozoma kao enzim ili da protein koji je litički enzim bude ugrađen u ćelijsku membranu [230].

Distribucija novosintetisanih molekula iz sistema za sintezu molekula: granulisanog i agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma i Goldži aparata, u citoplazmi precizna je i veoma uređena. Distribucija u slučaju Goldži aparata vrši se preko vezikula koje u sebi nose specijalne molekule. Međutim, ako se transport odvija bez vezikula tada se molekuli prenose pomoću citoplazmatičnih vezujućih proteina ili transmembranskih proteina kroz ili iz citoplazme i ovaj vid transporta nije karakterističan za Goldži aparate. Brojna ispitivanja su dokazala da polipeptidi i lipidi u Goldži aparat stižu iz endoplazmatičnih retikuluma putem transportnih vezikula. U toku svoje sinteze ova jedinjenja prelaze iz cisterne retikuluma vezikulama u sakule Goldži aparata do vezikula na trans - strani takođe vezikularnim transportom, da bi na kraju bili spremni za distribuciju na trans - strani Goldži aparata. Transportne vezikule za prenos sadržaja iz organela u organelu (iz cisterne, od sakule do sakule i kroz citoplazmu) formiraju se od njihovih membrana. Na površini membrana organela formiraju se evaginacije duge i do 350 nm u obliku grčkog slova omega, to je oblast ispupčenja, koje se pune sadržajem te organele i odvajaju se formirajući vezikulu [231].

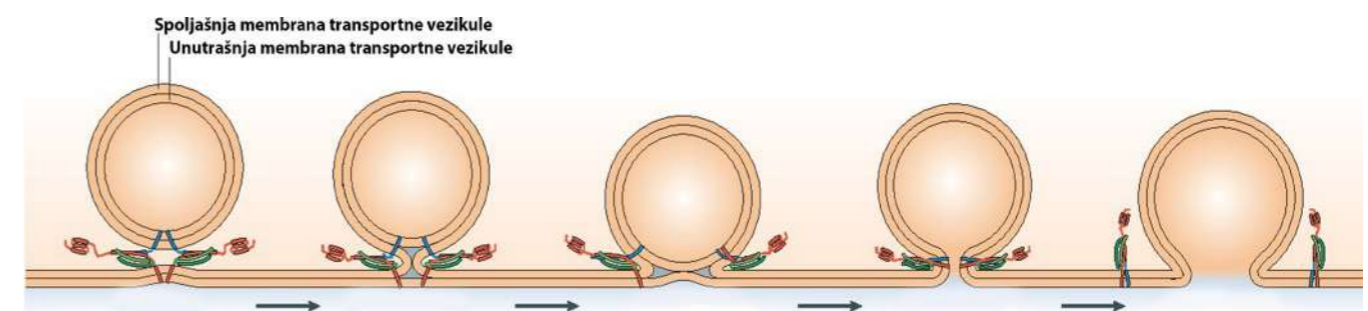


[231] Šematski prikaz transporta vezikulama između različitih membranskih odeljaka

Napominjano je da su sve membrane u ćelijama iste građe, bez obzira da li one grade ćelijsku membranu ili membranske organele ili transportne vezikule. Tako transportne vezikule nastale na membrani jedne organele mogu da se fuzionišu sa membranom druge organele i da u nju oslobode svoj sadržaj. Između pojedinih regiona organela ostvaruje se veza privremeno ili stalno zahvaljujući transportnim vezikulama. Ponašanje ovih vezikula je slično kao šatl prenos materijala potrebnih kosmonautima na svemirskim stanicama, kad se šatl odvoji od Zemlje dođe do stanice, ujedini se sa njom, isprazni svoj sadržaj u stanicu i vrati se nazad na Zemlju da ponovi proces.

Tako i transportne vezikule sa sadržajem u sebi distribuiraju se do određene oblasti u ćeliji i fuzionisanjem svoje membrane sa membranom ciljne organele oslobađaju sadržaj u nju. Kasnije se na ciljnoj organeli od njene membrane odvoji fuzionisani deo membrane transportne vezikule ili sasvim drugi deo membrane ciljne organele u obliku transportne vezikule i ona se nazad vrati na početnu sintetsku organelu. Membrana transportne vezikule se fuzioniše sa sintetskom organelom kako bi se opet napunila sadržajem za transport. Kretanje transportnih vezikula različitih dimenzija i sadržaja omogućeno je pomoću elemenata citoskeleta između dve cisterne endoplazmatičnog retikuluma ili dve sakule Goldži aparata ili između retikuluma i Goldži aparata, kao i pri njihovom oslobađanju sa Goldži aparata u citoplazmu. Imunocitohemijska istraživanja pokazala su prisustvo proteina citoskeletne mreže duž puteva kojim se kreću transportne vezikule. Tako su cisterne u okviru granulisanog endoplazmatičnog retikuluma i cisterne u okviru agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma povezane međusobno citoskeletom. Dalje, transportne vezikule sa oba ova retikuluma povezane su kao i sakule Goldži aparata međusobno citoskeletom. Na kraju povezane su i transportne vezikule sa Goldži aparata sa volumenom sekretnih vezikula, a one sa spoljašnjom sredinom preko elemenata citoskeleta. Na ovaj način povezane su cisterne endoplazmatičnog retikuluma sa sakulama Goldži aparata i unutrašnjim sadržajem endozoma i lizozoma. Nukleoplazma komunicira preko proteinskih kanala sa perinukleusnim prostorom, a ovaj direktno sa cisternama granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, tako se dolazi do zaključka da je informacija u jedru u direktnom kontaktu sa spoljašnjom sredinom preko sadržaja sistema membrana ćelije koje komuniciraju i organizovane su preko citoskeleta. Ovaj veoma složen sistem povezanih i funkcionalnih membrana preko citoskeleta u jednoj ćeliji naziva se membranski sistem ćelije.

Odvajanje transportnih vezikula od membrana endoplazmatičnog retikuluma, njihovo fuzionisanje sa membranama ciljnih organela; kao i odvajanje bočnih vezikula od periferija sakula i njihovo priključivanje drugom regionu sintetskih organela, sve do definitivnog sazrevanja molekula koje ove vezikule transportuju zavisi od postojanja karakterističnih transmembranskih proteina koji obezbeđuju njihovo pravilno prepoznavanje i povezivanje. Transmembranski proteini, jedan na vezikuli a drugi na ciljnoj membrani, na osnovu svoje komplementarnosti omogućavaju da dođe do specifičnog prepoznavanja između vezikule i ciljnog regiona [232]. Vraćanje transportne vezikule nakon oslobađanja sadržaja u cisternu ili sakulu na početnu membranu sa koje je nastala takođe iziskuje prepoznavanje specifičnih transmembranskih proteina. Biohemijska i molekularna analiza potvrdile su specifično prepoznavanje i fuzionisanje preko prepoznavanja transmembranskih proteina. Međutim, ista istraživanja su takođe pokazala da u ovom procesu pored odgovarajućih transmembranskih proteinskih kompleksa koji su komplementarni međusobno, jedan na vezikuli a drugi na membrani, učestvuju i niz citoplazmatičnih, za membrane vezanih proteina.

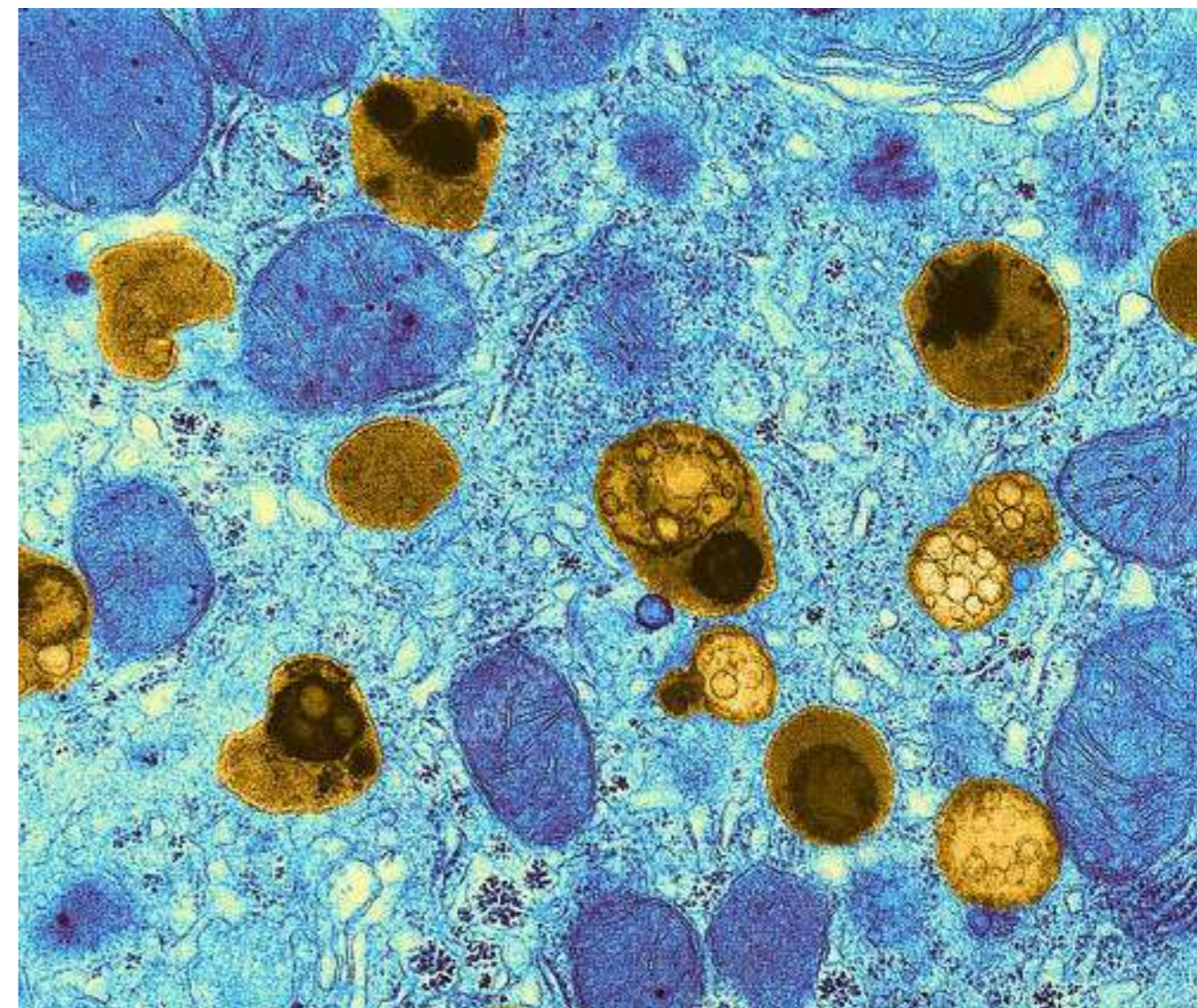


[232] Šematski prikaz fuzionisanja transportne vezikule sa membranom i položaj transmembranskih proteina u toku fuzionisanja

Proteina koji imaju gradivnu i enzimsku ulogu u samim Goldži aparatima i endoplazmatičnim retikulumima nakon sinteze nikada ne napuštaju ove organele. Ovo se postiže tako što se prvo molekuli neophodni organelama vezuju jedan za drugi u velike komplekse i tada nemaju mogućnost da uđu u transportne vezikule. Zatim se tako nastali kompleks raspoređuju i ugrađuju gde su neophodni. Biohemijska ispitivanja su pokazala da se oko vezikula koje sa Goldži aparata nose lizozimske enzime vezuju molekuli proteina klatrina i adaptina, dok se oko transportnih vezikula između cisterni endoplazmatičnih retikuluma i sakula Goldži aparata vezuju molekuli proteina različitih koatomernih kompleksa. Koatomerski kompleksi izgrađeni su od različitog broja proteinskih subjedinica koje su veoma karakteristične u zavisnosti kakav sadržaj prenosi vezikula. Na primer ako transportna vezikula ima sadržaj i kreće se prema membrani gde će taj sadržaj da oslobodi onda koatomerski kompleks ima jedan tip građe, dok ako ta ista vrsta transportne vezikule nema sadržaj u sebi i vraća se na membranu sintetske organele sa koje će da ga uzme ima drugi tip građe koatomerskog kompleksa. Za organizovanje koatomerskog kompleksa i njegovo reorganizovanje neophodna je energija u obliku GTP-a.

Velika brzina prenosa novosintetisanih ili doradenih molekula između granulisanih i agranulisanih endoplazmatičnih retikuluma i Goldži aparata postiže se međusobnom morfološkom povezanošću ovih organela. Naime, između njih pored cis i trans - mreže postoji jos i splet cevčica i u okviru tih cevčica vezikularna proširenja, poput mrežolikih hodnika, kroz koja prolaze molekuli. Mrežoliki regioni između organela predstavljaju svojevrstne raskrsnice jer u njima dolazi do razvrstavanja i usmeravanja proteina u skladu sa njihovim strukturnim i funkcionalnim odlikama. Ovi regioni su distributeri za produkte sintetskih organela i veliku ulogu u njihovom pravilnom funkcionisanju imaju i mikrotubule i njima pridruženi proteini, komponente citoskeleta koje uspostavljaju kontakt sa membranama ovih vezikula i cevčica. Mikrotubule i njima pridruženi proteini tj. komponente citoskeleta imaju najveću ulogu u transportu sekretnih vezikula koje se formiraju na trans - strani Goldžijevog aparata. Budući da sekretne vezikule u sebi nose definitivno struktuirane proteine ili proteoglikanske molekule koji se uključuju u endozomski ili lizozomski sistem ćelije, one se kreću prema periferiji ćelije tj. prema ćelijskoj membrani. Sekretne vezikule su teške organele ispunjene sadržajem sa koatomerskim kompleksom proteina na svojoj površini i njihovo kretanje nikako ne bi bilo moguće bez visokoorganizovanih mikrotubula i energije u obliku GTP-a.

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*



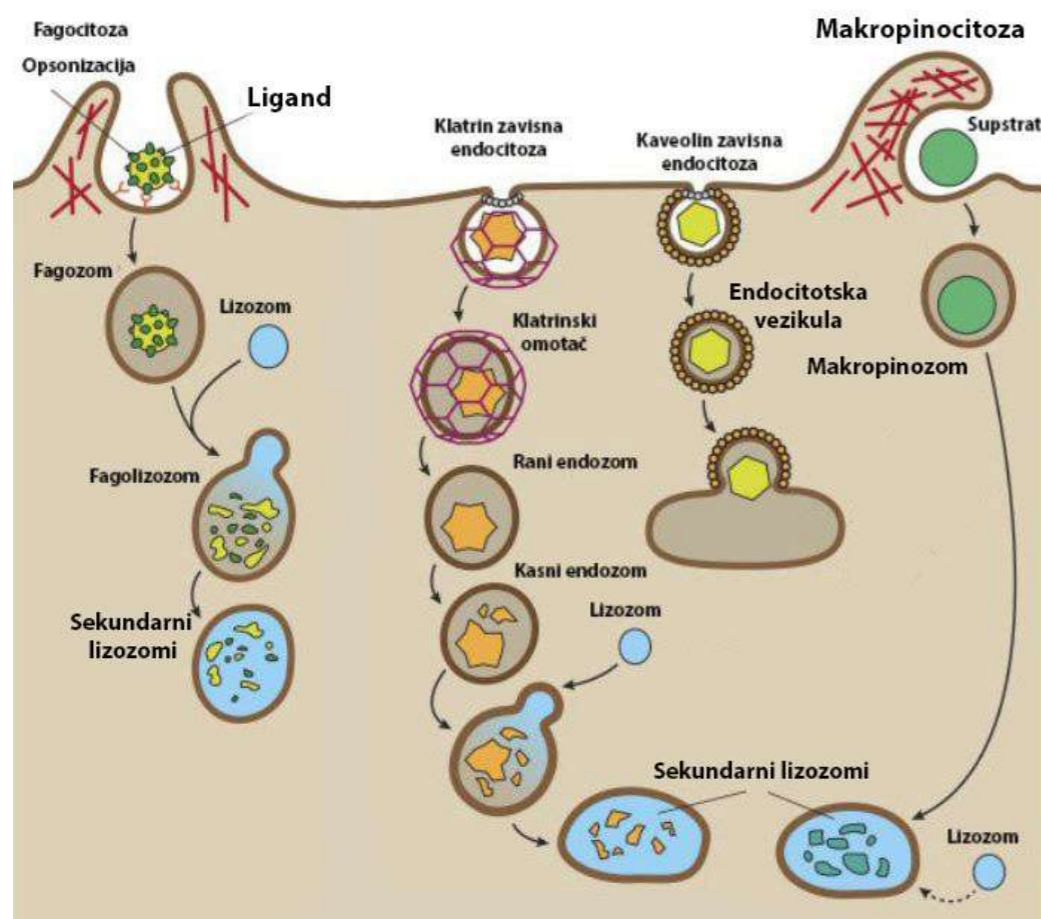
[233]

## LIZOZOMI

Proteazomi  
Endozomi  
Lizozomi  
heterofagija  
autofagija



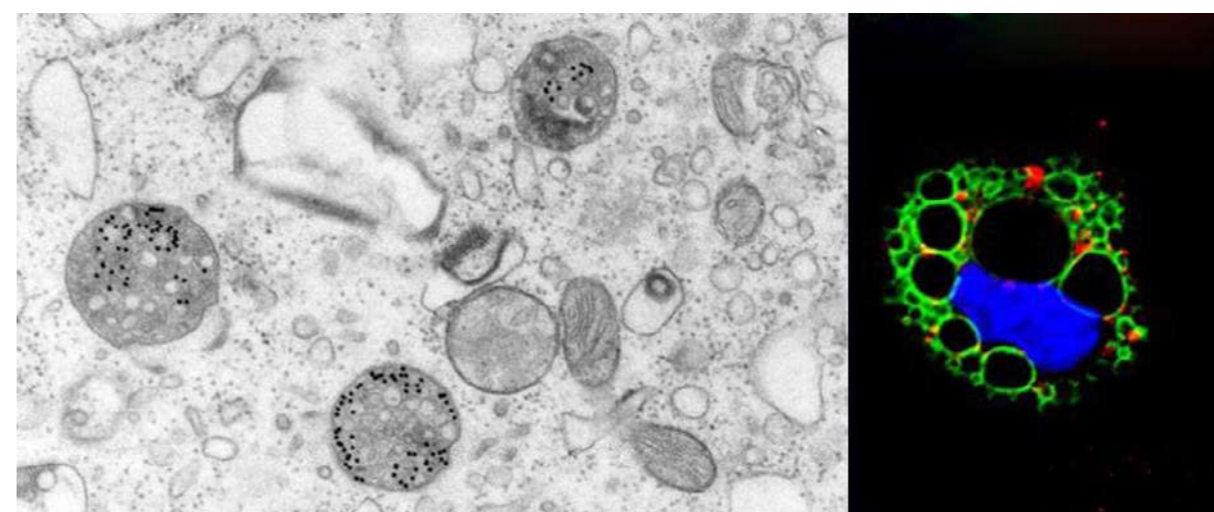
aparata. Izgled, mesto na kojem se nalaze i funkcije endozoma dele ih na dve grupe: rane endozome i kasne endozome. Rani endozomi imaju vezikularni ili vezikularno-tubularni oblik, dok kasni endozomi imaju nepravilan oblik i u svojoj unutrašnjosti poseduju više membranskih vezikula. Kasni endozomi zbog svoje specifične građe nazivaju se multivezikularno telo ili multivezikularni endozom. Lumen kasnog endozoma ispunjen je vezikulama prečnika od 40 do 80 nm i unutrašnjost vezikula ispunjena sadržajem sličnim ciosolu. Vezikule u multivezikularnom endozomu nastaju invaginacijom membrane ranog endozoma i njenim odvajanjem od membrane ranog endozoma i na taj način vezikula u sebi sadrži deo citoplazme. Endozomskom sistemu vezikula pripadaju i one koje su prisutne između ćelijske membrane i ranih endozoma; između ranih endozoma i kasnih endozoma. Rani endozomi su lokalizovani u korteksnom regionu ćelije, bliže ćelijskoj membrani; kasni endozomi su u dubljim regionima ćelije [237].



[237] Šematski prikaz različitih partikula/liganada koji koriste različite načine uslaska u ćeliju: fagocitoza, endocitoza posredovana klatrinom i kaveolinom, makropinocitoza

Formiranju endozoma prevashodno predhodi stvaranje endocitozne vezikule; ona nastaje od dela ćelijske membrane preuzete endocitozom i sadržaja okolne sredine sa molekulima koji se ciljno unose u ćeliju. Bez obzira na tip endocitoze koji odlikuje unos specifičnog supstrata: fagocitoza ili pinocitoza (klatrin zavisna endocitoza, kaveolin zavisna endocitoza, mikropinocitoza) sve endocitozne vezikule se dalje priključuju ranom endozomu. Mnoge vrste ćelija sisara prilikom endocitoze vezuju se za proteine receptore za endocitozu na ćelijskim membranama tj. molekule ubikvitina. Na taj način je obeležen receptor koji treba da se razloži sa ligandom u čijem je unošenju učestvovao, odnosno formiraće se multivezikularno telo.

Citoplazma ima neutralnu pH vrednost, a rani endozom kiseli, pH vrednost njegove unutrašnjosti je oko 6. Unutrašnju kiselu sredinu obezbeđuju protonske ( $H^+$ -ATPazne) pumpe na membrani ranog endozoma. Dalje, unutar ranog endozoma dolazi do razvrstavanja i eventualno do odvajanja unetih molekula od receptora. Oblik ranog endozoma može da bude i cevolik ili cevolik sa središnjim vakuolarnim delom. Rani endozom u određenom vremenskom periodu menja svoj oblik, izdvaja unete i potreban molekule ćeliji i preoblikuje se u kasni endozom ili komponente lizozomskog sistema. Od jednog dela ranog endozoma, ako je to potrebno u ćeliji, mogu da se formiraju reciklirajući endozomi koji odmah različite molekule (npr. receptore) vraćaju ka ćelijskoj membrani, sa kojom se fuzioniše. Na ovaj način endozomski sistem, pored drugih ćelijskih sistema, reguliše stalnost površine i specifičnost proteinskog sastava ćelijske membrane, jer njegova membrana je iste građe kao i ćelijska, a on ne menja njen sastav tokom obavljanja svoje uloge. Polarizovanost i nepolarizovanost ćelija stvara razlike njihovim endocitozama i endozomskom sistemu ćelija. Naime, endocitoza se obavlja samo na vršnoj strani ćelijske membrane kod polarizovanih ćelija, dok se kod nepolarizovanih obavlja na čitavoj površini ćelijske membrane. Analogno mestu odvijanja endocitoze je i lokalizacija ranih endozoma u ćelijama, kod polarizovanih oni su bliži vršnoj strani, dok su kod nepolarizovanih po celom regionu periferne citoplazme.



[238] Izgled multivezikularnog tela na TEM-u (levo) i [239] i na fluorescentnom mikroskopu (desno) gde su obojene membrane vakuola u multivezikularnom endozomu

Molekuli prisutni u sredini ranog endozoma usmeravaju se ka kasnom endozomu, čija se unutrašnjost odlikuje većom kiselošću, pH vrednost sredine kasnog endozoma je između 5,5-5,0. Unutrašnju kiselu sredinu obezbeđuju protonske ( $H^+$ -ATPazne) pumpe na membrani kasnog endozoma, isto kao i u slučaju ranog endozoma. Oblik kasnog endozoma je različit: od vezikularnog, preko nepravilno tubularnog i tubulo-zrakastog, pa sve do oblika multivezikularnog tela. Analiziranje položaja i funkcionalnosti multivezikularnih endozoma zasniva se na više citoloških metoda: posmatranje živih ćelija na fluorescentnom mikroskopu gde su fluorescentnom bojom obojeni sadržaji endozoma; korišćenjem obeleživača molekula spoljašnje ćelijske sredine i kasnije praćenje kretanja tih molekula kroz ćeliju u endozomima; i posmatranje elektronmikrografija sa elektronskih mikroskopa. Različite metode omogućavaju dokazivanje srodnosti i povezanosti endozomskog sistema koji se sastoji od ranih i kasnih endozoma [238. 239]. Ovi endozomi prelaze iz jednog oblika prema drugom u procesu obrade svog sadržaja.

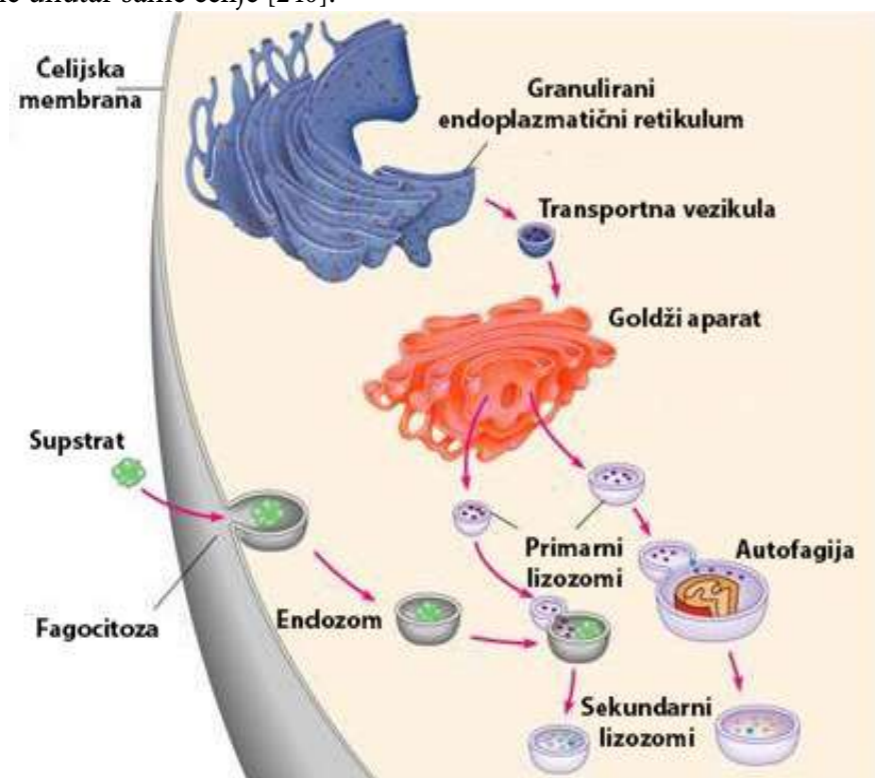
Funkcije komponenta endozoma ne ograničavaju se samo na procese razgradnje molekula, supstrata i materijala unetog u ćeliju endocitoznim putem. Rani i kasni endozomi i multivezikularna tela u nekim visokospecijalizovanim ćelijama razgrađuju molekule koje proizvode ćelije, kao što su npr. nervne ćelije, koje u svojoj citoplazmi imaju neurotransmitere. Naime, sa trans-strane Goldži aparata odvajaju se sekretne

vezikule sa sintetisanim i struktuiranim proteinima u sebi, tj. neurotransmiterima. Tada sekretorne vezikule počinju da se kreću prema ćelijskoj membrani ali na tom putu pridružuju se ranim endozomima u kojima neurotransmiterski molekuli trpe određene promene. Nakon dorade u ranom endozomu formiraju se sinapričke vezikule koje svoje membrane fuzionišu sa ćelijskom membranom nervne ćelije i izbacuju neurotransmiter u prostor kompleksa sinapse i prenose signal.

Fuzionisanje multivezikularnih tela sa lizozomima dovodi do razlaganja njihovog sadržaja, takođe, ona lako fuzionišu sa ćelijskom membranom i ostvaruju egzocitozu. Ovaj tip egzocitoze dovodi do izbacivanja i sekrecije unutrašnjih vezikula koje se nakon toga označavaju kao egzozomi i mogu se koristiti za transport različitih komponenti između ćelija.

## LIZOZOMI

Početak procesa razlaganja supstrata u kasnim endozomima startuje njihovim fuzionisanjem sa lizozomima. Kasni, multivezikularni endozom sadrži sortirani endocitovani sadržaj iz ranog endozoma i dobijaju hidrolitičke enzime od lizozoma. Veoma uska zavisnost funkcionisanja endozoma od lizozoma i obrnuto, dugo je bila povod da se oni smatraju istom organelom. Lizozomi nisu endozomi, oni su organele eukariotskih ćelija, heterogenog vezikularnog oblika, omeđane sopstevnom membranom i prečnika od 0,2-0,5  $\mu\text{m}$ . Oni u svojoj unutrašnjost deponuju hidrolitičke enzime koji u kiseloj sredini pri vrednosti pH od 4,5-5 razlažu različite supstrate. Kisela sredina u lizozomima omogućava rad hidrolitičkih enzima koji razlažu velikog broja različitih supstrata i molekula. Kao i kod endozoma unutrašnju kiselu sredinu obezbeđuju protonske ( $\text{H}^+$ -ATPazne) pumpe na membrani lizozoma. Lizozomi razlažu veliki spektar supstrata u ćeliji: molekule i jedinjenja koja dolaze u ćeliju iz spoljašnje sredine endocitozom i biće korišćena za ćelijsko funkcionisanje; delovi ćelije koji više nisu u funkciji; molekule koji su svoje razlaganje započeli u kasnim endozomima; mikroorganizme koji su dospeli u ćeliju endocitozom, ostarele ili mrtve ćelije iz vanćelijske sredine; krajnje nerastvorljive čestice koje drugi sistemi za razgradnju nisu uspeli da razgrade; i delove citoplazme unutar same ćelije [240].



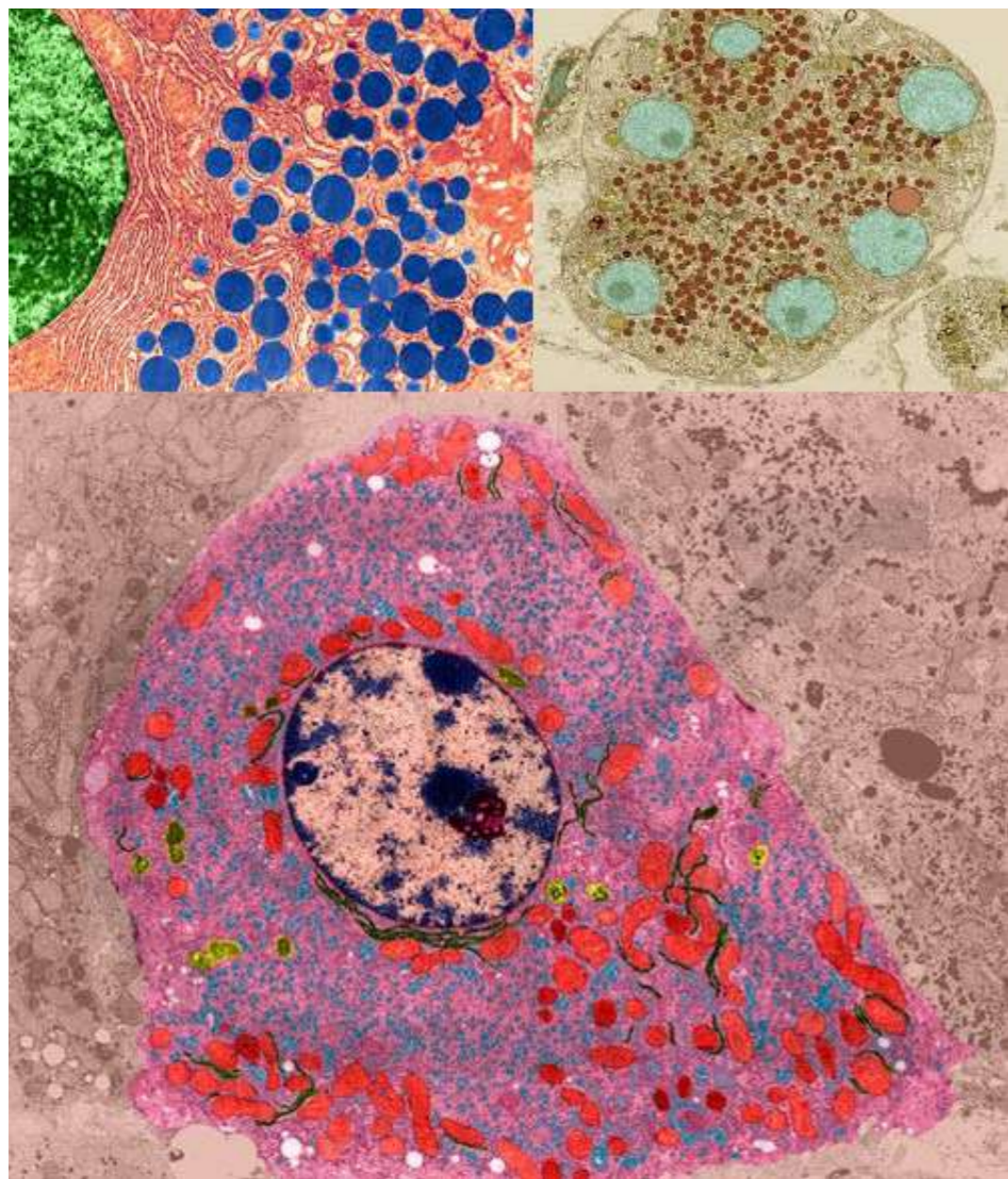
[240] Šematski prikaz nastanka i funkcije lizozoma

Sinteza hidrolitičkih enzima počinje na membranama granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, svoj definitivni strukturni oblik stiču u Goldžijem aparatu, da bi svoju funkciju obavljali u lizozomima. U sakulama cis-mreže Goldžijeg aparata dolazi do fosforilacije polipeptidnih molekula formiranih na membranama granulisanog endoplazmatičnog retikuluma, budućih lizozomskih hidrolaza. Sakule trans-mreže Goldžijeg aparata omogućavaju na sebi sazrevanje hidrolaza iz cis-mreže, njihovo prikupljanje i pakovanje u vezikule, koje se po dobijanju klatrinskog omotača odvajaju od ove organele. Pored molekula klatrina, vezikule nezrelih lizozoma neretko okružuju i za njihovu membranu se vezuju molekuli adaptina. Fosforilozovani proteinski molekuli hidrolitičkih enzima vezuju se i za proteine membrane vezikule kako bi se deaktivirala i sprečila njihova razgrađujuća aktivnost u samoj vezikuli lizozoma. Molekuli klatrina i adaptina omogućavaju odvajanje vezikula sa Goldžijeg aparata i njihov transport kroz citoplazmu prema ranim i kasnim endozomima. Na citoplazmatičnoj površini membrana lizozomskih vezikula dolazi do odvajanja klatrinskih molekula, do dezorganizacije klatrinskog omotača sve sa ciljem njihovog fuzionisanja sa membranama endozoma, fagozoma ili autofagozoma.

Unutrašnjost ranog endozoma je manje kisela (pH oko 6) od unutrašnje sredine lizozoma (pH je 4,5-5) i upravo ova kiselića sredina u lizozomima omogućava konačno sazrevanje hidrolitičkih enzima, njihovo odvajanje od proteina membrane i defosforilaciju, hidrolitički enzimi se tako "oslobađaju" i postaju aktivni. Pored proteina koji se nalaze u membrani lizozoma i fosforne grupe postoji još cela familija proteina i protein-receptora koji štite lizozom od aktivnosti hidrolitičkih enzima. Fuzionisanje membrana endozoma i lizozoma, spajanje njihovih sredina i aktiviranje hidrolitičkih enzima dovodi do nastanka endolizozoma (sekundarnog endozoma).

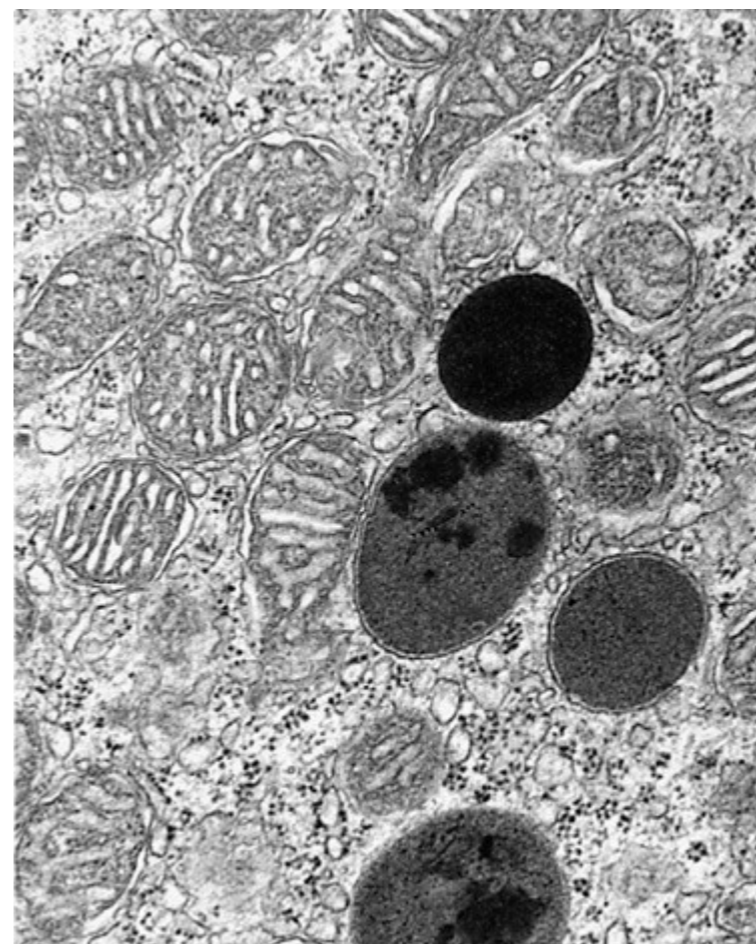
Biohemijska i imunocitohemijska istraživanja [241, 242, 243] dokazala su da se sinteza hidrolitičkih enzima lizozoma ne odvija na istom mestu u svim ćelijama. Tako se u ćelijama makrofga i granulocitima oni sintetisaju na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu i kasnije doraduju u Goldžijem aparatu; dok se u nervnim ćelijama hidrolitički enzimi sintetisaju takođe prvo na granulisanom endoplazmatičnom retikulumu, ali se dorada vrši na membranama agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma, bez ulaska proteina enzima u Goldžijev aparat. Unutar vezikula lizozoma prisutan je veliki broj različitih hidrolitičkih enzima čija se optimalna aktivnost ispoljava u kiseloj sredini pri već spomenutoj vrednosti pH od 4,5-5.

Sastav enzima u lizozomima uglavnom zavisi od vrste ćelije u kojima se nalaze, međutim enzim kisela fosfataza je enzim koji se nalazi u svim lizozomima svih vrsta ćelija. Ona se smatra enzimom opšteprisutnim u svim lizozomima i zato se koristi za identifikaciju ovih organela u ćelijama. Druge hidrolaze su specifične za određene vrste ćelija i na osnovu prirode sustrata koji mogu da razlože dele se na nukleaze, proteaze, glikozidaze, lipaze, sulfataze, fosfataze i fosfolipaze. Nukleaze su hidrolitički enzimi koji razlažu nukleinske kiseline i postoje dva oblika nukleaza: RNK-aze i DNK-aze. Proteaze su enzimi koji razlažu proteine i mogu da budu egzopeptidaze i endopeptidaze. Najviše zastupljene u lizozomima ćelija su egzopeptidaze tripsin, himotripsin i katepsin. Glikozidaze su enzimi koji razlažu polisaharide i dele se na endoglikozidaze i egzoglikozidaze, dok je najprisutnija endoglikozidaza hijaluronidaza. Lipaze su enzimi koji razlažu lipide najčešća od njih je kisela lipaza koja razlaže trigliceride. Sulfataze su enzimi lizozoma koji odvajaju sulfatnu grupu od supstrata, polipeptidnih lanaca sa sulfatnim grupama. Fosfataze su hidrolitički enzimi koji uklanjaju fosfatnu grupu sa supstrata njenom hidrolizom u fosfatni jon. Zastupljenost fosfataza u lizozomima je velika iz razloga što ćelija u svom metabolizmu često koristi reakciju fosforilacije svojih molekula: fosforilacija proteina, deaktivacija enzima, fosforilacija energetskih molekula ADP-a ili fosforilacija lipidnih molekula. Nakon upotrebe tako fosforilisanih molekula neretko je potrebna njihovo razlaganje i odvajanje fosforne grupe koje obavljaju fosfataze iz lizozoma. Fosfolipaze su specijalizovane fosfataze koje razlažu fosfolipide uklanjanjem fosforne grupe sa molekula fosfolipida i hidrolizuju fosfolipide u masne kiseline i druge lipidne molekule.



[241] Elektronmikrografije ćelija sa obojenim lizozoma tamno plavom bojom (gore levo), [242] braon (gore desno) i [243] svetlo plavo (dole)

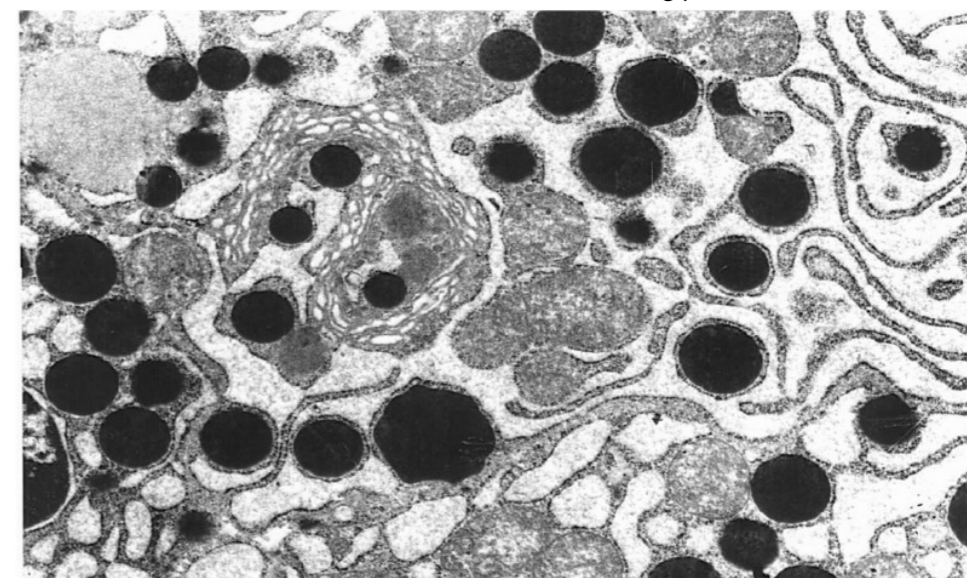
Višedecenijska istraživanja definišu lizosome kao organele koje odlikuje kisela sredina, međutim treba spomenuti da se u njima nalaze i enzimi koje odlikuju neutralne ili bazne sredine za optimalnu aktivnost. Tako je unutrašnjost lizozoma uglavnom kisela, ali može da bude povremeno i manje kisela, neutralna ili bazna ako u sebi nosi na primer enzime za razgradnju polisaharida kao što je glikozil-N-asparaginaza [244]. Objašnjenje opastanka baznih i neutralnih enzima u kiseloj sredini lizozoma zasniva se na činjenici da se u lizozomu po potrebi menja pH vrednost sredine, ona nije stalna već se koleba u odnosu na sastav hidrolitičkih enzima u njemu, dovodeći pH vrednost do najoptimalnije za razlaganje biomakromolekula. Takođe u unutrašnjosti lizozoma može da se nalazi enzim, egzopeptidaza, katepsin koja bi vršila proteolizu ostalih hidrolitičkih enzima u lizozomu da nisu zaštićeni. Hidrolitički enzimi u lizozomima štite se od štetnog dejstva katepsina grupisanjem u velike multienzimске komplekse, nikad nisu pojedinačni, a ove komplekse dodatno na njihovoj površini ograđuju zaštitini molekuli proteina od dejstva katepsina.



[244] Multienzimski kompleksi u lizozomima

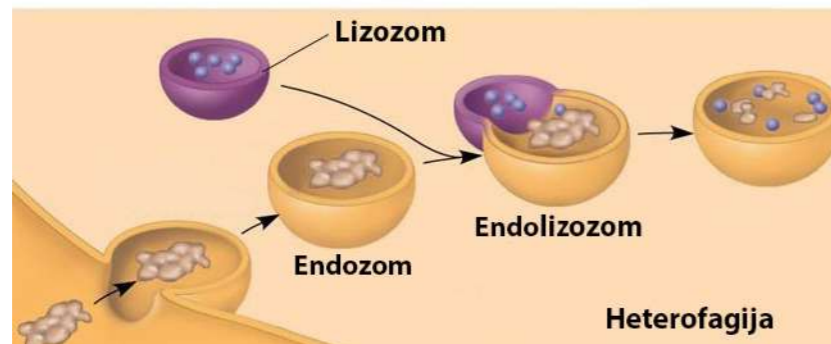
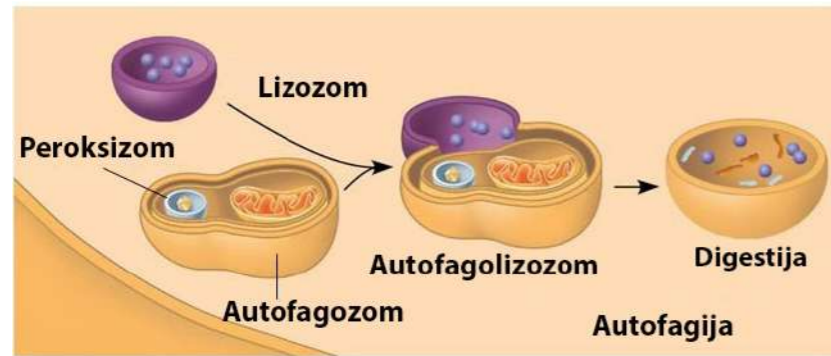
Membrana koja ograničava lizozom i odvaja hidrolitičke enzime od ostalog dela citoplazme izgrađena je kao i sve ostale membrane, od mozaika proteina koji je uronjen u tečni fosfolipidni dvosloj. Neki od proteina i glikoproteina membrane specifični su samo za membranu lizozoma. Lizozomske membrane ne podležu delovanju enzima koji se nalaze u unutrašnjosti njihovih vezikula, zahvaljujući glikolizaciji njihovih proteina. Proteini tako na sebi imaju vezanu polisaharidnu komponentu koja štiti njih i lipide od štetnog delovanja hidrolaza. Jedan od najčešćih i najspecifičnijih zaštitinih molekula vezanih za proteine membrane lizozoma je sijalinska kiselina.

Hidrolitički enzimi lizozoma ne ispoljavaju svoju aktivnost nekontrolisano nego samo kad dođu u dodir sa supstratom koji može da bude iz spoljašnje sredine unet procesom endocitoze ili može da bude deo citoplazme same ćelije. Tako proces razlaganja supstrata preuzetih iz spoljašnje sredine naziva se heterofagija, dok se proces razgradnje delova citoplazme ili organela same ćelije naziva autofagija [245].



[245] Elektronmikrografija lizozoma





[246] Šematski prikaz uključivanja lizozoma u autofagiju i heterofagiju

### Heterofagija

Mikroorganizmi, krupne hranljive čestice, mrtve ćelije ili njihovi delovi i veliki kompleksi biomakromolekula u ćeliju se unose procesom fagocitoze i prenose se fagocitnim vezikulama do lizozoma gde bivaju neutralizovane ili razložene [246]. Heterofagija podrazumeva da se nešto iz spoljašnje sredine unosi u ćeliju fagocitozom, endocitozom i makropinocitozom. Ćelijska membrana u svom lipidnom dvosloju prema spoljašnjoj sredini poseduje različite proteinske receptore pomoću kojih registruje mikroorganizme, krupne ili sitne hranljive čestice, mrtve ćelije ili njihove delove ili velike komplekse biomakromolekula. Ona sadrži brojne proteine - receptore, za koje se vezuju različiti ligandi iz spoljašnje sredine. Ovi receptori povezani su preko aktinskih filamenta i njima pridruženim filamentima odmah ispod ćelijske membrane u perifernoj citoplazmi sa citoskeletom. Komplex citoskeletnih elemenata i receptornih proteina omogućavaju formiranje pseudopodija na površini ćelijske membrane i obuhvatanje supstrata iz vanćelijske sredine i njegovo unošenje u ćeliju [247]. Na taj način se u unutrašnjosti ćelije formira vezikula koja se naziva fagozom ili fagocitna vezikula, ograničena membranom poreklom od ćelijske membrane. membrana između ostalog štiti citoplazmu od sadržaja fagozoma. Nakon svog formiranja fagozom počinje da se kreće od periferije prema središtu ćelije i na tom putu podleže procesima sazrevanja. Sazrevanje fagozoma podrazumeva promenu njegove membrane što dovodi do uključivanja protonskih ATPaznih pumpi u njoj kako bi se obezbedila povećana kiselost u unutrašnjosti fagozoma, dok se odmah zatim priključuju hidrolitički enzimi koji će obavljati procese razlaganja sadržaja fagozoma. Priključivanje hidrolitičkih enzima odigrava se fuzijom fagozoma sa primarnim lizozomom, ranim ili kasnim endozomom, tj. fuzijom njihovih membrana i mešanjem njihovih sadržaja. nakon fuzije sa lizozomom fagozom se naziva fagolizozom ili sekundarni lizozom.

Proces prepoznavanja fagozoma sa primarnim lizozomom, ranim ili kasnim endozomom vrše specijalni proteini prisutni na citoplazmatičnim stranama membrana ovih organela. Biohemijska ispitivanja su pokazala da se prilikom mešanja sadržaja ovih organela njihove membrane ne mešaju potpuno i

ovaj proces se naziva privremena fuzija. Sadržaj fagolizozoma obuhvata fagocitovan materijal iz spoljašnje sredine i hidrolitičke enzime. Unutrašnjost fagolizozoma je iz tog razloga neujednačena i ima heterogeno kontrastirane regione kada se posmatra pod TEM-om. Citohemijske metode su dokazale da se u prividno praznim prostorima nalaze hidrolitički enzimi lokalizovani po periferiji sekundarnog lizozoma uz njegovu membranu.



[247] Mikrografija fagocitoze bakterijskih ćelija od strane makrofaga

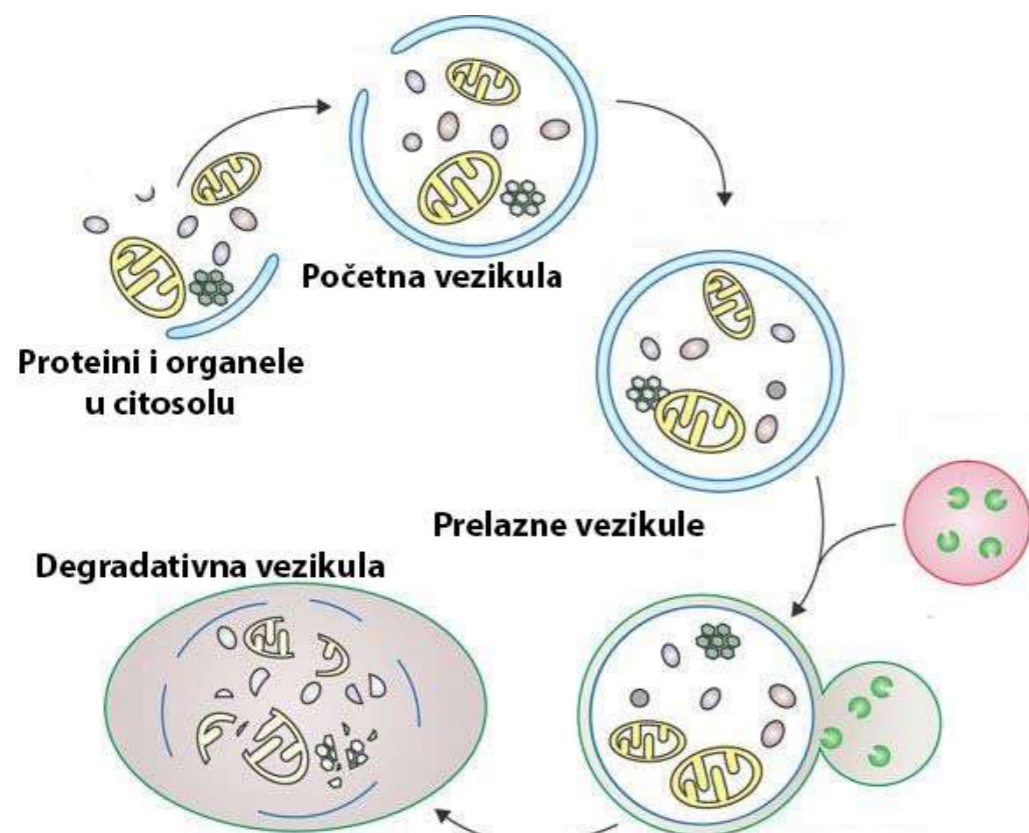
Hidrolitički enzimi lizozoma u fagolizozomima aktiviraju se postupno kako bi počeli proces razgradnje supstrata i završili ga na najbolji način. Redosled uključivanja hidrolitičkih enzima u razgradnju zavisi isključivo od vrste supstrata koji se nalazio u fagozomu i koji se razlaže u fagolizozomu. Najbolji primer za tačno određen redosled uvođenja hidrolitičkih enzima razgradnje supstrata su bakterijske ćelije koje se fagocitozom unose u ćelije. Kod bakterijskih ćelija prvo se aktiviraju enzimi koji razlažu bakterijski ćelijski zid, onda oni koji razlažu ćelijsku membranu, pa enzimi za razgradnju komponenata citoplazme i tek na kraju hidrolitički enzimi koji razgrađuju molekul nukleinske kiseline. Brojni mikroorganizmi su razvili mehanizam inhibicije fuzionisanja fagozoma sa lizozomima i tako stvorili uslove da prežive u ćelijama domaćina. Krajnji rezultat razgradnje molekuli male molekulske mase i joni koji se preko fosfolipida ili proteina membrane fagolizozoma upućuju u citoplazmu. Jedan deo supstrata ostaje u fagolizozomu nerazložen u obliku nepravilnih ili fino homogenizovanih struktura, koje mogu da prođu i u citoplazmu. Jedan deo supstrata može ostati u fagolizozomu nerazložen i takva organela se označava kao rezidualno telo.

### Autofagija

Proces tokom koga u ćeliji dolazi do razgradnje njenih komponenti: delova citoskeleta, membranskih i nemembranskih organela, biomembrana i delova citoplazme delovanjem hidrolitičkih enzima iz lizozoma naziva se autofagija [246]. Autofagija odlikuje sve vrste ćelija jer je mehanizam odstranjivanja oštećenih i ostarelih organela. Ona je karakteristična i za ćelije endokrinih žlezda gde se oštećene ćelije zamenjuju novim, kao i za embrionalne ćelije koje učestvuju u procesima metamorfoze embriona gde se jedan tip ćelija zamenjuje drugim. Morfološki parametri dele procese autofagije na mikroautofagiju kod koje se podrazumeva uklanjanje dela citoplazme i makroautofagiju koja predstavlja proces uklanjanja delova citoplazme sa organelama unutar autofagozoma. Elektronskom mikroskopijom često u ćeliji mogu da se zapaze strukture nazvane preautofagozomi, koje nastaju od cisterni endoplazmatičnog retikuluma izvijenih u obliku latiničnog slova C i koje obavijaju deo citoplazme sa mitohondrijama i elementima

agranulisanog endoplazmatičnog retikuluma. Slučaj kada cisterna retikuluma potpuno zatvara vezikulu sa citoplazmatskim sadržajem naziva se autofagozom koji se spaja sa lizozomima i formira autofagolizozom. Nakon određenog vremena u autofagolizozomu gubi se karakterističan izgled mitohondrija u njima i nestaje membrana između lizozoma i autofagozoma koja je direktno okruživala izdvojeni deo citoplazme. Nakon razlaganja sadržaja autofagolizozoma hidrolitičkim enzimima preostalo rezidualno telo iz ćelije se odstranjuje procesom egzocitoze.

Proces mikroautofagije obavljaju multivezikularni endozomi ili lizozomi tako što se na njihovoj površini pojavljuje ulegnuće unutar kojeg se nagomilavaju proteinski supstrat iz citoplazme. Razgradnja sadržaja supstrata u multivezikularnom endozomu i lizozomu vrši se tek kada se u njemu formira dovoljan broj vezikula. Multivezikularni endozomi pre početka razgradnje sadržaja moraju da se fuzionišu sa lizozomima. Proces makroautofagije podrazumeva formiranje autofagozoma, tj. dela citoplazme okruženog dvema membranom. Biohemijska i citološka istraživanja dokazala su postojanje tri autofagna oblika: fagofora, autofagozoma i autofagolizozoma [248].



[248] Šematski prikaz autofagije - početne, prelazne i degradativne vezikule fagofora, autofagozoma i autofagolizozoma [248]. !!!!!

Fagofore su najsitnije i imaju sličan sadržaj sredine kao i citoplazma, jedino što je malo elektronsvetliji od njega: autofagozomi su krupniji i ne pokazuju znake razlaganja ali im sadržaj nije više homogen; i autofagolizozomi su najkrupniji i pokazuju znake razlaganja dok im je sadržaj potpuno izdiferenciran na regione. Proces razlaganja supstrata unutar fagofora počinje njenim spajanjem sa endozomom pa onda sa lizozomom ili direktno sa lizozomom. Nakon razgradnje sadržaja autofagolizozoma degradirani i dobijeni makromolekuli se oslobađaju ponovo u citoplazmu radi ponovne upotrebe.

Specijalan oblik autofagije je učestvovanje hidrolitičkih enzima lizozoma u regulaciji brojnosti sekretnih granula u različitim tipovima ćelija i ovaj proces se naziva krinofagija. Krinofagija omogućava uklanjanje

sekretnih granula do čije egzocitoze nije došlo iz endokrinih ćelija, na primer usled ne aktiviranja mehanizama hormonske regulacije. Ova regulacija omogućava da se proteini hormona sintetišu u ćeliji pre njihove stvarne potrebe i sekrecije, oni se zatim čuvaju u vezikulama u obliku depoa u citoplazmi sve do momenta kada se pojavi potreba u organizmu za njima. Receptorni sistem pokreće regulaciju ekskrecije hormona i oni se oslobađaju iz endokrinih ćelija u krv, međutim ako do ovog oslobađanja ne dođe oni podležu procesu krinofagije. Rezultat razlaganja u procesu krinofagije su molekuli i joni koje ćelija može ponovo da koristi u trenutku kada primi signal za početak nove sinteze proteina u citoplazmi.

Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.





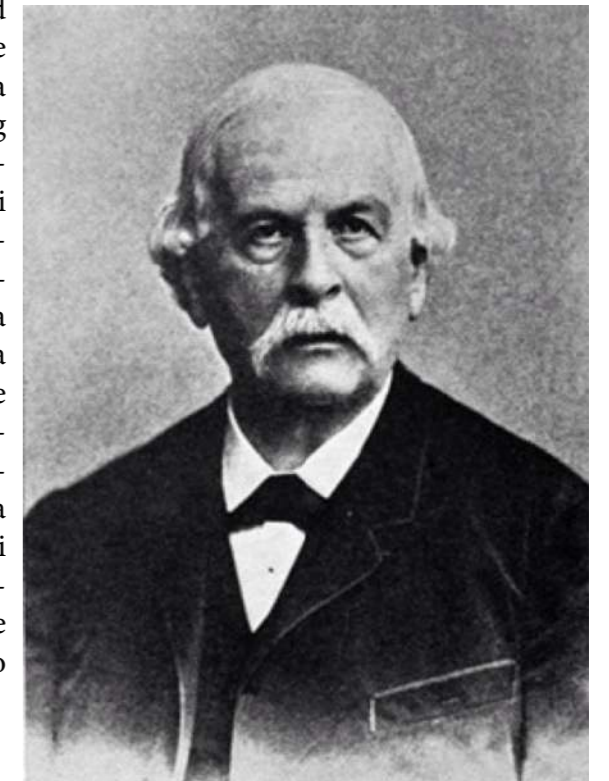
[249]

# MITOHONDRIJE

**Građa mitohondrija**  
**Deoba mitohondrija**  
**Mitohondrijalna DNK**  
**Funkcionisanje mitohondrija**

Membranske organele eukariotskih ćelija ograničene dvema membranama: spoljašnjom i unutrašnjom na kojima se sintetišu molekuli ATP-a su mitohondrije. Unutrašnja membranom zatvara tj. ograničava, prostor koji se zove matriks, površina ove membrane veća je od površine spoljašnje. Mnogobrojni procesi koji se odvijaju u ćelijama kao što su sinteza novih i neophodnih molekula; razgradnja oštećenih i visokoenergetskih biomakromolekula; razmena metabolita sa vanćelijskom sredinom; ćelijsko kretanje; kretanje organela i ćelijskih subjedinica unutar ćelije; ćelijska deoba; i međućelijska komunikacija mogući su samo uz utrošak energije koja potiče od molekula ATP-a. Molekul ATP-a poseduje energiju u obliku hemijske veze i može da je oslobodi defosforilacijom, njegovim prelaskom u molekul ADP uz izdvajanje jedne fosfatne grupe. Stalno nadoknađivanje utrošene energije zahteva obnavljanje molekula davaoca energije tj. molekula ATPa, drugim rečima iziskuje procese njihove sinteze. Iz svih navedenih razloga ćelijama su neophodne velike količine ATP molekula za odvijanje fizioloških procesa a oni se stvaraju u mitohondrijama, oksidativnom fosforilacijom na unutrašnjoj membrani. U toku oksidativne fosforilacije molekuli ADPa se fosforilišu i prelaze u oblik ATP molekula i zajedno sa vezivanjem fosfatne grupe dobijaju i veći energetski nivo.

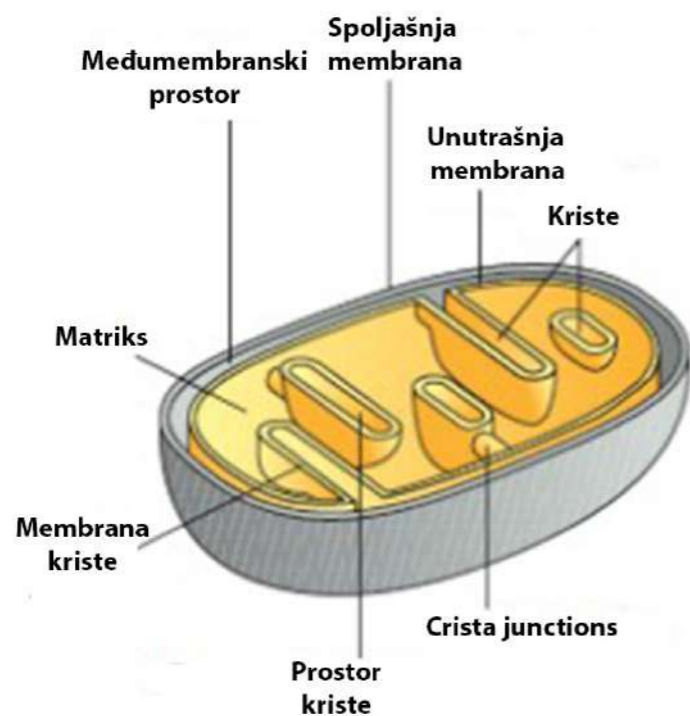
Mitohondrije se ne nalaze u eritrocitima sisara kao ni u visokospecijalizovanim jednoćelijskim flagelatima *Monocercomonoides* koje žive parazitski u crevima malih sisara, zmija i insekata. Reč mitohondrija je grčka složenica nastala od reči  $\mu\tau\omicron\varsigma$  (mitos= nit) i  $\chi\omicron\nu\delta\rho\iota\omicron\nu$  (hondrion=granula, zrnast) koje opisuju njihov nitast i zrnast izgled na svetlosnom mikroskopu. Mitohondrije su prvi put uočene na svetlosnom mikroskopu nezavisno od strane više naučnika 1840. godine, kad su one i predstavljene kao intracelularne strukture. Pedeset godina kasnije, 1890., naučnik Richarda Altmann ih prvi predstavlja kao ćelijske organele i naziva bioblastima, 1898 [250]. godine naučnik Karl Benda skovao je složenicu koja postaje ime bioblastima i to je mitohondrija. Od 1900. godine pa sve do danas izučavanje mitohondrija se samo inteziviralo i proširivalo pogotovo pedesetih godina dvadesetog veka kada nastupa era korišćenja elektronskog mikroskopa. Ubrzo su naučnici shvatili povezanost mitohondrija sa ćelijskim disanjem i tako definisali vitalan i esencijalan značaj ovih organela za eukariotske ćelije. Metoda frakcionog izolovanja mitohondrija iz ćelija omogućila je biohemijsko definisanje proteina respiratornog lanca na njihovoj unutrašnjoj membrani i shvatanje mehanizma odigravanja oksidativne fosforilacije. Elektronmikrografije visoke rezolucije omogućile su potpunu vizuelizaciju strukture mitohondrija i otkrivanje strukture njene unutrašnje membrane koja formira kriste. Takođe, pokazano je da postoji razlika u obliku i veličini mitohondrija u zavisnosti od vrste ćelija, njenog metaboličkog statusa i stepena diferencijacije. Tek, 1964. godine pokazano je da mitohondrije sadrže molekul cirkularne DNK, a 1967. godine otkriveno je da mitohondrije sadrže i ribosome u svom matriksu.



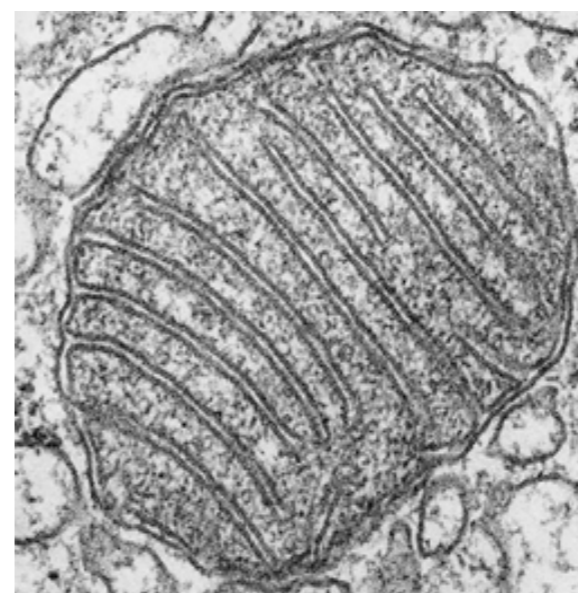
[250] *Fotografija naučnika Richarda Altmanna, nemačkog patologa i histologa, razvio je i poboljšao mnoge metode u fiksaciji i bojenju tkiva za histološka i citološka istraživanja, koje se i dan danas koriste. Pored prvog imena za mitohondrije ovaj naučnik ih je smatrao elementarno živim jedinicama ćelija sa metaboličkom i genetskom autonomijom, što se mnogo godina kasnije i dokazalo. Altmann je takođe skovao i termin "nukleinske kiseline" kojima je nazvao biomakromolekule u jedru i dokazao je da su one kiseline po hemijskom sastavu.*

## GRAĐA MITOHONDRIJA

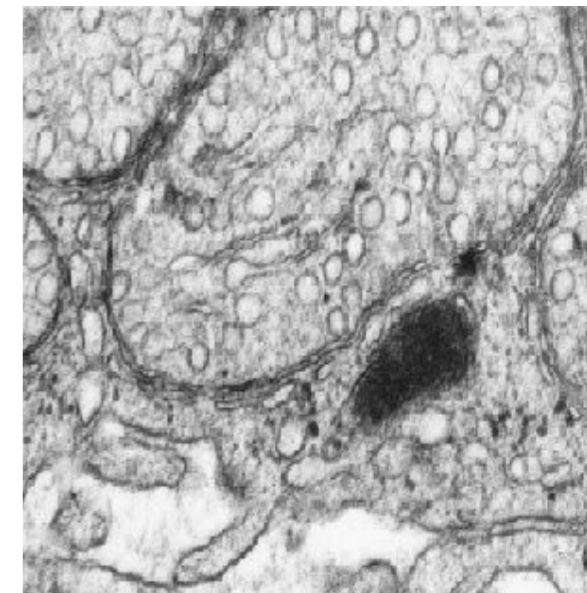
Mitohondrije na elektronmikrografijama najčešće podsećaju na štapolike formacije zaobljenih krajeva [251], mada mogu da budu i vezikularne, loptaste, bubrežaste i razgranate u obliku slova Y. Značaj mitohondrija u pravilnom funkcionisanju ćelija toliki je da njihovo nefunkcionisanje dovodi do teških poremećaja u razvoju organizama i stvaranju ozbiljnih oboljenja. U ljudskom organizmu genetski ili stečeni poremećaji rada mitohondrija dovode do srčane disfunkcije, menatlna retardacije, poremećaja u lokomociji i dr. Mitohondrije se značajno razlikuju po svojoj veličini i obliku [254, 255], često se opisuju kao organele veličine bakterije, dijametra 0,5 - 1  $\mu\text{m}$ , ali one su veoma dinamične i plastične organele, koje mogu da se kreću po ćeliji, stalno menjaju oblik, dele se i fuzionišu. One su organele kao što je već spomenuto koje su ograničene sa dve membrane, jednom spoljašnjom i drugom unutrašnjom, a između ovih dveju membrana nalazi se međumembranski prostor. Spoljašnja mitohondrijska membrana u dodiru je sa citoplazmom, dok je unutrašnja u dodiru sa mitohondrijalnim matriksom i unutrašnja ima oko pet puta veću površinu od spoljašnje. Uvećana površina unutrašnje mitohondrijske membrane organizovana je u pregrade cristae mitochondriales - mitohondrijske kriste, koje prodiru u mitohondrijalni matriks. Postoje dva oblika kristi: lamelarni - koristi se još i termin pregradni ili diskoidalni, jer je baza ovih krista široka i one široko u vidu pregrade ili ploča polaze sa zida mitohondrije prema matriksu razdvajajući ga skoro potpuno u zaseben odeljke; i tubularni - naziva se još i vezikularni jer je baza ovih tubularnih krista uska sličnog oblika kao mikrovile tj. kao da prsti polaze sa zida mitohondrije prema matriksu i koji se često proširuju u obliku vakuola u matriksu [252, 253]. Unutrašnjost kristi mitohondrija komunicira sa međumembranskim prostorom preko uskih membranskih tubula, odnosno otvora koji se zovu crista junctions. Lamelle lamelnog oblika mitohondrija postavljene su uglavnom međusobno paralelno i upravno na dužu osu mitohondrije, dok su tubule tubularnog oblika mitohondrija postavljene nepravilno, radialno, razučeno po celoj zapremini matriksa mitohondrije.



[251] Šematski prikaz građe mitohondrije



[252] Elektronmikrografija mitohondrija sa lamelarnim i [253] tubulo-vezikularnim kristama

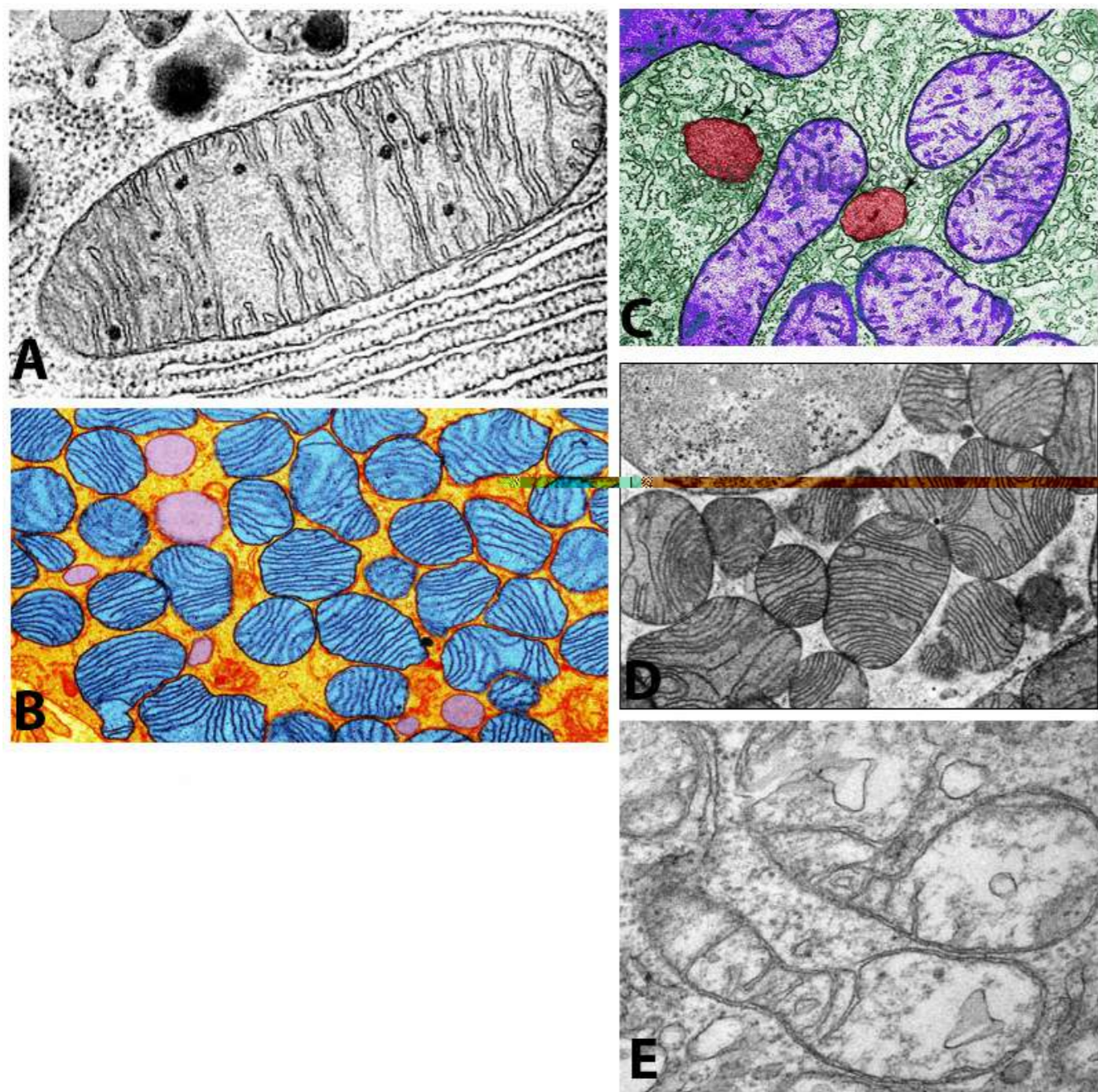


U zavisnosti od funkcionalnog stanja i tipa ćelija u kojima sintetišu energiju (osim mrkog masnog tkiva u kojem mitohondrije ne stvaraju ATP) postoji pet tipova mitohondrija: klasičan - karakterističan po ovalnim ili štapičastim mitohondrijama sa lamelarnim kristama; kondenzovan - to je modifikacija klasičnog tipa (karakterističnog za hepatocite) koji imaju pojačanu funkciju mitohondrija i čiji se produkti katabolizma zadržavaju u međumembranskom prostoru pa potiskuju matriks koji postaje kondenzovan i taman, a kriste su gusto složene; tubulovezikularan - štapičasti, vezikularni i bubrežasti oblik mitohondrija sa tubularnim oblikom kristi, karakterističan većinom za biljne ćelije, dok ih u životinjskim ima samo u steroidogenim ćelijama; specijalizovan krista tip - sadrži dugačke kriste koje se pružaju od jedne do druge naspramne strane mitohondrije; i tip nabubrele mitohondrije - imaju uvećavaju zapreminu svog matriksa koji je svetliji i pošto vrši pritisak na kriste, dezorganizuje ih i potiskuje na periferiju. [256, 257, 258, 259 i 260]. Promena tipa mitohondrija i oblika kristu njihovih unutrašnjih membrana dešava se neretko u ćelijama, a zavisi isključivo od funkcionalnog stanja i stepena diferencijacije ćelije. Broj, oblik i strukturalnost površina krista mitohondrija određuje stepen stvaranja ATPa na njima. Iz tog razloga je unutrašnja mitohondrijska membrana dinamična i sposobna da brzo menja svoj oblik u skladu sa osmotskim ili metaboličkim uslovima. Tipičan oblik velikog broja pločastih ili tubularnih kristi karakteriše funkcionalno aktivnu mitohondriju sa intenzivnom oksidativnom fosforilacijom koja zahteva brzu difuziju jona i molekula na proteinima ugrađenim u unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani. Strukturne promene predstavljaju mehanizam pomoću kojeg mitohondrije odgovaraju na promene u okruženju ćelije.



[254] Elektronmikrografije različitih oblika mitohondrija: ovalan (levo) i [255] štaičast (desno)

Mitohondrijalni matriks sadrži kalcijum-fosfat u obliku sitnih granula. Kalcijum reguliše aktivnost različitih proteina u mitohondrijama. Brojni procesi u ćeliji odvijaju se u kooperaciji citoplazme sa proteinskim kompleksima na svim membranama u ćeliji, što znači da je održavanje potrebne količine kalcijuma u ćeliji zavisi od ulaska i izlaska jona kalcijuma i iz mitohondrija. Ulazak jona kalcijuma u mitohondriju omogućava protein kalciforin, dok izlazak kalcijuma omogućava ATP zavisna jonska pumpa. Kalciforin je mitohondrijski kalcijumski uniportin koji se pokreće pomoću izmenjivača na  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Li}^+$  pumpi uz korišćenje natrijumskog elektrohemiskog gradijenta. Protok kalcijuma na membranama mitohondrija je nezavisan proces, ne zavisi od citoplazmatičnih procesa i protoka kalcijuma, tj. samo je pod utucom kalcijumskih uniportina.

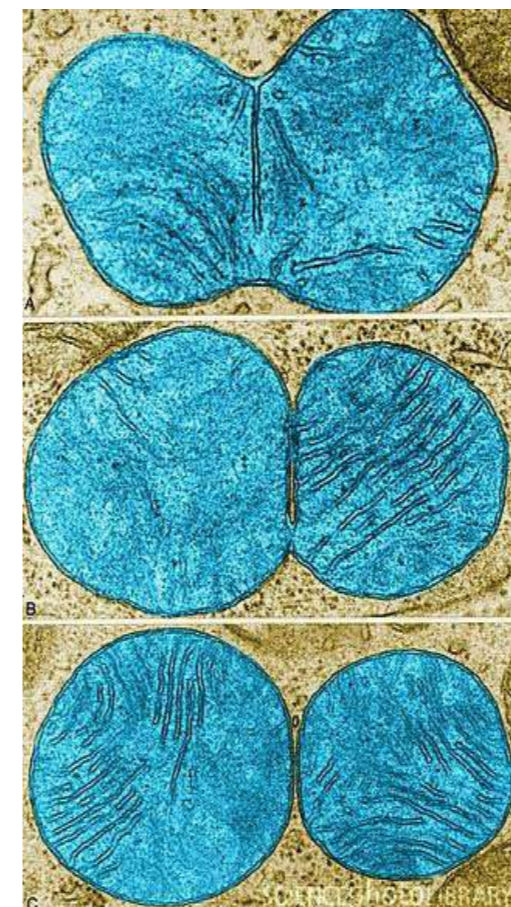


Elektronmikrografije različitih tipova mitohondrija: [256] A - klasičan, [257] B - kondenzovan, [258] C - tubulovezikularan, [259] D - specijalizovan krista tip i [260] E - nabubrele mitohondrije

Sve elektronmikrografije mitohondrija do sad predstavljene ukazuju na nemogućnost postavljanja čvrstih granica između tipova mitohondrija, jer su one izuzetno dinamične organele koje lako prelaze iz jednog tipa u drugi u zavisnosti od metaboličkog stanja i stepena diferencijacije ćelija u kojima su. Pokazalo se neretko da je teško definisati oblik krista kod određenih mitohondrija. Naime, početni deo lamelarne kriste gde on nastaje zna da bude sužen odakle se naglo širi i izdužuje prema matriksu mitohondrije u obliku pregrade, kao i da tubularni oblik kriste može da počne sa širokom osnovom od zida mitohondrije koja se potom naglo sužava u uski, prstoliki oblik tubularne kriste. Mitohondrije su u mogućnosti da veoma lako promene svoj oblik i veličinu u živoj ćeliji u odnosu na njeno funkcionalno stanje. Mestimično se može uočiti da se mitohondrije savijaju, granaju, da im zadebljava jedan kraj ili kao da pupe na jednom delu, sve su to manifestacije dinamične organele koja menja intenzitet sinteze molekula ATPa, menja svoj položaj između filamenata citoskeleta u citosolu ili se deli na dve nove mitohondrije.

Osnovne strukturne komponente mitohondrija su spoljašnja mitohondrijalna membrana, unutrašnja mitohondrijalna membrana, međumembranski prostor i matriks mitohondrija. U hemijskom i fizičkom smislu matriks mitohondrija sličan je citoplazmi, to je vodena sredina sa brojnim biomakromolekulima, enzimima, malim molekulima i jonima, sa mitohondrijskom DNK (mitDNK), mitohondrijskim ribozomima i mitohondrijskim granulama. Prema tome mitohondrije su jedine organele u životinjskim i humanim ćelijama koje imaju sopstvenu DNK i ribozome. Mitohondrijalna DNK je veoma važna komponenta mitohondrija veoma teško uočljiva i na elektronmikrografijama, jedino može da se vizuelizuje kada se specifično oboji bojama koje se vezuju za nukleinske kiseline. Mitohondrijalni ribozomi su sitniji od ribozoma u citosolu eukariotske ćelije i po tipu su 70S ribozomi, isti kao ribozomi u prokariotskim ćelijama.

#### DEOBA MITOHONDRIJA

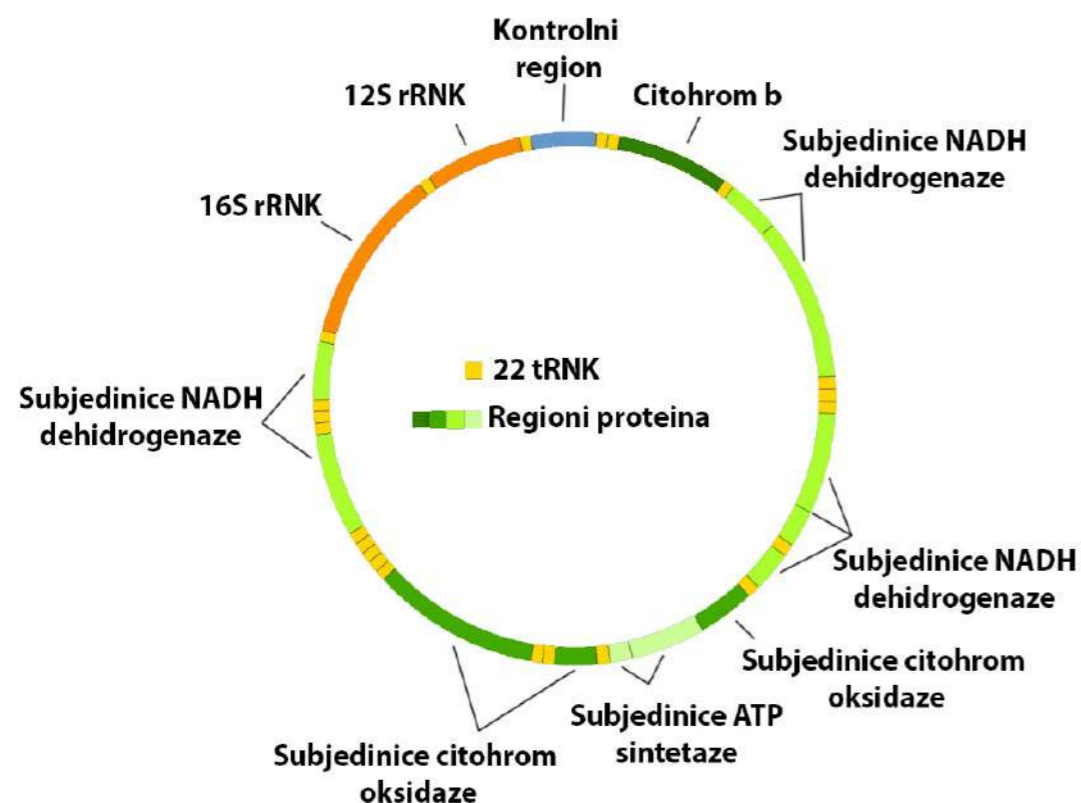


Svi eukariotski organizmi koji su izgrađeni od velikog broja ćelija razvijaju se od jedne jedine oplođene jajne ćelije koja prolazi kroz veliki broj ćelijskih deoba. Mitohondrije u ćelijama ne nastaju de novo već procesom fisione deobe postojećih mitohondrija [261], što znači da sve mitohondrije u ćelijama odraslog organizma potiču od onih koje su bile prisutne u citoplazmi oplođene jajne ćelije. Deobe mitohondrija kontrolišu njihov broj i oblik. Oblik mitohondrija može da bude mnogo različit u različitim tipovima ćelija u rasponu od balonastog, pužastog, visoko razgranatog ili retikularnog. Proces deobe mitohondrija započinje udvajanjem njihovih molekula DNK, pa podelom mitohondrijalnog matriksa, za čim sledi zajednička podela unutrašnje i spoljašnje membrane. Fisija mitohondrija počinje nakupljanjem molekula GTP-a povezanih molekulima dinamina u oligomernu spiralu koja stvara lokalno suženje tubularnih mitohondrija. Molekuli GTP-a hidrolizom generišu mehaničku silu koja prekida unutrašnju i spoljašnju membranu mitohondrija u jednom koraku. Mitohondrija u deobi polako razdvaja dve ćerke-mitohondrije koje se razdvajaju jedna od druge u trenutku potpunog formiranja spoljašnjih mitohondrijalnih membrana.

[261] Elektronmikrografija prikazuje deobu mitohondrije na dve nove i organizaciju novih kristi

## MITOHONDRIJALNA DNK

Analiziranje mitohondrija kao organela eukariotskih ćelija uglavnom se zasniva na istraživanju njene sposobnosti da za ćeliju proizvedu preko potrebnu energiju. Međutim, uvek se nekako nepošteno u drugi plan baca njena uloga u nošenju genetskog materijala u obliku cirkularne DNK, sa kojeg mogu da se prepisu geneti za sintezu mnogih bitnih proteina za mitohondriju. Tako su mitohondrije jedine organele ćelija životinja koje poseduju sopstvenu DNK prisutnu u više istovetnih kopija. Molekul mitohondrijske DNK sličan je molekulu prokariotske DNK, dvolančan je i nema za sebe vezane histone. Mitohondrije u eukariotskim ćelijama sadrže u matriksu svoj nezavisni genom od genoma ćelije u jedru i pokazuje veliku sličnost sa prokariotskim, na njemu se sintetišu značajni proteini neophodni za pravilno funkcionisanje mitohondrija. Broj proteina transkribovanih na mitohondrijalnoj DNK variraju u zavisnosti od vrste tkiva i vrste organizma. Mitohondrijalna DNK je prstenasta i ima sposobnost replikacije nezavisno od replikacije DNK u jedru, tako mitohondrije mogu da se udvajaju nezavisno od deobe same ćelije. Veliku većinu mitohondrijalnih proteina kodiraju geni u jedru, a samo mali deo kodiraju geni na mitohondrijalnoj DNK. Mitohondrijalna DNK kod ljudi na primer nosi samo 37 od ukupnog broja gena; preostali geni su kodirani u ćelijskom jedru i proteini sintetisani sa tih jedarnih gena se transportuju iz citoplazme u mitohondrije gde se ugrađuju. Od 37 gena koliko nosi genom mitohondrijalne DNK njih 13 kodiraju proteine unutrašnje mitohondrijske membrane [262]. Zavisnost mitohondrija od molekula DNK u jedru je velika, ali nikako manja od značaja gena koji se nalaze na njenom DNK molekulu, jer oni kodiraju proteine potrebne za stvaranje ATP-a u ćelijama i procese njene diferencijacije



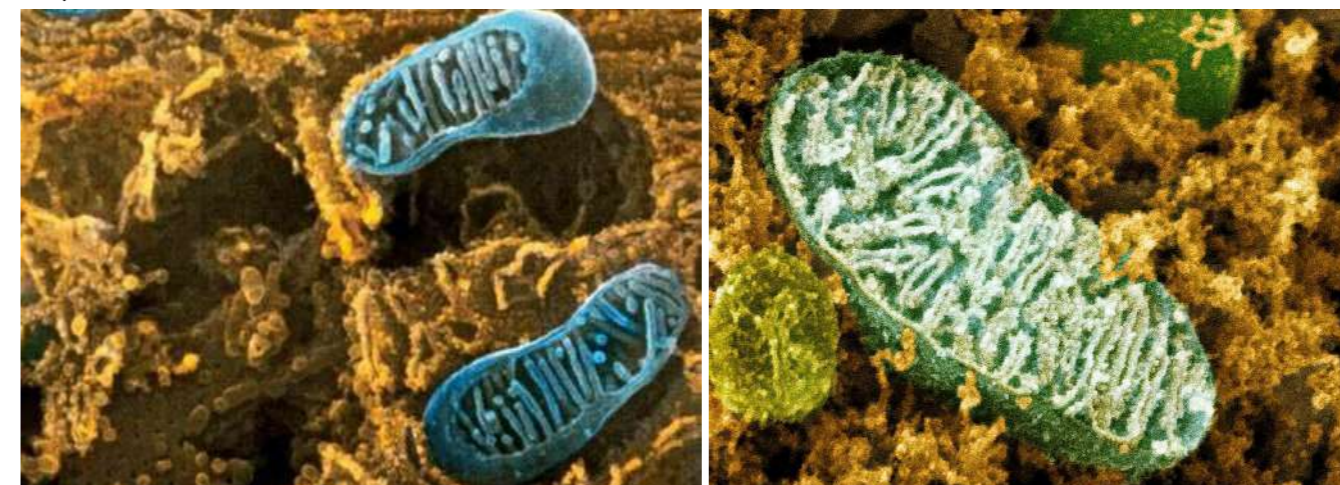
[262] Šematski prikaz mitohondrijalne DNK sa rasporedom gena

Kružna mitohondrijalna DNK organizovana je da sadrži nekoliko kopija gena za sintetu proteina respiratornog lanca, kao i gene za kodiranje rRNK i 22 molekula tRNK, neophodnih za translaciju iRNK u proteine. Enzimi koji se sintetišu na DNK molekulu mitohondrija su: citohrom b, NADH dehidrogenaza, citohrom oksidaza i ATP sintetaza; pored njih sintetišu se još i proteini unutrašnje membrane mitohondrija, kao i 22 molekula tRNK, 16S rRNK i 12S rRNK. Mitohondrijalna DNK sadrži gene za sintezu enzima koji određuju brzinu biosinteze pirimidina, purina i nukleotida; sintezu proteina za molekule hema potrebnog za proizvodnju hemoglobina. Značaj navedenih proteina i enzima je ogroman i nikako ne treba izgubiti iz vida činjenicu da ako nema šifre za njihovu sintezu na molekulu DNK u mitohondrijama nema ni proizvodnje ATP molekula. Nedostatak molekula ATPa u ćelijama i organizmu generalno dovodi do velikog opterećenja njegovog funkcionisanja. Procesi vezani za ATP molekule povezani su blisko s većinom glavnih metaboličkih puteva koje ćelija koristi za izgradnju, deobu i digestiju biomolekula na molekule iz kojih su izgrađeni. Ćelije ne mogu da sintetišu molekule RNK i DNK potrebne za svoj rast i funkcioniranje bez mitohondrija tj. mitohondrijalne DNK.

## FUNKCIJA MITOHONDRIJA

Posmatranje mitohondrija predhodno obeleženih vitalnim bojama [263, 264] pokazuje nedvosmisleno da su one dinamične strukture u živim ćelijama. One mogu da se premeštaju iz jednog dela ćelije u drugi u odnosu na potrebe ćelije za energijom uz pomoć ćelijskog citoskeleta. Premeštanje je zasnovano na uspostavljanju kontakta spoljašnje mitohondrijske membrane sa mikrotubulama preko pridruženih proteina. Na isti način mitohondrije se približavaju sa cisternama endoplazmatičnog retikuluma u momentima kada se na njima sintetišu polipeptidi, kako bi im što brže i lakše predale energetske molekule neophodne u sintezi. Takođe, mitohondrije interaguju sa membranama endoplazmatičnog retikuluma u cilju razmene lipida. U nekim ćelijama mitohondrije su fiksirane na jednoj poziciji, tamo gde su velike potrebe za energijom, na primer rep spermatozoida ili poprečno-prugaste mišićne ćelije.

Mitohondrije koriste piruvat poreklom od glukoze i drugih šećera, i masne kiseline poreklom od masti i u matriksu ih pevode do acetil-CoA. Ovaj značajan intermedijer ulazi u Krebsov ciklus u kome se njegova acetil grupa oksiduje, čime nastaje CO<sub>2</sub> koji difuzijom napušta mitohondriju. U Krebsovom ciklusu nastaje i NADH koji prenosi svoje elektrone bogate energijom iz matriksa na elektron transportni lanac u unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani, gde se energija NADH elektrona konvertuje u energiju hemijske veze u ATP-u. Elektroni se finalno kombinuju sa kiseonikom na kraju respiratornog lanca i daju vodu. Zato se za mitohondrije kaže da su organele u kojima se odvijaju procesi oksidativne fosforilacije ćelije.

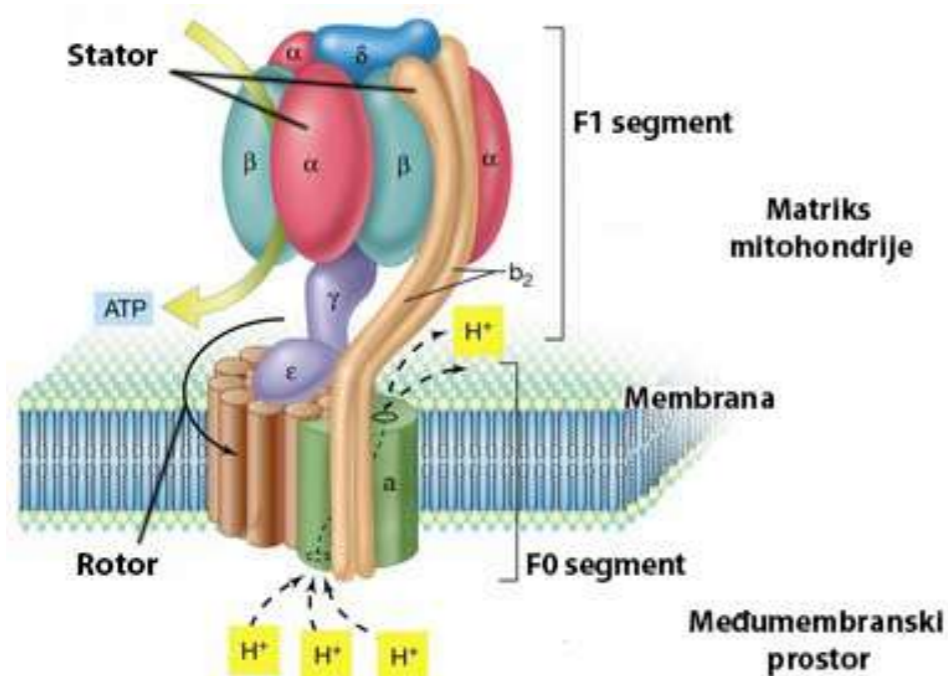


[263] i [264] Elektronmikrografije mitohondrija

Regioni membrana mitohondrija sa različitim metaboličkim procesima detektuju se na osnovu enzimskog sastava koji ih odlikuje. Kod nervnih ćelija mitohondrije učestvuju u: metabolizmu neurotransmitera; oslobađanju ćeliju od slobodnih radikala i vrše detoksikaciju; razgradnji masti, proteina i ugljenih hidrata. Analogno ćelijama jetre DNK mitohondrije u nervnim ćelijama ima šifre za sintezu nekih od proteina koji omogućavaju spomenute metaboličke procese.

Spoljašnja mitohondrijska membrana po svojoj građi pripada biomembranama građenim od mozaika proteina sa polisaharidima uronjenog u tečni fosfolipidni dvosloj, najsljednija je membrani endoplazmatičnog retikuluma. Mitohondrijalne membrane ne sadrže polisaharidne komponente u njihovoj građi, debljina joj je 6 nm i odnos proteina i lipida je 55:45 %. Spoljašnja mitohondrijalna membrana sadrži u sebi veliki broj transmembranskih proteina koji formiraju široke hidrofilne kanale - porine, za prolaz jona i manjih molekula u međumembranski prostor mitohondrija. Pored porina u ovoj membrani prisutni su i voltažno zavisni jonski kanali koji se otvaraju za prolaz raznih molekula tek nakon promene koncentracije jona vodonika na njenoj površini. Spoljašnja mitohondrijska membrana sadrži u sebi enzime neophodne za sintezu lipida: kardiolipina i fosfolipida koji se ne obrazuju na agranulisanim endoplazmatičnim retikulumima, a izgrađuju i unutrašnju membranu mitohondrija. Kardiolipini su esencijalne i specifične komponente za mnoge funkcije mitohondrija kao što su transport elektrona i propustljivost jona kroz membrane; i unos proteina i rastvorenih supstanci u mitohondrije. Spoljašnja mitohondrijska membrana sadrži pored svega nabrojanog i enzime koji razlažu lipidne biomakromolekule u jedinice koje će se metabolisati u mitohondrijskom matriksu. Ti enzimi su: citohrom b5, NADH-citohrom b5 reduktaza, ATP-acilCoA-sintetaza, flavoproteinska monoamin-oksidaza; kao i proteini transporteri koji omogućavaju prenošenje molekula ATP-a i ADP-a i proteinski kompleksi koji su uključeni u proces unošenja proteina sintetisanih u citosolu neophodnih mitohondriji.

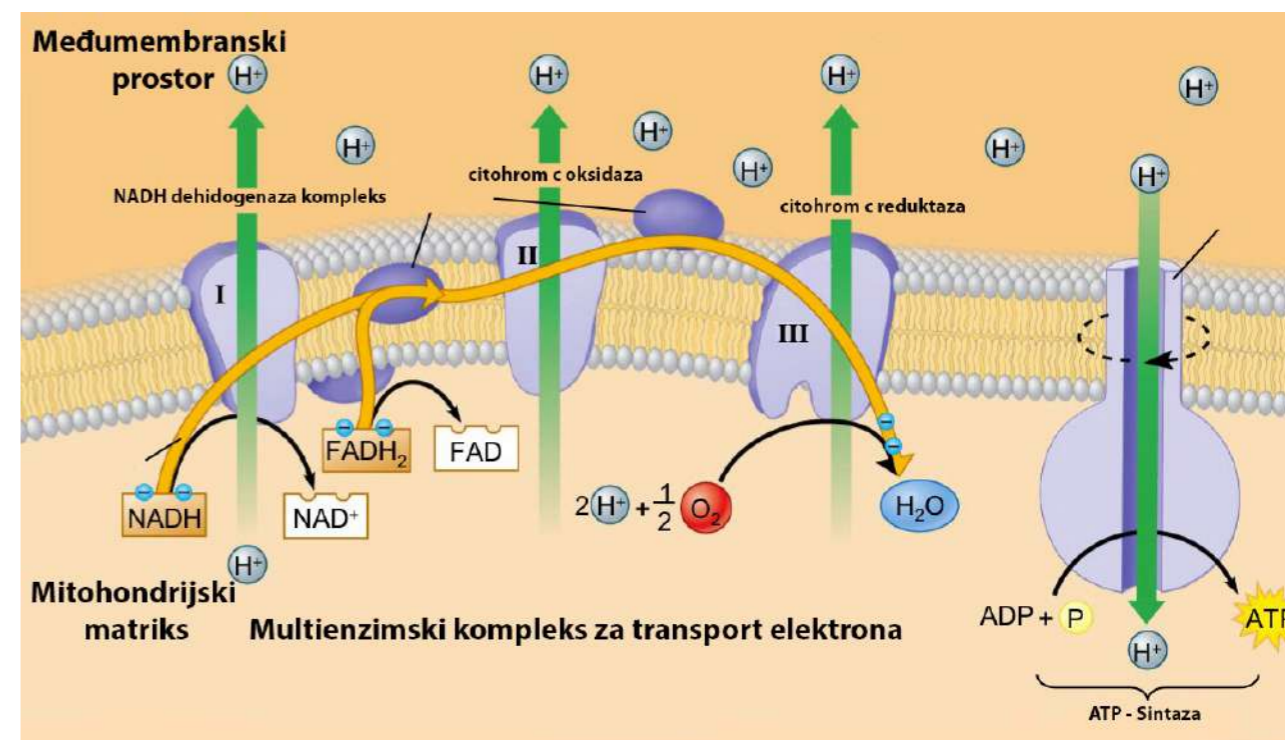
Međumembranski prostor mitohondrija sadrži enzime za odvijanje pojedinih etapa mitohondrijskog metabolizma kao što su kinaze. Na elektronmikrografijama ovaj prostor igleda prazan, širok je 10-20 nm, a u kristama se širi i zavlači u duplikature unutrašnje membrane. U njemu se nalaze enzimi odgovorni za fosforilaciju nukleotida, ima isti jonski sastav kao i citoplazma zbog postojanja porina u spoljašnjoj membrani mitohondrija.



[265] Šematski prikaz ATP- sintaze

Unutrašnja mitohondrijska membrana razlikuje se po svom proteinsko-lipidnom sastavu od spoljašnje, jer je odnos proteina i lipida u njoj, u nivou kristi 75:25 %. Ova mitohondrijska membrana u svom lipidnom dvosloju sadrži proteine na kojima se obavljaju oksidativne reakcije respiratornog lanca, ATP-sintaza, prenosioci koji regulišu selektivan prolaz malih molekula u mitohondrijalni matriks gde su nužni za funkcionisanje enzima ili odvijanje procesa u matriksu, kao i adenin-nukleotidni translokatori. Unutrašnja membrana mitohondrija sadrži fosfolipid kardiolipin sa dve glave koji se i sintetiše na njoj. Unutrašnja mitohondrijalna membrana ima karakterističan izgled jer na svojoj strani okrenutoj prema matriksu sadrži proteinske strukture koje po svom izgledu podsećaju na sijalice i nazivaju se oksizomi. Kroz unutrašnju membranu mitohondrije prolazi vrat oksizoma, dok je u mitohondrijalni matriks uronjena njegova glava. Dakle u unutrašnjoj membrani mitohondrija nalaze se transportni proteini kroz koje prolaze joni (protoni i fosfati) i metaboliti ATP i ADP, ali i proteinski kompleksi respiratornog lanca i ATP-sintazu, proteinske strukture koje po svom izgledu podsećaju na sijalice. ATP-sintaza u morfološkom smislu grade tri dela: glava koja podseća na blago izduženu sferu i čiji je prečnik 9-10 nm, uska drška povezujućeg proteina i osnova koja je uronjena u lipidni dvosloj i prečnika je 4,5 nm. ATP-sintaza je multienzimski kompleks koji obuhata dva funkcionalan segmenta - Fo i F1 segment. Fo segment obrazovan je većeg broja subjedinica i kroz njega prolaze protoni, F1 segment formiraju šest subjedinica: tri α i tri β, koje obrazuju glavu ATP-sintaze i pridruženo im je još tri subjedinica drške koje pričvršćuju glavu za osnovu. Segment F1 vrši sintezu molekula ATP-a i zato se on označava još i F1-ATPaza. Za beta subjedinice glave oksizoma vezuju se molekuli ADP-a i fosofrna grupa pa tako ova subjedinica predstavlja mesto sinteze ATP-a [265].

Pored ATP-sintaze na unutrašnjoj membrani mitohondrija nalaze se i prenosioci elektrona (tri protonske pumpe respiratornog lanca) asimetrično raspoređeni i organizovani u tri kompleksa: kompleks I - NADH (nikotinamid-adenin-dinukleotid) dehidrogenazni kompleks koji se sastoji od 12 polipeptidnih lanaca; kompleks II citohrom c reduktaza koji se sastoji od osam proteinskih lanaca i citohroma b i citohroma c1; i kompleks III - citohrom c oksidaza, koji se sastoji od sedam polipeptidnih lanaca i citohrom a i citohrom a3 [266].



[266] Šematski prikaz kompleksa za prenos elektrona na unutrašnjoj membrani mitohondrija

Kroz protonske pumpe respiratornog lanca transportuju se elektroni sa NADH do kiseonika. Energija transporta elektrona koristi se za pumpanje protona iz matriksa u međumembranski prostor, kroz unutrašnju membranu mitohondrija. U unutrašnjoj membrani mitohondrija, između multienzimskih kompleksa nalaze se molekuli ubikinona i citohroma c koji učestvuju u procesu sinteze molekula ATPa s koji su pokretni u njoj. Sam proces sinteze molekula ATPa započinje stvaranjem elektrohemijskog gradijenta tj. izbacivanjem protona ( $H^+$ ) iz mitohondrijalnog matriksa u međumembranski prostor. Rastući gradijent protona u međumembranskom prostoru pokreće sintezu ATPa na nivou glave ATP-sintaze. Protoni se iz međumembranskog prostora ponovo vraćaju u mitohondrijalni matriks prolazeći kroz Fo region ATP-sintaze, što omogućava da u nivou F1 regiona ATP-sintaza dođe do sinteze molekula ATP-a i fosfata. Na beta subjedinicama glave ATP-sintaze zbog prolaska protona koji donose energiju dolazi do sinteze molekula ATPa od molekula ADPa i fosfornih grupa. Na unutrašnjoj mitohondrijskoj membrani nalaze se i proteini translokatori koji omogućavaju da se iz međumembranskog prostora mitohondrija u matriks prenesu molekuli ADPa, kao i da iz matriksa izađu u međumembranski prostor novosintetisani molekuli ATPa. Pored translokatora na unutrašnjoj mitohondrijskoj membrani nalaze se i proteinski kompleksi odgovorni za procese unošenja proteina sintetisanih u citoplazmi u mitohondrijalni matriks gde su potrebni za sve oksidativne procese.

Proteini mitohondrija koji su kodirani genima u jedru sintetišu se u citoplazmi na slobodnim poliribozomima i zatim se transportuju kroz spoljašnju i unutrašnju membranu mitohondrije i smeštaju se u odgovarajući kompartment. Sintetski procesi koji se odvijaju u mitohondrijama zavisni su od jedrovo genoma i citoplazme, jer da bi moglo da dođe do udvajanja mitohondrijalne DNK ili prepisivanja različitih iRNK kao i do sinteze specifičnih mitohondrijskih proteina neophodno je da u matriks mitohondrija uđe iz citoplazme veliki broj enzima i proteina većinom sintetisanih sa jedarne DNK. Iz citoplazme u matriks mitohondrija dospevaju molekuli: mitohondrijske RNK-polimeraze, replikacioni enzimi, tRNK, amino-acil-tRNK-sintetaza, proteini koji izgrađuju mitohondrijalne ribosome, proteini membrana i matriksa mitohondrija, enzimi uključeni u oksidativne procese i amino kiseline neophodne za izgradnju polipeptida kodirane od strane mitohondrijske DNK. Pored proteina koji su sintetisani u citoplazmi u mitohondriji ulaze i molekuli tRNK neophodni za procese translacije u matriksu mitohondrija. Neki od molekula tRNK koji se koriste u mitohondrijama za sintezu proteina su isti kao i oni prisutni u citoplazmi, dok drugi pretrpe dodatne modifikacije. Vazno je da svi molekuli koji su sintetisani u citoplazmi, a učestvuju u izgradnji ili funkcionisanju mitohondrija budu premešteni kroz spoljašnju i unutrašnju membranu i smešteni u odgovarajući mitohondrijski segment. Proces transporta proteina kroz membrane omogućavaju kompleksi translokacionih proteina ugrađenih u mitohondrijske membrane TOM i TIM kompleksi. TOM kompleks translokacionih proteina nalazi se u spoljašnjoj mitohondrijalnoj membrani i obrazovan je od većeg broja receptornih, površinskih i transmembranskih proteina. Dva TIM kompleksa translokacionih proteina nalaze se u unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani i obrazovani su takođe od receptornih, površinskih i transmembranskih proteina. Ovi kompleksi poseduju komponente koje se ponašaju kao receptori za buduće proteine mitohondrija, a druge komponente formiraju kanale za translokaciju kroz određene membrane mitohondrija. Pored TOM i TIM kompleksa ulazak molekula u mitohondrijalni matriks iz citoplazme dešava se i na mestima gde su spoljašnja i unutrašnja mitohondrijalna izuzetno blisko postavljene.



[267]

## PLASTIDI

Proplastidi  
 Etioplasti  
 Hloroplasti  
 Hromoplasti  
 Leukoplasti  
 Amiloplasti





Membranske organele eukariotskih ćelija ograničene su dve membrane, specifično organizovane za obavljanje procesa fotosinteze ili organele u kojima se skaladište produkti sinteze organskih molekula u ćelijama su plastidi. Plastidi su organele prisutne u ćelijama biljaka, algi i nekih vrsta protozoa, gde ih je prvi put uočio i imenovao Ernst Haeckel 1866. godine [268]. Hekel je definisao plastide kao sintetske organele biljnih ćelija, posmatrajući jednu od njihovih formi - hloroplaste [267]. Isti naučnik je uočavao hloroplaste, a samim tim i plastide samo u citoplazmama biljnih ćelija, dok ih kod životinjskih ćelija nije nalazio. Kao što je spomenuto plastidi su organele koje se nalaze u biljnim ćelijama, ćelijama algi i nekih vrsta protozoa i nikad ih nema u ćelijama viših životinja. Oni su semi-autonomne organele, njihov razvoj, deoba i funkcija koordinisani su kooperacijom ekspresije plastidnog i nukleusnog genetičkog materijala. Javljaju se u širokom spektru citoloških, morfoloških, biohemijskih i fizioloških formi kao proplastidi, etioplasti, hloroplasti, hromoplasti, leukoplasti, amiloplasti, proteinoplasti i elajoplasti. Diferencijacija biljnih ćelija podrazumeva i povratno ili nepovratno diferenciranje plastida, to znači da uloga ćelije određuje formu plastida koji će biti u njoj. Ćelije koje grade zeleno parenhimsko tkivo listova biljaka sadrže u sebi hloroplaste; ćelije koje grade podzemna tkiva, kao što su krtole u kojima biljka skladišti produkte metabolizma, sadrže u sebi amiloplaste; dok ćelije koje grade sočne delove plodova ili laticе cvetova biljaka u sebi sadrže hromoplaste. U diferenciranoj biljnoj ćeliji u određenom trenutku može da postoji samo jedna forma plastida, koja može da pređe u drugi oblik ali tada se i uloga i fiziologija cele ćelije menja. Forme plastida se menjaju po određenim pravilima, ne može svaka forma da pređe u drugu. Tako, hloroplast može da pređe u etioplast ili hromoplast; ili da se transformišu u proplastid koji dalje može da se diferencira u amiloplast ili hromoplast. Spoljašnja membrana plastida odvaja ga od citoplazme dok unutrašnja membrana ograničava stromu plastida. U stromi plastida nalaze se tilakoine membrane, molekuli DNK, RNK, plastidni ribozomi, a mogu se naći i lipidna tela - plastoglobule i skrobna zrna.

Plastidi se dele na fotosintetičke i nefotosintetičke, gde se u fotosintetičke ubrajaju samo hloroplasti, a u nefotosintetičke proplastidi, etioplasti, hromoplasti, leukoplasti, amiloplasti, proteinoplasti i elajoplasti. Fotosintetički plastidi imaju u sebi molekule pigmenta koji omogućavaju fotosintezu, dok nefotosintetički plastidi iako mogu da sadrže molekule pigmenta nemaju mogućnost fotosinteze u biljnim ćelijama. Plastidi nastaju u mladim ćelijama od proplastida, koji se dele istovremeno kad se dešava i deoba ćelije, tako da svaka mlada ćerka ćelija nasleđuje proplastide od majke ćelije. Diferencirani plastidi u starijim ćelijama imaju mogućnost deobe.

[268] *Slika naučnika Ernst Heinrich Philipp August Haeckela nemačkog biologa, prirodnjaka, filozofa, fizičara, profesora i umetnika koji je otkrio, opisao i imenovao pored ćelijske organele plastida još hiljade novih vrsta biljaka i životinja. Hekel se bavio izučavanjem porekla vrsta na planeti Zemlji, njihovim srodničkim vezama, ontogenijom, razvićem i filogenijom. Ogroman doprinos u antropologiji, ekologiji, filogeniji i sistematici ostavlja za sobom ovaj naučnik, njegove hipoteze i rasprave su i dan danas osnova za veliki broj definicija pojmova u biologiji kao što su vrsta, jedinka, porodica ili carstvo*

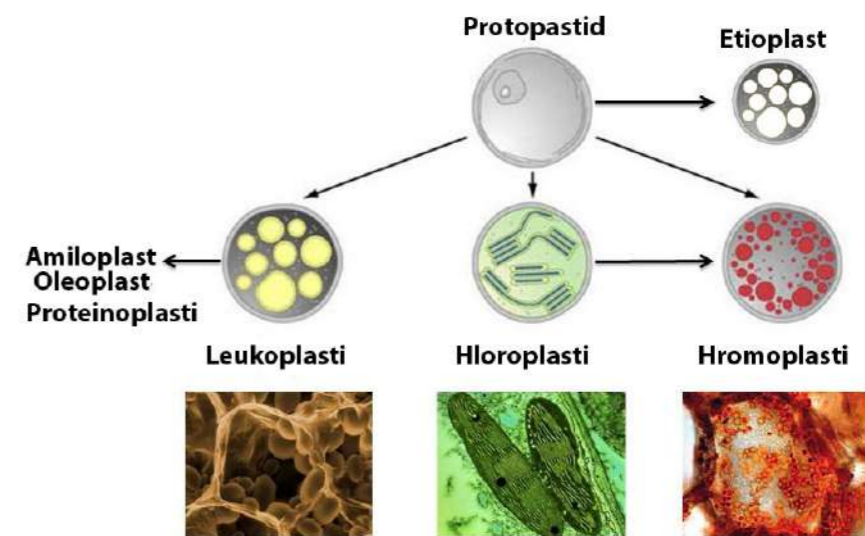
## PROPLASTIDI

Sve forme plastida nastaju od nediferenciranog plastida koji se naziva proplastid ili deobom postojećih plastida u biljnim ćelijama. Plastidi imaju zajedničku i veoma bitnu karakteristiku da mogu da prilagode svoju strukturu i funkciju različitim stupnjevima razvića i promenama okoline u kojoj se nalaze. Ovo prilagođavanje im omogućavaju proplastidi. Proplastidi se nalaze u mladim i nediferenciranim

meristemskim ćelijama biljaka i jednostavnog su sferičnog ili nepravilnog oblika, prečnika 1-1,5 μm. Kao i plastidi i proplastidi su membranske organele sa dve membrane: spoljašnjom koja ga odvaja od citoplazme; i unutrašnjom koja zatvara prostor strome proplastida. Proplastidi su bezbojni dok kasnije zavisno od toga koju će ulogu dobiti u toku diferencijacije ćelija [269], oni sintetišu ili ne sintetišu molekule pigmenta na svojim unutrašnjim ili tilakoidnim membranama i tako stiču boju i odgovarajuće karakteristike. Proplastidi imaju malo pojedinačnih tilakoida, često u kontinuitetu sa unutrašnjom membranom, male plastoglobule i ređe mala skrobna zrna. Stroma proplastida uglavnom je zrnaste strukture i sadrži malo tilakoidnih membrana u formi lamela i vezikula. U proplastidima sreće se prolamelarno telo, to je struktura nastala invaginacijom unutrašnje membrane proplastida prema citoplazmi, u obliku je mreže koja podseća na endoplazmatični retikulum. Matriks strome proplastida sadrži u sebi još i lipidne kapi, ribozome i molekule DNK, iRNK i rRNK.

[269] *Šematski prikaz diferencijacije proplastida*

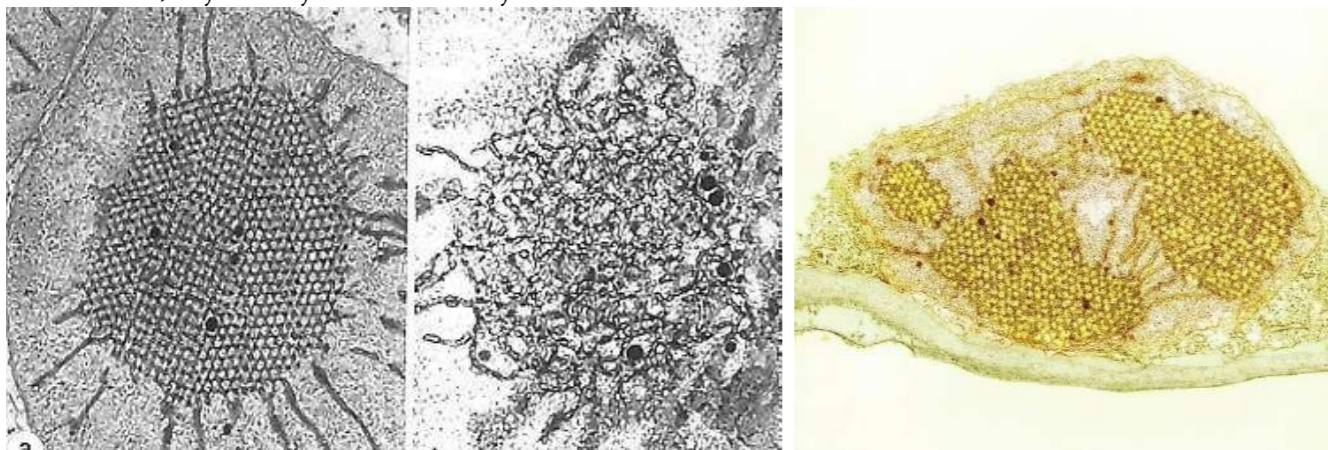
(*ispravka: umesto termina oleoplast ispravno je elajoplast*)



## ETIOPLASTI

Razviće i rast biljaka neretko se odvija u kratkotrajnom i privremenom odsustvu sunčeve svetlosti, najčešće kada iz semena u zemlji počinje da raste mlada biljka. Biljne ćelije mlade biljke u svojim citoplazmama od proplastida formiraju etioplaste, bezbojne ili bleđožute organele, sa unutrašnjom i spoljašnjom membranom i stromom. Etioplasti se obično nalaze kod cvetnica koje rastu u tami i njihov veliki broj u ćelijama uzrokuje žutu boju listova. Trenutak kada mlada biljka dovoljno poraste da izađe na površinu zemlje i dođe u kontakt sa sunčevom svetlošću pokreće transformaciju etioplasta u hloroplaste, za veoma kratko vreme, kada oni preuzimaju ulogu fotosinteze. Etioplasti tada u membranama prolamelnog tela sintetišu i ugrađuju u njih molekule pigmenta hlorofila. Time je omogućena transformacija prolamelnog tela etioplasta u tilakoidne membrane hloroplasta. Važna je činjenica da hloroplasti u nekim situacijama mogu da se transformišu u etioplaste, gubljenjem molekula pigmenta sa tilakoidnih membrana, ako biljka bude izložena tami; ili da se preformiraju u leukoplaste, ako ćelije biljnog organa preuzimaju ulogu magacioniranja hranljivih materija. Etioplasti u stromi sadrže prolamelarna tela - membransku parakristalnu strukturu koja podseća na pčelinje saće, od koje se radijalno šire lamelarni protilakoidi: u prolamelnim telima se nalaze molekuli prekursori molekula pigmenta hlorofila. Prolamelarna tela u etioplastima nastaju od unutrašnje membrane tako što se prvo od nje odvajaju mehurići koji kasnije formiraju tubule, pa na kraju parakristalno prolamelarno telo [270, 271 i 272]. Ova tela su najkarakterističnija za etioplaste, retko

se nalaze u drugim formama plastida, građena su od tubula prečnika oko 20 nm u čijim se membranama nalaze molekuli hlorofila. Tubule prolamelarnog tela grade visokoorganizovanu strukturu u obliku šestougaoone kristalne rešetke sa čije periferije polaze fenestrovani tilakoidi. Membrane prolamelarnog tela i fenestrovanih tilakoida ne mogu da vrše proces fotosinteze i razlikuju se po sastavu i građi od membrana tilakoida u hloroplastima. U stromi etioplasta pored ribozoma, molekula RNK i DNK nalaze se i plastoglobule. Često se u membranama prolamelarnog tela nalaze molekuli nefotosintetičkog pigmenta karotenoida, koji im daje svetložutu boju.



[270] Elektronmikrografije etioplasta u obliku retikuluma, [271] mehurića i [272] tubula

## HLOROPLASTI

Zelena tkiva biljaka izgrađena su od ćelija koje u svojim citoplazmama sadrže fotosintetičke organele hloroplaste. Oni na svojim unutrašnjim tilakoidnim membranama i lamelama nose ugrađene molekule pigmenta hlorofila, sposobnih da apsorbuju energiju sunčeve svetlosti i da je preko niza reakcija transformišu u energiju hemijske veze. Niz hemijskih reakcija koji transformišu energiju sunčeve svetlosti u energiju hemijskih veza zove se fotosintetička fosofrilacija. Energija dobijena fotosintetičkom fosofrilacijom koristi se za sintezu organskih molekula u biljnim ćelijama. Oblik hloroplasta kod biljaka je ovalan ili sočivast, dimenzija od 4 do 10 µm, što znači da su hloroplasti slične, malo veće, veličine kao i mitohondrije, odnosno bakterijske ćelije.

Značajno je da položaj hloroplasta u ćeliji nije stalan i na njega direktno utiče smer i intenzitet sunčeve osvetljenosti. Ukoliko biljka raste u uslovima slabe osvetljenosti hloroplasti u njenim ćelijama će zauzeti položaj da im je šira strana okrenuta prema pravcu pružanja svetlosnih zraka [273 i 274]. Ukoliko biljka raste u uslovima intenzivne osvetljenosti hloroplasti u njenim ćelijama će zauzeti položaj da im je uža strana okrenuta prema pravcu pružanja svetlosnih zraka. Zato su hloroplasti fototaksične organele jer se okreću i premeštaju u citoplazmi biljne ćelije u odnosu na pravac i intenzitet sunčevih zraka.



[273] Mikrografija biljnih ćelija sa hloroplastima i

[274] elektronmikrografija biljne ćelije sa hloroplastima (zelene strukture)

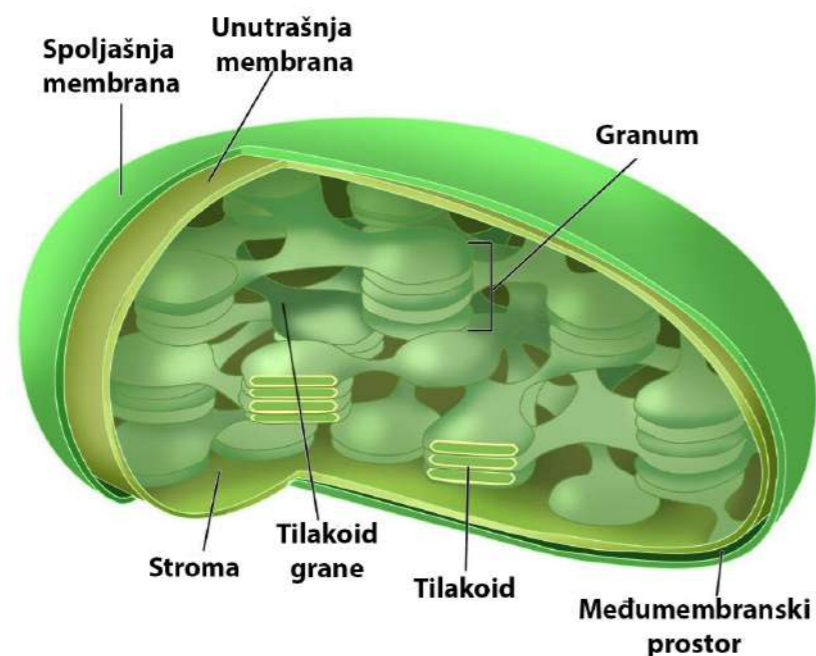
Okretanje u prostoru i premeštanje hloroplasta sa jednog mesta u citoplazmi na drugo ostvaruje citoskelet biljne ćelije: specijalizovani aktinski filamenti. Hloroplasti spadaju u fotosintetički aktivne pigmentisane plastide, tj. zelene plastide, prisutni su u ćelijama nekih grupa algi i zelenih tkiva nadzemnih organa biljaka. Oni su od citoplazme odvojeni sa dve membrane spoljašnjom i unutrašnjom koje zajedno formiraju ovojnicu hloroplasta. Spoljašnja membrana hloroplasta je u dodiru sa citoplazmom dok je unutrašnja u dodiru sa matriksom hloroplasta koji se nalazi u stromi hloroplasta. Unutrašnja membrana uvek ima veću površinu od spoljašnje jer obrazuje cevasta ispupčenja prema stromi hloroplasta i tako formira retikulum omotača periferno postavljen. Retikulum omotača olakšava razmenu materija i molekula između strome hloroplasta i citoplazme ćelije.



[275] Elektronmikrografija hloroplasta sa tilakoidima (levo) i [276] hloroplasta sa tilakoidima i jednim skrobnim zrnom (desno)

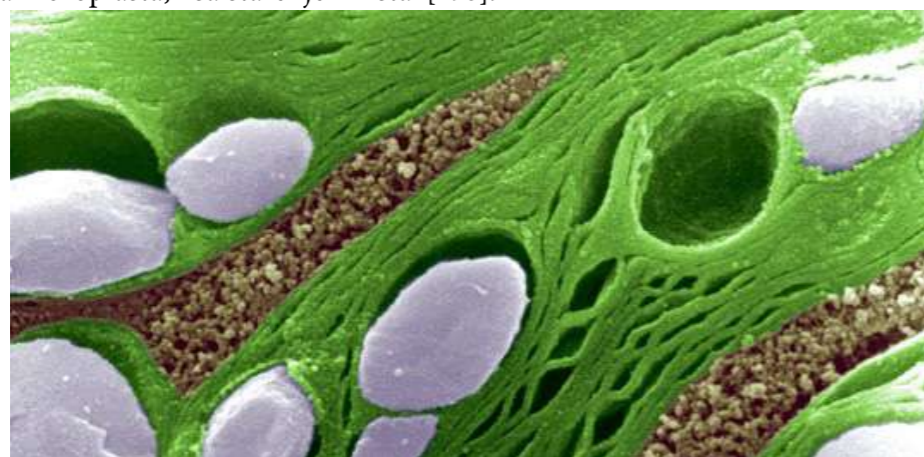
Između spoljašnje i unutrašnje membrane hloroplasta postoje značajne razlike na strukturnom i funkcionalnom nivou. Spoljašnja membrana specijalizovana je za translokaciju proteina, sintezu lipida i transport različitih rastvora kroz regulatorne i selektivne transmembranske proteine porine. Kanali porini prenose aminokiseline, amine, ATP, neorganski fosfor i dikarbonske kiseline. Unutrašnja membrana u sebi sadrži kanale za prolaz jona kalcijuma, kalijuma, hlora i protona, molekula triozofosfata i fosfoenolpiruvata i transportere za premeštanje molekula ATP-a i ADP-a. Stroma hloroplasta po hemijskom sastavu i fizičkim osobinama je slična citoplazmi, to je vodena sredina u kojoj se nalaze proteini, mali organski molekuli i joni. Na TEM-u stroma hloroplasta je fino granulirana sa visokodiferenciranim membranskim strukturama - tilakoidima. Analogno svim plastidima hloroplasti sadrže u svojoj stromi molekul hloroplastidne DNK (hlDNK), hloroplastidne ribozome, plastoglobule i skrobna zrna.

Membranske strukture strome hloroplasta [275 i 276], tilakoidi, su pojedinačne sljostene membranske kese - lamele, a ređe mogu biti i tubularne forme čiji je pravac pružanja paralelan sa dužom osom ovih organela. U hloroplastima tilakoidi se javljaju u dva oblika: tilakoidi strome i tilakoidi grana. Dugački, pojedinačni tilakoidi se označavaju kao tilakoidi strome, dok se kratki tilakoidi naslagani jedan na drugi označavaju kao tilakoidi granuma. Tilakoidi strome i granuma su međusobno povezani tilakoidnim granama. Tilakoidi grana su dugačke cevlike strukture koje se protežu kroz celu zapreminu strome hloroplasta [277]. Na mestima dodira tilakoida granuma i tilakoida strome ne postoji membrana tako da je ostvaren direktan kontakt i kontinuitet između njihovih unutrašnjih prostora. Uprkos ovoj heterofenosti u izgledu, tilakoidni membranski sistem je formiran od jedne kontinuirane membrane, i zatvara jedan unutrašnji prostor - lumen tilakoida, odnosno lokulus. Na taj način formira se celoviti prostor u stromi hloroplasta koji se naziva tilakoidni sistem. Između tilakoida grana često se nalaze tesno usadana skrobna zrna [278].



[277] Šematski prikaz ultrastrukturne građe hloroplasta

Molekul hloroplastne DNK je veoma sličan sa kružnim dvolančanim molekulom DNK prokariotske ćelije. U stromi hloroplasta prisutno je više molekula hDNK koje na sebi nose informacije bitne za sintezu različitih proteina koji se prvenstveno ugrađuju u membrane hloroplasta i učestvuju u fotositezi; kao i informacije za sintezu rRNK. Hloroplastne ribozome izgrađuju dve subjedinice i po građi i veličini veoma su slični sa ribozomima prokariotskih ćelija. U stromi hloroplasta nalaze se rezerve lipidnih molekula okružene fosfolipidnim jednoslojem koje se nazivaju plastoglobule. One su prečnika od 10 do 15 nm, povezane su sa tilakodima i u sebi često sadrže i molekule karotenoida i enzime za njihov metabolizam. Enzimi iz plastoglobula učestvuju u regulaciji fotosinteze, deobi hloroplasta, odgovoru hloroplasta na uslove ćelijskog stresa i na visoki nivo osvetljenosti hloroplasta, tako što utiču na organizovanost i rearanžman grana i granuma u stromi hloroplasta. Uloga plastoglobula u zaštiti biljnih ćelija od izloženosti jakom svetlu je u deponovanju i metabolizmu antioksidanasa koji su rastvorljivi u lipidima. Skrobna zrna u hloroplastima su privremene strukture koje predstavljaju rezerve polisaharida: amilozu i amilopektin, sintetisanih u procesu fotosinteze na njihovim tilakoidnim membranama. Broj skrobnih zrna u hloroplastima se povećava sa povećanjem diferenciranosti biljne ćelije u zelenim tkivima biljke; sa povećanjem volumena hloroplasta; i sa starenjem lista [278].

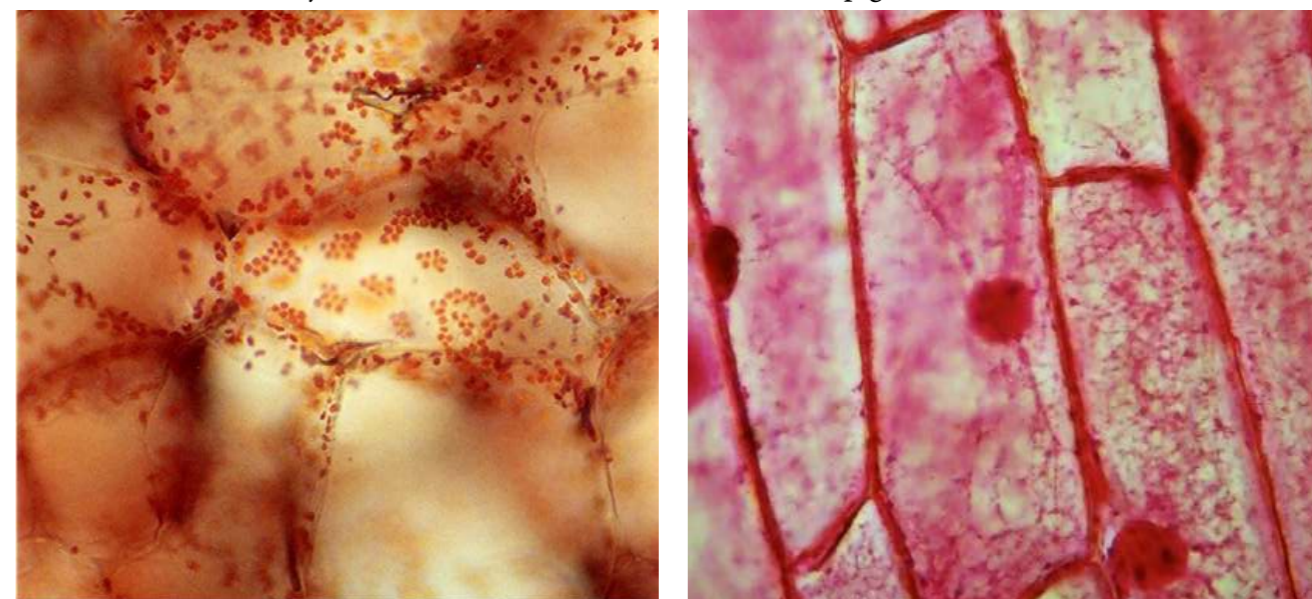


[278] Elektronmikrografija sa SEMa skrobnih zrna između tilakida hloroplasta

## HROMOPLASTI

Plastidi u ćelijama latica cveta, ili plodovima, ili u korenovima obojeni nijansama žute, narandžaste, braon, crvene, purpurne i ljubičaste su organele hromoplasti. Obojenost hromoplasta daje boju svim cvetovima u prirodi, plodovima, listovima koji venu, podzemnim stablima biljaka i korenovim sistemima. Ovde treba spomenuti da neko cvetovi duguju svoju obojenost pigmentima koji su u vakuolama, a ne u hromoplastima. Boja hromoplasta potiče od prisustva karotenoidnih pigmenta [279 i 280] kao što su: likopen (u plodu paradajza),  $\beta$ -karoten (u korenu šargarepe), krocetin (u tučkovima šafrana), violaksantin (u laticama ljubičice, i biljke dan i noć, kao i u plodu manga), ksantofili i fikobilini (u ćelijama mrkih algi), antocijanin (u ćelijama brusnice) i dr. Ksantofil je grupno ime za pigmente: lutein, zeaksantin i violaksantin. Fikobilini pored hromoplasta nalaze se i u stromi hloroplasta ili u citoplazmi ćelija, a antocijanini i u vakuolama.

Karotenoidni pigmenti su derivati molekula izopentena, to je organsko jedinjenje iz grupe alkena sa pet ugnjenikovih atoma. Hromoplasti su organele eukariotskih biljnih ćelija veoma različitih oblika ali sve sa univerzalnom šemom građe plastida, što znači da imaju spoljašnju i unutrašnju membranu, stromu, ribozome, DNK i RNK molekule. Poreklom od unutrašnje membrane hromoplasta, u stromi se nalaze raznolike strukture i u njihovim membranama se nalaze molekuli pigmenta.



[279] Mikrografije karotena i [280] antocijanina,

Pogledaj link: [metabolism.net/bidlack/botany/botanypics/default.htm](http://metabolism.net/bidlack/botany/botanypics/default.htm)

Tako se hromoplasti na osnovu oblika strukture koja nosi pigment dele na četiri tipa: globularni, tubularni, membranski i kristalni hromoplasti. Globularni tip hromoplasta u svom matriksu sadrži plastoglobule koje svojoj unutrašnjosti sadrže žute i narandžaste pigmente karotenoide. Tubularni tip hromoplasta u svom matriksu sadrži brojne tubule koje na i u svojim membranama sadrže ljubičast pigment. Membranski tip hromoplasta u svom matriksu sadrži membrane u obliku koncentričnih krugova koje na sebi sadrže ugrađene molekule žutog pigmenta. Kristalni hromoplasti u svom matriksu sadrže kristalne formacije crvenog pigmenta, beta-karotena i likopena. Hromoplasti najčešće nastaju od hloroplasta, a ređe od amiloplasta ili proplastida. Kada nastaju od hloroplasta, hloroplasti u procesu transformacije u hromoplaste gube skrobna zrna iz strome, gube tilakoide i povećavaju broj plastoglobula. Hromoplasti često nastaju od hloroplasta i u procesu starenja i venjenja zelenih biljnih tkiva, pa samim tim i fiziološke diferencijacije ćelija, kada fotosintetički aktivne ćelije postaju neaktivne.

Bilo koji način nastanka hromoplasta podrazumeva promenu proteinskog sastava strome plastida, enzimskog sastava i proteina njegovih membrana.

## LEUKOPLASTI

Leukoplasti su opšte ime za grupu plastida koji nemaju pigment. Amiloplasti, ejaloplasti i proteinoplasti se mogu smatrati specijalizovanim formama leukoplasta, pošto nemaju pigmente a skladište velike količine odedenih deponujućih molekula. Većina leukoplasta sadrži malo tilakoidnih membrana. Oni se nalaze u sekretnim ćelijama četinara jer sintetišu i deponuju eterična ulja i smole u sebi.

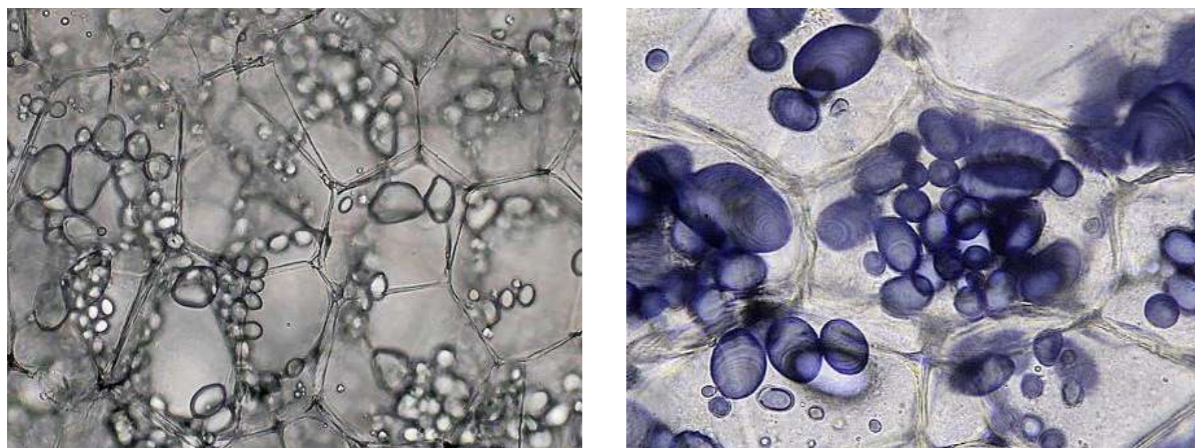
Leukoplasti primarno nemaju sposobnost fotosinteze, ali ako se nađu u ćelijama koje su izložene sunčevoj svetlosti prećice u prelazni oblik između leukoplasta i hloroplasta i počće da vrše fotosintezu. Prelazni oblici su svetlozelene boje sa malim brojem tilakoida koji na sebi nose hlorofil. Unutrašnja membrana leukoplasta retko gradi vezikule i cevčice u stromi [281] najčešće kod ćelija korena. Kao i ostali plastidi i leukoplasti poseduju ribosome, molekule DNK i RNK.



[281] Elektronmikrografija leukoplasta

## AMILOPLASTI

Plastidi iz porodice leukoplasta, bez pigmentata, sa ribozomima i molekulima DNK i RNK, bezojni i veoma različiti po svojoj morfologiji nazivaju se amiloplasti [282 i 283]. Karakteristična morfologija amiloplasta toliko je specifična da predstavlja taksonomski karakter, što znači da je moguće odrediti o kojoj je biljci reć samo ako se ima deo njenog tkiva, sa ćelijama koje u sebi sadrže amiloplaste. Prećnik amiloplasta je od 1 µm do 175 µm, a oblik im zavisi od oblika, broja i velićine skrobnih zrna koji su genetićki predodrećeni. Amiloplasti su izgraćeni od spoljašnje i unutrašnje membrane, strome sa velikim brojem skrobnih zrna u sebi, plastoglobula i veoma malog broja tilakoidnih membrana.



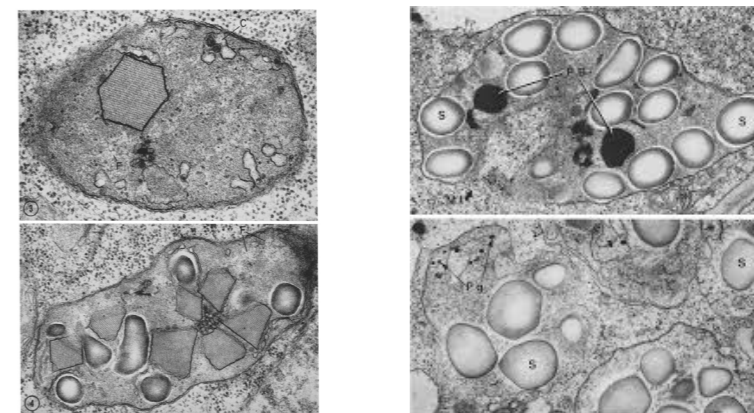
[282] Mikrografije biljnih ćelija sa nebojenim i [283] obojenim amiloplastima

Amiloplasti mogu da se transformišu u hloroplaste, primer za to su bezbojne ćelije tkiva krtola krompira, koje kada se nađu izloćene sunčevoj svetlosti postaju zelene i otpošnju proces fotosinteze. Uloga amiloplasta je u magacioniranju skrobnih zrna u svojoj stromi, ona se sintetišu u stromama hloroplasta ćelija zelenih biljnih tkiva, ali se razgraćuju i prenose do amiloplasta gde se akumuliraju i trajno ostaju u ćelijama rizoma, semena ili krtola.

Pored amiloplasta u posebnim tipovima biljnih ćelija postoje još dve forme nebojenih plastida: proteinoplasti i elajoplasti. Proteinoplasti i elajoplasti su plastidi bez pigmentata, sa ribozomima i molekulima DNK i RNK, bezojni i veoma različiti po svojoj morfologiji.

**Proteinoplasti** su plastidi u kojima se nagomilavaju proteini u obliku kristala, premda i fotosintetićki plastidi poseduju znatne kolićine proteina u stromi, koje se mogu akumulirati i u ekstremnim situacijama formirati kristloidne formacije. Proteini u obliku kristala u proteinoplastima mogu pod uticajem enzima da se dezintegrišu i oslobode neophodne proteine [284 i 285]. Proteine iz proteinoplasta biljka moće da koristi uz predhodnu doradu ili bez nje, zavisno od funkcije koju protein obavlja.

**Elajoplasti** su plastidi u kojima se nakupljaju lipidi u stromi, u plastoglobulama. U većini plastida plastoglobule su retke, ali kada su prisutne u znatnom broju ćitav plastid se smatra specijalizovanim depoom lipida i naziva se elajoplast. Plastoglobule su fizićki prićvršćene za tilakoidne membrane, a mogu i mećusobno biti povezane. Plastoglobule ne samo da sadrće lipide, već i odrećene enzime, što ukazuje da nemaju samo funkciju depoa, već i metabolićku ulogu. Biljne ćelije nakupljene lipide iz elajoplasta mogu da koriste za izgradnju ćelijskih membrana ili za sintezu enzima i pigmentata.



[284] i [285] Mikrografije biljnih ćelija sa proteinoplastima

Ovo je prostor za sva pitanja ćitaoca koja su se nametnula tokom ćitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleći, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na poćetku knjige.



[286]

## ĆELIJSKE DEOBE

Mitoza  
Mejoza

“Omis cellula e cellula” = “Svaka ćelija iz ćelije” je najjednostavnija definicija nastanka ćelije po najcenjenijem patologu i antropologu svog vremena Rudolfu Virchow iz 1858. godine [287]. On objašnjava da samo živa ćelija može da stvori novu ćeliju - da nova ćelija ne može da nastane ako ne postoji predhodna. Na taj način Virchow je u centar tadašnjih i svih budućih citoloških, histoloških i patoloških istraživanja postavio ćeliju, od koje život počinje i sa kojom završava. Davne 1838. godine nemački botaničar Matthias Jakob Schleiden prvi put je definisao jedro ćelije kao glavni kontrolni centar u stvaranju nove ćelije tj. organizovanja i odigravanja ćelijske deobe. On je jedro nazvao citoblast što znači “graditelj ćelije”, jer je verovao da se nove ćelije stvaraju multiplom deobom jedra i da se okupljaju oko njega pre deobe citoplazme, jer jedro omogućava i koordiniše deobu. U to doba Schleiden je razumeo i prihvatao pravilo da svaka nova ćelija koja nastaje ima i citoplazmu i jedro, tj. da nikad ne nastaje nova ćelija bez jedne od ove dve komponente. Tako je definisao osnove ćelijske teorije. Ove zaključke dvadeset godina kasnije uzima Rudolf Virchow i potvrđuje nastanak nove ćelije isključivo iz predhodne uz neprestanu kontrolu ovog procesa od strane jedra kod eukariotskih i nukleida kod prokariotskih ćelija.

Ćelijske deobe su procesi u kojima se umožavaju ćelije, tako što se od ćelije koja se deli ili majke-ćelije deobom dobijaju dve funkcionalno zrele i samostalne ćelije ili ćerke-ćelije. Prvi tip ćelijske deobe kojom se dele tkivne, somatske ćelije i gde nastaju ćerke-ćelije sa istim brojem hromozoma kao i majka-ćelija naziva se mitozom. Dok se drugi tip ćelijske deobe u kojoj se dele matične ćelije spermatogonije i oogonije i tokom koje dolazi do formiranja polnih ćelija, tako što nastaju ćerke-ćelije sa upola manjim brojem hromozoma od onog kog je imala majka-ćelija naziva se mejozom. Ceo životni ciklus bilo koje eukariotske i prokariotske ćelije u morfološkom smislu prolazi dosta statično i neprimetno ako se posmatra



na svetlosnom ili eketronskom mikroskopu, sve do momenta ćelijske deobe. Treba napomenuti da postoji veliki broj raznovrsnih ćelija koje u toku svog života ne ulaze u ćelijsku deobu, već samo rastu i diferenciraju se za ulogu koju vrše u organizmu. Ćelije koje ulaze u ćelijsku deobu doživljavaju veliki broj vidljivih promena na nivou jedra, membrana i citoplazme ako se posmatraju na svetlosnom i elektronskom mikroskopu.

[287] *Fotografija lekara i naučnika Rudolfa Ludwig Carl Virchow; nemačkog patologa, antropologa i lekara. Osim što je definisao ćelijsku teoriju u biologiji, analizirao i prikazivao histološku i patološku građu organa, bavio se uvođenjem socijalne medicine, medicine jednake za sve građane, u društvo.*

*Mnogi lekari u svetu i dan danas ga smatraju ocem moderne patologije jer uvodi detaljne preglede pacijenata sa osvrtnom na kompletan klinički pregled svih organskih sistema bez obzira koja je bolest u pitanju, analizu telesnih tečnosti i tkiva, kao i opservaciju okruženja u kojem se bolest razvija*

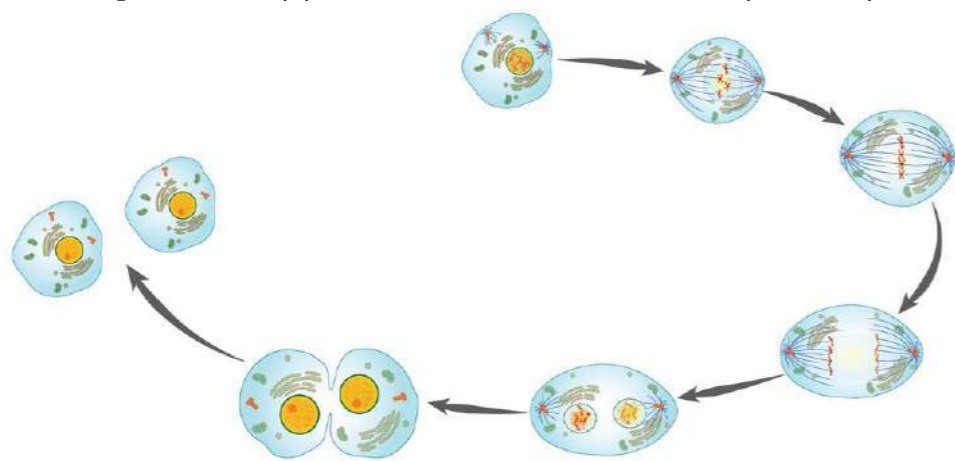
Ćelijske deobe su biološki izuzetno tačno i precizno programirani ćelijski procesi u cilju formiranja novih ćelija od predhodno postojeće i žive ćelije. Razumljivo je da odvijanje ovog procesa kod većine organizama počinje deobom zigota tj. oplodene jajne ćelije i kontinuirano se odvija tokom života sve do smrti, čime se obezbeđuje razviće, rast i opstanak novog organizma. U svakom trenutku u organizmu čoveka deli se oko 25 miliona ćelija. Kada se rast organizma završi ćelijske deobe obezbeđuju zamenu funkcionalno istrošenih i oštećenih ćelija. Funkcionisanje u najvećoj meri hematopoeznog i imunog sistema ali u manjoj meri i svih drugih organa i organskih sistema u organizmu zavisi od intenzivne i programirane deobe stem ćelija

u njima. U svakoj minuti zameni se novim ćelijama oko 100 miliona istrošenih ćelija samo krvi. Ćelijske deobe osim obezbeđivanja razvića, rasta, funkcionisanja i obnove organizma omogućavaju produženje vrste formiranjem gameta - ćelija nosioca jedinstvnih genetičnih osobina. Fuzijom muškog i ženskog gameta formira se nova jedinka.

## MITOZA

Mitoza je ćelijska deoba somatskih, telesnih ćelija sa diploidnim brojem hromozoma u kojoj nastaju ćerke-ćelije sa istim brojem hromozoma kao i majka-ćelija [288]. Količina DNK se pravilno podeli na dva dela i raspoređi ćerkama-ćelijama, one dobijaju međusobno jednak broj hromozoma, istu količinu DNK i isti broj hromozoma kao što je imala i majka-ćelija. U mitozu se majka-ćelija podeli na dve ćerke-ćelije koje u potpunosti liče na nju samo što su manjih dimenzija. Prva mitozu jednog organizma se dešava pri deobi oplodene jajne ćelije od koje on nastaje, svaka naredna deoba do formiranja adultnog organizma je takođe mitozu. Kasnije u adultnom organizmu mitozama se dele somatske ćelije u cilju omogućavanja funkcionisanja njegovih organskih sistema, nadoknađivanja propalih i istrošenih ćelija ili regeneracije tkiva. Neprestane mitoze održavaju stalan broj ćelija u organizmu i u dinamičkoj su ravnoteži sa apoptozom - programiranim ćelijskim umiranjem.

Trajanje mitoze ćelije veoma varira od tipa do tipa ćelije. Tako da ako se posmatra neka brzodeleća humana ćelija, čiji ćelijski ciklu straje 24 sata, mitozu se dešava za svega oko pola sata. U tom ograničenom vremenskom periodu odvijaju se i suštinske promene unutrašnje organizacije ćelije. To je period ćelije u kojem ona skoro svu svoju energiju sintetisanu u mitohondrijama usmerava za procese kariokineze i citokineze. Sa druge strane za vreme mitoze u ćeliji metabolički procesi, transkripcija i translacija potpuno su smanjeni i ograničeni, kao što u isto vreme ćelija ne odgovara na spoljašnje stimulse. Kariokineza je ključan događaj u toku mitoze ćelije, ali ona bi bila u potpunosti besmislena ako nakon nje ne bi došlo do citokineze. Potpuna reorganizacija jedra, organela, ćelijske membrane i citosola ćelije u mitozu zasniva se na dinamizmu njenog citoskeleta. Citoskelet ćelije za vreme mitoze mora da: obezbedi precizno razdvajanje hromozoma na hromatide i njihovo udaljavanje na suprotne polove majke-ćelije i podelu ćelijskih organela i citoplazme na dve ćerke-ćelije. Razdvajanje hromozoma na hromatide vrše mikrotubule deobnog vretena, dok podelu citoplazme obavljaju aktinski i miozinski filamenti koji formiraju kontraktilni prsten.



[288] Šematski prikaz toka mitoze

Mitohondrije, lizozomi i peroksizomi prolaze kroz mitozu nepromenjeni, zadržavaju svoj oblik, a kreću se kroz citoplazmu pomoću mreže mikrofilamenata i mikrotubula citoskeleta kao i dok se raspodeljuju na dve ćerke-ćelije.

Iste komponente citoskeleta omogućavaju promenu položaja endoplazmatskog retikuluma i Goldži aparata u citoplazmi za vreme mitoze, ali sa tom razlikom što ove organele podležu fragmentaciji pre transporta i podele na dve ćerke-ćelije. Fragmentacija podrazumeva dezintegraciju strukture i odvajanje malih vezikula od membrana, sakula i cisterni endoplazmatskog retikuluma i Goldži aparata koje se grupišu citoplazmi oko polova deobnog vretena i tako raspodele između sebe na dve grupe. Nakon završene kariokineze iz ovih malih citoplazmatskih vezikula ponovo se integriše struktura organela na kojima odmah počinje sinteza biomakromolekula neophodnih za rast i razvoj ćerki-ćelija. Membrane endoplazmatskog retikuluma doživljavaju manji stepen fragmentacije, dok sakule Goldži aparata veći.

Period kada ćelija nije u mitozu, kada se ne deli, naziva se interfaza, ona tada vremenski i prostorno usklađuje procese za obavljanje svoje funkcije ili procese pripremanja za predstojeću mitozu [289]. Mitozu karakterišu dva neraskidiva i međusobno zavisna procesa: kariokineza - pravilna raspodela hromatina majke-ćelije dvema ćerkama-ćelijama i citokineza - raspodela citoplazme majke-ćelije na citoplazme ćerki-ćelija. Citokineza podrazumeva da se raspodela organela odigrava paralelno sa podelom hromatina i nakon nje. Citokineza počinje u anafazi a završava se ubrzo po završetku telofaze, nakon što se hromatin već podelio. Radi lakšeg sagledavanja i opisivanja kariokineze naučnici su je podelili na faze koje inače teku kontinuirano jedna za drugom i često se razlikuju po dužini kod različitih tipova ćelija i različitih organizama. Prikaz smene faze omogućava da se kariokineza analizira i opiše detaljnije kao celovit proces, jer između faza ne postoje pauze i sama ćelija kariokinezu obavlja u jednom dahu nesvesna postojanja faza. Na osnovu morfološki prepoznatljivog rasporeda hromozoma kariokineza se deli na pet faza a to su: profaza, prometafaza, metafaza, anafaza i telofaza, gde dolazi ne samo do pravilne raspodele hromatina nego i pripreme za pravilnu raspodelu organela i citoplazme.

Mitoza obuhvata kondenzovanje hromatina u mitotske hromosome, dezintegraciju nukleusnog omotača, polimerizaciju deobnog vretena, razdvajanje hromatida, depolimerizaciju deobnog vretena, formiranje nukleusnih omotača, podelu organela i citoplazme, dekondenzovanje hromozoma u hromatin i podelu ćelijske membrane na dve ćerke-ćelije. Deobe biljnih i životinjskih ćelija podrazumevaju odigravanje istih faza kariokineze kao i proces citokineze. Komponente koje učestvuju u obrazovanju deobnog vretena i način na koji se deli citoplazma razlikuju se kod biljnih ćelija u odnosu na životinjske iz razloga što biljne ćelije ne poseduju centriole a poseduju ćelijski zid. Proces koji predhodi mitozu i pripremaju ćeliju za deobu odigravaju se kako u citoplazmi, u njoj se sintetišu enzimi i faktori koji će pokrenuti udvajanje molekula DNK tako i u samom jedru. Takođe, faktori koji su neophodni za procese: kondenzovanja hromatina u mitotske hromosome, morfološku promenu organela za citokinezu, prostornu organizovanost organela koje su neophodne u deobi i pripremu molekula za polimerizaciju mikrotubula deobnog vretena, sintetišu se u citoplazmi. Kod ćelij životinja u isto vreme sa replikacijom molekula DNK dešava se i udvajanje centriola, tako što su majke-centriole mesta i mustre za sintezu ćerki-centriola.

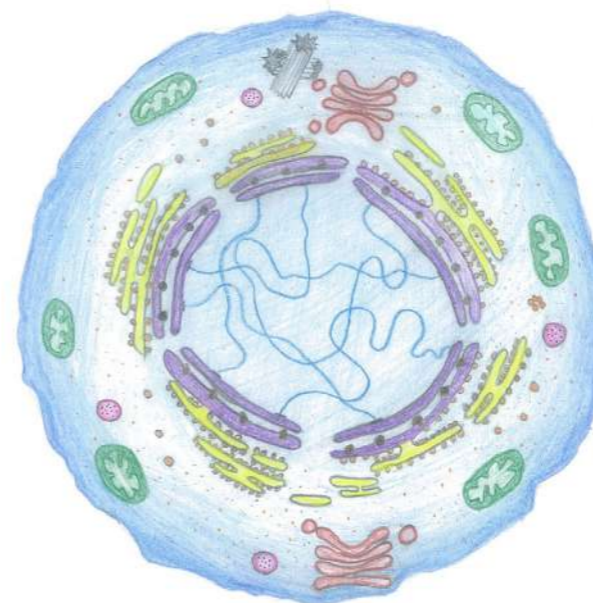
Arhitektura i dinamizam ćelije u mitozu podrazumeva obavezno formiranje i prisustvo deobnog vretena u njoj. Deobno vreteno počinje da se konstruiše u citoplazmi udvajanjem centriola, pri čemu nastaju dva centrozoma koji čine polove deobnog vretena. Centrozomi postaju centri organizacije i polimerizacije mikrotubula od subjedninca za izgradnju mikrotubula iz citoplazme. Nove subjedinice mikrotubula sintetišu se na ribozomima pre početka mitoze ili se već nalaze u citoplazmi od predhodno depolimerizovanih mikrotubula koje su završile svoju ulogu pre početka mitoze. Prva faza u formiranju deobnog vretena kod ćelija životinja je organizovanje astera - zrakasto raspoređenih mikrotubula oko svakog centrozoma. Organizovanje astera počinje razdvajanjem udvojenog centrozoma na dva nova gde svaki od njih nosi sa sobom po par centriola, centrozomi zatim migriraju prema suprotnim stranama majke-ćelije. Paralelno sa udaljavanjem i pozicioniranjem centrozoma, na mesto jedra buduće ćerke-ćelije, odigrava se pružanje, umnožavanje i izduživanje mikrotubula između njih. U trenutku kada centrozomi pristignu na suprotne krajeve majke-ćelije mitotsko, deobno, vreteno je već formirano. Konfiguracija deobnog

vretena u konačnom obliku sastoji se od dva centrozoma na suprotnim polovima majke-ćelije i velikog broja mikrotubula između i oko njih. Centrozomi su građeni od para centriola uronjenih u pericentriolaran matriks u kojem se odvija inicijacija polimerizacije mikrotubula. Iz centrozoma na polovima deobnog vretena majke-ćelije zrakasto se pruža šest klasa mikrotubula: astralne, hromozomske, kontinuirane, preklapajuće, slobodne i polarne. Centar formiranja astralnih mikrotubula je u pericentriolarnom matriksu a smer pružanja im je suprotan od pravca prostiranja deobnog vretena, van njegove oblasti, ka ćelijskoj membrani. Astralne mikrotubule omogućavaju statičku poziciju deobnog vretena u odnosu na volumen ćelije, onemogućavaju njegovu torziju i skraćivanje za vreme mitoze i određuju ravan citokineze.

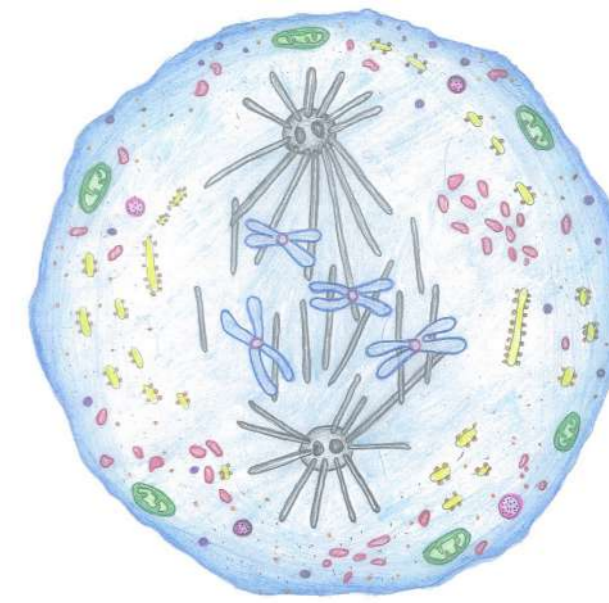
Centar formiranja hromozomskih mikrotubula takođe je u pericentriolarnom matriksu deobnog vretena a smer pružanja im je od centrozoma prema kinetohorima za koje se vezuju. Njihova uloga u mitozu je da povlače hromatide hromozoma prema polovima deobnog vretena. Oba kraja dugih kontinuiranih mikrotubula su ukotvljena u polove deobnog vretena, tj. u jednom od dva pericentriolarna matriksa nastaju a u drugom se završavaju, tako da se ne zna u kojem je matriksu centar formiranja, jer se protežu od jednog do drugog. Preklapajuće mikrotubule počinju da se formiraju u jednom pericentriolarnom matriksu a smer pružanja im je prema deobnoj ravni vretena i uz put se udružuju sa mikrotubulama koja se prostire iz pravca suprotnog pola deobnog vretena. Slobodne mikrotubule su one kod kojih centar formiranja nije ni u jednom pericentriolarnom matriksu, nisu povezane sa hromozomima, ne učestvuju direktno u njihovom povlačenju, već samo održavaju čvrstinu i pravilnu arhitekturu deobnog vretena. Polarne mikrotubule deobnog vretena su duge, centar formiranja im je u pericentriolarnom matriksu, pružaju se u smeru od jednog centrozoma do drugog kroz ekvatorijalnu ravan. Jedan kraj polarnih mikrotubula deobnog vretena smešten je na polu a drugi se nalazi slobodan u oblasti ekvatorijalne ravni ili duže od nje. Uloga polarnih mikrotubula je u obezbeđivanju stabilnosti i arhitekture deobnog vretena u toku povlačenja hromozoma prema polovima, poput kaveza, od eventualnih uticaja struktura iz citoplazme.

### Profaza

Prva faza mitoze je profaza i počinje odmah nakon izlaska majke-ćelije iz interfaze u kojoj je završila sve pripreme za početak deobe, uključujući i udvajanje naslednog materijala. Ona obuhvata sve procese koji teku paralelno u citoplazmi i jedru, jer citoplazma stvara uslove za deobu jedra [290]. U toku profaze mitoze počinje uspostavljanje bipolarnog deobnog vretena, kondenzuje se interfazni hromatin do stepena metafaznih hromozoma, pripremaju se metafazni hromozomi za povezivanje sa komponentama deobnog vretena, kao i priprema organela za raspodelu na dve ćerke-ćelije. Svaki hromozom u profazi sadrži po dve sestrinske hromatide to su buduću ćerku-ćeliju spojenih u regionu centromere. Interfazni hromatin u jedrima ima izgled manje ili više fino organizovane mreže euhromatinskih i heterohromatinskih oblasti, koje na početku profaze počinju da se transformišu u spletove hromatinskih vlakana. Debljina hromatinskih vlakana se povećava paralelno sa napredovanjem profaze, kod nekih ćelija u prvoj polovini profaze dolazi do privremenog povećanja zapremine jedra. U toku profaze vizuelno nestaje jedarce, zbog kondenzacije hromatina, a DNK molekuli koji ga izgrađuju se spiralizuju zajedno i jednako kao i ostali hromatin. Krajem profaze mitoze granica između jedra i citoplazme nestaje, dok sve više postaju uočljiva rastuća vlakna mikrofilamenata u citoplazmi. Udvojeni centrozomi se razdvajaju i migriraju oko jedra ka suprotnim polovima ćelije i paralelno sa tim oko njih se formiraju astralne mikrotubule. Na kraju profaze centrozomi su zauzeli svoj definitivni položaj, konstrukcija deobnog vretena je počela, formirane su astralne, polarne i kontinuirane mikrotubule, hromozomi su dostigli krajnji stepen kondenzovanja, došlo je do značajnih transformacija svih ćelijskih organela, komponenta citoskeleta i nukleoskeleta. Svi navedeni procesi u ćeliji koja se deli odvijaju se kontinuirano i istovremeno. Proces dezorganizovanja jedrovog omotača u profazi mitoze podrazumeva depolimerizaciju nukleusne lamine i fragmentisanje njegovih membranskih komponenti. U oba ova procesa veliku ulogu imaju mikrotubule deobnog vretena jer one vrše mehanički pritisak na komponente jedrovog omotača.



[289] Interfazna ćelija



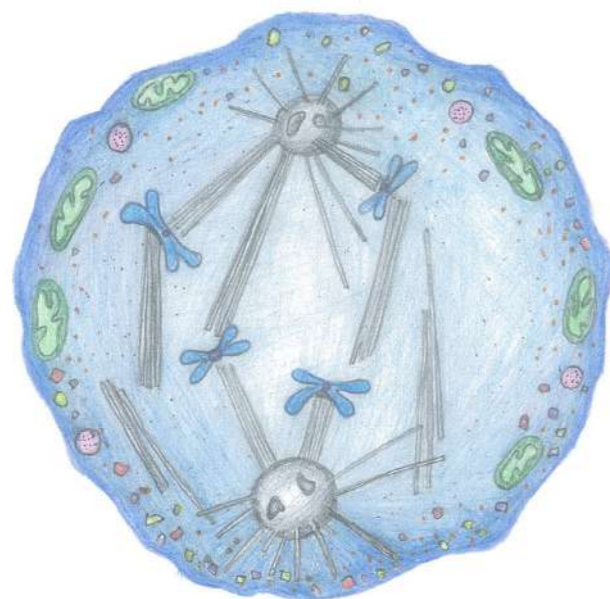
[290] Profaza mitoze

### Prometafaza

Krajem profaze i u toku prometafaze druge faze mitoze organizuje se kinetohor, proteinski makromolekulski kompleks na centromerama hromozoma. Kinetohori su mesta povezivanja hromozomskih mikrotubula za hromozom, strukture koje obezbeđuju morfološko povezivanje deobnog vretena i hromozoma. Komponente kinetohora pružaju doprinos u kontroli ponašanja kinetohornih mikrotubula tokom kasnijih faza deobe, tj. aktivno učestvuju u kretanju sestrinskih hromatida ka suprotnim polovima deobnog vretena. Kinetohori su parne strukture prisutne na primarnom suženju svake od sestrinskih hromatida tako da postoje sestrinski kinetohori koji su na posredan način povezani sa molekulima DNK u hromatidama. Endoplazmatični retikulumi i Goldži aparati u citoplazmi ćelije koja se deli doživljavaju različite sudbine u zavisnosti od vrste ćelije u kojoj se nalaze. U nekim ćelijama ove dve organele ne trpe morfološke promene, ne fragmentišu se, zadržavaju svoj izgled i bivaju potisnute u periferni region ćelije. Sa druge strane postoje ćelije kod kojih se tubule, sakule i cisterne endoplazmatičnog retikuluma i Goldži aparata dezorganizuju i fragmentišu na vezikule koje menjaju položaj u toku ćelijske deobe u citosolu pomoću mikrotubula i mikrofilamenata neorganizovanih u deobnom vretenu [291]. Postoje i slučajevi kod nekih tipova ćelija gde cisterne endoplazmatičnog retikuluma ostaju intaktne za ceo period deobe, dok se u istoj ćeliji sakule Goldži aparata u potpunosti dezintegrišu u vezikule.

U prometafazi dolazi do fragmentacije nukleusnog omotača, veliku ulogu u ovom procesu imaju mikrotubule deobnog vretena jer one vrše mehanički pritisak na komponente jedrovog omotača. Hromozomi se u ovoj fazi raspoređuju po citoplazmi bez reda i jasne orijentacije. U prometafazi završava se definitivno uspostavljanje deobnog vretena u čijem središtu se nalaze razbacani i za mikrotubule ne povezani hromozomi. Posredstvom kinetohora u toku kasne profaze povezuju se hromozomi na jedan kraj mikrotubula čiji je drugi kraj pričvršćen za pericentriolaran prostor. Mikrotubule počinju pozicioniranje hromozoma u središte deobnog vretena, što se još naziva balansiranje hromozoma u ekvatorijalnoj ravni deobnog vretena. Smisao balansiranja hromozoma pomoću mikrotubula je u uspostavljanju uređenog rasporeda hromozoma koji podrazumeva da su im primarna suženja postavljena približno na pola puta između naspramnih polova deobnog vretena, u zamišljenoj ravni koja se naziva ekvatorijalna ravn. Balansiranje hromozoma obezbeđuje kasnije pravilno razdvajanje sestrinskih hromatida. Osim astralnih mikrotubula deobnog vretena sve ostale klase podvrgnute su stalnom izduživanju i skraćivanju mehaniz-

mom polimerizacije i depolimerizacije. Ovi procesi im omogućavaju da ostvare tačno definisanu dužinu i prostorni raspored u deobnom vretenu kao i da se vežu za kinetohore hromatida. Prvo se za kinetohor vezuje jedna mikrotubula, čim ga ona dodirne veza se ostvari, ona zatim pomera hromozom prema ekvatorijalnoj ravni i na tom putu se vezuju i druge mikrotubule za isti i susedni kinetohor istog hromozoma. Na taj način jedan hromozom je vezan za veći broj mikrotubula koje ga precizno pozicioniraju i orijentišu u ekvatorijalnoj ravni. Za svaki kinetohor vezana je grupa, snop mikrotubula, a njihov broj se kreće između 10 i 40 u zavisnosti od veličine i vrste hromozoma. Broj mikrotubula koje se povezuju sa kinetohorom može se menjati na istom hromozomu, tokom napredovanja kroz faze mitoze. Ovaj proces dovodi do prikupljanja svih hromozoma i njihovog postavljanja u ekvatorijalnu ravan. Kada su parovi sestri hromatida pravilno orijentisani u deobnom vretenu, kinetohori se vuku na suprotne polove, a kohezija između sestri hromatida se opire tim silama koje vuku ka polovima, čime se stvara tenzija u nivou kinetohora.



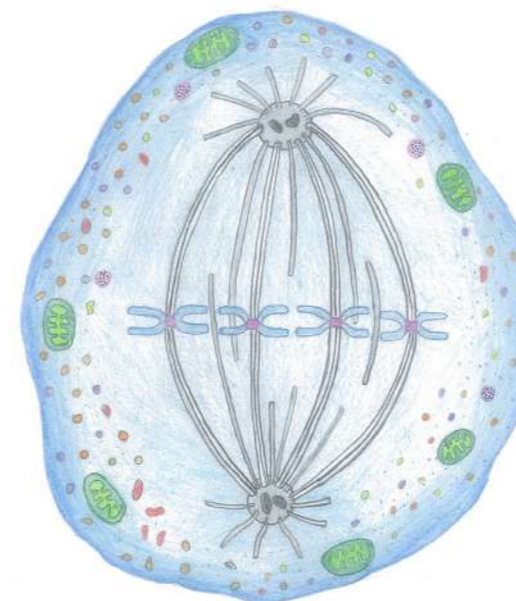
[291] Prometafaza mitoze

### Metafaza

Osnovne karakteristike metafaze, treće faze u mitozu, su da je veoma kratka i dinamična iz razloga što se u njoj: završavaju kondenzacija i maksimalno skraćivanje hromozoma; potpuna dezintegracija komponenta jedrovog omotača; zauzimanje konačnog položaja i orijentacija hromozoma u ekvatorijalnoj ravni; i postizanje maksimalne tenzije u mikrotubulama koje su povezane sa hromozomskim kinetohorima - u nivou kinetohora, kako bi uspešno i pravilno razdvojile hromatide.

Posmatranje preparata živih ćelija u metafazi pod svetlosnim ili fazkontrastnim mikroskopom ukazuje da je u ovoj fazi deobno vreteno uspostavljeno, ali da postoje dinamična pomeranja i oscilacije metafaznih hromozoma. Mikrotubule deobnog vretana bez obzira da li učestvuju u vezivanju hromozoma ili ne dinamične su strukture, neprestano izložene procesima polimerizacije na svom kraju u pericentriolarnom regionu i procesu depolimerizacije na plus kraju. Zahvaljujući ovim procesima mitotski hromozomi u ekvatorijalnoj ravni kao i celo deobno vreteno blago osciluju. Oscilovanje metafaznih hromozoma pojačavaju i tenzije kojima su izložena mesta vezivanja mikrotubula za kinetohore i faktor katanin koji izaziva prekidanje mikrotubula u polovima deobnog vretana i njihovog ponovnog povezivanja u cilju postizanja konačne organizacije.

Dinamični procesi se odvijaju i u citoplazmi, gde se cele organele koje ne podležu fragmentisanju i vezikule i fragmenti organela koji tom procesu podležu raspoređuju prema polovima deobnog vretana. Pomeranje ovih komponenta metafazne citoplazme odigrava se velikom brzinom po tačno definisanim putanjama i pravilima. Komponente nukleusne lamine tokom metafaze mitoze ostaju međusobno



[292] Metafaza mitoze

kreću, tako da centromera i kinetohor idu napred prvi prema centrozomima i za sobom vuku krake hromozoma.

Anafaza je dinamična faza ćelijske deobe iz razloga što se mnogo procesa istovremeno u njoj brzo odvijaju. Prosečna brzina kretanja hromozoma je jedan mikrometar za jedan minut, što prevedeno na širinu prosečne ćelije od 50  $\mu\text{m}$  i činjenicu da hromozomi prelaze samo polovinu tog puta iznosi jednu i po sekundu za prelazak hromozma od ekvatorijalne ravni do pola majke-ćelije gde će formirati jedro ćerke-ćelije.

U anafazi ćelijskog ciklusa počinje reorganizovanje i formiranje komponenta jedrovog omotača oko hromozoma na polovima. Takođe pri kraju anafaze završena je podela organela i počinje fuzija vezikula i rekonstrukcija organela koje su se fragmentisale: endoplazmatični retikulum i Goldži aparat, kao i pozicioniranje organela koje nisu pretrpele fragmentisanje: mitohondrije, lizozomi i peroksizomi. Ovako organizovane organele odmah počinju sa procesima na svojim membranama i u cisternama, sintetišu potrebne biomakromolekule i energiju. Najuočljivije promene koje odlikuju ćelije u anafazi mitoze su: kretanje hromozoma ka polovima; skraćivanje hromozomskih (kinetohornih) mikrotubula, tj. mikrotubula vezanih za kinetohore hromozoma; udaljšavanje polova deobnog vretana; i izduživanje polarnih, kontinuiranih i slobodnih mikrotubula. Sve ove promene dovode do izduživanja i sužavanja deobnog vretana.

Mehanizam koji omogućava razdvajanje sestri hromatida i kretanje hromozoma ćerki-ćelija zasniva se na depolimerizaciji mikrotubula koje su vezane za hromozome u regionu koji je vezan za kinetohor. Kako se kinetohori ne bi odvojili od mikrotubula dok se one depolimerizuju i kako bi one vukle hromozome na pol, uključuje se delovanje motornih proteina prisutnih u nivou kinetohora. Aktivnost motornih proteina iz porodice dineina i kinezina ogleda se u izgradnji čvrste veze između mikrotubule i kinetohora uz utrošak energije ATPa. Pred kraj anafaze mitoze dolazi do značajnog izduživanja deobnog vretana za oko pet puta u odnosu na početnu dužinu koju je imalo u metafazi. Promena dužine deobnog vretana neophodna je za pravilno razdvajanje hromozoma i postiže se smanjenjem njegove stabilnosti. Mikrotubule i svi proteini koji su omogućavali stabilnost deobnog vretana isključuju se u ovoj fazi deobe. Značajnu ulogu u procesu izduživanja vretana imaju i astralne mikrotubule koje se preko proteina dineina povezuju sa korteksnim citoskeletom ispod ćelijske membrane i tako stvaraju silu privlačenja u smeru ka polovima ćelije. Veliku ulogu u izduživanju vretana imaju i kontinuirane, preklapajuće i polarne mikro-

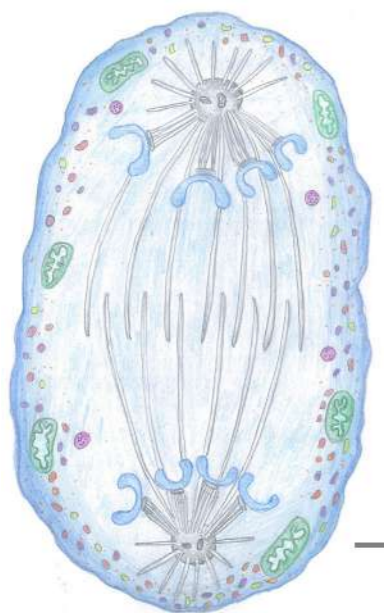
razdvojene: lamini A ostaju rasuti po citoplazmi u obliku solubilnih proteina, dok se lamini B udružuju sa membranama vezikula i vezuju se za snopove intermedijarnih filamenata oko deobnog vretana [292].

### Anafaza

Četvrta faza mitoze je anafaza u kojoj se sestri hromatide metafaznih hromozoma razdvajaju, a hromozomske (kinetohorne) mikrotubule deobnog vretana postepeno se skraćuju i povlače hromatide ka suprotnim krajevima deobnog vretana. Razdvajanjem sestri hromatida istog hromozoma one postaju hromozomi ćerki-ćelija i ćerke-ćelije počinju da formiraju svoj oblik [293]. Hromozomi se sve više međusobno udaljšavaju, krećući se u suprotnim smerovima svaki prema svom polu deobnog vretana. Tokom kretanja hromozomi su svojim centromerama okrenuti prema polu deobnog vretana ka kojem se



tubule koje polimerišu i izdžuju se. Tokom anafaze dolazi obnavljanja nukleolusa iz krupnih loptastih proteinskih kompleksa koji će se približiti regionima hromatina kako bi učestvovali u obradi primarnog transkripta rRNK. U istoj fazi mitoze dolazi i do početka organizovanja nukleusnog omotača, tako što se prvo formira nukleusna lamina, pa nukleusne pore i na kraju nukleusna matriks. Nukelusni omotač u potpunosti se konstituše u telofazi, dok se kod nekih vrsta ćelija ovaj proces završava tek u citokinezi.



[293] Anafaza mitoze



[294] Telofaza mitoze

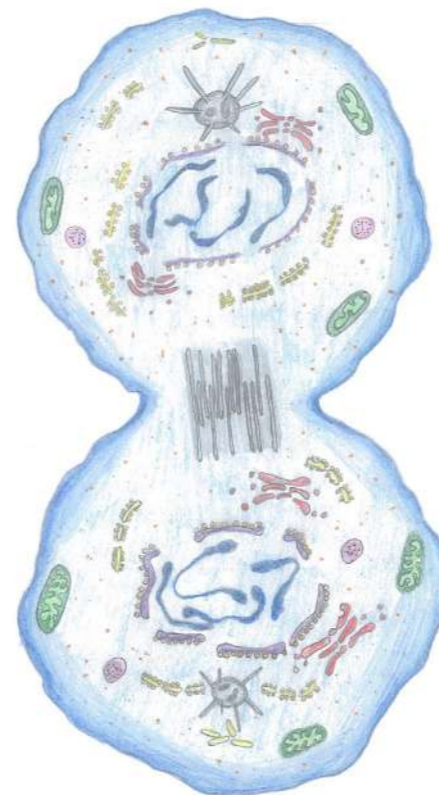
### Telofaza

U telofazi mitoze dešavaju se krupne promene: rekonstrukcija interfaznih nukleusa ćerki-ćelija, odnosno formiranje nukleusnog omotača, dekonenzacija hromatina, potpuna prostorna i funkcionalna reorganizacija deobnog vretena, počinje formiranje kontraktilnog prstena i konačno razdvajanje citoplazme majke-ćelije na dve citoplazme ćerki-ćelija [294]. Žive ćelije u telofazi posmatrane pod mikroskopom pokazuju veliku dinamičnost i morfološke promene u ćerkama-ćelijama. Rekonstrukcija jedara u njima obavlja se na osnovu dekonenzovanja hromozoma pristiglih do suprotnih polova deobnog vretena, komponenta nukleusne lamine, nukleusnog matriksa, nukeloskeleta i vezikula sa kompleksima proteina i lipida nastalih fragmentacijom nukleusnog omotača i formiranja nukleusnog omotača. Dolazi do dekonenzacije hromozoma u oblik karakterističan za interfazno jedro, formiraju se regioni heterohromatina i euhromatina, ponovo se vizuelno uočava jedarce.

Paralelno sa dekonenzacijom hromatina odvijaju se i procesi izgradnje nukleusnog matriksa i nukleoskeleta, dok se poslednji uključuju procesi izgradnje nukleusnog omotača. Formiranje nukleusnog omotača u svojoj završnoj fazi podrazumeva proces organizacije nukleusnih pora, koji se odvija u telofazi. U samoj završnici telofaze u jedrima ćerki-ćelija rekonstruišu se svi strukturni i funkcionalni proteini oko molekula DNK koji učestvuju u njegovoj transkripciji. Raspodela citoplazme započeta u ranijim fazama mitoze teče intenzivno i u telofazi kako bi se završila u okviru citokineze. Komponente deobnog vretena tokom telofaze reorganizuju se u skladu sa morfologijom i potrebama citokineze tokom koje definitivno nastaju dve nove i nezavisne ćerke-ćelije.

Dinamičnost telofaze mitoze ogleda se u aktivnim procesima centriola i svih tipova mikrotubula. Kontinuirane, polarne i preklapajuće mikrotubule deobnog vretena u telofazi odvajaju se od pericentriolarnog regiona deobnog vretena, pridružuju im se i slobodne mikrotubule, kako bi se sve zajedno postepeno i pravilno grupisale na mestu gde će prepodeliti majka-ćelija na ćerke-ćelije. Ovako se obrazuje snop

antiparalelnih mikrotubula nazvan centralno vreteno, koje je obavijeno omotačem od tamno kontrastnog amornog materijala pa sve zajedno čini strukturu nazvanu telofazni disk. Ponovno uspostavljanje jedarceta počinje krajem anafaze ali se intenzivira i završava u telofazi, kada se izgrađuju kompleksi proteina koji učestvuju u procesima obrade primarnog transkripta rRNK. Ovi proteinski kompleksi izgrađuju se na periferiji hromozoma i prolaze dublje do regiona hromatina gde preuzimaju ulogu organizatora jedarceta. Organizacija Goldži aparata u citoplazmi novih ćelija podrazumeva prikupljanje i međusobno spajanje njegovih fragmenata. Od fragmenata u obliku vezikula prvo dolazi do obrazovanja tubula, zatim se one spajaju u sakule i tek na kraju formiraju retikularne komponente. Raspodela lizozoma, peroksizoma i mitohondrija u citoplazmama ćerki-ćelija zasnovana je na principu neuređenosti i slučajnosti i kontinuiran je proces u vremenu.



[295] Citokineza mitoze



[296] Dve ćerke-ćelije u interfazi nakon mitoze

### Citokineza

Funkcionalno citokineza počinje u profazi mitoze procesima sinteze faktora i enzima koji pripremaju organele i citoplazmu za podelu, orijentacijom i pozicioniranjem citoskeleta. Morfološki citokineza počinje krajem anafaze razdvajanjem citoplazme i pojavljivanjem udubljenja na površini majke-ćelije, pomoću kojeg će se podeliti na dve ćerke-ćelije. Od površinskog udubljenja formiraće se deobna brazda i kontraktilni prsten koji obavlja središte majke-ćelije u nivou ravni ekvatorijalne ploče deobnog vretena [295]. Posmatranjem na svetlosnom ili elektronskom mikroskopu citokineza nastupa odmah nakon završetka kariokineze na kraju telofaze, formiranjem dve jedarne membrane i dva celovita jedra ćerki-ćelija. Sve tri tvrdnje o fazi u kojoj počinje citokineza su tačne s tom razlikom koji se parametar uzima kao početni za njen početak, jer suština je u tome da citokineza traje svo vreme trajanja mitoze samo kroz niz različitih procesa.

Citokineza obuhvata dva glavna i međusobno povezana procesa: uspostavljanje privremene strukture - kontraktilnog prstena u ćelijskom korteksu i menjanje položaja majki-centriola. Kontraktilni prsten

se postavlja pod pravim uglom u odnosu na dužu osu deobnog vretena, formiraju ga aktinski i miozinski filamenti povezani sa integralnim proteinima ćelijske membrane. Krajem telofaze majke-centriole menjaju svoj položaj što je neophodno za završetak citokineze.

Na površini ćelije u nivou ekvatorijalne ravni formira se deobna brazda koja se postepeno udubljuje obrazujući invaginaciju. Istovremeno sa unutrašnje strane deobne brazde obrazuje se submembranski kontraktilni prsten od kružnog snopa aktinskih filamenata između kojih su ugrađeni miozinski filamenti. Interakcijom motornih filamenata kontraktilnog prstena sa membranskim proteinima dolaze do invaginacije ćelijske membrane i produbljivanja deobne brazde. Membranska invaginacija postupno napreduje ka centru ćelije i dolazi do središta deobnog vretena, do telofaznog diska. Kontraktilni prsten formiraju gusto složeni aktinski i miozinski filamenti i mehanizam smanjivanja njegovog prečnika zasniva se na principu klizanja filamenata jednih između drugih. Pošto se klizanjem filamenata smanjuje prečnik prstena paralelno njim odvija se i proces depolimerizacije tj. skraćivanja mikrofilamenata. Interakcijom aktina i miozina kontraktilni prsten se sve više steže a deobna brazda se postupno produbljuje sve do trenutka kad se "most" između dve ćelije prekine. U trenutku kad debna brazda još nije u potpunosti zatvorena i ćerke-ćelije nisu u potpunost razdvojene, one već tad počinju svaka za sebe da orijentišu svoj citoskelet, menjaju svoje ponašanje i oblik i postaju samostalne u odnosu na majku-ćeliju. Podelom citoplazme nastaju dve ćerke-ćelije sa diploidnim brojem hromozoma ( $2n$ ) i genomom identičnim kao majka-ćelija [296].

## MEJOZA

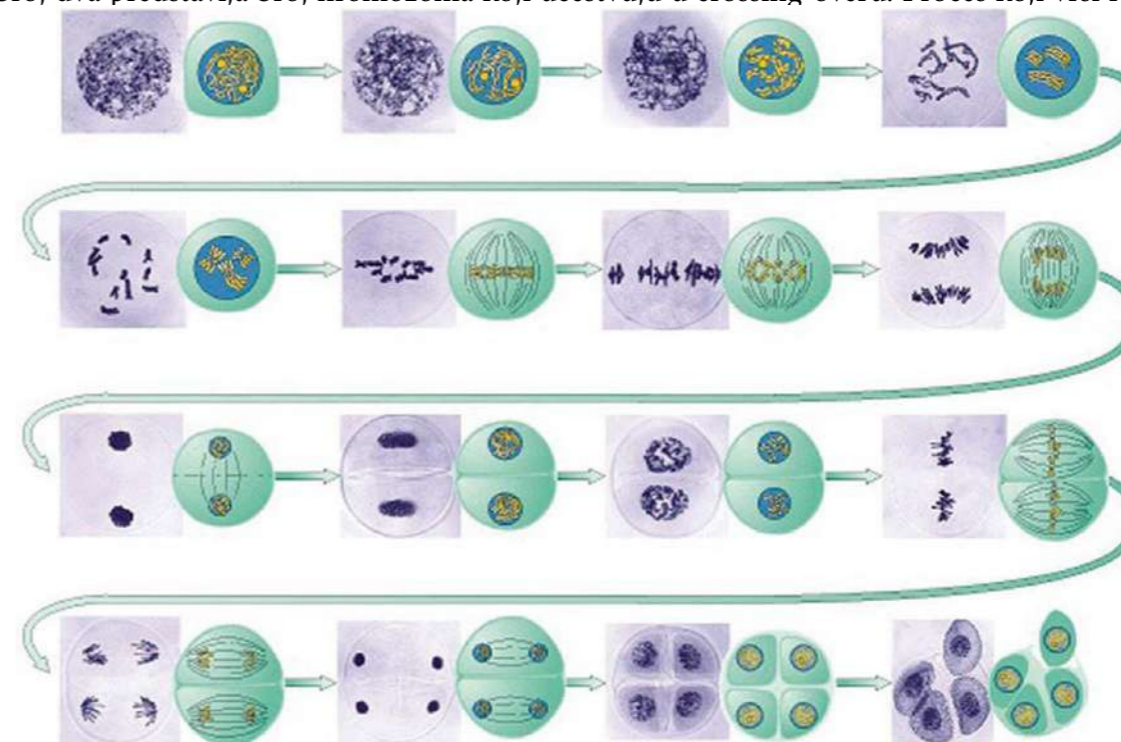
Ćelijska deoba u kojoj se dele germinativne ćelije - primarne spermatocite i primarne oocite te nakon koje dolazi do formiranja zrelih polnih ćelija sa upola manjim brojem hromozoma je mejoza. Primarne spermatocite i primarne oocite ulaze u mejozu, sa diploidnim brojem hromozoma ( $2n$ ), od njih nakon mejoze nastaju sekundarne spermatocite i sekundarne oocite koje sadrže haploidan broj hromozoma ( $n$ ). Deobom i sazrevanjem sekundarnih spermatocita i sekundarnih oocita sa haploidnim brojem hromozoma nastaju polne ćelije: spermatozoidi i jajne ćelije. Jedna diploidna ćelija u mejozi dvaput se deli i od nje nastaju četiri haploidne ćelije [297].

Davne 1876. godine mladi, dvadesetsedmogodišnji nemački embriolog i zoolog Oscar Hertwig prvi put je otkrio redukciju broja hromozoma u ćelijskoj deobi i nazvao je mejoza. On je izučavao pod mikroskopom spajanje nukleusa muške i ženske polne ćelije morskog ježa u procesu oplodnje i zaključio da oni nose manje genetskog materijala nego germinativna ćelija od koje nastaju. Ovaj zaključak inspirisao je nemačkog evolucionistu i zoologa Augusta Friedrich Leopold Weismann da svojim radom na germinativnim ćelijama opiše princip odvijanja i značaj mejoze u procesu spajanja dve haploidne ćelije i procesu prenošenja naslednih osobina preko polnih ćelija. Weismann je 1880. godine definisao i neophodnost dve ćelijske deobe kako bi se prvom deobom od jedne diploidne germinativne ćelije formirale dve haploidne i onda drugom deobom od dve haploidne ćelije formirale četiri isto haploidne. Nedugo zatim, rekombinaciju hromozoma pomoću procesa crossing-overa (razmene) u toku mejoze prvi je otkrio 1911. godine američki biolog, genetičar i nobelovac Thomas Hunt Morgan. On je svoja istraživanja bazrao na ukrštanju vinskih mušica različitog izgleda i analizi osobina koje imaju njihovi potomci u odnosu na one koje su imali roditelji. Thomas H. Morgan je u eri pre pronalaska elektronskog mikroskopa i mogućnosti posmatranja aktivnosti mejotičkog jedra, definisao proces crossing-over u kojem se dešava rekombinacija gena na nivou hromozoma.

Mejoza ima veliki značaj u održavanju stalnog broja hromozoma u jedrima ćelija iz generacije u generaciju eukariotskih organizama. Broj hromozoma u jedrima eukariotskih ćelija karakterističan je za svaku vrstu na planeti Zemlji zasebno. Naime, eukariotski organizmi su izgrađeni od ćelija sa diploidnim brojem hromozoma, a nastaju u procesu oplodnje tj. spajanja dve ćelije - polne ćelije, sa haploidnim brojem hromozoma, redukovanim u mejozi. U slučaju kada ne bi došlo do mejoze i redukcije broja hromozo-

ma na polovinu i kada bi u polnim ćelijama ostao diploidan broj hromozoma, došlo bi do formiranja zigota sa tetraploidnim brojem hromozoma. U narednoj generaciji od dve tetraploidne ćelije formirao bi se zigot sa oktaploidnim ćelijama. Tako bi se broj hromozoma duplirao u svakoj sledećoj generaciji i morao bi da se poveća volumen jedra takve ćelije, stvorilo bi se veliko genetsko opterećenje dok bi funkcionisanje samog jedra bilo veoma otežano, čak nemoguće. Na primeru ljudske ćelije pa samim tim i ljudskog organizma: za samo deset generacija svaka ćelija ljudskog organizma bi sadržala po 23552 hromozoma u svom jedru, umesto 46 koliko ih ima zahvaljujući mejozi.

Značaj mejoze je što je ona redukciona deoba i što dovodi do smanjenja, redukcije, broja hromozoma u polnim ćelijama od kojih spajanjem nastaje nov organizam. Ova karakteristika mejoze je sasvim suprotna od mitoze u kojoj ostaje isti broj hromozoma u ćerkama-ćelijama u odnosu na majku-ćeliju. Radi lakšeg sagledavanja procesa mejoze naučnici su je podelili na dve faze: mejozu I i mejozu II, koje teku kontinuirano jedna za drugom kod muškog pola. Smanjenje broja hromozoma na polovinu odvija se u prvoj mejotičkoj deobi, mejozi I, dok se druga mejotička deoba, mejozi II, odigrava isto kao mitozu. Pored redukcije broja hromozoma mejozu karakteriše i njihova rekombinacija, tj. preraspodelu postojećih gena na homologim hromozomima roditelja. Rezultat svake mejoze su polne ćelije - gameti, koje su sve genetički različite, jer svaka od njih dobija drugačiju i potpuno slučajnu kombinaciju roditeljskih hromozoma. Tako mejoza ima veliki značaj jer omogućava ogromnu genetičku raznovrsnost jedinki koje nastaju spajanjem gameta. U ćelijama iz kojih se formiraju gameti čoveka ima 46 hromozoma, svaki od njih nosi određen broj gena za različite osobine buduće jedinke. Međusobnim kombinovanjem majčinih i očevih gena na homologim hromozomima ljudskih germinativnih ćelija u mejozi moguće je dobiti veliki broj polnih ćelija od kojih svaka nosi različite kombinacije osobina. Pomoću matematičkog izraza kombinatorike:  $2^{23}$  što iznosi približno osam miliona dobija se broj različitih polnih ćelija koje učestvuju u formiranju zigota od starane samo jednog roditelja, jer isti broj kombinacija u mogućnosti je da formira i drugi roditelj. U izrazu broj 23 je broj parova homologih hromozoma u germinativnim ćelijama ljudi, dok je broj dva predstavlja broj hromozoma koji učestvuju u crossing-overu. Proces koji vrši formiranje



[297] Šematski prikaz toka mejoze

potpuno različitih i neponovljivih kombinacija gena koji će se naći u polnim ćelijama naziva se kao što je spomenuto crossing-over, a odvija se u trenutku sinapse roditeljskih hromozoma.

### Mejoza I

Nakon interfaze [298] u kojoj ćelija dostiže zrelost za ulazak u mejozu, idealnu veličinu, tačno određen broj neophodnih organela i u kojoj je završena duplikacija genetičkog materijala nastupa mejoza I. Analogno mitozu naučnici su i mejozu I podelili radi lakše sagledavanja na četiri faze: profazu I, metafazu I, anafazu I i telofazu I.

#### Profaza I

Profaza I mejoze traje vremenski duže nego profaza mitoze iz razloga što obuhvata mnogo više procesa u jedru i mnogo je složenije. Takođe, profaza I je najduža faza mejoze jer u toku cele mejoze traje 90% njenog vremena iz razloga što se u toku nje odvijaju procesi rekombinacije genetskog materijala ćelije. Kao pre profaze mitoze tako i pre profaze I mejoze predhodi interfaza u kojoj se germinativna ćelija priprema za mejotičku deobu tako što: u citoplazmi sintetiše sve proteine i enzime neophodne za ulazak u deobu, menja položaj organelama i udvostručava molekule DNK. Tako da svaki hromozom germinativne ćelije koja ulazi u mejozu I sastoji se od dve hromatide. Radi lakšeg shvatanja profaze I i detaljnog obrađivanja svakog procesa u njoj ona podeljena u još pet podfaza: leptoten, zigoten, pahiten, diploten i dijakinezis.

Leptoten je prva podfaza profaze I mejoze I [299A] u kojoj počinje da se kondenzuje udvostručen hromatin jedra u hromozome. Hromozoma u leptotenu ima diploidan broj (2n) i svaki od njih ima po dve hromatide.

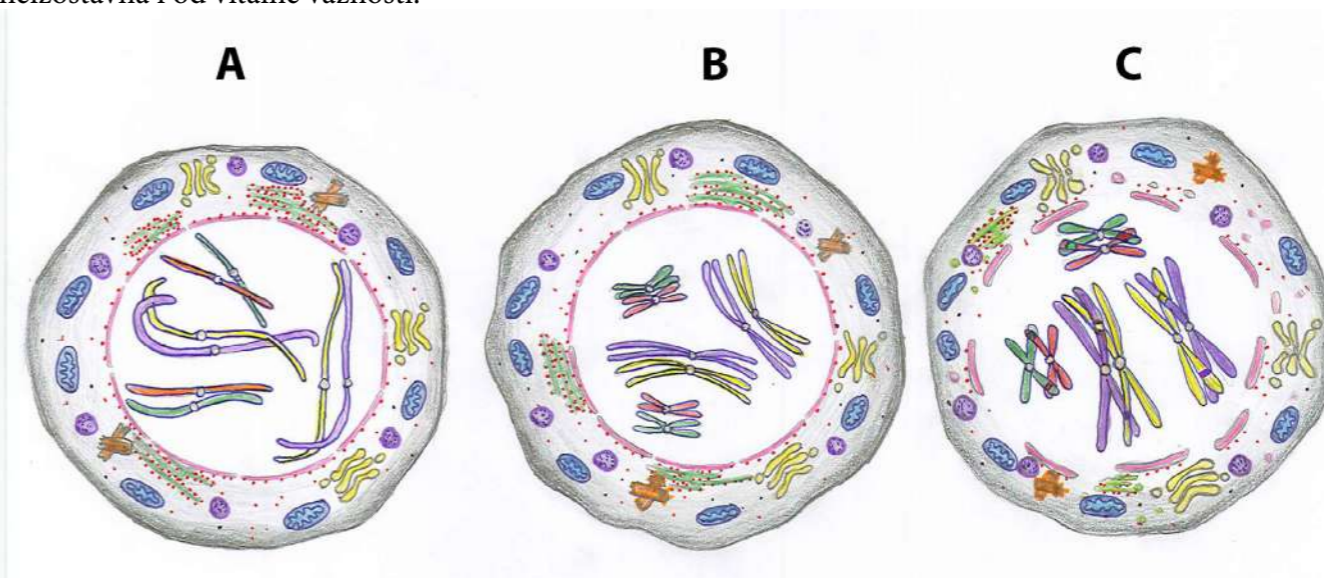
Hromozomi sa hromatidama su veoma lepo uočljivi na svetlosnom mikroskopu u leptotenu, jer se lako uočavaju u obliku veoma tankih končastih struktura. Međutim, hromozome je u leptotenu veoma teško razlikovati između sebe pošto su vrlo uski, dugački, ispreplatani, često priljubljeni jedan uz drugi i povezani za unutrašnju stranu nukleusnog omotača.



[298] Interfazna ćelija

Zigoten je druga podfaza profaze I mejoze I [299B] u kojoj se homologni hromozomi sa svojim hromatidama približavaju jedni drugima i grupišu jedan do drugog čineći tako bivalente. Bivalent = dva, odnosi se na broj sparenih hromozoma u mejozi i njih je po dva; dok se tetrađa = četiri, odnosi na broj hromatida u bivalentu hromozoma, a njih je četiri. Homologni hromozomi su identični po veličini, obliku i funkciji, gde u svakom homologom paru jedan hromozom potiče iz majčine a drugi iz očeve garniture hromozoma. U zigotenu počinje uzdužno uvijanje hromatida iz homologih hromozoma jedne oko druge. U trenutku najmanje udaljenosti hromatida jedne od druge počinju međusobno de se povezuju složenom proteinskim strukturom koja se naziva sinaptonemski kompleks.

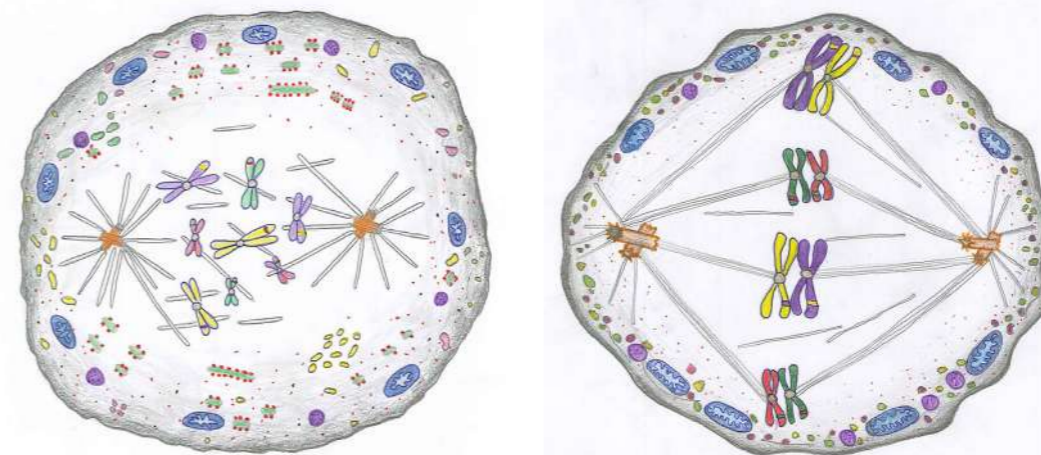
Ovaj kompleks sparuje hromozome u čvrstu vezu tako što određeno područje jedne hromatide očevih hromozoma polapa sa istim područjem hromatide iz majčinog hromozoma. Povezani par hromozoma naziva se tetrađa, dok se za povezane hromozome kaže da su u sinapsi. Važno je napomenuti da ova struktura sinapsi ne postoji kod mitoze, jer kod nje ne dolazi do razmene genetičkog materijala, dok je kod mejoze neizostavna i od vitalne važnosti.



[299] Profaza I: A-leptoten, B-zigoten i C-pahiten

Pahiten je treća podfaza profaze I mejoze I [299C] i karakteriše se uspostavljanjem potpune povezanosti između homologih hromozoma na mestima koja se nazivaju hijazme ili mostovi. Hijazme omogućavaju razmenu tačno određenih fragmenata molekula DNK iz jedne hromatide u drugu i obrnuto što ujedno predstavlja proces crossing-over. U pahitenu se završava razmena genetičkog materijala, crissing-over, između nesestrinskih hromatida, a na mestima efikasno okončane rekombinacije nalaze se hijazme. Ovaj proces kako je to već bilo spomenuto dovodi do stvaranja novih genetičkih kombinacija tj. dovodi do rekombinacija na hromatidama hromozoma, pa samim tim i u genetičkom materijalu budućih polnih ćelija. Nakon završenog crossing-overa majčini hromozomi imaju delove očevog homologog hromozoma i obrnuto.

Diploten je četvrta podfaza profaze I mejoze I u kojoj se homologni hromozomi razdvajaju zbog dezintegracije sinaptonemskog kompleksa, dok spojevi u hijazmama ostaju.



[300] Profaza I dijakinetis

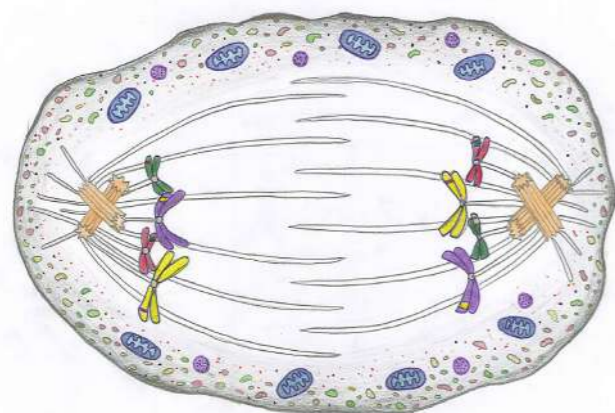
[301] Metafaza mejoze I

Dijakinezis je peta i poslednja podfaza profaze I mejoze I u kojoj su hromozomi maksimalno kondenzovani i skraćeni, hijazme i dalje postoje, hromozomske mikrotubule (kinetohorne) povezuju se sa homozomima polimerizuju se i počinje pozicioniranje hromozoma od strane mikrotubula prema ekvatorijalnoj ravni ćelije. U ovoj podfazi jedarce nije uočljivo, nukleusni omotač vezikulira, tj. dezintegriše se [300].

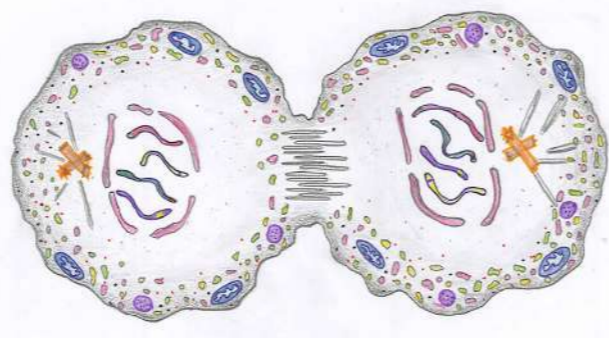
### Metafaza I

Druga faza mejoze I karakteristična po obrazovanju deobnog vretena polimerizacijom mikrotubula i premeštanjem položaja organela u citoplazmi periferno. Homologi hromozomski parovi spojeni hijazmama, zakačeni za mikrotubule deobnog vretena, grupišu se u području ekvatorijalne ravni gde formiraju strukturu koja se naziva ekvatorijalna ili metafazna ploča [301]. Ovde se hromozomi nalaze u parovima od kojih svaki vodi poreklo od jednog roditelja, jedan od oca, drugi od majke. Za razliku od mitoze gde su na ekvatorijalnoj ravni postavljeni pojedinačni hromozomi, u metafazi I mejoze I nalaze se parovi homologih hromozoma. Takođe u mitozu su prema svakom polu deobnog vretena okrenute hromatide hromozoma, u mejozi I su prema polovima okrenuti hromozomi. Centromere hromozoma su preko kinetohornih mikrotubula deobnog vretena povezane za centrozome na polovima ćelije. Po pravilu jedan hromozom iz para vezan je za centrozom na jednom, a drugi hromozom iz para za drugi centrozom na drugom polu ćelije. Ovde je razlika za vezivanje mikrotubula kod mejoze i mitoze, kod mejoze mikrotubule se vezuju za ceo homologi hromozom, dok se kod mitoze mikrotubule vezuju za hromatide

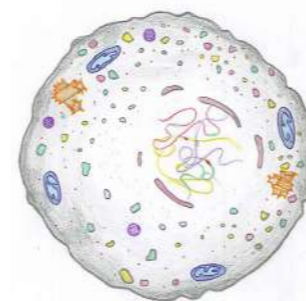
Koji će hromozom iz homologog para da ode na koji pol je čista slučajnost, jer su oni morfološki isti i na isti način vezani za mikrotubule koje će ih vući na pol. U ljudskim ćelijama na primer u anafazi I dolazi do redukcije hromozoma sa 46 na 23, jer na polove ćelija odlazi po 23 hromozoma.



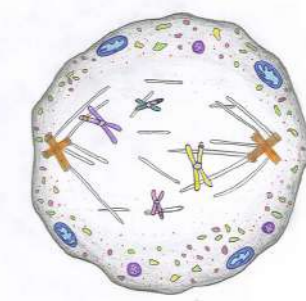
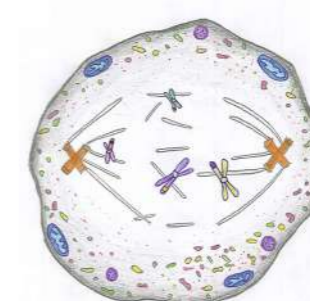
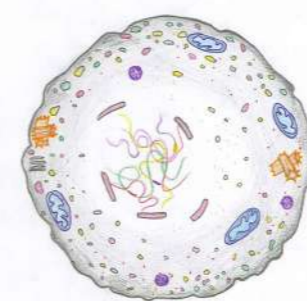
[302] Anafaza mejoze I



[303] Telofaza mejoze I



[304] Interkineza mejoze



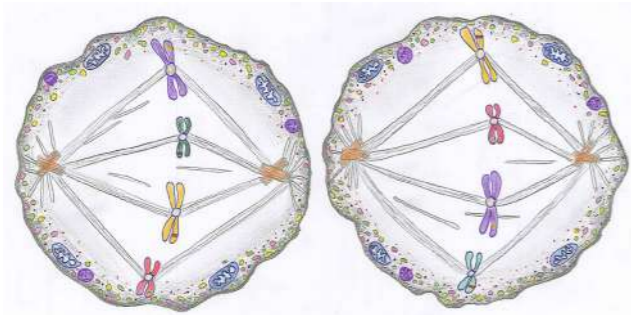
[305] Profaza II mejoze

### Telofaza I

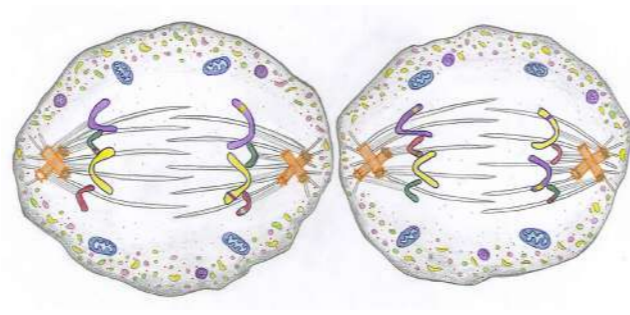
Četvrta i poslednja faza mejoze I završava se kariokineza i počinje citokinezom koja rezultuje stvaranjem dve sekundarne spermatocite ili dve sekundarne oocite, koje sadrže haploidan broj hromozoma sa po dve hromatide [303]. Jedna garnitura sa haploidnim brojem hromozoma nalazi se u jednoj sekundarnoj spermatociti dok, se druga garnitura nalazi u drugoj. Ove garniture hromozoma se u potpunosti razlikuju po sadržaju informacija koje nose za formiranje budućih polnih ćelija, jer su nastale rekombinovanjem, mešanjem, postojećih očevih i majčinih genetskih zapisa. Telofaza I obuhvata sve procese vezane za obrazovanje jedrovih omotača oko dva novonastala jedra, obrazovanje jedarceta, raspodelu organela i podelu citoplazme na buduće sekundarne spermatocite i oocite. Na samom kraju ove faze mejoze I dolazi do sinteze komponenata lipidnog dvosloja ćelijske membrane i podele postojeće membrane na dva dela, kao i potpunog odvajanja dve ćerke-ćelije - sekundarnih spermatocita ili oocita jedne od druge.

### Mejoza II

Nakon kratke interfaze II (interkineze) koja se odigrava posle završene telofaze I, potpuno formirane i odvojene sekundarne spermatocite i oocite ulaze u mejozu II. Interfaza II u mejozi II je karakteristična po tome što se u njoj ne odvija replikacija molekula DNK odnosno sekundarne spermatocite i oocite već sadrže hromozome sa hromatidama. Tako interfaza nakon telofaze I ne predstavlja pravu interfazu, kao kod mitoze ili pre profaze I mejoze, zbog čega se naziva još i interkineza [304]. Nakon interkineze u procesu mejoze sledi druga mejotička deoba ili mejoza II, koja u funkcionalnom smislu, predstavlja pravu mitotičku deobu. Kao u slučaju mitoze i mejoze I; i mejoza II je podeljena radi lakše sagledavanja na četiri faze u odnosu na morfološki izgled hromozoma: profazu II, metafazu II, anafazu II i telofazu II. U mejozu II ulaze kao što je spomenuto sekundarne spermatocite i sekundarne oocite koje sadrže svaka po 23 hromozoma u slučaju ljudskih ćelija. Kao rezultat mejoze II od dve sekundarne spermatocite deljenjem i



[306] Metafaza II mejoze



[307] Anafaza II mejoze

sazrevanjem nastaje 4 spermatozoida sa haploidnim brojem hromozoma, svaki sa po jednim molekulom DNK i rekombinovanim genima; dok od dve sekundarne oocite isto deljenjem i sazrevanjem nastaje jedna jajna ćelija i dva-tri polarna tela sa haploidnim brojem hromozoma, svaki sa po jednim molekulom DNK i rekombinovanim genima.

### Profaza II

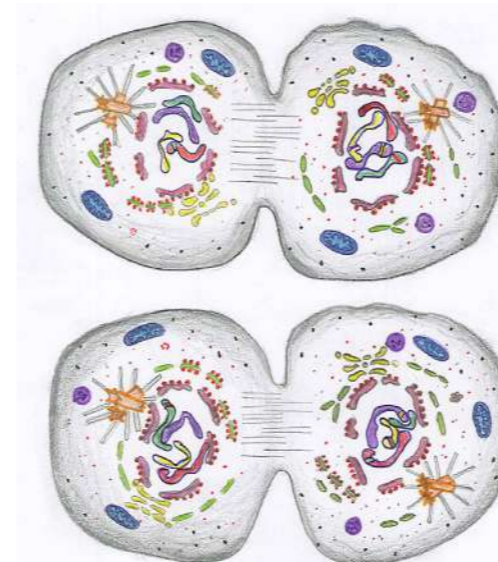
Iz razloga što je profaza II mejoze II jednostavnija od profaze I mejoze i veoma je slična po svom mehanizmu sa profazom mitoze ukratko su pobrojani samo najvažniji procesi vezani za nju. Hromozomi sa po dve hromatide sekundarnih spermatocita i sekundarne oocite zauzimaju položaj i orijentaciju u ekvatorijalnoj ravni, dok su kinetohori sestrinskih hromatida okrenuti prema suprotnim polovima deobnog vretena. Centriole zauzimaju svoj položaj na polovima ćelija i organizuju obrazovanje deobnog vretena, dok se hromozomske mikrotubule vezuju za hromatide preko kinetohora [305].

### Metafaza II

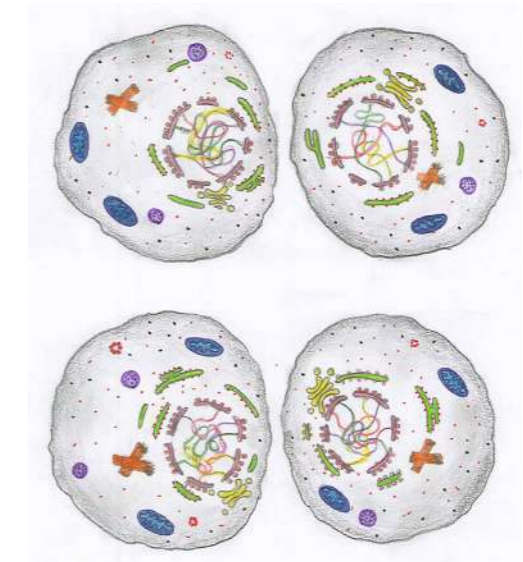
Druga faza mejoze II je metafaza II [306], veoma je karakteristična jer se razlikuje kod sekundarnih spermatocita u odnosu na sekundarne oocite. Sekundarne spermatocite ulaze u metafazu II i prolaze kroz nju, tada u potpunosti formiraju deobno vreteno, završe tačno definisan raspored i orijentaciju hromozoma na ekvatorijalnoj ravni i počnu sa podelom organela u citoplazmi. Međutim, sekundarne oocite zadržavaju svoju deobu u stadijumu metafaze II i čekaju fertilizaciju, ako do fertilizacije dođe one će završiti celu drugu mejotičku deobu od stadijuma metafaze II, ali ako do fertilizacije ne dođe nikada se druga mejotička deoba neće završiti i sekundarne oocite će propasti.

### Anafaza II

Početak anafaze II karakterističan je po razdvajanju hromozoma [307] na sestrinske hromatide od kojih svaka kreće prema suprotnom polu deobnog vretena. Kao i u anafazi I najveću ulogu u podeli hromozoma na hromatide i njihovom kretanju prema centrozomima imaju snopovi mikrotubula i motorni proteini iz citoplazme. U anafazi II vrši se podela organela na dve ćerke-ćelije, tako što se organele koje se ne fragmentišu podele naumično dok se organele koje se fragmentišu podele u obliku izfragmentisanih vezikula.



[308] Telofaza II mejoze



[309] Ćerke-ćelije spremne za proces sazrevanja u gamete

### Telofaza II

Hromatide nakon razdvajanja i dolaska na polove ćelije postaju hromozomi ćerki-ćelija u telofazi II druge mejotičke deobe. U ovoj fazi dolazi do ponovnog formiranja jedrovog omotača oko oba jedara budućih ćerki-ćelija i do citokineze. Ćelije u deobi će sazrevanjem i diferencijacijom da daju zrele polne ćelije. Sazrevanje polnih ćelija podrazumeva adaptaciju njihovih organela i citoplazma u funkciji uspešne fertilizacije. Nakon završene telofaze II formirane su polne ćelije - gameti, a to je omogućio kompletan proces mejoze. Obrazovanje polnih ćelija naziva se gametogeneza i razlikuju se:

- spermatogeneza koja se odvija u semenim kanalčićima testisa muškaraca i mužjaka; i u toku nje se formiraju spermatozoidi; i
- oogeneza koja se odvija u jajnicima žena i ženki; i kojom nastaju jajne ćelije.

*Ovo je prostor za sva pitanja čitaoca koja su se nametnula tokom čitanja prethodnog teksta, obavezno ih pribeleži, sigurno su bitna, a onda ih slobodno pošalji autoru, kontakt adresa je na početku knjige.*



## LITERATURA:

1. Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman: **The Cell: A Molecular Approach**, Seventh Edition, 2016.
2. Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, KE Roberts: **Essential Cell Biology**, Paperback Unabridged, 2014.
3. Rob Philips, Ron Milo: **Cell Biology by the Numbers**, Garland Science. Copyright, 2015.
4. Journal: **Molecular Biology of the Cell**, ISSN (online): 1939-4586, 2018.
5. Abraham Kierszenbaum, Laura Tres: **Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology**, Elsevier Health Sciences, 2011.
6. David Baltimore and Harvey Lodish: **Molecular Cell Biology**, Tenth Edition, Scientific American, 1995.
7. Gerald Karp and Nancy L Pruitt: **Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments**, Springer Science & Business Media, 1996.
8. V. G. Agarwal, P. S. Verma: **Cell Biology, Genetics, Molecular Biology**, Higher Education Textbooks, 2001.
9. Henry Harris: **The Birth Of the Cell**. Connecticut and London. Yale University Press, 2011.
10. Mark Winey and Elleen O Toole: **Centriole structure**. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014.
11. Wojciech Pawlina and Michael H. Ross: **Histology, With Correlated Cell and Molecular Biology**. Fifth edition, Lippincott Williams and Wilkins, 2012.
12. William Stillwell: **Introduction to Biological Membranes** (Second Edition), Sigle-Trans Membrane, alpha helix Glycophorin. Barnes and Noble, 2016.
13. Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith, Jeff Hardin, Gregory Bertoni: **World of the Cell**, Seventh Edition, 2018.
14. Aleksandra Korać: **Ćelijske deobe**, Biološki fakultet Beograd, 2016.
15. Zlatibor Anđelković: **Ćelije i tkiva**, Bonafides Niš, 2010.
16. Verica Avramović: **Citologija**, Niš, 2006.
17. Jelena Grozdanović Radovanović: **Citologija**, Savremena administracija Beograd, 2005.
18. Nada Šerban: **Ćelijski oblici**, Naučna knjiga Beograd, 2006.
19. Nikola Tucić: **Osnove teorije evolucije**, Savremena administracija Beograd, 2001.
20. J. I. V. Broers, F. C. S. Ramaekers: **The Role of the Nuclear Lamina in Apoptosis**. Adv in Exp Med and Biol, 2014.
21. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/Crystal structure of the human glucose transporter GLUT1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/Crystal%20structure%20of%20the%20human%20glucose%20transporter%20GLUT1/)
22. <https://www.sciencemag.org/>
23. <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652303>
24. <https://www.springernature.com/gp/librarians/products/product-types/journals/nature-research-journals>
25. <http://www.freebookcentre.net/Biology/Cytology-Books.html/>
26. <https://www.pdfdrive.com/cell-biology/>
27. <https://www.sciencellonline.com/>
28. <https://beautifulnow.is/discover/arts-design/viruses-under-microscope-by-david-s-goodsell/>
29. <http://news.mit.edu/2018/nanoparticles-give-immune-cells-boost-0709/>
30. <http://www.britannica.com/>

## ILUSTRACIJE:

1. <https://depositphotos.com/cells-under.html/>
2. [https://en.wikipedia.org/wiki/Robert\\_Hooke/](https://en.wikipedia.org/wiki/Robert_Hooke/)
3. kolaž slika: <https://thegalerie.eu/>; <https://www.landcareresearch.co.nz/resources/identification/algae/identification-guide/interpretation>; <https://edu.glogster.com/glog/paramecium/>
4. kolaž slika: <https://courses.lumenlearning.com/>; <http://what-when-how.com/biology/>; <https://www.imagenesmi.com/fd.html/>
5. <https://hr.educa.org/mikroskop/>
6. <http://www.kawaska.pl/produkty/histopatologia/mikrotomy/114-mikrotom-rotacyjny-leica/>
7. i 8. foto Smiljana Paraš
9. <https://www.miifotos.com/html/>

- 10., 11., 12. i 13. foto Smiljana Paraš
14. i 15. <https://www.sciencellonline.com/porcine-corneal-epithelial-cells.html/>
16. i 17. <http://science.sciencemag.org/content/300/5616/91/tab-figures-data/>
18. i 19. <https://www.cellsignal.com/1/3/monoclonal-antibody-immunofluorescence-paraffin-cell-adhesion/>
20. i 21. [https://www.novusbio.com/products/ucp1-antibody\\_nb100-2828/](https://www.novusbio.com/products/ucp1-antibody_nb100-2828/)
22. <https://herbariumworld.wordpress.com/2015/04/08/diatoms-in-the-herbarium/>
23. <http://tmi.utexas.edu/core-facilities/equipment/jeol-2010f-transmission-electron-microscope-tem/>
24. <https://www.hunebednieuwscfe.nl/2018/08/pollenanalyse/>
25. <https://en.educa.org/wiki/File:Staphylococcus/>
26. <http://www.labwrench.com/equipment.view/equipment/Leica/>
27. <https://www.vacationsmadeeasy.com/TheBLT/22MostPeacefulStargazingLocationsinTexas684.html/>
28. <http://svet-biologije.com/zanimljivosti/zanimljivosti-iz-mikrobiologije/luj-paster/>
29. <https://mobile.arc.nasa.gov/public/iexplore/missions/pages/yss/november.html/>
30. <https://plus.google.com/+astromia/posts/9LVNkz21BQa/>
31. modifikovano po <https://www.visionlearning.com/en/library/Biology/2/Origins-of-Life-I/>
- 32., 33. i 34. foto Smiljana Paraš
35. modifikovano po <http://kortpic.pw/x-nh-ca-heo-part-1-Art-t.html/>
36. <http://planet-terre.ens-lyon.fr/article/origine-vie-2006.xml/>
37. <https://www.biografiasyvidas.com/biografia/o/oparin.htm/>
38. <https://evolutiontale1.wordpress.com/2013/11/14/coacervates-2/>
39. <http://www.reflexions.uliege.be/cms/>
40. <https://www.precisionnanosystems.com/areas-of-interest/formulations/>
41. modifikovano po <https://antroporama.net/teoria-fuentes-hidrotermales-sobre-origen-vida/>
42. modifikovano po <http://creationbc.org/index.php/>
43. modifikovano po <https://journals.plos.org/plosbiology/>
44. autor Smiljana Paraš
45. [https://hr.educa.org/Friedrich\\_W](https://hr.educa.org/Friedrich_W)
46. modifikovano po <https://sr.wikipedia.org/wiki/wather/>
47. i 48. autor Smiljana Paraš
49. autor Smiljana Paraš kompilacija sa <http://www.cellimagelibrary.org/images/>
50. autor Smiljana Paraš kompilacija sa <https://slideplayer.com/slide/>
51. autor Smiljana Paraš kompilacija sa <http://memorizacaorapida.info/kwrpinfo-plant-cell-wall-microscope.htm/>
52. autor Smiljana Paraš kompilacija sa <https://phys.org/news/2018-07-mechanisms/>
- 53., 54., 55., 56., 57., 58. i 59. autor Smiljana Paraš
60. <https://geneticshbdanieldelprete.weebly.com/structure-of-dna.html/>
61. <https://www.technologynetworks.com/genomics/lists/dna-and-rna/>
62. i 63. autor Smiljana Paraš
64. modifikovano po <https://www.philpoteducation.com/>
65. modifikovano po <https://www.newscientist.com/article/dna/electron-microscope-for-the-first-time/>
66. <https://www.thoughtco.com/prokaryotes-meaning/>
67. [https://en.britanica.org/Andreas\\_Franz\\_Wilhelm\\_Schimper/](https://en.britanica.org/Andreas_Franz_Wilhelm_Schimper/)
68. modifikovano po <http://science.halleyhosting.com/sci/soph/cells/pics/>
69. modifikovano po <https://galnet.fandom.com/wiki/Cyanobacteria>
70. modifikovano po <https://www.semanticscholar.org/paper/34-Bacteria-Concept-Outline-34.1-Bacteria-Are-the/>
71. <https://slideplayer.com/slide/8025126/>
72. modifikovano po <https://www.brighthubeducation.com/science-homework-help/54480-study-guide-for-cell-division-in-a-bacterial-cell/>
73. kolaž: <http://www.differencebetween.info/difference-between-archaea-and-bacteria/>
74. kolaž: <https://www.rki.de/EN/Content/infections/Diagnostics/NatRefCentres/>
75. <https://fineartamerica.com/featured/mycoplasma-pneumoniae-sem/>

76. kolaž: <https://www.google.com/searchq=cyanobacteria/>; <https://www.videoblocks.com/video/microscopic-view-of-spirulina/>
77. <https://journals.plos.org/plosone/>
78. <https://www.infoescola.com/reino-protista/protozoarios/>
79. <https://dtnetwork.org/symbiotic-earth-how-lynn-margulis/>
80. <https://biology.stackexchange.com/questions/28021/which-of-the-two-mitochondrial-membranes/>
81. <https://www.tollebild.com/bilden/cell-evolution-25.html/>
82. <http://www.drjastrow.de/WAI/EM/externes/Wartenberg/MagenEC1.html>
83. i 84. foto i kolaž: Smiljana Paraš
85. kolaž: <http://www.open.edu/openlearncreate/mod/oucontent/>
86. <https://neutrons.ornl.gov/biomembranes>
87. <https://portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia1/unidad2/membranacelular/mosaicofluido/>
88. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html>
89. <http://www1.lsbu.ac.uk/php/cgiwrap/water/html/>
90. [https://www.histology.leeds.ac.uk/cell/plasma\\_membrane.php/](https://www.histology.leeds.ac.uk/cell/plasma_membrane.php/)
91. <http://www.sliderbase.com/spitem-1467-5.html/>; <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/>
- 92., 93., 94. i 95. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
96. <https://www.chegg.com/homework-help/figure-54-describes-classic-experiment-demonstrating-ability/>
97. <http://www.ovizio.com/en/Case-Studies/Cell-Fusion-Tracking-by-Fluorescence-20/>
98. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
99. <https://doctorlib.info/physiology/medical/4.html/>
100. <http://biology.hi7.co/--25-passive-and-active-transport-across-cell-membranes-56ce2a89e50b9.html/>
101. <http://www.sivabio.50webs.com/amp.htm/>
102. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
103. [https://digitalcommons.otterbein.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1313&context=stu\\_msn/](https://digitalcommons.otterbein.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1313&context=stu_msn/)
104. <https://www.ecosia.org/transport-membrane/>
- 105., 106., 107., 108. i 109. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
110. [http://www.macmillanhigher.com/BrainHoney/Resource/6716/digital\\_first\\_content/trunk/test/](http://www.macmillanhigher.com/BrainHoney/Resource/6716/digital_first_content/trunk/test/)
111. <http://www.ericblackink.info/confocal-microscopy-z-stack.html/>
112. <http://cytochemistry.net/medical-school-study-guides/recend1.htm/>
113. i 114. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
115. <http://cytochemistry.net/medical-school-study-guides/recend1.htm/>
116. [www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(01\)00472-X/](http://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(01)00472-X/)
117. i 118. kolaž: <http://david-bender.co.uk/metabonline/CHO/MODY/>
119. modifikovano po: <https://www.thoughtco.com/what-is-exocytosis/>
120. <https://ndla.no/nn/easyreader/>
121. <https://news.ucsc.edu/2015/09/strome-lecture.html/>
122. <https://ndla.no/nn/easyreader/>
123. [http://www.brc.hu/core\\_cellular\\_imaging.php/](http://www.brc.hu/core_cellular_imaging.php/)
124. dijatomi <http://www.phytoplankton.info/cd-inhalt/Cymatopleura/DSCN1940.html/>
125. kolaž: <https://ndla.no/nn/easyreader/78979?fag=46/>
126. modifikovano po: [https://en.wikipedia.org/wiki/Cytoplasmic\\_streaming/](https://en.wikipedia.org/wiki/Cytoplasmic_streaming/)
127. <https://journals.plos.org/plosbiology/issue?id=10.1371/issue.pbio.v04.i06/>
128. [www.bbvaopenmind.com/en/science/research/la-revolucion-rusa-de-la-genetica/](http://www.bbvaopenmind.com/en/science/research/la-revolucion-rusa-de-la-genetica/)
129. <http://jcb.rupress.org/content/179/3/381/>
130. modifikovano po: <https://www.thinglink.com/scene/>
131. <http://jcb.rupress.org/content/179/3/381/>
132. modifikovano po: <https://positiveperformancecoaching.com/podcast/what-endurance-athletes-dont-know/>
133. modifikovano po: <https://www.nature.com/articles/nrc/>
134. <https://ki-galleries.mit.edu/2012/mebane-5/>
135. modifikovano po: <https://elifesciences.org/articles/>
136. modifikovano po: <http://www.bloodjournal.org/content/127/2/187?sso-checked=true/>
137. modifikovano po: <https://www.studocu.com/en/document/universitat-autonoma-de-barcelona/biologia-celular/lecture-notes/tema-5-transport-vesicular/2708017/view/>
138. <http://penard.de/Amoebozoa/Tubulinea/Euamoebida/>
139. modifikovano po: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/muscular-system/deck/>
140. modifikovano po: <http://keywordsuggest.org/gallery/954669.html/>
141. modifikovano po: <http://yousense.info/616374696e6963/actinic-definition-of-actinic/>
142. modifikovano po: <http://jcb.rupress.org/content/163/3/445/>
143. kolaž: <https://ki-galleries.mit.edu/2012/mebane-5/>
144. modifikovano po: <https://step1.medbullets.com/biochemistry/102085/intermediate-filaments/>
145. i 146. <https://ki-galleries.mit.edu/2012/mebane-5/>
147. <https://en.britanica.org/Desmosome/>
148. kolaž i 149. fluorescen <https://ki-galleries.mit.edu/2012/mebane-5/>
150. modifikovano po: <http://www.assignmentpoint.com/science/biology/about-microtubule.html/>
151. modifikovano po: <https://1.bp.blogspot.com/-dCXE2fjP1Xo/>
152. <https://www.proteinatlas.org/learn/dictionary/cell/microtubule+organizing+center+2/>
153. modifikovano po: <http://essays.biochemistry.org/content/62/6/765/>
154. modifikovano po: <https://cs.educa.org/Tau/>
155. modifikovano po: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/>
156. <http://jonlieffmd.com/blog/yet-another-new-type-of-neuroplasticity-with-myosin-motors/>
157. modifikovano po: <https://pubs.acs.org/cen/science/84/8447sci1.html/>
158. <https://gfyat.com/ko/lameaptgopher/>
159. i 160. <https://ki-galleries.mit.edu/2012/mebane-5/>
161. [http://www.plantcell.org/content/12/4.cover-expansion\\_spic](http://www.plantcell.org/content/12/4.cover-expansion_spic)
162. <https://dissolve.com/video/Cilia-Coloured-transmission-electron-micrograph/>
163. [https://en.library.org/Theodor\\_Boveri/](https://en.library.org/Theodor_Boveri/)
164. modifikovano po: <https://en.stanford.org/Centriole/>
165. <https://kidskunst.info/29/12668-centrioles-electron-micrograph.htm/>
166. modifikovano po: <http://cronodon.com/BioTech/centrosome.html/>
167. <https://en.biologists.org/Cilium/>
168. <https://www.studyblue.com/notes/note/n/cytoskeleton-muscle/deck/14928915/>
169. <https://www.thoughtco.com/cilia-and-flagella-373359/>
170. <https://web.stanford.edu/group/stearns/stearyl/projects.html/>
171. <http://biologicalexceptions.com/2014/09/bacteria-are-intelligent-designers.html/>
172. <https://phys.org/news/2017-11-mechanism-flagellar-motility.html/>
173. modifikovano po: <http://jcs.biologists.org/content/>
174. <https://nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/z99-241?journalCode=cjz/>
175. <https://fineartamerica.com/>
176. <http://www.findagrave.com/memorial/2973/robert-browning/>
177. foto: Smiljana Paraš
178. kolaž: <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
179. modifikovano: <http://www2.estrellamountain.edu/faculty/farabee/biobk/BioBookCELL2.html>
180. <https://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>
181. modifikovano: <https://slideplayer.com/slide/11027665/>
182. modifikovano: <http://www.sciencesource.com/archive/Nuclear-Pore-Complexes--TEM-SS2836048.html>
183. <https://slideplayer.com/slide/11027665/>
184. modifikovano: <https://oregonstate.edu/instruction/bi314/summer09/nucleus.html>
185. modifikovano: <https://www.slideshare.net/akshaygm27/nucleus-54263255>
186. modifikovano: <https://jcs.biologists.org/content/129/24/4439>

187. <https://www.sciencephoto.com/media/619071/view/nuclear-pores-of-pig-kidney-tem/>  
188. <https://cen.acs.org/articles/94/i9/Cryo-electron-tomography-provides-first.html/>  
189. [https://www.cas.miamioh.edu/~meicenrd/anatomy/Ch2\\_Ultrastructure/](https://www.cas.miamioh.edu/~meicenrd/anatomy/Ch2_Ultrastructure/)  
190. <https://http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/cells/organelle.htm/>  
191., 192. i 193. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>  
194. modifikovano: <https://www.quora.com/What-is-the-difference-between-a-chromosome-and-a-nucleosome/>  
195. <http://emboj.embopress.org/content/35/10/1115/>  
196. modifikovano: [https://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2\\_02-41.html/](https://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2_02-41.html/)  
197. <http://www.femexer.org/15735/cromosoma-14-en-anillo/>  
198. <https://www.sciencephoto.com/media/797465/view/rough-endoplasmic-reticulum-with-ribosomes-tem/>  
199. <https://www.thefamouspeople.com/profiles/george-e-palade-7439.php/>  
200. <https://www.sciencephoto.com/media/797465/view/rough-endoplasmic-reticulum-with-ribosomes-tem/>  
201. modifikovano: <https://simplemoleculargenetics.weebly.com/translation.html/>  
202. modifikovano: <http://www.proteinsynthesis.org/what-is-the-second-step-of-protein-synthesis/>  
203. modifikovano: <http://bionyt.s807.sureserver.com/dna-i-cellen/>  
204. <https://www.sciencephoto.com/media/797465/view/polyribosomes-tem/>  
205. i 206. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>  
207. <https://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/ribosome/>  
208. <https://kpif.umbc.edu/keith-roberts-porter/>  
209. i 210. <https://biologywise.com/smooth-endoplasmic-reticulum-function/>  
211. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>  
212. i 213. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/A\\_The\\_Endoplasmic\\_Reticulum](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/A_The_Endoplasmic_Reticulum)  
214. <https://www.slideshare.net/suknamgoong/cell-biology-lecture-3/>  
215. i 216. <https://slideplayer.com/slide/8025126/>  
217. i 218. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/A\\_The\\_Endoplasmic\\_Reticulum/](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/A_The_Endoplasmic_Reticulum/)  
219. modifikovano: <http://biology-pictures.com/2011/11/rough-and-smooth-endoplasmic-reticulum.html/>  
220. [http://medcell.med.yale.edu/histology/cell\\_lab/rough\\_endoplasmic\\_reticulum\\_em.php/](http://medcell.med.yale.edu/histology/cell_lab/rough_endoplasmic_reticulum_em.php/)  
221. <http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/neuro/SR.htm/>  
222. <https://www.sciencephoto.com/media/214898/view/golgi-apparatus-tem/>  
223. <https://www.sciencesource.com/archive/Camillo-Golgi--Italian-Pathologist-SS2505934.html/>  
224. <http://sosbiologiacellularytisular.blogspot.com/2010/09/organelos.html/>  
225. i 226. [http://www3.uah.es/biologia\\_celular/LaCelula/Cel8AG.html/](http://www3.uah.es/biologia_celular/LaCelula/Cel8AG.html/)  
227. <http://sosbiologiacellularytisular.blogspot.com/2010/09/organelos.html/>  
228. i 229. <https://www.sciencephoto.com/media/214898/view/golgi-apparatus-tem/>  
230. modifikovano: [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(03\)01079-1/](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(03)01079-1/)  
231. [https://synapse.koreamed.org/ViewImage.php?Type=F&aid=3378\\_IN\\_16\\_1\\_33&fn=in-16-33-g001\\_0078IN/](https://synapse.koreamed.org/ViewImage.php?Type=F&aid=3378_IN_16_1_33&fn=in-16-33-g001_0078IN/)  
232. <http://www.mun.ca/biology/brian/BIOL2060/>  
233. <https://www.sciencephoto.com/media/710923/view/lysosome-tem/>  
234. <https://www.geni.com/people/Christian-de-Duve-Nobel-Prize-in-Physiology-or-Medicine-in-190570162207/>  
235. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2014.00099/full/>  
236. [http://www.mardre.com/homepage/mic/tem/samples/bio/proteasom/prot\\_1.html/](http://www.mardre.com/homepage/mic/tem/samples/bio/proteasom/prot_1.html/)  
237. modifikovano: <https://www.mechanobio.info/what-is-the-plasma-membrane//what-is-phagocytosis/>  
238. <https://synapseweb.clm.utexas.edu/115-multivesicular-bodies-2>  
239. modifikovano: [http://sprout038.sprout.yale.edu/imagefinder/Figure,\\$DirectLink.direct?state:Figure/](http://sprout038.sprout.yale.edu/imagefinder/Figure,$DirectLink.direct?state:Figure/)  
240. modifikovano: <http://sprout042.yale.edu./lisosome/>  
241., 242., 243., 244. i 245. <https://www.dreamstime.com/lysosomes-lipofuscin-false-colour-tem-transmission-electron-microscope-micrograph-showing-many-red-some-them-rounded-image101288966/>  
246. modifikovano: <https://www.mechanobio.info/plasma-membrane/membrane-trafficking/what-is-autophagy/>  
247. modifikovano: <http://biology.hi7.co/passive-and-active-transport-cell-membranes-56ce2a89e50b9.html/>  
248. modifikovano: <http://siimland.com/what-we-know-about-autophagy-so-far-autophagy-explained/>  
249. <https://photos.com/featured/color-enhanced-transmission-electron-micrograph-of-the-cytoplasm-in-a-liver-cell-the-mitochondria/>  
250. <https://www.whodiscoveredit.com/who-discovered-mitochondria.html/>  
251. <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-07-08/CB07-08.html/>  
252., 253., 254. i 255. [https://www.reddit.com/r/Damnthatinteresting/comments/9yeurb/a\\_mitochondria\\_as\\_seen\\_with\\_an\\_electron/](https://www.reddit.com/r/Damnthatinteresting/comments/9yeurb/a_mitochondria_as_seen_with_an_electron/)  
256., 257., 258., 259. i 260. kolaž: <https://www.biology-pages.info/C/CellularRespiration.html/>  
261. <https://www.sciencephoto.com/media/156135/view/stages-of-mitochondrial-division-tem/>  
262. <https://medicalxpress.com/news/2018-11-rare-instances-male-mtdna-offspring.html/>  
263. i 264. <https://www.verywellhealth.com/mitochondrial-disease-2860396/>  
265. <http://www.creacionismo.net/genesis/Dculo/tus-motoresgeneradores-tienen-un-rendimiento-del-100/>  
266. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1960&sectionid=148095793/>  
267. <http://lifeofplant.blogspot.com/2011/05/chloroplasts-and-other-plastids.html/>  
268. <https://www.thefamouspeople.com/profiles/ernst-haeckel-518.php/>  
269. <http://lifeofplant.blogspot.com/2011/05/chloroplasts-and-other-plastids.html/>  
270., 271. i 272. kolaž: <http://www1.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e23/4.htm/>  
273. <https://www.sciencephoto.com/media/546890/view/chloroplast-tem/>  
274. <https://pixels.com/featured/tem-of-chloroplast-from-a-leaf-drjeremy-burgessscience-photo-library.html/>  
275. <https://www.sciencephoto.com/media/558743/view/chloroplast-tem/>  
276. <https://pixels.com/featured/2-chloroplast-tem-omikron.html/>  
277. modifikovano: <https://thecellorganelles.weebly.com/chloroplasts-cytoplasm--cytoskeleton.html/>  
278. modifikovano po: <http://lifeofplant.blogspot.com/2011/05/chloroplasts-and-other-plastids.html/>  
279. <http://www.daviddarling.info/encyclopedia/C/chromoplast.html/>  
280. <https://www.phywe.com/en/chromoplasts.html/>  
281. <https://www.sciencephoto.com/media/10664/view/tem-of-an-amyloplast/>  
282. <https://www.biologyexams4u.com/2012/06/plastids.html/>  
283. <http://facultyweb.cortland.edu/klotz/GenericPage.asp?recID=198/>  
284. i 285. [https://es.123rf.com/photo\\_41137734\\_de-calcio-de-cristales-de-oxalato-en-el-an%C3%A1lisis-de-ori-na-.html/](https://es.123rf.com/photo_41137734_de-calcio-de-cristales-de-oxalato-en-el-an%C3%A1lisis-de-ori-na-.html/)  
286. <https://fineartamerica.com/featured/mitosis-light-micrograph-gerd-guenther.html?product=greeting-card/>  
287. <https://pixels.com/featured/rudolf-virchow-paul-d-stewart.html/>  
288. <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/mitosis-vector-10500489/>  
289., 290., 291., 292., 293., 294., 295. i 296. crteži autora: Dušanić Ivana, Kalamanda Milana, Perić Vanja, Suvajac Sanja i Dragić Nataša  
297. <https://www.google.com/search?q=scheme+meiosis&source=lnms&tbm/>  
298., 299., 300., 301., 302., 303., 304., 305., 306., 307., 308. i 309. crteži autora: Dušanić Ivana, Kalamanda Milana, Perić Vanja, Suvajac Sanja i Dragić Nataša