

סיכומים בביולוגיה של התא | חלק א'

גישות מחקר ותרביות רקמה

המחקר הביולוגי החל על יצורים שלמים חד תאיים וחיות, כיום נמנעים לעבוד על חיות מלבד לשם הפקת נוגדנים. בשנים האחרונות החלו מדענים לעבוד על תרביות רקמה ותרביות תאים, אך העבודה אתם קרובה לסיוס ומתקרבים לסיוס הבנה של תא יחיד וצריך לחזור לעבוד על חיות שלמות.

לשם הכנת תרבית ראשונית של רקמה לוקחים רקמות מחיה צעירה (בדרך כלל חולדה), אנו לוקחים את הלב ומפרקים אותו לתאים יחידים על ידי ריסוק הלב והוספה של האנזים טריפסין המפרק את רקמת החיבור, כתוצאה מכך מקבלים תאים יחידים הניתנים לגידול. קיימים שני סוגים של תרביות רקמה הנפוצה היא זו שבה התאים גדלים על משטח קשה, על צלחת גדלים התאים והצלחת משמשת כמצע של רקמת חיבור (בגוף התאים גדלים על מצא של רקמת חיבור מלבד תאי הדם הגדלים בתרחיף ללא רקמת חיבור שזה הסוג השני של תרבית רקמה). בנוסף לכך צריך תווך עשיר המכיל בנוסף לחומצות אמינו גם סרום והסרום הנפוץ ביותר הוא הדם ללא תאי הדם והטוב ביותר הוא מעובר של פרה, הסרום מספק לתאים פקטורים הדרושים לגידול.

קיימות שתי דרכים למוות של תאים האחת היא פגיעה בתא הגורמת לפרוק והרס התא, דבר הנקרא נקרוזיס Necrosis, ומוות מתוכנת שנקרא אפופטוזיס Apoptosis. מתברר שאין תא שמוכן לחיות לבד ושהוא לבד הוא מתאבד זהו המוות המתוכנת, ההתאבדות היא על ידי הפעלה של אנזימים מיוחדים המפרקים את ה-DNA ומכינים את התא למצב בו הגוף "יטרוף" אותו, ההכנה מתבטאת בחילוק התא למקטעים קטנים. בסרטן ניפגע מנגנון זה של התאבדות התא והתא ממשיך לגדול עם הנזקים. מנגנון ההתאבדות חיוני להתפתחות העוברית שלנו בעזרת מנגנון זה נוצרות למשל אצבעות, הם נוצרות על ידי התפתחות של גוש ואז יש הוראה לתאים מסויימים להתאבד ונוצרים החללים בין האצבעות.

בסרום קיימים פקטורים המונעים את התאבדות התא, האריטרופואטין Erythropoietin הוא פקטור המאפשר לתאים לשגשג, הוא גורם לעליה בכמות תאי הדם האדומים ובכך עולה יכולת הפעילות של הגוף.

ככל שהרקמה צעירה יותר היא מתחלקת יותר ויותר קל לגדל אותה, לאחר כמה ימים של גידול מפצלים את התרבית (הפיצול של התרבית הוא בעצם מיהול שלה) ומחליפים את התווך כיוון שהוא מתמלא בחומרי הפרשה. את התאים ניתן גם להקפיא אך צריך למנוע היווצרות גבישי קרח כי אז לאחר הפרשה של התאים נקבל תאים מתים (נפח הקרח גדול מנפח המים ולכן יצירת קרח תיקרע את התאים). בכדי למנוע זאת צריך חומר שיגרום למים לקפוא בגבישים קטנים, חומר זה הוא DMSO. את התאים הקפואים נהוג להחזיק בטמפרטורה של חנקן נוזלי, בטמפרטורה זו הם מסוגלים לחיות שנים אך לא ללא הגבלה, בעזרת הקפאה ניתן לשמור תאים בודדים ועוברים (כלומר צברים קטנים של תאים לאחר כמה חלוקות).

תאים של אדם גדלים כ-50 דורות ואז מפסיקים להתחלק (דור זה חלוקה אחת), כלומר המקסימום הוא 2^{50} (1,125,899,906,842,624) תאים. משערים כי הפסקת הגידול של התאים ומותם קשור להזדקנות.

תרבית רקמה שניונית (או תרבית קבועה) היא תרבית שהתאים בה עברו טרנספורמציה סרטנית והם יכולים להתחלק ללא הגבלה. סוג ראשון של סרטן שבודד הוא HeLa והוא בודד ב- 1952 מרחם של אישה, תאים אלו גדלים במעבדות והם ימשיכו להתקיים עוד שנים רבות. התאים הסרטניים במעבדה משמשים לעבודה רוטינית כי הם נוחים לעבודה. תאי הסרטן שומרים על חלק מהתכונות שלהם וככל שהם יותר תוקפניים הם יותר דומים לתאים העובריים.

בניגוד לבני אדם תאים של מכרסמים פועלים בצורה שונה, הקבוצה זו נפוצים עכברים ואוגרים, כשמגדלים תאי אדם קצב הגידול עולה לאחר ההתאוששות מהטריפסין ואז הם חיים 50 דורות ומתים בעוד במכרסמים רוב התאים מתים במעבר ואלו ששורדים מתחלקים במהירות ללא הגבלה, כלומר חלק מהתאים עוברים טרנספורמציה ומקבלים את היכולת להתחלק ללא הגבלה.

רקמה לעיבוד מכילה תאים מסוגים שונים, הפיברובלסט Fibroblast הם תאים של רקמת חיבור והם יוצרים סיבים של קולגן Collagen.



תא בתרבית רקמה נצמד לצלחת הפטרי והוא מאוד שטוח חוץ מאזור הגרעין התא גם מסוגל לנוע קצת (בעת החלוקה מפרקים התאים את השלד התוך תאי וכתוצאה מכך מתעגלים זמנית). כאשר מגדלים את התאים בצורה מהולה אז מקבלים מושבות, בכמויות גדולות יותר של תאים התאים מתחלקים ויוצרים מרבד שטוח ואז מפסיקים להתחלק לכך קוראים Contact Inhibition כלומר המגע אחד עם השני משמש כסיגנל להפסיק להתחלק וכך נוצר משטח תאים רציף, בלי שאף תא יעלה אחד על השני. בכדי שהתאים ימשיכו להתחלק צריך לפרק את החיבור עם טריפסין ואז להפריד אותם לצלחות נפרדות ואז הם ממשיכים להתחלק.

לתאים סרטניים לא קיים המצב של Contact Inhibition והם ממשיכים להתחלק וליצור שכבות, בנוסף הם מתחילים לאבד את צורתם ולהיות דומים לתאים עובריים, כך מקבלים מוקד של תאים סרטניים.

ניתן לגדל תאים שונים לדוגמה תאי אפיתל של כליה גדלים עד מצב של Contact Inhibition ומקבלים מצא רצוף וכיוון שאלו תאי אפיתל אין רווח בניהם. את התאים הללו מגדלים על פילטר שהוא מצע של פלסטיק עם חורים. על ידי הוספת פילטר משני צדי הרקמה ניתן לראות איך פועלת רקמה, הצד העליון של הרקמה פונה לחלל הנפרון והנפרון שואב מומסים לצד השני, האפיתל הוא אסימטרי וכך ניתן לחקור טרנספורט. עוד דוגמה היא תאים של שריר שגדלים בנפרד יוצרים סיבים קצרים לאחר שהם מתרבים ניתן להרעישם והם עוברים איחוי לסיבים גדולים בעלי יכולת התקבצות. ודוגמה נוספת היא תאים מלב של חולדה המגודלים במצע יוצרים משטח ואז בלי להוסיף דבר נוסף עובר סיגנל מאחד התאים לכל שאר התאים וכולם מתקבצים.

מיקרוסקופיה

כשמדברים על מיקרוסקופ מדברים על הגדלה ועל כושר הפרדה, בעין כושר ההפרדה הוא כ- 0.2mm כלומר ניתן להבחין בשני נקודות כנפרדות כשהמרחק בניהם הוא מינימום 0.2mm, במיקרוסקופ אור גודל ההפרדה הוא 0.2µm שזה הגבול המקסימלי התיאורטי ולא נוכל לראות דברים קטנים מזה. כדי להתגבר על הפרדה של מיקרוסקופ אור עוברים למיקרוסקופ אלקטרוני ולו כמעט ואין גבול תיאורטי כלומר ההגבלה היא טכנית ובדרך כלל משתמשים בהפרדה של nm במיקרוסקופ אור ניתן לראות תאים ואברונים גדולים כמו הגרעין והגולג'י.

במעיי הדופן הפנימית פונה פנימה לחלל המעי בבליטות הנקראות וילוס Villus ביחיד או Villi ברבים (סיס בעברית), ה-Villus הוא קיפול של האפיתל לתוך החלל, בהגדלה של תאי אפיתל אלו רואים כי הם בעלי שני צדדים, על הצד הפונה למעי יש מיקרווילי Microvilli. במיקרוסקופ אלקטרוני סורק ניתן לראות את שטח הפנים של התא ואת המיקרווילי, במיקרוסקופ אלקטרוני חודר ניתן גם לראות את התא והמיקרווילי אך לא את שטח פני התא.



צורה נוספת של מיקרוסקופיה משתמשת במיקרוסקופ אור משוכלל ובצביעה פלורסצנטית של הדוגמה וכך ניתן להבחין בפרטים רבים, בתאי אפיתל בצביעה פלורסצנטית אנו רואים כי הצד האפיקלי Apical לא ניצבע אך הצד הבאזולטרלי Basolateral צבוע בצהוב, מה שניצבע בעצם זה המעביר של גלוקוז GLUT2 והוא קיים רק בצד הבאזולטרלי.

מיקרוסקופ אלקטרוני דומה למיקרוסקופ אור רק שמקור ה"אור" שלו הוא חוט להט המעביר אלקטרוני והעדשות הם אלקטרו מגנטים המסיטים את עלומת האלקטרוני. במיקרוסקופ אלקטרוני סורק עוברת קרן האלקטרוני וסורקת את הדוגמה לקבלת תמונה על מסך בעוד שבמיקרוסקופ אלקטרוני חודר עוברת קרן האלקטרוני דרך הדוגמה כמו במיקרוסקופ אור.

מיקרוסקופ רגיל צריך דגם צבוע וברוב המקרים זה אומר דגם מת וכדי לראות תאים חיים משתמשים במיקרוסקופים הנקראים מיקרוסקופי פאזות והם פועלים על התאבכות אור, מיקרוסקופי נומרסקי Nonarski הם מסוג זה אך הם נותנים תמונה חדה יותר משאר מיקרוסקופי הפאזות רגילים.

המיקרוסקופים הנפוצים ביותר הם מיקרוסקופים המשתמשים בפלורסצנציה, בהם מאירים על הדגם הצבוע בצבע פלורסצנטי באור UV, הצבע הפלורסצנטי בולע את האור ופולט אור באורך גל ארוך יותר וזהו האור הפלורסצנטי הוא מועבר דרך פילטר המונע מאור לא פלורסצנטי לעבור וכך מתקבלת תמונה ברורה. לפלורסצנציה יש רגישות גבוהה הנותנת אפשרות לראות מולקולות בודדות. מיקרוסקופ אלקטרוני קונפוקלי Confocal נותן תמונה חדה ביותר על ידי שימוש בלייזר לשם צפייה בחתכים בתוך התא וכמו כן לאתר מיקום של חלבונים בתוך התא.

במיקרוסקופ אלקטרוני חודר ניתן לראות רק עצמים דקים את שאר העצמים צריך לחתוך את החיתוך מבצעים על ידי זכוכית שבורה או יהלום המכשיר שחותך נקרא אולטרה מיקרוטום UltraMicrotome בו הדוגמה נעה ונפרסת על ידי הסכין (זכוכית שבורה או יהלום). בכדי לחתוך את הדגם הוא צריך להיות קשה ואת זה עושים על ידי הכנסת הדגם לאפוקסי, לתוך הדוגמה מכניסים מונומרים של אפוקסי לכל מקום בו היו מים ואז לאחר קיבוע מפלמרים את האפוקסי ומקבלים את הדגם הקשה (בשביל דוגמה למיקרוסקופ אור משתמשים בשעווה). את הדוגמה החתוכה מניחים על רשת נחושת והאלקטרוני עוברים דרך החורים ברשת.

בכדי למקם דברים בדגימה אנו משתמשים בנוגדנים, קיימים מספר סוגים של נוגדנים אך כשאנו מדברים על נוגדן לרוב הכוונה ל-Ig6 (Imionu glubolin). לנוגדן יש שני אתרים זהים המזהים את האנטיגן (אתרים אלו שונים בין אנזימים שונים) וחלק קבוע המחבר את האזורים הללו וניקרא גזע, האזור בין הגזע לאזורים האחרים הוא מאוד דק. הנוגדן ניקשר לאנטיגן ובמידה ועליו יש יותר מאתר אחד המתאים לקישור נוצרת אגרגציה.

אנו משתמשים בנוגדנים כצבע ספציפי ואנו לא רוצים אגרגציה כי היא יכולה לגרום לשינויים בדוגמה, לכן אנו משנים את הנוגדן על ידי פפאין (Papain) (אנזים פרוטוליטי המצוי בפפאיה) אנזים זה מסוגל לשבור רק את הצייר המחבר בין החלקים, כתוצאה מכך אנו מקבלים 3 חלקים: החלק הקבוע ושני חלקים בעלי אתר קישור, כלומר קיבלנו מולקולה הנקשרת לאתר אחד ולא יוצרת אגרגציה. כאשר מבצעים את החיתוך עם האנזים פפסין (Pepsin) מקבלים פרוק של החלק הקבוע ושני החלקים בעלי אתרי הקישור נשארים מחוברים זה לזה. לחלקים הנקשרים לאנטיגן בנוגדן מפורק קוראים Fab.

כאשר רוצים לקבל נוגדנים לחלבון מסוים אנו מזריקים אותו לארנבון (ארנבת אמריקאית) כיוון שזו חיה נוחה לעבודה, בכמויות קטנות יותר משתמשים בעכברים ובכמויות מסחריות אז לעז או לסוס. כאשר החלבון מוזרק לחיה תאי דם לבנים מתאימים מתרבים ונוצרים נוגדנים אך הם לא מספיקים לחיסון אמיתי, חלק מתאי הדם הלבנים יוצרים נוגדנים ומתים ויש כאלו שנשארים להתחלק והם תאי זיכרון. בהזרקה השנייה של החלבון יש זיכרון ונוצרים יותר נוגדנים כי התגובה חזקה יותר ולכן מזריקים לפחות פעמיים, נוגדנים אלו הם נוגדנים רב שבטיים (Poly Clonal).

הנוגדנים מגיבים נגד אנטיגנים רבים דבר המסוגל להוות הפרעה, בנוסף כל ארנבת מגיבה בצורה שונה ושארנבת מסיימת את חייה צריך ארנבת אחרת ולכן אין הספקה בלתי פוסקת של נוגדנים, דבר זה חשוב גם לאבחון רפואי.

הפתרון הוא נוגדנים חד שבטיים (Mono Clonal), את נוגדנים האלו מפיקים על ידי הזרקת החלבון לעכבר מספר פעמים ולאחר מכן מוציאים לו את הטחול ומשם את תאי הדם הלבנים (לימפוציטים B) שמיצרים נוגדנים. אם נשים את תאים אלו בתרביות הם ימותו ולכן לוקחים תאים סרטניים מאותו סוג ומבצעים איחוי (Fusion) של שני התאים, התוצאה היא תא המסוגל ליצור נוגדנים ולהתרבות ללא הגבלה, את התאים הללו שמים בצלחת עם 96 בארות כך שבכל באר יש תא יחיד שיכול להמשיך להתחלק, כך מקבלים קו תאים (Cell Line) (תרבית) הנובע מתא יחיד.

כדי לבצע צביעה אנו לוקחים את הנוגדנים הרב שבטיים ומדגירים אותם עם תא ואז הם נצמדים לתא לאחר מכן אנו שוטפים את העודף, לאחר השטיפה אנו לוקחים נוגדן שניוני שהוא נוגדן מסחרי המכיר את הנוגדן הראשון והוא מסומן בצבע פלורסצנטי ושוב מבצעים שטיפה של עודפים, הנוגדן השניוני מכיר מספר אתרים על הנוגדן הראשון וכך מקבלים הגברה של הצביעה.

את הנוגדן השניוני מקבלים על ידי הזרקת הנוגדן של העכבר (הנוגדן הראשוני) לעז וכך מקבלים את הנוגדנים, במיקרוסקופים אלקטרוניים במקום צבע פלורסצנטי משתמשים בכדורי זהב הנצמדים לנוגדן שניוני. בנוסף להגברה הנוגדנים השניוניים זולים והחיבור האקראי של כדור הזהב או הצבע יכול לסתום את האתר הפעיל ובנוגדנים שניוניים ההפסד הכספי כתוצאה מכך הוא נמוך יותר מאשר ההפסד מאיבוד נוגדן ראשוני.

הפקת אברונים (ממברנת פלזמה ER גרעינים מיטוכונדריות וכו')

אנו לוקחים תאים ושוברים אותם בהתאם למה שרוצים להפיק, יש שיטות שבירה שונות כמו בלנדר ומכתש. לאחר השבירה אנו מקבלים אברונים שלמים ופיסות ממברנה כלומר ה-ER (הרטיקולום האנדופלזמטי) הגולג'י וממברנת הפלזמה נקרעים לחתיכות וברוב המקרים חתיכות אלו נסגרות ללולאות (Loops) הנקראים

מיקרוזומים Microsome. ההפרדה של המיקרוזומים מתבצעת על ידי צנטריפוגה למהירות נמוכות שמקררת את האברונים כדי שלא יעברו דנטורציה מהחום. באולטרה צנטריפוגה שהיא בעלת מהירויות גבוהות של 70,000-100,000 סיבובים לדקה יש וואקום כדי למנוע חיכוך עם האוויר שיביא לחימום, בנוסף יש דפנות עופרת ופלדה למקרה בו הרוטור מתפרק אז שהחלקים לא יצאו מהצנטריפוגה.

בשלב הראשון לאחר ריסוק רקמה מיונק מקבלים תרחיף אשר אותו מסננים מחלקים שלא התרסקו, לאחר מכן מסובבים במהירות נמוכה (600g) במשך 10 דקות כתוצאה מכך שוקעים הגרעינים שהם הכבדים ביותר. בשלב הבא מסובבים את הדגימה ב- 15,000g ל- 5 דקות ואז מופרדים מיטוכונדריות, כלורופלסטים, ליזוזומים ופרוקסיזומים. בשלב הבא מסובבים ב- 100,000g למשך שעה וכתוצאה מזה מקבלים את ממברנת הפלזמה, מיקרוזומים של ER ופולי ריבוזומים גדולים. בשלב הבא מסובבים ב- 300,000g למשך שתיים וכך מקבלים מרכיבים ריבוזומליים ופולי ריבוזומים קטנים, מה שנישאר זה ציטוזול.

כדי לקבל דגימה של אברונים מאוד נקיים אז מפרידים אותם לפי צפיפות וזה על ידי גרדיאנט לא רציף עם תמיסת סוכרוז בריכוזים שונים כך שהצפופה ביותר למטה ועליה מניחים בזהירות את השכבות הבאות כדי למנוע התערבבות, מעל השכבות מוסיפים את הדוגמה ושמים בצנטריפוגה אשר מאיצה ומאיטה לאט כדי למנוע ערבוב של השכבות לתקופה ארוכה כמו לילה. החומרים בדוגמה נעים לאורך הגרדיאנט ונעצרים בצפיפות שלהם ביו שתי מדרגות בעלות צפיפות שונה וכך מקבלים אזורים נקיים של אברונים ספציפיים.

להפרדה טובה יותר מייצרים גרדיאנט רציף ולא מדורג כך שהצפיפות למטה גבוהה יותר מזו שלמעלה ובניהם גרדיאנט רציף, במקרה זה כל אברון מגיע לצפיפות שלו לאחר זמן מה, לדבר זה קוראים צנטריפוגת שיווי משקל ובה ההפרדה נעשית על ידי גודל וצפיפות. בסוף ההפרדה מנקבים חור בכלי ואוספים כל פרקציה במבחנה נפרדת.

בכדי לקבל ממברנות פלזמה נקיות לחלוטין לוקחים תאי דם אדומים מיונקים (משתמשים גם במנות דם של בני אדם שפג תוקפם), תאי הדם האדומים של יונקים מאבדים כמעט את כל האברונים ביציאה ממח העצם וכך מקבלים ממברנה שבה יש בעיקר המוגלובין. ההפרדה של הממברנה מתבצעת על ידי מיהול של התאים האדומים מה שגורם לניפוחם, את המיהול מבצעים בעדינות כדי למנוע פיצוץ אבל שהיה ליזיס עדין כתוצאה מחור בממברנה. בעקבות הליזיס יוצא רוב ההמוגלובין ומקבלים ממברנה ששומרת על המבנה הבסיסי שלה, את הממברנות מדגירים ואז נסגרים החורים ומקבלים מה שמכונה צללית Ghost.

במידה והמיהול של תאי הדם האדומים לא מבוקר הם מתפוצצים ונוצרות שלפוחיות משני סוגים: כאלו שהממברנה שלהם מסודרת כמו בתא המקורי וכאלו שהממברנה נסגרת הפוך In Side Out. כיוון שהממברנה לא סימטרית אנו יכולים להפריד את השלפוחיות. כאשר מוהלים תאים רגילים בתרבית בנוזל היפו-אוסמוטי אז ממברנת הפלזמה מתנפחת ונפרדת מהתא ואם שוברים בעדינות מקבלים בעיקר ממברנת פלזמה.

בכדי לבדוק את מידת החדירות של הממברנות הדגירו תאי אצות בתמיסות של חומרים שונים וצפו בהתנפחות התאים כיוון שאם חומר מסוים חודר לתא לאחריו חודרים מים להשוואת ריכוזים וזה מה שמנפח את התא. מכאן קצב ההתנפחות הוא פונקציה לקצב החדירות. האפשרות האינטואיטיבית הראשונה היא שהחדירות

היא ביחס לגודל ושהממברנה היא בעצם מסננת ועוברים בה חלקיקים רק עד גודל החורים. אך הדבר התגלה כ-לא נכון.

לאחר מכן נבדקה ההידרופוביות על ידי הכנסת חומר לבקבוק המכיל חצי מהנפח שמן זית והחצי השני מים, את הבקבוק נייערו ולפי מיקום הימצאות החומר כך ההידרופוביות שלו כיוון שקבוע החלוקה הוא היחס בין המסיסות בשמן למסיסות במים, הם גילו כי כל החומרים האורגניים מופיעים בגרף על קו אחד. המים עצמם אינם הידרופובים אלא הם הידרופילים אך הם חודרים בקלות דרך הממברנה.

מניסוי זה גילו כי ההידרופוביות היא זו שקובעת את החדירות והממברנה מורכבת מליפידים, לאחר מכאן הגיעו למסקנה שהפוספוליפידים הם היעילים ביותר להוות את המחסום הקרוי ממברנה (המקור הזול ביותר לפוספוליפידים בעולם הוא מסויה אמריקאית). הפוספוליפידים הם מולקולות אמפיפטיות Amphipatic כלומר בעלי ראש הידרופילי וזנב הידרופובי. כאשר מכניסים פוספוליפידים למים הם מסתדרים כך שראשם במים והזנבות באוויר כך שבסופו של דבר מקבלים חד שיכבה Monolayer.

בשלב הבא של חקר הממברנות ניסו לחשב כמה חד שיכבה של פוספוליפידים יש סביב תא, בהנחה כמובן שסביב תא יש חד שיכבה, הם לקחו תאי דם אדומים מיצו את הפוספוליפידים וקבעו את השטח של החד שיכבה שנתקבל, לאחר מכן הם חישבו את שטח הפנים של התא ולפי החישוב יצא שסביב התא יש שתי חד שיכבה כלומר דו שיכבה Bilayer. עם הזמן התברר כי הייתה להם טעות כפולה הם לא לקחו את כל הפוספוליפידים אך הם גם טעו בחישוב השטח כך שהתוצאה התקזזה וקיבלו את התוצאה הנכונה.

בשלב מאוחר יותר התברר כי בממברנה יש גם חלבונים שונים ולפי זה הגיעו למודל של מעין סנדביץ של הדו שיכבה המכוסה משני צדדיו בחלבונים. מודל זה קיבל אישור בהתחלה וגם במיקרוסקופיה הוא אושר, אך עם הזמן החלו להופיע סיבות ששללו מבנה זה כמו ממברנת המיטוכונדריה שעל פי מודל זה היא בעיקר חלבונים ולא פוספוליפידים. ב-1972 הוצא המודל המוכר היום. מודל זה Floide Mojaike הוא מודל של מוצק נוזלי וחלבונים עוברים דרך הממברנה, כיום יודעים שחלבון הממברנה בנוי מקטעים ציטופלזמטיים גדולים ומאזורים חוצי ממברנה.

בתאי שומן יש טריגליצרידים אשר נמצאים גם בכל התאים האחרים. מספר תאי השומן בגוף קבוע והשומן ממלא תאים אלו, השומן כולו הידרופובי ולכן הוא נמצא בטיפות למרות שהטריגליצרול הוא הידרופילי ביחד הם הדרופוביים והם נפרדים מהמים ויוצרים טיפות. שמן הוא נוזלי בטמפרטורת החדר ומקורו בצומח ושומן הוא קפוא (מוצק) בטמפרטורה זו והוא נובע מהחי.

הפוספוליפיד הנפוץ ביותר הוא פוספטידיל כולין PC, הוא נמצא בכל הממברנות שלנו. הוא בנוי מגליצרול שאליו קשורות שתי חומצות שומן יש לו קבוצה זרחתית (פוספט) וקבוצה של כולין (השם הקודם שלו הוא לציטין). הפוספטידיל כולין הוא אמפיפטי כך שכל הראש הידרופילי והשרשראות (הזנבות) הידרופוביות. החומצה הזרחתית על הפוספטידיל כולין טעונה שלילית ב- PH פיזיולוגי והכולין טעון חיובית באותו PH כך שמקבלים מולקולה ניטרלית. בין שתי השרשראות יש שרשרת אחת רוויה והשנייה לא רוויה (בעלת קשר כפול). ככל שהשרשראות ארוכות יותר הפוספטידיל כולין מוצק יותר וקופא בטמפרטורה גבוהה יותר וזאת בגלל קשרי הו.ד.ו. (ואן דר ואלס). כל קשר כפול מכניס עיוות כיוון שהוא במבנה ציס וככל שיש

יותר קשרים כפולים נקודת הקיפאון יורדת כי יש יותר הפרעה ופחות קישרי ו.ד.ו בין השרשראות.

הפוספוליפיד השני הכי נפוץ מכיל אתנול אמין במקום הכולין ולכן שמו פוספוליפידיל אתנול אמין. בנוסף לפוספוליפידים נטראלים יש גם פוספוליפידים חומציים כמו הפוספוליפידיל סרין אך אין פוספוליפידים בסיסיים.

בכמות קטנה הפוספוליפידים במים יוצרים חד שיכבה ורק כאשר שטח הפנים לא מספיק נוצרת הדו שיכבה, בנוסף נוצרים מבנים בהם כל הראשים הדו שיכבה פונים למים ומקבלים וסיקולות (שלפוחיות) המכילות בתוכם מים וגם מחוץ להם. מבנה נוסף של דו שיכבה שנוצר הוא ממברנה החוצצת בין שני אזורים, ממברנה יכולה להיות בשתי מצבים מצב קפוא או נוזלית ואז המצב יותר מורכב. אנו רואים כי בתוך הממברנה התווך נעשה יותר קרוב לנוזל אורגני ואילו בקצוות הוא יותר מוצק.

כל פוספוליפיד בממברנה מסוגל להסתובב סביב עצמו וסביב פוספוליפידים אחרים, תנועה זו היא תרמית כלומר הם נעים על ידי תנועה תרמית מהירה ותוך פחות משניה הם יכולים להיות בצד השני של התא. לעומת זאת לעבור מחד שיכבה אחת לשנייה בדו שיכבה זה תהליך איטי כיוון שבו צריך לעבור ראש הידרופילי דרך הממברנה ההידרופובית תהליך זה יכול לקחת שעות ונקרא Flip-Flop (דלג-לג).

ממברנת הפלזמה היא אסימטרית כלומר הרכב הפוספוליפידים בחד שיכבה החיצונית שונה מזה שבחד שכבה הפנימית, אצלנו הפוספוליפידיל כולין נימצא בעיקר בחוץ והפוספוליפידיל סרין נימצא בפנים. אחד הסימנים לאפוסטזיס (התאבדות התא) הוא שהתא מאבד את אי הסימטרייה של ממברנת הפלסמה והפוספוליפידיל סרין מופיע בחד שיכבה החיצונית. לא ידוע בדיוק ממה נובעת אי הסימטרייה אך יש אנזים שתפקידו להעביר פוספוליפידים משכבה אחד לשנייה והוא נקרא Flippase ותפקידו לשמור על אי הסימטריה.

במצב נורמלי הממברנות מתפקדות במצב חצי נוזלי בין המצב הקפוא לחלוטין למצב הנוזלי לחלוטין. בדגים אשר נעים בין אזורים חמים וקרים הממברנה נשמרת חצי נוזלית על ידי שינוי במבנה הממברנה, כך שבאזורים טרופיים נוספות חומצות שומן בלתי רוויות לממברנה והשרשראות מתקצרות ובמקומות קרים מתארכות השרשראות ונוצרות חומצות שומן רוויות כדי להגדיל את כוחות ו.ד.ו.

מרכיב נוסף בממברנה הוא כולסטרול בעל שרשרת אליפטית הכולסטרול נימצא בין שרשראות חומצות השומן והוא מסודר כך שה-OH שלו בקשר מימן עם החומצה הקרבוקסילית של חומצה השומן. הכולסטרול מפריע לגיבוש הממברנה וממתן את המעבר מנוזל למוצק וההפך.

חלבוני הממברנה נחקרו בתאי דם אדומים שמהם עשו צללית רגילות ושלפוחיות בכיווניות הפוכה, לאחר שטיפת הממברנה מהמוגלובין והמסת החלבונים ב-SDS המפרק את החלבון עד מבנה ראשוני ונספח לחלבון ומעניק לו מטען שלילי (לכל החלבונים מלבד חריגים), את קשרי ה-SS מחזרים על ידי β מרקפטו אתנול ואז מריצים את הממברנה בג'ל פולי אקריל אמיד לפי הגודל. ככל שהמולקולה קטנה יותר היא רצה מהר יותר ושוקחים ממברנות של תאי דם אדומים מקבלים מספר פסים בג'ל ובעזרת הרצה בשני ממדים ניתן להגיע למאות פסים.

בממברנה נשארים חלבונים שלא נמסים ממנה אלו הם חלבונים אינטגרלים ובנוסף יש חלבונים פרפריאלים שהופכים למסיסים רק כשהם מתנתקים מהממברנה. חלבונים אלו משמשים לשלד התא. החלבון האינטגרלי הנפוץ בתאי דם של אדם הוא Glycophorin הוא חלבון נושא פחמימות, הוא מורכב מחלק אחד חוצה ממברנה ובנוסף יש חלק ציטופלזמטי וחלק חיצוני ובו קשורים האוליגוסכרידים.

חלבון הממברנה הראשון שזוהה הוא בקטריו רודופסין Bacteriorhodopsin המצוי בחיידקים, חלבון זה הוא בעל צבע סגול ומסוגל לבצע פוטוסינתזה, בחיידקים המקיימים פוטוסינתזה חלבון זה מהווה חלק גדול מהממברנה ומכיל 7 קטעים חוצי ממברנה ולכן קל לגבשו.

מרצף החלבון ניתן לבדוק עם הוא ממברנלי ואם כן אז כמה פעמים הוא חוצה את הממברנה וזאת על ידי בדיקת מידת ההידרופוביות של חומצות האמינו. כאשר את תוצאות אלו אנו מציירים בסכמה אנו מקבלים קווים גבוהים לחומצות הידרופוביות (ככל שהחומצה יותר הידרופובית הקו יותר גבוה) ושליילים לחומצות הידרופיליות. כאשר מוצאים רצף על קטע של 20 חומצות אמינו הידרופוביות (במבנה α הליכס) אז זהו קטע חוצה ממברנה. בצורה זו לא ניתן לדעת מה נמצא בתוך התא או מחוץ לתא אך ניתן לדעת איזה חלק חוצה את הממברנה, אך אם יש חלק אליו יכולים להיקשר אוליגוסכרידים אז הוא מחוץ לתא. בחלבון הקרוי רודופסין מרבית החלבון הוא חוצה ממברנה ויש מעט לולאות קטנות בציטוזול ומחוץ לתא.

בממברנה יש מספר סוגי חלבונים: אחד הוא חלבון אינטגרלי החוצה פעם אחת את הממברנה, סוג שני הוא חלבון אינטגרלי החוצה מספר פעמים את הממברנה, סוג נוסף של חלבון אינטגרלי קשור לממברנת הפלזמה מבפנים בעזרת חלק של חומצה שומנית הקשורה לחלק ה- N טרמינלי ומעגנת את החלבון לממברנה, סוג נוסף של חלבונים אינטגרלים נקשר הקצה ה- C טרמינלי לפוספוליפיד הנקרא PI (פוספטידיל אינוזיטול). חלבונים נוספים הם חלבונים של השלד התוך תאי הקשורים מבפנים לחלבונים טרנס ממברנליים וחלבונים שקשורים לחלבונים טרנס ממברנליים מחוץ לתא.

הממברנה מבחינת חלבונים היא אסימטרית לחלוטין כלומר כל חלבון בממברנה נמצא במספר מקומות רב וכל העותקים של אותו חלבון נמצאים באותה אוריינטציה כיוון שכל חלבון כזה הוא בעל כיווניות החשוב לפעולתו.

כשרוצים לבדוק חלבון ממברנלי אנו רוצים חלבון מנוקה, אך שמוציאים חלבון ממברנה הוא עובר אגרציה ולכן אנו משתמשים בדטרגנטים אמפיפטיים, במקרה של SDS הזנב הוא שרשרת אליפטית של 12 פחמנים (דודוציל) והראש הוא סולפט. ההבדל בין הדטרגנטים לפוספוליפידים הוא בפרופורציה, בדטרגנטים הראש הפולרי גדול מהזנב האפולרי, מבנה זה של הדטרגנט יוצר מבנים של מיצלות שזה מבנה לא יציב ונמצא בשיווי משקל עם מולקולות דטרגנט מסיסות, לעומת זאת ליפידים יוצרים מבנים דומים אך יציבים כי הם בנויים מדו שיכבה לו קוראים ליפוזום Liposome.

אם ניקח פוספוליפידים ונוריד להם שרשרת אחת נקבל משהו הדומה לדטרגנט וזה ה- Lysopce, את הורדת השרשרת עושה גם ארס של נחש ובכך הוא גורם לפרוק ממברנות של תאים על ידי יצירת מבנים לא יציבים (ארס הנחש מבצע זאת על תאי דם אדומים). אם נוסיף SDS לממברנה הוא מפרק אותה ומקבלים מיצלות משני סוגים האחת בנויה מפוספוליפידים ודטרגנטים והשניה היא מיצלה מעורבת בה

החלבון המפורק מוגן על ידי דטרגנטים. ה- SDS הוא דטרגנט טוב המפרק הכל את אס חשובה הפונקציה של החלבון אותו אנו רוצים אז משתמשים בדטרגנטים אחרים או במספר דטרגנטים עדינים וכך מקבלים מיצלות מעורבות והחלבון שרוצים לא נפגע. כאשר יש חלבון חוצה ממברנה שיש לו אזורים משני צדי הממברנה רק האזור שהיה בממברנה מוקף בדטרגנט לאחר פרוק הממברנה.

בעזרת שיטה זו נמנעת תופעת האגרציה, לאחר מכן לוקחים את מיצלות אלו ומוסיפים להם ליפידים ומסלקים את הדטרגנטים כך יוצרים ליפוזום שבממברנה שלו יש חלבון ולתהליך זה קוראים שיחזור. את הדטרגנטים מסלקים בדיאליזה שזה סינון בממברנות עם נקבים המאפשרים מעבר רק למולקולות דטרגנט חופשי והמיצלות, החלבונים והליפידים לא יכולים לצאת וכך מקבלים את הליפוזומים.

נשאלת השאלה האם בממברנה קיימת אפשרות תנועה חופשית של חלבונים? (ברור כי החלבון לא יכול להתהפך אלא במקרים מיוחדים בלבד כיוון שהממברנה היא אסימטרית) כדי לבדוק זאת לקחו שני תאים אחד של עכבר והשני של אדם וביצעו איחוי של שני התאים וקיבלו תא אחד הנקרא כימרה המכיל שני גרעינים. לאחר חלוקת התא קיבלו גרעין אחד עם כרומוזומים רבים ולאחר מספר חלוקות מאבדים את הכרומוזומים של האדם ונשארים רק אלו של העכבר.

את האיחוי של התאים מבצעים על ידי נגיף סנדיי Sunday שעובר איחוי עם שתי הממברנות בו זמנית ובכך הוא מחבר אותם לקבלת תא אחד עם ממברנה אחת. ממברנת התא החדש היא מחצית של עכבר ומחצית של אדם ושמדגירים את התאים רואים כי הליפידים מתערבבים תוך שניות ונשאר לעקוב אחרי החלבונים, את המעקב הזה עושים על ידי צביעה של החלבונים בצבע פלורסצנטי על ידי נוגדנים, את הנוגדנים לחלבונים של העכבר קיבלנו מארנבון שאליו הם הוזרקו והם נצבעו בירוק ואת הנוגדנים לחלבון של האדם קיבלנו מארנבון אחר והם נצבעו באדום.

את הנוגדנים בדקו על תאים רגילים ובכך נפתרו מנוגדנים משותפים על ידי שטיפה של הנוגדנים לתאי עכבר עם עודף ממברנות של אדם ואז לממברנות האדם נצמדים הנוגדנים המשותפים ונשארים בנוזל העליון בכלי רק נוגדנים לחלבונים של עכבר בלבד. אנו משתמשים בנוגדני Fab (מפורק) ולא בנוגדנים שלמים בכדי שהנוגדן לא יתפוס שני חלבונים צמודים וימנע מהם לנוע.

את התאים המאוחדים צובעים מיד לאחר האיחוי ומקבלים חצי אדום וחצי ירוק, אם מחכים כשעה ואז מוסיפים את הנוגדנים (עדיף כיוון שבמצב הראשון אנו בודקים תנועה של חלבון שעליו יש נוגדן ולא תנועה של חלבון בלבד) אז רואים את ההתערבבות. אנו רואים לפי ניסוי זה כי כל החלבונים חופשיים לנוע בממברנה.

אחת הביקורות החשובות לניסוי זה היא עיכוב של יצירת החלבונים כי אז יכולים להיות חלבונים חדשים שיווצרו ויגיעו לכל אזור בממברנה ונקבל תוצאה דומה לערבוב, לכן את הניסוי מבצעים באנטיביוטיקה שגורמת למניעת יצירת חלבונים חדשים.

כיום ידוע כי תוצאת ניסוי זה אינה נכונה, מה שהתקבל בניסוי זה הוא ארטיפקט Artifact שזה אומר שהתוצאה שקיבלנו לא אמיתית אלא נעשה על ידנו. במקרה זה הארטיפקט נובע מהנגיף שמאחה את התאים, כיום ידוע כי החלבונים חופשיים לנוע אלא אם כן משהו מונע מהם, כך שבעצם רוב החלבונים לא חופשיים לנוע כי הם קשורים לשלד התא המונע את תנועתם, הנגיף שנוסף לאיחוי משתמש בפרוטאזות

לשחרור חלבוני הממברנה משלד התא בזמן חיבור התאים כתוצאה מכך הממברנות להיות יותר נוזליות ומתאפשרת תנועת החלבונים.

בממברנה יש בעיקר שני סוגי חלבונים האחד הוא מעביר אניונים והשני נושא פחמימות. כל חלבוני הממברנה מעוגנים בשלד התא, בתאי דם אדומים שלד התא בנוי מסיבים המונעים לחלוטין תנועה של חלבונים בעוד שבתאים אחרים יש אפשרות למספר חלבונים לנוע בממברנה.

כדי לקבוע אילו חלבונים נעים עושים ניסוי בתרבית בצלחת אשר עובר סימון בחומר פלורסצנטי, לאחר הצביעה מאירים עם לייזר בעוצמה מאוד גבוהה עיגול קטן לתהליך זה קוראים Bleaching והוא גורם להרס הצבע, במיקרוסקופ עיגול זה נראה שחור, לאחר מכן בודקים כמה זמן לוקח לכתם להעלם, העלמות הכתם תלויה בדיפוזיה של תנועת החלבונים, אם החלבונים חופשיים הם יכסו את הכתם במהירות ואם הם לא חופשיים הוא יישאר שחור, אם ההחזרה בצבע לכתם היא של 50% אז מחצית מהחלבונים חופשיים לנוע והשאר לא.

באפיתל מכליה של כלב מקבלים אפיתל רצוף שממנו ניתן לחקור טרנספורט בכליה, האפיתל מחולק לשניים מבחינת הממברנות יש ממברנה בצד הבזולטרלי והיא שונה מהממברנה בצד האפיקלי. בתאי האפיתל יש Tight Junction שמהווה חיבור בין שני תאים סמוכים הוא נמצא מתחת למיקרו ווילים ובו נמצא המחסום בין חוץ התא לתוכו והוא זה שמחלק את התא לשני חלקים. חשיבות ה - Tight Junction היא בזה שכך לא יכולים חומרים לעבור בין התאים רק דרכם שזה תנאי הכרחי לפעילות האפיתל. מבחינת הממברנות הממברנה בצד האפיקלי והממברנה בצד הבזולטרלי הם משני סוגים שונים של ממברנות פלזמה.

בין הממברנות של שני תאים צמודים יש מעין תפרים שהם כתוצאה מחלבונים ממברנליים הנמצאים על שני התאים ותפקידם למנוע מעבר של מומסים בין התאים ולחלק את התא לשני החלקים. עם חושפים את האפיתל לנוזל צבוע מצדו הבזולטרלי רואים כי הצבע מגיע עד ה - Tight Junction אך לא מסוגל לעבור אותו.

בנוסף יש מבנים שתפקידם הוא להפוך את האפיתל לרקמה על ידי כיסוי התא והקניית חוזק מבני בעזרת שלד תוך תאי משוטף ומבנים שמחברים את השלד התוך תאי של תאים שכנים. ה - Desmosome הם מחברים בין תאים סמוכים והם מחברים בניהם על ידי סיבים וחלבונים משני התאים זה הוא קישור מכני.

בנוסף קיימים Gap Junctions שהם מבנים עגולים המאפשרים מעבר של חומרים מציטוזול של תא אחד לשני, המעבר המתאפשר הוא של חומצות אמינו נוקלאוטידים וחומרים קטנים עד 1000MW. מבנים אלו הם תעלות של חלבונים אינטגרליים היוצרים ביחד תעלת מעבר בין תאית. הדבר יעיל לעזרה של תאים אחד לשני כלומר אם תא זקוק לסיוע אז התאים השכנים יסיעו לו, מתקבל כאן מצב של מעין ציטופלזמה משוטפת לכל התאים באפיתל. כאשר תא ניכנס למצוקה קשה התאים השכנים סוגרים את התעלות ומתנתקים מהתא הגוסס כדי שהוא ימות לבד ולא יפגע בתאים הסובבים אותו. הסימן לסגירת התעלה הוא בעליית יוני הסיידן בתא האפיתל או ירידה ב - PH שלו.

טרנספורט

הרכב התאים והרכב סביבתם שונים זה מזה והתאים שנמצאים בסביבה משתנה צריכים לדעת איך להתמודד עם השינויים. במערכת קליטת סוכרים בחיידק

לדוגמה, חיידק החי על לקטוז בו נבדק קצב קליטה של לקטוז בחיידק. השיטה הרגילה לבדיקה היא הכנת תרחיף של תאים ובזמן אפס להוסיף לקטוז מסומן רדיואקטיבי בריכוז של 0.2mM ולמדוד אחרי פרקי זמן שונים את כמות הגלוקוז שנכנס לתא, זאת על ידי שטיפה סירכוז בצנטרפוגה והפרדת הנוזל המתאים. במצב של טרנספורט פסיבי מקבלים שיווי משקל שבו הריכוז בפנים ובחוץ שווה, כלומר קצב הכניסה זהה לקצב היציאה ולמראית עין נראה כי המעבר הפסיק.

כאשר נעקוב אחרי כניסת הגלוקוז בתאים נקבל עקום שכמעט ולא מגיע לפלטו, הגלוקוז ברגע כניסתו לתא הוא פוגש באנזים הקסוקינאז (מסלול הגליקוליזה) המזרחן אותו, הגלוקוז 6 פוספט אינו מסוגל לצאת מהתא ומקבלים מעין פקטור אקטיבי, אך לא כך הדבר כיוון שהגלוקוז מפורק בגליקוליזה וכדי לבדוק את תופעת הטרנספורט נטו אנו משתמשים בדאוקסי גלוקוז שלו חסר OH והוא לא עובר גליקוליזה אך מידת הטרנספורט שלו זהה לגלוקוז. בכדי לבדוק אם אנו בודקים רק טרנספורט ולא טרנספורט ומטבוליזם אנו צריכים לבדוק את החומרים המסומנים ואם יש חומרים מסומנים שונים ממה שהוכנסו אז יש גם מטבוליזם ואם לא אז יש רק טרנספורט.

במידה ובתא הריכוז גבוה מבחוץ, אז החומר יצא מהתא לאזור החוץ תאי. מה שקובע את שיווי המשקל זה לא הריכוזים האבסולוטיים אלה יחסי הריכוזים, כך ש $\Delta G = RT \ln([S_m]/[S_{out}])$, כשיש בחוץ 0.2mM ובפנים 10mM בטמפרטורה של 37°C אז $\Delta G = 2.32 \text{ kcal/mol}$ כלומר צריך להשקיע 2.32kcal בכדי להכניס מול של חומר פנימה. בחומרים יונים נכנס איבר חשמלי לחישוב כיוון שכל הממברנות טעונות והמתח שלהם הוא בין -0.06 ל -0.1 וולט, ואז הנוסחה ל $\Delta G = RT \ln([S_m]/[S_{out}]) + ZFV_m$ כך ש -Z הוא מטען F הוא קבוע פאראדיי ו v_m הוא פוטנציאל הממברנה.

רוב התאים קובעים את המטבוליזם עם הטרנספורט ולא משקיעים אנרגיה כדי לשמור על איזון ריכוזים והטרנספורט פסיבי, לעומת זאת ריכוז היונים העיקריים שונה מבפנים ומבחוץ שהמשותף הוא שריכוז האשלגן גבוה בתאים ואילו ריכוז הנתרן גבוה בנוזל החוץ תאי, הנוזל החוץ תאי דומה בהרכבו למי ים ומכאן הוכחה שיש קשר בין מקורנו לים.

מבחינת שיווי המשקל לפי הריכוז האשלגן רוצה לצאת מהתא (ΔG שלילי), אך מטען הממברנה השלילי מבפנים וחיובי בחוץ דוחה את יוני האשלגן במידה חזקה יותר מהשפעת הריכוזים כך ששיווי המשקל נובע לא רק מהריכוזים אלה גם מהפוטנציאל. בניגוד לאשלגן הנתרן שואף להיכנס לתא גם מבחינת מטען וגם מבחינת ריכוזים, את הרצון הזה להיכנס התא מנצל למערכות טרנספורט. הכלוריד רוצה להיכנס לתא מבחינת ריכוזים אך הוא נידחה מפאת מטען.

המטען השלילי בתא שמאזן את הקטיונים נובע מחלבונים וחומצות גרעין ואין באפשרותם לצאת מהתא. ליון המגנזיום כמעט ואין תפקיד בטרנספורט כיוון שריכוזו כמעט שווה בפנים ובחוץ. לעומתו יון הסידן נמצא בחוץ בריכוז של 18mM ובפנים אפסי יחס ריכוזים אדיר זה נמצא רחוק מאוד ממצב שיווי משקל, ולכן אם מאפשרים לו להיכנס פנימה הוא ינוע במהירות. תופעה זו מקנה ליוני הסידן את היכולת לשמש כשליחים משניים. שריכוז הסידן בתא עולה על 1 מיקרומולר התא מייד מוציא אותו (אבל הוא צריך להוציא רק 1 מיקרומולר).

יש מספר סוגים של טרנספורט מטרנספורט פסיבי לטרנספורט אקטיבי ואקטיבי משני. הטרנספורט הפשוט ביותר הוא על ידי דיפוזיה דרך הממברנה, כאשר בודקים

חומרים שונים רואים קורלציה בין הידרופוביות לכניסה וקיימת השפעה שלילית של גודל כלומר ככל שחומר הידרופובי יותר וגדול פחות כניסתו טובה יותר, אנו רואים בממברנה כמחסום לחומרים הידרופיליים. ככל שהחומר יותר הידרופובי הוא ירצה להישאר בממברנה ולכן ריכוזו שם היה גדול יותר מבתמיסה המימית, ברוב הממברנות נוצר גרדיאנט שקובע את קצב המעבר דרך הממברנה.

חוץ מחומצות שומן וויטמינים כל החומרים לא עוברים דרך הממברנה, גזים חודרים דרך הממברנה באופן חופשי. חומרים מרדימים שהם הידרופוביים כמו כלורופורם אתר וחנקן נכנסים לממברנה ונשארים בה, חומרים קטנים כמו אוראה ואתנול נכנסים דרך הממברנה על אף היותם הידרופוביים חלשים (אתנול בריכוז של מעל 50% גורם להרס הממברנה על ידי פירוקה). מים נכנסים באופן חופשי למחצה, במקומות בהם מים צריכים לעבור במהירות יש תעלות מים, למים יש אפשרות לעבור כל ממברנה גם ממברנה המורכבת מליפידים בלבד. גלוקוז, יונים, חומצות אמינו, ATP ומטבוליטים שונים לא עוברים דרך הממברנה.

סוג טרנספורט נוסף הוא מעבר פסיבי לאורך מפל ריכוזים אך בעזרת חלבונים לדוגמה ה-Gap Junction שהוא תעלה המאפשרת מעבר של חומרים עד גודל של 1000mW. דבר דומה קיים גם בממברנה החיצונית של המיטוכונדריה שהיא לא משתתפת בתהליכי אנרגיה ובכך היא דומה לממברנה של חיידקים מסוג גרם נגיב שבהם הממברנה החיצונית חדירה.

החלבון פורין Porin נמצא בריכוז גבוה ויוצר Pors שאלו נקבים, תעלות כך שכל תעלה היא חלבון טרנסממברנלי שבמרכזו חור הנוצר ממבני β Sheet המקיפים אותו הוא מאפשר כניסה ללא סלקציה של חומרים עד 1000MW, אלו הם מעברים חריגים כיוון שרוב המעברים הם ספציפיים.

לדוגמה הנשא המעביר גלוקוז הוא חלבון בעל 12 קטעים טרנסממברנלים. חומר אנטיביוטיקה Valinomycin הוא הנשא הנפוץ ביותר בטבע הוא מופרש מפטריות בכדי להרוג חיידקים הגדלים עליהם, החומר נראה כטבעת הדומה לפפטיד שמאפיין אותה, הנקב במרכזו מתאים בדיוק ליון אשלגן והוא טעון שלילית יחסית כך שיון האשלגן שניכנס נכנס בדיוק למקומו. החלק החיצוני של הטבעת הוא הידרופובי ומסיס מאוד בממברנה ובה הוא נע בחופשיות וכך מקבלים ממברנה שבתוכה טבעת להעברת יוני אשלגן.

כאשר בצד אחד של הממברנה יש יוני אשלגן אז הטבעת מגיעה לצד הזה ואליה ניכנס יון אשלגן, לאחר מכן הטבעת נעה לצידה השני של הממברנה ושם מתנתק יון האשלגן וכך הממברנה הופכת לחדירה ליוני אשלגן. בהתחלה המעבר הוא חד כיווני כיוון שבצד אחד יש ריכוז גבוה יותר אך לאחר זמן מה מקבלים מעבר דו כיווני חלקי (המעבר מצד אחד לשני לא שווה למעבר ההפוך) עד שיווי משקל ואז המעבר הוא דו כיווני שווה (שיווי המשקל תלוי בריכוזים ובמתח). בניגוד לדיפוזיה רגילה זו היא דיפוזיה ספציפית והיא מגיעה לרוויה, בדומה לאנזימים לריאקציה יש K_m ו- V_{max} שהוא פונקציה לכמות הוולינומיצין.

המעברים בגוף שלנו פועלים לפי אותם עקרונות אך המנגנון שונה לדוגמה הטרנספורטר של גלוקוז הוא חלבון גדול העובר 12 פעמים דרך הממברנה, הוא לא מסיס בה כמו הוולינומיצין אך מבחינה קינטית הם זהים, החלבון הנשא ניקשר לגלוקוז מבחוץ ואז חל שינוי קונפורמטיבי והוא נסגר כלפי חוץ ונפתח כלפי פנים ואז הגלוקוז משתחרר פנימה ואז חוזר החלבון לקונפורמציה הרגילה. לא ידוע איך מתרחש השינוי ומה בדיוק המבנה כיוון שעדיין לא הצליחו לגבש את החלבון זה.

אצלנו בגוף יש שני סוגים של מעבירים: נשאים ותעלות. הנשאים מעבירים את המטבוליטים, גלוקוז, חומצות אמינו וכו' ואילו התעלות מעבירות יונים.

דוגמה לתעלה זה חומר הנקרא גרמיצידין Gramicidin הוא מופרש מפטריות כדי להרוג חיידקים, תעלה זו היא פפטיד המסודר כהליכס אמפיפטי, הקצה ה-C טרמינלי הוא קצה הידרופילי, החלבון ניכנס לממברנה וצף בה כך שהקצה ההידרוקסילי שלו יוצא החוצה. החלבון הוא קצר ולא עובר דרך כל הממברנה, לאחר מכן מתרחש פליפ פלופ למספר עותקים של החלבון ומקבלים שני חלקים חופפים החופשיים לנוע בממברנה ושהם נפגשים נוצרת תעלה לאחר החיבור הם נפרדים. אם יש מספיק מולקולות גרמיצידין נוצרות תעלות רבות ויונים יכולים לעבור מצד אחד לשני וכל פעם שנוצרת תעלה כמות היונים העוברים גדולה מאוד (כיוון שהתעלה פתוחה).

תעלה זו מעבירה קטיונים באופו חופשי וללא הבחנה אך לא אניונים כי יש מטענים שמונעים זאת, אם נבנה תא אלקטרוכימי עם ממברנה ללא חלבונים לא יעברו יונים ולא נקבל זרם כלל, כשנוסיף גרמיצידין נקבל תעלות ובעקבותם זרם שיעלה וירד כיוון שהתעלות לא קבועות עם נוסף עוד גרמיצידין יתכן ויותר מתעלה אחת תהיה פתוחה כל פעם ונקבל שינויים רבים יותר בזרם, עם נסים כמות רבה מספיק של גרמיצידין נקבל זרם רצוף כי תמיד תהיה תעלה פתוחה אך הזרם ישתנה בעוצמתו.

את התעלות יותר קל לזהות מאשר חלבונים כיוון שהתעלות הן נמצאות תחת בקרה. אם ניקח תאי דם אדומים ונמלא אותם בגלוקוז בריכוז גבוה ואז נעביר אותם לאזור עם מעט גלוקוז מסומן ונשווה לתאי דם אדומים שלא מולאו בגלוקוז אנו נראה כי בתעלה יש עיכוב של מעבר גלוקוז מבחוץ פנימה, הסיבה לכך היא שבאותה תעלה יוצא הגלוקוז מהתא החוצה וכל מולקולה שצריכה להיכנס צריכה לנוע נגד הזרם וזה מעכב אותה. לעומת זאת בנשא הנשאים עובדים מהר יותר כדי לסלק את הגלוקוז מהתא ובכך הם מכניסים גלוקוז מסומן בזמן המעבר, הפעילות מהירה יותר כיוון שהגלוקוז שבפנים מאיץ את ההגעה של הנשא לצד השני, ניתן להמשיך מצב זה לדלת מסתובבת כך שיש זרם של יוצאים המזרז את סיבוב הדלת ואז מי שמגיע לדלת מבחוץ ניכנס במהירות בגלל סיבוב הדלת.

בנוסף לטרנספורט הפסיבי שעליו דיברנו עד כאן קיים גם טרנספורט אקטיבי, הטרנספורט האקטיבי הבסיסי ביותר מזורז על ידי ATPase והנפוץ ביותר הוא הסודיום פוטסיום ATPase (Na^+/K^+ ATPase), הוא נמצא בממברנת הפלזמה ועל כל פרוק ATP הוא מוציא 3Na^+ ומכניס 2K^+ , למשאבה זו תפקיד חשוב בפעילות הכליה, העצבים ובשאר התאים (בכל התאים זה אותו סוג של ATPase).

את המשאבה הזו ניתן להפיק ממקורות שונים אשר בהם הוא נמצא בכמות רבה, לדוגמה דג החשמל (שמקורו באמזונס) שעל גופו יש מקורות חשמל המסוגלים להפיק מתח של עד 100mV לכל תא, כך שמכת החשמל הכללית של דג זה היא כ- 600V. מקור נפוץ נוסף למשאבות אלו הוא בלוטות מלח של כריש.

אם לוקחים את החלבון הזה (Na^+/K^+ ATPase) ומשחזרים אותו לתוך ליפוזומים ניתן לבדוק את פעולתו שהיא על ידי צימוד של פרוק ATP ל $\text{ADP} + \text{Pi}$ לכניסת ויצאת היונים. אם אין יונים בפנים או בחוץ המשאבה לא תעבוד ולא היה פרוק של ATP. הסובסטרט ל- ATPase הוא ATP ומגנזיום ואילו ללא המגנזיום ה- ATPase לא עובד כלל.

המנגנון של עבודת ה- Na^+/K^+ ATPase הוא בקשירה של 3 יוני נתרן ושל ATP בתוך התא, בשלב הבא ה- ATP מתפרק ל ADP ופוספט אך הפוספט לא משתחרר אלא נשאר קשור לקבוצה אספרטית בחלבון ומורחק מהמים באתר בתוך החלבון בעקבות כך לא משתחררת האנרגיה שלו, לאחר מכן יש שינוי קונפורמציה ושלושת יוני הנתרן עוברים לצד השני, בעקבות השינוי הפוספט שנשאר קשור נחשף למים, בשלב הבא נקשרים שני יוני אשלגן ומשתחררים שלושת יוני הנתרן, אז משוחרר הפוספט והאנרגיה שמתקבלת מחזירה את החלבון למצב הראשון אך שהפעם שני יוני האשלגן כלפי פנים ואז הם משתחררים.

עד מחצית מכמות ה- ATP בתא מנוצלת על ידי משאבת ATPase (מסוגים שונים) בכל תא יש שתי משאבות Ca^{2+} ATPase האחת בממברנת הפלזמה והיא מוציאה יוני סידן אל מחוץ לתא והשניה ב- ER והיא גם מוציאה יוני סידן מהציטוזול אך לתוך ה- ER, ה- ER מהווה מצבור של יוני סידן, בשני המקרים ה- Ca^{2+} ATPase גורם לאיזון ריכוז יוני הסידן המשמשים לבקרה בתא.

כדי שיוני הסידן ישמשו לבקרה ריכוזם צריך לעלות על ידי פתיחה של תעלות סידן ב- ER ובממברנת הפלזמה כתוצאה מכך נכנסים יוני סידן לתא, עוד לפני סגירת התעלות קיימת העבודה של Ca^{2+} ATPase כלומר המשאבה פועלת כל הזמן.

ה- ATPase מסוג זה מורכב משני תת יחידות האחת קטנה והידרופובית (תפקידה לא ידוע) ותת יחידה גדולה שהיא המשאבה. בהתחלה ניקשר הסידן לשני אתרים בתוך החלק שבציטופלזמה, לאחר מכן יש קישור ל- ATP העובר הידרוליזה בדומה למה שקורה ב- Na^+/K^+ ATPase, כלומר הפוספט נשאר בתוך כיס המרוחק מהמים כך שלא מקבלים את ניצול האנרגיה עד השלב הבא בו משתחררת האנרגיה תוך שינוי קונפורמציה והאתרים שקשורים לסידן יוצאים החוצה והאפיניות שלהם יורדת והם משתחררים, לאחר מכן משתחרר הפוספט והחלבון חוזר לצורתו המקורית.

על כל ATP שמתפרק מעביר ה- Ca^{2+} ATPase שני יוני סידן החוצה, החלבון הזה דומה במבנהו לחלבוני טרנספורטר רבים הוא מכיל 10 אזורים חוצי ממברנה (α הליכס). כל אתר קושר יון סידן מורכב ממספר חומצות אמינו, באזור הציטופלזמטי יש חלק ניכר מהחלבון, חלק זה מכיל 3 אזורים (Domains) גלובולריים האחד קושר את ה- ATP אזור אחר כולל אספרטט שעובר פוספורילציה ואזור שלישי חיוני לקישור בין פרוק ה- ATP לטרנספורטר. ה- ATP ניקשר באזור המרוחק מהאזור שאחראי על המעבר, הסידן ניקשר לאזורים הטרנס ממברנליים.

במידה ונכין ליפוזום ובו שני Ca^{2+} ATPase כך שהכיווניות היא שאחד מכניס יוני סידן והשני מוציא, אנו נראה כי ה- Ca^{2+} ATPase שמכניס את יוני הסידן פעיל אך זה שמוציא אותם לא פעיל כיוון שאין לו ATP לשם פעולה. כאשר יוצרים את הליפוזום כך שבפנים יש יוני סידן רבים ומוסיפים בחוץ ADP ופוספט אז מקבלים ATP כי הסידן יוצא דרך המשאבה ומכאן שהמשאבה דו כיוונית, את התהליך ניתן לזרז על ידי חומרים קולטי סידן Chelator שהמפורסם שבניהם הוא EGTA.

למשפחה זו של ATPase-ות קוראים P-ATPase כיוון שבכולם תהליך השאיבה מלווה בזרחון. מסוג זה כבר דיברנו על Ca^{2+} ATPase ועל Na^+/K^+ ATPase, עוד משאבה מסוג זה קיימת בקיבה והיא מכניסה יוני H^+ לקיבה לשם קבלת $\text{pH}=1$ למשאבה זו קוראים פרוטון פוטסיום ATPase (H^+/K^+ ATPase). אלו שלושת הסוגים העיקריים של משפחה זו שהיא אחת מתוך 4 המשפחות של ATPase-ות הקיימות.

המשפחה הבאה היא ה- F-ATPase שבניהם ה- ATPSynthase שבמיטוכונדריה, משמעות ה- F בשם המשפחה הוא פקטור, ה- ATPSynthase לא עובד כ- ATPase אלא כסינטאז כד שהפרוטונים העוברים דרכו יוצרים ATP מ- ADP ופוספט. סוג נוסף ממשפחה זו קיים במערכת הנשימה של חיידק שם המערכת מוציאה פרוטונים שחוזרים דרך ה- B-F-ATPase (B מסמל בקטריה) וכך נוצר ATP. הסוג השלישי של משפחה זו מצוי בכלורופלסטים שם למראית עין השאיבה הפוכה בתוך שקיות פנימיות שבהם נעשית הפוטוסינטזה והפרוטונים נכנסים לשלפוחיות תוך ניצול האור והגרדיאנט שנוצר מנוצל על ידי C-F-ATPase (C מסמל כלורופלסט) ליצירת ATP.

את ה- ATPase ניתן לתאר כמנוע שמסתובב ויוצר עבודה או כגנרטור שמסובבים אותו באנרגיה ומקבלים "חשמל", ה- F_0 הוא החלק הממברנלי ב- ATPSynthase והוא תעלת פרוטונים הראש שלא הוא מורכב מ- 3 חלקים עם משהו שמסתובב וגורם לשינוי קונפורמטיבי, החלק המסתובב הוא החלק הממברנלי והציר שהוא תת היחידה γ ואילו 3 תת היחידות $\alpha\beta$ קבועות במקומם בעזרת תת היחידות a, b, c, δ אשר מונעים את סיבוב הראש בזמן הסיבוב של $c - \gamma$.

בכדי לבדוק את קצב הסיבוב קיבעו את החלק F_1 (הראש) לזכוכית נושא ועל החלק המסתובב γ חיברו סיב של אקטין בצבע פלורסצנטי, כשהוסיפו ATP החל הסיבוב והיה ניתן לראות במיקרוסקופ פלורסצנטי את סיבוב הסיב, כאשר הורידו את כמות ה- ATP כך שהחלבון עבד "בגיגום" כלומר עם עצירות גילו כי הוא מסתובב כשליש סיבוב בכל פעם.

בתא גרדיאנט הפרוטונים הוא זה שמניע את החלק הממברנלי על ידי זה שהם נכנסים מצד אחד ולאחר סיבוב מסוים הם יוצאים בצד השני. על פי אותו עיקרון פועל השוטון של החיידק, ה"מנוע" מסתובב ומסובב את השוטון הדוחף את החיידק. בתוך הממברנה הפנימית של החיידק מצוי ה"מנוע" המופעל על ידי גרדיאנט פרוטונים ומסוגל לסובב את ה"מנוע" לשני הכיוונים לפי הכיוון אליו רוצה החיידק להגיע, החלק שבממברנה החיצונית הוא "מיסב" (קוגלגר) והוא נותן לשוטון להסתובב בחופשיות.

המשפחה השלישית היא V-ATPase הם דומים ל- F-ATPase במבנה אך הם שואבות פרוטונים לתוך החללים הפנימיים בתא (ליזוזום, ER וכו') אשר להם PH חומצי הנוצר על ידי המשאבה הזו הם התגלו לראשונה בווקואולות של שמרים ומכאן שמם.

המשפחה הרביעית היא ABC טרנספורטרים כך ש- ABC זה ATP Binding Cast, משפחה זו היא המשפחה הגדולה בטבע ובהם יש 4 אזורים (Domains), 2 מהם בתוך הממברנה והם צמודים זה לזה, ו- 2 נמצאים בציטוזול ועל כל אחד מהם יש אתר קישור ל- ATP. טרנספורטרים אלו מצויים בחיידקים ושואבים מטבוליטים תוך פרוק ATP, קיימות מסוג זה גם משאבות ששואבות החוצה כלומר לשם הפרשה של חומרים לא רצויים.

כל המשפחה הזו קיבלה חשיבות בגלל שני חלבונים המצויים באדם, אחד החלבונים קשור במחלת הסרטן ואילו השני במחלת הסיסטיק פיברוזיס (CF), החלבון הקשור בסרטן מקנה עמידות לתרופות אנטי סרטניות. בכדי להרוג את תאי הסרטן אנו משתמשים בהקרנות ובכימותרפיה אך תרופות אלו פוגעות גם בתאים רגילים. התרופות הורגות את התאים על ידי פגיעה במטבוליזם הקשורים להתחלקות או הכפלת ה- DNA, או הרס של המיקרוטובולי על ידי תרופות ובכך נמנעת התחלקות התא (המיקרוטובולי נחוץ לחלוקת התא כיוון שהוא מפריד את הכרומוזומים

בחלוקה). כמו התרופות גם ההקרנות פוגעות לא רק בתאי סרטן אלה גם בתאים רגילים. בין התאים שנפגעים במידה רבה בטיפולים אלו הם תאי הדם הלבנים ולכן הטיפולים הם בהפרשי זמן כדי שתאים אלו התאוששו.

הטיפול למראית עין עובד אבל לאחר זמן מה יש התפרצות מחודשת של המחלה ואז הטיפול לא יעיל כי התאים מפתחים עמידות (עמידות נרכשת), במקרים אחרים יש תאי סרטן עמידים מראש, עמידות זו היא מסוגים שונים. הטיפול בכימותרפיה הוא על ידי קוקטיל של תרופות וזאת כדי להוריד את הסיכוי שהתא יפתח עמידות (כיוון שיש תרופות רבות בקוקטיל רוב הסיכויים שלא תתפתח עמידות לכולם), אך התגלה כי התאים מסוגלים לפתח עמידות להרבה תרופות ומתקבלת עמידות לכל הסדרה של התרופות.

התאים מפתחים עמידות גבוהה מאוד ברוב המקרים והתרופה פשוט לא נכנסת לתא, למרות שתרופות מסוימות לא נוסו בעבר לתאים התפתחה עמידות גם נגדם, תופעה זו נקראת עמידות צולבת והיא נוצרת על ידי משאבה של תרופות השואבת את התרופה מהתא החוצה, כל התרופות הם הידרופוביות ונכנסות לתוך התא, בתא יש משאבה לא ספציפית המוציאה כל חומר הידרופובי החוצה מהתא, לחלבון משאבה זה קוראים P Glyco Protein, למראית עין התרופות לא נכנסות לתא אך במציאות הם נכנסות ומוצאות מיד.

החלבון P Glyco Protein הוא פפטיד ארוך של 1280 חומצות אמינו המכיל 4 Domains : 2 ציטופלזמטיים המפרקים ATP ו- 2 ממברנליים אשר מוציאים חומרים הידרופוביים מהתא. חלבון משאבה זה נמצא באופן טבעי בגוף ובעיקר במעי בכבד ובכליה ותפקידו הכללי הוא להוציא רעלים מהגוף (בעיקר מצמחים ופטריות שאנו אוכלים).

מערכות כאלו לניקוי מרעלים נמצאים בצורה מרוכזת ב- Blood Brain Barrier שמבודד את המוח ומונע מרעלים להגיע אליו. את זה גילו בטעות כאשר רצו לבדוק את תפקיד ה- P Glyco Protein יצרו עכברים ללא חלבון זה והשוו אותם לעכברים רגילים אך לא היה הבדל נראה לעין, לאחר זמן מה הופיעו אקרויות (ג'וקים קטנים) על העכברים ולכן ריססו אותם, כתוצאה מכך מתו העכברים שלהם לא היה את החלבון P Glyco Protein כי לא היה מה שיוציא את הרעלים מהגוף וימנע מהם להגיע למוח.

ה- P Glyco Protein הוא ה- ABC טרנספורטר הראשון שהתגלה והוא זה שמגן על תאי הסרטן מהטיפול התרופתי הקיים היום. לחלבון הזה יש שתי אפשרויות פעולה האחת היא שהתרופה נכנסת לתא נקשרת לחלבון והוא מוציא אותה החוצה או האפשרות השנייה שהמברנה נתפסת בחלבון זה כבר שהיא בממברנה והיא לא מגיעה לציטוזול ואז היא מוצאת החוצה מהתא.

החלבון הזה פועל כפליפאז הוא תופס את התרופה ואז הוא מתהפך ועובר לשכבה השנייה של הממברנה (הממברנה היא דו שיקבה) ומוציא את התרופה. בכבד יש הוצאת חומצות שומן על ידי מנגנון דומה של פליפאז. לגן היוצר את החלבון P Glyco Protein קוראים MDR כיוון שהוא נותן הגנה מפני הקוקטיל הרב תרופתי Multi Drug Resistance.

הגורם השני שהביא לחשיבות משפחה זו של טרנספורטרים קשור למחלה CF, זו היא מחלה תורשתית נפוצה ביותר כ- 1 מתוך 30 הוא נשא של המחלה הרצסיבית הזאת (רק בהומוזיגוט למחלה היא מבוטאת). אורך החיים הממוצע לחולה במחלה

הוא כ - 30 שנה. במחלה זו יש פגיעה בתפקוד הריאות או המעינים או שניהם, הזעה של החולה מלווה, הפגם הוא בהפרשה שיכולה להתבטא בראות שלא מפרישות נוזל ואז יש רגישות לחיידקים כי הראות יבשות, או במעינים שם ההפרשה למים פגומה. הטיפולים כוללים פרוטאוליטיים פיזיותרפיה וכיום גם הכנסת DNase לראות כדי לפרק את ה - DNA של החיידקים שמתים שם.

בעזרת שיטות של ביולוגיה מולקולרית מצאו כי פגם בחלבון השיך ל - ABC טרנספורטר הוא הגורם, החלבון המדובר הוא תעלה לכלוריד המופעלת על ידי cAMP ולא על ידי פרוק ATP ואילו הפרוק האיטי של ה - ATP הוא לצורך בקרה. תעלה זו היא חריגה במשפחת ה - ABC טרנספורטרים. בעקבות הפרשת הכלוריד של התעלה הזו נעים המים ובעקבות המוטציה בחלבון הוא נהיה לא פעיל ולא מעביר כלוריד. במידה ונצליח להכניס את הגן התקין לחולים נוכל לרפא את המחלה את זה אפשר לעשות על ידי וירוסים מוחלשים וליפוזומים אך כיום זה פועל רק לזמן קצר בלבד.

מערכת הטרנספורט ברמה התאית

בדופן הקיבה יש תאים המפרישים פרוטונים בעזרת P-ATPase המחליפה פרוטונים באשלגן, באפיתל יש ממברנה אפיקלית הפונה לחלל הקיבה וממברנה בזולטרלית הפונה לחלל הגוף. התוצאה של הטרנספורט היא אלקטרונטרלית כלומר אין השפעה חשמלית כיוון שמטען האשלגן זהה למטען הפרוטון, על כל פרוק פרוטון יוצא מימן וכנס אשלגן שיוצא מיד דרך תעלה.

במידה ובוזה היה מסתיים המנגנון אז בקיבה היה PH=1 ובתא PH=14, אך במציאות זה לא כך. את התא עובר יון כלוריד כלומר הוא נכנס מהצד הבזולטרלי ויוצא מהצד האפיקלי כך שלמעשה לקיבה מופרש HCl, את הכניסה לתא מבצע יון הכלוריד (Cl) דרך משחלף אניונים המחליף בינו לבין HCO₃ היוצא מהתא חומר זה גם משחרר בתא פרוטון וכך נשאר מאזן המטענים בתא (על כל פרוטון שיוצא מהתא ניכנס ויוצא יון כלוריד ונוצר פרוטון).

עד עכשיו תיארנו קליטה של גלוקוז לתוך התאים בעזרת נשאים המעבירים גלוקוז, בדם ריכוז הגלוקוז הוא כ - 5mM וכך גם בתוך התא. תאי הכבד חייבים לקלוט גלוקוז אך אינם יכולים לעשות זאת בקליטה פסיבית כי ריכוזי הגלוקוז בסביבתם משתנים (ריכוז גבוה אחרי ארוחה ונמוך ברעב), התאים פועלים בטרנספורט אקטיבי אך ללא ATPase כיוון שה - ATPase לא מעביר מטבוליטים רק יונים.

קליטת המטבוליטים במעי היא על ידי קליטת דרך הצד האפיקלי ויציאה מהצד הבזולטרלי, הכניסה היא מהצד האפיקלי כי אחרת התא היה מורעב למוות, כיוון שכל הגלוקוז היה יוצא ממנו. בחלק הבזולטרלי של התא יש מעברים פסיביים של גלוקוז כך שריכוזו בתא נשמר קבוע, כשיש חוסר גלוקוז במעי התא יקבל את הגלוקוז ממחזור הדם כמו כל תא אחר וגלוקוז מהתא לא יעבור למעי.

קליטת הגלוקוז נעשית על ידי פקטור משני, בחלק האפיקלי יש מעביר פסיבי המעביר 3 מולקולות (2 יוני נתרן ומולקולת גלוקוז אחת) הטרנספורט פעיל רק שיש את שלושת המולקולות הללו, כלומר יש צימוד של מעבר גלוקוז למעבר יוני נתרן. על מעבר של יון נתרן אנו מקבלים -1.45kcal/mol ממפל ריכוזים ו -1.61kcal/mol ממפל חשמלי כך ששני מול נתרן נותן 6kcal והם מאוזנים על ידי מפל ריכוזים של גלוקוז של פי 30,000, כלומר יוני הנתרן יכולים להיכנס רק עם גלוקוז והם יכנסו עד שריכוז הגלוקוז ימנע זאת וזה היה שהריכוז של הגלוקוז בפנים היה פי 30 אלף יותר מריכוז הגלוקוז בחוץ. הנתרן מוצא מהתא על ידי משאבת סודיום פוטסיום בצד

הבזולוטרי (כך על כל מול ATP שמפורק במשאבה זו נכנסים 1.5 מול גלוקוז לתא).
כך אנו מקבלים טרנספורט אקטיבי יעיל מאוד של גלוקוז, באותו מנגנון יש לנו
מעברים של חומצות אמינו וכו'.

הדבר הוא בעל השפעה על מחלת הכולרה שזהו חיידק הגורם לשלשול שיכול להביא
למוות תוך שעות. כדי להיפטר מהשלשול יש שתי דרכים האחת היא אנטיביוטיקה
ואינפוזיות ואילו השנייה היא לשתות משקה שיכלול על כל ליטר מים 8 כפיות סוכר
וחצי כפית מלח, הגלוקוז מזרז את כניסת הנתרן וכך מונעים איבוד של מלחים
והמים נעים עם המלח כדי להשוות ריכוזים וכך גם מונעים איבוד נוזלים.

מערכת טרנספורט נוספת היא הכליה בה מסולקים חומרי הפרשה. הכליה מורכבת
ממיליון ו- 200 אלף נפרונים שהם צינוריות המתחילות בפילטר בגלומרולוס
ומסתיימות בצינורית השתן. בפילטר בעזרת לחץ הדם מועברים המזהמים לנפרון
לפי גודל כך שחלבונים ותאים נשארים בדם בעוד שמומסים עוברים. גבר מוציא
לנפרון כ- 180 ליטר ביום ואילו אישה כ- 120 ליטר ביום מזה ניקלט הרוב חזרה
וגם חלק גדול מהמומסים נספג חזרה (אלו המומסים הרצויים), בנפרון יש תעלת
מים הנמצאת תחת בקרה הורמונלית.

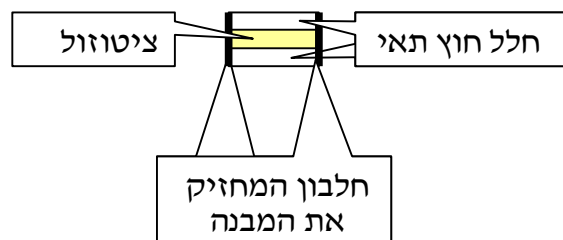
הסיבה לכך שבנפרון יוצאים כל המומסים ומוחזרים הנחוצים היא שהגוף יודע מה
הוא רוצה לשמור אך לא מה להוציא, אז הכל יוצא ומה שצריך מוחזר מה שנותן
שכל מה שנישאר הוא פסולת. חלק מהחומרים הקרצינוגנים הם רעילים רק בתוך
הגוף אך חלקם לא מתמוסס והם נשארים ומצטברים בגוף. הקליטה חזרה
מתרחשת בצורה דומה לקליטה במעי, העיקרון זהה ויש אותם מרכיבים אך המנגנון
יותר מתוחכם.

בחלק העליון של הנפרון יש שאיבה חסכונית יותר במקום העברה של גלוקוז עם שני
יוני נתרן הוא עובר עם יון נתרן אחד כך שעל כל מול ATP עוברים 3 מול גלוקוז את
הריכוז כאן ניתן להוריד עד פי 200, בלב השני יש עוד מעברים של גלוקוז עם שני יוני
נתרן וכך מוחזר כמעט כל הגלוקוז.

פעילות של תא עצב

בגוף האדם יש כ- 10^{10} תאי עצב, כל תא מורכב מגוף תא שבו נמצא הגרעין וממנו
יש שתי סוגי שלוחות, סוג אחד הוא Dendrites והשני Axon. הדנדריטים מביאים
אותות מההיקף לתוך התא והאקסון מוציא את האות מהתא, האקסון מסתיים
בסינפסה אחת או בכמה סינפסות שהם החיבור בין התאים.

בתוך המוח יכולות להיות וריאציות שונות של מספרי קישור בין תאים, באקסון יש
ציפוי של שיכבה מבודדת הנקראת מילין Myelin, המילין הוא בעצם תא העוטף
במספר פעמים את האקסון וכך מקבלים מבנה הבנוי ממברנות פלזמה שיש רווח
קטן בניהם וכמעט ואין ציטופלזמה, רצף הממברנות מחוץ על ידי מבנים חלבוניים
וביחד נוצר בידוד לחלבון.



כל תא עצב אצלנו מתקשר ל - 100 עד 1000 תאים אחרים בממוצע, כלומר כך תא מסכם סיגנלים של כ - 100 עד 1000 תאים. הסינפסות מגיעות כמעט לכל מקום הן מתפרסות לכל הכיוונים.

מערכות הרפלקסים הן מערכות פשוטות, בכדי שרגל תקפוץ ברפלקס צריך ששריר אחד יתכווץ (שריר הירך הקדמי) והשריר המנוגד לו יהפוך רפוי (שריר הירך האחורי). המכה ניתנת מתחת לברך זה גורם לפגיעה בגיד שגורמת למשיכת השריר, הסיגנל עובר מהמקום דרך האקסון ומגיע לצבר תאים הנקרא גנגליון והוא נמצא באזור עמוד השדרה אך מחוצה לו. משם יש פיצול של האות סיגנל אחד עובר באקסון ומגיע לתא מוטורי המפעיל את השריר הקדמי ואילו הסיגנל השני עובר באקסון הקשור לתא שהופך את הסיגנל מחיובי לשלילי וזהו תא מעכב (Inhibitor) והוא יוצר עיכוב לתא המוטורי של השריר הנגדי ובכך להרפייתו. תא מוטורי הוא בעצם תא עצב המפעיל תא שריר.

ישנם בעלי חיים המסוגלים ללמוד סיגנלים ולפעול בהתאם בפעם הבאה שיתקלו באותה תופעה, דוגמה לחיה כזו היא חילזון ים הקרוי ארנב ים.

תא עצב פועל על ידי אות חשמלי הנע על גבי האקסון, המחקרים הראשונים נעשו על אקסון של תמנון שהוא העבה ביותר (כ - 0.5 מילימטר). בתא יש יותר אשלגן מבחון פחות נתרן ופחות כלוריד מן הסביבה החיצונית, ומעבר מטענים יוצר פוטנציאל חשמלי. הפוטנציאל האלקטרוכימי של התא מחושב לפי הנוסחה:

$$\Delta\mu(X^+) = \mu_A(X^+) - \mu_B(X^+) = RT \ln([X^+]_A/[X^+]_B) + ZF(E_A - E_B)$$

שהמברנה נעשית חדירה ליונים האבר של הריכוז שווה לאיבר החשמלי, כלומר כמות האשלגן שעוברת היא כל כך קטנה כך שלא נוכל לגלותה, יתרה מזאת נוכל לבצע את המעבר מהריכוז הגבוה לנמוך כ - 100,000 פעם לפני שהיה שוויון ריכוזים אך הפוטנציאל החשמלי מאזן את איבר הריכוז ואז מתקבלת הנוסחה:

$$E_A - E_B = RT/ZF * \ln([X^+]_A/[X^+]_B) = -60mV/Z * \log([X^+]_A/[X^+]_B)$$

המצב הוא שפוטנציאל המנוחה הבסיסי הוא -60 עד -90 מיליוולט והממברנה חדירה לאשלגן. כיוון שקיימים יונים נוספים אז קיימת נוסחה נוספת הכוללת בתוכה את g שהוא מוליכות חשמלית שזה 1/R (הוא ההתנגדות):

$$E_m = g_K E_K / \Sigma g + g_{Na} E_{Na} / \Sigma g + g_{Cl} E_{Cl} / \Sigma g$$

כאשר מגדילים את החדירות של יוני אשלגן הפוטנציאל נהיה יותר שלילי תופעה זו נקראת היפר-פולריזציה, כאשר מקטינים את החדירות לאשלגן ו\או מעלים את החדירות לנתרן הפוטנציאל נהיה פחות שלילי ואפילו מגיע לחיובי וזה ניקרא דה-פולריזציה.

בכדי לבצע מדידות חשמליות באקסון לקחו אקסון של תמנון וחיברו אליו שתי אלקטרודות של וולטמטר אלקטרודה אחת בנוזל החוץ תאי והשניה בתוך האקסון, ואז נימדד פוטנציאל המנוחה של -60 mV כאשר הוסיפו זוג אלקטרודות נוסף באותם מקומות יצרו מעגל שמאפשר שינוי הפוטנציאל, ניתן לראות כי האקסון מגיב כקבל (Capacitor), כלומר לוקח לו זמן להיטען וזמן להתפרק, ניתן לראות כי קיימת גם דעיכה לאורך האקסון והיא בעלת תכונות של דעיכה בכבל (תיל) חשמלי.

ככל שהאקסון עבה יותר הדעיכה איטית יותר כלומר ארוכה יותר, ביונקים במקום עובי משתמשים בבידוד של מילין הנותן את אותו אפקט. מהנקודה בה החל הערעור החשמלי עובר גל של דה-פולריזציה והוא לא דועך לאורך האקסון, הפוטנציאל

החשמלי בתאי עצב פועל בצורה של הכל או לא כלום כלומר אם מתחיל אות חשמלי הוא ימשיך עד הסוף. אנו מתחילים בפוטנציאל של -60mV אשר בעקבות הדה-פולריזציה הופך לחיובי לאחריו יש ירידה והיפר-פולריזציה ובסוף חוזרים לפוטנציאל המנוחה של -60mV .

המנגנון הבסיסי מבוסס על 3 סוגי תעלות, פוטנציאל המנוחה תלוי בתעלות אשלגן ופוטנציאל הפעולה מתחיל מתעלות נתרן אשר פתיחת תעלות הנתרן הראשונות מזרזת את פתיחת כל תעלות הנתרן, תעלות הנתרן נפתחות לזמן קצר של כ- 1ms ונסגרות אוטומטית.

פוטנציאל הפעולה מתקדם לשני הכיוונים כלומר כאשר יש דה-פולריזציה של נקודה מסוימת משני הצדדים יש דה-פולריזציה חלקית וכך הלאה, ככל שמרחק ההנחתה (הקצב בו הסיגנל יורד) קטן - הפוטנציאל נע מרחק רב יותר וככל שהכבל קטן ודק יותר התנועה תהיה למרחק קטן יותר.

הסיגנל באקסון יכול להיות חזק או חלש וזאת על ידי שינוי התדירות, כאשר עצב מגורה בצורה חזקה הוא ייתן סיגנל חזק, הקצב המקסימלי תלוי בזמן שלוקח לפתוח את תעלות הנתרן מחדש, כאשר תעלות הנתרן נסגרות יש זמן מסוים אשר בו הן לא יכולות להיפתח מחדש, זמן זה קרוי התקופה הרפרקטורית.

לפני כ- 20 שנה גילו שיטה המאפשרת לבדוק כל תעלה בנפרד וזאת על ידי פיפטת פסטר שבקצה שלה יש פתח של מיקרון מרובע, הפיטה מוצמדת לממברנה ומכסה מספר תעלות ומוציאה אותם מהתא, על ידי הכנסת אלקטרודה לפיטה ואלקטרודה שניה בתמיסה מחוץ לפיטה ניתן לבדוק את הפוטנציאל, בשיטה זו גם ניתן לשלוט על החומרים הנכנסים והיוצאים, לשיטה הזו קוראים Patch Clamp.

כיום ידוע כי יש תעלות רבות מסוגים שונים, התעלה הראשונה שגילו היא Gated Potassium Tunnel, היא התגלתה בזבוב הדרוזופילה מסוג שייקר, סוג זה רועד במצב מורדם בעקבות תעלות פגומות והחזרה איטית של הפוטנציאל. בתעלה זו יש 6 מקטעים חוצי ממברנה וקטע אחד בין המקטע החמישי לשישי שנכנס לממברנה אך לא יוצא מצידה השני, 4 מבנים כאלו של 6 מקטעים טרנסממברנליים יוצרים את התעלה כך שהמקטע הרביעי שחוצה את הממברנה הוא זה שחש במתח.

בחלק ה-N טרמינלי של כל אחד מחלבונים אלו יש מבנה של כדור והוא זה שיוצר את האינאקטיבציה על ידי כניסתו לתעלה ובכך לסתימה שלה לזמן של כמה מילי שניות וזוהי תקופת הרפרקטורית. במידה ויש תעלות ללא המבנה הכדורי הסוגר הוספתו תגרום לסגירת התעלות גם כשהוא לא מחובר לממברנה או לתעלה.

בדג ה"אבו-נפחא" יש רעל שנקרא טטרודוקסי והוא קשור לתעלות נתרן, תעלות אלו הם מאותה משפחה של תעלות האשלגן רק שהם מורכבות מפוליפפטיד אחד.

שיטה כללית לזיהוי תעלות ללא בידוד חלבון היא על ידי זיהוי של רצף נוקלאוטידים שמתאים לתעלה והכנסתו לביצית של צפרדע. ה-mRNA שמוכנס מתורגם לחלבון של התעלה והתעלה מועברת לממברנה, כך אנו מקבלים ממברנה עם תעלות שאותן ניתן לבדוק ולראות האם התכונות מתאימות לציפיות שלנו מהרצף שזוהה.

ההתקדמות של האות באקסון אינה רציפה אלא היא בקפיצות בין המרווחים של המיילין, תנועה זו נקראת תנועה סלטטורית, במרווחים בין המיילין יש תעלות רבות

וההתקדמות של האות היא במהירות של 100 מטר בשניה, כלומר לאות לוקח 10 מילי שניות להגיע מהמוח לבהונות.

יש מחלות שונות כמו Multiple Sclerosis שבה המיילין מתפרק וזה מוביל לשיתוק מתקדם ולמוות, לא ידוע מה הסיבה לפרוק המיילין אחד הסברות היא שזו מחלה אוטואימונית שבה הגוף מייצר נוגדנים נגד המיילין, סברה שניה היא שנוצרות פרוטאזות נגד המיילין, כשהבידוד של המיילין יורד האות לא מסוגל לעבור והעצב מפסיק לתפקד כיוון שהאות לא מגיע לסף הפעולה במרווח הבא.

הסינפסה

בסינפסה יש 3 חלקים הראשון הוא החלק הפרה-סינפטי שהוא קצה האקסון בו יש התרחבות מסוימת אחריה יש מרווח שהוא החלק השני רווח זה הוא בין התאים והוא נקרא החלל הסינפטי והחלק השלישי הוא החלק הפוססינפטי שיכול להיות שייך לדנדריט לגוף התא או לאקסון אחר ובעצב מוטורי החלק הפוססינפטי הוא ממברנת השריר ואז הדבר לא נקרא סינפסה אלא Neuro Muscular Junction. קיימים שני סוגי סינפטות האחת חשמלית והשניה כימית.

הסינפסה החשמלית היא בעלת קישור חשמלי בין שני תאים על ידי Gap Junction ושני התאים פועלים כיחידה אחת בהעברת האות החשמלי, האות מועבר ללא בקרה מתא לתא. בניגוד לכך הסינפסה הכימית עובדת על ידי מעבר של ליגנד מהחלק הפרה-סינפטי לחלק הפוססינפטי, כלומר מעבר של חומר כימי מתא אחד לשני וחומר זה מעביר את האות.

גם כשאין מעבר אותות אנו רואים פוטנציאלים קטנים הנוצרים בחלק הפוססינפטי, פוטנציאלים אלו כולם בעלי אותו גודל, הפוטנציאלים הללו נוצרים כיוון שהחלק הפרה-סינפטי מלא בשלפוחיות המכילות את הליגנד הקרוי Neuro Transmitter ומידי פעם נפתחת שלפוחית ושופכת לחלל הסינפטי את הליגנד. הליגנד הנפוץ ביותר הוא האצטיל כולין.

בצד הפוססינפטי יש רצפטורים לאצטיל כולין, רצפטורים אלו הם גם תעלות ושהם קושרים שתי מולקולות של אצטיל כולין התעלה נפתחת, התעלה היא לא ספציפית ומאפשרת מעבר של יוני נתרן ואשלגן (האצטיל כולין לא עובר), שחרור של שלפוחית אחת גורם לדה-פולריזציה קטנה אך לא מגיע לסף הפעילות.

כשמגיע פוטנציאל פעולה לקצה האקסון הוא מגיע לחלק האחורי של האזור הפרה-סינפטי העשיר בתעלות סידן שמושפעות מהמתח ונפתחות, כתוצאה מכך נכנסים יוני סידן לתא והם אלו שמזרזים את שחרור תכולת השלפוחיות לחלל הסינפטי. השלפוחיות נמצאות בתא במצב של Docking שזה מצב של מגע עם הממברנה. האצטיל כולין גורם לפתיחת התעלות בתא השני ומאפשר כניסת נתרן ואשלגן היוצרים פוטנציאל והאות ממשיך לנוע בתא החדש.

קיימת מערכת בקרה לסגירת תעלות הסידן והיא גורמת להם להיסגר מיד לאחר פתיחתם, בנוסף קיימות משאבות Ca^{+2} ATPase שמוציאות את יוני הסידן מהחלק הפרה-סינפטי. האצטיל כולין שנשפך מסולק על ידי האנזים אצטיל כולין אסטרזא שבאתר הפעיל שלו יש חומצת אמינו סרין הנקשרת לאצטיל כולין והוא מפורק לאצטט ולכולין ואז הוא עוזב את הקולטן והמערכת מפסיקה לפעול.

מערכת זו מאד רגישה לחומרים פרמקולוגים וחמלות שונות, איחוי השלפוחיות הוא המטרה העיקרית של טוקסינים רבים אשר גורמים להפסקתו. האצטיל כולין אסטרז הוא המטרה של גזי עצבים שונים שנקשרים אליו ומנטרלים אותו, כתוצאה מכך יש התכווצויות מוגברות, דמעות, התכווצות שרירים ושיתוק ריאות. השיטה לטיפול היא אטרופין הנקשר לאצטיל כולין רצפטור בצורה הפיכה ומעכב אותו ובכך מעכב את פעילות הסינפסה בכמות מספקת הוא גורם להרפיית יתר של השרירים כולל שרירי הראות ובכך למוות. כאשר אדם שנחשף לגזי עצבים לוקח אטרופין יש שתי פעולות הנוגדות אחת את השניה ובכך נימנע המוות.

ישנם גם סוגי ארס של נחשים שונים המשפיעים בצורה דומה, וכך גם מצמחים כמו חומר הקוררה שמופק מצמחים ומשמש את האינדיאנים לשיתוק, הקוררה משמש גם בתהליכי הנשמה לחולים מחוסרי הכרה בכך שמשתקים להם את שרירי הריאות כדי לאפשר את הנשמה. ה- Myasthenia gravis היא מחלה אוטואימונית בה נוצרים נוגדנים נגד האצטיל כולין רצפטור ובכך נגרם שיתוק מתקדם המביא בסופו של דבר למוות.

האצטיל כולין הוא אחד מבין ניורו-טרנסמיטורים רבים שחלקם נגזרות של חומצות אמינו ופפטידים ואפילו חלקם הם גם הורמונים והם נמצאים בעיקר במוח. חלק מהסינפסות מעוכבות מכך שהקולטן בחלק הפוסיןפטי נפתח ומאפשר מעבר של כלוריד ובכך נוצרת היפר-פולריזציה ולא דה-פולריזציה. הקולטן של האצטיל כולין מורכב מ-5 תת יחידות 2 הם α - 1 - 3 הם $\beta\gamma\delta$ שתי תת יחידות α קושרות את האצטיל כולין ואז חל שינוי קומפרמטיבי והתעלה נפתחת.

אופיטים הם נגזרות של אופיום ובמוח יש 3 משפחות של רצפטורים לנוורטרנסמיטורים שהם אנלוגיים אלו, רצפטורים אלו קיימים כיוון שתחת מאמץ הגוף מפריש חומרים אופטים ומאפשר לגוף להמשיך לפעול ללא כאב. אנשים המבצעים ריצה רבה או התעמלות ממושחת מתמכרים לאופיטים וממשיחים בפעילות בכדי ליצור אותם. גם לפני המות מופרשות נגזרות אלו וגורמות לתחושת רוגע וראית מנהרה.

האירוע החשמלי מגיע לסינפסה ומשם לתא הבא, במערכת העקפית הסינפסות מועטות אך במוח יש בין 100 ל-1000 סינפסות לכל תא, חלק ניכר מהסינפסות הללו נוצרות בשנות חייו הראשונות של האדם והם פונקציה של גירוי, לכן חשוב לקבל גירויים (בעיקר עד גיל שנתיים), הכוונה בגירוי היא לסביבה פעילה ואינטראקטיבית עם התינוק.

בתא עצמו לא נוצר פוטנציאל פעולה, פוטנציאל הפעולה נוצר באקסון בלבד, הסינפסות לא מעבירות פוטנציאל פעולה אלא הן רק מבצעות דה-פולריזציה שהן פועלות והיפר-פולריזציה שהן מעוקבות, הסיכום של כל הפוטנציאלים הקטנים הללו מגיע לבסיס האקסון למקום הנקרא Axon Hillock. ב - Axon Hillock יש סיכום פוטנציאלים התלוי בזמן ובמקום, התלות בזמן היא שאם ההפרש ביו הפוטנציאלים גדול הם דואכים ולא מקבלים פוטנציאל פעולה אך אם התדירות גבוהה מספיק הפוטנציאלים מגבירים אחד את השני ומקבלים פוטנציאל פעולה ב - Axon Hillock. תדירות הסינגל תלויה בחוזקו. הסיכום לפי המקום כך שפוטנציאל של סינפסה קרובה יותר ל - Axon Hillock תשפיע חזק יותר מסינפסה רחוקה, ואם יש שתי סינפסות קרובות ההשפעה שלהן יחד חזקה יותר. מה - Axon Hillock הפוטנציאל שעובר את סף הפעולה נע באקסון ועובר לסינפסות ולתא הבא.

השלד התוך תאי

בצביעות די פשוטות של התא ניתן לראות כי התא מרושת, בעבר חשבו שזה ארטיפקט אך כיום יודעים שלא, השלד התוך תאי מקביל לשרירים בגוף הוא מורכב מ- 3 סוגים של סיבים.

הקבוצה הראשונה של סיבים מתבססת על אקטין, סיבים אלו הם הדקים ביותר ועוביים הוא $5-9 \text{ nm}$ והם נמצאים בעיקר בהיקף התא אך גם במרכזו, הם פועלים בשיתוף עם מיוזין ליצירת מבנה קבוע, המבנים של האקטין והמיוזין הם מבנים מאוד דינמיים ובזמן חלוקת התא הם מתפרקים וכך התא הופך ליותר כדורי.

הסוג השני הוא המיקרוטובולי המבוסס על טובולין והם הסיבים העבים ביותר ורוכבם הוא 25 nm , על סוג זה של סיבים מתבסס גם השוטון המשמש לתנועת חיידקים, בתא בזמן החלוקה מפורק המיקרוטובולין משלד התא ומשמש ליצירת הקישור לחלוקה.

הסוג השלישי הם סיבי ביניים Intermediate Filament והם ברוחב של 10 nm מטרתם היא לתת חוזק מכני.

מבנה שריר

השריר המשורטט הוא אחד מסוגי שרירי הגוף הוא מתחיל כתאים רגילים העוברים איחוי והופכים לתאים רב גרעיניים, הגרעיניים נמצאים בהיקף התא ובמרכזו יש את מנגנון ההתכווצות ומיטוכונדריות רבות וגם ER שנקרא Sarcoplasmic Reticulum (SR). השריר עצמו בנוי ממספר רב של תאים רב גרעיניים ובכל תא יש מנגנון התכווצות שהו מערכת סיבים הנקראת מיופיברילות Myofibril, מערכות אלו מסודרות בסינכרוניזציה מה שנותן פסים מסורטטים על השריר ומכאן שמו.



בשריר יש קטע כהה הנקרא A Band וקטע בהיר שבאמצעו יש קו כהה הנקרא Z Disk היחידה הבסיסית היא ביו שני Z Disk והיא נקראת סרקומר Sarcomer. בהתכווצות תא שריר התא נהיה קצר יותר ועבה יותר אך הסיב מתקצר ללא שינוי בעובי, הדבר אפשרי בזכות המבנה שגורם לעובי הפסים להישאר קבוע בעוד שאורך הסיב משתנה על ידי "העלמות" של החלק הבהיר. הפסים הם שילוב של מיוזין ואקטין, המיוזין יותר עבה ולכן הוא נראה יותר כהה. במרכז הפס הכהה יש פס יותר בהיר אך לא בהיר כמו הפסים הבהירים האחרים בפס זה יש רק מיוזין שבאחרים יש רק אקטין ובכהים יש שילוב.

בחתך של השריר רואים סימטרייה של 6, כלומר כל סיב מיוזין מוקף ב- 6 סיבי מיוזין ו- 6 סיבי אקטין, כדי שהמבנה יישאר מסודר צריך מבנים שיחזיקו אותו ומבנים אלו הם ה- Z Disk ודיסק נוסף במרכז הסרקומר. ההתכווצויות של השריר מבוססות על החלקת הסיבים אחד על השני כך שהאורך שלהם נשאר קבוע אך בעקבות ההחלקה התא מתקצר.

המיוזין בשריר המשורטט הוא מסוג מיוזין 2 הוא מנוי מ- 6 תת יחידות 2 גדולות ו- 4 קטנות, הם נראים כמקלות גולף בעלי ראש גדול וזנב שהוא מורכב משני α Helix המלוכפים אחד על השני כך שחומצות האמינו ההידרופוביות כלפי פנים. ראש יש פעילות של ATPase התלויה באקטין, כלומר רק בנוכחות סיבי האקטין יש

לראש של המיוזין פעילות של ATPase, סיב המיוזין בנוי ממולקולות מיוזין רבות כך שמקבלים במרכז את הזנבות ומסביב את הראשים.

האקטין הוא פולימר שתת היחידה שלו היא אקטין גלובולרי כך שהסיב המתקבל הוא גם בעל מבנה סימטרי, כאשר עושים דקורציה לראשי מיוזין עם סיב אקטין מתקבל מבנה של ראשי חץ, לראשי חץ אלו יש כיווניות כך שחלק הצר הוא מינוס והרחב הוא פלוס.

סיבי המיוזין מבצעים את ההזזה על ידי פרוק ATP, כשכמות ה-ATP בתא יורדת לאחר המוות השרירים נשארים קשוחים ולא משתחררים רק בשלב מאוחר יותר מתבצעת פרוטיאוליזה ואז השרירים נעשים רכים. הראש של המיוזין עוזב את האקטין ונע רק בנוכחות ATP.

התנועה מתבצעת כך שה-ATP ניקשר לראש של המיוזין וכך הוא נע ועוזב את האקטין, בשלב הבא ה-ATP מתפרק אך לא משוחרר והראש נע שתי יחידות קדימה על האקטין וזאת על ידי שינוי קומפורמציה, בשלב הבא משתחרר הפוספט וזה שלב ההפעלה ובעזרת שינוי קומפורמציה האקטין נידחף אחורה ומשתחרר ה-ADP, זהו מחזור אחד והתהליך ממשיך שוב ושוב.

במידה והשריר לא פעיל הוא גורם לפרוק עצמי וכך אם נשברת עצם ואין פעילות באזור מסוים בגלל גבס לזמן מה אז חייבים לבצע פיזיותרפיה לשריר כיוון שאחרת הוא מתנוון לחלוטין.

עובי של תא שריר הוא כ- $50\mu\text{m}$, הוא פועל כשמיניע פוטנציאל פעולה ומבנהו מסייע לו להגיע לפעילות מהירה, המבנה המיוחד נקרא T Tubule או Transverse Tubule והוא צינורית שהיא המשך ממברנת הפלזמה הנכנסת פנימה והולכת לאורך ה-Z Disk, כלומר ממברנת הפלזמה שולחת אינבגינציות פנימה לתוך השריר.

השכבה החיצונית עטופה ב-SR ויש בו חלונות רבים כך שמתקבלת מעין רשת המאפשרת כניסת מטבוליטים ויציאתם. משני צדדי ה-T Tubule יש SR ולדבר זה קוראים טריאדה. מנגנון זה נועד לבקרה במצב התחלתי כשריכוז יוני הסידן גבוה ב-SR ושמיניע פוטנציאל הפעולה הוא גורם לפעולה בכל הממברנה וגם ב-T Tubule ובגלל הקרבה נפתחות תעלות סידן (אשר משופעלות גם על ידי יוני הסידן עצמם) לציטופלזמה ובכך לכיווץ השריר, שנפסק הפוטנציאל התעלות נסגרות והסידן נשאב חזרה ל-SR על ידי Ca^{2+} ATPase ושהריכוז יורד מתחת ל- $1\mu\text{M}$ ההתכווצות יורדת.

בשריר יש עוד שני חלבונים האחד הוא טרופומיוזין שהוא מוארך ויושב על האתרים שאליהם נקשר המיוזין ובכך חוסם את אפשרות הקשירה של מיוזין לאקטין, החלבון השני הוא חלבון גלובולרי בשם Troponin הצמוד לקצה של הטרופומיוזין הוא מורכב מ-3 חלקים: האחד הוא חלק C והוא זה שמופעל על ידי סידן, השני הוא חלק T הקשור לטרופומיוזין וחלק שלישי הוא I שהוא המתווך בניהם. קשירת יון הסידן גורמת לשינוי במבנה ה-Troponin שגורר שינוי בטרופומיוזין ומזיז אותו מהאתרים של האקטין שאליהם נקשר המיוזין ואז יכולה להיות התכווצות של השריר.

תנועה של תאים

התא מתקדם כך שהחלק הרחב בו פונה קדימה חלק זה ניקרא Lamellipodium, חלק זה נראה כקירות חלקים המתקדמים בתנועה. בהתקדמות התא מסונתזים סיבי

אקטין בחלקו הקדמי ובמקביל מפורקים סיבי אקטין בחלקו האחורי של אזור ה - Lamellipodium, כשהתא נע הוא משאיר מאחוריו שובל שכולל חלק מהחלבונים שקושרים את התא למצע.

ה - Lamellipodium זה מיבנה בקדמת התא המוחזק על ידי אקטין, ניתן לצבוע את האקטין בעזרת צבע המופעל בלייזר וכאשר מקרינים בלייזר את קידמת ה - Lamellipodium ניתן לראות כי האקטין נודד אחורה עד לאזור מסוים שם הוא מתפרק, מה שקורה בעצם זה שהאקטין שמפולמר בקדמת התא דוחף את הממברנה קדימה והיא גוררת אחריה את כל התא.

בתא רגיל יש 3 סוגי מיוזין פעיל, בשריר המשורטט יש מיוזין 2 שעליו כבר דיברנו הוא נראה כמו שני מקלות גולף המלופפים אחד בשני ו 4 טבעות של Light Chain שלהם בקרה (בעזרת יוני סידן) באזורים שונים, בתנועת התא (בזחילת התא) משתתף מיוזין 1 שהוא בעל ראש דומה למיוזין 2 אך הזנב שלו קצר יותר והוא משמש לעגינה של המיוזין ולא לשם יצירת סיבים כמו במיוזין 2. הסוג השלישי של המיוזין הוא מיוזין 5 שהוא דימר שגם לו זנב ארוך ומפוטל, המיוזין 1 והמיוזין 5 קשורים לממברנת הפלזמה והם נעים על סיבי האקטין ממיוס (-) לפלוס (+) וזה מה שדוחף בעצם את הממברנה.

בתוך התא יש רשת תלת מימדית של סיבי אקטין שמוחזקת על ידי חלבונים נוספים כמו פילמין Filamin העושה צילוב Cross Linking, חלבון נוסף הוא גלסולין Gelsolin והוא שובר את סיבי האקטין בנוכחות Ca^{+2} .

בנוסף לרשת התלת מימדית יש חיזוק של מבנים רב תאיים כמו אפיטל על ידי טבעת אקטין המקיפה את התא, הטבעת קשורה לחלבונים ומזכירה את ה - Tight Junction אך היא נמצאת מתחתיו ונקראת Adherens Junction וכך התא הופך מתא יחיד לתא בעל כוח מכני של רקמה. בתא יש שני סוגים של חיבורי סיבי אקטין האחד הוא על ידי חלבון מתווך Integrin הקשור לחלבון ממברנה Fibronectin כך התא מתקשר ל - Extra Cellular Matrix (ECM). הסוג השני הוא קשר בין תאים כך שהטבעת של סיבי האקטין מתקשרת לחלבוני ביניים המתקשרים לחלבונים חוצי ממברנה המתווכים בין התאים והם E - Cadherin אשר בניהם יש יוני Ca^{+2} .

האקטין בתא פעיל גם בסוף חלוקת התא בשלב הציטוקינזה, לקראת הפרדת התאים הטבעת של האקטין מתכווצת וכך מחלקת את התא לשנים, כיווך האקטין נעשה בהכוונה של מיוזין 2 וכך נוצר השנץ Cleavage Furrow, התאים שנוצרים מתרחקים זה מזה ונמשכים לצדדים השונים על ידי סינתזה של אקטין והכוונה של מיוזין 1. כאשר בתא אין מיוזין 2 לא יכול להיווצר השנץ והתאים לא נפרדים כך נוצר תא מרובה גרעינים, ניתן ליצור מצב זה במעבדה על ידי שינויים גנטיים או על ידי יצירת נוגדנים שיגרמו לפרוק המיוזין.

האקטין נמצא בתא בשני מצבים עיקריים הראשון הוא כמונומר ואז הוא ניקרא G Actin והשני הוא כפולימר ואז הוא ניקרא F Actin, הפולימריזציה מתבצעת במספר שלבים, בהתחלה נוצר גרעין פולימריזציה כמו גרעין גיבוש ולאחריו יש התארחות מהירה של סיב האקטין עד שיווי משקל האקטין יכול להיות קשור ל - ATP או ל - ADP כך שכאשר הוא מתפלמר הוא קשור ל - ATP ובתוך הסיב יש הידרוליזה ל - ADP שהוא נישאר קשור לאקטין עד פירוקו.

בסיב יש שני קטבים חיובי ושליילי ולהם קבוע פולימריזציה שונה כך שבקוטב החיובי הוא נמוך יותר כלומר יש העדפה לפילמור ופחות אקטין נישאר כמונומרים,

כשאנו מגיעים לשיווי משקל בצד השלילי הצד החיובי עדין לא הגיע לשיווי משקל ולכן ממשיכה בו הפולימריזציה עד שהוא מגיע לשיווי משקל אך שלב זה הצד השלילי כבר עבר את נקודת שיווי המשקל והוא מפרק את הסיב, כתוצאה ממצב זה המערכת נמצאת בשיווי משקל כך שצד אחד ניבנה והשני מפורק. כאשר מסתקלים על הסיב הוא נראה כמסוע שכל מולקולת אקטין בו מחוברת לסיב בצד אחד ומנותקת ממנו בצד השני אחרי זמן מה לתופעה זו קוראים Treadmilling.

בתא יש בקרה על תהליך הפילמור והפרוק של הסיבי האקטין ובעזרת חלבונים שונים יכולים לחסום את אחד הצדדים ובכך להאריך או לקצר את הסיבים. בנוסף יש גם תרופות שיכולות להשפיע על הסיבים של האקטין, אחת מהן היא Cytochalasin והיא מונעת פולירמיזציה באזור החיובי ובכך גורמת למוות תאים, תרופה נוספת היא Phalloidin אשר מופקת מפטריות Amanita Phalloides והיא מתחברת לאקטין חופשי וכשהיא מתחבר לסיב הוא לא יכול להתפרק וגם זה גורם למוות של התא, שתי תרופות אלו משמשות כתרופות כנגד סרטן כי הם פוגעות בחלוקת התאים.

סיבי טובולין Tubulin

סיבי הטובולין מורכבים ממונומרים שהם בעצם דימרים המורכבים מ- α טובולין ו- β טובולין שתי היחידות אללו קושרות GTP בדומה לאקטין הקושר ATP, ה- β טובולין יכול לעבור הידרוליזה ל- β GDP ואז היחידות רוצות לעזוב את הסיב כלומר הדבר גורם לפרוק הסיב. הסיב הבסיסי שנוצר מטובולין הוא הפרוטופילמנט והוא יכול להופיע כיחיד כזוג או כשלשה (בשטון) של פילמנטים.

בתא הרגיל הסיבים נמצאים בשני מצבים האחד זה רשת סיבים בכל התא המשמשת כמסילות לתנועת אברונים, בזמן חלוקת התא הסיבים מפורקים ומשמשים ליצירת הקישור, לאחר מכן הסינתזה של המסילות מחדש מתבססת על Micro Tubulin Organizing Center (M.T.O.C) הנמצא ליד הגרעין ובו נמצא הצד השלילי של הסיב בעוד שהצד החיובי הוא בהיקף.

ניתן לבדד טובולין בצורה די פשוטה והיא על ידי כך שב- 37°C ובריכוז יונים מתאים הוא נמצא במצב הסיבי בעוד שב- 4°C הוא מפורק למונומרים אז מסרכזים אותו מחממים ל- 37°C בנוכחות GTP ומקבלים פולימריזציה משקעים בצנטרפוגה וחוזרים על התהליך מספר פעמים עד קבלת טובולין נקי. גם כאן כמו באקטין כשמעלים את ריכוז המונומרים נוצר הסיב ומעל ריכוז מסוים ישא ריכוז קבוע של מונומרים בתמיסה ושאר המונומרים יתפלמרו.

בטובולין יש תופעה מיוחדת הקיימת רק במערכות In Vitro (במבחנה), התופעה היא של התארכות ופתאום פרוק מהיר ואז התארכות מחודשת, לתופעה זו קוראים Catastrophe והיא נוצרת כאשר המצב קרוב לשיווי משקל ואז מגיעה ייחידה של טובולין שכבר עברה הידרוליזה מ- β GTP ל- β GDP הדבר גורם לפרוק מידי של כמעט כל הסיב וצריך להתחיל מחדש.

גם כאן ניתן לגרום לפגיעה בפולימריזציה או בפרוק על ידי תרופות, התרופה Colchicine משמשת במחקרים נקשרת למונומרים של הטובולין ומונעת ממנו לעבור פולימריזציה, בניגוד לתרופה זו התרופה Taxol מעקבת את הדפולימריזציה (פרוק) תרופה זו מופקת מעצי נוי שקשה לגדלם בעבר הפיקו אותה מקליפת העץ אך לאחר מכן התגלה כי בעלים של עץ זה יש אנלוג לחומר ובעזרת ריאקציה כימית פשוטה ניתן להפיקו, שתי תרופות אלו משמשות כתרופות נגד סרטן ואפילו Taxol ניתנת כטיפול מונע לנשים עם נטייה לחלות בסרטן שד.

כשהתבוננו באקסון נשאלה השאלה איך הוא צומח ואיך מגיעים חומרים לכל אורכו, היה ברור כי הדבר לא יכול להיות בדיפוזיה כיוון שעבור חלבונים הדבר היה איטי מידי, את מנגנון בו מתבצעת ההעברה גילו על ידי הזרקה של חומצות אמינו מסומנות רדיואקטיבית לגנגליון לזמן קצר ואחר כך חומצות אמיניות רגילות ועקבו אחרי תנועת החלבונים המסומנים בתא העזב על ידי בדיקת האקסונים חתיכתם והרצה בג'ל פולי-אקריל אמיד וראו כי קצב התנועה שונה בין חלבונים שונים.

בשלב מאוחר יותר התברר כי יש מסילות של מיקרוטובולי שעליו יש שלפוחיות המהוות קרוניות הנעות על גבי הסיב ונושאות בתוכם את החלבונים. יש שני סוגים של "מנועים" לשלפוחיות הללו המסוגלים לנוע כל סוג בכיוון אחד בלבד סוג אחד נע מגוף התא להיקף כלומר מהצד השלילי לחיובי והוא נקרא Kinesin הוא דומה במקצת למיוזין 2 יש לו שני ראשים המסוגלים לבצע הידרוליזה ל-ATP ובכך הוא "הולך" על המיקרוטובולין וזנבות חלבוניים הנקשרים לשלפוחית, בכיוון השני יש את ה-Dynein וגם הוא מורכב משני ראשים המפרקים ATP וזנבות חלבוניים הקשורים לשלפוחית.

כל אחד מה "מנועים" הללו מחזיר את הסוג השני לנקודת המוצא שלו כי אחרת התנועה החד כיוונית הייתה יוצרת מצבורים של שלפוחיות ו "מנועים" בקצוות של הסיב. קצב התנועה השונה תלוי בסוג השלפוחית שהוא שונה בין החלבונים השונים. רשת זו של מיקרוטובולי משמשת גם לתנועה של כל מרכיבי התא כמו המיטוכונדריות הליזוזום ווסיקולות שונות.

ט.ל.ח

סיכומים בביולוגיה של התא 1 חלק ב'

בציטוזול מתרחשת מרבית סינתזת החלבונים והוא מהווה בערך 50% מנפח התא. שאר נפח התא זה אורגנלות כגון הגרעין, מיטוכונדריות, ER, ליזוזום וכו', לכל אורגנלה יש פונקציה שונה וכך נוצר מידור. חלבונים שנוצרים בתא עוברים מיון והכוונה אל האזורים השונים אליהם צריכים להגיע וגם עיבוד לאחר תרגום.

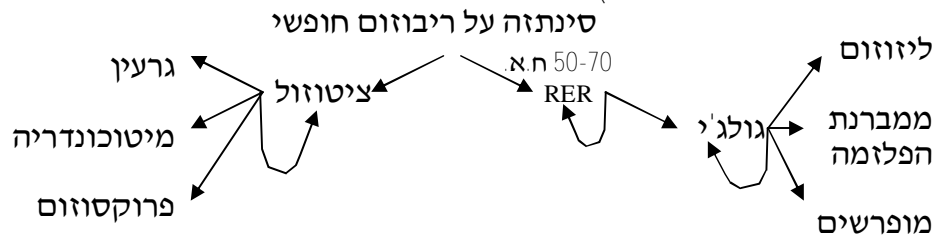
בתוך התא יש שני אזורים בהם נוצרים חלבונים האחד הוא הציטוזול והשני זה ה-ER הגס (RER) (ה-ER החלק הוא ללא ריבוזומים), חלבונים המסונתזים בציטוזול מגיעים לגרעין, למיטוכונדריות, לפלסטידות וכו' ואילו חלבונים הנוצרים ב-ER מגיעים לגולג'י ומשם למכשיר גולג'י שם יש מיון של החלבונים לליזוזום, לאנדוזום ולשלפוחיות המעבירות אותם לממברנות על ידי איחוי (בעיקר לממברנת הפלזמה) או להוצאה מתא.

הריבוזומים שמסנתזים חלבונים ב-ER זהים לאלו שבציטופלזמה וליתר דיוק מאגר הריבוזומים לסינתזה בציטופלזמה ועל ה-ER זהה. החלבון עצמו הוא זה שקובע אילו חלבונים נוצרים ב-ER ואלו בציטופלזמה כלומר התחלת הסינתזה היא על ריבוזום חופשי בציטופלזמה ושמסונתז הסיגנל הקרוי Sorting Signal בחלבון אז הריבוזום עם החלבון יעבור ל-ER.

כפי שאמרנו קודם התא טיפוסי יש כ-50% ציטופלזמה אך הדבר משתנה בין התאים השונים לדוגמה בתאי כבד ולבלב יש הוצאת חלבונים רבים למחזור הדם ולכן ה-ER שלהם תופס נפח רב יותר. בכל תא יש את כל האורגנלות רק שמידת פעולתם משתנה וגם גודלם היחסי. רוב האורגנלות בתא קשורות לשלד התא, הגולג'י וה-ER קשורים למיקרוטובולין.

חלבונים בתא יכולים לעבור בשלושה מנגנוני טרנספורט, המעבר מהציטופלזמה לגרעין החלבונים עוברים בנקבוביות Pors שהם תעלות גדולות המאפשרות מעבר סלקטיבי של חלבונים תעלות אלו נקראות Gated Transport, צורת מעבר שניה היא תעלות שבהם החלבון יכול לעבור רק על ידי שינוי המבנה המרחבי למצב הלא מקופל מעבר זה הוא מעבר דרך ממברנות Transmembrane Transport והמעבר השלישי הוא מעבר על ידי ווסיקולות המעבירות בתוכם את החלבונים וזה נקרא Vesicular Transport.

כל החלבונים מתחילים להיות מסונתזים על ריבוזומים חופשיים כאשר מסונתז החלק של 50 עד 90 חומצות אמינו שמהווה את הסיגנל נקשרים הריבוזומים (שמסנתזים חלבונים ב-ER) ל-ER.



לחלבונים המסונתזים על ה-ER יש רצף של 21 חומצות אמינו לא טעונות והידרופוביות בקצה האמיני של החלבון ומופיע רק פעם אחת בדרך כלל (לחלבוני ממברנה אינטגרלים יש עוד סיגנלים אשר לא נמצאים בקצה) רצף זה הוא ה- Sorting Signal. הסיגנל הזה מזוהה על ידי קומפלקס ציטוזולי המכיר אותו באופן

ספציפי ונקרא SRP, הקומפלקס הזה לאחר קשירתו לחלבון גורם להפסקת הסינתזה באופן רגעי ומונע ממנו להשתחרר בציטוזול ואז ה-SRP עם הריבוזום ניקשר ל-SRPR שזה רצפטור ספציפי לקומפלקס הזה.

לרצפטור SRPR היושב על ממברנת ה-ER יש שתי תתי יחידות האחת היא α והשניה β כך שתתי יחידה β חוצה את הממברנה ותתי יחידה α המורכבת מ-604 חומצות אמינו היא חלבון ממברנה אינטגרלי.

כניסת החלבון לתוך ה-ER מתבצעת על ידי תעלה בעלת קוטר של 2_{nm} , ל-SRP יש אתר קשירה למערכת טרנסלוקציה זו והקישור של ה-SRP עם הריבוזום גורם לפתיחת התעלה. הרצפטור SRPR וה-SRP עצמו משוחררים על ידי הידרוליזה של GTP ואז הסינתזה ממשיכה והחלבון מושחל לחלל ה-ER תוך כדי הסינתזה. בנוסף יחידת הסינגל נחתכת והחלבון נופל לתוך חלל ה-ER (בחלבון מופרש). בחלל ה-ER יש חלבונים שתפקידם הוא לסייע לחלבון להתקפל לצורה הנכונה ואלו הם השפרונים.

כדי לראות שהחלבון מגיע ל-RER ושהסינגל נחתך ניתן להשתמש במערכת על תאית, כלומר אנו מבודדים את ה-RER במיקרוזומים ומפרידים את ה-ER החלק לפי צפיפות. אנו מוסיפים mRNA ידוע כך שנדע את מסת החלבון שיווצר ואם מקבלים חלבון במסה קטנה יותר סימן שהסינגל נחתך. את מיקום החלבון בודקים על ידי פרוטאזות אשר מפרקות את החלבונים מחוץ למיקרוזום אך לא יכולות לחדור פנימה ולפרק את החלבון שם, לאחר מכן שוטפים את הפרוטאזות ומוסיפים דטרגנט לפרוק המיקרוזום ומריצים בג'ל אלקטרופורזה במידה ומתקבלים מקטעי חלבונים קצרים אז החלבונים היו בחוץ ופורקו על ידי הפרוטאזות ואילו מקבלים מקטעים של חלבונים שלמים אז הם היו בתוך המיקרוזום כלומר בתוך ה-RER.

במידה ועושים מעקב אחר מספר חלבונים אז מסמנים אותם על ידי נוגדנים פלורסצנטים בצבעים שונים.

כדי להוכיח שקשירה של SRP גורמת לעצירה של הסינתזה ושה-SRPR חשוב לתהליך סינתזת חלבון ללא נוכחות של SRP ושל SRPR והתקבל חלבון מלא כלומר שלם, שביצעו את אותו ניסוי אך עם SRP וללא SRPR קיבלו רק מקטע של החלבון המהווה את הסינגל שיצא מהריבוזום וחומצות האמינו שכבר סונתזו בתוך הריבוזום כלומר 70-100 חומצות אמינו, כאשר לניסוי זה הוסיפו SRPR חופשי כלומר לא מחובר לממברנת ה-ER (מתקבל מ-ER של תא אחר שטופל הצורה עדינה על ידי פרוטאזות ודטרגנט) הסינתזה המשיכה והתקבל חלבון שלם.

כאשר לוקחים mRNA של חלבון מופרש או אינטגרלי ומורידים לו את הסינגל אז הוא נוצר בציטוזול ולהפך אם לוקחים חלבון ציטוזולי ומוסיפים לו סינגל אז הוא נוצר ב-ER ומופרש מהתא או הופך לחלבון אינטגרלי.

ניתן לקבל סולם של אורכי חלבונים על ידי שימוש באנלוג של חומצה אמינית הנקרא פרומיציין אשר אין לו צד קרבוקסילי להמשך השרשרת וכך היא נעצרת, כיוון שיש ריבוי של ריבוזומים לכל סיד mRNA נקבל אורכים שונים של חלבונים שישמשו כסולם למדידת הגודל. כאשר נטפל בפרוטאזות אז לא נקבל סולם כי החלבונים יחתכו במידה והם בציטוזול אך אם הם ב-ER ונקבל את הסולם בג'ל.

בניסוי In Vitro שנעשה עשו מיצוי של מלח לציטוזול ובדקו את השחלת החלבונים לתוך ה-ER עם הציטוזול הממוצה וראו כי לא מתקבלת השחלה אך שהחזירו את

המלח שהוצא התקבלה החדרת חלבונים. מכאן שבמלח זה נימצא הגורם שמחדיר את החלבון ל-ER, כשבדקו את המלח מצאו כי הקומפננטה של ה-SRP נמצאת בקומפננטה זו מכילה RNA המזכיר את ה-tRNA וחלבונים. בחלבון P54 יש חזרה של מתיונין אשר יוצרת קשרים קוולנטים Cross Linking לסיגנל. החלבונים P68 ו-P72 הם החלבונים בקומפננטה הקשורים בטרנסלוקציה של הקומפלקס.

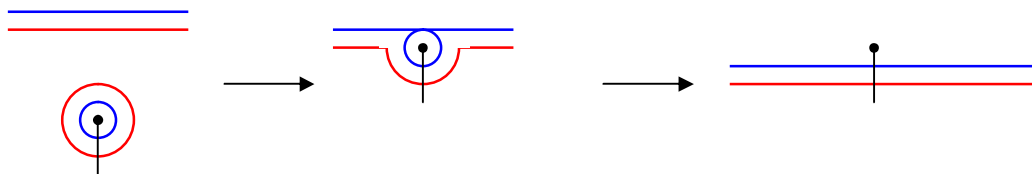
מערכת הטרנסלוקון היא מערכת התעלה שדרכה מוחדר החלבון, היא בנויה מהחלבון TRAM שהוא חלבון אינטגרלי החוצה את הממברנה 8 פעמים וחלבונים Sec61-63 החוצים את הממברנה 10 פעמים ושני חלבונים נוספים β Sec ו- γ Sec. החלבון TRAM הוא זה שמכיר את החלבון שמושחל, כאשר מורידים ל-mRNA את קודון העצירה אז החלבון שנוצר נישאר תקוע בתעלה.

כדי להוכיח את קיום התעלה יצרו mRNA שבו יש אנלוג של ליזין המוכר על ידי מערכת הסינתזה וקיים ריאגנט כימי הנקשר לאנלוג זה ובחשיפה ל-UV הוא ניקשר לתעלה, ליתר דיוק הקשירה היא לחלבון TRAM של התעלה. לאחר שזיהו את כל המרכיבים הכינו רקונסטיטוציה שהיא הרכבה מחודשת של המערכת וראו כי מתקבלת מערכת פעילה.

החלבון שניכנס ל-ER הוא לינארי והוא עובר קיפול בתוך ה-ER על ידי שפרונים אשר נקראים Binding Proteins (BIP). חלבונים אלו נקשרים לחלבון שמוכנס תוך כדי כניסתו על ידי היקשרות למקטעים הידרופוביים ומונעים את הקיפול ואז על ידי פרוק ATP הם משתחררים תוך כדי הקיפול של החלבון. במידה ונוצר קיפול לא נכון השפרונים נקשרים שוב ומנסים לקפל את החלבון מחדש.

גם בציטוזול יש שפרונים מסוגים שונים, יש שפרונים המסייעים בקיפול ויש כאלו שיודעים לפרק את החלבון, במידה ולא ניתן לקפלו נכון ומכאן השפרונים הם חלבוני עקה Stress. בשמרים התגלה כי השפרונים מסייעים גם במשיכת החלבון לתוך ה-ER.

חלבוני הממברנה האינטגרליים מחולקים לשניים, סוג אחד הוא חלבונים הקשורים לליפיד מסוים המעגן אותם בממברנה והסוג השני הוא חלבונים שחוצים את הממברנה פעם אחת או יותר. יש חלבונים שהקצה האמיני שלהם פונה לציטוזול והקרבוקסילי החוצה ויש כאלו שהם הפוכים. במהלך הסינתזה החלק שהיה מחוץ לתא הוא החלק שבתוך חלל ה-ER, ביצירת הוויסקולות החלק הפנימי הוא זהה לחוץ התא והאיחוי עם הממברנה גורם להיפוך האינטרקציה.



המקרה הפשוט ביותר של חלבון אינטגרלי הוא חלבון בעל שני סיגנלים הידרופוביים האחד בקצה האמיני והשני לאורך החלבון, הסיגנל הראשון מזוהה על ידי ה-SRP ומושחל לתעלה והוא עובר קיטוע על ידי אנדופפטידאז והקצה הפנימי ניכנס לחלל ה-ER כשנוצר החלל השני הוא מגיע לטרנסלוקון ומפסיק את השחלת החלבון פנימה, כלומר הוא מהווה Stopper כך מקבלים חלבון שחלקו האמיני בתוך ה-ER וחלקו הקרבוקסילי בציטוזול. חלבונים מסוג זה הם בדרך כלל רצפטורים שונים לתהליכי גדילה (ציטוקינים).

החלבונים בעלי האוריינטציה ההפוכה כלומר החלק הקרבוקסילי פונה לחלל ה - RER והאמיני החוצה הם בעלי מקטע הידרופובי יחיד וסה"כ המטען משני צדדיו הוא שקובע את האוריינטציה כך שהיכן שיש סכום חיובי זה הצד שבציטוזול.

כאשר יש חלבון שחוצה מספר פעמים את הממברנה הוא בעל מספר קטעים הידרופוביים כך שהראשון השלישי וכו' מתחילים השחלה לתוך ה - RER ואילו השני הרביעי וכו' מפסיקים את ההשחלה.

החלבונים שקשורים לממברנה על ידי ליפידים הם בעלי שני סיגנלים הידרופוביים האחד בצד האמיני והשני קרוב לסוף וכאשר הוא מגיע לתעלה אז יש מערכת חיתוך שחותכת ומחברת את החלבון לליפיד ספציפי בממברנה הנקרא GPI Anchor (גליקוזיד פוספטידיל אינוזיטול).

ל - RER יש תפקידים נוספים ובניהם יש יצירת קשרי SS והוספת סוכרים לחלבונים וגם יצירת קשר בין תת יחידות של חלבונים, בנוסף יש גם בקרת איכות אשר גורמת לכך שחלבונים שלא מתקבלים נכון הישארו ב - RER ויפורקו שם.

את קשרי ה - SS מזרז האנזים PDI פרוטאין די סולפיד איזומראז, כשיש חלבון שלו יש רק שני ציסטאונים אז אין בעיה כי יכולה להיות רק אפשרות אחת, אך כשיש יותר ציסטאונים כך שיש יותר אפשרויות והאנזים דואג לכך שהיו הקשרים הנכונים, האנזים מבצע זאת על ידי קשירה של עצמו עם שיירי הציסטאין כך שנשארים חופשיים רק השיירים שצריכים להתחבר בניהם, חשוב לציין כי לא לכל החלבונים שנוצרים ב - RER יש קשרי SS.

החלבונים שלא מתקבלים נכון מוצאים לציטוזול דרך הטרנסלוקון (אותה תעלה שדרכה הם מוכנסים ל - RER) ושם הם עוברים את הפרוק.

ב - RER אין מנגנון שמשאיר את חלבוני ה - RER בתוכו אך קיים מנגנון החזרה, מנגנון זה עובד על ידי רצף חומצות אמינו השמור לחלבוני ה - RER והוא הרצף KDEL (ליזין, חומצה אספרטית, חומצה גלוטמית ולאוצין), רצף זה מוכר על ידי רצפטורים רבים בציטוזול י (KDEL) ומשם הם מוחזרים בוויסקולות ל - RER.

כפי שכבר ציינו ב - RER גם נוספים סוכרים לחלבונים תהליך זה ניקרא גליקוזילציה, הגליקוזילציה גורמת להעלאת ההידרופיליות של החלבון ובכך הגברת מסיסותו, בנוסף סוכרים יכולים לקבוע תכונות אנטיגניות של חלבונים כלומר תכונות ייחודיות, הדבר חשוב גם להכרה בין תאים ובקישור לרקמת החיבור הבין תאית.

ברקמת החיבור הבין תאית יש מקרופאג'ס מונוציטים ולויקוציטים המגנים מפני זיהומים, תאים אלו נוצרים במח העצם ועוברים בזרם הדם, הם יוצאים לחלל הבין תאי דרך הקפילרות של הדם. כלי הדם בנויים מתאי אנדותל שבניהם מעבר צר מאוד ובעזרת מערכת מורכבת הלויקוציטים מסוגלים לעבור דרך חללים אלו, לאחר המעבר הם עוברים דיפרנציאציה למקרופאג'ס ומונוציטים.

הלויקוציט עובר בחלל לאחר קישור שלו לתא האנדותל וזאת על ידי סוכר שנימצא על חלבון בלויקוציט וניקרא סלקטינים, סוכר זה מוכר על ידי רצפטור באנדותל, לאחר הקשירה הלויקוציט מתגלגל על האנדותל עד לחריץ ואז מתנתק הקישור והלויקוציט עובר לצד השני.

תפקיד חשוב נוסף לגליקוזילציה הוא בקיפול חלבונים, בנוסף יש חלבונים שהגליקוזילציה שלהם חשובה לפעולתם ובלעדיה הם אינם פעילים וגם יש מיקרים שהגליקוזילציה חשובה לייצוב החלבון כך שהוא יכול לפעול בלעדיה אך לזמן קצר יותר.

יש שני סוגי גליקוזילציה האחת היא O Linked Glycosylation והשניה היא N Linked Glycosylation. בגליקוזילציה O Linked הסוכרים מתחרים לסרין או טריונין על השייר ההידרוקסי או על ליזין שעבר מודיפיקציה להידרוקסיה (מתרחש בחלבונים שמגיעים למטריקס הבין תאי, ואילו ה- N Linked מתרחש אך ורק על השייר אספרגין).

בגליקוזילציה O Linked שרשראות הסוכר הם קצרות ונעות בין סוכר אחד ל- 4 סוכרים כך שהסוכר הראשון הוא תמיד N אצטיל גלוקטוז אמין שבו יש חנקן על גלקטוז ואליה מחוברת קבוצת אצטיל. חיבור הסוכר מתבצע על ידי תורם סוכר והוא סוכר נוקלאוטיד UDP בדרך כלל, תורם זה הוא פשוט כיוון שהאנרגיה שנוצרת מפרוק הקשר הפוספו די אסתרי שבו נותן את האנרגיה לגליקוזילציה. הסוכר השני תלוי כבר בחלבון, הוספת הסוכרים נעשית ברצף כך שכל אנזים מכיר את החלבון עם הסוכרים שהתחברו עד שלב זה.

גם בציטוזול יש O Linked Glycosylation אך היא בתדירות נמוכה מאוד ובדרך כלל הוספה של גלוקוז.

גליקוזילציה מסוג N Linked היא מורכבת יותר והשייר הסוכרי מורכב ומסועף יותר, למעשה נוצר קודם פרוקורסור Procorser סוכרי המכיל 14 סוכרים ורק לאחר מכן הוא ניקשר לחלבון, הסוכר ליצירת שייר הסוכרי ניכנס ל- ER כסוכר נוקלאוטיד די פוספט באנטי פורט Anti Port כנגד יציאה של נוקלאוטיד מונו פוספט.

ביצירת הפרוקורסור הסוכרי הראשון הוא GlcNac (N אצטילגלוקטוז אמין), לכול הוספת סוכר יש אנזים שונה וספציפי.

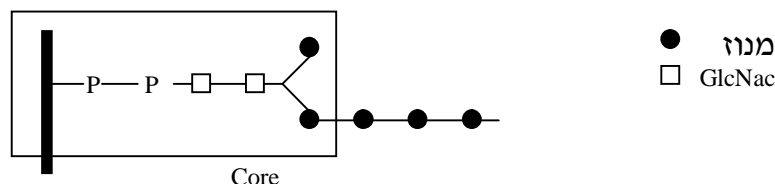
במקרים חריגים יש חלבונים שלהם מצורפים סוכרים רבים מאוד (כ- 100 עד 400 סוכרים) חלבונים אלו הם ממשפחת הפרוטאוגליקונים, חלבונים אלו הם בעלי 1 עד 3 שרשראות של סוכרים והגלוקוזילציה מתבצעת על סרין שאחריו חומצת האמינו גליצין בחלבון. חלבונים אלו הם חלבונים המופרשים למטריקס החוץ תאי הם סופחים מים ויוצרים ג'לי המהווה הגנה ללחץ, הסחוס רובו מורכב ממולקולות כאלו. מולקולות אלו חשובות גם לפקטורי גדילה ולתהליכי התמינות.

כשיש חוסר בפרוטיאוגליקן מסוים נגרמת מחלה של גדילת יתר אנשים אלו חיים עד גיל 20 והם גבוהים ובעלי בעיות בהתפתחות העצמות והשרירים ולפעמים גם ל 6 אצבעות, מכאן החלבון הזה אחראי לעיקוב הגדילה.

כפי שכבר ציינו הגליקוזילציה N Linked מורכבת ובה נוצר פרוקורסור של 14 הסוכרים ואז יש התחברות לחלבון לחומצת האמינו אספרגין שאחריה חומצה אמינית כל שהיא ואחריה סרין או טריאונין.

פרוקורסור מתחיל להיווצר על הצד החיצוני של ה- RER (הצד הפונה לציטוזול), הוא מתחיל להיבנות על המתווך דוליכול שהוא חוצה את הממברנה 4-5 פעמים. הדוליכול עובר פוספורילציה על ידי ATP ולאחר מכן ניקשר אליו ה- GlcNac שהוא

תמיד הסוכר הראשון בחיבור שלו הוא נישאר עם הפוספט כך שמתקבל דוליכול פירופוספט GlcNac ואחריו תמיד ניקשר עוד GlcNac ולאחר מכאן מתווספות 5 מולקולות של מנוז



בשלב זה מתבצע היפוץ פנימה והמשך הסינתזה נעשית בתוך ה- RER, בשלב הבא נוספות עוד 4 מולקולות מנוז ושלוש מולקולות של גלוקוז. בחלבון החלק שפונה לציטוזול לא עובר גליקוזילציה גם עם יש עליו את רצף חומצות האמינו המתאים לכך.

האנזים שמחבר את הסוכרים לחלבון מורכב מ- 3 תת יחידות ששתיים מהן הן חוצות ממברנה ונקשרים לריבוזום ותת יחידה שלישית שמחברת בין הסוכרים לחלבון. מייד לאחר חיבור הפרוקורסור לחלבון ניתקות ממנו שלושת מולקולות הגלוקוז ומולקולת מנוז אחת, הסיבה לכך היא שכנראה הגלוקוז מסמן למערכת שהפרוקורסור מוכן לחיבור. מכאן החלבון עובר בטרנספורט וסיקולרי לציס גולג'י.

הגולג'י מורכב משקיקים הנקראים ציסטרנות ושלושה אזורים הציס גולג'י שהוא הקרוב ביותר ל- ER הטרנס גולג'י שהוא הרחוק ביותר וממנו יש יציאת וסיקולות מאזור הרשת הטרנס גולג'י TGN ובאמצע יש את המידל גולג'י, כל אחד ממדורי הגולג'י מבצע פעילות שונה כאילו הוא אורגנלה שונה בפני עצמו.

אחת הפעולות של הגולג'י היא המשך עיבוד השרשרת הסוכרית, בציס גולג'י מורדות שלוש מולקולות של מנוז ואז במעבר בעזרת וסיקולות החלבון עובר למידל גולג'י שם הוא מאבד בהתחלה עוד מנוז ומקבל GlcNac, לאחר מכן יש עיבוד של עוד שני מולקולות מנוז וקבלה של שני מולקולות GlcNac, בנוסף מתחברת מולקולת פוקוז ל- GlcNac הראשון המחובר לחלבון. בשלב הבא יש מעבר וסיקולרי לטרנס גולג'י שם נוספים 3 מולקולות גאלקטוז ו- 3 מולקולות של חומצה סיאלית, הוספת החומצה הסיאלית מתרחשת רק בפרימטים אך ביונקים רבים אין הוספה שלה אלא הוספה של גלקטוז אחד.

בעיקבות גליקוזילציה שונה בין יצורים שונים אין אפשרות לבצע השתלות בעזרת איברים מבעלי חיים שונים כיוון שיש שוני במבנה השייר הסוכרי מה שגורם לגוף לתקוף אותו ולדחות אותו. אך הגליקוזילציה לא חיונית לכל חלבון ויש חלבונים שיכולים לגדלם ביצורים מסויימים ולתת אותם לאחרים לדוגמה הורמוני גדילה המיוצרים בחיידקים ומוזרקים לאדם.

כדי לבדוק את חשיבות הגליקוזילציה ניתן לעכבה על ידי מעקבים מטבוליטים לדוגמה טוניקמיצין המעכב את השלב הראשון של הגליקוזילציה וכך מקבלים בת אוקריוטי חלבונים הדומים לאלו של חיידקים.

לגולג'י יש תפקיד חשוב נוסף והוא הכוונה של חלבונים לליזוזום, הליזוזום הוא אורגנלה נפרדת בעלת גודל משתנה ניתן לצבוע אותם לשם התבוננות על ידי אסיד פוספטאז. הליזוזומים מפרכים סוכרים חלבונים וכו'. כל האנזימים של הליזוזום נוצרים ב- RER ועוברים דרך הגולג'י, כאן נשאלת השאלה איך המערכת יודעת להעביר את האנזימים הללו לליזוזום ולא למערכות אחרות?

התשובה לשאלה זו היא זירחון של מולקולת מנוז בשייר הסוכרי, הזירחון הוא על עמדה 6 במנוז לקבלת מנוז 6 פוספט והוא יכול להיות על יותר ממולקולת מנוז אחת, בנוסף קיים רצפטור למנוז מזורחן (Man 6 PR) והוא נימצא ב-TGN (Trans Golgi Network). תהליך הזירחון על המנוז מתרחש בשני שלבים ועל ידי שני אנזימים, התורם של הפוספט הוא סוכר נוקלאוטיד UDP הקשור ל-GlcNac והאנזים הראשון הוא GlcNac Phosphotransferase ומשתחרר UMP תוצר הביניים מכיל את הסוכר עם הפוספט ובשלב הבא האנזים Phosphodiesterase משחרר את הסוכר והפוספט נישאר על המנוז. האנזים המזרחן מכיר גם מספר מקטעים שמורים באנזים באופן ספציפי, האנזימים הליזוזומיים הם בעלי שרשראות סוכר פשוטות ולא מסועפות וכנראה שהפוספט הוא זה שמונע זאת.

החלבון עם המנוז המזורחן ניקשר לרצפטור ב-TGN ב-PH של 6.5-7.0 ומשתחרר בסביבה חומצית יותר של PH 4.5-5. הרצפטור נמצא על הממברנה של ה-TGN ובחיבור של האנזים אליו נוצרת ווסיקולה שעטופה בקלטרין שזה חלבון שעוטף את הווסיקולה ומוסר ממנה לאחר ההתנתקות.

בשלב הבא הווסיקולה מתאחה עם אורגנלה שהיא האנדוזום המאוחר שבו יש PH חומצי יותר מבגולג'י אך עדיין נמוך יותר מבליזוזום, באורגנלה זו ניפרד הרצפטור מהאנזים ואז יש פוספטאז המסיר את הזירחון מהמנוז. האנזימים של הליזוזום נוצרים כלא פעילים והם צריכים לעבור עיכול פרוטאליטי מסוים כדי להפוך לפעילים עיכול זה גם מתרחש באנדוזום המאוחר.

מהאנדוזום המאוחר יוצאות שני סוגי ווסיקולות האחד זה ווסיקולות לליזוזום המעבירות לשם את האנזימים הפעילים והשני זה ווסיקולות המחזירות את הרצפטור ל-TGN אך יש גם מעבר של חלק מהרצפטורים לממברנת הפלסמה וזה על מנת לטפוס אנזימים ליזוזומלים שנשפכו אל מחוץ לתא, האנזימים נכנסים חזרה בתהליך הנקרא אנדוציטוזה שהוא ההפוך לאקסוציטוזה שבו מוצאים חומרים מהתא.

כל חלבוני הגולג'י הם חלבונים חוצי ממברנה והם נמצאים כל הזמן בממברנת הגולג'י ולא עוברים לאורגנלות אחרות, הם מסודרים כך שרוב החלבון פונה לחלל הגולג'י ורק חלק קטן פונה החוצה. בנוסף החלק החוצה ממברנה של חלבונים אלו הוא קצר ב-2 עד 3 חומצות אמינו מקטעים חוצי ממברנה של חלבונים אחרים. יש הטוענים כי בגלל אורכו יותר של החלק חוצה הממברנה חלבונים אלו לא יכולים לעבור דיפוזיה בממברנה ולהגיע לתוך ווסיקולות ויש הטוענים שהחלק הציטוזולי הקטן של חלבונים אלו קשור לשלד התא וזו הסיבה לכך שהם לא נעים לתוך ווסיקולות.

כפי שצינו קודם אקסוציטוזה זה תהליך בו מופרשים חומרים מהתא דרך ווסיקולות. קיימים שני מנגנונים לאקסוציטוזה האחד זה מנגנון קונסטיטויבי והשני הוא מנגנון של הפרשה מבוקרת Regulated. המנגנון הקונסטיטויבי כשמו מתרחש כל הזמן כך ווסיקולות מתחברות לממברנה ומפרישות את תוכן החוצה.

לעומת זאת ההפרשה המבוקרת פועלת רק בקבלת אות חיצוני, כלומר הווסיקולה לא מתאחה עם הממברנה עד הגעת סיגנל חיצוני ואז מתרחש האיחוי והתכולה נשפכת החוצה. בוויסיקולות אלו החומר דחוס מאוד והן יכולות להישאר הרבה זמן עד קבלת האות. בצורה כזו פועלים הורמונים רבים וגם ניורטרנסמיטורים, חשוב

לציין כי אין סוג מסוים ספציפי של ווסיקולות לכל סוג של חלבונים מופרשים וחלבונים מופרשים מסוגים שונים יכולים להיות יחד באותה ווסיקולה.

הדבר התגלה בניסוי בו לקחו תאים מיותרת המוח והוסיפו להם בהנדסה גנטית את הגן ליצירת אינסולין ואת הגן ליצירת טרפסינוגן, שני חלבונים אלו הם חלבונים מופרשים ממערכות שונות בגוף ובניהם אין שום סיגנל משותף ולמרות זאת הם נארזו יחד באותן ווסיקולות. לאחר מכן התגלה כי יש שני חלבונים שמופיעים בכל סוגי התאים שבהם יש הפרשה מבוקרת והם כרומוגרנין וסקרטיטוגרנין ומכאן שיתכן ויש קשר בניהם לבין ההפרשה המבוקרת. כאשר לוקחים את החלבונים הללו ושמים אותם במערכת על תאית המדמה את הסביבה של ה-TGN הם יוצרים אגרגציה ויתכן שזו הסיבה לדחיסות של החלבונים המופרשים בתוך הווסיקולות.

חיתוך של חלבונים לשם הפיכתם לפעילים מפרוקורסורים נעשה בעזרת אנדופרוטאזות היודעות לחתוך את החלבון מהקצוות וגם בתוך החלבון החיתוך מתחיל בגולג'י וממשיך בוויסיקולות. האנדופרוטאזות החותכות בתוך החלבון חותכות בדרך כלל לאחר הרצף Arg Arg או Lys Arg ואז יש קרבוקסל פפטידאז המפרק את שני ה-Arg שנותרים והופך את האנזים לפעיל.

הדבר קורה גם בחלבונים שמופרשים קונסטיטוטית לדוגמה אלבומין שעיקר האיבוד שלו מתבצע בוויסיקולות וניתן לעקוב אחריו על ידי הסתכלות על ווסיקולות במרחקים שונים מהגולג'י ובעזרת צביעה בנוגדנים של האזור שמורד מהפרוקורסור.

בנוסף יש ווסיקולות המפרישות חומרים שמקורן לא בגולג'י לדוגמה היסטמינים שהם ניגזרות של חומצה אמינית וגורמים לתגובה אלרגית, הם מופרשים מווסיקולות קטנות ולא נוצרים כפרוקורסורים שעוברים חיתוך אלה הם ניכנסים לוויסיקולות מהציטוזול דרך רצפטורים ונקשרים להפרין שזה סוג של סוכר המהווה גם חומר נגד קרישה הדומה להפרן סולפטים, וכתוצאה מכך הם נדחסים בוויסיקולה, הדבר מתרחש רק בתאי Mast Cell. התהליכים של האנדוציטוזה ואקסוציטוזה מאזנים אחד את השני כך שגודל הממברנה לא משתנה.

בגוף יש תאים פולארים שהם תאים בהם הרכב הממברנה שונה בחלקי התא השונים לדוגמה תאי אפיתל שלהם צד אפיקלי וצד בזולטרלי ולכל צד יש חלבונים ספציפיים שמצויים בו ונשאלת השאלה איך מתבצע המיון במעבר הווסיקולות לאזורים השונים? או במילים אחרות איך מתבצע המידור של החלבונים? וגם איך הם נשארים באזור שלהם ללא ערבוב?

תאי MDCK הם תאי אפיטל מכליה של כלב ובהם השתמשו למחקר המיון, התאים גודלו בתנאים מיוחדים המדמים את הגוף כיוון שאחרת הם יתחלקו ויהפכו לכדוריים לשם כך וגם ינתקו את קשריהם עם התאים האחרים. את רקמת התאים הללו הדביקו בוירוסים משני סוגים האחד זה נגיף שפעת (אינפלואנזה) ונגיף vsv וגרמו לביטוי החלבונים שלהם.

במעטפת הליפידית של וירוסים יש חלבונים עם גליקופרוטאינים שמקורם בנגיף והם אלו שקובעים את התכונות האנטיגניות שלו, כשעשו בדיקה של הגלוקופרוטאינים בתאי האפיטל בניסוי ראו כי חלבוני ה-vsv הגיעו לצד הבזולטרלי וחלבוני האינפלואנזה הגיעו לצד האפיקלי.

המנגנון עדין לא ידוע אך יש שחושבים כי יש ווסיקולות שונות המגיעות לכל אחד מהצדדים, יש השערה כי הוויקולות נעות לשני הצדדים ואז יש מנגנון שמעביר לצד השני את מה שהגיע לממברנה הלא נכונה ויש כאלו שטוענים כי החלבונים בצד הבזולטרי קשורים לחלבונים מתחת לממברנה וכך הם לא יכולים להתנתק ממנה.

כפי שכבר ציינו אנדוציטוזה היא כניסה של חומרים לתא דרך טרנספורט ווסיקולרי בתהליך זה נוצרות ווסיקולות בצד הציטוזולי של ממברנת הפלסמה בצורה דומה למה שקורה ב-TGN, הוויקולות שנוצרות הן קטנות יחסית לפגוציטוזה שבה מוכנסים לתא במנגנון דומה חלקים גדולים.

יש שני סוגים של אנדוציטוזה האחד זה פינוציטוזה שבה נוצרות ווסיקולות קטנות מאוד המכניסות ממסים לתא וסוג שני שהוא אנדוציטוזה על ידי תווך של רצפטורים כלומר קיים רצפטור ספציפי שמכניס חומרים לתא על ידי קשירה לליגנד והקומפלקס כולו חודר לתא בוויקולות, תהליך זה מתרחש באזורים מסויימים בממברנה בהם יש אינבגיניציה והם מצופים בקלטריין ונקראים CCP (Clatrin Coated Pits) לאחר התנתקות הוויקולה מממברנת הפלזמה מוסרת מעטפת הקלטריין והוויקולה נקשרת לאורגנלה גדולה יותר והיא האנדוזום המוקדם.

בכל תא יש מספר רב של קולטנים מסוגים שונים לאנדוציטוזה וזאת בגלל המיגוון הרב של ליגנדים שיכולים להיות מטבוליטים, פקטורי גדילה הורמונים שונים ואפילו נוגדנים.

ה-CCP מהווה כ-2% מממברנת הפלזמה ובכל שעה כ-50% מהם עוברים אנדוציטוזה, בחלק מהמקרים הרצפטורים נמצאים ב-CCP אך בחלק מהמקרים הרצפטור והליגנד נקשרים ואז ביחד הם נודדים בממברנה עד שהם מגיעים לתוך לאזור ה-CCP, יש קולטנים לחומרים שונים לדוגמה לברזל או ל-LDL וגם לנוגדנים.

ה-LDL זה חלקיק עם שומנים בעל צפיפות נמוכה, השומנים לא מסיסים במים אך הם נעים במבנה זה שהוא כן מסיס, ה-LDL הוא נשא של כולסטרול הוא מורכב מפוספוליפידים שבניהם מאט כולסטרול אך בתוך החלקיק יש כ-1000 עד 1500 מולקולות כולסטרול לא חופשיות. בנוסף ב-LDL יש חלבון שניקרא Apo B והוא זה שניקשר לרצפטור שנמצא על הממברנה.

כאשר הליגנד ניקשר לרצפטור מתקבלת הוויקולה שמתחילה לנוע בתא, לאחר פרוק מעטפת הקלטריין מתאחה הוויקולה עם האנדוזום, בשלב זה הרצפטור והליגנד עדיין קשורים, ה-PH החומצי שבאנדוזום נובע ממשאבות פרוטונים והן מתחילות לפעול כבר מיצירת הוויקולה וזאת ללא שינוי פוטנציאל הממברנה כיוון שעל כל פרוטון שניכנס ניכנס גם Cl^- , כשה-PH הוא בסביבות 5 אז יש התפרקות של הליגנד מהרצפטור. לאחר ההתנתקות הרצפטור מנץ בוויקולה החוזרת לממברנת הפלזמה והליגנד מגיע בטרנספורט ווסיקולרי לליזוזום. כאשר באנדוזום יש $PH=5$ יוצאות ממנו שלפוחיות הוא ניקרא Curl.

כאשר בתא יש עודף של ליגנד מסוים אז יש דיכוי ליצירה של הרצפטור לליגנד זה. במחלה של יתר לחץ דם אין כניסת LDL לתוך התאים אך הבעיה היא לא ברצפטור כיוון שהוא יכול לקשור LDL באופן תקין, הבעיה במקרה זה היא שהרצפטור לא מצוי ב-CCP ולכן אין לו את היכולת להיכנס לתא. בחלק של ה-50 חומצות אמינו של הרצפטור המצוי בציטופלסמה יש רצף של 4 שממקם את הרצפטור ב-CCP,

רצף זה מכיל טירוזין שתי חומצות אמינו נוספות מכל סוג שהוא וחומצת אמינו נוספת בעלת שייר צד גדול כמו טירוזין או פניל אלנין.

עד כה דיברנו על סוג אחד של אנדוציטוזה אך יש גם סוגים נוספים, סוג שני הוא קבוצה שבה גם הרצפטורים וגם הליגנד עוברים מחזור, לדוגמה הרצפטור לטרנספרין והטרנספרין עצמו, כאשר הטרנספרין נימצא במצב חופשי הוא נקרא אפוטטרנספרין ושהוא קשור לשני יוני ברזל Fe^{+3} אז הוא נקרא פרוטרנספרין, הפרוטטרנספרין ניקשר לרצפטור וניכנס איתו לתא באנדוזום ב - PH של 5 מתנתק הברזל ונשאר אפוטטרנספרין הקשור לרצפטור ושניהם יחד חוזרים לממברנה שם מתנתק האפוטטרנספרין מהרצפטור כדי להיקשר לברזל ולהפוך לפרוטטרנספרין.

קבוצה שלישית היא שגם הרצפטור וגם הליגנד עוברים פרוק, בקבוצה זו יש רצפטורים לפקטורי גדילה ומספר הורמונים שונים. פרוק הרצפטורים יחד עם הליגנד גורם ל - Receptor Down Regulation שזה כאשר יש הרבה ליגנד נוצר מצב בו קצב הפרוק נהיה מהיר מקצב היצירה של הרצפטור ואז מתקבל מצב בו אין רצפטור על הממברנה, תופעה זו רברזיבלית וכעבור מספיק זמן חוזר הרצפטור לממברנה. תהליכי אנדוציטוזה אלו הם תלויי טמפרטורה.

כל הרצפטורים לפקטורי גדילה הם גם טירוזין קינאז ובנוכחות ATP הם מזרחנים טירוזין בחלבון. לחלבונים אלו יש קטע ציטוזולי של כ - 400 חומצות אמינו והוא קטע שמור הנקרא Tk Domain. בנוסף רצפטורים אלו יכולים לזרחה את הטירוזינים שנמצאים בהם וכתוצאה מכך הרצפטור נהיה משופעל, תהליך זה לא מתרחש ללא קשירה של הליגנד לרצפטור.

קבוצה רביעית של אנדוציטוזה היא בעצם טרנסציטוזה שזה העברת חומרים מצד אחד לצד השני של התא בלי לפרקם. בצורה זו עוברים לדוגמה נוגדנים שונים. הנוגדן IgG נקשר לרצפטור הנקרא Fc Receptor המצוי בממברנה האפיקלית של האפיטל, בתהליך אנדוציטוזה ניכנס לתא הקומפלקס ומגיע לצד הבזולטרלי שם מועבר הקומפלקס לממברנה על ידי איחוי והנוגדן משתחרר ואילו הרצפטור מוחזר באנדוציטוזה וטרנספורט וסיקולרי לצד האפיקלי.

קיימת גם האפשרות בה נכנסים חומרי התישמורת לתא ונאגרים בגרנולות שהם אברונים הדומים לאנדוזום ונשארים שם עד שיש בהם שימוש ואז הם מועברים לפרוק ולשימוש לבניית התא, דבר זה נפוץ בתאי מין שלפני ההפריה הם אוגרים חומרים לשם החלוקות שלאחר ההפריה.

בתא יש שני סוגים של ווסיקולות האחת עטופות במעטפת חלבונית של קלטריין וסוג שני הוא ווסיקולות העטופות במעטפת חלבונית נוספת של קוטומר, קיים גם סוג שלישי הנקרא קוואולי הפועל במנגנון לא ידוע ולא ברור מה מטרתו עדיין. הוויסיקולות שעטופות בקלטריין הם בעלות צורה וגודל אחידים והם נמצאות במעבר של אנדוציטוזה, אקסוציטוזה ומעבר לליזוזום. לעומתם הוויסיקולות המצופות קוטומר הם בגדלים שונים וצורות שונות והם מצויות במעברים בין הגולג'י וה - RER בשני הכיוונים וגם בין הציסטורנות השונות בגולג'י.

יש שני סוגים של מעטפות קוטומר האחד הוא מחלבון Cop1 והשניה היא Cop2, ה - Cop1 מתווד במעבר מהגולג'י ל - RER ומהציסטורנה האחרונה בגולג'י לאלו שלפניה, כלומר הוא Retro או במילים אחרות פועל בכיוון ההפוך, ה - Cop2 הוא העוטף

במעבר מה RER לגולג'י ומהציטרנה הראשונה בגולג'י לאלו שאחריה. המעטפת נוצרת כתוצאה של פילמור ספציפי.

מעטפת הקלטרין מורכבת מ-6 תת יחידות 3 גדולות ו-3 קטנות היוצרות מבנה של תלת רגל Tri Skelion והמעטפת הנוצרת מהפילמור נראית כמו כדורגל דבר הגורם לאינבגיניציה בגלל אינטרקציה בין הקלטרין לממברנה, המרחק בין הקלטרין לממברנה הוא כ-20 ננומטר והמקשר הוא הסלקטורים הקשורים למעטפת הקלטרין ולממברנה.

הסלקטורים הם חלבונים מתווכים והם נקראים אדפטינים, האדפטין מכיר מצד אחד את מעטפת הקלטרין ומצד שני הוא מכיר באופן ספציפי את רצף בסיסים בחלק הציטוזולי של ה-Cargo רצפטור רצף זה הוא $YXX\phi$ (Y טירוזין, X כל חומצה אמינית שהיא ו- ϕ חומצה אמינית בעלת שייר גדול). כיום ידוע על 3 אדפטינים והם: Ap-1 הנמצא בוסיקולות מהגולג'י לאנדוזום, Ap-2 שנמצא האנדוציטוזה ובהפרשה מבוקרת ו-Ap-3.

הפולימריזציה של המעטפת וקיום האדפטינים הוא מה שגורם להנצה של הוסיקולה. קיטוע הוסיקולה מתבצע עם ידי החלבון דינאמין שהוא חלבון גבוה מולקולרי המקיף את צוואר הוסיקולה שנוצר ואז חל שינוי במבנה המרחבי שלו מה שגורם לקריעת הממברנה ויצירת הוסיקולה. תהליך הקיטוע דורש GTP, כאשר מעקבים הידרוליזה של GTP על ידי $GTP\gamma S$ מקבלים וסיקולות הקשורות בצוואר ארוך לממברנה אל לא משתחררות ממנה. הדבר התגלה במוטציה בדרוזופילה שהייתה רגישה לטמפרטורה כך שבטמפרטורה של 30° היה שיתוק בעוד שב- 20° הכל היה בסדר ושחקרו את הסיבה לשיתוק ראו כי הוסיקולות לא יכולות להשתחרר.

הקילוף של המעטפת דורש אנרגיה של ATP הדבר נעשה על ידי שפרון HSC70 הנקשר למעטפת הקלטרין ובפעילות ATPase הוא מפרק ATP ומבצע דיסוציאציה למעטפת, תהליך זה הוא תחת בקרה אך מנגנונה לא ידוע עדיין. יצירת המעטפת של הקלטרין לא דורשת אנרגיה אך ההינתקות והפרוק של המעטפת דורשים אנרגיה.

הוסיקולות העטופות בקוטומר Cop1 ו-Cop2 מתווחות בטרנספורט לא סלקטיבי, המעטפות הללו מורכבות מכמה חלבונים שעוברים פילמור, במעטפת מסוג Cop1 יש 7 חלבונים שונים המהווים את היחידה החוזרת בקוטומר. היצירה של מעטפת הקוטומר שונה מיצירת מעטפת הקלטרין, בקוטומר יש חלבון מתווך שהוא ARF במעטפת מסוג Cop1 (במעטפת מסוג Cop2 החלבון הוא Sar1) חלבונים אלו הם חלבונים קטנים קושרי GTP (פעילים עם GTP ולא פעילים עם GDP) והם בעלי פעילות של GTPase חלשה וכדי להגביר אותה הם צריכים אנזים הנקרא GAP (יש GAP ספציפי לכל חלבון), כמו כן החזרה מהמצב הלא פעיל למצב הפעיל היא על ידי פקטור שיחלוף המחליף GDP ב-GTP (יש פקטור שיחלוף שונה לכל חלבון).

בחלק מהמוטציות הסרטניות חלבונים אלו מאבדים את היכולת שלהם להיות GTPase ואז הם נישארים פעילים כל הזמן, הדבר קורה בכ-20% מכלל הגידולים הידועים ובכ-80% מסרטן המעי.

כפי שכבר ציינו ב-Cop1 אירגון המעטפת מתבצע על ידי ARF הנמצא בציטוזול, וגם בממברנת הגולג'י כך שבציטוזול הוא לא פעיל, כאשר הוא ניקשר לרצפטור על ממברנת הגולג'י (ARF-R) ואז הוא מגייס את יחידת הקוטומר ליצירת מעטפת בצד הפונה לציטוזול, בדומה למעטפת הקלטרין גם יצירת מעטפת זו מהווה את הכוח

להנצה. בניגוד לקלטרין כאן אין אדפטינים אך יש חלבונה נקרא β Cop והוא בעל רצף הדומה לזה של אדפטין, חלבון זה מצוי בתוך הקוטומר ומכאן משערים שהאדפטינים כאן הם חלק מהקוטומר. שיש פגיעה ב- β Cop לא ניתקות ווסיקולות מהגולג'י לכיוון ה- RER וכיוון שמה- RER יוצאות ווסיקולות לגולג'י ניתן לראות כי ה- RER הולך ונעלם וכתוצאה מכך התא מפסיק לתפקד ומת. ה- β Cop מכיר את הרצף על חלבונים כמו KDEL Receptor המחזיר חלבונים ל- RER המתפקד כמו Cargo Receptor, הסיגנל שמוכר הוא KKXX. ב- COP2 התכונות זהות רק החלבונים שונים והרצף המזוהה הוא שונה.

ה- VSV(G) הוא חלבון גליקופרוטאין של הנגיף VSV שאליו מחברים חלבון פלורסצנטי ירוק (GFP) ראו כי הוא נארז בוויסיקולות ונראו ווסיקולות ירוקות המתאחות בדרך לגולג'י ויוצרות אורגנלה שקשורה לסיבי מיקרו טובולין שעליו נעה האורגנלה, עדיין לא ידוע בוודאות אך כנראה כל הוויסיקולות בתא גם נעות בדרך זו.

השלב הבא בטרנספורט הוויסיקולרי הוא הכרה ועיגון ואחריו איחוי. העיגון הוא היצמדות של הוויסיקולה לממברנה ואילו האיחוי הוא חיבור ממברנת הוויסיקולה ועם הממברנה שעליה הוא מעוגן. מערכת זו ניבדקה במערכת העצבים שם עוברים ניוורטרנסמיטורים בוויסיקולות וטוקסינים מסוימים גורמים לשיתוק והפסקה של המעבר.

הניורוטוקסין שגורם לכך בנוי משתי שרשראות האחת גדולה (100KD) והשניה קטנה (50KD), באנדוזום שם סביבה חומצית מתנתקים קשרי ה- SS והשרשרת הקטנה יוצאת לציטוזול. לשרשרת הקטנה יש פעילות פרוטאזית והיא מפרקת חלבונים מסוימים הקשורים באיחוי הוויסיקולה.

במנגנון העגינה של הוויסיקולה אחד החלבונים הוא VAMP או Synapto Brevin והוא מעוגן בממברנת הוויסיקולה ובעל זנב קטן בתוך הוויסיקולה וחלבון נוסף הוא הוא SNAP25 המעוגן בממברנת הפלזמה הפרהסינפטית בעמצעות ליפיד, עוד חלבון במערכת הוא Syntoxin שהחלק הקרבווקסילי שלו מצוי בתוך הממברנה הפרהסינפטית. חלבונים אלו הם החלבונים שנקטעים על ידי הטוקסינים השונים הפוגעים בעיגון. לחלבונים הקשורים לעגינה של ווסיקולות קוראים SNARE כך שאלו שעל הוויסיקולה הם V-SNARE ואלו שעל ממברנת המטרה הם T-SNARE.

חלבוני ה- V-SNARE וה- T-SNARE מכירים זה את זה באופן ספציפי דבר המהווה גורם בעל חשיבות רבה לעיגון אך הם לא היחידים ישנם חלבונים נוספים החשובים לעיגון. כדי להבטיח קישור נכון ישנו חלבון הנקרא Rab שהוא חלבון קטן קושר GTP ומבטיח קישור ספציפי של ה- V-SNARE וה- T-SNARE, חלבוני ה- Rab פועלים על ידי קשירה של GTP ואז הם נקשרים לוויסיקולה, יש חלבוני Rab שונים והנכון צריך להתקשר כדי שהחיבור היה נכון.

רק לאחר הגעת הוויסיקולה לממברנת המטרה ויצירת העיגון ה- Rab מבצע הידרוליזה ל- GTP ונישאר עם GDP מה שגורם לו להשתחרר מה- V-SNARE ומה- T-SNARE, כלומר החלבון Rab גורם בעצם לעגינה Docking.

האיחוי עצמו מתרחש אחרי הניתוק של ה- V-SNARE וה- T-SNARE וזה על ידי הידרוליזה של ATP ושני חלבונים SNAP ו- NSF, חלבוני ה- SNARE הם בעצם רצפטורים לחלבון SNAP (SNAP Receptor) ומכאן שמם. החלבון SNAP הוא זה שמבצע את הידרוליזת ה- ATP והסרת חלבוני ה- SNARE לאחר קשירתו על שני הסוגים (ה

(V-SNARE - ו T-SNARE). כתוצאה מכך נוצר האיחוי, תהליך זה דורש גם קלציום.

כדי שהממברנות יתאחו צריך שיהיה חירור שלהן, עדיין לא ידוע איך הדבר נעשה אך משערים כי המנגנון דומה לזה של וירוסים. לוירוסים יש צורת קפסיד העטוף בממברנה הזוהה בהרכב לממברנת האיבר ממנו יצא הוירוס (ממברנת פלזמה, RER TGN וכו'), בנוסף לכך בממברנה יש גליקופרוטאינים הקובלים את האנטיגניות של הוירוס והם נקראים Spikes, הגליקופרוטאינים הללו גם מסייעים בהדבקה כיוון שהם ספציפים לרצפטור שעל הממברנה וכך הם מנצלים את מנגנון האנדוציטוזה לשם כניסה לתאים.

לאחר הכניסה של הוירוס לתא הוא מגיע בטרנספורט ווסיקולרי לאנדוזום שם יש את האיחוי בין ממברנת הוירוס לממברנת האנדוזום והוירוס שופך את הגנום שלו לציטוזול ומשם המידע הגנטי עובר לגרעין בצורה אחרת. החלבון שגורם לאיחוי הוא ה-Spike, בוירוס האנופלואיזה בחלבון זה יש שני חלקים HA_1 החוזר ³ פעמים ו- HA_2 החוזר גם הוא ³ פעמים, ב- HA_1 יש חלק גלובולרי וב- PH נטרלי החלקים הגלובולרים הללו באינטראקציה והם מכירים רצפטור בתא המודבק שהוא חומצה סיאלית Sialic Acid כל אחד מ- HA_1 קשור לאחד מ- HA_2 בקשרים דיסולפדיים.

ה- HA_2 מורכב משני α הליקסים המחוברים בניהם בלולאה ובקצה יש פפטיד מאד הידרופובי הנקרא Fusion Peptide, פפטיד זה חבוי בתוך החלבון ב- PH נטרלי אך ב PH חומצי של האנדוזום האיזורים הגלובולרים שעל ה- HA_1 מתנתקים אחד מהשני והחלבון משנה צורה ובעקבות הקשרים הדיסולפדיים על ה- HA_2 מה שגורר שינוי גם בו כך שכולו הופך ל- α הליקס מה שגורם לחשיפה של הפפטיד ההידרופובי ואז הוא ניכנס לממברנה ויוצר קרע קטן המספיק לאיחוי הממברנה של הוירוס לזאת של האנדוזום.

טרנספורט לגרעין

לתוך הגרעין נכנסים בטרנספורט חומצות אמינו וחלבונים, לגרעין יש שתי ממברנות כפולות שבהם יש נקבוביות הנקראות Nuclear Pores והם אלו שמבקרות כניסה ויציאה של מקרומולקולות, מתחת למעטפת הגרעין יש סיבי ביניים הנקראים Nuclear Lamina שאל שיכבה זו גם מעוגן ה- DNA, הלמינה היא זו שנותנת לגרעין את צורתו.

ה- Pores הם בעלי גודל עצום של למעלה מ- 12 מיליון דלטון והם מורכבות מ- 50 עד 100 חלבונים שונים, על ידי פירוק עדין של ממברנת הגרעין עם דטרגנט עדין ללא פגיעה בלמינה ניתן לראות כי ה- Pores מחוברים ללמינה, ה- Pores נראים כמבנה טבעתי המורכב משני טבעות אחת פונה לציטוזול והשנייה לתוך הגרעין ובניהם יש מבנה כמו עמודים המקשרים בניהם, כלפי הציטוזול יש פילמנטים קצרים ואילו לתוך הגרעין יש פילמנטים ארוכים המחוברים במבנה טבעתי שנראה כמו סל ונקרא Nuclear Basket. אין זה ידוע עדיין אם ה- Pores פתוחים כל הזמן או נפתחים ונסגרים, כאשר מסתכלים במיקרוסקופ ניתן לראות כי חלק מהנקבוביות חסומות אך זה יכול להיות חומר שנמצא במעבר דרכם.

קיים חלבון הנקרא נוקלאופלסמין אשר עוטר חומרים הנכנסים לגרעין, הוא מורכב מ- 5 תת יחידות שלהם חלק גלובולרי וחלק ישר (מקל), על ידי עיכול פרוטאוליטי עדין ניתן להפריד בין החלק הגלובולרי למקלות, כשניסו להכניס לגרעין חומרים מסומנים לשם מעקב בעזרת חלבון זה במצב המפורק ראו כי המקלות הם אלו

שמאפשרים את הכניסה דרך ה - Pores, מניסוי זה ניתן להסיק כי יש סיגנל בחלבון המאפשר את הכניסה לגרעין.

את הסיגנל גילו לראשונה בחלבון Large T בנגיף SV40, חלבון זה נוצר בשלב מוקדם בהדבקה ומבקר שעתוק והדבקה, הרצף שבחלבון זה האחראי לכניסה לגרעין הוא רצף של 5 – 7 חומצות אמינו טעונות חיובית, התברר כי מספיקה מוטציה בחומצה אמינית אחת ברצף כדי למנוע כניסה לגרעין לסיגנל זה קוראים NLS, יתכן כי לחלבון מסוים היה מספר פעמים את הסיגנל הזה וישנם חלבונים בהם הרצף שונה במקצת בכך שהוא בנוי משני Domains וקיים מרחק מסוים בניהם. קיימים גם חלבונים שנכנסים לגרעין לא סיגנל זה וזאת על ידי קשירתם לחלבונים אחרים שלהם יש את הסיגנל לדבר זה קוראים Piggyback.

RNA ו - DNA פולימראזות נוצרות בציטוזול ונכנסות לגרעין כמו כן כל שאר החלבונים הקשורים בשעתוק ורפליקה של DNA, יש גם חלבונים נודדים שנכנסים לגרעין ויוצאים ממנו.

רצפטורים להורמונים סטרואידים לדוגמה טוסטסטרון, פרוגסטרון, אסטרוגן, גלוקוקריטיקואידים וכו' מגיעים לגרעין רק לאחר קשירה לליגנדים שלהם, לכולם יש 3 קטעים שמורים האחד הוא רצף הכניסה לגרעין אחד קישור ל - DNA ואתר קישור לשפרון HSP90 שקשור אליהם בציטוזול וחוסם את רצף הכניסה לגרעין ורק כשניקשר הליגנד מתנתק השפרון וסיגנל הכניסה לגרעין נחשף ומתאפשר המעבר לגרעין.

יציאה מהגרעין Export

מהגרעין יוצאים לציטופלזמה מלבד RNA גם חלבונים שונים ובניהם גם חלקי ריבוזום. ניסוי הטרורקרון ניתן לעקוב אחר חלבונים שנשארים בגרעין לחלבונים שיוצאים וחוזרים לגרעין, בניסוי לקחו שני סוגי תאים תא HeLa (תא אפיתל סרטני ואזור צוואר הרחם) ותא אקסנופוס (צפרדע) ואיחו אותם לקבלת תא עם שני גרעינים לתאים אלו יש גרעינים בצורות שונות לאחד עגול ולשני אובלי וקל להבחין בניהם את החלבונים שמצויים בגרעין של תא אחד צבעו בצבע פלורסצנטי ועקבו אחריהם.

חלבוני ה - hnRNP הם חלבונים הקשורים ל - RNA ובניסוי לקחו נוגדנים לשני סוגים מהם AI ו - C שניהם מתא האדם וראו כי רק אחד מהם עובר לגרעין התא של הצפרדע בתא המאוחד. הניסוי בוצע תוך כדי עיכוב סינתזה של חלבונים כי אחרת יעברו חלבונים שמקורם לא ידוע.

כשבודקים את החלבונים הללו רואים כי קיים בהם סיגנל ל - Export שהוא רצף עשיר בלאוצין והיציאה היא מה - Pores, ל - RNA בגרעין קשורים חלבונים שחלקם יוצאים וחלקם נשארים ולכן חייבת להיות בקרת סינון והיא על ידי קשירה לרצפטור של החלבונים שיוצאים עם ה - RNA ואלו שלא נקשרים נשארים בגרעין.

מה שמהווה את הכוח המניע ליציאה מהגרעין זה ה - CAP, במידה וה - RNA לא עובר את תהליכי העיבוד שלו הוא לא יוצא מהגרעין, כאשר יוצאים סיבי RNA לא מעובדים הדבר גורם ליצירת חלבונים פגועים ומוות של התא, לכן חייבת להיות בקרה הדוקה המונעת יציאת RNA לפני סיום העיבוד.

כשה RNA יוצא לציטוזול מתחלפים החלבונים שעליו לאחרים וכדי שזה יקרה צריך פעילות של חלבונים קטנים קושרי GTP, החלבון RAN הוא חלבון כזה שנע בין הגרעין לציטוזול, בגרעין הוא קשור ל - GTP ובציטוזול ל - GDP ואז הוא לא פעיל, כאשר הוא חוזר לגרעין החלבון RCC1 מבצע שחלוף של GDP ל - GTP והחלבון RAN חוזר להיות פעיל.

כדי שהבקרה ליציאה תהיה טובה ולא יצא RNA שלא עבר עיבוד הספליסוזום הוא זה שקובע עם ה - RNA יצא על ידי כך שכל עוד שהוא קשור ל - RNA הוא לא מאפשר יציאה מהגרעין. במחלת הטלסמיה יש ריכוז נמוך של גלובין והסיבה היא שיש מוטציה הפוגעת בשחבור ואז לא יוצא RNA תקין, קיימים גם מיקרים בהם הספליסוזום מתחבר לאתרים קריפטיים שדומים לאתרי השחבור ובהתנתקותו מקבלים RNA שיוצא ונותן חלבון פגום.

המודל ל - Import דומה לזה של ה - Export, רק שהאנרגיה ל - Import היא מ - ATP וצריך גם ליזאט מהציטוזול כלומר חלבונים צטוזוליים שללא קיומם לא יכנסו חומרים לגרעין. כל החלבונים שעוברים מהציטוזול לגרעין הם Cargo Proteins ה - α ימפורטין הם בעלי רצף כניסה לגרעין ורצף ל - Cargo Proteins ובנוכחות ATP יש ניתוק שלהם וחיבור לרצפטור ב - Pores ואז כניסה דרכו לגרעין.

החלבון RAN הפעיל בגרעין מפרק את הקומפלקס שניכנס על ידי תחרות עם α ימפורטין על הקישור ל - β מה שמפרק את הקומפלקס וה - RAN ניקשר ל - β ויוצא איתו מהגרעין ולאחר מכן יוצא גם ה - α מה שקובע את כיוון הטרנספורט זה בעצם המעבר של RAN ממצב פעיל למצב לא פעיל.

בזמן הפרומטהפזה בחלוקת התא ממברנת הגרעין נעלמת והנוקלאר למינה שקשורה אליה המורכבת מ - סוגי למינה A, B, C - 1 כך ש - B קשור לממברנה על ידי חומצה שומנית ו - A - 1 - C קשורים אליו, בחלוקת התא יש אנזים קינאז שמזרחן את הסרין והטירוזין בלמינה וגורם לפרוקה כך שלומן B נשאר קשור לממברנה כתוצאה מכך מתפרקת הממברנה ומתארגנת בוויסיקולות קטנות המתפזרות בציטוזול, בסוף חלוקת התא יש פוספטאז המסיר את הזרחן מהלומינה והוא מתקבלת מחדש ויחד איתה ממברנת הגרעין, בזמן שהממברנה מפורקת לוויסיקולות ה - Pores נמצאים בתוך אותם הוויסיקולות כך שבפריסה של מעטפת הגרעין מחדש היא מיידית מתחילה לתפקד באופן מלא.

כניסת חלבונים למיטוכונדריה

החלבונים המגיעים למיטוכונדריה הם לא מקופלים, לחלבונים אלו יש סיגנל בקצה האמיני שלהם והם נכנסים למיטוכונדריה באזורים בהם הממברנה הפנימית והחיצונית של המיטוכונדריה קרובות מאוד. הסיגנל הוא הליקס אמפיפטי שבקצה אחד יש לו חומצות אמינו חיוביות ובקצה השני חומצות אמינו הידרופוביות, לשם הכניסה דרושה אנרגיה מ - ATP גם בציטוזול וגם במטריקס וגם פוטנציאל אלקטרו כימי המונע את הישארות החלבון בממברנה (ניתן לבדיקה על ידי מפרי צימוד ואז רואים כי החלבון לא חודר למיטוכונדריה).

בציטוזול צריך ATP לשם שמירה על החלבון לא מקופל עד כניסתו למיטוכונדריה, וזאת על ידי שפרונים, למיטוכונדריה מגיעים חלבונים כמו RNA - 1 DNA פולימראזות כיוון שלמיטוכונדריה יש DNA משל עצמה, המעבר מתבצע על ידי שתי מערכות אחת בממברנה החיצונית והשניה בממברנה הפנימית מערכות אלו צמודות וכך נוצר מעבר שלם.

לחלבונים שצריכים להגיע לאזורים שונים במיטוכונדריה יש סיגנלים נוספים כמו הסיגנל המנחה למטריקס סיגנלים אלו נחתכים לאחר הכניסה. חלבונים שתקועים בממברנה הפנימית הם בעלי שני סיגנלים הראשון עובר קיטוע לאחר הגעתם למטריקס ואז סיגנל שני מכניס אותם לתוך הממברנה. לגבי חלבונים שהיעד שלהם הוא בין ממברנות המיטוכונדריה יש שתי תאוריות האחת אומרת כי החלבון שניכנס לא עובר למטריקס אלה לאחר הקיטוע נשאר קשור לממברנה הפנימית ואז בקיטוע נוסף הוא משתחרר למרווח בין הממברנות, והשניה אומרת כי החלבון מגיע למטריקס ואז סיגנל שני מעביר אותו דרך תעלה למרווח בין הממברנות ואז הוא עובר קיטוע כך שהחלבון נשאר בין הממברנות.

ט.ל.ח