אנרגיה ומטבוליזם

מטבוליזם:

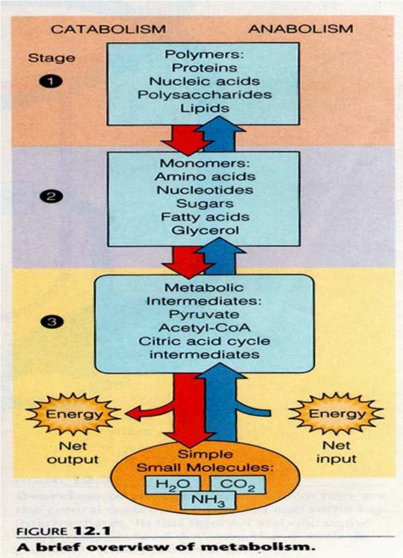


FIGURE 12.1
A brief overview of metabolism.

בעיקרון מחלקים את המטבוליזם לשני חלקים: קטבוליזם- פירוק ואנבוליזם- בנייה.

בתהליכים קטבוליים חל פירוק של פולימרים למונומרים אשר עשויים להתפרק ליחידות קטנות יותר ואף לעבור חמצון סופי. התהליך הוא בד"כ אקסרגוני ועשוי להיות מצומד לסינתזת ATP.

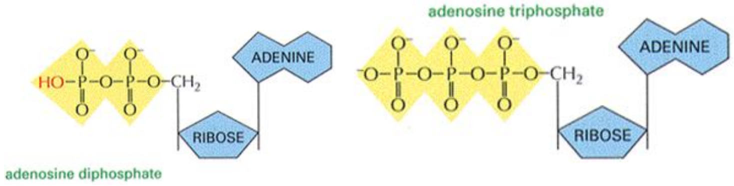
תהליכים אנבוליים בונים את חומרי התא והם צורכים אנרגיה (הקטנת אנתרופיה).

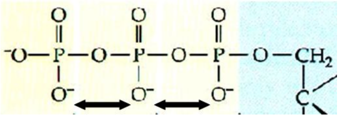
אנרגיה ניתן ליצור מפירוק חומר מורכב לחומרים יותר פשוטים בתהליך אנארובי.

ATP-מקור האנרגיה העיקרי:

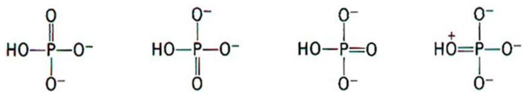
ATP- מטבע האנרגיה הראשי של התא. אדנין וריבוז בסה"כ משמשים כאתר הכרות לאנזימים, והחלק האנרגטי הוא הקשרים בין הפוספאטים- "קשרים עתירי אנרגיה". הידרוליזה של הקשרים משחררת כמות גדולה של "אנרגיה חופשית". $-31 KJ/mol$

אנרגיית ההידרוליזה של ATP ליצירת ADP.



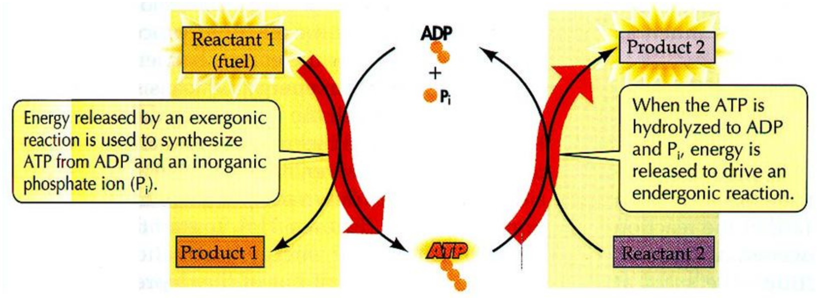


קשר עתיר אנרגיה: קשר אנהידרי- קשר בין שתי חומצות תוך כדי הוצאת מים. הקשר בין שני פוספאטים הוא למעשה קשר בין שתי חומצות פוספוריות. פוספאטים ב-pH ניטראלי הם בעלי מטען שלילי (כלומר, לאחר שחרור של פרוטון). מטען שלילי על שני פוספאטים סמוכים גורם לדחייה אלקטרוסטאטית. בגלל רזוננס יש ייצוב של הקשר ולכן הוא עתיר אנרגיה.



הערה: אם הקשר כל-כך אנרגטי, איך הוא לא עובר הידרוליזה במים? מבחינה תרמודינאמית הוא אמור אך הפירוק שלו מאוד-מאוד איטי. המטענים השליליים מקשים על התקפה נוקליאופילית של המים. בתא ישנם אנזימים המזרזים את תהליך הפירוק הזה או מצמדים אותו לריאקציות אחרות.

תיאור סכמטי של מעגל ה-ATP:



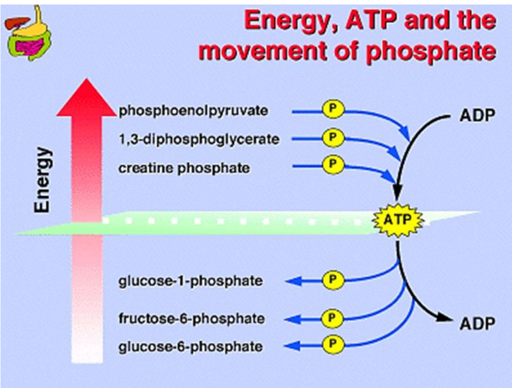
ATP נוצר תוך שימוש בחומרי דלק שעוברים תהליכים ובעזרת האנרגיה שלהם מחברים פוספאט ליצירת ATP.

אנקדוטה: כמות ה-ATP שנוצר ומתפרק ביום היא יותר ממשקל הגוף שלנו.

©ענת עציון

בד"כ משתמשים בהידרוליזה של הקצה הטרמינלי של ה-ADP (מתפרק רק ה-p הטרמינלי). ואם זה לא מספיק, נעשית גם הידרוליזה בין שני הפוספאטים הנותרים. הקשר בין הפוספאט לסוכר הוא קשר אסטרי בעל אנרגיה פחותה.

במהלך תהליכים נוצרים חומרים המכילים פוספאט הקשור בקשר עוד יותר אנרגטי מפוספאט 3) החומרים העליונים). חומרים אלה מתקבלים במטבוליזם. ומצד שני ATP משמש ליצירת חומרי-ביניים עם קשר פוספואסטרי 3) החומרים התחתונים).



תרמודינאמיקה כימית:

תרמודינאמיקה כימית עוסקת בקביעת הכיוון של תהליכים כימיים וכן מצב שיווי המשקל.
__האנרגיה החופשית G:__ אנרגיה כימית שניתן לנצל לדחיפת תהליכים בתא. אנרגיה שהיא פנויה לשימוש. זה פקטור של מרחק הריאקציה מש"מ. $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$
ריאקציות נוטות להתרחש כאשר $\Delta G < 0$, ככל שהריאקציה יותר משחררת חום (=אקסרגונית) כך היא יותר נוטה להתרחש.
$\Delta G = 0 \leftrightarrow$ הריאקציה בשיווי-משקל.

$$\Delta G = \Delta G^o + RT\ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

$$aA + bB \rightleftarrows cC + dD$$

__הערה:__ אין אפשרות למדוד את האנתרופיה ולכן מודדים את קבוע ש"מ-k:

Equilibrium constant - K

$$K = \left(\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}\right)_{eq}$$

At equilibrium $\Delta G = 0$

$$0 = \Delta G^o + RT\ln\left(\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}\right)_{eq}$$

$$\Delta G^o = -RT\ln K$$

$$K = e^{-\Delta G^0/RT}$$

__תנאים סטנדרטיים:__ ΔG^0 מוגדר בתנאים סטנדרטיים:

P=1 atm
[מגיבים]=[תוצרים] = 1 M
H_2O=1 (not 18 M)

$$\ln(1) = 0 \rightarrow \Delta G = \Delta G^0$$

__תנאים סטנדרטיים ביולוגיים:__ $\Delta G^{0'}$ מוגדר בתנאים סטנדרטיים ביולוגיים כאשר בנוסף:

T=25°c=298°K
pH=7 , $[H^+]$= 1 (not 10^{-7} M!)

$$\Delta G = \Delta G^o + RT\ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b[H^+]}$$

$$\Delta G = \Delta G^{o'} + RT\ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

__הערה:__ ההגדרות האלה לא משנות את הערך של ΔG כי השינוי בערכו של ΔG^0 מתקזז עם הוצאת ריכוז הפרוטונים מהחישוב.

__הידרוליזת ATP בתא:__ $ATP + H_2O \rightleftarrows ADP + Pi \quad \Delta G^{o'} = -31$ kJ/mole
התאים שומרים רמת ATP גבוהה כדי לספק $\Delta G' = -40\ to\ -50\ kJ/mole$ מהידרוליזת ATP.

דחיפת ריאקציות ע"י ATP:

ריאקציות מצומדות:

ATP דוחף את הריאקציות בתא ע"י ביצוע של ריאקציות מצומדות שבהן ATP יכול לספק אנרגיה לריאקציה אנדרגונית דרך שלב-ביניים.
__דוגמא:__ יצירת קשר אמידי:

$$(1)\ \ RCOOH + ATP \xrightarrow{E1} RCO\text{-}OPi + ADP$$

$$(2)\ \ RCO\text{-}OPi + R\text{-}NH_2 \xrightarrow{E1} RCO\text{-}NHR' + Pi$$

1) אקטיביציה של החומצה הקרבוקסילית ע"י חיבור עם פוספאט מה-ATP. החומר שנוצר הוא אנהידריד ונוצר קשר יותר עתיר אנרגיה מאשר ב-ATP.
2) התוצר מגיב עם האמין ומתקבל קשר אמידי.

©ענת עציון

ריאקציות עוקבות:

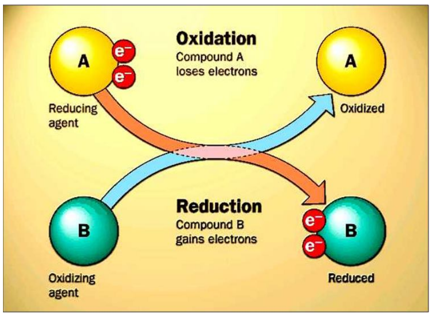
שתי ריאקציות נפרדות המזורזות ע"י שני אנזימים שונים, כאשר התוצאה נטו היא ריאקציה אקסרגונית. שתיהן ביחד מביאות לתוצר שיצירתו בריאקציה ישירה אינה אפשרית.

$$A \underset{}{\overset{E1}{\rightleftharpoons}} B \qquad \Delta G^{o'} = +10\ kJ/mol$$

$$B \underset{}{\overset{E2}{\rightleftharpoons}} C \qquad \Delta G^{o'} = -30\ kJ/mol$$

$$A \rightleftharpoons C \qquad \Delta G^{o'} = -20\ kJ/mol$$

תהליכי חמצון-חיזור:



בתהליכים אלה נוצר קשר כימי בין יסוד אלקטרושלילי (מחמצן) ליסוד אלקטרוחיובי (מחזר).
תהליכים אלה הם אקסרגוניים במיוחד עקב הנטייה של המשתתפים למסור או לקבל אלקטרונים.
בתא, החמצן האטמוספרי מוסר אלקטרונים לסובסטראטים בעלי מימנים אך בדרך-כלל התהליך אינו ישיר והוא מתווך ע"י נשאי אלקטרונים שונים.

חמצון גלוקוז: $C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O$

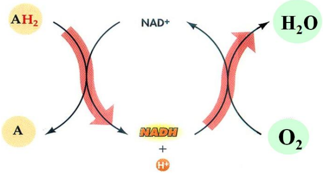
$$\Delta G^{0'} = -2930\,kJ/mol$$

ואת האנרגיה הזו מנצלים ליצירת ATP:

$$30\,ADP + 30\,P_i \longrightarrow 30\,ATP \qquad \Delta G^{o'} = +900\ kJ/mol$$

הניצולת האנרגטית היא כ-30% בתנאים סטנדרטיים וכ-40% בתנאי התא, שזו ניצולת יחסית טובה.

NAD/NADH: משמשים כמתווכים, כנשאי אלקטרונים. NAD^+ לוקח אלקטרון מסובסטראט מחוזר והופך ל- $NADH$, ואז האלקטרון מועבר ממנו ל- O_2 ומקבלים מים ומחוזר ל- NAD^+. זהו מעגל קטליטי.

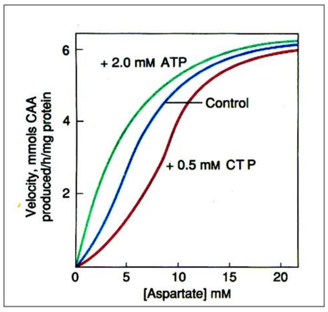


בקרה מטבולית:

נועדה לשמור על האיזון בין הריאקציות בתא. ככלל, הפעילות של מסלולים שמייצרים אנרגיה נמצאת ביחס הפוך לרמת האנרגיה בתא ואילו מסלולים ביוסינתטיים (שבונים חומרים) דווקא מעוכבים ע"י התוצרים וע"י מצב אנרגיה נמוך.
הקיום של מסלולים מפשט את הבקרה שכן ניתן לשנות את הפעילות של כל הריאקציות במסלול ע"י בקרה בנקודות הכניסה. ריאקציות הנתונות לבקרה הן בדרך-כלל חד-כיווניות, ייחודיות למסלול וקרובות לתחילתו.

בקרה אלוסטרית:

בקרה על אנזים מחוץ לאתר הפעיל שלו. בנויה על קיום של לפחות שתי קונפורמציות בחלבון שאחת מהן מיוצבת ע"י קישור של ליגנד לאתר האלוסטרי.
אנזימים אלוסטריים בנויים בדרך-כלל ממספר תת-יחידות הערוכות בצורה סימטרית. הדבר מוסיף את אלמנט הקואופרטיביות, מה שמאפשר תגובה חדה לשינוי בריכוז הסובסטראט והרגולטורים.



<u>דוגמא:</u> **אנזים הקשור בסינתזה של פירימידינים**, יש לו עקום סיגמו-אידאלי מתון יחסית, יש לו קואופרטיביות מתונה.
כאשר התוצר פירימידין (CTP) נקשר הוא מגביר את הקואופרטיביות ובכך גורם לעיכוב. וכאשר ATP (שהוא פורין) נקשר, הוא מחליש את הקואופרטיביות ובכך מגביר את פעילות האנזים.

<u>R-</u> המצב הפעיל יותר שמנראה קינטיקת מיכאליס-מנטן.
<u>T-</u> המצב הפחות פעיל, מראה יותר קואופרטיביות.

קופקטורים, קואנזימים וויטמינים:

<u>קופקטור:</u> חומר אי-אורגני, בדרך-כלל יון מתכת.
<u>קואנזים:</u> חומר אורגני הדרוש לריאקציות של אנזימים (למשל NAD^+ ו-FAD).
<u>הערה:</u> רוב הקואנזימים הם נגזרות של ויטמין, חומר שיצור מסוים חייב לקבל במזון בכמות קטנה.

©ענת עציון

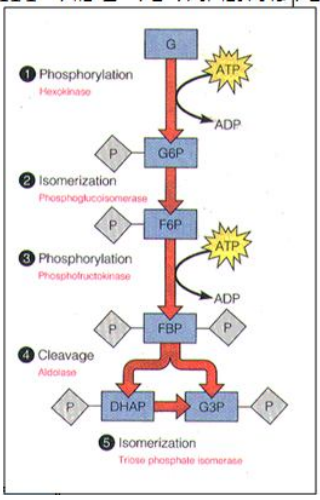
מסלול הגליקוליזה

הגליקוליזה- באופן כללי:

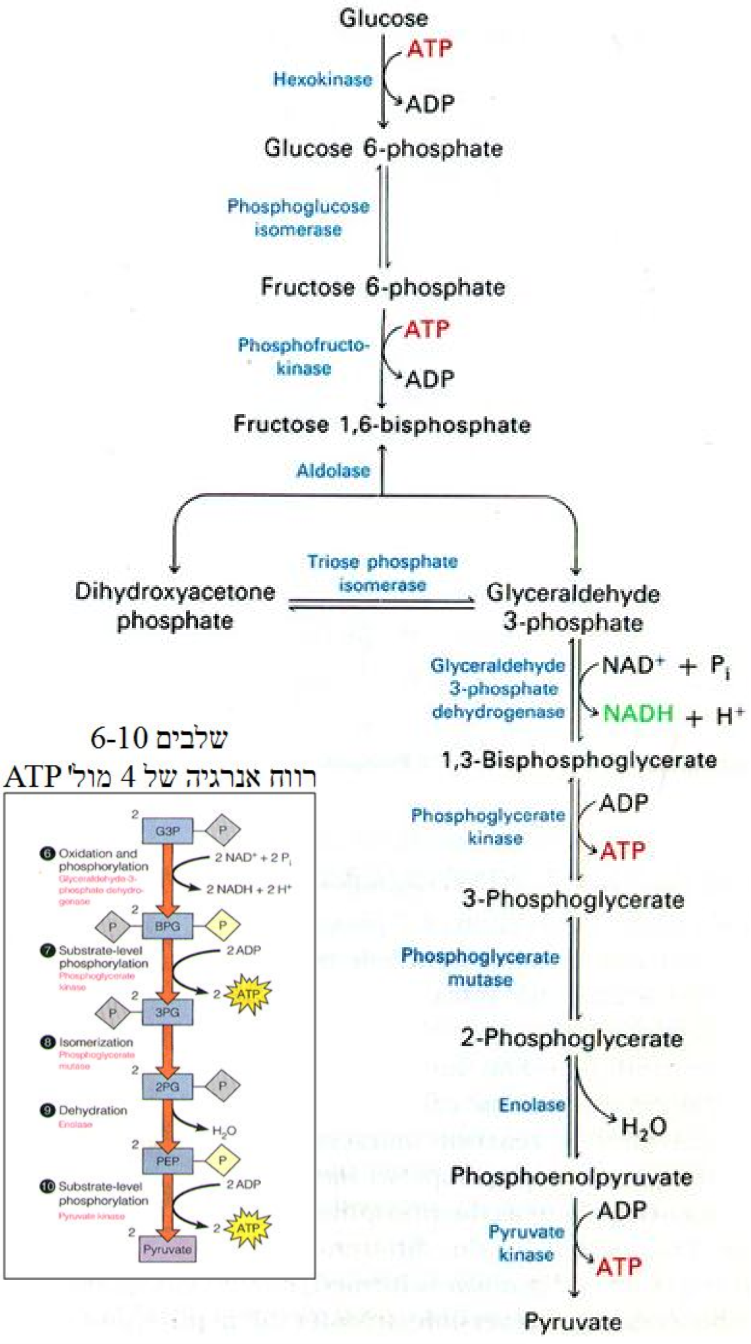
- הסוכרים הם חלק חשוב במטבוליזם. הגליקוליזה היא המסלול היחיד בתא המאפשר הפקת אנרגיה גם בתנאים אנאירוביים. הגליקוליזה מתרחשת בכל היצורים בציטופלזמת התא.
- ביצורים אנאירוביים זהו המסלול העיקרי לייצור אנרגיה, וביצורים אירוביים יש ניצול של הפירובט ליצירת עוד אנרגיה.
- הגליקוליזה הינה תהליך של 10 שלבים שבהם מולקולת סוכר 6-פחמני הופכת ל-2 מולקולות 3 פחמניות-פירובט ומשתחררת אנרגיה פוטנציאלית האגורה במבנה ה-6 פחמני ומנוצלת ליצירת ATP ו-NADH.
- במהלך הגליקוליזה נצרכות שתי מולקולות ATP ומיוצרות 4 מולקולות ולכן הרווח האנרגטי לתא הוא 2 מולקולות ATP.

תרשים כללי של הגליקוליזה:

שלבים 1-5
השקעת אנרגיה של 2 מול' ATP



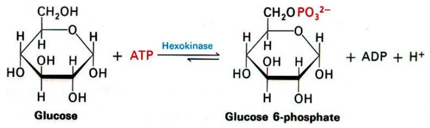
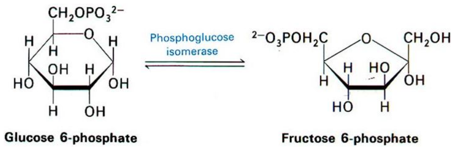
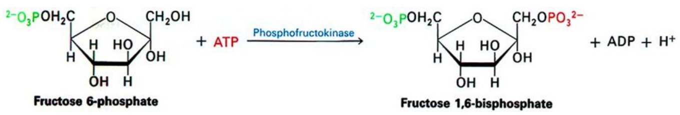
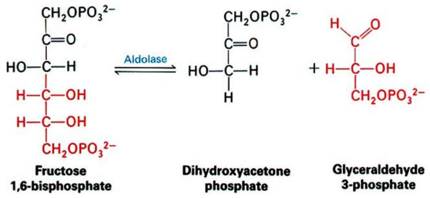
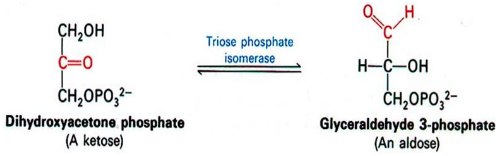
שלבים 6-10
רווח אנרגיה של 4 מול' ATP



©ענת עציון

פירוט שלבי הגליקוליזה:

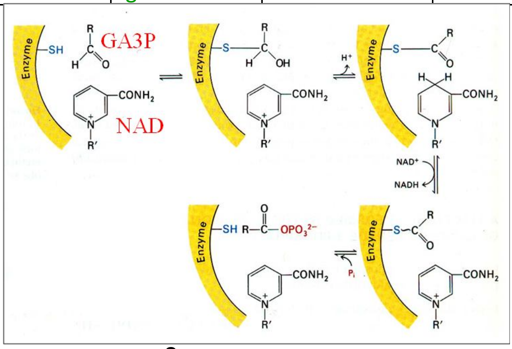
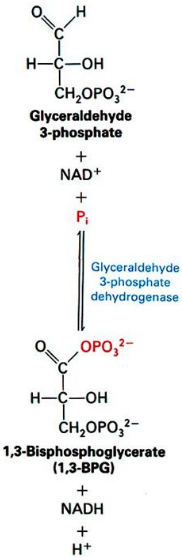
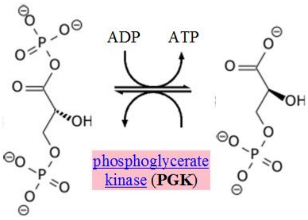
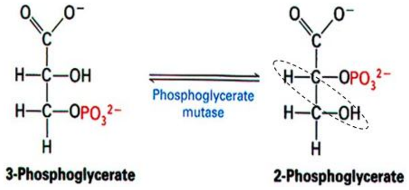
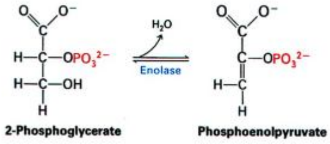
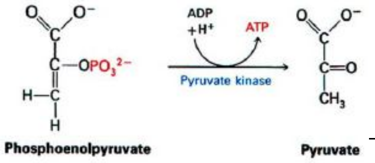
שלבי השקעת האנרגיה:

No	שם	פירוט	אנזים	תוצר	הפיכה	ATP	הערות
1	פוספורילציה של גלוקוז $G \to G6P$	העברת פוספאט מATP לגלוקוז	Hexokinase	G6P – Glucose 6 Phosphate  	לא	צריכת 1 ATP	1.G6P בגלל הוספת הפוספאט, לא יכול לצאת מהתא בגלל שלחומר עם הפוספאט השלילי קשה לעבור את הממברנה. 2. זו לא ריאקציה מצומדת, אין כאן פירוק של ATP.
2	איזומריזציה של G6P $G6P \to F6P$	מעבר בין צורת האלדוז לצורת הקטוז.	Phospho-glucose isomerase	F6P – Fructose 6 Phosphate  	כן	-	1. גלוקוז- אלדהיד, הופך לפרוקטוז שהוא קטון. 2. לסוכרים יש % קטן של הצורה הפתוחה בש"מ ואנזימים משתמשים תמיד בה עבור ריאקציות.
3	זרחון נוסף של פרוקטוז $F6P \to FBP$	העברת פוספאט מATP לפרוקטוז	Phospho-fructokinase (PFK-1)	FBP – Fructose 1,6-Biphosphate  	לא- נקודת אל-חזור	צריכת 1 ATP	1. זו ריאקציה ייחודית למסלול הגליקוליזה שהתוצר שלה לא שייך לאף מסלול אחר וכל ייעודו הוא המשך הגליקוליזה. 2. התוצר בריאקציה הוא חומר די סימטרי, וזה חשוב לשלב הבא שבו הוא ייחצה לשניים.
4	ביקוע הסוכר ל-3 טריוזות $FBP \to G3P + DHAP$	ביקוע הסוכר ל-G3P שימשיך ישר הגליקוליזה ו-DHAP שיעבור איזומריזציה ל-G3P בטרם ימשיך.	Aldolase	DHAP- Dihydroxy-acetone phosphate G3P- Glycer-aldehyde 3 phosphate  	כן	-	1. הריאקציה הזו היא למעשה היפוך של דחיסה אלדולית (דחיסת אלדהיד וקטון נותנת FBP). 2. לריאקציה הזו יש ΔG מאוד-מאוד חיובי, והכוח המניע אותה הוא ריאקציות עוקבות שיש להן ΔG מאוד שלילי.
5	איזומריזציה של DHAP $DHAP \to G3P$	הפיכת DHAP ל- G3P	Triose phosphate isomerase	G3P- Glycer-aldehyde 3 phosphate  	כן	-	מה שנותן את האנרגיה לתגובה זה החמצון מאלדהיד לחומצה קרבוקסילית המנוצל ליצירת קשר עתיר אנרגיה: קשר אציל פוספאט.

©ענת עציון

שלבי יצירת האנרגיה:

(שלבים אלה מתרחשים פעמיים כי קיבלנו 2 מולקולות G3P)

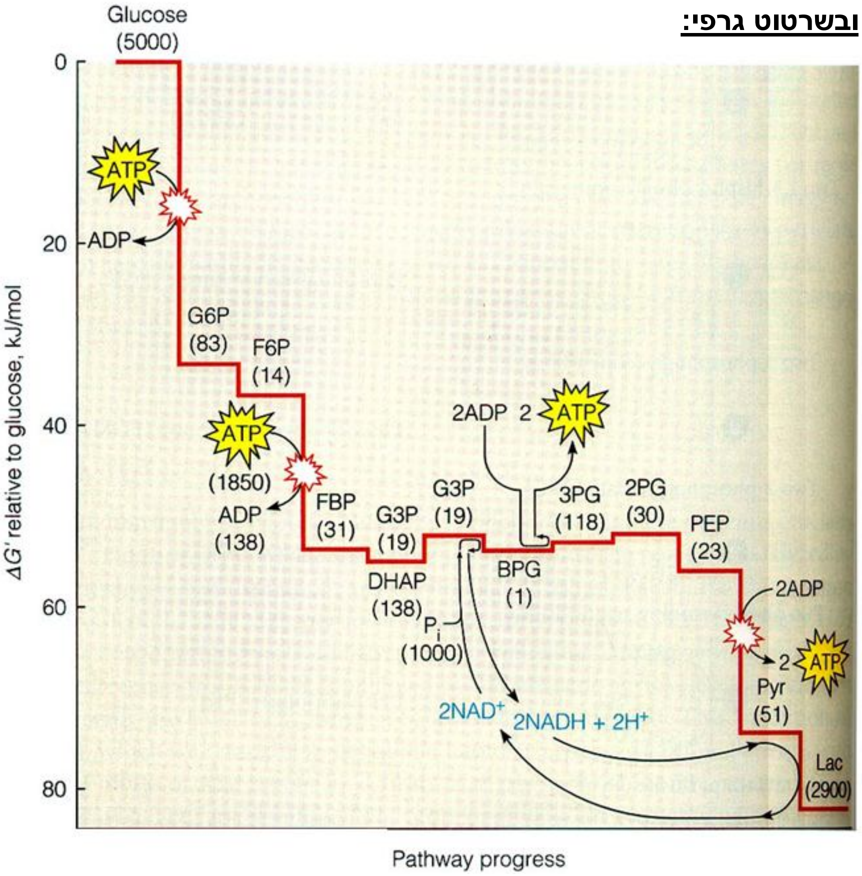
No	שם	פירוט	אנזים	תוצר	הפיכה	ATP	הערות
6	חמצון פוספורילציה של G3P	עובר זרחון ללא השקעת ATP ע"י פוספאט הזמין בתא.	Glycer-aldehyde 3 phosphate dehydro-genase	BPG- 1,3-Bisphospho-glycerate	כן	-	1. אחת הריאקציות הבודדות שמכניסות פוספאט אי-אורגני לתוך מולקולה אורגנית. 2. האנזים מבצע חמצון תוך שימוש ב-NAD^+ כקופקטור. 3. במהלך החמצון נוצר קשר טיו-אסטרי, קשר עתיר אנרגיה (הקשר בין הפחמן ל-S שבאתר הקשירה של האנזים). 4. סכום ΔG של שתי הריאקציות הוא מעט חיובי. 5. תוצר התגובה הוא מולקולה עתירת אנרגיה פוטנציאלית שכן היא מכילה שני פוספאטים.
			 לאנזים יש מנגנון שבעזרתו הוא מצמד את 2 הריאקציות. יש בו שני אתרי קשירה ל-NAD^+ ואתר עם SH לקשירת הסובסטראט. בקשר קוולנטי. ה-+NAD מחמצן את האלדהיד כשהוא קשור לאנזים ואז הוא הופך ל-NADH ומתנתק מהאנזים ובאלדהיד נוצר קשר עתיר אנרגיה שבשלב האחרון מוחלף בפוספאט מהתמיסה.				
7	דה-פוספורילציה ליצירת ATP	BPG מעביר פוספאט אחד לADP ליצירת ATP	Phospho-glycerate kinase	3-PG – 3 Phospho-glycerate	כן	ייצור 1 ATP (2×).	1. ריאקציה עם ΔG סטנדרטי שלילי. 2. 1.3-BPG הוא חומר בעל אנרגיה גבוהה יותר מ-ATP ולכן הריאקציה נוטה להתרחש ליצירת ATP, חומר יציב יותר. 3. בשלב זה בגליקוליזה קבלנו בחזרה את כמות ה-ATP שהושקעה: 2 מולקולות.
							
8	איזומריזציה של 3-PG	העברת פוספאט מעמדה '3 לעמדה '2	Phospho-glycerate mutase	2-PG- 2 Phospho-glycerate	כן	-	1. mutase הוא אנזים שמעביר פוספאט מקבוצת OH אחת לאחרת. 2. פוספאט מועבר לעמדה '2 כהכנה לקונפורמצייה של enol בשלב הבא. 3. בפועל פוספאט המצוי באנזים מתחבר לעמדה '2 והאנזים מקבל פוספאט חזרה מעמדה '3.
							
9	הוצאת מים מ-2-PG		enolase	PEP-Phosphoenol-pyruvate	כן	-	PEP זוהי הצורה האנרגטית הגבוהה ביותר של חומר הקיימת בטבע.
							
10	שבירת קשר עתיר אנרגיה		Pyruvate Kinase	Pyruvate + ATP	לא	ייצור 1 ATP (2×)	1. הריאקציה מתרחשת פעמיים ולכן בשלב זה נוצרות 2 מולקולות ATP, וזהו הרווח האנרגטי נטו בגילקוליזה. 2. הריאקציה מאוד אקסרגונית ולכן לא הפיכה
							

©ענת עציון

אנרגיה חופשית בריאקציות הגליקוליזה:

Change in free energy for each step of glycolysis			
Step	Reaction	ΔG°' (kJ/mol)	ΔG' (kJ/mol)
1	glucose + ATP^{4-} → glucose-6-$phosphate^{2-}$ + ADP^{3-} + H^+	-16.7	-34
2	glucose-6-$phosphate^{2-}$ → fructose-6-$phosphate^{2-}$	1.67	-2.9
3	fructose-6-$phosphate^{2-}$ + ATP^{4-} → fructose-1,6-$bisphosphate^{4-}$ + ADP^{3-} + H^+	-14.2	-19
4	fructose-1,6-$bisphosphate^{4-}$ → dihydroxyacetone $phosphate^{2-}$ + glyceraldehyde-3-$phosphate^{2-}$	23.9	-0.23
5	dihydroxyacetone $phosphate^{2-}$ → glyceraldehyde-3-$phosphate^{2-}$	7.56	2.4
6	glyceraldehyde-3-$phosphate^{2-}$ + P_i^{2-} + NAD^+ → 1,3-$bisphosphoglycerate^{4-}$ + NADH + H^+	6.30	-1.29
7	1,3-$bisphosphoglycerate^{4-}$ + ADP^{3-} → 3-$phosphoglycerate^{3-}$ + ATP^{4-}	-18.9	0.09
8	3-$phosphoglycerate^{3-}$ → 2-$phosphoglycerate^{3-}$	4.4	0.83
9	2-$phosphoglycerate^{3-}$ → $phosphoenolpyruvate^{3-}$ + H_2O	1.8	1.1
10	$phosphoenolpyruvate^{3-}$ + ADP^{3-} + H^+ → $pyruvate^-$ + ATP^{4-}	-31.7	-23.0

ובשרטוט גרפי:

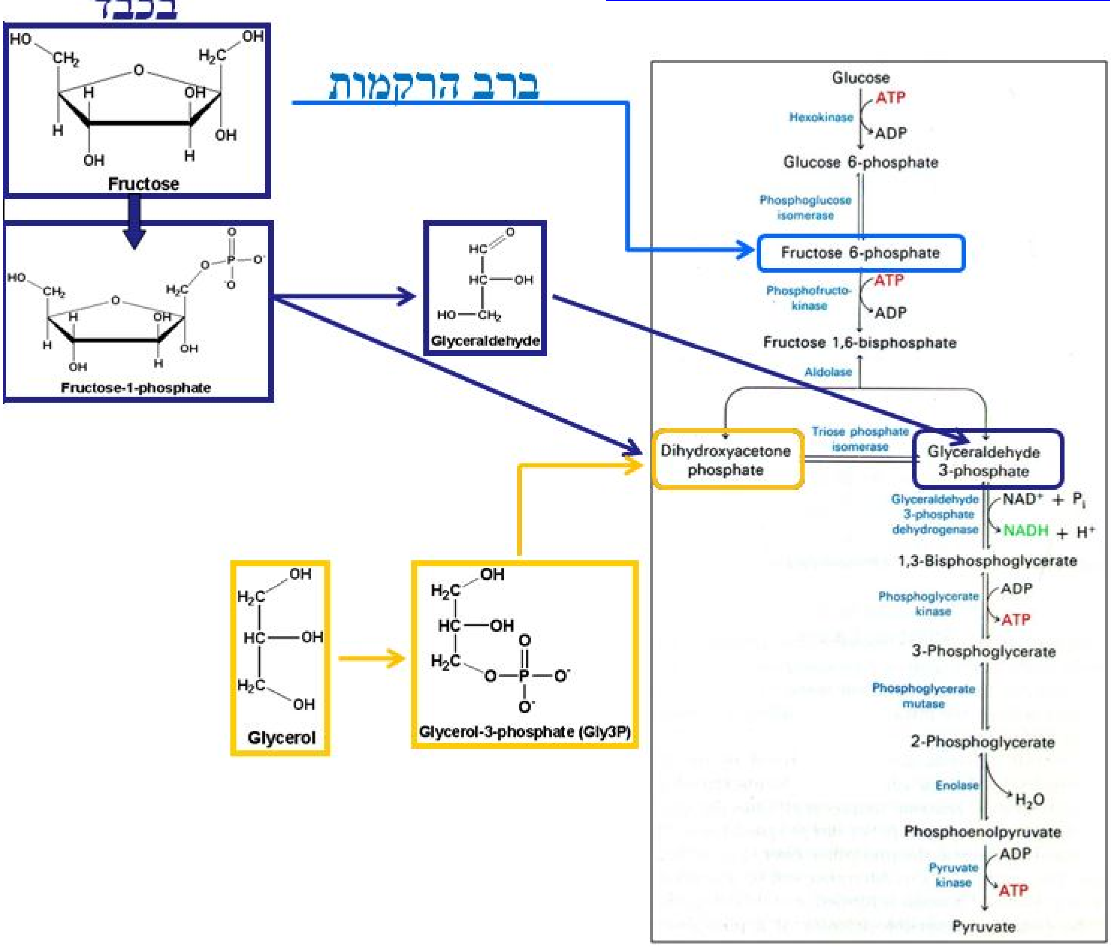


הערה: ישנן רק כמה ריאקציות שבהן ה-ΔG מאוד שלילי. יש אפילו כמה ריאקציות שיש להן בכיכול $\Delta G'$ חיובי, אבל $\Delta G'$ צריך להיות תמיד שלילי ונראה שהסטייה כאן נובעת ממדידות לא מדוייקות.

$$Glucose + 2ADP + 2Pi + 2NAD^+ \rightarrow 2Pyruvate + 2ATP + 2NADH + 2H^+ + 2H_2O$$

©ענת עציון

<u>כניסת חומרים אחרים לגליקוליזה:</u>

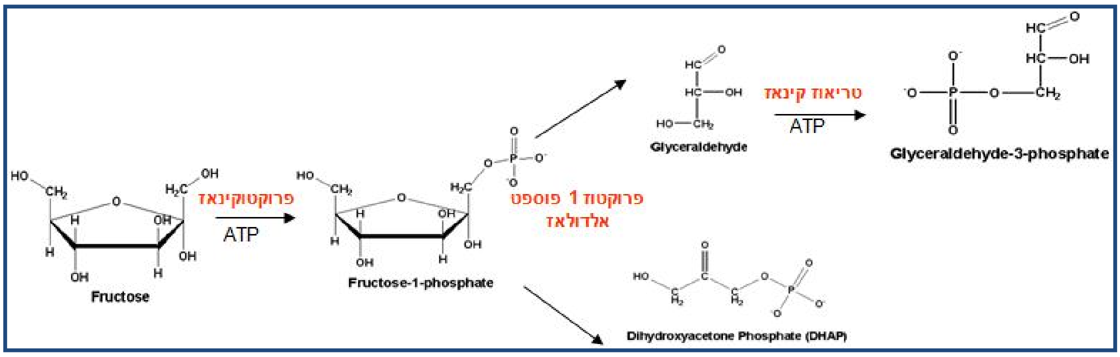


<u>מסלול הפרוקטוז בכבד:</u>

בכבד יש מסלול מיוחד לפרוקטוז:

1. פרוקטוז עובר זרחון ע"י אנזים ייחודי לכבד: fructokinase תוך השקעת ATP.
2. ביקוע אלדולי לקבלת: **DHAP** + Glyceraldehyde.
3. הפיכת ה-Glyceraldehyde ל-**G3P** תוך השקעת ATP.

מכאן DHAP ו-G3P ימשיכו בשלבים הרגילים של הגליקוליזה.



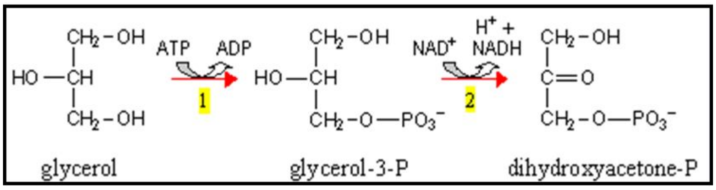
<u>הערות:</u>

- נבחין כי גם בתהליך הראשוני עבור מולקולת פרוקטוז הושקעו 2 מולקולות ATP ולכן התהליך זהה מבחינת השקעה אנרגטית לפירוקו של גלוקוז.
- <u>**ברקמות אחרות:**</u> ברובן יש פוספורילציה של פרוקטוז ליצרת F6P שנכנס הגליקוליזה לריאקציה השלישית.

©ענת עציון

מסלול הגליצרול:

גליצרול מגיע מחומצות שומן. עיכול של שומן (טריאצילגליצרול) יוצר גליצרול. בכבד נעשה הפירוק של חומצות השומן:



נוצר DHAP שנכנס לגליקוליזה.
על כל גליצרול שנכנס משקיעים מולקולה אחת של ATP ואח"כ מרוויחים 2 מולקולות.
NAD^+: יש צריכה של 2 NAD^+ אבל מחזור של אחד בלבד (לכן בתנאים אנאירוביים בשלב מסוים ייגמר ה-NAD^+ הגליקוליזה תופסק).

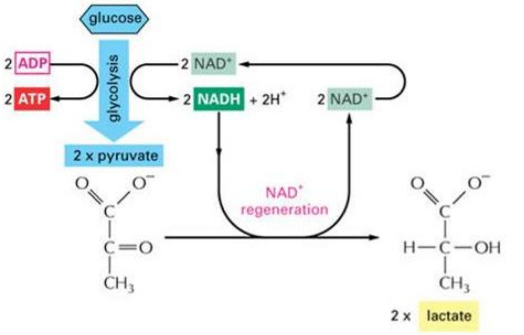
המשך הגליקוליזה בתנאים אנאירוביים:

יצירת לקטאט:

ברוב היצורים (וגם באדם) הגליקוליזה מסתיימת ביצירת לקטאט. הלקטאט הוא חומר שהגוף שלנו לא מסוגל לפרק. במצב של מאמץ יש יציאה שלו דרך הזיעה. יצירה שלו באדם קורית כי ישנם מקומות כמו בשרירים במצב של מאמץ שבהם יש סביבה אנאירובית ואז נוצר לקטאט. והלקטאט עובר מהם לכבד, הוא חוזר לסביבה אירובית, הופך בחזרה לפירובט ואז הוא כן ניתן לניצול.

Lactate dehydrogenase

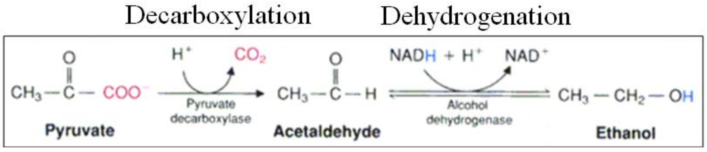
$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons \text{Lactate} + \text{NAD}^+$$



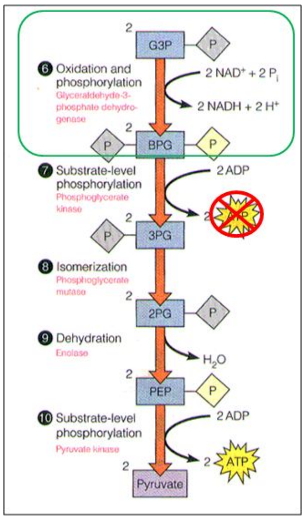
הערות:
- כמות ה-NADH שנוצרת בגליקוליזה ממוחזרת במלואה ל-NAD^+.
- גם כשלשריר יש מספיק חמצן הוא עדיין יוצר חומצה לקטית.
- ישנם חיידקים שיוצרים חומצה לקטית מהחלב וזהו למעשה חלב שמחמיץ ומתקלקל.

תסיסה כהלית:

ביצורים אחרים נוח יותר ליצור אתאנול שישר מתנדף לסביבה והוא חומר יותר קטן מלקטאט.
גם כאן קיים מחזור של NAD^+.



$$\text{Glucose} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} + 2H^+ \longrightarrow 2\ \text{Ethanol} + 2CO_2 + 2\text{ATP} + 2H_2O$$



קביעת פעילות הגליקוליזה: NADH, כתוצר-ביניים של הגליקוליזה, משמש כמדד לפעילות המסלול כולו. את ריכוז ה-NADH מודדים בשיטות ספקטרופוטומטריות לפי הנוסחא:

$$C = \frac{OD}{\varepsilon \cdot l}$$

C- ריכוז NADH, OD- ערך הבליעה, ε-קבוע שמאפיין את החומר, l-רוחב תא המדידה- $1\ cm$.

ארסנט: As- יסוד אנלוגי ל-Pi. As יכול להחליף את הפוספאט כסובסטראט של האנזים G3PDH. כתוצאה מכך הגליקוליזה ממשיכה אך ללא רווח אנרגטי, כי בשלב יציאת ה-Arsen אין יצירת ATP.

$$\text{Glucose} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} + 2\text{NAD}^+ \longrightarrow 2\text{Pyruvat} + 2\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2H^+ + 2H_2O$$

©ענת עציון

הבקרה על מסלול הגליקוליזה

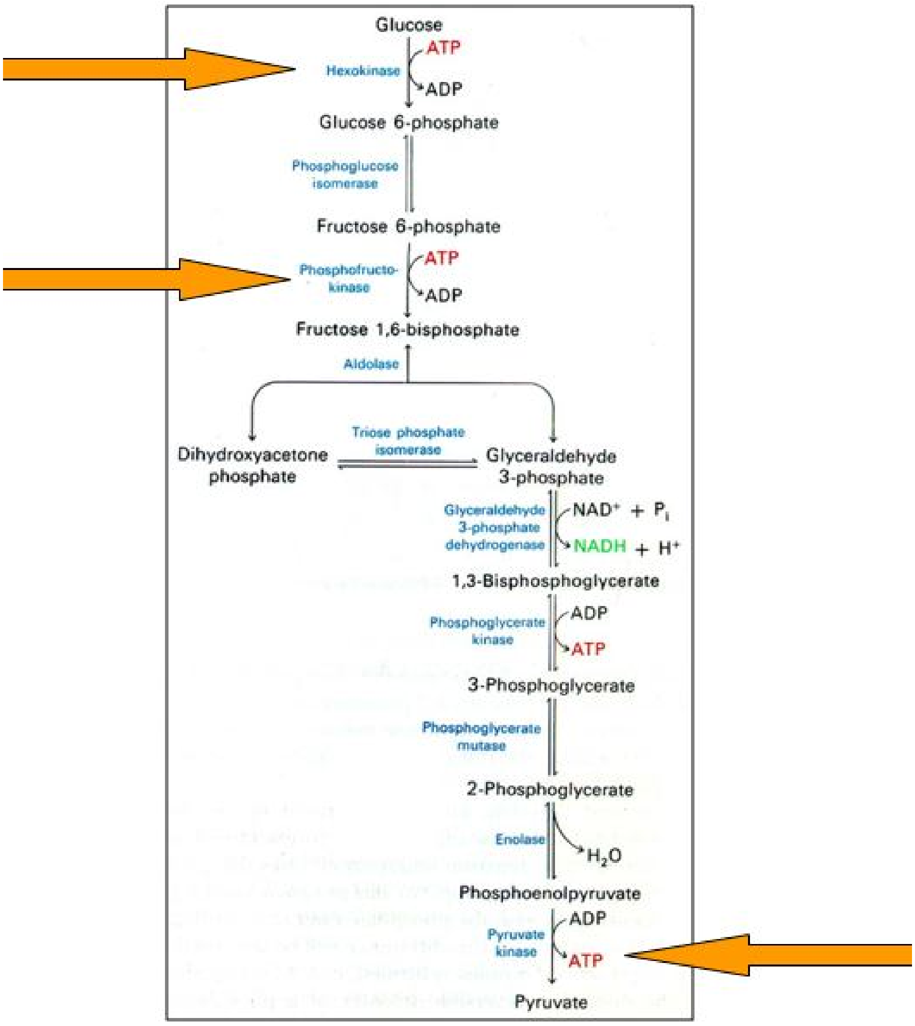
מדוע דרושה בקרה על המסלול?

- צריך לבקר את תהליך הגליקוליזה כדי למנוע ייצור אנרגיה שלא לצורך.
- יש קישור בין הגליקוליזה למסלולים אחרים בגוף וצריכה להיות התאמה לצרכיהם.
- התנאים שהגוף נמצא בהם משתנים כל-הזמן ונדרשת התאמה של המסלול.

האנזימים שיהיו תחת בקרה:

- אנזימים הקרובים לתחילת המסלול.
- אנזימים ייחודיים למסלול.
- אנזימים המשתתפים בתגובות לא הפיכות.

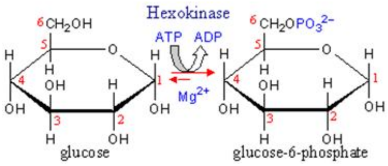
הבקרה מתבצעת ב-3 נקודות במסלול:



<u>הערה:</u> אלה הן תגובות מאוד אקסרגונית ולכן, מתייחסים אליהן כבלתי הפיכות.

©ענת עציון

נקודת בקרה ראשונה- פוספורילציה של גלוקוז:



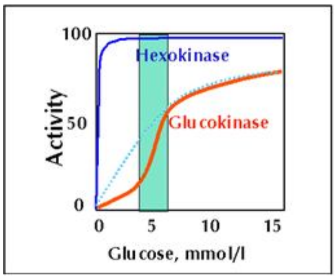
בקרה ברקמות הגוף:

האנזים Hexokinase:

- ספציפיות רחבה לסוכרים.
- Km נמוך (כלומר, אפיניות גבוהה), מנצל גלוקוז כבר בריכוזים נמוכים.

מעוכב ע"י: G6P, התוצר בתגובה. זוהי בקרה אלוסטרית באתר נוסף באנזים. קשירת G6P משנה את אפיניות האנזים אל הגלוקוז.

בקרה בכבד:



הכבד הוא האיבר שאמור להתמודד עם ריכוזי גלוקוז גבוהים בדם. ולכן בכבד מלבד ה- Hexokinase יש אנזים נוסף: **Glucokinase:**

- בעל ספציפיות גבוהה לגלוקוז.
- אפיניות נמוכה לגלוקוז, מתחיל לפעול רק בריכוזי גלוקוז גבוהים.
- לא מעוכב ע"י תוצר התגובה- G6P.

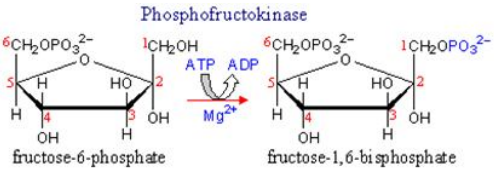
זהו הפיתרון של הכבד לטיפול בריכוזים גבוהים של גלוקוז, למרות העיכוב הרגיל שיש על המסלול. אנזים מיוחד שיכול להגיב לריכוזי גלוקוז משתנים ולהשתנות בהתאם.

נקודת בקרה שנייה- פוספורילציה של F6P:

זוהי הבקרה הראשית בגליקוליזה.

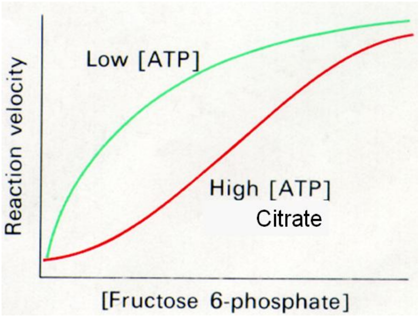
בקרה ברקמות הגוף:

האנזים PFK1:



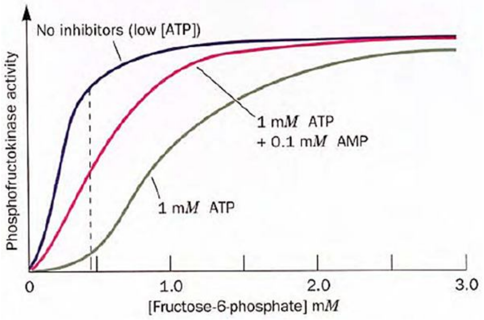
- אנזים ייחודי למסלול הגליקוליזה.
- רגיש למצב האנרגטי בתא ולחומרי-ביניים שונים.
- קומפלקס חלבוני גדול המורכב מכמה תת-יחידות.

מעוכב ע"י:



- ATP: משמש בתהליך הן כסובסטראט והן כמעכב. מעכב אלוסטרית בכך שהוא מוריד את האפיניות של האנזים ל-ATP. האנזים מראה עקום סיגמואידאלי.
- Citrate: תוצר הביניים הראשון במעגל קרבס במהלך הנשימה האירובית, וכאשר הוא בעודף, הוא יוצא מהמיטוכונדריה אל הציטוזול ונקשר ל-PFK1 ובכך גורם לעיכובו.

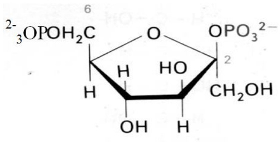
מאוקטב ע"י:



- ADP, AMP: ריכוז גבוה שלהם מצביע על מחסור באנרגיה הזמינה לפעילות. המולקולות נקשרות לאתר רגולטורי באנזים וגורמות לעלייה באפיניות האתר הקטליטי ל-ATP. אפקט זה מסוגל להתגבר על העיכוב ע"י ATP.

  ניתן לראות בגרף כי אפילו ריכוז נמוך של AMP יכול לזרז את הגליקוליזה.

בקרה בכבד:

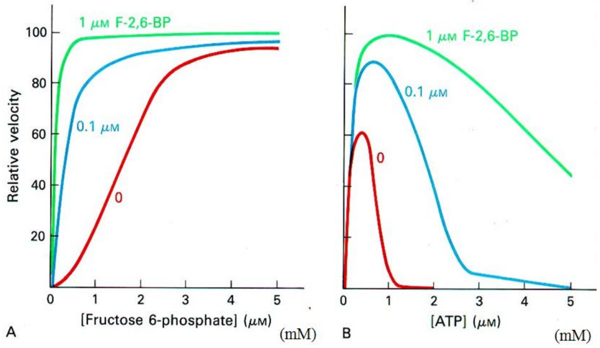

Fructose 2,6-bisphosphate
(F-2,6-BP)

- **Fructose 2,6-bisphosphate:** מטבוליט מיוחד לבקרה של PFK1. חומר זה לא משתתף במסלולים מטבולים. הורמונים משפיעים על רמתו בגוף והוא משפיע על PFK1 ע"י בקרה אלוסטרית.

©ענת עציון

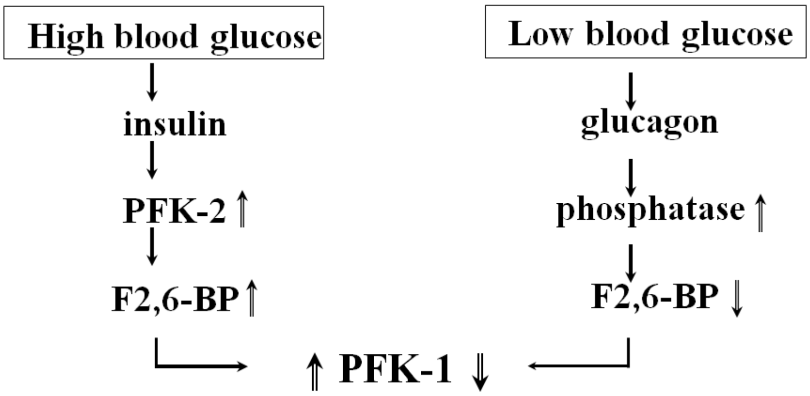
<u>F-2,6-BP פועל ב-2 צורות:</u>

1. מגביר אפיניות של PFK1 ל-F6P.
2. מפחית את ההשפעה המעכבת של ATP על PFK1 (נדרש ריכוז גבוה יותר של ATP לצורך העיכוב).



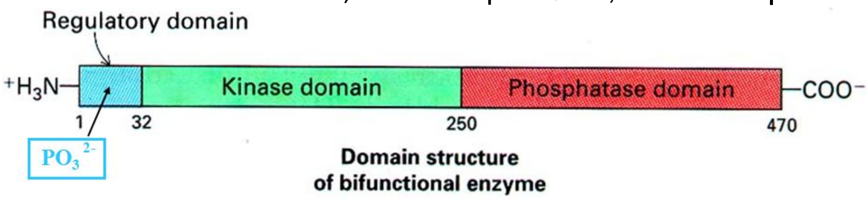
בתרשים מימין ניתן לראות כי כאשר רמת ה-F-2,6-BP גבוהה, ל-ATP יותר קשה לעכב את האנזים.
כמו-כן רואים שבגלל ש-ATP הוא סובסטראט, בהתחלה יש עליה ואח"כ הוא מעכב ואז יש ירידה.

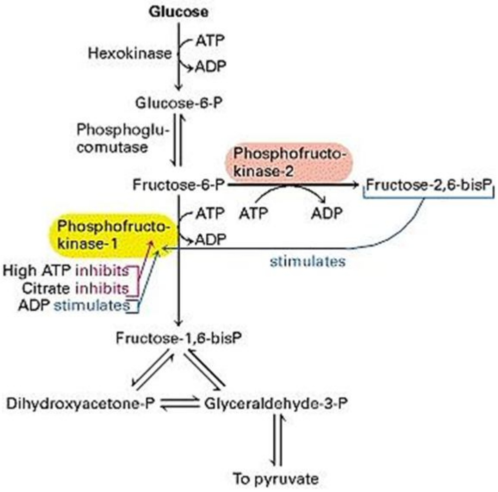
<u>בקרה הורמונאלית על F-2,6-BP:</u>



<u>האנזים PFK2:</u> אנזים בעל שתי פעולות שונות:

1. דומיין קינאז שיודע לזרחן את הפרוקטוז.
2. דומיין של פוספטאז, יודע לפרק את ה-F-2,6-BP.





אנזים זה נחוץ ליצירת החומר F-2,6-BP, אך גם מבקר את פירוקו:

$$\text{Fructose 6-P} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PFK-2}} \text{Fructose 2,6-BP} + \text{ADP}$$

$$\text{Fructose 2,6-BP} + H_2O \xrightarrow{\text{phosphatase}} \text{Fructose 6-P} + \text{Pi}$$

מ-F6P, סובסטראט של PFK1 בגליקוליזה, נוצר F-2,6-BP ע"י PFK2 שמתפקד כקינאז ומזרחן את הפרוקטוז.

<u>ההורמונים אינסולין וגלוקגון:</u> הורמונים פפטידיים שלא נכנסים לתא כדי לפעול, אלא נקשרים מחוץ לתא ע"י חלבון טרנס-ממברנאלי (רצפטור להורמון) ואז חל שינוי קונפורמציה הגורם לשינוי מטבולי בתא.

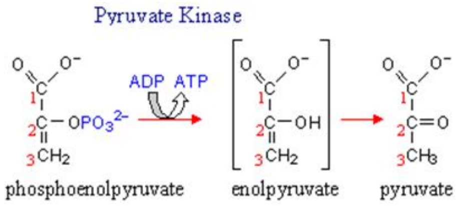
©ענת עציון

<u>אינסולין- זירוז PFK1:</u> רמות גלוקוז גבוהות (למשל אחרי ארוחה) ← תאי β בלבלב מפרישים אינסולין שזורם בדם עד לכבד. נוצר סיגנאל תוך-תאי שמגיע לאנזים PFK2 ← PFK2 לא מזורחן פועל כקינאז ומזרחן את F-2,6-PB שגורם לעלייה ברמתו ולזירוז של PFK1 ← הגברת קצב הגליקוליזה ועלייה בפירוק גלוקוז בתאים (וסינתזת גליקוגן).
אינסולין מזרז כניסה של גלוקוז לרקמות מסוימות ומצד שני הוא גם מזרז את השימוש בגלוקוז.
<u>גלוקגון- עיכוב PFK1:</u> רמות גלוקוז נמוכות גורמות להפרשת גלוקגון ← זרחון של PFK2 שעכשיו פועל כפוספטאז ומפרק את F-2,6-BP ← עיכוב PFK1 ← ירידה בקצב הגליקוליזה וירידה בפירוק גלוקוז בתאים (ועלייה בפירוק גליקוגן).
גלוקגון מזרז יצירה של גלוקוז וגם שחרור שלו ממאגרים פנימיים ומעכב את השימוש בו.

<u>נקודת בקרה שלישית- יצירת פירובט:</u>

מסלול הגליקוליזה הוא בפעילות גבוהה ורוצים שהוא יימשך עד הסוף ולכן יש בקרה גם על הריאקציה האחרונה במסלול.

<u>בקרה ברקמות הגוף:</u>



<u>האנזים Pyruvate kinase</u> **<u>מעוכב ע"י:</u>**

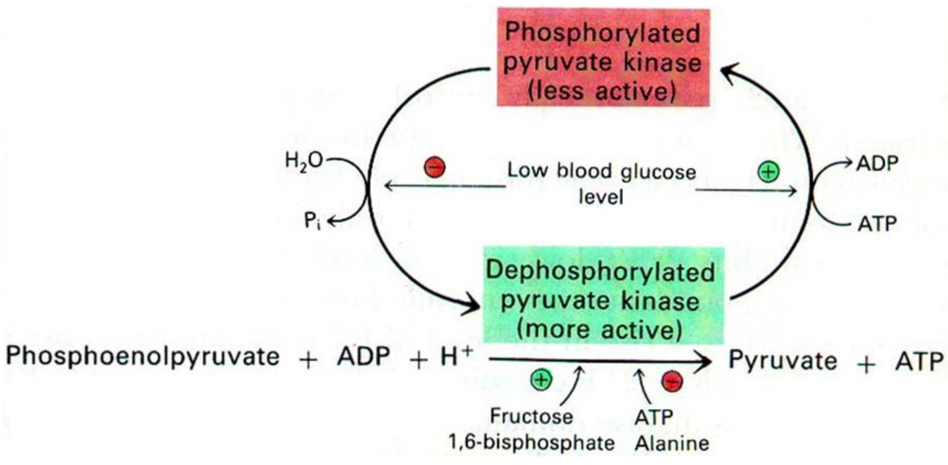
- <u>Acetyl-CoA:</u> זהו אחד מתוצרי הפירובט מתהליך הנשימה וגם תוצר המתקבל מפירוק של חומצות שומן. עודף של חומר זה יאט את תהליך הגליקוליזה.
- <u>ATP:</u> מוריד את אפיניות האנזים לסובסטראט ADP.
- <u>Alanine:</u> בתנאים אנאירוביים, פירובט הופך ללקטט אשר בריכוזים גבוהים הופך לאלאנין ומעכב את האנזים.

<u>מאוקטב ע"י:</u>

- <u>F-1,6-BP:</u> "forward activation"- אם הוא מצטבר, הוא מזרז את המשך המסלול.

<u>בקרה בכבד:</u>

- פוספורילציה של האנזים בהשפעת גלוקגון, מעכבת את האנזים.

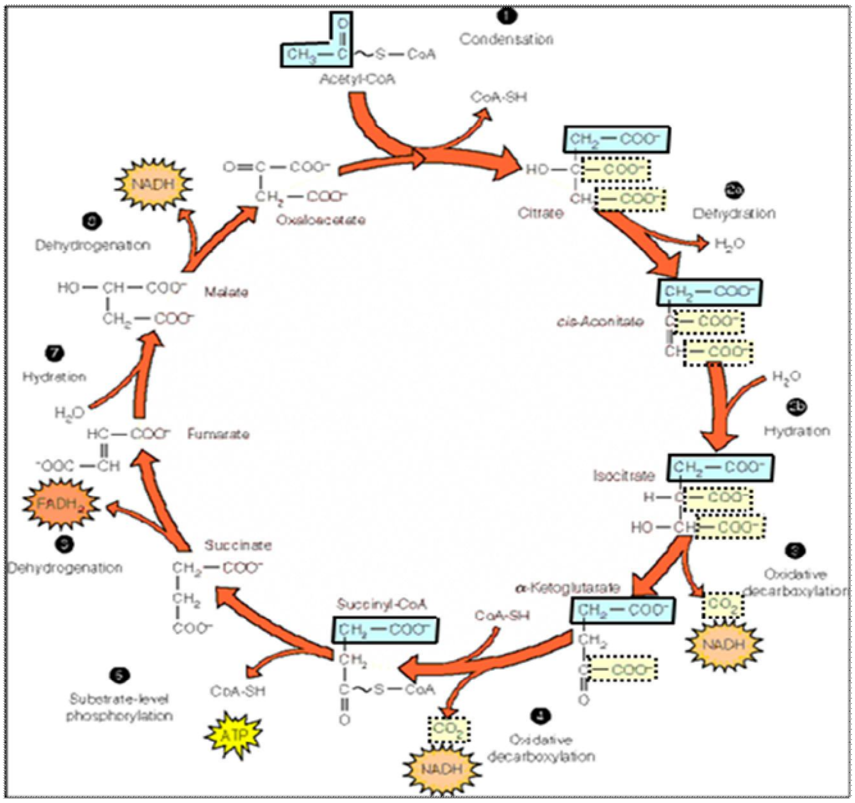


©ענת עציון

מעגל קרבס

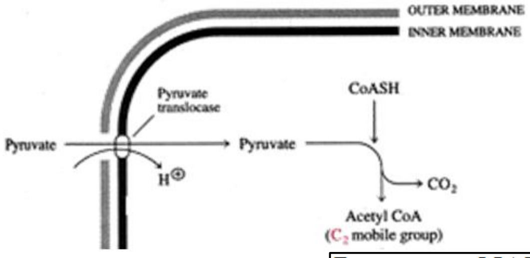
זהו המשך הגליקוליזה בתנאים אירוביים. מעגל קרבס מחמצן שיירי אצטיל חמצון סופי. בתוך המעגל יש חומרים שכל תפקידם הוא קטליטי. המעגל מנקז את כל האלקטרונים של האצטאט בתוך $NADH$ ו- $FADH_2$. מעגל קרבס הוא התחנה הסופית לחמצון והפקת אנרגיה מכל חומרי התא.

הגליקוליזה התרחשה בציטוזול ובמעגל קרבס התהליך עובר אל המטריקס של המיטוכונדריה. כל מעגל קרבס מתרחש שם מלבד ריאקציה אחת יוצאת דופן.



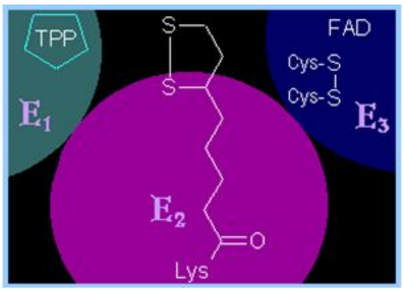
כניסת פירובט למיטוכונדריה:

פירובט נכנס למיטוכונדריה בתהליך אקטיבי ע"י הנשא Pyruvate translocase כאשר כניסתו מלווה בכניסת H^+ אשר מאפשר את הכניסה. ואז מתרחש תהליך חמצון-חיזור עם קואנזים A ו-NAD^+. במהלך הריאקציה, NAD^+ הופך ל-NADH, הקרבוקסיל של הפירובט הופך ל-CO_2 ושייר האצטאט נקשר לקואנזים A.



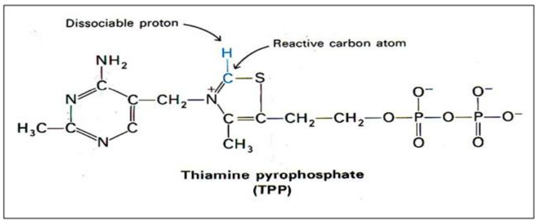
$$\text{Pyruvate} + \text{NAD}^+ + \text{CoenzymeA} \longrightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$$

קומפלקס פירובט דה-הידרוגנז:



קומפלקס של 3 אנזימים הפועלים לניצול אנרגית החמצון של פירובט ליצירת קשר תיו-אסטרי. זוהי סדרת ריאקציות המתבצעות ע"י אנזימים המצויים ביחד בקומפלקס קבוע. כל תוצר עובר מייד לאנזים הבא מבלי להשתחרר לתמיסה- תהליך מאוד יעיל.

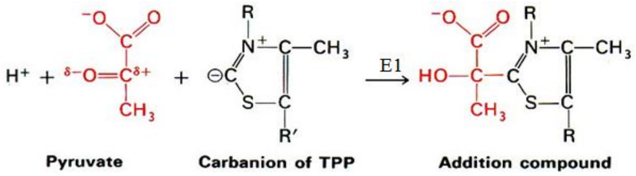
©ענת עציון

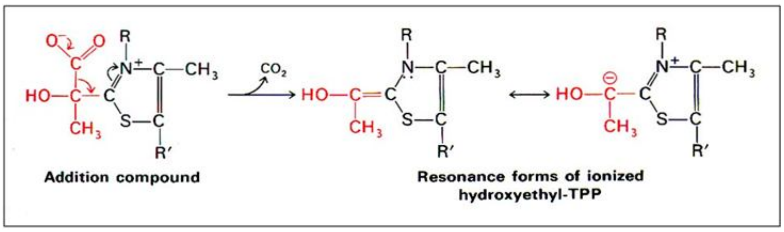


<u>E1- ריאקציית דה-קרבוקסילציה:</u>

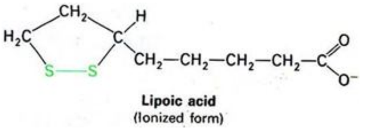
E1 משתמש בקואנזים TPP (אחד מויטמיני B), יש לו הרבה פוספאטים שנועדו לקבע אותו בתוך התא כדי שלא יצא החוצה. האתר הפעיל בויטמין הוא הפחמן שהוא יחסית חומצי ונוטה לאבד פרוטון.

<u>תיאור הריאקציה:</u>

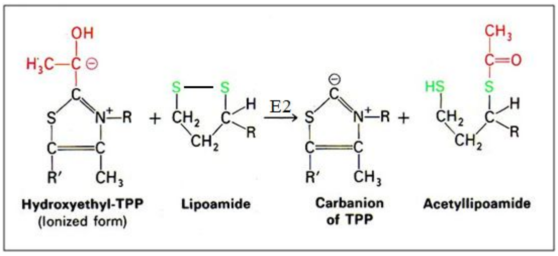




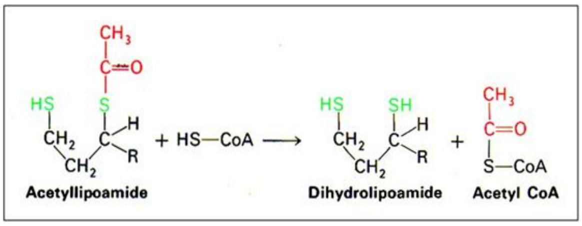
<u>E2- חמצון ויצירת קשר תיו-אסטרי:</u>



תהליך החמצון אינו ישיר. תחילה יש חמצון בעזרת חומצה ליפואית, חומר שיש בו קשר S-S (האתר הפעיל שלה). החומצה קשורה קוולנטית ל-E2 בעזרת קשר אמידי.



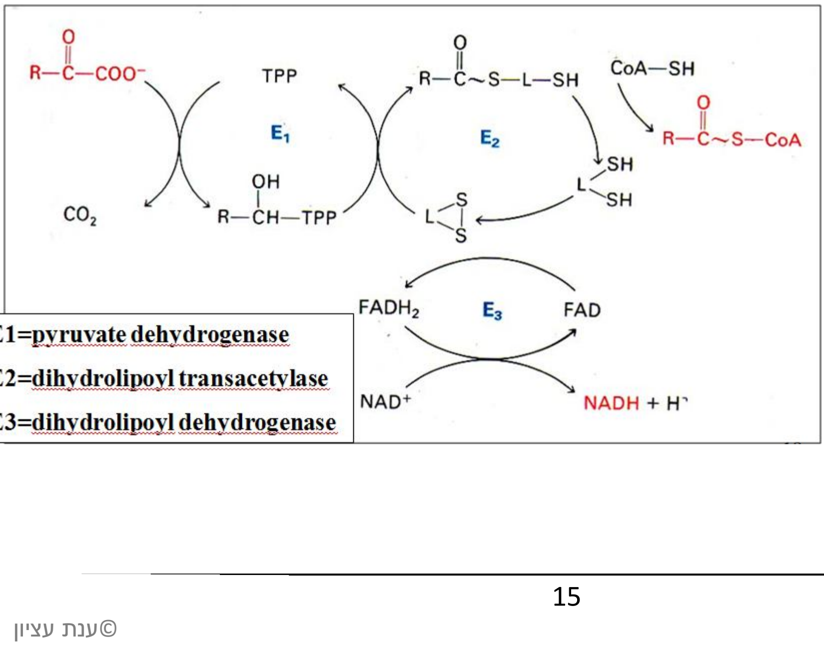
יש כאן צימוד בין חמצון ליצירת קשר תיו-אסטרי



<u>E3- דהידרוגנציה חמצון- העברת האלקטרונים מ-NAD^+:</u>

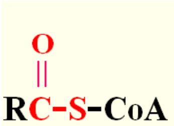
E3 מחמצן בחזרה את החומצה הליפואית לצורתה הראשונית בעזרת FAD שהופך ל-$FADH_2$ והוא עובר מחזור בעזרת NAD^+. אמנם FAD מחמצן חזק יותר אבל במיטוכונדריה NADH עובר ישר לשרשרת מעבר האלקטרונים ומתחמצן ל-NAD^+ ולכן זהו כיוון הריאקציה הרצוי.

FAD קשור באופן קבוע לאנזים (כמעט לא מופיע בצורה חופשית) ולכן יש למחזר אותו על גבי האנזים E3.

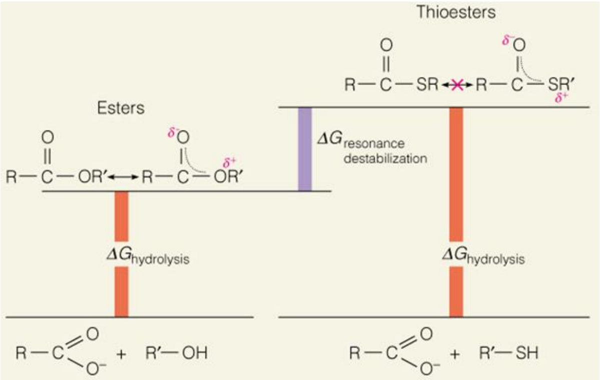


E1=pyruvate dehydrogenase
E2=dihydrolipoyl transacetylase
E3=dihydrolipoyl dehydrogenase

©ענת עציון



קואנזים A: אנזים עם זרוע ארוכה המשמש כנשא של קבוצות אצטאט. האתר הפעיל בריאקציה הוא שייר ה-SH.



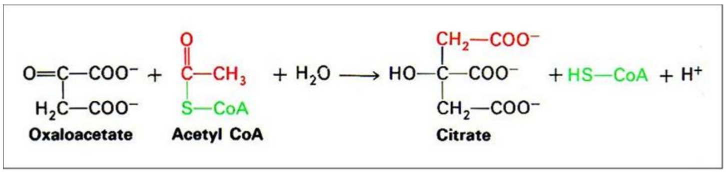
קשר תיו-אסטרי: קשר תיו-אסטרי יותר עתיר אנרגיה מקשר אסטרי רגיל. הסיבה לכך היא שבקשר אסטרי יש ייצוב רזונטיבי די חזק שלא קיים בקשר התיו-אסטרי. גופרית זה אטום מאוד גדול שלא מסוגל ליצור שיתוף באלקטרונים.

אפקט פסטר: עליה ברמות האנרגיה כתוצאה ממעבר מתנאים אנאירוביים לתנאים אירוביים, רמות האנרגיה הגבוהות גורמות לעיכוב הגליקוליזה.

4 התגובות הראשונות לחמצון שני הפחמנים:

1. כניסת Acetyl CoA למעגל:

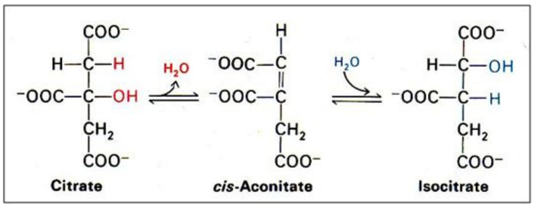
נעשית דחיסה אלדולית בין Acetyl CoA ל-Oxaloacetate. בשלב הראשון ה-Acetyl CoA מתחבר ל-Oaa ע"י ביקוע הקשר התיו-אסטרי ליצירת Citrate- מולקולה בעלת 6 פחמנים. הריאקציה מאוד נוטה



לכיוון התוצרים כי בנוסף לדחיסה מתפרק הקשר התיו-אסטרי וזה משחרר $\Delta G = -32\ Kj/mol$ כמעט כמו ב-ATP. זוהי ריאקציה מאוד אקסרגונית ובלתי הפיכה.

אנזים: Citrate Synthase. אנזים שלא צורך ATP.

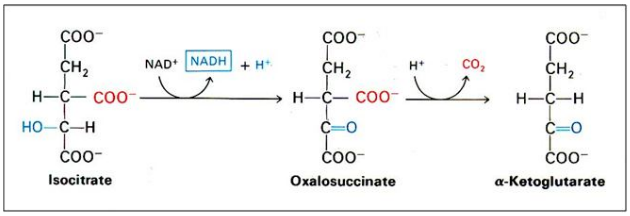
2. citrate הופך ל-Isocitrate:



זוהי תגובת איזומריזציה- נעשה היפוך של H ו-OH. נעשית הוצאת מים וסיפוחם מחדש בצד השני. המטרה בכך היא העברת קבוצת ה-OH אשר מתמירה פחמן 3° (שלא ניתן לחמצן) לפחמן אחר וכך מתקבל פחמן 2° שכן יכול לעבור חמצון.

אנזים: aconitase.

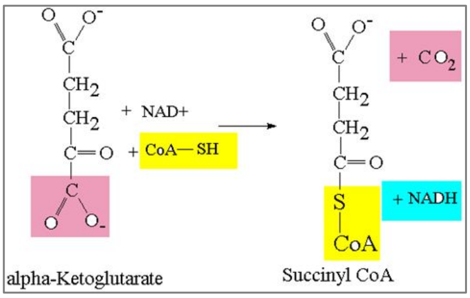
3. דה-קרבוקסילצייה של Isocitrate:



ריאקציית הדה-קרבוקסילצייה הראשונה במעגל. נעשה חמצון ה-OH ע"י NAD^+ ועזיבת CO_2 ליצירת α-Ketoglutarate שזוהי מולקולה עם 5 פחמנים.

אנזים: isocitrate dehydrogenase.

4. דה-קרבוקסילציה של α-Ketoglutarate:



α-Ketoglutarate מתחבר ל- קואנזים A תוך כדי חמצון נוסף ע"י NAD^+. כתוצאה מכך שוב משתחרר CO_2. נוצר Succinyl CoA.

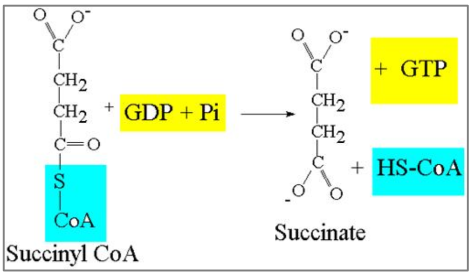
אנזים: α-Ketoglutarate dehydrogenase.

$$Acetyl\,CoA + Oxaloacetate + 2NAD^+ \rightarrow Succinyl\,CoA + 2NADH + 2CO_2$$

©ענת עציון

4 התגובות האחרונות למחזור Oxaloacetate:

5. ניצול הקשר התיו-אסטרי ליצירת GTP:



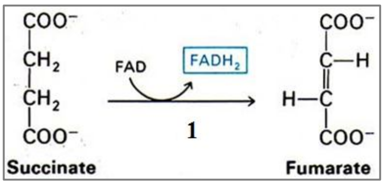
הידרוליזה של הקשר התיו-אסטרי עתיר האנרגיה ב-Succinyl CoA ליצירת GTP.

אנזים: Succinyl CoA synthetase.

ריכוז ה-GTP בתא הוא $\sim 1/10$ מריכוז ה-ATP. GTP יכול לעבור ריאקציה ל-ATP ע"י אנזים מיוחד- diphosphokinase ללא השקעת אנרגיה.

$$GTP + ADP \rightleftharpoons ATP + GTP \quad \Delta G^{o\prime}=0$$

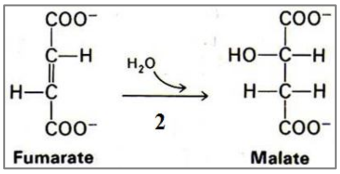
6. חמצון של Succinate:



חמצון לקשר כפול-trans ע"י FAD. חמצון לקשרים כפולים מתרחש בדרך-כלל ע"י FAD ולא NAD^+ כי הוא דורש מחמצן חזק יחסית.

אנזים: Succinate dehydrogenase.

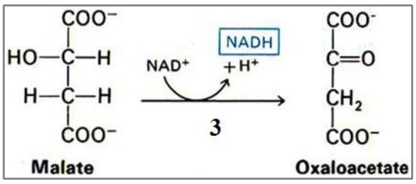
7. סיפוח מים ל-Fumarate:



הידרציה לקבלת המולקולה- Malate.

אנזים: fumarase.

8. חמצון שני של Malate ליצירת Oaa:



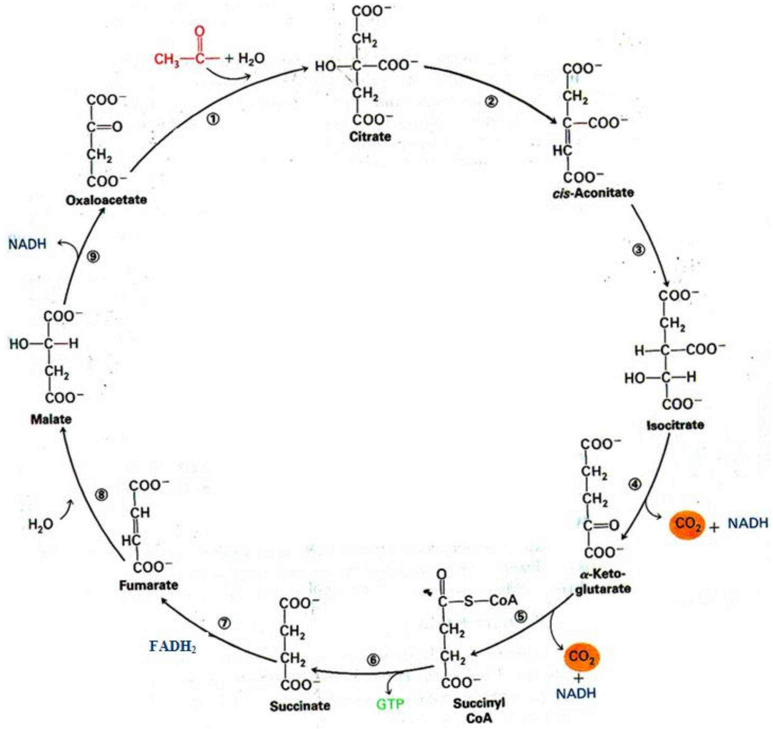
חמצון של ה-OH שסופח בשלב הקודם ע"י NAD^+ לקבלת Oxaloacetate.

אנזים: Malate dehydrogenase.

סיכום המעגל:

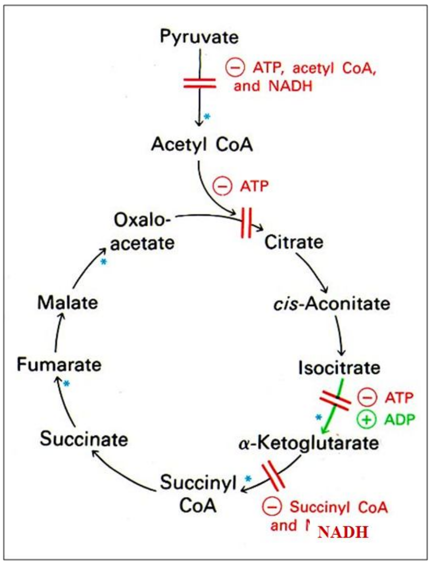
1 Pyruvat = 1 Acetyl CoA, 1 NADH, 1 CO_2.

1 Acetyl CoA = $2CO_2$, 3 NADH, 1 $FADH_2$ 1 GTP.



©ענת עציון

בקרת מעגל קרבס:



המעגל מבוקר בכמה נקודות ע"י רמות אנרגיה וריכוז נשאי האלקטרונים.
בניגוד לגליקוליזה במעגל קרבס תמיד יש חמצון נטו ואין חיזור ולכן באופן סטויכיומטרי הקצב של מעגל קרבס תלוי במחזור של NAD^+ המתבצע ע"י העברת אלקטרונים לחמצן האטמוספרי.
הדבר מביא לקואורדינציה בין קצב המעגל וקצב שרשרת מעבר האלקטרונים בה הנשאים המחוזרים מעבירים את האלקטרונים שלהם לחמצן.

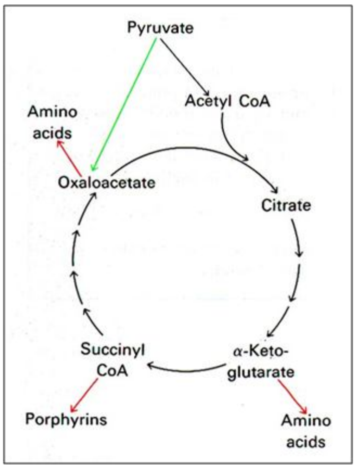
נקודות הבקרה במעגל:

- ישנן כמה נקודות של עיכוב ע"י ATP.
- זירוז ע"י ADP בריאקציה ליצירת α-Ketoglutarate.
- עיכוב ע"י NADH והתוצר בשתי ריאקציות.

תגובות אנפלרוטיות:

אלה הן "תגובות משלימות"- קורות כאשר חסר משהו לצורך פעולה תקינה של המעגל. ריאקציות כאלה קיימות בדרך-כלל במעגלים קטליטיים.

ריאקציית ה-Pyruvate Carboxylase:

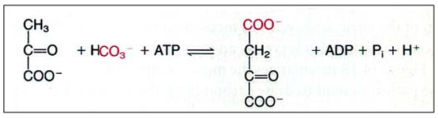


מעגל קרבס עובד באופן קטליטי כל-עוד יש לו חומרי ביניים. חומרי-הביניים של המעגל משמשים גם לצרכים ביוסינטטיים כמו יצירת חומצות אמינו. במצב כזה מוצאים החוצה חומרי ביניים מהמעגל והוא עשוי להיעצר, אסור שזה יקרה אפילו לזמן קצר.
במטבוליזם של חיות: לא ניתן ליצור חומרי-ביניים של המעגל או של הגליקוליזה מ-Acetyl CoA אבל כן ניתן ליצור אותם מפירובט.

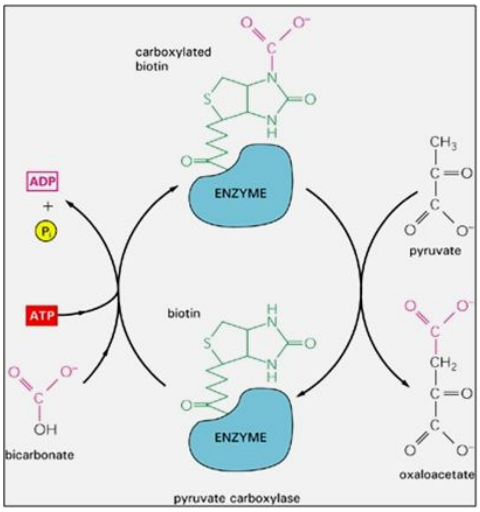
הריאקציה מספקת Oaa למעגל מפירובט (אשר נחוץ למעגל רק בכמות קטליטית כי הוא ממוחזר במעגל).

$$\text{Pyruvat} + HCO_3^- + ATP \rightarrow \text{Oxaloacetate} + ADP + P_i$$

האנזים מאוקטב ע"י ריכוז גבוה של Acetyl CoA.



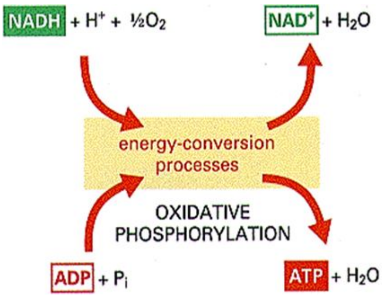
הרחבה לגבי האנזים:



כל האנזימים מסוג Carboxylase משתמשים בביוטין כקואנזים הקשור קוולנטית.
כאן ביוטין קשור לשייר ליזין של האנזים והחנקן שלו (למעלה) זהו האתר הפעיל.
שלב-1: החנקן יוצר קשר קוולנטי עם CO_2 בקשר עתיר אנרגיה תוך שימוש ב-ATP.
שלב-2: CO_2 עובר לפירובט ליצירת ה-Oaa.

©ענת עציון

שרשרת מעבר האלקטרונים



NADH ו-$FADH_2$ הינם תוצרי הגליקוליזה ומעגל קרבס. אלה הן תרכובות עתירות אנרגיה מכיוון שכל אחת נושאת זוג אלקטרונים בעלי פוטנציאל העברה גבוה. פוספורילציה חמצונית הוא התהליך בו ATP נוצר כתוצאה מהעברת אלקטרונים מNADH או $FADH_2$ ע"י מערכת של מעבירי אלקטרונים. האנרגיה החופשית המשתחררת בעת מעבר האלקטרונים לחמצן מנוצלת לסינתיזה של ATP.

התהליך מתרחש על הממברנה הפנימית של המיטוכונדריה (הפנימית היא ממברה בררנית) על שרשרת קומפלקסים שמעבירים אלקטרונים אחד לשני. כל קומפלקס כזה, בזמן שהוא מעביר את האלקטרונים מפוטנציאל נמוך לגבוה, האנרגיה של המעבר מנוצלת לשאיבת פרוטונים מהמטריקס החוצה.

חמצון חיזור ופוטנציאל חיזור (redox potential):

חומר מחזר: חומר שמוסר אלקטרון.

ריאקציית חמצון: ריאקצייה של מסירת אלקטרון. $X^- \longrightarrow X + e^-$

חומר מחמצן: חומר שמקבל אלקטרון.

ריאקציית חיזור: ריאקציה של קבלת אלקטרון. $Y + e^- \longrightarrow Y^-$

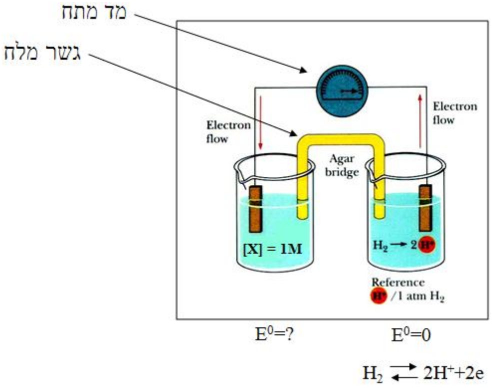
פוטנציאל חיזור:

פוטנציאל חיזור מוגדר כנטייה למסור אלקטרון/הנטייה של חומר להתחזר/לחמצן. האפיניות של חומר לאלקטרונים. בכל ריאקצית חמצון-חיזור יש דרך לקבוע פוטנציאל חשמלי. ככל שחומר הוא יותר אלקטרונגטיבי הוא יותר מחמצן- יותר נוטה לקחת אלקטרונים.

פוטנציאל חיזור סטנדרטי (E^0):

ביטוי כמותי של הכוח המניע של תגובות חצי תא הנמדדות בתא אלקטרוכימי. ערך זה הוא יחסי. ערך הייחוס שנקבע כאפס הוא פוטנציאל החיזור שנמדד בתא אלקטרוכימי של אטום מימן.

תנאים סטנדרטיים:
P=1 atm =760torr=760 mmHg   pH=0   ([H]=1M)
T=25°c=298°K   [תוצרים]=[מגיבים] = 1M



שתי כוסות, בכוס אחת חומר שאת הפוטנציאל שלו רוצים למדוד ובשנייה: יוני מימן עבורם $E^0 = 0$.

שמים חוט מתכת שיכולים לעבור בו אלקטרונים שיש בו מד מתח באמצע וגשר מלח המשמש להעברת קטיונים. אלקטרונים יעברו לפי פוטנציאל החיזור (יעברו במורד הפוטנציאל).

$E^0>0$: אם X מחזר חלש יותר מ-H_2, אז H_2 ימסור אלקטרון ל-X.

$E^0<0$: אם X מחזר חזק יותר מ-H_2 אז הוא ימסור אלקטרון ל-H^+.

פוטנציאל חיזור סטנדרטי ביולוגי ($E^{0'}$):

כאשר pH=7 $pH=7,\ [H^+]= 10^{-7}$ M בתמיסה של חומר X (ולא בחצי תא הייחוס שבו יש מימן).

האנרגיה החופשית של גיבס:

ניתן לקשר את פוטנציאל החיזור הסטנדרטי E^0 לאנרגיה החופשית ΔG ע"י הנוסחה:

$$\Delta G^o = -nFE^o$$

n= מספר האלקטרונים המשתתפים בתגובה

F= קבוע פאראדי.

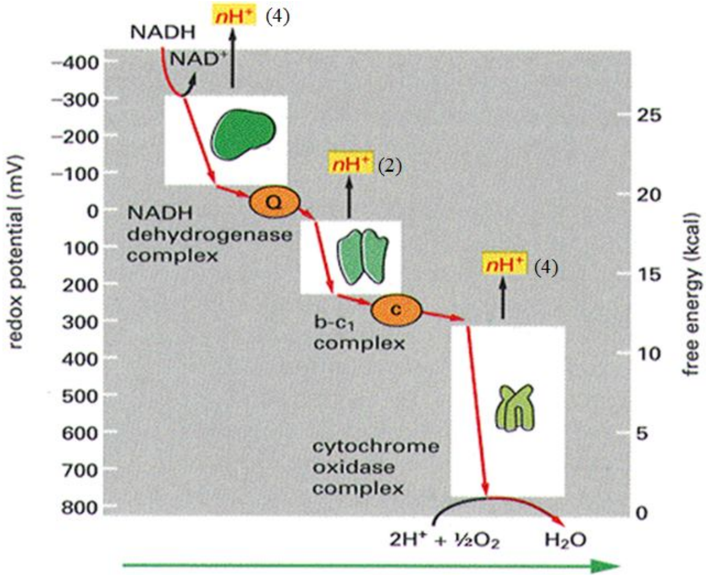
E^o = הפרש פוטנציאלי חמצון חיזור סטנדרטי

F=96 KJ/v*mol

Oxidant	Reductant	n	E'_0, V
Pyruvate + CO_2 + H^+	Malate	2	−0.33
NAD^+ + H^+	NADH	2	−0.32
$NADP^+$ + H^+	NADPH	2	−0.32
FMN (enzyme-bound) + $2H^+$	$FMNH_2$ (enzyme-bound)	2	−0.30
Lipoate (oxidized) + $2H^+$	Lipoate (reduced)	2	−0.29
1,3-Bisphosphoglycerate + $2H^+$	Glyceraldehyde-3-phosphate + P_i	2	−0.29
Glutathione (oxidized) + $2H^+$	2 Glutathione (reduced)	2	−0.23
FAD + $2H^+$	$FADH_2$	2	−0.22
Acetaldehyde + $2H^+$	Ethanol	2	−0.20

FAD הוא מחמצן חזק יותר מ-NAD^+

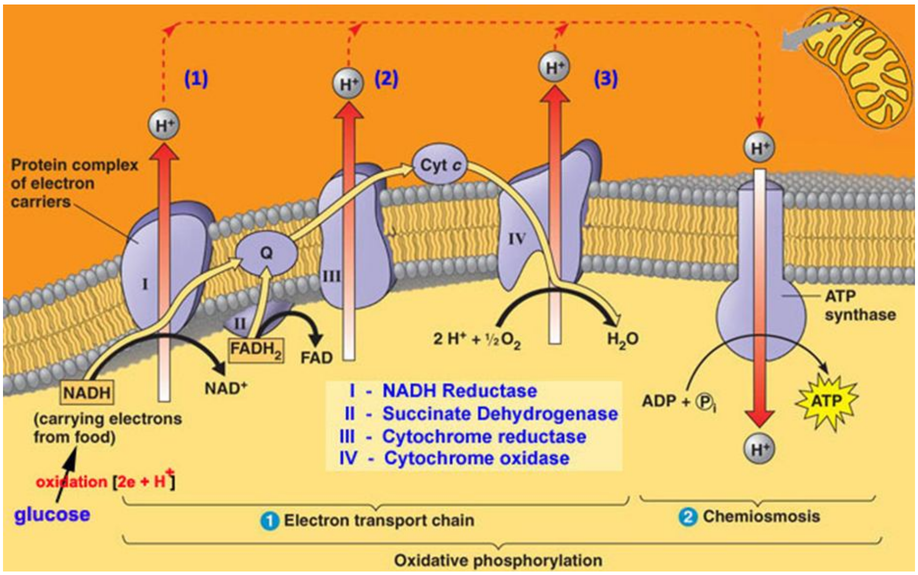
©ענת עציון



ככל שחומר הוא יותר אלקטרושלילי, יש לו פוטנציאל חיזור יותר חיובי.
פוטנציאל החיזור הולך ויורד ככל שמתקדמים בשרשרת (נהיה יותר חיובי).
המעברים מאורגנים ב-3 קומפלקסים ראשיים, בכל אחד עשרות חלבונים. בכל קומפלקס יש מספר גדול של נשאי אלקטרונים וכל קומפלקס הוא גם משאבת פרוטונים.
הקומפלקסים יושבים בממברנת המיטוכונדריה והם עצמאיים ומדברים ביניהם ע"י "מתווכים" למשל: קואנזים Q.

שרשרת הנשימה:

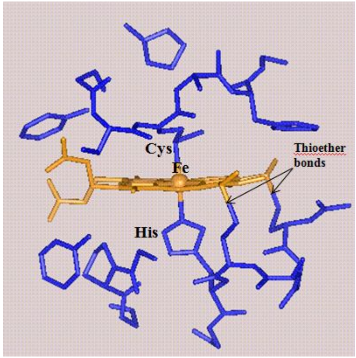
ה-NADH מעביר אלקטרונים לקומפלקס I וממנו הם עוברים לציטוכרום Q ששט בתוך הממברנה עד לקומפלקס III והוא מעביר אלקטרון לציטו כרום C אשר יושב בצידה החיצוני של הממברנה. והוא מעביר אלקטרונים בחזרה לתוך הממברנה לקומפלקס IV עד לתחנה הסופית: חמצן.
קומפלקס II מעביר אלקטרונים לציטו כרום Q מתוך $FADH_2$. זהו אינו חלק מהשרשת הראשית, במעבר זה אין זריקת פרוטונים באותה הכמות ולכן לא נוצרת אותה כמות אנרגיה.



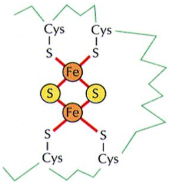
נשאי האלקטרונים:

- יוני ברזל בצורת ציטוכרום עם Heme, כאשר תפקיד הברזל הוא כל-הזמן לעבור חמצון/חיזור (בניגוד להמוגלובין). כל ציטוכרום נקרא על שם סוג ה-Heme שיושב בתוכו.

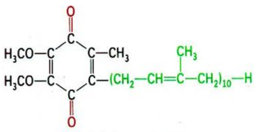
ציטוכרום C: אחד החלבונים הכי שמורים בטבע.
המרכיב היחיד בשרשרת שלא פונה לתוך המטריקס אלא פונה לחלל שבין שתי הממברנות. הוא לא טרנסממברנאלי אלא חלבון מאוד בסיסי וחיובי.



©ענת עציון



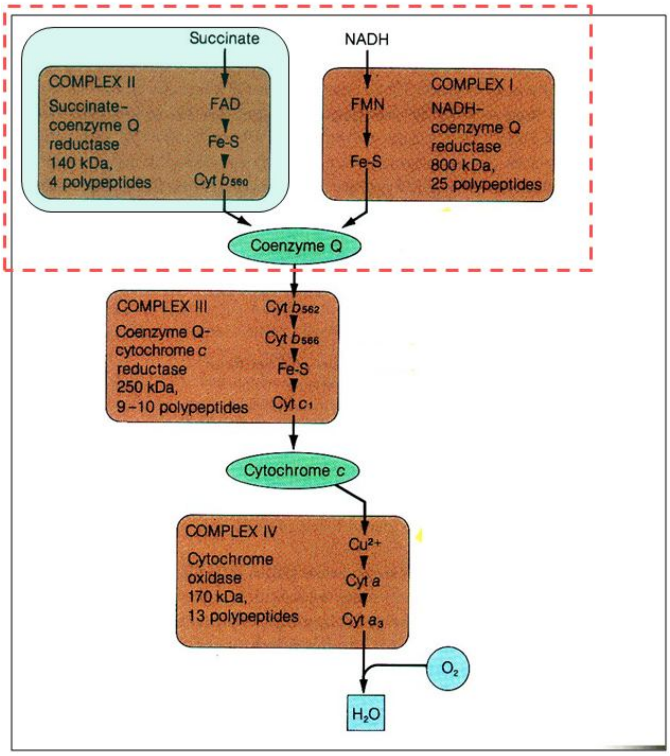
- **Iron-Sulfur centers:** קלסטרים של מרכזי ברזל גופרית. אטומי הברזל נמצאים בקואורדינציה עם שיירי SH של ציטאינים בחלבון.
- פלאבין-נוקליאוטידים FMN אשר זהה ל-NAD^+ מבחינה כימית.
- **קואנזים Q:** מולקולה ארומטית עם שיירי OH בעמדות trans. ישנה קליטת אלקטרונים דרך מצב מעבר רדיקלי.
- יוני נחושת.



Oxidized form of coenzyme Q (Q, ubiquinone)

סיכום נשאי האלקטרונים:

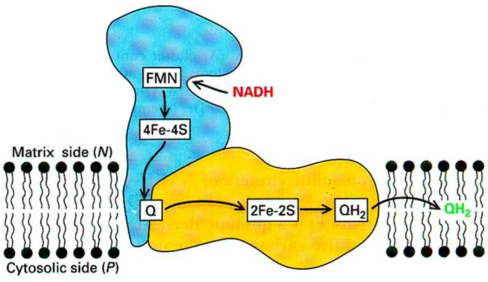
קומפלקס II (מסומן בכחול) אינו חלק מהשרשרת הראשית והוא איננו משאבת פרוטונים.
הכניסה לקואנזים Q נעשית מ-2 מקומות שונים.



הקומפלקסים השונים בשרשרת המעבר:

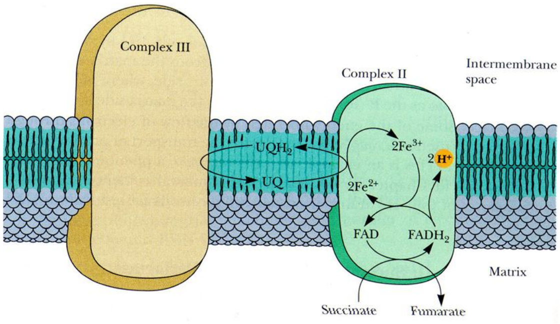
קומפלקס I:

הקומפלקס לוקח אלקטרונים מ-NADH ומעביר אותם ל-FMN. ה-FMN הופך ל-$FMNH_2$ ומעביר אלקטרונים ל-Iron-Sulfor centers ואז חוזר להיות FMN. ומהם האלקטרונים עוברים ל-QH_2 וממנו לציטוכרום Q שמצוי בתוך הממברנה.
FMN הם מחמצנים יותר חזקים ולכן אלקטרונים עוברים מ-NADH אליהם באופן טבעי.

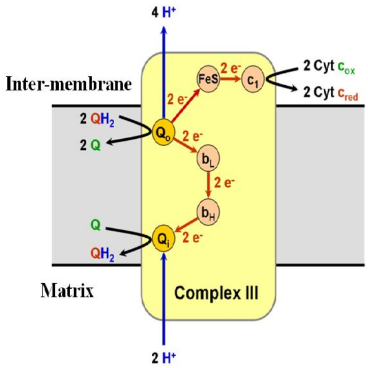


קומפלקס II:

ה-Succinate במעגל קרבס מתחמצן ל-fumarate וה-$FADH_2$ מעביר כל פעם אלקטרון אחד ל Iron-Sulfur center אשר מעביר כל פעם אלקטרון אחד לציטוכרום Q. נוצרים שני פרוטונים אך הם אינם נשאבים מחוץ לממברנה ולכן התהליך לא משמש להפקת אנרגיה.



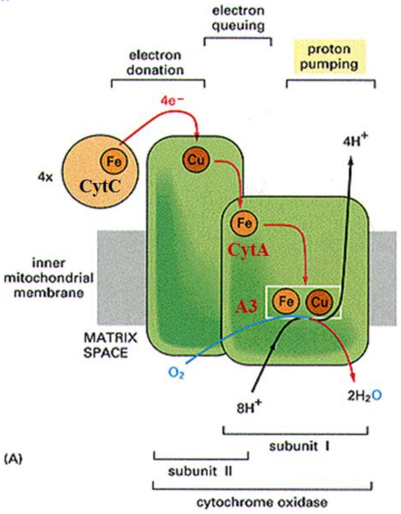
©ענת עציון



__קומפלקס III:__

הקומפלקס מעביר את האלקטרונים לציטוכרום C דרך שני Q פנימיים באתרים שונים ודרך שני ציטוכרומים מסוג B.
ישנו מנגנון פנימי שבו Q מעביר אלקטרון אחד לכיוון השרשרת והאלקטרון השני מועבר אחורה במסלול אחר ובסוף מגיע שוב ל-Q וכך הוא נכנס למצב רדיקלי.

__קומפלקס IV:__



בנוי מקומפלקס של ציטוכרומים
וישנם אתרי קשירה ליוני נחושת המשמשים כנשאים.
האלקטרונים מועברים מציטוכרום C ע"י שני מרכזי Fe/Cu לחמצן ליצירת מים ושאיבת פרוטונים החוצה.

ישנו תהליך מעגלי המעביר 4 אלקטרונים לחמצן ללא יצירת רדיקלים.

$$4\ \text{cyt}\ c^{2+} + 4\ H^+ + O_2 \longrightarrow 4\ \text{cyt}\ c^{3+} + 2\ H_2O$$

__ריאקציות נטו בקומפלקסי העברת האלקטרונים:__

I $\quad NADH + Q + H^+ \longrightarrow NAD^+ + QH_2$

III $\quad QH_2 + 2\ \text{cyt}\ c^{(3)+} \longrightarrow Q + 2\ \text{cyt}\ c^{(+2)} + 2H^+$

IV $\quad 2\ \text{cyt}\ c^{(+2)} + \frac{1}{2}\ O_2 + 2H^+ \longrightarrow 2\ \text{cyt}\ c^{(3+)} + H_2O$

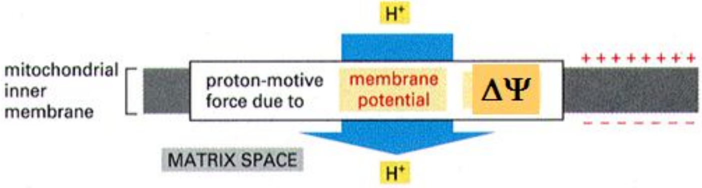
__Net__: $NADH + \frac{1}{2}\ O_2 + H^+ \longrightarrow NAD^+ + H_2O$

__For flavins__: $FADH_2 + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow FAD + H_2O$

__גרדיאנט הפרוטונים:__

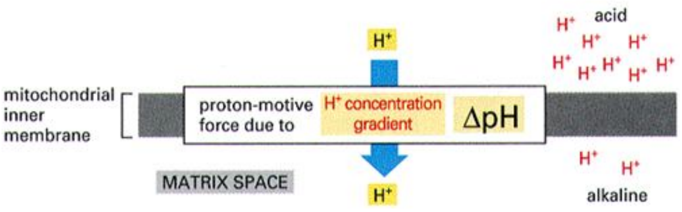
__התיאוריה הכימואוסמוטית:__

הקומפלקסים I, III, IV יודעים להעביר פרוטונים מהמטריקס של המיטוכונדריה החוצה. הם עושים זאת בשימוש באנרגיה שנוצרת בתהליך העברת האלקטרונים. נוצר מפל אלקטרוכימי:
1. מטען חשמלי חיובי גבוה יותר בחלל הבין-ממברנאלי (גרדיאנט חשמלי). **זוהי התרומה העיקרית**



©ענת עציון

2. ריכוז יוני פרוטון גבוה יותר בחלל הבין ממברנאלי (גרדיאנט pH). **זוהי תרומה משנית לגרדיאנט**



בגלל זה יוני פרוטון שואפים לחזור חזרה למטריקס והם עושים זאת דרך ATP Synthase ואנרגית החזרה פנימה מנוצלת לסינתיזה של ATP. ישנה הגבלה של מהירות הנשימה כי הפרוטונים נזרקים נגד מפל הריכוזים וישנו ספ אנרגטי הדרוש לכך.

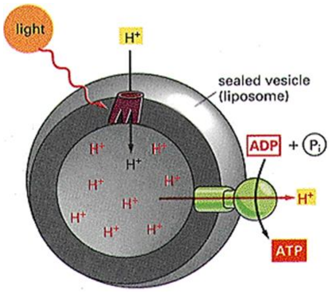
4 protons (86 kJ/mole) drive the synthesis of 1 ATP

36% efficiency for $\Delta G^{o\prime} = -31$ kJ/mole

58% for $\Delta G^{\prime} = -50$ kJ/mole

ניסוי המוכיח את התיאוריה הכימואוסמוטית:

לקחו את הקומפלקס שהניחו שמסנתז ATP בעזרת גרדיאנט הפרוטונים- ATP Synthase ועשו לו שחזור במערכת מלאכותית עם פוספוליפיד נקי שאינו חדיר לפרוטונים. שחזרו חלבון מחיידקים שהיה ידוע כי הוא משמש כמשאבת פרוטונים. ורק כאשר גם המשאבה וגם ATP Synthase בתוספת לאור כמקור לפרוטונים נכחו, היה ייצור של ATP.



כימות הגרדיאנט- היחס P/O:

על-מנת לקבוע את יעילות התהליך יש לכמת את האנרגיה הנלכדת בצורה של ATP כחלק מהאנרגיה הכללית המשוחררת בתהליך החמצון של סובסטראט.

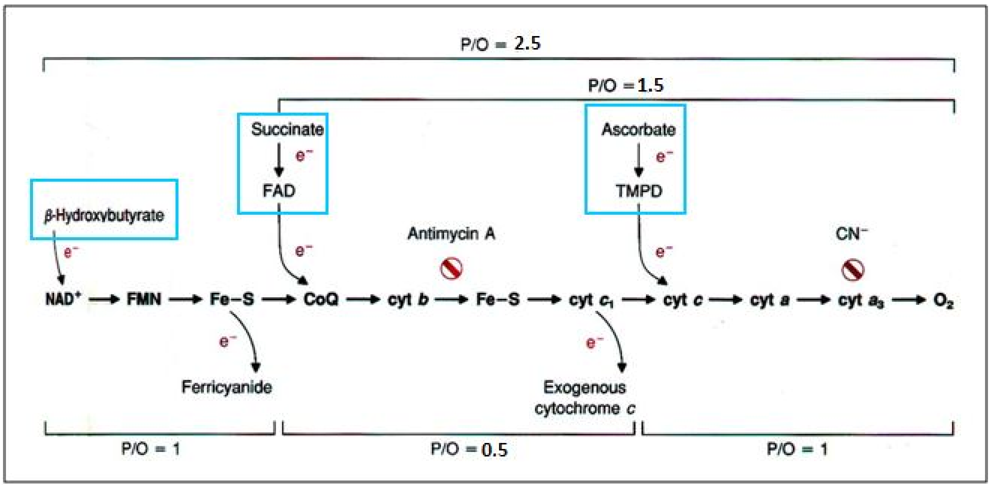
$$P/O = Pi/2O_2$$

P/O: כמות ATP מסונתזת עבור זוג אלקטרונים אחד שעובר בשרשרת.
O_2 שלם דורש 4 אלקטרונים כדי להתחמצן ולכן מחלקים ב-2 לקבלת היחס לזוג אלקטרונים.
ATP מודדים ע"פ כמות הפוספט שנצרכה וזוגות אלקטרונים מודדים לפי חיזור חמצן למים.

$$1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$$

כמות ה-ATP שמקבלים מזוג אלקטרונים תלויה במקום בו נכנסים האלקטרונים לשרשרת: ככל שאלקטרונים ייכנסו מוקדם יותר, כך הם יתרמו יותר לגרדיאנט ויגרמו ליצירה של יותר ATP.

תורמי אלקטרונים:

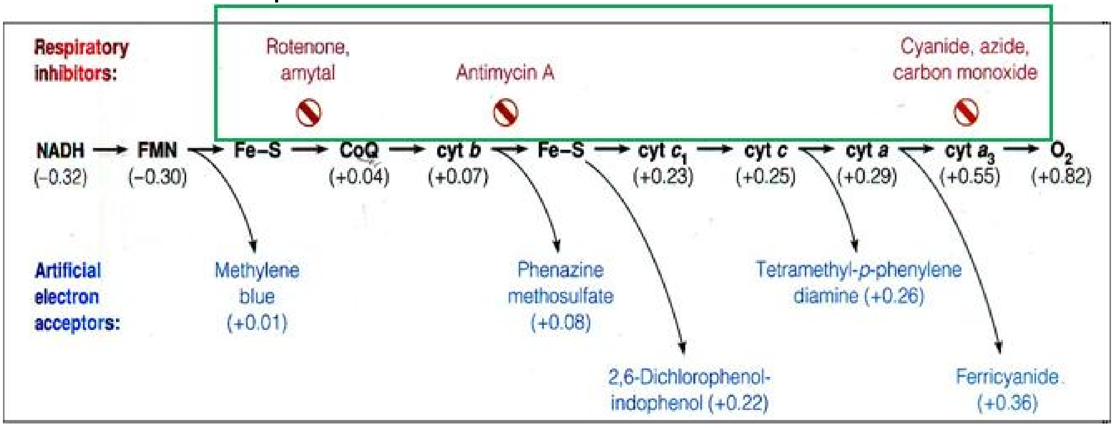


מסומן בכחול- החומרים שמעבירים אלקטרונים דרך נשאי אלקטרונים. זוג אלקטרונים שעבר את כל השרשרת ייתן 2.5 ATP. זוג אלקטרונים שנכנס איפה ש-$FADH_2$ ייתן רק 1.5 ATP.

©ענת עציון

עיכוב שרשרת הנשימה:

ישנם רעלים המעכבים את מעבר האלקטרונים במקום מסוים בשרשרת. העיכוב ייגרום לכל החומרים לפני החסימה להצטבר במצב מחוזר ולחומרים אחרי להצטבר במצב מחומצן.

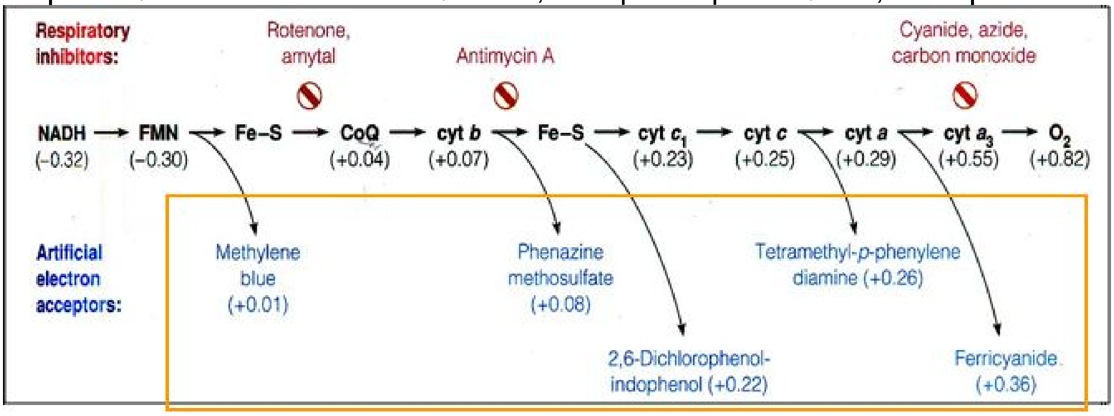


ניתן להתגבר על החסימה ע"י תורמי אלקטרונים שנמצאים לאחר מקום החסימה ובכך כן תהיה צריכת חמצן. אם החסימה הינה בקומפלקס האחרון, לא נוכל לקבל צריכת חמצן.

קולטי אלקטרונים:

חומרים מלאכותיים המסוגלים לקלוט אלקטרונים ממקומות שונים בשרשרת לפי פוטנציאל החיזור שלהם. אם ישנו קולט אלקטרונים לפני מקום חסימה, האלקטרונים יעברו אליו. אך לא תהיה צריכת חמצן כי האלקטרונים לא יגיע לסוף השרשרת. אבל אם בדרכם יהיה קומפלקס שזורק פרוטונים החוצה, תהיה סינתיזה של ATP.

גם כאשר אין חסימה, ברגע שישנו קולט אלקטרונים, הם יגיעו אליו ולא ימשיכו במסלול עד לחמצן.



צימוד ומפרי צימוד:

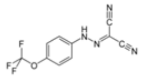
שרשרת הנשימה ויצירת ATP הם שני תהליכים מצומדים. הקשרי ביניהם הוא דרך גרדיאנט ה-H^+ שנוצר משני צידי הממברנה.

- אם תעוכב הנשימה ולא ייווצר גרדיאנט, לא תהיה יצירה של ATP.
- אם תעוכב יצירת ATP והגרדיאנט שייווצר ילך ויגדל אז תעוכב הנשימה.

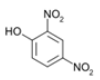
הערה: כאשר אין פרוטונים שחוזרים, ממשיכים פרוטונים להיזרק ואלקטרונים להגיע לחמצן ולכן יש עדיין צריכה של חמצן.

מפרי צימוד: מולקולות קטנות, הידרופוביות, מסיסות בממברנה של המיטוכונדריה. הן לוקחות פרוטונים דרך הממברנה בחזרה אל המטריקס. ואז אין גרדיאנט פרוטונים ולא תהיה סינתזת ATP. אך קצב הנשימה יגבר עקב הסרת ההתנגדות של פוטנציאל הממברנה לשאיבת פרוטונים של הקומפלקסים.

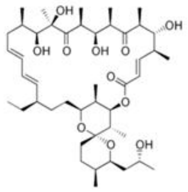
FCCP



DNP



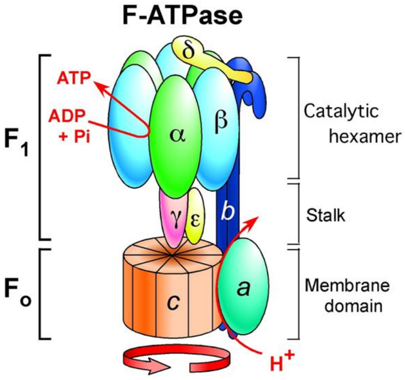
מעכב ATP Synthase: מתיישב על היחידה F0 ומונע את הסינתיזה. פרוטונים לא יחזרו אל המטריקס ואז הגרדיאנט יגדל עד שהאנרגיה כתוצאה ממעבר האלקטרונים כבר לא תספיק כדי להעביר את הפרוטונים החוצה מהמטריקס.



אוליגומיצין

©ענת עציון

יצירת ATP ע"י קומפלקס ה-ATP Synthase:



מבנה:

האנזים ATP Synthase מורכב מ-3 חלקים עיקריים:

F0: החלק הטרנסממברנאלי הכולל את התעלה בה חוזרים הפרוטונים למטריקס שגורמים לתת-יחידה C להסתובב.

Stalk: מקשר בין החלק הממברנאלי F0 והחלק הציטוזולי F1.

F1: קומפלקס הבנוי מ6 תת-יחידות: 3α+3β המסנתז ATP תוך ניצול מפל הפרוטונים. בהיעדר מפל כזה הוא מתפקד כATPase (כלומר- מפרק ATP).

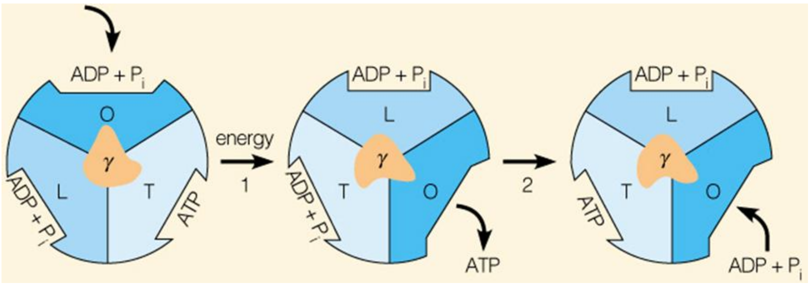
הפרוטונים נקשרים לחלל הבין-ממברנאלי והקישור גורם לשינוי מבני במנוע אשר מסובב אותו מעט וחושף את אתר הקישור הבא. למעשה המנוע משתמש במפל הריכוזים של הפרוטונים כדי להסתובב ובכך הוא ממיר אנרגיה כימית לאנרגיה מכאנית.

מנגנון הפעולה:

בהעברת פרוטונים, עבור כל סיבוב של הקומפלקס נוצרות 3 מולקולות ATP.

תת היחידה γ מאחדת בין תת-יחידות α,β לקבלת אתר פעיל לסנתוז ATP. כך מתקבלים 3 אתרים פעילים באנזים אשר בזמן כל סיבוב הם ב-3 קונפורמציות שונות:

1. Loose: האתר אליו נקשרים ADP+Pi.
2. Tight: בעזרת הסיבוב והאנרגיה מקטלז את יצירת ה-ATP.
3. Open: בעזרת H^+ נפתח ומשחרר את ה-ATP.



מעבורות:

The mitochondrial ATP-ADP translocase:

פנים המיטוכונדריה הוא האתר העיקרי של סינתיזת ATP בתא. ה-ATP דרוש גם בציטוזול. ATP זוהי מולקולה גדולה וטעונה שלא עוברת באופן פאסיבי את הממברנה ולכן היא עוברת בטרנספורט.

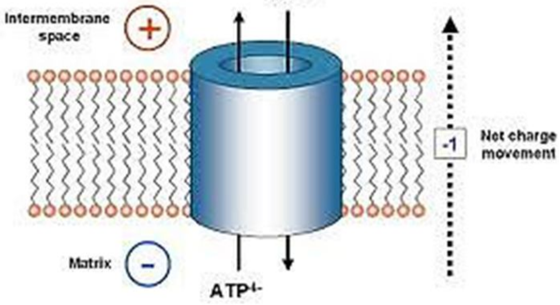
ישנו טרנספורטר שעושה שחלוף-anti-port: ATP יוצא לציטוזול ותמורתו ADP נכנס לתוך המטריקס.

כתוצאה מכך מועבר מטען שלילי נטו לציטוזול וזה מקטין את הגרדיאנט האלקטרוכימי במיטוכונדריה.

זהו חיסרון: כי זהו בזבוז של אנרגיה (גרדיאנט=אנרגיה).

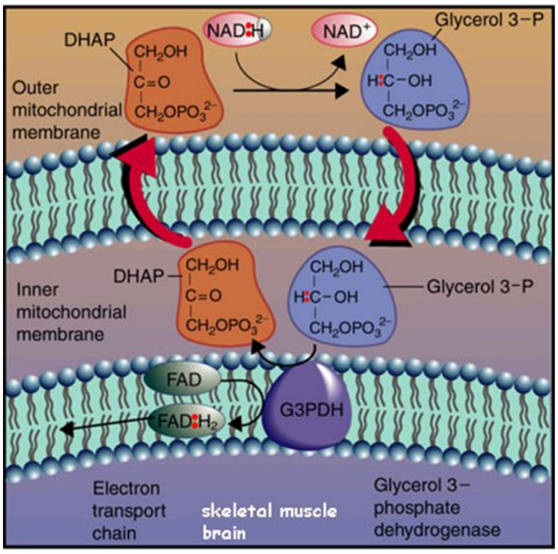
$4H^+$ מביאים ליצירת ATP אחד והטרנספורט מבזבז גרדיאנט השקול ל-H^+ אחד אז ניתן לומר ש $\sim 1/4$ מהאנרגיה של הגרדיאנט מנוצל לטרנספורט של ה-ATP.

לטרנספורט יש ΔG מאוד שלילי וזה מושך את התהליך לכיוון יחיד.



©ענת עציון

מעבורת הגליצרול 3-פוספט:



בגליקוליזה נוצר NADH שזהו חומר מאוד גדול.
יש מעבורת חד-כיוונית שמעבירה אלקטרונים מהציטוזול למטריקס.

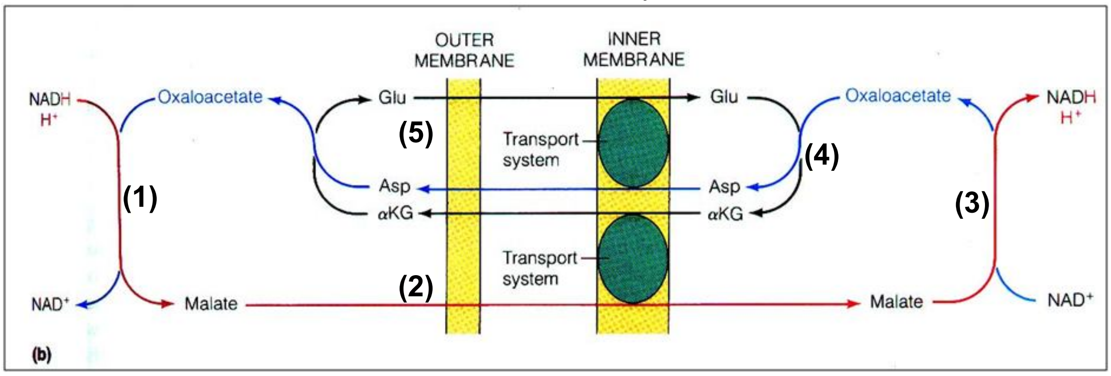
1. תוצר הביקוע האלדולי-DHAP בנוכחות NADH הופך ל-G3P.
2. G3P מועבר בטרנספורט חד-כיווני הנמצא על הממברנה החיצונית של המיטוכונדריה לתוך החלל הבין ממברנלי.
3. G3P מוסר אלקטרונים לקומפלקס Glycerol 3-Phosphate-dehydrogenase והם מועברים לFAD ומתקבל: $FADH_2$ הממשיך לשרשרת מעבר האלקטרונים ו-DHAP המשתחרר בחזרה לציטוזול.

ישנו הפסד של אנרגיה כי מ-$FADH_2$ נקבל ATP אחד פחות מאשר מ-NADH בשרשרת מעבר האלקטרונים. אבל ישנם תאים שיש להם רק את המעבורת ולכן גם מעט אנרגיה זה משהו.

מעבורת מלאט-אספרטט:

מעבורת שפעילה בעיקר בכבד ובלב שמעבירה אלקטרונים ללא הפסד של אנרגיה.

1. Oxaloacetate עובר לציטוזול, מקבל אלקטרונים מ-NADH ומתקבלים: NAD^+ ו-Malate.
2. בעזרת טרנספורט אקטיבי על הממברנה החיצונית, נכנס ה-Malate פנימה אל המטריקס.
3. במטריקס ה-Malate נכנס למעגל קרבס ומוסר אלקטרונים ופרוטונים ל-NAD^+ והופך חזרה ל-Oxaloacetate.
4. בתהליך טרנס-אמינציה עם Glu, ה-Oaa הופך ל-Asp וה-Glu ל-α-ketoglutarate.
5. שני תוצרי הטרנס-אמינציה יוצאים לציטוזול, שם הם עוברים תהליך הפוך לטרנס-אמינציה לקבלת Oxaloacetate ו-Glu שחוזר חזרה למטריקס.



<u>אין הפסד של אנרגיה:</u> אלקטרונים עוברים מ-NADH מחוץ למטריקס ל-NADH בפנים.

<u>מאזן אנרגיה כולל מגלוקוז:</u>

NADH = 2.5 ATP
FADH2 = 1.5 ATP

Glycolysis = 2 NADH / Glc
Pyruvate dehydrogenase = 2 NADH / Glc

Krebs = 6 NADH, 2 FADH2 per Glc

Total = 10 NADH (25 ATP) + 2 FADH2 (3 ATP) per Glc= 28

Glycolysis = 2 ATP, Krebs = 2 GTP (ATP)

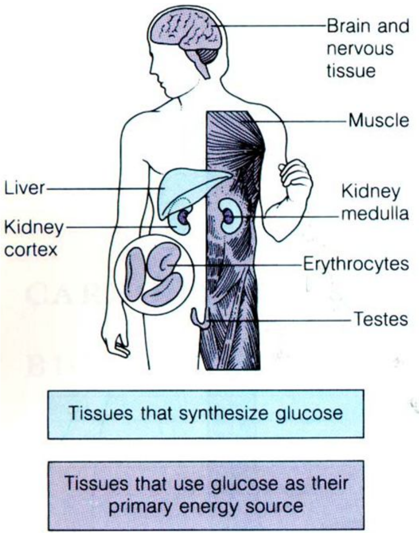
<u>Sum</u> 32 ATP
<u>Sum if NADH is transported by the glycerol shuttle:</u> 30 ATP

<u>Including energy loss on ATP transport</u>: about 24 ATP
ΔG_0'=744 kJ/mole Glc) out of 2815 of "burning" glucose, 26%
Yield is higher when considering non-standard conditions

©ענת עציון

גלוקוניאוגנזה

זהו תהליך אנבולי שהוא ברובו היפוך של הגליקוליזה. זהו תהליך חשוב ביצורים מפותחים והוא קריטי למספר רקמות התלויות בלעדית בגלוקוז כמקור אנרגיה: מוח, מערכת עצבים מרכזית, כליות, אשכים, כדוריות דם אדומות.



לאחר יממה של רעב מתרוקנים מאגרי הגליקוגן בגוף ויש צורך בסינתיזת גלוקוז מחומרי-ביניים.

מיקום: ציטופלסמת תאי כבד וכליות.

בתהליך זה ישנה יצירה של גלוקוז ממקורות שאינם סוכריים:

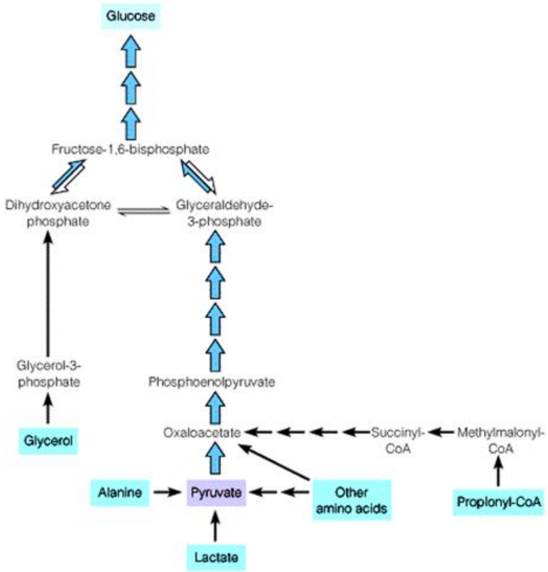
<u>לקטאט:</u> בשריר ישנה בעיקר גליקוליזה אנאירובית ולכן נוצר לקטאט שמגיע לכבד הנמצא במצב אירובי ויכול למחזר את הלקטאט לגלוקוז וכך הוא לא מתבזבז.

<u>חומצות אמינו:</u> במצב של רעב ממושך זהו המקור היחיד לסוכרים. החומצות מגיעות משריר השלד וחלבוני השריר מתפרקים.

<u>גליצרול:</u> גם עבורו יש מסלול בחזרה לגלוקוז.

<u>הערה:</u> גם במצב של תזונה רגילה, הגלוקוניאוגנזה עשויה לתפקד באיזון חומרי המזון (בעיקר הפיכת חומצות אמינו וגליצרול לגלוקוז) וכן במחזור גלוקוז מלקטאט עבור שריר במאמץ.

<u>הסובסטראטים השונים:</u>



<u>סטויכיומטריה:</u>

$$2\ Pyruvate + 4ATP + 2GTP + 2NADH + 6H_2O \longrightarrow glucose + 4ADP + 2GDP + 6P_i + 2NAD^+ + 2H^+$$

רוב ריאקציות הגליקוליזה הן הפיכות, מלבד-3: **ריאקציות הקינאז:**

$$Glucose + ATP \xrightarrow{Hexokinase} Glucose\ 6\text{-}phosphate + ADP$$

$$Fructose\ 6\text{-}phosphate + ATP \xrightarrow{phosphofructokinase} Fructose\ 1,6\text{-}bisphosphate + ADP$$

$$Phosphoenolpyruvate + ADP \xrightarrow{Pyruvate\ kinase} Pyruvate + ATP$$

ה-2 הראשונות לא הפיכות כי להידרוליזה של ATP יש ΔG מאוד שלילי.
השלישית לא הפיכה כי אנול (מצב מאוד גבוה אנרגטית) הופך לקטון.

©ענת עציון

ריאקציות מעקף:

מעקף-1:

מפירובט ל-PEP.

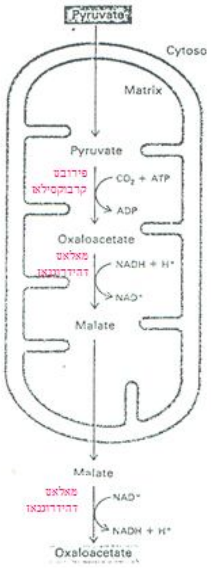
Pyruvate carboxylase

Pyruvate+CO_2+ **ATP**+H_2O ⟶ Oxaloacetate+ADP+Pi

Phosphoenolpyruvate carboxykinase

Oxaloacetate **+GTP** ⟶ Phosphoenolpyruvate+GDP+CO_2

ישנן שתי ריאקציות עוקבות. בכל ריאקציה מושקע קשר עתיר אנרגיה אחד. ΔG של סכום הריאקציות קרוב ל-0. CO_2 נכנס בריאקציה הראשונה ויוצא בשנייה ולכן הוא דרוש רק בכמות קטליטית.



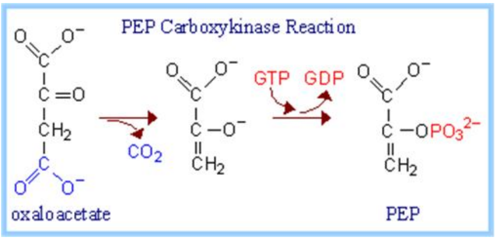
מעבר מהמיטוכונדריה לציטוזול:

ריאקציה-1 (מטריקס): פירובט מועבר בסיום הגליקוליזה למיטוכונדריה ולכן תחילה יש להחזירו אל הציטוזול. פירובט הופך ל-Oxaloacetate במיטוכונדריה. מאחר ואין טרנספורטר יעיל להעברת OAA לציטוזול, OAA הופך ל-Malate ע"י האנזים: Malate dehydrogenase. ה-Malate יוצא מהמיטוכונדריה ע"י מעבורת "מלאט-אספרטאט".

בציטוזול הוא מתחמצן בחזרה עם NAD^+ ל-Oxaloacetate.

ריאקציה-2 (ציטוזול): OAA הופך ל-PEP ע"י האנזים: PEPCK.

תחילה משתחרר CO_2 ונוצר אנולאט. אח"כ GTP מבצע זרחון.



מעקף-2:

היפוך הריאקציה של PFK.

Fructose 1,6-bisphosphatase

Fructose 1,6-bisphosphate+H_2O ⟶ Fructose 6-Phosphate+Pi

במקום להעביר את הפוספט שהתווסף בחזרה ל-ATP (היפוך מדוייק של הגליקוליזה) מסירים אותו ע"י פוספטאז ויש העברה למים. זוהי נקודת בקרה חשובה. הריאקציה הזו הכי ייחודית לגלוקוניאוגנזה.

מעקף-3:

היפוך הריאקציה של Hexokinase.

Glucose 6-phosphatase

Glucose 6-phosphate+H_2O ⟶ Glucose+Pi

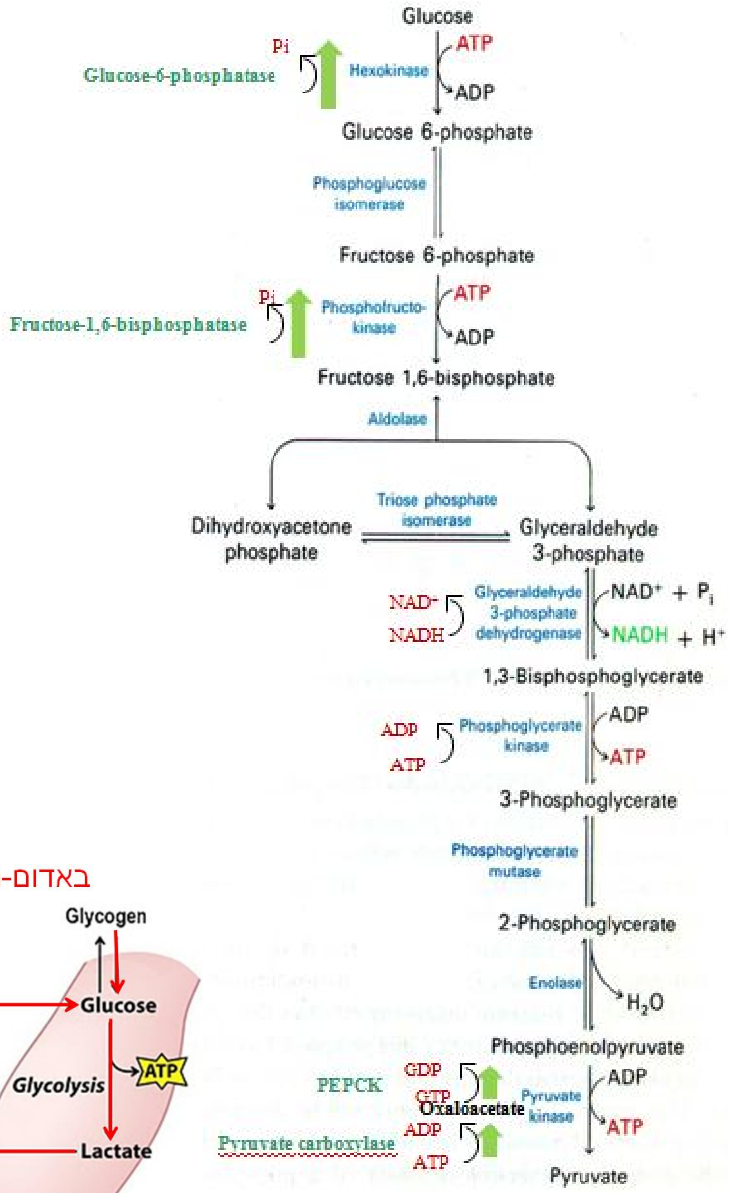
הידרוליזה לקבלת גלוקוז מ-G6P. גלוקוז מזורחן אינו יכול לצאת מהתא ולאחר הדה-פוספורילציה, הגלוקוז יכול לצאת למערכת הדם.

רוב הגלוקוניאוגנזה קורית בכבד, והאנזים המיוחד הזה לא נמצא ברוב הרקמות (ישנן כאלה שיודעות ליצור G6P אבל לא מסוגלות לעשות את השלב האחרון למעבר לגלוקוז).

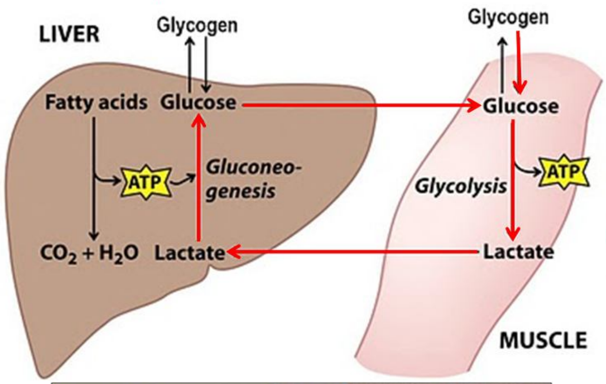
©ענת עציון

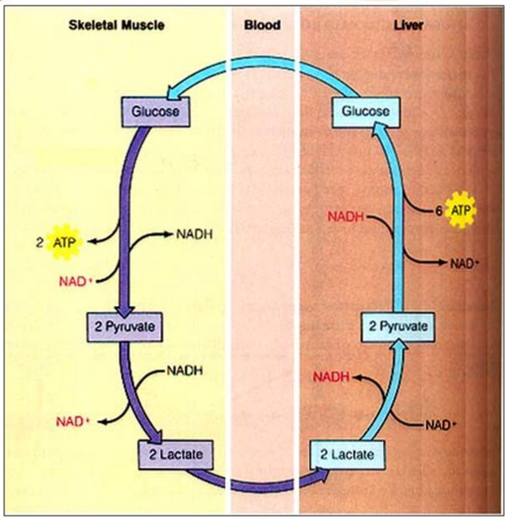
הריאקציות במסלול מפירובט לגלוקוז:

סה"כ הושקעו 6 ATP ליצירת גלוקוז אחד (3 לכל פירובט)



באדום-המצב בשריר במאמץ





מעגל קורי:

מעגל המקשר בין השריר לבין הכבד. כאשר השריר נמצא במאמץ הוא מבצע נשימה אנאירובית (כי התהליך האירובי הוא יחסית איטי) והפירובט הופך ללקטאט המשוחרר למערכת הדם ומגיע לכבד.

כאשר לקטאט מגיע לכבד הוא הופך לפירובט אשר בתהליך הגלוקוניאוגנזה הופך לגלוקוז ומשוחרר חזרה לדם.

כך העומס המטבולי עובר מהשריר אל הכבד.

המעגל הזה עולה לגוף ב-4 ATP.

זהו תהליך מאוד חשוב.

©ענת עציון

בקרה על הגלוקוניאוגנזה:

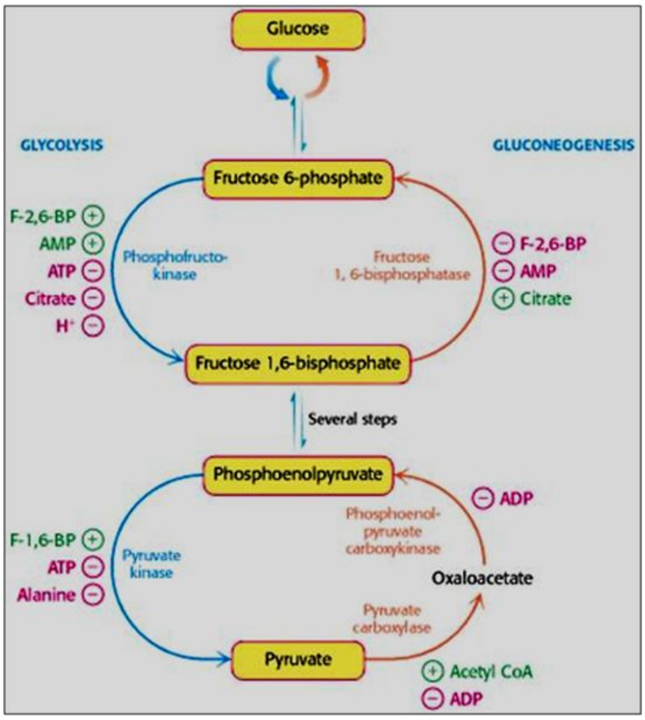
הבקרה תהיה הפוכה לזו שיש בגליקוליזה שכן פעילות בו-זמנית של שני המסלולים תגרום ל"קצר מטבולי" כי אלו הם תהליכים הפוכיים. ניתן להתייחס למעכבי הגליקוליזה כזרזים עקיפים של הגלוקוניאוגנזה ולהפך.

ישנה בקרה עיקרית בשתי נקודות מפתח:

1. פירובט ← PEP.
2. F-1,6-BP ← F6P.

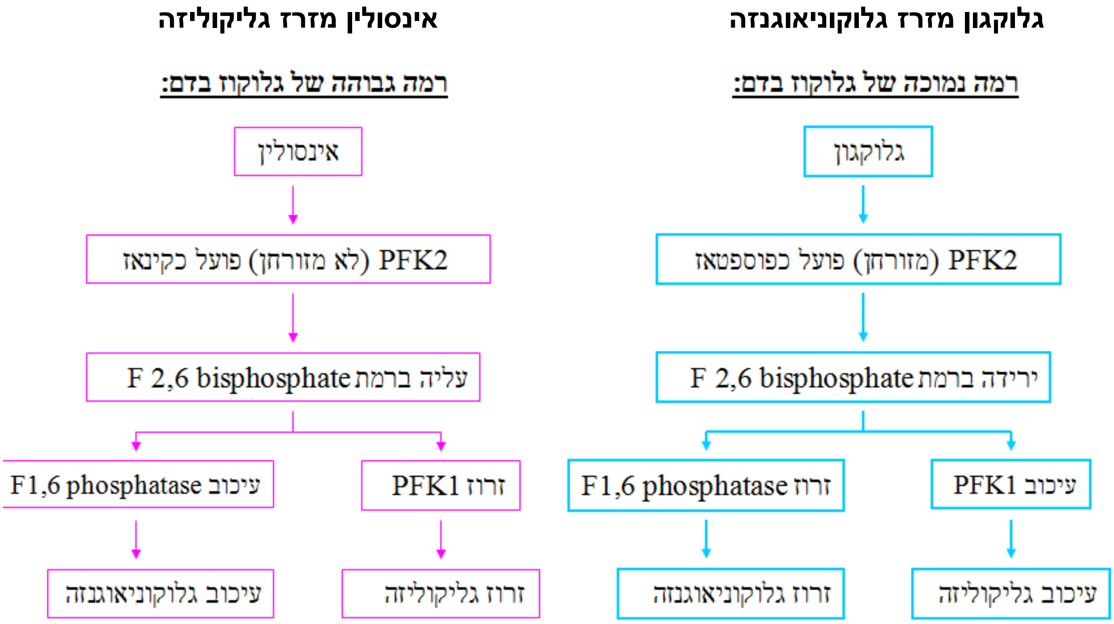
הבקרה הינה בנקודות החשובות של הריאקציות הבלתי הפיכות.

ה-citrate שמשמש כאן לבקרה אינו ממעגל קרבס, זהו citrate ציטוזולי שנמצא כאשר יש הרבה אנרגיה- הגליקוליזה בכבד, מטרתה העיקרית: סנתוז חומצות שומן. כאשר יש הרבה מאוד citrate בציטוזול, אין צורך להמשיך את הגליקוליזה וניתן להפוך כיוון.



בקרה הורמונאלית:

הבקרה ההורמונאלית בדומה לגליקוליזה עובדת על העיקרון של פירוק וסינתיזה של F-2,6-BP.



הערה: גלוקגון, שמו נגזר מגלוקוניאוגנזה כי הוא אנזים שמזרז אותה.

©ענת עציון

Substrate futile cycle:

אם שני התהליכים יתרחשו בו-זמנית, בכל מעגל יתבזבזו 4 קשרים עתירי אנרגיה. זה אינו רצוי ונמנע ע"י בקרה של F2,6-BP. אבל לפעמים המעגל כן מתקיים במידה מסוימת ותוצאתו- יצירת חום.

משערים שהדבר מאפשר תגובה מהירה לשינויים מטבוליים.

Glycolysis:

glucose + 2 NAD^+ + 2 ADP + 2 P_i 2 pyruvate + 2 NADH + 2 ATP

Gluconeogenesis:

2 pyruvate + 2 NADH + 4 ATP + 2 GTP   glucose + 2 NAD^+ + 4 ADP + 2 GDP + 6 P_i

Glycolysis yields 2 ~P bonds of ATP

Gluconeogenesis expends 6 ~P bonds of ATP and GTP

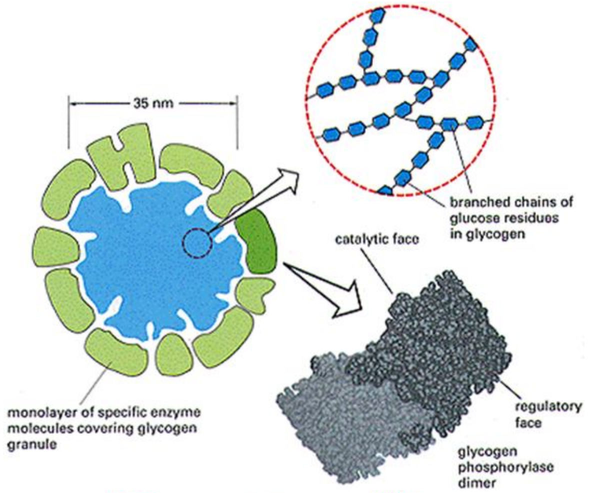
©ענת עציון

גליקוגן

הגליקוגן הוא חומר תשמורת של הגלוקוז בתא האנימאלי. הוא מאזן את רמות הסוכר בדם ומשמש כבופר. בין ארוחות הגליקוגן מתפרק ומספק גלוקוז למוח. זהו פולימר של גלוקוז שניתן לפרקו בקלות. אנזימי הפירוק של הגליקוגן נמצאים על הגרנולות של הגליקוגן בציטוזול ולכן פירוקו בשעת הצורך הינו מהיר וזמין.
מאגרי הכבד- הריכוז הכי גבוה של גליקוגן בגוף. מטרתם איזון ריכוז הגלוקוז בדם (שמירה על הומיאוסטאזיס), כאשר הבקרה על הסינתיזה והפירוק היא בעיקרה הורמונאלית.
מאגרי השריר- השריר מפרק גליקוגן לצורך שימוש עצמי (בניגוד לכבד שמשחרר את הסוכר לדם).

מבנה הגליקוגן:

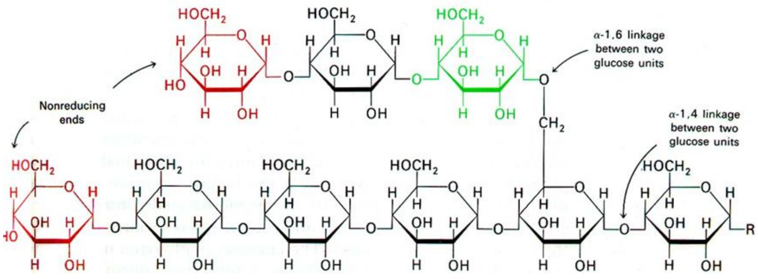
הגליקוגן מצוי בתוך גרנולות של גליקוגן שמסביבן יש אנזימים הקשורים בסינתיזה ובפירוק, המצויים תחת בקרה הורמונאלית ואלוסטרית.



הגליקוגן הינו פולימר המורכב ממולקולות גלוקוז הקשורות בקשר α-1,4. הסיעוף בפולימר מעלה את המסיסות של המולקולה והופך אותה לג'ל- חומר שיש בו הרבה מאוד מים- חצי מוצק וחצי מסיס.

היתרון בג'ל: מצב פתוח עם ריבוי קצוות מחזרים המאפשר גישה למספר אנזימים שיכולים לסנתז גלוקוז במקביל.

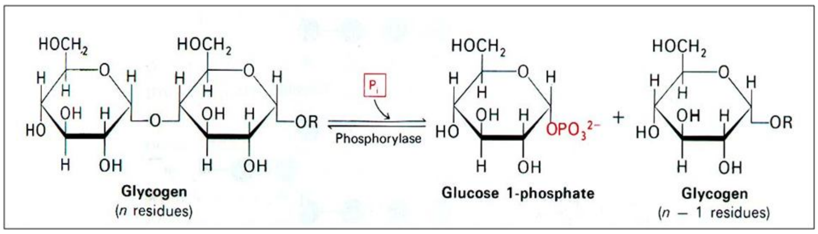
<u>הערה:</u> ישנם גם קשרי α-1,6 שלא לומדים עליהם בקורס.



פירוק גליקוגן:

פוספורוליזה:

הפירוק מתרחש בהידרוליזה של הקשר ע"י הכנסת יון פוספט.
האנזים Glycogen Phosphorylase מבקע את הקשר הגליקולידי בעזרת הכנסת פוספט אנאורגני Pi.
<u>תוצרים:</u> Glucose-1-phosphate ופולימר גליקוגן קטן ב-1.
<u>יתרון הריאקציה:</u> נותנת סוכר מזורחן ובכך חוסכת ATP.
הריאקציה היא הפיכה לגמרי אך בפועל היא משמשת לפירוק בלבד.

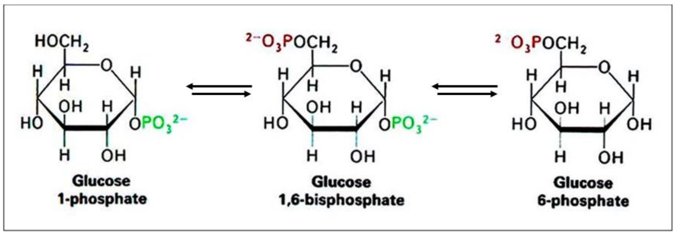


$$\text{Glycogen}_{n+1} + \text{Pi} \rightleftharpoons \text{Glycogen}_n + \text{glucose 1-phosphate}$$

©ענת עציון

איזומריזציה מ-G1P ל-G6P:

הגליקוליזה דורשת G6P ולא G1P ולכן האנזים: Phosphoglucomutase יודע להעביר בין שתי הצורות.
בתאי השריר G6P ייכנס לגליקוליזה.
בכבד, קורית ריאקציה נוספת.



הפיכת G6P לגלוקוז (רק בכבד):

בכבד ישנו אנזים נוסף (שלא קיים בשריר): Glucose-6-pohsphatase שהופך G6P לגלוקוז ע"י הורדת הפוספט. זה מאפשר לגלוקוז שכעת אינו טעון שלילית לצאת מהכבד אל הדם, במצב שהוא בין ארוחות. באופן זה הכבד שומר על ההומיאוסטאזיס של רמות הסוכר בדם.

$$\text{Glucose 6-phosphate} + H_2O \xrightarrow{\text{Glucose 6-phosphatase}} \text{Glucose} + Pi$$

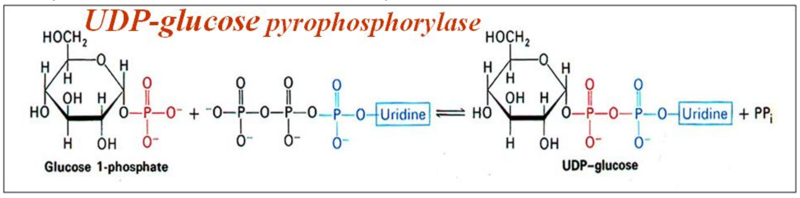
סינתיזת גליקוגן:

פוספורילציה ואיזומריזציה (מ-G ל-G1P):

גלוקוז ל-G6P: תחילה קורית פוספורילציה של גלוקוז ל-G6P (הריאקציה הראשונה בגליקוליזה).
יצירת גליקוגן קורית כאשר ריכוז הגלוקוז הינו גבוה. בתאי הגוף האנזים המקטלז את הריאקציה הוא: Hexokinase. בכבד קיים גם Glucokinase אשר פעיל טוב יותר בריכוזי גלוקוז גבוהים והוא זה אשר מקטלז את הריאקציה.
G6P ל-G1P: אותה ריאקציית איזומריזציה המקוטלזת ע"י Phosphoglucomutase.

שפעול הגלוקוז:

האנזים UDP-glucose pyrophosphorylase אשר הינו נשא של UTP (Uridine עם שלושה פוספטים) נקשר ל-G1P ליצירת UDP-glucose. בסה"כ: הושקעו שני קשרים עתירי אנרגיה.

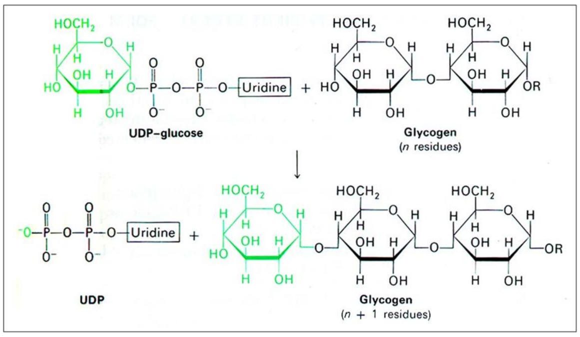


הוספת גלוקוז לפולימר:

האנזים Glycogensynthase מעביר את הגלוקוז מהנשא UDP אל עמדה פנויה בגליקוגן (עמדה-4).

מחזור של UTP:

UDP נהפך לטרי-פוספט לאחר העברה של פוספט מ-ATP. ואז הוא חוזר למצבו הפעיל.

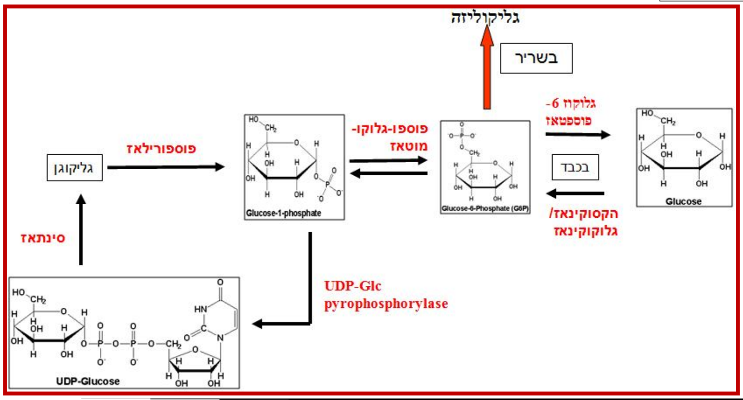


$$UDP + ATP \rightleftharpoons UTP + ADP$$

In general:

$$XDP + YTP \rightleftharpoons XTP + YDP$$

סיכום תהליכי פירוק וסינתיזה:



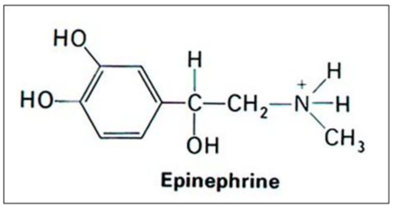
©ענת עציון

בקרה הורמונאלית

המערך ההורמונאלי של אינסולין/גלוקגון פועל בכבד במטרה לשמור על ריכוז קבוע של גלוקוז בדם.
בשריר ההורמון אפינפרין המאותת על מצב חירום מזרז פירוק בדומה לגלוקגון.

ההורמונים:

אינסולין: כבד ושריר. מזרז גליקוליזה ומעכב גלוקוניאוגנזה.
גלוקגון: בעיקר בכבד. מזרז פירוק גליקוגן וגלוקוניאוגנזה.
אפינפרין: בשריר. מיועד לשפעול השריר במצב של עקה (fight or flight) על-מנת לספק גלוקוז זמין.
זהו הורמון פשוט, נגזרת של החומצה האמינית טירוזין.
לעומתו, אינסולין וגלוקגון הם הורמונים פפטידיים, הם לא יכולים להיכנס פיזית אל תוך התא.

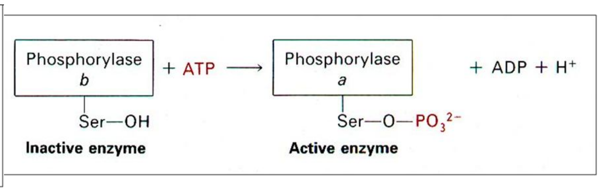


מנגנון הבקרה:

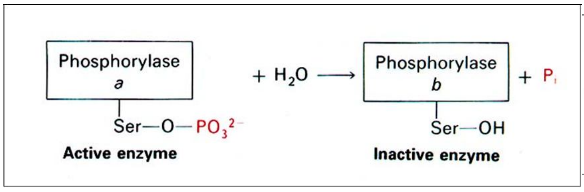
ההורמונים משפיעים בעיקר ע"י פוספורילציה.

האנזים פוספורילאז

מזורחן ע"י פרוטאין קינאז והופך לפעיל:



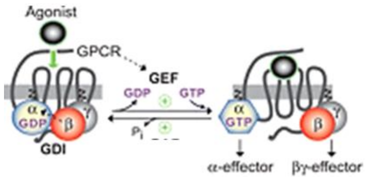
דהפוספורילציה ע"י פרוטאין פוספטאז:



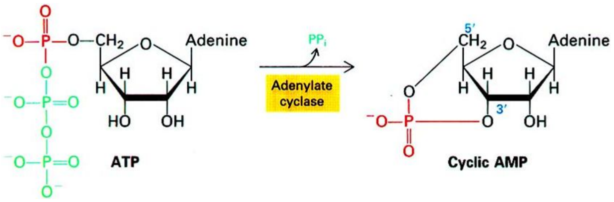
פירוק גליקוגן:

1. קליטת אפינפרין או גלוקגון ע"י הרצפטור שעל-פני התא.

2. הסינגנאל גורם להעברת G-protein ע"י זירוז שחלוף GDP ב-GTP ויש שפעול ושחרור של האנזים adenylyl cyclase. הידרוליזה של ה-GTP תפסיק את הפעילות.



3. adenylyl cyclase יוצר cAMP (מ-ATP).
cAMP: חומר מאוד מוזר- פוספט ציקלי בעמדות 3 ו-5, וישנו מתח טבעתי מאוד גבוה. הידרוליזה של cAMP נותנת יותר אנרגיה מ-ATP.

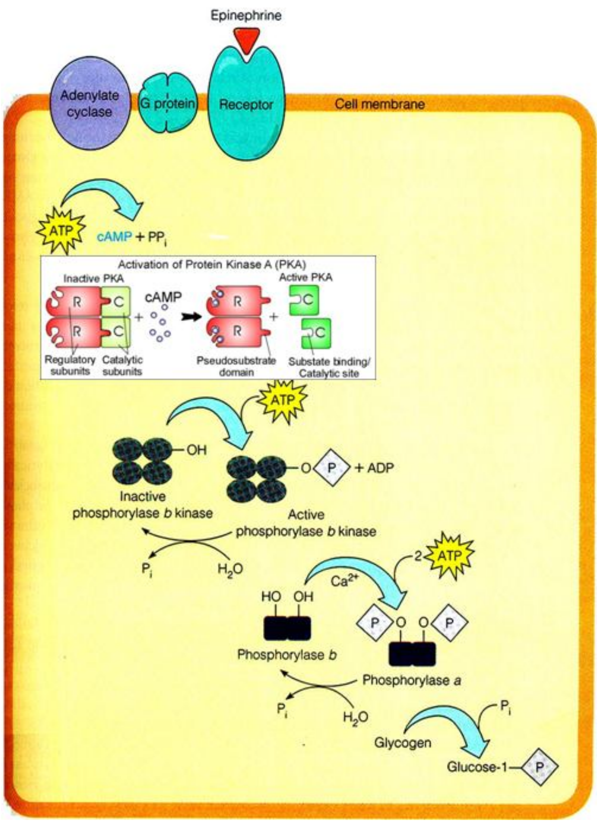


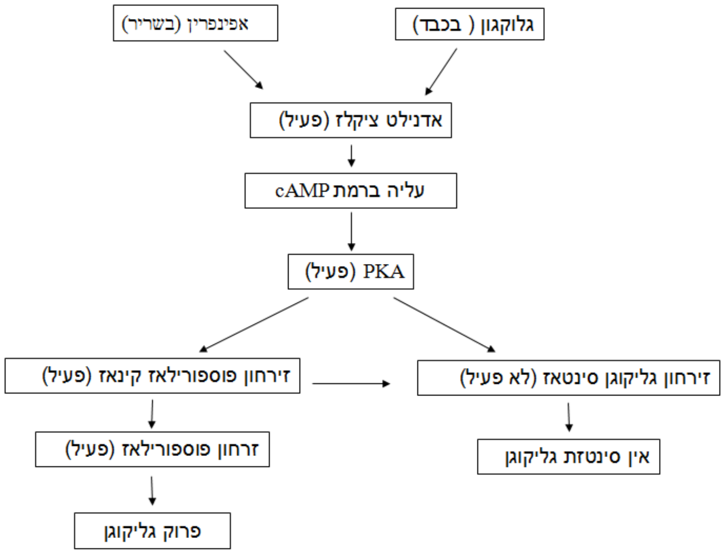
4. PKA: טטראמר בעל שתי יחידות רגולטוריות מסוג: R ושתי יחידות קטליטיות מסוג: C.
במצב הטטראמרי האנזים הוא בלתי פעיל. ה-cAMP נקשר ל-2 אתרים על כל תת-יחידה רגולטורית וכאשר הם מאוכלסים, יש שינוי קונפורמציה וזה גורם לניתוק מתת-היחידה הקטליטית. לאחר-מכן גם שתי תת-היחידות הקטליטיות עוברות דיסוציאציה ביניהן למצב מונומרי.

5. PKA (תת-יחידה קטליטית) מזרחן את:
   5.1 פוספורילאז קינאז והופך אותו לפעיל.
   5.2 גליקוגן סינתאז והופך אותו לבלתי פעיל ואז אין סינתיזה של גליקוגן.

6. פוספורילאז קינאז מזרחן את פוספורילאז מ-b ל-a ומשפעל אותו. זהו האנזים שמפרק גליקוגן. (***הגברת סיגנאל***)

©ענת עציון





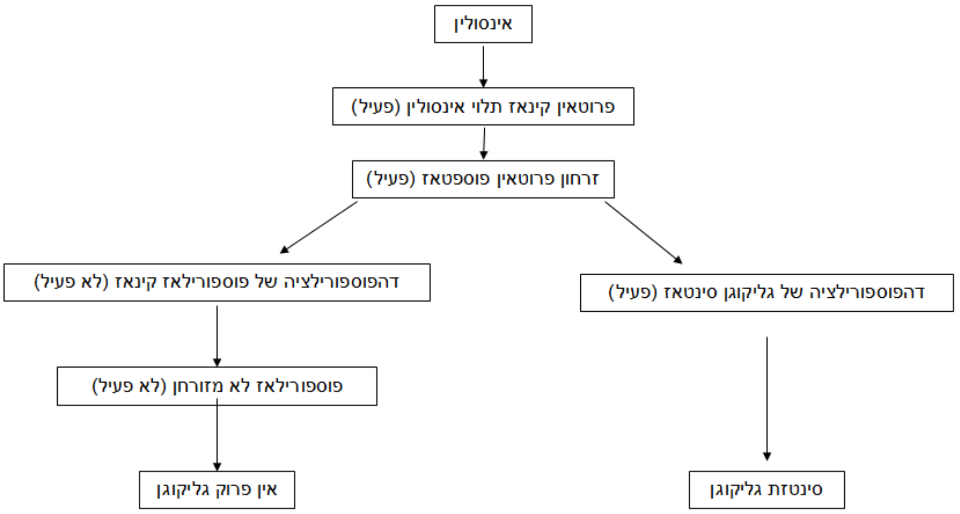
סינתיזת גליקוגן:

1. קליטת אינסולין ע"י הרצפטור שעל-פני התא.

2. הרצפטור שהוא טירוזין קינאז משופעל, הוא אנזים שמזרחן שיירי טירוזין. ומזרחן פרוטאין קינאז.

3. פרוטאין קינאז מזרחן ומשפעל את פרוטאין פוספטאז.

4. פרוטאין פוספטאז משפעל ע"י דה-פוספורילציה את:
   4.1 גליקוגן סינתאז b ל-a. וזהו האנזים שמסנתז גליקוגן.
   4.2 פוספורילאז a ל-b, המצב הלא פעיל. אין יותר פירוק של גליקוגן.



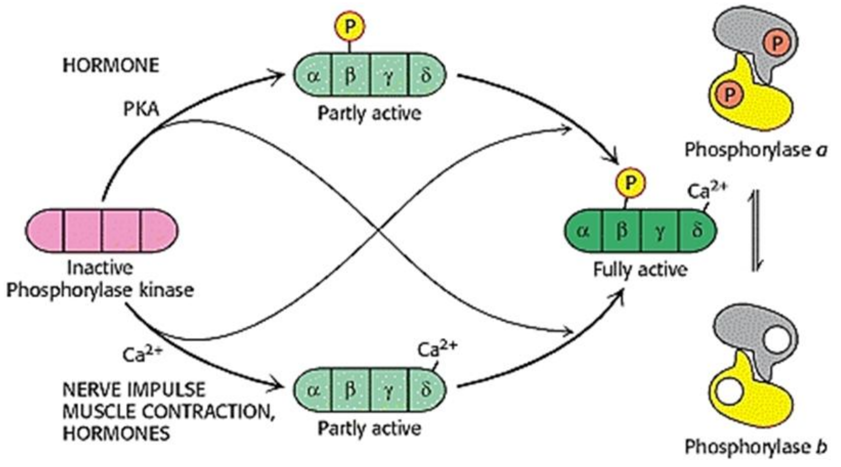
©ענת עציון

בקרות נוספות של פוספורילאז קינאז:

בקרה בשריר ע"י Ca:

בשריר הנמצא במאמץ ישנו מנגנון נוסף של בקרה ע"י יוני סידן אשר מסוגלים ישירות להפעיל את הפוספורילאז קינאז ע"י בקרה אלוסטרית. (עזרה נוספת בהאצת פירוק הגליקוגן).

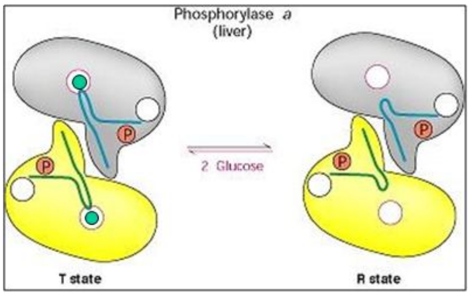
1. עצב שולח סיגנאל לשריר ע"י שחרור יון Ca^{+2}.
2. היון נקשר לתת-יחידה δ וכך הוא מאקטב את האנזים. להיות פעיל חלקית.
3. זרחון האנזים בתת-יחידה β גורם לו לשפעול מלא (נגרם ע"י סיגנאל הורמונלי גלוקגון/אפינפרין).



בקרה אלוסטרית ספציפית לרקמה:

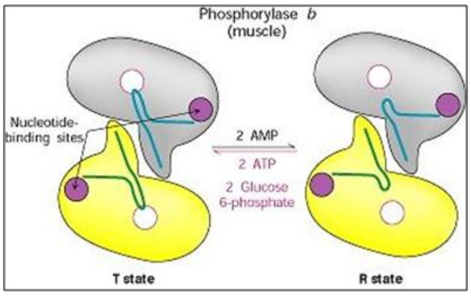
כבד:

גלוקוז גורם לפוספורילאז להיות פחות פעיל. הוא עוזר לאנזים לעבור דה-פוספורילציה וגם גורם להפעלה של הגליקוגן סינתאז. מעביר את הפוספורילאז לצורה בלתי פעילה (T), אפילו כאשר הוא מזורחן.



שריר:

1. לא גלוקוז, אלא G6P, הוא זה שמעכב את הפעילות של הפוספורילאז באותו המנגנון.
2. הבקרה העיקרית קשורה למטען אנרגיה. מתבצע עיכוב של זרחון הפוספורילאז. כאשר השריר במצב של מאמץ, ה-ATP יכול להתפרק עד ל-AMP והוא נקשר ומזרז את הפוספורילאז. ולכן כאשר ישנה רמה גבוהה של ATP, הוא מתחרה על אתר הקישור של AMP ולכן רמה גבוהה של ATP מעכבת את הפוספורילאז.

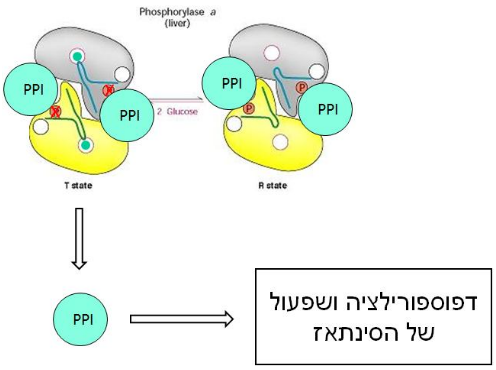


מעבר מפוספורילאז לסינתאז בהשפעת גלוקוז:

הפוספטאז הדרוש לאקטיבציית הסינתאז קשור חזק לפוספורילאז הפעיל, אבל אין לו גישה לאתרי הזרחון עקב קונפורמציה של האנזים.

כאשר גלוקוז נקשר, הוא גורם לשינוי קונפורמציה ואז אתרי הזרחון כן זמינים לפוספטאז והא מבצע דה-פוספורוליציה.

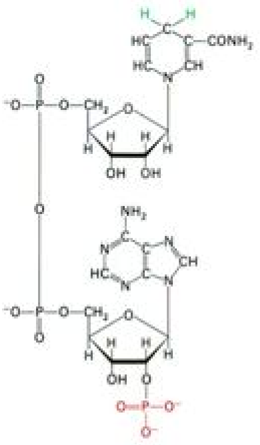
לאחר-מכן הוא מאבד את האפיניות שלו לפוספורילאז, מתנתק ממנו, מגיע אל הסינתאז ומשפעל אותו ע"י דה-פוספורילציה.



©ענת עציון

מעגל הפנטוזות

מסלול שתפקידו העיקרי הוא אנבולי. מטרתו ליצור חומר מחזר: NADPH הדרוש לריאקציות שונות של סינתיזה בתא. זהו המסלול היחידי בתא המייצר NADPH. השם נובע מהשתתפות של מספר פנטוזות (C5) במסלול. המסלול פועל כמעט בלעדית בכבד- בציטוזול, אבל גם בכדוריות הדם האדומות, כי NADPH נחוץ שם להגנה על ההמוגלובין מפני חמצון.



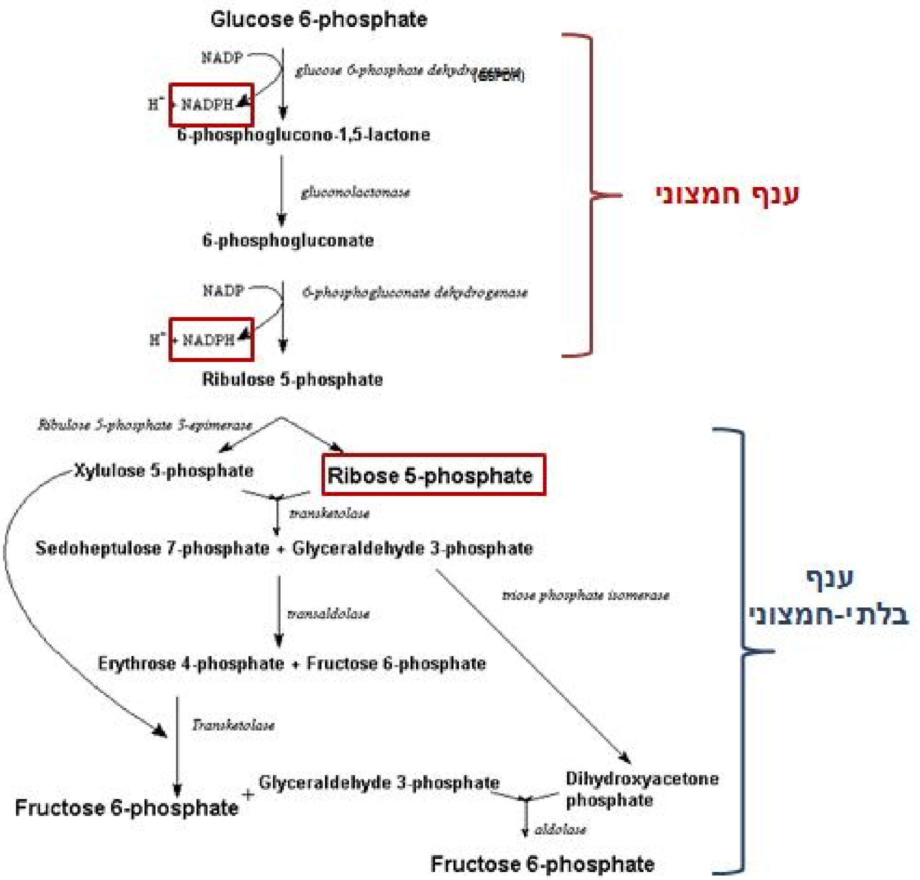
Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)

:$NADP^+$

זהו NAD^+ עם זרחון בעמדה 2 של הסוכר.

NADPH הוא חומר מחזר, אשר נוטה לתרום אלקטרונים ולהתניע בכך תגובות כימיות רבות בתא. בניית חומצות שומן (המתבצעת בעיקר בכבד) ובניית הורמונים סטרואידים המבוססים על כולסטרול, הינם שני תהליכים הדורשים אלקטרונים רבים, והללו נתרמים ע"י NADPH.

המסלול:



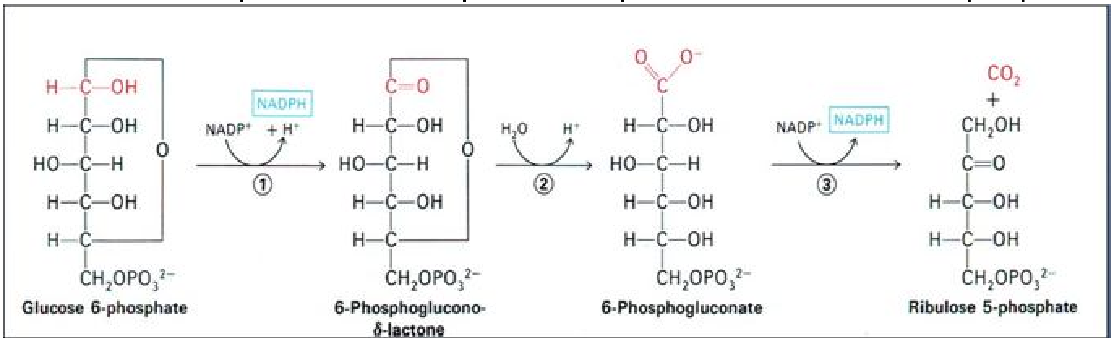
בניגוד למסלולים אחרים שהלכו במעגל או בקו ישר, מסלול זה הוא מסועף והענפים השונים אליהם המסלול ילך הם לפי צורכי התא.

©ענת עציון

<u>הענף החמצוני:</u>

גלוקוז-6-פוספט עובר חמצון בשני שלבים עוקבים:

1. חמצון ע"י $NADP^+$ של השייר האלדהידי לשייר של חומצה קרבוקסילית.
2. דה-קרבוקסילציה חמצונית ע"י $NADP^+$ תוך הוצאת פחמן כ-CO_2 והפיכה מהקסוז לפנטוז.



Sum: Glc6P + 2 NADP⁺ ⟶ Ribulose5P + 2 NADPH + CO₂

<u>בסה"כ:</u> 2 מולקולות NADPH מכל מולקולת G6P.

<u>האנזימים בתהליך:</u>

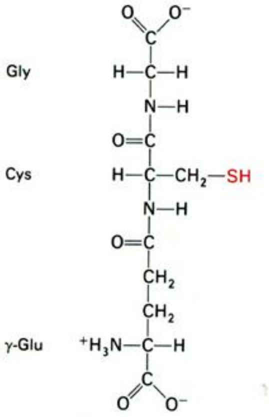
(1) glucose 6-phosphate dehydrogenase.

(2) gluconolactonase.

(3) glucose 6-phosphate dehydrogenase.

האנזים (1) (שהוא גם (3)) נמצא תחת בקרה אלוסטרית: מזורז ע"י $NADP^+$ ומעוכב ע"י NADPH.

<u>גלוטטיון ו-NADPH:</u>



Reduced glutathione (γ-Glutamylcysteinylglycine)

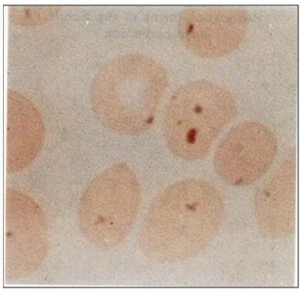
הציטוזול של התאים שלנו הוא סביבה מחזרת, בחלבונים אין קשרי S-S. ברגע שיש נוכחות רבה של חמצן, ישנם תהליכים חמצוניים בתא ונוצרים רדיקלים חופשיים שיכולים לפגוע בחלבונים. גלוטטיון הוא חומר מחזר שמגן על התא מנזקי חמצון. הוא שומר על המצב המחוזר של שיירי SH. זהו טריפפטיד שיש בו ציסטאין עם קשר SH.

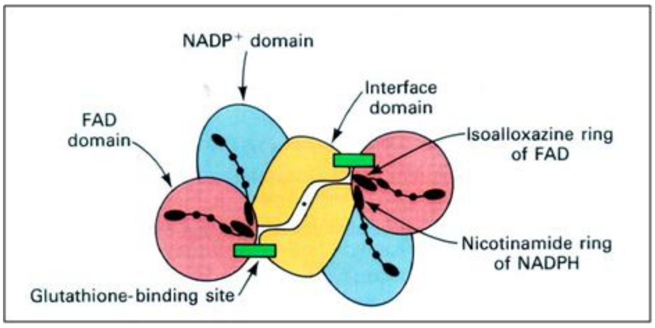
כשהוא במצב מחוזר-GSH, שייר התיול שלו (SH) יכול להגיב עם רדיקלים חופשיים ולנטרל אותם ע"י העברת אלקטרון- אם נוצר קשר S-S הוא תוקף אותו, פותח אותו ומחזר אותו. ואז הוא עובר למצב מחומצן-GSSG שבו שתי מולקולות נקשרות זו לזו בקשר דיסולפידי.

לאחר מכן, ה-NADPH מחזר אותו בחזרה למצבו המקורי.

$$GSSG + NADPH \longrightarrow 2GSH + NADP^+$$

האנזים בתהליך: **Glutathione reductase**.





נזקי חמצון גדולים נצפה לראות בכדוריות הדם האדומות, כי הן נושאות מולקולות של חמצן. בכדוריות דם אדומות אין כמעט שום פעילות,כי אין בהם מיטוכונדריות. מה שיש בהן זה גליקוליזה ומסלול הפנטוזות. NADPH מחזר גלוטטיון אשר מגן על ההמוגלובין מנזקי חמצון.

<u>בהיעדר גלוטטיון מחוזר:</u> ההמוגלובין מתחמצן ויוצר אגרגטים (של המוגלובין) השוקעים על ממברנת הכדורית ופוגמים ביציבותה, יש ליזיס. המחלה נפוצה כי היא מקנה עמידות ממלריה.

©ענת עציון

הענף הבלתי חמצוני:

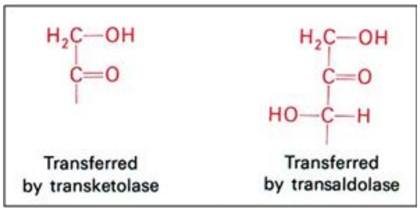
אין תלות בין הענף החמצוני לענף הבלתי חמצוני. ניתן להתחיל את הענף החמצוני גם מכיוון אחר ולאו דווקא מתוצרי הענף החמצוני. נצפה לראות את הענף הזה פעיל בתאים שמתחלקים הרבה.
הענף הבלתי חמצוני מאפשר לעשות רגנרציה של 5 הקסוזות מ-6 פנטוזות.

$$C_5 + C_5 \underset{}{\overset{\text{Transketolase}}{\rightleftharpoons}} C_3 + C_7$$

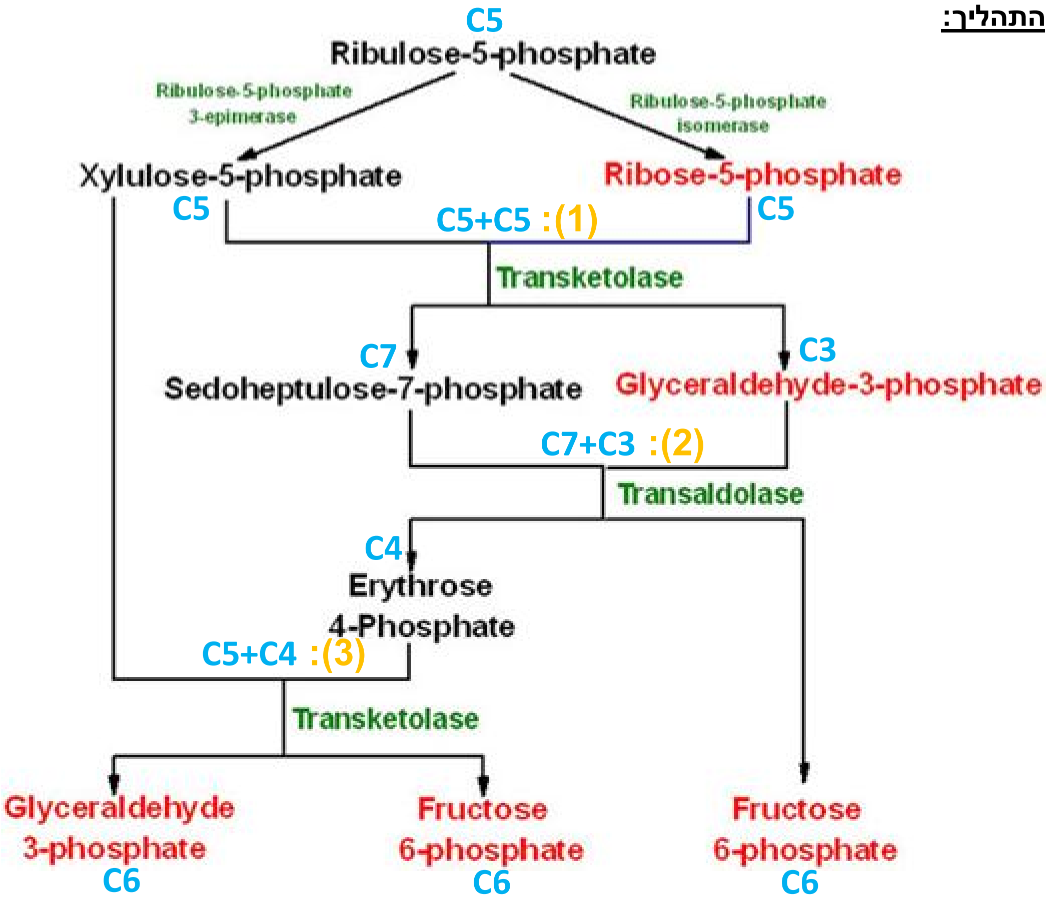
$$C_7 + C_3 \underset{}{\overset{\text{Transaldolase}}{\rightleftharpoons}} C_4 + C_6$$

$$C_5 + C_4 \underset{}{\overset{\text{Transketolase}}{\rightleftharpoons}} C_3 + C_6$$

במסלול ישנם אנזימים אשר יודעים להעביר קבוצות קטוניות משרשרת פחמתית אחרת לאחרת:
Transketolase: מעביר קבוצה קטונית בעלת 2C.
Transaldolase: מעביר קבוצה קטונית בעלת 3C.

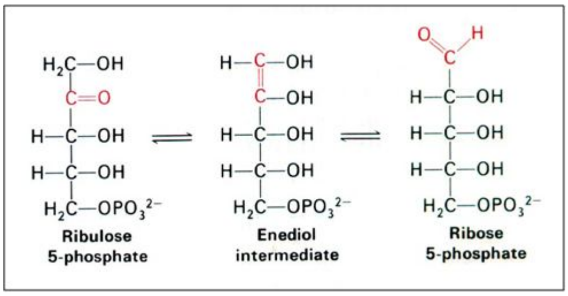


התהליך:

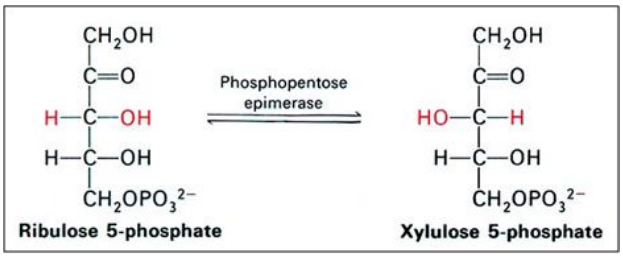


©ענת עציון

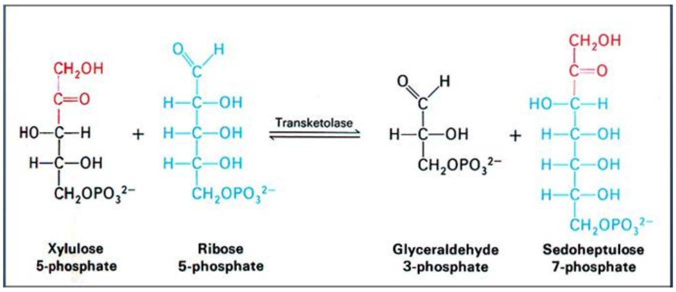
1. ריבולוז 5-פוספט עובר דרך תוצר ביניים enediol לקבלת ריבוז 5-פוספט.



2. ריבולוז 5-פוספט יכול גם להמשיך לכיוון אחר: מעבר לקונפיגורציה אחרת: קסילוז 5-פוספט.

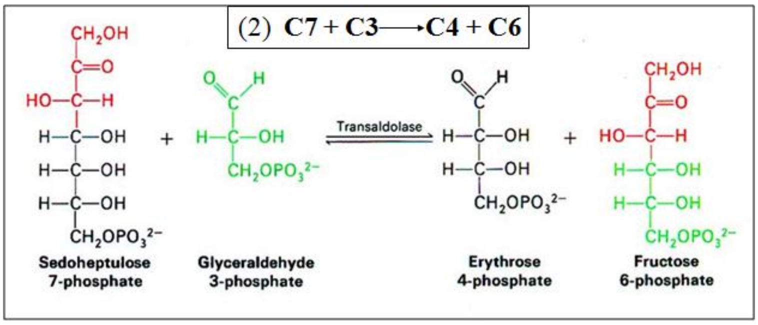


3. ריבוז 5-פוספט וקסילוז 5-פוספט יכולים לעבור אינטראקציה בנוכחות Transketolase: העברת קבוצה קטונית לריבוז לקבלת G3P (שיכול להיכנס למסלול הגליקוליזה) וסדוהפטוז 7-פוספט.

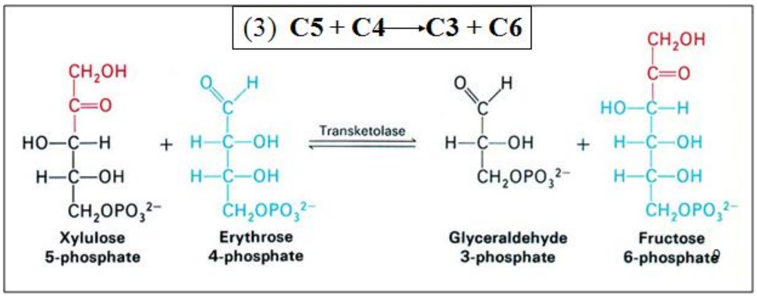


(1) C5 + C5 ⟶ C3 + C7

4. G3P יכול להגיב עם הסדוהפטוז 7-פוספט בנוכחות Yransaldolase לקבלת אריתרוז 4-פוספט וF6P (אשר במידת הצורך יכול להיכנס למסלול הגליקוליזה).

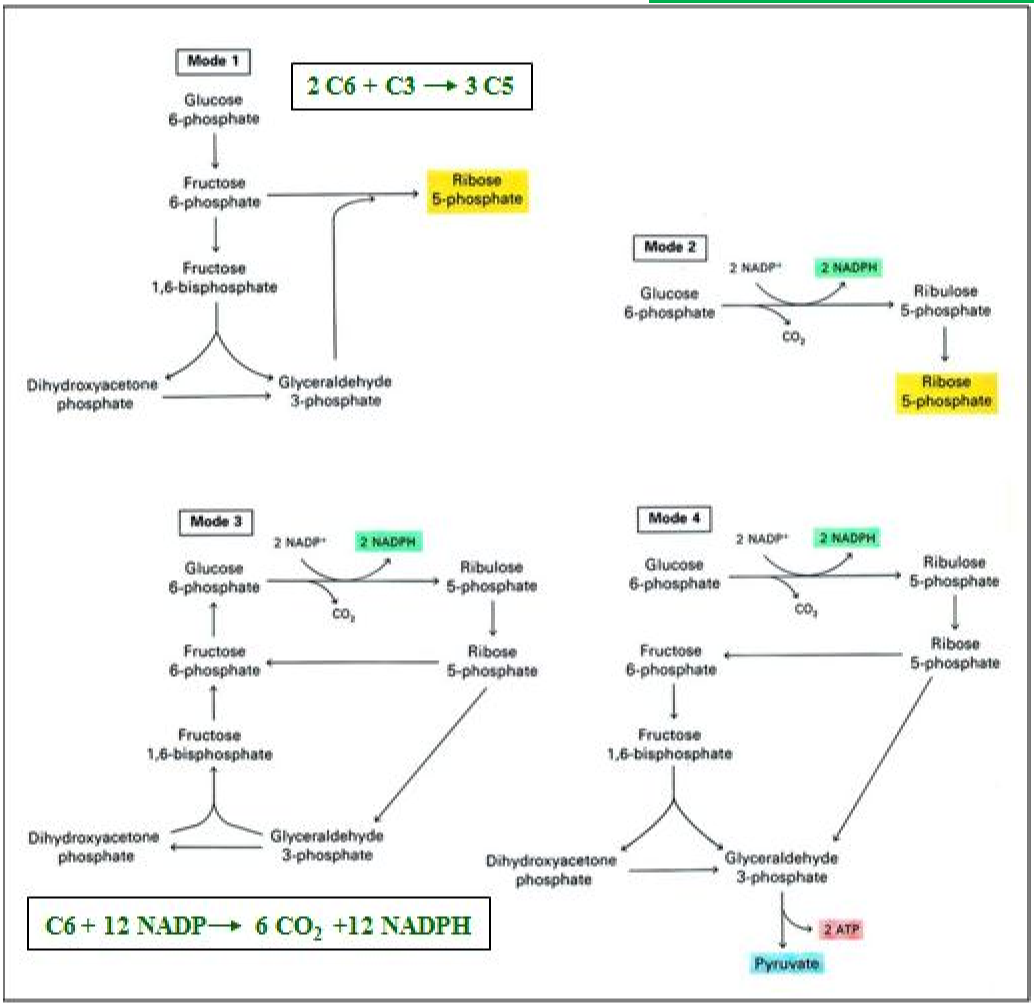


5. קסילוז 5-פוספט ואריתרוז 4-פוספט מגיבים בנוכחות Transketolase לקבלת G3P ו-F6P (שני חומרי ביניים בגליקוליזה).



©ענת עציון

Modes שונים למסלול הפנטוזות:

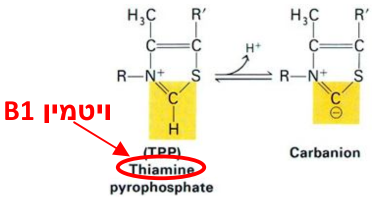


Mode-1: הענף הבלתי חמצוני מאוד עיקרי ברקמות מתחלקות, על-מנת לספק ריבוז 5-פוספט.

Mode-2: הענף החמצוני: דרך נוספת לקבל ריבוז 5-פוספט מ-G6P.

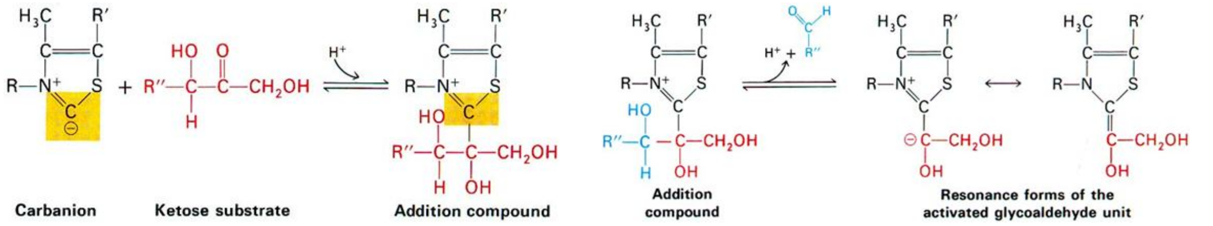
Mode-3: מעגל דרך הענף החמצוני אל הענף הבלתי חמצוני ליצירת NADPH.

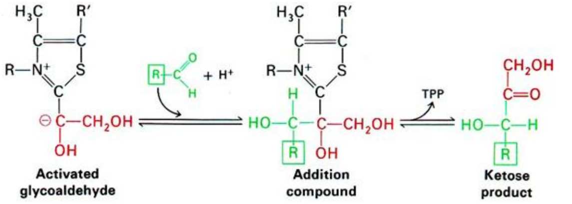
Mode-4: מסלול מהענף החמצוני אל הענף הבלתי חמצוני ליצירת NADPH וחומרי-ביניים של הגליקוליזה.



TPP ומעורבותו במנגנון הפעולה של Ketolase:

ל-TPP יש מימן מאוד חומצי שנוטה לעזוב ולהשאיר קרבאניון.
הקרבאניון תוקף את הפחמן הקרבונילי של הסובסטראט הסוכרי ונוצרת תרכובת ביניים המשחררת אלדוז (סוכר אלדהידי) תוך יצירת גליקואלדהיד משופעל.

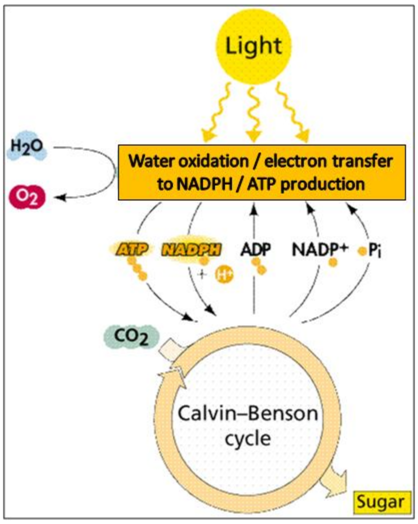




ואז נדחסת קבוצת קרבוניל השייכת לסוכר אחר, עם הגליקואלדהיד המשופעל ונוצר קטוז ו-TPP משתחרר למחזור ריאקציות חדש.

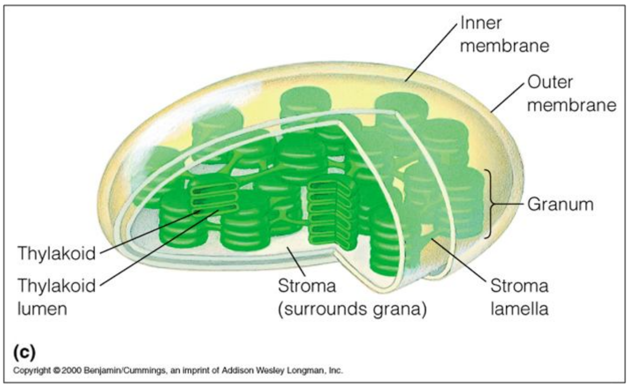
©ענת עציון

מעגל הפחמן בטבע



Light reaction: שימוש באנרגיית האור בשביל ליצור חומרים עתירי אנרגיה. הריאקציה שוברת את המים לחמצן, את האלקטרונים מעבירה ל-$NADP^+$ ליצירת NADPH. ADP ופוספט הופכים ל-ATP.

Dark reaction: קורית גם באור אך דורשת ATP ולכן לא תלויה ישירות באור אלא בעקיפין כי ATP נוצר בשלב השני.

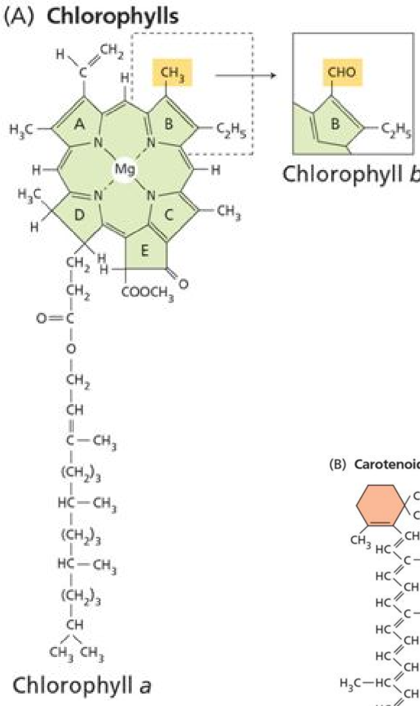


פוטוסינתזה:

הפטוסינתיזה קורית בכלורופלסט. הקיפולים בו נקראים:

תילקואידים: ממברנות שיושבות אחת על השניה ויוצרות שטח פנים מאוד גדול.

סטרומה: החלק המסיס של הכלורופלסט. פרוטונים נשאבים מחוץ לסטרומה ואל תוך התילקואידים.



ספקטרום הפוטוסינתזה: ככל שאורך הגל הוא קצר יותר, יש בו יותר אנרגיה. הספקטרום של הפוטוסינתזה מתחיל בתחום האור הנראה ויש גם שימוש בקרינת אינפרא-אדום.

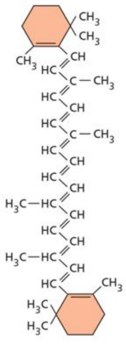
פיגמנטים:

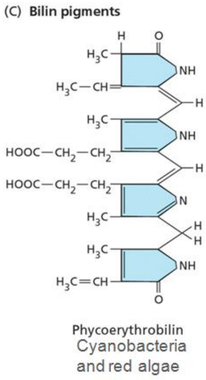
פיגמנטים רבים עוזרים בספיחת אנרגיית האור אבל רק כלורופילים משתתפים ישירות בהעברת אלקטרונים.

כלורופילים: פיגמנטים המנצלים את האור. יש להם טבעת פורפירינית (כמו להמוגלובין) אבל יש להם Mg ולא ברזל בטבעת. זהו יון שלגמרי לא יכול לעבור חמצון-חיזור.

ישנם שני סוגים עיקריים של כלורופילים: A ו-B.

יש להם הידרופוביות שעוזרת לארגונם בממברנות.



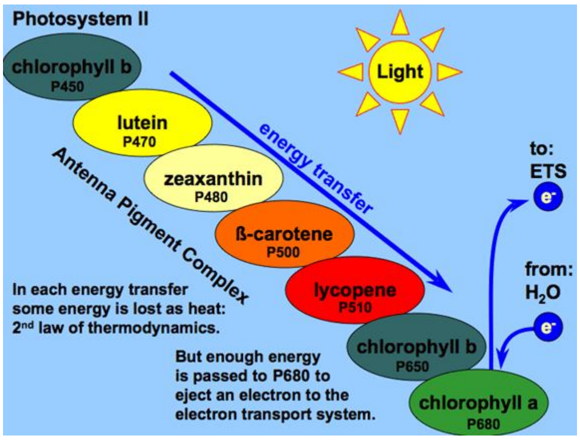


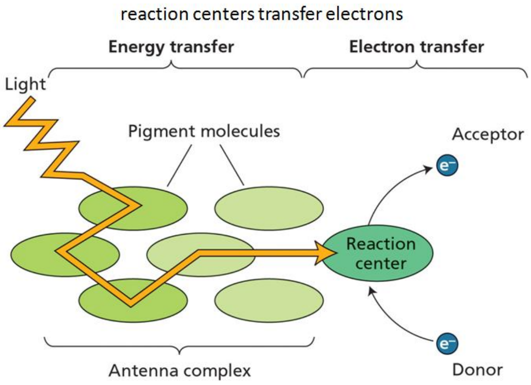
קרטנואידים: חומר מוצא לויטמין A. בעלי צבע ויש להם קשרים מצומדים ארוכים.

©ענת עציון

:Antenna pigment complex

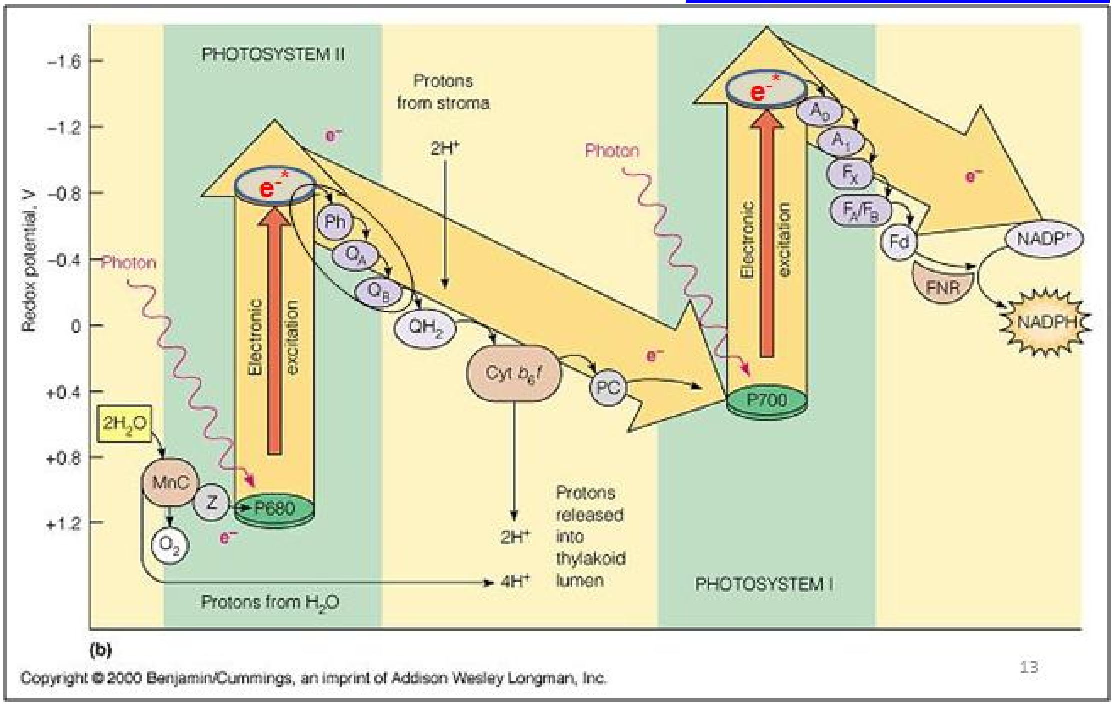
Antenna: קומפלקס של פיגמנטים מסביב לכלורופיל. הם בולעים באורכי גל שונים ומעבירים אנרגיה ביניהם עד שהיא מגיעה ל-reaction center.
בכל מעבר של אנרגיה, חלק ממנו אובד לחום. אבל מספיק מן האנרגיה מגיעה ל-P680 ומאפשרת לו להוציא אלקטרון לשרשרת מעבר האלקטרונים.





הפיגמנטים מעבירים ביניהם אנרגיה ולא אלקטרונים. רק כשהאנרגיה מגיעה ל- reaction center והוא משחרר אלקטרון, אז מתחילה שרשרת העברת האלקטרונים.

:תהליך העברת האלקטרונים

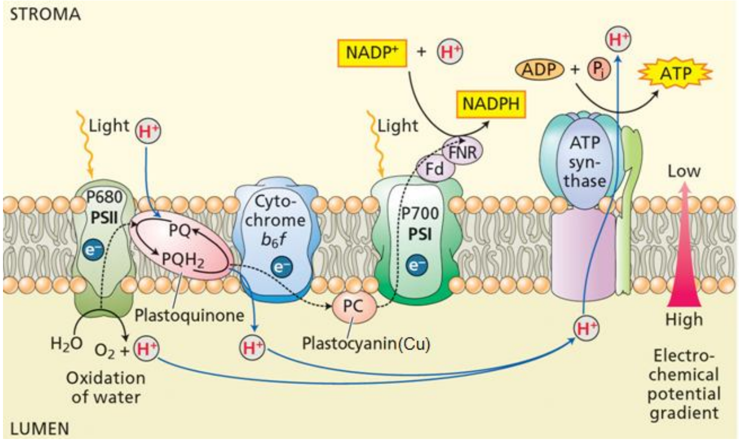


:Photosystem II

אנרגיה מהאור מגיעה עד ל-reaction center-**P680**. אין תגובה ישירה עם המים, ישנו **MnC**- קומפלקס המטפל במים ישירות ומעביר אלקטרונים ל-**P680**.
P680 משחרר אלקטרון בעל אנרגיה גבוהה, אשר עובר דרך שרשרת של נשאי אלקטרונים:
Ph: כלורופיל חסר Mg (ולכן יש לו פוטנציאל חיזור מאוד גבוה). הוא קולט ראשון את האלקטרון ומעביר אותו לשני **קואנזים Q**.
Pc: ספוח לממברנה וקולט את האלקטרון ומעביר אותו ל-Photosystem I.

©ענת עציון

<u>גרדיאנט הפרוטונים:</u>

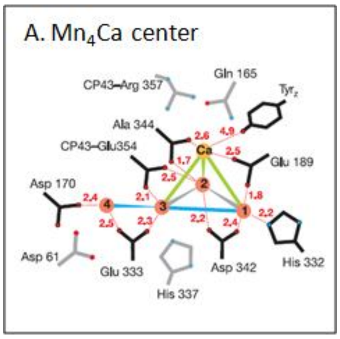


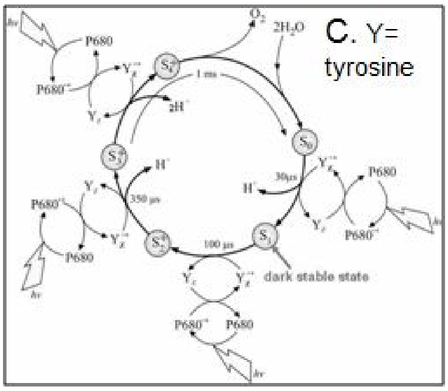
במעבר בין שני ה-photosystems נוצר גרדיאנט פרוטונים. בכלורופלסט הפרוטונים נשאבים לתוך הלומן (ולא החוצה מהכלורופלסט), אבל אל מחוץ לסטרומה.

מקור הפרוטונים: b_6f מעביר 2 פרוטונים וגם ביקוע של המים שהעביר אלקטרונים בתחילת התהליך.

לכל זוג אלקטרונים, מועברים 4 פרוטונים.

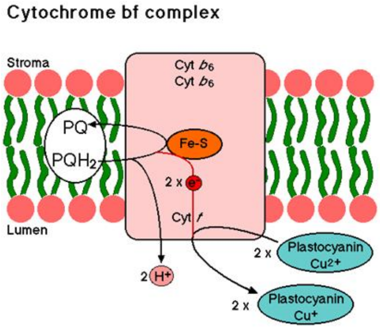
<u>ביקוע המים למימן וחמצן:</u>



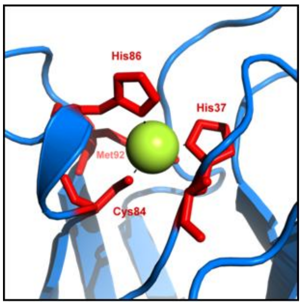


ב-MnC ישנו קומפלקס ובו יון סידן ו-3 יוני Mn. הוא מטפל בו-זמנית בשתי מולקולות מים: הן נקשרות לשני יוני Mn, המים מוסרים 4 אלקטרונים ל-P680 דרך החומצה האמינית טירוזין שכתוצאה מכך הופכת לרדיקל חופשי.

<u>קומפלקס ציטוכרום bf:</u>

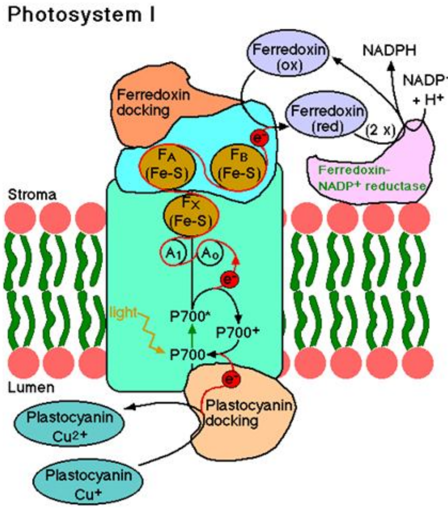


דומה לקומפלקס III בשרשרת מעבר האלקטרונים: מעביר שני פרוטונים מהסטרומה אל תוך הלומן, דרך מעגל של ציטוכרומי Q.



PC: הפלסטו-ציאנין מתפקד כמו ציטוכרום C אבל זהו אנזים שעובד עם נחושת- Cu.

<u>Photosystem I:</u>



הוא מקבל מהפלסטו-ציאנין את האלקטרון, אך זה לא מספיק אנרגטי ולכן ישנו תהליך אקסיטציה (בעזרת האור).

בסופו של דבר האלקטרון מגיע לפרו-רדוקסיד אשר מתפקד כקופטור של ריאקציות חמצון-חיזור.

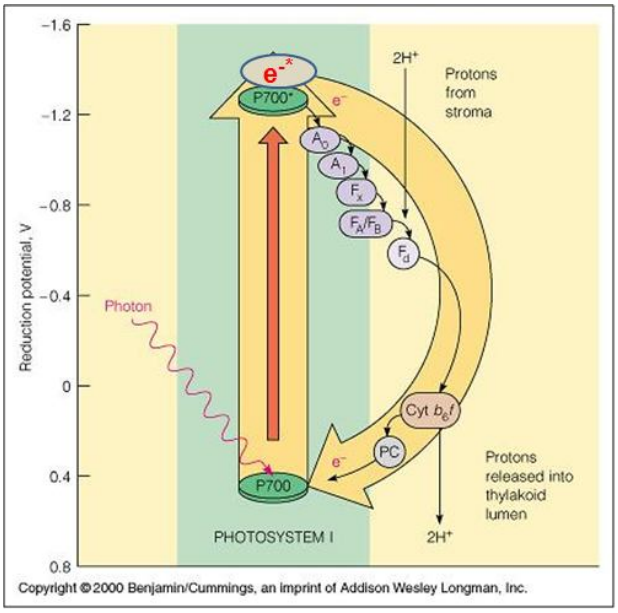
הוא מעביר ל-$NADP^+$ אלקטרון ליצירת NADPH (וישנו גם פרוטון אשר הגיע במקור מהמים).

©ענת עציון

סנתוז ATP ע"י PSI ללא PSII:

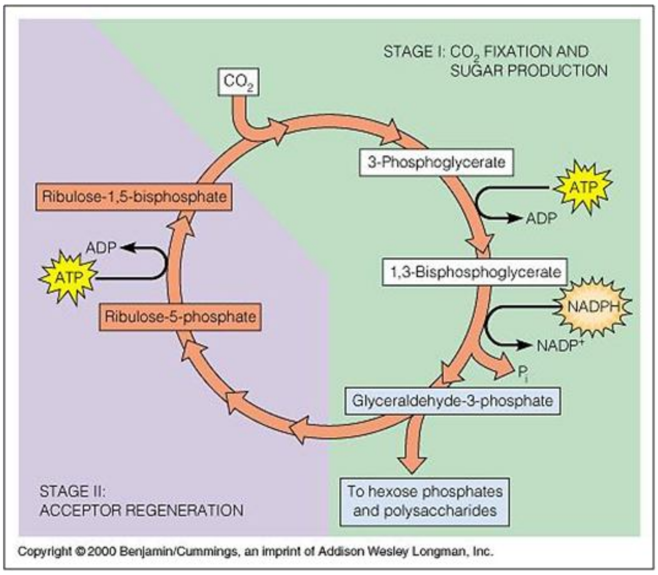
יש ל-photosystem I יכולת לתפקד עצמאית: mode שבו ע"י אור, נוצר אלקטרון עתיר אנרגיה, ואז ישנה אפשרות להחזיר אלקטרון לקומפלקס b_6f ומשם הוא עובר ל-P700 איפה שהמסלול התחיל.

בתהליך זה ניתן לשאוב שני פרוטונים בגלל שיש הפרשי פוטנציאל חיזור, מבלי ליצור NADPH. זה טוב כי ישנם מצבים בהם הכלורופלסט לא צריך NADPH.
במצב שבו לאלקטרונים אין $NADP^+$ ללכת אליו, הם ילכו בחזרה ל-P700.



The dark reaction- מעגל קלווין:

המעגל מנצל את אנרגיית האור שנקלטה בשלבים קודמים של הפוטוסינתזה כדי לייצר סוכרים מ-CO_2. בזכותו מצליחים צמחים וחיידקים להפיק תרכובות אורגניות מתרכובות אי-אורגניות.
המעגל מתרחש בסטרומה שבכלורופלסט. בניגוד לשלב האור שם נדרשת הפרדה ממברנלית ליצירת הפרדה מרחבית של מטענים חשמליים והפרשי ריכוזים משני צידי הממברנה, כאן אין צורך בהפרדה ולכן המסלול מתרחש בחלל הנוזלי של הכלורופלסט.
אמנם המעגל יכול להתרחש ללא אור, אך פעילותו נחלשת בצורה ניכרת בחשיכה.

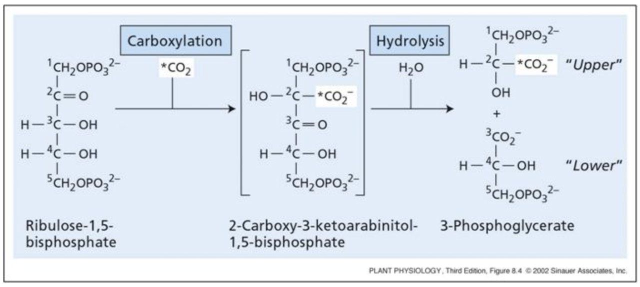


שלבי המעגל:

1. **קיבוע/קרבוקסילציה:** בשלב זה נקלט CO_2 מהאוויר ומתרכב עם הסוכר ריבולוז-1,5-ביספוספט. "קיבוע": שילוב של תרכובת אי-אורגנית בתרכובת אורגנית. לאחר ההתרכבות, מתקבל תוצר ביניים עם 6 פחמנים שמייד מתפצל לשתי תרכובות תלת-פחמניות: 3PG.
2. **חיזור:** ה-3PG מתחזר (מקבל אלקטרונים) והופך לסוכר, שזוהי מטרתו האולטימטיבית של המעגל.
3. **מחזור:** הסוכר-G3P נפלט מהמעגל ומשמש כחומר ביניים ראשוני לסינתזה של תרכובות רבות בתא. ריבולוז-1,5-פוספט מיוצר מחדש כדי שהמעגל ימשיך להתקיים.

האנזים-RuBisCO:

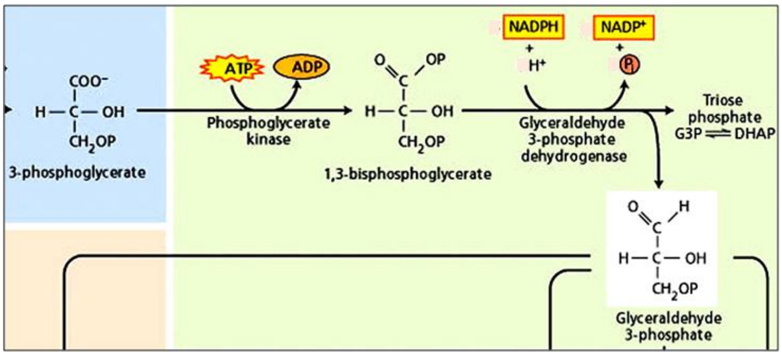
זהו האנזים החשוב ביותר במעגל. זהו האנזים הנפוץ ביותר על-פני כדה"א (בעיקר כי הוא אינו יעיל ולכן נדרש הרבה ממנו לזירוז). הוא מזרז את השלב הראשון במעגל, את שלב הקיבוע (fixation).



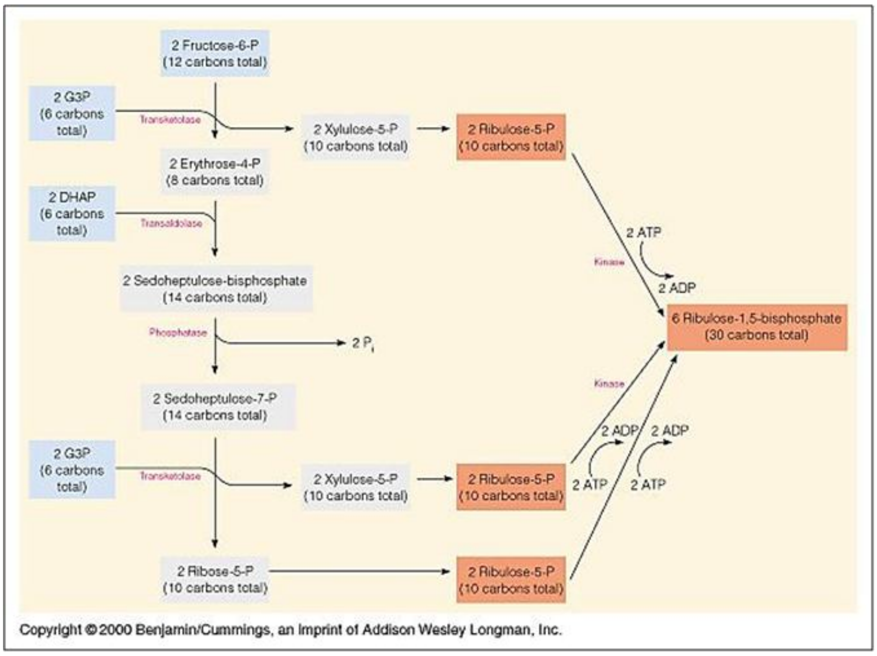
©ענת עציון

נחיצות ATP ונשאי אלקטרונים:
לצורך שינוע המעגל נדרשת אנרגיה המסופקת בצורת ATP, וכן נדרשים אלקטרונים ופרוטונים, המסופקים באמצעות הנשא-NADPH. שני רכיבים אלה מיוצרים בשלב האור של הפוטוסינתזה. האלקטרונים והפרוטונים עצמם מגיעים מהמים- אנרגיית האור גורמת לפיצול מולקולת מים לחמצן, אלקטרונים ופרוטונים. החמצן נפלט לאוויר והאלקטרונים והפרוטונים משמשים לחיזור CO_2.

יצירת הסוכר במעגל:
ריאקציה דומה לזו שיש בגלוקוניאוגנזה, רק שכאן יש שימוש ב-NADPH ולא ב-NADH.



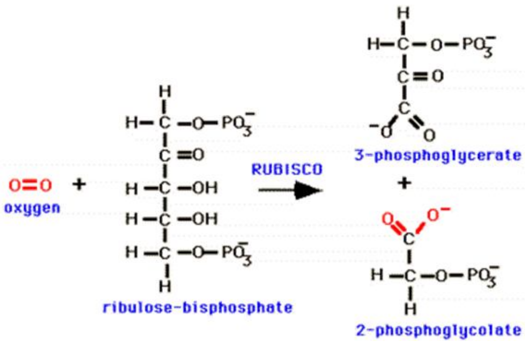
המחזור של ריבולוז-1,5-ביספוספט: נעשה ברובו דרך ריאקציות של מעגל הפנטוזות.



הניצולת של המעגל: 30-40% (ניצול אנרגיה ליצירת הסוכר)

$6\ CO_2 + 11\ H_20 + 12\ NADPH + 18\ ATP \rightarrow$ Fructose 6-phosphate $+ 12\ NADP^+ + 6\ H^+ + 18\ ADP + 17\ P_i$

Photorespiration:
לפעמים האנזים RuBisCO מוסיף בטעות חמצן במקום CO_2 לסוכר והוא מתפצל ל-3PG ול-2-phosphoglycolate. 3PG יודע להיכנס בחזרה למעגל ולהפוך ל-ריבולוז-1,5-ביספוספט.
אחד מהפחמנים של 2- phosphoglycolate ניצל ע"י מסלול ההצלה הזה (salvage path), ואילו השני נאבד בחזרה ל-CO_2.
בסה"כ התהליך גורם לאובדן אנרגיה.



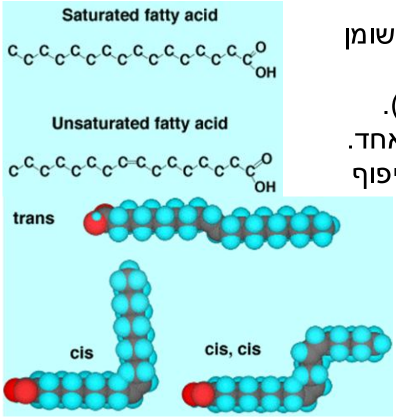
©ענת עציון

חומצות שומן וגופי קטו

חומצות שומן:

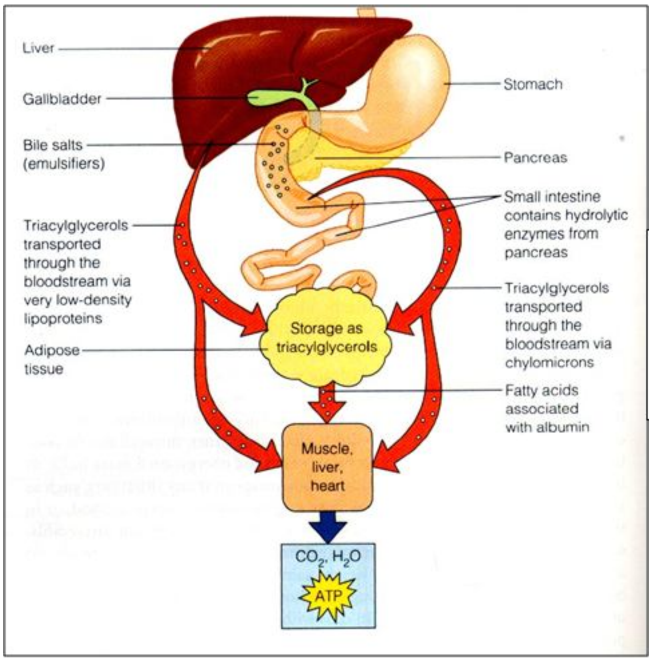
המקור הגדול ביותר לאגירת אנרגיה לטווח ארוך הינו: חומצות השומן. תפקידן לספק לנו אנרגיה בשעת הצורך. רוב חומצות השומן הופכות בסופו של דבר ל-Acetyl CoA, הנכנס למעגל קרבס ובסופו של תהליך מייצר אנרגיה עבור התא.
כשחומצות שומן מתפרקות בגוף, משתחררת אנרגיה גבוהה בהרבה מזו המתקבלת מפירוק חלבונים וסוכרים.

ביוכימיה:



חומצות שומן עשויות מאטומים של פחמן ומימן. בקצה כל חומצת שומן קיימת קבוצת קרבוקסיל (COOH).
חומצת שומן רוויה: חמוצת שומן ללא קשרים כפולים (רווייה ב-H).
חומצת שומן בלתי רוויה: חומצת שומן בעלת לפחות קשר כפול אחד.
קשרי cis: בחומצות שומן בלתי רוויות קיימים קשרי cis היוצרים כיפוף בחומצה שמונע סידור צפוף מידי כאשר חומצות השומן מסתדרות במיצלה. הממברנה של התא לא צריכה להיות מוצקה ואחד הדברים שמונעים קשיחות-יתר הוא חומצות השומן הבלתי רוויות.

מקור חומצות שומן לאחר ארוחה:



את כל חומרי המזון ניתן להפוך לשומן.
הליפידים הם מאגר מאוד מרוכז של אנרגיה. זהו המאגר העיקרי להישרדות במקרה של חוסר במזון. מאגר הסוכר זניח לעומתו.
בחיות המעבר בין סוכר לשומן הוא בלתי הפיך. המעבר ל-Acetyl CoA לא הפיך. בצמחים קיימת גם הריאקציה ההפוכה.

אחרי ארוחה:

קליטה ישירה של שומנים מהמזון. במעי הם מתפרקים לחומצות שומן חופשיות אשר נכנסות לתאי המעי ומתרכבות שם לטריגליצרידים.
הטריגליצרידים יוצרים קומפלקס עם חלבון: chilomicron (שומנים לעולם לא נישאים בדם ללא חלבון נשא).
הגוף גם מסוגל להפוך את כל חומרי המזון האחרים לשומנים בתהליך שקורה בכבד: הוא מייצר את חומצות השומן ע"י גליקוליזה ואח"כ שיירי אצטאט הופכים לחומצות שומן. בתאי הכבד הן הופכות לטריגליצרידים שנקשרים לחלבון בקומפלקס VLDL (Very Low Density Lipproteins).
חומר זה יכול לספק חומצות שומן לאיברים בגוף שצריכים ליצור אנרגיה. רוב האיברים בגוף מלבד המוח וכדוריות הדם, מקור האנרגיה העיקרי שלהם ל-ATP הוא שומנים.

בין ארוחות:

הכיוון מתהפך- תאי השומן מפרקים את הטריגליצרידים. חומצות שומן יוצאות מתאי השומן ונקשרות לחלבון סרום- חלבון קושר ליפידים והוא נושא אותם אל הרקמות השונות בגוף.

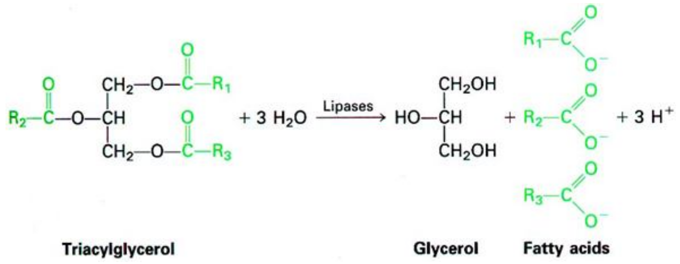
©ענת עציון

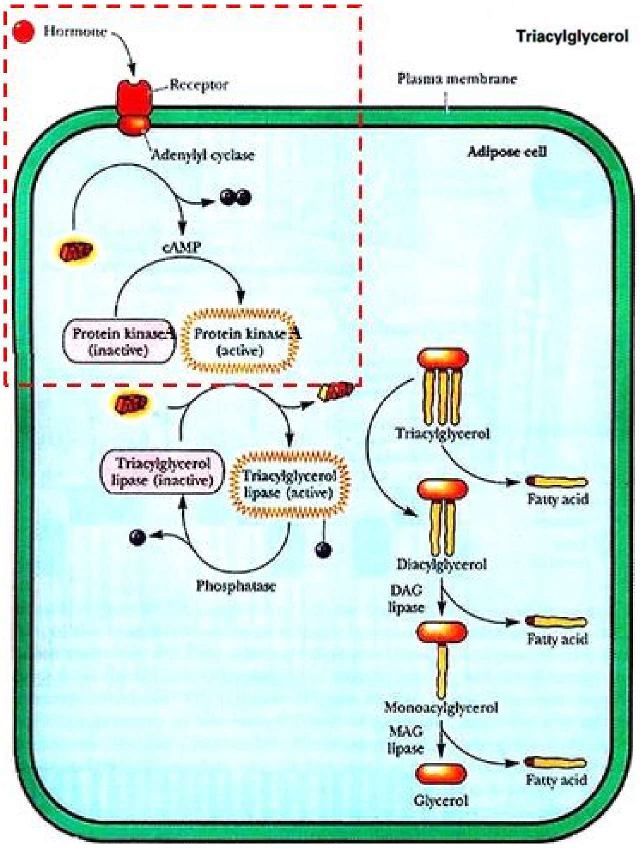
פירוק חומצות שומן:

פירוק טריגליצרידים:

טריגליצריד: גליצרול שקשורות אליו 3 חומצות שומן. בדרך-כלל החומצה השנייה היא בלתי רוויה ולכן העמדות אינן זהות.

הפירוק מתחיל תמיד באחת משתי חומצות השומן הרוויות שבצדדים, ע"י Lipase.





בקרה הורמונאלית על הפירוק:

בקרה ע"י הורמונים הנקשרים לרצפטור שעל ממברנת התא. היקשרות ההורמון מפעילה מפל קינאזות בתא אשר גורם לשפעול או עיכוב של האנזימים אשר מבצעים את התהליך.

אקטיבטורים: אפינפרין, נוראפינפרין (גלוקגון לא פועל ישירות, הוא רק מבטל את השפעת האינסולין).

מעכב: אינסולין.

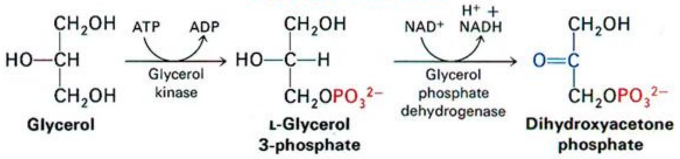
ההורמון גורם רק לפירוק חומצת השומן הראשונה. ואז מתקבל דיגליצריד. בשלב זה מגיעות lipases נוספות הפועלות מהר יותר (לא תלויות בהורמון) ומפרקות את שתי חומצות השומן האחרות ונשאר גליצרול.

ניצול גליצרול:

בתא שומן עצמו אין גליצרול-קינאז ולכן הגליצרול מופרש לדם וכך בין ארוחות, גליצרול זה יכול לשמש לתאים אחרים כמקור למסלול הגליקוליזה:

1. האנזים גליצרול-קינאז מזרחן בשימוש ב-ATP לקבלת: 3-גליצרול-פוספט.
2. גליצרול-3-פוספט עובר חמצון עם NADH והאנזים glycerol phosphate dehydrogenase ומתקבל: DHAP- תוצר-ביניים של הגליקוליזה.

Glycerol utilization



β-Oxidation:

תהליך פירוק החומצות שומן.

לאחר שהטריגליצריד התפרק לחומצות שומן וגליצרול, מועברות חומצות השומן בזרם הדם. חמצון חומצות השומן מתרחש במיטוכונדריה בכל אברי הגוף מלבד במוח. חומצות השומן מגיעות אל התאים ומסוגלות לעבור את הממברנות הודות לשומניות שלהן ולמסיסות הנמוכה שלהן במים.

תהליך הפירוק הוא תהליך מחזורי בעל 5 שלבים. בתהליך משתחררים שני פחמנים מחומצת השומן (ולכן בחומצות השומן באדם ישנו מספר זוגי של פחמנים). שני הפחמנים שהם Acetyl CoA נכנסים למעגל קרבס להפקת אנרגיה.

©ענת עציון

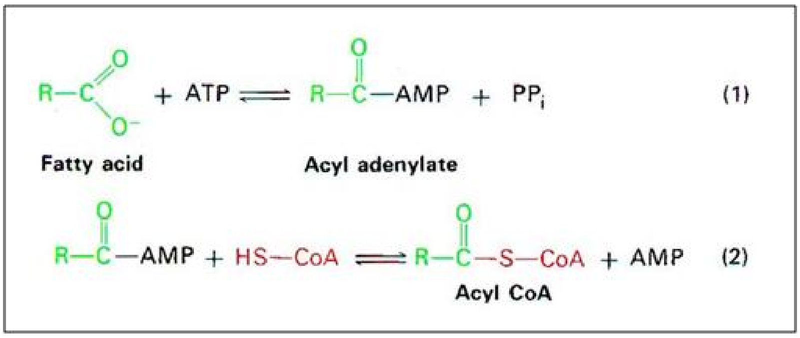
מנגנון התהליך:

שפעול חומצת השומן:

אקטיבציה של חומצת שומן מסמנת אותה לפירוק. פעולה זו מתרחשת על הממברנה החיצונית של המיטוכונדריה.

תחילה ישנו שפעול תוך שימוש ב-ATP המתפרק ל-AMP- מושקעים שני קשרים עתירי אנרגיה.

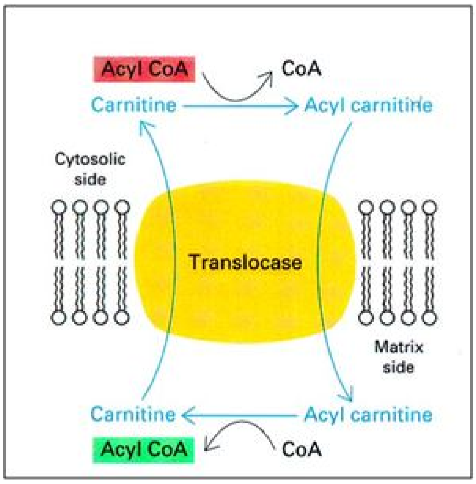
אח"כ, ה-acyl adenylate נקשר לקואנזים A ליצירת Acyl CoA.



הערה: בתהליך נוצר AMP שצריך לעבור מחזור ולכן נדרש ATP נוסף.

סה"כ: 2 מולקולות ATP.

העברת חומצת השומן המשופעלת למטריקס:



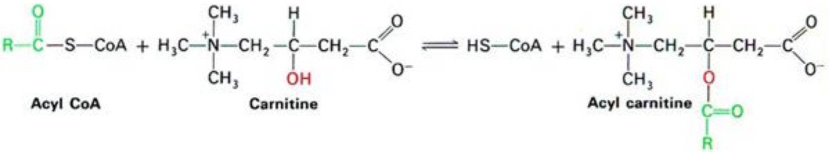
החמצון נעשה במטריקס של המיטוכונדריה ולא בציטוזול. מטרת החמצון היא לקבל Acetyl CoA שממנו ניתן ליצור אנרגיה (וגם מה-NADH שמשתחרר).

חומצות שומן קצרות עוברות דיפוזיה אל המטריקס ושם הן עוברות אקטיבציה.

אבל חומצות שומן ארוכות, נקשרות עוד בציטוזול לקואנזים A ובמצב זה, קשה להן להיכנס למטריקס, ולכן לצורך הכניסה CoA מוחלף בחומר קטן יותר: carnitine, וחומר זה מוחדר ע"י טרנסלוקאז לתוך המטריקס.

לאחר החדירה קורית בפנים הריאקציה ההפוכה ומתקבל שוב: Acyl CoA.

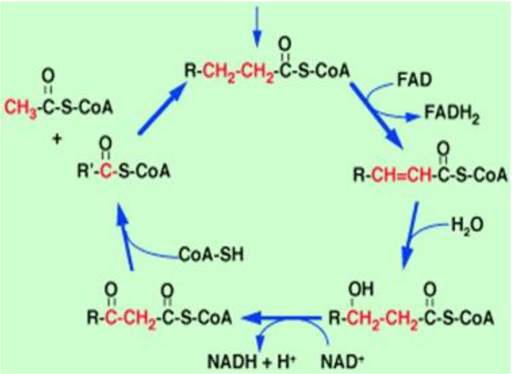
ואז מולקולת ה-carnitine יוצאת מהמטריקס באופן המצומד לכניסה נוספת למטריקס של acyl carnitine.



מדוע הריאקציה הפיכה?

הריאקציה יוצרת חומר עתיר אנרגיה ולכן ה-ΔG הוא רק מעט שלילי.

מעגל ה-β-oxidation:



1. Acyl CoA עובר חמצון ע"י FAD ונוצר קשר כפול בין פחמן-α לפחמן-β.
2. סיפוח H_2O (פחמן β מקבל את ה-OH).
3. חמצון פחמן β ע"י NAD^+, שבו OH הופך לקרבוניל.
4. תיאוליזה: קואנזים A תוקף את פחמן β שעבר חמצון, הקשר בין פחמנים α ו-β נחתך ומשתחררים Acetyl CoA וחומצת שומן קצרה בשני פחמנים.

הערה: כדי להפוך חומצת שומן ל-Acetyl CoA צריך לשבור קשרי C-C היציבים מבחינה אנרגטית ולכן יוצרים תחילה קשרים כפולים אשר הינם פחות יציבים ואז שוברים את השרשרת ליחידות של CoA.

את האקטיבציה הראשונית צריך לבצע פעם אחת שכן תוצר הביקוע כבר מכיל קבוצת CoA.

©ענת עציון

בקרות על המעגל:

בקרה הורמונאלית:

- גלוקגון: גורם לזירוז התהליך ע"י הפעלת אנזים הליפאז בתאי השומן וה- carnitine acyl transferase בתאי הגוף.
- אינסולין גורם להאטת תהליך החמצון ע"י עיכוב האנזימים האלה.

בקרה מטבולית:

- התוצר Acetyl CoA בעודף מעכב את האנזים תיאוליאז ובכך את התהליך כולו.

עודף NADH:

- NADH בעודף מונע מהאנזים השלישי לתפקד כראוי מה שיגרום להאטה עד לעצירה של תהליך החמצון.

סיכום אנרגיה נטו:

עבור חומצת שומן בעלת 18C, המולקולה תחתך 8 פעמים וייעשה שימוש ב: 8FAD, $8NAD^+$, $8H_2O$ ו-8CoA.

יתקבלו:

9Acetyl CoA, $8FADH_2$, 8NADH ו-$8H^+$.

מחומצת שומן אחת נקבל יותר אנרגיה מאשר מגלוקוז כי היא יותר מחוזרת.

הטריגליצרידים- אין בהם בכלל מים- מאגר אנרגיה מאוד מרוכז.

Example - stearic acid
18 carbon fatty acid

Step	ATP/Unit	Total ATP
Activation step		-2
9 acetyl CoA	10	90
8 $FADH_2$	1.5	12
8 ($NADH + H^+$)	2.5	20
Total ATP	10	120

סינתזה של חומצות שומן:

כל האורגניזמים יכולים לסנתז חומצות שומן לצורך אגירת אנרגיה לטווח ארוך ולצורך בנייתן של ממברנות. באדם- עודפי Acetyl CoA הופכים לחומצות שומן אסטריות. סינתזת חומצות שומן דומה לתהליך הפירוק בכיוון הפוך, רק שהמנגנון קצת יותר מורכב.

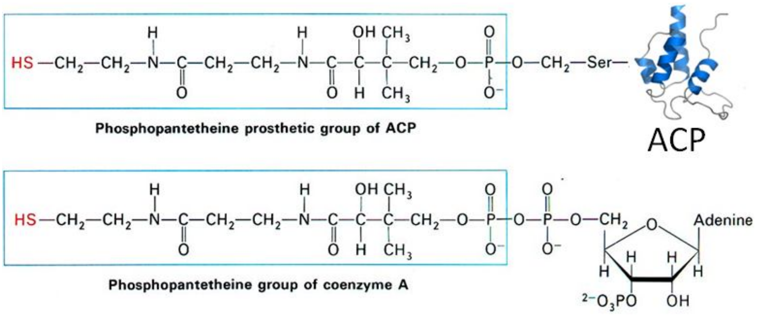
הבדלים בין הסינתזה והפירוק:

- הסינתיזה נעשית בציטוזול והפירוק נעשה במטריקס. הפרדת מיקום הסינתזה והפירוק טובה לבקרה.
- בסינתיזה CoA לא משתתף ישירות, הוא מוחלף ב-ACP (Acyl Carrier Protein), חלבון קטן המהווה תת-יחידה של קומפלקס גדול שמסנתז את חומצות השומן.
- בסינתיזה יש קומפלקס אחד שמבצע את כל השלבים והסובסטראטים כל הזמן קשורים אליו עד לסוף התהליך.
- הסובסטראט לסינתיזה אינו Acetyl CoA אלא: Malonyl CoA.
- בפירוק יש יצירה של NADH ו-$FADH_2$ בעוד שבציטוזול ריכוז ה-NADH מאוד נמוך ולכן משתמשים ב-NADPH אשר נוצר במסלול אחר ולא מעביר אלקטרונים למטריקס.

ACP Vs. CoA:

הסינתיזה מתבצעת כאשר חומצת השומן קשורה ל-ACP. הוא קושר אליו שייר דומה לזה הנקשר ל-CoA בפירוק, רק שבמקום אדנין ב-CoA, יש קשר לשייר serine.

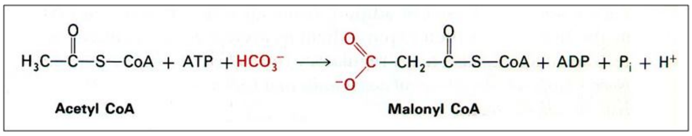
ACP יושב במרכז הקומפלקס של הסינתזה.



©ענת עציון

אקטיבציה של Acetyl CoA:

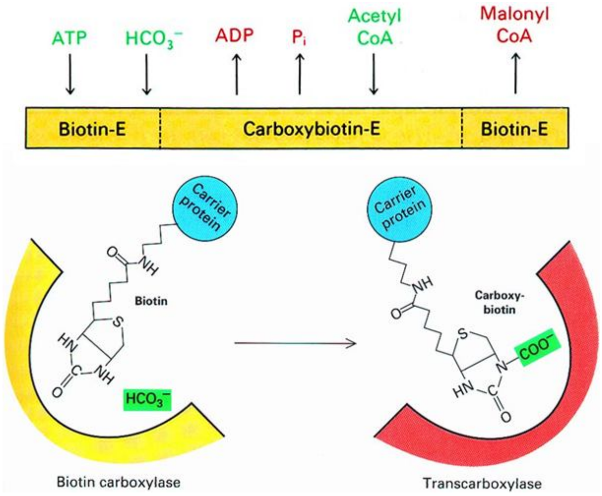
זוהי ריאקציית ה-commitment במסלול והיא מאוד אקסרגונית ובלתי הפיכה.
Acetyl CoA הופך ע"י תהליך של קרבוקסילציה ל-Malonyl CoA. זוהי חומצה קרבוקסילית בעלת 3 פחמנים שהיא צורה משופעלת של אצטאט אשר מסוגלת להעבירי שייר אצטיל לצורך הארכת חומצות שומן ותוך שחרור CO_2. Malonyl CoA היא בעלת קשר C-C חדש שהינו קשר עתיר אנרגיה.



המנגנון:

האקטיבציה מתרחשת בעזרת האנזים: Acetyl CoA carboxylase שיש לו קופקטור ביוטין אשר קשור אליו קוולנטית. לאנזים זה ישנם 3 תתי-יחידות נפרדות:

1. carrier protein: חלבון נשא קטן המחובר לביוטין.
2. biotin carboxylase: חלבון המקטלז את היצירה של N-carboxybiotin.
3. Transcarboxylase: המעביר את קבוצת הקרבוקסיל המשופעלת מ-N-carboxybiotin ל-Acetyl CoA.



הביוטין עובר קרבוקסילציה עם HCO_3^- ו-ATP ליצירת קשר קוולנטי חדש: קשר בין ה-CO_2 לחנקן. לאחר-מכן הזרוע עם הביוטין עוברת לאתר השני ובו הקשר מועבר ל-Acetyl CoA.
מתקבלים Malonyl CoA וביוטין עם החלבון הנשא.

"הספירלה של הסינתזה":

מסלול מעגלי שבו התוצר כל-הזמן מתארך ב-2 פחמנים.

יצירת אבני בניין מ-Acetyl CoA ו-Malonyl CoA:

$$\text{Acetyl CoA} + \text{ACP} \rightleftharpoons \text{acetyl–ACP} + \text{CoA}$$
$$\text{Malonyl CoA} + \text{ACP} \rightleftharpoons \text{malonyl–ACP} + \text{CoA}$$

הארכת השרשרת:

המעגל הראשון:
1. דחיסה של Malonyl-ACP ו-Acetyl-ACP לקבלת: Acetoacetyl-ACP.
2. חיזור ע"י NADPH לקבלת: β-hydroxybutyryl-ACP .
3. דהידרציה לקבלת: crotonyl-ACP.
4. חיזור ע"י NADPH לקבלת: butyryl-ACP (4C).

המעגל השני:
1. דחיסה של Malonyl-ACP ו-butyryl -ACP וכן הלאה...
4. קבלת Acyl-ACP (C6).

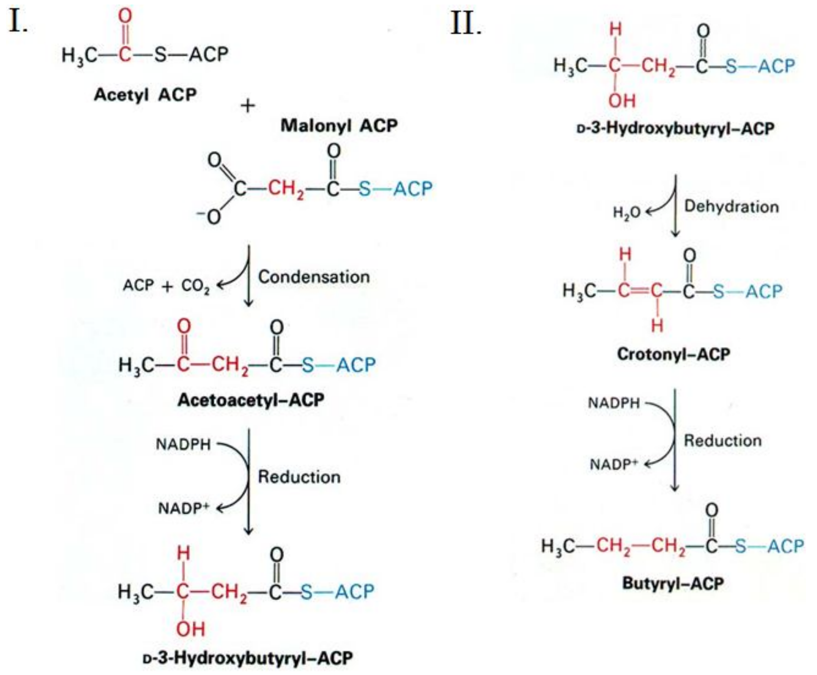
מעגלים 3-7:
4. קבלת Palmitoyl-ACP (C16).

הידרוליזה של Palmitoyl-ACP משחררת: **Palmitate-** התוצר הסופי.

$$8\ \text{Acetyl CoA} + 7\ \text{ATP} + 14\ \text{NADPH} + 6\ H^+ \longrightarrow \text{palmitate} + 14\ \text{NADP}^+ + 8\ \text{CoA} + 6\ H_2O + 7\ \text{ADP} + 7\ P_i$$

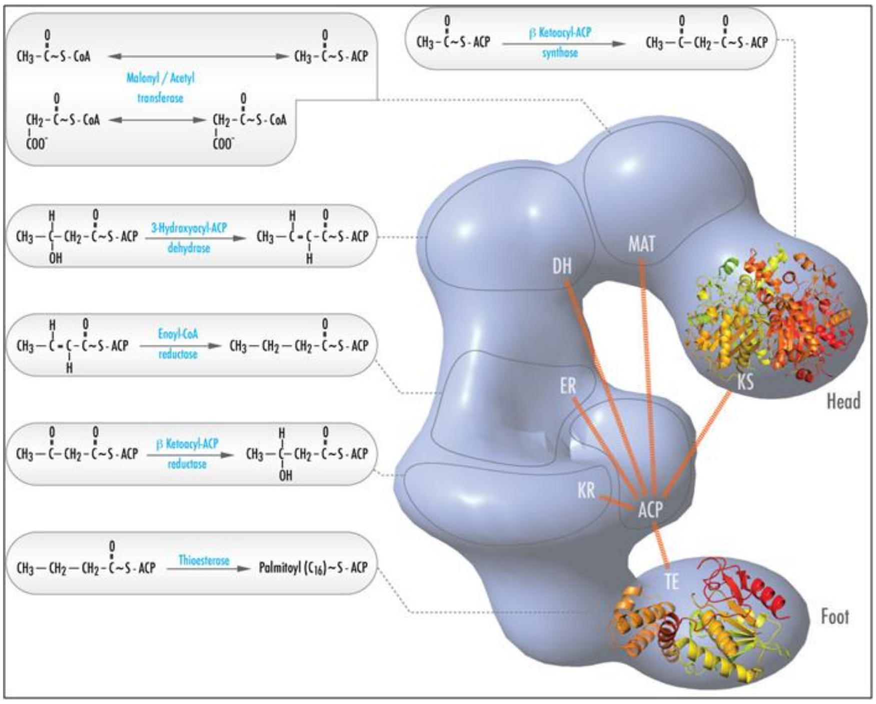
הערה: חומצות שומן ארוכות יותר נוצרות ע"י אנזימים מיוחדים המבצעים הארכה לשרשרת.

©ענת עציון



:Fatty acid synthase

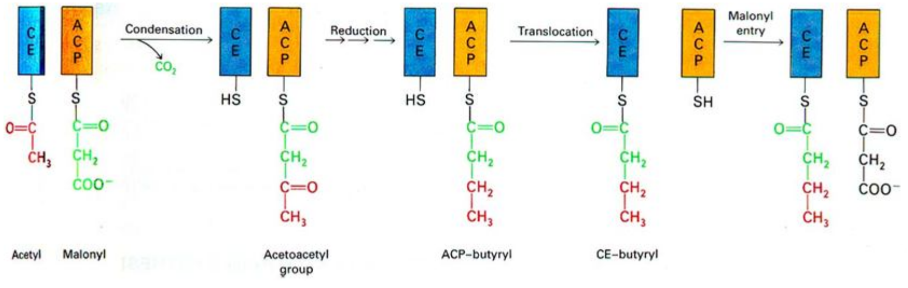
הסינתזה מתרחשת בתוך קומפלקס אנזימטי הנקרא: fatty acid synthase.



ניתן לראות שבמרכז הקומפלקס מצוי ACP.

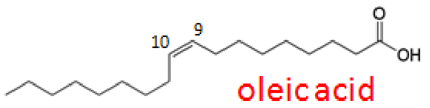
<u>אתרי Donor ואתרי Acceptor בקומפלקס:</u> (מזכירים את אתרי A ו-P על הריבוזום).

לקומפלקס היוצר את קשר ה-C-C החדש יש שני אתרים עם שייר ציסטאין המעבירים ביניהם את הסובסטראטים הקשורים וכך הריאקציה קורית בלי שהם משתחררים מהקומפלקס.



©ענת עציון

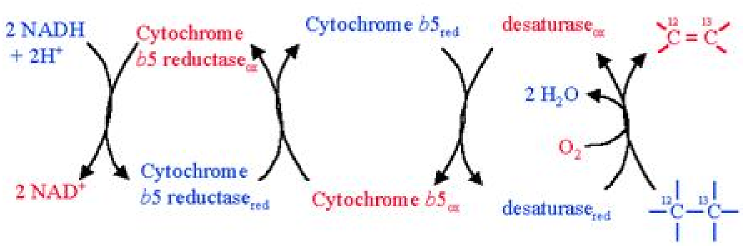
הריאקציה ליצירת קשר כפול בפחמנים 9,10:



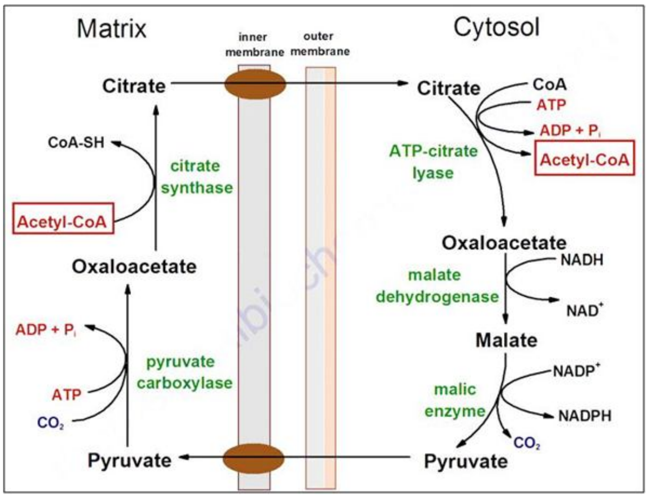
תהליך של העברת אלקטרון מחמצן.
ל O_2 יש 4 אלקטרונים, אבל ליצירת הקשר הכפול דרושים ל-2 בלבד ולכן 2 אלקטרונים עודפים מועברים לחומר מחזר-deasturase.

$Stearoyl\text{-}CoA + NADH + H^+ + O_2 \longrightarrow Oleyl\text{-}CoA + NAD^+ + 2H_2O$

ER Desaturase Electron Flow

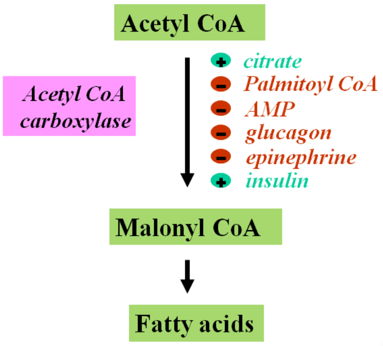


מעבר Acetate לציטוזול:

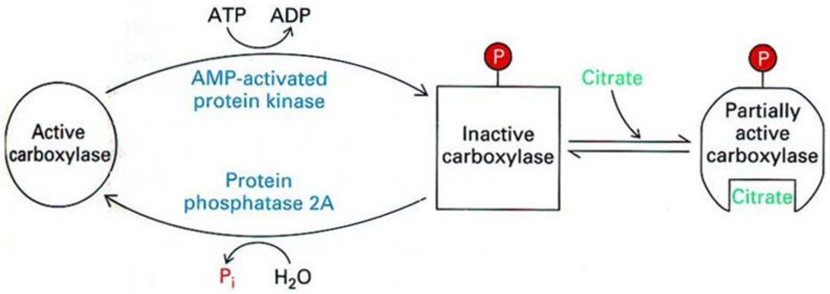


יש להוציא את Acetyl CoA החוצה מהמטריקס לצורך הסינתזה. יש לכך מנגנון shuttle מיוחד.
Citrate משמש כנשא של שיירי אצטאט לציטוזול ושם הוא מתפרק ע"י האנזים: ATP-citrate lyase ואז מתקבלים בחזרה OAA ו-Acetyl CoA.
ה-OAA עובר חיזור ל-Malate אשר מתחמצן עם $NADP^+$ לפירובט אשר חוזר למטריקס.
כל אצטאט שנכנס גורם ליצירת NADPH בציטוזול.

בקרה על הסינתזה:



האקטיבציה של Acetyl CoA היא שלב קובע מהירות- commitment.
Citrate: במידה ומעגל קרבס תקוע, ישנו יותר מידי citrate ואז יש יותר Acetyl CoA זמין לסינתזת חומצות שומן.
Palmitoyl CoA: עיכוב האנזים ע"י תוצר הריאקציה.
AMP: מעכב ע"י AMP-activated protein kinase שזהו קינאז שמתריע על רמת אנרגיה בתא וכשהיא מאוד נמוכה, הוא מונע סינתזה של חומצות שומן.

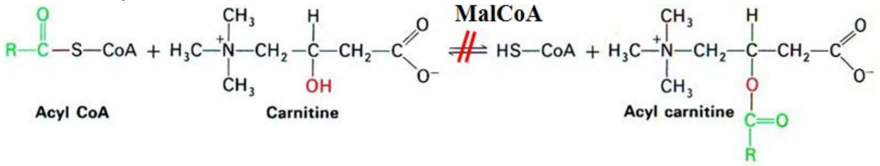


אינסולין: הכבד מייצר חומצות שומן מסוכרים, חלבונים וכל דבר שמצוי בעודף. האינסולין מזרז כניסת גלוקוז לתאים וגם מאקטב את pyruvate dehydrogenase שהופך פירובט ל-Acetyl CoA.

©ענת עציון

<u>עיכוב פירוק במהלך סינתזה:</u>

נקודת בקרה עיקרית אשר דואגת שלא יהיו סינתזה ופירוק בו-זמנית.
במהלך הסינתזה נוצר Malonyl CoA והוא מעכב כניסה של חומצות שומן למיטוכונדריה:
הוא מעכב את carnitine CoA transferase האנזים שמבצע העברת Acetyl CoA אל carnitine.

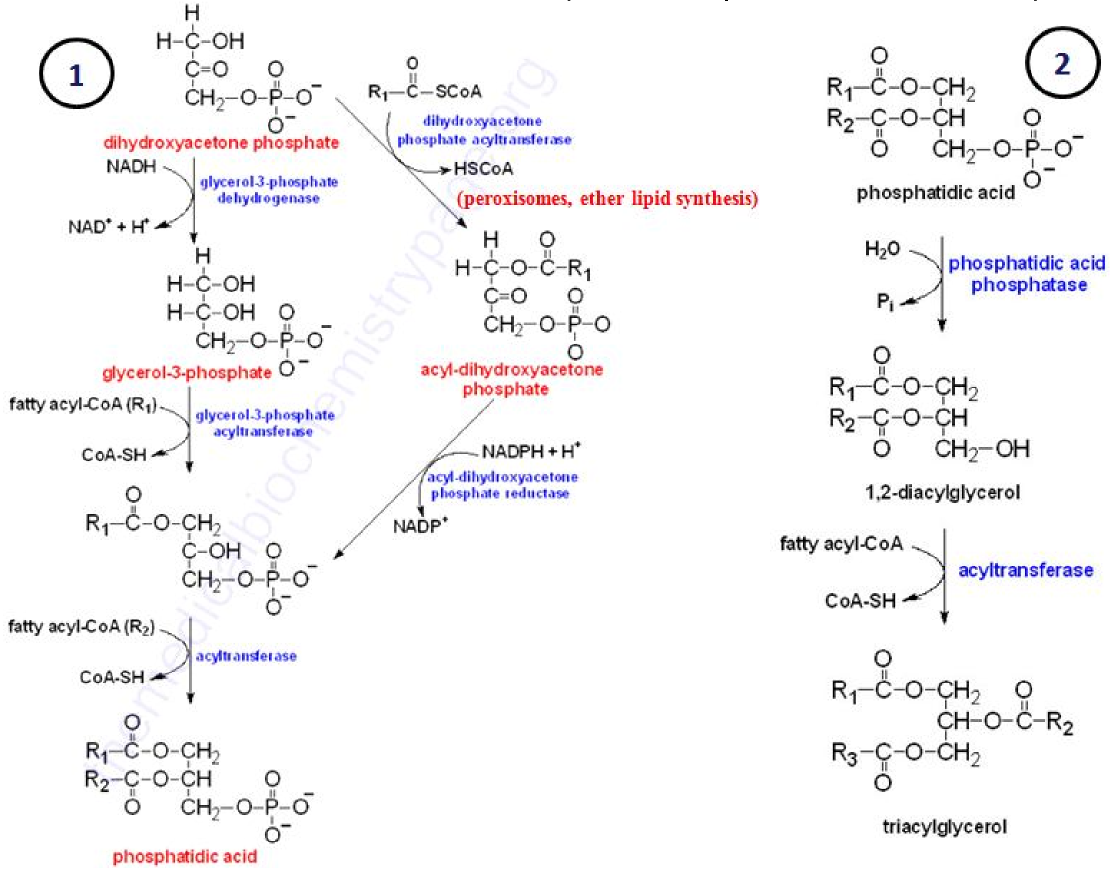


<u>סינתזת חומצות שומן לטריגליצרידים:</u>

המקור העיקרי של גליצרול הוא מגליקוליזה:
DHAP יכול לשמש לסינתזת טריגליצרידים בשני מסלולים:

1. חיזור עם NADH ליצירת glycerol-3-phosphate והוא זה שמקבל חומצת שומן.
2. DHAP קודם מקבל חומצת שומן ורק אח"כ עובר חיזור עם NADPH.

משני המסלולים מקבל בדיוק אותו התוצר: G3P עם חומצת שומן אחת.
ואז המסלול ממשיך להוספת חומצת שומן שנייה לקבלת: חומצה פוספטידית.
ולבסוף לאחר הוספת חומצת שומן שלישית מתקבל הטריגליצרול.



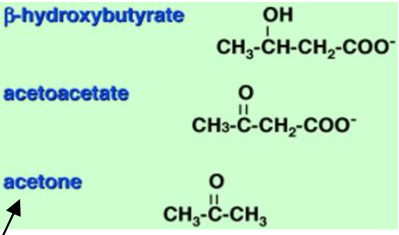
©ענת עציון

גופי קטו:

גופים קטונים מיוצרים מעודף Acetyl CoA בכבד. רוב ה-Acetyl CoA משמש לסינתזת חומצות שומן אבל תמיד כמות קטנה ממנו יהפוך לגופי קטו אשר ייצאו מהכבד אל מערכת הדם.
מטרת ייצור גופי הקטו היא וויסות עודפי Acetyl CoA מהכבד אל רקמות אחרות. ישנן רקמות היודעות להשתמש בהם (הפיכתם בחזרה ל-Acetyl CoA ושימוש בהם כמקור אנרגיה)- בעיקר לב וכליות.

<u>מתי נוצרים גופי קטו?</u>

<u>ברעב ממושך:</u> המוח שלא יודע להשתמש בחומצות שומן לאנרגיה (קיים מחסום שלא מאפשר מעבר שלהן) משנה את המטבוליזם שלו לשימוש בגופי קטו במקום בגלוקוז.
<u>בסכרת:</u> כאשר לא מטפלים בה.
<u>בין ארוחות:</u> לאחר זמן מסוים כבר אין אינסולין, יש פחות סוכר בגוף והם יכולים להיווצר.
<u>ארוחה לא מאוזנת:</u> אכילת דבר מאוד שומני עם מעט מאוד סוכר (מחסור בחומרי-ביניים של מעגל קרבס אשר מונעים חמצון של AcCoA)

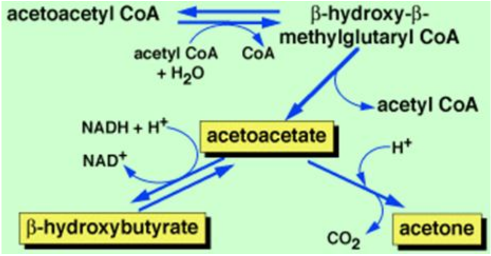


נפלט בנשימה

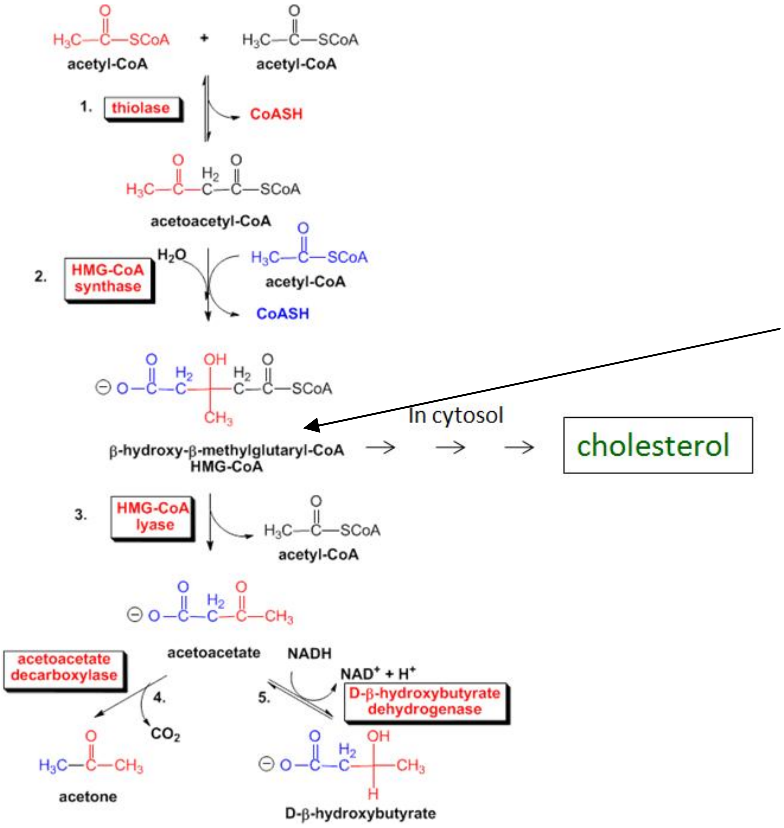
Ketogenesis- יצירת גופי קטו:

הסינתזה קורית בכבד.

1. היפוך השלב האחרון של ה-β-oxidation: 2 מולקולות של Acetyl CoA נדחסות ומתקבל: Acetoacetyl CoA.
2. Acetoacetyl CoA נדחס עם עוד Acetyl CoA ומתקבל: β-hydroxy-β-methylglutaryl CoA תוך עזיבת CoA.
3. קבוצת CoA עוזבת ומתקבל: **Acetoacetate**.
הוא יכול לעבור שני תהליכים אפשריים:
   a. דהקרבוקסילציה לקבלת **Acetone**.
   b. חיזור ע"י NAD^+ לקבלת NADH ו-**β-hydroxybutyrate**.



תיאור המסלול:



אחד מתוצרי הביניים של המסלול הוא גם חומר ביניים קריטי לסינתזה של כולסטרול. אבל המסלול של גופי קטו הוא במיטוכונדריה והסינתזה של כולסטרול קורית בציטוזול.

©ענת עציון

ניצול גופי הקטו:

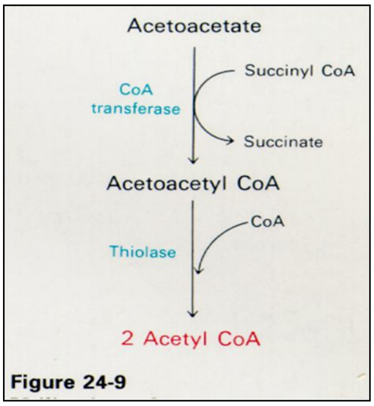


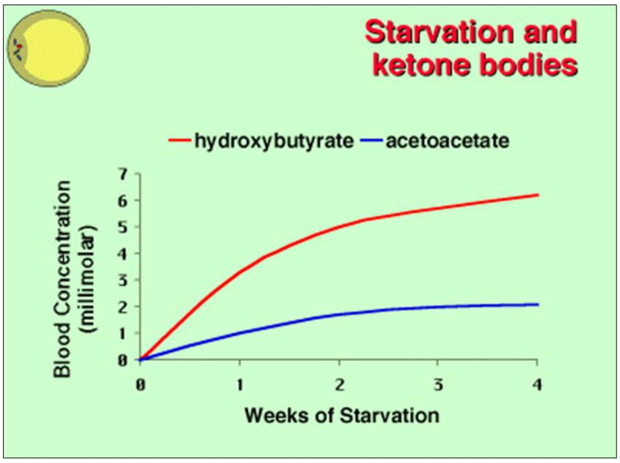
Figure 24-9

Actoacetate ו-β-hydroxybutyrate: מיוצרים בעיקר בכבד , עוברים בדיפוזיה לדם ונישאים תחילה לרקמות שריר ומוח (הצורכות אנרגיה רבה). רקמות אחרות ישתמשו בגופי קטו כאשר ריכוז הגלוקוז בדם נמוך.
הם מסוגלים להפוך בחזרה ל-Acetyl CoA.

אצטון: מופק בכמות קטנה ויוצא מהגוף בשתן ובנשימה.

Ketoacidosis: ריכוז גבוה של גופי קטו שהם חומצות גורם להחמצה של הדם. בדם יש בופר מאוד חזק אבל יש לו capacity מסוים. ולכן בעבר היו מתים מסוכרת לא מטופלת.
Acetone breath: ריח של אצטון מהפה הוא סימן למצב פיסי חמור מאוד.

מה קורה לאחר כמה שבועות של רעב:



לאחר 4 שבועות, גופי קטו מגיעים ל-10mM. 25mM זו כבר סכרת מוחלטת.

©ענת עציון

כולסטרול ופוספוליפידים

התא מייצר מגוון ליפידים המשמשים לבניית ממברנות וכן כמולקולות הקשורות בהעברת אותות.

סינתיזת ליפידים:

חומצות שומן מסונתזות בציטוזול. חלק מהסינתזה לליפידים מורכבים מתרחשת על-גבי ממברנות, ובעיקר על גבי ה-**smooth ER**. הפוספוליפידים (ליפידים של הממברנות) מסונתזים על ה-ER החלק. הפוספוליפידים ברובם מתרכבים אל הממברנה ואז עוברים טרנספורט למדורים אחרים ע"י וסיקולות. ולאחר שהן מגיעות ליעד, הן עוברות fusion עם המטרה.

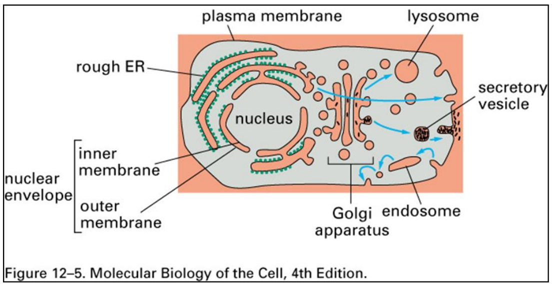
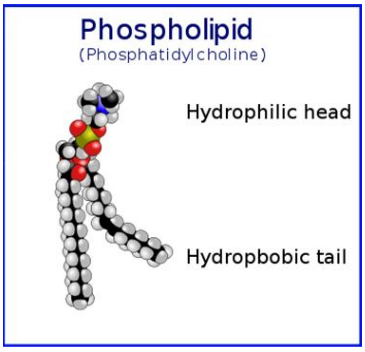
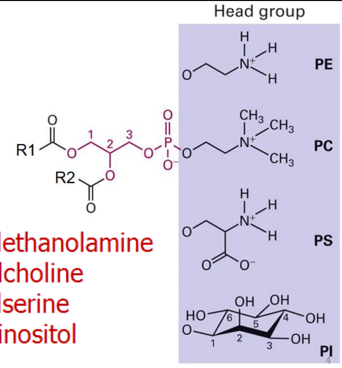


Figure 12–5. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

פוספוליפידים:

שתי חומצות שומן כאשר בעמדה 3 של הגליצרול יש פוספט.
לפוספוליפיד יש נטו את המטען השלילי של הפוספט.
הראשים הפולאריים הכרחיים ליצירת ה-bilayer.
ישנם כמה סוגים של ראשים פולאריים:

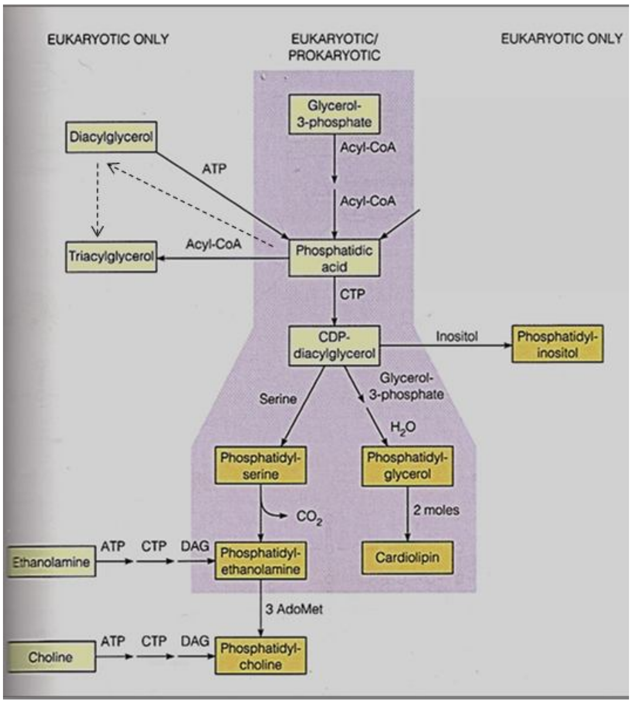




PE-Phosphatidylethanolamine
PC-Phosphatidylcholine
PS-Phosphatidylserine
PI-phosphatidylinositol

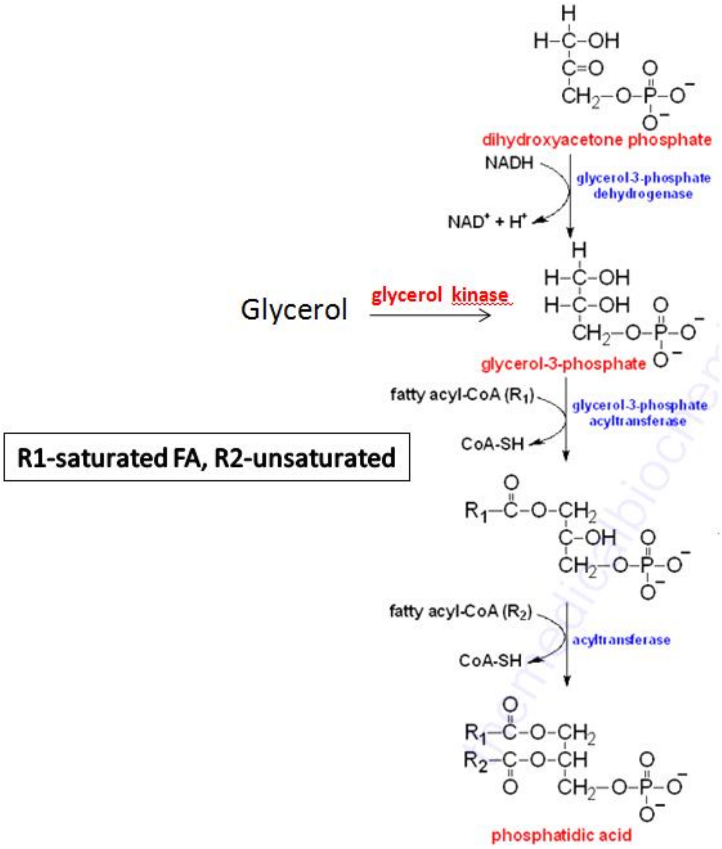
המסלול לסינתזה של פוספוליפידים:

הרקע הסגול: המסלול העיקר לסינתזה בכל היצורים.
בכתום: הפוספוליפידים העיקריים שנמצאים בממברנות.
באאוקריוטים יש גם סינתזה של פוספואינוזיטידים (מימין) וישנם גם מסלולי הצלה- אפשר לנצל דיאצילגליצרול וגם את הבסיסים: אתנולאמין וכולין שנוצרים בפירוק של ליפידים כדי לסנתז אותם מחדש.



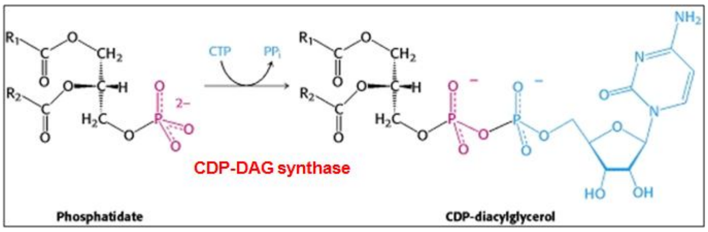
©ענת עציון

1. מסלול לסינתזה של phosphatidic acid:



2. מ-phosphatidic acid ל CDP-diacylglycerol:

זוהי ריאקציה שנוטה לכיוון התוצרים כי נוצר בה פירו-פוספט שמייד מתפרק בתא ולכן לפי שטלייה הריאקציה נוטה ימינה.

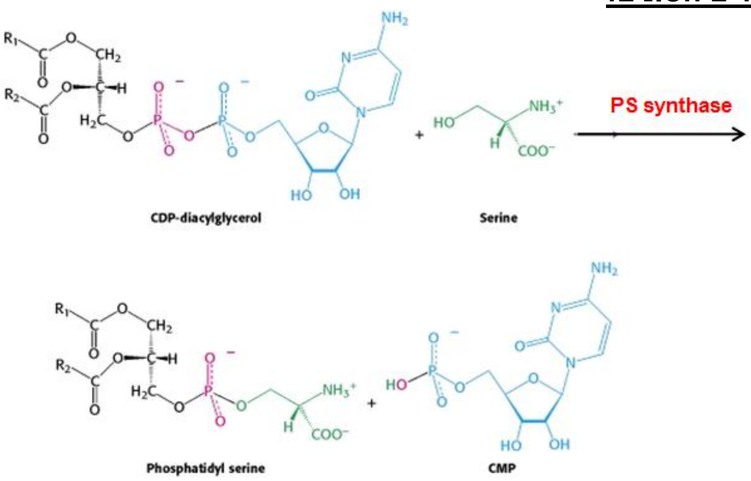


3. מ-CDP-DAG לפוספוליפידים השונים:

נעשית החלפה של ה-CDP בראש פולארי ושחרור של CMP.

<u>תוצר:</u> **phosphatidyl serine.**

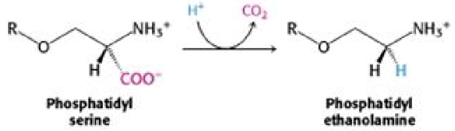
1



©ענת עציון

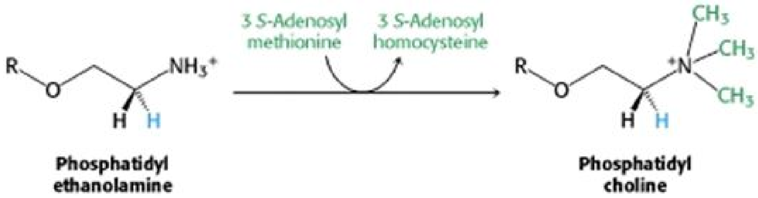
Phosphatidyl serine יכול גם להמשיך בריאקציה נוספת ליצירת: **phosphatidyl ethanolamine**

2

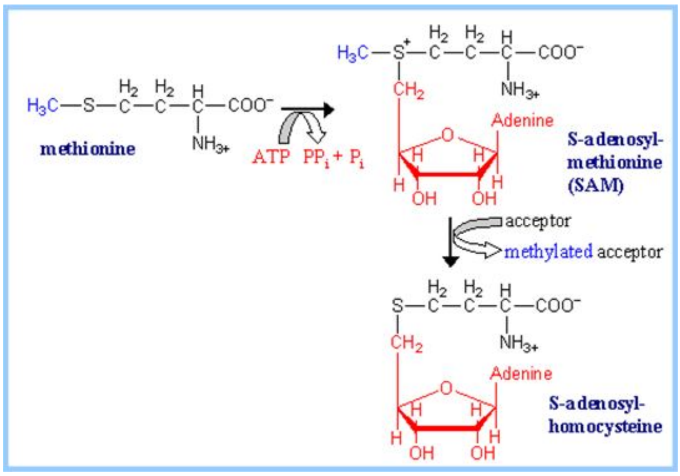


ריאקציה ליצירת phosphatidyl choline:

ניתן להפוך PE ל-PC בעזרת הדונור האוניברסאלי של קבוצות מתיל: SAM. זהו חומר עתיר אנרגיה המגיעה מהידרוליזה של 3 קשרי ATP.



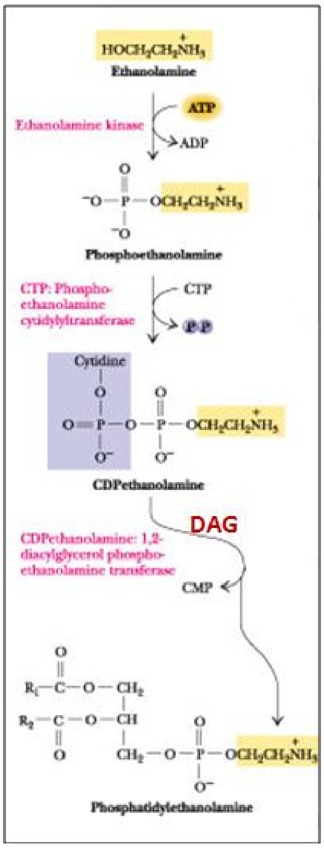
נגזרת של מתיונין, עם שייר מתיל שעובר אקטיבציה ע"י חיבור לאדונזין. זה הופך את הגופרית לבעלת מטען חיובי.

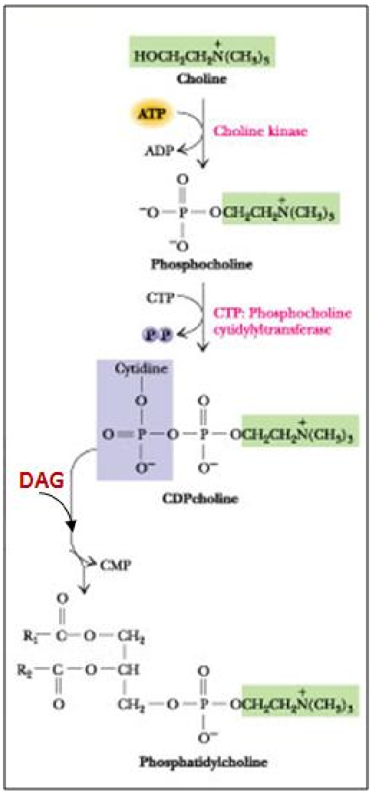


<u>מסלול הצלה:</u>

יש בתא גם מסלול אחר ליצירת פוספוליפידים: אקטיבציה לבסיסים עם CDP.

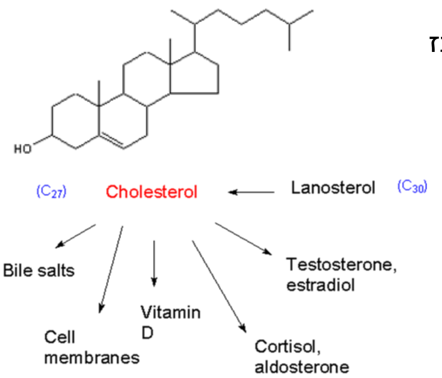
המסלול הזה הוא מעין מסלול הצלה או מחזור. הליפידים בתא עוברים הרבה מאוד תהליכי פירוק גם בהקשר של העברת אותות, וניתן לנצל מחדש את הראשים הפולאריים שהשתחררו: כולין ואתאנולאמין. בחיות לא ניתן לסנתז כולין ישירות והוא מהווה מרכיב חיוני במזון (אם כי ניתן לסנתז PC דרך PE).





©ענת עציון

כולסטרול:

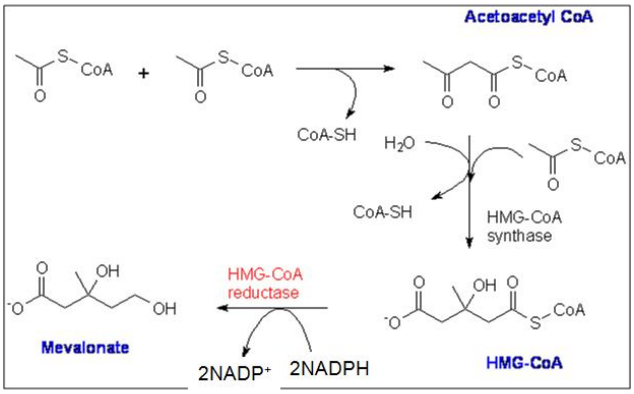


4 טבעות ושרשרת צדדית. אף יצור פרוקריוטי לא יודע לסנתז כולסטרול אבל כמעט כל האאוקריוטים יודעים.
יצירת כולסטרול דורשת חמצן.
הכולסטרול הפך (באיזשהו שלב באבולוציה) למרכיב עיקרי בממברנות. הוא משמש מעין בופר של רמת הנוזליות בממברנה. ללא כולסטרול ישנה נקודת קיפאון של הממברנה ועם כולסטרול הממברנה פחות רגישה לשינויי טמפרטורה. ישנן הרבה נגזרות של כולסטרול שהן קריטיות.

סינתזת כולסטרול:

הכולסטרול נוצר במספר רקמות: כבד, מעי וכליות. והוא תמיד חומר המוצא לכל הנגזרות האחרות.
בגוף: חצי מהכולסטרול מגיע מהמזון וחצי מסינתזה. רוב הסינתזה קורית בכבד.

המנגנון:

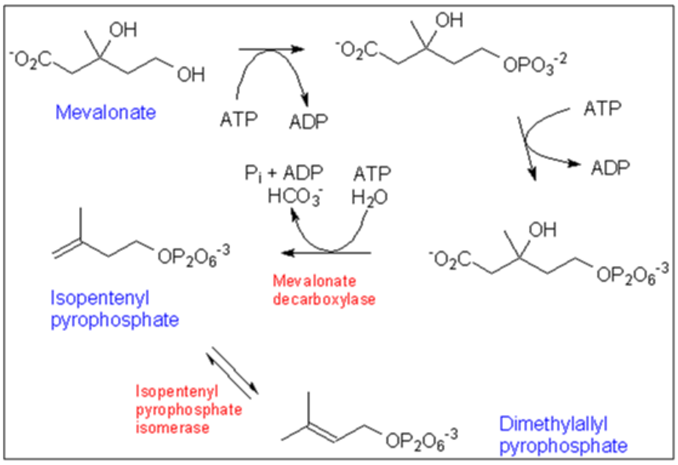


ההתחלה דומה לסינתזה של גופי קטו, רק שהיא קורית בציטוזול עם אנזימים ציטוזוליים אחרים. Acetyl CoA ו-acetoacetyl CoA שעוברים דהידרציה לקבלת: β-hydroxy-β-methylglutaryl CoA (בציור: HMG-CoA).

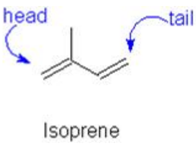
הריאקציה לקבלת: **Mevalonate** היא השלב קובע המהירות- commitment step.

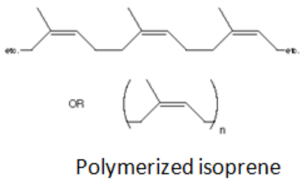
<u>תרופות נגד כולסטרול:</u> התרופות התגלו תחילה ביצורים חיים, בייחוד בפטריות.
בדרך-כלל מעכבות את האנזים HMG-CoA reductase באופן תחרותי.
רמת הכולסטרול בדם מבוקרת כאשר הרדוקטז מבוקר ע"י כולסטרול הן ברמת פעילות והן ע"י פירוק האנזים. כאשר רמת הכולסטרול בדם גבוהה, בדרך-כלל לא די בהורדת הצריכה של כולסטרול (ע"י דיאטה מתאימה) שכן הגוף מסנתז את החסר ויש לעכב את הרדוקטאז.
הכבד מגיב לירידה בסינתזה ע"י הגברת הקליטה של LDL- כולסטרול מהדם, והוא הופך את הכולסטרול למלחי מרה.

מ-mevalonate ל-isoprenoid משופעל:

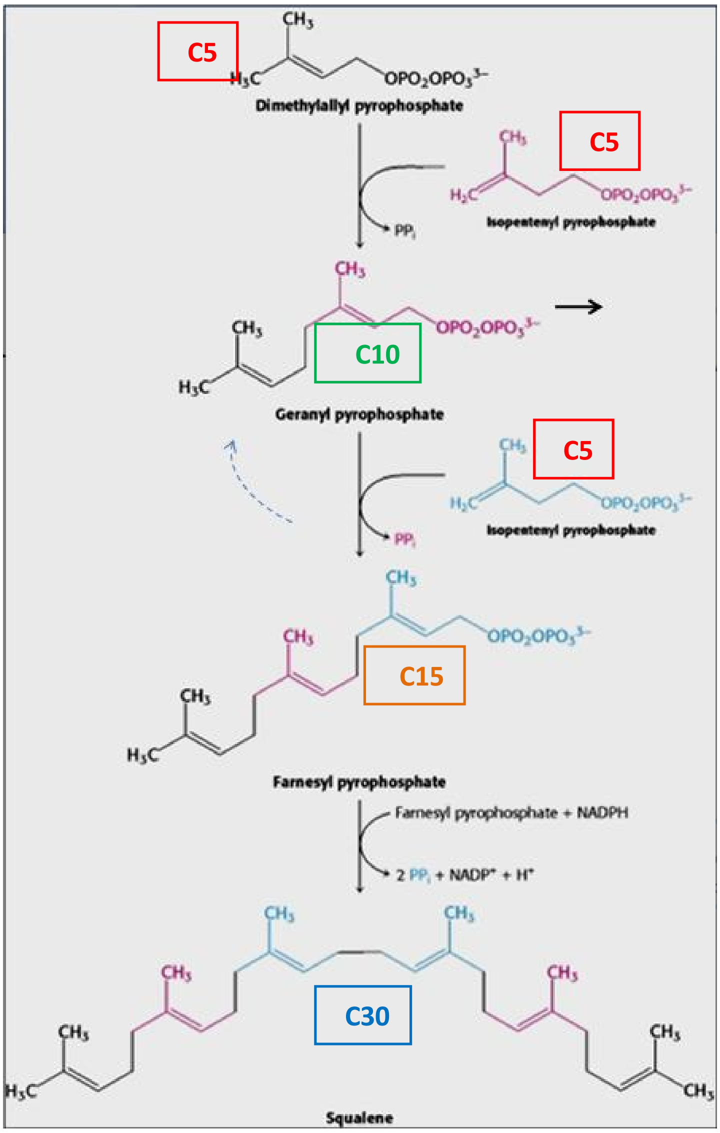


האיזופרן הוא בעל מבנה ביפונקציונאלי שמתאים לפולימריזציה.
<u>Isoprene:</u> 5 פחמנים עם 2 קשרים כפולים.





©ענת עציון



תוצר הביניים C15 נדחס ביחד עם אחד נוסף ראש אל ראש ומתקבל: C30.
בשלב הזה הפירופוספט יורד סופית.
המשך הסינתזה נעשה על-גבי ממברנות של ה-smooth ER.

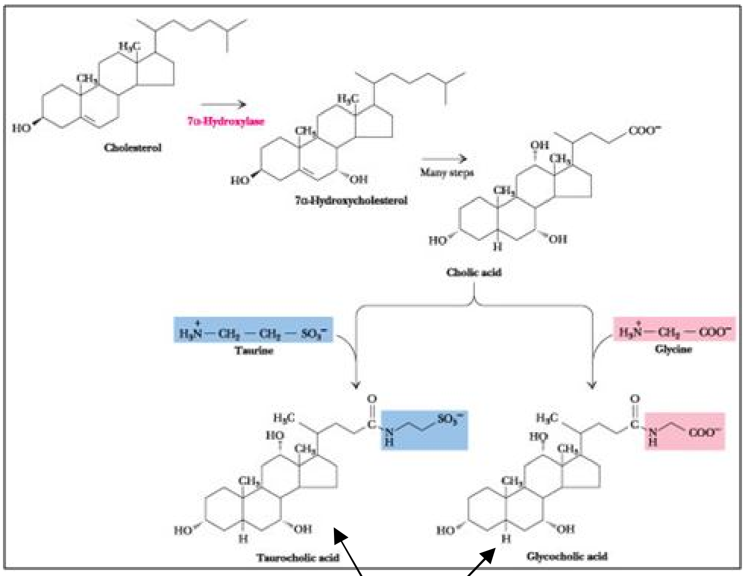
לבסוף נעשית סגירה של הטבעות במנגנון מאוד מסובך, עליו לא נפרט בקורס.

בקרה על האנזים HMG-CoA reductase:
בקרה הינה קריטית כי עודף כולסטרול מסוכן לגוף.
- **AMP:** קינאז שמגיב למטען אנרגיה נמוך, וע"י פוספורילציה מעכב את האנזים.
- **בקרה על ביטוי הגן לאנזים:** SRE- אלמנט בקרה שמופיע בהרבה מאוד גנים. SRE מגיב לרמה נמוכה של כולסטרול ואז יש transcription factor שנקשר לפרומוטור ומאקטב את הביטוי.
הערה: ה-transcription factor רוב הזמן קשור לממברנה, וכשיש רמת כולסטרול גבוהה הוא לא יכול להיכנס לגרעין ולשפעל את הגן. כשרמת הכולסטרול נמוכה, הוא ניתק מהממברנה ע"י ביקוע פרוטיאוליטי ואז הוא נכנס לגרעין ומשפעל את ביטוי הגן.
- **בקרה על יציבות האנזים:** ברמה גבוהה של כולסטרול יש שינוי קונפורמציה באנזים והוא נהיה רגיש יותר למערכת היוביקוויטין שהורסת אותו.

©ענת עציון

מלחי מרה:

נגזרות מאוד קרובות של כולסטרול. הסינתזה שלהן מתחילה בהידרוקסילציה- האנזים הידרוקסילאז מכניס שייר OH. יש המון אנזימים לא ספציפיים אשר מעבירים אלקטרונים לחמצן כאשר 2 אלקטרונים מועברים מ-NADPH ו-2 אלקטרונים באים מהסובסטראט.
התוצר: R-OH.

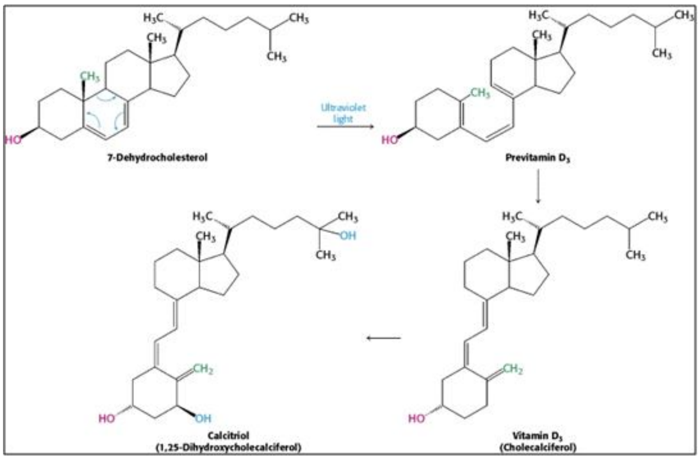


2 צורות סופיות עיקריות של מלחי מרה

ויטמין D:

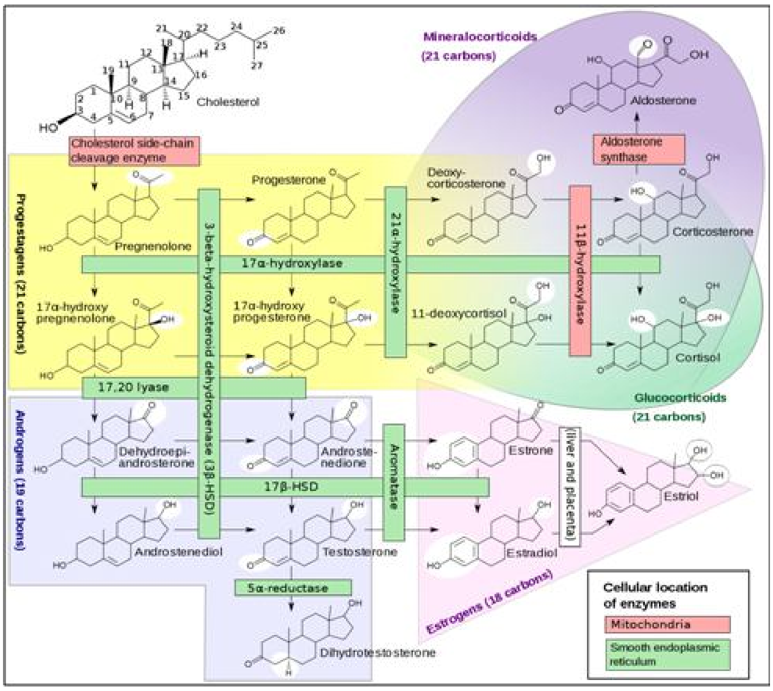
הוא לא לגמרי ויטמין, אנחנו מסוגלים לסנתז אותו בתנאי שישנה חשיפה לשמש.
ויטמין D הוא דוגמא להורמון סטרואידי: הורמון הנקשר לרצפטור בציטוזול, נכנס איתו לגרעין וגורם להפעלת transcription factor.

הסינתזה שלו מתחילה ב-dehydrocholesterol, חומר-ביניים בתהליך מ-lanosterol ל-cholesterol.



הורמונים סטרואידים:

מסונתזים ע"י ביקוע של השרשרת הצדדית של הכולסטרול אשר נעשה במטריקס של המיטוכונדריה.
כל המשך סינתזת הסטרואידים נעשה על גבי ה-smooth ER.
בין הריאקציות ישנן הרבה מאוד הידרוקסילציות.



©ענת עציון

ציטוכרום P450:

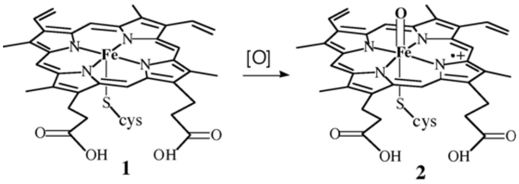
אנזימים אלה מופיעים גם בפרויקריוטים וגם באאוקריוטים.
ישנם 59 אנזימים שונים באדם! הם נפוצים בכל הרקמות.
הם מקבלים אלקטרון מנשא (למשל: NADPH) ע"י קומפלקס חלבוני נפרד.
אנזימים אלה מבצעים אלפי ריאקציות בתא וביניהן גם הידרוקסילציות:
החדרת חמצן לתוך מולקולות אורגניות והעברת אלקטרונים עודפים למים.

$$X\text{-}H + O_2 + NADPH + H^+ \longrightarrow X\text{-}OH + H_2O + NADP^+$$

דוגמא: P450 בכבד ממלא תפקיד חשוב בהרס של חומרים רעילים כמו תרופות (ולכן יש לקחת את התרופות במינון המתאים לקצב הפירוק שלהן בכבד).

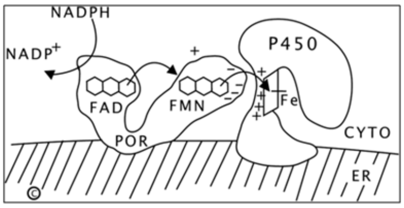
ה- heme ב-P450:

מבנה עם טבעות פורפיריניות.
הברזל נמצא בקואורדינציה קבועה לשייר הציסטאין.



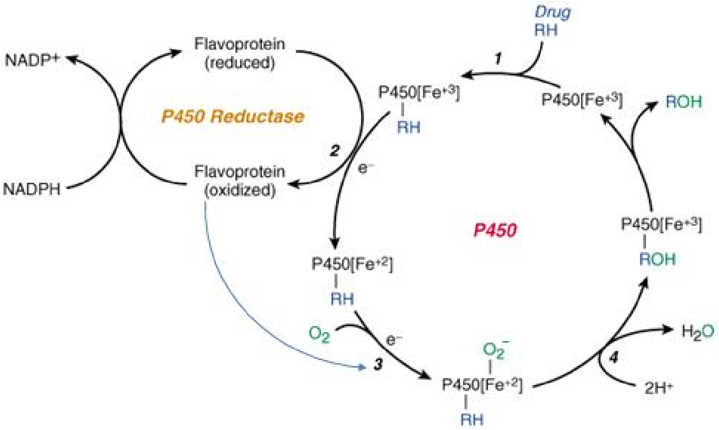
חלבוני העזר להעברת אלקטרונים:

CPR-cytochrome P450 reductase.
מעביר את האלקטרון מ-NADPH ועוזר להפוך חצי מהחמצן למים.



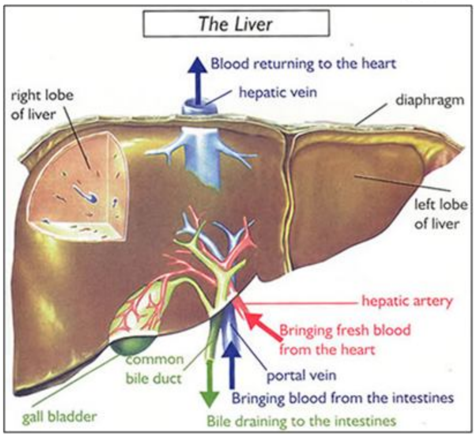
The P450 cycle:

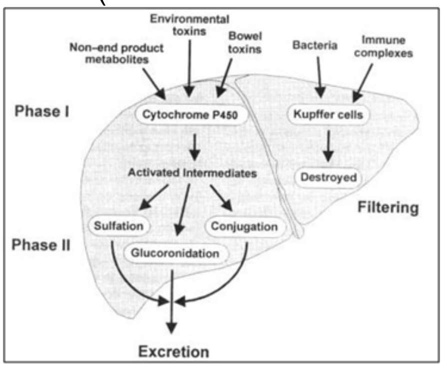
לציטוכרום P450 יש מעגל בו הוא מקטלז ריאקציה שבה אלקטרונים מ- electorn donor מוזרמים במעגל לחמצן. החמצן מתחלק לשני אטומים: חמצן אחד מתחבר עם פרוטונים ליצירת מים וחמצן שני נכנס לסובסטראט שעובר חמצון והופך מ-RH ל: R-OH.



דהטוקסיפיקציה- נטרול רעלים:

תפקיד מאוד קריטי של הכבד שלא ניתן לחיות בלעדיו.
הכבד מסנן את הדם (בייחוד זה שבא מהמעי) ומסלק רעלים וחיידקים. הרעלים כוללים גם כאלה שהגוף יוצר בעצמו. הכבד קודם-כל מטפל ברעלים עם P450- המודיפיקציה גורמת להרס שלהם.
דרך הפרשת הרעלים: העברת תוצרי ההרס לדם ומהדם לשתן וגם הפרשה דרך צינור המרה (עוברים שם רעלים יותר הידרופוביים לאחר טיפול).



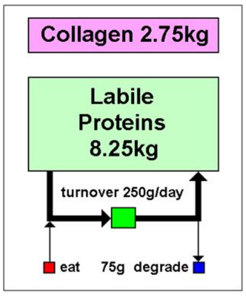


Phase-I: טוקסינים ממקורות שונים ותרופות מטופלים ע"י אחת מעשרות המערכות של ציטוכרום P450, וזה מביא אותם למצב מסיס יותר ופעיל פחות.

©ענת עציון

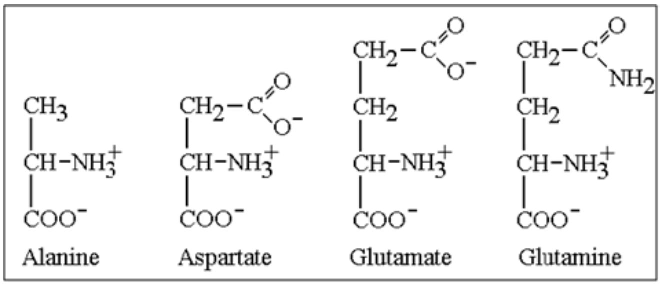
Phase-II: הוספה של קבוצות הידרופיליות כמו: סולפט, סוכרים וחומצות אמינו ולבסוף הפרשה.

חומצות אמינו



חומצות אמינו משמשות לתהליכי ביוסינתזה רבים ביניהם: הנוקליאוטידים, תוצרי ביניים במעגל קרבס ועוד...
קולגן לא מתפרק ונוצר (סיבים חזקים שלא עוברים turn over), אך מלבדו $2/3$ מחומצות האמינו שמתפרקות משמשות שוב לבניית חלבון ורק כ- $1/3$ מכמות החלבון שהתפרק יש לקבל בחזרה מהמזון. חלק ניכר מהחלבון שמגיע מהמזון אינו משמש לבניית חלבון בגוף אלא הופך לחומרי ביניים של המסלולים המרכזיים תוך הפרשת האמינים כאוריאה בשתן.

חומצות אמינו נפוצות:



4 חומצות אמינו מאוד נפוצות במטבוליזם.
Glutamate: תפקיד חשוב בתיווך תגובות טרנס-אמינציה.
Glutamine: מתווכת העברת קבוצת אמין מהרקמות לכבד. (ולכן זוהי חומצת האמינו הנפוצה ביותר בדם).
Alanine ו-Aspartate: קשורות ישירות לחומרי ביניים של קרבס וגליקוליזה.
בין החומצות הללו ישנם מעברים שונים.

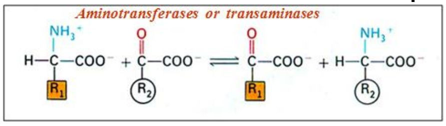
חומצות אמינו חיוניות:

Nonessential	Essential
Alanine	Arginine**
Asparagine	Histidine
Aspartate	Isoleucine
Cysteine*	Leucine
Glutamate	Lysine
Glutamine	Methionine
Glycine	Phenylalanine
Proline	Threonine
Serine ***	Tryptophan
Tyrosine*	Valine

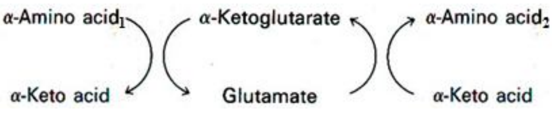
חומצת אמינו חיונית: כזו שהגוף לא יודע לסנתז בעצמו (הכוונה לחומצת ה α-קטו, כי את האמין הגוף יודע להוסיף בתהליך הטרנס-אמינציה) ולכן חייב לקבל במזון.
בערך חצי מחומצות האמינו הן חיוניות וחצי לא.
Arginine: ניתן לסנתז בכמויות קטנות והכמות הזו מספיקה באדם מבוגר אבל בגיל צעיר של גדילה חשוב לקבל אותה במזון.
Serine: הגוף מסוגל לסנתז אבל לא בצורה מספקת.

טרנס-אמינציה:

תהליך שעיקרו העברת הקבוצה האמינית משלד פחמני אחד לשלד פחמני אחר.
ריאקציה הפיכה ובה חומצה α-אמינית מעבירה שייר אמיני לחומצה α-קטו.
החומצה שהעבירה את האמין נותרת כ α-קטו וזו שקיבלה את האמין הופכת לחומצת אמינו.



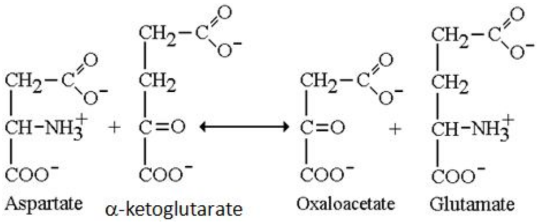
התהליך מאפשר ביוסינתזה של מספר חומצות אמינו בלתי חיוניות מחומרי ביניים של המעגלים וכן איזון בין חומצות אמינו.
התהליך חשוב גם לדה-אמינציה המתרחשת כאשר הן בעודף.



המעברים מתבצעים דרך: Glutamate שגם היא עוברת טרנס אמינציה בתהליך ל- α-ketoglutarate.
<u>קבוע ש"מ:</u> 1, הריאקציה לא דורשת השקעת אנרגיה.
מה שמניע את הריאקציה לכיוון מסוים הוא ריכוז החומרים.

Glutamate-OAA transaminase:

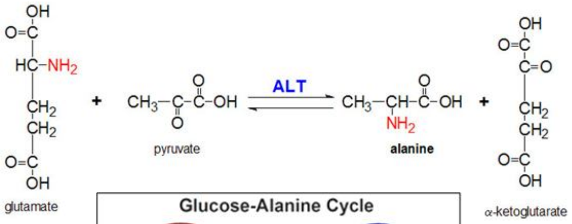
אחד מהנפוצים, קיים גם בגרסה ציטוזולית וגם בגרסה במטריקס. תפקיד קטבולי באיסוף אמינים מחומצות אמינו שונות.



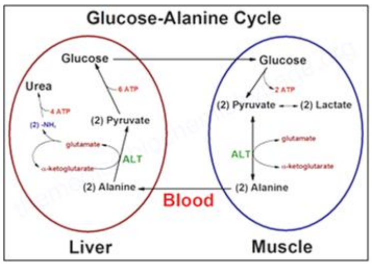
©ענת עציון

יש שימוש בריאקציה גם במעבורת מלאט-אספרטט המשמשת למעבר NADH למיטוכונדריה.

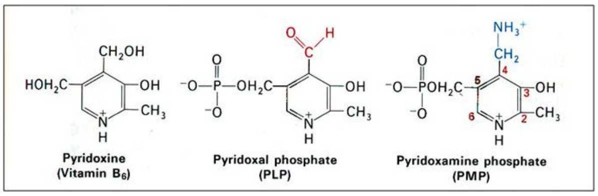
Glutamate-Pyruvate transaminase:



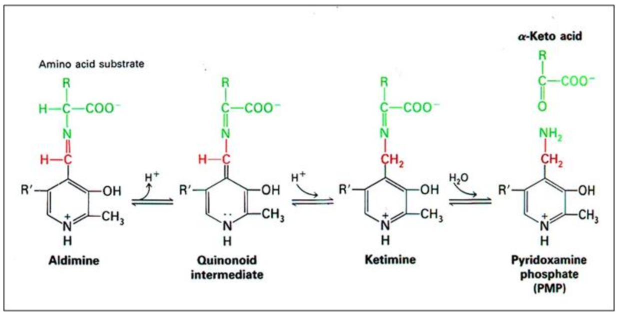
ALT- אנזים מאוד נפוץ וכללי.
אלאנין הופכת לפירובט תוך מסירת האמין שלה.
תגובה זו מאפשרת לתאים לנצל חומצות אמינו לשם הפקת אנרגיה במצבי עקה בהם מפורקים שרירי השלד- אלאנין מעביר קבוצת אמינו מהשריר לכבד: זורם בדם, מגיע לכבד ושם שוב יש טרנס-אמינציה והאלאנין הופך בחזרה לפירובט שבו ניתן לטפל בקרבס או בגליקוליזה.



לאנזימי ה-transaminase ישנו קואנזים: PLP שהוא נגזרת של ויטמין B6 אשר עובר חמצון וזרחון לצורה הפעילה.
במצב הביניים של הריאקציה, ה-PLP נמצא במצב של אמין.



מנגנון הטרנס-אמינציה:

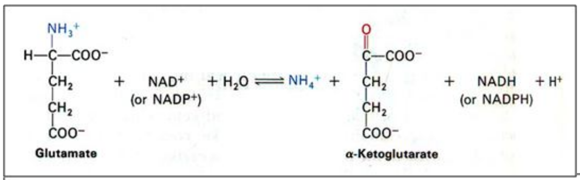


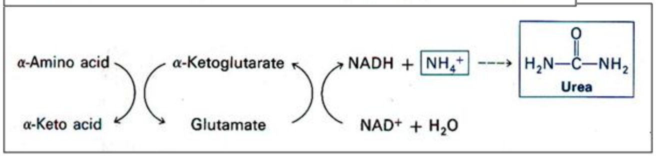
זהו החצי הראשון של הריאקציה ובו נוצר קשר בין האמין הראשוני והאלדהיד (קשר אמיני).
בטבעת הפירימידינית יש מטען חיובי וזה מסייע לארגון מחדש של המולקולה עם קשרים כפולים מצומדים תוך ביטול המטען.
בהמשך PMP מעביר את שייר האמין לחומצת קטו השנייה ע"י היפוך הכיוון מימין לשמאל.

פירוק חומצות אמינו:

בגוף שלנו תמיד יש עודף מסוים של אמינים, בגלל קבלה מהמזון וגם כי הם מנוצלים ליצירת אנרגיה. חלק משמעותי מהעודף הופך לאמוניה- חומר רעיל בחיות. את שלדי חומצות האמינו ניתן לנצל בתהליכים כמו גלוקוניאוגנזה.

Glutamate dehydrogenase:





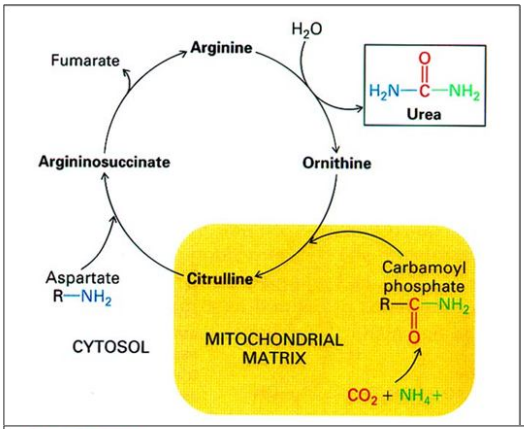
באופן חריג זוהי ריאקצית טרנס-אמינציה המשתמשת ב-NAD^+ או ב-$NADP^+$, והיא מתרחשת במיטוכונדריה.
לריאקציה יש תפקיד בהפיכת עודפי חומצות האמינו לאמוניה וגם כריאקציה אנלפרוטית היוצרת חומרי ביניים למעגל קרבס.

בקרה: מטען אנרגיה- ATP,GTP:
מעכבים, ADP, GDP: מזרזים.

Urea: חומר בלתי טעון. אחד החומרים האורגניים הכי בסיסיים שיש.
אמוניה הופכת בכבד ל-urea דרך מעגל ה-urea.

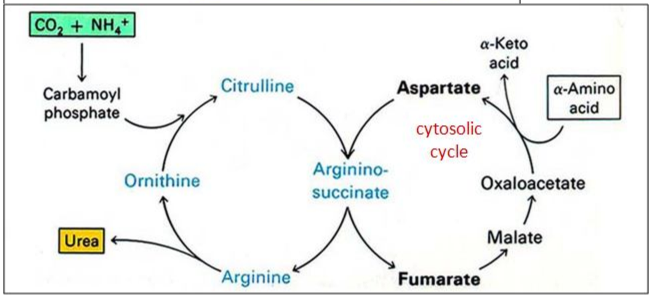
©ענת עציון

מעגל ה-urea:



מתרחש בכבד. המעגל מנטרל את האמוניה הרעילה. האמוניה מגיבה עם CO_2 ליצירת: carbamoyl phosphate- חומר עתיר אנרגיה. Carbamoyl phosphate נכנס למעגל ועובר דחיסה עם: ornithine ליצירת: citrulline שזהו חומר שיוצא לציטוזול. המעגל ממשיך בציטוזול ובו נעשה מחזור עד Arginine אשר בתהליך הידרוליזה מביא ל: urea ול-ornithine שימשיך למעגל נוסף.

תוצר-ביניים-fumarate:



Aspartate נכנס למעגל ו-fumarate יוצא ממנו. ניתן למחזר את fumarate ע"י שילוב של ריאקציות ממעגל קרבס אבל הן קורות בציטוזול ולכן הן עם אנזימים אחרים. Fumarate הופך ל-OAA וטרנס-אמינציה תאפשר העברת האמין ל-Aspartate שלו יש תפקיד קטליטי במעגל.

סיכום המעגל:

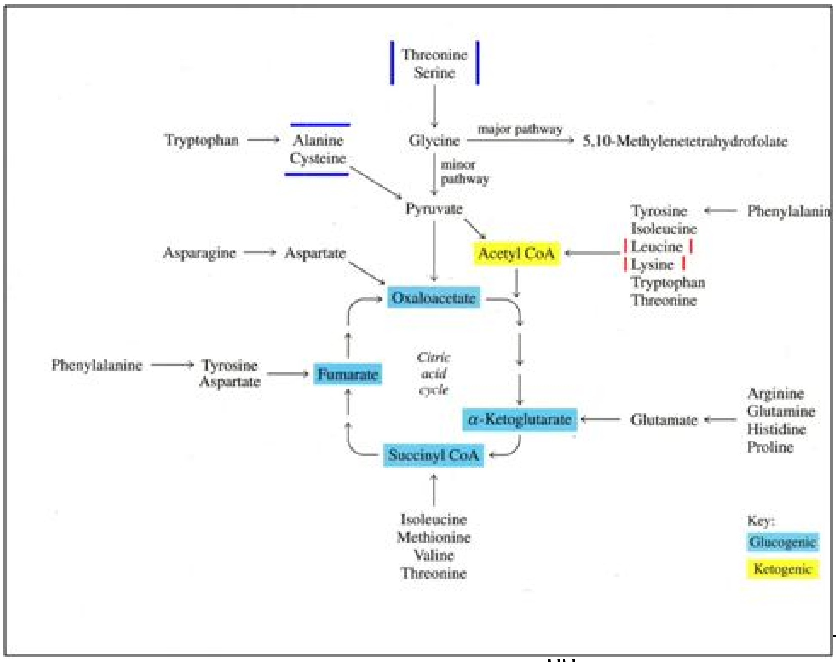
- ריאקציות טרנס-אמינציה מאפשרות ניקוז שיירי האמינו בחומצות מרכזיות: גלוטמט ואספרטט.
- חומצות ה-α-קטו שלהן יכולות לשמש באופן קטליטי בהעברת שיירי אמינו למעגל האוריאה.

אמוניה מהכליות בתיוך Glutamine:

יש גם אמוניה הנוצרת בכליות בתיווך Glutamine.

מחזור שיירי ה α-קטו:

לאחר דהאמינציה חמצונית השלד הפחמני יכול לשמש לעיתים כחומר ביניים של מסלולים מרכזיים אך ברוב המקרים נדרש מסלול מטבולי ייחודי כדי להביא את השלד הפחמני לנקודה זאת.



גלוקוגניות: חומצות אמינו שניתן להפוך את השלב הפחמני שלהן לגלוקוז.

קטוגניות: חומצות שהשלד הפחמני שלהן הופך ל-Acetyl CoA או Acetoacetyl CoA.

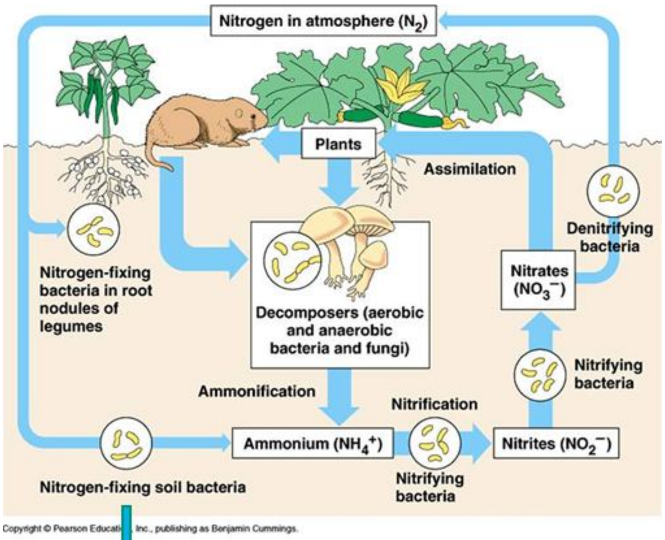
הרבה חומצות אמינו משתתפות בכמה מסלולים.

©ענת עציון

סינתזה של חומצות אמינו:

מעגל החנקן בטבע:

באטמוספירה- 79% חנקן.
חנקן זה חומר מאוד-מאוד יציב.
החיים תלויים בחיידקים שיודעים להפוך חנקן אטמוספירי לאמוניה.
חיידקים אלה חיים באדמה בסימביוזה עם קטניות.
אמוניה יכולה לשמש כמזון לצמחים אבל הם מעדיפים ניטרטים שמתקבלים מחמצון של האמוניה שנעשה ע"י חיידקים אחרים.
וזהו המקור של האמוניה בטבע.

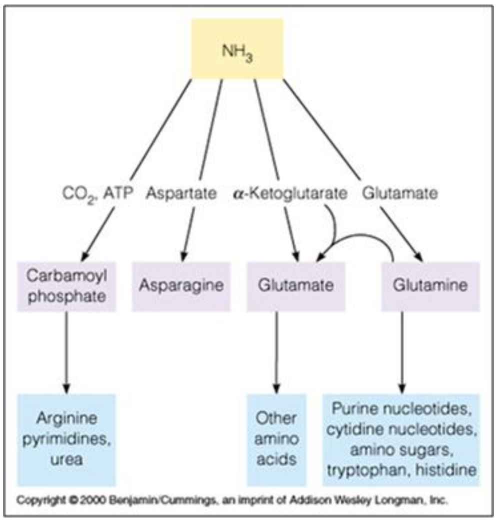


ריאקציית nitrogen fixation

$$N_2 + 8e^- + 16ATP + 16\ H_2O \xrightarrow{\text{Nitrogenase(bacterial)}} 2NH_3 + H_2 + 16Pi + 8H^+$$

בניגוד לצמחים וחיידקים, בחיות אמוניה לא מגיעה מהמזון אלא מגיעה כתוצר פירוק תוך-תאי, בעיקר של חומצות אמינו. התא משתמש בחלק מהאמוניה ליצירת חומרי תא חשובים ואילו עודפים הופכים לאוריאה בכבד.

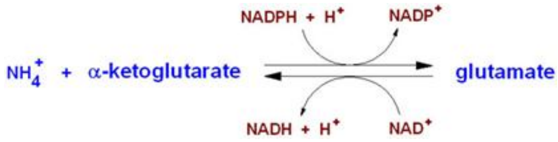
עיקר השימוש באמוניה הוא לתהליכי מחזור.
האמוניה נקשרת למולקולות בתא שלנו.
אינקורפורציה של אמוניה בחיות נעשית דרך גלוטמין וקרבמואיל פוספט.



ריאקציות להכנסת אמוניה:

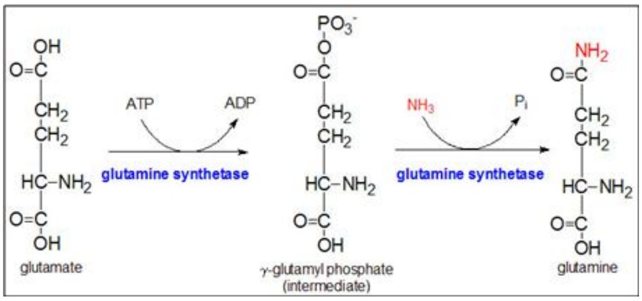
היפוך הדהאמינציה חימצונית:

ניתן להכניס אמוניה ע"י היפוך ריאקצית הדהאמינציה חמצונית. התהליך הזה לא ממש קורה בפועל כי האנזים הפעיל במטריקס הוא קטבולי (מקטלז את כיוון הפירוק). כאשר יש הרבה NH_4^+ הריאקציה תלך ימינה וזה יכול לפגוע במעגל קרבס (כי יש פחות α-ketoglutarate).



כניסת אמוניה לגלוטמין:

הריאקציה הכי חשובה. גלוטמין הוא בסיס לריאקציות של נוקליאוטידים ועוד הרבה דברים אחרים בתא.
גלוטמט מקבל פוספט מ-ATP ויוצר: γ- glutamylphosphate. ואז נכנסת אמוניה, משתחרר הפוספט ומתקבל גלוטמין.

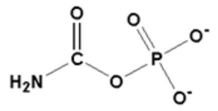


©ענת עציון

<u>הריאקציה בצמחים:</u>

In bacteria and plants, glutamate can then be obtained by Glutamate Synthase:

$$\text{L-glutamine} + \alpha\text{-ketoglutarate} + \text{NADPH} + H^+ \longrightarrow 2\ \text{L-glutamate} + \text{NADP}^+$$



Carbamoyl Phosphate

<u>Carbamoyl phosphate:</u>

אחד השימושים החשובים לגלוטמין: מסירת האמין ליצירת Carbamoyl phosphate.
ישנם שני סוגים של האנזים- carbamoyl phosphate synthetase:
<u>Type I</u>: אנזים מיטוכונדריאלי שמצוי רק בכבד ובתאי מעי, ומשתמש באמוניה. בכבד האנזים מתפקד במעגל ה-urea והוא מצוי שם בריכוז גבוה.

$NH_4^+ + HCO_3^- + 2ATP \rightarrow$ Carbamoyl phosphate $+ 2ADP + Pi$

<u>Type II</u>: אנזים ציטוזולי שנמצא בכל סוגי התאים ומשתמש בגלוטמין

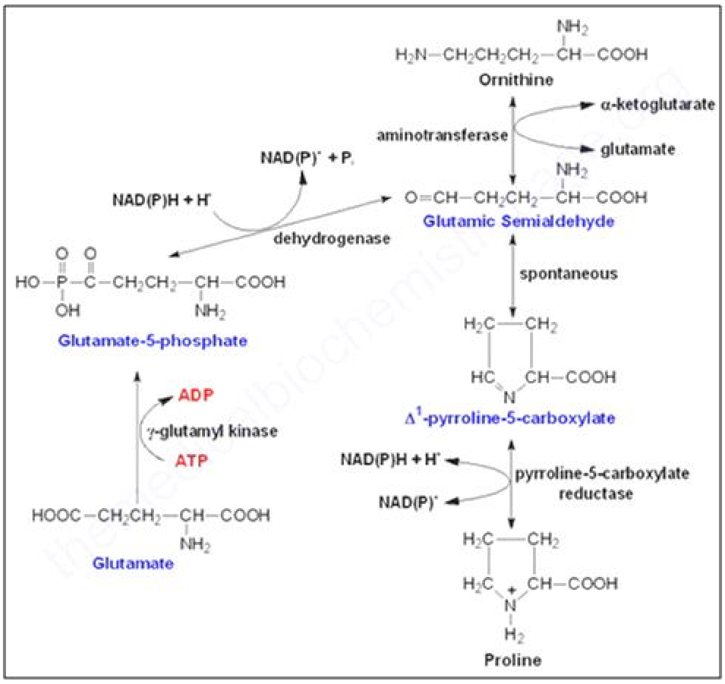
$Gln + HCO_3^- + 2\ ATP + H_2O \rightarrow$ carbamoyl phosphate $+ Glu + 2\ ADP + P_i$

<u>סינתזת חומצות אמינו לא חיוניות:</u>

- <u>אלנין, אספרטט וגלוטמט:</u> טרנס-אמינציות של חומצת ה α-קטו: פירובט, OAA, α-KG.
- <u>אספרגין וגלוטמין:</u> טרנס-אמינציות של: אספרטט וגלוטמט.
- <u>ארגינין:</u> נוצרת באופן זמני במעגל ה-urea. מקור עיקרי לסינתיזה שלה הוא ה-citrulline אשר מיוצר בתאי מעי ומובא משם לכליות ושם נעשית סינתזת הארגינין.

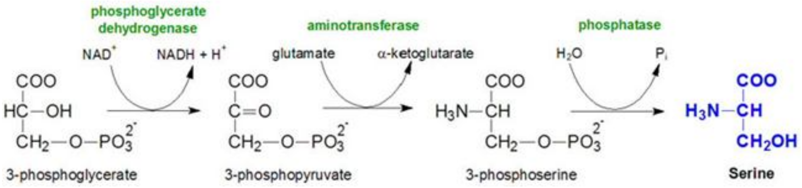
<u>סינתזת פרולין:</u>

זו חומצה אמינית שהאמין שלה בתוך טבעת.
הסינתזה מתחילה מ-glutamate, הוא עובר אקטיבציה ע"י פוספורילציה ואז לאחר חיזור נוצר תוצר ביניים שבטרנס-אמינציה יכול ליצור: ornithine.
תוצר זה גם יכול להמשיך ליצירת חומצה שבה האלדהיד מתחבר בקשר אימיני עם אמיד ונוצרת טבעת.



<u>סינתזת סרין:</u>

מסלול פשוט בתיווך של glutamate. למרות קיום המסלול, פעילותו לא מספיקה וחשוב לקבל serine גם מהמזון.

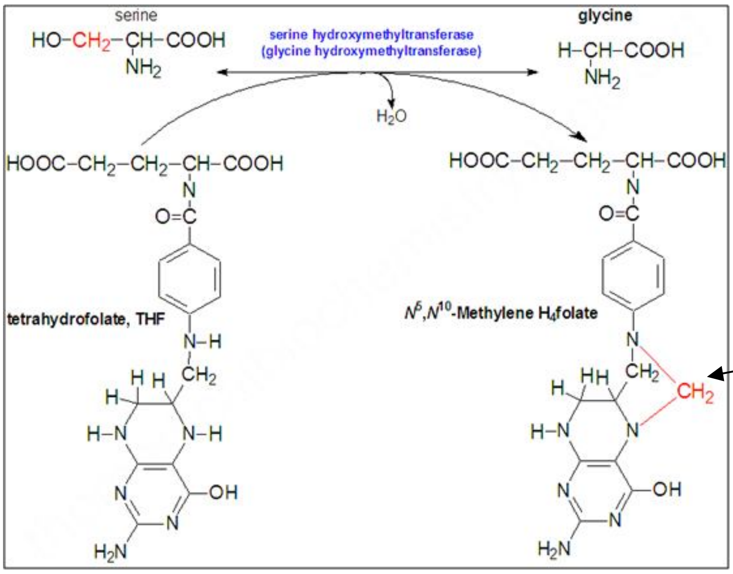


©ענת עציון

<u>סינתזת גליצין- ייצור folate-ים:</u>

מתקבל מ-serine. מאבד את ה-CH_2OH שלו.

הריאקציה הזו, תפקידה העיקרי הוא להכניס את ה-CH_2 ל-THF. ה-THF הוא הבסיס לריאקציות סינתזה בתא.



נכנס בין שני חנקנים של THF

- מעבר לתפקיד בסינתזת גליצין, לפולאטים יש תפקיד מרכזי בהעברה של יחידות של פחמן אחד בכל מצבי החמצון (מלבד- CO_2).
- השימוש העיקרי של הפיכת סרין שמקורה במזון לגליצין הוא בכדי לטעון את הפולאט ביחידה חד-פחמנית.
- ניתן בריאקציית המשך של פירוק הגליצין להעביר פחמן נוסף לפולאט:

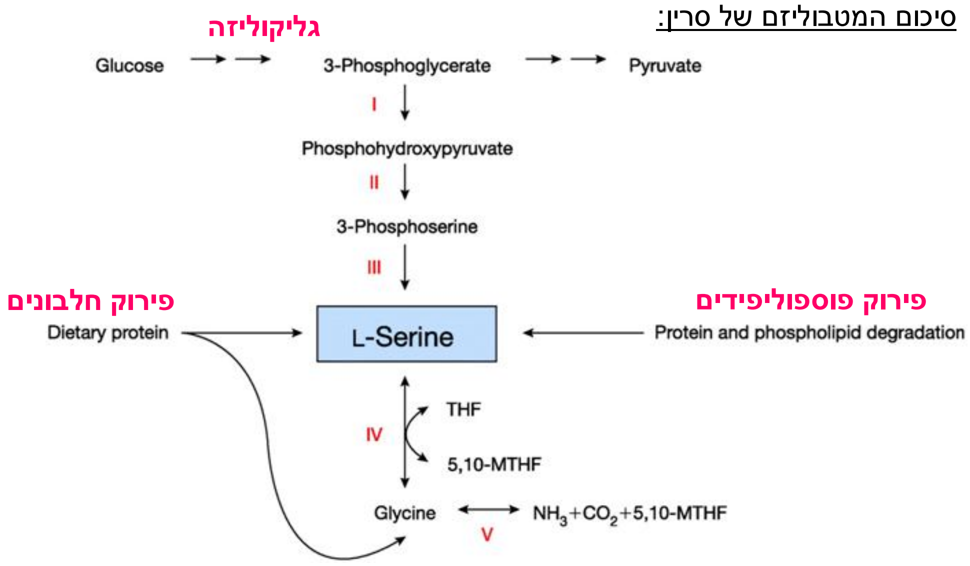
Glycine decarboxylase

$$\text{Glycine} + NAD^+ + \text{THF} \longrightarrow CO_2 + NH_4^+ + NADH + \text{5,10-methylene-THF}$$

<u>לסיכום:</u> זוהי ריאקציה שבה $2/3$ מפחמני הסרין עוברים לשני פולאטים:

$$\text{Serine} + NAD^+ + \text{THF} + H_2O \longrightarrow CO_2 + NH_4^+ + NADH + 2x\ \text{5,10-methylene-THF}$$

<u>סיכום המטבוליזם של סרין:</u>



<u>הערה:</u> כך ניתן להגיע מגלוקוז ל-5,10-methylene-THF.

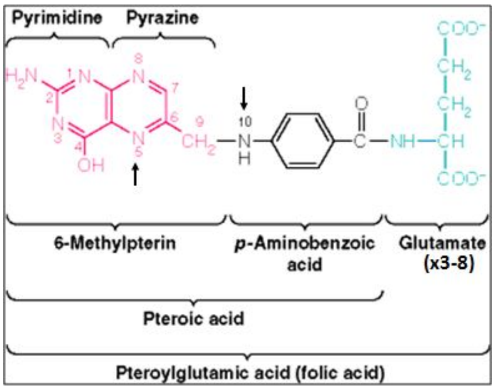
©ענת עציון

:Folates

פולאטים מתקבלים מהמזון דרך החומצה הפולית שהיא חומר מאוד נפוץ. יש לה 3 חלקים שאת השניים הראשונים חייבים לקבל במזון.

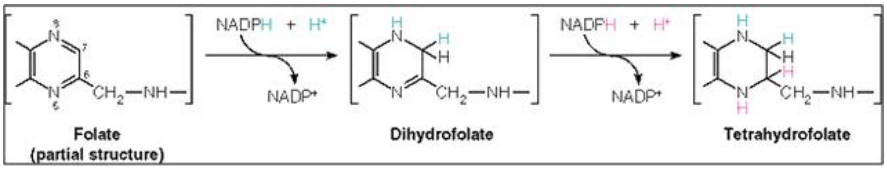
ישנם שיירי חומצה גלוטמית אשר עוזרים ללכוד את החומצה הפולית בתוך התא.

<u>הערה:</u> בחיצים מסומנים חנקנים פעילים.



:חיזור פולאטים

כדי להעביר את הפולאט לצורתו הפעילה יש לחזר את הקשרים הכפולים ולהרוס את הארומטיות.



:תרופות סולפה

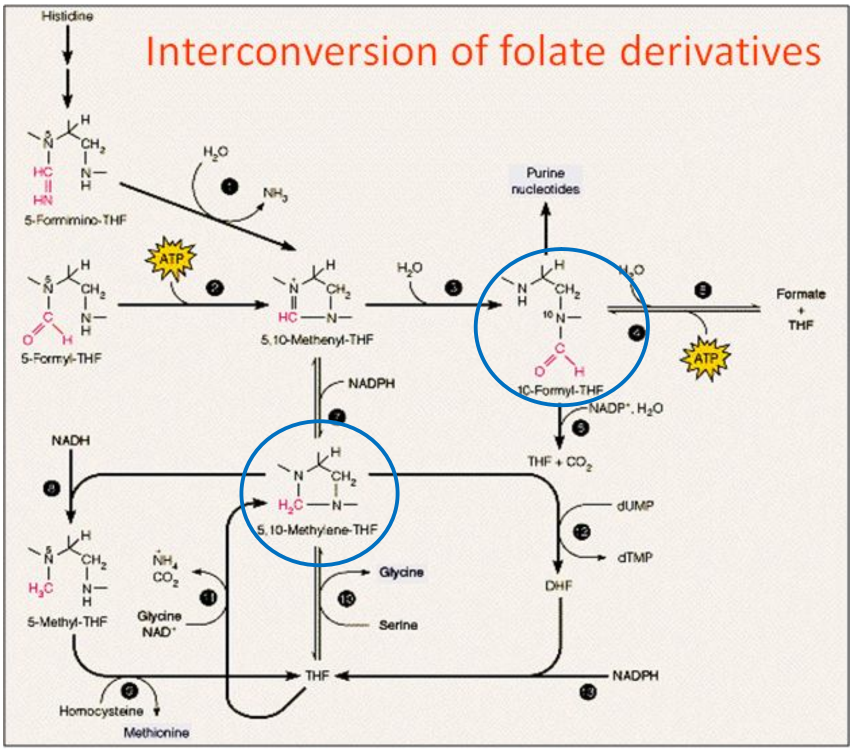
מעכבים תחרותיים של האנזים בחיידקים אשר מחבר את שני החלקים הראשונים של החומצה הפולית מה שמונע את הסינתזה של folate בחיידקים וזה הורג אותם כי הם לא יודעים לקלוט חומצה פולית מבחוץ.

:מעברים בין נגזרות של פולאטים

יחידת הפחמן יכולה להיכנס בכל-מיני דרכים שונות.

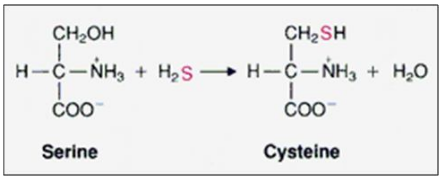
<u>:Methylene-THF</u> הצורה העיקרית המסונתזת בתא. מתיל לא משמש באופן ישיר לריאקציות ביוסינתטיות אלא עובד דרך SAM.

<u>:Formyl-THF</u> צורה חשובה נוספת.



©ענת עציון

הכנסת גופרית לחומצות אמינו:



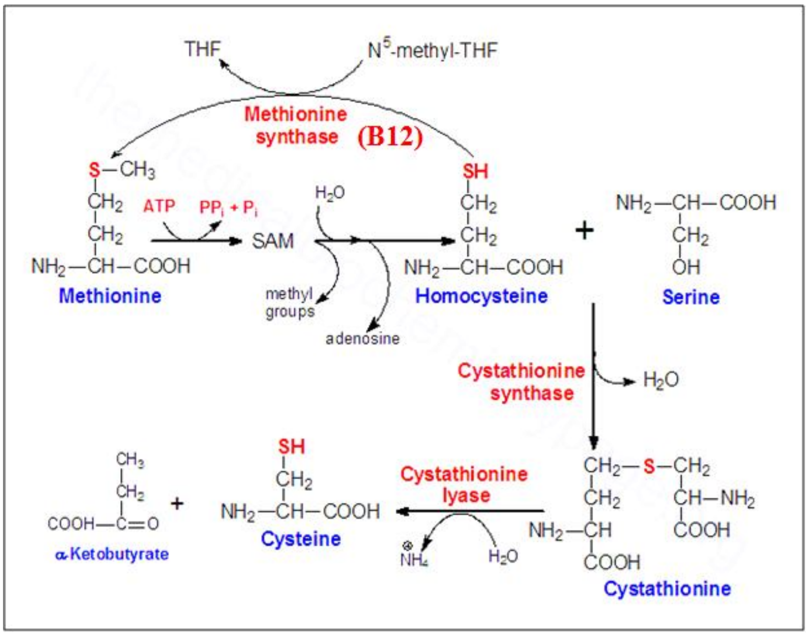
חיידקים וצמחים מסוגלים לקלוט גופרית אנאורגאנית תוך הפיכת סרין לציסטאין.

שלבי הריאקציה:

$$\text{Serine} + \text{acetyl-CoA} \longrightarrow \textit{O}\text{-acetylserine} + \text{CoA-SH}$$

$$\textit{O}\text{-Acetylserine} + H_2S \longrightarrow \text{cysteine} + \text{acetate} + H_2O$$

מסלול ממתיונין לציסטאין:



מתיונין הינה חומצת אמינו חיונית וממנה קיים מסלול לציסטאין (ולכן ציסטאין היא לא חומצה חיונית).

המנגנון:

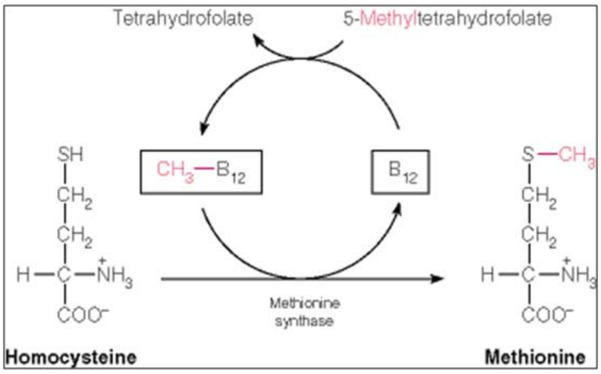
המתיונין מנצל 3 קשרי ATP והופך ל-SAM, תרכובת מאוד אנרגטית – ה-donor המרכזי בתא לשיירי מתיל. (הריאקציה תפורט בהמשך).

לאחר העברת קבוצת מתיל מתקבל: הומוציסטאין.

המסלול ממשיך בדחיסה עם סרין לקבלת ציסטאין.

מחזור מתיונין: הומוציסטאין מקבל קבוצת מתיל מ-5 methyl-THF, שהופך ל-THF.

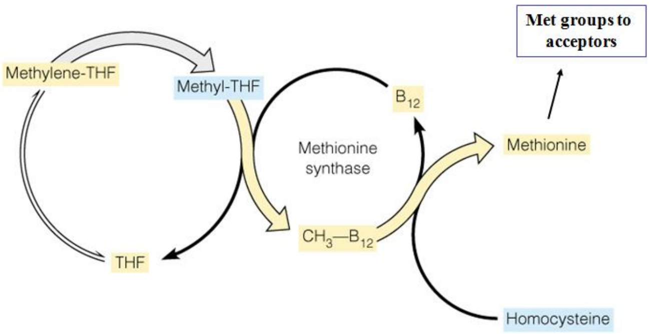
פירוט על מחזור מתיונין מהומוציסטאין:



ריאקציית המחזור היא לא ממש סינתזה כי מתיונין היא כאמור חומצה חיונית.

הריאקציה משתמשת בויטמין B12. הויטמין הוא קואנזים שמעביר את המתיל מ5-methyl-THF להומוציסטאין.

מעגל הפולאטים וויטמין B12:



מחסור ב-B12 יכול להביא לשתי בעיות:

1. אנמיה.
2. סימפטומים נוירולוגים.

מחסור ב-B12 גורם לכך שהריאקציה של Methionine-סינתאז לא מתרחשת ואז Methyl-THF מצטבר ולא נצרך וגם אין מחזור ל: Methylene-THF.

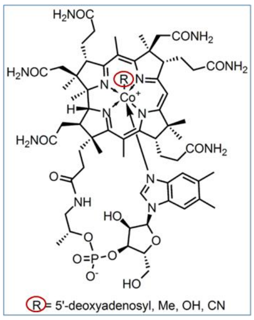
כחול: חומרים המצטברים במחסור ב-B12.

צהוב: חומרים החסרים במחסור ב-B12.

הערה: במחסור זה לא עוזר סתם לבלוע B12 כי הבעיה היא בספיגה שלו לתוך הדם.

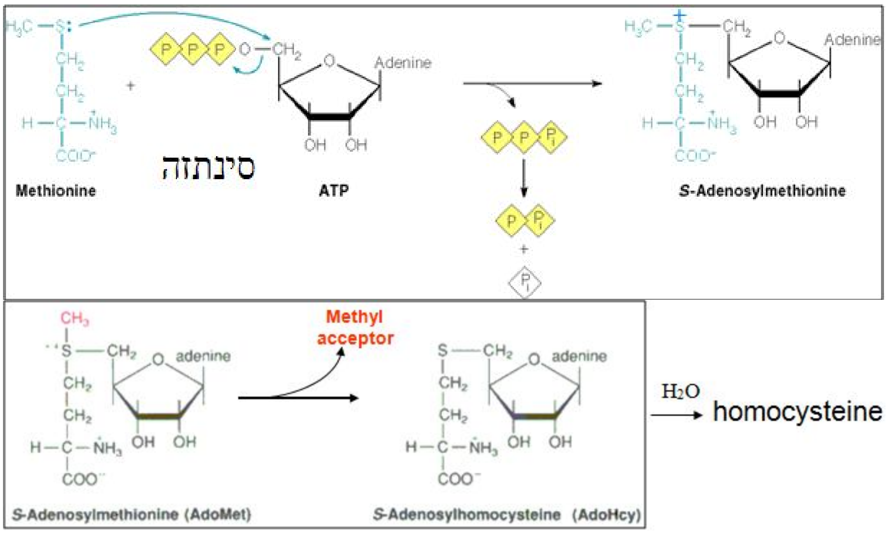
©ענת עציון

מבנה B12:



ויטמין B12 הוא חומר די מורכב שרק חיידקים יודעים לסנתז.
זהו קואנזים שיש בו: Covalt.
באדם ישנן רק שתי ריאקציות בהן משתתף B12 (ריאקציה נוספת שלא נלמדת בקורס).
בחיידקים B12 משתתף בהרבה ריאקציות.

ממתיונין ל-SAM:



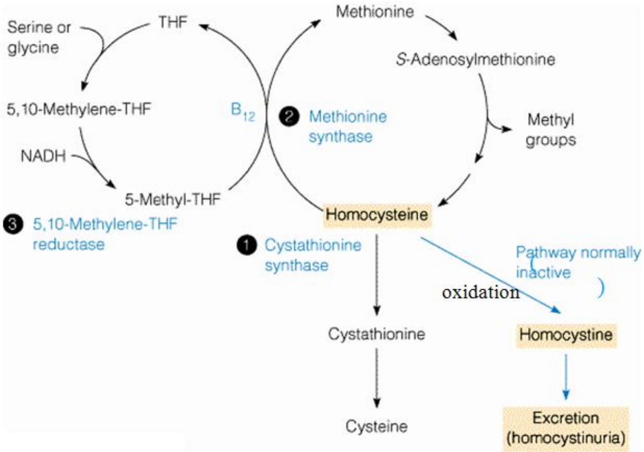
SAM- חומר עתיר אנרגיה הנוצר בריאקציה של מתיונין עם ATP. מכיל יון סולפוניום עם פוטנציאל העברת מתיל מאוד גבוה.

הריאקציה ממשיכה לאחר ש-SAM מעביר מתיל.
<u>הערה:</u> ישנו גם אדנוזין המשתחרר בריאקציה.

<u>SAM משמש לכל ריאקציות המתילציה בתא מלבד המחזור של מתיונין:</u>

Methyl Group Acceptor	Methylated Product
Norepinephrine	Epinephrine
Guanidinoacetic acid	Creatine
Phosphatidylethanolamine	Phosphatidylcholine
DNA-adenine or -cytosine	DNA-*N*-methyladenine or 5-methylcytosine
tRNA bases	Methylated tRNA bases
Nicotinamide	*N*[1]-Methylnicotinamide
Protein amino acid residues	Methylated amino acid residues

הומוציסטאינוריה:



במחסור ב-B12, האנזים Methionine synthase לא יעבוד כמו שצריך ואז לא יהיה מחזור יעיל של פולאטים.

- פגיעה בסינתיזת DNA בתאים מתחלקים. (דרך לזיהוי: נשירת שיער).
- הצטברות הומוציסטאין פוגעת בכלי-דם קטנים ויכולה לגרום לעלייה בלחץ הדם.
- בעיה בחלוקת תאים במוח העצם תגרום לאנמיה מאוד קשה.

<u>האנזימים המסומנים בכחול:</u> פגיעה בכל אחד מהם תביא ל: פיגור שכלי, פגיעה בכלי דם והינתקות העדשה.

©ענת עציון

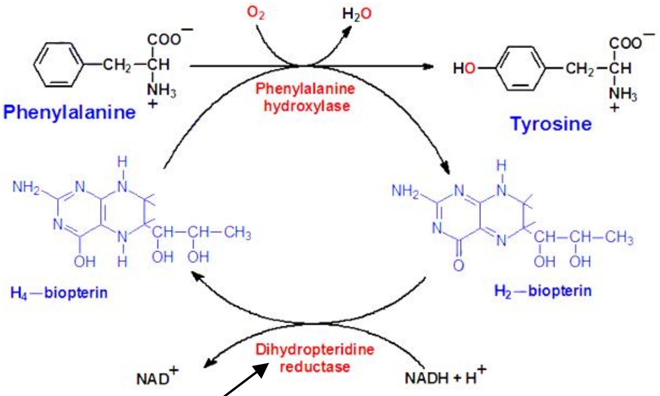
חומצות אמינו ארומטיות:

ישנן שתיים כאלה: פנילאלנין וטירוזין.
קיימם מסלולים מאוד מורכבים לסינתזת חומצות אמינו אלה בחיידקים וצמחים. בע"ח איבדו את הכושר לסנתז אותן, פרט לריאקציה אחת- הפיכת פנילאלנין לטירוזין.

מפנילאלנין לטירוזין:

האנזים Phe hydroxylase לוקח 2 אלקטרונים ומבצע הידרוקסילציה לפנילאלנין לקבלת: טירוזין, ו-2 אלקטרונים אחרים מועברים ל-NADPH.

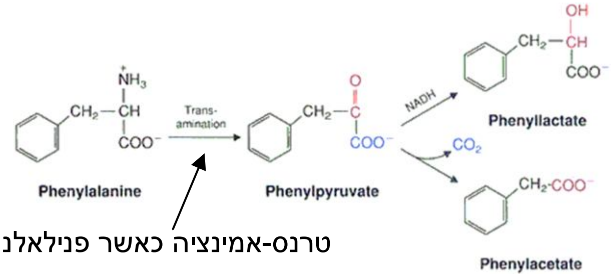
Biopterin: קואנזים שעובר חמצון וחיזור.



אנזים כללי שממחזר biopterin

פנילקטונוריה:

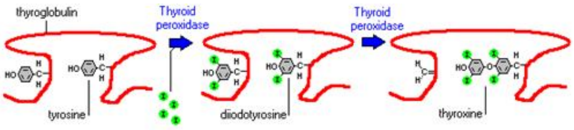
פגיעה באנזים Phe hydroxylase מביאה למחלה: פנילקטנוריה- פיגור שכלי כבד.
זו מחלה אוטוזומית רצסיבית.
במחלה פנילאלנין מצטבר בכמויות עצומות בגוף ויש מטבוליזם מוגבר של פנילאלנין לפנילאצטט ול-פניללקטט המופרשים בשתן.
הטיפול במחלה: דיאטה מיוחדת שדואגת שבמזון כמעט שלא יהיה פנילאלנין ושיהיה הרבה טירוזין.

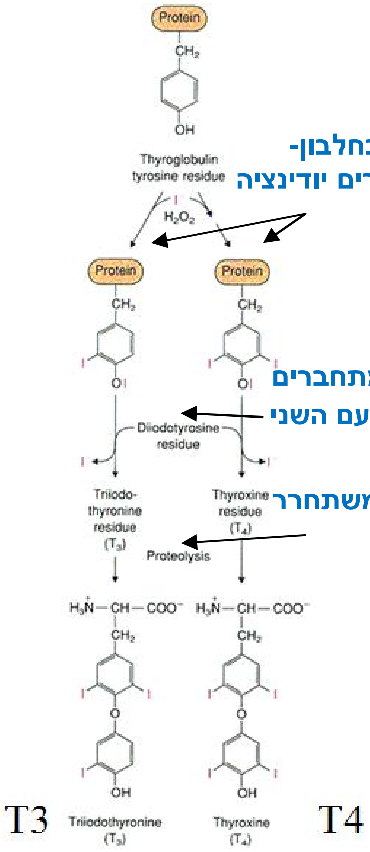


טרנס-אמינציה כאשר פנילאלנין מצטבר

טירוזין- חומר מוצא לביוסינתזות:

1. **הורמונים של בלוטת התריס המכילים יוד: T3, T4.**
הסינתזה שלהם היא תהליך מוזר.





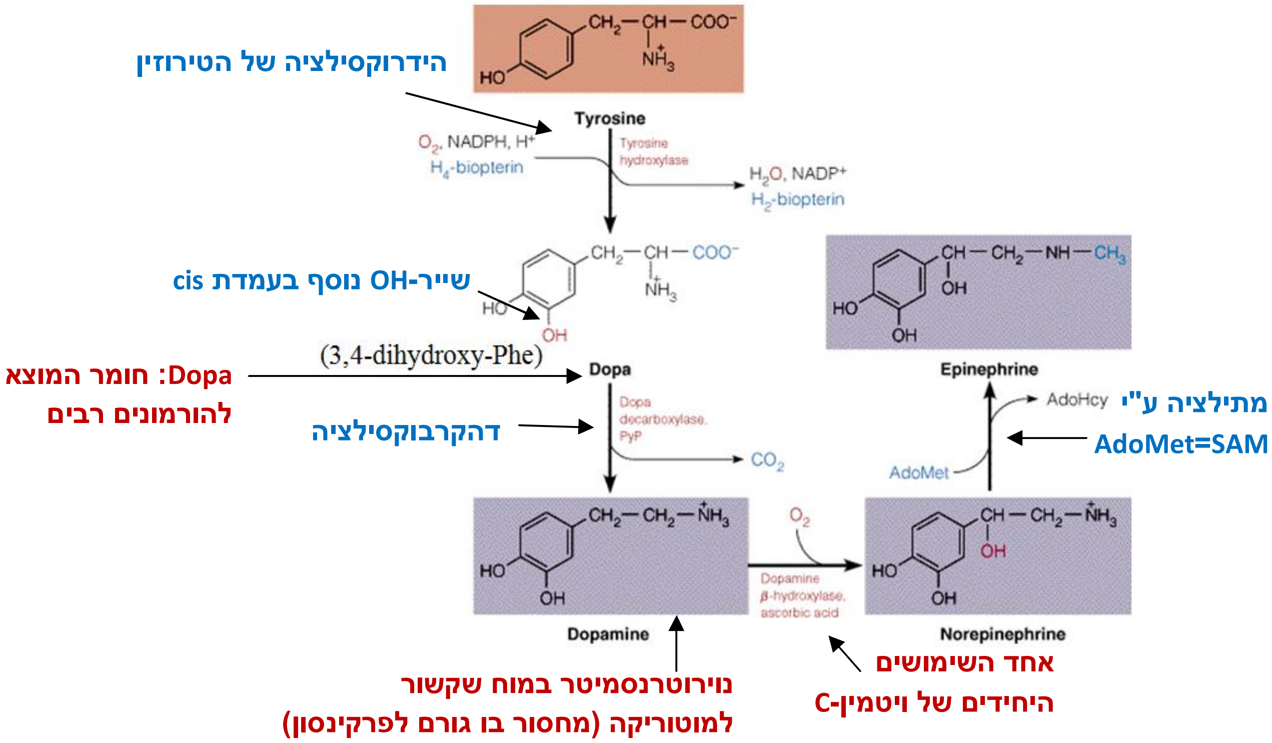
שני טירוזינים בחלבון-
טירוגלובין עוברים יודינציה

הם מתחברים
אחד עם השני

ולבסוף התוצר: טירוקסין משתחרר
מהחלבון ע"י פרוטאוליזה.

©ענת עציון

2. קטכולאמינים- דופמין, אפינפרין ונור-אפינפרין:



פירוק קטכולאמינים:

לאחר פעולתם, יש לפרק את ההורמונים. ישנן כמה דרכים להרוס אותם:

חמצון עם MAO:

MAO=monoamine oxidase.

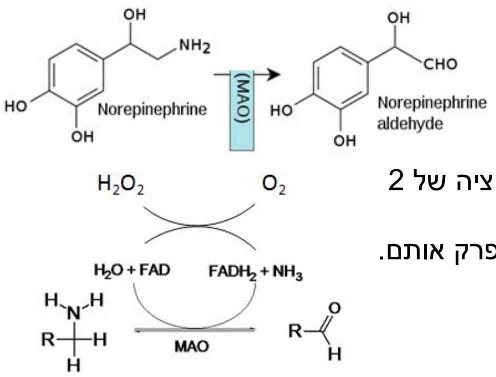
זו ריאקציה שמשתמשת בחמצן אטמוספירי אבל השימוש הוא דרך אנזים שלא מכניס חמצן לסובסטראט, אלא מקור החמצן הוא במים.

החמצן האטמוספרי כאן ממחזר את ה-FAD.

החמצן כאן הופך למי חמצן-H_2O_2 ולא למים (ריאקציה של 2 אלקטרונים בלבד).

מי-חמצן הם לא דבר רצוי וישנו אנזים קטלאז המפרק אותם.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2$$



הערה: מעכבים של MAO גורמים לעלייה ברמת הנוירוטרנסמיטורים, מה שעוזר למחלת הפרקינסון.

אוקסידאזות: אנזימים שמבצעים חמצון של סובסטראטים מבלי להכניס את החמצן האטמוספרי לתוך התוצר. הוא משמש רק לרגנרציה של הקואנזים שמבצע את החמצון.

הידרוקסילאזה: אנזים שכן מכניס חמצן אטמוספירי. חמצן אחד עובר לסובסטראט ושני עובר למים.

$$AH + BH_2 + O{=}O \longrightarrow A{-}OH + B + H_2O$$

$$RH + NADPH + H^+ + O_2 \longrightarrow R{-}OH + NADP^+ + H_2O$$

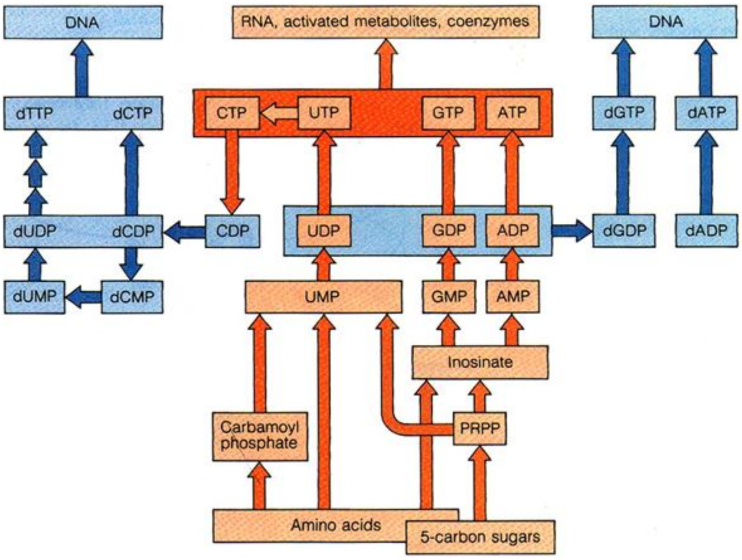
©ענת עציון

נוקליאוטידים

כל תא הוא בעל יכולת לסנתז נוקליאוטידים de novo ותאים מתחלקים תלויים במסלול לסינתזת DNA.
תאים יכולים גם למחזר בסיסים שהתקבלו כתוצרי פירוק של נוקליאוטידים במסלול ה-salvage.
עיכוב של סינתזה de novo של נוקליאוטידים משמש כבסיס עיקרי לטיפול כימותרפי במחלת הסרטן.
עודף של נוקליאוטידים עובר פירוק, ופגמים תורשתיים במסלולי פירוק קשורים במחלות ניווניות.

סינתזת de novo של נוקליאוטידים:

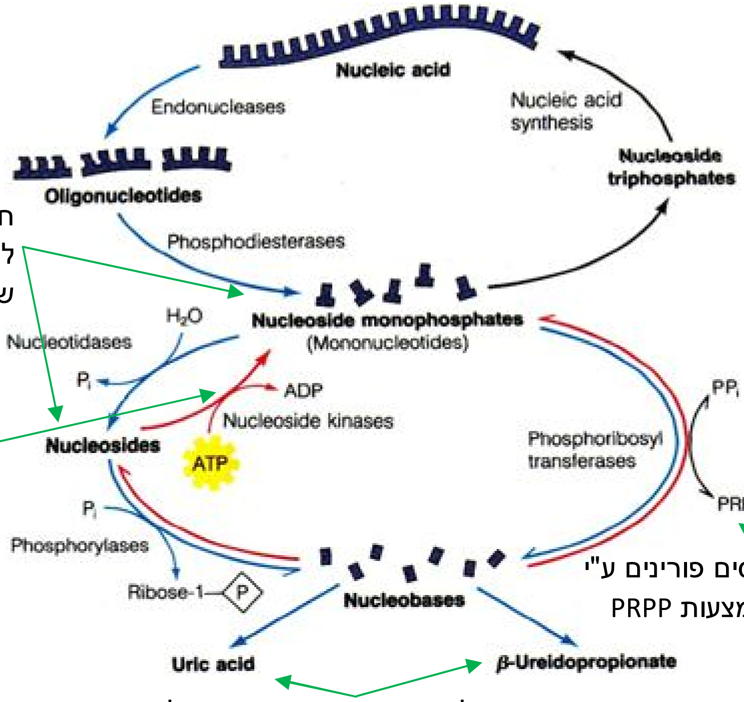
נוקליאוטידים יכולים להיות מסונתזים מחומרים מאוד פשוטים.
בסינתזה מגיעים לבסיסי RNA ואותם ניתן להפוך ל-deoxy.



קליטה מהמזון והצלה לאחר פירוק:

חומצות נוקליאיות מהמזון מתפרקות למונו-פוספטים ובהמשך לנקליאוזידים, שהם הצורה העיקרית שהתא קולט.

בתוך התא, נוקילאוזיד קינאז מחזיר את הנוקליאוטיד למצב של מונו-פוספט שממנו ניתן להמשיך לטריפוספט



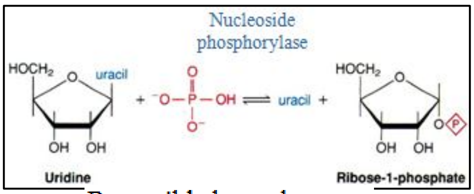
ניתן "להציל" בסיסים פורינים ע"י העברת ריבוז באמצעות PRPP

עודפי נוקליאוטידים בתא מתפרקים לבסיס חופשי בעזרת פוספורוליזה, והבסיסים מתפרקים לתוצרים נוספים: פורינים- לUric acid
פירימידינים- לβ-Ureidoproplonate.

©ענת עציון

ריאקציית הפוספורילאז:

מנוקליאוטיד מקבלים סוכר ופוספט.
זוהי ריאקציה הפיכה.
בכיוון השני יש סינתזה של נוקליאוזיד (מסלול ה"הצלה" לפירימידינים).

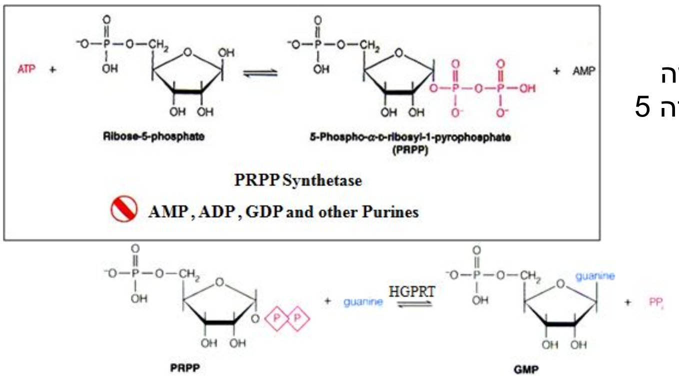


Reversible base cleavage
by phosphorolysis
(right to left=salvage)

PRPP- תורם phosphoribosyl:

PRPP מבצע "הצלה" של בסיסים שפורקו ומחזיר אותם להיות נוקליאוזיד. זוהי הצורה המשופעלת של ריבוז בתא. ריבוז שבעמדה 5 יש לו פוספט ובעמדה 1 ישנו שפעול ע"י הכנסת פירו-פוספט.
השפעול מאפשר את הכנסת הבסיסים בעמדה-1.

חלק ממסלול ההצלה של הפורינים:



סינתזת פורינים:

לפורינים יש שתי טבעות והן באות מחומצות אמינו ומ-CO_2.

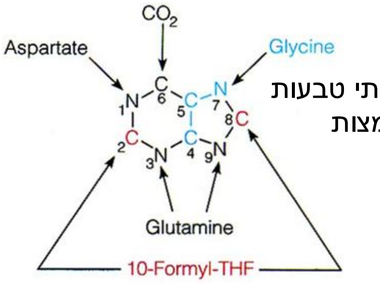
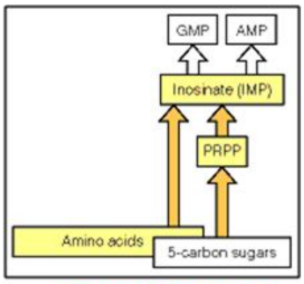


FIGURE 22.3
Low-molecular-weight precursors to the purine ring. The source of each atom in the ring, as established with isotopic tracer studies of uric acid synthesis.

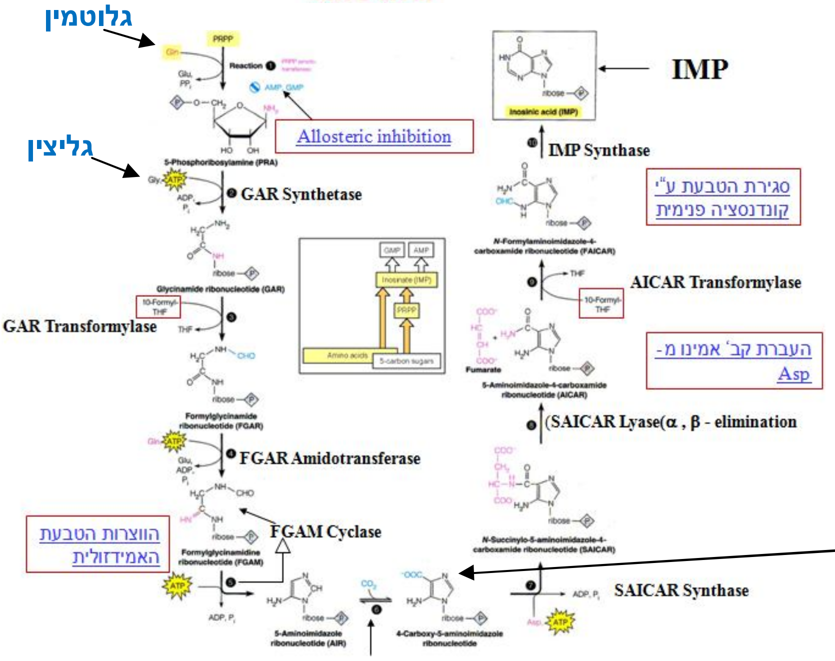


השלד הפוריני נבנה ברובו מח' אמינו, ואליו מצטרף PRPP ליצירת הנוקלאוטיד IMP. זה הופך בהמשך לנוקלאוטידים הדרושים לתא.

סינתזת IMP:

הסינתזה נעשית על-גבי PRPP.
1. גלוטמין משמש כ-donor של אלקטרון ל-PRPP. זוהי ריאקציה שדורשת אנרגיה, ריאקציית ה-commitment. היא מעוכבת ע"י תוצרי המסלול הסופיים.
2. גליצין נכנס ומהווה שלד עיקרי לטבעת.

לאחר בניית הטבעת המחומשת, נכנס CO_2 ומתחילה בניית הטבעת המשושה.



©ענת עציון

מ-IMP ל-AMP ו-GMP:

IMP ממשיך בשני מסלולים שונים ליצירת AMP ו-GMP.

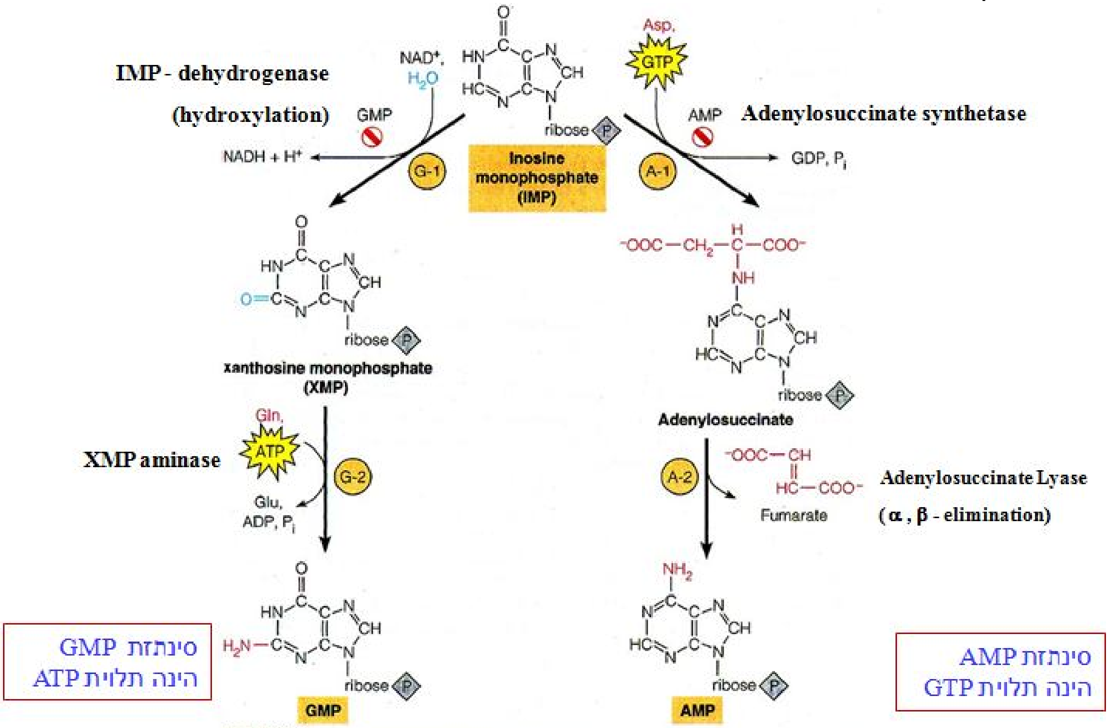


FIGURE 22.6
Pathways from inosinic acid to GMP and AMP. Enzymes are as follows: G-1 = IMP dehydrogenase, G-2 = XMP aminase, A-1 = adenylosuccinate synthetase, and A-2 = adenylosuccinate lyase.

בקרה אלוסטרית:

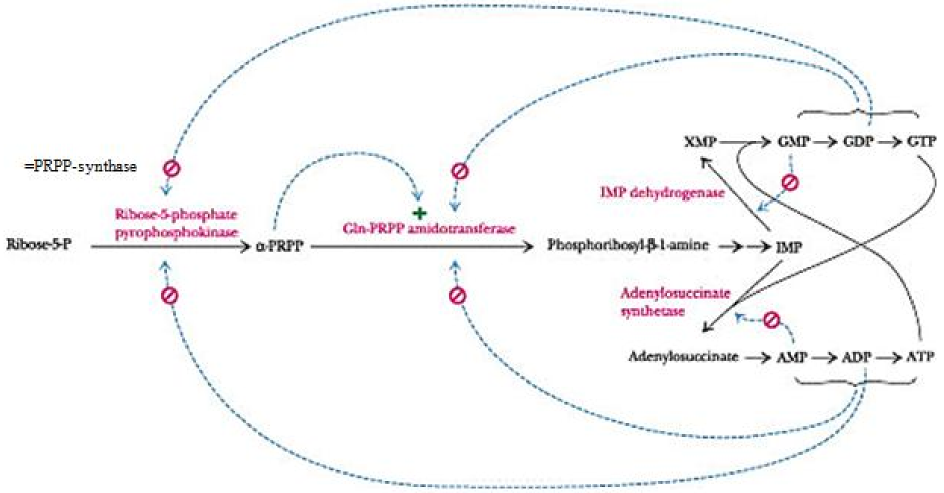
- המסלול ל-AMP מעוכב ע"י: AMP ו-ATP.
- המסלול ל-GMP מעוכב ע"י: GMP ו-GTP.

הבקרה גם מושפעת מהיחס בין החומרים המעכבים.

בקרה כללית על סינתזת פורינים:

- ADP ו-GDP הם מעכבים של האנזים: ribose-5-phosphate pyrophosphokinase, המקטלז את הריאקציה הראשונה במסלול ליצירת Inosine.
- לאנזים בריאקציה השנייה: glutamine-PRPP-amidotransferase יש שני אתרים נפרדים לבקרה:
  - אתר למולקולות A.
  - אתר למולקולות G.

  האנזים גם מזורז אלוסטרית ע"י הסובסטראט: PRPP.
- במסלול מ-IMP ל-AMP, האנזים הראשון מעוכב ע"י: AMP, ובמסלול ל-GMP, מעוכב ע"י: GMP.
- ATP משמש כמקור אנרגיה לסינתזת: GMP ו-GTP משמש כמקור אנרגיה לסינתזת AMP.



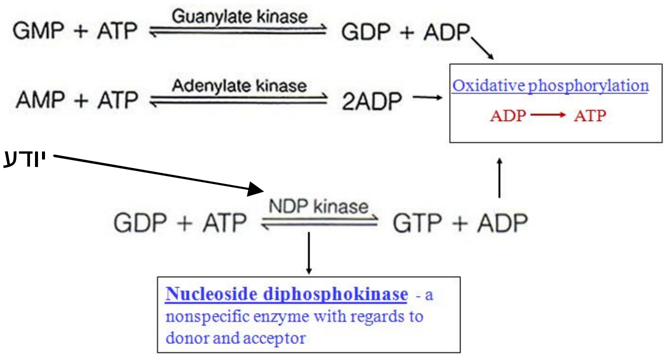
©ענת עציון

המסלול ממונופוספוטים לטריפוספטים:

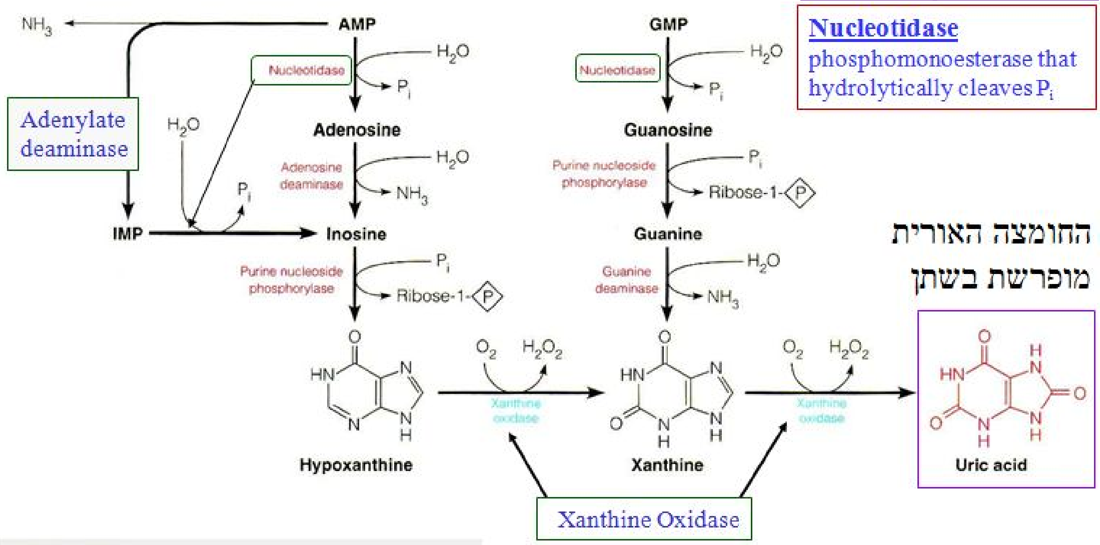
ישנם שני שלבים בריאקציה:

1. ATP משמש כ-donor ומעביר פוספט ל-GMP/AMP ונוצרים שני דיפוספטים.
   הערה: אלה הן ריאקציות ספציפיות, לכל בסיס יש את האנזים שלו.
2. ATP שוב מעביר פוספט לדיפוספט.
   הערה: הריאקציה נעשית ע"י אנזים כללי מאוד-מאוד פעיל, לא ספציפי לבסיס.

יודע לעבוד גם עם deoxy-diphosphate



מסלולי פירוק לפורינים:



החומצה האורית מופרשת בשתן

FIGURE 22.7
Catabolism of purine nucleotides to uric acid.

*Xanthine oxidase is an electron transport complex. The second electron acceptor is FADH2 and transfer to substrate is done by Mo-biopterin

10

Oxidase זהו כאמור אנזים המכניס חמצן דרך נשא אלקטרונים

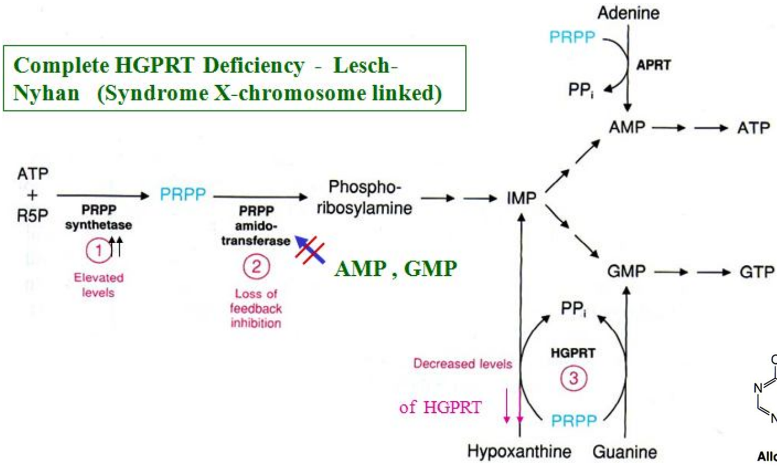
הפרעות גנטיות:

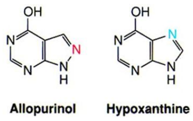
כל ההפרעות באנזימים שמתוארות בורוד יגרמו לסנתיזת-יתר של פורינים ולהצטברות של חומצה אורית בגוף.

Gout: הצטברות חומצה אורית שגורמת לגבישים ולכאבים.

טיפול מונע: דיאטה ענייה בחלבונים.

תרופה למחלה: מעכבת את האנזים- xantine oxidase שיוצר את החומצה האורית.

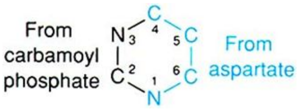




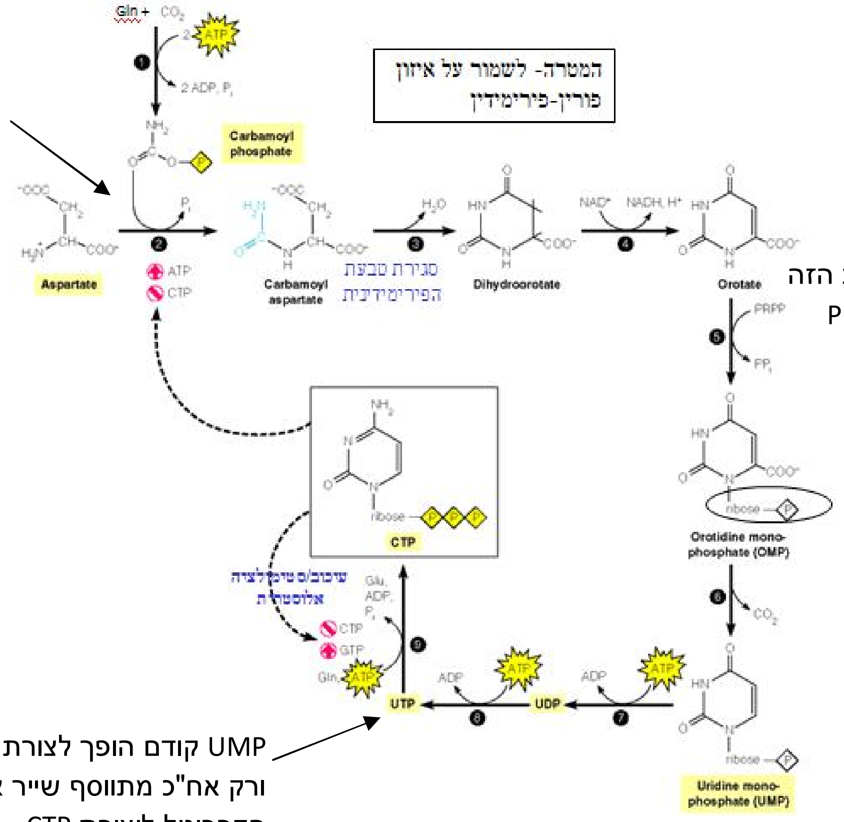
©ענת עציון

סינתזת פירימידינים:

פירימידינים מסונתזים כבסיסים חופשיים ולא על-גבי PRPP, וגם המסלול שלהם הוא ליניארי ולא מתפצל. 4 פחמנים בטבעת מגיעים מאספרטט.



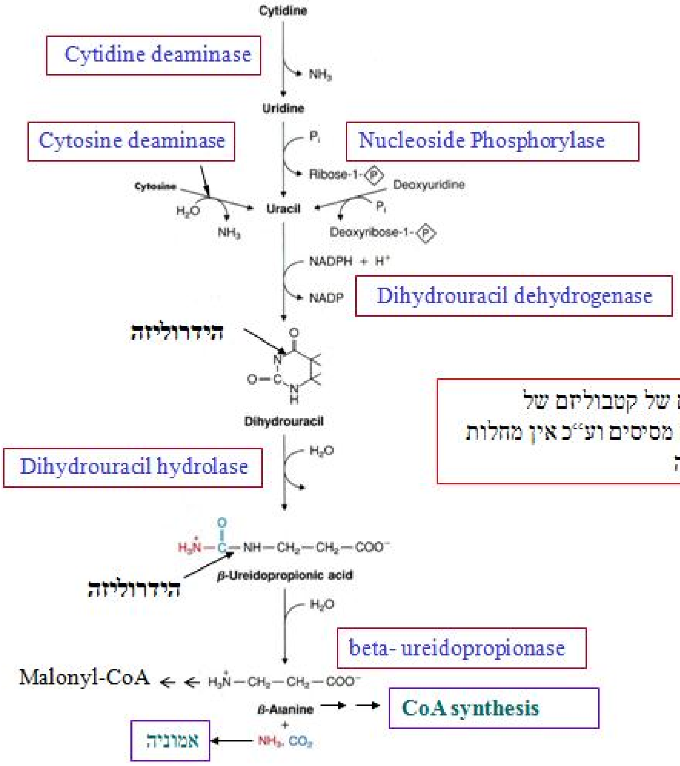
אספרטט מתחבר עם carbamoyl phosphate- ריאקציית commitment



רק בשלב הזה נכנס PRPP

UMP קודם הופך לצורת הטרי פוספט (UTP) ורק אח"כ מתווסף שייר אמין שמחליף את הקרבוניל ליצירת CTP

פירוק פירימידינים:



כל תוצרי הביניים של קטבוליזם של פירימידינים הינם מסיסים ועי"כ אין מחלות ידועות במסלול זה

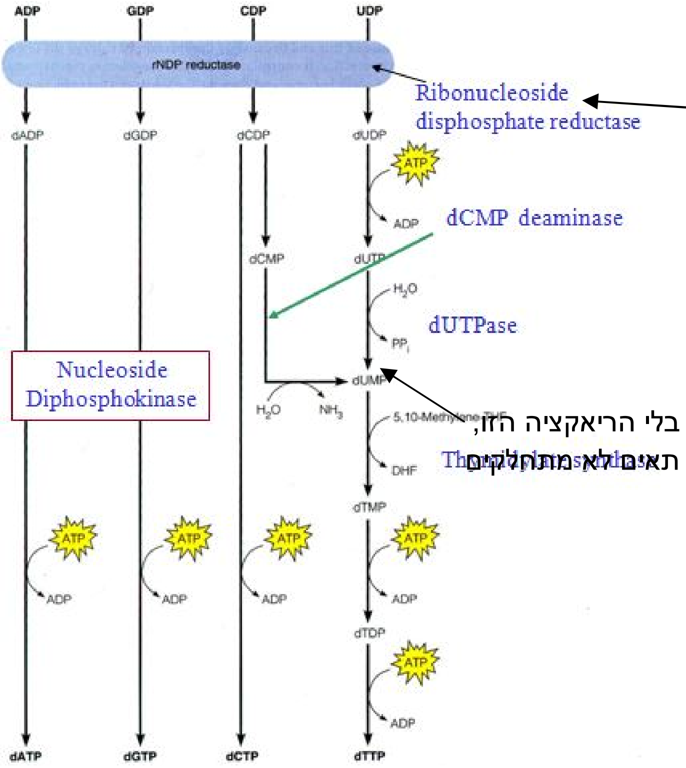
©ענת עציון

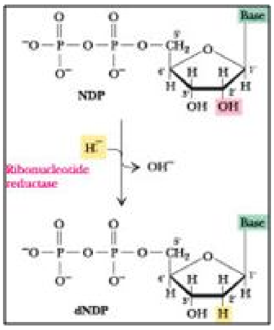
דיאוקסי-נוקילאוטידים:

רוב הנוקליאוטידים בגוף הם ריבו ולא דיאוקסי, המשמשים למטבוליזם ולסינתזת DNA.
דיאוקסי דרושים לסינתזת DNA בלבד, ובהתאם יצירתם מבוקרת ע"פ חלוקת התא.
ישנם שני תהליכים הדרושים ליצירת בסיסי ה-DNA:

1. חיזור הסוכר לדיאוקסי.
2. הפיכת ציטוזין לתימידין (ריאקציית מתילציה).

מסלולי סינתזת ה-deoxy:



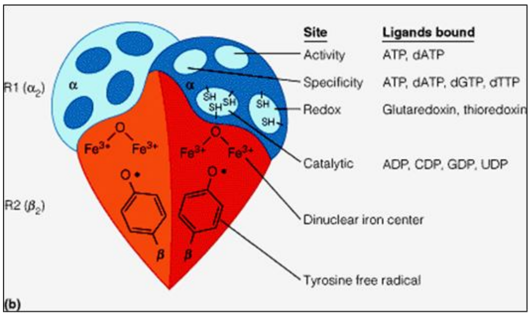


הערות:

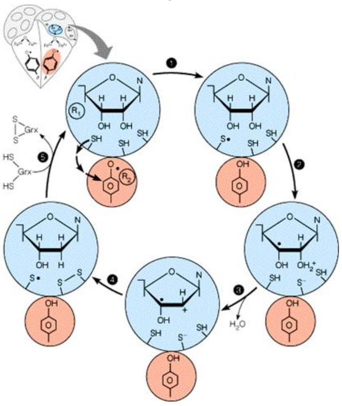
- DNA הוא יותר יציב מ-RNA כי ה-OH יכול לגרום לזירוז הידרוליזה כימית.
- dTTP מסונתז מ-dUDP או מ-dCDP.

האנזים rNDP reductase:

האנזים הזה יכול לפעול על 4 סובסטראטים: ADP, GDP, CDP, UDP.
על מי מהם יפעל בכל פעם?



לאנזים ישנם 3 אתרים:
Activity: החומר שנקשר לאתר מזרז או מעכב את פעילות האנזים.
Specificity: נקשרים תוצרים המשפיעים על האפיניות של האתר הקטליטי ליצירת תוצרים אחרים.
Catalytic: האתר שאליו נקשרים הסובסטראטים ובו מתבצעת הריאקציה.

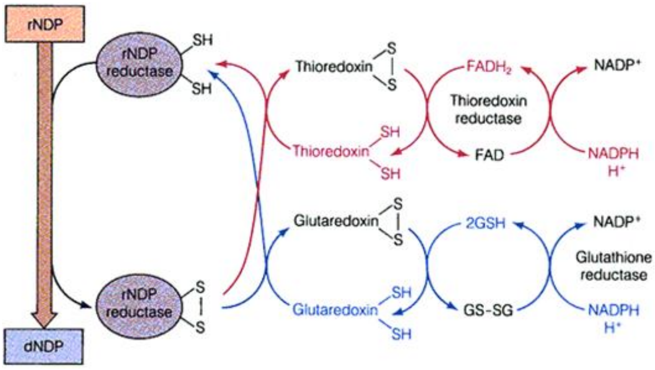


המעגל הקטליטי של האנזים:

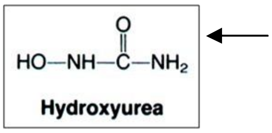
יש באתר הקטליטי שיירים סולפהידרילים (SH) המבצעים ישירות את החיזור. האנזים עובד במן שרשרת העברת אלקטרונים.
ישנו רדיקל שעובר בין כל-מיני מולקולות תוך כדי חמצון הגופרית.

©ענת עציון

ישנם שני מסלולים למחזור האתר הקטליטי של האנזים: אלקטרונים מועברים דרך- Thioredoxin או דרך- Glutaredoxin. בשני המסלולים ישנו בשלב הסופי חיזור עם NADPH.



לאנזים יש רדיקל על טירוזין באופן קבוע. קיימת מולקולה שהורסת את הטירוזין-רדיקל. דבר זה עוצר תאים ב- S-phase של מחזור התא (סינכרוניזציה).



<u>השפעת התוצרים השונים על ספציפיות האנזים:</u>

Nucleotide Bound in			
Activity Site	Specificity Site	Activates Reduction of	Inhibits Reduction of
ATP	ATP or dATP	CDP, UDP	
ATP	dTTP	GDP	CDP, UDP
ATP	dGTP	ADP	CDP, UDP[a]
dATP	Any effector		ADP, GDP, CDP, UDP

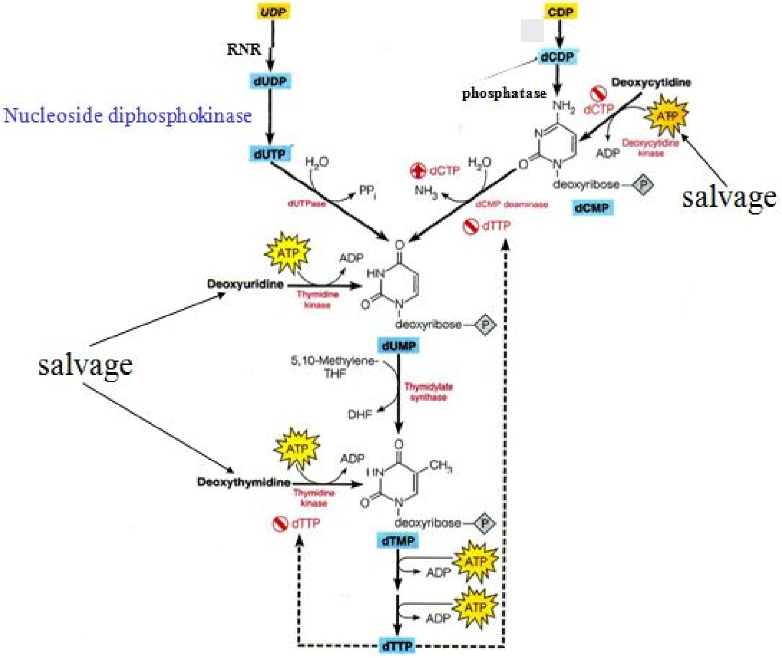
<u>Activity site:</u> dATP מעכב חיזור של כולם.
ATP לא מעכב חיזור.
<u>Specificity site:</u> dGTP מזרז חיזור פורין ADP ויצירת dATP. מעכב חיזור פירמידינים CDP, UDP.
הוא חריג: פורין שמזרז יצירת פורין אחר.
dTTP מזרז חיזור פורין GDP ויצירת dGTP. מעכב חיזור פירימידינים CDP, UDP.
ATP/dATP מזרז חיזור פירימידין CDP,UDP ויצירת dCTP, dTTP.
<u>הערה:</u> dUTP- אין לו השפעה, לא נקשר לשום אתר.

<u>סינתזה ומסלול הצלה של תימידין:</u>

כאמור ניתן לקבלו מ-UDP או מ-CDP.

בריאקציה זו THF הופך ל- DHF (מעביר מתיל לבסיס), והוא צריך אח"כ להתמחזר ל-THF כדי להיות שוב פעיל.

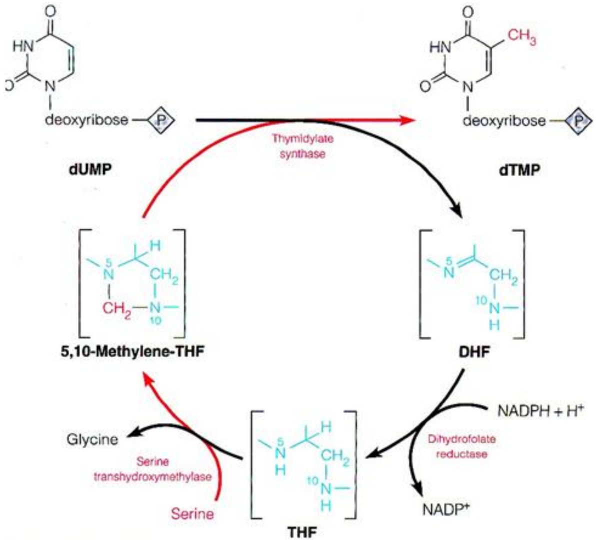
dCTP מזרז סינתזת dTTP כדי ליצור איזון בין הפירמידינים.



©ענת עציון

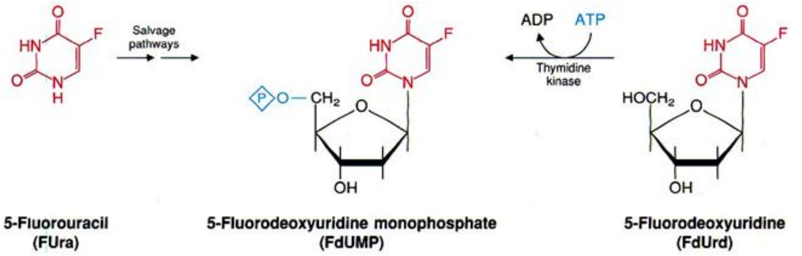
<u>מחזור ה-DHF:</u>

ישנו קשר הדוק בין הסינתזה של dTTP
לבין מסלול הסינתזה של THF.

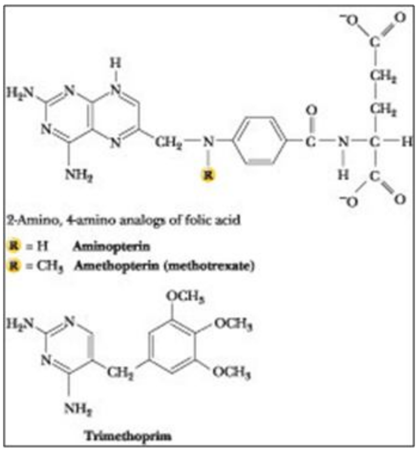


<u>מעכבים של המסלול:</u>

<u>עיכוב האנזים:</u>
<u>thymidylate synthase.</u>
גורם לשיבושים בסינתזת
DNA ואז התא מתאבד
במנגנון של אפופטוזיס.
משמש בטיפולים
כימותרפיים.



<u>אנלוגים של פולאטים:</u>
עיכוב הסינתזה דרך פגיעה במחזור THF באופן כללי.
עיכוב של האנזים: dihydrofolate reductase.



©ענת עציון