

POLSKIE TOWARZYSTWO BIOCHEMICZNE

Postepy Biochemii

POSTBAH 24 (4)
425-524 (1978)

1978

tom 24 nr 4



Pw

PAŃSTWOWE
WYDAWNICTWO
NAUKOWE

<http://rcin.org.pl>

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

Kwartalnik „Postępy Biochemii” publikuje artykuły przeglądowe z biochemii i nauk pokrewnych. Artykuły winny obejmować syntetyczny przegląd postępu wiedzy w omawianej dziedzinie opracowany na podstawie piśmiennictwa z kilku ostatnich lat. Przekazanie artykułu do Redakcji jest równoznaczne z oświadczeniem, że nadesłana praca nie była i nie będzie publikowana w innym czasopiśmie, jeżeli zostanie ogłoszona w „Postępkach Biochemii”. Autorzy artykułu odpowiadają za prawidłowość i ścisłość podawanych informacji. Autorów obowiązuje korekta autorska. Koszty zmian tekstu w korekcie (poza poprawieniem błędów drukarskich) ponoszą autorzy. Artykuły honoruje się według obowiązujących stawek. Autorzy otrzymują bezpłatnie 25 odbitek swego artykułu; zamówienia na dodatkowe odbitki (płatne) należy zgłosić pisemnie odsyłając pracę po korekcie autorskiej.

Redakcja prosi autorów o przestrzeganie następujących wskazówek:

Forma maszynopisu: maszynopis pracy i wszelkie załączniki należy nadsyłać w dwu egzemplarzach. Maszynopis powinien być napisany jednostronnie, z podwójną interlinią, z marginesem ok. 4 cm po lewej i ok. 1 cm po prawej stronie; nie może zawierać więcej niż 60 znaków w jednym wierszu nie więcej niż 30 wierszy na stronie zgodnie z Normą Polską.

Układ maszynopisu: strona okładowa nienumerowana zawiera imiona i nazwisko(a) autora(ów), adres(y) Zakładu(ów) w języku polskim i angielskim, w których pracują autorzy, adres pocztowy, na który autorzy życzą sobie otrzymywać korespondencję, adres prywatny, telefon miejsca pracy, tytuł artykułu (w języku polskim i angielskim), oraz — w prawym dolnym rogu — liczbę stron, liczbę rycin, wzorów i tabel oraz skrót tytułu (nie więcej niż 25 znaków drukarskich).

Strona tytułowa (1) imiona (w pełnym brzmieniu) i nazwisko(a) autora(ów), tytuł pracy w języku polskim i angielskim, rzeczowy spis treści w języku polskim i angielskim, tytuł naukowy autora(ów) i jego (ich) miejsce(a) pracy, wykaz skrótów stosowanych w pracy.

Strona 2 i następne obejmują tekst pracy do spisu piśmiennictwa włącznie, tabele, spis rycin, wzorów oraz tytuły i objaśnienia do rycin na stronach końcowych.

Dla przejrzystości tekstu obowiązuje podział artykułu na rozdziały i podrozdziały, których tytuły rzeczowo winny informować o przedstawianych treściach. Rzeczowy spis treści publikujemy bezpośrednio po tytule pracy. Rozdziały numerujemy liczbami rzymskimi, a podrozdziały odpowiednią rzymską i arabską (np. I-1.). Tytułów podrozdziałów nie wydzielonych z tekstu nie trzeba numerować. W tekście nie należy stosować żadnych podkreśleń ani rozstrzelonego druku. Ewentualne sugestie autorskie co do charakteru czcionki drukarskiej należy zaznaczyć ołówkiem na marginesie maszynopisu. W przypadku umieszczenia w tekście liter alfabetu greckiego należy na marginesie wpisać ołówkiem ich fonetyczne brzmienie. Tabele i ryciny numerujemy cyframi arabskimi a wzory rzymskimi. W tekście nie należy umieszczać żadnych tablic, rycin czy wzorów, lecz w żądanym miejscu pozostawić wolny wiersz i zaznaczyć: Tabela 1, Ryc. 1, Wzór I itp. Numerację wzoru w tekście należy podawać po nazwie związku np. kwas glutaminowy (I).

Redakcja prosi autorów o zwrócenie szczególnej uwagi na poprawność językową tekstu a także na ścisłość i jasność sformułowań, unikanie gwary laboratoryjnej oraz o niewprowadzanie do tekstu tworzonych doraźnie skrótów, nawet jeśli niektóre z nich bywają używane w pracach obcojęzycznych.

POLSKIE TOWARZYSTWO BIOCHEMICZNE

Postępy Biochemii

KWARTALNIK

1978 TOM 24 ZESZYT 4

Wydane z pomocą finansową
Polskiej Akademii Nauk

Postbah 24(4)
(425-524) (1978)

Państwowe Wydawnictwo Naukowe

<http://rcin.org.pl>

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: K. Zakrzewski (Warszawa)

Zastępca: W. Ardelt (Warszawa)

Sekretarz: I. Szumiel (Warszawa)

Członkowie: S. Angielski (Gdańsk), M. Bagdasarian (Warszawa), M. Choraży (Gliwice), W. Drabikowski (Warszawa), M. Fikus (Warszawa), J. Gregorczyk (Szczecin), B. Grzelakowska-Sztabert (Warszawa), D. Hulanicka (Warszawa), W. Jachymczyk (Warszawa), J. Kwiatkowska (Wrocław), S. Lewak (Warszawa), W. Mejbaum-Katzenellenbogen (Wrocław), A. Legocki (Poznań), A. Morawiecki (Wrocław), J. Pawełekiewicz (Poznań), K. Raczyńska-Bojanowska (Warszawa), Z. Zielińska (Warszawa)

REDAKTOR NACZELNY

Z. Zielińska

ZASTĘPCA REDAKTORA NACZELNEGO

D. Hulanicka

SEKRETARZ REDAKCJI

M. Balińska

CZŁONKOWIE REDAKCJI: B. Czartoryska (Warszawa), E. Czuryło (Warszawa), J. Skangiel-Kramska (Warszawa), J. Zborowski (Warszawa)

Adres Redakcji

Polskie Towarzystwo Biochemiczne

ul. Freta 16, 00-227 Warszawa

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1978

Nakład 2.260 (2.155+105)

Oddano do składania 11.VII.78

Ark. wyd. 7,75, ark. druk. 6,25

Podpisano do druku w listopadzie 1978 r.

Pap. druk. sat. kl. IV, 70 g, 70×100

Druk ukończono w listopadzie 1978 r.

Zam. nr 1012/78 S-86

Cena zł 20,—

Drukarnia im. Rewolucji Październikowej, Warszawa

W dwudziestopięciolecie *Acta Biochimica Polonica*
i w dwudziestopięciolecie pracy redaktorskiej —

Profesor Dr Irenie Mochnackiej

serdeczne gratulacje, wyrazy uznania i wdzięczności

składa

POLSKIE TOWARZYSTWO BIOCHEMICZNE

25 lat *Acta Biochimica Polonica*

W roku bieżącym ukazują się kolejne numery dwudziestego piątego tomu *Acta Biochimica Polonica*. Dwudziestopięciolecie pisma jest jednocześnie jubileuszem pracy redaktorskiej profesor Ireny Mochnackiej, wszystkie bowiem tomy *Acta* tj. około 1500 prac przeszło przez Jej redaktorską tekę.

W biochemii w ostatnim ćwierćwieczu dokonano odkryć o doniosłej wadze, jak rozszyfrowanie kodu genetycznego, określenie sekwencji składników białek i kwasów nukleinowych, ich synteza *in vitro*, poznanie wielu szlaków biosyntezy, zbadanie ich regulacji i ingerencja w ich przebieg, zasadnicze odkrycia w bioenergetyce, immunologii i neurochemii. *Acta Biochimica Polonica*, podobnie jak inne czasopisma biochemiczne, są odbiciem postępu w biochemii, a także zmian zachodzących w sposobie przedstawiania danych eksperymentalnych. Jednocześnie *Acta* obrazują szkolenie polskiej kadry biochemicznej po wojnie i stopniowe wyposażenie laboratoriów w aparaturę i odczynniki. *Acta* stanowią zatem jak gdyby kronikę tworzących się po wojnie zespołów badawczych i rozwoju indywidualnych badaczy.

W roku 1953 utworzenie polskiego czasopisma biochemicznego uznano ogólnie za konieczne. Na 13-tym posiedzeniu Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN w dniu 6 września 1953 r. zapadła decyzja wydawania *Acta Biochimica Polonica* jako kwartalnika aby umożliwić polskim biochemikom drukowanie prac doświadczalnych. Powstanie pisma zostało zaakceptowane przez Wydział II PAN w dniu 2 lutego 1954 roku, a 20 marca tego roku powołano pierwszy Komitet Redakcyjny w składzie: przewodniczący — prof. dr Ignacy Reifer, zastępca — prof. dr Włodzimierz Mozołowski, sekretarz — prof. dr Irena Mochnacka. Rozesłano listy zawiadamiające o rozpoczęciu wydawania czasopisma oraz informacje dla

autorów. 10 maja 1954 r. pierwszy zeszyt pierwszego tomu *Acta Biochimica Polonica* opuścił drukarnię w nakładzie 700 egzemplarzy.

Od 1 listopada 1956 roku funkcję Redaktora Naczelnego *Acta Biochimica Polonica* objął profesor Włodzimierz Mozołowski, który przez 12 lat redagował pismo wraz z profesorem Ireną Mochnacką. W roku 1957 członkiem Redakcji był także profesor Tadeusz Korzybski. Z upływem lat ciężar spraw redaktorskich coraz bardziej przesunął się na profesora Mochnacką, która na skutek choroby profesora Mozołowskiego przez kilka lat przed formalnym, w 1968 roku, objęciem funkcji Naczelnego Redaktora praktycznie sama prowadziła pismo i do chwili obecnej jest jego Naczelnym Redaktorem.

Z zachowanych materiałów archiwalnych i wspomnień wyłania się cały ogrom trudności merytorycznych, organizacyjnych i technicznych. Komitet Redakcyjny zdawał sobie sprawę, że rozwijająca się polska biochemia stawia przed Redakcją specjalne zadania. W pierwszym okresie istnienia pisma *Acta* miały stać się „nie tylko przeglądem dokonanych wyników ale i szkołą pisania prac eksperymentalnych, a także i wykonywania tych prac” (W. Mozołowski, rozważania redaktorskie; 1954). Przyjęcie takich zadań sprawiło, że Komitet Redakcyjny pełnił rolę redaktorów, recenzentów i naukowych opiekunów niektórych prac. Każda praca była szczegółowo analizowana: sprawdzano obliczenia, sugerowano uzupełnienia doświadczeń, proponowano zmiany w przedstawianiu dokumentacji i dyskusji, wreszcie przeredagowywano niektóre prace. Uczono i wyjaśniano.

W pierwszych latach istnienia pisma duszą Redakcji był profesor Mozołowski. „Proszę Pana o przerobienie pracy zgodnie z moimi radami. Z pewnością będzie to Pana kosztowało wiele trudu, ale nauczy Pana pisania prac doświadczalnych, co nie jest rzeczą łatwą. Taką przerobioną (i to gruntownie) pracę chciałbym otrzymać od Pana do oceny”. „Niech Pani przeczyta moje uwagi 2—3 razy. Proszę mi wierzyć, że bardzo będę się cieszyć, jeżeli udałoby się Pani mnie przekonać, że moje zastrzeżenia są niesłuszne” (z listów profesora Mozołowskiego do autorów).

Do Redakcji nadchodziły listy ze słowami wdzięczności i uznania, ale czasem także inne pełne urazy i zniecierpliwienia. Praca nad utrzymaniem poziomu *Acta* była niełatwa. Pochłaniała czas odpoczynku i nie zawsze znajdowała zrozumienie nawet wśród członków Rady Redakcyjnej. Jednocześnie redaktorzy usprawniali swój warsztat redaktorski, dyskutując szeroko na temat granic odpowiedzialności autora i redakcji, precyzując swoje wymagania. W dyskusjach merytorycznych brał bardzo czynny udział profesor Józef Heller, pełniący wówczas funkcję przewodniczącego Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN. Między Gdańskiem a Warszawą krążyły prace i listy omawiające szczegóły prac. Profesor Heller spełniał jednocześnie rolę ambasadora redakcji, dokładając starań, aby teka redaktorska była pełna i aby sprawy organizacyjne i admini-

stracyjnie szły sprawniej. Te jednak przysparzały wielu kłopotów. Redakcja nie dysponowała etatem sekretarza technicznego. W czynnościach administracyjnych i technicznych pomagali ludzie, dla których praca w *Acta Biochimica Polonica* była dodatkowa i marginalna wobec ich podstawowych zajęć służbowych. Sytuacja uległa istotnej poprawie gdy prace pomocnicze przejęła p. Renata Majewska — sekretarz redakcji serii biologicznej Biuletynu PAN. Cały jednak ciężar i odpowiedzialność za sprawy techniczne od początku spoczywały na profesor Mochnackiej. Mozolne sprawdzanie odnośników literaturowych, troska o właściwą formę przedstawienia wyników dodatkowo obarczały jej pracę redaktorską. Fundusze na opłatę druku czasopisma nie zawsze wpływały w terminie. Anegdotą z dziejów pisma jest opowiadanie o zbiorce pieniędzy na „wypicie” numeru z drukarni, zwróconych później przez PWN. Niejednokrotnie Redaktorzy sięgali do własnych kieszeni, aby opłacić różne usługi dla *Acta*.

Na przełomie lat sześćdziesiątych zaszły istotne zmiany ważne dla pisma. Już w tomach 4, 5, 6 i 7-mym pojawiają się prace w języku angielskim, a od roku 1961 obowiązującym językiem czasopisma jest język angielski. National Sciences Foundation finansuje tłumaczenia prac wydanych w języku polskim we wcześniejszych tomach. Prace polskie stają się w ten sposób dostępne ogółowi biochemików. Krzepnie polska biochemia i krzepnie jej pismo. To jednak zwiększa obowiązki redaktorów: właściwe, poprawne tłumaczenie na język angielski i dalsze podnoszenie poziomu pisma. Coraz więcej czasu staje się potrzebne na przygotowanie materiału do druku. *„Wydaje się, że słusznie przeszliśmy na język angielski i naprawdę wierzę, że to, co teraz robię wielokrotnie się zwróci. Ci z młodych, którzy są dobrzy, nauczą się szybko, szybciej niż przypuszczamy. Nie uważam tej mojej pracy za zmarnowaną i niepotrzebną”* (z listów redakcyjnych profesor Mochnackiej; 1961).

W roku 1961 rozpoczęła pracę w Redakcji p. Anna Olszańska, która w krótkim czasie staje się bardzo bliską współpracowniczką profesor Mochnackiej i zostaje wprowadzona nie tylko w sprawy techniczne, ale i redakcyjne pisma. Wielki wkład pracy, inteligencja i ogromne oddanie sprawom *Acta* sprawiły, że udział p. Olszańskiej w pracach redaktorskich jest zawsze bardzo żywy. Autorzy wiele zawdzięczają jej niezwyklej dokładności, dbałości i staranności.

Współpracownikami profesor Mochnackiej w Redakcji *Acta* była w latach 1968—1971 doc. dr K. Bełżecka, a od roku 1971 do chwili obecnej jest doc. dr K. Raczyńska-Bojanowska. Od roku 1978 członkiem Redakcji jest również profesor T. Chojnacki. Profesor Mochnacka nadal uczy jak pisać prace doświadczalne, uczy jasnego, precyzyjnego wyrażania myśli, służy swym doświadczeniem biochemikom starszego i młodszego pokolenia. Nadal w pracach polskich biochemików jest Jej anonimowy wkład. Jej dokładność, dociekliwość i sumienność w pracy redak-

torskiej jest wzorem dla współpracowników. Jej także niewątpliwą zasługą jest przyjęcie *Acta Biochimica Polonica* do międzynarodowej unii czasopism biochemicznych i sprawienie, że czasopismo to zawiera prace często cytowane w piśmiennictwie biochemicznym.

W uznaniu wybitnych zasług dla rozwoju polskiej biochemii oraz w wychowaniu młodej kadry biochemicznej Polskie Towarzystwo Biochemiczne nadało Redaktorom *Acta Biochimica Polonica*: profesorowi Mozołowskiemu i profesor Mochnackiej godność Członków Honorowych Towarzystwa.

K. Raczyńska-Bojanowska

ZOFIA KILIAŃSKA *), LEOKADIA KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ **)

Matriks jądrowa

Nuclear Matrix

Spis treści

Wstęp

- I. Metody izolowania matriks jądrowej**
- II. Właściwości fizykochemiczne matriks jądrowej**
- III. Rola biologiczna matriks jądrowej**
- IV. Uwagi końcowe**

Contents

Introduction

- I. Preparation of nuclear matrix**
- II. Physical and chemical properties of nuclear matrix**
- III. Biological role of nuclear matrix**
- IV. Concluding remarks**

Matriks jądrowa przedstawia sobą białkowy szkielet wewnątrzjądro-
wy utrzymujący sferyczny kształt jądra komórkowego. Ten zrąb jądro-
wy, zasocjowany z niewielką ilością kwasów nukleinowych i fosfolipi-
dów, jest odporny na działanie soli o wysokich stężeniach (1,4 M, 2 M
NaCl), detergentów, a także na atak enzymów nukleolitycznych. Z kolei,
działanie enzymów proteolitycznych (trypsyna, pronaza, pepsyna) jest
powodem zupełnego zniszczenia tej podstruktury jądrowej.

Resztkowe białka jądrowe wyizolowali w 1947 r. Mirsky i Ris
(1) z jąder komórkowych grasicy cielęcia pochodzące z tzw. „resztkowych
chromosomów”. Tę podjednostkę strukturalną jąder otrzymano przez ich
wyczerpującą ekstrakcję za pomocą 0,14 M i 2 M roztworów NaCl. W kil-

* Dr, ** Prof. dr hab., Instytut Biochemii i Biofizyki, Uniwersytet Łódzki, ul. Bana-
cha 12/16, 90-237 Łódź.

Wykaz stosowanych skrótów: SDS — siarczan dodecylu sodu; EDTA — etylenodwuamino-
czterooctan; RNP — rybonukleoproteina.

ka lat później resztkowe białka jądrowe badano w mikroskopie elektronowym (2). Jądra komórkowe wątroby, śledziony i grasicy, cielięcia po ekstrakcji roztworami rozcieńczonych soli, kwasów, niejonowych detergentów oraz 1 M NaCl przypominały gąbczastą siateczkę złożoną głównie z osłonki jądrowej i jąderek (2). Siateczkę wewnątrzjądrową rozciągającą się od jąderek do osłonki jądrowej opisali w kilka lat później Georgiev (3), Zbarskij i wsp. (4—8), Busch i wsp. (9, 10). Siateczka ta o charakterze rybonukleoproteidowym wykazywała obecność osłonek jądrowych, jąderek oraz tzw. „resztkowych chromosomów”.

Matriks jądrową opisano po raz pierwszy w 1974 r. (11) i udowodniono jej istnienie na drodze cytologicznej i biochemicznej. Zastosowanie różnych sposobów barwienia preparatów mikroskopowych jąder komórkowych wątroby szczura oraz struktur pozostających po ekstrakcjach roztworami soli, detergentów oraz po działaniu DN-azą i RN-azą pozwoliło ujawnić materiał o charakterze niechromatynowym. Działanie powyższych czynników nie wpływało na zmianę kształtu jądra komórkowego.

Wnikliwe badania (12) matriks jądrowej wątroby myszy w mikroskopie elektronowym potwierdzają w niej obecność lipoproteinowych (głównie) kompleksów por osłonki wraz z blaszką (lamina) na wewnętrznej powierzchni osłonki (*nuclear pore complex*, por. Busch (13)), włókienek jąderkowych i tzw. wewnątrzkomórkowej matriks.

Białka budujące matriks, głównie białka niehistonowe, wykazują budowę włókienkową, które to włókienka (ϕ 20—30 Å) mogą asocjować tworząc grubsze włókna dochodzące do 100—300 Å średnicy.

O ile stwierdzenie obecności matriks po działaniu na jądra roztworami soli, detergentów, czy enzymami może budzić pewne obawy co do jej rodzimego charakteru, o tyle opisany ostatnio przez Ghoşa i wsp. (14) test cytologiczny wskazujący na istnienie tej podjednostki jądrowej nie budzi zastrzeżeń. W celu wykazania i scharakteryzowania matriks wykorzystali oni zjawisko szybkiej kontrakcji chromatyny wywołanej działaniem α -amanityny (50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ zawiesiny) m.in. w hodowlach komórek HeLa.

Matriks jądrowa stanowi agregat delikatnych włókien pozachromatynowych o grubości 50—60 Å z przyczepionymi do nich ziarnistościami o średnicy około 150 Å. Siateczka ta wykazuje ujemny odczyn Feulgena i barwi się bardzo słabo błękitem toluidynowym. Zdjęcia z mikroskopu elektronowego wykluczają w niej obecność jąderek. Intensywne trawienie matriks za pomocą pepsyny (2 mg/cm^3 , 0,02 N HCl, 37°C, 3 godz) potwierdza w niej obecność kwaśnych białek jądrowych. Na uwagę zasługuje zgodność średnicy włókienek matriks (50—60 Å), zbudowanych głównie z kwaśnych białek jądrowych, z doniesieniem Kaye'a i wsp. (15) o istnieniu włókienek białek niehistonowych o średnicy 50 Å w nie-

chromatynowych centrach jąder komórkowych spermatyd świerszcza domowego.

Należy podkreślić, że zdefiniowanie pojęcia struktury jądrowej, jaką jest matriks nastęrcza wciąż trudności wynikające często z subtelnych różnic, które badacze obserwują w jądrach różnego pochodzenia po szeregu ekstrakcjach i trawieniach (por. rozdz. I), a także z powodu braku techniki, która jednoznacznie pozwoliłaby otrzymać tę właśnie strukturę.

Dość powszechnie stosowana metoda izolowania matriks z jąder komórkowych wątroby, opracowana przez Berezney'a i Coffey'a (11), nie okazała się np. przydatna do uzyskania jej z komórek HeLa (16). Sprawą wciąż otwartą pozostaje obecność w matriks elementów pochodzących z jąderek czy osłonek jądrowych.

I. Metody izolowania matriks jądrowej

Ogólną zasadą izolowania matriks jest usunięcie z jąder komórkowych składników chromatyny i fosfolipidów za pomocą wielokrotnych ekstrakcji i trawienia enzymatycznego.

Berezney i Coffey (11) wykorzystali fakt, że większość DNA (ok. 75%) można usunąć z jąder przez zmniejszenie stężenia chlorku magnezowego (z 5 mM do 0,2 mM) w zawieszynie jądrowej. Jądra komórkowe przemywano 2-krotnie 10 mM roztworem Tris-HCl (pH 7,4) zawierającym 5 mM $MgCl_2$, a następnie ekstrahowano 2-krotnie roztworem 0,2 mM $MgCl_2$ w 10 mM Tris-HCl (pH 7,4; 10 min) z odwirowaniem przy 780 x g przez 20 minut. Jądra pozbawione przeważającej części DNA ekstrahowano 3-krotnie (10 min) roztworem 2 M NaCl — 0,2 mM $MgCl_2$ w 10 mM Tris-HCl (pH 7,4) z następczym wirowaniem przy 780 x g przez 40 minut. Na tym etapie zostaje usunięte około 90% jądrowego DNA. Pozostałość jądrową przemywano 2-krotnie (10 min) roztworem zawierającym 1% Triton X-100 i 5 mM $MgCl_2$ w 10 mM Tris-HCl (pH 7,4) odwirowując każdorazowo przy 780 x g przez 20 minut. Osad przemytych jąder poddawano trawieniu enzymami nukleolitycznymi [22°C, 1 godz., trzustkowa DN-aza I i RN-aza 200 $\mu g/cm^3$ zawiesziny jądrowej w układzie 5 mM $MgCl_2$ w 10 mM Tris-HCl (pH 7,4)]. Zawiesinę odwirowywano i przemywano 2-krotnie roztworem 5 mM $MgCl_2$ w 10 mM Tris-HCl (pH 7,4). Otrzymane w powyższy sposób preparaty matriks były praktycznie pozbawione elementów chromatynowych i błoniastych.

Późniejsze metody (17, 18, 20) stanowiły właściwie modyfikacje techniki opisanej powyżej, a zmierzały do wyizolowania siateczki rybonukleoproteidowej, czy kompleksów por osłonek jądrowych, jako struktur prawdopodobnie odpowiadających matriks jądrowej.

W 1977 r. Hodge i wsp. (16) otrzymali matriks jądrową z komórek HeLa S3, stosując jako etap wstępny usunięcie fosfolipidów za pomocą

mieszaniny detergentów: Tween 40 — dezoksycholan sodu. Jądra komórkowe zawieszano w mieszaninie Tween — dezoksycholan (1:40 rozcieńczenie roztworu podstawowego zawierającego 2 objętości 10% Tween 40 i 1 objętość 10% dezoksycholanu sodu) i krótko mieszano (30 sek), po czym wirowano przy 200 x g przez 3 minuty. Następnie osad jąder przemywano roztworem — 0,01 M NaCl w 1,5 mM MgCl₂ w 0,01 M Tris-HCl (pH 7,2) i zawieszano energicznie w roztworze o wyższej sile jonowej, tj. 0,5 M NaCl i 50 mM MgCl₂ w Tris-HCl (pH 7,4) i poddawano trawieniu za pomocą DN-azy I (50 µg/cm³, 37°C, 30—60 min). Zawiesinę po inkubacji odwirowywano przy 600 x g przez 10 minut i ponownie inkubowano w układzie: 0,01 M NaCl — 0,01 M dwutiotreitol — 0,01 M EDTA — 0,01 M Tris-HCl (pH 7,4). Po inkubacji preparaty matriks odwirowywano i oczyszczano stosując wirowanie przez skokowy gradient sacharozy (na 60% roztwór sacharozy nawarstwiano roztwory sacharozy o gęstości 1,20, 1,18 i 1,16 g/cm³). Matriks jądrowa otrzymana według powyżej przedstawionej metody nie wykazywała aktywności następujących enzymów: glukozo-6-fosfatazy, β-N-acetyloglukozoaminidazy oraz ATP-azy wrażliwej na ouabainę.

Tabela 1

Skład chemiczny jąder komórkowych i matriks jądrowej wątroby szczura (11) i orzęska *Tetrahymena pyriformis* (20)

| Frakcja | Białka * | | Fosfolipidy * | | DNA * | | RNA * | |
|--|----------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|
| | % | % odzysku jąder komórkowych | % | % odzysku jąder komórkowych | % | % odzysku jąder komórkowych | % | % odzysku jąder komórkowych |
| Wątroba szczura ** (11) | | | | | | | | |
| Jądra komórkowe | 62,7 | 100 | 2,7 | 100 | 31,2 | 100 | 3,5 | 100 |
| Matriks jądrowa | 98,2 | 12 | 0,5 | 2,6 | 0,10 | 0,03 | 1,2 | 2,6 |
| <i>Tetrahymena pyriformis</i> *** (20) | | | | | | | | |
| Makro-nukleus | 58,5 | 100 | 2,2 | 100 | 30,6 | 100 | 8,7 | 100 |
| Matriks jądrowa | 96,8 | 15 | 1,4 | 7,0 | 1,0 | 0,3 | 0,8 | 7,0 |

* % białka + % fosfolipidów + % DNA + % RNA = 100%

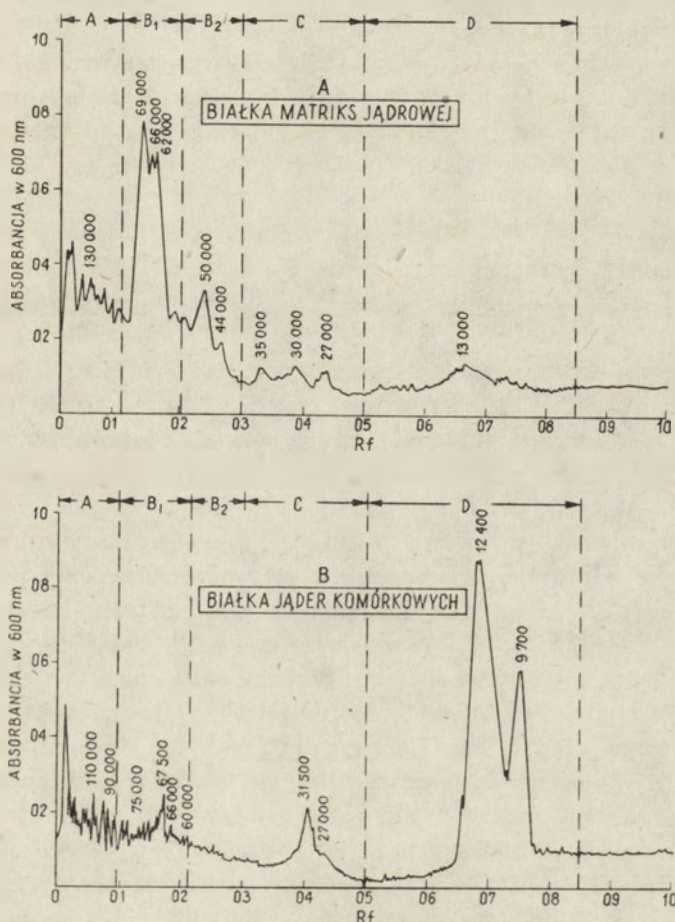
** średnia wartość z 6 oddzielnych preparatów

*** średnia wartość z 5 oddzielnych preparatów

II. Właściwości fizykochemiczne matriks jądrowej

W zależności od sposobu izolowania (11, 16, 18) siateczka matriks jądrowej wykazuje pewne rozbieżności w jej składzie chemicznym. Wypływa to z różnej w niej ilości elementów pochodzenia błonowego czy jądrowego. W matriks jądrowej wątroby szczura otrzymanej według najczęściej stosowanej metody Berezney'a i Coffey'a (11) nie wykryto praktycznie składników pochodzenia błonowego; zawiera ona głównie białka oraz niewielki odsetek fosfolipidów i kwasów nukleinowych (Tabela 1).

Duże podobieństwo w składzie chemicznym z analogicznymi podstrukturami organizmów stojących na wysokim szczeblu rozwoju ewo-



Ryc. 1. Wykresy densytometryczne rozdzielu w żelu poliakryloamidowym z SDS białek matriks jądrowej (A) i całości białek jądrowych (B) wątroby szczura w 10% żelu poliakryloamidowym zawierającym SDS (11).

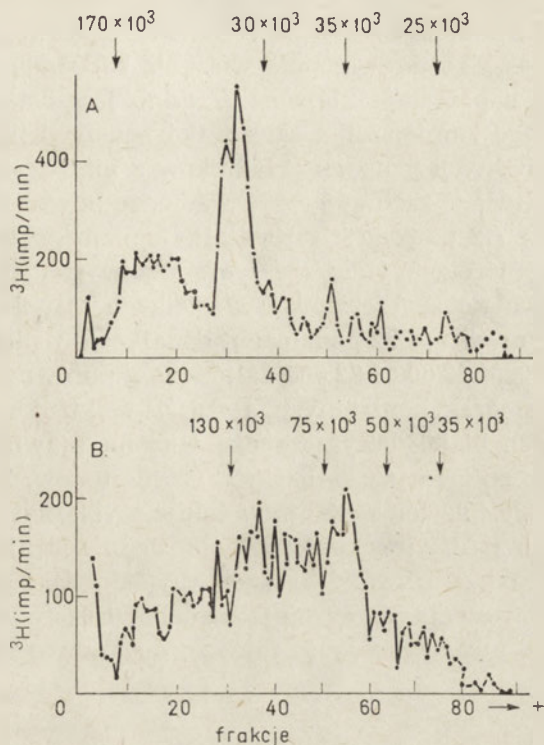
lucyjnego (szczur) wykazują preparaty matriks izolowane z makroukłęus orzęsków *Tetrahymena pyriformis* (20) (Tabela 1).

Białka matriks stanowią aż 12—15% całości białek jądrowych [w późniejszych pracach badacze notują tę wartość poniżej 10% (19)] i składają się głównie z białek niehistonowych (11, 12, 14, 16, 19, 20). Analiza składu aminokwasowego białkowej frakcji matriks wątroby szczura potwierdziła (21) ich kwasowy charakter (stosunek aminokwasów kwaśnych do zasadowych = 1,46). Wyniki elektroforezy w żelu poliakrylamidowym zawierającym SDS pozwalają wnioskować, że w tej podjednostce strukturalnej jądra występują polipeptydy o wyższej masie cząsteczkowej, przy czym 3 z nich w zakresie mas od 60 000 do 70 000 daltonów stanowią główny odsetek (Ryc. 1) obok nielicznych niskocząsteczkowych frakcji. Porównanie wykresów rozdziału ogółu białek jądrowych (Ryc. 1B) z białkami pochodzącymi z matriks (Ryc. 1A) wyklucza w tych ostatnich obecność histonów (11).

Daleko posuniętą zbieżność obrazu elektroforetycznego wysokocząsteczkowych frakcji zaobserwowano w białkach kompleksów porowych osłonki jądrowej — blaszka wątroby szczura [66 000, 68 000 i 69 000 daltonów, (17)], a także w białkach matriks wątroby myszy [65 000, 67 000 i 68 000 daltonów (12)].

Dość istotne różnice w składzie chemicznym i obrazie elektroforetycznym zostały opisane przez Hodg'e'a i wsp. (16) dla matriks komórek HeLa. Otrzymane przez nich preparaty matriks zawierały 87% białka, 11,8% fosfolipidów, 1,1% DNA i 0,05% RNA. Intensywna ekstrakcja otrzymanych struktur 2% roztworem Tritonu X-100 usuwała tylko część (ok. 45%) fosfolipidów. Przypuszczalnie osłonki jądrowe komórek HeLa są mniej wrażliwe na działanie detergentów. Fosfolipidy w preparatach matriks pochodzą głównie z wewnętrznej osłonki jądrowej.

Rozdział elektroforetyczny w żelu poliakrylamidowym z SDS białek matriks z komórek HeLa techniką wysokorozdzielczej gradientowej elektroforezy płytkowej pozwala zaobserwować znaczną niejednorodność tych białek; 30—35 frakcji o masach cząsteczkowych około 14 000 do 200 000 daltonów. Główne frakcje wykazywały masę w zakresach od 14 000—18 000 oraz 45 000—75 000 daltonów. Obraz elektroforetyczny tych białek nie ulegał zmianie przy intensywnej redukcji (5% β -merkaptoetanol). Z kolei, elektroforeza w żelu poliakrylamidowym z SDS (w rurkach) białek matriks jądrowej izolowanych z hodowli komórek HeLa znakowanych mieszaniną [^3H]-aminokwasów wykazała znaczny stopień włączania piętna we frakcje o masach cząsteczkowych w zakresie 50 000—75 000 i 90 000—130 000 daltonów (Ryc. 2A). Na uwagę zasługuje występowanie w strukturze matriks glikopeptydów. Okazało się mianowicie, że preparaty matriks izolowane z komórek HeLa znakowanych [^3H]-glukozaminą miały aż 85% radioaktywności. Ta radioaktywność



Ryc. 2. Wykresy densytometryczne rozdzielu w żelu poliakryloamidowym z SDS białek matriks jądrowej komórek HeLa izolowanych z hodowli uprzednio znakowanych roztworem ^3H -aminokwasów ($5 \mu\text{Ci}/\text{cm}^3$, A), bądź ^3H -glukozaminą ($5 \mu\text{Ci}/\text{cm}^3$, B) (16).

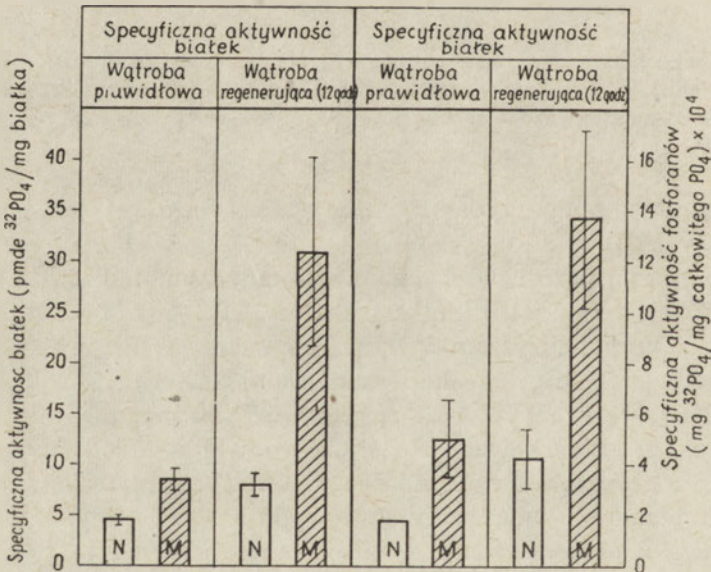
była związana z polipeptydami o masie cząsteczkowej powyżej 50 000 daltonów Ryc. 2B).

Sprawą sporną pozostaje obecność histonów w matriks jądrowej. Według Hodg'e'a i wsp. (16) białka o masie 14 000—18 000 daltonów wędrujące w żelu poliakryloamidowym reprezentują histony. Przemawia za tym możliwość ich ekstrakcji roztworami 0,25 N HCl, 0,3 M MgCl_2 czy 0,3 M KCl, a także wybiórcze znakowanie zasadowymi aminokwasami w fazie S cyklu komórkowego. Jednakże w świetle przedstawionych powyżej prac, a szczególnie doświadczeń z kontrakcją materiału chromatynowego za pomocą α -amanityny (14) wydaje się, że matriks komórek HeLa posiada zanieczyszczenia niemi chromatynowymi.

Porównanie elektroferogramów białek matriks izolowanych z jąder komórek HeLa z kolejnych faz cyklu mitotycznego (wczesna faza G_1 , środkowa S i późna $S(G_2)$) i analogicznych białek pochodzących z komórek o niesynchronizowanym podziale komórkowym wykazuje wiele zbieżności między nimi, chociaż obserwuje się różną zdolność barwienia polipeptydów o masach cząsteczkowych od 45 000 do 75 000 daltonów. Poli-

peptydy o masie cząsteczkowej 49 000, 53 000 i 57 000 z matriks jądrowej komórek HeLa pozostających w fazie S posiadają wysokie powinowactwo do barwnika. Sprawa różnego stopnia wiązania barwnika z różnymi polipeptydami matriks pozostaje niejasna. Trudno jest ustalić, czy wynika ona z rzeczywistego zmniejszenia zawartości pewnych polipeptydów czy zmian w funkcjonalnych grupach składników z nimi zasocjowanych.

Na szczególną uwagę zasługują obserwacje, że infekcja komórek HeLa adenowirusem typu 2 powoduje zauważalne zmiany w białkach matriks jądrowej tych komórek. Wyniki elektroforezy w żelu poliakrylamidowym z SDS pozwalają zaobserwować w białkach matriks z komórek po infekcji adenowirusem (po 22 godzinach) dodatkowe polipeptydy o masie cząsteczkowej 21 000, 23 000 i 92 000 daltonów w porównaniu z analogicznymi białkami komórek kontrolnych. Rozdział elektroforetyczny w tych samych warunkach białek oczyszczonego wirionu ujawnił w nich obecność identycznego polipeptydu o masie 21 000 daltonów. Z kolei, polipeptydy o masie 23 000 i 92 000 wędrują w żelu z szybkością zbliżoną do wirusowego peptydu p-VII (prekursora białkowego rdzenia wirionu) oraz białka 100K. Hođge i wsp. (16) wysuwają śmiałą sugestię, że może właśnie te dodatkowe peptydy asocjują z adenowirusem w momencie inicjacji infekcji. Na uwagę zasługuje fakt, że dodatkowe frakcje białkowe



Ryc. 3. Fosforylacja całkowitych białek jądrowych (N) i białek matriks jądrowej (M) wątroby prawidłowej i regenerującej. Jądra komórkowe odpowiadające 60 mg całości białek jądrowych były inkubowane z γ - ^{32}P -ATP (50 μCi) w 37°C przez 15 minut w mieszaninie zawierającej 3×10^8 M γ - ^{32}P -ATP, 5 mM MgCl_2 , 115 mM NaCl , 30 mM Tris-HCl (pH 7,4). Po inkubacji jądra przemyto i izolowano matriks według metody Berezney'a i Coffey'a (11, 19).

matriks komórek HeLa atakowanych przez wirion są typowe tylko dla tej struktury i nie występują ani w cytoplazmie ani w nukleoplazmie.

Białka matriks jądrowej ulegają intensywnej fosforylacji przez ATP *in vitro* (19). Porównanie stopnia fosforylacji całości białek jądrowych i białek matriks jądrowej wyizolowanych z wątroby szczura prawidłowej i regenerującej (12 godz. po częściowej hepatektomii) prowadzi do stwierdzenia, że fosforylacja białek jądrowych w regenerującej wątrobie jest 2—3 razy wyższa niż w tkance prawidłowej. Z kolei, proces włączania [³²P]ATP w białka matriks regenerującej wątroby jest również ponad 3-krotnie intensywniejszy niż w analogiczne białka tkanki kontrolnej (Ryc. 3). Analiza elektroforetyczna ufosforylowanych *in vitro* białek matriks pozwoliła na zlokalizowanie radioaktywności w polipeptydach o wysokiej masie cząsteczkowej.

Biosyntezę białek matriks w komórkach HeLa będących w różnych fazach cyklu mitotycznego szacowano mierząc włączanie [³H]-aminokwasów. Intensywność włączania w peptydy matriks utrzymywała się praktycznie na stałym poziomie podczas fazy G₁ i wczesnej S, natomiast ulegała zmniejszeniu w środkowej i późnej fazie S oraz G₂ (16).

III. Biologiczna rola matriks jądrowej

Funkcje matriks jądrowej pozostają sprawą dyskusyjną; nie ulega wątpliwości, że jako białkowy zrąb utrzymuje ona wewnętrzną architekturę (11, 12, 14); może też uczestniczyć w utrzymaniu chromosomów komórek interfazowych w określonym położeniu (22). Godnym podkreślenia wydaje się fakt, że niezależnie od metody izolowania tej podstruktury jądrowej i rodzaju tkanki, z której pochodzi, zawiera pewne, niewielkie ilości DNA („resztkowego DNA”), który pozostaje niewrażliwy na trawienie nukleolityczne. Wydaje się wysoce prawdopodobne, że ten DNA wchodzi w specyficzną interakcję z białkami niehistonowymi matriks, które być może spełniają rolę ochronną, osłaniając go przed atakiem enzymatycznym. Właśnie w tym DNA mogą znajdować się miejsca inicjacji procesu replikacji.

Należy tu przytoczyć wyniki ciekawych prac (21) nad tempem i lokalizacją nowosyntetyzującego się DNA w jądrach komórkowych regenerującej wątroby szczura — bardzo dogodnego modelu do badania procesu syntezy DNA. W 16 godzin po częściowej hepatektomii obserwuje się narastanie intensywności syntezy DNA osiągającej maksimum po 24 godzinach. Berezney i Coffey (21) obserwowali rozmieszczenie [³H]-tymidyny w DNA jądrowym, DNA luźno związanym z jądrami (oddysocjującym z kompleksu DNP w wyniku obniżenia w środowisku stężenia MgCl₂ z 5 mM do 0,2 mM) oraz w DNA matriks jądrowej wątroby po 20, 24 i 30 godzinach od częściowej hepatektomii. Okazało się, że ponad

90% izotopu lokuje się w DNA matriks już w pierwszej minucie po jednorazowym wstrzyknięciu [^3H]-tymidyny (200 μCi /zwierzę). W ciągu pierwszych 10 minut po wstrzyknięciu izotopu specyficzna aktywność DNA matriks pozostaje znacznie wyższa niż całkowitego jądrowego DNA oraz frakcji DNA luźno związanej, ale później ilość włączonego znacznika spada w czasie w DNA matriks na korzyść pozostałego DNA. Z danych B e r e z n e y' a i C o f f e y' a (21) wynika, że znaczna część nowosyntetyzującego się DNA tuż po replikacji jest zasocjowana z matriks jądrową. W czasie pierwszych 10 minut najwyższą specyficzną aktywność wykazuje resztkowy DNA matriks, czyli frakcja DNA, która pozostaje w tej strukturze po ataku enzymów nukleolitycznych. W tym samym okresie odsetek piętna izotopowego w DNA matriks zmniejsza się, chociaż specyficzna aktywność DNA matriks wciąż wzrasta. Wyniki te sugerują transport znakowanego DNA matriks do innych frakcji jądrowego DNA.

Z badań nad fosforylacją białek matriks jądrowej regenerującej wątroby (19) można wnioskować, że maksymalna fosforylacja odbywa się w 12 godzin po hepatektomii. Być może, ta postsyntetyczna modyfikacja białek matriks, w głównej mierze białek niehistonowych, poprzedzająca replikację DNA jest istotna w regulacji tego procesu.

Od kilku lat sugerowano możliwy udział siateczki wewnątrzjądrowej, nie będącej materiałem chromatynowym, w transporcie jądrowego RNA. W świetle najnowszych badań G h o s h a i wsp. (14), którzy na drodze cytologicznej obserwowali krótkotrwałe, delikatne barwienie preparatów matriks błękitem toluidynowym, wydaje się możliwe, że jąderkowe ziarnistości RNP o średnicy 150 Å (nie będące jednakże składnikami matriks) są na krótko związane z matriks w czasie ich transportu z jąderek do cytoplazmy. Tę sugestię popiera ujemny wynik barwienia błękitem toluidynowym matriks z ziarnistościami RNP, wobec oporności na trawienie RN-azą samej siateczki matriks. Nie ulega kwestii fakt, że siateczka matriks jest odpowiedzialna za komunikację zewnętrznej, peryferyjnej strefy jądra komórkowego z jego wnętrzem.

Uwagi końcowe

Wewnątrzjądrowy szkielet białkowy określany mianem matriks wydaje się być niezwykle istotny w utrzymaniu ciągłości strukturalnej i kształtu jądra komórkowego, a także pewnych nadrzędnych funkcji regulatorowych w stosunku do syntezy kwasów nukleinowych, transportu RNA (14, 17, 18).

Interakcje białek niehistonowych matriks z kwasami nukleinowymi mogą być dalece specyficzne, a jednocześnie mogą odgrywać ochronny efekt w stosunku do miejsc inicjacji nowosyntetyzującego się DNA (16)

Zapewne nie bez znaczenia dla całokształtu funkcji jądra komórkowego pozostaje zjawisko intensywnej fosforylacji białek tej podstruktury jądrowej, przewyższające kilkakrotnie stopień włączania fosforu w białka jądrowe (19). Fosforylacja białek niehistonowych matriks może mieć związek z ich udziałem w regulacji syntezy DNA, a także w oddziaływaniach z pozostałymi składnikami tej struktury. Ufosforylowanie białek niehistonowych może przez częściową zmianę ich ładunku przekształcać je w „hollowniki” produktów jądra, np. jąderkowego RNP.

Obecność białek niehistonowych w matriks może odgrywać fundamentalną rolę w aktywności biologicznej jąder komórkowych, podobnie, jak ma to miejsce w przypadku chromatyny (23—27).

Artykuł otrzymano 24.6.1978; zaakceptowano 27.6.1978

PIŚMIENNICTWO

1. Mirsky A. E., Ris H., (1947), *J. Gen. Physiol.*, **31**, 7 (cyt. wg. 12).
2. Braun H., Ernst H., (1960), *Naturforsch* **15B**, 592 (cyt. wg. 12).
3. Georgiev G. P., (1958), *Biochimija* **23**, 700—706.
4. Zbarskij I. B., Georgiev G. P., (1959), *Biochim. Biophys. Acta* **32**, 301—302.
5. Georgiev G. P., Jermolajeva L. P., Zbarskij I. B., (1960), *Biochimija*, **25**, 318—322.
6. Zbarskij I. B., Georgiev G. P., (1959), *Biochimija* **24**, 192—199.
7. Georgiev G. P., Chenstov J. S., (1962), *Exptl. Cell Res.*, **27**, 570—572.
8. Zbarskij I. B., Dmitrieva N. P., Jermolajeva L. P., (1962), *Exptl. Cell Res.*, **27**, 573—576.
9. Smetana K., Steele W. J., Busch H., (1963), *Exptl. Cell Res.*, **31**, 198—201.
10. Shankar Narayan K., Steele W. J., Smetana K., Busch H., (1967), *Exptl. Cell Res.*, **46**, 65—77.
11. Berezney R., Coffey D. S., (1974), *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **60**, 1410—1417.
12. Comings D. E., Okada T. A., (1976), *Exptl. Cell Res.*, **103**, 341—360.
13. Franke W. W., Scheer U., (1974), w *The Cell Nucleus*, red. Busch H., t. 1, str. 265, Academic Press, New York, London.
14. Ghosh S., Paweletz N., Ghosh I., (1978), *Exptl. Cell Res.*, **111**, 363—371.
15. Kaye J. S., McMaster-Kaye R. J., (1966), *J. Cell Biol.*, **31**, 159—165.
16. Hodge L. D., Mancini P., Davis F. M., Heywood P., (1977), *J. Cell Biol.*, **72**, 194—208.
17. Aaronson R. P., Blobel G., (1975), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 1007—1011.
18. Faiferman I., Pogo A. O., (1975), *Biochemistry*, **14**, 3808—3816.
19. Allen S. A., Berezney R., Coffey D. S., (1977), *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **75**, 111—116.
20. Herlan G., Wunderlich F., (1976), *Cytobiologie* **13**, 291—296.
21. Berezney R., Coffey D. S., (1975), *Science*, **189**, 291—293.
22. Ghosh S., Roy S., (1977), *Chromosoma*, **61**, 49 cyt. wg. 14.
23. Kiliańska Z., Kłyszajko-Stefanowicz L., (1973), *Post. Biochem.*, **19**, 533—558.

24. Stein G. S., Spelsberg T. C., Kleinsmith L. J., (1947), *Science*, **138**, 817—824.
25. Thompson J. A., Stein J. L., Kleinsmith L. J., Stein G., (1976), *Science* **194**, 428—431.
26. Kiliańska Z., Kłyszejko-Stefanowicz L., (1976), *Post. Biol. Kom.*, **3**, 31—50.
27. Rakowicz-Szulczyńska E. M., (1977), *Post. Biochem.*, **23**, 189—209.

GRAŻYNA PALAMARCZYK *)

Glikozylacje**) białek w układach eukariotycznych

Glycosylation of Proteins in Eukaryotic Systems

Spis treści

- I. Wstęp
- II. Typowe struktury glikoproteidowe
- III. Udział koenzymów lipidowych w glikozylacji białek
 - III-1. Biosynteza poliprenylo-dwufosfooligosacharydów
 - III-2. Glikozylotransferazy zależne od koenzymów lipidowych
 - III-3. Poliprenylo-dwufosfooligosacharydy jako substraty w glikozylacji białek
 - III-4. Rodzaje białek glikozylowanych przy udziale koenzymów lipidowych
 - III-5. Glikozylacja a biosynteza białka akceptorowego

Contents

- I. Introduction
- II. Typical glycoprotein structures
- III. The role of lipid coenzymes in protein glycosylation
 - III-1. Biosynthesis of polyprenyl-linked-oligosaccharides
 - III-2. Lipid dependent glycosyl transferases
 - III-3. Polyprenyl-linked-oligosaccharides as sugar donors in protein glycosylation
 - III-4. Glycoproteins with carbohydrate unit derived from oligosaccharide-lipids
 - III-5. Glycosylation and synthesis of protein acceptor.

I. Wstęp

Glikoproteidy są związkami występującymi powszechnie w organizmach pro- i eukariotycznych, pełniącymi różnorodne funkcje biologiczne. Większość białek sekrecyjnych takich jak np. immunoglobuliny czy hor-

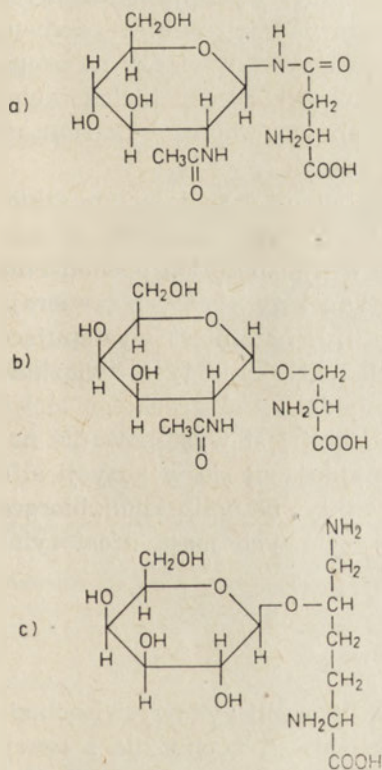
*) Dr, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

**) Terminem glikozylacje (ang. *glycosylation*) określa się przyłączenie reszt cukrowych do odpowiedniego akceptora, tutaj białka lub lipidu.

Wykaz stosowanych skrótów: GDP-Man — GDP-mannoza; UDP-GlcNAc — UDP-N-acetyloglukozamina; UDP-Glu — UDP-glukoza; Dol-P — dolichylofosforan.

(np. w fetuinie, Schemat 1). Może też składać się tylko z reszt mannozy i N-acetyloglukozaminy (jednostka A tyreoglobuliny). Struktura części rdzeniowej oligosacharydu jest w obu przypadkach taka sama tzn. zawiera dwie reszty N-acetyloglukozaminy połączone wiązaniem N-glikozydowym z grupą amidową asparaginy w białku oraz reszty mannozy, których ilość jest różna w zależności od rodzaju glikoproteidu.

Inną grupę stanowią glikoproteidy, w których część glikozylowa połączona jest z białkiem poprzez grupy hydroksylowe seryny, treoniny lub hydroksylizyny, wiązaniem O-glikozydowym. Wiązania te charakteryzują się różną wrażliwością na działanie słabych zasad. Połączenie N-acetylogalaktozaminy i ksylozy z grupami OH seryny i treoniny ulega rozbięciu w warunkach łagodnej hydrolizy alkalicznej przeciwnie niż wiązanie galaktozy z hydroksylizyną typowe np. dla kolagenu. Struktura wiązań N- i O-glikozydowych została przedstawiona na schemacie 2 (3).



Schemat 2. Główne rodzaje wiązań glikopeptydowych (3).

- a) N-glikozydowe wiązanie glikozyloaminy z asparaginą
- b) O-glikozydowe wiązanie z seryną (lub treoniną)
- c) O-glikozydowe wiązanie z hydroksylizyną

Glikozylacja białek prowadząca do wytworzenia wiązania O-glikozydowego zachodzi poprzez przeniesienie pojedynczej reszty glikozylowej z odpowiedniego nukleozydodwufosfocukru na akceptor białkowy a następnie kolejne przyłączenie pozostałych reszt cukrowych. Reakcja jest katalizowana przez glikozylotransferazy, specyficzne zarówno w stosunku do substratu jak i do akceptora. Glikozylacja rozpoczyna się w momencie

kiedy akceptor białkowy jest wciąż jeszcze połączony z rybosomami (2). Powstawanie wiązania N-glikozydowego jest procesem bardziej złożonym przebiegającym przy udziale związków pośrednich o charakterze lipidowym, które pełnią funkcję przENOŚNIKÓW reszt cukrowych w transglikozylacji.

III. Udział koenzymów lipidowych w glikozylacji białek

Związkami lipidowymi biorącymi udział w przeniesieniu reszt glikozylowych z nukleozydodwufosfocukrów na akceptory białkowe są fosforany poliprenoli. Ich budowa i występowanie zostały omówione w artykułach opublikowanych poprzednio w *Postęпах Biochemii* (4, 5). Ostatni z nich (5) omawia również funkcję fosforanów poliprenoli, koncentrując się na ich działaniu jako akceptorów reszt glikozylowych, przenoszonych przez enzymatyczne preparaty błonowe z odpowiednich nukleozydodwufosfocukrów. Niniejszy artykuł przedstawia obecny stan wiedzy na temat udziału poliprenyldwufosfoligosacharydów w glikozylacji białek, katalizowanej przez układy enzymatyczne izolowane z komórek eukariontów oraz możliwe mechanizmy regulacji tych procesów.

Poliprenole są jednowodorotlenowymi alkoholami posiadającymi szkielet zbudowany z powtarzających się 5-cio węglowych jednostek izoprenowych, których liczba waha się od 5 do 24 w zależności od pochodzenia danego poliprenolu. Poliprenole izolowane z tkanek zwierzęcych zawierają zwykle 17—24 reszt izoprenolowych (C_{85} — C_{120}), natomiast występujące w komórkach drożdży 14—17 (C_{70} — C_{85}). Na określenie tych związków przyjęto zwyczajową nazwę „dolichole” pochodzącą od greckiego słowa *dolikos* (długi). Cechą charakterystyczną dolicholi jest występowanie nasyconego wiązania w reszcie izoprenowej znajdującej się w pozycji alfa w stosunku do grupy wodorotlenowej. Formy aktywne poliprenoli, biorące udział w reakcjach przeniesienia reszt glikozylowych mają ufosforylowaną grupę wodorotlenową.

III-1. Biosynteza poliprenyldwufosfoligosacharydów

Pierwsza informacja na temat biosyntezy oligosacharydowych pochodnych lipidowych i ich udziału w glikozylacji białek pochodziła z pracy Behrensa i Leloira (6) i dotyczyła transportu glukozy z UDP-glukozy do endogennych akceptorów lipidowych i białkowych. Wykazano, że reakcję tę katalizuje frakcja endoplazmatycznego retikulum izolowana z komórek wątroby szczura. W pierwszym etapie powstaje glukozylofosfopoliprenol, który służy jako donor reszty glikozylowej w reakcji biosyntezy oligosacharydofosfolipidu i endogennych glikoproteidów. Wykazano, że część oligosacharydowa glikozylowanego lipidu zawiera około 20

reszt cukrowych połączonych wiązaniem pyrofosforanowym z częścią lipidową. Nie przeprowadzono jednak wówczas identyfikacji białek akceptorowych. Wkrótce potem Lennarz i wsp. (7) opisali biosyntezę glikozylowanego lipidu zawierającego mannozę. Wykazano, że część oligosacharydowa tego lipidu zawierała 7—9 reszt glikozylowych, a mannoza znajdowała się na nieredukującym końcu łańcucha glikozylowego.

Użycie specyficznych glikozydaz pozwoliło na określenie struktury części sacharydowej jako $(\text{Man})_n\text{-}\alpha\text{Man}(1\text{-}4)\beta\text{GlcNAc-(1-4)GlcNAc}$ (8). Struktura ta jest identyczna ze strukturą części rdzeniowej oligosacharydów związanych N-glikozydowo z resztą amidową asparaginy w białku (por. Schemat 1). Biosyntezę podobnych glikozylowanych lipidów opisano również w reakcjach katalizowanych przez mikrosomy komórek nowotworowych szpiku kostnego myszy (*mouse myeloma tumor*) (9) oraz wątroby świni (10). Otrzymane glikozylowane lipidy różniły się ilością reszt mannozyliowych na nieredukującym końcu łańcucha oligosacharydowego. Jednocześnie prowadzono badania nad włączaniem N-acetyloglukozaminy do glikozylowanych lipidów, a więc biosyntezą redukującego końca łańcucha glikozylowego. Biosyntezę lipidodwufosfo-2-acetylochitobiozy (2-acetylochitobioza-(GlcNAc)₂) przeprowadzono stosując enzymy pochodzące z róż-

Tabela 1

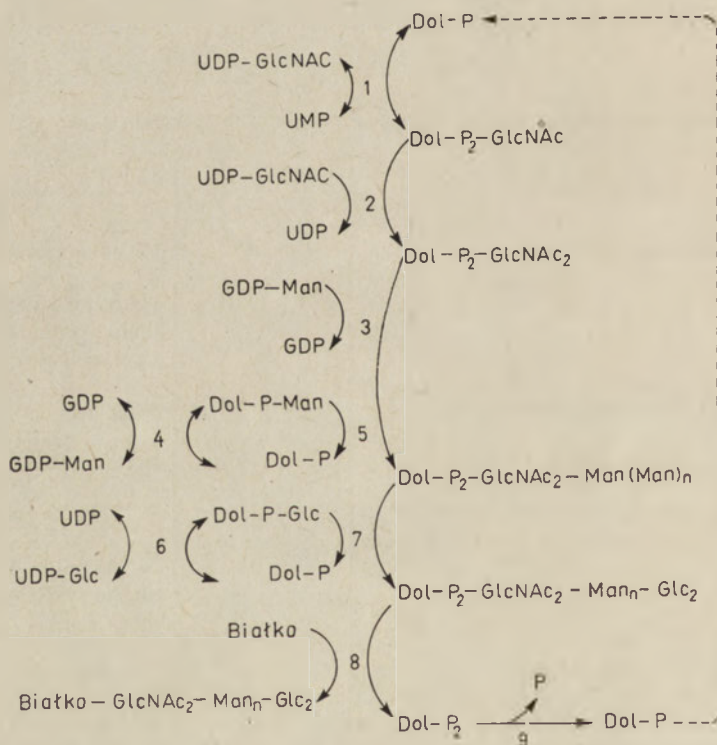
Glikozylowane lipidy otrzymane w reakcjach enzymatycznych *in vitro* (19)

| Reszta cukrowa | Ilość reszt glikozylowych | Źródło enzymu |
|--|---------------------------|---|
| Glukoza, heksozamina | 20 | Wątroba szczura |
| Glukoza | 20 | Mózg, nerka szczura, limfocyty ludzkie, tarczyca świni |
| Mannoza (5) N-acetyloglukozamina (2) | 7 | Szpik rdzenia kręgowego |
| Mannoza (5—7) N-acetyloglukozamina (2) | 7—9 | Jajowody kurze |
| Mannoza, N-acetyloglukozamina | 3—16 | Wątroba szczura |
| Mannoza | — | Szpik kostny wołu, ślinianka przyuszną szczura, mózg cielęcia |
| Mannoza (1) N-acetyloglukozamina (2) | 3 | Drożdże |
| Mannoza, N-acetyloglukozamina | 3—10 | Włókna bawełny |
| Mannoza, N-acetyloglukozamina | 5—15 | Aorta wołu |
| Ksyloza | 7—9 | Jajowody kurze |

Cyfry w nawiasach oznaczają liczbę poszczególnych reszt glikozylowych.

nych tkanek takich jak mikroosomy wątroby szczura (11) i świni (12), frakcje błon i ścian komórkowych z drożdży (13, 14, 15) oraz tkanki roślinne (16, 17, 18). Stosując jako źródło enzymu frakcję błon z różnych układów bezkomórkowych udało się otrzymać *in vitro* szereg glikozylo- wanych lipidów różniących się wielkością i składem części sacharydowej. Ich rodzaje przedstawiono w tabeli 1 (19).

Należy podkreślić, że do dzisiaj nie zidentyfikowano bezpośrednio składnika lipidowego w cząsteczce oligosacharydodwufosfolipidów. Istnieje natomiast szereg informacji pośrednich, opartych głównie na wynikach chromatografii cienkowarstwowej tych związków oraz ich wrażliwości na warunki hydrolizy kwaśnej i alkalicznej, wskazujących, że są to fosforany poliprenoli. We wszystkich oligosacharydowych pochodnych lipidowych powtarza się typowa struktura części sacharydowej β -Man(1-4)GlcNAc- β (1-4)GlcNAc charakterystyczna również dla struktury występującej w glikoproteidach zawierających N-glikozydowe wiązanie pomiędzy częścią sacharydową i białkową. Biosyntezie glikozylo wanych lipidów towarzyszy przeniesienie reszt glikozylowych na endogenne akceptory

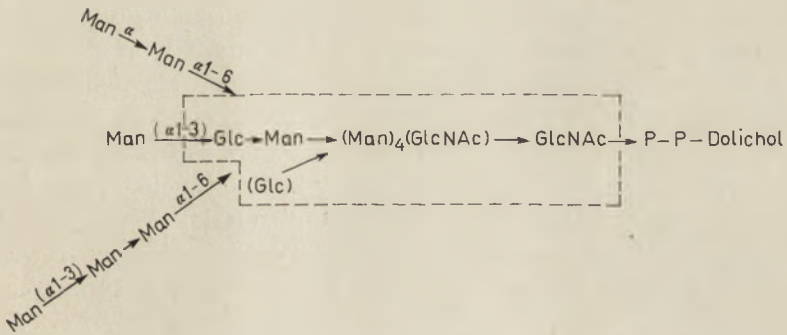


Schemat 3. Udział koenzymów lipidowych (Dol-P) w biosyntezie wiązań N-glikozydowych (20, 31).

Donorem reszt mannozylo wanych może być zarówno GDP-Man (reakcja 3, reszta mannozy sąsiadująca z GlcNAc), jak i Dol-P-Man (reakcja 5, pozostałe reszty mannozylo we)

białkowe. Postulowano więc, że przeniesienie reszt glikozylowych z nukleozydodwufosfocukrów na białko, któremu towarzyszy wytworzenie wiązania N-glikozydowego wymaga udziału koenzymów lipidowych. Jednakże dotyczy to jedynie rdzeniowej części oligosacharydu, gdyż przyłączenie zewnętrznych reszt glikozylowych do cząsteczki glikoproteidu zachodzi poprzez bezpośrednie przeniesienie cukrów z odpowiednich nukleozydodwufosfocukrów.

Na podstawie wyników reakcji katalizowanych przez mikrosomy z wątroby szczura zaproponowano (20) następujący przebieg glikozylacji (Schemat 3). Rozwój badań w tej dziedzinie w pełni potwierdził jego prawdziwość i wprowadził szereg nowych elementów. Spiro i wsp. stosując preparaty skrawkowe z różnych tkanek (21, 22, 23) stwierdzili, że dolichylodwufosfooligosacharyd powstający w wyniku reakcji 7 (Schemat 3) zwykle zawiera 11 reszt mannozyliwych i jedną lub dwie reszty glukozy. Obecność zewnętrznych reszt glukozyliwych chroni uformowany oligosacharyd przed aktywnością enzymów hydrolizujących (α -mannozydaz). Struktura części cukrowej tego glikozylowanego dolicholu została przedstawiona na schemacie 4.



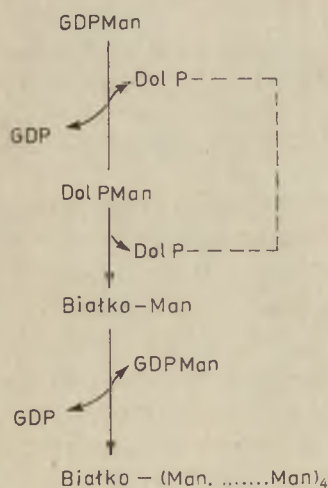
Schemat 4. Dolichylodwufosfooligosacharyd zawierający glukozę. Część oligosacharydu znajdująca się wewnątrz linii przerywanej jest niewrażliwa na działanie α -mannozydaz (23).

Inkubacja preparatów skrawków tarczycy z [^{14}C]znakowanymi cukrami oraz prekursorami dolichylofosforanu: [^{32}P]fosforanem i [^3H]kwasem mewalonowym wykazała, że część oligosacharydowa powstaje szybciej niż część lipidowa dolichylodwufosfooligosacharydu, co sugeruje cykliczny udział fosforanu dolicholu w reakcji.

Przebieg glikozylacji przedstawiony na schemacie 3 opracowano na podstawie wyników reakcji enzymatycznych charakterystycznych dla komórek zwierzęcych. Innym obiektem eukariotycznym szeroko badanym są komórki drożdży. W typowych glikoproteidach drożdży takich jak po-

limannan ścianowy, inwertaza i występująca w wakuolach karboksypeptydaza Y, część cukrowa jest związana z białkiem wiązaniem N-glikozydowym. Jest ona znacznie większa niż część białkowa, np. polimannan występujący w ścianie komórkowej drożdży jest glikoproteidem, w którym część białkowa stanowi jedynie 4—8% masy cząsteczkowej. Struktura części rdzeniowej polisacharydu jest taka sama jak w glikoproteidach zwierzęcych ((Man)_n(GlcNAc)₂-asparagina-białko). Ponadto polimannan zawiera część oligosacharydową związaną z białkiem wiązaniem O-glikozydowym (Man-O-seryna-(lub. treonina)-białko), składającą się z dwu- i tetrasacharydów mannozyliowych.

Drożdże są najlepiej jak dotąd poznanym obiektem, w którym zbadano szczegółowo udział lipidów w wytwarzaniu wiązania nie tylko N- lecz także O-glikozydowego. Glikozylacja endogennych i egzogennych lipidów przebiega w nich dwiema drogami. Reakcje prowadzące do wytworzenia dolichylodwufosfo(GlcNAc)₂-mannozy przebiegają jak to przedstawiono na schemacie 3 (reakcje 1, 2, 3, 4, 5). Pierwsze wyniki wskazywały, że powstający w tej reakcji dolichylodwufosfooligosacharyd nie zawierał więcej niż trzy reszty glikozyliowe (13, 14, 24, 25). Jednak zastosowanie odmiennych warunków reakcji, a szczególnie wyeliminowanie detergentów pozwoliło na biosyntezę glikozyliwanego lipidu o długości części sacharydowej zbliżonej do analogicznych związków izolowanych z wątroby (26, 27). Jednocześnie wykazano także, że biosynteza wiązania O-glikozydowego w cząsteczce polimannanu drożdży odbywa się poprzez przeniesienie pierwszej reszty mannozyliowej związanej z grupą hydroksylową seryny lub treoniny z dolichylofosfomannozy (28). Pozostałe reszty mannozyliowe przenoszone są na nieredukujący koniec łańcucha sacharydowego już bezpośrednio z nukleozydodwufosfocukru (GDP-Man). Udział koenzymów lipidowych w biosyntezie wiązania O-glikozydowego stwierdzono również w reakcjach katalizowanych przez preparaty enzymatyczne izo-



Schemat 5. Udział koenzymów lipidowych (Dol-P) w biosyntezie wiązania O-glikozydowego w drożdżach (28).

lowane z komórek *A. niger* (29) i *N. crassa* (30). Przepuszczalny przebieg reakcji przedstawia schemat 5.

III-2. Glikozylotransferazy zależne od koenzymów lipidowych

Glikozylacje lipidów i białek są katalizowane przez enzymy związane z frakcją błon komórkowych, stąd mała liczba danych na temat kinetyki tych reakcji. Dotychczas, jedynie Heifetz i Elbein (31) opisali solubilizację transferaz mannozy, przy użyciu nowego niejonowego detergentu Nonidet P-40^{*}). Oczyszili oni enzym z aorty katalizujący biosyntezę dolichyldwufosfooligosacharydu (reakcja 5, Schemat 3). Dalsze badania nad solubilizacją transferaz glikozylowych pozwolą zapewne na lepszą charakterystykę enzymów katalizujących reakcje przedstawione na schemacie 3 i 5.

Hemming i wsp. (32) stwierdzili, że preparaty enzymatyczne izolowane z komórek wątroby zawierają dwie glikozylotransferazy katalizujące reakcję 6 na schemacie 3. Aktywność jednej z nich była gwałtownie hamowana przez GDP-mannozę ($< 10^{-6}$ M) i inne nukleozyddwufosfocukry. Ponadto pula endogennego fosforanu dolicholu dostępna dla transferazy mannozy (reakcja 4, Schemat 3) była niedostępna dla transferazy glukozy (reakcja 6, Schemat 3). Na podstawie tych wyników autorzy wnioskują, że glikozylotransferazy katalizujące reakcje biosyntezy dolichylofosfomannozy (Schemat 3) i przeniesienie reszt mannozyloowych na oligosacharyddwufosfolipid oraz transferazy odpowiedzialne za biosyntezę dolichylofosfoglukozy i dolichyldwufosfooligosacharydu zawierającego glukozę (reakcje 6 i 7, Schemat 3) stanowią oddzielne kompleksy zawierające swój własny, ściśle związany koenzym lipidowy, fosforan dolicholu.

Większość wyników wskazuje, że enzymy katalizujące glikozylacje zachodzące przy udziale koenzymów lipidowych są zlokalizowane w błonach wewnątrzkomórkowych, w komórkach zwierzęcych głównie w błonach endoplazmatycznego retikulum. W drożdżach obserwowano glikozylacje zależne od koenzymów lipidowych, katalizowane przez frakcję błon mitochondrialnych (14) i jądrowych (33). Stwierdzono również, występowanie enzymów glikozylujących lipidy i białka na powierzchniach komórkowych, komórek wątroby izolowanych z zarodków kurzych (34, 35), komórek z jajowodów kurzych (35) oraz protoplastów drożdży (37).

Aktywność transferaz glikozylujących lipidy i białka jest zależna w sposób charakterystyczny od struktury koenzymów lipidowych. Biosynteza poliprenylofosfomannozy katalizowana przez preparaty endoplazmatycznego retikulum wątroby (38) i tarczycy (39) zachodziła równie

^{*}) p-t-oktylofenylopolioksyetylen_m, dla porównania Triton X-100 — p-t-oktylofenylopolioksyetylen $m = 9,7$

łatwo w obecności roślinnego fosforanu fikaprenyłu (fikaprenol, C_{45} — C_{65} , całkowicie nienasycony poliprenol) jak fosforanu dolichyłu (C_{85} — C_{105} , poliprenol z nasyconą resztą izoprenową α). Jednakże tylko glikozylowane dolichole wykorzystywano jako substraty w reakcjach biosyntezy oligosacharydodwufosfodolicholu i glikoproteidów. Opracowana przez Chojnackiego i wsp. (40, 41) metoda izolacji pojedynczych poliprenoli pozwoliła na dokładne zbadanie zależności aktywności glikozylotransferaz od struktury ich koenzymów lipidowych. Wykazano, że poziom biosyntezy prenylofosfomannozy (-glukozy) i N-acetyloglukozaminy w obecności egzogennych fosforanów poliprenoli nie zależał od długości koenzymu lipidowego w zakresie C_{45} — C_{95} , obserwowano natomiast zwiększoną aktywność glikozylotransferaz gdy w reszcie izoprenowej występowało nasycone wiązanie w pozycji α w stosunku do reszty fosforanowej (42, 43). W tym miejscu należy przypomnieć, że endogenne poliprenole występujące w komórkach zwierzęcych i drożdżowych w przeciwieństwie do występujących u bakterii i roślin mają nasycone wiązanie w reszcie izoprenowej w pozycji α . Zależność poziomu glikozylacji od struktury koenzymów lipidowych została zbadana systematycznie w reakcjach katalizowanych przez błony komórkowe drożdży (25). Przeprowadzono biosyntezę prenylofosfomannozy i prenylodwufosfo-N-acetyloglukozaminy oraz zbadano reakcję przeniesienia reszty mannozylowej na białko z wytworzeniem wiązania O-glikozydowego, jak również reakcję wydłużania prenylodwufosfo-N-acetyloglukozaminy i przeniesienia oligosacharydu na endogenne akceptory białkowe. Stwierdzono, że biosynteza prenylofosfomannozy zachodziła w obecności wszystkich stosowanych, α -nasyconych i α -nienasyconych poliprenoli (o długości cząsteczki C_{20} — C_{95}) i była jedynie dwukrotnie aktywniejsza wobec egzogennych koenzymów lipidowych zawierających nasyconą resztę izoprenową w cząsteczce. Biosynteza prenylodwufosfo-N-acetyloglukozaminy natomiast zachodziła wyłącznie w obecności fosforanów poliprenoli z nasyconą resztą α . Istotną była również konfiguracja pozostałych w cząsteczce wiązań podwójnych. α -Nasycony, C_{45} poliprenylofosforan posiadający wszystkie podwójne wiązania o konfiguracji E (*trans*) nie był akceptorem N-acetyloglukozaminy. Pozostałe stosowane fosforany poliprenoli zawierały jedynie 3 wewnętrzcząsteczkowe wiązania podwójne w konfiguracji E (*trans*). Wydaje się prawdopodobne, że do funkcjonowania fosforanu poliprenolu jako koenzymu niezbędne jest nie tylko występowanie nasyconego wiązania w reszcie izoprenowej α lecz także sąsiadujące z nim wiązanie podwójne o konfiguracji Z (*cis*).

Biosynteza prenylodwufosfo-N-acetyloglukozaminy, podobnie jak biosynteza prenylofosfomannozy, była niezależnie od długości cząsteczki fosforanu poliprenolu. Stwierdzono również, że jedynie te glikozylowane fosforany poliprenoli, których część lipidowa przypomina endogenne dolichole drożdżowe pod względem konfiguracji wiązań podwójnych są wy-

korzystywane do glikozylacji endogennych białek drożdżowych, z wytworzeniem wiązania zarówno O- jak i N-glikozydowego. Wydaje się interesujące, że *in vitro* w układach bezkomórkowych w żadnym przypadku nie stwierdzono wpływu wielkości cząsteczki koenzymu lipidowego na przebieg glikozylacji. Być może jednak *in vivo* wielkość cząsteczki koenzymu lipidowego ma znaczenie w wytwarzaniu odpowiednio hydrofobowego środowiska, koniecznego do przeniesienia reszt glikozylowych z nukleozydodwufosfolipidów na akceptory białkowe.

III-3. Poliprenyldwufosfoligosacharydy jako substraty w glikozylacji białek

Pierwszy bezpośredni dowód udziału glikozylowanych poliprenoli w formowaniu części cukrowej w cząsteczce glikoproteidu przedstawili Parodi i wsp. (44). Inkubując mikrosomy wątroby szczura z [¹⁴C]glikozyloligosacharydodwufosfolipidem obserwowano przeniesienie [¹⁴C]glukozy na endogenne akceptory białkowe. Dla potwierdzenia prawdziwości reakcji 8 (na Schemacie 3) sprawdzono czy uformowany w połączeniu z koenzymem lipidowym oligosacharyd ulega w całości przeniesieniu na akceptor białkowy, czy też ma tu miejsce przenoszenie pojedynczych reszt sacharydowych. Stosując preparaty enzymatyczne z jajowodów kurzych otrzymano glikozylowany lipid, zawierający [¹⁴C]mannozę i [³H]N-acetyloglukozaminę i stwierdzono przeniesienie obu reszt glikozylowych do białek przy zachowaniu stałego stosunku piętna węgla do trytu (45). Donorem reszt glikozylowych może być też glikozylowany fosfolipid syntetyzowany np. przez mikrosomy z komórek nowotworowych szpiku kostnego myszy (9). W tym przypadku wykazano identyczność struktur oligosacharydowych połączonych zarówno z koenzymem lipidowym jak i z białkiem akceptorowym. Wynik ten podobnie jak poprzedni sugeruje, że oligosacharyd uformowany w połączeniu z koenzymem lipidowym jest przenoszony w całości na akceptor białkowy. Podobnego typu eksperymenty przeprowadzono stosując inne układy enzymatyczne i potwierdzono w ogólnych zarysach prawdziwość przyjętych wcześniej koncepcji. W ostatnim okresie ukazało się jednak kilka prac, których wyniki rozszerzają nieco obraz przebiegu glikozylacji przedstawiony na schemacie 3. W trakcie glikozylacji endogennych białek drożdżowych zaobserwowano mianowicie przeniesienie z koenzymu lipidowego na akceptor białkowy zarówno dwóch reszt GlcNAc jak i trójsacharydów (GlcNAc)₂-Man (15, 25). Podobnie stosując mikrosomy z jajowodów kurzych wykazano, że dolichyldwufosfo-N-acetylochitobioza była donorem 2 reszt glikozylowych dla endogennego akceptora białkowego o ciężarze cząsteczkowym 25 000 (46). Te preparaty enzymatyczne katalizowały również biosyntezę dolichyldwufosfo-(GlcNAc)₂Man₃₋₇, z którego część sacharydowa ulegała w całości przeniesieniu na akceptor białkowy. Nie stwierdzono zaś nigdy przeniesienia pojedynczej reszty N-acetyloglukozaminy z koenzymu lipi-

dowego na białko. Zatem dwie reszty N-acetyloglukozaminy mogą być przenoszone z dolichylofosforanu na białko bądź bezpośrednio, bądź też po wydłużeniu do oligosacharydodwufosfodolichylu, w którym część sacharydowa może zawierać od kilku do kilkunastu reszt glikozylowych. Ponadto przeniesienie reszt N-acetyloglukozaminy na akceptor białkowy wyklucza dalsze wydłużenie łańcucha cukrowego, które jest możliwe jedynie w połączeniu z koenzymem lipidowym (46). Dotyczy to jednakże tylko tych reszt cukrowych, które tworzą część rdzeniową glikoproteidów.

Dotychczas brak danych tłumaczących otrzymane rezultaty. Opisane reakcje przeprowadzono *in vitro* w obecności detergentów. Można sobie wyobrazić, że struktura koenzymów lipidowych, stwarzających odpowiednie warunki do zajścia reakcji może tu odgrywać pewną rolę. Wyeliminowanie detergentów powinno zbliżyć autorów do możliwości odtworzenia w układach bezkomórkowych reakcji bardziej podobnych do zachodzących w komórce. Wniosek ten potwierdzają opisane ostatnio wyniki glikozylacji endogennych lipidów i białek w drożdżach. Po wyeliminowaniu z układów enzymatycznych detergentów udało się otrzymać prenylodwufosfooligosacharydy zawierające do 20 reszt cukrowych, które są w całości przenoszone na akceptory białkowe (27). Jednocześnie wyniki glikozylacji białek otoczki wirusów wskazują, że jedynie te glikozylowane lipidy, które zawierają kilkanaście reszt cukrowych są substratami w glikozylacji białek.

III-4. Rodzaje białek glikozylowanych przy udziale koenzymów lipidowych

Na początku lat siedemdziesiątych wysunięto sugestię, że koenzymy lipidowe są niezbędne w glikozylacji białek w reakcjach powstawania wiązania N-glikozydowego. Analiza sekwencji aminokwasów przy tym wiązaniu wykazała obecność struktury AspNH₂-X-Ser(Thr) gdzie X oznacza dowolny aminokwas. Jest to sekwencja konieczna do powstawania wiązania N-glikozydowego lecz najpewniej niewystarczająca, stwierdzono bowiem szereg białek posiadających w cząsteczce miejsca wymagane do zajścia glikozylacji, ale nie będących glikoproteidami (47, 48). Nie można jednak wykluczyć możliwości, że białka te uległy wtórnej deglikozylacji.

Dane, przedstawione w poprzednich rozdziałach artykułu, wskazują mniej lub bardziej bezpośrednio na udział glikozylolipidów w glikozylacji białek. Znalezienie antybiotyku tunikamycyny (49) umożliwiło potwierdzenie bezpośrednie tego zjawiska. Tunikamycyna *) hamuje glikozylację białek w układach enzymatycznych zwierzęcych (50) i mikroorganizmów (51, 52, 53). Traktowanie protoplastów drożdży tunikamycyną hamowało powstawanie takich glikoproteidów jak inwertaza, fosfataza kwaśna czy

*) Antybiotyk produkowany przez *Streptomyces lysosuperficus* o niezidentyfikowanej strukturze, wiadomo jedynie, że zawiera glukozaminę i składnik lipidowy.

polimannan ścianowy. Późniejsze badania wykonane w różnych laboratoriach wykazały, że efekt ten wynikał z zahamowania przez tunikamycynę biosyntezy prenyldwufosfo-N-acetyloglukozaminy (reakcja 1 na Schemacie 3) (54, 55).

Badając biosyntezę prenyldwufosfo-N-acetyloglukozaminy w obecności mikrosomów trzustki cielęcej stwierdzono, że tę reakcję hamuje także inny antybiotyk bacytracyna (56). Jest to odmienne niż w układach prokariotycznych działanie gdzie bacytracyna hamuje biosyntezę ścianowego peptydoglikanu, poprzez inhibicję defosforylacji pyrofosfundeakaprenylu biorącego udział w tej reakcji.

Tabela 2

Glikoproteidy zawierające część cukrową pochodzącą z glikozylowanych lipidów (57)

| Glikoproteid | Źródło | Rodzaj białka |
|-------------------------------------|--|---------------|
| | Wirus Sindbis (otoczka wirusa) | Błonowe |
| | Wirus Semliki Forest (otoczka wirusa) | Błonowe |
| | Wirus mięśniaka kurcząt (otoczka wirusa) | Błonowe |
| Polimannan | Drożdże | Sekrecyjne |
| Inwertaza | Drożdże | Sekrecyjne |
| Fosfataza kwaśna | Drożdże | Sekrecyjne |
| Karboksypeptydaza Y | Drożdże | Wakuolarne |
| Proteinaza A | Drożdże | Wakuolarne |
| Owoalbumina | Jajowody kurze | Sekrecyjne |
| Prokolagen | Fibroblasty ścięgna kurcząt | Sekrecyjne |
| Glikoproteidy mózgu | Mózg cielęcia, substancja biała | Błonowe |
| Immunoglobulina (łańcuch κ) | Szpik rdzenia kręgowego myszy | Sekrecyjne |
| α -laktoalbumina | Mleko krowie | Sekrecyjne |
| Rybonukleaza A | Trzustka wołu | Sekrecyjne |

Jak widać z tabeli 2 (57) glikozylowane lipidy są substratami w glikozylacji różnego rodzaju białek takich jak typowe białka sekrecyjne (część białkowa mannanu, immunoglobuliny) oraz białek błonowych błon komórkowych i otoczki wirusów. Niektóre enzymy o strukturze glikoproteidowej są również glikozylowane przy udziale koenzymów lipidowych. Stosując egzogenne akceptory białkowe wykazano, że preparaty enzymatyczne izolowane z jajowodów kurzych katalizują przeniesienie reszty oligosacharydowej z glikozylowanego lipidu na zdenaturowane formy białek sekrecyjnych takich jak owoalbumina, α -laktoalbumina i rybonukleaza A z trzustki wołu (58). Białka te ulegały glikozylacji jedynie po sulfitolizie wiązań dwusiarczkowych, połączonej z ich modyfikacją do reszt tiosiarczynowych. Wynik ten sugeruje, że w natywnym białku reszty aminokwasowe ulegające glikozylacji nie są dostępne dla enzymów glikozylujących.

III-5. Glikozylacja a biosynteza białka akceptorowego

Z wczesnych prac Spiro i wsp. (59) wiadome było, że biosynteza części białkowej glikoproteidów jest niezależna od biosyntezy ich komponenty sacharydowej. Wniosek ten oparto na wynikach badań wpływu puromycyny na biosyntezę glikoproteidów sekrecyjnych produkowanych przez gruczoł tarczycy. Puromycyna hamuje również biosyntezę białek nierozpuszczalnych i jak dzisiaj wiadomo — blokuje *turnover* dolichyldwufosfoligosacharydu. Jednakże nie towarzyszy temu akumulowanie się glikozylodwufosfodolichylu, a to sugeruje, że ilość endogennego dolicholu jest czynnikiem limitującym przebieg glikozylacji. Puromycyna, jak wiadomo, hamuje biosyntezę białka, uwalniając kompleks polipeptyd-tRNA z rybosomów. Działanie antybiotyku można przedstawić schematycznie:

Polipeptyd-tRNA + puromycyna \rightarrow polipeptyd—puromycyna + tRNA.

Kompleks puromycyna—polipeptyd daje się łatwo oddzielić od kompleksu polipeptyd-tRNA-rybosomy. Inkubacja rybosomów z wątroby szczura traktowanego [14 C]N-acetyloglukozaminą i [3 H]puromycyną pozwoliła na uzyskanie podwójnie znakowanego kompleksu polipeptyd—puromycyna (60). Przyłączenie zatem pierwszej reszty glikozylowej (jednej lub dwóch reszt N-acetyloglukozaminy) do białka zachodzi w momencie, gdy akceptorowy polipeptyd jest jeszcze związany z rybosomami.

Podobne wyniki otrzymano badając glikozylację mannoproteidów drożdży (61). W wyniku inkubacji protoplastów drożdży z [14 C]mannozą stwierdzono włączanie piętna głównie do frakcji polisomów. Działanie puromycyną powodowało uwolnienie ok. 50% radioaktywności. Wynik ten potwierdza, że glikozylacja białka zachodzi we wczesnych etapach jego biosyntezy. Dodatkowych informacji na temat glikozylacji białek drożdżowych dostarczyły prace Elorzy i Sentandreu (62). Auto-

rzy ci badając wpływ cykloheksimidu na biosyntezę mannoproteidu drożdżowego stwierdzili gwałtowny spadek aktywności transferaz mannozylowych, w ciągu 10-ciu minut po dodaniu antybiotyku do hodowli komórek drożdży, co wskazuje na zahamowanie biosyntezy białka akceptorowego, stanowiącego część proteidową polimannanu. Podobnie jak w przypadku wpływu puromycyny zahamowaniu biosyntezy białka akceptorowego nie towarzyszy akumulacja prenylofosfomannozy będącej donorem reszty glikozylowej do tego białka. Jest to najpewniej wynikiem braku wolnej puli fosforanu poliprenolu, który mógłby powracać cyklicznie do reakcji (porównaj Schematy 3 i 5). Można więc przyjąć, że ilość endogennego koenzymu lipidowego jest czynnikiem limitującym przebieg glikozylacji.

Zastosowanie immunoprecypitacji pozwoliło na wykazanie, że tworzący się na rybosomach łańcuch peptydowy owoalbuminy zawiera dwie reszty N-acetyloglukozaminy oraz mannozę, a więc cukry charakterystyczne dla części korowej N-glikozydowo związanych z białkiem oligosacharydów (63). Wykorzystując efekt zależności ruchliwości elektroforetycznej w żelach poliakrylamidowych zawierających SDS od wielkości cząsteczki autorzy sugerowali, że włączenie mannozy do tworzącego się łańcucha peptydowego zachodzi w momencie prawie całkowitego zakończenia jego biosyntezy.

Interesujące wyniki na temat korelacji w czasie procesu biosyntezy łańcucha peptydowego i jego glikozylacji, przedstawiono na podstawie badań nad biosyntezą i glikozylacją glikoproteidu wchodzącego w skład otoczki wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) (64). Synteza części proteidowej i przyłączenie części cukrowej zachodzi na rybosomach połączonych z endoplazmatycznym retikulum zainfekowanej komórki. Następnie glikoproteid jest transportowany z endoplazmatycznego retikulum do błony plazmatycznej. Ostatecznie zostaje włączony do otoczki wirusa. Na podstawie wyników elektroforezy w żelach akrylamidowych z SDS potwierdzono, że do zajścia glikozylacji konieczna jest określona wielkość tworzącego się łańcucha peptydowego, taka aby reszta asparaginowa akceptorowego peptydu pojawiła się w świetle pęcherzyka endoplazmatycznego retikulum i stała się dostępna dla transferaz glikozylowych. Przedstawione wyniki wskazują, że wczesne etapy glikozylacji białka zachodzą w momencie jego biosyntezy na rybosomach oraz, że są możliwe po osiągnięciu określonej wielkości cząsteczki akceptora białkowego.

Wniosek pierwszy potwierdzają wspomniane wcześniej wyniki (58) glikozylacji zdenaturowanych form owoalbuminy, α -laktoalbuminy i rybonukleazy A. Białka te są akceptorami reszt glikozylowych w reakcji *in vitro*, jedynie po zniszczeniu ich natywnej konformacji w wyniku sulfitolizy. Oznacza to, że ulegające glikozylacji miejsca w łańcuchu peptydowym są dostępne dla transferaz glikozylowych jedynie przed ukształto-

waniem się trzecio- i czwartorzędowej konformacji białka akceptorowego.

Przedstawione w artykule wyniki oraz rezultaty otrzymane przez Paladego (65) pozwalają na zaproponowanie hipotezy dotyczącej przebiegu glikozylacji *in vivo* z uwzględnieniem udziału koenzymów lipidowych w tych reakcjach. Tworzący się na rybosomach połączonych z endoplazmatycznym retikulum polipeptyd jest akceptorem reszt glikozylowych preformowanych w połączeniu z koenzymem lipidowym. Część cukrowa przeniesiona zostaje z lipidu na syntetyzujący się łańcuch peptydowy dopiero po osiągnięciu przez białko akceptorowe określonej wielkości cząsteczki. Następnie częściowo glikozylowany polipeptyd ulega uwolnieniu do kanalików endoplazmatycznego retikulum i jest transportowany do aparatu Golgiego. Tam następuje dołączenie reszt glikozylowych stanowiących część zewnętrzną łańcucha cukrowego, które zachodzi przez przeniesienie reszt cukrowych z nukleozydodwufosfocukrów bez udziału koenzymów lipidowych. Ostatecznie pęcherzyki aparatu Golgiego ulegają fuzji z błonami komórkowymi, co prowadzi do powstawania nowych struktur glikoproteidowych w błonach lub, w przypadku glikoproteidów sekrecyjnych, do ich wydzielenia do przestrzeni pozakomórkowej. Białka rozpuszczalne pozostające w cytoplazmie powstają na rybosomach cytoplazmatycznych, nie są zatem dostępne dla enzymów glikozylujących związanych z błonami endoplazmatycznego retikulum. Być może dlatego białka cytoplazmatyczne niezwykle rzadko są glikoproteidami.

Zaproponowany przebieg glikozylacji *in vivo* jest zapewne uproszczonym obrazem procesów zachodzących w naturze. Powinien być rozumiany jako hipotetyczny. Jego potwierdzenie zależy od dalszego rozwoju badań w tej dziedzinie.

Podsumowując, w przypadku układów eukariotycznych udział glikozylowanych fosforanów poliprenoli w biosyntezie wiązania N-glikozydowego glikoproteidów wydaje się być dobrze udokumentowany. Rdzeniowa część komponenty oligosacharydowej jest syntetyzowana w połączeniu z koenzymem lipidowym i stamtąd przenoszona na akceptor białkowy.

Fosforany poliprenoli biorą również udział w biosyntezie wiązania O-glikozydowego pomiędzy resztą mannozylową, a częścią cukrową mannoproteidu drożdży. Reakcje te są katalizowane przez związane z błonami transferazy glikozylowe. Struktura ich lipidowych koenzymów ma istotne znaczenie dla przebiegu glikozylacji. Zewnętrzne reszty glikozylowe zostają przeniesione na cząsteczki glikoproteidów bezpośrednio z odpowiednich nukleozydodwufosfocukrów. Udział koenzymów lipidowych w glikozylacji białek stwarza nowe możliwości regulacji tych procesów w komórce.

Artykuł otrzymano 28.3.1978; po rewizji autorskiej przyjęto 10.6.1978

PIŚMIENNICTWO

1. Michalak M., Sarzaia G. M., (1977) *Post. Biochem.* **23**, 523—539.
2. Spiro R. G., Spiro M. J., Adamany A. M. (1974) *Biochem. Soc. Symp.* **40**, 37—55.
3. Spiro R. G., (1973) *Adv. Prot. Chem.* **27**, 349—467.
4. Turowska G., (1971) *Post. Biochem.* **17**, 483—495.
5. Gonta-Grabiec K., (1977) *Post. Biochem.* **23**, 61—80.
6. Behrens N. H., Leloir L. F. (1970) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **66**, 153—159.
7. Waechter C. J., Lucas J. J., Lennarz W. J., (1973) *J. Biol. Chem.* **248**, 7570—7579.
8. Chen W. W., Lennarz W. J., Tarentino A. L., Maley F. (1975) *J. Biol. Chem.* **250**, 7006—7013.
9. Hsu A-F., Baynes J. W., Heath E. C., (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **71**, 2391—2395.
10. Oliver G. J. A., Hemming F. W., (1975) *Biochem. J.* **152**, 191—199.
11. Leloir L. F., Staneloni R. J., Carminatti H., Behrens N. H., (1973) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **52**, 1285—1292.
12. Palamarczyk G., Harrison J., Hemming F. W. (1975) *Biochem. Soc. Trans.* **3**, 665—666.
13. Lehle L., Tanner W., (1975) *Biochim. Biophys. Acta* **399**, 364—374.
14. Palamarczyk G., (1976) *Acta Biochim. Polon.* **23**, 357—367.
15. Reuvers F., Habets-Willems, C., Reinking A., Boer P., (1977) *Biochim. Biophys. Acta* **486**, 541—552.
16. Forsee W. T., Valkovick G., Elbein A. D., (1976) *Arch. Biochem. Biophys.* **174**, 469—479.
17. Lehle L., Fartaczek F., Tanner W., Kauss H., (1976) *Arch. Biochem. Biophys.* **175**, 419—426.
18. Brett C. T., Leloir L. F., (1977) *Biochem. J.* **161**, 93—101.
19. Waechter C. J., Lennarz W. J., (1976) *Ann. Rev. Biochem.* **45**, 95—112.
20. Behrens N. H., (1974) w *Biology and Chemistry of Eucaryotic Cell Surfaces*, red. Loe E. Y. C., Smith E. E., str. 139—180, Academic Press, New York.
21. Spiro M. J., Spiro R. G., Bhoyros V. D., (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 6400—6408.
22. Spiro M. J., Spiro R. G., Bhoyros V. D., (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 6420—6425.
23. Spiro M. J., Spiro R. G., Bhoyros V. D., (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 6409—6419.
24. Nakayama K., Araki Y., Ito E., (1976) *FEBS Letters* **72**, 287—290.
25. Pless D. D., Palamarczyk G., (1978) *Biochim. Biophys. Acta* **529**, 21—26.
26. Parodi A., (1977) *Eur. J. Biochem.* **75**, 171—180.
27. Lehle L., Tanner W., (1978) *Biochim. Biophys. Acta* **539**, 218—229.
28. Sharma C. B., Babczinski P., Lehle L., Tanner W., (1974) *Eur. J. Biochem.* **46**, 35—41.
29. Letoublon R., Got R., (1974) *FEBS Letters* **46**, 214—217.
30. Gold M. M., Hahn H. J., (1976) *Biochemistry* **15**, 1808—1812.
31. Heifetz A., Elbein A. D., (1977) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **75**, 25—28.
32. Kerr A. K. A., Hemming F. W. (1978) *Eur. J. Biochem.* **83**, 581—586.
33. Palamarczyk G., Janczura E., (1977) *FEBS Letters* **77**, 169—172.
34. Arnold D. Hommel E., Risse H-J., (1976) *Mol. Cell. Biochem.* **11**, 137—147.
35. Patt L. M., Grimmes W. J., (1976) *Biochim. Biophys. Acta* **444**, 97—107.

36. Struck D. K., Lennarz W. J., (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 2511—2519.
37. Palamarczyk G., (1978), w opracowaniu.
38. Richards J. B., Hemming F. W. (1972) *Biochem. J.* **130**, 77—93.
39. Adamany A. M., Spiro R. G., (1975) *J. Biol. Chem.* **250**, 2842—2854.
40. Chojnacki T., Jankowski W., Mańkowski T., Sasak W., (1975) *Analyt. Biochem.* **69**, 114—119.
41. Mańkowski T., Jankowski W., Chojnacki T., Franke P., (1976) *Biochemistry* **15**, 2125—2130.
42. Mańkowski T., Sasak W., Chojnacki T., (1975) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **65**, 1292—1297.
43. Mańkowski T., Sasak W., Janczura E., Chojnacki T., (1977) *Arch. Biochem. Biophys.* **181**, 393—401.
44. Parodi A. J., Behrens N. H., Leloir L. F., Carminatti H., (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **69**, 3268—3272.
45. Lucas J. J., Waechter C. J., Lennarz W. J., (1975) *J. Biol. Chem.* **250**, 1992—2092.
46. Chen W. W., Lennarz W. J., (1978) *J. Biol. Chem.*, (w druku, udostępnione dzięki uprzejmości autorów).
47. Marshal R. D., (1974) *Biochem. Soc. Symp.* **40**, 17—26.
48. Hunt L. T., Dayhoff M. O., (1976) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **39**, 757—765.
49. Takatsuki A., Khono K., Tamura G., (1975) *Agric. Biol. Chem.* **39**, 2089—2091.
50. Takatsuki A., Arima K., Tamura G., (1971) *J. Antibiotics* **24**, 215—233.
51. Takatsuki A., Tamura G., (1971) *J. Antibiotics* **24**, 224—231.
52. Takatsuki A., Tamura G., (1971) *J. Antibiotics* **24**, 785—794.
53. Kuo S. C., Lampen J. O., (1974) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **58**, 287—295.
54. Tkacz J. S., Lampen J. O., (1975) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **65**, 248—256.
55. Lehle L., Tanner W., (1976) *FEBS Letters* **71**, 167—170.
56. Herscovics A., Bugge B., Jeanloz R. W., (1977) *FEBS Letters* **82**, 215—218.
57. Pless D. D. (1977) XV Zjazd P. T. Bioch., Gdańsk, Streszczenia, str. 34—35.
58. Pless D. O., Lennarz W., (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **74**, 134—138.
59. Spiro R. G., Spiro M. G., (1966) *J. Biol. Chem.* **241**, 1271—1280.
60. Molnar J. M., (1975) *Mol. Cell. Biochem.* **6**, 3—13.
61. Herrera R. J., Sentandreu R., (1975) *J. Bacteriol.* **124**, 127—133.
62. Elorza M. V., Sentandreu R., (1973) *Yeast, Mould and Plant Protoplasts*, red. Villanueva J. R., Garcia-Acha I., Gascon S., Uruburu F., str. 205—211, Academic Press, London, New York.
63. Kiely M. L., McKnight G. S., Shimke R. T., (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 5490—5495.
64. Rothman J. E., Lodish H. F., (1977) *Nature* **269**, 775—780.
65. Palade G., (1975) *Science* **189**, 347—358.

ANDRZEJ STANKIEWICZ *

Cynkoenzymy

Zinc-containing Enzymes

Spis treści

- I. Wstęp
- II. Właściwości niektórych cynkoenzymów
 - II-1. Dehydrogenaza alkoholowa
 - II-2. Polimerazy DNA i RNA
 - II-3. Fosfataza alkaliczna
 - II-4. Aminopeptydaza leucynowa
 - II-5. Karboksypeptydazy
 - II-6. Anhydraza węglanowa
 - II-7. Inne enzymy zawierające cynk
- III. Rola cynku w katalizie enzymatycznej
- IV. Uwagi końcowe

Contents

- I. Introduction
- II. Properties of some zinc-containing enzymes
 - II-1. Alcohol dehydrogenase
 - II-2. DNA and RNA polymerases
 - II-3. Alkaline phosphatase
 - II-4. Leucine aminopeptidase
 - II-5. Carboxypeptidases
 - II-6. Carbonic anhydrase
 - II-7. Other zinc-containing enzymes
- III. Role of zinc in enzymatic catalysis
- IV. Concluding remarks

I. Wstęp

W ustroju dorosłego człowieka znajduje się około 2 g cynku. Występuje on przede wszystkim jako związany z białkami enzymatycznymi (1). Z dostępnych danych wynika, że zadaniem cynku w cząsteczce enzymu

*) Dr, Zakład Biochemii, Instytut Biologii Medycznej, Akademia Medyczna, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk.

*) Autor uczestniczy w realizacji problemu MR II-15 01.02. koordynowanego przez Politechnikę Wrocławską.

może być: — udział w stabilizacji struktury przestrzennej enzymu, — bezpośredni udział w katalizie enzymatycznej, oraz — aktywacja enzymu, który w nieobecności metalu wykazuje znacznie niższą aktywność. W obu pierwszych przypadkach mówimy o metaloenzymach (Tabela 4), w trzecim zaś o kompleksie enzym:Me²⁺, rozumiejąc, że cynk stanowi element nietrwale związany z białkiem (Tabela 1). Różnicę pomiędzy

Tabela 1

Enzymy aktywowane przez cynk (2, 3, 93, 94, 95)

| Nazwa enzymu | Numer w klasyfikacji EC | Aktywujące metale |
|---|-------------------------|--|
| Aminotransferaza kinureniny | 2.6.1.7 | Zn |
| Lecytynaza | 3.1.1.4.5 | Zn, Cu, Mg, Co, Mn |
| Cellulaza | 3.2.1.4 | Zn |
| Mannozydaza | 3.2.1.24 | Zn |
| Dwupeptydaza glicylo-glicynowa | 3.4.3.1 | Zn |
| Dwupeptydaza glicylo-leucynowa | 3.4.3.2 | Zn, Mn |
| Karnoazydaza | 3.4.3.3 | Zn, Mn |
| Trójpeptydaza | 3.4.11.4 | Zn, Co |
| Alanylo- i leucylo-glicynowa dwupeptydaza | 3.4.11.13 | Zn, Pb, Cu, Mn, Sn, Cd |
| Acylaza peptydylowa | 3.5.1 | Zn |
| Dehydropeptydaza | 3.5.1.14 | Zn |
| Dwuhydroorotaza | 3.5.2.3 | Zn |
| Arginaza | 3.5.3.1 | Zn, Mn, Fe, Co, Ni, Cd |
| Dekarboksylaza szczawiooctanowa | 4.1.1.3 | Zn, Mn, Co, Cd, Pd, Ni, Fe, Mg, Ba, Cu |
| Aldolaza | 4.1.2.7.13 | Zn, Fe, Co |
| Enolaza | 4.2.1.11 | Zn, Mg, Mn |
| Dezaminaza histydyny | 4.3.1.3 | Zn, Hg, Cd |

kompleksem Zn:enzym, a cynkoenzymem uwydatniają różnice ich stałych dysocjacji; i tak stała dysocjacji kompleksu enolaza:cynk wynosi 2×10^5 , a stała dysocjacji karboksypeptydazy zawierającej trwale związany cynk wynosi $3,2 \times 10^{10}$ (2). Opracowane przez Valle (3, 4) kryteria pozwalają na odróżnienie enzymów zawierających metale (metaloenzymów) od kompleksów metal:enzym (Tabela 2).

W enzymach monomerycznych rola cynku ogranicza się do udziału w katalizie (karboksypeptydaza A), w białkach enzymatycznych o strukturze podjednostkowej oprócz funkcji katalitycznych cynk często bierze udział w stabilizacji struktury (dehydrogenaza alkoholowa) (5). Cynkoenzymy występują głównie w świecie zwierzęcym, natomiast metaloenzymy zawierające miedź i żelazo spotyka się przede wszystkim u roślin i bak-

Tabela 2

Charakterystyka metaloenzymów i kompleksów metal:enzym

| Metaloenzymy | Kompleksy metal:enzym |
|--|---|
| <p>Silne wiązanie metalu z białkiem np. energia wiązania cynku z fosfatazą alkaliczną wynosi 11 000 kal.</p> <p>Zawartość metalu wzrasta w preparacie enzymu w trakcie oczyszczania go aż do osiągnięcia stałej stechiometrii w preparacie jednorodnym</p> <p>Często można wykazać korelację między ilością związanych z enzymem atomów Me^{2+}, a liczbą związanych cząsteczek substratu lub koenzymu.</p> <p>Stosując dializę selektywną można odróżnić atomy metalu wiążące się z białkiem w sposób wybiórczy od wiążących się niespecyficznie.</p> <p>Zawartość metalu w cząsteczce białka i aktywność enzymatyczna są ze sobą skorelowane.</p> <p>Aktywność enzymatyczna nie ulega zazwyczaj podwyższeniu po dodaniu jonów Me^{2+} jeśli białko zawiera pełną liczbę atomów metali „strukturalnych”</p> | <p>Słabe wiązanie metalu z białkiem np. energia wiązania manganu z aminopeptydazą leucynową wynosi 6 000 kal.</p> <p>W czasie oczyszczania enzymu spada zawartość metalu w preparacie</p> <p>Nie można odróżnić jonów Me^{2+} wiążących się specyficznie i niespecyficznie.</p> <p>Nie można wykazać dokładnej zależności między ilością związanego przez białko metalu i aktywnością.</p> <p>Enzym jest najczęściej aktywowany przez dodanie różnych Me^{2+} w różnych stężeniach.</p> |

Tabela 3

Obecność metali dwuwartościowych w enzymach z różnych źródeł (6)

| Nazwa enzymu | Źródło enzymu | Metale w cząsteczce |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Aldolaza | drożdże | Zn |
| Karboksypeptydaza | mięsień szkieletowy | brak |
| | trzustka | Zn |
| | pestki pomarańczy | brak |
| Karboksylaza pirogronianowa | wątroba | Mn |
| | drożdże | Zn |
| Anhydraza węglanowa | erytrocyty człowieka i wołu | Zn |
| | pietruszka | Zn |
| | szpinak | brak |
| Dysmutaza nadtlenkowa | erytrocyty | Cu i Zn |
| | <i>E. coli</i> | Mn |
| | algi | Fe |

terii. Należy zauważyć, że enzymy katalizujące tę samą reakcję w tkankach zwierząt różnych gatunków mogą zawierać różne metale (Tabela 3). Liczba znanych cynkoenzymów sięga 80-ciu, przeważają wśród nich zdecydowanie enzymy zaliczane do oksydoreduktaz, transferaz i hydrolaz (Tabela 4).

Przykłady najbardziej znanych cynkoenzymów

| Nazwa enzymu | Numer w klasyfikacji EC | Źródło enzymu | Me ²⁺ /mol | m. cz. | Písmiennictwo |
|--|-------------------------|---------------------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------|
| Dehydrogenaza alkoholowa | 1.1.1.1 | drożdże wątroba konia | 4 Zn | 150 000 | 19 |
| Dehydrogenaza jablczanowa | 1.1.1.27 | wątroba człowieka serce wołu | 4 Zn 1 Zn | 84 000 85 000 72 000 | 96 97 98, 99 |
| Dehydrogenaza aldehydu 3-P-glicerynowego | 1.2.1.12 | mięsień świni | 2-3 Zn | 72 000 | 99 |
| Transkarbamylaza asparaginianowa | 2.1.3.2 | <i>E. coli</i> | 6 Zn | 310 000 | 84 |
| Polimeraza RNA I | 2.7.7.6 | drożdże | 2-4 Zn | 650 000 | 24 |
| Polimeraza RNA II | " | " | 1 Zn | 46 000 | 100 |
| Polimeraza DNA | 2.7.7.7 | <i>E. coli</i> | 2-4 Zn | 150 000 | 22 |
| Odwrotna transkryptaza | 2.7.7. | wirus białaczki ptaków | 2 Zn | 180 000 | 25, 26 |
| Fosfataza alkaliczna | 3.1.3.1 | <i>E. coli</i> | 4 Zn+1 Mg | 89 000 | 31 |
| Aminopeptydaza | 3.4.11.2 | nerka świni | 2 Zn | 280 000 | 79 |
| Karboksypeptydaza C | 3.4.12.1 | pestki cytryny | 5-7 Zn | 150 000 | 50 |
| Karboksypeptydaza A | 3.4.12.2 | trzuska wołu | 1 Zn | 34 500 | 52 |
| Karboksypeptydaza B | 3.4.12.3 | trzuska wołu | 1 Zn | 34 500 | 52, 58 |
| Dwupeptydaza | 3.4.13.11 | guz Ehrlicha-Lettre | 1 Zn | 85 000 | 81 |
| Obojętne proteazy | 3.4.24.4 | <i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> | 2 Zn | 35 000 | 78 |
| Aldolaza | 4.1.2.13 | nerka królika | 1 Zn | 87 000 | 79, 80 |
| Anhidraza węglanowa | 4.2.1.1 | <i>B. stearothermophilus</i> | 2 Zn | 61 000 | 88 |
| Dehydrataza δ-aminolewulinianowa | 4.2.1.24 | erytrocyty wołu | 1 Zn | 31 000 | 60 |
| Karboksylaza pirogronianowa | 6.4.1.1 | wątroba szczura drożdże | 1 Zn 3 Zn+1 Fe | 275 000 600 000 | 75 83 |

W cząsteczkach cynkoenzymów cynk szczególnie łatwo można zastąpić kobaltem. Wymiana taka, ze względu na właściwości fizykochemiczne kobaltu, umożliwia zastosowanie szeregu spektralnych metod w badaniach struktury centrum aktywnego i mechanizmu reakcji katalizowanych przez te enzymy (7, 8). Właściwości chemiczne cynku i kobaltu wskazują, że w przeciwieństwie do innych metali dwuwartościowych są one zdolne do wiązania się z cząsteczką białka w miejscach o małej symetrii przestrzennej, a takie właśnie miejsca odznaczają się szczególnie wysokim potencjałem katalitycznym (9). Poza kobaltem także inne metale dwuwartościowe mogą zastępować cynk w cząsteczkach enzymów dając trwałe i aktywne formy (Tabela 5).

Tabela 5

Możliwości wymiany cynku na inny metal bez zaniku aktywności enzymu (6,89)

| Nazwa enzymu | Źródło enzymu | Metal zastępujący cynk |
|--------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Dehydrogenaza alkoholowa | wątroba | Co, Cd |
| Aldolaza | drożdże | Co, Ni, Mn, Fe |
| Fosfataza alkaliczna | <i>E. coli</i> | Co |
| Dezaminaza AMP | mięsień królika | Co, Mn, Fe |
| Anhydraza węglanowa | erytrocyty wołu | Co |
| Karboksypeptydaza A | trzustka wołu | Co, Ni, Mn, Fe, Cd, Hg |
| Karboksypeptydaza B | trzustka świni | Co, Cd |
| Obojętna proteaza | <i>B. subtilis</i> | Co, Mn |
| Termolizyna | <i>B. thermoproteolyticus</i> | Co, Mn, Fe |

II. Właściwości niektórych cynkoenzymów

II-1. Dehydrogenaza alkoholowa

Enzym ten izolowano z różnych tkanek zwierząt i roślin, a w przypadku enzymów z drożdży oraz wątroby człowieka i konia stwierdzono bezpośrednio, że występuje w nich cynk (Tabela 4). Istnieją dane wskazujące, że również enzymy z wątroby szczura i *B. stearothermophilus* są cynkoenzymami (10). Badania z zastosowaniem promieni rentgenowskich pozwoliły na dość dokładne poznanie struktury centrum katalitycznego i regulacyjnego dehydrogenazy alkoholowej z wątroby konia i sposobu wiązania się w nich atomów cynku. Od dość dawna wiadomo również, że atomy cynku w cząsteczce dehydrogenazy alkoholowej mają różne znaczenie dla aktywności katalitycznej enzymu. Dwa z atomów cynku określane jako „katalityczne” wiążą się z Cys⁴⁶, His⁶⁷ i Cys¹⁷⁴, oraz z cząsteczką wody biorącą udział w katalizie i ich funkcja polega na przyłącza-

niu substratu. Druga para atomów cynku określana mianem „regulacyjnych” wiąże się z czterema cząsteczkami cysteiny 97, 100, 103, 111, a rola tych atomów polega prawdopodobnie na udziale w wiązaniu NADH_2 (11, 12). Wszystkie cztery atomy cynku w natywnym tetramerze można wymienić na ^{65}Zn podczas dializy wobec radioizotopu (10). Pod wpływem dializy wobec o-fenantroliny obserwuje się nie tylko całkowitą utratę aktywności katalitycznej enzymu z drożdży, lecz także jego dysocjację na cztery podjednostki o masie cząsteczkowej około 36 000 (13). Dwa z atomów cynku określane jako „katalityczne” dysocjują znacznie łatwiej niż pozostałe dwa określane jako „strukturalne” lub „regulacyjne” (14). Opanowano technikę wybiórczej wymiany atomów cynku z obu funkcjonalnie różnych grup na jony kobaltu (15—19). Po wymianie czterech atomów cynku na kobalt obserwuje się obniżenie aktywności właściwej enzymu o około 20% i czterokrotne obniżenie jego aktywności właściwej przy zastąpieniu cynku czterema atomami kadmu (17). Formy enzymu, w których atomy cynku zastąpiono kobaltem wybiórczo jedynie w miejscu katalitycznym, lub regulatorowym nie różnią się aktywnością właściwą od rodzimej dehydrogenazy alkoholowej (18, 19). Z powodzeniem dokonano wbudowania kobaltu do enzymu z drożdży hodując je na pożywce ubogiej w cynk i z nadmiarem kobaltu. Tak uzyskany enzym różnił się swoimi właściwościami zarówno od rodzimego zawierającego cynk, jak i od formy enzymu, w którym wymieniono cynk na kobalt *in vitro* dzięki zastosowaniu chelatorów (20). Z komórek drożdży hodowanych na pożywce o niskiej zawartości cynku udało się wyodrębnić dehydrogenazę alkoholową zawierającą 2 gramoatomy kobaltu na mol enzymu o m.c. 72 000 (enzym typu 4 Zn ma masę cząsteczkową 150 000) (21). Enzym ten odznaczał się znacznie zwiększoną wrażliwością na działanie znanego inhibitora dehydrogenazy alkoholowej — ADP-rybozy.

II-2. Polimerazy DNA i RNA

Znaczenie cynku dla prawidłowego przebiegu biosyntezy kwasów nukleinowych i białek jest znane od dawna. Od kilku natomiast lat wiadomo, że niektóre przynajmniej polimerazy DNA i RNA są cynkoenzymami (Tabela 4). Polimerazy DNA izolowane z *E. coli* i z jeżowca *Strongylocentrotus franciscanus* zawierają 2—4 gramoatomy cynku na mol enzymu (22). Cynk obecny w enzymach rodzimych można było wymienić na ^{65}Zn w czasie dializy wobec radioizotopu. Hodując *E. coli* na pożywce zawierającej radioizotop cynku stwierdzono, że wyhodowany szczep produkuje polimerazę zawierającą ^{65}Zn . Polimeraza DNA-I z *E. coli* zawiera oprócz jednego gramoatomu cynku na mol również 1 gramoatom żelaza (23). Interesujący jest przy tym fakt, że cynk daje się stosunkowo łatwo usunąć z cząsteczki enzymu dzięki działaniu chelatora, czemu towarzyszy zanik aktywności enzymatycznej; natomiast w tych warunkach żelazo

pozostaje nadal trwale związane z cząsteczką wolnego od cynku apoenzymu. Apoenzym po traktowaniu *o*-fenantroliną można reaktywować poprzez dodanie cynku (100% reaktywacji), kobaltu (80% reaktywacji), lub manganu (45% reaktywacji). Pierwszym preparatem polimerazy RNA zależnej od DNA izolowanym z komórek eukariontów zawierającym cynk był enzym drożdżowy (24, Tabela 4).

Wiele uwagi poświęca się ostatnio polimerazie DNA zależnej od RNA (tzw. odwrotnej transkryptazie). Enzym izolowany z wirusa wywołującego białaczkę ptaków zawiera 1,8—2,0 gramoatomów cynku na mol (25, 26). Dializa wobec EDTA, *o*-fenantroliny i innych chelatorów powoduje zanik jego aktywności co jest konsekwencją usunięcia cynku z cząsteczki białka (26). Wykazano, że *o*-fenantrolina hamuje odwracalnie polimerazę DNA zależną od RNA małpy, kota oraz enzym z wirusa RD-114. Dane te sugerują, że także odwrotna transkryptaza z tkanek ssaków może być metaloproteiną zawierającą cynk w swojej cząsteczce (27). Informacje na temat tej grupy enzymów są jak dotąd fragmentaryczne i nierzadko rozbieżne. Doniesiono na przykład, że odwrotna transkryptaza z wirusa białaczki ptaków zawiera nie 2 gramoatomy cynku na mol enzymu o m.c. 180 000, jak to sugeruje *V a l l e e*, lecz 1 gramoatom cynku na mol enzymu o m.c. 65 000 (28).

II-3. Fosfataza alkaliczna

Enzym ten należy do najwszechstronniej przebadanych cynkoprotein ze względu na udział jonów metali dwuwartościowych w katalizie. Przedmiotem tych badań był przede wszystkim enzym uzyskiwany z *E. coli* (29—38). Oprócz 4-ch gramoatomów cynku zawiera on 2 gramoatomy magnezu i prawdopodobnie ok. 1 gramoatomu żelaza na mol (36). Dwa z atomów cynku dają się łatwo usunąć podczas dializy enzymu wobec chelatora, towarzyszy temu całkowity zanik aktywności katalitycznej, dwa zaś pozostałe atomy cynku odznaczają się bądź znacznie większym powinowactwem do białka, bądź są niedostępne dla bezpośredniego działania chelatora, a ich obecność nie wpływa w istotny sposób na aktywność enzymu. Przyłączenie do wolnego od cynku apoenzymu 2-ch gramoatomów Zn/mol przywraca 85% pierwotnej aktywności fosfatazy. Jak się wydaje spośród czterech atomów cynku w cząsteczce fosfatazy z *E. coli* dwa, dysocjujące łatwiej, biorą bezpośredni udział w wiązaniu substratu w centrum aktywnym enzymu, natomiast dwa pozostałe, znacznie trudniej ulegające chelatowaniu, mają znaczenie głównie w stabilizacji struktury cząsteczki białka enzymatycznego (39, 40). Zaznacza się więc w tym przypadku pewna analogia z dwiema, funkcjonalnie różnymi, grupami atomów cynku w cząsteczce dehydrogenazy alkoholowej. Wszystkie cztery atomy cynku można zastąpić atomami kobaltu uzyskując trwale aktywny preparat enzymatyczny, jednakże o zmienionej geometrii centrum aktywnego

(38). Zastąpienie w cząsteczce fosfatazy cynku manganem powoduje utratę aktywności enzymatycznej (41).

Fosfataza z nerki wołu zawiera cynk niezbędny dla aktywności i magnez, którego rola jest wprawdzie niejasna, jednakże wydaje się, że związany on jest z cząsteczką enzymu w miejscu dla siebie specyficznym (42). Jeśli w miejscu specyficznym wobec magnezu wbudowany zostanie cynk działa on jako inhibitor enzymu, natomiast podstawienie w tym miejscu jonów manganu, kobaltu lub niklu daje aktywne formy enzymu. Z kolei wprowadzenie w miejsca specyficzne wobec cynku jonów manganu, kadmu, miedzi lub magnezu daje formy pozbawione aktywności enzymatycznej, jedynie w przypadku wymiany cynku na kobalt można uzyskać aktywną formę fosfatazy alkalicznej (43). Zróżnicowanie funkcjonalne atomów cynku w fosfatazie nerkowej jest podobne jak w przypadku enzymu z *E. coli* (44). Dwa z atomów, łatwiej dysocjujące, niezbędne są dla aktywności katalitycznej i można je usuwać i powtórnie wbudowywać do cząsteczki enzymu, usunięcie dwóch pozostałych, określanых mianem „strukturalnych” prowadzi do nieodwracalnej denaturacji enzymu. Szczególnie jaskrawo więc zaznacza się w tym przypadku odrębność funkcjonalna i znaczenie atomów nie biorących bezpośredniego udziału w katalizie.

Wymiana cynku na kobalt w preparatach fosfatazy z różnych źródeł można dawać odmienne efekty. Forma enzymu izolowanego z *B. subtilis* zawierająca kobalt odznacza się dwukrotnie wyższą aktywnością w porównaniu z preparatem rodzimym. Analogiczny preparat z *E. coli* zachowuje jedynie 20% aktywności w porównaniu z formą rodzimą, zawierającą cynk (45).

II-4. Aminopeptydaza leucynowa

W roku 1970 Lisowski i wsp. (46) wykazali, że aminopeptydaza leucynowa z nerki świni zawiera 5 gramoatomów cynku/300 000 masy cząsteczkowej białka. Jak wykazano usunięcie już 2—3 gramoatomów cynku na mol powoduje całkowitą utratę aktywności katalitycznej (46). Jednocześnie stwierdzono, że dodanie cynku do uzyskanego dzięki działaniu chelatorów apoenzymu nie przywraca właściwości katalitycznych, natomiast dodanie manganu reaktywuje preparat. W wiązaniu jonów cynku przez cząsteczkę enzymu biorą prawdopodobnie udział grupy SH, ponieważ ich liczba wzrasta po usunięciu cynku z cząsteczki enzymu z 12-tu do 24-ch.

Aminopeptydaza z soczewki oka o m.c. 320 000 zawiera 12 gramoatomów cynku na mol (47—49), przy czym po dwa atomy cynku wiążą się z każdą z sześciu podjednostek enzymu. Podjednostki posiadają miejsca wiązania Me^{2+} o różnej specyficzności. Jedno z miejsc wiąże wyłącznie cynk, w drugim zaś zamiast cynku mogą być chelatowane magnez lub

mangan. Uzyskane w ten sposób formy enzymu typu Zn-Zn (rodzimy) oraz Zn-Mg i Zn-Mn różnią się między sobą aktywnością właściwą. Rodzaj metalu w miejscu niespecyficznym wpływa na szybkość maksymalną reakcji, w mniejszym zaś stopniu na powinowactwo enzymu do substratu. Wykazano możliwość wymiany cynku na mangan w obu miejscach wiązania Me^{2+} w poszczególnych podjednostkach enzymu i powtórne wbudowanie cynku w miejsce manganu w preparacie typu Mn-Mn (49). Zmianom tym towarzyszą charakterystyczne zmiany aktywności właściwej. Jednocześnie stwierdzono, że na wartość aktywności właściwej ma wpływ metal związany w miejscu „regulacyjnym”.

II-5. Karboksypeptydazy

Enzymy te odznaczają się specyficnością grupową i odszczepiają hydrolitycznie C-końcowy aminokwas aromatyczny lub alifatyczny rozgałęziony z naturalnych i syntetycznych peptydów. Wykazują także aktywność esterazową, często wykorzystywaną w badaniach doświadczalnych. Karboksypeptydazy A i B z trzustki wołu oraz karboksypeptydaza C izolowana z pestek cytryny i liści pomarańczy zawierają cynk (50) (Tabela 4). W pracowni Valle e uzyskano również krystaliczny preparat karboksypeptydazy A z soku trzustkowego człowieka. Jej skład aminokwasowy, masa cząsteczkowa i zawartość cynku są podobne do tych cech enzymów wołu (51). Aktywność peptydazową i esterazową zachowują formy enzymu zawierające zamiast cynku kobalt, nikiel, mangan lub kadm. W badaniach nad karboksypeptydazą A z trzustki wołu stwierdzono, że wymiana cynku na inny metal drastycznie zmienia zarówno aktywność peptydazową jak i esterazową (Tabela 6).

Tabela 6

Aktywność peptydazowa i esterazowa karboksypeptydazy A (90)

| Forma enzymu | Względna aktywność | |
|---|--------------------|------------|
| | peptydazowa | esterazowa |
| 1. Rodzimy cynkoenzym | 100 | 100 |
| 2. Wymiana Zn na: { | Cd | 0 |
| | Co | 160 |
| | Ni | 106 |
| 3. Acetylacja tyrozyny 198 i 248 w enzymie rodzimym | 0 | 700 |

Od szeregu lat karboksypeptydazy należą do ulubionych obiektów badań jako model cynkoenzymów m.in. ze względu na dostępność w handlu, stabilność i niską masę cząsteczkową, stąd też nagromadzenie znacznej ilości informacji na temat mechanizmów reakcji katalizowanych przez te

enzymy i udziału cynku w katalizie. Spośród siedmiu reszt cysteiny obecnych w cząsteczce enzymu jedna bierze udział w wiązaniu cynku, sześć pozostałych zaś tworzy mostki dwusiarczkowe. Zablokowanie wolnej grupy SH w apoenzymie uzyskanym poprzez działanie chelatorów uniemożliwia rekonstytucję holoenzymu przy pomocy cynku, co jest możliwe jeśli uprzednio grupa SH nie została zablokowana (52). Z karboksypeptydazy B wyizolowano oligopeptyd, który został zidentyfikowany jako centrum aktywne wiążące cynk (53). Skład aminokwasowy centrum jest następujący: Val, Leu, Pro, Glu, Ser, Glu, Ileu, Glu, Pro, Thr, Cys-SH, Glu, Glu, Thr. Jakkolwiek cynk w cząsteczce enzymu można bez trudu zastąpić kobaltem, to siła wiązania obu metali w centrum aktywnym karboksypeptydazy jest różna. Znacznie łatwiej można dokonać wymiany, drogą dializy, kobaltu na cynk niż odwrotnie (zabieg ten trwa odpowiednio 12 i 48 godzin) (54). Aktywne formy karboksypeptydaz można ponadto uzyskać w wyniku kompleksowania przez apoenzymy jonów niklu (55), magnezu, kadmu i ołowiu (56), przy czym trzy ostatnie zachowują jedynie aktywność esterazową. Enzym rodzimy i forma zawierająca kobalt różnią się m.in. stałymi Michaelisa wobec różnych substratów i stałymi inhibitorowymi znanych inhibitorów karboksypeptydaz (57). Interesującym spostrzeżeniem jest fakt, że substraty peptydowe interferują z *o*-fenantroliną w inaktywowaniu karboksypeptydazy A (58). Potwierdza to pogląd, że cynk bierze udział w wiązaniu substratu w centrum aktywnym enzymu.

Odrębność struktury przestrzennej karboksypeptydazy C była powodem, że przez wiele lat uważano, iż enzym ten nie zawiera jonów metali w cząsteczce, a związki chelatujące nie wpływają na jego aktywność. Dopiero niedawno wykazano, że atomy cynku są zamaskowane w cząsteczce enzymu przez mostki dwusiarczkowe. Redukcja tych połączeń powoduje, że można usunąć cynk z cząsteczki enzymu przy pomocy *o*-fenantroliny lub EDTA (50).

II-6. Anhydraza węglanowa

Enzym ten jest pierwszym, co do którego stwierdzono, że zawiera cynk jako składnik niezbędny dla prawidłowej struktury i funkcji katalitycznej (59). Izolowano go z wielu tkanek zwierząt i roślin, jednakże szczególnie badano anhydrazę węglanową z erytrocytów człowieka i wołu, w których aktywność jest najwyższa (60). W erytrocytach człowieka spotyka się dwie formy enzymu B i C różniące się m.in. trwałością wiązania cynku i aktywnością właściwą. Podczas dializy wobec roztworu *o*-fenantroliny mało aktywna forma B traci cynk w ciągu 1—2 dni, natomiast forma C o wysokiej aktywności właściwej, w tych samych warunkach traci cynk dopiero po 5—10 dniach. O szczególnie silnym wiązaniu cynku przez anhydrazę węglanową świadczy też fakt, że nie obserwuje się jego

wymiany na ^{65}Zn obecny w środowisku nawet w czasie 32 dni dializy (61), wymiana cynku „rodzimego” na radioizotop w czasie dializy jest zjawiskiem dość często obserwowanym w przypadku innych cynkoenzymów. W przeciwieństwie do preparatów pochodzenia zwierzęcego anhydraza węglanowa z tkanek roślin nie zawiera metali dwuwartościowych i nie jest wrażliwa na działanie chelatorów. Jedynym znanym dotychczas wyjątkiem jest enzym izolowany z liści pietruszki zawierający 6 gramoatomów cynku na mol o m.c.z. 180 000. Enzym ten dość znacznie różni się od enzymów tkanek zwierzęcych (Tabela 4), m.in. usunięcie cynku z cząsteczki białka prowadzi do jego nieodwracalnej denaturacji (63). Uczyniono znaczny postęp w wyjaśnieniu mechanizmu reakcji uwodnienia CO_2 , w czym bierze bezpośredni udział atom cynku wiążący cząsteczkę wody (64, 65). Pomocne w tych badaniach okazało się opanowanie techniki zastępowania cynku kobaltem w centrum aktywnym enzymu, co pozwoliło na rozszerzenie zakresu badań spektralnych do badania centrum aktywnego i mechanizmu reakcji tych cynkoenzymów (66, 67). W wiązaniu cynku przez anhydrazę węglanową biorą udział atomy azotu (grupy imidazolowe histydyny) (95) oraz w przypadku anhydrazy B z erytrocytów człowieka dodatkowo 1 grupa SH (68, 69). Anhydraza C człowieka i enzym wołu nie posiadają grup sulfhydrylowych uczestniczących w wiązaniu cynku. Drogą dializy wobec roztworów jonów metali można dokonać wymiany kobaltu na cynk w formie enzymu zawierającej uprzednio wbudowany kobalt, natomiast nie jest możliwa wymiana cynku w preparacie rodzimym na kobalt bez zastosowania związków chelatujących (70, 71).

II-7. Inne cynkoenzymy

Liczba enzymów, w których cynk zidentyfikowano jako ważny element struktury biorący najczęściej bezpośredni udział w katalizie zwiększa się z każdym rokiem. Należą do nich tak znane enzymy, jak dehydrogenaza mleczanowa (72, 73), dysmutaza nadtlenkowa (74), dehydrataza δ -aminolewulinianowa (75, 76) i α -amylaza (77). Zwraca uwagę znaczna liczba enzymów proteolitycznych zawierających cynk (Tabela 4), (81).

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego zawiera 2,7 gramoatomu cynku na mol o m.c.z. 140 000. Wykazano możliwość wbudowania ^{65}Zn do enzymu *in vivo* przez podanie radioizotopu w pożywce, a także jego wymianę na cynk nieradioaktywny drogą dializy wyizolowanego enzymu bez zmiany aktywności enzymatycznej (82).

Karboksylaza pirogronianowa zawiera 3 gramoatomy cynku i 1 gramoatom żelaza/600 000. Przy znacznej podaży kobaltu w pożywce udało się wyhodować drożdże produkujące karboksylazę zawierającą cynk i kobalt w różnej proporcji wzajemnej, przy czym suma gramoatomów Me^{2+}

przypadających na mol enzymu pozostaje zawsze taka sama jak w enzymie rodzimym (83).

Transkarbamyłaza asparaginianowa z *E. coli* zawiera 6 atomów cynku, z których każdy wiąże się z jedną podjednostką regulacyjną enzymu (84). Jony cynku nie wymieniają się z ^{65}Zn nawet w czasie trwającej 40 dni dializy wobec radioizotopu. Bakterie rosnące na pożywce nie zawierającej cynku zachowują jedynie 30% aktywności transkarbamyłazy w porównaniu z kontrolą. Jeśli zawartość cynku w pożywce jest prawidłowa to podjednostki regulacyjne enzymu wiążą 1 gramoatom Zn/mol i jedynie w obecności cynku zdolne są do agregacji z podjednostkami katalitycznymi. Miedź, kobalt i nikiel mogą zastąpić cynk w jego funkcjach w transkarbamyłazie (85).

ATP-aza aktywowana przez jony wapnia i magnezu, izolowana z błon *E. coli* zawiera cynk, który ulega chelatowaniu jedynie w enzymie rozpuszczalnym, nie jest natomiast dostępny jeśli enzym pozostaje związany z błoną. Cynk jest niezbędny dla aktywności ATP-azy lecz można go zastąpić przez molibden, miedź, mangan lub żelazo. W enzymie tym cynk występuje zapewne w miejscu wiążącym ATP (86).

Aldolaza fruktozodwufosforanowa podzielona została na dwa typy — enzymy typu I nie zawierają metali dwuwartościowych i nie są wrażliwe na działanie EDTA, enzymy typu II zaś, hamowane w różnym stopniu przez EDTA zawierają cynk, kobalt lub żelazo. Do typu I zaliczamy m.in. aldolazy izolowane z mięśni ssaków, skorupiaków, pierścienic, małży oraz roślin wyższych, niektórych pierwotniaków i alg. Do typu II należą natomiast enzymy bakteryjne, grzybów i niektórych alg oraz pierwotniaków prokariotycznych (87). Przykładem aldolazy II typu jest enzym izolowany z *B. stearothermophilus* (Tabela 4), który można inaktywować za pomocą dializy wobec EDTA oraz reaktywować jonami kadmu, kobaltu, żelaza i manganu. Formy enzymu zawierające kobalt i mangan odznaczają się m.in. większą opornością na denaturację cieplną w porównaniu z enzymem rodzimym zawierającym cynk (88).

Dezaminaza AMP z różnych źródeł zawiera ok. 2 gramoatomów Zn/280 000 . Enzym ten i jego właściwości są przedmiotem odrębnego artykułu przeglądowego (89).

III. Rola cynku w katalizie enzymatycznej

W wielu autorów podejmowało próby wyjaśnienia roli cynku w funkcjach katalitycznych enzymów na poziomie molekularnym. Modelowymi enzymami były zwykle anhidraza węglanowa i karboksypeptydaza A (90). Poniżej podano ogólne informacje dotyczące fizykochemicznych podstaw działania cynku w katalizie enzymatycznej oraz przedstawiono

jeden z możliwych mechanizmów peptydazowej aktywności karboksypeptydazy A. (Ryc. 1).

Podobnie jak protony, jony metali można uważać za kwasy Levisa (elektrofilne). Mogą one przyjmować pary elektronów tworząc wiązania typu σ . Jony metali określane są niekiedy mianem superkwasów, gdyż w środowisku obojętnym mają ładunek większy niż +1 i niekiedy mogą przyjmować elektrony na niżej położone orbitale tworząc wiązania typu π . Metale mogą być kwaśnymi katalizatorami reakcji zachodzących z udziałem protonów.

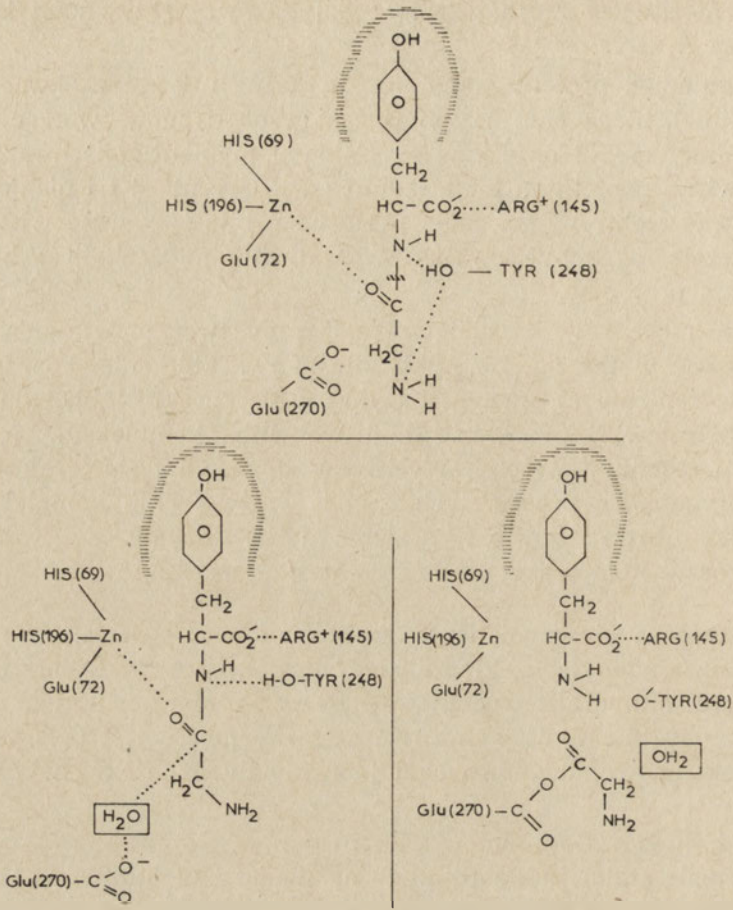
Metale mogą również oddawać elektrony tworząc wiązania σ lub π i aktywować w ten sposób nukleofile. Tzw. otoczenie koordynacyjne metalu w centrum aktywnym enzymu może sprzyjać zbliżeniu reagentów (substratów) i prowadzić do utworzenia kompleksów (chelatów) o różnym stopniu trwałości. Wykazano, że enzymy zawierające metale charakteryzują się prostą stechiometrią w tworzeniu kompleksów enzym-metal-substrat; często wynosi ona 1:1:1. Enzymy zawierające cynk mogą tworzyć kompleksy według poniższych schematów: E—Me—S lub

$$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \diagup \\ \text{E} \text{---} \text{S} \end{array}$$
 (kinaza pirogronianowa, karboksylaza pirogronianowa), E—S—Me (kinaza adenyłowa, kinaza kreatynowa), bądź S—E—Me (liaza cytrynianowa, anhydraza węglanowa). Bezpośrednim rezultatem wiązania liganda z dodatnio spolaryzowanym atomem metalu jest polaryzacja gęstości elektronowej liganda wokół jonu metalu. Konsekwencją tej polaryzacji jest:

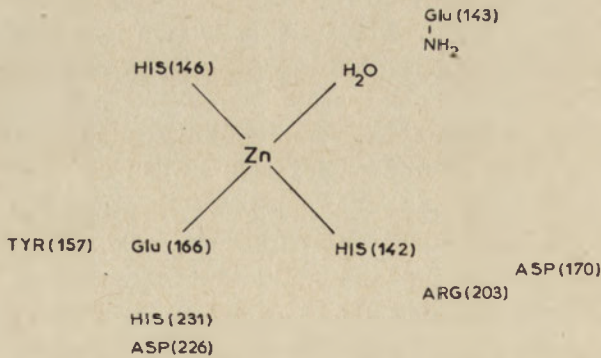
- wzrost kwasowości atomów wodoru donora
- ułatwienie ataku nukleofilowego na ligand i utrudnienie ataku elektrofilowego.

Katalityczna funkcja metalu nie ma związku z powinowactwem jonu Me^{2+} do apoenzymu, innymi słowy nie zależy od tego, czy mamy do czynienia z metaloproteiną, czy też z kompleksem metal:enzym (Tabela 2) (92).

Na rycinie 1 przedstawiono mechanizm peptydazowej aktywności karboksypeptydazy A (90). Zakłada się, że w tym przypadku cynk działa jako kwas Levisa, odgrywając podstawową rolę w rozszczepieniu wiązania peptydowego przez polaryzację grupy karbonyłowej substratu i zwiększenie jego podatności na nukleofilowy atak cząsteczki wody. Fenolowa grupa Tyr²⁴⁸ pełni również rolę kwasu zwiększając nukleofilowość azotu aminowego. W ten sposób powstają warunki do przerwania wiązania C—N. Z kolei Glu²⁷⁰ aktywuje cząsteczkę wody, zwiększa jej elektrofilowość i ułatwia jej atak nukleofilowy na grupę karbonyłową substratu. Nukleofilowy atak Glu²⁷⁰ prowadzi do utworzenia wiązania typu bezwodnika między enzymem i substratem. W następnym etapie intermediat ten ulega hydrolizie z uwolnieniem enzymu.



Ryc. 1. Mechanizm reakcji katalizowanej przez karboksypeptydazę A z trzustki wołu.



Ryc. 2. Centrum katalityczne termolizyny izolowanej z *B. protheolyticus*.

Rycina 2 przedstawia strukturę centrum aktywnego termolizyny z *B. protheolyticus*. Zawiera ona podobnie jak karboksypeptydaza A 1 gramoatom Zn/34 600. Enzym katalizuje hydrolizę peptydów mających na C-końcu izoleucynę, leucynę, fenyloalaninę lub walinę; pod względem specyficzności przypomina więc karboksypeptydazę A. Struktura centrum katalitycznego tego enzymu wykazuje uderzające analogie z karboksypeptydazą A. Cynk związany jest przez His¹⁴², His¹⁴⁶ i Glu¹⁶⁶. Czwartym ligandem jest woda. Glu¹⁴³, Arg²⁰³ i Tyr¹⁵⁷ są analogami odpowiednio Glu²⁷⁰, Arg¹⁴⁵ i Tyr²⁴⁸ w cząsteczce karboksypeptydazy A. Podobieństwa te stanowią przyczynek do rozważań na temat ewolucji enzymu i względnej specyficzności struktury centrum aktywnego wobec typu substratu i katalizowanej reakcji w organizmach odległych od siebie gatunków.

IV. Uwagi końcowe

Znany jak dotąd ok. 80-ciu enzymów zawierających w swoich cząsteczkach cynk niezbędny dla stabilizacji struktury trzecio- i czwartorzędowej oraz dla aktywności katalitycznej. Fakt ten sprawia, że cynk jest jednym z najważniejszych mikroelementów biorących udział w reakcjach enzymatycznych w ogóle, w szczególności zaś reakcji przebiegających z udziałem wody.

Możliwość wymiany „rodzimego” cynku na inny metal w cząsteczkach enzymów stwarza warunki do uzyskiwania form enzymów o zmienionych właściwościach kinetycznych i regulacyjnych, zachowujących jednak aktywność katalityczną. Poza teoretycznym znaczeniem takich doświadczeń dla badania struktury centrum aktywnego, mechanizmu katalizy i specyficzności udziału poszczególnych metali w reakcjach enzymatycznych zagadnienie to ma jeszcze jeden aspekt, nie mniej istotny. W świetle obecne już znanych faktów nie da się mianowicie wykluczyć podobnej wymiany metali w białkach enzymatycznych *in vivo* u człowieka, zwłaszcza u osób zawodowo poddanych długotrwałej ekspozycji na jeden z metali dwuwartościowych, co mogłoby prowadzić do zmian właściwości poszczególnych enzymów, a w konsekwencji do, być może, istotnych zmian w metabolizmie ogólnoustrojowym.

Artykuł otrzymano 26.11.1977; po rewizji autorskiej przyjęto 27.5.1978

PIŚMIENICTWO

1. Burch R. E., Hahn H.K.J., Sullivan J. F., (1975), *Clin. Chem.* **21**, 501—520.
2. O'Dell B. L., Campbell B. J., (1971), w *Comprehensive Biochemistry*, **21**, red. Florkin M., Stotz E., Elsevier, New York, 223
3. Parisi A. F., Vallee B. L., (1969), *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**, 1222—1239.
4. Vallee B. L., (1970), *Metalloproteins*, w *The Proteins*, vol. 5, red. Neurath H., Academic Press, New York.
5. Riordan J. F., Vallee B. L., (1974), w *Protein-metal Interactions*, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **48**, red. Friedman M., Plenum Press, New York, London.
6. Riordan J. F., (1976), *Med. Clin. North Am.*, **60**, 661—674.
7. Malmstrom B. G., Niellands J. B., (1964), *Ann. Rev. Biochem.*, **33**, 331—354.
8. Vallee B. L., (1973), w *Metal Ions in Biological Systems*, red. Dhar S. K., Plenum Press, New York, London, 1—12.
9. Vallee B. L., Williams R.J.P., (1968), *Chem. Brit.*, **4**, 397—401.
10. Eklund H., Branden C. I., Jornavall H., (1976), *J. Mol. Biol.* **102**, 61—73.
11. Dunn M. F., Biellmann J. F., Branlout G., (1975), *Biochemistry*, **14**, 3176—3180.
12. Eklund H., Nordstrom B., Zepperaner E., Soderlund G., Ohlsson J., Boiwe T., Soderberg B. O., Tapia O., Branden C. J., Akeson A., (1976), *J. Mol. Biol.*, **102**, 27—59.
13. Kagi J.H.R., Vallee B. L., (1960), *J. Biol. Chem.*, **235**, 3188—3192.
14. Laskovac V., Trivic S., Latkowska M., (1976), *Biochem. J.*, **155**, 163—171.
15. Sytkowski A. J., Vallee B. L., (1976), 10th Int. Cong. Biochem., Abstracts, 04-3-380, 185.
16. Sytkowski A. J., Vallee B. L., (1976), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 344—348.
17. Drum D. E., Vallee B. L., (1970), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 33—39.
18. Sytkowski A. J., Vallee B. L., (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 1488—1493.
19. Veillon C., Sytkowski A. J., (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 1494—1500.
20. Curdel A., Iwatsubo M., (1968), *FEBS Letters*, **1**, 133—136.
21. Dickenson Ch., Dickinson F. M., (1976), *Biochem. J.*, **153**, 309—319.
22. Slater J. P., Mildvan A. S., Loeb L. A., (1971), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **44**, 37—43.
23. Springgate G. F., Mildvan A. S., Abramson R. A., Engle I. L., Loeb L. A., (1973), *J. Biol. Chem.*, **248**, 5987—5993.
24. Auld D., Atsuya J., Campino C., Valenzuela P., (1976), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **69**, 548—555.
25. Auld D. S., Kawaguchi H., Livingston D. M., Vallee B. L., (1974), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 2091—2095.
26. Auld D. S., Kawaguchi H., Livingston D. M., Vallee B. L., (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **57**, 967—972.
27. Auld D. S., Kawaguchi H., Livingston D. M., Vallee B. L., (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **62**, 296—302.
28. Poiesz B. J., Battula N., Loeb L. A., (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **56**, 959—964.

29. Anderson R. A., Bosron W. F., Kennedy F. S., Vallee B. L., (1975), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 2989—2993.
30. Bosron W. F., Vallee B. L., (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66**, 809—813.
31. Bosron W. F., Kennedy F. S., Vallee B. L., (1975), *Biochemistry*, **14**, 2275—2282.
32. Cohen S. R., Wilson J. B., (1966), *Biochemistry*, **5**, 904—909.
33. Norne J. E., (1974), *Arch. Biochem. Biophys.*, **162**, 552—559.
34. Plocke D. J., Vallee B. L., (1962), *Biochemistry*, **1**, 1039—1043.
35. Schlesinger M. J., (1966), *J. Biol. Chem.*, **241**, 3181—3188.
36. Simpson R. T., Vallee B. L., Tait G. H., (1968), *Biochemistry*, **7**, 4336—4342.
37. Simpson R. T., Vallee B. L., (1968), *Fed. Proc.*, **27**, 291.
38. Simpson R. T., Vallee B. L., (1968), *Biochemistry*, **7**, 4343—4350.
39. Lazdunski C., Petit-Clerc C., Chappelet P., Lefervier F. Donzou P., Lazdunski M., (1970), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **40**, 589—593.
40. Brown E. M., Ulmer D. D., Vallee B. L., (1974), *Biochemistry*, **13**, 5328—5334.
41. Chappelet P., Lazdunski C., Petit-Clerc C., (1970), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **40**, 91—96.
42. Cathala G., Brunel C., (1975), *J. Biol. Chem.*, **250**, 6040—6053.
43. Cathala G., Brunel C., (1975), *J. Biol. Chem.*, **250**, 6046—6053.
44. Ackerman B. P., Ahlers I., (1976), *Biochem. J.*, **153**, 151—157.
45. Yoshizumi F. K., Coleman J. E., (1974), *Arch. Biochem. Biophys.* **160**, 255—268.
46. Lisowski J., Rajkumar T. W., Wolf D. P., Stein E. A., (1970), *Acta Biochim. Polon.*, **17**, 311—324.
47. Carpenter F. H., Vahl J. M., (1973), *J. Biol. Chem.*, **248**, 294—304.
48. Thompson G. A., Carpenter F. H., (1976), *J. Biol. Chem.*, **251**, 53—60.
49. Thompson G. A., Carpenter F. H., (1976), *J. Biol. Chem.*, **251**, 1618—1624.
50. Hofsten von B., Nassen-Puu G., Drevin I., (1974), *FEBS Letters*, **40**, 302—304.
51. Peterson L. M., Sokolowsky M., Vallee B. L., (1976), *Biochemistry*, **15**, 2501—2508.
52. Winstersberger E., Neurath H., Coombs T. L., Vallee B. L., (1965), *Biochemistry*, **4**, 1526—1532.
53. Winstersberger E., (1965), *Biochemistry*, **4**, 1533—1536
54. Coleman J. E., Vallee B. L., (1960), *J. Biol. Chem.* **235**, 390—395.
55. Coombs T. L., Felber J. P., Vallee B. L., (1962), *Biochemistry*, **1**, 899—905.
56. Rickli E. E., Edsall I. T., (1962), *J. Biol. Chem.*, **237**, PC 258.
57. Folk J. E., Wolff E. C., Schirmer E. W., (1962), *J. Biol. Chem.*, **237**, 3100—3104.
58. Felber J. P., Coombs T. L., Vallee B. L., (1962), *Biochemistry*, **1**, 231—238.
59. Keilin D., Mann T., (1940), *Biochem. J.*, **34**, 1163—1176.
60. Maren T. H., (1967), *Physiol. Rev.*, **47**, 597—781.
61. Tupper R., Watts R. W. E., Warnell A., (1952), *Biochem. J.*, **50**, 429—432.
62. Feliner S. K., (1963), *Biochim. Biophys. Acta*, **77**, 155—156.

63. Tobin A. J., (1970), *J. Biol. Chem.*, **245**, 2656—2662.
64. Appleton D. W., Sarkar B., (1974), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 1686—1690.
65. Wolley P., (1975), *Nature*, **258**, 677—682.
66. Haffner P. H., Goodsaid F., Coleman J. E., (1974), *J. Biol. Chem.*, **249**, 6693—6695.
67. Lindskog S., (1963), *J. Biol. Chem.*, **238**, 945—951.
68. Taylor J. S., Coleman J. E., (1973), *J. Biol. Chem.*, **248**, 749—755.
69. Rickli E. E., Edsall J. T., (1962), *J. Biol. Chem.*, **237**, 258—260.
70. Lindskog S., Malmstrom B. G., (1960), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2**, 213—217.
71. Lindskog S., Malmstrom B. G., (1962), *J. Biol. Chem.*, **237**, 1129—1137.
72. Curdel A., Labeirie F., (1961), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **4**, 175—179.
73. Curdel A., (1966), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **22**, 357—369.
74. Fridovich J., (1975), *Ann. Rev. Biochem.*, **44**, 147—159.
75. Gurba P. E., Sennet R. E., Kobes R. D., (1972), *Arch. Biochem. Biophys.*, **150**, 130—136.
76. Cheh A., Neilands J. B., (1973), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **55**, 1060—1063.
77. Vallee B. L., Stein E. A., Sumerwell W. N., Fischer E. H., (1959), *J. Biol. Chem.*, **234**, 2901—2905.
78. Feder J., Garrett L. R., (1971), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 943—948.
79. Lehky P., Lisowski J., Wolf D. P., Wacker H., Stein E. A., (1973), *Biochim. Biophys. Acta*, **321**, 274—281.
80. Kerr M. A., Kenny A. J., (1974), *Biochem. J.*, **137**, 489—495.
81. Patterson E. K., Gatmaitom J. S., Hayman S., (1975), *Biochemistry*, **14**, 4261—4266.
82. Keleti T., (1966), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **22**, 640—643.
83. Scrutton M. C., Young M. R., Utter M. F., (1970), *J. Biol. Chem.*, **245**, 6220—6227.
84. Griffin J. H., Rosenbusch J. P., Blout E. R., Weber K. K., (1973), *J. Biol. Chem.*, **248**, 5057—5062.
85. Nelbach M. E., Pigiet Jr. V. P., Gerhart J. C., Schachman H. K., (1972), *Biochemistry*, **11**, 315—327.
86. Sun J. L., Crane F. L., (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **65**, 1334—1342.
87. Rutter W. J., (1964), *Fed. Proc.*, **23**, 1248—1253.
88. Hill H. A. O., Lobb R. R., Sharp S. L., Stokes A. M., Harris J. J., Jach R. S., (1976), *Biochem. J.*, **153**, 551—561.
89. Stankiewicz A., (1978), *Post. Biochem.*, **24**, 243—264.
90. Dunn M. F., (1975), *Structure and Bonding*, **23**, 61—122, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
91. Mildvan A. S., (1970), w *The Enzymes t. II*, red. Boyer P. D., Academic Press, New York, London, str. 445—536.
92. Scrutton M. C., (1973), w *Inorganic Biochemistry*, red. Eichhorn G. I., Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, London, New York, 381—437.
93. Abushama F. T., Kambel M. A., (1976), *Experientia*, **32**, 19—20.
94. El-Sewedy S. M., Abdel-Tawab G. A., El-Zoghby S. M.,

- Zeitoun R., Mostafa M. H., Shalaby Sh. M., (1974), *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 2557—2565.
95. Vallee B. L., (1959), *Physiol. Rev.*, **39**, 443—490.
96. Drum D. E., Harrison J. H., Li T. K., Bethuma J. L., Vallee B. L., (1967), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 1434—1440.
97. Lange L. G., Sytkowski A. J., Vallee B. L., (1976), *Biochemistry*, **15**, 4687—4693.
98. Harrison J. H., (1963), *Fed. Proc.* **22**, 493—496.
99. Darnak D. W., Klotz I. M., (1975), *Arch. Biochem. Biophys.*, **166**, 651—682.
100. Lattke H., Weser U., (1976), *FEBS Letters*, **65**, 288—292.

NAGRODY POLSKIEGO TOWARZYSTWA BIOCHEMICZNEGO W 1978 R.

Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Biochemicznego zawiadamia, że nagrodę im. Jakuba Parnasa za najlepszą pracę doświadczalną otrzymał zespół w osobach prof. dr Witolda Drabikowskiego, dr Barbary Baryłko, mgr Zenona Grabarka i mgr Jacka Kuźnickiego na podstawie publikacji, które ukazały się w 1977 r., a mianowicie: W. Drabikowski, J. Kuźnicki i Z. Grabarek, Similarity in Ca^{2+} — induced changes between troponin-C and protein activator of 3':5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase and their tryptic fragments; *Biochim. Biophys. Acta*, **485**, 124—133; W. Drabikowski, Z. Grabarek i B. Baryłko, Degradation of TN-C components of troponin by trypsin; *Biochim. Biophys. Acta*, **490**, 216—224; W. Drabikowski, The identity of tropocalcin with calsequestrin, A simple method of its preparation; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **75**, 746—750.

Nagrodę im. Bolesława Skarżyńskiego za najlepszy artykuł przeglądowy w „*Postęпах Biochemii*” otrzymał doc. dr hab. Witold Filipowicz za artykuł pod tytułem „Inicjacja translacji mRNA u organizmów eukariotycznych” (*Postępy Biochemii*, **23**, 21—59, 1977).

GRAŻYNA MUSZYŃSKA *)

Identyfikacja grup reaktywnych enzymów

Identification of the Reactive Groups of Enzymes

Spis treści

- I. Grupa hydroksylowa seryny
- II. Grupa tiolowa cysteiny
- III. Imidazolowy pierścień histydyny
- IV. Grupa ϵ -aminowa lizyny i guanidynowa argininy
- V. Pierścień fenolowy tyrozyny
- VI. Grupy β i γ -karboksylowe kwasu asparaginowego i glutaminowego
- VII. Pierścień indolowy tryptofanu

Contents

- I. Hydroxyl group of serine
- II. Sulfhydryl group of cysteine
- III. Imidazole ring of histidine
- IV. ϵ -amino group of lysine and guanidine group of arginine
- V. Phenolic ring of tyrosine
- VI. β - and γ -carboxyl groups of aspartic and glutamic acids
- VII. Indole ring of tryptophane

W reakcji enzymu z substratem mogą brać udział zarówno polarne jak i niepolarne ugrupowania łańcuchów bocznych aminokwasów. Grupy te występujące w centrum aktywnym enzymu cechują się zwiększoną reaktywnością chemiczną w porównaniu z takimi grupami w związkach modelowych, czy też w katalitycznie nieczynnych obszarach cząsteczki enzymu. Właściwość ta umożliwiła przeprowadzenie selektywnej modyfikacji grup uczestniczących w katalizie enzymatycznej (**).

Spośród ogólnej liczby 19 reszt tyrozyny występujących w karboksypeptydazie A (E.C. 3.4.12.2) osiem jest dostępnych dla modyfikatorów (znajdują się na powierzchni cząsteczki) a tylko jedna cechuje się nie-

*) Dr, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa.

Wykaz stosowanych skrótów: pCMB — p-chlororteciobenzoesan sodu; NBS — N-bromoimid kwasu bursztynowego; HNBB — bromek 2-hydroksy-5-nitrobenzylu.

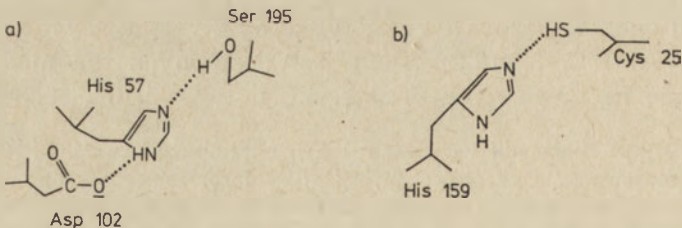
**) Modyfikacje chemiczne stosowane w badaniach grup czynnych enzymów były już przedmiotem artykułu w Postęпах Biochemii (2), zagadnieniem tym poświęcono także jeden z rozdziałów przygotowywanej do druku Monografii (3).

zwykłą reaktywnością (4). Z 11 reszt lizylowych rybonukleazy (E.C. 3.1.4.22) jedna występuje w centrum aktywnym i wykazuje znacznie zwiększoną reaktywność chemiczną (5). Do identyfikacji grup funkcyjnych enzymów, a także w badaniach mechanizmu katalizy enzymatycznej, stosuje się więc często selektywne modyfikacje chemiczne zmieniające pojedyncze reszty aminokwasowe.

W metaloenzymach szczególną rolę odgrywają jony metali, na ogół dwuwartościowe. Tworzą one wiązania o wysokim poziomie energetycznym (zwanym stanem entazy, ang. *entatic state*) z resztami aminokwasów występującymi w centrum aktywnym enzymów (1). Obecność kationów w centrach aktywnych, wpływa na jonizację sąsiadujących ugrupowań, zwiększając tym samym reaktywność chemiczną niektórych bocznych łańcuchów aminokwasów. Niekiedy metale ułatwiają jonizację substratu, umożliwiając jego przyłączenie do enzymu. Jony metali mogą też odgrywać istotną rolę w tworzeniu i stabilizacji czwartorzędowej struktury enzymów oligomerycznych.

I. Grupa hydroksylowa seryny

Wyjątkową reaktywność grupy hydroksylowej seryny stwierdzono w wielu enzymach hydrolitycznych, spośród których jednym z najlepiej poznanych jest chymotrypsyna (E.C. 3.4.21.1 lub 3.4.21.2). Reaktywną resztę serylową można wybiórczo modyfikować poprzez acetylację octanem fenylu (6) oraz fosforylację dwuizopropylodifluorofosforanem lub innymi związkami organofosforowymi (7). Możliwość selektywnej modyfikacji jednej tylko reszty seryny w pozycji 195 (tzw. monomodyfikacji) w centrum aktywnym chymotrypsyny przypisuje się wpływowi znajdującej się w pobliżu reszty histydylowej pobudzającej jonizację reszty serylowej. Wytwarza się bowiem wiązanie wodorowe między tlenem seryny a azotem w pozycji 3 pierścienia imidazolowego His 57, co wzmaga nukleofilowe oddziaływanie grupy hydroksylowej seryny (8, 9). Prócz tego, azot w pozycji 1 pierścienia imidazolowego His 57, tworzy wiązanie wodorowe z zamaskowaną (ang. *buried*) grupą karboksylową Asp 102 (Ryc. 1 a).



Ryc. 1. Przykłady hyperaktywnych łańcuchów bocznych w aktywnych centrach chymotrypsyny (a) i papainy (b) (9).

Trzy reszty aminokwasowe: Ser-195, His-57 i Asp-102 sprzężone dwoma wiązaniami wodorowymi stanowią układ przenoszący ładunki (*charge-relay system*) z hydrofobowego fragmentu cząsteczki enzymu na jej powierzchnię, do centrum aktywnego. Układ ten zwiększa możliwość występowania w centrum aktywnym chymotrypsyny formy jonowej $-\text{CH}_2-\text{O}^-$ w środowisku zbliżonym do obojętnego (10). Charakterystyczne jest, że jonizacja Ser 195 powoduje zwiększoną reaktywność chemiczną tej reszty w porównaniu z innymi powierzchniowymi resztami serylowymi.

Bakteryjny enzym proteolityczny — subtilopeptydaza A (E.C. 3.4.21.14) (z *B. subtilis*) również zawiera w centrum aktywnym serynę związaną wodorowo z łańcuchem bocznym histydyny i grupą karboksylową (11), enzym ten działa więc najprawdopodobniej według tego samego ogólnego mechanizmu co chymotrypsyna i inne proteazy serynowe.

II. Grupa tiolowa cysteiny

Grupy tiolowe w centrach aktywnych enzymów wykazują znacznie wyższą reaktywność niż te same grupy związków modelowych. Na przykład, alkilacja grup SH proteinazy ze *Streptococcus* zachodzi 50—100 razy szybciej aniżeli alkilacja glutationu (12), a grupy sulfhydrylowe papainy (E.C. 3.4.22.2) są alkilowane 1000 razy szybciej w porównaniu z wolną cysteiną (13).

Grupę tiolową w centrum aktywnym papainy cechuje znacznie obniżona wartość pK 8,5 (14), w porównaniu z pK 9—10 cysteiny (15). Niezwykle niskie pK grupy SH Cys 25 biorącej udział w przenoszeniu acylu podczas hydrolizy jest wynikiem występowania wiązania wodorowego z histydyną obecną w centrum aktywnym papainy (Ryc. 1b), co wykazano poprzez modyfikacje chemiczne (16, 17). Z badań krystalograficznych (18) wynika, że imidazolowa grupa His 159 znajduje się w bliskiej odległości (4 Å) od atomu siarki Cys 25. Wiązanie wodorowe pomiędzy tiolową a imidazolową grupą zwiększa więc nukleofilowość Cys 25 (18, 21).

Reaktywność funkcyjnych grup tiolowych enzymów wykorzystano do ich wybiórczego łączenia z dwusiarczkiem 2,2'-dwupirydyli (19). Chromatografia wymienna na glutationodwupirydylo dwusiarczku kowalencyjnie związanym z agarozą pozwoliła na odizolowanie aktywnej formy papainy od nieaktywnego enzymu zawierającego grupy tiolowe o znacznie obniżonej reaktywności (20).

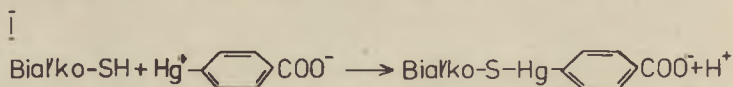
Technikę wymiany tiol-dwusiarczek wykorzystano również do wiązania aktywnych grup tiolowych ureazy (E.C. 3.5.1.5) w wyniku czego oddzielono enzym od białek niezawierających takich grup (22).

Arginaza (E.C. 3.5.3.1) roślinna, w przeciwieństwie do enzymu pochodzącego z wątroby ssaków, jest silnie hamowana przez pCMB* i NEM** (24, 25) — odczynniki specyficznie blokujące grupy sulfhydrylowe. Jak wynika z ostatnich badań, arginaza z wątroby szczura nie zawiera wolnych grup sulfhydrylowych (26). Zbliżone kinetyczne właściwości obu arginaz (24, 27) sugerują podobny mechanizm katalizy enzymatycznej. Zakładając, że struktura przestrzenna centrów aktywnych enzymów cechujących się tą samą funkcją biologiczną jest podobna, można przypuszczać, że grupa SH arginazy roślinnej jest zastąpiona przez inną strukturalnie i funkcyjnie podobną grupę. Może to być grupa hydroksylowa seryny lub treoniny, która podobnie jak grupa SH jest reaktywnym nukleofilem. I tak na przykład w centrach aktywnych niektórych dehydrogenaz mleczanowych (E.C. 1.1.1.27) w miejscu występującej najczęściej grupy SH znajduje się grupa OH — reszta cysteiny została zastąpiona przez resztę treoniny (28). Podobnie w centrum aktywnym wielu roślinnych i bakteryjnych proteaz występuje grupa SH cysteiny, podczas gdy w proteazach zwierzęcych funkcję katalityczną spełnia grupa OH seryny (9). Tak więc w niektórych przypadkach mutacje polegające na zamianie pojedynczej reszty aminokwasowej w centrum aktywnym enzymu nie prowadzą do zaniku aktywności biologicznej białka.

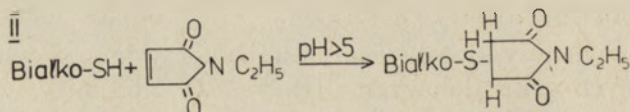
III. Imidazolowy pierścień histydyny

Jednym z najbardziej reaktywnych ugrupowań w enzymach jest pierścień imidazolowy histydyny. Jak już wspomniano, atomy azotu w pozycjach 1 i 3 tego pierścienia mogą tworzyć wiązania wodorowe z innymi grupami bocznymi łańcuchów aminokwasowych w białkach. Wiązania te wzmagają reaktywność histydyny, wynikiem czego jest zwiększona podatność tej reszty na modyfikacje chemiczne.

* Podstawienie grupy tiolowej przez organiczne związki rtęci zachodzi zgodnie z reakcją (wzór I). Liczbę zmodyfikowanych grup tiolowych oblicza się z pomiarów spektrofotometrycznych przy 250—255 nm (23).



** Grupa tiolowa reaguje następująco z maleimidem (wzór II) (23). NEM charakteryzuje się widmem pochłaniania z maksimum przy 305 nm, które zanika po stechiometrycznej reakcji odczynnika ze związkiem zawierającym grupy tiolowe. Pomiar spektrofotometryczny umożliwia oznaczenie ilości grup tiolowych (23).

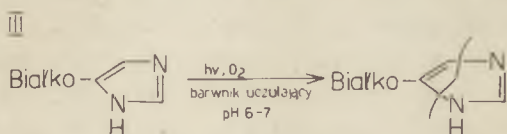


W cząsteczce anhidrazy węglanowej B (E.C. 4.2.1.1) erytrocytów ludzkich występuje 11 reszt histydylowych, z czego 4 znajdują się prawdopodobnie na powierzchni enzymu (29). Podczas reakcji z kwasem jodoctowym obserwowano jednak tworzenie się tylko jednej reszty 3-karboksymetylohistydy (30). Podatna na modyfikacje reszta histydylowa cechowała się znacznie niższą wartością $pK=5,8$ (28) w porównaniu z typową wartością $pK=6,7-7,0$ (15). W przeciwieństwie do formy B, anhidraza węglanowa C nie podlegała alkilacji (9).

W rybonukleazie z trzustki wołu również zidentyfikowano reaktywną resztę histydylową, charakteryzującą się zwiększoną zdolnością do dysocjacji (31). Metodą magnetycznego rezonansu jądrowego oznaczono pK reszt histydylowych obecnych w rybonukleazie; najniższe $pK=5,8$ wykazywała His 119, a następnie His ($pK=6,2$) (32). W alkilowanej jodoocentanem histydyne 119 rybonukleazy ulegał karboksymetylacji N—1 w pierścieniu imidazolowym oraz kilkukrotnie wolniej N—3 w His 12 (33, 34). Crestfield, Stein i Moore (34) sugerują, że N—1 His 119 i N—3 His 12, podatne na modyfikację jodoocentanem, znajdują się w bliskim sąsiedztwie. Dodatni ładunek tych grup może przyciągać jodoocentan, co umożliwi alkilację. Alkilacja jednej reszty histydylowej zmniejsza szybkość modyfikacji drugiej reszty, gdyż powstająca ujemna grupa karboksymetylowa stanowić może zawadę przestrzenną dla drugiej reszty modyfikowanej. Różnice w szybkości modyfikacji dwu pierścieni imidazolowych pozwoliły autorom zasugerować, że odległość między badanymi resztami histydyłowymi w cząsteczce rybonukleazy wynosi około 5\AA . Alkilacja reszt histydylowych enzymu znacznie utrudniała przyłączanie fosforanu, co prowadziło do zahamowania katalizy enzymatycznej (34).

Fotoutlenianie* kwaśnej fosfatazy (E.C. 3.1.3.2.) z prostaty ludzkiej prowadzące do modyfikacji reszt histydylowych inaktywowało enzym. Znacznie obniżona w obecności substratów i inhibitorów współzawodniczych szybkość modyfikacji świadczyła, że straty aktywności mają związek z przemianami fotodynamicznymi w centrum aktywnym lub blisko niego. Prawdopodobnie jednym z etapów katalizy enzymatycznej jest tworzenie kowalencyjnego połączenia między histydyną obecną w centrum aktywnym fosfatazy, a grupą fosforanową substratu (36).

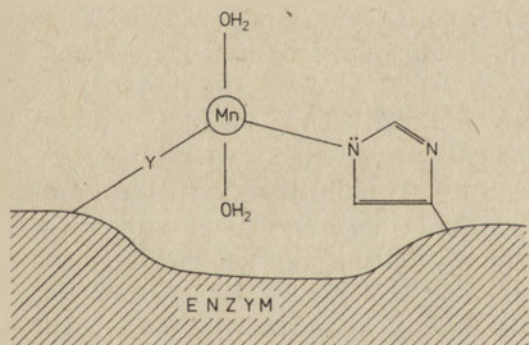
* Fotoutlenianie pierścienia imidazolowego w białkach przebiega w obecności barwnika uczulającego zgodnie z reakcją przedstawioną wzorem III. Ilość zmody-



fikowanych reszt wylicza się z różnicy w składzie aminokwasowym białka natywnego i zmodyfikowanego (35).

Powyższe dane sugerują, że w centrum aktywnym transferaz przenoszących grupy zawierające fosfor (rybunukleaza) oraz hydrolaz estrów fosforanowych (kwaśna fosfataza) pierścień imidazolowy histydyny łączyć się może z ujemną grupą fosforanową substratu.

Fotoutlenienie arginazy z wątroby szczura prowadziło do inaktywacji enzymu i modyfikacji grup imidazolowych histydyny (37). Fotoinaktywacja przebiegała w obecności jonów manganawych i była zależna od temperatury. W temperaturze 12°C enzym ulegał inaktywacji w nieznanym stopniu, a w 45°C aktywność enzymu spadała do 10% aktywności wyjściowej. Hirsch-Kolb i wsp. (27, 38) przypuszczają, że aktywacja arginazy jonami manganawymi (w temperaturze 40—50°C) jest konieczna do powstania aktywnej formy enzymu. Uprzednio sugerowano (39) zmianę konformacji arginazy podczas tworzenia kompleksów z dwuwartościowymi jonami metali, co ostatnio zostało potwierdzone badaniami spektralnymi (40). Zmiany konformacyjne podczas aktywacji arginazy prowadzą zapewne do zwiększenia podatności reszt histydylowych na modyfikacje chemiczne. Prawdopodobnie w temperaturze 12°C pierścienie imidazolowe histydyny w cząsteczce arginazy są zamaskowane i stają się reaktywne w podwyższonej temperaturze. Zmiana reaktywności histydyny może mieć związek z procesem aktywacji arginazy. W aktywnej formie arginazy można zasugerować interakcję imidazolowego pierścienia histydyny z jonami manganawymi (Ryc. 2).



Ryc. 2. Hipotetyczny schemat połączenia jonu manganowego z pierścieniem imidazolowym histydyny w centrum aktywnym arginazy (37).

Y — grupa niezidentyfikowana.

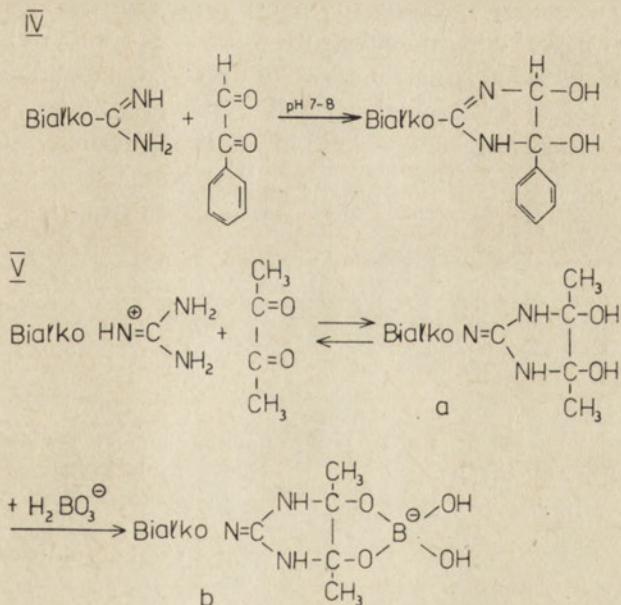
Spośród aminokwasów wchodzących w skład białek, histydyna posiada wyjątkowe predyspozycje chemiczne do łączenia się z metalem (41). Przyłączenie dwuwartościowego kationu do imidazolu wywołuje jonizację sąsiadujących ugrupowań na skutek przesunięcia elektronów w kierunku jonu metalu. Jako przykład można podać kinazę pirogronianową (E.C. 2.7.1.40). Połączenie manganu z histydyną w centrum aktywnym tego enzymu powoduje zmiany konformacyjne prowadzące do powstania aktywnej formy enzymu (42).

IV. Grupa ϵ -aminowa lizyny i guanidynowa arginyiny

Ponad połowa dotychczas znanych enzymów reaguje z ujemnie naładowanymi substratami, lub wymaga kofaktorów anionowych. Wykazano, że ligandy tego typu wiązane są przez dodatnio naładowane grupy enzymu (43). W wiązaniu substratu przez karboksypeptydazę A uczestniczy grupa guanidynowa pojedynczej reszty arginyiny, która łączy się jonowo z grupą karbonylową hydrolizowanego peptydu (44, 45, 46). Reszty arginylowe alkalicznej fosfatazy (E.C. 3.1.3.1.) z *E. coli* są miejscem wiązania ujemnych grup fosforanowych substratu (47). Fenyloglioksal i 2,3-butanodion — odczynniki swoście reagujące z grupami guanidynowymi reszt arginylowych* powodowały inaktywację dehydrogenazy alkoholowej (E.C.1.1.1.1) z drożdży oraz z wątroby człowieka i konia (43). Grupy guanidynowe reszt arginylowych zidentyfikowano przeto jako składnik miejsca wiążącego NADH w dehydrogenazie alkoholowej.

W rybonukleazie z trzustki wołu resztą szczególnie reaktywną jest reszta lizyny. Inaktywacji rybonukleazy przez 2,4-dwunitrofluorobenzen towarzyszy modyfikacja ϵ -aminowej grupy lizyny 41 (50). Kinetyczne badania tego procesu wykazały, że ϵ -aminową grupę Lys 41 cechuje znacznie niższa wartość pK (8,8) w porównaniu ze stałymi dysocjacji innych

* Proponowany schemat reakcji grupy guanidynowej z fenyloglioksałem (wzór IV) (48, 49) i z butanedionem w buforze boranowym (wzór V) (46). W wyniku kon-



densacji butanedionu z grupą guanidynową powstaje 4,5-dwumetylo-4,5-dwuhydroksy-2-imidazolina (wzór Va), która tworzy kompleks z jonem boranowym (wzór Vb). Ilość zmodyfikowanych (działaniem obu odczynników) reszt wylicza się z różnicy w składzie aminokwasowym białka natywnego i zmodyfikowanego.

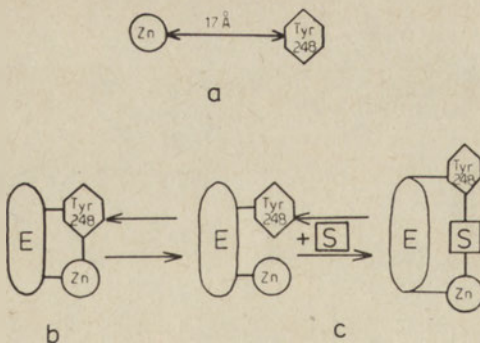
grup ϵ -aminowych w rybonukleazie (pK 10,2) (50), sprzyjając unikalnej reaktywności tej reszty.

V. Pierścień fenolowy tyrozyny

Klasycznym przykładem podwyższonej reaktywności chemicznej jest reaktywność tyrozyny w centrum aktywnym karboksypeptydazy A. Szereg modyfikacji chemicznych prowadzi do wybiórczego znakowania tylko jednej reszty tyrozylowej, spośród 19 występujących w karboksypeptydazie A (4, 51). Wybiórczo zmodyfikowaną tyrozinę 248 cechuje niższa stała dysocjacji, ponieważ znajduje się ona w pobliżu dodatnio naładowanego jonu Zn^{+2} (52). W cząsteczce aktywnego enzymu tyrozyna 248 tworzy kompleks z jonom cynku (52), co wywołuje jonizację grupy fenolowej. Warunkiem katalitycznego działania karboksypeptydazy jest występowanie tego kompleksu.

Zjonizowana fenolowa grupa tyrozyny 248 wiąże się z azotem wiązania peptydowego. W wyniku tej interakcji zwiększa się nukleofilowość azotu w substracie i wiązanie C—N ulega osłabieniu (4).

W stanie krystalicznym karboksypeptydazy, jonizacja grupy fenolowej tyrozyny 248 jest utrudniona (53), bowiem podczas krystalizacji enzymu Tyr 248 oddala się od atomu cynku. Johansen i Vallee (54) wykazali, że w stanie krystalicznym enzymu Tyr 248 jest oddalona o 17 Å od Zn^{+2} i nawet dodanie substratu (glicylo-L-tyrozyny), który powoduje przesunięcie pierścienia fenolowego o 12 Å w kierunku kationu, nie umożliwia utworzenia kompleksu cynk-tyrozyna. Zmiany w orientacji tyrozyny 248 w roztworze i w stanie krystalicznym enzymu ilustruje rycina 3.



Ryc. 3. Schemat stanów konformacyjnych karboksypeptydazy A w stanie krystalicznym (a) oraz w roztworze (b) i podczas interakcji z substratem (c) (55).

Nitrowanie czteronitrometanem dostarczyło informacji o roli dwu reszt tyrozylowych w nukleazie (E.C. 3.1.4.7) gronkowca (*Staphylococcus*) (56). W natywnej nukleazie tylko Tyr 85 ulega nitrowaniu przez ten odczynnik, a Tyr 115 staje się reaktywna dopiero w obecności współ-

zawodniczego inhibitora enzymu (dezoksytymidyno-3'5'-dwufosforanu) i jonów Ca^{+2} . Cuatrecasas i wsp. (56) sugerują, że w natywnym enzymie Tyr 85 charakteryzująca się nienormalnie niskim pK znajduje się na powierzchni enzymu, podczas gdy Tyr 115 jest zamaskowana. Przyłączenie nukleotydu indukuje zmiany konformacyjne prowadzące do przejścia Tyr 115 w otoczenie hydrofilowe. Efektem zmian konformacyjnych nukleazy jest zmiana podatności tyrozyny 115 na modyfikacje.

VI. Grupy β i γ -karboksylowe kwasu asparaginowego i glutaminowego

Krystalograficzne badania lizozymu (E.C. 3.2.1.17) jaja kurzego wykazały, że dwie spośród grup karboksylowych uczestniczą w katalizie, a jonizacja tych grup zależy od otaczającego środowiska (57). Grupa γ -karboksylowa Glu 35 występuje w hydrofobowej części cząsteczki lizozymu, natomiast zjonizowana grupa β -karboksylowa Asp 52 występuje w obszarze polarnym białka (57).

Fakt, że do aktywności katalitycznej pepsyny (E.C. 3.4.23.1) konieczne jest środowisko o niskim pH, sugerował udział grup karboksylowych w hydrolitycznym działaniu tego enzymu. Inaktywacja pepsyny przez bromek fenacylu była efektem modyfikacji grupy β -karboksylowej kwasu asparaginowego (58). Zastosowanie estru metylowego dwuazoacylo-L-feniloalaniny doprowadziło do identyfikacji miejsca modyfikacji. Grupę β -karboksylową znaleziono w sekwencji Ile—Val—Asp—Thr—Gly—Ser (59). Zakres pH, w którym działa pepsyna sugeruje, że źródłem protonu może być grupa karboksylowa enzymu. Proponowany mechanizm działania pepsyny uwzględnia udział dwu reszt karboksylowych, z których jedna działa jako donor protonów, natomiast druga w swej zdysocjowanej formie — jako nukleofil (58, 60). Szybka protonacja azotu w grupie CO—NH przez sąsiadującą grupę karboksylową powoduje silne zwiększenie elektronofilowości tej grupy. Zwiększona elektronofilowość umożliwia przyłączenie do enzymu zarówno wody jak i substratu (61). Stwierdzono dopiero niedawno, że dwie grupy karboksylowe w aktywnym centrum pepsyny związane są wiązaniem wodorowym. Grupy te zidentyfikowano jako Asp 32 o pK = 1,5 oraz Asp 215 o znacznie wyższej stałej dysocjacji pK = 4,5 (62).

VII. Pierścień indolowy tryptofanu

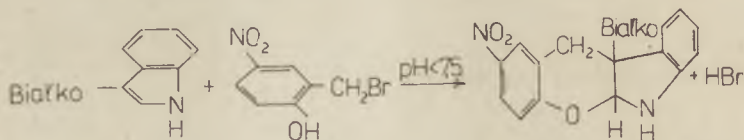
Chemiczne właściwości poszczególnych reszt aminokwasowych zależą od oddziaływań z sąsiadującymi grupami. Przykładem tego typu zależności jest tryptofan w lizozymie. Obecność trzech reszt tryp-

tofanylowych stwierdzono w symetrycznej głębokiej szczelinie, którą zidentyfikowano jako miejsce wiązania substratu (57). Związanie substratu z lizozymem odbywa się przy udziale sił Van der Waalsa w kontakcie z Trp 62, Trp 63 i Trp 108 (63). Traktowanie lizozymu N-bromoimidem kwasu bursztynowego* (NBS) powoduje wyłącznie modyfikację Trp 62 (65), natomiast jodowanie modyfikuje tylko Trp 108 (66). Badania krystalograficzne wskazują, że grupa N-H indolu Trp 108 tworzy wiązanie wodorowe z przyległą grupą karboksylową Glu 35 (66,67). Jonizacja pierścienia indolowego tryptofanu 108 umożliwia jego jodowanie. Prawdopodobnie NBS z powodu większego ciężaru cząsteczkowego nie ma dostępu do Trp 108, usytuowanego w głębi kieszonki katalitycznej. Reakcja z NBS jest mało specyficzna dla tryptofanu obecnego w lizozymie i dlatego należy być ostrożnym w zastosowaniu NBS jako odczynnika do ilościowego oznaczania odsłoniętych na powierzchni enzymu pierścieni indolowych (68). Ponadto NBS stosowany w odpowiednich warunkach powoduje hydrolizę wiązań peptydowych.

Biorąc pod uwagę wymienione fakty, Muszyńska i Ber (37) zastosowały, obok utleniania NBS, drugą niezależną metodę modyfikacji reszt tryptofanylowych w arginazie. N-bromoimid kwasu bursztynowego powodował obniżenie aktywności enzymatycznej. Zanik aktywności był wprost proporcjonalny do liczby utlenionych reszt tryptofanu. Podobne wyniki uzyskano po modyfikacji arginazy bromkiem 2-hydrokso-5-nitrobenzylu** — HNBB (odczynnikiem Koshlanda) reagującym specyficznie z tryptofanem (69). W obydwu niezależnych modyfikacjach utlenieniu jednej reszty tryptofanylowej na podjednostkę enzymu towarzyszyła 90% inaktywacja arginazy (37). Uzyskane wyniki wskazują, że w arginazie zarówno NBS jak i HNBB specyficznie modyfikowały pierścień indolowy reszty tryptofanu, który występuje prawdopodobnie w hydrofobowym miejscu wiążącym substrat.

* Przebieg utleniania tryptofanu w białkach N-bromoimidem kwasu bursztynowego można śledzić metodą spektrofotometryczną. W wyniku tej reakcji następuje obniżenie absorpcji modyfikowanego białka przy 280 nm i wzrost przy 261 nm (64). Schemat reakcji podano przednio (3).

** Alkylacja pierścienia indolowego w białku przez bromek 2-hydrokso-5-nitrobenzylu przebiega zgodnie z reakcją (wzór VI). Produkt reakcji w pH 10 wykazuje



charakterystyczne widmo pochłaniania z maksimum przy 410 nm, co pozwala na oznaczenie ilości zmodyfikowanych reszt tryptofanylowych w białku (35).

Uwagi końcowe

Grupy obecne w centrach aktywnych enzymów wykazują niezwykłą reaktywność chemiczną. Stan energetyczny centrum aktywnego wynika nie tylko ze struktury samego centrum, lecz także ze struktury przestrzennej całej cząsteczki enzymu. Dlatego należy zachować ostrożność w wyciąganiu wniosków o właściwościach centrów aktywnych enzymów z badań nad właściwościami układów modelowych odpowiadającymi tylko niewielkiemu obszarowi cząsteczki białkowej. Za zwiększoną reaktywność chemiczną grup wchodzących w skład centrum aktywnego odpowiedzialne są dodatkowe wiązania (najczęściej wodorowe). Wiązania wodorowe, stanowiące układ przenoszący ładunki z hydrofobowej części enzymu na jego powierzchnię, powodują jonizację ugrupowań funkcyjnych w enzymach i ich zwiększoną reaktywność chemiczną. W metaloenzymach zwiększona reaktywność niektórych grup czynnych jest wynikiem przemian elektronowych i konformacyjnych w otoczeniu jonów metalu. W enzymach prostych natomiast zwiększona reaktywność bocznych łańcuchów aminokwasowych wywołana jest oddziaływaniem z innymi resztami aminokwasowymi.

Artykuł otrzymano 20.4.1977; po rewizji autorskiej przyjęto 23.6.1978

PIŚMIENNICTWO

1. Vallee B. L., Williams R. J. P., (1968), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59, 498—505.
2. Palmarczyk G., Rytka J., (1970), *Post. Biochem.* 16, 231—247.
3. Palamarczyk G., w „Elementy Enzymologii” t. 32, red. J. Witwicki, W. Ardełt (w druku).
4. Vallee B. L., Riordan J. F., Auld D. S., Latt S. A., (1970), *Phil. Trans. Roy. Soc. London B* 257, 215—230.
5. Wilchek M., Bocchini V., Becker M., Givol D., (1971), *Biochemistry* 10, 2828—2834.
6. Fallor L., Sturtevant J. M., (1966), *J. Biol. Chem.* 241, 4825—4834.
7. Balls A. K., Jansen E. F., (1952), w *Advances in Enzymology*, t. 13, str. 321—343, red. Nord F. F., Interscience Publishers Inc., New York, London.
8. Matthews B. W., Sigler P. B., Henderson R., Blow D. M., (1967), *Nature* 214, 652—656.
9. Shaw E., (1970), *Physiol. Rev.* 50, 244—296.
10. Blow D. M., Birkoft J. J., Hartley B. S., (1969), *Nature* 221, 337—340.
11. Wright C. S., Alden R. A., Krant J., (1969), *Nature* 221, 235—242.
12. Gerwin B. J., (1967), *J. Biol. Chem.* 242, 451—456.
13. Wallenfels K., Eisele B., (1967), *Eur. J. Biochem.*, 3, 267—275.
14. Barel A. O., Glazer A. N., (1969), *J. Biol. Chem.* 244, 268—273.
15. Edsall J. T., Wyman J., (1958), *Biophysical Chemistry*, t. 1, rozdz. 8 i 9, str. 406—547, Academic Press, New York.
16. Husain S. S., Lowe G., (1968), *Biochem. J.* 108, 855—859.
17. Husain S. S., Lowe G., (1968), *Biochem. J.*, 108, 861—866.

18. Drenth J., Jansonius J. N., Koekoek R., Swen H. M., Wolthers B. G., (1968), *Nature* **218**, 929—932.
19. Brocklehurst K., Crook E. M., Kierstan M. P. J., (1972), *Biochem. J.* **128**, 979—982.
20. Brocklehurst K., Carlsson J., Kierstan M. P. J., (1973), *Biochem. J.* **133**, 573—584.
21. Brocklehurst K., Little G., (1970), *FEBS Letters* **9**, 183—186.
22. Carlsson J., Axén R., Brocklehurst K., Crook E. M., (1974), *Eur. J. Biochem.* **44**, 189—194.
23. Riordan J. F., Vallee B. L., (1972), w *Methods in Enzymology*, red. Hirs C.H.W., Timasheff S. N., t. 25, str. 449—456.
24. Muszyńska G., Severina L. O., Lobyreva L. W., (1972), *Acta Biochim Polon.* **19**, 109—116.
25. Muszyńska G., Reifer I., (1970), *Acta Biochim. Polon.* **17**, 247—252.
26. Ber E., Muszyńska G., Čechová D., (1978), *Bull. Acad. Polon. Sci.* (w druku).
27. Hirsch-Kolb H., Heine J. P., Kolb H. J., Greenberg D. M., (1968), *J. Biol. Chem.* **243**, 6123—6129.
28. Hensel R., Mayr U., Fujiki H., Kandler O., (1977), *Eur. J. Biochem.*, **80**, 83—92.
29. Brandbury S. L., (1969), *J. Biol. Chem.* **244**, 2002—2009.
30. Brandbury S. L., (1969), *J. Biol. Chem.* **244**, 2010—2016.
31. Stein W. D., Barnard E. A., (1959), *J. Mol. Biol.* **1**, 350—358.
32. Meadows D. H., Jardetzky O., Epand R. M., Ruterjans H. H., Scheraga H. A., (1968), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **60**, 766—772.
33. Crestfield A. M., Stein W. H., Moore S., (1963), *J. Biol. Chem.* **238**, 2413—2420.
34. Crestfield A. M., Stein W. H., Moore S., (1963), *J. Biol. Chem.* **238**, 2421—2428.
35. Means G. E., Feeney R. E., (1971), w *Chemical Modification of Proteins*, Holden-Day, Inc., San Francisco, Cambridge, London, Amsterdam.
36. Rybarska J., Ostrowski W., (1974), *Acta Biochim. Polon.* **21**, 377—390.
37. Muszyńska G., Ber E., (1976), *Abstr. 10th Int. Congr. Biochem. IUB*, Hamburg, str. 182.
38. Hirsch-Kolb H., Kolb H., Greenberg D. M., (1971), *J. Biol. Chem.* **246**, 395—401.
39. Palacios R., Huitrón C., Soberón G., (1969), *Biochem. J.* **114**, 449—454.
40. Muszyńska G., Ber E., (1978), *Int. J. Biochem.* (w druku).
41. Vallee B. L., Wacker W.E.C., (1970), w *The Proteins*, t. 5, str. 147, red. Neurath H., Academic Press, New York, London.
42. Mildvan A. S., Cohn M., (1966), *J. Biol. Chem.* **241**, 1178—1193.
43. Lange L. G., Riordan J. F., Vallee B. L., (1974), *Biochemistry*, **13**, 4361—4370.
44. Vallee B. L., Riordan J. F., (1968), *Brookhaven Symp. Biol.* **21**, 91—119.
45. Riordan J. F., (1970), *Abstr. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **29**, 462.
46. Riordan J. F., (1973), *Biochemistry* **12**, 3915—3923.
47. Deamen F.J.M., Riordan J. F., (1974), *Biochemistry* **13**, 2865—2871.
48. Takahashi K., (1968), *J. Biol. Chem.* **243**, 6171—6179.
49. Yankeelov J. A. Jr., (1972), w *Methods in Enzymology*, red. Hirs C.H.W., Timasheff S. N., t. 25, str. 566—579.

50. Hirs C.H.W., Halman M., Kycia J. N., (1961), w *Biological Structure and Function*, t. 1, str. 41—57, red. Goodvin T. W., Lindberg O., Academic Press, New York, London.
51. Quioco F. A., Lipscomb W. N., (1971), w *Advances in Protein Chemistry*, red. Anfinsen C. B. Jr., Edsall J. T., Richards F. M., t. 25, str. 1—78, Academic Press, New York, London.
52. Muszyńska G., Riordan J. F., (1976), *Biochemistry* 15, 46—51.
53. Riordan J. F., Muszyńska G., (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 57, 447—451.
54. Johansen J. T., Vallee B. L., (1971), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 68, 2532—2535.
55. Vallee B. L., (1976), Abstr. 10th Int. Congr. Biochem. IUB, Hamburg, str. 369.
56. Cuatrecasas P., Fuch S., Anfinsen C. B., (1968), *J. Biol. Chem.* 243, 4787—4798.
57. Blake C.C.F., Johnson L. V., Mair G. A., North A.C.T., Phillips D. C., Sarma V. R., (1967), *Proc. Roy. Soc. London*, ser. B, 167, 378—388.
58. Fruton J. S., (1971), w *The Enzymes*, red. Boyer P. D., t. 3, str. 119—164, Academic Press, New York, London.
59. Bayliss R. S., Knowles J. R., Wybrandt G. R., (1969), *Biochem. J.* 113, 377—386.
60. Delpierre G. R., Fruton J. S., (1965), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 54, 1161—1167.
61. Wang J. H., (1970), w *Structure-Function Relationships of Proteolytic Enzymes*, str. 251, red. Desnuelle P., Neurath H., Otteson M., Munksgaard, Copenhagen.
62. Andreeva N. S., Antonov V. K., (1976), 3rd All-Union Symposium „Structure and Function Active Centers of Enzymes”, Puszczino, ZSRR.
63. Koshland D. E. Jr., Neet K. E., (1968), *Ann. Rev. Biochem.* 37, 359—410.
64. Spande T. F., Witkop B., (1967), w *Methods in Enzymology*, red. Hirs C.H.W., t. 11, str. 498—532.
65. Hayashi K., Imoto T., Funatsu G., Funatsu M., (1965), *J. Biochem.* 58, 227—235.
66. Hartdegen F. J., Rupley J. A., (1967), *J. Am. Chem. Soc.* 89, 1743—1745.
67. Hartdegen F. J., Rupley J. A., (1964), *Biochim. Biophys. Acta* 92, 625—627.
68. Kronman M. J., Robbins F. M., Andreotti R. E., (1967), *Biochim. Biophys. Acta* 147, 462—472.
69. Barman T. E., Koshland D. E. Jr., (1967), *J. Biol. Chem.* 242, 5771—5776.

KOMUNIKAT

Instytut Reumatologiczny wspólnie z Sekcją Tkanki Łącznej Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz z Polskim Towarzystwem Reumatologicznym organizują w dniach 28—29.05.1979 r. Sympozjum Osteologiczne w Ustroniu-Zawodziu (w Śląskim Szpitalu Reumatologicznym).

Tematy Sympozjum obejmują:

1. Biologia tkanki kostnej (biochemia, histochemia, struktura, metabolizm).
2. Patologia tkanki kostnej (aspekty patomorfologiczne i kliniczne oraz metaboliczne).

Referaty na Sympozjum proszę zgłaszać do dnia 31.01.1979 r. na ręce Przewodniczącego Komitetu Organizacyjnego Sympozjum:

Doc. dr hab. med. Zbigniew Gburek
Dyrektor Śląskiego Szpitala Reumatologicznego
43-450 Ustroń — Zawodzie

Przewidywany jest udział uczestników z Czechosłowacji, NRD i Węgier.

SPRAWOZDANIA

Biochemische Analytik 78 (Zjazd) “Analytica 78” (Wystawa)

München (Monachium), 18—21 kwietnia 1978

Europejskie Zjazdy Analityki Biochemicznej (Biochemische Analytik 78) organizowane są przez Niemieckie Towarzystwo Chemii Klinicznej (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie), Towarzystwo Niemieckich Chemików ze specjalnościami Chemii Analitycznej i Chemii Żywności oraz Chemii Sądowej (Gesellschaft Deutscher Chemiker mit den Fachgruppen „Analytische Chemie” und „Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie”) oraz Towarzystwo Chemii Biologicznej (Gesellschaft für Biologische Chemie). Równolegle ze zjazdem już od lat dziesięciu odbywa się międzynarodowa Wystawa aparatury chemicznej, chemikaliów i nowych propozycji metod analitycznych pt. *Analytica 78*.

Przewodniczącym tegorocznego Zjazdu był Prof. Dr. Dr. J. Büttner z Instytutu Chemii Klinicznej w Hanowerze, a sekretarzem Dr. Rosemarie Vogel z Uniwersytetu w Monachium.

W programie Zjazdu odbyły się 4 posiedzenia główne. Na każdym z nich wygłoszono po 4 referaty plenarne. Na przed- i popołudniowych posiedzeniach w różnych sekcjach wygłoszono bardzo wiele komunikatów, zwłaszcza z takich dziedzin, jak:

- analityka substancji tkankowych oraz substancji obcych w materiale biologicznym,
- analityka farmaceutyczna, toksykologiczna i mikrośladów ciał czynnych w materiale biologicznym,
- nowe metody optyczne, spektrofotometryczne, spektrometrii masowej,
- metody immunologiczne, enzymatyczne, immunoradiologiczne,
- nowe metody chromatograficzne z uwzględnieniem chromatografii powinowactwa,
- badania procesu krzepnięcia krwi,
- zastosowanie mikro i ultramikrometod w różnych dziedzinach analizy chemicznej.

W ramach Zjazdu odbyło się Sympozjum na temat analizy składników śladowych występujących w rozmaitych materiałach. Moderatorami posiedzenia okrągłego stołu byli Prof. W. Fresenius (Wiesbaden) i Prof. G. Tölg (Schwäbisch Gmünd). Tematem wiodącym tego Sympozjum było pytanie: w jaki sposób uzyskać można najbardziej efektywne i rzetelne wyniki w analizie składników śladowych w odniesieniu do rozdzielania i oznaczania pierwiastków i związków m.in. na przykład organicznych ciał czynnych występujących w materiale biologicznym. W referatach przedstawiono opisy nowych odpowiednio czułych metod analitycznych np. z zastosowaniem elektrod jonoselektywnych, z zastosowaniem chromatografii gazowej chelatów, — a także możliwości i graniczne czułości tych metod w zastosowaniu ich w różnych dziedzinach nauk przyrodniczych m.in. w chemii żywności i w analizie klinicznej. Wykazano, że umiejętności analityczne w zakresie wykrywania i oznaczania składników śladowych (najczęściej w ilościach ppb tj. 1 µg na 1 kg badanego materiału) są koniecznym warun-

kiem właściwego rozpoznania zagadnień dotyczących ochrony środowiska i przyrody. Prof. Baltes (Berlin Zach.) referował zagadnienia oznaczania śladowych zanieczyszczeń w produktach żywnościowych, a Prof. Ballschmiter (Ulm) rozważał problem rozprzestrzeniania się i utrzymywania się w wodzie, glebie i powietrzu mikroilości składników produkowanych na świecie chemikaliów.

Na Zjeździe działały także zespoły dyskusyjne oraz Zebrania Ekspertów z różnych specjalności (np. European Quality Control Working Group, moderator D. Laue, Köln).

W ramach Zjazdu zorganizowano grupy szkoleniowe tzw. Praktika. Przeprowadzone kursy dotyczyły zagadnień:

- immunoenzymatycznych (R. Haeckel i M. Oellerich z Hanoweru),
- immunoradiologicznych (R. Friedel i I. Trautschold z Hanoweru),
- zastosowania elektrod jonoselektywnych (K. Cammann i H. L. Schmidt z Monachium),
- zastosowania mikrokalorymetrii (H.-J. Hinz i H. Wiesinger z Regensburga).

W obsłudze kursów szkoleniowych *Praktika* brały udział liczne firmy produkujące aparaturę wraz z zespołami fachowców np.: Behringwerke A. G. Marburg, Boeringer Mannheim, E. Leitz Wetzlar, LBK Instrument München, C. Zeiss Oberkochen i inne).

Połączenie obu imprez: Europejskiego Zjazdu Analityki Biochemicznej oraz niezwykle bogatej wystawy Analytica 78 wykazało nieodparcie, że postęp wiedzy w dziedzinie analizy chemicznej różnego rodzaju materiału, związany jest ściśle z właściwym postępowaniem w dziedzinie budowy odpowiedniej aparatury i produkcji selektywnych i czystych odczynników. Ocena jednakże osiągnięć analitycznych, uzyskiwanych za pomocą coraz doskonalszych technik i aparatury, leżeć zawsze będzie w gestii dobrze przygotowanego, rzetelnego i krytycznego chemika-analityka.

M. A. Smoczkiewiczowa

VI-th International Symposium on Flavins and Flavoproteins Osaka-Kobe, 13—17 marca 1978

Międzynarodowe Sympozja „Flavins and Flavoproteins” zainicjowane przez Hugo Theorella i E. C. Slatera w 1965 roku (Amsterdam) odbywają się od tego czasu w zasadzie co trzy lata w gronie badaczy zapraszanych przez Komitet organizacyjny. Podobnie jak w przypadku poprzednich Sympozjów (Amsterdam 1965, Nagoya 1967, Durham 1969, Konstanz 1972 oraz San Francisco 1975) do udziału zaproszono zarówno przedstawicieli najsilniejszych ośrodków jak i autorów najciekawszych prac badawczych w zakresie szeroko pojmowanej tematyki flawinowej. W obradach wzięło udział 120 uczestników, z czego aż 73 z Japonii, 23 z USA, 22 z Europy (w tym autor sprawozdania jako jedyny przedstawiciel krajów socjalistycznych) oraz po jednym z Nowej Zelandii i Izraela.

Komitet Organizacyjny w składzie: P. Hemmerich (RFN), H. Kamin, V. Massey, T. P. Singer (USA), C. Veeger (Holandia), Y. Miyake, T. Nakamura, K. Yagi, T. Yamano (Japonia) pod przewodnictwem tego ostatniego zaproponował tematykę obrad w układzie nie odbiegającym w istotny sposób od przyjętego na poprzednim Sympozjum (w nawiasach ilości referatów):

- Chemiczne aspekty działania flawin, analogi koenzymów (5), analogi substratów (4),
- Aktywacja tlenu uzależniona od flawoproteidów (8),
- De- i hydrogenacja uzależniona od flawoproteidów (7),

Flawiny kowalennie związane (6),
Reaktywne produkty pośrednie flawoproteidów (6),
Oddziaływania białka — flawiny (7),
Fizykochemia flawin (9),
Chemia flawoproteidów (6),
Metabolizm i biosynteza flawin (6),
Flawoproteidy złożone (6),

Flawoproteidy w układach oksydaz o mieszanych funkcjach (8).

Obrady odbywały się w formie posiedzeń plenarnych, na których uczestnicy przedstawiali referaty z reguły 20-minutowe (łącznie z dyskusją). Liczne przerwy umożliwiały kontynuowanie dyskusji w kularach. Ten bardzo tradycyjny sposób organizacji obrad, zrównujący szanse wszystkich uczestników, utrudnił jednak dyskusje w czasie sesji, tym bardziej, że nieoczekiwanie na Sympozjum nie przybyli T. C. Bruice i P. Hemmerich dynamizujący zwykle przebieg obrad.

Wśród przedstawionych prac przeważały kontynuacje tematów z bardzo wyraźnie zaznaczającą się tendencją do wypełniania luk w dotychczasowych opracowaniach. Szczególnie dużo uwagi poświęcono chemiczno-strukturalnym aspektom aktywności flawin i flawoproteidów, co znalazło swój wyraz w sporej ilości prac poświęconych fizykochemicznym własnościom izoalloksazyn (i alloksazyn) w tym także 5-deaza i 1-deaza. Do ciekawszych należy zaliczyć również wyniki prac nad biosyntezą flawin oraz wstępne dane dotyczące lokalizacji flawin w trójwymiarowej strukturze białek i prawdopodobnych struktur występujących w centrach aktywnych.

Komitet Organizacyjny dzięki zainteresowaniu pracami Sympozjum instytucji rządowych, fundacji oraz przemysłów chemicznego i farmaceutycznego, zgromadził środki pozwalające na pokrycie uczestnikom kosztów pobytu i odbycie obrad w luksusowym Rokko Oriental Hotel malowniczo położonym na szczycie góry Rokko nad zatoką Osaka—Kobe. Przepiękne otoczenie, spokój i skuteczna izolacja od wielkomiejskich ośrodków pozwoliły uczestnikom na skoncentrowanie się na problematyce Sympozjum w czasie obrad i nieformalnych dyskusjach.

Materiały Sympozjum zostaną wydane do końca bieżącego roku. Prof. V. Massey podjął się organizacji kolejnego Sympozjum w Ann Arbor (USA) za trzy lata.

J. Kozioł

VII ZJAZD
POLSKIEGO TOWARZYSTWA DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ

15—17 wrzesień 1979 Szczecin

ADRES ORGANIZATORÓW: ZAKŁAD BIOCHEMII KLINICZNEJ INSTYTUTU CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH POMORSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ, 70-111 SZCZECIN, AL. POWSTAŃCÓW WLKP. 72, TELEFON: 82-12-51.

Komunikat nr 1

VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej odbędzie się w Szczecinie w dniach od 15—17 września 1979 r. Tematem Zjazdu będzie „OPTYMALIZACJA BADAŃ LABORATORYJNYCH W PROCESIE DIAGNOZY”. Temat Zjazdu rozwijany będzie w następujących sesjach problemowych:

- 1) Laboratoryjne badania screeningowe — istota — technika — przydatność społeczna.
- 2) Standaryzacja metod laboratoryjnych.
- 3) Wiarygodność badań laboratoryjnych i metody kontroli jakości badań.
- 4) Modele matematyczno-statystyczne w diagnostyce laboratoryjnej.
- 5) Diagnostyka mikrobiologiczna.
- 6) Diagnostyka laboratoryjna w ostrych schorzeniach układu krążenia.
- 7) Badania laboratoryjne w diagnostyce gastroenterologicznej.
- 8) Diagnostyka laboratoryjna zaburzeń hemostazy.
- 9) Toksykologia kliniczna.
- 10) Zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej i kwasowo-zasadowej.
- 11) Diagnostyka laboratoryjna zaburzeń metabolicznych.
- 12) Metody immunologiczne i radioimmunologiczne.
- 13) Diagnostyka laboratoryjna schorzeń wątroby.
- 14) Diagnostyka laboratoryjna schorzeń układu krwiotwórczego.

Na poszczególne sesje Zjazdu złożą się referaty problemowe i komunikaty wygłoszone oraz przedstawiane w formie „posterów” zakwalifikowane przez Komitet Naukowy Zjazdu.

Wpisowe za udział w Zjeździe wynosi 200 zł dla członków PTDL, 250 zł dla osób towarzyszących oraz 400 zł dla pozostałych czynnych uczestników Zjazdu.

Osoby zainteresowane uczestnictwem w Zjeździe proszone są o przesłanie zgłoszenia na adres Komitetu Organizacyjnego do dnia 1 grudnia br.

RECENZJE

Nauczanie biofizyki na stosowanych kierunkach studiów biologicznych

Stanisław Przestalski

Fizyka z elementami biofizyki i agrofizyki

Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, 1977, str. 555.

Wśród nauczających biochemię na Wydziałach Lekarskich, a także na innych wydziałach kształcących specjalistów w różnych stosowanych kierunkach biologicznych, panują dwie grupy poglądów na pozycję i znaczenie biofizyki w procesie dydaktycznym. Jedni uważają, że fizyka i niektóre elementy biofizyki powinny być wykładane przed biochemią i fizjologią i mają stanowić przygotowanie do nauczania o molekularnych i integracyjnych podstawach funkcjonowania żywych organizmów. Ma się to przygotowanie odbywać poprzez nauczanie fizycznych podstaw zjawisk przyrodniczych, a także poprzez wskazanie fizycznych metod stosowanych do badania cząsteczek chemicznych, ich przemian, oraz do badania czynności komórek, tkanek, narządów i całych organizmów. Taką mniej więcej pozycję zajmuje fizyka i biofizyka w zamierzeniach obecnie obowiązujących programów nauczania w akademiach medycznych i rolniczych.

Druga grupa poglądów na pozycję nauczania fizyki i biofizyki zakłada, że program nauczania fizyki w polskich szkołach średnich jest obecnie wystarczający do tego, aby bez jego powtarzania przystąpić do uczenia się biochemii i fizjologii. Należałoby więc nauczać wyłącznie biofizykę, bez potrzeby powtarzania podstawowych pojęć o fizycznej istocie zjawisk. Z tego względu biofizyka mogłaby być nauczana równoległe z biochemią i fizjologią, lub nawet po nabyciu wiadomości z tych dwóch przedmiotów, przy czym byłoby to uściślenie, ujęcie w matematyczną postać tych zjawisk molekularnych i fizjologicznych, które w taki właśnie sposób zostały już przez współczesną biofizykę opracowane.

Podręcznik profesora S. Przestalskiego przeznaczony jest dla studentów poddanych procesowi dydaktycznemu według pierwszej z wymienionych koncepcji programowych, głównie dla studentów akademii rolniczych. Jednakże omawiany podręcznik nie jest konsekwentnie podporządkowany koncepcji przedstawienia istoty metod fizycznych stosowanych współcześnie do badania cząsteczek chemicznych, ich przemian, funkcjonowania komórek, narządów i całych organizmów. Znaczną większość objętości książki zajmuje omówienie pojęć o fizycznej istocie zjawisk przyrodniczych, a więc to, co jest także przedmiotem nauczania w ogólnokształcących szkołach średnich. Problemy te są przedstawione w sposób opisowy i przystępny, z użyciem raczej skromnego aparatu matematycznego, bez wprowadzania równań opisujących prawa

fizyczne. Treść podzielona jest na 5 części, zawiera również część wstępną (krótko ujęte wiadomości o wyrażaniu zależności, o wektorach, o różniczkowaniu i całkowaniu), oraz część uzupełniającą, z tabelami symboli i wielkości fizycznych, wartościami wybranych stałych fizycznych i matematycznych. Książka jest bardzo ładnie wydana, zawiera bardzo dużo schematów, w znacznej mierze dwubarwnych, które w znakomity sposób trafiają do wyobraźni czytelnika. Każda strona jest opatrzona tytułem rozdziału i podrozdziału, na marginesie umieszczone są barwnym drukiem wyróżnione nazwy równań, praw i zjawisk, o których jest mowa w tekście. Układ graficzny sprzyja więc uczeniu się z tego podręcznika, powtarzaniu materiału przed egzaminem, a także wyszukiwaniu potrzebnych aktualnie czytelnikowi zależności i wzorów. Uczenie się ułatwione jest także umieszczeniem zestawu pytań i zadań na końcu każdego podrozdziału.

Zapewne dlatego, że koncepcję całej książki podporządkowano przedstawieniu fizycznej istoty zjawisk przyrodniczych, niewiele tylko miejsca poświęcono wyjaśnieniu istoty metod fizycznych stosowanych w badaniu zjawisk biologicznych i zrobiono to w sposób nie zawsze odpowiadający potrzebom współczesnego nauczania biochemii. Np. na str. 190—191 opisano wprawdzie zjawisko skręcania płaszczyzny polaryzacji światła i wspomniano o zastosowaniu polarymetrii do badań stężenia cukru, nie wspomniano jednak o spektropolarymetrii, dyspersji optycznej rotacji (ORD) i dichroizmie kołowym (CD) — metodach istotnie ważnych we współczesnym badaniu cząsteczek chemicznych. To samo można by odnieść do braku wzmianki o elektronowym rezonansie paramagnetycznym (EPR).

Niektóre zjawiska biologiczne, omówione przy różnych okazjach w podręczniku, także ucierpiały pod względem ścisłości ich przedstawienia, zapewne ze względu na nadmierne skróty. Np. przedstawianie biochemicznych podstaw procesu widzenia jako jedynie dysocjacji rodopsyny, bez wspomnienia o przechodzeniu całkowicie — *trans* retinalu w postać 11-*cis* i o procesach oksydoredukcyjnych retinolu i retinalu, nie wydaje się dzisiaj właściwe. (str. 495). Podobnie trudno się zgodzić z równaniem 1-497 na stronie 497 mającym opisywać proces fotosyntezy, w wiele lat po opisaniu cyklu Calvina. Należałoby albo w ogóle pominąć podawanie równania fotochemicznej redukcji dwutlenku węgla, albo tak je sformułować, ażeby nie mogło sugerować że produktem fotosyntezy jest formaldehyd, gdyż takie przypuszczenia wysuwano ponad dwadzieścia lat temu i okazały się one nieprawdziwe. Nieprawdziwe jest także zdanie, że „... sześć takich grup ($-\text{CH}_2\text{O}$) tworzy, prawdopodobnie w kilku etapach, cukier”. Ci sami studenci, którzy będą korzystali z omawianego podręcznika fizyki, w którymś z następnych semestrów będą uczyli się o biochemii fotosyntezy i nie powinni mieć wrażenia, że biofizyczny opis tego procesu prowadzi do innych wniosków aniżeli biochemiczny.

W sumie jednak należy uznać ukazanie się podręcznika „Fizyki z elementami biofizyki i agrofizyki” S. Przestalskiego za zdarzenie pomyślne. Nauczanie tego przedmiotu na studiach medycznych i rolniczych budzi wciąż od nowa dyskusje programowe i kontrowersje pomiędzy zwolennikami przydatności tego przedmiotu w toku dalszych studiów. Być może istnienie tego podręcznika będzie bodźcem do ponownego rozważania celu, jaki chcemy osiągnąć przez nauczanie fizyki i biofizyki studentów kształcących się w stosowanych kierunkach biologicznych. Dla studentów akademii rolniczych omawiana książka będzie niewątpliwie cenną pomocą dydaktyczną; w pewnej mierze będą z niej również korzystać studenci akademii medycznych. Dla grona nauczającego i decydującego o programach nauczania książka ta może być punktem wyjścia do ustalenia celu, jaki chcemy osiągnąć przez nauczanie fizyki na wydziałach medycznych i rolniczych.

M. Żydowo

S. Aiba, A. E. Humphrey, N. F. Millis

Inżynieria Biochemiczna

Wydawnictwa Naukowo-techniczne, Warszawa, 1977, wydanie II, stron 458, rycin 59, schematów 137, tabel 49, cena 140 zł.

Książka „Inżynieria Biochemiczna” jest polskim tłumaczeniem oryginału angielskiego z 1973 roku, Książka ta powstała w pierwotnej wersji w roku 1965 i jako taka miała również pierwsze wydanie polskie w roku 1970. Wydanie to nie wytrzymało już jednak próby czasu i dobrze się stało, że do rąk polskich czytelników trafia teraz tłumaczenie wydania II podręcznika, gruntownie przez autorów przepracowanego i uzupełnionego.

„Inżynieria Biochemiczna” jest książką adresowaną w założeniu do szerokiego grona czytelników, nie tylko do inżynierów pracujących w przemyśle spożywczym czy fermentacyjnym. Stąd też szeroki zakres omawianych zagadnień.

Pierwsze pięć rozdziałów to właściwie skrót podstawowych wiadomości z biologii i biochemii organizmów, z którymi stykamy się w procesach przemysłowych (wirusy, bakterie, pierwotniaki, grzyby). Zwraca tutaj uwagę trafnie zredagowany i dobrze napisany rozdział 3, poświęcony metabolizmowi drobnoustrojów. W podręcznikach typowo biochemicznych drogi metaboliczne drobnoustrojów omawiane są przeważnie marginesowo i niedokładnie, co stanowi prawdziwą zmołę studentów biochemii różnych uczelni, gdyż temat ten często przewija się przez sale egzaminacyjne. Dzięki gruntownemu opisaniu tych zagadnień w „Inżynierii Biochemicznej” książka ta ma szansę zdobycia sobie dodatkowego grona wdzięcznych czytelników. Rozdział poświęcony metabolizmowi drobnoustrojów jest zresztą równie ważny z punktu widzenia właściwego zrozumienia omawianych dalej procesów fermentacyjnych. Ciekawie wyłożono też kinetykę enzymatyczną w rozdziale 4, posługując się szeregiem rozwiązanych konkretnych przykładów obliczania parametrów kinetycznych reakcji w zmiennych warunkach środowiska. Ten sposób wykładu nie ułatwia może w sposób dostateczny samego zrozumienia zagadnień kinetycznych, ale jest z pewnością pomocny w przypadkach planowania optymalnego przebiegu konkretnej reakcji enzymatycznej w różnej skali (laboratoryjnej czy przemysłowej) przez czytelnika o niewielkim doświadczeniu biochemicznym.

Podobnie potrzebny wydaje się rozdział poświęcony planowaniu i prowadzeniu ciągłej hodowli komórkowej, wzbogacony o wywód teoretyczny. Konieczność prowadzenia różnego typu hodowli ciągłych występuje w wielu dziedzinach biologii, niekoniecznie związanych z przemysłem. Coraz częściej używa się na przykład hodowli komórkowych jako materiału doświadczalnego w laboratoriach naukowych. Dostępność rzetelnego opisu prowadzenia takiej hodowli w polskim piśmiennictwie fachowym należy więc powitać z radością.

Dalsze części „Inżynierii Biochemicznej” dają szeroki wachlarz wiedzy technicznej z zakresu planowania i prowadzenia procesów fermentacyjnych. Książka omawia stosowaną aparaturę, metody napowietrzania i mieszania płynów fermentacyjnych, pracę w warunkach jałowych, metody przenoszenia wyników hodowli ze skali laboratoryjnej czy pół-technicznej na skalę przemysłową, sposoby wyodrębniania produktów fermentacji czy wreszcie nowoczesne metody pomiarów i regulacji warunków panujących w środowisku fermentacyjnym (regulacja komputerowa). Opisane są również możliwości używania opracowanej przed kilku zaledwie laty metody enzymów nieruchomionych w procesach fermentacyjnych. Metoda ta znajduje coraz szersze zastosowanie w nowoczesnym przemyśle fermentacyjnym (czujniki enzy-

matyczne, syntezy w skali przemysłowej) i wciąż nie jest jeszcze w pełni wykorzystana. Fakt opisania tej metody w „Inżynierii Biochemicznej” świadczy niewątpliwie o nowoczesności książki.

Podstawową wadą „Inżynierii Biochemicznej” jest pewna skrótowość i często powierzchowność w omawianiu zagadnień. Liczne wzory i tabele zastępują tu często potrzebny komentarz autorski, który ułatwiłby zrozumienie przedstawianego problemu. Nie należy jednak zapominać, że jest to książka adresowana do szerokiego i zróżnicowanego grona czytelników. Jej skrótowość wynika zatem z konieczności ograniczenia objętości książki przy jednoczesnym traktowaniu o wielu różnych zagadnieniach. Stosowanie licznych wzorów związane jest zaś z koniecznością matematycznego ujęcia problemów w chwili ich rozpatrywania w płaszczyźnie zastosowań przemysłowych. Autorzy zadbali przy tym o zaopatrzenie każdego rozdziału w spis literatury uzupełniającej i wnikliwy czytelnik może bez trudu rozszerzyć potrzebną mu w danym temacie wiedzę. Dobrym pomysłem było też umieszczenie przy każdym rozdziale podsumowania, w którym ujęte są krótko najważniejsze zagadnienia poruszone w danej partii materiału. Ułatwia to znacznie przyswojenie zawartych w rozdziale informacji.

Książka ta ma również pewną niebagatelną zaletę — jest jasno i ciekawie napisana. Być może jest to wynik jej dobrego przetłumaczenia, faktem jest jednak, że czytelnik otrzymuje do rąk podręcznik, który go nie nudzi. To bardzo istotne.

Reasumując, „Inżynieria Biochemiczna” to nowoczesna, wielostronna i dobrze napisana książka, użyteczna i potrzebna zarówno biologom, jak inżynierom-chemikom. Ma też wszelkie dane, aby stać się lubianym podręcznikiem studentów akademii, rolniczych i politechnik.

Pozostaje jedynie mieć nadzieję, że nakład jej II polskiego wydania (3500 egzemplarzy) okaże się adekwatny do potrzeb. Słaba to jednak nadzieja.

M. J. Nałęcz

Lipid Metabolism in Mammals

pod redakcją F. Snydera,

Plenum Press, 1977, New York and London

tom 1 — stron 402 + XVIII, rycin 40, tabel 4, cena 51 \$;

tom 2 — stron 390 + XVIII, rycin 37, tabel 54, cena 51 \$

W ciągu kilku ostatnich lat osiągnięto znaczny postęp w badaniach nad metabolizmem lipidów w tkankach ssaków. Badania te pozwoliły na wyciągnięcie wniosku, że przemiany lipidowe zachodzące w różnych tkankach mimo szeregu tych samych reakcji biosyntezy i rozpadu nie mogą być ujęte za pomocą jednego schematu. Skłoniło to redaktora do zainicjowania niniejszego wydawnictwa. Zebrany został w nim materiał dotyczący przemian zachodzących w różnych narządach. Poszczególne rozdziały tomów napisane zostały przez znanych specjalistów, którzy sami wnieśli istotny wkład w badania.

Rozdział pierwszy tomu 1 napisany przez L. M. G. van Golde'go i S. G. van den Bergha stanowi wprowadzenie i zawiera omówienie głównych szlaków metabolicznych występujących w wielu tkankach. W rozdziale tym omówione zostały zwięźle takie zagadnienia, jak biosynteza i utlenianie kwasów tłuszczowych, różne drogi biosyntezy i rozpadu fosfolipidów dwuacylowych i eterowych, biosynteza lipidów

neutralnych i cholesterolu. Rozdział drugi, napisany przez tych samych autorów, omawia metabolizm tkanki wątrobowej. Rozdział ten objętościowo największy napisany został w oparciu o bardzo bogate piśmiennictwo. Sporo miejsca, oprócz biosyntezy kwasów tłuszczowych poświęcone zostało ketogenezie i jej regulacji. Dokładnie omówione zostały różne drogi biosyntezy i rozpadu fosfolipidów. Ponadto w rozdziale omówiono zagadnienie wymiany fosfolipidów pomiędzy błonami biologicznymi, a także syntezy i rozpadu lipoproteidów. Dwa końcowe podrozdziały dotyczą metabolizmu cholesterolu, kwasów żółciowych i innych lipidów żółci, wpływu niektórych leków na metabolizm, a także przemian w wątrobie patologicznej (*fatty liver*). Kolejny rozdział tomu napisany przez J. M. Johnstona poświęcony jest zagadnieniu trawienia i wchłaniania lipidów oraz przemianom metabolicznym zachodzącym w komórkach śluzówki jelita. Szeroko omówiony został szlak acylacji monoglicerydów charakterystyczny dla tej tkanki. Następne cztery rozdziały dotyczą metabolizmu lipidowego składników krwi. Rozdziały te poprzedza krótkie wstępne wprowadzenie S. B. Shoheta, który jest również autorem rozdziału o erytrocytach. Dalej omówiony jest metabolizm lipoproteidów (autor J. P. Kane), krwinek białych (autor P. Elsbach) oraz płytek krwi (autor D. Deykin). Kolejne rozdziały książki dotyczą metabolizmu tkanki tłuszczowej (autor B. Shapiro), tkanki mózgowej (autor R. L. Wykle) i mięśnia sercowego (autor J. R. Gilbertson). W rozdziale dotyczącym tkanki tłuszczowej główny nacisk położony został na zagadnienie rozpadu trójglicerydów i hormonalną regulację lipolizy. Przy omawianiu tkanki mózgowej szeroko potraktowane zostało zagadnienie biosyntezy i rozpadu glikosfingolipidów. W rozdziale o metabolizmie mięśnia sercowego główny nacisk położony został na proces utleniania kwasów tłuszczowych, który w tej tkance odgrywa niepoślednią rolę.

Tom 2 zawiera artykuły omawiające metabolizm lipidowy następujących narządów: płuca (autor M. F. Frosolono), nerki (autorzy J. Tou i C. G. Huggins), narządów rozrodczych (autor J. G. Coniglio), gruczołu mlecznego (autor R. R. Dils), oka (autorzy R. M. Broekhuysse i F. J. M. Daemen), gruczołu Hardera (autor C. O. Rock) oraz mięśni szkieletowych (autor K. Waku), skóry (autor M. R. Grigor) i tkanek kalcyfikujących (autor T. R. Dirksen). Z wielu poruszonych problemów, takie jak biosynteza dwupalmitylolecytyny w tkance płucnej czy metabolizm witaminy D₃ w nerce, są nadal przedmiotem szczególnego zainteresowania. Kilka ostatnich rozdziałów poświęconych jest różnicom metabolicznym pomiędzy komórkami zdrowymi a nowotworami (autorzy T. Lee i F. Snyder), użyciu kultur tkankowych w badaniu regulacji metabolizmu lipidów (autor J. M. Bailey) oraz zmianom lipidowym w czasie wzrostu i rozwoju niektórych komórek (autor C. A. Pasternak).

Omawiane wydawnictwo ma charakter źródłowy i jest na pewno bardzo przydatne biochemikom pracującym w dziedzinie biochemii lipidów. Wydawnictwo to można także polecić doktorantom, jak również lekarzom interesującym się przemianami lipidowymi w tkankach.

Obydwa tomy wydane zostały w ramach serii „Monographs in Lipid Research”, której redaktorem jest D. Kritchevsky.

J. Zborowski

David Heinz

Quantitative Ultrastructural Data of Animal and Human Cells.

VEB Georg Thieme, 1977, Leipzig, stron 495, tabel 695, cena 119,5 M

Rozwój badań w zakresie różnych kierunków biologii komórki pozwolił na uzyskanie w ostatnich latach bardzo wielu danych orześlających parametry tkanek, komórek, struktur subkomórkowych i pozakomórkowych. Dane te rozproszone są jednak w bardzo dużej liczbie prac eksperymentalnych i tylko niekiedy część tych danych bywa zestawiona w obszerniejszych opracowaniach monograficznych lub pracach przeglądowych. Dobrze więc się stało, że autor recenzowanej książki, Profesor Heinz David z NRD podjął się trudnej próby zebrania z przeszło 1700 publikacji, pochodzących z lat 1960—1974, takich właśnie danych, uporządkowania ich i zbiorczego przedstawienia w 695 tabelach. Względami wydawniczymi należy tłumaczyć to, że nie objęte zostały dane z „ostatniej chwili”, a więc z lat 1975 i 1976. Przydatność tego rodzaju zbiorów, będących „bankiem danych” dla określonych dziedzin biologii nie ulega wątpliwości.

Książka, poza krótkim wstępem i wykazem stosowanych skrótów składa się z trzech rozdziałów: 1. Komórka i jej składniki, 2. Substancje pozakomórkowe, 3. Tkanki i organy. Całość uzupełniona jest bogatym zestawieniem prac źródłowych oraz indeksem rzeczowym.

Część pierwsza podaje parametry morfometryczne takie jak: średnicę, powierzchnię i objętość komórek pochodzących z różnych tkanek jak również ilość komórek w narządach, czas życia komórek, czas ich dojrzewania i wiele innych. Parametry te dotyczą głównie komórek zdrowych, uzyskanych z organizmów różnych zwierząt i człowieka. Podano też dane określające komórki nowotworowe. W dalszym ciągu tej części książki autor podaje podobnego typu parametry charakteryzujące jądra i jąderka, retikulum endoplazmatyczne, rybosomy, polisomy, mitochondria, aparat Golgiego i błony oraz lizosomy, mikrotubule, mikrofilamenty, cytoplazmę i niektóre makrocząsteczki. W parametrach określających substrukturę komórkową uwzględniono również ich zmiany spowodowane głodem, podawaniem hormonów lub leków. W parametrach określających makrocząsteczki uwzględniono także ich ciężar cząsteczkowy.

Druga, krótka część książki, obejmuje dane morfometryczne wyznaczone dla błon podstawowych, elementów kurczliwych, włókien prokolagenu i kolagenu oraz występujących w organizmach składników mineralnych.

Część trzecia podaje kolejno parametry morfometryczne wyznaczone dla elementów składowych wątroby i przewodu żółciowego, trzustki, przewodu pokarmowego, moczowego, oddechowego oraz dla układu czuciowego, skóry, krwi, gruczołów wydzielania wewnętrznego, układu rozrodczego, mięśni, układu krwionośnego, tkanki łącznej, kości i zębów. Podano tu dane określające proporcje pomiędzy różnymi rodzajami komórek w danej tkance, proporcje pomiędzy organellami w komórkach, zmiany w okresie rozwoju organizmu, zmiany wywołane hormonalnie oraz szereg dalszych istotnych parametrów charakterystycznych dla poszczególnych układów czy narządów zwierząt i człowieka. Należy podkreślić, że dane te, podobnie jak w pierwszej części książki dotyczą głównie charakterystyki tkanek i narządów organizmów zdrowych; ze zmian patologicznych uwzględniono prawie wyłącznie zmiany nowotworowe.

Zestawiając w tabeli różnorodne wyniki autor zdaje sobie sprawę, że nie wszystkie dane są równocenne i że nie zawsze można je bezpośrednio porównywać,

choćby ze względu na różnice w metodach stosowanych w różnych pracowniach. Z tego też powodu podając literaturę źródłową sygnalizuje, tam gdzie to jest możliwe, stosowaną w pracy metodykę (np. tabele 23, 133—142). Niektóre tabele porównują bezpośrednio wyniki otrzymane przy stosowaniu różnych metod przygotowywania preparatów (np. tabele 21, 46, 102, 566).

Poza tabelami zawierającymi wyniki uzyskane w wielu pracowniach autor podaje również tabele, a czasem wykazy lub diagramy przejęte z pojedynczej pracy źródłowej. Postępowanie takie uzasadnione jest unikalnością przytoczonych danych.

Tabele podane są w formie przejrzystej; w niektórych tylko przypadkach dyskusyjną sprawą pozostanie zaszeregowanie określonych danych do tej lub innej części książki. Dobrze opracowany indeks rzeczowy pozwala jednak zawsze na szybkie odśzukanie interesujących czytelnika danych.

Informacje zawarte w tej książce oparte są o bogatą literaturę, a ponadto przejrzysty sposób ich podania sprawia, że książka ta będzie na pewno cennym źródłem danych dla pracowni zajmujących się różnymi badaniami w obrębie biologii i biochemii komórki. W szczególności przydatna jest ona dla histologów i morfologów pracujących w obrębie badań teoretycznych i medycznych. Jest też cennym uzupełnieniem takich prac jak znane „Biology data book” czy „Biochemisches Taschenbuch”.

G. i H. Adlerowie

Contemporary Topics in Molecular Immunology

red. **R. R. Porter, G. L. Ada**

Tom 6, Plenum Press, 1977, New York, London, str. 246, cena \$ 30

Książka zawiera 7 rozdziałów, napisanych przez wybitnych specjalistów z dziedziny immunochemii i immunologii:

1) Structural studies in solution on the combining site of the myeloma protein MOPC 315 (R. A. Dwek), 2) Isolation and structure of human histocompatibility (HLA) antigens (M. J. Crumpton, D. Suary), 3) Differentiation antigens of the lymphocyte cell surface (A. F. Williams), 4) Quantitation of antibody genes by molecular hybridization (T. H. Rabbitts, C. Milstein), 5) Complement receptors (C. Bianco, V. Nussenzweig), 6) Induction of tumor-immune responses and their interaction with the developing tumor (R. W. Baldwin, R. A. Robins), 7) Cytotoxic T lymphocyte membrane components: an analysis of structures related to function (A. K. Kimura, H. Wigzell).

W I rozdziale omówiono wyniki badań struktury obszarów wiążących w przeciwciałach. W badaniach tych stosowano technikę pomiarów EPR i NMR. Omówiono również zastosowanie tych technik do badań mechanizmu reakcji antygen-przeciwciało.

Rozdział II poświęcony jest badaniom antygenów zgodności tkankowej (HLA) u ludzi. Przedstawiono wyniki badań nad oczyszczeniem i badaniem struktury HLA.

Rozdziały III, V i VII zawierają omówienie struktury błon limfocytów i receptorów dla antygenów, dopełniacza i fragmentów Fc immunoglobulin.

Rozdział IV poświęcony jest zagadnieniom różnicowania się przeciwciał.

W rozdziale VI przedstawiono omówienie roli odporności w procesie kancerogenezy.

Wszystkie rozdziały napisane są w sposób jasny i zaopatrzone w piśmiennictwo obejmujące najnowsze prace. Artykuły zamieszczone w książce są nie tylko bardzo interesujące dla specjalistów, ale są źródłem informacji dla pracowników naukowych z innych dziedzin: biochemików, chemików, lekarzy itd. Książka jest również godna polecenia dla doktorantów odbywających studia w zakresie immunologii.

J. Lisowski

Biophysikalische Aspekte der Struktur-Dynamik und Biosynthese der Eiweissmoleküle

pod redakcją J. Segala, A. Kalaidjewa

Tom 2, VEB Georg Thieme, 1977, Leipzig, stron 151, rycin 78, tabel 9, cena 25,5 M.

Książka Segala i Kalaidjewa o aspektach biofizycznych struktury, dynamiki i biosyntezy białek stanowi trzeci tomik z serii i jak piszą autorzy we wstępie, nie jest wprowadzeniem w zagadnienie budowy i funkcji białek, lecz jest przeznaczona dla badaczy, którym nie są obce podstawowe wiadomości w tej dziedzinie. Przedstawione w książce uogólnienia i hipotezy, poparte niejednokrotnie szczegółowym omówieniem doświadczeń prowadzących do powstania tych hipotez, mogą stanowić podstawę do wnikliwych dyskusji i rozważań. Pierwszy tomik tej serii poświęcony był aspektem biofizycznym reakcji immunologicznych, a współautorem Segala była Lilli Segal.

W omawianym drugim tomie przedstawione zostały dynamiczne modele struktury i ich zastosowanie do wyjaśnienia problemów biofizyki molekularnej. Autorzy wyjaśniają powiązanie pomiędzy dynamiką struktury i funkcją białek. W części pierwszej zostały podane krótkie definicje wspólnych elementów strukturalnych globulin, a także opisano mechanizm zmian konformacyjnych. Omówiono ponadto warunki jakie spełniać powinien właściwy model struktury białka z punktu widzenia fizyki, chemii i biologii. Rozważano na przykładach konkretnych struktur poszczególne etapy badania struktury białek, analizę wyników, metody prowadzące do uogólnień.

Modele struktury białek zostały w części drugiej zastosowane do opisu szeregu zjawisk i problemów biofizycznych takich, jak reakcje immunologiczne, biosynteza białek, tautomeria keto-enolowa zjawisko dyspersji rotacyjnej, dychroizm kołowy. Omówiono również istotę allosterycznych strukturalnych białek.

I. Kąkol

Biophysikalische Aspekte der Multimolekularen Eiweisstrukturen

pod redakcją J. Segala, A. Kalaidjewa

Tom 3, VEB Georg Thieme, 1977, Leipzig, stron 124, rycin 57, tabel 10, cena 21 M.

Trzecia książka serii o biofizycznych aspektach multimolekularnych struktur białkowych (koacerwaty, błony biologiczne, włókno) omawia najważniejsze zagadnienia związane z budową i funkcją wielocząsteczkowych struktur białkowych. Omówiono wzajemne oddziaływania pomiędzy białkami oraz białek z wodą, podstawy struk-

turalne momentów dipolowych w białkach, charakter wiązań białek i jonów. Bardzo szeroko opisano fizykochemiczne własności koacerwatów, zagadnienia fizykochemiczne związane z powstawaniem błon biologicznych. Dużo uwagi poświęcono omówieniu zmian strukturalnych błon białkowo-lipidowych oraz ewentualnych mechanizmów transportu elektrolitów i nieelektrolitów. Ostatnie rozdziały książki poświęcone są białkom tworzącym włókna i ich funkcjom biologicznym. Rozważano także możliwość rekonstrukcji niektórych submolekularnych struktur białkowych. Książka stanowi interesującą lekturę dla biochemików i biofizyków. Autorzy starali się szczególnie dokładnie omówić zagadnienia dyskusyjne zostawiając czytelnikowi ocenę słuszności poglądów.

I. Kąkol

Immobilized enzymes and proteins

pod redakcją T. Ming Swi Changa

Tom 1 i 2, Plenum Press, 1977, New York, London, str. t. 1 — 428, t. 2 — 359, cena t. 1 — 44,50 \$, t. 2 — 47,40 \$.

Zainteresowanie unieruchomionymi enzymami wywodzi się w istocie — jak podaje Chang w przedmowie — od zdania sobie sprawy, że badanie kinetyki reakcji enzymatycznych przeprowadza się w warunkach, odbiegających od istniejących *in vivo* — stosuje się bowiem rozcieńczone ich roztwory. Podjęte w celach badawczych próby unieruchomienia enzymów stały się również początkiem, rozwiniętych w niewiele lat później, badań dotyczących ich praktycznego wykorzystania.

Recenzowana pozycja jest pierwszym źródłowym opracowaniem, dotyczącym biomedycznego zastosowania unieruchomionych enzymów i innych białek. Współautorami — poza Changiem — jest 40 wybitnych znawców zagadnienia.

Tom I zawiera dwa działy. Pierwszy — opracowany z myślą o tych, którzy nie zetknęli się z omawianym zagadnieniem, zawiera w 6 rozdziałach podstawowe wiadomości na temat sposobów unieruchamiania białek i stanowi znakomite wprowadzenie do lektury dalszych 18 rozdziałów (dział drugi) ujętych tytułem „Doświadczalne zastosowanie unieruchomionych białek i enzymów w terapii”. Wstępny rozdział tego działu poświęcono racjonalnym podstawom oraz strategii stosowania unieruchomionych enzymów w terapii, opartym o znajomość molekularnych mechanizmów działania enzymów oraz molekularnego podłoża miejscowych czy ogólnoustrojowych zmian patologicznych. Tematem części dalszych rozdziałów jest stosowanie w doświadczalnej terapii półprzepuszczalnych mikrokapsułek lub liposomów jako nośników enzymów i innych białek, czy wreszcie stosowanie erytrocytów „obładowanych” enzymami. To zróżnicowanie form unieruchamiania enzymów ma na celu umożliwienie im docierania do odpowiednich miejsc ustroju. W pozostałych rozdziałach omówiono zastosowanie wymienionych form unieruchomionych enzymów w leczeniu różnych schorzeń takich jak np. genetycznie uwarunkowane niedobory enzymatyczne, czy w obniżaniu poziomu mocznika przez podanie mikroinkapsulowanej ureazy, czy usuwanie w stanach żółtaczkowych bilirubiny krążącej w kompleksie z albuminą na zasadzie większego powinowactwa do albuminy unieruchomionej w żelu agarozowym. W rozdziale poświęconym sztucznej nerce i detoksyfikatorom, przedstawiono również aparaturę stosowaną w klinikach. W części końcowej tego działu omówiono perspektywy leczniczego zastosowania reaktorów enzymatycznych oraz ewentualną rolę enzymów w rozwoju nowego rodzaju źródeł energii do zasilania

rozzruszników secowych. Niemal we wszystkich rozdziałach podkreślono również trudności, ograniczające możliwości szerszego zastosowania praktycznego immobilizowanych związków. Wiązą się one bądź z właściwościami enzymów, nośników unieruchamiających, bądź z brakiem sprecyzowania charakteru zaburzenia molekularnego leżącego u podstaw danego schorzenia.

W tomie drugim pierwszy dział poświęcono wykorzystaniu unieruchomionych enzymów i innych białek w diagnostyce i profilaktyce, drugi perspektywom zastosowania unieruchomionych związków w różnych dziedzinach biochemii i medycyny. Zastosowanie w diagnostyce — to przede wszystkim automatyczne i półautomatyczne systemy analityczne spotykane coraz częściej w różnych laboratoriach. Dalsze przykłady — to zastosowanie w diagnostyce immunologicznej, wykorzystanie immuno-adsorbentów związanych z enzymami, czy też immunoadsorpcja antygeny B wirusowego zapalenia wątroby. Omówiono również możliwości kolejnego uruchamiania enzymów (przez zastosowanie otoczek rozpuszczających się w różnym czasie) do badania procesów wieloenzymatycznych, odpowiadających kolejności etapów w szlaku metabolicznym. Metodę tę wykorzystuje się także przy szczepieniach ochronnych unikając w ten sposób konieczności dwu- lub trzykrotnych wstrzyknięć.

Propozycja oznaczania produktów enzymatycznych oparta na wykorzystaniu spektrometrii masowej i unieruchomionych enzymów wydaje się być obiecującą metodą ze względu na szybkość oznaczania, czułość, swoistość i zużywanie minimalnych ilości materiału. Potencjalne możliwości zastosowania tej metody to stany zagrażające życiu, a wymagające szybkiego ustalenia rozpoznania.

W części poświęconej perspektywom omówiono możliwości miniaturyzacji sztucznych narządów, wykorzystanie specjalnych układów enzymatycznych jako wzmacniaczy słabych sygnałów, jak również zastosowanie i perspektywy użycia immobilizowanych, wieloetapowych układów enzymatycznych w biochemii. W tym ostatnim przypadku istotną sprawą staje się zagadnienie najbardziej ekonomicznego wykorzystywania kofaktorów ze względu na ich znaczny koszt. Jedną z proponowanych form jest wprowadzenie dodatkowego immobilizowanego układu enzymatycznego regenerującego kofaktor. W dalszych rozdziałach omówiono kolejno możliwości wykorzystania terapeutycznego immobilizowanego plazminogenu, potencjalne możliwości stosowania w analizie enzymów zamkniętych w rurach nylonowych oraz perspektywy zastosowania leczniczego płynnych usieciowanych polimerów enzymatycznych.

Na podkreślenie zasługuje przejrzysty i logiczny sposób przedstawiania zagadnień. Obszerne piśmiennictwo na końcu każdego rozdziału umożliwia dalsze pogłębianie wiadomości. Bogato ilustrowana treść oraz staranna szata graficzna podnoszą jeszcze bardziej wartość tego wydawnictwa, które może być cennym źródłem wiadomości dla każdego, kogo ta młoda i nowa dziedzina zainteresuje.

I. Namysłowska

Principles of Enzymatic Analysis

Red. H. U. Bergmeyer przy współpracy K. Gawehn,

Verlag Chemie, 1978, Weinheim, New York, XII+260 stron, 99 rycin, 30 tabel, cena 44 DM.

Recenzowana książka jest ogólnym wprowadzeniem do uprzednio wydanych pod redakcją H. U. Bergmeyera czterech tomów „Methods of Enzymatic Analysis”. Choć stanowi ona w pewnym stopniu rozszerzenie dwu rozdziałów z I tomu „Methods of Enzymatic Analysis”, zawiera jednakże wiele nowych informacji istotnych dla współ-

czesnego biochemika-enzymologa. Sam autor pisze we wstępie, że powodowany powszechną tendencją do standaryzacji metod biochemicznych, szczególnie chemii klinicznej, ujednoczeniem nomenklatury jednostek, a przede wszystkim możliwością optymalizacji rutynowych metod biochemicznych zdecydował się na wydanie „Principles of Enzymatic Analysis” jako oddzielnej książki.

Książkę (zawierającą pięć rozdziałów) można podzielić na trzy części — pierwszą przedstawiającą teoretyczne podstawy enzymologii, drugą — opisującą typowe współczesne techniki stosowane w badaniach biochemicznych (enzymatycznych), trzecią — obrazującą sposoby opracowywania otrzymanych danych eksperymentalnych (wraz z elementami statystyki).

Część pierwsza jest napisana w sposób niezwykle przejrzysty i zwarty. Każde teoretyczne rozważanie poparte jest zwykle kilkoma przykładami praktycznymi, co dodatkowo podnosi wartość książki i pozwala zrozumieć zawarte w niej treści nie tylko biochemikom, ale także innym specjalistom związanym tylko pośrednio z biochemią.

Szczególnie interesująco przedstawia się część druga ilustrowana wieloma zdjęciami, schematami i wykresami. Jest ona bardzo przydatna szczególnie studentom stawiającym pierwsze kroki w laboratorium biochemicznym.

Część trzecia przedstawia nie tylko statystyczne sposoby opracowania uzyskanych danych eksperymentalnych, ale także pokazuje w jaki sposób należy planować eksperymenty w zakresie enzymologii i przedstawiać uzyskane rezultaty w sposób jasny i przejrzysty.

Książka uzupełniona jest dwoma załącznikami zawierającymi zasady nomenklatury enzymów i wykaz jednostek stosowanych w enzymologii w układzie SI.

Ze względu na wszechstronność i zwięzłość opracowania, książkę tę należy polecić wszystkim biochemikom — zarówno pracownikom nauki jak i studentom. Wydaje się też celowe przetłumaczenie omawianej książki na język polski.

M. Balińska

Discriminative Stimulus Properties of Drugs

pod redakcją Harbans Lala

Tom 22 w ramach serii *Advances in Behavioral Biology*, Plenum Press, 1977, New York, London, stron 239, cena \$ 27

Książka stanowi zbiór prac eksperymentalnych zawartych w 10-ciu rozdziałach. W pracach tych autorzy omawiają zdolność zwierząt do różnicowania substancji farmakologicznych w testach stosowanych do badań nad zachowaniem się zwierząt. Takie podejście do badania właściwości środków farmakologicznych ma pionierski charakter.

W poszczególnych rozdziałach omówiono właściwości takich środków farmakologicznych jak: środki narkotyczne o działaniu przeciwbólowym; antagoniści środków narkotycznych o działaniu przeciwbólowym; alkohol i środki hamujące ośrodkowy układ nerwowy; benzodwiazepiny i barbiturany; środki zwiększające aktywność psychomotoryczną; marihuana; halucynogeny; nikotyna.

Autorzy starają się rozstrzygnąć, które z wyżej wymienionych środków można traktować jako bodźce w reakcjach warunkowych. Jest to podejście nowatorskie; dotąd bowiem uważano, że tylko światło, dźwięk, pokarm, szoki elektryczne mogą stanowić bodźce w stosowanych testach behawioralnych.

Każdy rozdział poprzedza jasny wstęp teoretyczny, a wyniki prac poparte są dobrą dokumentacją. Układ książki jest przejrzysty a omawiane artykuły uzupełniają się wzajemnie, co umożliwi czytelnikowi łatwe wyrobienie poglądu na wyniki prac przedstawionych w omawianej monografii. Niewątpliwą zaletą książki jest to, że zawiera bogaty wykaz najnowszej literatury omawianego przedmiotu.

Książka ta powinna zainteresować specjalistów z wielu dziedzin takich jak: psychologia, psychiatria, farmakologia i fizjologia.

M. Wójcik

Cell Differentiation in Microorganisms, Plants and Animals red. L. Nover i K. Mothes

VEB Gustav Fischer Verlag, 1977, Jena, stron 639, rycin 193, cena 54 M.

W kwietniu 1976 roku odbyło się w Reinhardsbrunn w Turynii, NRD, Międzynarodowe Sympozjum poświęcone zagadnieniom różnicowania komórek mikroorganizmów, roślin i zwierząt. Pełny tekst referatów przedstawionych przez wybitnych specjalistów wydany został w postaci obszernej, starannie wydanej książki.

W recenzowanej książce zawarto najnowsze osiągnięcia w dziedzinie różnicowania komórek ze szczególnym uwzględnieniem badań molekularnych. Każda z prac zawartych w książce przedstawia także perspektywy i nakreśla kierunki dalszych badań.

Książkę można podzielić na dwie części, z których pierwsza obejmuje zagadnienia dotyczące specyficznej regulacji ekspresji genów, druga — zagadnienia dotyczące głównych aspektów różnicowania komórkowego. Omówione tu zostały m.in.: organizacja chromatyny (J. Bonner), mechanizmy regulacji transkrypcji (z uwzględnieniem działania hormonów) (J. Kruh), proces powstawania mRNA (G. P. Georgiev i wsp.), procesy translacji (H. Bielka) i postranslacji (P. Bornstein i wsp.) oraz zjawisko degradacji białek regulatorowych i enzymatycznych (P. Bohley i wsp.).

Jako przykład skomplikowanego procesu różnicowania komórek przedstawiono mechanizm transkrypcji mnożącego się w komórkach *Escherichia coli* bakteriofaga λ i omówiono przyjęte obecnie modele struktury i działania genów — promotorów, operatorów i terminatorów oraz regulacji replikacji DNA (W. Szybalski), mechanizm regulacji powstawania nowych wirusów na drodze indukcji białek (E. Kellenberger). Natomiast pewne aspekty morfogenezy komórek eukariotycznych omówiono na przykładzie różnych stadiów rozwojowych śluzowca — *Dictyostelium discoideum* (J. M. Ashworth), komórek nowotworowych myszy (B. Mintz). Poświęcono też wiele miejsca zagadnieniom syntezy i aktywności enzymów w różnych fazach cyklu komórkowego, komórek *Saccharomyces cerevisiae* (H. O. Halvorson) i *Schizosaccharomyces pombe* (J. M. Mitchison). Omówiono też syntezy enzymów bakteryjnych (B. Magasanik) i zmiany adaptacyjne enzymów wątroby ssaków w czasie rozwoju (O. Greengard) oraz zmiany aktywności enzymów różnicujących się komórek roślinnych (J. G. Scandalios). Inne prace omawiały regulację syntezy globiny w procesie erytropoezy (S. Rosenthal i wsp.), regulację syntezy białek zapasowych w nasionach roślin strączkowych (D. Boulter).

Ostatni rozdział książki poświęcony jest biogenezie i transformacji organelli komórkowych. Omówiono tu udział białek kurczliwych — tubuliny i aktomiozyny — w komórkowych procesach morfogenetycznych (K. E. Wohlfarth-Bottermann), zmiany

strukturalne i funkcjonalne jądra komórkowego ssaków podczas różnicowania komórek (W. Bernhard).

Książka jest bogato ilustrowana, a każdy z referatów opatrzony obszernym spisem piśmiennictwa.

W sumie należy stwierdzić, że książka ta stanowi istotną pozycję w bieżącej literaturze naukowej i wielu biologów zainteresowanych molekularnymi mechanizmami różnicowania komórek będzie do niej często zaglądać.

Dai duy Ban

KOMUNIKAT

Enzymy wielopostaciowe

Enzymy o formach wzajemnie przemiennych, oraz enzymy ulegające nieodwracalnej modyfikacji proteolitycznej i innej.

Opracowano na podstawie dokumentu Komisji Nomenklatury Biochemicznej IUPAC—IUB: Nomenclature of multiple forms of enzymes. Recommendations 1976, opublikowanego w J. Biol. Chem., 1977, 252, 5939—5941.

Dokument Komisji Nomenklatury Biochemicznej IUPAC—IUB z 1971 r. na temat enzymów wielopostaciowych został ostatnio rozszerzony i uzupełniony. Ponieważ przepisy, dotyczące słownictwa izoenzymów i genetycznych wariantów enzymów nie uległy zmianie (patrz: Polskie Słownictwo Biochemiczne. Red. A. Morawiecki, PWN, Warszawa 1974, str. 173), podajemy obecnie jedynie nowe zalecenia, omawiające terminologię enzymów, ulegających odwracalnej i nieodwracalnej modyfikacji kowalencyjnej.

I. Mianownictwo enzymów o formach wzajemnie przemiennych (*interconvertible enzymes*).

Zaleca się następujące definicje wzajemnego przejścia (*interconversion*) oraz enzymów, podlegających takiemu przejściu:

1. Za enzym o formach wzajemnie przemiennych uważa się taki, który występuje conajmniej w dwu ściśle określonych formach, powstających w biologicznych warunkach drogą kowalencyjnej modyfikacji bocznych łańcuchów reszt aminokwasowych. Definicja ta nie obejmuje kowalencyjnych modyfikacji, zachodzących jako przejściowe etapy procesu katalitycznego.

2. Przejście wzajemne zachodzi zazwyczaj drogą enzymatyczną, na co należy przedstawić dowody. W przypadku form różniących się obecnością, lub brakiem mostków S—S kataliza enzymatyczna nie zawsze ma miejsce.

Zaleca się stosowanie następującej reguły w określaniu form wzajemnie przemiennych:

3. Na określenie form wzajemnie przemiennych należy przed nazwą enzymu umieścić następujące oznaczenia: *o*- (original) na określenie formy niezmodyfikowanej (wyjściowej, zawierającej niezmodyfikowaną resztę aminokwasową), oraz *m*- (modified) na określenie formy zmodyfikowanej. W przypadku enzymów wzajemnie przemiennych, zawierających wiązania dwusiarczkowe, formę —SH oznacza się za pomocą *o*-, zaś formę S—S jako *m*-.

4. Enzymy oligomeryczne, zawierające dwie lub więcej podjednostek, ulegających modyfikacji (formy hybrydowe), można oznaczać za pomocą odpowiednich liter *o* i *m*, po których następuje w dolnej frakcji liczba, określająca ilość podjednostek danej formy, na przykład O_n , $O_{n-1}m$, $O_{n-2}m_2$, Om_{n-1} , m_n .

5. W przypadku, gdy podjednostkowy skład hybrydu nie podlega określonej stechiometrii, ale stanowi wypadkową mieszaniny oligomerów o różnej stechiometrii podjednostkowej, należy to określić za pomocą poziomej kreski, umieszczonej nad literami. Na przykład, syntetazę glutaminową, składającą się z 12 podjednostek, adenylowaną w 10 procentach można opisać jako $o_{10,8}m_{1,2}$. Rodzaj i liczbę grup związanych kowalencyjnie można określić notatką w nawiasie, umieszczoną po nazwie enzymu, na przykład (4P), lub (12AMP).

6. Różnice w aktywności poszczególnych form enzymu można oznaczyć za pomocą liter, umieszczonych po nazwie enzymu: „a” na określenie formy aktywnej i „b” na określenie formy nieaktywnej lub mniej aktywnej.

Przykłady zaleceń 3—6

a. Syntetaza glutaminowa

Forma niezmodyfikowana, o

o (lub o_{12})-syntetaza glutaminowa lub
o-syntetaza glutaminowa a

Forma zmodyfikowana, m

m (lub m_{12})-syntetaza glutaminowa,
m-syntetaza glutaminowa b, lub m-syn-
tetaza glutaminowa (12AMP)

Formy przejściowe

o_6m_6 -syntetaza glutaminowa (skład określony)

o_6m_6 -syntetaza glutaminowa (6AMP) (skład nieokreślony)

b. Fosforylaza

Forma niezmodyfikowana, o

o-fosforylaza, o-fosforylaza b lub o_2 -fo-
sforylaza (dimer), o_4 -fosforylaza (tetra-
mer)

Forma zmodyfikowana, m

m-fosforylaza, m-fosforylaza a, lub
m-fosforylaza(4P), m_2 -fosforylaza (di-
mer), m_4 -fosforylaza (tetramer)

Hybrydy

om-fosforylaza (dimer)

o_2m_2 -fosforylaza (tetramer)

7. Na oznaczenie rodzaju regulacji enzymatycznej proponuje się do stosowania w schematach i tabelach następujące symbole:

⊖ — inhibicja (hamowanie)

⊕ — stymulacja (pobudzanie)

⊞ — indukcja

⊞ — represja

II. Mianownictwo enzymów, podlegających nieodwracalnej modyfikacji proteolitycznej lub innej

W warunkach biologicznych na skutek nieodwracalnej modyfikacji proteolitycznej lub innej mogą powstawać mnogie formy enzymów. W przypadku, gdy nieaktywny prekursor przekształca się w aktywną(e) formę(y), zaleca się co następuje:

8. Nazwę „zymogen” lub przyrostek -ogen należy zachować na określenie prekursora enzymu, lub proenzymu (na przykład trypsynogen, trypsyna; chymotrypsynogen, chymotrypsyna). Jeżeli wskutek modyfikacji powstaje kilka enzymów, można je oznaczyć członem przednim m- z dodatkiem litery greckiej w dolnej frakcji, tak aby uniknąć pomyłki z liczbą podjednostek, na przykład m_α -chymotrypsyna, m_β -chymotrypsyna.

9. W przypadku, gdy zarówno białko wyjściowe, jak i forma(y) zmodyfikowana(e) mają aktywność katalityczną, należy oznaczać je jako o- i m-, podobnie jak oznacza się formy wzajemnie przemienne.

Komisja Słownictwa P. T. Bioch.

SPIS TREŚCI — Tom XXIV, 1978

ARTYKUŁY MONOGRAFICZNE

| | |
|---|-----|
| M. Szymona — Polimorfizm białek drobnoustrojów ze szczególnym uwzględnieniem heksokinaz | 3 |
| B. Broniszewska - Ardel — Heksokinaza mózgu | 15 |
| I. Pietrzykowska — Mechanizmy mutageny indukowanej a procesy reperacji DNA | 27 |
| A. K. Drabikowska — Oddychanie niewrażliwe na cyjanek | 59 |
| K. Kasman — Budowa grubego filamentu mięśnia szkieletowego | 77 |
| M. Manteuffel-Cymborowska — Biochemiczne podstawy cytostycznego działania ametoptyryny | 93 |
| J. Kwiatkowska — Rozwój poglądów na mechanizmy regulacji metabolicznych | 131 |
| J. Rytka — Genetyczna regulacja metabolizmu w drożdżach <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 151 |
| W. Krajewska, L. Kłyszajko-Stefanowicz — Białka chromatyny komórek erytroidalnych ptaków | 177 |
| P. Chomczyński — Regulacja transkrypcji w gruczole mlecznym podczas laktogenezy | 195 |
| A. Krop-Wątopek — Budowa i właściwości biologiczne lektyn | 221 |
| A. Stankiewicz — Dezaminaza AMP | 243 |
| M. M. Jeleńska — Glikozylacja kolagenu | 291 |
| A. Gardas — Sfingoglikolipidy błony komórkowej | 309 |
| K. Bytniewska — Karboksylaza/oksygenaza rybulozodwufosforanu | 333 |
| G. Muszyńska — Modyfikacje cząsteczek białkowych jako narzędzie w badaniu struktury i funkcji białek | 347 |
| J. Twardowski — Badania białek metodami spektroskopii ramanowskiej i absorpcyjnej w zakresie podczerwieni | 373 |
| K. Raczyńska-Bojanowska — 25 lat <i>Acta Biochimica Polonica</i> | 427 |
| Z. Kiliańska, Kłyszajko-Stefanowicz — Matriks jądrowa | 431 |
| G. Palamarczyk — Glikozylacje białek w układach eukariotycznych | 443 |
| A. Stankiewicz — Cynkoenzymy | 461 |
| G. Muszyńska — Identyfikacja grup reaktywnych enzymów | 481 |

RECENZJE KSIĄŻEK

| | |
|---|-----|
| Z. Zielińska — Eucaryotic Cell Function and Growth. Regulation by Intracellular Cyclic Nucleotides, red. J. E. Dumont, B. L. Brown, N. J. Marshall, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 119 |
| W. Rode — Methods of Protein Separation, red. N. Catsimpoclas, t. 2, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 120 |
| W. Lutz — The Bile Acids, vol. 3: Pathophysiology, red. P. P. Nair i D. Kritchewsky, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 121 |

- M. G. Sarzała — Methods in Membrane Biology, red. E. D. Korn, t. 6, Plenum Press, N. Y., London, 1976 123
- W. Wehr — Low Density Lipoprotein, red. C. E. Day, R. S. Levy, Plenum Press, N. Y., London, 1976 124
- Z. Wieczorek — Molecular and Biological Aspects of the Acute Allergic Reaction, red. S. G. O. Johansson, K. Strandberg, B. Uvnäs, Plenum Press, N. Y., London, 1976 271
- A. Potempska — John Daly, Cyclic Nucleotides in the Nervous System, Plenum Press, N. Y., London, 1977 272
- J. Skangiel-Kramaska — Protein Metabolism of the Brain, red. A. V. Palladin, Y. V. Belik, N. M. Polyakova, Consultant Bureau, N. Y., London, 1977 272
- L. Wojtczak — Structure of Biological Membranes, red. S. Abrahamsson, I. Pascher, Plenum Press, N. Y., London, 1977 273
- A. Legocki — Nucleic Acids and Protein Synthesis in Plants, red. L. Bogorad, J. H. Well, Plenum Press, N. Y., London, 1977 274
- S. t. Cebrat — Comprehensive Virology
 t. 7 — Reproduction — Bacterial DNA Viruses, red. H. Fraenkel-Conrat, R. R. Wagner, Plenum Press, N. Y., London, 1977
 t. 8 — Regulation and Genetics — Bacterial DNA Viruses, red. H. Fraenkel-Conrat, R. R. Wagner, Plenum Press, N. Y., London, 1977 275
- E. Kamler — Pesticides in aquatic environments, red. M. A. Q. Khan, Environmental Science Research t. 10, Plenum Press, N. Y., London, 1977 277
- R. W. Schramm — W. Ferdinand, The Enzyme Molecule, John Wiley and Sons, London, N. Y., Sydney, Toronto, 1976 397
- K. Zakrzewski — Animal, Plant and Microbial Toxins, red. A. Ohsaka, K. Hayashi, Y. Sawai, t. 1, Biochemistry, Plenum Press, N. Y., London, 1976 399
- Z. Kleinrok — Advances in General and Cellular Pharmacology, red. T. Narahashi, C. P. Bianchi, t. 1, Plenum Press, N. Y., London, 1976 403
- B. Grzelakowska-Sztabert — The Science of Life; Contributions of Biology to Human Welfare, red. K. D. Fisher, A. U. Nixon, Plenum Press, N. Y., London, 1977 404
- J. Skangiel-Kramaska — Advances in Neurochemistry, red. B. E. Agranoff, M. H. Aprison, t. 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 404
- S. Niemierko — Hypothalamic Peptide Hormones and Pituitary Regulation, red. J. C. Porter, t. 87 wyd. Advances in Experimental Medicine and Biology, Plenum Press, N. Y., London, 1977 405
- H. Książak — Tissue Hypoxia and Ischemia, red. M. Reivich, R. Coburn, S. Lahiri, B. Chance, t. 78 wyd. Advances in Experimental Medicine and Biology, Plenum Press N. Y., London, 1977 407
- E. Domański — Comparative Endocrinology of Prolactin, red. H. D. Dellmann, J. A. Johnson, D. M. Klachko, Plenum Press, N. Y., London, 1977 408
- W. Ardelt — Elastin and Elastic Tissue, red. L. B. Sandberg, W. R. Gray, C. Franzblau, t. 79 wyd. Advances of Experimental Medicine and Biology, Plenum Press, N. Y., London, 1977 409
- Z. Osuchowska — Intercellular Communication, red. W. C. de Mello, Plenum Press, N. Y., London, 1977 411
- A. Jakubiec-Puka — Intracellular Protein Catabolism t. 2, red. V. Turek, N. Marks, Plenum Press, N. Y., London, 1977 413
- J. A. Chmurzyński — Chemical Signals in Vertebrates, red. D. Müller-Schwarze, M. M. Mozell, Plenum Press, N. Y., London, 1977 415
- J. K. Piotrowski — T. D. Luckey, B. Venugopal, Metal Toxicity in Mam-

- mals. t. 1-Physiologic and Chemical Basis for Metal Toxicity, Plenum Press, N. Y., London, 1977 416
- Z. M. Zielińska — G. R. Pettit, Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy, t. 1, Plenum Press, N. Y., London, 1977 417
- Z. Karnicki — Marine Natural Products Chemistry, IV seria NATO, Plenum Press, N. Y., London, 1977 418
- J. T. Wróbel — Encyklopedia of the Alkaloids, Plenum Press, N. Y., London, 1977 419
- K. Madaliński — Immunology for the Practicing Physician, red. J. R. Schmidtke, R. M. Ferguson, Plenum Press, N. Y., London, 1977 420
- J. Trojanowski — The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood, red. F. A. Loewus, V. C. Runeckles, Plenum Press, N. L., London, 1977 420
- A. Banaszek — Mass Spectrometry in Drug Metabolism, red. A. Frigerio, E. A. Ghisalberti, Plenum Press, N. L., London, 1977 422
- A. Dutkowski — P. Singh, Artificial Diets for Insects, Nites and Spiders, Plenum Press, N. Y., Washington, London, 1977 423
- M. Żydowo — S. Przystalski, Fizyka z elementami biofizyki i agrofizyki, PWN, Warszawa, 1977 499
- M. J. Nałęcz — Inżynieria biochemiczna, red. S. Aiba, A. E. Humphrey, N. F. Millis, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1977 501
- J. Zborowski — Lipid Metabolism in Mammals, red. F. Snyder, t. 1 i 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 502
- G. i H. Adlerowie — D. Heinz, Quantitative Ultrastructural Data of Animal and Human Cells, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 504
- J. Lisowski — Contemporary Topics in Molecular Immunology, red. R. R. Porter, G. L. Ada, Plenum Press, N. Y., London, 1977 505
- I. Kąkol — Biophysikalische Aspekte der Struktur-Dynamik und Biosynthese der Eiweissmoleküle, red. J. Segal, A. Kalaidjiew, t. 2, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 506
- I. Kąkol — Biophysikalische Aspekte der Multimolekularen Einweisstrukturen, red. J. Segal, A. Kalaidjiew, t. 3, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 506
- I. Namysłowska — Immobilized Enzymes and Proteins, red. T. Ming Swi Chang, t. 1 i 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 507
- M. Balińska — Principles of Enzymatic Analysis, red. H. U. Bergmeyer przy współpracy K. Gawehn, Verlag Chemie, Weinheim, N. Y., 1978 508
- M. Wójcik — Discriminative Stimulus Properties of Drugs, red. H. Lala, t. 22, Advances in Behavioral Biology, Plenum Press, N. Y., London, 1977 509
- Dai duy Ban — Cell Differentiation in Microorganisms, Plants and Animals, red. L. Nover, K. Mothes, VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1977 510

KRONIKA

- A. Smoczkiwiczowa — Sprawozdanie z International Symposium on Microchemical Techniques, Davos, 1977 117
- I. Żelewski — Sprawozdanie Komitetu Naukowo-Organizacyjnego z przebiegu XV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Gdańsk, 1977 265
- L. Wojtczak — Sprawozdanie Z. G. Polskiego Towarzystwa za okres VIII kadencji (1974—1977) 266
- M. Żydowo, Z. Aleksandrowicz — Protokół z IX Walnego Zebrania Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Gdańsk, 1977 268
- K. Taylor — Sprawozdanie: II Szkoła Biologii Molekularnej, Sellin na wyspie Røgii, NRD, 1977 394

| | |
|--|-----|
| A. Smoczkiwiczowa — Sprawozdanie ze Zjazdu „Biochemische Analytik 1978”, München, RFN, 1978 | 495 |
| J. Kozioł — Sprawozdanie z VI th International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Osaka-Kobe, 1978 | 496 |
| Komunikat Komisji Słownictwa Biochemicznego | 220 |
| Komunikat Komisji Słownictwa Biochemicznego | 513 |
| Spis treści — Tom XXIV, 1978 | 515 |
| Index autorów — Tom XXIV, 1978 | 519 |

INDEKS AUTORÓW — TOM XXIV, 1978

ZESZYT

A

| | |
|--|---|
| Adlerowie G. i H. — Recenzja książki — D. Heinz, Quantitative Ultrastructural Data of Animal and Human Cells, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 | 4 |
| Aleksandrowicz Z. (patrz Żydowo M., Aleksandrowicz Z., Protokół z IX Walnego Zebrania PTBioch., Gdańsk, 1977) | 2 |
| Ardelt B. (patrz Broniszewska-Ardelt B.) Heksokinaza mózgu | 1 |
| Ardelt W. — Recenzja książki — Elastin and Elastic Tissue, red. L. B. Sandberg, W. R. Gray, C. Franzblau, t. 79, wyd. Advances of Experimental Medicine and Biology, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |

B

| | |
|---|---|
| Balińska M. — Recenzja książki — Principles of Enzymatic Analysis, red. H. U. Bergmeyer przy współpracy K. Gawehn, Verlag Chemie, Weinheim, N. Y., 1978 | 4 |
| Banaszek A. — Recenzja książki — Mass Spectrometry in Drug Metabolism, red. A. Frigerio, E. A. Ghisalberti, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |
| Bojanowska K. (patrz Raczyńska-Bojanowska K.) — 25 lat <i>Acta Biochimica Polonica</i> | 4 |
| Broniszewska-Ardelt B. — Heksokinaza mózgu | 1 |
| Bytniewska K. — Karboksylaza/oksygenaza rybulozodwufosforanu | 3 |

C

| | |
|--|---|
| Ceburat St. — Recenzja książek — Comprehensive Virology, t. 7 — Reproduction — Bacterial DNA Viruses, red. H. Fraenkel-Conrat, R. R. Wagner, Plenum Press, N. Y., London, 1977; t. 8 — Regulation and Genetics — Bacterial DNA Viruses, red. H. Fraenkel-Conrat, R. R. Wagner, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 2 |
| Chmurzyński J. A. — Recenzja książki — Chemical Signals in Vertebrates, red. D. Müller-Schwarze, M. M. Mozell, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |
| Chomczyński P. — Regulacja transkrypcji w gruczole mlecznym podczas laktogenezy | 2 |
| Cymborowska M. — (patrz Manteuffel-Cymborowska M.) — Biochemiczne podstawy cytotoksycznego działania ametopteryny | 1 |

D

| | |
|---|---|
| Dai duy Ban — Recenzja książki — Cell Differentiation in Microorganisms, Plants and Animals, red. L. Nover, K. Mothes, VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1977 | 4 |
| Domański E. — Recenzja książki — Comparative Endocrinology of Prolactin, red. H. D. Dellmann, J. A. Johnson, D. M. Klachko, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |

- Drabikowska A. K. — Oddychanie niewrażliwe na cyjanek 1
 Dutkowski A. B. — Recenzja książki — P. Singh, *Artificial Diets for Insects, Nites and Spiders*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

G

- Gardas A. — Sfingoglikolipidy błony komórkowej 3
 Grzelakowska-Szabert B. — Recenzja książki — *The Science of Life; Contributions of Biology to Human Welfare*, red. K. D. Fisher, A. U. Nixon, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

J

- Jakubiec-Puka A. — Recenzja książki — *Intracellular Protein Catabolism* t. 2, red. V. Turek, N. Marks, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
 Jeleńska M. M. — Glikozylacja kolagenu 3

K

- Kamler E. — Recenzja książki — *Pesticides in Aquatic Environments*, red. M. A. Q. Khan, Plenum Press, N. Y., London, 1977 2
 Karnicki Z. — Recenzja książki — *Marine Natural Products Chemistry, IV seria NATO*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
 Kasman K. — Budowa grubego filamentu mięśnia szkieletowego 1
 Kąkol I. — Recenzja książki — *Biophysikalische Aspekte der Struktur-Dynamik und Biosynthese der Eiweissmoleküle*, red. J. Segal, A. Kalaidjiew, t. 2, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 4
 Kąkol I. — Recenzja książki — *Biophysikalische Aspekte der Multimolekularen Eiweisstrukturen*, red. J. Segal, A. Kalaidjiew, t. 3, VEB G. Thieme, Leipzig, 1977 4
 Kiliańska Z., Kłyszejko-Stefanowicz L. — Matriks jądrowa 4
 Kleinrok Z. — Recenzja książki — *Advances in General and Cellular Pharmacology*, red. T. Narahashi, C. P. Bianchi, t. 1, Plenum Press, N. Y., London, 1976 3
 Kłyszejko-Stefanowicz L. (patrz Krajewska W., Kłyszejko-Stefanowicz L.) — Białka chromatyny komórek erytroidalnych ptaków 2
 Kłyszejko-Stefanowicz L. (patrz Kiliańska Z., Kłyszejko-Stefanowicz L.) — Matriks jądrowa 4
 Koziół J. — Sprawozdanie z VIth International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Osaka-Kobe, 1978 4
 Krajewska W., Kłyszejko-Stefanowicz L. — Białka chromatyny komórek erytroidalnych ptaków 2
 Kramska J. — (patrz Skangiel-Kramska J.) — Recenzja książki — *Protein Metabolism of the Brain*, red. A. V. Palladin, Y. V. Belik, N. M. Polyakova, Consultant Bureau, N. Y., London, 1977 2
 Kramska J. — (patrz Skangiel-Kramska J.) — Recenzja książki — *Advances in Neurochemistry*, red. B. E. Agranoff, M. H. Aprison, t. 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
 Krop-Wątopek A. — Budowa i właściwości biologiczne lektyn 2
 Książak H. — Recenzja książki — *Tissue Hypoxia and Ischemia*, red.

- M. Reivich, R. Coburn, S. Lahiri, B. Chance, t. 78, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
- Kwiatkowska J. — Rozwój poglądów na mechanizmy regulacji metabolicznych 2

L

- Legocki A. — Recenzja książki—*Nucleic Acid and Protein Synthesis in Plants*, red. L. Bogorad, J. H. Well, Plenum Press, N. Y., London, 1977 2
- Lisowski J. — *Contemporary Topics in Molecular Immunology*, red. R. R. Porter, G. L. Ada, Plenum Press, N. Y., London, 1977 4
- Lutz W. — Recenzja książki—*The Bile Acids*, vol. 3: *Pathophysiology*, red. P. P. Nair, D. Kritchowsky, Plenum Press, N. Y., London, 1976 1

M

- Madaliński K. — Recenzja książki—*Immunology for the Practicing Physician*, red. J. R. Schmidtke, R. M. Ferguson, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
- Manteuffel-Cymborowska M. — Biochemiczne podstawy cytotoksycznego działania ametopteryny 1
- Muszyńska G. — Modyfikacje cząsteczek białkowych jako narzędzie w badaniu struktury i funkcji białek 3
- Muszyńska G. — Identyfikacja grup reaktywnych enzymów 4

N

- Nałęcz M. J. — Recenzja książki—*Inżynieria biochemiczna*, red. S. Aiba, A. E. Humphrey, N. F. Millis, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1977 4
- Namysłowska I. — Recenzja książki—*Immobilized Enzymes and Proteins*, red. T. Ming Swi Chang, t. 1 i 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 4
- Niemierko S. — Recenzja książki—*Hypothalamic Peptide Hormones and Pituitary Regulation*, red. J. C. Porter, t. 87, wyd. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

O

- Osuchowska Z. — Recenzja książki—*Intercellular Communication*, red. W. C. de Mello, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

P

- Palamarczyk G. — Glikozylacje białek w układach eukariotycznych 4
- Pietrzykowska I. — Mechanizmy mutagenyzy indukowanej a procesy reperacji DNA 1
- Piotrowski J. K. — Recenzja książki T. D. Luckey, B. Venugopal, *Metal Toxicity in Mammals*, t. 1—*Physiologic and Chemical Basis for Metal Toxicity*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3
- Potempska A. — Recenzja książki — J. Daly, *Cyclic Nucleotides in the Nervous System*, Plenum Press, N. Y., London, 1977 2
- Puka A. (patrz Jakubiec-Puka A.) — Recenzja książki—*Intracellular Protein Catabolism* t. 2, red. V. Turek, N. Marks, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

R

| | |
|---|---|
| Raczyńska-Bojanowska K. — 25 lat <i>Acta Biochimica Polonica</i> . . . | 4 |
| Rode W. — Recenzja książki — <i>Methods of Protein Separation</i> , red. N. Catsimpoclas, t. 2, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 1 |
| Rytka J. — Genetyczna regulacja metabolizmu w drożdżach <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 2 |

S

| | |
|---|---|
| Sarzała M. G. — Recenzja książki — <i>Methods in Membrane Biology</i> , red. E. D. Korn, t. 6, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 1 |
| Schramm R. W. — Recenzja książki — W. Ferdinand, <i>The Enzyme Molecule</i> , 1976, J. Wiley and Sons, London, N. Y., Sydney | 3 |
| Skangiel-Kramska J. — Recenzja książki — <i>Protein Metabolism of the Brain</i> , red. A. V. Palladin, Y. V. Belik, N. M. Polyakova, Consultant Bureau, N. Y., London, 1977 | 2 |
| Skangiel-Kramska J. — <i>Advances in Neurochemistry</i> , red. B. E. Agranoff, M. H. Aprison, t. 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |
| Smoczkiewiczowa A. — Sprawozdanie z Międzynarodowego Sympozjum Technik Mikrochemicznych, Davos, 1977 | 1 |
| Smoczkiewiczowa A. — Sprawozdanie ze Zjazdu „Biochemische Analytik 1978” — München, 1978 | 4 |
| Stankiewicz A. — Dezaminaza AMP | 2 |
| Stankiewicz A. — Cynkoenzymy | 4 |
| Stefanowicz L. — (patrz Krajewska W., Kłyszajko-Stefanowicz L.) — Białka chromatyny komórek erytroidalnych ptaków | 2 |
| Stefanowicz L. (patrz Kiliańska Z., Kłyszajko-Stefanowicz L.) — Matriks jądrowa | 4 |
| Sztabert B. — (patrz Grzelakowska-Sztabert B.) — Recenzja książki — <i>The Science of Life; Contributions of Biology to Human Welfare</i> , red. K. D. Fisher, A. U. Nixon, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |
| Szymona M. — Poliformizm białek drobnoustrojów ze szczególnym uwzględnieniem heksokinaz | 1 |

T

| | |
|--|---|
| Taylor K. — Sprawozdanie: II Szkoła Biologii Molekularnej, Sellin na wyspie Rugii, NRD, 1977 | 3 |
| Trojanowski J. — Recenzja książki — <i>The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood</i> , red. F. A. Loewus, V. C. Runeckles, Plenum Press, N. Y., London, 1977 | 3 |
| Twardowski J. — Badania białek metodami spektroskopii ramanowskiej i absorpcyjnej w zakresie podczerwieni | 3 |

W

| | |
|---|---|
| Wątarek A. (patrz Krop-Wątarek A.) — Budowa i właściwości biologiczne lektyn | 2 |
| Wehr H. — Recenzja książki — <i>Low Density Lipoprotein</i> , red. C. E. Day, R. S. Levy, Plenum Press, N. Y., London, 1976 | 1 |
| Wieczorek Z. — Recenzja książki — <i>Molecular and Biological Aspects of</i> | |

- the Acute Allergic Reaction, red. S. G. O. Johansson, K. Strandberg, B. Uvnäs, Plenum Press, N. Y., London, 1976 2
- Wojtczak L. — Sprawozdanie Z. G. Polskiego Tow. Biochemicznego za okres VIII kadencji (1974—1977) 2
- Wojtczak L. — Recenzja książki — Structure of Biological Membranes, red. S. Abrahamsson, I. Pascher, Plenum Press, N. Y., London, 1977 2
- Wójcik M. — Recenzja książki — Discriminative Stimulus Properties of Drugs, red. H. Lala, t. 22, Adv. in Behavioral Biology, Plenum Press, N. Y., London, 1977 4
- Wróbel J. T. — Recenzja książki — Encyklopedia of the Alkaloids, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

Z

- Zakrzewski K. — Recenzja książki — Animal, Plant and Microbial Toxins, red. A. Ohsaka, K. Hayashi, Y. Sawai, t. 1, Biochemistry, Plenum Press, N. Y., London, 1976 3
- Zborowski J. — Lipid Metabolism in Mammals, red. F. Snyder, t. 1 i 2, Plenum Press, N. Y., London, 1977 4
- Zielińska Z. M. — Recenzja książki — Eucaryotic Cell Function and Growth. Regulation by Intracellular Cyclic Nucleotides, red. J. E. Dumont, B. L. Brown, N. J. Marshall, Plenum Press, N. Y., London, 1976 1
- Zielińska Z. M. — Recenzja książki — G. R. Pettit, Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy, t. 1, Plenum Press, N. Y., London, 1977 3

Ż

- Zelewski L. — Sprawozdanie Komitetu Naukowo-Organizacyjnego z przebiegu XV Zjazdu Polskiego Tow. Biochemicznego, Gdańsk, 1977 2
- Żydowo M., Aleksandrowicz Z. — Protokół z IX Walnego Zebrania Polskiego Tow. Biochemicznego, Gdańsk, 1977 2
- Żydowo M. — Recenzja książki — S. Przystalski, Fizyka z elementami biofizyk i agrofizyki, PWN, Warszawa, 1977 4

SPIS TREŚCI

| | |
|---|---------------|
| K. Raczyńska-Bojanowska — 25 lat <i>Acta Biochimica Polonica</i> | 427 |
| Z. Kiliańska, L. Kłyszajko-Stefanowicz — Matriks jądrowa | 431 |
| G. Palamarczyk — Glikozylacje białek w układach eukariotycznych | 443 |
| A. Stankiewicz — Cynkoenzymy | 461 |
| G. Muszyńska — Identyfikacja grup reaktywnych enzymów | 481 |
| Sprawozdania: | |
| Zjazd n.t. „Biochemische Analytik 1978”, Monachium, RFN, 18—21.IV.1978 (A. Smoczkiewiczowa) | 495 |
| VI Międzynarodowe Sympozjum n.t. Flawin i Flawoprotein, Osaka-Kobe, 13—17.III.1978 (J. Kozioł) | 496 |
| Recenzje | 499 |
| Komunikat Komisji Słownictwa PTBioch. | 513 |
| Spis treści — Tom XXIV, 1978 | 515 |
| Indeks autorów — Tom XXIV, 1978 | 519 |
| Komunikaty | 480, 494, 498 |

POSTĘPY BIOCHEMII

December 1978

ARTICLES IN POLISH

Volume 24

Number 4

| | |
|--|--------------------|
| K. Raczyńska-Bojanowska — 25-years of <i>Acta Biochimica Polonica</i> | 427 |
| Z. Kiliańska, L. Kłyszajko-Stefanowicz — Nuclear Matrix (Inst. Biochem. Biophys., University of Łódź, Łódź) | 431 |
| G. Palamarczyk — Glycosylation of Proteins in Eukaryotic Systems (Inst. Biochem. Biophys., Pol. Acad. Sci., Warszawa) | 443 |
| A. Stankiewicz — Zinc-containing Enzymes (Dept. Biochem., Inst. Biol. Med., School of Medicine, Gdańsk) | 461 |
| G. Muszyńska — Identification of the Reactive Groups of Enzymes (Inst. Biochem. Biophys., Pol. Acad. Sci., Warszawa) | 481 |
| Meeting Reports | 495 |
| Book reviews | 499 |
| Announcements | 480, 494, 498, 513 |
| Contents of Volume XXIV | 515 |
| Index of Authors, Vol. XXIV | 519 |

Redakcja zastrzega sobie możliwość skrócenia tekstu i wprowadzania poprawek nie wpływających na treść pracy.

Piśmiennictwo: w artykule należy cytować prace oryginalne z ostatnich kilku lat oraz najważniejsze artykuły przeglądowe omawiające przedstawioną dziedzinę z uwzględnieniem artykułów opublikowanych w „Postęпах Biochemii”. W tekście należy podawać jedynie nazwiska badaczy, których prace mają podstawowe znaczenie w przedstawianej dziedzinie. Omawiane prace trzeba numerować w kolejności ich cytowania w tekście. Wykaz piśmiennictwa zatem obejmuje prace opatrzone kolejnymi numerami, ale nieuporządkowane alfabetycznie. Odnośniki bibliograficzne winny mieć formę zalecaną przez Komisję Wydawców Czasopism Biochemicznych Międzynarodowej Unii Biochemików (IUB) według *Biochim. Biophys. Acta*, (1972), 276, (1) np.

Pispa J. P., Buchanan F. M., (1971), *Biochim. Biophys. Acta*, 247, 181—184.

Cytując wydawnictwa książkowe podawać należy kolejno: nazwisko(a) inicjały autora(ów), rok wydania, tytuł książki, nazwisko(a) i inicjały jej redaktorów(a), tom, pierwszą i ostatnią stronę cytowanej publikacji, nazwę wydawnictwa oraz miejsce wydania, np.

Dixon M., Webb E. C., (1964), *Enzymes*, 2 wyd., str. 565, Longmans Green and Co., London;

Grant J. K., (1969) in *Essays in Biochemistry*, red. Campbell P. N., Greville G. D., t. 5, str. 1—58; Academic Press, London

Załączniki: każdy załącznik należy sporządzić w 2 egz. na oddzielnych kartkach i opatrzyć kolejnym numerem odpowiadającym numerowi użytemu w tekście, oraz oznaczyć (na górze strony ołówkiem) nazwiskiem pierwszego autora i początkowymi wyrazami tytułu pracy.

Tabele należy kolejno numerować cyframi arabskimi. Tytuł tabeli i nagłówki rubryk winny jasno opisywać ich treść zaznaczając, z jakich (jakiej) prac(y) pochodzą informacje podane w tabeli.

Ryciny, tj. wykresy, rysunki, schematy lub fotografie należy opatrzyć numeracją w kolejności ich omówienia w tekście. Przyjmuje się zasadę numeracji rycin cyframi arabskimi, a wzory cyframi rzymskimi. Fotografie czarno-białe (kontrastowe) powinny być wykonane na papierze matowym. Pozostałe ryciny należy wykonać tuszem na białym papierze lub na kalce technicznej. Wymiar ryciny nie powinien być mniejszy niż 10×15 cm, a naniesione linie nie powinny być cieńsze niż 1 mm. Ramki ujmujące wykresy można wykonać linią cieńszą niż linie właściwe wykresu. Cyfry i litery służące do opisu rysunku powinny mieć wysokość nie mniejszą niż 5 mm. Na rysunkach nie należy umieszczać opisów słownych, lecz posługiwać się skrótami. Osie wykresów natomiast winny być opatrzone napisem łatwo zrozumiałym. Dla oznaczenia punktów doświadczalnych można stosować następujące symbole: ○ □ △ ● ■ ▲. Rycinę należy opatrzyć na odwrocie oznaczeniem „góra” i „dół” (ołówkiem). Decyzję o stopniu zmniejszenia ryciny podejmuje wydawca.

Podpisy i objaśnienia pod rycinami powinny być dołączone na oddzielnej kartce. Oznaczenia, których nie można wpisać na maszynie, należy wyraźnie nanieść czarnym tuszem.

Ze względu na wewnętrzną spójność artykułu zaleca się autorom konstruowanie oryginalnych rysunków i zbiorczych tabel na podstawie danych z piśmiennictwa. Prawie wszystkie czasopisma zastrzegają sobie wyłączność druku prac wraz z ich dokumentacją (*Copyright*). Przed włączeniem tabel, wykresów czy schematów do artykułu przeznaczonego do publikacji w *Postęпах Biochemii* należy uzyskać zgodę na przedruk i przedłożyć ją Redakcji.

Redakcja prosi o właściwe pakowanie artykułów, aby zabezpieczyć maszynopisy i ilustracje przed pogięciem.

SPIS TREŚCI

| | |
|---|---------------|
| K. Raczyńska-Bojanowska — 25 lat <i>Acta Biochimica Polonica</i> . . . | 427 |
| Z. Kiliańska, L. Kłyszajko-Stefanowicz — Matriks jądrowa | 431 |
| G. Palamarczyk — Glikozylacje białek w układach eukariotycznych | 443 |
| A. Stankiewicz — Cynkoenzymy | 461 |
| G. Muszyńska — Identyfikacja grup reaktywnych enzymów | 481 |
| Sprawozdania: | |
| Zjazd n.t. „Biochemische Analytik 1978”, Monachium, RFN, 18—21.IV.1978 (A. Smaczkiewiczowa) | 495 |
| VI Międzynarodowe Sympozjum n.t. Flawin i Flawoprotein, Osaka-Kobe, 13—17.III.1978 (J. Koziol) | 496 |
| Recenzje | 499 |
| Komunikat Komisji Słownictwa PTBioch. | 513 |
| Spis treści — Tom XXIV, 1978 | 515 |
| Indeks autorów — Tom XXIV, 1978 | 519 |
| Komunikaty | 480, 494, 498 |

Indeks 36969

Post. Biochem. 24, z. 4 425—524 (1978)

<http://rcin.org.pl>