

## ביוכימיה א' חלק א'

בכדי להבין מה הם חיים צריך לדעת את מרכיביהם ואיך יוצרים אותם. מטרת הביניים היא לדעת מהם המולקולות מהם מורכב בעל החיים ומה נחוץ לצורך קיום. ניתן לראות כי מרבית הראקציות בביוכימיה הם בסביבה מימית ובתחום טמפרטורות נמוך וקטן יחסית של 0-40 מעלות צלסיוס. המולקולות הביולוגיות הם מולקולות ענק כמו חלבון ו-D.N.A אשר הם מולקולות מאוד מורכבות. ניתן להבחין כי מולקולות אלו הם פולימרים הבנויים מיחידות פשוטות יותר. למולקולות אלו יש גם מיבנה מרחבי תלת ממדי מיוחד ומורכב (יפורט בהרחבה בהמשך).

המולקולות הללו מורכבות מאטומים הקשורים בניהם בקשרים קוולנטיים, ולנטיים, קשרי מימן וקשרים יוניים. קשרים אלו הם ברמות אנרגיה שונות ולכולן יש חשיבות בביוכימיה. קשרים חזקים מופרדים או נוצרים בעזרת אנזימים וקשרים חלשים שנוצרים בין מולקולות ואף בתוך המולקולות מושפעות מתנאי הסביבה כמו PH טמפרטורה ועוד ויכולים לשנות את המבנה המרחבי בצורה ניכרת. בנוסף לכך הפרדת משטחים הקשורים בדיפול שווה לסכום כל הדיפולים החלקיים או במילים אחרות הרבה קשרים חלשים יוצרים קשר חזק אחד. קישורים אלו חשובים כי הרבה קישורים כימיים במערכות ביולוגיות תלויים במטענים והאנרגיה לשם שבירתם מחושבת על ידי הנוסחה:

$$\mu = \frac{q_1 \cdot q_2}{r^2}$$

וכאשר הקישור הוא מטען לדיפול אז בנוסחה המכנה הוא  $E_r^2$ : כאשר קיימת משיכה בין מטענים הם מתקרבים עד רדיוס ו.ד.ו (ואן דר ואלס) כלומר ההתקרבות תהיה עד הפרעת של ענני האלקטרונים אך בקשרים קוולנטיים קיים שטוף של אלקטרונים.

את אפקט הדיפול מקבלים רק במולקולות אסימטריות והוא תלוי במרחק בין המטענים. קשרי המימן שגם הם קשרים פולאריים הם הקשרים החזקים ביותר מבין הקשרים הבין מולקולריים (יכולים להיות גם קשרי מימן בין חלקים שונים במולקולה). בקשרי המימן לוקחים חלק שלושה אטומים התורם (Donor) המקבל (Acceptor) ואטום מימן המשמש כפרוטון. בקשרים אלו חשובה גם זווית הקשר ניתן לראות כי הקשר החזק ביותר מתקבל כאשר שלושת המולקולות נמצאות על אותו קו. אורך הקשר של קשרי המימן קטן מאורך הקשר של קשרי ו.ד.ו והוא מהווה גורם חשוב ביצירת מבנים מרחביים.

מים הם מולקולות פולאריות בעלות תכונות מיוחדות, למרות המסה המולרית הנמוכה יחסית (18.02) הם נוזל ולא גז וזה בעקבות אותם קשרי מימן בין מולקולות המים. במצב נוזלי למים יש מיבנה של מעין גביש שניבנה ומתפרק כל הזמן תופעה זו מעניקה למים צמיגות גבוהה, מתח פנים גדול וקבוע דיאלקטרי גבוה ובקיפאון המים אנו מקבלים את אותו מיבנה גבישי המלא בחללים וזו הסיבה לעליה בנפח כאשר עוברים ממים לקרח. המים מסוגלים ליצור קשרי מימן לא רק עם עצמם אלא גם עם מולקולות אחרות אשר גם להם יש את היכולת להיקשר בקשרים אלו. כאשר מוסיפים למים מלח כמו סודיום כלוריד (NaCl) המים יוצרים קליפות הידרציה סביב היונים כך שסביב כל יון שלילי נמצאים הפרוטונים של המים וסביב כל יון חיובי נמצאים אטומי החמצן של המים, כך המלח מתמוסס במים אך כל מולקולה של מים שנצמדה ליון היא כבר לא חופשית ולכן יש גבול למידת ההמסה שהוא גבול הריוויון של המים.

כאשר נכניס חלבון למים הם יצרו סביבו קליפות הידרציה כאשר נוסף לתערובת זו מלח הקשרים של המים עם החלבון יחלשו כי המים יעדיפו ליצור קליפות הידרציה סביב היונים, כתוצאה מכך החלבון מופרד לתופעה זו קוראים Salting in. כאשר ריכוז המלח עולה במידה רבה מתחיל החלבון לשקוע כי אין מספיק מים חופשיים כדי שהחלבון יישאר מומס במים לתופעה זו קוראים Salting out. שתי תופעות אלו לא נותנות ניקוי מדויק של החלבון אך מהוות אפשרות ראשונית לניקוי והפרדת החלבון.

כאשר מכניסים לתוך מים מולקולות הידרופוביות כמו שמן ניתן לראות כי תוך זמן קצר נוצרות שתי שכבות, ההסבר לתופעה זו הוא החוק השני של התרמודינמיקה, מולקולות המים מסתדרות בכלובי הידרציה סביב מולקולות שמן בודדות מה שגורם לכך שפחות מולקולות של מים היו חופשיות ובכך עולה מידת הסדר אך הדבר נוגד את התרמודינמיקה שאומרת כי רמת האי סדר צריכה לעלות, ולכן מספר כלובי הידרציה מתחברים ויוצרים כלוב אחד בעל שטח פנים קטן יותר יחסית לנפח מה שגורם ליותר מולקולות מים להיות חופשיות ולעליה באי סדר, בנוסף לכך הקשרים הבין מולקולריים של מולקולות השמן מושכות אותן אחת לשניה ובכך תורמות גם הם לשחרור של מולקולות מים באיחוד כלובי הידרציה.

במידה ונכניס למים מולקולות אמפיפטיות שהם מולקולות בעלות מיבנה הכולל ראש הידרופילי וזנב הידרופובי (מולקולות כאלו משמשות לסבונים, דטרגנטים, ממברנות ביולוגיות ועוד) אז נקבל מיבנה הקרוי מיצלה, מיבנה זה דורש את הסידור המינימלי במים, במבנה זה הזנבות פונים פנימה והראשים פונים למים. כאשר למבנים אלו מוסיפים עוד מולקולות אמפיפטיות מקבלים וסיכולות המכילות חלל פנימי ובנויות משכבה כפולה של מולקולות כך שהזנבות פונים אחד לשני והראשים פונים למים ולחלל. על פני המים נקבל שכבה של מולקולות שראשם כלפי המים וזנבותיהם לאוויר.

ה- PH מייצג את ריכוז הפרוטונים ( $\text{PH} = -\log[\text{H}^+]$ ) בנוסף ל- PH יש את ה- Pka שהוא תכונה אופיינית ושונה לכל הבסיסים והחומצות וניתן להוצאה מהמשוואה:

$$\text{PH} = \text{Pka} + \log \left( \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}\right)$$

כאשר מדברים על חלבונים ה- pka של קבוצות הבסיס והחומצה (בקצוות ובשיירים) הוא שקובע את רמת הטעינה של החלבון ב- PH מסוים, בבעלי החיים מדובר על PH בסביבות PH=7. כאשר המטען הכולל הוא אפס אז נקודת ה- PH הזאת נקראת נקודת שוויון המטען או Isoelectric point מעל נקודה זאת המטען שלילי ומתחתיה המטען חיובי. דבר זה חשוב בכדי לדעת את מידת האינטרקציה של החלבון עם מים ב- PH נתון, כי כאשר מולקולות החלבון טעונות במטען זהה (חיובי או שלילי) הם נידחות אחת מהשניה ואילו כאשר המטען הכולל הוא אפס מולקולות החלבון מתקרבות אחת לשניה ונוצרת אגרגציה ושקיעה של חלבון וה- PH בנקודה זו ניקרא PI. בעזרת תופעה זו ותופעת ה- Salting out אפשר להפריד חלבונים בצורה טובה יותר.

החלבון הוא פולימר המורכב מרצף של חומצות אמיניות שכל אחת מהן מקודדת על ידי שלוש בסיסים של D.N.A קיימות 20 חומצות אמיניות שונות וזה משותף לכל החי והצומח. מכיוון שיש יותר צירופי בסיסים ב- D.N.A מ- 20 יש יותר מצירוף אחד לכל חומצת אמינו. לכל החומצות האמיניות יש מיבנה כללי דומה ושייר שונה החלק הדומה מורכב מפחמן  $\alpha$  וסביבו מיתרקות המולקולה פחמן זה קשור למימן, קבצה אמינית, קבוצה קרבוקסילית ושייר השונה מחומצה אחת לשניה. מכיוון שלפחמן  $\alpha$  קשורות 4 קבוצות שונות הוא קיראלי ויתכנו שני מצבים של סטראואיזומרים אך הביולוגיה שלנו בנויה על מצב L ולא מצב D, הסיבה לכך היא כל האנזימים הם סטראו-ספציפיים למצב זה.

החומצות האמיניות מחולקות לפי תכונות של השייר למספר קבוצות והן: Aliphatic amino acids הכוללת חומצות אמינו בעלת שייר הידרופובי, Amino acids with hydroxyl or sulfur containing side chains קבוצה זו כוללת שירים פולאריים אך לא טעונים בקבוצה זאת נמצאת גם חומצת האמינו ציסטאין שהיא בעלת חשיבות רבה בגלל יכולתה לעבור חמצון וליצור קשרים קוולנטיים אם ציסטאינים נוספים וליצור קשרים דיסולפידיים בתוך שרשרת החלבון ואפילו בין שרשראות חלבון שונות, Aromatic amino acids הכוללת חומצות אמינו בעלות טבעות ארומטיות, Basic amino acids הכוללת חומצות אמינו בעלות שייר בסיסי חומצת האמינו היסטידין בקבוצה זו היא בעלת אמין בתוך הטבעת מה שגורם ל-Pka להיות בסביבות ה-PH זה מקנה לחומצה זו את היכולת לשמש כמתג לשינוי מבנה החלבון ב-PH-ים שונים, קבוצה נוספת היא Acidic amino acids and their amides הכוללת את חומצות האמינו החומציות והאמידים שלהם וקבוצה אחרונה היא Cyclic amino acid קבוצה זו מכילה רק חומצה אמינית אחת והיא פרולין אשר בה השייר הוא שלושה פחמנים אשר נקשרים גם לקבוצה האמינית של החומצה, מבנה מיוחד זה גורם לכפיה על שינוי מבנה החלבון בגלל נוקשות המולקולה וקיבוע הזוויות שלה.

לפעמים יכולות להיווצר מודיפיקציות על השיירים של חומצות האמינו, לדוגמה פוספט הנצמד לסירין ונוצר פוספוסירין. באותה צורה יכולה להתחבר גם קבוצת OH או אפילו סוכר או זנבות הידרופוביים של חומצות שומן. לפעמים מסת המודיפיקציות גדולה ממסת החלבון הרגיל. קיים גם מצב שבו קיימת קבוצה פרוסטטית הקשורה לחלבון כמו קבוצת ההם בהמוגלובין.

חומצות האמינו מתחברות בריבזום בעזרת ראקציה מקוטלת על ידי אנזימים כתוצאה מכך משתחרר מים ונוצר קשר ייחודי לחלבונים והוא הקשר הפפטידי, לשם יצירת קשר זה דרושה אנרגיה ותנאים שאינם תואמים את המצב בתאים ולכן יש שימוש באנזימים כדי להתאים את התהליך לתנאים פיזיולוגיים, לאחר חיבור של שתי חומצות אמינו אנו מקבלים בצד אחד קבוצה אמינית ובצד השני קבוצה קרבוקסילית שזה מצב הדומה למצב של חומצת אמינו בודדה. בחלבון הקשר הפפטידי הוא Trans מלבד במקרה של פרולין ששם המבנה הוא Cis.

סביב הקשר הפפטידי אין סיבוב חופשי כי בעקבות מצב הרזוננס של הקשר לקשר יש אופי חלקי של קשר כפול מה שמונע סיבוב חופשי ויוצר קשר שטוח מרחבית. בעקבות כך ניתן לראות כי הסיבוב של חומצות האמינו הוא על הקשרים של פחמן  $\alpha$  וזוויות הסיבוב נימדדות לפי השייר והמימן.

ככול שאורך הפפטיד עולה מיתרחקות זו מזו קבוצות הקצה הקרבוקסילית והאמינית וטעינתם הולכת ויורדת ביחס למספר חומצות האמינו מה שאומר כי הקבוצות הצדדיות היו אלו שיקבעו את ה-PI. לפעמים קצוות הפפטיד עוברות מודיפיקציה בה נוספת קבוצה כמו פורמיל או אצטיל לקצה האמינו והוא הופך מקצה N טרמינלי לקצה N טרמינלי חסום כנ"ל גם בקצה הקרבוקסילי יכולה להיות חסימה והוא יהפוך מקצה C טרמינלי לקצה C טרמינלי חסום, דבר זה משפיע על טעינת החלבון בקצוות. קיימים חלבונים כמו אינסולין הנוצרים כשרשרת אחת המחוברת כלולאה בעזרת קשרים דיסולפידיים ואז בעקבות חתיכה על ידי אנזימים נוצרות שני שרשראות הקשורות בקשרי SS, כלומר יש שני קצוות N טרמינל ושני קצוות C טרמינל.

המבנה הראשוני של חלבון הוא רישום של כל חומצות האמינו בו לפי הסדר בו הם מופיעות כאשר החלבון פרוס, כלומר ללא כל קשר וחשיבות למבנה מרחבי. בעזרת צורת ההסתכלות זו ניתן להשוות חלבונים של בעלי חיים שונים ולהסיק מסקנות

על מקטעים משותפים המבצעים פעילות דומה. בצורה זו ניתן גם להבחין כך בשינויים קטנים אשר לא משפיעים כלל או משפיעים בצורה קיצונית על פעילות החלבון.

החלבון בטבע אינו נימצא במצב פרוס אלה במבנה מרחבי תלת ממדי המסודר על ידי סיבוב סביב פחמן  $\alpha$  כמובן שהסיבוב מותנה בכך שלא תהיה דחייה משאר חלקי החומצה כמו השיירים ולכן חלק מזוויות הסיבוב לא אפשריות. יש באפשרותנו לקבל מפה המייצגת את הקשרים הפפטידיים ואת הזוויות של הסיבוב סביב פחמן  $\alpha$  ביחס לשייר ולמימן שעל פחמן זה, מפה זו ניקראת מפת רמאשנדרן. במפה זו ניתן הקשר בין המיקום לבנה המרחבי וניתן לראות כי חומצות אמינו מסוימות יכולות להופיע במספר מקומות ובמיספר זוויות בהתאם למקומן בחלבון.

כל חלבון מורכב מרצף של מיבנים שניוניים המאורגנים זה אחר זה במרחב, בתוך כל מיבנה שניוני ניתן להגדיר מספר עקרונות והם: (1) זווית הקשר בתוך חומצות האמינו בשרשרת פוליפפטידית זהות לזוויות בחומצות אמינו בודדות. (2) האטומים שלא קשורים בקשרים קוולנטיים אינם מתקרבים מתחת לרדיוס ו.ד.ו. (3) הקשר הפפטידי יוצר מישור שטוח והוא במצב Trans. (4) קשרי המימן הם סוג הקשר העיקרי שמיצב מבנים שניוניים, קשרי מימן אלו הם בין חלקים בשלד החלבון ולא מהשיירים.

כדי שקשר מימן היה יציב צריך ששלושת האטומים המשתתפים בו היו על קו אחד, ולשם כך על הפפטיד להסתדר במבנה מיוחד כמו  $\alpha$  Helix, במבנה זה שלד הפפטיד פונה כלפי פנים והשיירים פונים החוצה. במבנה זה נוצרת אשליה של חלל פנימי אך הוא לא קיים כי חלל זה מלא בעצם בענני האלקטרונים של האטומים בשלד הפפטיד. קשרי המימן הם לא בין שתי מולקולות סמוכות בגלל קירבתם אחת לשניה, הקישור נעשה בין מספר מסוים של חומצות אמינו וזה תלוי בסוג המבנה. המבנה  $3_{10}$  Helix אומר שיש 3 חומצות אמינו בסיבוב ו-10 אטומים בין כל קשר מימן, ב-  $\alpha$  Helix יש 3.6 חומצות אמינו בסיבוב ו-13 אטומים בין כל קשר מימן וב-  $\pi$  Helix קיימים 4.4 חומצות אמינו בסיבוב ו-16 אטומים בין קשרי המימן.

קיימות חומצות אמינו המעודדות מבנה של Helix ויש כאלו ששוברות מבנה זה כמו פרולין (בגלל היותה ציקלית ובעלת אמין שניוני במקום ראשוני). מבנה ה- Helix יכול להיות עם או נגד כיוון השעון כך ש- Helix ימני הוא הנפוץ יותר. כאשר יש מצב של שתי חומצות אמינו לסיבוב המבנה לא יוצר Helix אלה  $\beta$  Sheet (יפורט בהמשך).

לכל חומצות האמינו יש מומנט דיפול הנובע מקיום הקבוצה הקרבונלית והקבוצה האמינית שהם בעלי מטענים מנוגדים. בעקבות הקישור בפפטיד שהוא בכיוון אחיד יש התגברות של הפולאריות, תופעה זו גורמת להימצאות אזורים פולאריים בחלבון. במידה וה- Helix נימצא בסביבה הידרופובית הוא ישקע ובסביבה הידרופילית הוא יהיה בחוץ, אך יתכן מצב בו ה- Helix היה חצי שקוע וחצי לא הכל תלוי בסידור חומצות האמינו ובפולאריות שלהן.

קיימים מבנים מרחביים בהם מתחברים מבני  $\alpha$  Helix ליצירת סיב חדש הנקרא Protofilament בו ה-  $\alpha$  Helix – ים מחוברים בקשרי SS (בקרטין שתי שרשראות של  $\alpha$  Helix ובקולגן יש שלוש שרשראות בתוך ה- Protofilament), ב-  $\alpha$  Helix – ים המרכיבים מבנים אלו יש כמות גדולה של גליצין שהיא חומצת אמינו קטנה השואפת להיכנס פנימה לתוך המבנה. יחד עם הסינתזה של הקולגן נוצרת מודיפיקציה על הפרולין והליזין של קבוצות OH וסוכרים על הליזין, מודיפיקציות אלו מעלות את מסיסות החלבון בגלל אופיים ההידרופילי. בקצבות מבנים אלו קיימים אזורים גלובולריים

המונעים מחלבונים אלו להפוך לחבלים בתוך התא, ביציאת חלבון זה מהתא אנזימים מפרקים את החלק הגלובולרי המכונה גם Extension peptide ואז ה-Helix ים מתחברים ונוצר מיבנה ארוך כתוצאה מדחיסה אלדולית ויצירת קשרים קוולנטיים בנוכחות של אנזים ליגז אוקסידז אשר בעזרת חמצון יוצר קבוצה אלדהידית לשם הדחיסה האלדולית. בקולגן כל הזמן נוצרים קשרים חדשים מה שגורם לכך שהסיב מאבד את גמישותו.

מבנה שניוני נוסף הוא  $\beta$  Sheet אשר ניתן להתייחס עליו כ-Helix בעל שתי חומצות אמינו לסיבוב. במבנה זה אין קשרי מימן בתוך השרשרת אלה בין שתי שרשראות של  $\beta$  Sheet או שרשרת אחת החוזרת על עצמה לאחר מבנה אחר הקישור בין השרשראות יכול להיות פרללי כלומר ששתי השרשראות באותו כיוון או אנטי פרללי כאשר השרשראות בכיוונים מנוגדים. במבנה זה השיירים נמצאים בזוית של 180 מעלות בין חומצות צמודות מה שיוצר מישור הנראה כמו זיגזג, במבנה של  $\beta$  Sheet יכולות לקחת חלק גם שלוש או יותר שרשראות. המישורים שנוצרים הם בעלי כיפוף מסוים כי הם מאותו סוג של איזומר אופטי. מבני ה- $\beta$  Sheet כמעט ולא אלסטיים מכיוון שהשרשראות מתוחות כבר כמעט במקסימום אורכן.

בנוסף ל- $\alpha$  Helix ול- $\beta$  Sheet קיימים מבנים נוספים כמו פניות Turns אשר באות בשני סוגים  $\alpha$  ו- $\beta$  מבנים אלו הם כשמים פניות של החלבון לשם סיבוב או כיפוף המבנה המרחבי. מבנה נוסף הוא ה-Random coil שהוא חסר מבנה מרחבי ספציפי ונימצא בין מבנים שניוניים מוגדרים. קיימים גם אלמנטים מרחביים כמו  $\beta\alpha\beta$  המורכב מ-Sheet ומ- $\alpha$  Helix. יש חלבונים הבנויים מחזרות רבות על אותו מבנה אך לכל החלבונים יש 4 רמות ארגון והן: (1) סדר חומצות האמינו, (2) אלמנטים שניוניים, (3) התארגנות אלמנטים שניוניים למבנה תלת ממדי המכונה מבנה שלישוני, (4) שילוב של מבנים שלישוניים לאגרגט של חלבונים שהוא המבנה הרבעוני של החלבון. לשם סידור החלבון דרושה אנרגיה אשר מתקבלת מעדיפות לאי סדר כי על ידי סידור החלבון יותר מולקולות ממס משתחררות והאי סדר גדל, לתהליך מסייעים גם אנזימים המכונים שפרון Chaperon מלווה. אך בגלל שה- $\Delta G$  קטן יכולים להיווצר מבנים אלטרנטיביים קרובים.

כאשר אנו מחממים חלבון אנו גורמים להרס המבנה המרחבי תופעה זו נקראת דנטורציה, אם לאחר הדנטורציה אנו מעבירים את החלבון לתמיסה פיסולוגית הוא מתחיל להתארגן מחדש במספר שלבים ברורים קודם כל מסתדרים המבנים השניוניים  $\alpha$  Helix ו- $\beta$  Sheet, בשלב הבא מתארגנים Domains הנקראים Molten Globule שזה מרכז התארגנות של מבנה שלישוני אך עדיין לא המבנה השלישוני הנוצר בשלב הבא מאיחוד ה-Domains. על ידי החלפה של חומצות האמינו ציסטאין בחלבון באלנין ניתן לראות שגם בלי קשרי ה-ss החלבון חוזר מתארגן ונהיה שוב פונקציונלי. דבר זה מראה לנו כי קשרי ה-ss לא מהווים תנאי לחזרת החלבון הם רק מייצבים את המבנה שלו. אנו רואים כי בתוך התאים החלבונים הם בלי קשרים דיסולפידיים מכיוון שהסביבה שם מחזרת אך מחוץ לתא רואים כי קשרים אלו נוצרים בחלבון.

הגלובינים הם חלבונים שתפקידם הוא העברת חמצן על ידי קשירתו ושחרורו לפי דרישה. ברקמות מופיע החלבון מיוגלובין אשר מקבל חמצן מהדם ומשחרר אותו בתאים לפי דרישה, בדם החלבון הוא המוגלובין והוא לוקח חמצן מהראות ומשחררו ברקמות שם הוא נקלט על ידי המיוגלובין. בנוסף ההמוגלובין מסייע בהעברת  $CO_2$  מהרקמות לראות. שני חלבונים אלו משמשים כנשאים בלבד ולא יוצרים שינוי בחמצן. המיוגלובין מורכב רק משרשרת אחת בעוד שההמוגלובין מורכב מ-4 שרשראות (יפורט בהמשך).

כפי שצוין קודם המיוגלובין מורכב משרשרת פפטידית אחת, בנוסף לשרשרת זו קיימת בחלבון זה קבוצה פרוסטטית של הם המורכבת מ - Porphin שבמרכזו אמינים הקשורים לאטום ברזל. קבוצה פרוסטטית זו נמצאת בתוך מעין כיס בחלבון (הקבוצה מצויה גם בכל אחת מ - 4 תת היחידות של המוגלובין) המונע חמצון של הברזל על ידי החמצן בעזרת הפרעות סטריות אך מאפשר קישור של מולקולת חמצן לברזל. מבנה ההם מיוצב בחלבון על ידי אטום הברזל הקשור בצידו האחד לחומצת האמינו היסטדין (93) ובצד השני נמצאת חומצת האמינו היסטדין (64) אשר לא נקשרת לברזל ישירות והיא מהווה את ההפרעה שמונעת מהחמצן לחמצן את הברזל. כאשר בכיס המולקולה לא יושבת מולקולת חמצן נמצאת שם מולקולת מים אך היא לא נקשרת להם. הקישור שנובע מאפיניות החמצן לברזל אינו חזק וניתן לניתוק בקלות, למעשה המולקולות נמצאות בשיווי משקל בין המצב הקשור למנותק. מולקולת חמצן יכולה להתנתק להסתובב בכיס ולהתחבר שוב או לצאת מהכיס ומולקולה אחרת תכנס במקומה.

קבוצות ההם הם גם בעלות אפיניות למולקולות אחרות כמו CO (פחמן חד חמצני) שהוא תוצר בערה חלקית רעיל מאוד, האפיניות של ההם ל - CO גדולה בהרבה מהאפיניות לחמצן וכאשר מולקולת CO נקשרת להם היא לא משתחררת, כאשר מדברים על מולקולות CO רבות הדבר אומר חנק כי לא יגיע מספיק חמצן לתאים כי אין מה שיוביל אותו. לעומת ה - CO מולקולת ה - CO<sub>2</sub> לא נקשרת להם.

אחת הגישות לגבי הקשר בין ריכוז החמצן לעומת קשירתו למיוגלובין היא שהפריקציה התפוסה הפרופורציונית לריכוז החמצן ל - K<sub>D</sub> וליחס בין המיוגלובין התפוס לפנוי תהיה שווה ללחץ החלקי חלקי (P<sub>ox</sub>) לחלק בלחץ שבו 50% היה קשור (P<sub>50</sub>). וכך מתקבלת משוואת היל (Hill):  $\log(y/(1-y)) = \log(P_o) - \log(P_{50})$ . הגרף הנוצר ממשוואה זו חותך את ציר ה - X ב - P<sub>50</sub>. גישה שניה שמאוד מקובלת היא התצוגה של Scatchard שגם היא נותנת קו ישר והיא:  $b_L/f_L = T_R/K_D - b_L/K_D$  כאשר b<sub>L</sub> זה ריכוז הליגנד הקשור, f<sub>L</sub> זה הליגנד החופשי, T<sub>R</sub> זה סך כל הרצפטורים ו -  $K_D = f_L * f_R / b_L$  כש - f<sub>R</sub> זה ריכוז הרצפטורים החופשיים. בגרף Scatchard שיפוע הגרף הוא -1/K<sub>D</sub>. ממשוואת Scatchard אנו למדים כי כאשר המערכת רוויה בעודף רב של ליגנד אז b<sub>L</sub> = T<sub>R</sub>. ניתן גם לראות כי ככל שהשיפוע תלול יותר כך האפיניות גדולה יותר ונקודת החיתוך עם ציר ה - X נותנת את ה - T<sub>R</sub>.

מיוגלובין והמוגלובין מבצעים את אותה פעולה של קליטת חמצן ושחרורו אך קיימים בניהם מספר הבדלים משמעותיים. ההמוגלובין בנוי מ - 4 תת יחידות הדומות במבניהם של מיוגלובין אך שונות במקצת, שניים משרשראות אלו הם α ושניים הם β והם מקודדים משני גנים שונים. בכל אחת מיחידות הטטרמר יש כיס ובו נמצאת קבוצת ההם. ניתן לראות על ידי חימום כי הקשר בין שרשרת α לשרשרת β חזק יותר מאשר הקשר בין שרשרת α אחת לשניה ובין שרשרת β אחת לשניה. אם המיוגלובין היה אחראי על העברת החמצן בדם הוא לא היה משחרר מספיק חמצן ברקמות (בערך 25% חמצן היה מגיע לרקמות) ולכן הוא איננו יעיל לפעולה זו אותה מבצע ההמוגלובין.

ההמוגלובין מראה אפיניות גבוהה בראות ונמוכה ברקמות כלומר האפיניות שלו משתנה בהתאם לרמת החמצן. תופעה זו קשורה בעובדה שקשירת מולקולת חמצן לאחת מקבוצות ההם בהמוגלובין משפיעה על הקבוצות האחרות, בעיקבות כך משוואת Hill נותנת לנו:  $y/(1-y) = (P_o/P_{50})^n$  כך ש - n הוא גורם המיצג את השינוי באפיניות (בהמוגלובין n = 2.8). ההתנהגות של השינוי באפיניות היא התנהגות

קואופרטיבית או אלוסטרית, כאשר גרף משוואת Hill חוצה את ציר ה- $x$  אז זה המצב של  $P_{50}$  כלומר המצב שבו מחצית הקבוצות הקשורות קשורות לחמצן.

כאשר המוגלובין הוא ללא חמצן הוא נקרא דהאוקסי המוגלובין צורה זו יציבה ברקמות וכאשר הוא במצב רווי חמצן הוא נקרא אוקסי המוגלובין היציב יותר בראות ומאופיין באפינייות גדולה יותר. בהסתכלות על מבנים אלו אנו רואים כי במצב האוקסי החלל שבין שרשראות ההמוגלובין קטן יותר מאשר במצב הדהאוקסי, בהתבוננות מהצד נראה כי קבוצות  $\alpha$  ו- $\beta$  נעות אחת לעבר השניה, אך בהסתכלות על סיגמנטים ניתן להבחין בקשרי מימן וגשרי מלח הנשברים ונוצרים בין הקבוצות הצדדיות של חומצות האמינו ב-4 תתי היחידות של ההמוגלובין במעבר בין מצב אוקסי לדהאוקסי.

כאשר אין חמצן הקשור להמוגלובין הברזל נימשך להיסטדין והמישור של ההם מכופף קצת, כשחמצן מתחבר לברזל הוא גורם ליישור המבנה וכך נוצרת חפיפה ברדיוסי ו.ד.ו של קבוצת ההם אם חומצות האמינו האחרות וזה גורם להם לזוז דבר המשנה את כל המבנה של ההמוגלובין.

כשניצפה מצב זה הכלו להיות מודלים להסברת התופעה, אחד מהם טוען כי בעת קשירת החמצן הראשון לאחת מתתי היחידות הדבר משפיע על יחידה סמוכה בכך שהאפינייות שלה עולה ושהיא מתמלאת זה משפיע על היחידה הבאה וכך הלאה. מודל נוסף הוא של הכל או לא כלום כלומר כשחמצן אחד נקשר כל שאר תתי היחידות משתנות למצב אוקסי והאפיניות שלהם עולה. כיום המודל שבשימוש טוען שקשירת חמצן לאחד מתתי היחידות גורמת לשינוי באחת או שתיים מתתי היחידות אך לא את כולם. בנוסף לכך גם ה- $pH$  משפיע על מבנה ההמוגלובין, כאשר ריכוז הפרוטונים בתמיסה עולה (ה- $pH$  יורד) משתחרר יותר חמצן ברקמות.

כאשר  $CO_2$  מתמוסס במים בגוף מקבלים חומצה פורמית לפי התגובה הבאה:  
 $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCOO^- + H^+$  (אפקט בוהר) אשר מזרזת על ידי אנזים כאשר יש ריכוז גדול של  $CO_2$ , כתוצאה מכך ה- $pH$  נהיה יותר חומצי וההמוגלובין משחרר יותר חמצן ברקמות. מתופעה זו ניתן לראות כי הפרוטונים ( $H^+$ ) מיצבים את מצב הדהאוקסי על ידי כך שהם נקשרים לחנקן של ההסטידין טוענים אותו ונוצרים גשרי מלח עם חומצה אספרטית גשר מלח זה יתפרק כשנסלק את הפרוטונים.

מולקולת ה- $BPG$  (2,3-bisphosphoglycerate) היא מולקולה קטנה הנכנסת לתוך חלל ההמוגלובין שבין 4 תתי היחידות ונקשרת להיסטידינים בעזרת הפוספטים, דבר זה קורה במצב הדהאוקסי מכיוון שבו החלל מספיק גדול לשם כניסת מולקולת ה- $BPG$ . כניסת ה- $BPG$  מפריעה להמוגלובין לעבור למצב האוקסי ובכך משתחרר יותר חמצן ברקמות. כאשר אדם נמצא באזור בו ריכוז החמצן נמוך (כמו על הר גבוה מאוד) ריכוז ה- $BPG$  שלו עולה כדי לשפר את מעבר החמצן בהתאם לעובדה שפחות חמצן נקלט בראות (עקב ריכוזו הנמוך בסביבה). בנוסף לכך כאשר איבר בגוף סובל לאורך זמן מקבלה לא מספקת של חמצן נוצרים כלי דם חדשים לאזור זה ובכך גדלה כמות הדם והחמצן לאזור.

בעובר ההמוגלובין שונה מאשר בבוגר הוא איננו מכיל שרשראות  $\beta$  אך במקומם הוא מכיל שרשראות  $\gamma$ . תופעה זו הכרחית למעבר תקין של חמצן בעובר אשר מקבל את הספקתו מאימו דרך השיליה על ידי קירבה בין כלי הדם של העובר ואימו. הימצאות שרשראות ה- $\gamma$  מאפשרת לעובר לקלוט חמצן מאימו כלומר בתנאים קשים יותר מאשר לבוגר. בשרשרת  $\gamma$  אין את אותם היסטידינים אשר ניקשרים ל- $BPG$  ולכן המצב של אוקסי יציב יותר כי אין את הקישור שמיצב את הדהאוקסי.

כתוצאה מכך להמוגלובין העובר יש אפינייות גדולה יותר לחמצן מאשר להמוגלובין של האם דבר הגורם לחמצן לעבור מהאם לעובר. בתינוק מופסקת יצירת שרשראות ה- $\gamma$  ובמקביל מתחילות להיווצר שרשראות  $\beta$  עד שמגיעים למצב של הבוגר בו בהמוגלובין יש שרשראות  $\alpha$  ו- $\beta$ .

בנוסף לאפקט בוהר סילוק ה- $\text{CO}_2$  מהרקמות נעשה גם על ידי הקצוות של ההמוגלובין בהם יש אמינים חופשיים ויכולה להתרחש ראקציה קרבומילציה:  $\text{R-NH}_2 + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{R-NH-COO}^- + \text{H}^+$ . תגובה זו מתבצעת בפריפריה ולכן מקבלים שני אפקטים: (1)  $\text{CO}_2$  מתמוסס בדם ומשתחרר בראות כשהחומציות יורדת, (2) ההמוגלובין עוזר בסילוק ה- $\text{CO}_2$  מהגוף.

ניתן לשאר כי פעם היה גן אחד לכל הגלובין בגלל הקירבה במבניהם ובשלב מסוים באבולוציה נוצרו שני גנים אחד למיוגלובין ואחד להמוגלובין אשר גם הוא בשלב מסוים התפצל לחלק שיוצר שרשראות  $\alpha$  ולחלק היוצר שרשראות  $\beta$  (וגם  $\gamma$  בעובר. ניתן לראות כי קיימים שני איזורים בגן לשרשראות  $\alpha$  המקודד לשרשראות אלו וזה  $\alpha 1$  ו- $\alpha 2$  אשר לא לגמרי זהים אך  $\alpha 2$  מהווה מנגנון גיבוי ל- $\alpha 1$ , לעומת זאת גן לשרשרת  $\beta$  אין שתי קבוצות המקודדות את שרשרת  $\beta$  יש רק מקטע אחד לכך אך יש שני מקטעים לשרשראות  $\gamma$  והם  $\gamma A$  ו- $\gamma G$ . בנוסף לכך יש אזורים המקודדים למבנים דמויי  $\alpha$  ו- $\beta$  והם:  $\xi$ ,  $\psi_\alpha$  ו- $\psi_\beta$  שהם דמויי  $\alpha$ ,  $\delta$  ו- $\psi_\beta$  שהם דמויי  $\beta$  ו- $\epsilon$  שהוא דמויי  $\gamma$ .

בהמוגלובין יש איזורים רבים בהם יכולה להיווצר מוטציה בחלקם הדבר לא יגרום לנזק משמעותי אך קיימים גם איזורים המכונים Hot Spots שבהם יש סבירות גדולה למוטציה הגורמת לנזק בלתי הפיך בהובלת החמצן. אחת מהמוטציות המפורסמות הללו גורמת למחלה שנקראת אנמיה חרמשית שבה מוחלפת חומצה גלוטמית בואלין כלומר חומצת אמינו הידרופובית במקום טעונה. כתוצאה מכך מולקולות ההמוגלובין נדבקות אחת לשנייה ומתקבל מעין מוט המעוות את תא הדם האדום ויוצר צורה של חרמש. מוטציה זו מתרחשת רק בהומוזיגוטיים (כלומר אורגניזם שקיבל את הגן משני הוריו), כאשר הגן הוא רק מאחד ההורים אז יש רק בעיה בהעברת החמצן בלי עיוות תאי הדם, מחלה זו גורמת למוות. התגלה שבאזורים בהם יש אכלוסיה רבה בעלת מוטציה זו יש גם מלריה רבה ואילו המוטציה גורמת למניעת ההדבקות במחלת המלריה. מוטציות בשרשראות  $\alpha$  ו- $\beta$  המביאות לפגיעות חלקיות בתפקוד של המוגלובין ניקראות מחלות טלסמיות, כאשר המחלה היא  $\beta$  טלסמית מתבצעת סינטזה של שרשראות  $\gamma$  בבוגר מה שפוגע בהובלת החמצן ואף יכול לגרום למוות, כדי שתהיה מחלה טלסמית בשרשרת  $\alpha$  צריך ששני המקטעים המקודדים ל- $\alpha$  יפגעו וגם תופעה זו גורמת לפגיעה בעברתו התקינה של החמצן בגוף.

אנזימים הם חלבונים אשר בהם הליגנד הנקשר עובר שינוי בניגוד לחלבונים בו הליגנד הנקשר משתחרר ללא שינוי. האנזימים הם למעשה קטליזטורים הם מזרזים את התגובה תוך כדי התקשרות לסובסטרט ובסוף התגובה הם משתחררים מהפרודוקט ויכולים לטפוס סובסטרט חדש:  $\text{E} + \text{S} \rightleftharpoons \text{ES} \rightleftharpoons \text{E} + \text{P}$ . בעזרת האנזימים ניתן לבצע ראקציות כימיות הקשורות בבניית ושבירת קשרים קובלנטיים בתנאים פסיולוגיים. במהלך פעילותו של האנזים הוא יכול להשתנות אך הוא חוזר למצבו הראשוני בסוף התגובה. יעילותו הקטליטית של האנזים גבוהה מאוד כלומר מולקולת אנזים אחת יכולה להפוך מולקולות רבות של סובסטרט לפרודוקט.

האנזים מזרז את התגובה על ידי הורדת אנרגיית השיפעול (אנרגיית האקטיבציה) וכך לתגובה קל יותר להגיע למצב המעבר (Transition State) וממנו לתוצר או חזרה לסובסטרט. האנזים אינו גורם ליצירת תוצר בעודף הוא רק מזרז את ההגעה לשיווי



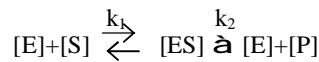
המשקל. האנזים אוריאז לדוגמה מזרז את ההגעה לשיווי הראקציה פי  $10^{14}$  מאשר בלעדיו.

השינוי במחסום האנרגיה תלוי באנטלפייה ובאנטרופייה, האנזים מסדר את הסובסטרטים בכיוון הנכון לתגובה באתר הפעיל שצורתו דומה לצורת מצב המעבר ולא צורת הסובסטרט, לאחר הסידור הוא מקטלז את התגובה. התיאוריה הזאת נקראת Induced Fit והיא קיבלה אישור חד משמעני על ידי נוגדנים המשמשים כקטליזטורים כמו אנזימים.

כאשר אנו משתמשים באנזימים אנרגיית האקטיבציה יורדת כי האנזים יוצר מצב ביניים Intermediate State (לא מצב מעבר) שבו האנזים קשור לסובסטרט מצב זה נמצא בשפל אנרגטי ולא בפיק כמו מצב המעבר. קיימות מספר סיבות לשינוי באנרגיה והם אי התאמה מלאה בין האתר הפעיל לסובסטרט, הפרעות סטריות בין רדיוסי ו.ד.ו של הסובסטרט והאנזים באתר הפעיל, כל אלו מעלים את האנרגיה ובכך התגובה מזרזת על ידי דה סטביליזציה של הקומפלקס אנזים-סובסטרט לבין סטביליזציה של מצב הביניים.

בעת התקשרות של סובסטרט לאתר הפעיל של האנזים המבנה המרחבי של האנזים משתנה, האתר הפעיל כמעט ניסגר ויוצר מעין כיס בו נמצא הסובסטרט בסוף התהליך כיס זה נפתח והפרודוקט משתחרר. בגלל כל אותם הבדלי התאמות האנזימים רגישים מאוד לתנאי סביבתם, למשל שינוי ב - PH יכול לגרום לפגיעה ביעילות הקטליטית של האנזים.

רוב הראקציות האנזימטיות הם סטראו-ספציפיות, הסובסטרט מסתדר באתר הפעיל הספציפי של האנזים שם הוא נקשר בעזרת התאמה של קבוצות פונקציונליות שלו. העובדה שראקציות אלו הם כל כך ספציפיות מעלה את יעילותם. כל האנזימים מחולקים למשפחות המבצעות ראקציות דומות אך לא זהות לדוגמא: הפרוטאזות חותכות חלבונים כל פרוטאז חותך בצורה שונה ברצף שונה בחומצה אמינית שונה, השינוי העיקרי במבנה הפרוטאזות הוא באתר הפעיל. אך לא רק אנזימים מבצעים קטליזה בגוף גם מולקולות של RNA יכולות לתפקד כאנזימים כמו הריבוזום, תופעה זו מראה לנו כי החלבונים הם התפתחות מאוחרת יותר של ה - RNA.



אנו מנחים כי השלב בו מתפרק הקומפלקס אנזים-סובסטרט לאנזים ופרודוקט הוא מידי ולא הפיך או קרוב מאוד לכך. כאשר מכניסים ריכוז גבוה של סובסטרט לתוך תמיסה המכילה אנזימים מתחיל להיווצר פרודוקט אך הקצב יורד עם הירידה בריכוז הסובסטרט, הריכוז הטוטלי של האנזים לא משתנה אך ריכוז האנזים הקשור יורד. כל עוד כמות הסובסטרט גדולה מכמות האנזים המצב נשאר מהיר וכמעט קבוע מצב זה נקרא Steady State זה לא מצב שיווי משקל כי המעבר מ - ES ל - E + P הוא בלתי הפיך, במצב זה  $d[ES]/dt = 0$ . כאשר נסתכל על מצב ה - Steady State נראה כי קצב היצירה והפרוק זהים ונקבל:  $k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$ . כאשר נפתח משוואה זו בשילוב עם:  $V = k_2[ES]$  ו  $[E]_t = [E] + [ES]$  נקבל את משוואת מיכאליס מנטן הראשונה:

$$V = \frac{k_2[E]_t[S]}{k_m + [S]} \quad \text{כך ש} \quad k_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

כאשר אנו מציפים את המערכת בסובסטרט ריכוז ה - ES עולה ומתקרב לריכוז של  $E_t$  ואז האנזים עובד במהירותו המקסימלית. כך אנו מקבלים את משוואת מיכאליס

מנטן השניה:  $V = V_{max}[S]/(k_m + [S])$ , וכאשר  $V = V_{max}/2$  אז  $k_m = [S]$ . רוב הראקציות האנזימטיות פועלות לפי מיכאליס מנטן אך כמו בכל דבר יש יוצאים מהכלל. בזכות משוואות מיכאליס מנטן ניתן לחשב את  $k_m$  כאשר יודעים את  $V_{max}$  ולהפך. משוואות מיכאליס מנטן לא נותנות גרף של קו ישר אך על ידי מספר שינויים ניתן להגיע

למשוואת Lineweaver – Burk המציגה קו ישר ונוסחתה הוא:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{k_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

מהגרף של משוואת Lineweaver – Burk ניתן לקבל את  $V_{max}$  כי הגרף חותך את ציר ה-Y בנק'  $1/V_{max}$  וניתן לקבל את  $k_m$  לפי נק' החיתוך עם ציר ה-X ששווה ל-  $1/k_m$  ושיפוע הגרף שהוא  $k_m/V_{max}$ . בהצגת Lineweaver – Burk ניתן גם לראות כי כאשר משנים את  $V_{max}$  הדבר לא משנה את  $k_m$  ושינוי ב-  $k_m$  לא משנה את  $V_{max}$ . אנו רואים כי אנזימים שונים הם בעלי ערכי  $k_m$  שונים וכך ניתן גם להבדיל בניהם.

$k_{cat}$  הוא קבוע קטליזה בדרך כלל משתמשים בו במקום  $k_2$  במשוואות מיכאליס מנטן, יחידותיו הם  $1/s$  והוא מתאר את מספר מולקולות הסובסטרט שאנזים הופך לפרודוקט בשניה. ככל ש-  $k_{cat}$  גדול יותר האנזים יותר פעיל. אם ניקח ריכוז סובסטרט הקטן בהרבה מריכוז  $k_m$  נקבל שמשוואת מיכאליס מנטן נותנת:  $V = (k_{cat}/k_m) * [E][S]$ . הביטוי  $k_{cat}/k_m$  הוא ערך משולב לפעילות האנזים והוא נותן מדד טוב על יעילות האנזים. כאשר לאנזים יש יותר מסובסטרט אחד לכל סובסטרט היא ערך שונה של  $k_{cat}/k_m$  בהתאם ליעילות האינטרקציה של עם האנזים.

שינוי בפעילות של אנזים הוא בעל חשיבות רבה במיוחד ברפואה שם תרופות הנצמדות לאנזימים גורמות לעיכוב או להאצה של פעילות אנזים מסוים. הקשירה של המעכב לא חייבת להיות באזור הפעיל. בעיכוב לא הפיך נוצר קשר אשר קשה או לא ניתן לפרקו, אך יכולים להיות מצבים בהם מולקולה הדומה לסובסטרט הטבעי נקשרת לאתר הפעיל אך לא מתרחשת תגובה כי קיים הבדל בין מולקולה זו לסובסטרט, תופעה זו נקראת עיכוב תחרותי (Competitive Inhibition) כי יש תחרות על הקשירה לאזור הפעיל. המולקולה המעכבת נקראת Inhibitor, כאשר נעלה את ריכוז הסובסטרט בלי לשנות את ריכוז ה- Inhibitor אנו ניראה כי  $V_{max}$  לא משתנה בעוד ש-  $k_m$  משתנה וזאת בגלל התחרות בין הסובסטרט ל- Inhibitor על הקישור לאתר הפעיל.

בעיכוב תחרותי משתנה משוואת מיכאליס מנטן ומתקבלת המשוואה:

$$V = \frac{V_{max} * [S]}{k_m^{app} + [S]}$$

כאשר  $k_m^{app} = k_m(1 + [I]/k_i)$  של  $[E] + [I] \rightleftharpoons [EI]$  קבוע שיווי משקל של  $k_i$  קבוע שיווי משקל של  $k_i$  הוא קבוע נמדד כי יתכנו מעכבים שלא ידוע על קיומם ורק כאשר ידוע ב- 100% כי אין מעכב ניתן להגיד כי  $k_m = k_m^{app}$ .

לעומת העיכוב התחרותי קיים גם עיכוב בלתי תחרותי Non-Competitive Inhibition אשר בו בניגוד לעיכוב תחרותי המעכב נקשר לאתר שהוא לא האתר הפעיל והוא אינו מהווה מתחרה לסובסטרט בקישור לאתר הפעיל, יתכן אפילו מצב בו גם הסובסטרט וגם המעכב קשורים לאנזים. המעכב בעיכוב בלתי תחרותי גורם לשינוי במבנה המרחבי של האנזים ובכך נוצרת פגיעה בקטליזה שלו. בעיכוב מסוג זה  $V_{max}$  יורד כי חלק מהאנזים תמיד נמצא בקומפלקס עם ה- Inhibitor אך ה-  $k_m$  לא משתנה כי אנו מסתכלים רק בפריקציה בלי Inhibitor לחישובו (רק כשמדובר בעיכוב טוטלי, כאשר העיכוב חלקי הדבר שונה). במקרה זה במשוואה היא:

$$V = \frac{k_{cat} * [E] * [S]}{k_m + [S]}$$

בנוסף לשני סוגי עיכובים אלו קיימות וריאציות שונות בעיכוב בלתי תחרותי לדוגמה כאשר ה-Inhibitor ניקשר לא רק לאנזים אלא גם לקומפלקס אנזים-סובסטרט ואז מקבלים עיכוב שנקרא Mixed Non-Competitive Inhibition, ועיכוב זה הוא הנפוץ ביותר אך אינו פשוט כי גם  $V_{max}$  וגם  $k_m$  משתנים.

במציאות בניגוד למה שדנו בו עד עכשיו בטבע התגובות הם לא רק חד כיווניות ולפעמים יש מספר סובסטרטים ומספר פרודוקטים ואז כל אנליזת מיכאליס מנטן משתנה. כאשר מספר סובסטרטים מתחברים לאנזים יש לבדוק את צורת ההתקשרות, את זאת עושים על ידי שינוי של ריכוז סובסטרט אחד בלי לשנות סובסטרט שני ואחר כך להפך ניתן לראות כי קיימים שני מנגנונים שונים: באחד לא משנה מי נקשר קודם או ששני הסובסטרטים נקשרים ביחד למנגנון זה קוראים Random והשני הוא שיש חשיבות למי שנקשר קודם ומנגנון זה נקרא Non-Random. במצב Random נקבל בצב הדומה לעיכוב תחרותי בו שני הסובסטרטים יתחרו על מי יתחבר קודם לאנזים, כאשר המצב הוא של Pure Random הקווים בגרף נפגשים באותה נק' בציר ה-X.

קיימת גם ראקציית פינג-פונג בה כשנוצר הפרודוקט הראשון האנזים משתנה ובעזרת סובסטרט שני הנקשר לאנזים החדש נוצר פרודוקט שני והאנזים מוחזר למצבו הראשוני. דוגמה לכך זה הכימוטריפסין שבו האנזים משתנה ובעזרת סובסטרט שני שהוא מים במקרה זה חוזר האנזים למצבו הטבעי ומשתחרר פרודוקט שני. אם משנים את ריכוז הסובסטרט הראשון בראקציית פינג-פונג בלי לשנות את ריכוזו של הסובסטרט השני ואחר כך להפך נקבל שגם  $V_{max}$  וגם  $k_m$  משתנים אך שיפוע הגרף  $k_m/V_{max}$  לא משתנה.

יכולות להיות גם רגולציות של תהליכים אנזימטיים כמו למשל שהפרודוקט יתקשר גם הוא לאתר הפעיל ויגרום לעיכוב תחרותי, כלומר ככל שריכוז הפרודוקט יעלה תרד היעילות של האנזים. אך יכולות להיות רגולציות יותר מורכבות בהם תוצר מתגובה יותר מאוחרת משפיע על האנזים בתחילת שרשרת התגובות. צורה נוספת לרגולציה היא כמו ב-Trypsin הוא נוצר בלבב עם מספר חומצות אמינו נוספות ואז הוא נקרא Trypsinogen, לאחר יציאתו מהלבב התוספת נחתכת על ידי Enterupeptidase ואז ה-Trypsin עוזר להאיץ תהליך זה על ידי כך שגם הוא חותך את אותם חומצות אמינו מיותרות לשם יצירת עוד Trypsin. ה-Trypsin הוא אנזים המשפיע על תגובות רבות על ידי כך שהוא מבקע גם Chymotrypsinogen - 1 Proelastase, Procarboxypeptidase, תוצר החתיכה של Chymotrypsinogen הוא  $\pi$ -Chymotrypsin אשר שני אנזימים אלו נצמדים זה אל זה וחותכים אחד את השני ומתקבל  $\alpha$ -Chymotrypsin.

בהתנהגות אלוסטרית של אנזימים יש חריגה מחוקי מיכאליס מנטן, קיימות שני סוגי אלוסטרייות הומואלוסטריות והטרואלוסטריות, וקיימות גם קואופרטיביות חיובית ושלילית. בהתנהגות הומואלוסטרית יש עליה באפינייות עם ההתקשרות עד ההגעה לרוויה כלומר מהר מאוד מגיעים לפעילות מקסימלית. אנזימים בדרך כלל עובדים בשרשרת תגובות שתוצר של אחת הוא סובסטרט, אנזים או מתג לשניה. בהצגה גרפית ניתן לראות את התעוותות הקו הישר כתוצאה של השינוי ב- $k_m$ .

בהתנהגות הטרואלוסטרית הגורם המשפיע הוא חיצוני הוא יכול להיות תוצר של ראקציה שונה או תוצר של חלק אחר בשרשרת התגובות דבר שיעכב או יאיץ את התגובה הנוכחית. לדוגמה האנזים Aspartate Carbamoyltransferase המהווה מרכיב חשוב בסינתזת פירימידינים הוא מורכב מ-6 אזורים קטליטיים ו-6 שרשראות המחברות בניהם ואליהם מתחברים החומרים שגורמים להטרואלוסטריות. במקרה זה החומרים ATP ו-CTP הם אלו המשפיעים על האנזים. כשיש מעט CTP ה-ATP

נקשר לשרשראות ואז הפעילות תעלה ובסוף נקבל CTP, אך כאשר יש CTP בעודף הוא יתקשר לשרשראות והאנזים לא היה פעיל ותופסק יצירת ה- CTP עד שריכוזו ירד.

האנזים גליקופוספורילז לוקח גליקוגן ומשחרר ממנו גלוקוזפוספט שמהווה את הסובסטר הראשון ליצירת ATP, לתהליך זה יש שני מנגנוני רגולציה אחד הוא ריכוז ATP והשני הוא ריכוז ה- AMP שזה תוצר שרפת ה- ATP. אנזים זה נמצא שני מצבים אחד הוא לא פעיל והשני פעיל בו יש תוספת של פוספטים לאנזים. ניתן לראות כי כאשר יש מעט מאוד ATP והרבה AMP האנזים יפעל ליצירת ATP גם במצב הלא פעיל (התהליך לא היה כל כך יעיל אך הוא מתרחש) ואם המצב היה פחות טוב הוא יעבור למצב הפעיל כדי לזרז את היצור. הפוספורילציה שמעבירה למצב הפעיל היא המנגנון של הרגולציה השניה.

## ביוכימיה א' חלק ב'

### מטבוליזם

מטבוליזם זה כלל הראקציות הכימיות המתרחשות בתא, ראקציות אלו רבות מאוד וכוללות שימוש בקטליזטורים ספציפיים במיוחד ואלו הם האנזימים. בנוסף לכך ראקציות אלו דורשות מנגנוני בקרה מסובכים כדי שימנע בלגן בתאים כתוצאה מעודפים או יצירה של חומרים לא נכונים. בעזרת האנזימים השונים ומנגנוני הבקרה, המטבוליזם לא "פראי" וניתן לראות בו מסלולים של סינתזה או פרוק רב שלביים בהם תוצרי הביניים של כל שלב לא מבודדים. קיימים שני סוגים של מסלולים כאלו מסלולים שבהם נוצרת אנרגיה על ידי פרוק של חומרים שונים (תהליכים קטבוליים) ומסלולים ביוסינתזיים שבהם משתמשים באנרגיה לבניה של חומרים שונים (תהליכים אנבוליים).

בעזרת ניסוי בשמרים על ידי הריגתם ניתן לראות שהם ממשיכים ליצור אתנול מגלוקוז, כלומר תהליכים של התא החי יכולים להמשיך להתרחש לאחר מותו, על אף שניסוי זה היה In Vitro (במבחנה) ולא In Vivo (בתא החי) הוא היווה נק' התחלה לחקר תהליכים מטבוליים.

התהליכים הקטבוליים הם תהליכי פרוק על ידי חמצון של חומרים אחרים כתוצאה מכך מתקבלת אנרגיה. אך תהליכים אלו משמשים גם לשם היפטרות מעודפים, בעיקר חומרים חנקתיים, וכך מונע הצפה של התא והגוף בחומרים אלו. לעומתם התהליכים האנבוליים משתמשים בתוצרי הפרוק של המזון לשם בניית פולימרים וחומרים נוספים. גם כאשר יש בגוף מחסור של מרכיב מזון מסוים התא יודע ליצור את המונומרים בעצמו (כמו חד סוכרים) או לבצע מעברים ממסלולים אחרים.

הקטבוליזם מחולק לשלושה שלבים, בראשון הפולימרים עוברים הידרוליזה והופכים למונומרים, בשלב השני המונומרים בעלי המבנים השונים עוברים בעזרת תהליכים שונים להיות חומרים קטנים יותר בעלי צורה אחידה (שתי צורות בסיסיות כאלו הם הפירובט והאצטט), מכאן בשלב השלישי מפורקים חומרים אלו על ידי שרפה (חימצון סופי) לפחמן דו חמצני ( $CO_2$ ) ומים ( $H_2O$ ). הכיוון האנבולי מתרחש על מסלול לא זהה אך לפעמים קיים שתוף בין המסלולים ולפעמים קיים שוני מוחלט בין המסלולים.

בתהליכים האנבוליים צריך להשקיע אנרגיה המגיע בעיקר מפרוק ATP. תהליך פרוק ה-ATP הוא תהליך הידרוליזה לפוספט החיצוני מה שנותן אנרגיה ו-ADP. לתהליך יש  $\Delta G^0 = -7.3 \text{ kcal/mol}$  אנרגיה זו מספיק גבוהה לתהליכי התא. כתוצאה מיצירת ATP ופירוקו ניתן להסתכל על התא כמצבר אשר כל הזמן מוטען ובמקביל כל הזמן מפורק. אך אין מצב בו התא כולו טעון באנרגיה ( $ATP/ADP, AMP \neq 1$ ) ואין מצב בו התא ריק לחלוטין ( $ATP/ADP, AMP \neq 0$ ), התא נמצא במצב מתמיד של Steady State בה האנרגיה כמעט קבועה לחלוטין. איזון זה מבוקר על ידי מערכות בקרה של הפעילות המטבולית אשר משפיעות בצורה ספציפית על האנזימים השונים בתהליכים השונים.

קיים מצב בו מה-ATP משתחררים שני פוספטים הקשורים בניהם (פירופוספט) ואז מקבלים AMP. הפירופוספט מתפרק מיד על ידי אנזים פירופוספטאז לשני פוספטים נפרדים, תהליך זה נותן אנרגיה רבה יותר לתהליכים קשים מבחינה אנרגטית. ה-ATP הוא בעל אנרגיה גבוהה בגלל הקשר בין הפוספטים שהוא קשר אנהידרי הנוצר מדחיסת שתי חומצות פוספוריות. קשרים אלו נוטים להתפרק במים מסיבות כימיות והן בעיקר דחיה בין המטענים השליליים על הפוספטים ב-PH פיזולוגי אין

מטען מלא אך קיים מטען חלקי. אין הבדל מבחינה אנרגטית בין ATP ל-CTP, TTP ו GTP – אך בטבע ניבחר ה-ATP לשמש מטבע אנרגיה (כיום מעריכים כי 90% מהתהליכים קשורים ל-ATP).

7 ההגדרה הביולוגית של אנרגיה חופשית היא:  $\Delta G' = \Delta G^{\circ} + RT \ln K_{eq}$ . בתא ה-PH הוא  $25^{\circ}C$  לפי ה- $\Delta G$  למרות שבמציאות היא  $37^{\circ}C$ , כמו כן אנו מתייחסים לכל הריכוזים כ-1M כולל ריכוז המים וריכוז ה- $H^+$  (למרות שבתא הריכוזים שונים מ-1M).

כאשר ה-ATP מניע ראקציות הוא לא מעביר אנרגיה בחום בניגוד לתהליכים מכניים מכיוון שהתא מחליף חום עם סביבתו באופן חופשי ואין שימוש לחום בראקציה. ה-ATP מעביר אנרגיה על ידי ראקציות מצומדות. הדרך המקובלת ביותר היא שבשלב ראשון הפוספט מתחבר לאחד המרכיבים ומשתחרר ADP בשלב השני המגיב עם הפוספט מתחבר למגיב השני וניפלט הפוספט לקבלת התוצר המבוקש.

בשרירים ישנה כמות ATP המספיקה לפעילות מיידית במידה וצריך אנרגיה נוספת קיימים מאגרי אנרגיה ומעבר לזה נוצרות עוד מולקולות ATP בתאים. בתהליך מרובה שלבים התא יוצר ממולקולת גלוקוז אחת 30 מולקולות ATP על ידי זירחון של 30 מולקולות ADP (במערכות אירוביות). ניצולת תהליך זה היא כ-35% בגלל תהליכים חד כיוונים. לתגובת השרפה של חומרי המזון המחומצנים משתמש התא בחמצן שמקורו במים ולא בחמצן אטמוספרי. למעשה החימצון הביולוגי נעשה על ידי נשאי אלקטרונים והעיקרי שבניהם הוא ה-NADH המעביר אלקטרונים לחמצן ומקבלים מים.

ה- $NAD^+$  (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) הוא אמיד של ניקוטינ הנוצר מויטמין B<sub>3</sub> מולקולה גדולה בעלת אתר פעיל בחלקו הניקוטיני, ה- $NAD^+$  טעון חיובית בעקבות חנקן (N) טעון בניקוטינ. ה- $NAD^+$  הוא נשא המעביר שני אלקטרונים לפי התגובה:  $NAD^+ + AH_2 \rightleftharpoons NADH + H^+ + A$  מנגנון התגובה הוא שה- $NAD^+$  ניקשר למימן אחד ולוקח את האלקטרונים למימן השני ומשאיר אותו כפרוטון. צריך לזכור שבתהליכי חימצון חיזור אין העברת אלקטרונים מלאה ברוב התגובות אלא יש מאזני שיתוף אלקטרונים לפי מידת האלקטרונגטיביות ורק ביונים יש מעבר מלא של אלקטרונים.

נשא נוסף הוא ה-FAD (Flavin Adenine Dinucleotide) בנשא זה ה-Flavin קשור לריבוז ובטבעת ה-Flavin יש שני אתרים לקשירת מימן. כאשר ה-FAD מתחזר אז מתחזר בו הקשר הכפול ומקבלים  $FADH_2$ . בתא משמש ה- $NAD^+$  לחימצון כהלים ושיירי OH עד חומצה קרבוקסילית בעוד שה-FAD מחמצן חזק יותר אשר מחמצן קשרי פחמן פחמן לקבלת קשר כפול.

אנזימים רבים אינם פועלים כאשר הם לבדם הם צריכים גורמים מסייעים אחרים והם הכופקטורים (CoFactors) והכואנזימים (CoEnzymes). ה-CoFactors הם בדרך כלל יוני מתכת לדוגמה:  $Mg^{+2}$  (בתא יש כ- $0.1 \mu l$  של  $Mg^{+2}$ ) אשר קשור לשני קבוצות פוספט ב-ATP ונשאר מחובר גם ב-ADP, ניתן לראות כי ה-ATP המשתתף בראקציות בתא הוא בקומפלקס עם יוני המגנזיום וכאשר הוא בלעדיהם הוא לא פעיל.

ה - CoEnzyme הוא פקטור אורגני הדרוש לראקציות אנזימטייות (מבחינת מנגנון ה - ATP הוא CoEnzyme אך לא נהוג לכנותו כך). ה - CoEnzyme בדרך כלל עובר רגנרציה בסוף הראקציה אך יש מקרים שבו הוא משתנה.

בחיות נגזרות שונות של ויטמינים מסיסים במים הם CoEnzymes. ויטמין C הוא לא בדיוק ויטמין לפי הגדרה ביולוגית הטוענת כי ויטמין הוא חומר חיוני לקיומו של אורגניזם, מתקבל מהמזון ודרוש בכמויות קטנות, כי צריך אותו בכמות לא כל כך קטנה ובנוסף הוא גם לא נותן CoEnzyme רגיל אלה משהוא קרוב. לפי ההגדרה רק ויטמיני B הם ויטמינים "אמיתיים", ויטמיני B ו - C מסיסים במים וויטמיני A, K, D ו - E מסיסים בשומן. ויטמין D (פועל כהורמון) יכול להיות מסונתז על ידי הגוף ולכן הוא לא כל כך מתאים להגדרה וויטמין A הוא חיוני לראיה אך לא משמש כ - CoEnzyme.

## סוכרים

סוכר הוא פחמימה Carbohydrates ונוסחתו המולקולרית היא  $C_x(H_2O)_y$ . בסוכרים קיימת קבוצה קרבונלית אשר בעזרתה הם יוצרים פולימרים. הסוכרים הנפוצים ביותר הם האקסוזות (Hexose) ואחריהם הפנטוזות (Pentose) והטריאוזות (Triose) המשמשים כחומרי ביניים, סוכרים בעלי 4 או 7 פחמנים הם נדירים מאוד. כאשר סוכר נימצא במצב האלדהידי הוא ניקרא אלדוז וכשהוא במצב קטוני שמו הוא קטוז. בסוכרים קיימים פחמנים קיראליים אך רק הפחמן הקרוב לקבוצה הקרבונלית קובע את קומפרמצית הסוכר D (שבו קבוצת ה - OH פונה ימינה) או L (במקרה ההפוך), בגוף כל הסוכרים הם D.

סוכרים בעלי 5 או יותר פחמנים בטבעת מופיעים בעיקר (99%) בצורתם הציקלית, הסגירה לצורה זו היא על ידי חמצן בין הקרבונל לקבוצת OH וכך נוצר קשר המיאצטיל ומקבלים את הטבעת (המחומשת או המשושה). בפרוקטוז סוכר בעל שישה פחמנים ניסגר לטבעת מחומשת כך ששני פחמנים הם מחוץ לטבעת.

בטבע הסוכר מהווה 40% מהביומסה (מסת היצורים החיים). צמחים יוצרים סוכר על ידי תהליך הפוטוסינתזה בו שישה מולקולות של  $CO_2$  מגיבות עם שישה מולקולות של  $H_2O$  לקבלת סוכר וחמצן, הסוכר הנוצר במזון הוא בשני סוגים של פולימרים האחד הוא חומרי תשמורת כמו גליקוגן בחיות ועמילן בצמחים והשני הוא פולימריים מבניים כמו צלולוז.

הסוכר הוא מרכיב חיוני במזונם של יונקים על אף שמשומן ניתן להפיק אנרגיה רבה יותר כי מוח היונקים משתמש בגלוקוז לאנרגיה (חוץ ממצבי לחץ בהם משתמשים גם בחומרים נוספים) ומעגל קרבס אשר זקוק לשם פעולתו בחומרי ביניים שמקורם בסוכרים. כאשר קיים בגוף מחסור רב בסוכר הגוף מתחיל לפרק חלבון של שרירי שלד לשם יצירת הסוכר.

## מסלול הגליקוליזה

תהליך הגליקוליזה מורכב ממספר תגובות ואנזימים ומהווה את המסלול הבסיסי בכל התאיים החיים, במסלול זה מנוצל גלוקוז ומכאן שמו. התהליך ההפוך לגליקוליזה הוא תהליך הפוטוסינתזה בצמחים בו נוצר הסוכר. בגליקוליזה מקבלים שני מולקולות של פירובט ממולקולת גלוקוז אחת, בתנאים אנאירוביים מופסק התהליך בשלב זה והפירובט מחוזר ללקטט או לאתנול (לשם מחזור NADH ל -  $NAD^+$ ) בעוד שבתנאים אירוביים קיים המשך בו מתחמצן סופית הפירובט ל -  $CO_2$  ומים במעגל קרבס שבמיטוכונדריה (מקבלים כ - 28 מולקולות ATP נוספות).

בגליקוליזה המתרחשת בציטוזול (ציטופלזמה) יש 10 שלבים ותוצרי ביניים שונים ובכדי למנוע את יציאתם מהתא הם מזורחנים, חומרי הביניים בעלי 3 פחמנים חדירים יחסית בקלות דרך הממברנה ולכן הזירחון שלהם מונע את יציאתם על יד דחייה חשמלית.

בשלב הראשון של הגליקוליזה גלוקוז עובר זירחון לגלוקוז 6 פוספט Glucose 6 Phosphate (G6P), בראקציה זו מנוצל ATP ההופך ל-ADP והאנזים המזרז אותה הוא Hexokinas (הקסוקינאז). אנזימי קינאז הם אנזימים המבצעים זירחון, ההקסוקינאז הוא קינאז של אקסוזות הוא לא ספציפי בניגוד לגלוקוקינאז (Glucokinas) שעובד על גלוקוז בכבד. בראקציות הקינאז נוצר קשר פוספואסטרתי והם נחשבות לבלתי הפיכות בתנאי התא (התגובה ההפוכה היא במסלול אחר).

בשלב שני משתתף האנזים פוספוגלוקוז איזומראז PhosphoGlucose Isomerase, אנזים זה ממשפחת האיזומראזות הוא משנה את מיבנה המולקולה לקבלת איזומר, בשלב זה הופך הגלוקוז 6 פוספט (G6P) לפרוקטוז 6 פוספט Fructose 6 Phosphate (F6P). לראקציה זו  $\Delta G$  קרוב מאוד לאפס והאנזים מזרז את ההגעה לשיווי המשקל. על מנת להזיז את הקשר הקרבונילי מעמדה אחת ל-2 צריך לעבוד על הצורה הפתוחה של הסוכר, בצורה זו קיים מצב משותף בלתי יציב של אנדיאול היכול לנוע לשני הכיוונים לקבלת הקרבוניל בעמדה 1 או 2.

בשלב השלישי אנזים קינאז נוסף הנקרא פוספופרוקטוקינאז 1 (PFK1), שהוא אנזים ספציפי מבצע זירחון של עמדה 1 בפרוקטוז 6 פוספט (F6P), ומקבלים את התוצר פרוקטוז 1,6 ביספוספט Fructose 1,6 BisPhosphate (F 1,6 BP), בשלב זה מנוצל ATP ומתקבל ADT. לשלב זה חשיבות לשם יצירת סימטרייה במעבר לטריאוזות.

השלב הרביעי הוא שלב בו מתרחשת ראקציית שבירה של פרוקטוז 1,6 ביספוספט (F1,6BP) לשני טריאוזות. תהליך השבירה הוא למעשה שבירה אלדולית שזה תהליך הפוך לדחיסה אלדולית, בה מוצא פרוטון מפחמן  $\alpha$  ומקבלים קרבניון התוקף נוקלאופילית קשר כפול של קרבוניל ליצירת קשר פחמן פחמן, תהליך השבירה האלדולית מתבצע בנוכחות האנזים אלדולאז Aldolase אשר מזרז כמובן גם את הדחיסה האלדולית, לתהליך עצמו  $\Delta G$  שלילי במקצת מכיוון ריכוז התוצרים קטן מהמגיבים. הטריאוזות המתקבלות אינן זהות האחת היא גליצראלדהיד 3 פוספט Glyceraldehyde 3 Phosphate (GA3P או GAP) והשניה היא דיהדרוקסיאצטון פוספט Dihydroxyacetone Phosphate (DHAP).

בשלב החמישי הדיהדרוקסיאצטון פוספט (DHAP) הופך על ידי האנזים טריאוז פוספט איזומראז Triose Phosphate Isomerase להיות גליצראלדהיד 3 פוספט (GA3P). הראקציה עוברת דרך מצב של אנדיאול הנוטה לכיוון הקטון (במקרה זה DHAP), כי הוא יציב יותר מאלדהיד (GA3P במקרה זה), אך על ידי סילוק הגליצראלדהיד 3 פוספט מוסטת התגובה לכיוון הנכון.

בראקציית השלב השישי עובר הגליצראלדהיד 3 פוספט חמצון על ידי  $NAD^+$  אשר נותן  $NADH$ , בנוסף לכך פוספט אי אורגני מתחבר למולקולה לקבלת 1,3 דיפוספוגליצרט 1,3 BisPhosphoglycerate (1,3 DPGA או BPG), ראקציה זו היא בנוכחות האנזים גליצראלדהיד 3 פוספט דהידרוגנאז Glyceraldehyde 3 phosphate Dehydrogenase (GA3PDH) עליו נפרט בהמשך. לקשר שנוצר עם הפוספט  $\Delta G^0 = -11.2 \text{ kcal/mol}$  כלומר קשר זה הוא בעל אנרגיה רבה המשמשת ליצירת ATP בשלב הבא.



בשלב השביעי ה- 1,3 דיפוספוגליצרט (BPG) מוסר את הפוספט שבעמדה 1 שלו ל- ADP ומקבלים ATP ו- 3 פוספוגליצרט 3 Phosphoglycerate (3PG או 3PGA). האנזים לראקציה הוא פוספוגליצרט קינאז Phosphoglycerate Kinase שם זה הוא לפי הכיוון ההפוך לתגובה הרצויה כי זה הכיוון המועדף.

הקשר שנוצר עם הפוספט הוא קשר פוספואסטרתי באנרגיה נמוכה מכדי לתת ATP ולכן בשלב השמיני מועבר הפוספט מעמדה 3 לעמדה 2 על ידי האנזים פוספוגליצרט מוטאז Phosphoglycerate Mutase. התוצר המתקבל הוא 2 פוספוגליצרט 2 Phosphoglycerate (2PG או 2PGA).

בשלב התשיעי מוצאים מים מה- 2 פוספוגליצרט (2PG) על ידי האנזים אנולאז Enolase, כתוצאה מכך מתקבל קשר כפול בתוצר הנקרא פוספואנול פירובט Phosphoenol Pyruvate (PEP). על אף שאנזימים המוציאים מים נקראים דהידרוטאז אנזים האנולאז קרוי בשמו כי הוא יוצר קשר הדומה לאנול (ליתר דיוק הקשר הוא אנול מקובע). התוצר פוספואנולפירובט (PEP) הוא החומר הכי עתיר אנרגיה בטבע הוא בעל  $\Delta G = -14.2 \text{ kcal/mol}$ .

בשלב העשירי יוצא הפוספט מהפוספואנולפירובט (PEP) וניקשר ל- ADP לקבלת ATP ונשאר אנול ההופך מידיית לקטון שהוא הפירובט Pyruvate. הראקציה נוטה מאוד לתוצרים ומוגדרת בלתי הפיכה בתנאי התא למרות שלאנזים קוראים פירובט קינאז Pyruvate Kinase, המציין את הכיוון ההפוך. זהו השלב האחרון בגליקוליזה ומכאן ממשיך הפירובט להגיב ליצירת לקטט או אתנול במערכות אנאירוביות או להמשך פירוק במעגל קרבס במערכות אירוביות.

בטבע קיימים סוכרים נוספים וקיימים מספר מנגנונים להכנסת סוכרים שונים לגליקוליזה. הפרוקטוז ניכנס למערכת על ידי מעבר לפרוקטוז 6 פוספט (F6P) על ידי האנזים פרוקטוקינאז, בכבד התהליך מורכב יותר בו הפרוקטוז על ידי ATP ואנזים פרוקטוקינאז הופך לפרוקטוז 1 פוספט (F1P), חומר זה מתפרק על ידי אלדולאז מיוחד ומקבלים דהידרוקסיאצטון פוספט (DHAP) וגליצראלדהיד העובר זירחון עם טריאוז קינאז לקבלת גליצראלדהיד 3 פוספט (GA3P). הסיבה למסלול זה היא הרצון לעקוף את ראקציית הפוספופרוקטוקינאז  $F6P + ATP \rightarrow F1,6BP + ADP$ , ראקציה זו מעכבת את הגליקוליזה ולכן יש צורך לעקפה בכבד כי הכבד לא מפרק את הסוכרים לעצמו אלה לכל הגוף.

האנזים גליצראלדהיד 3 פוספט דהידרוגנאז (GA3PDH) הוא בעל שני אתרי קישור באזור הפעיל שלו האחד הוא ל-  $NAD^+$  ושני הוא לאלדהיד. במקרה של אנזים זה בניגוד לשאר הדהידרוגנאזות ה-  $NAD^+$  קשור לאנזים ולא משתחרר ממנו לתמיסה. האנזים קושר אליו את הגליצראלדהיד בקשר תיואסטרתי בין הציסטאין לאלדהיד, בשלב הבא יש חימצון וה-  $NAD^+$  הקשור לאנזים הופך ל-  $NADH$ , לאחר מכן מועברים האלקטרונים ל-  $NAD^+$  בתמיסה ועל האנזים נישאר ה-  $NAD^+$  המקורי ובשלב הבא והאחרון מוחלף הקשר התיואסטרתי בפוספט בעמדה 1 והאנזים עובר גנרציה וחוזר למצבו המקורי ומשתחרר.

בסוף הגליקוליזה אנו מקבלים את הפירובט אך אין זה תוצר סופי אלה רק תוצר ביניים נוסף. הפירובט עובר תהליך של דקרבוקסילציה תוך כדי חימצון והופך לאצטט הנקשר עם CoEnzyme A (Co A), ראקציית הדקרבוקסילציה מתבצעת על ידי קומפלקס של אנזימים הנקרא פירובט דהידרוגנאז קומפלקס Pyruvate Dehydrogenate Complex שהוא שילוב של מספר אנזימים. המעבר מפירובט לאצטט הוא בלתי הפיך בחיות.

במערכות אנאירוביות קיימות שתי אפשרויות המתרחשות ברוב היצורים החיים, אחת מהם היא הפיכת בפירובט ללקטט Lactate כתוצאה מכך מחוזר ה- NADH ומקבלים  $NAD^+$ , תגובה זו הפיכה (התגובה ההפוכה לקטט לפירובט לא מתרחשת באותו תא שיצר את הלקטט) אך ברוב המקרים מסולק הלקטט מהתא, אצלנו רוב הלקטט מועבר לכבד ומנוצל שם.

האפשרות השניה היא תסיסה אלכוהולית שבה נוצר אתנול הדבר מתרחש בטבע בתהליכי ריקבון של יצורים חד תאיים בלבד. בתהליך זה משתתפים שני אנזימים: האחד הוא פירובט דהקרבוקסילאז Pyruvat Decarboxylase הוא מוציא  $CO_2$  בלי חימצון לשם קבלת אצטאלדהיד Acetaldehyde אשר בעזרת אנזים שני שהוא אלכוהול דהידרוגנאז Alcohol Dehydrogenase ו- NADH מקבלים אתנול ו-  $NAD^+$ . אנזימים אלו קיימים אצלנו לשם פרוק אלכוהול אחרת השפעת האלכוהול עלינו הייתה חזקה בהרבה.

בכדי שיתרחשו במקביל תגובות רבות אלו צריכים מנגנוני בקרה שונים שתפקידם למנוע כאוס. מנגנוני הבקרה מתפקדים על המסלולים המטבוליים השונים, קיימות מספר שיטות בקרה האחת היא על ידי מטען אנרגיה כלומר כאשר יש מזון ואין אנרגיה יופנה המזון ליצירת אנרגיה ויופסק כשתהיה אנרגיה, במציאות הדבר שונה במקצת יש מצב של Steady State שבו ההרכב די קבוע וכל תנודה קטנה בו מתוקנת מיידית.

בגליקוליזה מספר נקודות בקרה, אחת מהן היא בראקציה של פוספופרוקטוקינאז  $1$  (PFK 1), ראקציה זו מעוכבת על ידי ATP ומואצת על ידי AMP. מנגנון זה הוא בקרה לפי מטען אנרגיה כאשר יש אנרגיה גבוהה יש ATP רב המעקב את הגליקוליזה. ראקציה זו היא לא הפיכה בתנאי התא ולכן חשוב שהיה בה מנגנון בקרה, בנוסף בקרה זו קרובה לתחילת המסלול אך רק בתגובה השלישית כי לפני זה עיכוב יפגע גם בתהליכים אחרים.

בנוסף לבקרה של מטען אנרגיה קיימת בקרה על ידי תגובה עם התוצר וגם בקרות פעילות של האנזים לפי כמות על ידי ביטוי או פרוק של אנזימים. בקרה נוספת היא גם בקרת פעילות אנזימתית אך ללא שינוי כמות האנזים בקרה זו ניתן לחלק לשתיים בקרה הפיכה (לא קוולנטיית) ובקרה בלתי הפיכה שהיא על ידי מודיפיקציות קוולנטייות כגון פוספורילציה.

אנזימים בתא מושפעים גם מבקרות אלוסטריות בקרות אלו הם כמעט ורק משפיעות על  $K_m$ , כלומר השפעה היא לא על הקטליזה אלה על האפיניות לסובסטרט. באנזים אקסוקינאז יש שני אתרים קטליטיים אחד לגלוקוז והשני ל- ATP, כאשר ניקשר גלוקוז לאתר המתאים הוא מגביר את האפיניות ל- ATP ולהפך. בפעילות מסוג זה יכולים להתערב אקטיבטורים (Activator) אשר נכנסים למקומם לאחר תפיסה של אחד מהסובסטרטים, בנוסף גם מעכבים יכולים להשפיע על ראקציות אלו אך במנגנון שונה בכך שהם נקשרים לאתר שלהם (לא חייב להיות האתר הפעיל) שהאנזים פתוח.

האנזימים האלוסטריים בנויים מתתי יחידות ובדרך כלל טטראמרים הקישור של תתי היחידות הוא זהה לזה של מעכב, כאשר ניכנס סובסטרט הוא מחליש את האינטרקציות בין תתי היחידות וכך ניקשר בקלות רבה יותר ויעלה את האפיניות לסובסטרט השני (במידה ויש). במידה ונוסיף מעכב אז הוא יחזק את האינטרקציות בין תתי היחידות ויקשה על הסובסטרט להיקשר לאתר שלו.

בנוסף לבקרה של פוספופרוקטוקינאז 1 (PFK 1) בגליקוליזה קיימת עוד לפני זה בקרה בהקסוקינאז אשר מעוכב על ידי גלוקוז 6 פוספט (G6P) שהוא תוצר הראקציה, באנזים זה יש אתר גישור לתוצר וכאשר התוצר ניקשר לאתר זה, כתוצאה מעודף, הוא מעכב את האנזים. מעכב נוסף לתגובה הוא הציטרט (Citrate). הוא נוצר במעגל קרבס (שבמיטוכונדריה) ומגיע לציטוזול ומאט את הגליקוליזה. בקרה שלישית בגליקוליזה היא בסוף המסלול בראקציית הפירובט קינאז ועליה נדון בהמשך.

בבעלי חיים קיימת גם בקרה הורמונלית של תהליכים שונים ולפעמים בקרה זו חשובה יותר מהבקרה האלוסטטית, הורמון הוא בעל יכולת "להשתלט" על התא ולגרום לו לבצע משהוא מסוים. הורמון הוא חומר המופרש מבלוטה אינדוקרינית (הפרשה פנימית) ומבצע בקרה וקורדינציה של תהליכים בגוף. על בקרה מסוג זה נפרט בהמשך.

בכבד מתבצעת גליקוליזה בקצב מהיר מאוד ולא בשביל עצמו אלא לשאר הגוף. גליקוליזה זו מזוהת לאחר ארוחה בגלל מספר סיבות, האחת היא לסלק את עודפי הסוכר מהדם על ידי פירוקו עד שמגיעים לאצטיל Co A אשר לא נישרף בשלב זה כי אין בו צורך והוא נאגר בגוף. בכבד נוצר גם החומר פרוקטוז 2,6 ביספוספט Fructose 2,6 BisPhosphate (F 2,6 BP) הוא נוצר בכמויות קטנות על ידי האנזים פוספופרוקטוקינאז 2 PhosphoFructoKinase 2 (PFK 2) אשר מבצע זירחון בעמדה 2. התוצר F 2,6 BP הוא מעין שליח של ההורמון הוא משמש כאקטיבטור (מאיץ) של הגליקוליזה על ידי זירוז הראקציה של פוספופרוקטוקינאז 1 (PFK 1). כדי להפסיק את פעילות ה-F 2,6 BP צריך את האנזים פוספטאז Phosphates שיבצע הידרוליזה לפוספט שבעמדה 2.

אינסולין Insulin הוא הורמון המגביר גליקוליזה הוא מופרש מתאי  $\beta$  בבלבב בגלל עליה של ריכוז הסוכר בדם. האינסולין נע בדם ומשפיע על הכבד, שרירים ורקמות שומן (בשריר וברקמות השומן מגביר האינסולין את קליטת הגלוקוז). בכבד האינסולין גורם להגברת הפעילות של פוספופרוקטוקינאז 2 (PFK 2) היוצר פרוקטוז 2,6 ביספוספט (F 2,6 BP) המזרז את פוספופרוקטוקינאז 1 (PFK 1) מה שמגביר את הגליקוליזה. האינסולין אינו משפיע על כניסה של גלוקוז לכבד.

הגלוקגון Glucagon הוא הורמון הנוגד את פעילות האינסולין הוא מופרש מתאי  $\alpha$  בבלבב כאשר רמת הגלוקוז בדם יורדת, הגלוקגון מאיץ את פעולתו של הפוספטאז הוא פעל בעיקר בכבד ובתאי שומן. הפוספטאז מפרק את ה-F 2,6 BP מה שגורם להאטה של פעילת ה-PFK 1 וזה מדכא את הגליקוליזה.

שני פעולות של הפוספוקינאז והפוספטאז במקרה זה הם על אותה מולקולה, אותו אנזים הוא בעל שני אזורים פעילים אחד לקינאז ואחד פוספטאז ואזור שלישי שהוא אזור רגולטורי המושפע מהורמונים והוא שקובע איזה אזור יהיה פעיל. אנזים מסוג זה נקרא אנזים דו פונקציונלי BiFunctional enzyme. הבקרה של אנזים זה נעשית על ידי זירחון של החלק הרגולטורי, הזירחון הוא על שיירי ה-OH של חומצות האמינו סרין וטראונין שבחלק זה של האנזים.

ההשפעה של הפוספט היא על ידי מטענו השלילי את זאת אפשר לראות על ידי החלפת חומצת האמינו סרין בחומצה אספרטית בעלת מטען שלילי מה שגורם לכך שהאנזים הוא כל הזמן פעיל כפוספטאז. הגלוקגון גורם לזירחון ופעילות הפוספטאז בעוד שהאינסולין גורם להורדת הפוספט ופעולת הקינאז.

הבקרה האחרונה בגליקוליזה היא בקרה מיוחדת מכיוון שהיא בקרה בסוף מסלול, בקרה זו היא בקרה אלוסטרית כך ש-ATP ואלנין מעכבים את הראקציה ואילו פרוקטוז 1,6 ביספוספט (F 1,6 BP) מזרז את הגליקוליזה ובכך גורם לזירוז הריאקציה של הגליקוליזה עד סופה.

בכבד קיים אנזים נוסף המבצע את אותה פעילות של האקסוקינאז אבל אך ורק על גלוקוז והוא הגלוקוקינאז Glucokinase, אנזים זה לא מושפע מתוצרי הביניים כמו האקסוקינאז. בעזרת אנזים זה יכול הכבד לטפל בכמויות גדולות מאוד של גלוקוז. האפינייות של הגלוקוקינאז לגלוקוז נמוכה מזו של האקסוקינאז.

### מעגל קרבס (מעגל החומצה הציטרית או מעגל חומצת הלימון)

בתנאים אירוביים הפירובט נכנס למיטוכונדריה שם הוא הופך לאצטיל Co A הממשיך למעגל קרבס. במעגל קרבס מקבלים כמות גדולה של NADH ו-1 FADH<sub>2</sub> ובסופו נוצרת כמות גדולה של ATP. תהליך הנשימה ויצירת ה-ATP מתבצעים על ממברנות המיטוכונדריה ואילו מעגל קרבס עצמו מתרחש במטריקס Matrix (האזור בתוך הממברנה הפנימית של המיטוכונדריה).

התהליך של יצירת האצטיל Co A מהפירובט הוא תהליך של חימצון והוצאת CO<sub>2</sub> (דהקרבוקסילציה). ה-Co A מורכב מ-3 חלקים אחד מהם הוא אדנין וריבוז ושני פוספטים כלומר ADP בנוסף יש עוד פוספט צדדי, לאחר מכן יש חלק של חומצה פנטוטנית Pantotaenat שהוא אחד מויטמיני B והקבוצה הקרבוקסילית שלו קשורה בקשר אמידי לבטא מרקפטואתיל אמיין β-Mercaptoethyl Amine. ה-Co A ניקשר לאצטיל בקשר תיאוסתרי. בנוסף לתפקיד זה ל-Co A יש תפקידים נוספים ובניהם להיות נשא של חומצות שומן.

הקומפלקס של פירובט דהידרוגנאז בנוי מ-3 אנזימים המבצעים תהליך מורכב של חימצון ודהקרבוקסילציה ובסוף יצירת קשר תיאוסתרי, במהלך תהליך זה חומרי הביניים נשארים קשורים לקומפלקס. בתהליך משתתפים גם שני קואנזימים שהם נגזרות של ויטמיני B והם תיאמיין פירופוספט TPP וחומצה ליפואית. ב-TPP יש נקודה פעילה אחת בה פחמן קשור לחנקן רבעוני מה שגורם לו להיות חומצי ולאבד פרוטון, כתוצאה מכך מקבלים קרבניון אשר תוקף את הפחמן החיובי בפירובט. בשלב הבא משתחרר CO<sub>2</sub> ונשארים עם שני פחמנים וחמצן במצב אלדהידי ומטען שלילי על הפחמן.

בשלב הבא משתתף הקואנזים השני, החומצה הליפואית, אשר קשור לזרוע ארוכה של אמיד המאפשרת לסובסטרט לעבור מאתר לאתר באנזים. החומצה הליפואית בנויה גם מקשר S-S אשר נפתח ותוך כדי חימצון קושר אליו את הסובסטרט בקשר תיאוסתרי והקבוצה השניה הופכת ל-SH. לאחר שלב זה מגיע הקואנזים A אשר מבצע החלפה עם החומצה הליפואית וניקשר לאצטיל מה שנותן את האצטיל Co A. החומצה שנשארת נקראת דיהידרוליפואמיד Dihydrolipoamide ובשלב הסיום היא מוחזרת לצורתה המקורית של החומצה בראקציית טראנסאסטרופיקציה. דבר דומה מתרחש במעגל קרבס בשלב בו נוצר הקשר התיאוסתרי (ראה פרוט בהמשך).

האצטיל מהאצטיל Co A ניכנס למעגל קרבס מולקולה זו היא דו פחמנית ובתגובתה הראשונה היא נדחסת עם מולקולה בעלת 4 פחמנים שהיא האוקסלואצטט Oxloacetate מה שנותן מולקולה בעלת 6 פחמנים שהיא הציטרט, ראקציה זו נדחסת על ידי פרוק הקשר התיאוסתרי. מהציטרט מוציאים מים לקבלת ציס-אקוניטט Cis-Aconitate שאליו מכניסים מים לפי אנטי מרקובניקוב לקבלת איזו-ציטרט

IsoCitrate, תהליך זה מתבצע לשם קבלת כוהל שניוני הניתן לחימצון מכוהל שלישוני לאינו ניתן לחימצון.

הראקציה הבאה היא חימצונית ומלווה בדהקרבווקסילציה כך יוצא  $\text{CO}_2$  ומחומצן OH תוצר הראקציה החימצונית הוא אקסלוצוקצינט Oxalosuccinate החימצון מתבצע על ידי  $\text{NAD}^+$  ולאחר הוצאת ה-  $\text{CO}_2$  מקבלים  $\alpha$  קטו-גלוטרט  $\alpha$ -Keto-Glutarate. בשלב הבא ה-  $\alpha$  קטו-גלוטרט עובר חימצון נוסף עם  $\text{NAD}^+$  ומוצא ממנו עוד  $\text{CO}_2$ , לתהליך מצטרפת מולקולה של Co A אשר מתחברת לתוצר ומקבלים צוקצניל Co A SuccinylCoA. החימצון מתבצע על ידי הפיכת שייר הקטו לשייר קרבווקסילי שעליו נוצר קשר תיאוסתרי ל- Co A. התוצר הזה הוא תוצר עתיר אנרגיה ובעל חשיבות רבה בתהליכים של ביו-סינתזה.

בשלב הבא נוצר קשר פוספואנהידרי מהתפרקות הקשר התיאוסתרי מה שנותן לנו את ה- GTP וצוקצינט Succinate, בשלב זה כל האצטט סולק מהמעגל בפעמיים  $\text{CO}_2$ , מכאן הצוקצינט מחומצן על ידי FAD לקבלת פומרט Fumarate בראקציה זו משתתף האנזים צוקצינאט דהידרוגנאז Succinate DeHydrogenase. לפומרט נכנסים בתגובה הבאה מים על ידי האנזים פומרז (אנזים זה הוא סוג של הידרוטאז) תוצר ראקציה זו הוא מלאט Malate אשר עובר חימצון על ידי  $\text{NAD}^+$  והאנזים מלאט דהידרוגנאז Malate DeHydrogenase ומקבלים את האקסלואצטט לסגירת המעגל.

בראקציה לקבלת פומרט מצוקצינט אנו משתמשים ב- FAD ולא ב-  $\text{NAD}^+$  מפני שהוא מחמצן חזק יותר, בעוד שה-  $\text{NAD}^+$  יכול לחמצן קבוצות OH יכולה ה- FAD לחמצן קשרי פחמן פחמן לקשר כפול. ה- FAD במקרה זה קשור לאנזים ולא משוחרר גם במצב של  $\text{FADH}_2$ , הוא נישאר על האנזים וממנו הוא מוסר את האלקטרונים אלה, ולכן האנזים הזה יושב על ממברנת המיטוכונדריה ולא במטריקס.

מעגל קרבס לא קשור רק ביצירת אנרגיה אלה גם ביצירת תהליכים של ביו-סינתזה, ה-  $\alpha$ -Keto-Glutarate קשור ב-  $\alpha$  חומצת האמינו גלוטמט ועוד. בנוסף לכך הציטרט משמש כנשא, בצוקצינל Co A משתמשים ליצירת פורפרינים Porphyrins ובאוקסלואצטט ליצירת חומצות אמינו. בכדי לא להרוס את מעגל קרבס נישמר במיטוכונדריה מאזן קבוע של חומרי ביניים, בנוסף קיימות ראקציות ליצירת חומרי ביניים למעגל קרבס כמו תגובת הפירובט קרבווקסילאז בה מוסף לפירוט  $\text{CO}_2$  על ידי ATP ומקבלים אוקסלואצטט, ראקציה זו מתרחשת במטריקס של המיטוכונדריה. ראקציה מסוג זה נקראת ראקציה אנה-פלרוטית כלומר ממלא מקום כי היא ממלא חלל הנוצר במעגל קרבס ובכך מונעת את עצירתו.

גם במעגל קרבס כמו בכל תהליכי המטבוליזם קיימת בקרה על ידי תוצרים, מטען אנרגיה וחומרים נוספים. בקרה ראשונה היא כבר בכניסת הפירובט בכדי למנוע בזבוז של סוכר הנחוץ לתא. בנוסף קיימת בקרה על ידי  $\text{NADH}$ , ATP וגם צוקצינל CoA. אך מה שקובע את מהירות המעגל עצמו זה קצב החימצון.

### שרשרת הנשימה

מעגל קרבס לא נותן אנרגיה בצורה ישירה (פרט לתגובה אחת) את האנרגיה מקבלים בצורה עקיפה על די נשאים מחוזרים ( $\text{NADH}$ ,  $\text{FADH}_2$ ) המעבירים את האלקטרונים לחמצן, ובעזרתו של גרדיאנט אלקטרו כימי נוצר ה- ATP. ממברנת המיטוכונדריה הופכת למעין קבל הנמצא במצב של Steady state בין פרוק לטעינה בעקבות גרדיאנט זה.

ה - NADH ו-  $FADH_2$  מהגליקוליזה וממעגל קרבס מעבירים את האלקטרונים לשרשרת הנשימה המורכבת ממספר קומפלקסים ענקיים טראנס ממברנליים (מדובר על הממברנה הפנימית של המיטוכונדריה בלבד). בקומפלקסים אלו מתרחשים מספר רב של תהליכי חימצון חיזור של מספר נשאים, חומרים אלו הם פלווין מונו נוקלאוטיד (Flavin Mono Nucleotide) (FMN), מרכזי ברזל גופרית וגם קבוצות הם בציטוכרום אשר בניגוד להמוגלובין עוברות חימצון חיזור והאלקטרונים נמסרים מנשא אחד לשני עד לחמצן וזאת עם מפל הפוטנציאל, דבר זה גורם להשתחררות של אנרגיה אשר בנקודה מסוימת גורמת לשאיבה של פרוטונים אל בין ממברנות המיטוכונדריה. לאחר קומפלקסים אלו קיים קומפלקס נוסף בו נכנסים חזרה הפרוטונים ומעברם פנימה מצומד לסינתזה של ATP.

האנרגיה להעברת אלקטרונים מ- NADH לחמצן לשם יצירת מים נותנת לנו מתח של 1.136V ומכאן ה-  $\Delta G^{\circ}$  הוא 52.6kcal/mol מה שמספיק לכ- 7 מולקולות של ATP בניצולת מלאה, אך המספר (לפי הערכות כיום) עומד על 2.5 מולקולות של ATP ממעבר אלקטרונים על ידי NADH. על פי נתונים אלו אנו רואים כי הניצולת היא של כ- 40% בתנאים סטנדרטיים (במציאות הניצולת שונה כי התנאים במיטוכונדריה אינם סטנדרטיים).

קיימים 3 קומפלקסים אשר מעבירים אלקטרונים מ- NADH והם קומפלקס I קומפלקס III וקומפלקס IV, המעבר בין הקומפלקסים מתבצע על ידי מתווכים והם Coenzyme Q המעביר מקומפלקס I ל- III וציטוכרום C (Cyt C) המעביר את האלקטרונים מקומפלקס III לקומפלקס IV. בניגוד לממברנות אחרות המאפשרות מעבר מסוים של פרוטונים, ממברנת המיטוכונדריה אטומה לחלוטין למעבר פרוטונים מכיוון שהדבר הכרחי לתפקודה.

בנוסף לקומפלקסים אלו קיים גם קומפלקס II אשר מעביר אלקטרונים של  $FADH_2$ , בקומפלקס זה מחומצן צוקצינט לפומרט תוך כדי מעבר של האלקטרונים ל- Co Q. קומפלקס זה הוא לא משאבת פרוטונים. במעבר האלקטרונים מקומפלקס זה אנו מקבלים אנרגיה נמוכה יותר, כי השלב הראשון לא מספק אנרגיה, ולכן אנו מקבלים רק 1.5 מולקולות של ATP מ-  $FADH_2$ .

הציטוכרום הוא נשא אלקטרונים ובעל צבע חזק השונה בין המצב המחומצן למצב המחוזר שלו ובסיסו הוא קבוצת הם. קיימים שלושה סוגי ציטוכרומים והם: A, B ו- C, בציטוכרומי B קבוצת ההם זהה לנו שבהמוגלובין אך בציטוכרומי C קבוצת ההם היא בעלת קשר קוולנטי תיואתרי לחלבון קשר זה הוא קשר יציב לחלוטין. גם בציטוכרומי A קיים שוני והוא  $3$  קבוצות נוספות של איזופרן, ציטוכרום זה לא קשור קוולנטית לחלבון.

הציטוכרומים הם קומפלקסים של חלבונים טראנס ממברנליים דבר הנותן להם את האפשרות להעביר פרוטונים דרך הממברנה. בנוסף לכך ציטוכרום C משמש גם כמתווך הוא לא טראנס ממברנלי והוא קומפלקס שמור מאוד באבולוציה (כלומר ניתן למצוא אותו ביצורים נוספים). ציטוכרום C מורכב מחלבון בסיסי בעל  $PI=9.5$  ובעל מטען חיובי מאוד ב- pH פיזיולוגי, כתוצאה מכך הוא ניקשר לממברנת המיטוכונדריה (הפנימית) בחלקה החיצוני (כלומר בין הממברנות) בקשרים אלקטרוסטטיים.

סוג שני של נשאים הוא מרכזי ברזל גופרית בהם קשורים אטומי ברזל לאטומי גופרית משני סוגים האחד הוא גופרית משיירים של חומצת האמינו ציסטאין, מהחלבון המחזיק את הקומפלקס, והשני הוא אטומי גופרית אי אורגנית. קיימים

מספר סוגים של מרכזים כאלו והם מופיעים במספר מקומות רב כשבניהם ההבדל הוא במספר אטומי הברזל והגופרית במרכז.

מתווך נוסף הוא Co Q הנקרא גם Ubi Quinone הוא מתווך בין הקומפלקסים השונים לקומפלקס III. נשא זה מעביר שני אלקטרוניים ובכך מתבצע כאן מעבר מנשאים חד אלקטרוניים לנשאים דו אלקטרוניים, תגובה זו עוברת דרך מצב רדיקלי דבר אשר במחלות מסוימות יכול לשחרר רדיקלים אלו ולגרום לנזק לגוף ואף למוות. הזנב של ה - Co Q הוא איזופרנואידי ובאדם הוא מכיל כ - 10 חזרות שזה כ - 50 פחמנים (משתנה במידה מסוימת ביו חיות שונות).

נשא נוסף הוא FMN הבנוי על בסיס פלווין גם נשא זה מעביר שני אלקטרוניים על ידי טבעת פלווינית כמו FAD, בנוסף לטבעת זו על ה - FMN יש ריבז ונוקלאוטיד אחד ומכאן שמו פלווין מונו נוקלאוטיד. האלקטרוניים נעים בכיוון פוטנציאל חימצון חיזור עולה עד לחמצן ההופך למים בקבלתם.

בקומפלקס I האלקטרוניים עוברים מ - NADH ל FMN, לפי הכיוון הנכון של תהליך החימצון חיזור, מה שנותן לנו  $FMNH_2$  אשר מעביר את האלקטרוניים למרכז ברזל גופרית מסוג  $4Fe-4S$  (כלומר בעל 4 אטומי ברזל ו - 4 אטומי גופרית) ומשם מועברים האלקטרוניים ל - Co Q.

בקומפלקס III קיים תהליך שתוצאות הנטו שלו הם העברת אלקטרוניים דרך Q תהליך זה מאוד מסובך וכולל מעבר דרך רדיקל Q וצריך למנוע את שחרור רדיקלים אלו. בקומפלקס משתתפים ציטוכרום B, מרכז ברזל גופרית וציטוכרום  $C_1$  (ציטוכרום זה הוא לא ציטוכרום C אך דומה לו במבנהו), לאחר מעבר האלקטרוניים בקומפלקס הם עוברים לציטוכרום C מחוץ לקומפלקס זה.

קומפלקס IV נקרא גם ציטוכרום אוקסידאז בו משתתף החמצן כמחמצן סופי ציטוכרום C במצבו המחזור מעביר 4 אלקטרוניים לקומפלקס זה ובעזרת תהליך מסובך של שבירת קשר כפול חמצן חמצן, שהוא קשר מאוד יציב, ובעזרת 4 פרוטונים מקבלים שתי מולקולות מים. תהליך זה מורכב מכיוון שלא ניתן להעביר את האלקטרוניים אחד אחד כי אז נקבל רדיקלי חמצן שהם פעילים מאוד ולכן התהליך הוא מורכב.

בתהליך העברת האלקטרוניים לחמצן משתתף ציטוכרום A אשר בציטוכרום האחרון בשרשרת  $A_3$  קיים מבנה מיוחד הכולל יון של נחושת בנוסף לברזל שבקבוצת ההם. כתוצאה ממבנה זה מתקבל אזור בין ההם (שבו הברזל קשור בצידו האחד להיסטידין) ליון הנחושת (הקשור למבנה מסוים אחר), שבו ניכנס החמצן. בעקבות זאת מקבלים מערכת המסוגלת לקלוט שני אלקטרוניים בו זמנית בלי לשחרר את תוצרי הביניים.

מעבר האלקטרוניים מתבצע בצורה הבאה: אלקטרון אחד ניכנס לנחושת והופך אותה לחד ערכית (מדו ערכי) לאחר מכן ניכנס אלקטרון לברזל והופך אותו לדו ערכי (מתלת ערכי), כאשר ניכנס חמצן מקבלים פרוקסיד כאשר האלקטרוניים עוברים לחמצנים. בשלב הבא נכנסים שני פרוטונים ואלקטרון אחד והברזל נותן אלקטרון של עצמו והופך להיות ברזל 4 ערכי ומשתחררת מולקולת מים אחת. לברזל נישאר צמוד  $O^{2-}$  ואז נכנסים עוד אלקטרון ושני פרוטונים מה שנותן מולקולת מים נוספת ויון ברזל תלת ערכי. בעזרת מערכת זו של קפיצות ומעברי שני אלקטרוניים לחמצן כל פעם נמנעת היצירה של רדיקלי החמצן.

לקומפלקס III יש כניסות צדדיות, אחת מהם היא מקומפלקס II שם הצוקצינט דהידרוגנאז מעביר אלקטרונים דרך  $Co Q$ . בקומפלקס II אלקטרונים עוברים דרך  $FADH_2$  מרכזי ברזל גופרית בעלי שתי אטומי ברזל ומשם ל-  $Co Q$ . כל הקומפלקסים פרט לקומפלקס זה (II) משמשים גם כמשאבות פרוטונים, בקומפלקס II אין מספיק אנרגיה ולכן הפרוטונים חוזרים למטריקס.

ה-  $Co Q$  מקבל אלקטרונים מ 4 קומפלקסים שהם קומפלקס I ו- II ושני קומפלקסים נוספים שבהם מועברים אלקטרונים מחומצות שומן ומגליצרול. קומפלקסים נוספים אלו מתפקדים כמו הצוקצינט דהידרוגנאז כך שחימצון חומצות השומן נעשה בצורה בלעדית במטריקס של המיטוכונדריה שבו יש את כל החומרים המחזרים לשם כך. מ-  $Co Q$  מועברים האלקטרונים לקומפלקס III ללא כל קשר מאיפה הם באו.

השאיבה של הפרוטונים נעשית בשתי דרכים האחת היא בצימוד לאנרגיה של תהליך חימצון והשניה היא מהסובסטרט דרך מספר שלבים עם השתתפות כפולה של  $Co Q$  אשר בפעם הראשונה הוא קשור בתוך הקומפלקס ובפעם השניה הוא מחוצה לו, לדוגמא קומפלקס I זורק 4 פרוטונים 2 מהסובסטרט ושניים ללא קשר אליו.

לשרשרת הנשימה קיימים מעכבים טבעיים רבים אשר הם בעלי אפינויות וספציפיות גבוהים, מעכבים אלו מהווים הגנה מפני אורגניזם זר על ידי עיכוב התהליכים באורגניזם זה מבלי לפגוע האורגניזם "הפונדקאי" (שאותו תוקף האורגניזם הזר). קיימים מעכבים שונים לקומפלקסים השונים וניתן לעצור בעזרתם את שרשרת הנשימה בכל שלב מה שנותן לנו אפשרות טובה ללמוד על המערכת. על המערכות ניתן ללמוד על ידי ספקטרום דיפרנציאלי המשתמש בשני קיווטות של תרחיף מיטוכונדריות המוקרנות ב-  $U.V$  באחת משתמשים לאיפוס ובשני לשם בדיקת השינוי, סופו של דבר מקבלים שתי עקומות המציגות את השינוי בצורה דיפרנציאלית.

### סינתזת ה- ATP

סינתזת ה- ATP נעשית על ידי מפל הפרוטונים, הפרוטונים חוזרים לתוך המטריקס דרך ה-  $ATP Synthase$  וכתוצאה מכך קומפלקס זה יוצר ATP. מפל הפרוטונים הוא בעצם גרדיאנט אלקטרוכימי שיוצר בממברנת המיטוכונדריה פוטנציאל קיצוני של 140 mV (פי שתיים מתא עצב). לפי מדידות אנו רואים שעל כל 4 פרוטונים מתקבל ATP אחד, וליתר דיוק שלושה פרוטונים משמשים ליצירה של ATP ואחד להעברתו לציטוזול.

הזמינות של ADP היא חשובה מאוד לתהליך כי בהעדר ADP לא נוכל ליצור ATP על ידי הוספת הפוספט ועד מהרה תיגמר האנרגיה לתהליך הנשימה והוא ייעצר, לכן חייב להיות בתא מצב של Steady state. כמו כן הכרחי הצימוד למעבר הפרוטונים כי בלעדיו לא יעבוד הקומפלקס של  $ATP Synthase$  (קומפלקס v) ולא נקבל אנרגיה (דבר הניתן לבדיקה עם מפר צימוד).

הקומפלקס החמישי ( $ATP Synthase$ ) כולל חלק הנקרא  $F_0$  אזור זה הוא האזור שחוצה את הממברנה (לאזור זה נקשר המעכב אוליגומיציין ומונע את מעבר הפרוטונים), אזור שני בקומפלקס הוא הגזע Stem אזור זה מקשר בין החלבונים במבנה. בסוף יש את אזור הראש המכונה  $F_1$  אזור זה הוא האזור שיוצר את ה- ATP מ-  $ADP + Pi$ .



אזור ה-  $F_1$  בנוי משלוש חזרות של צמד תתי היחידות  $\alpha$  -  $\beta$  אשר מהווים ביחד תת יחידה פונקציונלית, בחלק זה קיימת גם תת יחידה  $\gamma$  אשר מתפקדת כמנוע ומסתובבת בכ-  $120^\circ$  בתוך המיבנה על ידי מעבר הפרוטונים, כך מתבצע הצימוד. בנוסף לכך תת יחידה  $\delta$  עם תת יחידה  $b$  משמשים כ- stator כלומר מונעים את סיבוב אזור  $F_1$  בזמן סיבוב תת יחידה  $\gamma$ .

תת היחידה  $\gamma$  אינה סימטרית מה שגורם לכך שבסיבוב תת היחידה נוצרת איסימטריה בתתי היחידות  $\alpha$  -  $\beta$  המתבטאת בשינויים במיבנה המרחבי שלהם. כאשר מבודדים את ה- ATP Synthase אנו רואים כי הוא מכיל ביחידה פעילה אחת ( $\alpha$  -  $\beta$ ) וביחידה פעילה נוספת הוא מכיל  $ADP + Pi$ , בזמן הסיבוב נסגרת היחידה הפעילה המכילה את ה-  $ADP$  והפוספט, שם נוצרת מולקולת ATP חדשה, ונפתחת זו המכילה את ה-  $ATP$  והוא משתחרר וליחידה הפעילה השלישית נכנסים  $ADP$  ופוספט וכך הלאה בצורה מחזורית.

באורגנלות כמו הליזוזים והאנדוזום משאבות פרוטונים משמשות להכנסת פרוטונים פנימה על ידי פרוק  $ATP$ , כאן על כל מולקולת  $ATP$  שמפורקת נכנסים שני פרוטונים. במשאבות אלו לא נוצר גרדיאנט חשמלי כיוון שממברנת אורגנלות אלו חדירה למעבר מטענים בניגוד לממברנת המיטוכונדריה. משאבות אלו כמו שאר המשאבות בתא יכולות לעבוד בכיוון הפוך אך בתנאים שונים כמו כמות היונים למעבר (גרדיאנט ריכוזים או/ו גרדיאנט חשמלי).

בתא צרכים להיות מעברים רבים של חומרים כגון:  $ADP$ ,  $Pi$ ,  $NADH$ , פירובט וכו',  $NADH$  הוא חומר גדול וקשה לבצע מעברים שלו בתא ולכן בתא מועברים האלקטרונים שלו ל-  $NAD^+$  במיטוכונדריה וכך מקבלים בציטוזול  $NAD^+$  ובמטריקס  $NADH$ . מעבר האלקטרונים מתבצע על ידי מה שניקרא מעבורת Shuttle אשר מעבירה את האלקטרונים.

במעבורת דהידרוקסיאצטון פוספט (DHAP) הופך גליצרול 3 פוספט ( $G3P$ ) להבדיל מגליצראלדהיד 3 פוספט ( $GA3P$ ) על ידי חיזור ואנזים גליצרול 3 פוספט דהידרוגנאז, ה-  $G3P$  חודר לתוך המטריקס של המיטוכונדריה שם הוא הופך ל-  $DHAP$  על ידי אנזים גליצרול 3 פוספט דהידרוגנאז מסוג אחר העובד עם  $FAD$  ולא  $NAD^+$  כמו האנזים שבציטוזול. כך אנו מקבלים במטריקס  $FADH_2$  מה-  $NADH$  מעבר זה לא משתלם כי כך מקבלים 1.5 מולקולות  $ATP$  במקום 2.5 שמקבלים ישירות מ-  $NADH$ .

מערכת טרנספורט נוספת היא מערכת המחליפה  $ATP$  ב-  $ADP$  על ידי הטרנספורטר הנקרא The ADP/ATP Translocase. ה-  $ADP$  חייב להגיע למטריקס ו-  $ATP$  שנוצר במטריקס צריך לצאת לשאר חלקי התא, בטרנספורטר ניכנס למטריקס ה-  $ADP$  ויוצא במקביל  $ATP$  ופרוטון כדי לאזן את המטען היותר שלילי של  $ATP$  לעומת  $ADP$  (ל-  $ATP$  יש קבוצת פוספט אחת נוספת). הפרוטון שיוצא הוא אותו פרוטון רביעי עליו דיברנו ביצירת ה-  $ATP$ .

### גלוקונאוגנאזה Gluconeogenesis

תהליך הגלוקונאוגנאזה הוא תהליך של יצירת סוכרים הוא קורה בעיקר (90%) בכבד וקצת בכיפת הכליה, תהליך זה הוא תהליך חשוב מאוד מכיוון שהמוח שלנו דורש ב- 100% אנרגיה מגלוקוז לשם פעולתו וגם תאי הדם האדומים (אריטרוציטים) תלויים בגלוקוז לצורך גליקוליזה שזו דרכם היחידה לקבלת אנרגיה (בניגוד לשאר הרקמות המשתמשות גם באנרגיה מחומצות שומן עליהם יפורט בהמשך).

בגוף האדם קיימים מאגרים של גליקוגן בכבד בעיקר, מאגרים אלו בנויים לספק אנרגיה למשך כ- 24 שעות ללא תוספת של סוכרים מהמזון. לאחר שמאגרים אלו נגמרים מתבצע תהליך הגלוקונאוגנאזה בו נוצר בערך 20 - 25 אחוז של הסוכר הדרוש מגליצרול. האנזים גליצרול קינאז הופך את הגליצרול לגליצרול 3 פוספט תוך כדי פרוק ATP ומכאן נוצר דהידרוקסיאצטון פוספט.

מקור נוסף לגלוקונאוגנאזה הוא חומצות אמינו אשר מחלק מהן ניתן ליצור חומרים המסוגלים להגיע לגלוקוז כך שהכניסה העיקרית למסלול היא מפירובט ואוקסלואצטט. בחיות אצטיל Co A לא מסוגל לחזור ולתת סוכר אך בצמחים זה אפשרי, בחיות מאצטיל Co A ניתן ליצור חומצות שומן.

מסלול הגלוקונאוגנאזה הוא מסלול הפוך לגליקוליזה בכך שהוא הופך פירובט לגלוקוז, רוב המסלול זהה לזה של הגליקוליזה עקב הפיכות הראקציות אך בגליקוליזה יש 3 ראקציות בלתי הפיכות שהם ראקציות הקינאז (הקסוקינאז, פוספופרוקטוקינאז 1 (PFK1) ופירובט קינאז) ואותם צריך לעקוף. את שתי הראקציות הקינאז הראשונות בגליקוליזה קל לעקוף על ידי הידרוליזה של הקשר הפוספואסטריל, לעקיפת תגובת ה-PFK1 האנזים הוא פרוקטוז 1,6 ביס פוספטאז והוא משמש לבקרה, ולעקיפת תגובת ההקסוקינאז משתמשים באנזים גלוקוז 6 פוספטאז אשר קיים רק בכבד.

ראקציית הקינאז השלישית בגליקוליזה היא מעבר מפירובט לפוספואנול פירובט (PEP), עקיפה של ראקציה זו יותר מורכבת הראקציה דורשת אנרגיה ונידרש יותר מאנרגיה של ATP לשם כך. בעכבות כך הראקציה היא דו שלבית ועוברת דרך הכנסה והוצאה של CO<sub>2</sub>, בשלב הראשון ניכנס ה-CO<sub>2</sub> לתוך הפירובט על ידי שימוש באנרגיה של ATP והאנזים פירובט קרבוקסילאז תוצר שלב זה הוא האוקסלואצטט (OAA), בשלב השני יוצא ה-CO<sub>2</sub> החוצה בעזרת אנרגיה של GTP (ביונקים לעומת ATP ביצורים אחרים) והאנזים PEP קרבוקסי קינאז ומקבלים את ה-PEP.

מנגנון ראקציה זו מורכב עוד יותר, השלב הראשון מתבצע במטריקס של המיטוכונדריה אך ה-OAA לא יוצא ממנה אלה הוא הופך למלאט Malate על ידי האנזים מלאט דהידרוגנאז ו-NADH, המלאט יוצא מהמיטוכונדריה לציטוזול שם על ידי איזוזים (אנזים שמבצע את אותה פעולה אך הם תוצרי גן אחר ופועלים באזור אחר) של אותו אנזים, מלאט דהידרוגנאז, ו-NAD<sup>+</sup> הוא הופך שוב ל-OAA הממשיך במסלול הגלוקונאוגנאזה בציטוזול.

אך גם זה לא כל הסיפור בראקציה יש גם השתתפות של קואנזים ביוטין Biotin (שהוא ויטמין B6). הביוטין משמש לראקציית הקרבוקסילציה במנגנון דו שלבי, בשלב הראשון על החנקן של הביוטין ניקשר ה-CO<sub>2</sub> לשם כך משתמשים באנרגיה מ-ATP התוצר המתקבל הוא קרבוקסי ביוטין Carboxylated Biotin, בשלב השני הקשר האנרגטי בין החנקן ל-CO<sub>2</sub> משמש למעבר של ה-CO<sub>2</sub> מהחנקן לפירובט לקבלת OAA.

לכל מערכת גם לגלוקונאוגנאזה יש בקרה המונעת ממסלול זה לרוץ במקביל לגליקוליזה באותו זמן ולבזבז כמות אנרגיה גדולה יותר מזו שנוצרת. קיימות שתי סוגי בקרות הפועלות כאן האחת הורמונלית (נפרט בהרחבה בהמשך) והשניה בקרה אלוסטרית. האנזים פרוקטוז 1,6 ביס פוספטאז מעוכב על ידי AMP, F2,6BP וההורמון אינסולין ומזורז על ידי ההורמון גלוקוגן. יש עוד לפני תגובה זו בקרה על שלב בו מקבלים מפירובט OAA אנו חייבים אצטיל Co A אשר הוא מסמן מחסור בחומרי הביניים של מעגל קרבס שבניהם ה-OAA ולכן נוצר ה-OAA.

הגלוקונאוגנאזה יכולה ליצור סוכרים גם מחומרים אחרים והם גליצרול חומצות אמינו ולקטט, הלקטט הוא תוצר של שיתוף פעולה בין תאי הוא מוצא מתאי הגוף כחומר פסולת ומגיע לכבד דרך מחזור הדם. בכבד הופך הלקטט לפירובט על ידי שימוש ב-  $NAD^+$ , הפירובט הופך לגלוקוז בגלוקונאוגנאזה ומועבר לגוף.

מקור נוסף לגלוקוז הוא הגליקוגן שהוא בעצם חומר התישמורת של גלוקוז כלומר מאגרי הגלוקוז של הגוף בהם יש מספיק ליצירת גלוקוז במשך 24 שעות בערך (מאגרי הגליקוגן בשריר מספיקים לריצת מרתון בערך). המאגר שבכבד משמש את כל הגוף ובעיקר למוח, בתאי השריר משתחרר גלוקוז בצורה מזורחנת וכתוצאה מכך הוא נישאר בתא ולא עובר לשאר הגוף.

הגליקוגן הוא ג'ל שרובו מים הוא לא מסיס ומבנהו הפתוח מאפשר גישה טובה של אנזימים ושימוש מהיר, הגליקוגן מצוי בתא בתוך גרנולות שם מצויים גם האנזימים המקיפים את הגליקוגן ומבצעים את הפרוק או הסינתזה שלו. הגליקוגן הוא בעצם פולימר של גלוקוז בעל סיעוף כל 10 יחידות בערך, על כל יחידה של גלוקוז יש 6 קבוצות OH מה שמאפשר צילוב, ספיחת מים רבה וקצוות רבות עליהם מתבצעים התהליכים. לגליקוגן יש מקביל אצל הצמחים והוא העמילן.

השרשראות הלינאריות בגליקוגן מכילות קשרי  $\alpha(1,4)$  בין מולקולות הגלוקוז, בגוף האדם כמו בבעלי חיים טורפים אין אפשרות לטפל בקשרי  $\beta$  בין סוכרים בעוד שבבעלי חיים צמחוניים קיימת האפשרות הזו, הסיעוף בגליקוגן הוא על ידי קשרי  $\alpha(1,6)$ . המטבוליזם של גליקוגן מתבצעת בקצבות של פחמן 4 הלא קשור.

פרוק הגליקוגן לא נעשה בהידרוליזה עם מים כמצופה אלה עם פוספט אורגני אשר מתקיף את הקשר בין מולקולות הגלוקוז הקשורות ומשתחרר סוכר הקשור לפוספט, זוהי למעשה ראקציית פוספורילציה Phosphorolysis והאנזים הוא גליקוגן פוספורילאז Glycogen Phosphorylase, ראקציה זו נותנת לנו רווח אנרגטי כי לא משתמשים ב- ATP בכדי לעבור מגלוקוז לגלוקוז מזורחן. הגלוקוז שמשתחרר הוא גלוקוז 1 פוספט הוא הופך לגלוקוז 6 פוספט על ידי האנזים פוספוגליקומטאז, ומכאן הגלוקוז 6 פוספט הולך לגליקוליזה.

סינתזת הגליקוגן היא הוספת מולקולות של גלוקוז לפולימר, יש כאן סיוע של נשא משופעל שהוא UDP הסובסטרט הוא גלוקוז 1 פוספט הנוצר מגלוקוז 6 פוספט על ידי אנזים מוטאז (עליו דיברנו בעבר). הראקציה המתרחשת היא בין הגלוקוז ל- UTP מה שנותן לנו UDP-גלוקוז ופירופוספט (PPi), ה- PPi מתפרק מייד, על ידי מים והאנזים פירופוספטאז (אנזים זה הוא אנזים "פראי" כונה בזמן מלחמת ויאטנם כאנזים ויאטקונגי), לשני פוספטים דבר המסיט את הראקציה לתוצרים, בראקציה זו מקבלים אנרגיה גדולה יותר מהידרוליזה של ATP.

מכאן ה- UDP-גלוקוז מתקרב לעמדה 4 בגליקוגן ונוצר קשר בינה לבין עמדה 1 שלו, קשר זה גורם לשחרור ה- UDP והתארחות השרשרת של הגליקוגן. ה- UDP ממוחזר ל- UTP על ידי ATP ומקבלים ADP שממוחזר מתהליכים אחרים, האנזים המבצע את הראקציה הזו הוא נוקלאוזיד דיפוספוקינאז Nucleoside Diphosphokinase והוא לא ספציפי כלל כלומר הוא מקיים שיווי משקל בין נוקלאוזיד טריפוספט לדיפוספט.

כבד הבקרה כמעט כולה הורמונלית ובשריר יש גם בקרה הורמונלית, ההורמונים המשפיעים הם אינסולין וגלוקגון, ובשריר במקום גלוקגון יש אפינפרין (אדרנלין). ההורמון משתחרר מבלוטה אנדוקרינית ועובר למחזור הדם עד שהוא מגיע לתא

היעד שם הוא ניקשר לקולטן (רצפטור) החוצה את הממברנה מספר פעמים הוא מעביר את האות למתווך G Protein (עליו לא נלמד) והוא גורם לשחרור של אדניליל ציקלאז Adenylyl Cyclase היוצר AMP ציקלי (cAMP), ה-cAMP מהווה שליח מישני המשפיע על פעילות האנזים פרוטאין קינאז A, עד כאן זה כללי להורמונים למסלולים כאלו של שרשרת פעולות קוראים Cascades (אסדות). העיקרון בהפעלות אלו הוא של הגברה הורמון אחד מפעיל אנזים היוצר מספר תוצרים כל אחד מהם מפעיל אנזים וכך מקבלים הגברה של האות עד 3-4 סדרי גודל.

ה-cAMP נוצר מ-ATP על ידי שחרור של פירופוספט, את הפסקת פעילות ה-cAMP מבצעים על ידי הידרוליזה והאנזים cAMP פוספודיאסטרזא cAMP Phosphodiesterase שהוא אנזים מיוחד כי הוא פועל על שני קשרים פוספואסטרם ביחד גם אנזים, זה מבוקר בכדי למנוע יצירה בלתי מוגבלת של cAMP.

הפרוטאין קינאז A הוא טטרמר המורכב משתי תת יחידות קטליות C ושתי תת יחידות רגולטוריות R, כאשר נקשרות שתי מולקולות של cAMP לאנזים מתרחשת דיסוציאציה ומקבלים שתי תת יחידות R הקשורות ל-cAMP ושתי יחידות C נפרדות, זוהי תגובה קיצונית לבקרה אלוסטרית שהאקטיבטור לא רק מערער את הקשרים בין תת היחידות אלה גורם להפרדתם.

הבקרה ההורמונלית כאן היא על פי רמת הגלוקוז בדם, כאשר ריכוזו גבוה מופרש ההורמון אינסולין המשפעל מעבר של גלוקוז גליקוגן ובכך הוא מוריד את ריכוזו בדם, בנוסף לכך האינסולין גורם גם לזירוז הגליקוליזה (בכבד) ויצירת פירובט במטרה להפוך גלוקוז לחומצות שומן. שריכוז הגלוקוז בדם יורד מופסקת הפרשת האינסולין ומופרש ההורמון גלוקוגן (או אפינפרין) הגורם לפרוק גליקוגן הפסקת הגליקוליזה ושיפעול גלוקונאוגנאזה.

הגליקוגן הוא פפטיד בעל 29 חומצות אמינו ואפינפרין הוא הורמון מקבוצת כטכול אמינים, האפינפרין מסונתז דרך טירוזין. על אף ההבדלים בין הורמונים אלו פעולתם דומה, הם גורמים לפרוטאין קינאז A להפעיל את הפוספורילאז קינאז על ידי זירחון וזה מזרחן את הפוספורילאז ומפעיל אותו לשם פרוק גליקוגן, המעבר כאן הוא דרך מתווך נוסף לשם הגברה נוספת. בנוסף הורמונים אלו גם מעכבים את סינתזת הגליקוגן על ידי זירחון של גליקוגן סינתאז מה שגורם לו להיות בלתי פעיל, זירחון זה נעשה גם על ידי הפוספורילאז קינאז ולכן הוא גם מכונה פוספורילאז סינתאז קינאז (אנו לא נתייחס אליו בשם זה אלא בשמו הרגיל). במנגנונים אלו הבקרה משפיעה לא רק על האפינייות אלא גם על  $V_{max}$ .

הפוספורילאז קינאז הוא טטרמר אשר עובר זירחון על תת יחידה אחת לבד, הפוספורילאז הוא דימר והוא עובר זירחון של שתי תתי היחידות על מנת להפוך לפעיל. עד כאן המערכת משותפת לכבד ולשריר.

בשריר יש שני מצבים האחד הוא של מצוקה stress במצב זה מופרש אפינפרין ומצב שני הוא מצב של פעילות כללית בו לא מופרש ההורמון, במצב הפעילות הרגיל יש מנגנון מיוחד של הפרשת יוני סידן וכתוצאה מכך השריר מתכווץ, במצב מנוחה נמצאים יוני הסידן בתוך ה-SR ובפעילות סיגנל (אות) חשמלי גורם לפתיחת תעלה יוני הסידן משתחררים לציטוזול מה שגורם לשחרור העיכוב וכיווץ השריר.

האינסולין הוא ההורמון ההפוך לגלוקוגן ולאפינפרין הוא משפעל פוספטאזות המסירות את הפוספטטים וגורמים לדהאקטיבציה של פוספורילאז קינאז, ובמקביל לאקטיבציה של סינתאז.

## מסלול הפנטאזות

מסלול הפנטאזות הוא בעל תפקיד חשוב בביו-סינתזה ובמיוחד ביו-סינתזה של חומצות שומן (עליהם נפרט בהמשך). במסלול זה נוצר NADPH שהוא חומר הדומה ל-NADH אך בתוספת פוספט בעמדה 2 בריבוז הסמוך לאדנין, ה-NADPH משמש כדונור (תורם Donor) בתהליכים של ביו-סינתזה שם חומר זה מבצע חיזור של תוצרי ביניים. בציטוזול יש ריכוז גבוה יחסית של  $NAD^+$  ו-NADPH לעומת  $NADH$  ו- $NADP^+$ .

החלק הפשוט של מסלול הפנטאזות הוא החלק החימצוני בו מקבלים את ה-NADPH, הסובסטר הראשון הוא גלוקוז 6 פוספט העובר חימצון על ידי  $NADP^+$  במצבו הטבעי מה שהופך אותו לחומצה טבעית או ליתר דיוק לאסתר ציקלי הנקרא 6 פוספוגלוקונון לקטון  $\delta$ -Lactone - 6 Phosphogluconon, בשלב הבא מתבצעת הידרוליזה ומקבלים את החומצה 6 פוספוגלוקונט 6 Phosphogluconate, לאחר מכן מתבצע חימצון נוסף ודהקרבוקסילציה לקבלת ריבולוז 5 פוספט Ribulose 5 Phosphate, תוצר זה יכול לעבור בעזרת האנזים איזומראז לריבוז Ribose או בעזרת האנזים פוספופנטוז אפימראז Phosphopentose Epimerase לקסילולוז Xylulose שהוא אפימר של ריבולוז כלומר בעל קונפיגורציה שונה באחד הפחמנים.

בנוסף למסלול החימצוני קיים גם מסלול בלתי חימצוני שמטרתו היא להחזיר את הפנטאזות להקסוזות ובכך ליצור תהליך מחזורי ליצירת NADPH, המעבר מהקסוזות לפנטאזות הוא בלתי הפיך ולכן צריך תהליך אחר למסלול חזרה. המסלול הזה כולל בתוכו 3 ראקציות הנותנות בתגובת נטו על כל 3 פנטאזות 2 הקסוזות וטריאזות, במקרה זה הטריאזות היא חומר ביניים גליקוליטי והיא ממוחזרת להקסוזות בגלוקונאוגנאזה.

בשלב הראשון של המסלול הבלתי חימצוני שתי פנטאזות, ריבוז וקסילולוז, נותנות טריאזות שהיא גליצראלדהיד 3 פוספט (GA3P) וסוכר בעל 7 פחמנים שהוא סדוהפטולוז 7 פוספט Sedoheptulose Phosphate האנזים לכך הוא טראנסקטולאז Transketolase. בשלב הבא תוצרים אלו נותנים סוכר בעל 4 פחמנים שהוא אריטרוז 4 פוספט Erythrise 4 Phosphate ותוצר בעל 6 פחמנים שהוא פרוקטוז 6 פוספט שהוא תוצר סופי, ראקציה זו מתרחשת על ידי האנזים טראנסאלדולאז Transaldolase. בשלב השלישי האריטרוז 4 פוספט מגיב עם קסילולוז ומקבלים פרוקטוז 6 פוספט נוסף וגם GA3P שהם התוצרים הסופיים של מסלול זה גם ראקציה זו משתמשת באנזים טראנסקטולאז, שתי מולקולות ה-F6P ומולקולת ה-GA3P נותנות לנו בסופו של דבר 2.5 מולקולות של גלוקוז 6 פוספט אשר ניכנס חזרה למסלול הפנטאזות וגם חלק לגליקוליזה.

למנגנון הטרנסקטולאז יש קואנזים שהוא טיאמין פירופוספט Thiamin Pyrophosphate (TPP), שהוא אחד מויטמיני B, ה-TPP הוא מולקולה בעלת חלק ציקלי בו יש פחמן פעיל ליד חנקן רבעוני מה שגורם לו להיות חומצי יחסית ולשחרר פרוטון ולקבל קרבניון פעיל מאוד הוא תוקף את הקטוזה המשמשת כתורם של שני פחמנים ונוצר בשלב ראשון תוצר סיפוח, בשלב הבא האנזים גורם לעזיבה של השייר עם חלק מהמולקולה (2 פחמנים) ומקבלים קרבניון המאוזן רזונטיבית על ידי החנקן החיובי, בשלב הבא שני הפחמנים עוברים למקבל Acceptor ומקבלים תוצר סיפוח אשר ממנו מתנתק ה-TPP ונשאר התוצר הרצוי. כאשר קיים חוסר ב-TPP הדבר נקרא מחלת הברי ברי אשר פוגעת במערכת העצבים, המחלה התגלתה במזרח שהחלו לאכול שם אורז מקולף כיוון שבקליפת האורז מצויים הויטמינים. האנזים השני במסלול הוא הטרנסאלדולאז בו המנגנון הוא של שבירה אלדולית ודחיסה אלדולית.

## גלוטטיון

הגלוטטיון הוא טריפפטיד בעל חומצה גלוטמית, ציסטאין וגליצין, הגלוטטיון לא מסונתז בריבוזום אלא על ידי אנזימים המחברים בין חומצות אמינו כך שבחומצה הגלוטמית הקרבוקסיל הקשור לשרשרת הוא הקרבוקסיל  $\gamma$  מהשייר ולא משלד החומצה האמינית. החלק החשוב בגלוטטיון הוא קבוצת ה- SH של הציסטאין מה שמאפשר לגלוטטיון להשתתף בראקציות חימצון חוזר.

בציטוזול החלבונים הם בלי קשרי SS (באוקריוטים), קשרי ה- SS מצויים רק בחלבונים חוץ תאיים, בחלבונים המצויים באורגנלות ובחלבונים המופרשים מהתא, הסיבה לכך היא בחשיבות קבוצת ה- SH שלפעמים מצויה באתר הפעיל ומהווה חלק קריטי לפעילות החלבון. הגלוטטיון המחוזר (GSN) שומר על כך שלא יוצרו קשרי SS בציטוזול, כאשר הוא מפרק את קשרי ה- SS אנו מקבלים גלוטטיון מחומצן (GSSG), ראקציה זו היא ראקציה פשוטה ואינה דורשת אנזים כלל.

התחמצנות החלבונים בתא וקבלת קשרי SS מתרחשת בעקבות חמצן המצוי בתא, חמצן זה יוצר גם רדיקלים, הגלוטטיון מפרק את קשרי ה- SS ובכך משמש כאנטיאוקסידנט, בנוסף הוא גם מוריד את כמות הרדיקלים בתא ומפרק טריאוקסידים. הגלוטטיון המחומצן צריך לעבור רגנרציה לגלוטטיון מחוזר מנגנון זה דורש שימוש ב- NADPH המגיע ממסלול הפנטאזות ואנזים בשם גלוטטיון רדוקטאז.

קיימות כיום כ- 100 סוגי מוטציות ידועות אשר גורמות לחוסר של NADPH והם בדרגות שונות, באחת מהם נוצרים אגרגטים של המוגלובין בכדוריות הדם האדומות וזאת עקב חימצון של המוגלובין ויצירת קשרי SS, הדבר גורם לדנטורציה חלקית של המוגלובין ולשקיעת האגרגט על ממברנת כדורית הדם מה שגורם לליזיס על ידי חומרים הידרופוביים ולאנמיה, אנשים בעלי פגם זה רגישים לפול שבו יש את אותם חומרים הידרופוביים (גם פריחה של פול מספיקה לגרימת נזק) וגם רגישות לתרופות, המכילות בדרך כלל מרכיבים הידרופוביים המסייעים על הקשירה של התרופה למטרה. פגם זה משפיע על כדוריות הדם האדומות כיוון שיש שם איזוזים של האנזים גלוקוז 6 פוספט דהידרוגנאז מיוחד המחליש את הענף החימצוני של מסלול הפנטאזות.

## חומצות שומן

חומצות השומן מהוות את מאגר האנרגיה העיקרי של הגוף, מאגרים אלו מאפשרים קיום ללא מזון לזמנים ארוכים של עד חודשיים, גודלן של חומצות השומן הוא בין 12 פחמנים ל- 24 פחמנים (בקפיצות של מספרים זוגיים בלבד) והנפוצות ביותר הם בעלות 16 עד 18 פחמנים, קיימות חומצות שומן רוויות ולא רוויות (חומצות שומן בלתי רוויות מצויות במצב ציס בלבד), בעיקרון חומצות השומן הם פולימרים של אצטט וכל המנגנונים של ראקציות הפועלות על חומצות שומן פועלים על פחמן  $\beta$  שזה הפחמן השני מהפחמן הקרבוקסילי.

רקמות רבות בגוף משתמשות בחומצות שומן לאנרגיה, פרט למוח ולכדוריות הדם שלא משתמשים בהם, חומצות השומן מסונתזות בגוף וגם מגיעות מהמזון בו מעוקלים טריגליצרידים המתפרקים לחומצות שומן המועברות דרך הדם על ידי קומפלקסים המשמשים כנשאים. חומצות השומן לא נעות לבדם בדם כיוון שמילחי חומצות אלו הם בעצם דטרגנט ולכן שיחרורן בכלי הדם יגרום נזק. חומצות השומן נאגרות במאגרי טריגליצרידים בתאי שומן.

תא שומן הוא תא כדורי עם מאט מאוד ציטוזול וגרעין הצמוד לממברנה, שאר התא הוא טיפת שומן גדולה המורכבת מגליצרידים. השומן הוא הידרופובי מה שגורם למולקולות שלו להיצמד זו לזו וליצור מיבנה דחוס, בנוסף לכך מולקולות שומן מחוזרות יותר ממולקולות סוכר דבר המאפשר קבלת אנרגיה רבה יותר בשומן מאשר בסוכר.

טריגליצריד הוא בעצם טריגליצרול עם אסטרים על כל קבוצת OH, פרוק של גליצריד על ידי מים ו-Lipases נותן לנו את גליצרול ו-3 חומצות שומן תהליך זה מבוקר על ידי בקרה הורמונלית, עד הפעלת הפרוטאין קינאז A הבקרה זהה למה שלמדנו בעבר ומכאן מתחיל ההבדל. הפרוטאין קינאז A, שמופעל על ידי הגלוקגון, מפעיל את האנזים טריגליצרול ליפאז אשר גורם לשחרור של חומצת שומן אחת, אנו נשארים עם דיגליצריד המתפרק לא תחת בקרה הורמונלית לשתי חומצות השומן הנפרדות ולגליצרול וזאת על ידי האנזים DAG Lipase.

חומצות השומן מפורקות בתא לאצטיל Co A וזאת על ידי שני שלבי חימצון והוצאת שני פחמנים, התהליך הזה הוא ספירלי בכל מחזור מתרחשת אותן תגובות אך הסובסטרט משתנה במקרא זה חומצת השומן מתקצרת בכל מחזור ב-2 פחמנים. חומצת השומן נכנסת לתא כחומצה חופשית וצריך לבצע אקטיבציה שלה בכדי להתחיל בפרוק וזה נעשה על ידי חיבור של Co A לחומצה בעזרת אנרגיה משני קשרים עתירי אנרגיה, האחד הוא מעבר מ-ATP ל-AMP והשני פרוק של PPI לשני פוספטים, עד שלב זה התהליך מתרחש בציטוזול ואילו שאר החימצון מתבצע במיטוכונדריה וזאת כיוון שהתוצר של חימצון חומצת השומן הוא אצטיל Co A אשר משמש או לסינתזה של חומצות שומן או למעגל קרבס. התהליך חיבור ה-Co A מתבצע בשני שלבים בראשון חומצת השומן מגיבה עם ATP ומשתחרר PPI, הקשר בין החומצה ל-AMP הוא דרך הפוספט וזה קשר אציל פוספט אשר מגיב בשלב השני עם Co A ומשתחרר ה-AMP ומקבלים את התוצר שהוא אציל Co A.

לאחר קבלת האציל Co A יש צורך להכניסו למיטוכונדריה להמשך התהליך, הדבר מתבצע על ידי מעבורת Shuttle שהיא קרניטין Carnitine אליו מתחבר האציל לצורך הכניסה למטריקס לתוצר קוראים אציל קרניטין Acyl Carnitine, ה-Co A מנותק מהמולקולה. האנזים לראקציה זו הוא קרניטין אצילטרנספראז 1 Carnitine Acyltransferase המצוי על הממברנה החיצונית של המיטוכונדריה ויחד עם החלבון טראנסלוקאז מוכנס האציל קרניטין למטריקס ושם על ידי האנזים קרניטין אצילטרנספראז 2 Co A-1 מקבלים שוב את האציל Co A וקרניטין היוצא לציטוזול. יציאתו של הקרניטין מצומדת לכניסת האציל קרניטין וכתוצאה מכך נשמרת רמה קבועה של חומרים אלו בציטוזול ובמטריקס. חומצות שומן הקצרות מ-16 פחמנים מסוגלות להיכנס ללא טרנספורט לתוך המיטוכונדריה.

בתוך המיטוכונדריה מתבצע חימצון של הקשר הכפול (במצב טראנס) על פחמן  $\beta$  בעזרת FAD והאנזים אציל Co A דהידרוגנאז, אנזים זה משתמש במעברי אלקטרונים דרך נשאי אלקטרונים מרכז ברזל גופרית ומשם ל-Co Q, לאחר מכן מוכנס לקשר מים על ידי האנזים הידרטאז ו-1 Trans  $\Delta^2$ -Enoyl Co A  $\Delta^2$  הוא סימן לקשר כפול בעמדה 2) ולאחריו מתבצע חימצון על ידי NAD<sup>+</sup> והאנזים 3 הידרוקסי אציל Co A דהידרוגנאז לקבלת קטון, השלב הבא הוא ראקציית תיאוליזה Thiolyis בה Co A תוקף את פחמן  $\beta$  מה שנותן לנו שחרור של אצטיל Co A ואציל Co A חדש הקצר יותר בשני פחמנים. התהליכים במעברים אלו דומים לאלו המתרחשים במעגל קרבס במעבר מצוקצינאט לאוקסלואצטט.

סך הכל מחומצת שומן בעלת 18 פחמנים מקבלים 8 מולקולות של  $FADH_2$  הנותנים 12 מולקולות של ATP (1.5 ATP לאחד), 8 מולקולות של NADH הנותנות 20 מולקולות ATP (2.5 ATP לאחד), שמונה פרוטונים ו-9 מולקולות של אצטיל Co A הנותנות 90 מולקולות של ATP (10 ATP לאחד) ומושקעים שתי מולקולות ATP לשלב האקטיבציה, כלומר על חומצת שומן אחת המכילה 18 פחמנים מקבלים 120 מולקולות של ATP.

סינתזת חומצות השומן חשובה מאוד כיוון שכ 40% מהאנרגיה שלנו אנו מקבלים מחומצות שומן (השאר מפחמימות), בצמחים בניגוד לבעלי חיים קיים מנגנון ההופך חומצות שומן לסוכרים הוא פועל בעיקר בזרעים שם מאגרי שומן משמשים כמקור לסוכרים בזמן הנביטה. המקור הראשי לשומן אצלנו הוא פחמימות והשני הוא חלבונים, עודף של פחמימות עובר גליקוליזה לאצטיל Co A ומשם לחומצות שומן, ללא מאגרים אלו לא היה באפשרותנו להתקיים לזמן רב ללא מזון.

בסינתזת חומצות שומן השלבים הם פחות או יותר הפוכים מלבד מספר הבדלים משמעותיים, דבר ראשון הוא שסינתזה של חומצות שומן מתבצעת בציטוזול ולא במיטוכונדריה, הבדל נוסף הוא שימוש בנשא אחר במקום Co A נשא זה הוא אציל קרייר פרוטאין (ACP) Acyl Carrier Protein, עוד הבדל הוא שימוש ב- Donor שאינו אצטיל אלה חומר תלת פחמני, שהוא מאלונט (חומצה מאלונית), ויציאת  $CO_2$ , והבדל נוסף הוא שבמקום שימוש באנזימים נפרדים פועל כאן קומפלקס אנזימיים Multienzyme Complex שהוא חלבון ענק בעל שתי תת יחידות ומספר אתרים פעילים שונים, הבדל אחרון הוא שהחומר המחזר הוא NADPH ולא NADH או  $FADH_2$  כמצופה.

הנשא המשתתף בסינתזה (ACP) אינו בעל הבדל משמעותי מ- Co A, החלק הנקשר לחומצת השומן בשניהם זהה לחלוטין ההבדל הוא בזה ש- ACP קשור לחלבון שלא כמו ה- Co A, מבנהו המיוחד של ACP יוצר מעין זרוע ארוכה אשר מעבירה את הסובסטרטים מאתר אחד לשני בחלבון לשם הסינתזה.

כפי שצוין קודם התורם בסינתזה הוא מאלונט שהוא חומצה תלת פחמנית די קרבוקסילית והסינתזה נעשית על ידי דחיסת מולקולה זו, בסינתזה אין השקעה ישירה של ATP אך יש אקטיבציה על ידי  $CO_2$ , בשלב הראשון לאצטיל Co A מוסף  $CO_2$  על ידי הידרוליזה של ATP, זוהי ראקציית קרבוקסילציה ומשתתף בה ביוטין והאנזים אצטיל Co A קרבוקסילאז Ac Co A Carboxylase, תוצר הראקציה הוא מאלונט Co A, בשלב הבא מתבצעת החלפה והאצטיל עובר ל- ACP וגם המאלונט עובר ל- ACP. המאלונט Co A הוא תוצר ביניים ייחודי למסלול זה והוא נמצא תחת בקרה של Commitment כלומר במידה והראקציה מגיעה לשלב זה היא ממשיכה עד סופה, הבקרה מבוצעת על ידי ההורמון אינסולין.

כמו מסלול הפרוק גם מסלול הסינתזה הוא ספירלי אלא שכאן בכל מחזור השרשרת מתארכת בשני פחמנים. ראקציות המסלול מתחילות במאלונט ACP ואציל ACP (בפעם הראשונה אצטיל ACP) המתחברים ומשחרר  $CO_2$  ו- ACP מה שמשאיר לנו אצטואצטט ACP שלב זה מתבצע על ידי האנזים Condensation Enzyme, בשלב הבא חומר זה עובר חיזור על ידי NADPH ואנזים מסוג דהידרוגנאז לקבלת  $\beta$ -Hydroxybutyryl ACP – אשר ממנו אנו מוציאים מים לשם קבלת Crotonyl ACP, חומר זה עובר שלב נוסף של חזור על ידי NADPH ומקבלים Butyryl ACP ומכאן למחזור ספירלי חדש. הסינתזה מסתיימת בפלמיטט (16 פחמנים) וממנו מקבלים פלמיטואיל Co A, ברוב בעלי החיים הסינתזה של חומצות שומן מתרחשת בכבד ובתאי שומן, מהפלמיטואיל Co A הנוצר בכבד מופרד ה- Co A לשם העברה של חומצת השומן דרך מחזור הדם לתא השומן.



ביצורים אאוקריוטיים כל הסינתזה מתרחשת על חלבון אחד הבנוי משני תת יחידות העומדות ראש לזנב, הסינתזה מתבצעת על ידי 2 אתרים האחד הוא ה-ACP והשני הוא קבוצת ה-SH של חומצת האמינו ציסטאין על תת היחידה השנייה של החלבון, המאלונט ניקשר ל-ACP והאצטיל ליחידה השנייה שממול ואז מבוצעת הדחיסה בניהם והוצאת ה- $CO_2$ , לאחר שלב זה ה"זרוע" של ה-ACP מעבירה את התוצר לכל האתרים הפעילים (3 אנזימים), בסוף התהליך מקבלים על ה-ACP את ה-Butyryl והוא מועבר על ידי טראנסלוקציה לשייר SH בתת היחידה שממול ול-ACP שנשאר פנוי נקשרת מולקולה חדשה של מאלונט והתהליך חוזר על עצמו.

בציטוזול כמעט ואין אצטיל CoA וזאת כיוון שהוא נוצר במיטוכונדריה וצריך להעביר אותו לציטוזול לשם סינתזה, המעבר מתבצע על ידי ראקציה ממעגל קרבס בה האצטיל CoA מגיב עם אוקסלואצטט (OAA) לקבלת ציטרט, הציטרט עובר לציטוזול על ידי החלפה Exchange עם פירובט או מלאט, בציטוזול מפורק הציטרט לאצטיל CoA ול-OAA בעזרת אנרגיה מ-ATP והאנזים ATP ציטרט ליאז ATP Citrate Lyase (אנזים זה הוא ייחודי ומתפקד בעיקר בכבד ובתאי שומן). להשלמת המעברים ה-OAA מחוזר למלאט אשר מוחזר למיטוכונדריה ב-Exchange או עובר חימצון על ידי האנזים המלי ו- $NADP^+$  מה שנותן NADPH ופירובט המוכנס למיטוכונדריה.

בסינתזה של פלמיטט משתמשים ב-8 מולקולות של אצטיל CoA מה שיכול לתת לנו מקסימום 8 NADPH כיוון שחלק מהמולקולות היוצאות מוחלפות בפירובט וחלק במלאט במהלך ה-Exchange, את יתר ה-NADPH לתא מקבלים ממסלול הפנטאזות. ניתן לראות כי בסינתזה נכנס ויוצא כל הזמן  $CO_2$  דבר המאפשר לנו לראות אותו כקטליזטור הנדחס לשם קבלת מאלונט ויוצא לאחר מכן כאשר המאלונט נדחס עם המולקולה הבאה.

הבקרה העיקרית על הסינתזה היא על האנזים אצטיל CoA קרבוקסילאז כאשר ציטרט מזרז את פעילותו ואילו חומצות שומן שלמות מעכבות אותו, בנוסף קיים עיכוב קל גם מ-AMP. למערכת קיימת גם בקרה הורמונלית שבה אינסולין מאיץ את הסינתזה ואילו גלוקגון ואפינפריין מעכבים אותה, השפעת ההורמונים המעכבים היא על ידי זירחון של אנזים זה דבר הפוגע באפינייות שלו לסובסטרט. הבקרה העיקרית לפרוק חומצות שומן לעומת זאת היא על כניסתם למיטוכונדריה והיא מתבצעת על ידי עיכוב האנזים קרניטין אצילטראנספראז<sup>1</sup> המצוי על הממברנה החיצונית של המיטוכונדריה.

## גופי קטו

גופי הקטו הם חומרים קצרים בעלי 4 פחמנים והם אצטואצטט Acetoacetate והידרוקסיבוטראט  $\beta$ -Hydroxybutyrate, השם קטו הוא מהאצטואצטט שהוא קטון. גופי הקטו מסונתזים באופן נורמלי על ידי הכבד ומשמשים להזנה של מספר רקמות (גם המוח משתמש בהם באופן חלקי במצב של רעב וכבד וממושך ובכך הוא חוסך בכ-40% מהאנרגיה של הגלוקוז). גופי הקטו הם לא דטרגנטים ולכן אין הם זקוקים לנשאים לשם מעבר מרקמה אחת לאחרת דרך הדם.

האצטואצטט נוצר מדחיסה של שני אצטיל CoA, שלב זה זהה לשלב הראשון ביצירת חומצות שומן במטריקס אך בהבדלים קטנים והם שהתוצר מכיל CoA והדחיסה היא ישירה. המנגנון הוא של דחיסה ושחרור של CoA אחד לקבלת חומר בעל 6 פחמנים הנקרא  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -Methylglutaryl CoA (HMG), בשלב הבא משתחרר אצטיל CoA ונשאר האצטואצטט.

האצטואצטט אינו הגוף קטו העיקרי העובר לדם אלה ה- $\beta$ -Hydroxybutyrat שהוא תוצר החיזור של האצטואצטט עם NADH והאנזים דהידרוגנאז, הדבר מקביל לראקציות תחילת סינתזה של כולסטרול וסטרואידים. בנוסף לאצטואצטט יש ראקציה צדדית שבה מקבלים אצטון, ראקציה זו מתרחשת באופן ספונטני אך היא כמעט ולא מתרחשת בריכוזים הנורמלים אבל כן בריכוזים גבוהים, (עקב רעב ממושך או סכרת לא מטופלת), ואז נוצר אצטון. האצטון לא מסוגל להיכנס לאף מסלול מטבולי והוא מוצא מהגוף כפסולת.

גופי הקטו נוצרים בכבד ומגיעים לרקמות שם הם חוזרים להיות אצטיל Co A, במצב מנוחה ללא מחסור בסוכרים לא מגיעים גופי הקטו למוח אך לשריר (וגם ללב) הם מגיעים במצב מנוחה. גופי הקטו קיימים כדי לחסוך בגלוקוז בשביל רקמות המשתמשות רק בו. גופי הקטו מגיעים למיטוכונדריה ונכנסים למטריקס האצטואצטט ניכנס ללא קושי בעוד שאת ה- $\beta$ -Hydroxybutyrat צריך לחמצן לאצטואצטט ואז הוא נכנס למטריקס. במטריקס האצטואצטט מקבל Co A מ-Succinyl Co A, שהוא תוצר ביניים של מעגל קרבס, וקבלים אצטואצטט Co A ו-Succinyl Co A, האנזים לכך הוא Co A טראנספראז Co A Transferase, האצטואצטט Co A מקבל Co A נוסף ומפורק לשניים לקבלת שני אצטיל Co A וזה על ידי האנזים Thiolyase.

מצב של קטוזיס הוא מצב בו ריכוז גופי הקטו גדל, הוא מתרחש במצב של רעב ממושך או סכרת, אז לשם מניעת הצטברות של חומרי בינים האצטיל Co A הופך לגופי קטו, גופי הקטו הם חומציים והם גורמים לאסידוזיס שזה החמצה של הדם דבר שיכול לגרום לעילפון ואף לקריסת מערכות ומוות. כאשר ריכוז גופי הקטו עולה אז כפי שאמרנו קודם נוצר האצטון (והגוף מתחיל להעלות ריח של אצטון).

### חומצות אמינו

ביצורים מפותחים קיימות חומצות אמינו חיוניות וחומצות פחות חיוניות, חידקים מסוגלים לסנתז את כל חומצות האמינו, אנו מנצלים את שלד חומצות האמינו לצורכי ביו-סינתזה של הגוף וזאת כיוון שחומצות האמינו יכולות להגיע לכל חומר ביניים במסלולים מטבוליים. אנו מקבלים את חומצות האמינו מפרוק חלבונים ממזוננו ומסינתזה בגוף. רוב חומצות האמיניות יכולות לתת פירובט חלק יכולות לתת אצטיל Co A או ניגזרותיו או חומרים נוספים ממסלול הגלוקונאוגנאזה.

במצב של רעב על מנת לקבל חומצות אמינו ליצירת פירובט הגוף מתחיל בפרוק של שרירי שלד דבר המחליש את הגוף עם הזמן, ובזכות ההסתגלות בתנאים אלו לגופי קטו קצב הפרוק של שריר השלד הוא איטי.

בכדי להשתמש בחומצות האמינו צריך להסיר את החלק האמיני שלהן, התהליך בו עושות זאת רוב החומצות הוא על יד העברה של חלק זה לחומצה  $\alpha$ -keto אחרת, ראקציה זו היא טראנס אמינציה והאנזים הוא טראנס אמינאז (נימצא בכבד ובמחלת הצהבת משתחרר לדם). החומצה שמקבלת את האמין משמשת כ-Acceptor מרכזי לכל החומצות שמוסרות את הקבוצה האמינית היא קטוגלוטרט  $\alpha$ -Ketoglutarat, ואמין זה יכול להפוך בהמשך לאמוניה.

האנזים טראנס אמינאז משתמש בקואנזים שהוא הפרידוקסל פוספט, הפרידוקסין שהוא ניגזרת של ויטמין B<sub>6</sub> עובר חימצון וזירחון אשר נותנים את הפרידוקסל פוספט (PLP) אשר לוקח את האמין מהחומצה המוסרת ומשחרר את החומצה, כאשר ה-PLP קשור לאמין הוא ניקרא פרידוקסיאמין פוספט (PMP) והוא מוסר את האמין לחומצה השניה המשמשת כ-Acceptor.

אנו משתמשים באלדהיד ובחיבור לאמין נוצר אימין הנותן צורה טאוטומרית לאחר איבוד פרוטון וצורה זו היא Quinonid Intermediate חומר זה בהוספת מימן משנה את מיקום הקשר הכפול שלו להיות בחלק של החומצה האמינית בין החומצה לאמין וכך משתחררת החומצה והאמין נישאר ומועבר לחומצה המקבלת בכיוון ההפוך של אותו מסלול בדיוק. סילוק האמין מהגלוטמט מתבצע בראקציה הגלוטמט דהידרוגנאז ומשתחררת אמוניה וחומצה קטו גלוטמט, בראקציה זו מתבצע חימצון על ידי  $NAD^+$  או  $NADP^+$  ומים לשם הידרוליזה של האימין הנוצר מהחימצון. חומצות האמינו ליזין ולאוצין לא נותנות סוכרים הם נותנות רק גופי קטו וחומצות שומן ולכן הן נקראות גם חומצות קטוגניות.

### מעגל האוריה Urea

בגופינו קיימים תמיד עודפים של חנקן את החנקן אנו מפרישים מהגוף, בעלי חיים ימיים יכולים להפריש אמוניה, עופות מפרישות חומצה אורית שהיא חומר גבישי כמעט ללא מים ואנו מפרישים אוריה בתוספת מים. האוריה מורכבת משני קבוצות אמיניות וקבוצה פחמנית שמקורה מ-  $CO_2$ , האוריה נוצרת מהחומצה האמינית ארגינין בה יש ראש פחמני עם שני קבוצות אמין העובר הידרוליזה על ידי האנזים ארגינאז לקבלת אוריה אורניטין.

על מנת ליצור אוריה מתחילים אנו בדחיסה של אמוניה ל-  $CO_2$ , בדחיסה אנו משתמשים בשתי מולקולות ATP ומקבלים את התוצר קרבמואיל פוספט Carbmyl Phosphate והאנזים הוא קרבמואיל פוספט סינתאז. ATP אחד משמש בראקציה זו לזירחון והשני לאנרגיה זאת כיוון שהתוצר קרבמואיל פוספט הוא בעל קשר מאוד עתיר אנרגיה (בערך  $11 \text{ kcal/mol}$ ). בשלב הבא הקרבומאיל פוספט עובר דחיסה עם אורניטין Ornithine בשלב זה מורד הפוספט ומקבלים ציטרולין Citrulline העובר דחיסה עם אספרטט תוך השקעת שני קשרים עתירי אנרגיה האחד הוא ATP ההופך ל- AMP והשני הוא פרוק של  $PP_i$ .

האספרטט נותן את האמין שלו ומקבלים ארגינינו סוקצינאט Argininosuccinat המתפרק לפומרט ולארגינין המתפרק לאוריה ולאורניטין וחזרה על המעגל. הפומרט ניכנס למעגל קרבס ומשם דרך מלאט ל- OAA וחזרה לאספרטט.

### רקמת השריר

במצב מנוחה השריר מנצל בעיקר חומצות שומן לאנרגיה אך בפעילות הוא משתמש בעיקר במאגרי גליקוגן לקבלת גלוקוז ובמסלול הגליקוליזה האנאירובי בלבד, הסיבה לכך היא שעל אף שמסלול זה מפיק פחות אנרגיה הוא מהיר בהרבה מהמסלול האירובי, בנוסף הדיפוזיה של החמצן איטית. במצב של ספרינט השריר משתמש ב- ATP שנמצא בו באופן קבוע וגם בפוספוקראטין שגם הוא עתיר אנרגיה, במצב זה נוצרת כמות לקטט גדולה המאיטה את השריר עקב החמצה. בפעילות ממושכת השריר משתמש במאגרי הגליקוגן עד תום ואז יש שימוש גם בחומצות שומן ובגופי קטו אך השימוש בהם הוא נמוך יחסית.

במצב מאמץ מקבלים בשריר לקטט ואלנין המועברים לכבד לרגנרציה, במצב הרגיל פרוק של רקמת השריר נותן אלנין המועבר לכבד ליצירת גלוקוז. בזמן מאמץ הספקת הגלוקוז לשריר היא נמוכה כיוון שהשריר משתמש בגליקוגן. הגלוקוז הנוצר בתא שריר לא יכול לעבור למחזור הדם עקב זה שהוא מזורחן וחסר האנזים גלוקוז 6 פוספטאז כדי להסיר את הזרחן. ההורמון אינסולין גורם בין היתר גם לעיכוב של פרוק רקמת השריר בעוד שגלוקוגן לא משנה את מצב זה.

אם לא הייתה לגוף יכולת הסתגלות לגופי קטן בעת מחסור באנרגיה אז שרירי השלד היו מפורקים לגמרי תוך זמן קצר, ניתן לראות כי בתחילת צום יש פרוק רב של שרירי שלד שיורד בהדרגה עם העליה המדורגת לשימוש בגופי קטן. שריר הלב משתמש כמקור אנרגיה בעיקר בגופי קטן וחומצות שומן אך גם בגורמים נוספים.

### סכרת

סכרת נעורים היא מחלה הנוצרת עקב דלקת בתאי  $\beta$  בבלב, דלקת זו יכולה להופיע על ידי וירוס או מחלה אוטואימונית, עקב הדלקת מופסק שיחרור ההורמון אינסולין. סכרת בגיל מבוגר יכולה להיות על ידי עמידות שהגוף מפתח לאינסולין או על ידי קשירה של אינסולין לחלבונים שמונעים את שחרורו. בכל מקרה של סכרת הסימפטומים דומים אך ברמות קושי שונות.

כאשר אין אינסולין ריכוז הגלוקוז הגבוה לא מורד ונגרמים נזקים לגוף, הנזק הוא בעיקר אוסמותי כלומר מים נמשכים לתוך קפילרות וגורמות לפיצוצים וקרעים בתחילה בעיניים מה שגורם לקטארקט ולפגיעות ברשתית ולאחר מכן באזורים אחרים.

בנוסף לעובדה שאין לנו גליקוליזה ואין סינתזה של חומצות שומן (שתי מסלולים אלו מושפעים מאינסולין) מסלול הגלוקונאוגנאזה מזורז עקב ההורמון גלוקגון, דבר זה מעלה עוד יותר את ריכוז הגלוקוז. הגלוקגון גם מזרז פרוק טריגליצרידים וחומצות שומן מה שנותן הרבה אצטיל Co A שהופך לגופי קטן. תופעה נוספת היא שה-OAA נמשך גם הוא על ידי הגלוקגון לשם גלוקונאוגנאזה מה שמוריד את ריכוזי חומרי הביניים במעגל קרבס ומונע את פעולתו.