



## ביולוגיה של התא

סיכום החומר בקורס "ביולוגיה של התא" בטכניון

סיכום: אור גלעד

המרצים: פרופ' דן קסל ופרופ' דינה רון

מסמך זה הורד מהאתר <http://www.underwar.co.il>

אין להפיץ מסמך זה במדיה כלשהי, ללא אישור מפורש מאת המחבר.

מחברי המסמך עשו כל שביכולתם למנוע טעויות. עם זאת, מחברי המסמך אינם אחראיים לכל נזק, ישיר או עקיף, שיגרם עקב השימוש במידע המופיע במסמך, וכן לנכונות התוכן של הנושאים המופיעים במסמך.

הבהרה: מסמך זה מסתמך במידה רבה על הקורס "ביולוגיה של התא" בטכניון, אך אינו חומר רשמי של הקורס, אלא סיכום אישי בלבד. המקורות לכתובת המסמך הם הרצאות הקורס, והזכויות שמורות לפקולטה לביולוגיה בטכניון ולמוריה.

---

## ביולוגיה של התא – סיכום החומר (אביב תשס"ח)

### מבנה ממברנות ביולוגיות

המבנה הכללי של הממברנה מכיל ליפידים המסודרים ב-bilayer, וחלבונים חוצי ממברנה ביחס של 1:1.

### הליפידים בממברנה

**פוספוליפידים** – מולקולה אמפיפטית בעלת זנב הידרופובי כפול וראש המורכב מגליצרול, פוספט ושייר פולרי המשתנה לפי הפוספוליפיד:

- **פוספטידילכולין** – ראש המולקולה מורכב מאלכוהול (כולין) הטעון במטען חיובי, ואילו אחד החמצנים על הפוספט בעל מטען שלילי ולכן מטענם הוא אפס. הם מהווים 40% מהממברנות.
- **פוספטידילסרין** – בעל מטען ניטרלי על גבי הראש (ולכן טעון שלילי) שמכיל סרין.
- **פוספטידילאינוסיטול** – בעל מטען ניטרלי על הראש. מכיל אלכוהול ונמצא רק ב-5% בממברנות. הוא עובר פוספורלציה על שיירי ה-OH שלו.

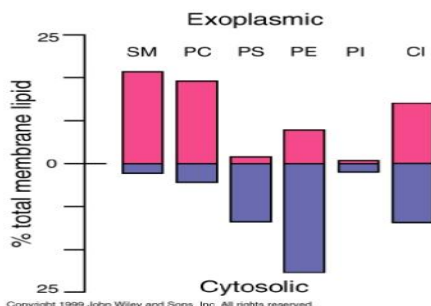
הפוספוליפידים מסוגלים להיחתך ע"י אנזימים מסוג פוספוליפאזות שמבצעים הידרוליזה לקשרים שונים. ליפאזות מסוג Lysophospholipid מסוגלים לחתוך את הזנבות ההידרופוביים ומורידים את היציבות של הממברנה והופכים אותה לחדירה (מצויים ברעלי נחשים). אנזימים מסוג Diacylglycerol מסוגלים להסיר את הראש הפולרי כולל הפוספט, ואנזימים כמו Phosphatidic acid מסירים את הראש בלי הפוספט.

**ספינגוליפידים** - נבדלים מהפוספוליפידים ע"י הבסיס שלהם שנקרא ספינגוזין ומורכב מחנקן היוצר קשר אמיד בין חומצות השומן לפחמנים (חזק יותר מפספודיאסטר). המבנה שלהם יותר יציב והם מהווים כ-15% מממברנת הפלזמה ואין בהם כיפופים. הם מכילים חומצת שומן אחת קבועה וראש פולרי משתנה הספינגוליפיד העיקרי בגוף נקרא ספינגומיילין (20% בגוף).

**כולסטרול** – סטרואיד המורכב מטבעות וחלק אליפטי. משתתף במבנה הממברנה רק בגלל הראש הפולרי שלו ורק בשיתוף עם ליפידים אחרים והוא זה שאחראי על מניעת שינויי הטמפ'. הוא נכנס בין ליפידים וגורם לממברנה להיות יותר שומנית. הוא יוצר סדר בין הזנבות ההידרופוביים ומונע מהממברנה להיות יותר מדי נוזלית (אחרת היא תאבד את היציבות שלה) והוא שומר על סף חדירות סביר.

כל ממברנה בתאים מורכבת בצורה אחרת בהתאם לתפקידה ולכן בצורה הזו נקבע איזה חלבון יושב בכל ממברנה. ממברנות שבהן יש רק פוספוליפידים דקות יותר ממברנות שבהן יש גם כולסטרול וממברנות המכילות ספינגומיילין וכולסטרול.

מטרת ההבדלים בין כל הליפידים היא לייצר שוני וסוגים שונים, כך שלכל ליפיד יהיה תפקיד משלו. הליפידים נבדלים האחד מהשני במטען, באורך, באסימטריה שלהם (משני צידי הממברנה יש הרכב שונה של ליפידים) וביכולת למנוע שינויי בטמפרטורה.



הליפידים לא מתחלקים באופן שווה בין החלק הפנימי לחיצוני, כאשר כל הספינגוליפידים נוטים לפנות אל חוץ התא והכולסטרול מתחלק בצורה שווה. האסימטריה נשמרת ולא מתרחשת הפיכה של הממברנה (מצב נדיר מאוד).

ניתן לפזר ממברנות בעזרת סוניקציה (מבצעת רק שבירת מבנים גדולים ולא מולקולה) כך שיתקבלו מיצלות ושלפוחיות (וסיקולות) קטנות, ליצירת מבנים הנקראים ליפוזומים. הליפוזום היא מולקולה קטנה שהממברנה שלה דו שכבתית שלא חדירה למולקולות הידרופיליות או קוטביות. בעזרת ניסויים הראו כי בצורה של bilayer (רשת דו שכבתית), המצב האידיאלי הוא ליצור ספירה היות שמצב פרוס לא יהיה יציב בגלל שחלקים הידרופוביים יהיו חשופים למים. אם הפוספוליפידים מסתדרים בצורה של חרוט תתקבל מיצלה.

### חלבוני הממברנה

החלבונים חוצים את הממברנה במבנה של הליקס המורכב מחומצות אמינו הידרופוביות, ובין ההליקסים (שלא חייבים להיות מקבילים ביניהם) ניתן ליצור תעלות שדרכן חומרים יעברו, בדרך כלל ע"י אתר קישור לחומרים המופנה כלפי כל אחד מהצדדים. אל החלבונים נקשרים חומרים כמו TROPOMYSIN-I Actin שיוצרים את הרשת הסיבית ושרשראות סוכריות בעלות מטען שלילי על מנת שהתאים לא יידבקו האחד לשני. ניתן לחלק את החלבונים לשני סוגים: אינטגרלים שנמצאים בתוך הממברנה ולא יכולים לצאת ממנה, ופריפרלים (Peripheral) שמעוגנים לממברנה בעזרת חלבון אחר ויכולים להתנתק ממנה לפי ריכוז היונים.

עיגון החלבונים לממברנה מתבצע באמצעות חומצות השומן. החלבונים נקשרים באמצעות 3 סוגי קשרים:

- קשר תיאוסטרי – באמצעות קבוצת צד של מריסטט. קשר חזק ולא הפיך.
- קשר אמידי – באמצעות הקצה האמיני של פרניסטיל. קשר חזק ולא הפיך.
- קשר תיאטרי – באמצעות קבוצת הצד של ציסטאין דרך פלמיסטט. קשר חלש והפיך.

העיגון מתבצע בעזרת פוספטידיל-אינוזיטול, שנוספים לו סוכרים ושיירים נוספים שיהוו גשר בינו לבין החלבון (המבנה נקרא GPI – Glycosylphosphatidyl-inositol). הקישור נוצר כאשר האינזיטול תוקף את החלבון שנכנס פנימה ומחזיק אותו, ואז החלק הטרנסממברנלי נשאר בפנים ומעוכל ע"י פרוטאזות.

### שיטות מחקר להעברת חלבונים בממברנות

דרך אחת לחקור את חלבוני הממברנה היא באמצעות החלבון הפלואורסנטי GFP שנוצר בו כרומופורם באופן אנזימטי. משתמשים בו כדי לעקוב אחרי תהליכים בתא כאשר הורסים את הכרומופורם (photobleaching) ויוצרים אזורים שמאבדים את התכונה הפלואורסנטית. גילו שחלבון מהסביבה מבצע דיפוזיה לשטח הזה ומתקן את האזור הפגוע, אבל ההתאוששות היא לא לערך ההתחלתי. מסיקים מכך שיש בעיה במוביליות של החלבון וביכולת ההתאוששות בגלל העיגון לממברנה ומגבלת הדיפוזיה.

על מנת לחקור סוגי ממברנות ניתן לבצע הפרדה של האברונים בתא. כל ממברנה בתא מכילה יחס שונה של ליפידים וחלבונים, דבר המשפיע על הצפיפות שלה. ניתן לבצע צנטרפוגה (מתבססת על משקל סגולי וגודל) וכך להפריד את חלקי הממברנות או לבצע הפרדה לצפיפויות לפי גרדיאנט של סוכרוז ואז האורגנולות יסתדרו בהתאם לריכוזים.

**דטרגנט** – חומר הממיס שומנים (למשל סבון). דטרגנטים מסוגלים לפרק ממברנה ביולוגית וכך ניתן לחקור את חלבוני הממברנה. הם לא יכולים ליצור lipid bilayer אלא רק מיצלות כדוריות המוגבלות בגודל שלהן, וכשמערבבים דטרגנט עם ממברנה, נוצרות מיצלות שבהן נמצאים הפוספוליפידים וקומפלקסים של מיצלות וחלבונים. חלק מהדטרגנטים יכולים לגרום לדנטורציה של החלבון ע"י חדירה לליבה ההידרופובית שלו ופירוקו. משתמשים בממדד הנקרא CMC (critical micelle concentration) שמציין את הריכוז המינימלי שבו יוצרו מיצלות מהדטרגנט ולא סתם מולקולות בתמיסה. ככל שהוא יותר גבוה והאגרגציה נמוכה, החומר טוב יותר לדיאליזה.

### העברת חלבונים דרך ממברנה

מולקולות mRNA יוצאות מן הגרעין לציטוזול במטרה להגיע לריבוזום שיסנתז אותן לחלבון. חלק מהסינתזה מתבצעת בתוך הציטוזול, כאשר החלבון מיועד בעיקר לשימוש עצמי של התא במיטוכונדריה (בכלורופלסט בצמחים) או בחזרה בגרעין. מרבית החלבונים מועברים ל-ER והם מזוהים ע"י "signal sequence", כאשר החלבון יכול להיות מושחל במהלך הסינתזה עצמו או בסופה. המנגנון שמאפשר השחלה בזמן הסינתזה הוא המועדף כי הוא דורש פחות אנרגיה בפתיחה וקיפול מחדש של החלבון לצורך ההשחלה.

מערכת ההפרשה של התא אחראית בין השאר על הוצאת חלבונים שעברו סינתזה בתא החוצה. חלבון המסונתז ב-ER מוסע בעזרת וסיקולות (שלפוחיות) דרך הגולג'י אל מחוץ לתא. חלק מהחלבונים מופרש החוצה לפי פקודה של הורמונים או קו-פקטורים, ועד מתן הפקודה הם מאוחסנים בתוך גרונולות הפרשה (secretory vesicle) שאוגרות אותם. כאשר חלבון מיועד להפרשה, הוויסיקולה שבה הוא נמצא מתקדמת אל עבר הממברנה החיצונית, מתאחדת איתה ואז החלבון מועבר החוצה. החלבון שומר על האוריינטציה שלו לאורך כל המסלול, כך שאם החלבון הוא לומינלי (כלומר כולו הושחל לתוך ה-ER), הוא יעבור בשלפוחית לגולג'י ומשם החוצה דרך ממברנת הפלסמה, ואם הוא מכיל חלקים טרנס ממברנליים, החלק שפונה לציטוזול יישאר כזה בכל רגע נתון.

### מבנה הרשת האנדופלסמטית

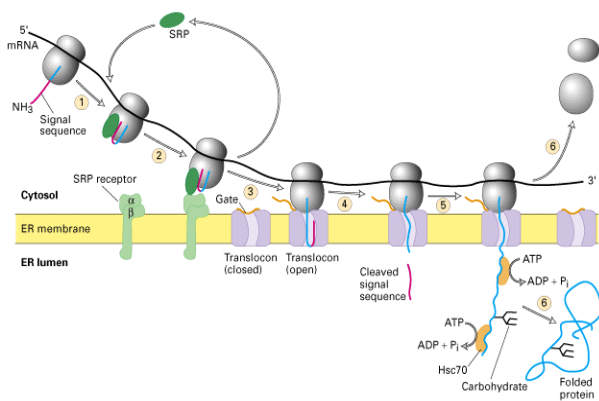
ממברנת ה-ER מחוברת לממברנת הגרעין בצורה רציפה, אולם הן נבדלות האחת מהשנייה ע"י קומפלקסים מסוג NPC שנמצאים על גבי ממברנת הגרעין ומונעים דיפוזיה בין שתי סוגי הממברנות. ה-ER מתחלק לשני סוגים: ER מחוספס, שמכיל ריבוזומים המבצעים סינתזה על גבי הממברנה שלו, ו-ER חלק, שעליו אין ריבוזומים כלל והוא מופרד לגמרי מהמחוספס. היחס ביניהם משתנה מתא לתא לפי תפקוד התא.

תפקידה של ה-ER הוא בעיקר לכוון את החלבונים המיועדים להפרשה. ברשת החלקה מתבצעת סינתזה של ליפידים ושל סטרואידים.

על מנת לחקור את ה-ER ואת מנגנון העברת החלבונים אליה, ביצעו שבירה של ה-REER ליצירת מיקרוזומים, שהם חלקי ER שסגורים ומסוגלים לתפקד באותה צרה. הם כמעט ולא חדירים ומאוד כבדים (בגלל הריבוזומים) ולכן שימוש בגרדיאנט צפיפות יפריד אותם משאר אברוני התא. במרבית הניסויים יצרו מיקרוזומים ובדקו האם נוצרים חלבונים והיכן הם מצויים לאחר גמר הסינתזה.

### מנגנון ההשחלה

בחלבונים שאמורים להיות מושחלים לתוך ה-ER מופיע בדרך כלל בקצה האמיני Signal Sequence, שהוא רצף קונצנזוס הידרופובי קצר (לכל היותר 10 ח"א).



ברגע שהסינתזה מתחילה, ה-SS מזוהה ע"י SRP שנקשר אליו. ה-SRP מורכב ממספר חלבונים שנקשרים לחלבון המסונתז וגורמים לו להתקפל בצורה של לופ על הריבוזום, וממולקולה של RNA שמונעת מפקטורי האלונגציה להיכנס לריבוזום ולמעשה עוצרת את התרגום. על גבי הממברנה של ה-ER מצוי רצפטור ל-SRP, והקישור גורם לרצפטור לקרב את הריבוזום לטרנסלוקון, שהוא פתח הכניסה של החלבון לתוך ה-ER. הריבוזום מתיישב על הטרנסלוקון וגורם לו להיפתח, ה-SRP משתחרר (ועובר מיחזור) ואז הסינתזה מתחדשת והחלבון מושחל פנימה. כל עוד לא מתרחש שום דבר אחר, הסינתזה ממשיכה עד לסיימה, כאשר בזמן הזה מגיע פפטידאז שחותך את הסיגנל מהחלבון ומונע ממנו להשפיע על תכונות החלבון הבוגר (ולכן הסיגנל

נקרא גם Cleavage). הטרנסלוקון נסגר כדי למנוע חדירה פסיבית של חומרים נוספים או יציאה החוצה (ב-ER מצויים יוני סידן שמסוגלים להרוס את התא).

הטופולוגיה של החלבון (הכיוון בו הוא מסודר בממברנה) נקבעת לפי הצורה שבה הוא מוכנס ל-ER. קיימים 2 סוגי טופולוגיה עבור חלבונים חוצי ממברנה:

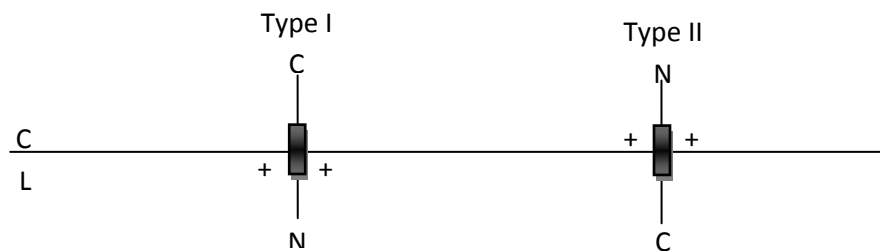
### Type 1

הקצה ה-N טרמינלי שלהם מופנה לתוך הלומן והקצה ה-C טרמינלי מופנה לציטוזול. חלבון מסוג 1 יכול להיווצר אחרי שמזוהה SS והסינתזה מתחדשת דרך הטרנסלוקון. אם בהמשך מופיע סיגנל מסוג stop transfer, הטרנסלוקון ייסגר ורצף הסיגנל יהפוך להיות טרנס-ממברנלי. הסינתזה תימשך והפוליפטיד ייצור צורה של לולאה בכיוון הציטוזול.

דרך נוספת היא באמצעות **signal anchor**. זהו רצף פנימי בחלבון שאליו נקשר ה-SRP. כיוון ההשחלה נקבע לפי כיוון המטענים שעל הסיגנל, כאשר מטענים חיוביים יופנו לציטוזול ומטענים שליליים יופנו ללומן. הסיגנל לא מושחל פנימי ונעצר בטרנסלוקון, הסינתזה ממשיכה בחוץ ובסיום הוא הופך להיות טרנס-ממברנלי. בחלבון מסוג 1, הקצה השלילי מופנה לכיוון הקצה האמיני.

### Type 2

הקצה ה-N טרמינלי מופנה לכיוון הציטוזול והקצה ה-C טרמינלי ללומן. יכול להיווצר רק באמצעות **signal anchor**, כאשר המטענים החיוביים הם אלו שמופנים לקצה האמיני והוא זה שיישאר בחוץ. הריבזום ימשיך בסינתזה וישחיל את המשך החלבון פנימה.



### Multipass

חלבונים שחוצים את הממברנה יותר מפעם אחת. התהליך מתרחש לאחר ההשחלה הראשונה ולכן לא דרוש עוד SRP. אם ההשחלה נעצרת, צריך להופיע סיגנל מסוג start transfer שמחדש את ההשחלה דרך הטרנסלוקון (ה-signal anchor או ה-stop transfer מוצאים ממנו ומועברים לממברנה) עד שהיא תיעצר ע"י stop transfer נוסף, כאשר גם ה-start transfer נחשב כאזור טרנס-ממברנלי.

בדרך כלל האזורים הטרנס-ממברנליים הם הידרופוביים ולכן ניתן לזהות אותם ע"י יצירת עקומת הידרופטיות של החלבון.

### גליקוזילציה

99% מהחלבונים המיוצרים בתא עוברים תהליך שבו נוספים אליהם שיירים סוכריים. תפקידי הגליקוזילציה הם הוספת מעטה המגן על החלבונים הנמצאים על הממברנה מפני פירוק ויצירת אתרי קישור בחלבונים. קיים 2 סוגים עיקריים של תהליכי גליקוזילציה:

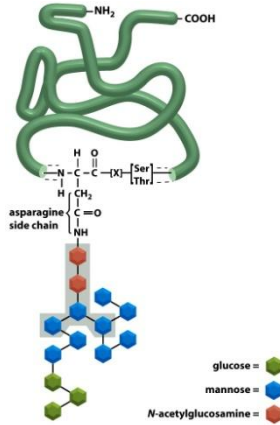
#### 1. O-linked

תהליך שבו מוסיפים סוכרים על חומצות אמינו מסוג סרין או תריאנין לחלבון. הם מתאפיינים בהוספה של מספר קטן של סוכרים, כאשר התהליך כולו מתרחש בגולג'י, בין השאר ע"י Glycosyl

transferase מסוג Galactosyl transferase בעזרת UDP. התהליך מורכב ומופיע בעיקר על חלבונים שמופרשים החוצה.

## 2. N-linked

סוג הגליקוזילציה העיקרי, בעל מסלול קבוע שבו נוספים 14 סוכרים על שייר של אספרגין המצוי בקונצנזוס מסוים (אחריו חומצת אמינו כלשהי, ואחריה סרין או תריאנין). ייתכן ועל החלבון יהיו מספר עצים סוכריים כאלו.



העץ מסונתז על גבי ליפיד חוצה ממברנה הנקרא דוליכול. בתחילת התהליך, הדוליכול עובר פוספורילציה ע"י CTP ו-UDP המוסיפים לו גשר פירופוספטי. לאחר מכן נוספים הסוכרים אחד אחרי השני, כאשר ההתחלה היא בצד הציטוזולי (נוספים 2-N אצטיילגלוקוזאמין ו-5 מאנוז) ולאחר מכן מתבצע היפוך בעזרת פליפאזות המכניסות את השייר לתוך ה-ER, שם מתווספים עוד 7 סוכרים ליצירת העץ הסופי. לאחר שהעץ נוצר, מגיע אוליגוסכרין טראנספראז שמקטלז את העברת העץ לשייר עם הקונצנזוס המתאים בעזרת ביקוע קשר עתיר אנרגיה (הפוספטים המחוברים לדוליכול). לפני המעבר לגולג'י מסולקים 4 סוכרים מהעץ (3 מתוכם הם גלוקוז שלא יכול להיות על חלבון, הרביעי-מאנוז) בעזרת גלוקוזידאזים. התהליך מהווה בקרה לבגרות של החלבון וחלבון שהסירו ממנו את הסוכרים האלו יכול לעבור לגולג'י להמשך התהליך.

## בקרה על קיפול החלבון

אין טעם להוציא מה-ER חלבון שלא עבר קיפול כמו שצריך, כי אז הוא לא יתפקד או יפגע בתפקוד התא והרקמה. הבקרה מתרחשת בתוך ה-ER, ולא קיימת בקרה על התהליך לאחר מכן.

כדי לזרז את תהליך הקיפול משתמשים בצ'פרונים המצויים בכמות גדולה ב-ER (במצב עקה אף מגבירים את הייצור שלהם). הצ'פרון הראשי נקרא Bip (Binding protein) והוא נקשר במהלך הטרנסלוקציה לשרשראות ומונע מהחלקים החשופים בסינתזה לעבור דגרדציה. כל עוד הוא קשור, החלבון לא יכול לצאת מה-ER עד להשלמה הסופית של כל התהליכים הדרושים ליצירת מבנה תקין של חלבון. צ'פרון נוסף נקרא PDI ותפקידו לפתוח קשרי S-S לא רצויים (קשרים כאלו נוצרים בצורה ספונטנית). הצ'פרון יפעל כל עוד החלבון לא הצליח להתקפל כמו שצריך ואז גם הקשרים האלו יתקבעו.

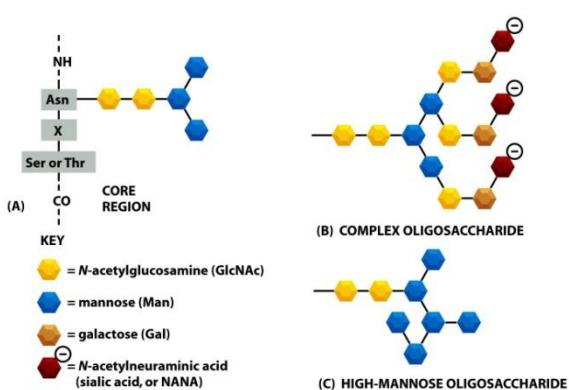
הסרת הגלוקוז האחרון מהעץ נחשב כסיגנל למצב הקיפול של החלבון והוא הפוך. חלבונים מסוימים על ממברנת ה-ER כמו Calnexin מתחברים לחלבון דרך הגלוקוז הזה, ורק כאשר הוא מוסר, החלבון משתחרר. אם החלבון לא מתקפל כמו שצריך, הוא מזוהה ע"י גלוקזיל טראנספראז ושמחזיר לו את הגלוקוז שהוסר ממנו, וכך מונע ממנו לצאת החוצה.

אם לאחר מספר סיבובים החלבון עדיין לא הצליח להתקפל למבנה הרצוי, הוא מזוהה ככזה שצריך לעבור דגרדציה. הוא מועבר לטרנסלוקטור על גבי הממברנה ונזרק החוצה מה-ER. בציטוזול הוא נתפס ע"י יוביקוויטין (חלבון קטן בעל 76 ח"א עם קיפול פשוט מאוד) שמסמן אותו ותהליך זה מופיע בדפי המבחן. גליקונאזות מסירות את הסוכרים בצורה לא ספציפית, ואז הוא מושחל לתוך פרוטאזום. זהו קומפלקס גדול בעל מספר רב של יחידות החוזרות על עצמן, כאשר הליבה של החלבון מכילה פרוטאזות מ-3 סוגים, כאשר כל סוג מכיר רצף אחר בחלבון. הפרוטאזום למעשה חותך את החלבון לשרשראות קצרות של חומצות אמינו שמפורקות אחר כך בציטוזול ע"י פרוטאזות. רק חלבונים שסומנו ע"י היוביקוויטין נכנסים פנימה לתוך הפרוטאזום.

## אברון גולג'י

אברון גולג'י נמצא במרכז התא ומורכב מאוסף של ממברנות שטוחות בערימה. כל חלבון שנוצר ב-ER מועבר לגולג'י שמהווה תחנת מיון לאן החלבון אמור להגיע בסופו של דבר.

ניתן לחלק את הגולג'י ל-6 חלקים: בצד הפונה ל-ER נמצא ה-CGN (cis golgi network) אליה מגיעים החלבונים שהצליחו לעבור קיפול. משם הם מועברים ל-3 ציסטרונות, שבהן מתרחש עיבוד הסוכרים בצורה ממודרת בין כל חלק וחלק (הסרת מאנזים, הוספה של N-אצטיל גלוקוזאמין ושל גלקטוז, הוספה של שיירי פוספט לחלבוני O-linked). משם החלבון עובר ל-TGN שממנו החלבונים עוברים בוויקולות לכיוון ממברנת התא לצורך הפרשתם החוצה, העברה לאנדוזומים בדרך לפירוק בליזוזום או העברה ל-secretory vesicle לצורך אגירה ושחרור בהתאם לסיגנל ספציפי. מבנה הגולג'י התגלה בעזרת שימוש במוטנט ויראלי הרגיש לטמפ' גבוהה ע"י סימון פלואורסנטי ומקבא אחרי המקום שבו הוא פעיל.



תהליך הגליקוזילציה ממשיך בגולג'י, במיוחד בחלבוני ה-N-linked. חלבונים שונים עוברים מודיפיקציות שונות על השייר הסוכרי, כאשר ייתכן וחלק מהסוכרים יוסר ובאחרים נוספים עוד סוכרים (חלבונים עשירים במאנוז מופיעים בעיקר בממברנות פנימיות). כל התהליך מסודר בעזרת סדר מדויק וסוכר לא יכול להתווסף או לרדת אם התהליך שלפניו לא התבצע. כל התהליכים נעזרים ב-UDP שנכנס לתא דרך מערכת אנטיפורט הקולטת סוכר שמכיל אותו. ה-UDP מועבר לאוליגופרוטאין פוספטאז, שמפרק אותו והתוצרים יוצאים החוצה מהגולג'י לצורך מחזור (הגולג'י משתמש באנרגיה שהשתחררה).

## מערכת הוויקולות

קיימים 3 מסלולים עיקריים להסעה של חלבונים מהגולג'י כשלכל מסלול יש את הסיגנלים הספציפיים לו.

## המסלול לאנדוזום ולליזוזום

הליזוזום הוא גופיף ממברנלי המכיל אנזימים מסיסים שיודעים לפרק את כל החומרים שהתא יודע להתמודד איתם. ה-pH שלו הוא הנמוך ביותר מכל האורגנלות בתא והוא נוצר ע"י משאבת פרוטונים המופעלת ע"י ATP.

חומר יכול להגיע לליזוזום במספר דרכים:

- **אנדוציטוזה** – חלבון שמקורו בגולג'י מגיע לאנדוזום מוקדם שהופך לאנדוזום מאוחר, שמתאחד בסופו של דבר עם הליזוזום.
- **פאגוציטוזה** – הרס של חיידקים שמנסים לחדור לתא.
- **אוטופאגיה** – בליעה עצמית, תהליך שבו חלקים בתוך הציטוזול מתעטפים בממברנה ליצירת אוטופאגוזום שמתאחה עם הליזוזום וכל מה שבתוכו מפורק ומשערים שתפקידו לפרק אורגנלות זקנות בתא או בשביל להשיג עוד אנרגיה.

כדי לכוון חלבונים לליזוזום (הם מזוהים ע"י סיגנל ברצף שלהם), מתבצעת כבר ב-CGN פוספורלציה על גבי עמדה 6 של המאנוז שעל העץ הסוכרי, דבר המונע את המשך עיבוד הסוכרים בגולג'י. הפוספורלציה מתבצעת באמצעות UDP המחובר ל-N אצטיל גלוקוזאמין, חוסר באנזים גורם למחלת ה-I-cell שגורמת לחוסר פעילות הליזוזום עד שהוא מתנפח בגלל עודף בחומרי פסולת. מטפלים

במחלה בעזרת רצפטורים על גבי ממברנת התא שיודעים לזהות חלבונים ליזוזומליים שהופרשו החוצה במקום לעבור לליזוזום, והם אלו שמעבירים אותם לליזוזום. רצפטור ב-TGN מזהה את הפוספט ומעביר את החלבון לוויסיקולות של קלטרין, שנשלחות לאנדוזומים ומשם לליזוזום. הרצפטור עצמו עובר מחזור בגלל הירידה ב-pH בין זה של הגולג'י לאנדוזומלי ולכן נוצרת תגובת דיסוציאציה והרצפטור נפרד מהאנדוזום וחוזר בוויסיקולה לגולג'י. שייך הפוספט מוסר גם כן כדי למנוע מהחלבונים לחזור יחד עם הרצפטור.

## Secretory vesicles

מערכת הנמצאת בתאים שמבצעים הפרשה שעוצרת את התהליך עד לקבלת סיגנל מסוים. אין שום סיגנל שגורם לחלבון להיכנס למחסן ומשערים שאותם חלבונים עוברים אגרגציה עצמית. החלבונים מניצים בתוך וויסיקולות מתוך ה-TGN, ובעזרת מערכת הקלטרין מכווצים את הוויסיקולה ויוצרים ריכוז גבוה של החלבון בתוך הגרנולה. אחת הסיבות להפרדה הזו ולעיכוב בהפרשה היא שלמרות שתהליכי העיבוד בגולג'י הסתיימו, החלבונים עדיין צריכים לעבור תהליכים נוספים לפני ההפרשה החוצה, אולם התהליך לא יכול להתרחש בציטוזול בגלל שהחלבונים אמורים להיות מופרשים.

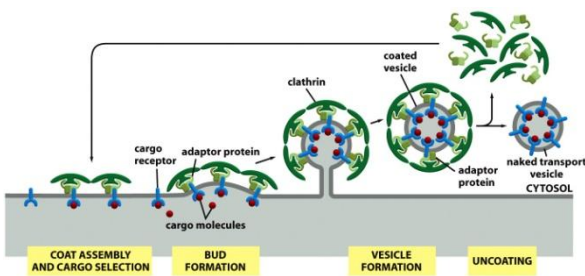
## אנדוציטוזיס

**הגדרה** – תהליך בו נכנסות וויסיקולות ממברנת הפלסמה לתוך התא. קיימים 2 סוגים עיקריים:

1. **פאגוציטוזה** – הכנסת חלקיקים גדולים (קיים רק בתאים מתמחים).
2. **פינוציטוזה** – הכנסה של מולקולות קטנות וחלק מהנוזל החוץ תאי.

אנדוציטוזה מהווה המקור העיקרי להכנסה של חומרי מזון אל תוך התא. בנוסף, המנגנון אחראי על חידוש ממברנת הפלסמה ע"י חלבונים שסונתזו ב-ER, וגם על בקרה של רצפטורים שקשורים בסיגנלים.

המנגנון מתבצע בעזרת חומר הנקרא קלטרין, שעוזר לוויסיקולה להתפתח ולהנץ מתוך הממברנה. לוויסיקולות יש מעטפת שמכתיבה את גודלו ומשתתפת בבריירת המטען. הקלטרין עצמו הוא חלבון מעטפת המורכב מ-3 תתי יחידות קלות ו-3 תתי יחידות כבדות. המבנה הזה סימטרי אך לא מישורי ולכן נוצרת צורה כדורית.



התהליך מתחיל כאשר ליגאנד חוץ תאי נקשר לרצפטור ומאותת לתא להתחיל בתהליך. הקלטרין נקשר לרצפטור באמצעות האדפטור AP-2 שבנוי מ-4 תתי יחידות, כאשר 2 מהן מהוות אזור קישור אלסטי אליו נקשרים החומרים השונים. הוא בדרך נקשר לרצף קונצנזוס מסוים בחלבון (פנילאלנין-חומצה הידרופובית ארומטית-ארגינין-טירוזין). ניתוק הוויסיקולה מהממברנה מתבצע ע"י החלבון דינאמין בעזרת שינוי קונפורמציה ש"חונק" את הצוואר של הוויסיקולה שנשארה ובעזרת הידרוליזה של GFP הוא מנתק את החיבור.

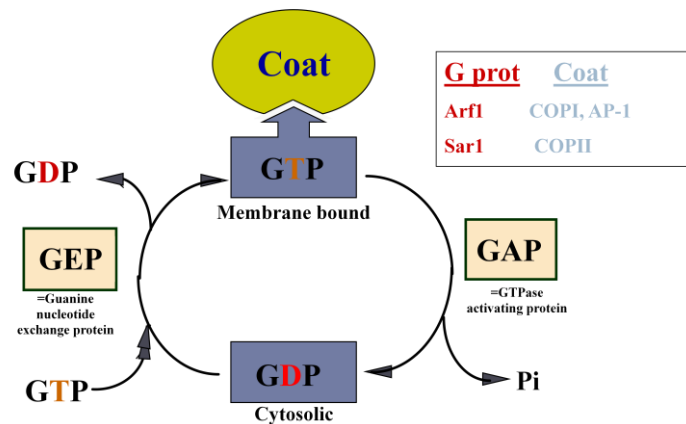
קיימים 4 סוגים של אדפטורי AP, כאשר AP-2 בלבד שייך לממברנת הפלסמה (האחרים ל-TGN). מנגוני ההפרדה בין הרצפטור לליגאנד בדרך כלל ספציפיים ומבצעים ע"י הורדת ה-pH כאשר בסופו של התהליך האנדוזום נבקע לשניים, כאשר חלק אחד מועבר לממברנה והשני לליזוזום.

קיימים רצפטורים ספציפיים לחלק מהחומרים. רצפטור של כולסטרול קושר את ה-LDL מחוץ לתא ונפרד ממנו באנדוזום המאוחר, ולאחר מכן מוחזר ל-PM. לעומתו, טרנספריין, המשמש להעברה של יונים אל תוך התא (בעיקר של ברזל), לא מפורק ביחד עם הרצפטור שלו, ויוצא החוצה מהתא.

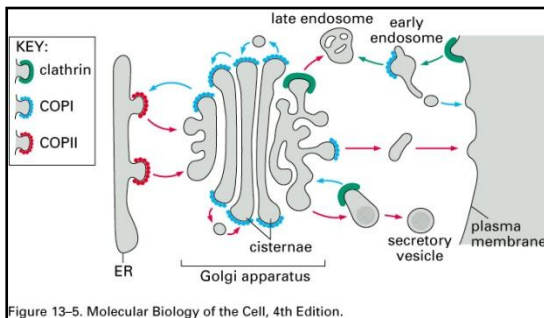
הווסיקולות שמתחררות מהמברנה ומה-TGN הופעות לאנדוזום המוקדם. לאחר תהליכי וסיקולציה (התקפלות פנימית ויצירת חורים) שנועדו לפרק רצפטורים בין ממברנליים שבולטים החוצה לציטוזול. הגוף שמתקבל הוא האנדוזום המאוחר, שלאחר מכן קולט אנזימים ליזוזומליים, ואז הוא מתאחה עם הליזוזום ומפרק את כל מה שנמצא בתוכו.

## חלבוני G

חלבונים המשמשים כ"מפסק" בתא. יש להם שני מצבי פעילות עיקריים: פעיל המאוקטב ע"י קשירה של GTP, ומצב לא פעיל לאחר הידרוליזה של GTP, כאשר שני התהליכים מאוד מבוקרים. הם ספציפיים ל-GTP ומשחררים פוספט במהלך ההידרוליזה, אבל לא את ה-GDP. כאשר GTP קשור לחלבון, הוא מפעיל אפקטור שמבצע את הפעילות. חלבון מסוג GAP מסייע להידרוליזה, משתחרר פוספט ומתקבל חלבון G שאליו קשור GDP. על מנת לבצע אקטיבציה של התהליך מחדש, משתמשים בחלבון GEF שמחליף את ה-GDP ב-GTP חדש ומחזיר את הפעילות הקטליטית של החלבון.



במערכת הווסיקולות התאית, משתמשים בחלבוני G עבור כל שלושת מערכות התנועה:



- קלטרין – מהמברנה ומה-TGN אל הליזוזום, ומה-secretory vesicle בחזרה ל-TGN. מאוקטב ע"י החלבון Arf1.
- COP1 – בין הציטרונות בגולג'י ומה-CGN בחזרה ל-ER. מאוקטב ע"י Arf1
- COP2 – מה-ER ל-CGN. מאוקטב ע"י Sar1.

## COP2

על גבי המברנה של ה-ER מצוי ה-GEF של Sar1 שמאקטב את הפעילות שלו. החלבון מכיל רצף שיוצר הליקס אמפיפתי שחבוי בתוך החלבון ובעקבות האקטיבציה הוא משתחרר ונתפס בשכבה העליונה של המברנה. בצורה הזו החלבון מגייס דימרים נוספים שאליהם נקשרים הרצפטורים עם המטען. דימרים נוספים נקשרים לקומפלקס וגרמים להנצה. לאחר מכן, הווסיקולות שנוצרו עוברות איחוי בין לבין עצמן והן מתחברות ל-microtubules שמסיעות אותן אל ה-CGN.

כדי למנוע מחלבוני ה-ER לצאת משערים שקיימת רשת שקושרת אותם אליה ומונעת מהם לצאת (או שאין להם רצפטורים מתאימים). אם חלבון מצליח לברוח, הוא מוחזר ע"י COP1.

## COP1

משתמשת בחלבון Arf1 שמגייס חלבון מעטפת (קואוטומר) חד שכבתי בעל 7 תת יחידות שמאוד דומה לחלבון של הקלטרין.

חלבוני ה-ER מזוהים באמצעות רצף חומצות אמינו מסוים ומדויק. לחלבוני ממברנה מדובר ברצף של **KKXX** (שני ליזינים ושתי חומצות הידרופוביות ארומטיות) שנקשר לקואוטומר המתווך בין הרצפטור ל-Arf1. עבור חלבונים מסיסים מדובר ברצף **KDEL** (ליזין-אספרגין-גלוטאמין-לאוצין) וקיים לו רצפטור מיוחד, כאשר השחרור חזרה בתוך ה-ER הוא בגלל ההבדל ברמות ה-pH בין ה-ER והגולג'י.

#### איחוי

מנגנון האיחוי הוא פיזיקלי ולא אנזימתי, והוא מתרחש בעזרת אנזימים הנקראים SNARE. כשווסיקולה מתאחה עם המטרה, חל זיווג של חלבון V-SNARE המצוי על גבי הווסיקולה, עם 3 חלבונים מסוג T-SNARE שנמצאים על גבי אתר היעד, כאשר הם מתלפפים אחד על גבי השני ליצירת bundle ומקרבים בין הממברנות. לאחר האיחוי חלה רגנרציה של ה-SNAREs והם מופרדים בעזרת הידרוליזה. קיימים 2 סוגים עיקריים של T-SNARE:

- **Syntaxin** – חלבונים המצויים על גבי הממברנה.
- **Snap25** – בעל 2 זרועות שמתחברות ביניהם. מאורגן ע"י 4 שיירים של חומצה של חומצה פלמיטית שמעגנים אותו לממברנה. הוא יוצא דופן מהבחינה הזאת משאר ה-SNAREs (כולם חלבוני Type II).

שלבי התהליך:

1. בשלב הראשון מתבצע חיבור בין חלבון Rab שאליו קשורה מולקולה של GTP אל הווסיקולה.
2. שלב העגינה – חלבון ה-Rab מתחבר אל Rab effector על גבי ממברנת היעד ומעגן את הווסיקולה לממברנה.
3. נוצר קישור בין ה-SNAREs ליצירת SNARE complex.
4. הכוח שמופעל גורם לאיחוי בין שתי הממברנות. הקומפלקס מקרב את שתי הממברנות בכוח, כך שכל המים שנמצאים ביניהן מוצאים בצורה פיסיקלית. חלבוני ה-SNARE לא משתתפים בשלב הזה.
5. קומפלקס ה-SNAREs מאוד חזק וקשה להפריד אותו לאחר האיחוי לצורך מחזור. על הקומפלקס מתלבש צ'פרון מסוג NSF בעזרת המתווך  $\alpha$ -SNARE ו-ATP, שמפרידים את החלבונים.
6. ל-V-SNARE יש סיגנל שמחזיר אותו ל-ER בחזרה.

כאשר שתי וסיקולות דומות מתאחות (תהליך הומוטיפי), לשתייהן יש SNAREs משני הסוגים. ה-NSF שומר עליהן כדי שלא יתאחו עד לרגע המתאים, ואז הוא מוסר ומאפשר להן להתאחות לווסיקולה אחת גדולה. טוקסינים מסוימים הם פפטידזות שחותכות את ה-SNAREs בתארים ספציפי שיכול לגרום לעצירת כל התהליך (לדוגמא: בוטולינון).

#### איחוי ויראלי

וירוסים נכנסים לתא בעזרת איחוי עם הממברנה או בעזרת אנדוציטוזה ויציאה של המטען הגנטי מהאנדוזום. כדי שוירוס יחדור לתא, הוא משתמש ב-fusion protein המכילים אזור שיכול לעבור אינטראקציות coiled-coil על עצמו, ובקצה מצוי fusion peptide שיכול לחדור לממברנה ולגרום לאיחוי. וירוס האיידס מכיר את המולקולה CD4 שנמצאת על הממברנה ומתיישב עליה. הוא מונע מווירוסים אחרים להיקשר אליה וגורם לקשירה לרצפטור מסוג כימוקיין שמביא לקיבוע של ה-fusion protein בממברנה. נוצר bundle בין חלקי ה-fusion protein, דבר שמביא לאיחוי עם הממברנה ולהכנסת ה-RNA הוויראלי פנימה.

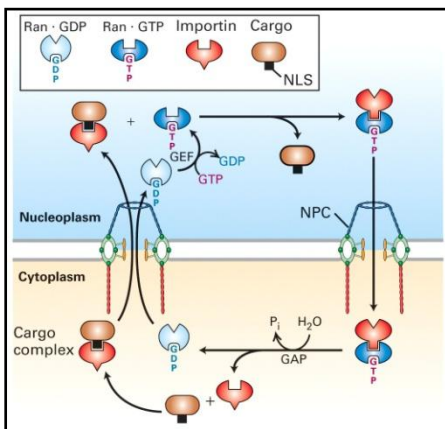
## טרנספורט לגרעין ולמיטוכונדריה

חלבונים המסונתזים בציטוזול עוברים לשימוש הגרעין, המיטוכונדריה או אברונים נוספים בתא. בגרעין יש פתחים מיוחדים שהחלבון יכול לעבור דרכם, אולם למיטוכונדריה יש פתחים מיוחדים והחלבון לא חייב להתקפל במלואו כדי להיכנס פנימה.

### הגרעין

לגרעין יש קומפלקס מיוחד שאחראי על הוצאה והכנסה הנקרא nuclear pore complex (NPC). ה-NPC דרושים לצורך מעבר של מולקולות רבות המשמשות בכלל התהליכים בגרעין ובתא. הממברנה חדירה ליונים באופן חופשי ומולקולות יותר גדולות צריכות סיגנל מיוחד. הממברנה היא כפולה אבל במקומות בהם יש pores, 2 הממברנות מחוברות, כאשר אם נוציא את ה-pores, הממברנה תתפרק. מתחת לממברנה הפנימית מצויה ה-nuclear lamina, רשת פנימית שתפקידה להחזיק את הממברנה יציבה. ה-NPC הם לא חלל ריק אלא הם מכילים זרועות המרכיבות ג'ל, כאשר בתוך הג'ל יש חור שדרכו עוברות מולקולות קטנות באופן חופשי (ייתכן ויש לחלבונים קטנים סיגנל מיוחד שיזרוק אותם החוצה אם לא צריך אותם בגרעין). בנוסף, קיימים סיבים חלבוניים בשם fibril שחלקם פונה לפנים הגרעין והאחרים לציטוזול ומשערים שהזרועות תופסות חלבונים ועוזרות להן לעבור את ה-NP. בצד הפנימי הסיבים קשורים ביניהם למבנה של סל.

כדי להיכנס לגרעין, לחלבון צריך להיות סיגנל מיוחד שיסמן לתא שהוא צריך להכניס אותו פנימה (הפשוט ביותר מכיל 5 ח"א בסיסיות). הסיגנל הזה הוא קריטי. החלבונים עצמם לא מכירים את ה-NP באופן ישיר והם נקשרים לרצפטורים הנקראים אימפורטינים שמשמשים כמתאמים בין החלבון ל-NP (והוא מזוהה רק על ידם). הם עוברים אינטראקציה עם רצף של פנילאלנין וגליצין המצוי בתוך הג'ל ב-NP, וכדי ליצור כיווניות התא משתמש בחלבון G בשם Ran המבקר את הכניסה והיציאה. פקטורי ה-GAP וה-GEF שלו מצויים במידור מוחלט בין הציטוזול (GEF) והגרעין (GAP) כך שנוצר גראדיאנט בין שני המצבים שגורם לכיווניות.



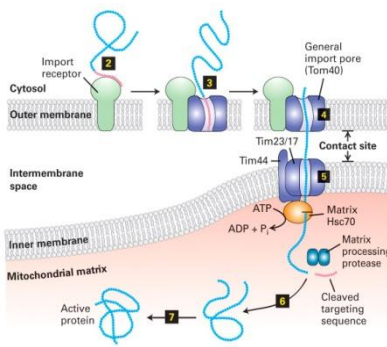
מנגנון הכניסה לתא:

1. אימפורטין מזהה סיגנל בחלבון, נקשר אליו ועובר דרך ה-NP. במקביל, עובר איתו Ran במצב לא מאוקטב.
2. בתוך הגרעין חלה הידרוליזה ל-Ran בעזרת ה-GEF שלו, וזה גורם לשחרור של האימפורטין מהחלבון. ה-Ran נקשר עכשיו לאימפורטין.
3. האימפורטין שקשור ל-Ran-GTP יוצא החוצה ע"י אינטראקציה עם ה-FG repeats (שלב קובע כיווניות).
4. Ran עובר הידרוליזה ומתנתק מהאימפורטין, שיכול עכשיו להיקשר לחלבון אחר.

עקרונות הוצאת חומרים מהגרעין דומים מאוד להכנסה לגרעין: ה-Ran הפעיל נקשר לקומפלקס המכיל אקספורטין וחלבון המטען. ההידרוליזה של ה-Ran מחוץ לגרעין תפרק את הקומפלקס ואז האימפורטין וה-Ran יחזרו פנימה.

הלאמינה היא רשת המכסה את הממברנה הפנימית ומעוגנת ב-NP. היא מעגנת אליה את קצוות הכרומוזומים. הלאמינה מורכבת מהחלבון לאמין, וכאשר התא מתחלק הלאמינים עוברים תהליך של דה-פוספורלציה וארגון מחדש. הרשת מתפרקת וזה גורם לפירוק הממברנה לווסיקולות, דבר שגורם גם ל-NP להתפרק לתת יחידות קטנות.

## המיטוכונדריה



חלבונים מיטוכונדריוניים לא עוברים קיפול מלא ונשמרים במצב לא מקופל בעזרת צ'פרון Hsc70. לרוב החלבונים האלו יש סיגנל אמפפטי בעל מבנה שניוני כאשר צד אחד שלו הידרופובי והצד השני הידרופילי עם מטענים חיוביים. כאשר חלבון מוחדר למיטוכונדריה, אימפורטר רצפטור מסיר את הסיגנל וההשחלה פנימה מתחילה. החלבון צריך לעבור את 2 הממברנות של המיטוכונדריה, והמעבר מתרחש רק באזורים שהרווח ביניהן מינימלי עד כדי מגע, כאשר החלבון צריך לעבור דרך שני קומפלקסים, אחד על כל ממברנה, כאשר הפוטנציאל דרוש למעבר דרך הקומפלקס הראשון. אחרי ההשחלה, הצ'פרון עוזר במשיכת הפפטיד פנימה, ורק אז החלבון מתקפל בעזרת הצ'פרון Hsc60. הטרנספורט לתוך המיטוכונדריון תלוי בגראדיאנט אלקטרוכימי, כאשר הסיגנל פפטיד מוזן לתעלה והמעבר דרך הממברנה הפנימה מוזן בעזרת המטענים החיוביים של הפפטיד בגלל פוטנציאל הממברנה.

## השלד התוך תאי (ציטוסקלטון)

כל חלקי הציטוסקלטון יכולים להתחבר ולהתפרק באמצעות סיגנלים ולגרום לתזוזה ושינוי במבנה של התא, כאשר כל אחד מהם מורכב מיותר משרשרת אחת, כך ששבירה של הסיב באמצע דורשת השקעה גדולה יותר של אנרגיה. לכן, גדילת הסיב נעשית רק בקצוות, כאשר הגדילה בצד החיובי מהירה יותר.

## מיקרוטובולים

המיקרוטובולים משמשים בעיקר כמערכת הסעה בין מרכז התא לשאר האזורים ולהרכבת הכישור בזמן המיטוזה. טובולין הוא דימר המורכב מ-2 תתי יחידות,  $\alpha$  ו- $\beta$ , הקושרים GTP אבל הם לא חלבון G ולכן אין בקרה על התהליך. תת היחידה  $\beta$  פונה לכיוון החיובי (האזור עם הפולריות הגבוהה יותר) וה-GTP שקשור אליה עובר הידרוליזה במהלך הבנייה (בתת היחידה  $\alpha$  הוא אינו מתפרק). יצירת הסיב היא לאורך ולרוחב עם 13 דימרים לסיבוב, כאשר הדימר מעדיף להצטרף לצד החיובי של הסיב הנבנה כאשר צד זה למעשה מקוטלז ע"י ה-GTP ולכן הוא מיוצב יותר. כשמדובר בסיבים קטנים, ייתכן וה-GTP יעברו הידרוליזה ואז ה-cap נחלש ומתחיל תהליך של פרימת הסיב. למיקרוטובולים יש מספר מעכבים: הקולכיצין מעכב את הפולימריזציה שלו, ואילו הטאקסול מעכב את הדה-פולימריזציה ע"י ייצוב יתר של המיקרוטובולים וגורם להם לאבד את הדינמיקה שלהם. משתמשים בו ברקמות סרטניות (כימותרפיה) כדי למנוע מהן לגדול. חלבון מסוג MAP מחזק את הקשר וגורם לייצוב המיקרוטובול, ואילו חלבון בשם קטסטרופין יכול ליצור כיפוף כך הסיב יתעוות ולא ייקשר, ובסופו של דבר יתפרק.

מיקרוטובולים יכולים להגיע במספר מבנים. המבנה הבסיסי ביותר נקרא סינגלט והוא מורכב מ-13 דימרים בהיקף. איחוי של שני סינגלטים יוצר דובלט (בפלגמנטים) ואילו 3 יוצרים טריפלט (בצנטריולות). המבנים האלו מאוד יציבים.

פלגמנט של מיקרוטובולים מורכב מדובלטים במעגל, כאשר במרכזם נמצא דובלט נוסף. מספר חלבונים אחראי על סידור סינגלטים מצולבים ועל המרחק ביניהם, כאשר חלבון מסוג MAP2 גורם להם להיות יותר רחוקים מאשר חלבון מסוג tau שגורם להם להיות צפופים יותר.

כל המיקרוטובולים בתא מסודרים על גבי מרכז מיוחד הנקרא MTOC הנמצא סמוך לגרעין ויושב על הגולג'י. במרכזו נמצא הצנטרוזום שמארגן את כל המיקרוטובולים בזכות העובדה שהוא מהווה את מרכז הנוקליאציה וממנו מתחילה הסינתזה שלהם.

בתאים עם פלג'לים (זנב) יש גופיף נוסף הנקרא basal body שמהווה MTOC נוסף לסיבים שמרכיבים את הזנב. בתאי עצב הוא מופיע ליד הסינפסה אך לא בדנדרייטים.

### מיקרופילמנטים – אקטינים

הסיבים הדקים ביותר בתא שיוצרים רקמות חיבור ויש להם יכולת לזחול בגלל הפולימריזציה של האקטין. סיבי האקטין אחראים על ייצוב הממברנה ומפעילים כוח ליצירת תנועה. בשכבת תאי אפיתל האקטין יוצר צורה מיוחדת לתא על מנת להגן על השכבה שמתחת לממברנה. האקטין מעוגן לממברנה באמצעות adherens junction שמקשרים ביניהם ומקנים לתא חוזק וגמישות. האקטין הוא פולימר עם תת יחידה אחת, כאשר המצב המונומרי נקרא G-actin. הוא מתארגן למבנה של סליל כפול עם כיוון ל-ATP. כאשר שרשרת האקטין גדלה, ה-ATP עובר הידרוליזה ואז השרשרת גדלה לכיוון החיובי. בהתחלה האקטינים המונומרים יוצרים גרעין שמתחיל להתאריך לאחד הכיוונים, כאשר חלבוני capping נקשרים לאחד הקצוות ומונעים פולימריזציה או דה-פולימריזציה. האקטין לא נמצא בתא במצב של סליל כפול, אלא הסלילים יוצרים צילוב הומימדי או יצירת רשתות מכמה סיבים. הצילוב עשה ע"י חלבונים מצולבים הנבדלים זה מזה ברשת שהם יוצרים מסיבי האקטין, והדבר נקבע ע"י המרחק בין החלבונים וה-cross linking domain. הפילאמין יוצר רשת יותר גמישה ופחות צפופה בניגוד, כאשר נוצרים צילובים בין סיבי האקטין עד ליצירת ג'ל (חומר חצי מוצק המכיל מונומר ומים).

### סיבי ביניים – Intermediate filaments

לא קיימים בכל היצורים החיים ולא מצויים בכל התאים, ובניגוד לסיבים האחרים, אין להם פולריות ולכן הם לא מעורבים בתנועה של התא. הם חשובים במספר גדול של תאים כאשר פגיעה בהם יכולה לגרום למחלות קשות.

רוב המונומרים בנוי ממבנים של  $\alpha$  הליקס שיוצרים ביניהם coiled-coil עם ראשים גלובולרים. שני דימרים מתארגנים במבנה אנטי מקבילי (אמיני לקרבוקסילי) והתוצר עובר פולימריזציה לאורך ולרוחב. החוסר בפולריות מאפשר ליצור מבנה מוארך ועבה יותר והם לא נשברים כשמופעל עליהם כוח.

סיבי קרטין מצויים בציפורניים ובשערות והם מתאפיינים בקשרי-S-S המייצבים את המבנה ויוצרים קשר בין התאים. הם מצויים בעיקר ברקמות אפיתליות. בשלוחות של תאי עצב, החוזק של האקסונים והדנדריטים נקבע בעזרת ה-IF.

### תנועה לאורך מיקרוטובולים

התנועה יכולה להיות לכל אחד משני הכיוונים והיא נקבעת לפי הפולריות של המיקרוטובול. המרכז נקבע כנקודה השלילית ביותר, והתנועה מסיעה את האברונים בעזרת motor proteins, ממרכז התא לקצוות ולהיפך.

קיימים 2 סוגים של motor protein שנבדלים בעיקר במבנה ובכיוון התנועה):

- **קינאזין** – רובם נעים בכיוון החיובי (לפריפריה של התא), כאשר התנועה שלהם מתבצעת באמצעות 2 ראשים שמפרקים ATP ויוצרים את התנועה. אזור הזנב קושר את הוויסקולות. במצב ההתחלתי נקשר ATP לראש אחד ולשני ADP, וכל עוד ה-ATP קשור, הראש לא יזוז. ה-ATP עובר הידרוליזה ונשאר קשור, ואז ה-linker של הראש עובר שינוי והראש מתנתק מהסיב. הראש שהיה קשור אליו ADP מחליף אותו ב-ATP ונקשר חזק, ואילו הראש השני עובר קדימה. זהו תהליך פרוססיבי בו האנזים לא מתנתק מהסובסטרט כשהתהליך חוזר על עצמו.
- **דיאנין** – נע בכיוון השלילי (אל מרכז התא) ומשתמש באקטין כדי לעגן את הוויסקולות. מנגנון התנועה שלו דומה מאוד לזה של הקינאזין.

תאים אוקריוטים משתמשים בפלגלים או בסיליה כדי לנוע, כאשר בשניהם מדובר במבנה המורכב מדובלטים (9 בחוץ ואחד במרכז). התנועה נעשית בעזרת דיאנינים שנקשרים בעזרת 2 דובלטים סמוכים. שאר החומרים מייצבים את המבנה בין השאר באמצעות נקסין שמקשר בין דובלטים

סמוכים. הנקסין גורם לסיליום או לפלגלים להתכופף, כאשר הדיאלין רוצה ליישר את הסיבים כדי שיהיו אחד ביחס לשני ונקסין מונע זאת. בגלל הפעלת הכוח נוצר כיפוף.

התנועה העיקרית בסיבי האקטין נעשית ע"י החלקה על גבי סיבי מיוזין. משפחת המיוזינים מכילה הרבה סוגים הנבדלים באופן משמעותי בתכונות, ולכולם יש light chains שחשובים לבקרה עליו. מיוזין 2 נמצא בשרירים ומופיע כדימר מאוד ארוך, כאשר לכל מונומר יש ראש אם כי אין קשר בין הראשים. מאות דימרים מתחברים בכיוונים הפוכים שיוצרים פילמנט עבה כשבאמצע נשאר אזור נטול ראשים. הסיבים מעוגנים לדיסק ובזמן התכווצות הם נעים לכיוון המרכז. התנועה הזו אינה פרוסובית והיא מהירה יותר מתנועה בעזרת הקינאזין והדיאנין.

ברוב המקרים, התאים זוחלים על גבי מצע חוץ תאי בגלל פולימריזציה של אקטין בצד אחד של התא ודה-פולימריזציה בצד האחר. קומפלקס של Arp 2/3 אחראי לפולימריזציה של סיבי האקטין. הוא מרוכז בקצוות התא ומתחיל להאריך את סיבי האקטין המסודר במבנה של רשת עץ. החלבונים Arp 2/3 מאוד דומים לאקטין, ולכן הם מחברים מולקולות דומות לקומפלקס כדי ליצור את המבנה הזה. בזמן שתא זוחל, יש כל הזמן תוספת של הקומפלקס בקצה אחד, ודה-פולימריזציה בקצה השני בעזרת החלבון cofilin. המיוזין קשור לאקטין ומעגן אותו לממברנה, וכאשר מגיעה מולקולה של ATP, היא נקשרת לראש של המיוזין והוא מתנתק מהאקטין לאחר ביצוע תנועה. לאחר מכן מתבצעת הידרוליזה, הפוספט מתנתק ולאחריו גם ה-ADP.

### קשרי תא-תא

**רקמה** – תאים שממלאים את אותה פונקציה ונוטים להימצא ביחד. קיום רקמה מחייב תקשורת בין תאית בצורה ספציפית. תאים מאותה רקמה מסוגלים לעבור אגרזציה אחד אם השני אבל לא עם תאים מרקמה אחרת.

**רקמת האפיתל** – הרקמה הנפוצה בגוף ובה קיימים כל סוגי הקשרים. רקמה זו מורכבת ממספר שכבות של תאים, כאשר חלקם מסודרים במבנה צפוף אחד על גבי השני, וחלקם (פיברובלסטים) מפוזרים בתוך הנוזל התוך תאי (ECM). בין האפיתל לרקמות הגוף נמצאת הממברנה הבזלית (BM), שהיא סוג מסוים של חומר חוץ תאי שאמור להפריד בין האפיתל לרקמה שמתחת. תאי האפיתל מעוגנים ל-BM בעזרת חלבונים חוצי ממברנה בחלק הבזלי שלהם. התאים מפרישים את החומר החוץ תאי שהם נמצאים בו והפיברובלסטים מפרישים את ה-BM. הממברנה הבזלית חדירה לחומרים מסוימים המספקים מזון לתאי האפיתל. כל התאים קשורים זה לזה בעזרת צמתים מיוחדים:

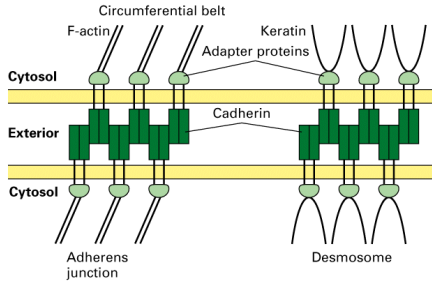
- **Tight junction** – קרובים לצד האפיתלי, יוצרים מחסום הרמטי או סלקטיבי של מעבר מים וחומרים.
- **Adherens junction** – צומת אדהזיה מרכזי של קשרי תא-תא ברקמת אפיתל, מקשרים את שלד התאים בעזרת אקטין מתאים שכנים.
- **Desmosome** – מקשר את סיבי הביניים ומקנה חוזק מכני לאפיתל.
- **Gap junction** – מאפשרים מעבר של מולקולות קטנטנות ויונים בין תאים שכנים.
- **Hemidesmosome** – מעגנים את שלד התא למצע החוץ תאי ומקשר אותו עם סיבי הביניים.

כל הקשרים בין התאים ובין התאים לרקמה מתווכים ע"י לינקר טרנס-ממברנלי שיכול להיות קשור ללינקר דומה מתא שכן, או שהוא יהיה קשור למרכיב מהנוזל החוץ תאי. הם קשורים לממברנת התא בעזרת חלבוני דבק, ולהדבקה יש חשיבות בהגבה לשינויי הסביבה.

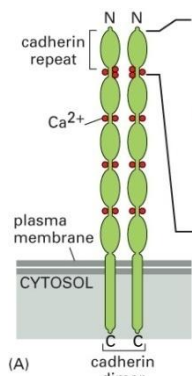
**CAMs** – מולקולות אדהזיה (הדבקה) שחשובות במיוחד בתאי שריר ועצב. הם מחולקים ל-2 קבוצות: אלו שתלויים בסיידן (קדהרינים) ואלו שלא (N-CAMs).

## קדהרינים (Adherens junctions)

קיימים בכל תאי האפיתל ומהווים את המרכיב החשוב ביותר בקשירה בין התאים. בלעדיהם לא יתקיימו הקשרים האחרים. הם מתבטאים כבר בשלב העוברי המוקדם ביותר, כאשר התאים מוחזקים אחד עם השני עד שהם עוברים דחיסה. פעילות הקדהרינים תלויה בסידן, ולכן חוסר בסידן בשלב הזה ימנע יצירת קשרים ויגרום לעובר להתפרק לתאים בודדים.



הקדהרינים מאורגנים בצברים כי האפיניות שלהם חלשה והם לא יכולים לתת את החוזק הדרוש לבדם (זו הסיבה שבכל adherens junction יש כמות גדולה מהם). הם מתפקדים בצורה של דימרים שיוצרים אינטראקציה עם הומו-דימר של תא שכן בצורה של side-by-side בעזרת קישור בין סיבי האקטין של כל תא, כך שאם יש שינוי מבני בתא אחד, הוא ישפיע גם על שכניו. הדבר יוצר חגורת אקטין רציפה בכל התאים וקובעת את תצורת התא ומקנה לו חוזק.



**מבנה** – החלק התוך תאי שלהם קצר ביחס לחלק החוץ תאי והוא שמור יותר באבולוציה ונקשר לסיבי האקטין בעזרת חלבוני דבק (קטנינים  $\alpha$ -אקטינים). החלק החוץ תאי מורכב מכמה תתי יחידות שחוזרות על עצמן ומקנים לקדהרין גמישות. חלק זה מכיל רצף קונצנזוס של ח"א טעונות שלילית שתפקידן לקשור סידן המקנה לקדהרין קשיחות (מתרחשת רק אם הריכוז גבוה מ-1mM), ייצוב המבנה, תיווך בין קדהרינים מתאים שונים ושמירה מפני עיכול פרוטאוליטי. בקצה הקדהרין (הקצה האמינו טרמינלי) מצוי רצף שדרוש לקדהרין כדי להיקשר לראש של קדהרין מתא שכן.

קיימים מספר סוגים של קדהרינים:

- E-cad – נמצאים בתאי אפיתל בשלב העוברי המוקדם.
- P-cad – מופיעים ברקמות חוץ עובריות ועל דופן הרחם, כדי ליצור אינטראקציה בין העובר והאם.
- N-cad – הקדהרין העיקרי במערכת העצבים ובשרירים שיכולים ליצור סיבים.

תאים מרקמות חיבור שונות יכולים לייצר קדהרינים ולהפוך לרקמת אפיתל או לאבד את היכולת הזאת ולחזור לרקמת חיבור (תאים סרטניים מאבדים את היכולת לייצר קדהרינים ומתחילים להתחלק בלי שליטה). בראשית ההתפתחות העוברית הקשרים בין התאי חלשים יותר כי רמות הקדהרין נמוכות יותר. היעלמות והופעה שלהם קשורה בתהליכי יצירה של מערכות ואיברים בזמן ההתפתחות העוברית, והם מסייעים ליצירת צינור העצבים הראשי. אם אין ביטוי דיפרנציאלי של קדהרינים מסוג E-N, צינור העצבים לא יתנתק מהאקטודרם ותאים לא ינדדו.

## דסמוזמים

נמצאים מתחת ל-adherens junction והם מחברים את שלד סיבי הביניים בין התאים. יש לדסמוזמים 2 סוגי לינקרים: דסמוגולינים ודסמוכולין. סיבי האקטין מתחברים לדסמוזמים בעזרת חלבוני דבק שיוצרים מבנה דמוי כפתור. תפקיד הדסמוזמים הוא למנוע מעבר מים בין שכבות התאים והם נותנים חיזוק לתא בעזרת הארגון של סיבי הביניים. המידיסמוזמים שייכם לקשרי תא עם מצע חוץ תאי והם נראים כמו חצי דסמוזום רגיל, ויש להם לינקר מסוג אחר, אבל הם גם נותנים חוזק בעזרת רשת סיבי הביניים.

## CAMs - אינטראקציות שלא תלויות בסידן

מתווכת ע"י לינקרים, כאשר החלק החוץ תאי מורכב מלולאות שמחוברות בקשרים דיסולפידים. הם נמצאים במערכת העצבים, בתאי שריר ובכליות. הם עוזרים לתאים להתקדם ולהגיע למקום שבו הם

אמורים להגיע. ה-CAMs מכילים חומצה סיאלית (סוכר טעון שלילית), והקשרים האלו מופיעים בעיקר בשלב העוברי ונעלמים לאחר מכן כדי ליצור קשרים חזקים יותר.

### Tight junctions

מהווים את הקשר הראשון שנמצא בצד האפיתלי והם קובעים 2 תכונות חשובות שמאפיינות את תאי האפיתל: פולריות ואי עבירות לנוזלים ומומסים מצד אחד לצד השני של תא האפיתל (אי העבירות לא מושלמת ותלויה רקמה). הם מונעים דיפוזיה של חלבונים ומולקולות קטנות ושומרים על תת מבנה מסוים של ממברנת הפלסמה, כך שהם מובילים לכך שההפרשה תהיה למקום מסוים וליצירת טרנספורט וקטוריאלי של מעבר החומרים (נכנסים באזור האפיתלי ויוצאים דרך האזור הבזאלי). הם מורכבים משני חלבונים, קלאודין ואוקלידין, בעלי מבנה שונה מחלבוני הדבק שנקשרים גם לסיבי האקטין.

### Gap junction

הקשרים יוצרים תעלות מיקרוסקופיות בין התאים ברוחב של 2-4nm שמאפשרות מעבר של מולקולות קטנות בין תאים. הן מורכבות מתתי יחידות שנקראות קונקסין ו6 קונקסינים יוצרים קונקסון. הגודל המקסימלי של מולקולה שיכולה לעבור דרך ה-tight junction הוא כ-1000 דלתון והסגירה והפתיחה של התעלות מבוקרת ע"י ריכוז הסיידן (ריכוז גבוה סוגר תעלות)  $\text{pH}$  (נמוך גורם לסגירה). התפקיד המרכזי שלהם הוא בזיווג ובהכוונה של תאים, בדגש על דיוק התיאום ומהירות התגובה.

### קשרים בין תא ורקמה

#### הממברנה הבזלית (Basal lamina)

לממברנה הבזלית יש מבנה קבוע יחסית ברקמות השונות ועובי ממוצע של 100-40nm. ממוקמת מתחת לשכבת האפיתל ברקמות אפיתליאליות ועוטפת תאי שריר חלק, כלי דם ותאי שומן והיא לא מאפשרת לתאים לעבור לרקמת החיבור ולהיפך (פרט לקצוות סינפסה ברקמות עצבים). הממברנה נותנת לרקמה את השלמות שלה ומעגנת את התאים אליה, משמשת כפילטר למולקולות ומכוונה אותן.

ה-laminin הוא הבסיס ל-BM ומורכב מ-3 שרשראות שמשולבות האחת בשניה ויכולות לקשור כל אחד מהמרכיבים ב-ECM. הוא קושר את ה-BM לרקמות החיבור מתחת והוא חשוב בהכוונה של התאים.

#### המצע החוץ תאי (ECM)

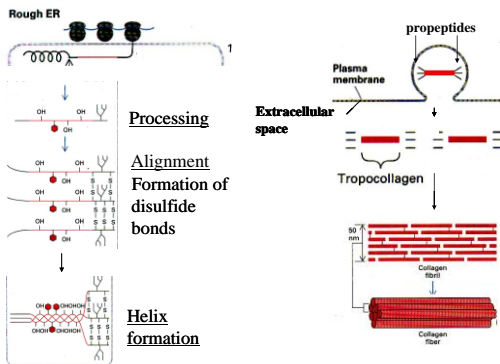
מהווה את השלד החוץ תאי והוא מורכב מ-3 סוגי מולקולות עיקריות מבחינת תפקידן: מולקולות אדהיזה לקישור בין התאים למצע, מולקולות שיוצרות אינטרקציות בין חלבונים המצע, מייצבות ומעניקות חוזק לרשת וכאלו שמעניקות ל-ECM צמיגות.

#### קולגן

החלבון העיקרי בבעלי חיים, כאשר זמן החיים של המולקולה הוא 20 שנה ותפקידה העיקרי הוא לעמוד בפני כוחות משיכה. קיימים כ-20 סוגים של קולגנים:

- **סיביים** – קולגן 1 מהווה 90% מהקולגנים בגוף, שכיח בעור ובעצם. קולגן 2 שכיח בסחוס וקולגן 3 אחראי על יצירת סיבים.
- **רשת דו ממדית** – ע"י קולגן 4.
- **לינקרים** – קולגן 6 ו-9 מקשרים בין סיבי קולגן בעזרת קשר קוולנטי.

המבנה העיקרי של הקולגן הוא הליקס משולש המורכב משרשראות  $\alpha$  באורך של 1050 בסיסים, כאשר כל שרשרת מקורה בגן מסוים וסוג הקולגן נקבע לפי סוג השרשראות. הסיבים עשירים בגליצין



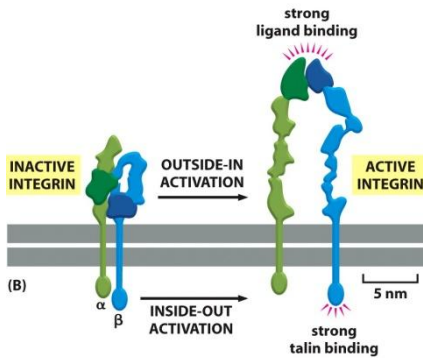
שמאפשר להם להיות סיביים ובפרולין שנותן להם קשיחות. הקולגן מסוננת על גבי ה-RER ויצירת ההליקס נעשית בגולג'י מלבד הקצוות. הקצה עשיר בציסטיאנים שיוצרים ביניהם קשרי S-S ומונעים את יצירת ההליקס. תוך כדי ההפרשה חותכים את הפרופפטידים ומקבלים טריפוקולגן. כדי ליצור סיב, נוצרים קשרים קוולנטים בין הסיבים ובתוכם כדי ליצור סיב מלא בוגר בעזרת ההידרוקסידים של ליזין ופרולין (ע"י נוכחות של ויטמין C, בלעדיו הקולגן מתפרק מהר יותר ובטמפ' נמוכה יותר).

### פיברונקטיין

עוזר לקשור בין התאים ל-ECM. מכילים אתרי קישור מיוחדים ללינקרים מסוג אינטגרנים.

### אינטגרין

מקשר את ה-BM ואת ה-ECM לתאי האפיתל. מדובר בחלבון חוצה ממברנה המורכב מ-2 תתי יחידות, כאשר הקצה האמיני של המולקולה נקשר לתאים ותלויה ביוני סידן ומגנזיום. המידסמוזמים מקשרים בין האינטגרנים לשלד סיבי הביניים בתוך התא, ואילו מחוץ לתא הם נקשרים ללמינין ולשאר מרכיבי ה-ECM. אינטגרין פעיל הוא כזה שיכול להיקשר ל-ECM ולשלד הפנים תאי. כאשר הוא לא פעיל תתי היחידות שלו יהיו מקופלות על עצמן ורק כאשר ליגאנד נקשר לאקטין או בעקבות סיגנל תוך תאי, תתי היחידות מתרחקות זו מזו ונוצרת קשירה לשלד התא. אחד התפקידים של האינטגרנים הוא לאפשר לתאים לקבל את המורפולוגיה שלהם ברקמה ולעגן אותם אליה.



ה-ECM מכיל גם סיבים אלסטיים עבור איברים שנמתחים ומרפים. כדי לעשות זאת קיימים סוכרים הנקראים GAGs שיכולים להיות חופשיים ברקמה או קשורים לחלבון ליבה (פרוטאוגליקאנים).

### GAGs

סיבים אלסטיים ב-ECM שנמצאים באיברים שצריכים להתכווץ ולהתרחב. הם סוכרים במבנה של  $[A + B]_n$  והסוג שלהם נקבע לפי סוג הסוכר בעמדה B, סוג הקשר ביניהם והסולפונציה של הסוכרים האלו. עמדה A נקראת חומצה יודורנית או גלוקורנית. הסולפונציה מתרחשת בעיקר בעמדות 1,2 ו-6, אם כי ידועים GAGs שלא עוברים סולפונציה בכלל. חשיבות התהליך היא בגלל המטען השלילי העודף שהיא נותנת למולקולה, דבר שעוזר לה לספוח מים והופכת את המצע לגלי ומאפשרת לרקמה לעמוד בלחצים. ה-GAGs משמשים כחומר סיכה ומרכיבים את הסחוס.

### PGs

מצויים ליד קולטנים מעבירי סיגנלים על ממברנת התא ומסוגלים לסייע בקליטה של הסיגנלים. הם יכולים לעמוד בפני לחצים, מונעים מעבר של מקרומולקולות, יכולים לתפקד כחלבוני אדהזיה כמו לינקרים וקבוצות הסולפט משמשות לאינטראקציה עם חלבונים אחרים (בדרך כלל טעונים חיובית). דוגמא ל-PGs הוא הפרלקן שמופרש מחוץ לתאים ומהווה אחד מהרכיבים העיקריים של ה-BM, וגם מופיע בסחוס ובעצם. חוסר בו לתאלי.

## סיגנלים בין תאים

סיגנלים בין תאים הם קריטיים לשרידות ולהתנהגות של אורגניזמים רב תאיים, ונחוצים על מנת לבצע תיאום בין התאים. קיימים שני סוגים של סיגנלים: כאלו שמפרשים מהתא החוצה לגמרי, וסיגנלים שמחברים לממברנה (חייבים את הרצפטור קרוב אליהם ומשפיעים רק על תא סמוך). סוג הסיגנל נקבע ע"י המרחק שהמולקולה צריכה לעבור, סוג המתווך והתא שמתווך והתא שמגיב. קיימים 4 סוגים של סיגנל:

- **פראקריני** – סיגנל בין תאים שקרובים אחד לשני. הוא מתווך ע"י מולקולות פוליפפטידיות, ובגלל המרחק הוא אינו יכול לבצע תקשורת בין כמה אורגניזמים או רקמות מרוחקות.
- **סינפטי** – סיגנל עצמי, עובר דרך מערכת העצבים המרכזית, כאשר המולקולה מופרשת קרוב מאוד לתא המטרה. הריכוז של הליגאנד ליד הרצפטורים מאוד גבוה, והדיסוציאציה של הליגאנד לרצפטור מאוד מהירה לפירוק והחזרה.
- **אנדוקריני** – תאים משחררים את הסיגנל למערכת הדם, והיא מזרימה אותם אל תאי המטרה. מלבד המרחק, סיגנלים אנדוקרינים נבדלים מהסינפטים בריכוז שלהם (ריכוז גבוה לאנדוקרינים), באפיניות של הקשירה לרצפטור ובמחצית החיים (מחצית החיים של אנדוקרינים ארוכה יותר משל הורמונים).
- **אוסוקרינים** – מתבטא בתוך רקמה של תאים זהים שקשורים אחד לשני בעזרת קדהרינים. כל תא יכול להפריש חומרים שיכולים להשפיע עליו, כמו גם על התאים האחרים ברקמה. הם מדווחים גם במקרים דלקתיים על מנת להפעיל את המערכת החיסונית.

### השוואה בין מנגנונים שונים

רצפטורים ממברנליים		רצפטורים תוך תאיים		תכונה
קטכולאמינים	חלבונים ופפטידים	טירוקסינים	סטרואידים	
כן	כן	כן	כן	בקרה במנגנון של פידבק
מספר ימים	יום אחד	מספר שבועות	לזמן קצר מאוד	אחסון הורמון
אקסוציטוזה בעזרת וסיקולות	אקסוציטוזה בעזרת וסיקולות	פרוטאוליזיס של טירוגלובולין	דיפוזיה דרך הממברנה	מנגנון השחרור מהתא
לא	נדיר	כן	כן	קישור לחלבוני פלזמה
שניות	דקות	ימים	שעות	זמן חיים בדם
שניות ופחות	דקות עד שעות	ימים	שעות עד ימים	משך הפעולה
ממברנת הפלסמה	ממברנת הפלסמה	גרעין	בציטוזול או בגרעין	רצפטורים

היה צורך בפיתוח מנגנונים להעברת סיגנלים מהממברנה אל תוך התא.

סיגנל מסוים יכול לעורר תגובות פיסיוולוגיות שונות בתאים שונים, בין אם ע"י התרחבות או התכווצות של התא ועד הפעלת חלבון שגורם לשחרור חומרים מווסיקולות בתוך התא. הסיבה להבדל הוא שוני ברצפטור שגורם בכל מצב לתגובה אחרת. כל תגובה תאית נשלטת ע"י הרצפטור וע"י המולקולות שקולטות את הסיגנל בתוך התא. כל תא מתוכנת להגיב לקומבינציה ספציפית של מולקולות המעבירות סיגנל. הקומבינציה הזו תכריע אם התא ישרוד בתנאים הנתונים, יכפיל את עצמו או יתמין לתפקיד מסוים. אם הוא לא יקבל סיגנל, הוא ימות.

קיימים מספר דרכים להפסקת סיגנל:

1. הליגאנד נשלח לליזוזום לפירוק, עם או בלי הרצפטור (ואז ניתן למחזר אותו לפעילות נוספת). מתרחש אצל גורמי גדילה ורצפטורים בעלי פעילות אנזימתית.
2. חסימה של הקסקדה ע"י מולקולה תוך תאית.
3. אינאקטיבציה לאפקטור (מולקולה של הרצפטור זקוק לה).

4. מעכב מונע חלק מהקסקדה בין הרצפטור לאפקטור.

### רצפטורים לסיגנלים

קיימים שני סוגים של רצפטורים: תוך תאיים (מסיסים בשומן) וממברנליים (נקשרים לחלבון מסיס והם בעיקר מורכב מאוטוקרינים).

הרצפטורים שנמצאים על גבי הממברנה מתחלקים ל-3 משפחות עיקריות לפי מבנה, תפקיד ומנגנון פעולה:

1. **רצפטורים המכילים תעלת יונים** – מורכב מ-5 תתי יחידות שחוצות את הממברנה ויוצרות תעלה. הטריגר לפתיחת השער הוא קישור של הליגאנד לתת היחידה  $\alpha$ .
2. **GPCRs** – משפחה של רצפטורים שהפעילות שלהם מתווכת ע"י חלבון G שחוצה את הממברנה 7 פעמים. הסיגנל התוך תאי מתווך ע"י שליחים משניים שמבצעים את העבודה.
3. **רצפטורים עם פעילות אנזימתית (קינאזות)** – מתחלקים לשני סוגים: הרצפטור בעצמו הוא הקינאז (גורמי גדילה) או שהוא נמצא באסוציאציה עם חלבון בעל פעילות קינאז (ציטוקינים).

סיגנלים חיצוניים מעוררים שינויים בפעילות או בתפקוד חלבונים קיימים בתא, או גורמים לעליה באקטיבציה של ביטוי החלבון.

קיימים 3 סוגים של רצפטורים תוך תאיים (הגורם המרכזי להעברת סיגנל הוא השליחים המשניים):

1. **חלבונים קושרי GTP** – חלבונים קטנים שמעבירים סיגנלים של RTK (רצפטור טירוזין קינאז) או חלבוני G-טרימרים שמעבירים סיגנלים של GPCRs.
2. **קינאזות** – אנזימים שמבצעים זרחון או הורדה של פוספט.
3. **אדפטורים** – חסרי פעילות אנזימתית ומשמשים כמתאמים. מסוגלים לקשור חלבון בודד או מספר חלבונים.

### GPCRs

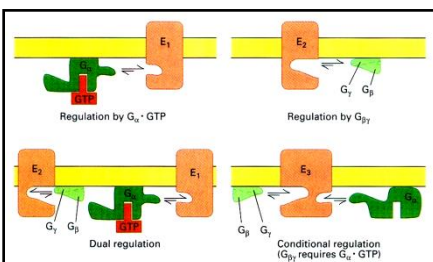
חלבוני G-טרימרים שמעבירים סיגנלים תוך תאיים, ולרוב הדבר מתבטא ביצירת שליחים משניים הגורמים לתגובה תאית (מטבולית, יצירה והפרשה של הורמונים, אלרגיה, הפריה, התמיינות ועוד). הרצפטור שנמצא בתוך הממברנה משמש כ-GEF עבור החלבון שמורכב משלוש תתי יחידות:  $\alpha$  שבה מתבצעת ההידרוליזה של GTP,  $\beta$  ו- $\gamma$  שנמצאות ביחד, כאשר לכל אחת מהן יש תפקיד מסוים. קיימים 4 סוגי אפקטורים עליהם פועלים ה-GPCRs:

- אדניליל ציקלאז (AC).
- פוספוליפאז C $\beta$  (PLC  $\beta$ ).
- cGMP phosphodiesterase.
- תעלות יונים.

ההידרוליזה של אדניליל ציקלאז מפעילה את cAMP, רגולטור של PKA. הוא מווסת פעילות של ליפאזות בתאי שומן, מונע קשירה של חלבוני G, מווסת פירוק של שומן ברקמות אחרות ומווסת יצירה והפרשה של הורמונים.

לתתי היחידות יש 4 אופנים של בקרת האפקטור:

- רגולציה ע"י קשירה של תת יחידה  $\alpha$  שאליה קשור GTP אל האפקטור.
- רגולציה ע"י קשירה של תתי היחידות  $\beta$  ו- $\gamma$  אל האפקטור.
- רגולציה כפולה של שניהם ביחד.
- בקרה מותנית, כאשר הקשירה של אחד מהם תלויה בקשירה של האחר.



## טרמינציה

את הביטוי של התגובה המקוטלת ע"י GPCR מבקרים לפי כמות ה-cAMP וכמות הרצפטורים על שטח פני התא. קיימות 3 דרכים להפסיק את פעילות הרצפטור:

1. **אדפטציה ודה-סינתיסיזציה** – זירחון הרצפטור וקשירה של חלבון נוסף (ארסטיין) שעוצר את התגובה היות והוא מתחרה עם ה-G protein על הקשירה לרצפטור.
2. **הידרוליזה של GTP** – ביצוע אינאקטיבציה של חלבון G בעזרת הידרוליזה לעצירת התהליך.
3. **פירוק שליחים משניים** – פירוק של שאר המרכיבים בקסקדה.

בדרך כלל שלושתם פועלים בו זמנית.

## הרצפטורים המצומדים לחלבוני G

קיימים אלפי רצפטורים וליגאנדם קטנים שנקשרים באזור הטרנס-ממברנלי. ייתכן שמספר רצפטורים יפעלו ביחד באמצעות אותו חלבון G.

אנלוגים יכולים לחקות את ההורמון ואז נקרא להם אגוניסטים. מצד שני, הם גם יכולים לעכב את הפעילות שלו ואז הם ייקראו אנטגוניסטים.

אפינפרין ונוראפינפרין יכולים להיקשר למספר סוגים של GPCRs. הם ממלאים תפקיד מרכזי בתגובות למצבי לחץ ופועלים על שני סוגי קולטנים -  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptors. יש ואריאציות בין הרצפטורים ושניהם נכנסים לפעולה בזמן פעילות גופנית מוגברת או פחד. הקולטנים  $\beta_1, \beta_2$  מצומדים ל- $G_s$  שמאקטב את AC,  $\alpha_1$  מצומד ל- $G_i$  שמעכב את AC ואילו  $\alpha_2$  מצומד ל- $G_q$  שמאקטב את PLC $\beta$ .

דרך  $\beta$  receptor מתבצע זירוז של יצירת חומרי המוצא לאנרגיה בכבד (גליקוגן על מנת לשחרר גלוקוז לדם), פירוק שומנים בתאי שומן ושחרור טריאציל גליצרו. בשריר הלב הפעילות מגבירה את קצת פעילות הלב כדי להזרים את ההורמונים מהר יותר בדם. בנוסף, הוא מונע פעילות מעיים כדי לא לבזבז אנרגיה שדרושה במצבי לחץ (שרירים חלקים נחים). לעומת זאת,  $\alpha$  receptor גורם להתכווצות השרירים החלקים של כלי הדם כדי להפחית את האספקה של כלי הדם (ממתן את הפעילות שלהם כשצריך להעביר אנרגיה לשרירים).

פוספוליפאז C $\beta$  מעודד פירוק של גליקוגן בכבד, מתווך את הפעילות של אנזימים למערכת העיכול מהבלב וחינוי לאגרגציה של טסיות דם. הוא פועל על ליפיד ממברנלי וגורם ליצירת שני שליחים משניים – IP3 ו-DAG (דיאציל גליצרו). DAG מסיס במים ועובר דיפוזיה לציטוזול. הוא מתפקד באופן טרנססיאנטי על מנת להעלות את ריכוז הסיידן.

ריכוז הסיידן בציטוזול הוא  $10^{-7} M$  ואילו מחוץ לתא הוא  $10^{-4} M$ . רוב הסיידן בתא נאגר ב-ER באמצעות רצפטור, וקיימת תעלה המאפשרת לסיידן לעבור מה-ER לציטוזול. שמירה על מפלי הריכוזים דורשת הרבה אנרגיה, כי ריכוז הסיידן משפיע על העבירות ב-gap junction ודרוש לאקסוציטוזה ולאחי וסיקולות. חוסר בו גורם להתכווצות שרירים.

DAG מאקטב משפחה של סרין-תריאונין קינאזות C1 $\alpha$  protein kinase (PKC), כאשר הסיידן גורם לביקוע הפרוטאוליטי של האנזים ו-DAG מאקטב אותו.

## RTKs

חלבונים חוצי ממברנה מונומרים (receptor tyrosine kinase) המשמשים בעיקר לתהליכי חלוקת תא והתמיינות. החלק התוך תאי הוא החלק הקטליטי בחלבון, ואילו החלק החוץ תאי נקשר לליגאנד. הליגאנד הוא חלבון גורם גדילה שפועל רוב הזמן במנגנון פאראקרני (פועל במנגנון אוטו קריני בזמן התפתחות עוברית וסרטן). קיימות 16 משפחות של RTKs, כשהם נבדלות אלו מאלו במבנים מחוץ לתא: אזורים עשירים בציסטאין או לולאות דמויות אימונוגלובינים. תת היחידה הקטליטית שמורה מאוד באבולוציה (למעלה מ-85% הומולוגיה).

התפקיד המרכזי של הליגאנד הוא לקרב בין שני רצפטורים כדי ליצור דימריזציה. אם היא לא תיווצר, לא יהיה זרחון של הרצפטור ורק אחר כך כל מולקולה תוכל לזרז את עצמה באזור אחר. יש לליגאנד

שני אתרים לקשירת הרצפטור באפיניות שונה: אחד באפיניות גבוהה ושני ובאפיניות נמוכה מאוד, כך שרק אחרי שהליגאנד נקשר לאתר הראשון, הוא יכול להיקשר לשני. שפעול הרצפטור גורם לפוספורלציה שלו, וכך הוא מונע אפוסטוזיס, עוזר בנדידה של התא ומהווה גורם חשוב בהתמיינות.

מטרת הדימריזציה היא כדי שהמונומרים יבצעו פוספורלציה במנגנון של trans, אבל כל מונומר יכול לבצע פוספורלציה לעצמו במנגנון של cis.

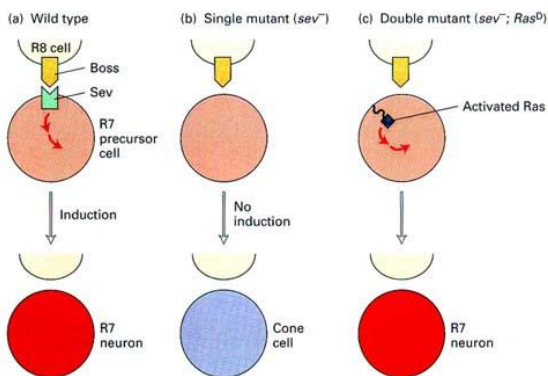
שיירי הטירוזין המזורחן על הרצפטור משמשים לקישור של חלבון סיגנל באתרי עיגון, ובדרך כלל גם זרחון שלו על טירוזין. מיקום הטירוזין המזורחן קובע את הספציפיות של קביעת הסיגנל. לרצפטור יש 3 מטרות לקישור הזה: זירחון הטירוזין, לגרום לשינוי קונפורמציה שמפעיל את הפעילות הקטליטית ולהעביר חלבונים לממברנה.

טרמינציה של ה-RTKs:

1. פירוק בליזוזום (העיקרי).
2. דה-פוספורלציה.
3. אנטגוניסטים (מולקולות שהרצפטור גרם להפעלתן והן מעכבות אותו).

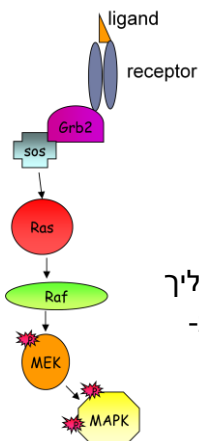
### מסלול Ras/MAPK

מסלול בתא שאחראי על חלוקה של התאים והתמיינות שלהם. כאשר ליגאנד נקשר לרצפטור, הוא גורם להפעלת הקסקדה שמתחילה בחלבון Ras, אולם אין אינטראקציה ישירה בין הרצפטור ו-Ras (זה גם לא המסלול היחיד שהרצפטור מפעיל). הרבה גורמי גדילה מפעילים את Ras ולכן הסיקו כי מדובר בחלבון שנמצא בצומת של העברת איתותים. התגלה שבגידולים סרטניים, Ras מכיל מוטציה בודדת שגורמת לו להיות כל הזמן פעיל (בלי נוכחות של Gap) ולהשרות חלוקה של תאים ללא הפסקה ולכן הוא חייב להיות מבוקר, הן בהפעלה שלו והן בטרמינציה.



כדי להוכיח את הקשר בין הרצפטור ל-Ras, ביצעו מחקר בשיטה גנטית (יצירת מוטציות על מנת לבדוק תפקוד חלבון) על העיניים של זבובי הדרוזופילה. כל עין מורכבת מ-800 עיניות כאשר כל עינית מכילה 8 רצפטורים הרגישים לאור, כאשר 7 מהם מסודרים מקדימה ואילו  $R_8$  נמצא מאחורה, כשיש לו אינטראקציה עם  $R_7$  שמקנה לזבוב רגישות לאור UV. זבובים שבהם  $R_7$  לא פעיל נקראים Sev, כאשר הרצפטור בעל אותו שם מקבל ליגאנד שהוא חלבון ממברנלי על  $R_8$  הנקרא Bos שאינו מופרש החוצה (ולכן נחוצה הקרבה בין הרצפטורים). ללא Bos,  $R_7$  לא יהיה פעיל. אם ישרו מוטציה באחד האללים לאחד

מחלבוני התהליך, עדיין ייווצר מעט חלבון שיספיק ליצירת  $R_7$ . אם נשרה מוטציה נוספת באלל אחד לחלבון תהליך אחר, ייווצרו 2 צווארי בקבוק ולא יהיה מספיק מכל חומר ליצירת  $R_7$ . בצורה הזו זיהו את החלבונים DRK (מבצע אינטראקציה עם הרצפטור) ו-SOS (מבצע אינטראקציה עם DRK ומהווה את ה-GEF ל-Ras).



תחילת התהליך – Ras נקשר לליפיד שמעגן אותו לממברנה. לאחר מכן, Sos נקשר ל-Ras וצריך את GRB2 (=TRK) כדי להיקשר לרצפטור הפעיל. הוא נקשר אליו בעזרת SH2, שהוא רצף ההכרה ב-GRB2 לרצפטור, ובעזרת SH3, רצף ההכרה ל-Sos. תהליך הזירחון מהיר מאוד והוא מתבצע באמצעות נוגדנים שמכירים את הצורה הפעילה והלא פעילה של החלבון.

כל הקסקדה של MAPK מוחזקת ע"י חלבון פיגום שלא מאפשר להם להסתובב בתא ודואג שהתהליך לא יעוכב. חלבון ה-Ras משפעל את Raf (או MAPKKK) וכדי לזהות שהוא מגיע אחריו, השתמשו ב-

Ras שפעיל קונסטיטוטבית (מופעל בלי שליטה, מגידולים סרטניים) ועם Raf פגום, וראו שפעילות המסלול נפגעה. רק אחרי השפעול, Raf משתחרר ומזרחן את MEK (או MAPKK), והוא בתורו אחראי על הזירחון של MAPK. התהליך הזה שמור מאוד באבולוציה, וזיהו עד היום 6 מסלולים דומים למסלול הזה, כאשר חלבון הפיגום צריך למדר ביניהם.

קסקדה דומה לתהליך מערבת PLC $\gamma$  ו- PKC והיא חשובה בארגון של התא. מנגנון ההפעלה כאן שונה, כאשר החלבון לא פעיל הוא אינו קשור לרצפטור והקישור אליו מקרב את PLC $\gamma$  לממברנה, שם נמצא הסובסטרט שלו  $PIP_3$ , והוא מפעיל קסקדה שלמה של תהליכים.

### PI-3 Kinase pathway

חלבון המאוקטב ע"י כל ה-RTKs. הוא מכיל 2 תתי יחידות: אחת רגולטורים (p85) והשנייה קטליטית (p110). הרצפטור גורם להפעלת החלבון, והקישור גורם לשינוי קונפורמציה ולשחרור היחידה הקטליטית מהרגולטורית. PI-3K מזרחן את  $PIP_2$  והופך אותו ל- $PIP_3$ , והוא האנזים היחיד שיועד לזרחן בעמדה 3 בטבעת האינזיטולית. הקינאזות מזרחנות האחת את השנייה ומונעות אפוסטוזיס (מוות של תאים).

### STATs

משפחה של פקטורי טרנסקריפציה המכילים דומיין מסוג SH2. מאוקטבים ע"י רצפטורים לציטוקין, אולם הם מסוגלים להיות מאוקטבים גם ע"י חלק מה-RTKs. הם מזרחנות ע"י הרצפטור ויוצרות דימר בצורת ראש לזנב.

### מסלולי העברת סיגנלים

מסלולי העברת הסיגנלים פועלים כרשת מורכבת שקיימת בה אינטראקציה מסוגים שונים בין חלבוני הסיגנל, כך שנוצר דו שיח בין הרצפטורים השונים. למשל, הרבה גורמי גדילה יכולים להפעיל את Ras ולכן הוא צומת מרכזי במספר מסלולים. מסלולי העברת הסיגנלים יכולים להתכנס למסלול אחד מרכזי, להתפצל למספר מסלולים נפרדים או שיווצר מסלול ייחודי לקסקדה מסוימת. ייתכן מצב בו שני רצפטורים ממשפחות שונות יבצעו את אותה פעולה, כך שלמעשה קיים דיבור בין שני המסלולים בצורה של בקרה שלילית (כל אחד מהם יכול להשתמש בחומרי ביניים אחרים וינצל אנרגיה בצורה שונה).

### ספציפיות של סיגנל

לא כל גורמי הגדילה מפעילים את אותם מסלולים. למשל: PI-3K שמופעל ע"י אינסולין מגביר תהליכים מטבוליים. אם הוא יופעל ע"י NGF בתאי עצב, נקבל סיגנל אנטי-אפופטוטי. הפעלה של גורמי גדילה שונים על אותם תאים באותו רצפטור יכול לגרום לתהליכים אחרים, למרות שמופעלת אותה קסקדה. דוגמא אפשר למצוא בהפעלה של מסלול Ras/MAPK, שאם נפעיל אותו לזמן קצר נגביר את תהליך ההתרבות של התא, ואילו משך הפעלה ארוך יעודד התמיינות של התא. סיגנל מסוים יכול להשפיע בצורה שונה בתאים שונים. למשל, FGF מגביר התרבות בפיברובלסטים, ואילו בתאי PC12 הוא מגביר את ההתמיינות שלהם.

הפקטורים שיכולים להשפיע על הספציפיות של הסיגנלים:

1. מולטי-אדפטורים ייחודיים במסלול (בעיקר במעלה המסלול).
2. מידור תוך תאי של מסלול מסוים.
3. קשור לחלבוני פיגום.
4. פידבק באמצעות חומרים אנטגוניסטים.

בשמרים אין RTKs. כל תהליך הזיווג של השמרים מופעל ע"י GPCR ושליחים משניים, בעזרת הומוולוגיים לחלבוני המתאימים. התהליך שאנלוגי ל-Ras/MAPK מתבצע על חלבון פיגום מיוחד שממדר ומייעל את הסיגנל בעזרת החזקה של כל החלבונים קרוב אחד לשני ומשפיע על הספציפיות

של התהליך, ואם יש חסר ב-Fus3 (אנלוגי ל-MAPK), מתלבש על המקום החלובן Hog1 שאחראי על יצירת קורים, ואז נקבל קורים לאחר ביצוע mating.

### מחזור התא

כדי ליצור רקמה, התא מתחלק ומתרבה. בניסוי שנערך, תאים נדבקו לצלחת אם הם אדהיסיביים, והם לא ממשיכים להתחלק ברגע שהם הגיעו לצפיפות מרבית (contact inhibition). אם ניצור חלל במצע, התאים יתחלקו כדי לסגור את החלל הזה. תאים סרטניים מאבדים את הבקרה לתכונה הזו ומתחילים לעלות אחד על השני (מתחלקים באופן אין סופי), והם לא צריכים גורמי גדילה כדי להתחלק.

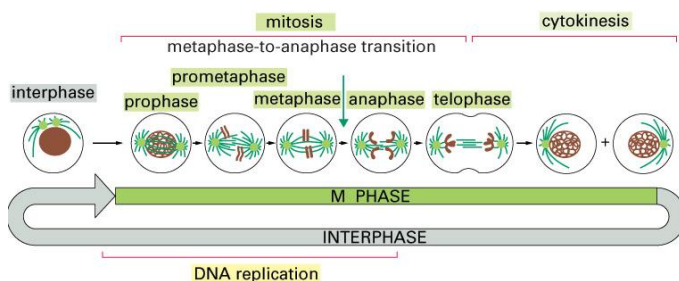
חלוקת תאים מתרחשת לצורך התפתחות עוברית, החלפה של אפיתלים (במעיים כל 3-4 ימים, תאי עור כל 28 יום), חידוש רקמה בעקבות פציעה ועוד. במהלך התהליך מתקבלים 2 תאי בת כאשר ה-DNA מוכפל ומסת התא מגיעה לסף קריטי המחייב התפצלות.

החלוקה בפרוקריוטים פשוטה מאוד: הכרומוזומים מוכפלים וכל עותק נצמד לחלק אחר של הממברנה ולאחר מכן חלה ההפרדה בין שני חלקי התא.

התהליך באאוקריוטים מורכב יותר בגלל הכמות הגדולה של הכרומוזומים, ריבוי של אזורי תחילת ההכפלה, הצורך להכפיל את אורגנלות התא (יש יותר) ובגלל שיש יותר מסט אחד של כרומוזומים. מחזור התא מורכב משני שלבים עיקריים: שלב המיטוזה (M) בו התא מבצע חלוקה לשני תאי בת, ושלב ההכפלה (S) בו מוכפל ה-DNA. בין שני השלבים האלו נמצאים שלבי ביניים,  $G_1$  ו- $G_2$ , בהם התא גדל ומתפתח.

### מיטוזה

מחולקת למספר שלבים עיקריים:



1. **פרופאזה** – פירוק הגרעין ויצירת הכישור.
2. **מטאפאזה** – הכרומוטידות מסתדרות על הכישור. ללא סידור של כל הכרומוטידות, התהליך לא יתקדם.
3. **אנאפאזה** – הפרדת הכרומוטידות ונדידה של כל אחת לכיוון אחר.
4. **טלופאזה** – הכישור מתפרק והתא מתחלק לשני תאי בת. האורגנלות מתחלקות רנדומלית בין התאים, ונוצרת ממברנה שמפרידה ביניהם. החומר הגנטי נסגר מחדש בתוך גרעינים.

אפשר לחלק את התאים לפי תדירות ההתחלקות:

- **תאים עובריים** – מתחלקים מהר מאוד כדי לקבל כמות גדולה של תאים תוך זמן קצר.
- **תאי עצב** – מאבדים את יכולת החלוקה שלהם אחרי ההתמיינות.
- **תאי שריר** – גם מאבדים את יכולת החלוקה, אולם כאשר יש פגיעה בהם, הגוף משתמש בתאים סטליטיים (תאים עובריים) כדי לתקן את הרקמה. התאים האלו מקבלים סיגנל מיוחד שמורה להם להתחיל להתחלק ולהתמייין מחדש, אולם לאחר מכן הם מאבדים את היכולת הזו ויוצאים ממחזור התא.
- **תאי כבד** – לא מתחלקים אולם כאשר חותכים חתיכה מהכבד יש גידול מחדש לצורך השלמה.

אם תא יוצא ממחזור התא (כלומר לא מתחלק יותר), צריך להשקיע כמות גדולה של אנרגיה כדי להחזיר אותו להחזיר אותו למצב של התחלקות. ברגע שתא "מחליט" להתחלק, קיימת נקודת אל חזור לקראת סוף שלב  $G_1$  שממנה הוא חייב להתחלק ולא יכול לחזור אחורה.

### בקרת מחזור התא

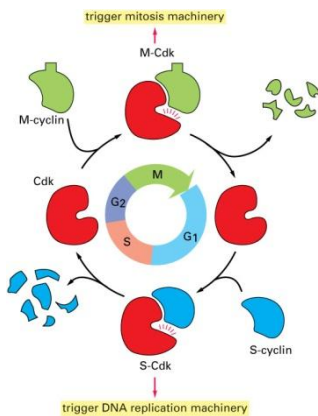
בקרת מחזור התא חשובה להתפתחות שלו ולשליטה על כמות ההתחלקויות שתא מבצע. תא סרטני מתאפיין באיבוד הבקרה הזו ולכן צריך מספר מנגנונים כדי למנוע ממנו להגיע למצב הזה. בין כל שלב במחזור יש בקרה שמקדמת את התא הלאה, כאשר לא ניתן לדלג על אף אחד מהם. למערכת הבקרה יש יכולת אדפטציה שמונעת התקדמות במקרה של תקלה. אם התאים משתנים, המערכת תדע להשתנות בהתאם.

### נקודות הבקרה העיקריות

1. **במהלך המיטוזה** – מבטיחה הפרדה נכונה של הכרומוסידות כך שכל תא בת יכיל את אותו מספר כרומוזומים כמו תא האם.
2. **בסוף  $G_1$**  - מסמנת לתא האם ניתן להתקדם במחזור, האם התא הגיע לגודל שמאפשר לו להכפיל את ה-DNA ולהתקדם הלאה. זוהי נקודת האל חזור.
3. **בשלב S-** במהלך הכפלת ה-DNA התא מוודא שההכפלה נעשית כמו שצריך כך שלא נוצרות מוטציות ושכל origin of replication עובד רק פעם אחת.

### Checkpoints

בקה נוספת על הבקרות. מדובר בסנסורים שמזהים אם מה שהיה אמור להתרחש אכן התרחש. נקודות אלו לא נחוצות לגמרי להתקדמות המחזור ולכן תקלה בהם תגרום לחלוקת התא, אבל נקבל תא עם מוטציות (ייתכן והתא ימות או יהפוך לסרטני). מנגנוני ה-Checkpoints בודקים אם נגרם נזק ל-DNA או שההכפלה לא הושלמה, וכן מבקרים אם תהליכי מפתח לא הושלמו. הסנסורים חשים בתקלה ועוצרים זמנית את מחזור התא ואם התקלה לא ניתנת לתיקון, התא נשלח לאפופטוזיס.



החומר העיקרי המשמש לבקרה נקרא ציקלין. כשהחומר לא קשור לאף חומר אחר, הוא בלתי מאוקטב. כדי להפעיל אותו, קיימת משפחה של קינאזות שנקראת CDKs, שפועלים בהתאם לשלב במחזור התא ואחראים על מספר פעולות. בשמרים קיים רק סוג אחד של CDK, ואילו בתאים אנימליים יש מספר סוגים ו-4 קבוצות של ציקלינים. כדי לבצע פעילות, הציקלין נקשר לקינאז כדי להיות פעיל. זירחון על טירוזין מביא לפעילות מעכבת, אולם זירחון על תריאונין מביא לפעילות מקסימלית ומאפשר נגישות לסובסטרט (בניגוד למצב השני). Cdk נקשר לציקלין בעזרת הידרוליזה של ATP. במצב הזה הקומפלקס פעיל חלקית והוא צריך לעבור זירחון ב-activation loop ע"י CDK-activating kinase (CAK) כדי להגיע לפעילות מקסימלית. בשמר, שני גנים עיקריים משפיעים על כל התהליך:

- **wee1** – כשהוא לא מתבטא, השמרים המתקבלים קטנים יותר כי הם מתחלקים לפני שהם הגיעו למסה המקסימלית שלהם (אחראי על מעבר נקודת האל-חזור).
- **Cdc25** – מוטציה בגן הזה מונעת מהתאים להיכנס לשלב החלוקה.

קיימת בקרה נוספת על ה-CDKs. חלבון מסוג CKI מסוגל להיקשר לקומפלקס ולמנוע ממנו להיקשר לסובסטרט, וכך לעכב את כל התהליך. תהליכים מעוכבים כאלו יכולים ליצור רקמה או אפילו יצור גדולים יותר. ה-CKIs חשובים גם בזמן הכפלת ה-DNA והם מפסיקים את ההכפלה כאשר הגיעו למספיק חלוקות. התהליך משתמש בשני קומפלקסים כדי לסמן בעזרת יוביקוויטין חלבונים המיועדים לדגרגציה.

הקומפלקס SCF מזרחן את ה-CKI וגורם ליוביקוויטין לזהות אותו, להיקשר אליו ולקחת אותו לפירוק. הקומפלקס APC מאפשר את הפרדת הכרומוטידות בשלב המיזזה כאשר הוא משופעל ע"י החלבון Cdc20, דבר שקורה אחרי ש-M-CDK הפעיל אותו. הוא אחראי להדבקת יוביקוויטין על גבי הציקלין ושולח אותו לפירוק כאשר כבר אין צורך בשימוש בקומפלקס. בקרה נוספת על התהליך מתרחשת ברמת השעתוק של ציקלין. קיימים חלבונים שמטרתם להגביר את יצירת הציקלין (ע"י MAPK) והוא פועל רק ב- $G_1$ .

### M-CDK

פעיל החל משלב  $G_2$  ועיקר פעילותו במהלך המיטוזה והוא צריך להיות מזרחן כדי למקסם את הפעילות שלו. יש כאן שילוב של מנגנוני בקרה: בקרה חיובית על ידי העלאה של כמות ה-M-CDK אם כמות הציקלינים עולה, ובקרה שלילית בעזרת זרחון נוסף שמונע נגישות לסובסטרט.

הקומפלקס של M-cyclin ושל CDK מאוקטב ע"י זירחון המבוצע ע"י CAK ומעוכב ע"י זירחון של Wee1. CDC25 אחראי על

הורדת הפוספט המעכב, והוא מאוקטב ע"י ה-M-CDK הפעיל (הוא גם מעכב את Wee1).

בנוסף, M-CDK מעודד קישור של CDC20 ל-APC וגורם להפעלתו. הקומפלקס גורם להפרדה של קומפלקס אחר בין Securin ו-Separase. הסקורין מחזיק את הספראז במצב לא פעיל, ורק כאשר כל הכרומוטידות מסתדרות על הכישור (סיום המטאפאזה), מגיע ה-APC ומפרק אותו. הספראז מפריד בין הכרומוטידות ומניע את המשך התהליך. אם מונעים את הפעילות של ה-APC, כל התהליך ייתקע כי אין הפרדה בין הכרומוטידות. בתאים עובריים, APC מאוקטב רק ע"י CDC20, ולכן הוא מתפרק לאחר המיטוזה (אין בעוברים שלב של  $G_1$ ). בתאים בוגרים יש בקר נוסף (HCT1) שגורם לפעילות גבוהה של APC כאשר M-CDK מפסיק לפעול.

### תפקידי ה-M-CDK:

- מאתחל מיטוזה (הוא דוחף תאים לתהליך).
- אחראי על יצירת הכישור והגעה של כרומוזומים לקו המשווה.
- מבקר את האתחול של הקונדנסציה בין הכרומוזומים ואת הסגרגציה שלהן.
- מבקר את פירוק ממברנת הגרעין.
- מבקר את רה-אירגון שלד האקטין והאורגניזם.
- אחראי על השלמת תהליך המיטוזה.

### S-CDK

פעיל החל משלב  $G_1$  ועד לתחילת המיטוזה. תפקידו העיקרי הוא למנוע הכפלה מיותרת של DNA בזמן שלב S.

על כל אזורי ה-Origin of replication קשור באופן קבוע קומפלקס הנקרא origin recognition complex (ORC). לפני ההכפלה מתחבר אליו CDC6 ליצירת קומפלקס Pre-RC. הקישור ויצירת הקומפלקס נועדו להבאת ההליקאז (MCM) לאזור ה-ORI, כאשר שלב זה מתרחש ב- $G_1$ . בשלב הזה נכנס S-CDK לפעולה, והוא מזרחן את CDC6 שיוצא מהגרעין ומתפרק ע"י SCF (מערכת לפירוק שמפרקת חלבונים מזרחנים). ההליקאז מתחיל את ההכפלה, והפוספט על גבי ה-ORC (נמצא שם כל עוד יש נוכחות של אחד ה-CDKs) מונע קשירה מחדש של CDC6 לאזור וכך הוא מונע הכפלה נוספת מאותו מקום. מי שדואג לפירוק של הציקלינים הוא ה-APC וברגע שהם מתפרקים, CDC6 מתחיל להצטבר והסיבוב מתחיל מחדש.

