

המחלקה להנדסה ביורפואית

הבסיס הפיזיקאלי בתהליכים ביו רפואיים

פרופ' משה פרג'י

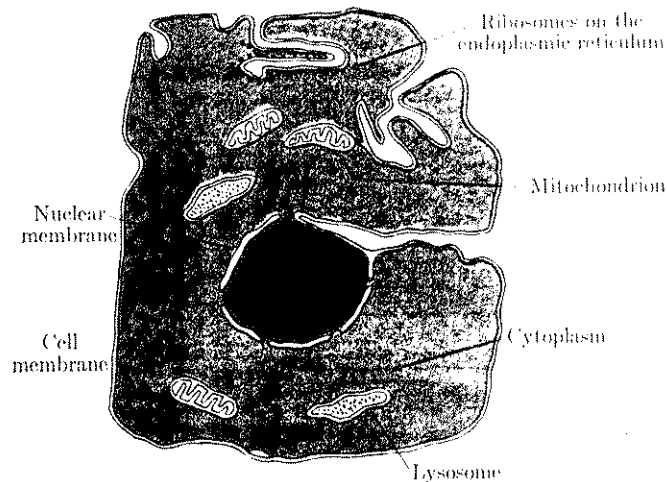
מבוא כימי-פיזיקלי לביוכימיה

במבוא זה ניסיתי להציג את נושא הביוכימיה בגישה כימית-פיזיקלית. החומר נלקח מתוך הספר של Mahan & Myers. "University Chemistry". המבוא מכיל את כל התופעות המולקולאריות הקשורות בתהליכי החיים, ולכן נושא עם השלכות, סיבוכים ואתגר גדולים. לכן, הביוכימיה כיום היא אחד הפרקים המעניינים ביותר ולכן גם נושא פעיל מאוד במחקר הכימי. בפרק זה נמצא שעקרונות הסטויכיומטריה, שיווי המשקל, חמצון-חיזור, קינטיקה ותרמודינמיקה כימית מאוד רלוונטיים לבעיות הביוכימיות. מאז 1960 שימושים בעקרונות ובטכניקות כימיות ופיזיקליות העשירו מאוד את הבנתנו בתהליכי החיים.

(1) התא.

למרות שעיקר עניינינו הוא בתופעות מולקולאריות הקשורות בתהליכי החיים, תיאור קצר של התא הביולוגי יעזור להבנת תופעות אלו. התא הוא היחידה הקטנה ביותר המסוגלת להשפיע ולבקר את המטבוליזם. את הפיכת האנרגיה ואחסונה, ואת הסינתזה המולקולארית. כדי להבין כיצד תהליכים כימיים אלו קשורים אחד בשני, נתאר את מבנה והרכב התא. כמה ממונחים אלו שנשתמש כאן לא יובנו במלואם בשלב זה, אבל נדון בהם בהמשך.

לתאים גדלים וצורות שונים, בצוור 1 מוצג באופן סכמטי המבנה הכללי והוא רלוונטי לעניינינו.



צוור 1. הצגה סכמטית של תא ובמרכזו גרעין התא.

צורת התא ספרית עם רדיוס של בערך 2×10^{-3} ס"מ, ומכאן שנפח התא הוא הערך 3×10^{-8} ס"מ³. שטח פני התא גדול יותר מאשר ספרה כדורית עם אותו רדיוס. הסיבה לכך היא שלממבראנה העוטפת את התא קיפולים רבים כפי שמודגם בצוור. כיוון שהחדרת מזון לתא וסילוק שפכים ממנו נעשה ע"י תהליכי דיפוזיה דרך הממבראנה היחס שטח-לנפח חשוב ביותר כי הוא קובע את המעבר פנימה והחוצה של התא והוא צריך גם להתקשר לתהליכים הכימיים המתרחשים בתוך התא.

התא מכיל כ 80% מים. בנוסף לכך מוצאים כ 14% פרוטאינים, 2% ליפידים (חומרים שומניים), 1% עמילן, 2% חומצה ריבונוקלאית (ribonucleic acid) ו 1% חומצה דהאוקסיריבונוקלאית (deoxyribonucleic acid). אחוזים אלו משתנים ותלויים בתפקוד התא. חומרים אחרים החשובים לתפקוד התא הם יוני נתרן ($[Na^+] \sim 0.02 M$) ויוני אשלגן ($[K^+] \sim 0.1 M$).

עובי הממבראנה בערך 10 nm והיא מקיפה את התא. בתאי בעלי חיים לממבראנה מבנה של "סנדוויטש" המורכבת משתי שכבות של ליפידים ופרוטאינים הקשורים אליהם. הממבראנות גמישות ומולקולות קטנות יכולות לחדור דרכן.

בתא מספר תת-מבנים. גרעין התא נפרד מהחלק המימי (הציטופלזמה cytoplasm) ע"י ממבראנה פרוטאינים דו-שכבתית חדירה. גרעין התא משמש כאתר אכסון וטרנסמיסייה של תכונות גנטיות. פיקוח

גנטי זה נשלט ע"י ה DNA (deoxyribonucleic acid). בטפל החומר זה מאוחזר יותר. מקובל לחשוב שהריסת גרעין התא תהרוס את התא כולו.

בתאים של בעלי חיים יש חלקיק הקרוי מיטוכונדרייה (mitochondria). לחלקיק זה מבנה של מוט ותפקידו לפרק שומנים, כחלק משרשרת התהליכים של המטבוליזם של קרבוהידרטים, ויצירת החומר עשיר האנרגיה אדנוזין טרי פוספט (adenosine triphosphate, ATP).

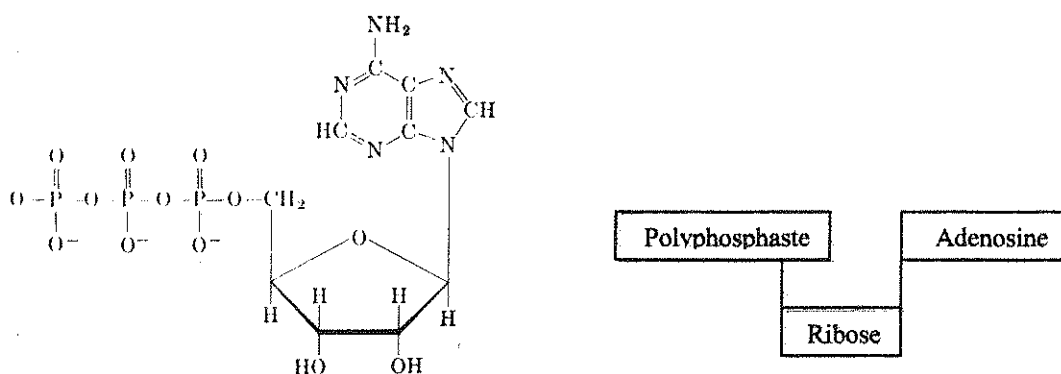
חלקיקים אחרים הם הליזוזומים (lysosomes). חלקיקים אלו מכילים אנזימים, קטליזטורים לפרוק מולקולות מורכבות בתא. אנזימים אלו מאפשרים לתא לעכל מולקולות גדולות וממבראנות.

התא מכיל אזור בעל מבנה מקופל ובעל מחילות ממבראניות הקרוי endoplasmic reticulum. לאזורים מסוימים של ממבראנה זו נקשרים חלקיקים ריבוזומים (ribosomes) בעלי מבנה גרגרי ובקוטר של כ 30 nm. גופים אלו מורכבים מפרוטאין ו RNA (ribonucleic acid). באתרים אלו מתקיימת סינתזה של פרוטאינים.

רואים שבתא יש אזורים בהם מתרחשים אירועים כימיים שונים של מטבוליזם, סינתוזות ומעבר חומר ואנרגיה. פעולת התא דורשת פעילות משולבת של מרכיבי התא וכל אחד ממרכיבי התא הוא עצמו מערכת כימית מורכבת. תפקיד הביוכימיה הוא לבנות להבין איך מערכות אלו פועלות וזאת ע"י לימוד המבנה והכימיה של החומצות השומניות, הפולי סוכרים, פרוטאינים, חומצות גרעין ומרכיבים אחרים של התא. רק הבנת כל המנגנונים הכימיים המתרחשים בתא נוכל לקוות להצליח לטפל באופן יעיל במחלות כגון סרטן, פרקינסון וכו'.

2) אנרגיה ביוכימית ו ATP.

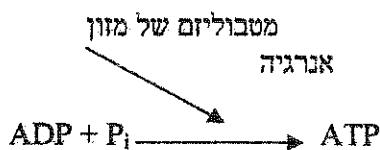
מסכמת מבנה ותפקוד התא (ציור 1) אפשר לראות שהתהליכים היוצרים האנרגיה (catabolic) מתרחשים באתרים הרחוקים מאותם אתרים בהם בדרך כלל יש תהליכים סינטטיים (anabolic) הצורכים אנרגיה. בנוסף לכך מרבית התהליכים יוצרי האנרגיה (מטבוליזם של מזון) מתרחשים בקצב איטי ובזמנים שונים לעומת התהליכים צורכי האנרגיה כמו פעולת השריר. אם האנרגיה המשתחררת בתהליכים המטבוליים אינה הופכת לחום ואובדת, צריכים לאגור אותה באנרגיה פנימית של מולקולות. למולקולות אלו צריכה להיות היכולת לעבור לאתרים צורכי האנרגיה בזמן וקצב רצויים. המולקולה המתפקדת כאוגרת אנרגיה ומשחררת אותה היא האדנוזין טריפוספט (adenosine triphosphate ATP). מבנה המולקולה נתון בציור 2.



ציור 2. מבנה ה ATP

מולקולה זו מורכבת משרשרת פוליפוספטית הקשורה בקשר אסטרי (הקשר הנוצר בין חומצה R-COOH) וכוחל (R-OH) אורגניים תוך כדי שחרור מולקולת מים) לסוכר ריבוז. הריבוז קשור במקום אחר לבסיס אדנין (אחד מארבעת הבסיסים המרכיבים את ה DNA). נוסף לכך המבנה בסיס-סוכר-פוספט חשוב כיוון שזוהי יחידה חשובה ביותר בחומצות גרעין (DNA RNA) ומספר גדול של מולקולות אחרות בעלות תפקיד בתהליכים מטבוליים וסינטטיים.

ה ATP נוצר בתהליך מטבולי של חמצון (oxidative metabolism) מהאדינן דיפוספאט (ADP) וזין פוספאט (P_i):



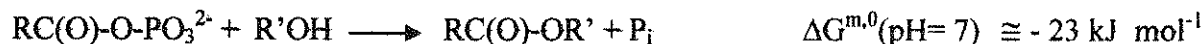
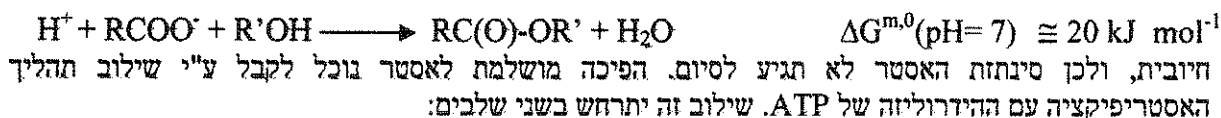
האנרגיה הדרושה להפיכת ADP ל ATP מקורה בתהליך המטבולי של מזון. אפשר לשחרר אנרגיה זו כאשר צריכים אותה ע"י ההידרוליזה של ATP:



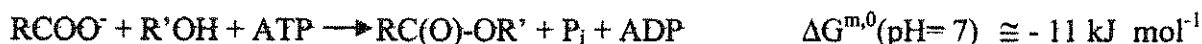
או ע"י ריאקציות אחרות בו עוברת קבוצה פוספאטית למולקולה אחרת.

קיימת תכונה חשובה אחרת של לתפקוד ה ATP. מהמשוואה ההידרוליזה רואים שה ATP בסביבה מימית אינה תרמודינאמית יציבה. יחד עם זאת ריאקציה זו איטית מאוד, וכן ה ATP קיבטית יציב. שחרור האנרגיה בריאקציה יתרחש אך ורק בנוכחות אנזים (קטליזאטור). ולכן תהליך שחרור האנרגיה מבוקר.

נביא דוגמא פשוטה המציגה כיצד משתמשים באנרגיה האצורה ב ATP. שינוי האנרגיה החופשית המולרית הסטנדרטית לריאקציה האסטרופיקציה:



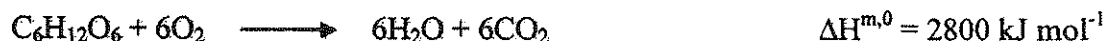
ולריאקציה הכוללת:



יש שינוי אנרגיה שלילי ולכן תגיע לסיומ. לכן נוכל להשתמש ב ATP הנוצר בריאקציה מטבולית אקסותרמית כדי לגרום לריאקציות של סינתזה או פרוק להן אנרגטיקה לא רצויה להתקיים עד סיומן. התופעה הכללית של שילוב של ריאקציות אנדו-אנרגטיות וריאקציות אקסו-אנרגטיות חשובה מאוד במערכות ביזכימיות כפי שנראה בפרק הבא.

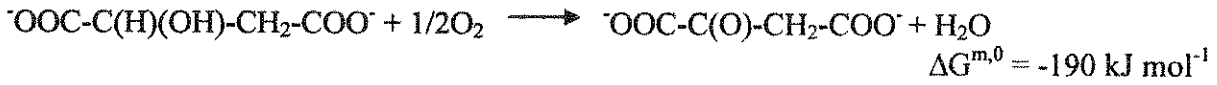
2.1 ריאקציות של חמצון-חיזור

בתא, חמצון מזון משחרר אנרגיה המשמשת בהמשך לסינתזה של מקרומולקולות, מעבר חומר ופעולת השריר. חמצון מושלם של מזון כמו גלוקוזה משחרר כמות עצומה של אנרגיה:

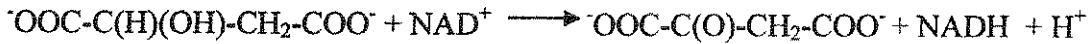


במערכות ביזכימיות חמצון של מולקולות מורכבות אינו מתרחש בשלב אחד. חמצון זה מתרחש בכמה שלבים (תריסר או יותר) כאשר בכל שלב מתפרק בפרוק עדין חלק אחר של המולקולה המורכבת למוצר בעל חמצון גבוה יותר, כאשר בסופם של התהליכים נוצרים CO₂ ומים. האנרגיה המשתחררת בחלק מתהליכים מטבוליים אלו משמשת באופן ישיר או עקיף להפיכת ADP ל ATP.

גם שלבי הביניים בשרשרת החמצון המטבולי אינם מגיבים עם חמצן. חמצן הוא מחמצן כל כך חזק שהאנרגיה שריאקציה זו משחררת אינה נשמרת באופן יעיל. למעשה אנרגיה זו תפגע כימית במוצרי הביניים והשרשרת המטבולית תיפסק. למשל חמצון ישיר ע"י חמצן של יון החומצה המלאית ע"י חמצן נותן את היון אקסלטו אצטט ומשחרר אנרגיה חופשית בשיעור של 190 kJ mol^{-1} .



ערך האנרגיה החופשית של ריאקציה זו גדול מאוד ולכן רובו יחבזו. לעומת זאת אם נשתמש במחמצן חלש יותר כמו הניקוטין אדנין דינוקלאוטיד ($\text{nicotine adenine dinucleotide, NAD}^+$) הנמצא במיטוכונדריון, ערך האנרגיה החופשית שתשתחרר תהיה הרבה יותר קטנה.



כיוון ש NAD^+ מחמצן חלש, צורתו המחוזרת NADH תתחמצן ע"י מחמצן קצת יותר חזק המצוי בתא, פלבין אדנין דינוקלאוטיד ($\text{flavin adenine dinucleotide FAD}$). בריאקציה זו הופך ה ADP ל ATP .

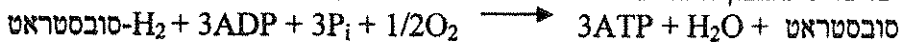


האנרגיה החופשית המשתחררת בתהליכי החמצון של ה NADH ותהליכי החיזור של ה FAD והיוצרת את המולקולה עשירת האנרגיה ATP נקראת חמצון פוספורילי ($\text{oxidative phosphorylation}$).

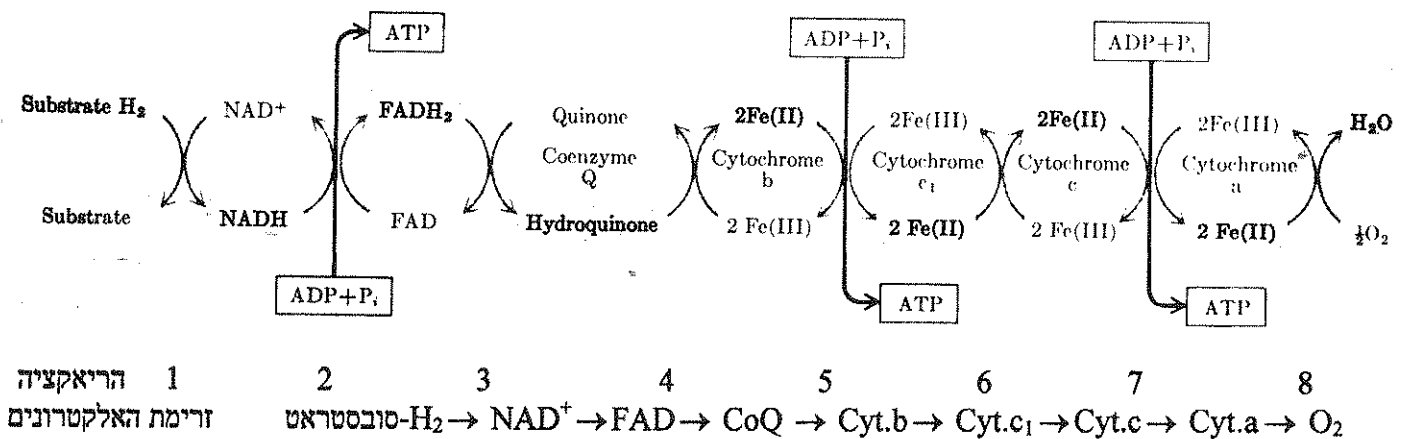
הצורה המחוזרת של ה FADH_2 מתחמצנת ע"י מחמצן חזק יותר מה FAD . שרשרת זו של תהליכי חמצון חיזור נמשכת במספר שלבים ובכל שלב מחמצן חזק יותר משתתף בריאקציה. חמצן מולקולארי נכנס לשרשרת רק בסופה.

ציור 3 מראה את כל שלבי הריאקציות של חמצון-חיזור המשלב את חמצון המזון עם חיזור חמצן מולקולארי. ארבע מזוגות החומרים המשתתפים בסכמה **ציטוכרומים** (cytochromes). אלה הם פרוטאינים בהם האתר הפעיל מורכב מיוני ברזל במצב חמצון +2 או +3 הקשורים לטבעת פורפירינית כקומפלקס אוקטהדרי כמודגם בציור 4. שינוי במבנה הטבעת הפורפירינית והליגנדים בעמדות 5 ו 6 משנה את פוטנציאל החמצון-חיזור של הציטוכרום.

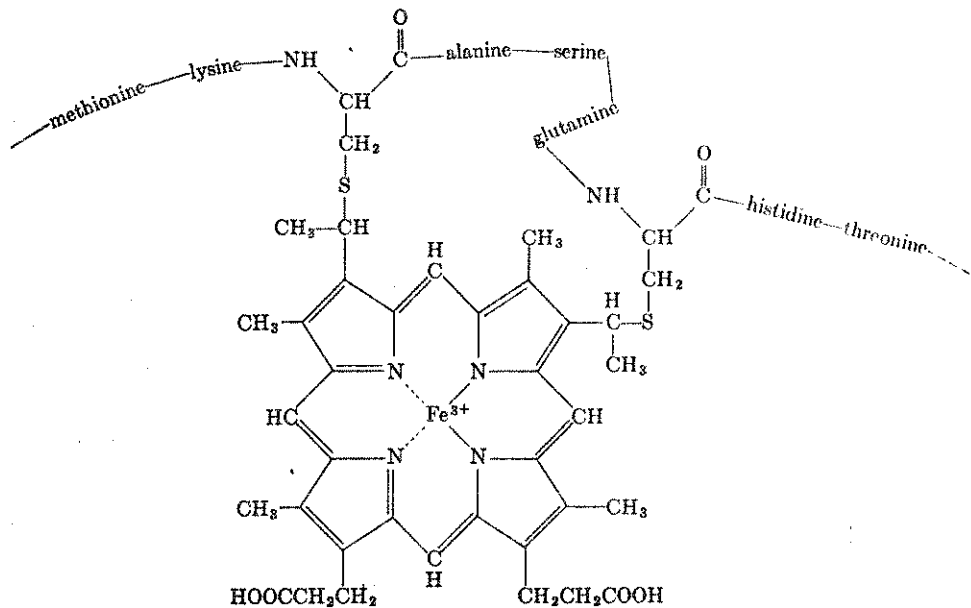
ציור 3, בשלושה שלבים של ריאקציות החמצון חיזור מתרחשת גם הפיכת ADP ו P_i ל ATP . מכאן עם שלבי תהליכי החמצון חיזור האנרגיה המשתחררת נאגרת כ ATP . חומרי הביניים NAD^+ , FAD והציטוכרומים אינם משתנים כימית. נוכל לסכם את שרשרת החמצון חיזור ע"י:



בהמשך הדיון בתהליכים מטבוליים, נראה מקרים נוספים של ריאקציות חמצון ע"י NAD^+ . חשוב לזכור שבמקרים אלו יכולים להוליד באמצעות הסכמה בציור 3 לחיזור חמצן וליצירת ATP .



ציור 3. פוספורילציה של חמצון, התהליך בו חומרי מזון מתחמצנים ומעבר האלקטרון שלהם לחמצן עם יצירת ATP .



ציור 4. מבנה חלקי של הפרוטאין של cytochromes c המראה את הקומפלקס Fe(III) עם הטבעת הפורפירינית. טבעת זו קשורה גם לשרשרת הפוליפפטידית של הפרוטאין.

חשוב להדגיש שגם שרשרת האירועים המובאת בציור 3 היא תמונה איכותית מאוד של השלבים השונים. סכמה זו נותנת תמונה כמותית טובה של התרמודינאמיקה של השלבים. יחד עם זאת חייבים להדגיש שקינטית זו רק סכמה ולו רק בגלל העובדה שבכל אחד משלבי התהליך יש מעבר של שני אלקטרונים ויותר בשעה שאנו יודעים שתהליכי מעבר אלקטרון הם תהליכים מוגו-אלקטרוניים. לכן, הסכמה אינה מבטאת קינטית את התהליכים האמיתיים המשמתיים בתהליכי התמצון.

(3) ליפידים.

ליפידים הם סדרה של חומרי התא שאינם מסיסים במים אבל ניתנים למיצוי מהתא ע"י ממיסים אורגאניים כגון אתר, בנזן וכלורופורם. לכן, הגדרה זו מכילה מספר רב של מולקולות שנכון יהיה לומר שהמבנה והפעילות שלהם אינם דומים. חלק גדול של הליפידים שמוצו מכילים תרכובות שבהידרוליזה יתנו שרשראות ארוכות של חומצות אליפטיות (וללא טבעות ארומאטיות) הנקראות חומצות שומניות. חומצות שומניות מתחלקות לשניים:

(א) ליפידים פשוטים. קבוצה זו כוללת שומנים (fats) שהם אסטרים של חומצות שומניות עם גליצרול $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$, ושעוות (waxes) בהם חומצות השומניות עוברות אסטרופיקציה עם כהלים בעלי משקל מולקולארי גבוה.

(ב) תרכובות ליפידיות. הכוללים אסטרים של חומצות שומניות וסוכר ומולקולות בהם הגליצרול עבר אסטרופיקציה עם חומצה שומנית וחומצה פוספורית.

חומצות שומניות הן חומצות קרבוקסיליות RCOOH בעלות משקל מולקולארי גבוה בו הקבוצה האלקילית R יכולה להיות רוויה בלתי-רוויה, ציקלית או מסועפת. חומצות בהן R הוא לא מסועף ושרשרת פתוחה הן הנפוצות ביותר. מרבית החומצות השומניות הטבעיות, נמצא מספר לא-זוגי של אטומי פחמן. הרשימה בטבלא 1 נותנת את החומצות השומניות העיקריות ואת מקורן. החומצה השומנית הרוויה הנפוצה ביותר היא החומצה הפלמיטית (palmitic, C_{16}) ואחריה הסטאירית (stearic, C_{18}). החומצה השומנית הלא-רוויה היא האולאית (C_{18}) לה המבנה:



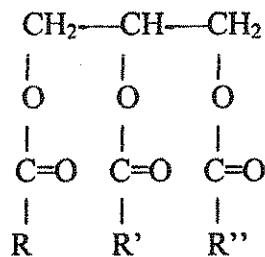
נוכחות הקשר הכפול במולקולה מאפשרת קיום איזומריה ציס-טרנס. האיזומר ציס הוא המצוי בחומצות טבעיות.

טבלא 1. כמה חומצות שומניות המצויות בטבע.

שם	נוסחא כימית	מקור טבעי
Butyric	C_3H_7COOH	חמאה
Palmitic	$C_{15}H_{31}COOH$	שמן דקלים
Stearic	$C_{17}H_{35}COOH$	שומן כבשים
Palmitoleic	$C_{15}H_{29}COOH$	חמאה
Oleic	$C_{17}H_{33}COOH$	שמן זית
Linoleic	$C_{17}H_{31}COOH$	שמן סויה
Linolenic	$C_{17}H_{31}COOH$	שמן פשתן

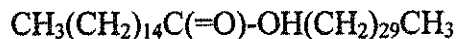
3.1 ליפידים פשוטים.

כ 10% של משקלו של יונק מצוי בצורת שומנים שהם אסטרים טריגליצרילים של חומצות שומניות. הנוסחא הכימית הכללית של תרכובות אלו הן:



כאשר שלשת הקבוצות $\text{R}-\text{C}(=\text{O})$ מאפיינות שיירים של חומצות שומניות שיכולות להיות זהות או שונות. לטריגליצרידים של חומצות רוויות טמפרטורת היתוך גבוהה יותר מאשר לאלה של חומצות לא רוויות. לבעלי חיים שומנים העשירים יותר בטריגליצרידים רוויים, ולכן הם מוצקים בטמפרטורת החדר. שומנים צמחיים כמו שמן תירס עשירים יותר ב טריגליצרידים לא-רוויים, ולכן נוזלים בטמפרטורת החדר. לעיתים קרובות שומנים נוזליים אלו הידרוגנציה כדי להופכם לשומנים מוצקים.

גם שעוות הם אסטרים של חומצות שומניות, הכולל בתרכובות אלו בעל שרשרת ארוכה של כהל אליפטי ראשוני או משני. כך למשל, שעוות-דבורים עשירה מאוד באסטר של חומצה פלמיטית עם כהל מריצילי (mericyl):



3.2 תפקיד הליפידים

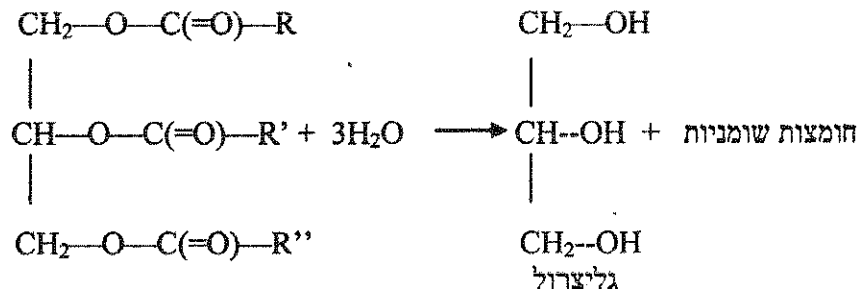
כמו שנאמרו בסעיף 1, ליפידים נמצאים בממבראנת התא. שכבת הליפידים משמשת כגורם סלקטיבי ובקרה למעבר חומר אל התא ומהתא. מולקולות הנמסות בממסות אורגאניים יעברו דרך השכבה הליפידית של הממבראנה. מולקולות המסיסות במים אינן יכולות לעבור דיפוזיה דרך שכבה זו. מולקולות אלו צריכות להיכנס או לצאת מהתא ע"י יצירת קשר בינם לבין חומרים המסיסים בליפידים, או ע"י חדירה דרך נקבים (pores) בממבראנה. גם לנקבים אלו היכולת לבקר, מבחינת הגודל והמטען, את מהות החומרים המסוגלים לעבור את הממבראנה.

דוגמא, במחקר הנעשה במסגרת המחלקה הביורפואית מחזירים לתוך תאים סרטניים קומפלקס מסיס במים של פורפירין ומתכת מעבר. מסתבר, לאחר שנים של מחקר, שחדירת חומרים לתאים סרטניים יעילה יותר מאשר לתאים לא-סרטניים (ביחס של 3:1). הסיבה הכימית לכך אינה ברורה אבל זוהי עובדה. במחקר שלנו הסתבר שיחס החדירה הייה 10:1 לטובת התאים הסרטניים. ההסבר שנתנו לתופעה זו קשור לכמות המים המתלווה לפורפירין. לקומפלקס שלנו מטען של +5 והוא מסוגל לקשור אליו כמות גדולה של מולקולות מים וע"י כך להקל על חדירת הקומפלקס לתא הסרטני.

ליפידים הם המרכיב של הרקמה המכילה תאים שומניים, רקמה זו מבודדת בבעלי חיים עם דם-חם כנגד סביבה נמוכת טמפרטורה. בצמחים שעווה משמשת כמגן שטח העלים והגבעולים כנגד מים או כנגד התקפת חרקים ובקטריות.

התפקיד העיקרי של השומנים הוא לשמש כמקור עיקרי ויעיל של אנרגיה. שריפת גרם אחד של שומן משחררת בערך 38 kJ, ערך זה גדול בהרבה מהערך המתקבל עבור גרם אחד של פרוטאין (17 kJ) ועבור גרם אחד של קרבוהידרטים (סוכר למשל), בערך 18 kJ g^{-1} . הסיבה לכך היא שהשומנים מורכבים בעיקר מהידרוקרבונים, לעומת זאת בפרוטאונים ובמינרלים השלד האורגני בחלקו מחומצן.

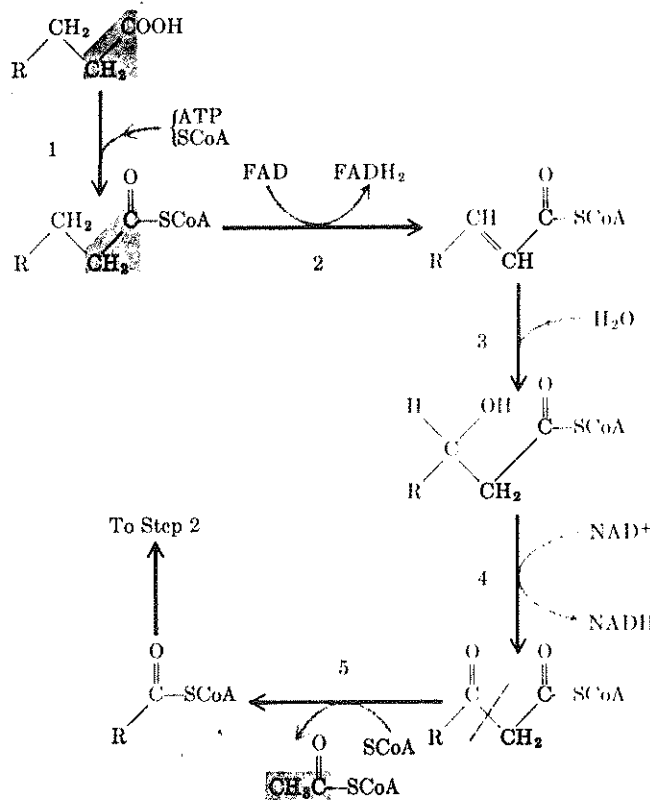
השלב הראשון במטבוליזם של שומנים הוא ההידרוליזה של הטריגליצרידים לגליצרול וחומצות שומניות:



אנזימים מסיסים במים מהסוג של ליפז (lipase) או של אסטרו (esterases) משמשים כקטליזטורים לריאקציה זו. הליפידים שאינם מסיסים במים יוצרים אמולסיה עם חומצות המרה (bile acids), וההידרוליזה הנעשית ע"י האנזימים המסיסים במים מתרחשת בפאזה (אינטרפאזה) שבין הליפיד והנוזל המימי. מוצרי ההידרוליזה מעוברים לתוך התא בו הם עוברים חמצון מטבולי. הגליצרול עובר בתהליך מטבולי של קרבוהידרטים עליהם נעמוד מאוחר יותר. החומצות, שהם המקור העיקרי לאנרגיה, מתחמצנים בתהליך רב-שלבי עליו נעמוד מיד.

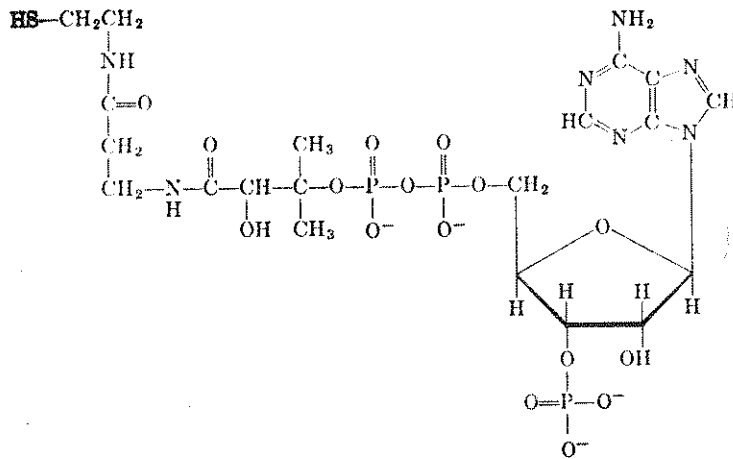
3.3 חמצון חומצות שומניות.

השלב הראשון בתהליך הרב-שלבי של חמצון החומצות השומניות הוא קיצוץ באופן סיסטמטי ושוטף בשני אטומים של פחמן בסדרה של ריאקציות כימיות כפי שנתון באופן סכמטי בציור 5.



ציור 5. קצף של שלבים בהם החומצה השומנית מתקצרת בשתי יחידות פחמן. הקבוצות הקרבוקסיליות ופחמן α -יוצאות כמולקולת acetyl-SCoA ועוברות חמצון נוסף. שארית החומצה נכנסת שנית למעגל הקיצוץ.

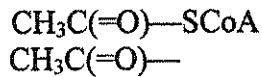
מולקולת המפתח בסכמת מעגל הקיצור הציקלי נקראת קואנזים A (SCoA או Coenzyme A), מולקולה שהמבנה שלה נתון הציור 6.



ציור 6. מבנה הקואנזים A. נסים לב לקבוצת ה SH הקושרת את הקבוצה R—CO—בחומצה.

נשים לב שחלק ממולקולה זו מורכב מאדנין, ריבוז (סוכר) ושרשרת פוליפוספטית צרוף שמאצנו ב ADP, NAD, ו FAD. אבל, הקבוצה החשובה במולקולה זו היא הקוצת ה SH (sulfhydryl). בשלב הראשון של קיצור החומצה השומנית נוצר קשר תיואסטר (thioester), אנלוג המכיל גופרית של אסטר רגיל, בין ה CoA והחומצה השומנית. ריאקציה זו קשורה גם להפיכת ATP ל ADP.

בשלב השני לתהליך ההתקצרות, השייר החומצי בתיואסטר מתחמצן או עובר דהידרוגנציה ע"י FAD בעמדה הקרובה לקבוצת הקרבניל (C=O). ה FADH₂ הנוצר בתהליך דהידרוגנציה מתחמצן ע"י חמצן דרך שורה של ריאקציות עם סריית הציטוכרום עם יצירה של ATP. בשלב השלישי הקשר הכפול עובר הידרטציה קטליטית לכוהל העובר בשלב הרביעי חמצון נוסף לקטון (ketone) ע"י NAD⁺. בשלב החמישי, הקטון נשבר באופן אנזימטי בקשר המצוין, עם הכנסת מולקולה נוספת של SCoA. בשלב זה קבלנו שני תיואסטרים. האחד, אצטיל קואנזים A (acetyl CoA) שנוסחתו הכימית היא:



המכילה את הקבוצה האצטילית

שמקורה בשני אטומי הפחמן הראשונים של החומצה השומנית.

התיואסטר השני נקרא אציל קואנזים A (acyl CoA) שנוסחתו הכימית היא R'C(=O)—ScoA והמכיל את שרשרת החומצה השומנית שקוצרה בשני אטומי פחמן. תיואסטר זה מוכן לעבור תהליך קיצור נוסף, וכן הלאה. בסיכום, בכל תהליך ההתקצרות מוצאים שני אטומים של פחמן ונוצרת מולקולה אחת של אציל קואנזים A.

האצטיל קואנזים A הנוצר מתחמצן ל CO₂ במעגל קרבס לחומצה ציטרית (Krebs citric acid cycle). בשלבים אלו רוב האנרגיה הקשורה למטבוליזם משתחררת או נאגרת כ ATP. מעגל קרבס אחראי גם לחמצון אצטיל קואנזים A הנוצר מפרוק קרבוהידרטים עליו נדון מאוחר יותר. חושב שדרך הפרוק וחמצון קרבס, מול אחד של חומצה שומנית C₁₆ יוצרת 130 מול של ATP. אנרגיה מאוחסנת זו היא 45% מכלל האנרגיה המתקבלת מפרוק החומצה C₁₆, שאר האנרגיה מתפזרת כחום.

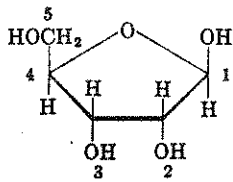
4 קרבוהידרטים

קרבוהידרטים מקום מרכזי בכימיה של תהליכי החיים. הם נוצרים בצמחים ע"י תהליך הפוטוסינתזה, ומכאן הם המוצר העיקרי הנוצר ממולקולות לא-אורגניות ואנרגית השמש. הקרבוהידרט צלולוזה, פולימר עם יחידות של גלוקוזה ובעל משקל מולקולארי גבוה הוא המרכיב העיקרי בצמחים. בבעלי חיים, המטבוליזם של הקרבוהידרטים הוא מקור חשוב לאנרגיה. חומצות הגרעין DNA ו RNA השולטים על התהליך הגנטי בתא הם פולימרים בהם בקבוצה המרכיבה את הפולימר מכילה מולקולת סוכר, ומכאן קרבתם לקרבוהידרטים.

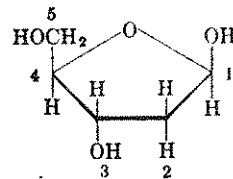
כימית, קרבוהידרטים מוגדרים כפולי-הידרוקסי-אלדהידים או פולי-הידרוקסי-קטונים ונוסחתם האמפירית היא $C_nH_{2n}O_n$. המולקולות הפשוטות של הקרבוהידרטים ביותר נקראים מונוסכרידים (monosaccharides), ואם הערך n שווה 5 או 8 טעם המולקולות מתוק. מולקולות בהן שתיים עד עשר יחידות מונוסכריד נקראות אוליגוסכרידים (oligosaccharides), פוליסכריד הוא פולימר המכיל כמה אלפים של יחידות של מונוסכריד.

4.1 מונוסכרידים.

המונוסכרידים החשובים ביותר הם מולקולות סוכר המכילים חמש או שש אטומים של פחמן והנקראים בהתאמה פנטוזה (pentose) או הקסוזה (hexose). ישנם כמה דרכים לרשום את מבנה מולקולות אלו. הסוכר בעל חמישה אטומי פחמן, D-ribose, ו D-2-deoxyribose המצויים בחומצות הגרעין ניתנים כאן במבנה של טבעת מחומשת:



D-ribose

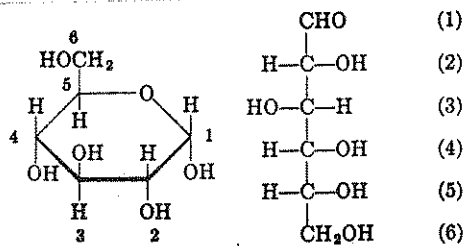


D-2-deoxyribose

הסתכלות על שתי מולקולות אלו מראה שיש בהן אטומי פחמן לא סימטריים ומשמעותם קיום איזומרים. מחקרים בחומרי טבע, סוכרים וחומצות אמיניות, הראו שקיימים מולקולות המסוגלות לטובב את המישור של אור פולארי כאשר הוא עובר דרכן. אלא שלמבנה התלת ממדי של שני האיזומרים מצטרפת תכונה נוספת: הן תמונת-ראי של אחת כלפי השנייה. הוחלט שאם המולקולה מסובבת את מישור האור הפולארי ימינה סימנה יהיה D ואם הסיבוב שמאלה הסימן יהיה L. למולקולות הסוכר שמקורן בטבע יש בדרך כלל איזומרים מסוג D.

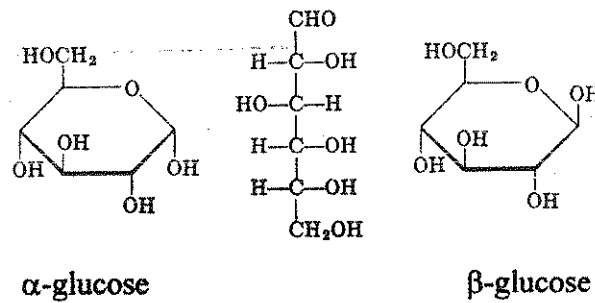
במבנים של הסוכרים יש אטומים של פחמן בפסגות הטבעת מלבד בעמדה בו מצוי אטום חמצן. חשוב לציין את המבנה המרחבי של קבוצות ה OH במבנים אלו. הטבעת המחומשת פלנרית (משורית), ובשתי המולקולות כל קבוצות ה OH הקשורות לאטומי הפחמן בטבעת נמצאים מתחת למישור הטבעת, בשעה שקבוצת ה CH_2OH נמצאת מעל המישור.

סוכר חופשי נמצא בשיווי משקל בין המבנה הטבעתי והמבנה הפתוח. כך למשל D-glucose היחידה המרכיבה את העמילן יכולה להתקיים בשתי צורות:



D-glucose

במבנה הפתוח, הקבוצה הפונקציונאלית היא אלדהיד. כאשר הגלוקוזה מקבלת את מבנה הטבעת, קבוצת ההידרוקסיל של פחמן 5 נקשר לפחמן של האלדהיד, יוצר את הטבעת, והופך את חמצן האלדהיד לקבוצת OH. האוריינטציה של קבוצת ה OH בפחמן 1 במבנה הטבעתי חשוב ביותר. במידה וקבוצה זו בפחמן 1 ופחמן 4 נמצאים באותו כוון (מתחת למישור הטבעת) מולקולה זו נקראת α -glucose. מולקולה בשתי קבוצות OH אלו נמצאים בצדדים שונים (אחד מתחת והשני מעל) נקראת β -glucose. ניתן להפוך מבנה אחד לשני דרך פתיחת הטבעת למבנה הפתוח וסגירתה מחדש.



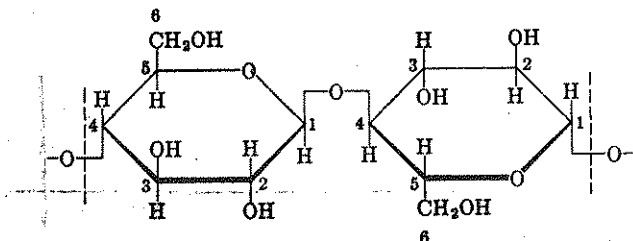
עמילן הוא פולימר של α -glucose, בשעה שצלוזזה הוא פולימר של β -glucose. בהמשך נראה מדוע אנחנו מסוגלים לעכל עמילן ולא צלוזזה.

4.2 פוליסכרידים

שלושת הפוליסכרידים החשובים ביותר הם: העמילן, צלוזזה וגליקוגן. עמילן הוא מזון הנוצר בצמחים, צלוזזה היא חומר מבנה בצמחיה, וגליקוגן היא הצורה בה הגלוקוזה מאוחסנת בתאי בעלי-חיים. חומרים אלו הם פולימרים של גלוקוזה, הם שונים אחד מהשני במשקל מולקולארי, מהות הקשר הכימי בין מולקולות הגלוקוזה, ודרגת הפיצול בשרשרת הפולימר.

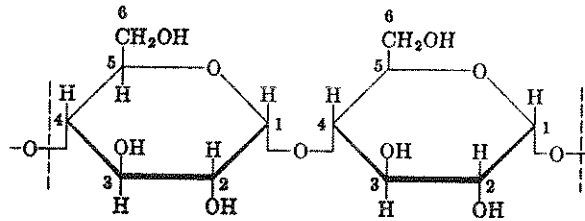
צלוזזה היא פולימר בעל שרשרת ארוכה של 3000 עד 4000 יחידות גלוקוזה. כותנה למשל מורכבת מ 90% צלוזזה. חוזק הסיב של כותנה וחומרים צמחיים אחרים נובע מהמבנה ארוך-השרשרת של מולקולות הצלוזזה.

ציור 7 מראה חלק ממבנה הצלוזזה. רואים בציור זה ששתי יחידות צמודות של גלוקוזה מחוברות דרך גשר חמצן בין הפחמנים 1 ו 4. גשר זה נקרא חיבור גליקוזידי (glycosidic linkage). בנוסף לכך רואים שבכול צמד, לפחמן-1 יש קונפיגורציות β , ולכן לצלוזזה יש מבנה של β -glycosidic linkage. אנזימים המצויים בגוף האדם יכולים לפרק פולימרים עם מבנה של α -glycosidic linkage הם אינם יכולים לעשות זאת עם פולימרים עם מבנה β -glycosidic linkage המצוי בצלוזזה; ולכן בני אדם אינם מעכלים צלוזזה. לבעלי חיים אוכלי עשב יש במערכת העיכול מיקרו-אורגניזם להם אנזימים המסוגלים לפרק צלוזזה לגלוקוזה; לכן לבעלי-חיים אלו יכולים להשתמש בצלוזזה כמזון.



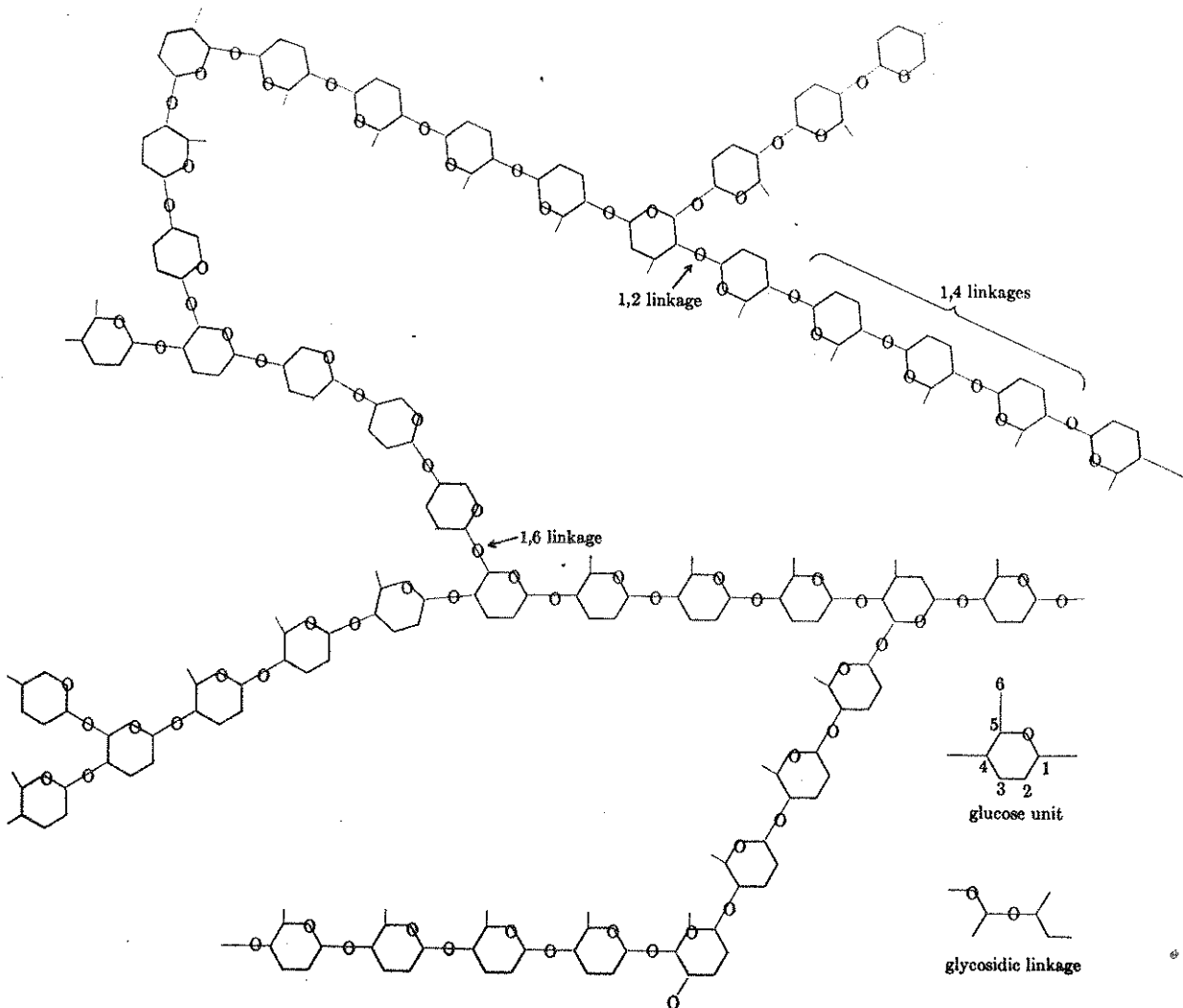
ציור 7. חלק משרשרת הצלוזזה עם הקשר β -glycosidic בין הפחמנים 1 ו 4 בשתי טבעות צמודות.

ציור 8 מדגים את הקשר ב גלוקוזה בהם מחוברים יחידות העמילן ע"י הקשר α -glycosidic link בין הפחמנים 1 ו 4 בטבעות צמודות. הידרוליזה של קשר זה נעשית ע"י אנזימים המצויים ברוק ובפנקריאס ולכן עמילן משמש מזון לבני-אדם.



ציור 8. חלק משרשרת העמילן עם הקשר α -glycosidic בין הפחמנים 1 ו 4 בשתי טבעות צמודות.

בטבע שתי צורות למולקולות העמילן. המרכיב האחד היא שרשרת לא-מסועפת התופסת כ 10 עד 20% והנקראת אמילוז (amylose). המרכיב השני הקרוי אמילופקטין (amylopectin) הוא פולימר מסועף בהם רוב המונומרים מחוברים בקשר 1:4 כאשר ההיסטעפות מתרחשת בקשר 1:6 כפי שהדבר מודגם בציור 9. הפולימר הליניארי אמילוז מסיס במים חמים, אמילופקטין אינו מסיס שתי הצורות עשירות אנרגיה ומשמשות ישירות מזון לבני-אדם.



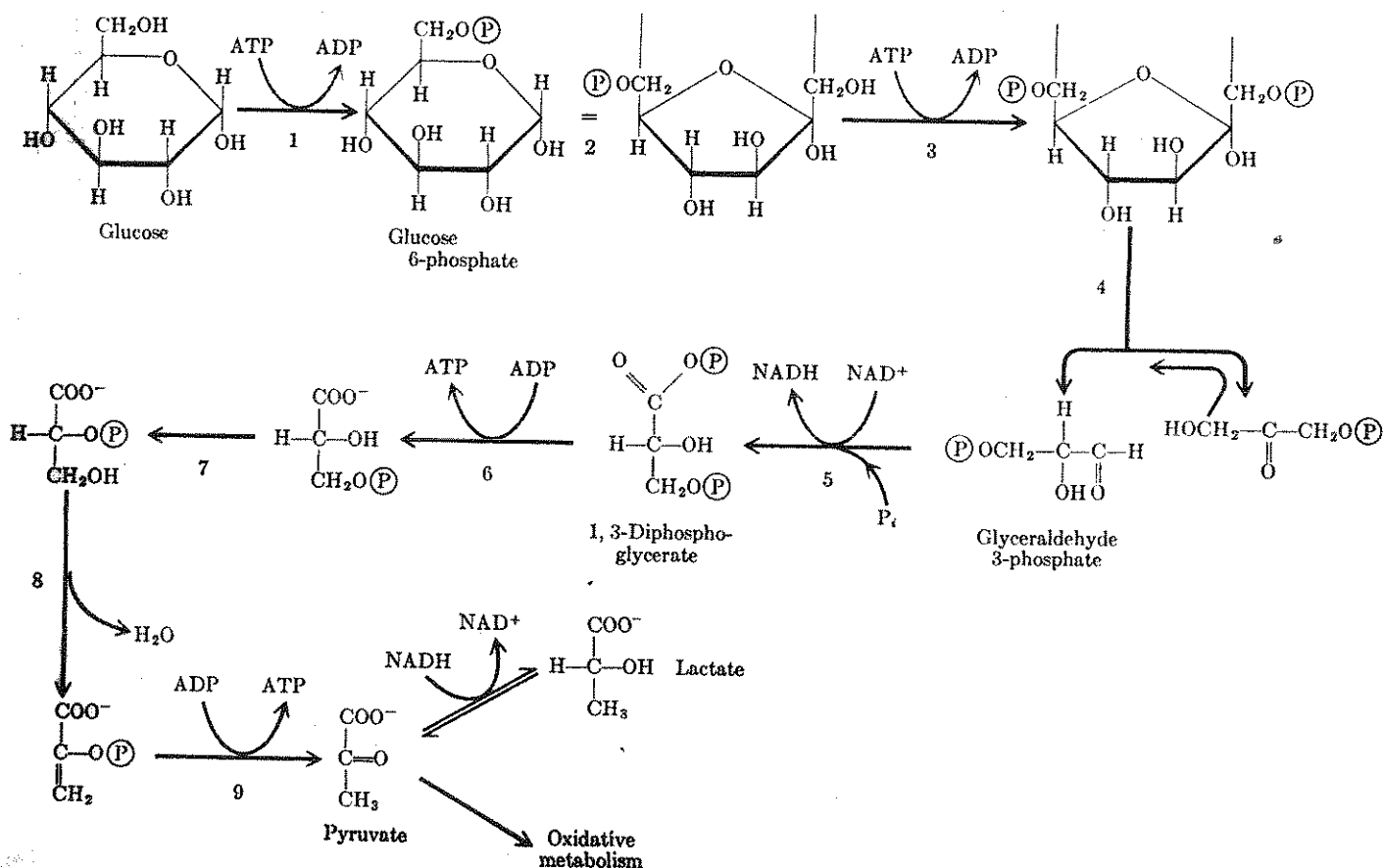
ציור 9. הצגת קטע של מבנה האמילוז

גליקוגן מצוי ברקמות של בעלי-חיים ודומה לאמילופקטין שמוצאים בצמחיה. כמו האמילופקטין גליקוגן פולימר של גלוקוזה עם הקשר 1-4- α -glycosidic linkage והסתעפות מרובה בקשרים 1:6. המשקל המולקולארי של הגליקוגן נע בין 1×10^5 עד 10^8 . כאמור הגליקוגן מצוי ברקמות של בעלי-חיים אך הוא נאגר בכבד.

4.3 מטבוליזם של קרבوهידרטים

השלב הראשון ההכרחי בשימוש בפוליסכרידים כמקור אנרגיה היא הידרוליזה אנזימטית של עמילן או גליקוגן כדי ליצור מולקולות גלוקוזה (סוכר) חופשיות. מולקולות הגלוקוזה מתפרקות ומתחמצנות בשני שלבים עיקריים. במסלול הגלקוליטי לפי אמבדן-מיירהוף (**Embden-Meyerhof glycolytic pathway**), גלוקוזה הופכת במספר שלבים לשתי מולקולות של יון הפירוואט CH_3COCO^- (pyruvate ion). פרוק זה נעשה ללא השתתפות חמצן (אנאירובי, anaerobically). יוני הפירוואט עוברים למעגל קרבס לחומצה ציתרית שמוצריה הסופיים הם: ATP , H_2O , CO_2 . המחמצנים המשתתפים באופן ישיר במעגל קרבס מתחמצנים ע"י שרשרת של צמדי חמצון-חיזור כאשר המחמצן הסופי הוא חמצן מולקולארי.

ציור 10 מציג את המאפיינים העיקריים של המסלול הגלקוליטי לפי אמבדן-מיירהוף. הגלוקוזה הופכת לאסטר של פוספט ע"י ATP ועוברת איזומריזציה אנזימטית לטבעת מחומשת. פוספט נוסף מתקבל מ ATP שני. הדי-פוספט המתקבל מתפרק לשני שברים של שלושה אטומי פחמן ההופכים ל 1,3-diphosphoglycerate. מולקולה זו מאבדת קבוצת פוספט אחת והופכת מולקולה אחת של ADP ל ATP . אחרי איזומריזציה ודהידרטציה, הקבוצה השנייה של פוספט משתחררת ומולקולה נוספת של ATP נוצרת. התוצר, יון הפירוואט מוכן לעבור למעגל החמצון של קרבס.

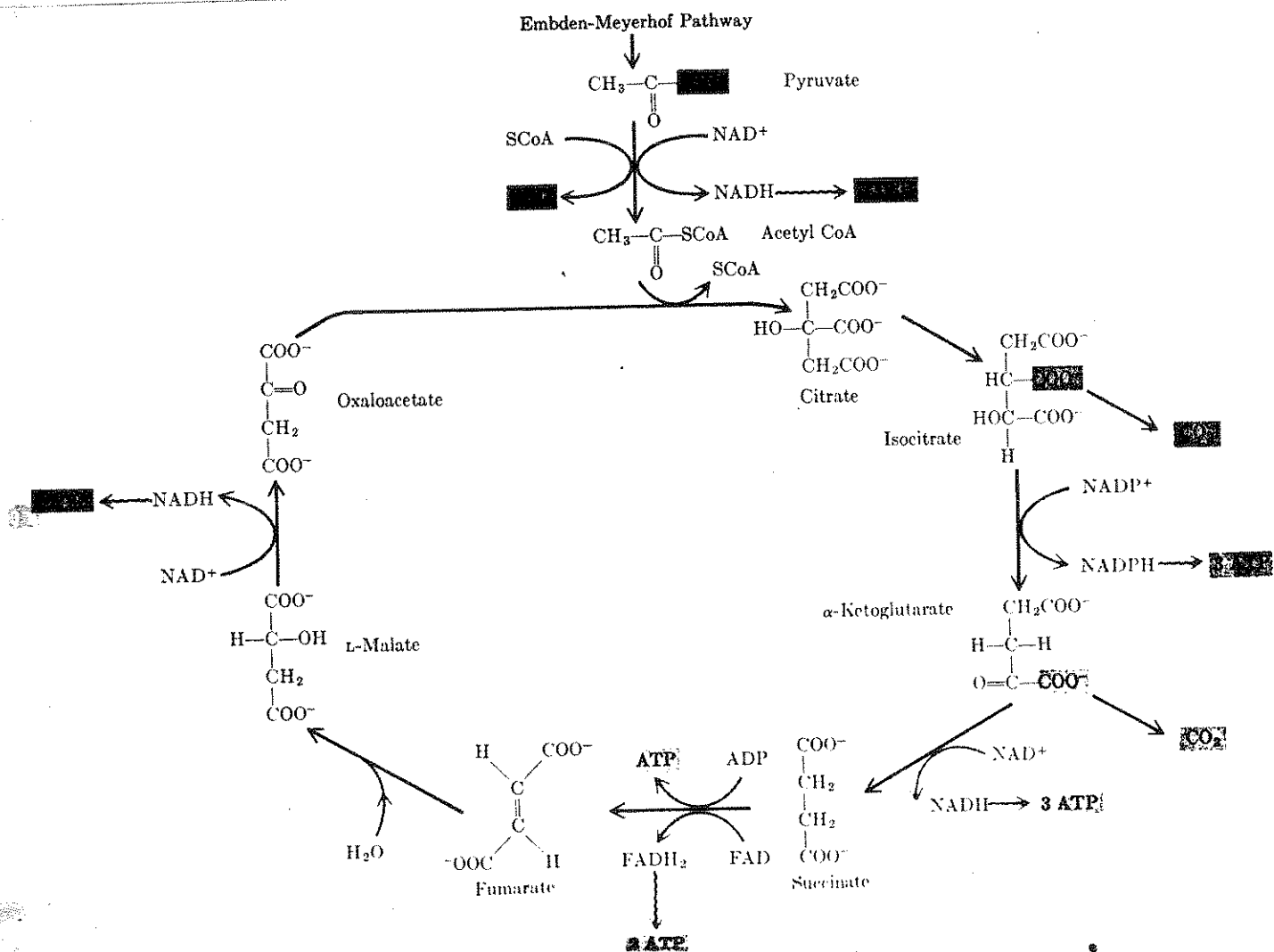


ציור 10. המסלול הגלקוליטי לפי אמבדן-מיירהוף. P מסמן את קבוצת הפוספט PO_3H .

במסלול הגליקוליטי לפי אמבדן-מייירהוף יש שתי ריאקציות של חמצון חיזור. בשלב 5, NAD^+ הוא המחמצן ונוצר NADH . במסלול זה יש יצירה נוספת של ATP . בשלבים 1 ו 3 שני מולים של ATP מגיבים עם מול אחד של גלוקוזה, אבל בשלבים 6 ו 9 נוצרים שני מולים של ATP לשני השברים של שלוש אטומי הפחמן, או ארבעה מולים של ATP למול אחד של גלוקוזה. מכאן שלתהליך הפרוק של גלוקוזה מתלווה יצירה נוספת של המולקולה עשירת-האנרגיה ATP .

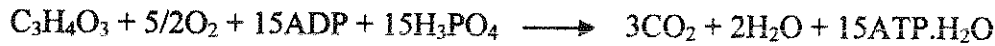
ציור 11 מתאר את מעגל קרבס לחומצה ציטרית. מעגל זה הופך את מוצרי התהליך הגליקוליטי ל CO_2 ומים. זהו גם המסלול בו שברים של חומצות שומניות מתחמצנות. זהו לכן מעגל חשוב ביותר לסכמה המטבולית.

החומצה הפירוויק נכנסת למעגל קרבס ע"י הפסד של CO_2 והופכת לקבוצת אצטיל CH_3CO הקשורה לגופרית של ה CoA (acetyl-CoA). החמצון המתבקש בשלב זה מושפע ע"י NAD^+ אשר, כפי שראינו קודם מתחמצן מחדש יחד עם יצירה של שלוש מולקולות ATP . ה acetyl-CoA, שנוצר גם בתהליך של פרוק חומצות שומניות, מעביר את קבוצת האצטיל ל oxalacetate ויוצר ציטרט (citrate). מכאן ממשיך התהליך בשתי ריאקציות, האחת הוצאת מולקולת מים (dehydration) והשנייה הכנסת מולקולת מים (hydration), הופכת את הציטרט לאיזוציטרט. חמצון ע"י NADP^+ , האסטר הפוספאטי של NAD^+ , משחרר CO_2 ומוביל ליצירת שלוש מולקולות של ATP ויוצר את α -ketoglutarate. חמצון נוסף, הפעם עם NAD^+ ובעזרת CoA , משחרר מולקולת CO_2 נוספת ויוצרת את יון ה succinate. בשלב זה, השבר בעל שני אטומי פחמן שנכנס לתהליך כקבוצת אצטיל חומצן ל CO_2 . השלבים הנותרים במעגל משמשים ליצירה מחודשת של oxaloacetate ממנו התחיל המעגל. ה succinate מפסיד מולקולת מימן והופך ל fumarate, מוספת מים נותנת maleate וחמצונה ע"י NAD^+ יוצרת את החומצה ה oxaloacetic ממנה המעגל מתחיל.



ציור 11. המעגל של קרבס לחומצה ציטרית. האנזימים הקטליטיים של ריאקציות אלו נמצאים במיטוכונדריה.

לכל קבוצת אצטיל הנכנסת למעגל קרבס, נוצרות 12 מולקולות של ATP. בנוסף לכך, שלוש מולקולות של ATP ומולקולה אחת של CO₂ נוצרות בהפיכת החומצה הפירוית ל CoA. מכאן, הריאקציה הכוללת של חמצון הקרבוהידרטים היא:



החמצן נכנס באופן בלתי ישיר דרך המחמצנים NAD⁺, NADP⁺ ו FAD.

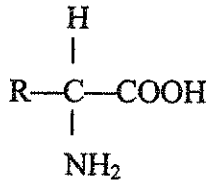
5) פרוטאינים

- לדעתך, המרכיב החשוב ביותר בתא הם הפרוטאינים, אולי בגלל התפקידים הרבים שהם ממלאים בתיפקוד התא:
- מולקולות האנזימים, קטליזטורים ספציפיים להרבה ריאקציות סינתזה ופרוק של מעגל החיים.
 - מרבית ההורמונים, חומרי ויסות בתא, הם פרוטאינים
 - פרוטאינים הם חלק ממרכיבי הממבראנות (בתוכן ועל פני השטח).
 - משמשים כגופי-נגד antibodies להתקפה חיצונית על התא.
 - משמשים כנושאי חמצן בדם.
 - אחד ממרכיבי הכרומוזומים.

לכן, יצירה ויסות ופרודוקציה של תאים נשלטים ע"י פרוטאינים.

5.1 חומצות אמיניות

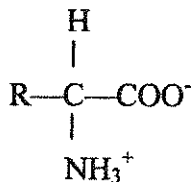
פרוטאינים הם פולימרים של חומצות אמיניות-α. לחומצות אלו המבנה הכללי:



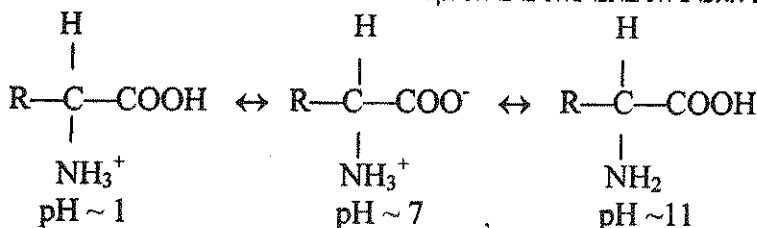
כאשר הקבוצה האמינית (NH₂) והרדיקל R קשורים לאטום הפחמן הראשון או הפחמן-α הרחוקים מהקבוצה הקרבוקסילית (COOH). בפרוטאינים ישנם 20 חומצות אמיניות והתכונות חומצות אלו מוכתבות ע"י הקבוצה R. התכונות המיוחדות של פרוטאינים שונים הם תוצאה של מספר, השוני, רצף החומצות האמיניות המרכיבות את שרשרת הפולימר, והמבנה המרחבי של השרשרת עצמה.

בציור 12 ניתנים המבנה והנוסחא, השם המקובל, השם המקוצר בשלוש אותיות, והשם המקוצר באות אחת של 20 חומצות האמיניות. חומצות אלו יכולות להיחשב כנגזרות של גליצין עם קבוצות R שונות או שרשרת צדדית המחליפים את אטום המימן-α בגליצין.

כיוון שקבוצת ה COOH חומצית וקבוצת ה NH₂ בסיסית, הצורה הלא-מיוננת של החומצות האמיניות אינן חשובות. הצורה הניטרלית של החומצות האמיניות היא הצורה הדי-פולארית הנקראת zwitterion.

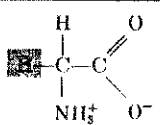
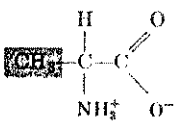
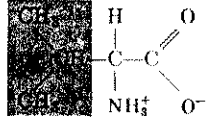


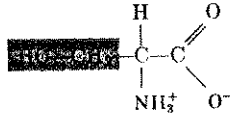
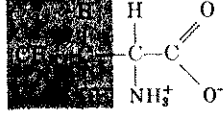
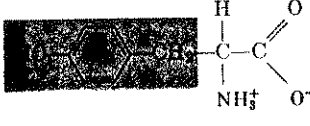
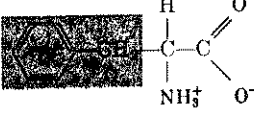
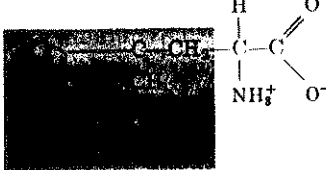


כאשר הפרוטון מעבר מהקבוצה החומצית לקבוצה הבסיסית. אם מזניחים את החומציות הנובעת מהקבוצה R, שלוש הצורות החשובות של החומצות האמיניות בתמיסות מימיות הן:



הקונפיגורציה החשובה ביותר היא זו המתקיימת ב $pH \sim 7$, שהוא ה pH הטבעי. מבנה החומצות האמיניות בטבלא 12 הוא זה המתקבל ב $pH = 7$. ב pH זה שלוש החומצות האמיניות עם השרשרת הצדדית הבסיסית, הבסיסים עברו פרוטונציה, השתיים עם השרשרת הצדדית החומצית החומצות נמצאות במצב יוני. (אבדו פרוטון) כפי שמודגש בציור 12.

ציור 12 חומצות אמיניות, המבנה שלהם והסמלים שלהם.

קיצור השם (אות אחת)	קיצור השם (שלוש אותיות)	שם החומצה	מבנה כימי	מאפייני השרשרת הצדדית (קבוצת R)
G	Gly	גליצין Glycine		אליפטיים, לא-פולאריים
A	Ala	אלאנין Alanine		
V	Val	וולין Valine		
L	Leu	לאוצין Leucine		
I	Ileu	איזולאוצין Isoleucine		
S	Ser	סרין Serine		כהלית
T	Thr	טראונין Threonine		
Y	Tyr	טירוזין Tyrosine		ארומאטי
F	Phe	פנילאלאנין Phenylalanine		
W	Try	טריפטופאן Tryptophane		

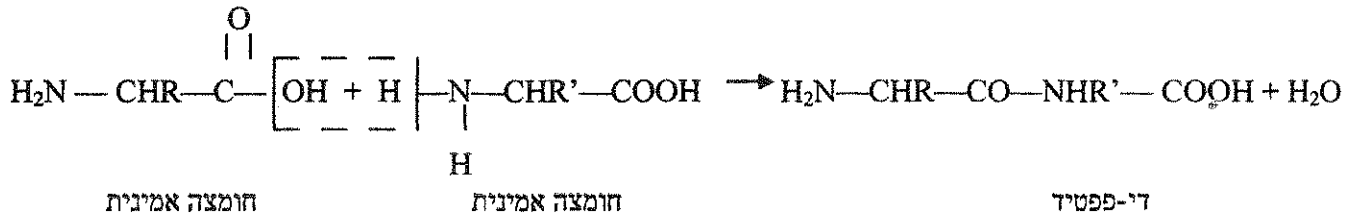
ציור 12 (המשך) חומצות אמיניות, המבנה שלהם והסמלים שלהם.

מאפייני השרשרת הצדדית (קבוצת R)	מבנה כימי	שם החומצה	קיצור השם (שלוש אותיות)	קיצור השם (אות אחת)
קרבוקסילית (חומצית)		אספרתיק Aspartic	Asp	D
		גלוטאמית Glutamic	Glu	E
בסיסים אמיניים		ליזין Lysine	Lys	K
		ארגינין Arginine	Arg	R
		היסטידין Histidine	His	H
מכילי* גופרית		ציסטאין Cysteine	Cys	C
		מתיונין Methionine	Met	M
אמידים		אספרגין Asparagine	Asp	N
		גלוטאמין Glutamine	Gln	Q
אימינו Imino		פרולין Proline	Pro	P

כפי שרואים בציור 12, במספר חומצות אמיניות קבוצת ה R אליפאטית ובמקרים אחרים ארומטית. במקרים אחרים ה R מכיל קבוצות שבאופן פוטנציאלי יכולות להגיב כימית. סרין טראונין וטירוזין מכיות קבוצות OH שיכולות לעבור אסטרטיפיקציה עם חומצות אורגניות או עם חומצה זרחתית. להחומצות גלוטמית ואספרטית יש קבוצה חומצית נוספת, בשעה שלליזין וארגינין יש קבוצה אמינית שנייה. למתיונין ולציסטאין גופרית. בציסטאין קבוצה ריאקטיביות מאוד, SH או סולפהידריל (sulfhydryl). לקבוצה זו משמעות רבה כיון ששתי קבוצות SH יוצרות את הקשר S-S—וע"י כך לקשור שתי שרשראות בפרוטאין או בשני פרוטאינים. לכל החומצות

האמיניות מלבד גליצין יש ארבע קבוצות שונות סביב האטום הפחמן- α , ולכן לחומרים אלו שני איזומרים אופטיים. בפרוטאינים טבעיים נמצאו רק חומצות אמיניות מסוג L.

חומצות אמיניות יכולות להתחבר יחד כדי ליצור קשר פפטידי (peptide bond). קשר זה הוא הקשר הקושר את החומצות האמיניות בפרוטאינים. אפשר לתאר יצירת קשר זה ע"י ריאקציה חומצה-בסיס, הקבוצה הקרבוקסילית (חומצה) בחומצה אחת והקבוצה האמינית (בסיס) בחומצה השנייה ויצירת מולקולת מים.



הקבוצה $\text{CO}-\text{NH}$ המחברת בין הקבוצה הקרבונלית (CO) לבין החנקן האמיני (NH) נקראת הקשר הפפטידי.

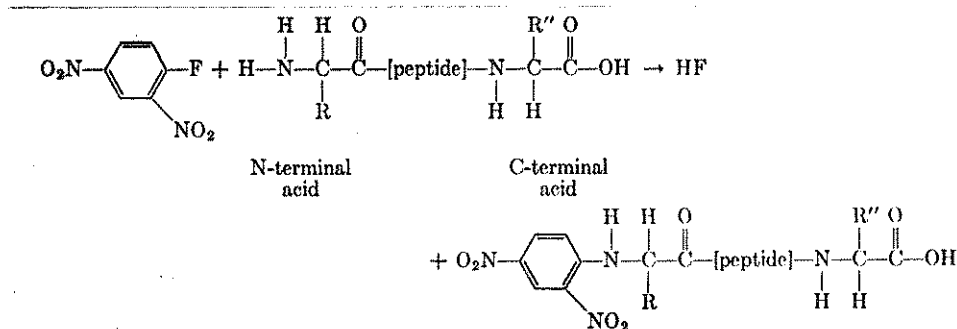
המשך הריאקציה וקשירת חומצות אמיניות נוספות תיצור את הפולימר פוליפפטיד. בקצה אחד של שרשרת הפולימר הפוליפפטידי נמצא את הקבוצה האמינית וקצה זה נקרא N-terminal, בקצה השני נמצא את הקבוצה הקרבוקסילית וקצה זה נקרא C-terminal.

5.2 פרוטאינים, מבנה ראשוני.

לפרוטאינים ארבעה רמות מבנה. המבנה הראשון מתאר את רצף החומצות האמיניות. המבנה המשני מתאר את הסידור המרחבי של השרשרת החומצות האמיניות. לסידור זה שלוש הצורות; α -helix, β -sheet ו random coil. נתאר את שלוש הצורות מאוחר יותר. המבנה השלישוני מתאר כיצד הצורות מתקפלות, והמבנה הרבעוני הוא תוצאה של חיבור של כמה פרוטאינים לתת פרוטאין בעל תכונות מיוחדות, למשל ההמוגלובין. דרוש מאמץ ומחקר מקיף בשיטות שונות בכדי לתת את מבנה הפרוטאין בארבעת רמותיו. ידע זה כיום מרוכז בספרית המחשב הנמצא במרכז המחקר הנמצא בברוקהייבן ארה"ב.

כדי לקבוע את מבנה הפרוטאין עלינו קודם כל לקבל דוגמא טהורה של הפרוטאין. ניקוי הפרוטאין היא כשלעצמה תהליך לא פשוט. בדרך כלל השלבים הם ניקוי כימי ואח"כ העברת התוצר דרך קולונות של מחליפי יונים. בשלב השני קובעים בדרך כלל את המשקל המולקולארי של הפרוטאין ע"י שיטות כימו-פיזיקאליות כמו מהירות השיקוע בצנטריפוגה, לחץ אוסמוטי, ופיזור אור. בשלב הבא אפשר להשתמש בהידרוליזה חומצית כדי לשבור את הקשרים הפפטידיים ולקבל את החומצות האמיניות המרכיבות את הפרוטאין. חומצות אלה אפשר לאפיין ולקבוע כמותית את משקלן בפרוטאין.

נתאר כמה שיטות קלאסיות לקביעת רצף החומצות האמיניות בפרוטאינים. לקביעת הקצה האמיני של השרשרת נהוג להשתמש בחומר dinitrofluorobenzen. מולקולה זו מתחברת לקצה האמיני לפי:



אם נבצע על תוצר הריאקציה הידרוליזה חומצית הקשרים הפפטידיים ישברו אבל הדיניטרובנון יישאר קשור לחומצה האמינית הראשונה. מולקולה זו ניתנת להפרדה ולזיהוי איכותי וכמותי.

קל יותר לקבוע את החומצה האמינית בקצה הקרבוקסילי של הפרוטאין. האנזים קרבוקסיפפטידאז (carboxypeptidase) שובר בעיקר את הקשר בין החומצה האמינית האחרונה (C-terminal) ורק כמויות זעירות של חומצות אחרות. חומצה אמינית זו ניתנת לזיהוי וקביעה כמותית. אם משאירים את הפרוטאין יחד עם האנזים לזמן ארוך נוכל לקבוע את זהות החומצות האמיניות המשתחררות בתלות בזמן וע"י כך לקבוע את שרשרת החומצות האמיניות בסוף השרשרת.

תיאור המחקר שהוביל לקביעת מבנה ההורמון אינסולין (insulin) יראה את הדרך לפתרון הבעיה הכללית לזיהוי החומצות האמיניות המרכיבות את הפרוטאין. כאשר האינסולין הגיב עם דיניטרובנון ועבר הידרוליזה הראה תוצר הריאקציה שני תוצרים שונים של דיניטרובנון המחובר לחומצה אמינית. תוצאה זו מראה שבפרוטאין שתי חומצות מסוג N-terminal ולכן במולקולה שתי שרשראות של פוליפפטיד (שרשרת A ושרשרת B). אפשר להפריד שרשראות אלו ע"י תמצון הקשר הדי-סולפידי (disulfide bond -S-S-). ושכירתו לקבוצות סולפוניות (-SO₃H). שתי השרשראות המופרדות עוברות הידרוליזה חלקית לפפטידים המכילים שתיים עד חמש חומצות אמיניות. פפטידים אלו מופרדים ע"י קולונות HPLC וקובעים את זהות החומצות האמיניות. סדר החומצות האמיניות בפרוטאין נקבע באופן הבא: אם לאחר הידרוליזה נמצאו הפפטידים הבאים;

His-Leu-Val

Ser-His-Leu

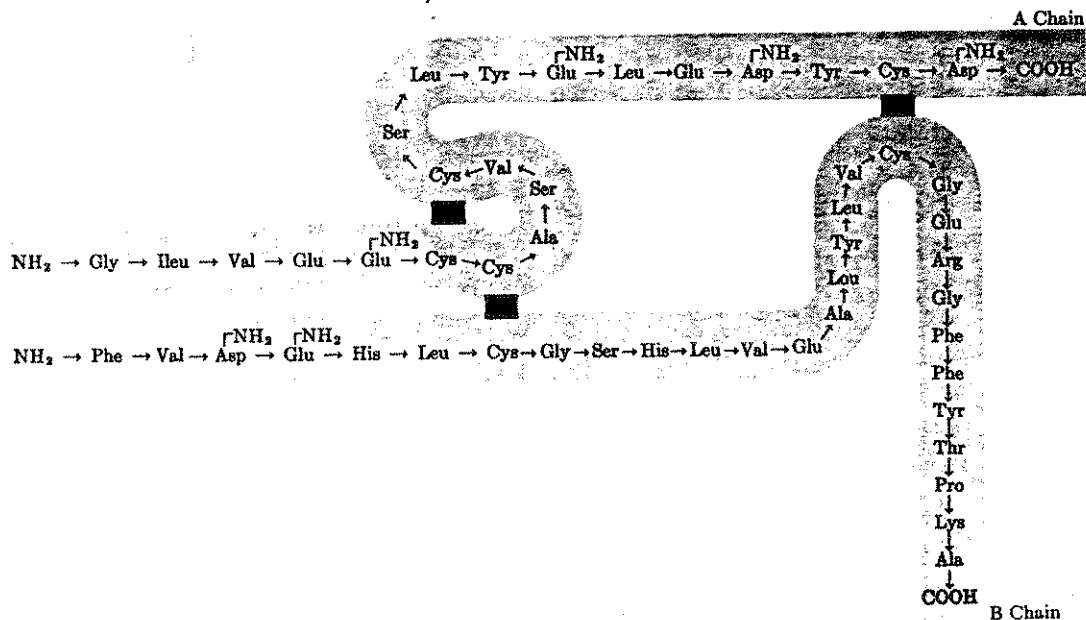
Gly-Ser-His

Gly-Ser-His-Leu-Val

נוכחותם מציעה את רצף חמש חומצות אמיניות

הוכחה לקיום רצף זה מתקבל משברי הפרוטאין המכילים ארבעה או חמישה חומצות אמיניות ובאופן כזה מקבלים את מבנה השרשרת הפוליפפטידית כולה.

המבנה הראשוני של האינסולין שמקורו בבקר (ציור 13) נקבע כפי שתואר למעלה ע"י F. Sanger ב 1953.



ציור 13. המבנה הראשוני של האינסולין שמקורו בבקר (beef insulin).

מציור 13 רואים ששרשראות A ו B מחוברות בשני מקומות ע"י קשר די-סולפידי בין שתי קבוצות ציסטאין בשרשראות הנפרדות. קשר די-סולפידי בין שתי קבוצות ציסטאין נמצא גם בשרשרת A. למרות ששתי קבוצות SH אלו מרוחקות אחת מהשנייה הפיתול בשרשרת מאפשר חיבור זה. כללית ניתן לומר שקשה למצוא קבוצות SH חופשיות בפרוטאינים. אחת הדוגמאות הנדירות לקיומם נמצא ב α -Hemoglobin עליו נעמד מאוחר יותר.

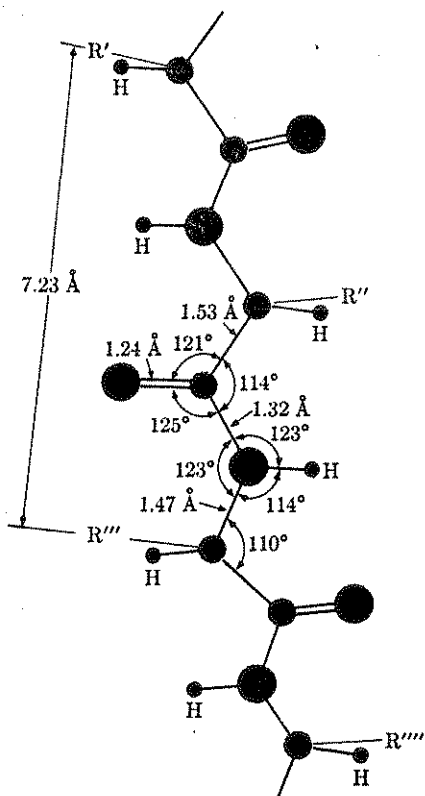
רצף החומצות האמיניות באינסולין בבעלי חיים שונים נקבע. כך למשל נמצא שאינסולין שמקורו בחזיר, כבשה ולוויתן דומים לזה שנמצא בבקר מלבד החומצות האמיניות הנמצאות במקומות 8, 9 ו 10 בשרשרת A. שינוי זה הוא המקור הכימי להבדלים האנטיגנים באינסולין ממקורות שונים של בעלי חיים. תופעה זו הייתה ידועה הרבה לפני שהמבנה הראשוני של הפרוטאין נקבע.

רצף החומצות האמיניות של כמה מאות פרוטאינים ידוע ומספרם הולך גדל עם הזמן. לדוגמא נביא כאן שלושה: Ribonuclease, Myoglobin ו Hemoglobin. אנזים בעל שרשרת אחת המכיל 124 חומצות אמיניות. Myoglobin, פרוטאין המצוי ברקמת השריר ובו 153 חומצות אמיניות בשרשרת אחת. Hemoglobin של בני-אדם עם ארבעה שרשראות קשורות. הפרוטאין מכיל שתי שרשראות מסוג α (141 חומצות אמיניות) ושתי שרשראות מסוג β (146 חומצות אמיניות). קביעת המבנה הראשוני של פרוטאינים אלו היה תהליך ארוך וקשה, עלינו גם לזכור שזהו רק הצעד הראשון למציאת תפקודם הביולוגי במונחים של מבנה כימי.

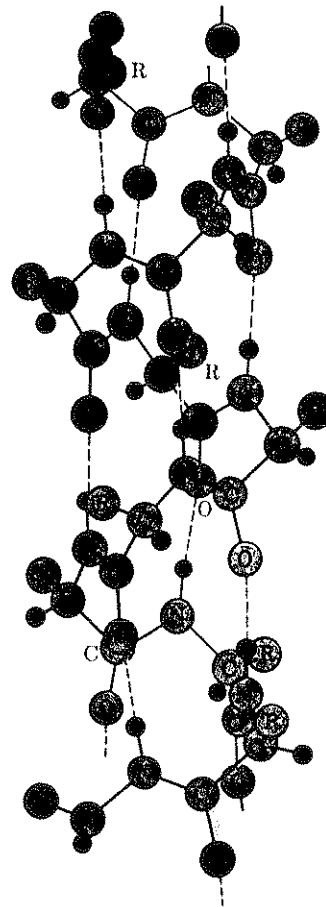
כיום קביעת המבנה הראשוני הפך רוטינה. השימוש במכשור אוטומטי הצמוד למחשב מצוי כמעט בכל מעבדה העוסקת בזיהוי המבנה הראשוני. מכשירים אלו הקרויים סיקוונסרס (sequencers) מבצעים כמה ריאקציות כימיות. החומצות האמיניות שמתקבלות מופרדות ע"י כרומטוגרפיה ומזהות ע"י מכשור מתאים. אחת השיטות היעילות ביותר לקביעת רצף החומצות האמיניות בפרוטאינים הוא לקבוע את רצף ה DNA עם הצופן ליצירת הפרוטאין. נדון בקשר בין מבנה ה DNA ומבנה הפרוטאין בהמשך.

5.3 המבנה המשני של הפרוטאין

ציורים 14 ו 15 מציגים שני מבנים שהוצעו ע"י פאולינג (Pauling) ב 1951. מבנה α (ציור 14) מצוי כמעט בכל הפרוטאינים. זהו המבנה המצוי בלעדית בפרוטאינים סיביים כגון שיער, צמר, קרניים, ציפורניים ועור. המבנה הכללי של חומרים אלו הם שרשראות מקבילות של סלילי α השזורים יחד (α -helices).



ציור 15. חלק מהשרשרת הפוליפפטידית במבנה β



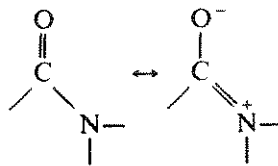
ציור 14. מבנה ה α -helix של השרשרת הפוליפפטידית הקיים המקווקוים מסמנים קשרי מימן

מבנה β היא שרשרת פוליפפטידית שבניגוד למבנה סליל ה α אין בה קשרי מימן בין החומצות האמיניות המרכיבות את השרשרת. לסיבי משי יש מבנה β . המבנה הכללי של פרוטאינים עם מבנה β הוא אוסף של שרשראות מקבילות בכוונים משתנים הקשורים ביניהם בקשרי מימן. אוסף זה נקרא sheet β . קטעים בפרוטאינים רבים יש להם מבנה כזה.

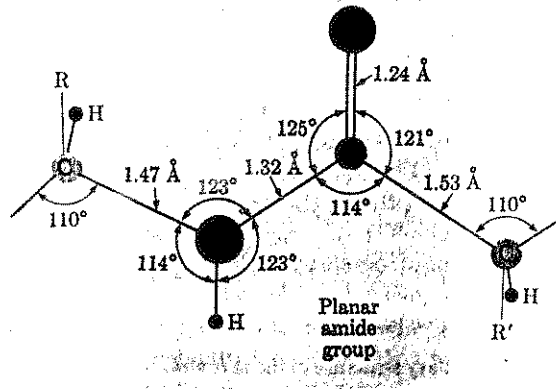
המבנה השלישי המצוי בפרוטאינים נקרא סליל אקראי (random coil), זהו מבנה שאינו מכיל את התכונות המאפיינות את שני המבנים הראשונים.

מחקרו של פאולינג הייה תיאורטי. הסתכלות על מבנה הפפטיד הוא שער את המרחקים בין אטומי הפחמן ובין אטום הפחמן לאטום החנקן ואת הזווית ביניהם, ומכאן בדק את הקונפורמציות האפשריות בפרוטאין. הבחירה נפלה על מבנה סליל האלפה כיון שנמצא שזהו המבנה בעל האנרגיה הפוטנציאלית הנמוך ביותר. יציבות המבנה הינה תוצאה של קיום מקסימום קשרי מימן הנוצרים בין המימן האמיני בחומצה לבין אטום החמצן בקבוצת הקרבוניל של החומצה כשהסליל הסתובב.

ההשערה על קיום מבנה של סליל אלפה היא דוגמא טובה כיצד מתוך ידיעת מבנים של מולקולות קטנות ופשוטות אפשר לשער מבנה של מולקולות מסובכות. בציור 16 רואים את מבנה הקשר הפפטידי כפי שנבדק ע"י אנליזת קרני X בפפטידים קטנים. ערכי המרחק בהקשרים C—C ו C—N בפחמן α (בהתאמה 0.153 ו 0.147 nm) רגילים לקשר בודד בין אטומים אלו. אבל הקשר בין הפחמן לחנקן בקשר הפפטידי קצר מאוד בהשוואה לקודם. ומכאן הניח פאולינג קיום אופי חלקי של קשר כפול בין אטומים אלו (מבנה של רזוננס בין שתי הצורות)



כתוצאה מקיום הקשר הכפול (חלקית לפחות) המבנה של הקבוצה הפפטידית CO—NH צריך להיות על המישור, ז"א כל הקשרים בין החנקן האמיני והפחמן הקרבונילי נמצאים באותו מישור. כל מבנה הנוגד מסקנה זו אינו אפשרי הסיק פאולינג.

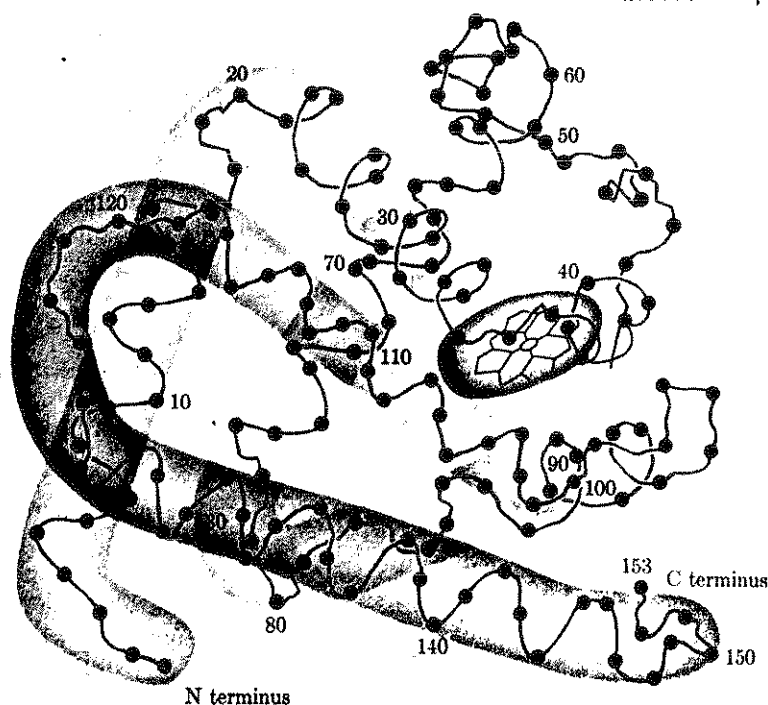


ציור 16. ממדי הקבוצה הפפטידית

בחינת מבנה ה α -helix מראה שכל קבוצה פפטידית נמצאת במישור. כל קבוצה פפטידית קשורה ע"י קשר מימני לקבוצה הפפטידית השלישית בשרשרת. מלבד בקצוות כל אטומי המימן של האמין וכל אטומי החמצן בקרבוניל קשורים בקשר מימני. ה helix עצמו הוא סליל קשוח ואין במרכזו מקום לקשירת מולקולות נוספות. קשרי helix בפרוטאינים הם בעלי מבנה של בורג בעל הברגה ימנית.

5.4 מבנה שלישוני של פרוטאינים

אם מבנה השרשרת הפוליפטידית בפרוטאין הייה מבנה של α -helix בלבד היו מולקולות הפרוטאינים בעלות צורה של צינורות קשיחים ודקים. מחקרים רבים הראו שצורת חלק מהפרוטאינים קרובה לצורה מעוגלת (globular) ולאחרים צורה קצרה ועבה יותר. לכן צריכה להיות בפרוטאינים תופעת פיתול ב α -helix ולאותם חומצות אין מבנה של α -helix. מחקרי המבנה השלישוני בשיטת אנליזה של קרני X של פרוטאינים, שהחלו בתחילת שנות ה 50 באוניברסיטת קמברידג' באנגליה (Prutz) מאשרים תופעה זו. ציור 17 מתאר באופן סכימטי את המבנה המשני והשלישוני של מולקולת המיוגלובין. הצינור מתאר את המרחב הנתפס ע"י השרשרת ורואים שהוא מתפתל לצורה מסובכת. ישנם אזורים בהם הצינור ישר ובאזורים אלו המבנה הוא של α -helix. באזורים בהם יש פיתול בצינור השרשרת אינה בעלת מבנה של α -helix ומבנה זו מוגדר כסליל אקראי (random coil). להמוגלובין מבנה דומה.



ציור 17. המבנה המשני והשלישוני של מולקולת המיוגלובין. נשים לב לאובדן המבנה של α -helix כאשר קיימת התעקמות במולקולה. כמו כן נשים לב לקיום טבעת פורפירינית הקשורה לשרשרת ליד החומצה האמינית 40.

5.5 המבנה הרבעוני של פרוטאינים

למיוגלובין אין מבנה רבעוני כיון שהוא בנוי משרשרת פוליפטידית אחת. לעומת זאת להמוגלובין המורכבת משתי שרשראות מסוג אחד הנקראות שרשראות α ושתי שרשראות מסוג שני הנקראות שרשראות β . במבנה הרבעוני הפרוטאין הוא טרה-מר בעל הנוסחה $\alpha_2\beta_2$ עם קשרים חלשים הקושרים את השרשראות יחד. להמוגלובין (בשתי צורתיו) ולמיוגלובין מבנים שלישונים דומים למרות ההבדל במבנה הראשוני. המבנה הרבעוני של ההמוגלובין חשוב לקשירת חמצן לברזל (II) המצוי בטבעת הפורפירינית.

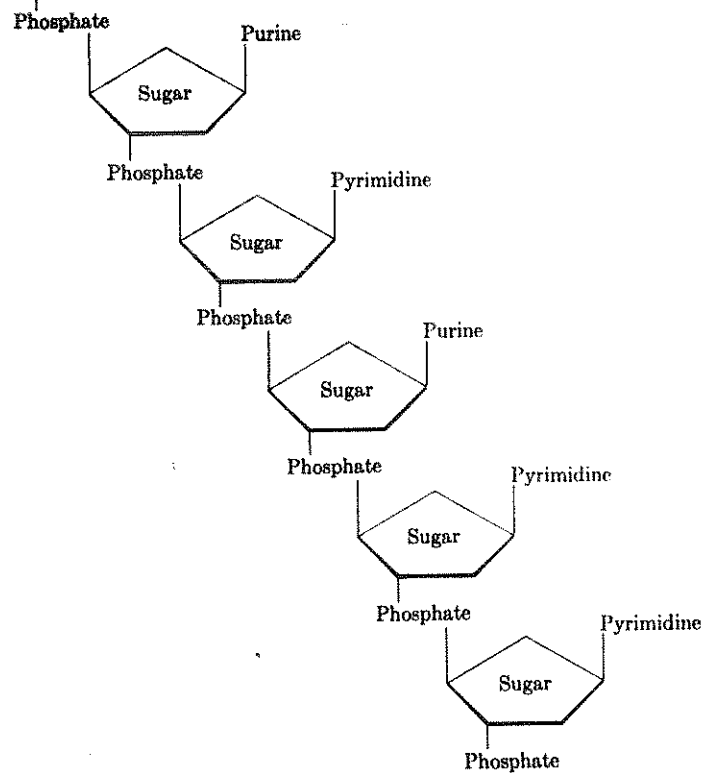
6 חומצות הגרעין

חוקרים בתחום הביולוגיה ידעו מזמן שמידע גנטי נמצא במבנים הידועים ככרומוזומים, והמצויים בגרעין התא. לכרומוזומים תת-מבנה שהם הגנים (genes). אולם רק בתחילת שנות השישים של המאה הקודמת החלו מדענים בתחומים שונים להבין את המנגנון הגנטי. אפשר להתחיל את היסטוריה הגנטיקה מעבודתם של זוכי פרס נובל לשנת 1965 הצרפתים Jacob, Lewoff, Monod שהוכיחו כיצד סינתזה של אנזימים ווירוסים נשלטת ע"י בקרה גנטית. יחד עם זאת הדחיפה העיקרית להבנת המבנה המולקולארי של החומר הכרומוזומי נעשה בין השנים 1990 - 2003 עם התוכנית Human Genome שבין מטרתיה היו:

- א) זיהוי כ 30,000 גנים ב DNA של בני אדם.
- ב) לקבוע את הרצף של 3 מיליארד זוגות בסיסים כימיים המרכיבים את ה DNA של בני אדם.

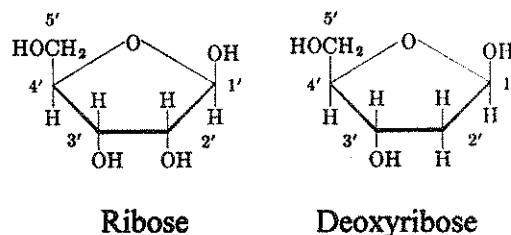
ידוע שהגנים מורכבים מהמקרומוולקולה DNA (deoxyribonucleic acid) ושמולקולה זו נושאת בתוכה את האינפורמציה הדרושה לסנתוז פרוטאינים, ויודעת גם לשמור ולהעביר מידע זה בשעת התחלקות התא. מולקולה דומה ל DNA היא ה RNA (ribonucleic acid) הנמצאת אף היא בתא, וחשיבותה לסנתוז פרוטאינים אפילו גדולה יותר. לפני שנתאר מולקולות אלו נבדוק את תכונותיהם העיקריות ואת המבנה שלהם.

חומצות גרעין (nucleic acids) הם פולימרים בהם היחידות החוזרות הם מולקולות סוכר הקשורות ע"י גשרי פוספט. מבנה כללי זה מתואר בציור 18.



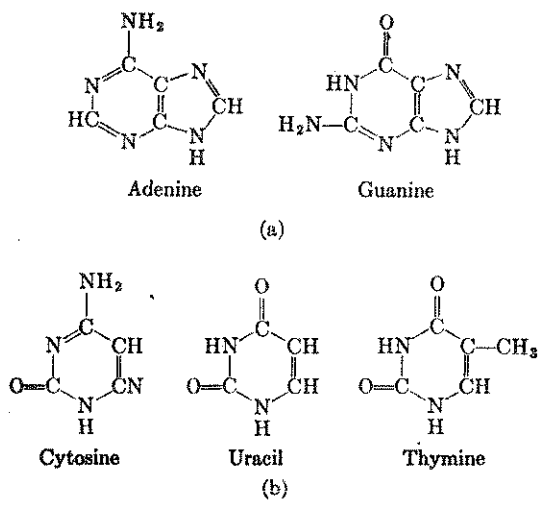
ציור 18. המבנה הכללי של המולקולות DNA ו RNA

בחומצה ריבוזית (ribose) ובחומצה דסאוקסי ריבוזית (deoxyribose) הסוכר הוא ריבוז (ribose) ובחומצה דסאוקסי ריבוזית (deoxyribose) הסוכר הוא דאוקסיריבוז.



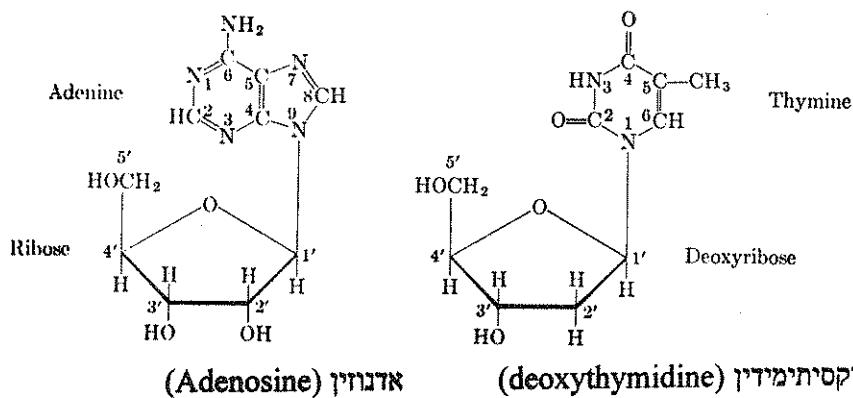
רואים שהמבנים שונים רק בכך שבדאוקסיריבוז שני מימנים קשורים לפחמן 2', בשעה שבריבוז קשורים לפחמן זה מימין וקבוצת OH. הסימן ' בא לתאר את הפחמנים במולקולות הסוכר ובכדי להבדילם מאטומי הפחמן הנמצאים בבסיסים האורגאניים במצויים ב DNA ו RNA.

בסיסים אורגאניים קשורים לכל אחד מיחידות הסוכר ב DNA ו RNA. בסיסים אלו הם משני סוגים האחד פורין (purine) והשני פירימידין (pyrimidine). ציור 19 מתאר את מבנה בסיסים אלו. הבסיס אוראציל (uracil) נמצא אך ורק ב RNA, בשעה שתימין (thymine) בעל המבנה הדומה נמצא ב DNA. ציטוזין (cytosine) נמצא בשתי חומצות הגרעין. הבסיסים הפוריניים, אדנין (Adenine) ו גואנין (guanine) נמצאים ב DNA ו RNA.



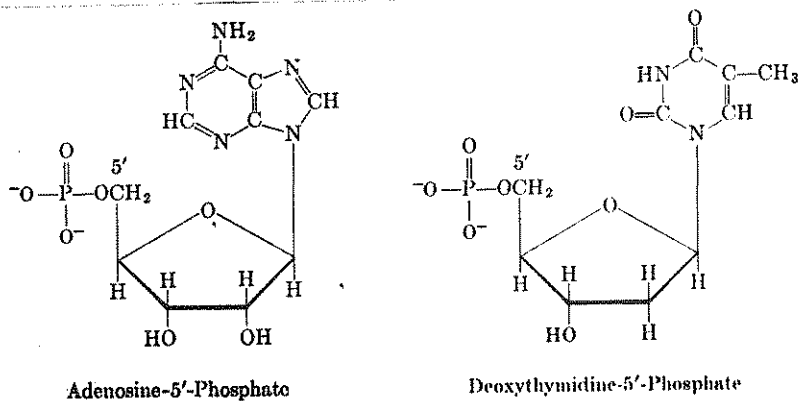
ציור 19. מבנים של הבסיסים (a) פורין ו (b) פירימידין המרכיבים את ה DNA ו RNA

מולקולה המורכבת מולקולת סוכר המחוברת לבסיס פוריני או פירימידיני נקראת נוקלאוזיד (nucleoside).
 בציר 20 מתואר מבנה נוקלאוזיד המצוי ב RNA (אדנוזיד, Adenoside), ונקלאוזיד הקשור ל DNA (דאוקסיתימידין, deoxythymidine). בנוקלאוזידים של פירימידין הסוכר והבסיס קשורים בקשר גלוקוזידי בין הפחמן 1' בדאוקסיריבוז והחנקן 1 בבסיס הפירימידיני כפי שמודגם בציר 20 (דאוקסיתימידין). בנוקלאוזידים של פורין הפחמן 1' של הסוכר קשור בקשר β גלוקוזידי לחנקן 9 של הבסיס הפוריני כפי שמודגם באדנוזיד (ציור 20).



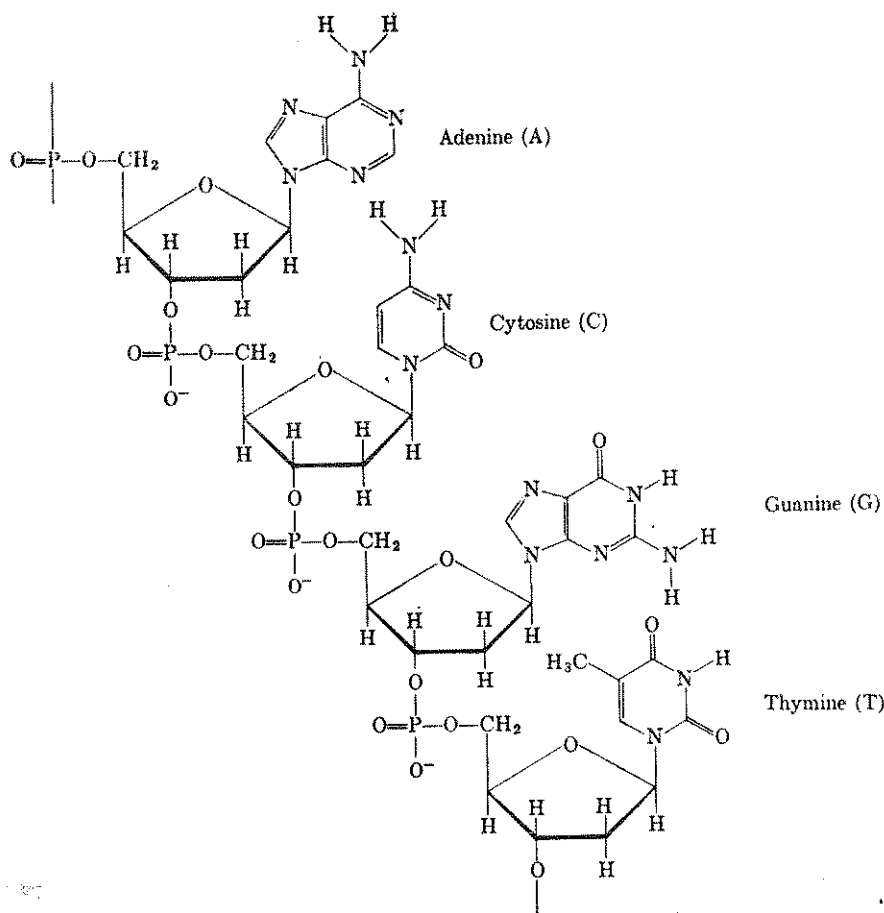
ציור 20. מבנים של הנוקלאוזידים אדנוזין ודאוקסיתימידין

השילוב בסיס-סוכר-פוספט נקרא נוקלאוטיד (nucleotide). זהו אסטר פוספטי של הנוקלאוזיד. בציר 21 מוצגים מבנים של שני נוקלאוטידים. קבוצות הפוספט במולקולות אלו קשורות לפחמן 5' של טבעת הסוכר, אבל הפחמן 3' בשני הסוכרים והפחמן 2' של הריבוז גם הם נקודות קישור.



ציור 21. שני נוקלאוטידים: אסטרים פוספטיים של אדנוזין (adenosine) ודאוקסיתימידין (deoxythymidine).

חומצות גרעין הם פולינוקלאוטידים (polynucleotides) בהם הקבוצות הפוספטיות קושרות את הפחמן 5' של סוכר אחד עם פחמן 3' של הסוכר השני. ציור 22 מתאר מבנה חלקי של השרשרת הפולינוקלאוטידית ב DNA.



ציור 22. חלק מהשרשרת הפולינוקלאוטידית של מולקולת ה DNA.

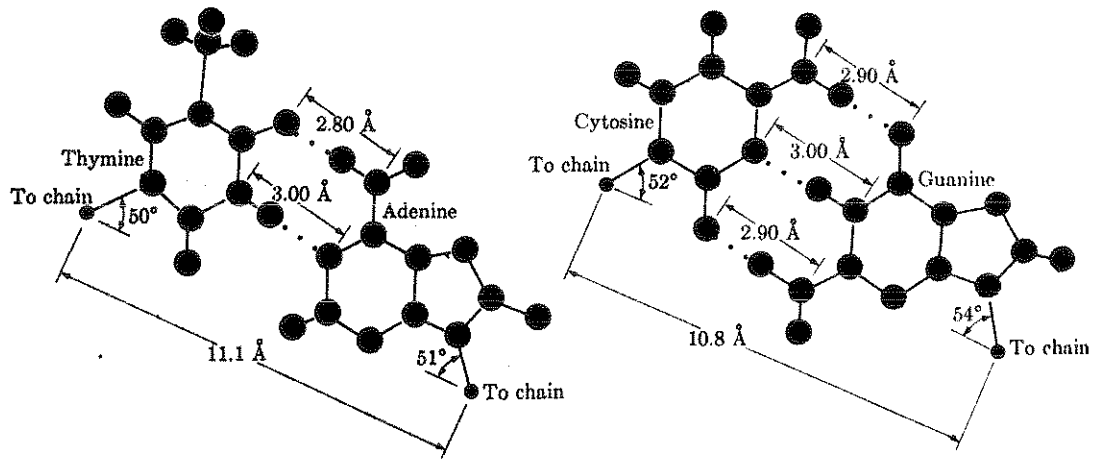
6.1 מבנה ה DNA

בשנת 1953 Crick ו Watson מאוניברסיטת קמברידג' באנגליה הציעו שמולקולת ה DNA יש מבנה של שתי רצועות (strands) פולינוקלאוטידיות מקבילות כרוכות אחת בשנייה ויוצרות סליל כפול, תצורה (conformation) המיוצבת ע"י מספר רב של קשרי מימן בין הבסיסים המחוברים לשתי הרצועות. חלק ממסקנה זו נבע מתוצאות שהתקבלו באותה אוניברסיטה ע"י Franklin ו Wilkins ע"י אנליזה של קרני-X ב DNA מוצק שהתאימו לתצורה סלילית, ובעיקר מתוך תדירות נוכחות הבסיסים של פורין ופירימידין.

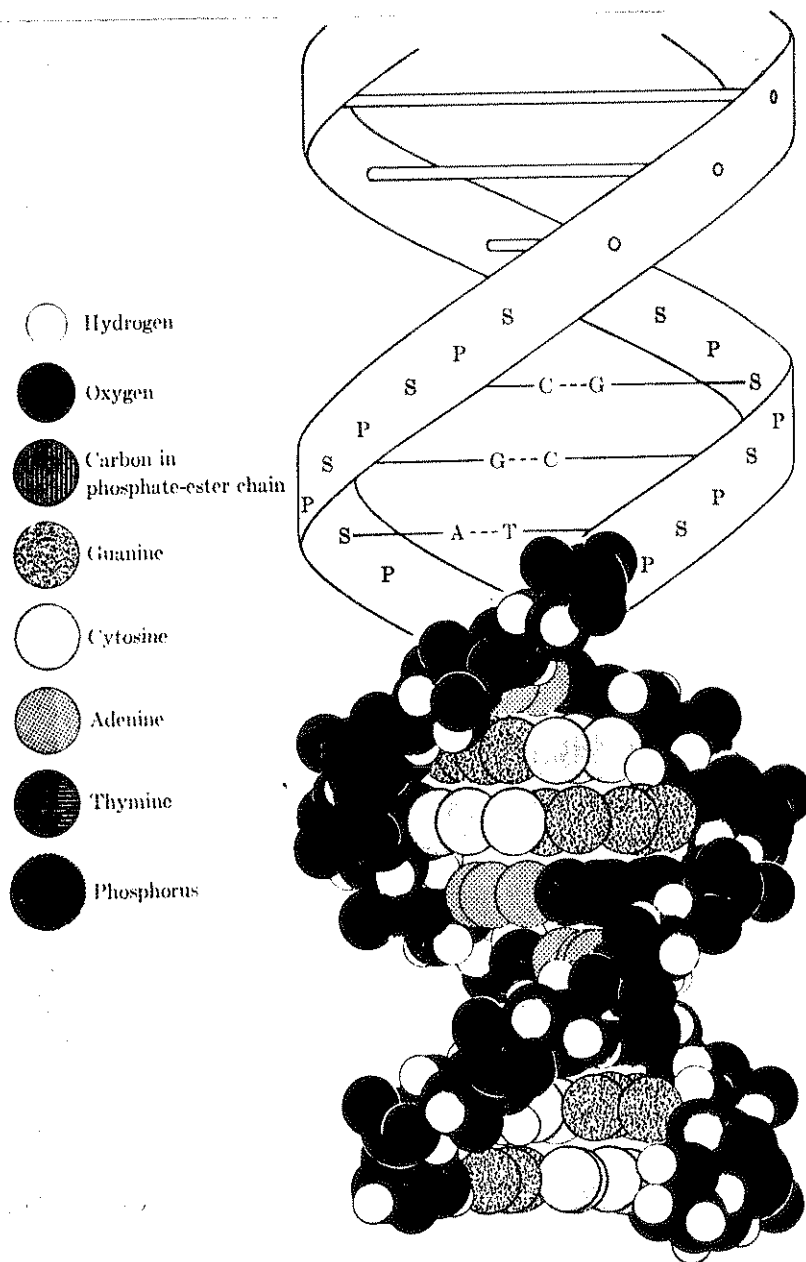
מחקרים כימיים שנעשו לפני 1953 הראו שערך היחס המולרי בין אדנין לתימין ובין גואנין לציטוזין הייה תמיד 1. מכאן הגיעו למסקנה שספציפית אדנין קשור לתימין וגואנין לציטוזין.

מחקרים על המודלים המולקולאריים של זוגות אלו הראו מדוע זיווג זה מתרחש ומה תוצאותיו. ציור 23 מדגים את הבסיס להסבר. לתימין ואדנין יש מבנים משלימים; הם יכולים יחד להתאים את עצמם לאותו מישור ולכן גשרי מימן יכולים להיווצר בין שניהם. באותו זמן, האטומים בשני הבסיסים הקשורים למולקולות הסוכר, חנקן 1 בתימין וחנקן 9 באדנין נמצאים בקצוות המנוגדים של הקומפלקס המולקולארי. מצב זה מתרחש גם בקשר בין גואנין וציטוזין, מלבד העובדה שבמקרה זה נוצרים שלושה קשרי מימן. זאת ועוד, הסתבר ממודלים אלו שהמרחק החיצוני בין הזוגות A-T ו G-C כמעט זהים.

מחקרים אלו הובילו להצעה שמולקולת ה DNA מורכבת משתי שרשראות פולינוקלאוטידיות מקבילות השזורות יחד במבנה סלילי והמוחזקות ביניהן ע"י גשרי מימן בין הבסיסים הפוריניים בשרשרת אחת לבסיסים הפירימידיניים בשרשרת השנייה ולהיפך.



ציור 23. מבנים וממדים קריטיים של זוגות הבסיסים תימן-אדנין ו ציטוזין-גואנין



ציור 24. מבנה הסליל הכפול של ה DNA. קשרי מימן בין זוגות הבסיסים אדנין-תימן ו גואנין-ציטוזין מחזיקים יחד את רצועות הסוכר-פוספט.

בציור 24 מוצג המבנה הסכמטי של ה DNA בעל הסליל הכפול (double helix). כל רצועה של הסליל הכפול מורכבת מ"שלד" של סוכר ופוספט עם בסיסים הפונים לתוך ציר הסליל הבסיסים מצויים במישורים שבקרום ראשון ניצבים לציר הסליל. מישורים אלו של בסיסים צמודים נמצאים במרחק של 0.34 nm. סיבוב מלא של הסליל מתרחש כל 3.4 nm.

גודל מולקולות ה DNA משתנה בהתאם לסוג התא ממנו הם נלקחו. לדוגמא, ל DNA בעל משקל מולקולארי של 1.8×10^8 יש בערך 4×10^5 נוקלאוטידים. אורך ה DNA של הבקטריה *Eschericia coli* כ 0.4 mm ומשקלו המולקולארי בערך 10^9 .

6.2 מבנה ה RNA

בדומה ל DNA החומצה הריבונואלית היא שרשרת פולינוקלאוטידית, אבל, גודל ומבנה המולקולה שונים. RNA מצוי בדרך כלל כרצועה אחת. רצועה זו מסוגלת להתלפף אבל לא בצורה פשוטה ומוגדרת. היחס המולרי של זוגות הבסיסים אינם מראים את אותו סדר שראינו ב DNA.

ל RNA יש לפחות שלוש צורות ולכל אחת מהם תפקיד שונה בסינתזת פרוטאינים. שלוש הצורות המולקולא-ריות ידועות בשמות (transfer-RNA (tRNA), messenger-RNA (mRNA) ו (ribosomal-RNA (rRNA). שלוש צורות אלו נבדלים במשקלם המולקולארי ובהרכב הבסיסים שלהם.

tRNA הוא הקטן בין השלושה, מורכב מ 73 עד 93 נוקלאוטידים ומשקל מולקולארי של בערך 25,000. התפקיד הביולוגי של tRNA הוא לתפוס חומצה אמינית בודדת ולשאת אותה לאתרים בהם נעשית סינתזת הפרוטאין. מכיוון שכל חומצה אמינית מוכרת ונישאת ע"י סוג אחד של tRNA צריכים להיות לפחות עשרים סוגים שונים של מולקולות tRNA. כך למשל, tRNA בעל 77 נוקלאוטידים אחראי להעברת החומצה האמינית אלנין.

כל מולקולות ה tRNA מכילות בקצה השרשרת את הנוקלאוטידים הבאים, לפי הסדר: ציטוזין, ציטוזין, אדנין (C-C-A). כאשר בריבוי האחרון שתי קבוצות הידרוקסיל קשורות לפחמנים 2' ו 3'. החומצה האמינית המעוברת ע"י tRNA נקשרת אל אחד מקבוצות ההידרוקסיל ע"י יצירת אסטר ניניהם. האנרגיה הדרושה ליצירת הקשר האסטרי מתקבלת מ ATP וקטליזאטור אנזימטי. הספציפיות של אנזים זה אחראי לקיום הקשר עם חומצה אמינית ספציפית.

מולקולת ה mRNA בעלת המבנה של חומצה ריבונוקלאית התגלתה מאוחר יותר. תפקידה הביולוגי היא לשאת את המידע הגנטי המצוי ברצועה (strand) אחת של מולקולת ה DNA המצויה בגרעין התא, ולהעביר מידע זה לציטופלזמה בה נעשית סינתזת הפרוטאין. העברת המידע הנמצאת על ה DNA ל mRNA מצריכה ללא ספק את פרוק סליל ה DNA, וחיבור הרצועה ל mRNA.

50% ממשקל הריבוזומים (החלקיקים בהם נעשית סינתזת הפרוטאינים) מצויות כמולקולות tRNA. מולקולות אלו משמשות לקשירת mRNA ופעילים במנגנון סינתזת הפרוטאין.

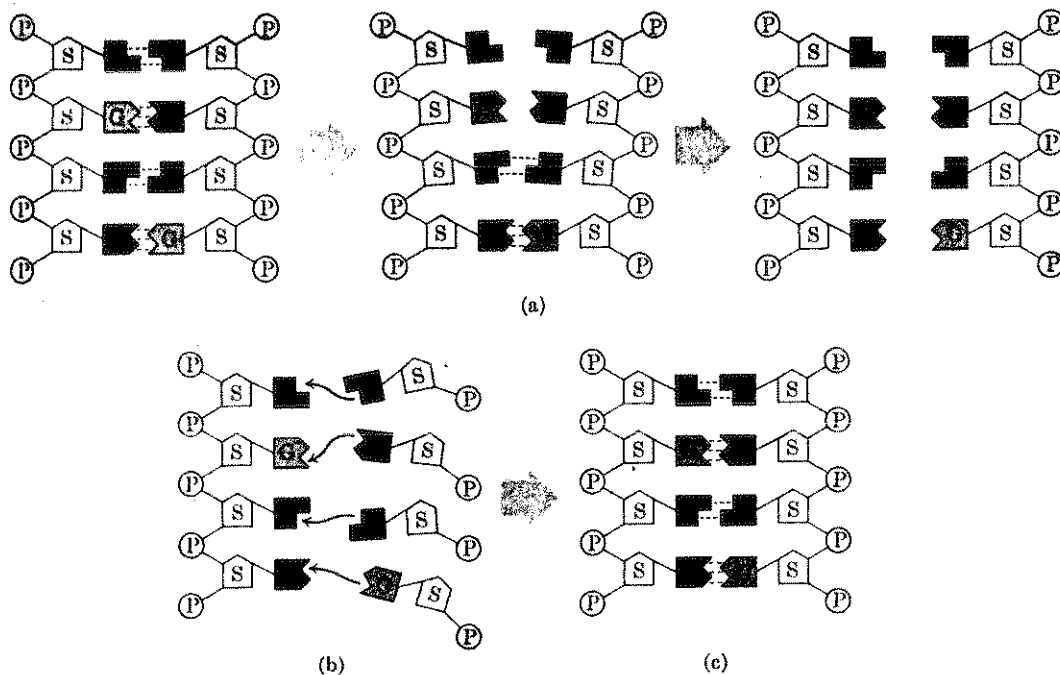
7 התפקידים הביולוגיים של חומצות הגרעין.

למולקולת ה DNA שני תפקידים עיקריים. הראשון, היא מכילה את המידע הדרוש לשכפול ולסנתזת מולקולות DNA בכרומוזומים של תאים חדשים המתקבלים לאחר התחלקות התא הראשון. השני, אחסון ואספקת המידע הדרוש לסינתזה של פרוטאינים. מידע זה מצוי ב DNA כקוד גנטי המבוטא ע"י סדר הבסיסים אדנין, גואנין, ציטוזין ותימין (A, G, C, & T). כיון ש DNA מנהל את סינתזת האנזימים שתפקידם לקטלז את ריאקציות התא, לכן ל DNA חשיבות מרכזית בכימיה של תהליכים פיזיולוגיים.

7.1 שיכפול ה DNA

מבנה הסליל הכפול של ה DNA יכול להסביר כיצד מולקולה זו משתכפלת. בגלל הזיווג הספציפי בין האדנין לתימין וגואנין לציטוזין שתי רצועות הסליל משלימות זו את זו, וסדר מסוים ברצועה אחת מחייב סדר ספציפי ברצועה השנייה. בזמן השכפול, שתי שרשראות הפולינוקלאוטיד נפרדות זו מזו, אם באופן חלקי או מלא. כל

שרשרת פועלת כתבנית בה דסאוקסיריבונוקלאוטידים חופשיים יכולים להתחבר אליה במבנה משלים. התוצאה תהייה: יצירת שתי מולקולות DNA זהות במבנה ל DNA הראשון. תהליך זה מודגם בציור 25.



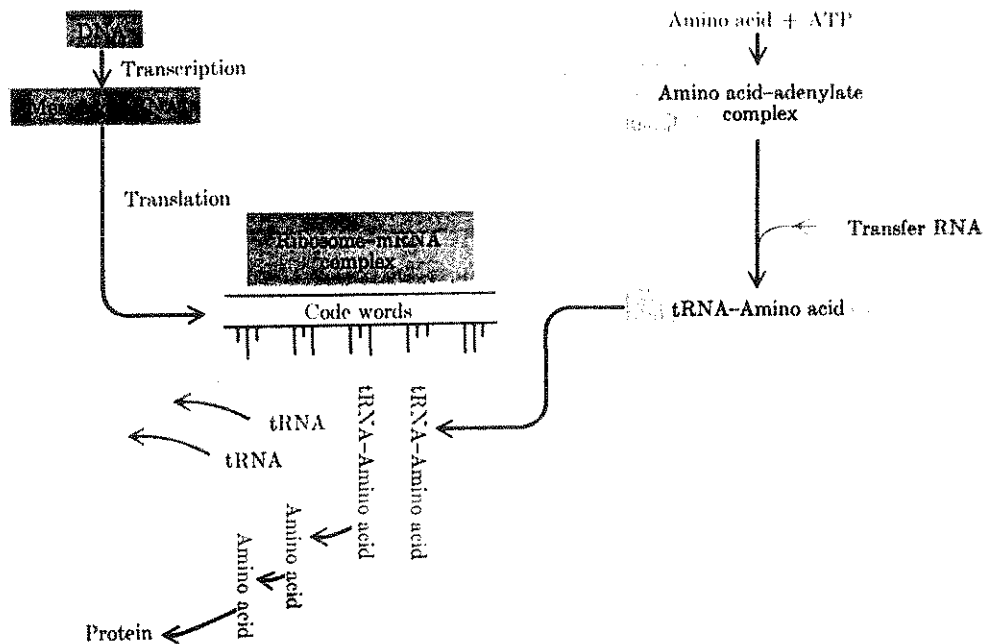
ציור 25. הצגה סכמאטית של תהליך השכפול ב DNA. בשלב (a) שתי רצועות הסליל מופרדות. בשלב (b) הנוקלאוטידים המשלימים את אלה שברצועת ה DNA נמסרים ונבחרים ע"י זיווג בסיסים, מתחברים אחד לשני ב לתת מולקולת DNA. A, T, G, ו C הם בהתאמה אדינין, תימין, גואנין וציתוזין, שרשרת הסוכר-פוספט מוצגים כ S—P—S.

הוכחה לקיום תהליך השכפול נתאר את המחקר הבא: בניסיונות של תהליך השכפול בבקטריה נעשה בסביבה שהכילה תרכובות חנקניות שסומנו באופן מלא ע"י איזוטופ ^{15}N נמצא שכתוצאה מהשכפול הדור הראשון של התאים היה מסומן באיזוטופ ^{15}N ב 50%. תוצאה זו אומרת שה DNA של הדור הראשון מורכב מרצועת סליל אחת של תאי ההורים ורצועה שנייה (החדשה) המורכבת רק מבסיסים עם האיזוטופ ^{15}N . כאשר התאים החדשים העוברים לסביבה שהכילה את החנקן הטבעי (איזוטופ ^{14}N) והורשתה להשתכלל, הדור הבא הכיל DNA שהייה מורכב כולו מאיזוטופ טבעי וגם DNA שהכיל כמות שווה של שני האיזוטופים. ה DNA עם איזוטופ הטבעי ^{14}N בלבד הינו תוצאה של חיבור בין הרצועה המקורית המתחברת לבסיסים עם האיזוטופ ^{14}N שבמדיום, בשעה שה DNA המכיל 50% איזוטופ ^{15}N ו 50% איזוטופ ^{14}N מקורו בחיבור שבין הרצועה שהכילה את ה איזוטופ ^{15}N ובסיסי המדיום עם ה איזוטופ ^{14}N . תוצאות אלו מאשרות את תהליך השכפול שהוצג בציור 25.

7.2 חומצות בסיס וסינתזת הפרוטאין.

כפי שהראינו, ה DNA של גרעין התא מכיל בסדר השרשרת את המידע הדרוש כדי לגרום לסינתזה ספציפית של הפרוטאין. אתרי הסינתזה של הפרוטאין נמצא בריבוזומים, הנמצאים ב endoplasmic reticulum (ציור 1). המידע הגנטי המצוי ב DNA בגרעין נישא ע"י ה mRNA לריבוזומים. בנוסף לכך, tRNA מספק לריבוזומים את החומצות האמיניות הדרושות לסינתזת הפרוטאין, ומשמש גם כתווית בה מוכרת החומצה.

ציור 26 מביא באופן סכמאטי את הקשר בין המולקולות והתהליכים הקשורים לתהליך סינתזת הפרוטאין. בגרעין התא ה DNA משמש כמבנה עליו נבנים הריבונוקלאוטידים וה mRNA נוצר. סדר הבסיסים בשרשרת ה mRNA משלימים את הסדר בחלק המבנה של ה DNA בו השתמשו.



ציור 26. סכמה כללית למעבר מידע ולסינתזת הפרוטאין.

7.3 הקוד הגנטי

ראינו שיש ארבעה בסיסים שונים במולקולת ה-DNA. כמו כן, סדר בסיסים אלו בשרשרת ה-DNA צריכה להגדיר במדויק את סדר 20 החומצות האמיניות בשרשרת הפרוטאין. כיון שמספר הבסיסים קטן ממספר החומצות האמיניות, לכן, קבוצות שונות של בסיסים יוצרות את הקוד הגנטי "מילים" לחומצות השונות. כמה בסיסים דרושים בכדי ליצור את מילת הקוד ב-DNA הקובעת את החומצה הספציפית? מספר זה צריך להיות גדול משנים, כי ארבעה בסיסים יכולים ליצור רק 4^2 או 16 זוגות. מספר המילים אינו מספיק בכדי להגדיר בנפרד את 20 החומצות האמיניות. מילות הקוד יכולים להיות מורכבות משלושה בסיסים שלהם 4^3 או 64 קומבינציות מוגדרות, מספר זה יותר ממספיק בכדי להגדיר במדויק את 20 החומצות האמיניות.

הקומבינציה של שלושה בסיסים המגדירה חומצה אמינית נקראת קודון (codon). למשל, הקודון המורכב השלושה אורצילים, UUU ספציפי לפנילאלאנין, והקודון UCU ספציפי לסריין. אבל, יש 64 קודונים עבור 20 חומצות אמיניות. אפילו נחסיר את הקודונים UAA, UAG ו UGA המשמשים כקודונים "עוצרים" המסיימים את הפרוטאין, עדין יש מספר קודונים אפשריים ל 20 חומצות אמיניות. לכן אומרים שהקוד מנוון, כאשר יותר מקוד אחד מגדירים את אותה חומצה אמינית. טבלא 2 מציגה את הקודים הגנטיים.

הסיבה לניוון בקוד עבור רוב החומצות האמיניות מוסברות כך: ראשית, בלי ניוון נצטרך להניח שיש 20-64 או 44 קודים עוצרים. כתוצאה מכך מוטציות או שגיאות במבנה יובילו לפרוטאינים קצרים ולא יעילים. שנית, הניוון מתרחש בין קודונים דומים מאוד, ולכן, אפילו נוצרות שגיאות, הפרוטאין שיווצר עדין יוכל לקיים את תפקידו המיועד. יתרון נוסף לניוון הוא בכך שהוא מאפשר להרכב הבסיסים ב-DNA להשתנות בטווח רחב מבלי להגביל את יכולת ה-DNA להגדיר חומצה אמינית מסוימת..

ידיעת הבסיס המולקולארי של הגנטיקה בשנים האחרונות (פרויקט הגנום) יצרה נושא חדש "ביולוגיה מולקולארית" נושא שהוא מחוץ למטרת הרצאה זו. אבל, ההתקדמות העצומה בנושא הביאה לויכוחים מדעיים ואחרים על "מהם הגבולות שעלינו לשים לניסיונות העלולים לגרום ליצירת חיים חדשים".

טבלא 2. הקוד הגנטי של הבסיסים ב mRNA עבור סינתזת של פרוטאינים.

קבוצת ה OH 3' בבסיס הסופי	הבסיס האמצעי				קבוצת ה OH 5' בבסיס ההתחלתי
	G	A	C	U	
U	Cys	Tyr	Ser	Phe	U
C	Cys	Tyr	Ser	Phe	
A	Stop	Stop	Ser	Leu	
G	Trp	Stop	Ser	Leu	
U	Arg	His	Pro	Leu	C
C	Arg	His	Pro	Leu	
A	Arg	Gln	Pro	Leu	
G	Arg	Gln	Pro	Leu	
U	Ser	Asn	Thr	Ile	A
C	Ser	Asn	Thr	Ile	
A	Arg	Lys	Thr	Ile	
G	Arg	Lys	Thr	Met*	
U	Gly	Asp	Ala	Val	G
C	Gly	Asp	Ala	Val	
A	Gly	Glu	Ala	Val	
G	Gly	Glu	Ala	Val*	

* לעיתים משתמשים בקודונים AUG ו GUG מקודונים התחלתיים.

מטבוליזם הוא סכום כל התהליכים שמספקים אנרגיה לתא. האנרגיה מאוחסנת בקשרי הפוספט ב אדנוזין טריפוספט (ATP). כאשר פעילות התא צריכה אנרגיה, האנרגיה משתחררת ע"י העברת פוספט מה ATP, נוצר אדנוזין דיפוספט (ADP) ויון פוספט (P) העובר לפאזה המימית. ה ATP נוצר ע"י שחרור אנרגיה בתהליך המטבוליזם. בעיקר דרך התהליך של פוספורילציה חמצונית (oxidative Phosphorylation). בשלב ראשון מתחזר הניקוטין אדנין דינוקלאוטיד (nicotine adenine dinucleotide, NAD⁺) ל NADH. בשלבים נוספים אלקטרונים מה NADH עוברים דרך שורה של נושאי אלקטרונים כגון פלאבינים (flavins) וציטוכרומים (cytochromes), ובסופו של התהליך חמצן (O₂) נחזר למים (H₂O). במשך תהליך זה ADP הופך ל ATP. החומצות השומניות שמקורן בשומן מתקצרות בשלבים בשתי יחידות פחמן ויוצרות את ה אצטיל קואנזים A (acetyl coenzyme A, A acetyl CoA). קרבوهידרטים (carbohydrates) כמו סוכר ועמילן עוברים הידרוליזה לגלוקוזה (glucose). הגלוקוזה עוברת דרך מנגנון Embden-Meyerhof ונוצרת חומצה פירובית (pyruvic acid), אשר יכולה להתחמצן ל CO₂ ול acetyl CoA. שני אטמי הפחמן ב acetyl CoA מתחמצנים ע"י מחזור קרבס לחומצה ציטרית (Krebs citric acid cycle) ל CO₂, האנרגיה המשתחררת מאוחסנת כ ATP.

פרוטאינים נוצרים ע"י קומבינציה של חומצות אמיניות, המחוברות יחד דרך קשרים אמידיים (amide bonds). מכירים 20 חומצות אמיניות שונות. המבנה הראשוני של פרוטאינים נקבע ע"י הרצף הליניארי של החומצות דרך הקשרים האמידיים. מתארים את המבנה השניוני של פרוטאינים (1) סליל אלפא ימני (right-handed α-helix) (2) צורת משטח בתה (β-pleated sheet form) (3) סליל אקראי (random coil). המבנה α מיוצב ע"י קשרי מימן בין חומצות האמיניות עוקבות. המבנה β מיוצב גם הוא דרך קשרי מימן בין חומצות אמיניות הבאות לסירוגין, בסליל האקראי קשרי המימן אינם מסודרים בסדר כלשהו. למרבית הפרוטאינים המבנה העיקרי הוא מבנה α. המבנה השלישוני של פרוטאין נוצר דרך צורת התקפלות שרשרת הפרוטאין והנותנת את הצורה המרחבית הסופית של הפרוטאין. לקשרי המימן וקשרי הדי סולפיד (disulfide bonds) חשיבות רבה בקביעת המבנה הסופי של הפרוטאין. לבסוף, המבנה ברביעוני הוא אוסף של מבנים שלושונים היוצרים קומפלקסים של מקרומולקולות.

מידע גנטי מאוחסן בגנים (genes), המורכבים מחומצה דאוקסיריבונוקלאית (deoxyribonucleic acid, DNA). מידע זה אצור בסדר של הבסיסים הפוריניים (purine bases) והפירימידיניים (pyrimidine bases) בחומצות הגרעין. חומצת גרעיו היא פולימר הנוצר ע"י חיבור בין הבסיסים, דאוקסיריבוז ואסטריום פוספטיים הנקראים נוקלאוטידים (nucleotides). DNA הוא סליל כפול (double helix) בהם הנוקלאוטידים הפוריניים מתחברים באופן ספציפי לנוקלאוטידים הפירימידיניים. כאשר DNA משתכפל, השרשרת הפולינוקלאוטידית נפרדת; הנוקלאוטידים חופשיים מתחברים לבסיסים בשרשראות ועוברים פולימריזציה לתת שתי מולקולות DNA זהות.

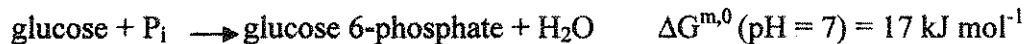
משתמשים במידע הגנטי ב DNA ליצור פרוטאינים. הנשאים הפעילים בתהליך זה הם שלוש חומצות ריבונוקלאיות: mRNA, rRNA, ו tRNA. ה rRNA נמצא בריבוזומים (ribosomes) שם מתרחשת סינתזת הפרוטאין. mRNA מעתיק את הקוד הגנטי ומתחבר ל tRNA המוביל את החומצה האמינית המבוקשת כדי ליצור את הפרוטאין. הקוד הגנטי נוצר מחיבור של שלושה בסיסים הנקראים קודונים (codons). כל 64 הקודונים האפשריים הנוצרים ע"י ארבעת הבסיסים בכל אחת משלושת העמדות מתייחסת לאחד מ 20 החומצות האמיניות או לקוד סיום השרשרת הפרוטאינית. קוד זה אושר סופית והשתמשו במולקולות mRNA סינטטיות כדי ליצור פרוטאינים.

תרגילים

(1) השלב הראשון במטבוליזם של גלוקוזה היא הריאקציה



חשב את $\Delta G^{m,0}$ ב $\text{pH} = 7$ עבור ריאקציה זו אם ידועה הריאקציה



(2) מתאר את כל צורות הפוספט במים ב $\text{pH} = 7$. אם קבועי פרוק החומצה הזרחתית H_3PO_4 הם:

$$K_3 = 4.5 \times 10^{-13}, K_2 = 6.3 \times 10^{-8}, K_1 = 7.1 \times 10^{-3}$$

מצא את P_i הוא בעיקר אחד מהתוצרים הבאים H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , או תערובת של שנים מהם.

(3) בהסתמך על ההרצאה, כתוב את נוסחאות המבנה של המולקולות הבאות:
(א) גליצרול (ב) D-גלוקוזה (ג) חומצה פירובית (ד) חומצה לקטית.

(4) המנגנון של Embden-Myerhof יוצא את יון הלקטת (lactate) בתנאים אנאירוביים (ללא חמצן) או את יון הפירובט (pyruvate) בתהליך מטבולי בנוכחות חמצן במנגנון קרבס (Krebs).

(א) הבא בחשבון כל שלב במנגנון ללא חמצן (אוויר) וקבע את יצירה נטו של ATP לכל מול של גלוקוזה. במילים אחרות, און את הריאקציה:



* וקבע את x ע"י סיכום כל שלב בציר 10.

(ב) בנוכחות חמצן (אוויר) ודרך השרשרת המתוארת בציר 3, יש גם יצירה של NADH, וכל NADH יכול ליצור שלוש מולקולות ATP. בנוכחות חמצן (אוויר) און את הריאקציה:



(5) היכן מוצאים ריאקציה של חמצון-חיזור במנגנון של Embden-Myerhof

(6) קבועי הפרוק של חומצות בעלות אופי ביולוגי ניתנים תמיד כערכים של pK_a . ערכים אלו עבור אלנין הם 2.35 ו 9.83.

(א) הפוך ערכים אלו ל K_1 ו K_2 והשווה אותם לערכי החומצה האצטית (CH_3COOH) ויון האמוניום (NH_4^+)

(ב) השתמש במטענים הנמצאים בחומצות אמיניות ב $\text{pH} = 7$ כדי להסביר מדוע הערך של K_1 גדול מזה של החומצה האצטית וערכו של K_2 קטן מזה של יון האמוניום.

(7) השרשרת הצדדית עם ערך pK_a הקרוב ביותר ל 7 הוא של היסטידין ($\text{pK}_a = 6.00$). השווה ערך זה עם הערך 7.00 של יון האימידזוליום (imidazolium). לשרשרת הצדדית בהיסטידין יש אותו מבנה טבעת כמו לאימידזול. הסבר מדוע ערך ה pK_a של הטבעת קרוב ל 7 כאשר ההיסטידין הוא חלק משרשרת פרוטאין ולא ה pK_a של החומצה האמינית.

8) בצירור 15 סליל ה- α מראה קשרי מימן בין הקבוצה N—H של חומצה אמינית לבין הקבוצה C=O בחומצה אחרת. כמה חומצות אמיניות מפרידות בין קשרי המימן? חשב ע"י ספירת מספר קשרי C=O בין חנקן והקשר המימני שלו ל C=O.

9) שלושה פורנינים ושלושה פירימידינים מרכיבים את ה DNA ואת ה RNA. אלו מהם נמצאים ב DNA ואלו ב RNA.

10) הקוד הגנטי מבוטא ע"י קודון של שלושה בסיסים ע"י הקצה 5' של ה mRNA. בצירור 18 חלק ממולקולת ה mRNA, אם התחלת הקודון הייה מתואר בצירור, האם הקודון היה מתחיל בפורין או פירימידין?

11) נתון קטע קצר של mRNA עם הקודון 5'!UAU!CUA!AAA!3'. מה יהיו החומצות האמיניות בפרוטאין ההולך ונבנה?

12) אחת השיטות לקביעת הקוד הגנטי היא להכין mRNA סינטטי ולראות איזה פרוטאין מתקבל. אחד הניסויים הראשונים שנעשו היה להכין mRNA שהכיל רק אורציל (poly U mRNA) במילים אחרות כל הקודונים היו UUU. איזו שרשרת פרוטאנית נוצרה?

(1) -14 kJ mol^{-1}

(2) תערובת של H_2PO_4^- עם HPO_4^{2-}

(3) א) $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$ (ב) ראה פרק 4 ג) CH_3COCOOH ד) $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$

(4) א) $x = 2$ ב) $y = 8$

(5) הריאקציה החמישית והאחרונה.

(6) א) (1.8×10^{-5}) , (4.5×10^{-3}) , (5.6×10^{-9}) , (1.5×10^{-10})

(7) ב) כאשר פרוטון עוזב את הקבוצה הקרבוקסילית (COOH) נוצר בחומצה אניון, כאשר הדבר נעשה בחומצה אמינית הוא משאיר אחריו חומצה אמינית עם מטען חיובי. כאשר NH_4^+ מפסיד פרוטון נשארת מולקולה לא טעונה NH_3 . כאשר הקבוצה האמינית בחומצה אמינית מפסידה פרוטון החומצה שנשארת טעונה שלילית.

(7) המטענים על החומצות האמיניות אינם מתקיימות בפרוטאין ולכן ה pK_a של קבוצת האימידזול בפרוטאין דומה לזה של האימידזול החופשי.

(8) ארבעה

(9) RNA : A, G, U, C DNA : A, G, T, C

(10) פורין

(11) Lys, Leu, Tyr

(12) שרשרת המכילה פנילאלאנין בלבד (פולי פנילאלאנין).