

סיכומים בביולוגיה של התא 2 חלק א'

בגופנו התאים לא נמצאים לבדם אלה בסביבה של תאים אחרים והם צריכים להיות באינטרקציה עם סביבתם, אינטרקציה זו כוללת את זיהוי מקום התא והתקשרות עם התאים השונים בסביבת התא. במחקר של תאים התגלה שישנם תאים ש"אוהבים" להיקשר לתאים מסויימים ויש כאלו ש"שונאים" לעשות זאת, ושכל תא כולל בתוכו את היכולת לנדוד ולהגיע למקום בו הוא צריך להיות בסופו של דבר.

קשרים והכרות בין תאים

כאשר החלו לבדוק אלו קשרים נוצרים בין תאים הסתכלו על ריקמת אפיתל בחתכים היסטולוגיים וראו שיש אזורים בהם התאים יותר קרובים אחד לשני מאשר בשאר המקומות, לאזורים אלו בממבראנה קראו Tight Junction, שם זה לא אומר דבר בקשר לפונקציה של קשרים אלו. לאחר מכן התברר כי תאי אפיתל המכילים Tight Junction תוחמים בין שכבות שונות במעי, כלומר בין חלל המעי לתוך הגוף.

ה - Tight Junction לא נוצרים סתם בין כל שני תאי אפיתל, תא האפיתל הוא תא פולארי כלומר מבנה הממבראנה שלו שונה בשני צדדיו, וקיימים גם תאי אפיתל שבהם יש מפל חשמלי בין הצדדים. כאשר מקפיאים רקמת אפיתל על מנת להבחין ב - Tight Junction אנו רואים כי הם לא רציפים, אלה פסים פסים המפרידים תאי שטח בתוך הממבראנה וניתן להראות כי הם זהים לאלו שבממבראנה הסמוכה.

לאחרונה גילו כי החלבונים הקשורים ל - Tight Junction הם הקלאודינים וכיום ידועים על 15 סוגים שונים של חלבונים אלו, תפקידם של הקלאודינים הוא לחבר שתי ממבראנות ביחד. חלבון נוסף ב - Tight Junction הוא אוקלודין. הקלאודינים יושבים בתוך הממבראנה ונקשרים לקלאודינים שבממברנה השניה בקשרים הומופילים, לדוגמה 1 יכול להיקשר עם 1, 2 אך לא 3 וכו', כך נוצרות אפשרויות חיבור רבות של סגירה ובכל ריקמה יכולים להיות קשרים שונים. גם הקלאודינים וגם האוקלודין קשורים לשלד התוך תאי.

עד לפני כמה שנים חשבו כי ה - Tight Junction נותנים הפרדה אבסולוטית, והייתה הנחה שהמעבר דרך השיכבה חייב להיות דרך התא כמו במעבר גלוקוז, הנחה זו נשברה לאחרונה כשהתברר כי הקלאודינים יכולים ליצור קשרים שונים שחלקם יוצרים מצב של "רוכסן" כלומר אטום החלוטין אך יכולות להיות קומבינציות נוספות הנותנות רמת יותר עבירות, קשרים אלו נקראים פרמאבילים.

תפקידם של הקשרים הללו הוא לא בזיהוי והכרה של התאים וזאת כיוון שה - Tight Junction נוצרים לאחר שלב ההכרה, בנוסף סוג הקשרים אינו הגורם היחיד לקביעת האטימות גם עובי שיכבת ה - Tight Junction ומספר הרצועות של Tight Junction משפיעים משמעותית על האטימות.

ישנם שני סוגים של קשרים הנחוצים להכרה הבין תאית והם הדסמוזומים וה - Adherens Junction, שני סוגי קשרים אלו גם מעוגנים לשלד התוך תאי הנותן להם יציבות. ההבדל בין הדסמוזומים ל - Adherens Junction הוא בקשרים בתוך התא, ה - Adherens Junction קשורים לסיבי אקטין בעוד שהדסמוזומים קשורים לסיבי הביניים Intermediate Filament. מחוץ לתא הקשרים של הדסמוזומים ושל ה - Adherens Junction דומים, קשרים אלו של הדסמוזומים אבל עם המטריקס החוץ תאי קוראים המידסמוזומים. הקשרים שנוצרים הם בדרך כלל הומופילים וב - Adherens Junction הקשרים שהם E - Cadherin לא יקשרו לתאים שהם L - Cadherin, הקדהרינים הם חלבונים קושרי סידן הדרוש לשם קישורם של קדהרינים מתאים שונים.

סוג נוסף של מולקולות שיוצרות קשרים בין תאים הוא CAM, המולקולה N-CAM קיימת במערכת העצבים ומולקולת N-CAM אחת יכולה להיקשר לאחרת מתא שני, הקישור אפשרי בגלל מבנה של אימונו-גלובולין בו מתבצע הקישור. קבוצה נוספת של מולקולות קושרות היא Mvncun-Like CAMS, שהם מולקולות בעלות סוכרים היוצרים קשרים עם סלקטינים Selectins.

האינטגרנים Integrin הם מולקולות הנעוצות בממבראנה ומורכבות משרשרת α ושרשרת β , מולקולות אלו מזהות קומפוננטות במטריקס החוץ תאי, תאים אלו במיקרים קיצוניים משמשים תפקיד בהכרה וקישור בין תאים.

כיום ידועים כ- 40 קדהרינים חלקם נמצאים ב- Adherans Junction וחלקם בדסמוזומים, ואינה קיימת מניעה שעל תא אחד היו מספר סוגים של קדהרינים. ב- Adherans Junction הקדהרינים מסתדרים בטלאים או רצועות על ממבראנת התא והם קשורים לשלד התוך תאי מה שמרכוז ומונע את פיזורם באופן זהה בממבראנה. החיבור בין הקדהרינים לשלד התא הוא מורכב ממרכיבים רבים שיוצרים את הקישור. ביו האיזורים השונים של קישורים אלו יש Stress Fibers שהם נמתחים ומכן שמם. החלבונים המצויים בקישור זה הם גם בעלי חשיבות בהעברת סיגנלים לתא, והם מהווים את הקישור העקיף של הקדהרין לשלד התא.

לחלבון β Catenin המצוי בציטופלזמה ומשתתף בקישור הקדהרינים לשלד התא יש שני תפקידים, האחד הוא סטרקטורלי כלומר, מבנה הקשר. השני לעומת זאת הוא בהעברת סיגנלים לתא מהקדהרין. חלבון זה מתפרק כל הזמן בציטופלזמה על ידי היוביקויטין (סוג של פרוטאזה) לאחר זירחון, כאשר עובר סיגנל חשמלי נמנע הזירחון וחלבון זה לא מפורק אלא מצטבר וניכנס לגרעין התא מה שמעודד את חלוקת התא. בתאים סרטניים יש מיקרים של פגיעה בקשירה לתאים שכנים הקשורה בהתחלקות התא וזה בעכבות אי פרוק חלבון זה. הפרוק על ידי היוביקויטין נעשה על ידי קישור של החלבון שנועד לפרוק לליזין על היוביקויטין ועל ליזין נוסף נקשר עוד יוביקויטין וכך עד שנוצר עץ גדול המסמן למערכת של בליעה (Proteasom) להתחיל לפעול מה שגורם לפרוק החלבון לאחר הבליעה ושיחרור של היוביקויטין.

ב- CAN הקישור הוא על ידי אימונו-גלובולינים ועוצמת החיבור תלויה במספר גורמים, אחד מהם הוא גליקוזילציה באזור הקשר, ל- CAM יש חומצה Polysialic Acid והקשר בין ההליקסים של ה- CAM נחלש ככל שהשרשרת של חומצה זו גדולה יותר. מנגנון נוסף הוא בשחבור אלטרנטיבי שנותן אורכים שונים של מולקולות.

תאים מסויימים בדם כמו מונוציטים יכולים לצאת מזרם הדם דרך תאי האפיתל של כלי הדם, היציאה אפשרית לאחר קישור של מולקולות CAM מסוג i-CAM עם p-Selectin המבוטאים על כלי הדם, לאחר ההידבקות המונוציט הוא מתגלגל על תאי האפיתל (אנדותרל) עד שהוא מגיע לאקטיבטור, האקטיבטור גורם לאינטגרין ספציפי להיקשר ולאחר מכן יש חזירה דרך המרווח בין התאים.

הקדהרינים בדסמוזום קשורים ל- Intermediate Filament ובאפיתל הם קשורים ל- Keratin, שני סוגי סיבים אלו הם חלק משלד התא, לעומת זאת ב- Adherans Junction קיימים Adaptor Proteins הקושרים את הקדהרינים ל- F-Actin שהוא סוג של סיב בשלד התא, אזורי החיבור לאקטין קשורים בניהם בסיבים שהם Stress fibers, קישור זה יוצר מתח ולחץ על הסיבים מה שמחזיק את הריקמה והתפרקות של סיבים אלו גורמת להתכדרות התא.

סוג נוסף של חיבור בין תאים הוא Gap Junction, חיבור זה הוא שונה לחלוטין, הוא מורכב מקונקסינים Connexin שהם קבוצת חלבונים חוצי ממבראנה שחוצים את הממבראנה מספר פעמים ויוצרים קומפלקס של תעלה. כאשר יש שני תאים צמודים ובהם Gap Junction המיקטעים הללו מתחברים ויוצרים תעלה המחברת את הציטופלסמות של שני התאים, תעלה זו מאפשרת מעבר של חומרים קטנים (עד 1000 דלטון) בין התאים. קיום של תעלות אלו מאפשר שיתוף פעולה בין התאים ברקמה ומשפר את העברת האותות ושיתוף הפעולה של כל תאי הרקמה. לתעלות אלו יש רמה מסויימת של בקרה על ידי יוני סידן והיא משמשת כמנגנון הגנה, במידה ותא ניפגע או עובר למצב של אפיסטזיס רמת יוני הסידן בו עולה דבר הגורם לסגירת התעלות ובידוד התא כדי לא להעביר את הגורם לפגיעה לתאים השכנים וגם למנוע ביזבוז של חומרים שיוצאים מהתאים השכנים. קשרי ה- Gap Junction נוצרים רק עם יש התאמה מלאה בין התעלות של שני התאים המעורבים בקשר כיוון שרק במצב זה יכולה להיווצר תעלה המקשרת את הציטופלסמות.

המטריקס החוץ תאי (ECM) Extra cellular Matrix

המטריקס החוץ תאי שונה ממקום למקום בגוף, הוא מכיל את כל המרכיבים החוץ תאיים שהם לא מים יונים או הורמונים, כלומר הוא מכיל חלבונים וסוכרים היוצרים את מיגוון הרקמות. תפקיד ה- ECM הוא להחזיק את התאים, לחברם אחד לשני ולספק תמיכה והגנה מפני לחצים וגם לאגור מים בריקמה, בנוסף ה- ECM מקנה חוזק וגמישות ברקמות מסוימות כמו אבי העורקים.

במע" ה- ECM מורכב מ- Basal Lamina שזו ממבראנה באזלית הסמוכה לתאים ומעניקה להם תמיכה, מבנה של שיכבה זו מצוי במטריקסים רבים כתוחם המונע מתאים מתחלקים להיכנס לרקמת החיבור. מתחת לשכבה זו יש את רקמת החיבור הכוללת חלבונים, סיבי קולגן כלי דם ותאים מסוגים שונים. הסיבים ברקמת החיבור נותנים את הגמישות והחוזק המכני, בנוסף יש גורמים התופסים מולקולות מים ובכך נשמרת הסביבה רטובה.

המרכיב החשוב ביותר במטריקס הוא סיבי הקולגן הקשורים בניהם במיגוון צורות כולל קשרים קוולנטיים. הקולגנים השונים יוצרים סיבים מסוגים שונים, לדוגמה בגידים הסיבים מורכבים בעיקר מקולגן 1 ו- 2, כתוצאה מכך ניתן להפיק קולגנים בקלות מגידים על ידי המסתם בחומצה לקבלת מונומרים. יצירת סיבי הקולגן היא בשלבים בהתחלה יוצרים המונומרים אגדים שלאחר מכן אגדים אלו מתחברים בכיוון אחד ליצירת הסיב לאחר שהם מופרשים מהתא. בתוך התא יש איזורים גלובולרים המונעים את חיבור האגדים אחד לשני, איזורים אלו מורדים לאחר היציאה מהתא ואז מתאפשרת יצירת הסיב.

סיב הקולגן נוצר על ידי 3 שרשראות מקבילות היוצרות טריפל הליקס, מבנה זה הוא מאוד דחוס כך שעל כל חומצה אמינית שלישית להיות גליצין שהיא החומצה הקטנה ביותר וגם על הסיב להכיל הרבה חומצה אמינית פרולין שהיא חשובה לכיפופים עכב היותה חומצת אמינו ציקלית. המבנה הזה של הטרופיל הליקס הוא מבנה האגדים שיוצרים את הסיב. הקשרים בין הסיבים הם בחלקם קשרי S-S בין ציסטאיינים ובחלקם על ידי חימצון של שיר אמיני מליזין ויצירת קשר מסוג Aldol וזאת על ידי האנזים Lysyl Oxidase. מיספר הקשרים בין הסיבים הולך וגדל עם הזמן וכך עם ההזדקנות מאבדים את הגמישות של הסיבים. יש קולגנים שלא יוצרים סיבים כגון קולגן 9 הנקשר לסיב של קולגן 2 ויוצר מולקולה, כמוה גם קולגן 6. אחד המרכיבים המשותפים לממבראנות באזליות הוא קולגן מסוג 4, קולגן זה יוצר מישטחים על ידי קשרי SS בין המונומרים לשם יצירת הבסיס הסטרוקטורלי של הממבראנה הבאזלית.

בשרירים יש חורים בממבראנה הבאזלית כדי לאפשר כניסת עצבים, במידה וניפגע בתא אז הוא ימות ויצמח תא חדש בדיוק במקום כך שהעצב שעובר דרך החורים בממבראנה הבאזלית יגיע אליו, הדבר פועל גם בכיוון ההפוך עם נהרוס את תא העצב אז עצב חדש ישלח את הסינפסות שלו דרך אותם חורים לעבר תא השריר.

עד עכשיו דיברנו על הקולגן אך הוא לא יוצר קשר ישיר עם התאים בריקמה, לשם יצירת הקשר יש מולקולות אחרות ב- ECM אשר נקשרות לקולגן מצד אחד ומצידם השני הן נקשרות להמידסמוזומים, מולקולות אלו הם הפיברונקטין המשמש כדבק ביולוגי. הפיברונקטין הוא דימר שבו מספר אלמנטים חוזרים וגם אתרי קישור לקולגן ולתאים, מולקולה זו היא מאוד גדולה ויוצרת בעצמה גלי כשהיא עוברת פלמור ולכן עבדו עליה במקטעים שסונתזו כל אחד בנפרד.

כדי לגלות את האתר הקושר לאינטגרין בהמידסמוזום עבדו כל פעם על חלק קטן יותר עד שהיגיע לטרי פפטיד RGD (חומצות אמינו ארגנין, גליצין ואספרטט), מקטע זה הוא הכרחי אך לא מספיק לצורך הקישור. יש מולקולות של פיברונקטין ברקמות שונות וגם בדם אך שם הוא לא קושר דבר עד שהוא עובר אקטיבציה ואז הוא יוצר אגרציה, אקטיבציה זו מתרחשת במצבים של קרישת דם.

לאמינונים הם מולקולות המורכבות מ- 3 פפטידים שונים היוצרים צורת צלב, מולקולה זו פועלת כמו הפיברונקטין ומצוייה בממבראנות בזאליות. מולקולה זו היא תוצר של שלושה גנים שונים, גם במולקולה זו קיים הרצף RGD.

מרכיבים אלו התגלו בעקבות סוג מסויים של סרטן שגורם ליצירה מוגברת של מרכיבי הממבראנה הבאזלית, סוג סרטן זה לא מאפשר גידול של התאים הסרטניים בצלחת אלא רק באורגניזמים ולכן העבירו אותו מחיה לחיה, מהחיות לקחו ומיצאו וקיבלו תרחיף של ECM המוכר כיום כמטריג'ל.

האלסטין הוא הסיב העיקרי שנותן גמישות והא מצוי ב – ECM של עורקים וכו', הסיבים שלו עוברים קישור על ידי חימצון לזינים ונוצרת מולקולה מקופלת שיכולה להימתח.

מרכיב נוסף במטריקס הוא הגליקואמינוגליקנים והפרוטוגליקנים שהם חלבונים שלהם קשור סוכר. גליקואמינוגליקנים המורכב מסוכרים של N Acetyl D Glucosamine המחובר לחומצה Glucuronic Acid החוזרים n פעמים (מגיע ל – 10^8 Mw). שרשרת הסוכר היא ללא התמרות אלה שרשרת ארוכה, בניגוד לשרשראות של סוכרים על חלבונים אחרים שבהם יש הסתעפויות של השרשרת הסוכרית וגם מסת הסוכר לא עולה על 60% ממסת החלבון כאן המצב שונה מסת הסוכר גדולה בהרבה ממסת החלבון והשרשראות ארוכות ללא הסתעפויות כלל. דוגמה למולקולה כזאת היא חומצה הילורונית Hyaluronic Acid ($n < 50,000$), סביב מולקולות אלו נוצרת כיפת הידרציה של מים בגלל הסוכר וכך נאגרים המים בריקמה ונוצר ג'ל מאוד מיומם דבר הנפוץ במיוחד במפרקים ובזכותו מתאפשרת תנועה חלקה שלהם.

קיימים סוגים נוספים של גליקואמינוגליקנים כמו הפרין המופרש על ידי תאי מאסט MAST ומהווה נוגדן לקרישה. לחלק ממולקולת הפרין יש יכולת להיקשר לאנטי טרומבין 3 שהוא אחד ממרכיבי הקרישה וכך היא נמנעת. הפרין עובר סולפנציות (הוספת סולפט) לא רק על השייר האמיני אלא גם על שיירים אחרים.

בשנים האחרונות התגלה שיכולה להיות תבנית של סולפנציה המקנה לאזורים מסוימים מטען ומייצבת מבנה. תבנית זו משתנה בין האזורים השונים של הגליקואמינוגליקן.

הפרן סולפט דומה להפרין סולפט אך בהפרין הסולפנציה היא לכל אורך השרשרת והחלוקה יחסית זהה כלומר יש אזורים עם הרבה סולפט ואזורים עם מאט סולפט, ואילו בהפרין יש אזורים עם סולפט ואזורים ללא סולפט. בנוסף הפרין הוא גליקואמינוגליקן טהור (חופשי) ואילו הפרן מתחבר לחלבון ומתקבל פרוטוגליקן ואינו מופיע בדרך כלל בצורתו החופשית.

קנדרוטין סולפט נוצר מכוונצרוצייטים שהם תאים יוצרי סחוס בו במקום גלוקוז אמין יש N אצטיל D גלקטוז אמין.

כל הגליקואמינוגליקנים סופחים מים לא בצורה ישירה אלא דרך ספיחת מלח שגורם למים ליצור סביבו כיפת הידרציה.

החומצה הילורונית איננה קשורה לחלבון אך יכולה להתקשר לרצפטורים CD44 – RAMM. רצפטורים אלו הם רצפטורים חלבוניים המצויים על פני תאים. הסינתזה של חומצה הילורונית נעשית מחוץ לתא והיא יוצרת עם מולקולות נוספות מעין קליפה של ג'ל שקוף סביב התאים, שיכבה זו מגבילה את הדיפוזיה לתא.

המבנה של הפרוטוגליקנים הוא קבוע הוא מורכב מחלבון ליבה שיכול להשתנות, קיימים מספר רב של חלבוני ליבה ידועים. לכל פרוטוגליקן יכולות להיות קשורות מספר שרשראות של גליקואמינוגליקנים ואפילו שרשראות מסוגים שונים יכולות להיות על אותו חלבון. החיבור הוא תמיד לסרין המחובר ללינקר שהוא טרי או טטרה סכרידי (GlcUA-Gal-Gal-Xyl-(ser) - גליקואמינוגליקן). הפרוטוגליקנים יכולים להיות במקומות שונים, סינדקאן למשל מעוגן לממבראנה הבאזלית ויכול להתחבר לחלבונים שונים בממבראנה הזו ולקבוע את הדיפוזיה דרכה.

סינתזת הפרוטוגליקנים נעשית בשלבים שהם הצמחת היחידות הסוכריות לאחר מכן דה-אצטילציה לאחר שנוצרת השרשרת היא מחוברת לחלבון ואז שוב דה-אצטילציה והוספת מתמירים כמו סולפט.

הסינדרקאן קשור לחלבון פעיל שיכול להיקשר לחלבונים אחרים, חלבון זה הוא טראנס-ממבראנלי הקשור בצידו הפנימי לסיבי הטובולין והאקטין של השלד התוך תאי. קיימים גם קשרים נוספים בין פרוטוגליקנים לדוגמה אגרן הנושא אליו קראטן סולפט וכונדריטין סולפט. פרוטוגליקן זה מתחבר לחלבון ספציפי שמטרתו היא לחברו לחומצה הילורונית כך מקבלים שרשרת של חומצה הילורונית שעליה link protein שאליו מחובר הפרוטוגליקן אגרן. כתוצאה מכך נוצרים מבנים מורכבים מאוד של חלבון וסוכר ב – ECM.

אגליפיקנים הם פרוטוגליקנים הקשורים לממבראנה דרך עוגן של חומצת שומן. גם לסיבי קולגן בגידים או במטריקס קשורים פרוטוגליקנים לדוגמה דקורין (קישוט Decoration), בעכברים הפרוטוגליקן הזה שומר על הסיבים בגידים להיות אחידים בגודל ובצורה ובעלי גבולות חדים.

התברר שפרוטוגליקנים בעלי תבנית של סולפט ובעיקר הפרן סולפט הם בעלי תפקידים בפיקוח על פקטורי גדילה שהם חלבונים הפועלים כהורמונים לתוך קצר ובסמוך לתא המייצר. פקטורים אלו נותנים פקודות לתאים ויכולים לגרום לתאים להתחלק או להפסיק להתפתח. אחד הפקטורים הללו הוא FGF שמעביר פקודות לפיברובלסטים להתחלק. פקטור זה לא נקשר לקולטן שלו על התא ללא קישור להפרן סולפט. בעוברי עכברים ראו כי סינדרקאן שעליו יש גליקואמינוגליקן בעל תבנית סולפטית מתאימה יכול לקשור FGF מסוים עד שלב מסוים של ההתפתחות ואז ההפרן סולפט משתנה וה – FGF הראשון כבר לא יכול להיקשר ו – FGF אחר נקשר להפרן סולפט ואז לרצפטור. כך נוצר לנו מתג. בנוסף התגלה גם כי FGF טהור מאבד פעילות ב – 50°C אך FGF שקשור להפרן סולפט הוא ממשך להיות פעיל גם בטמפרטורות גבוהות יותר. כנ"ל גם לגבי יציאה ל – ECM ונדידה פוגעת ב – FGF אך עם הוא קשור להפרן סולפט אז הוא בעל עמידות.

פונקציה נוספת של גליקואמינוגליקנים היא בקרה על אנזימים פרוטאוליטיים כמו אלסטאז ברקמה הפריפריית. כלומר הגליקואמינוגליקנים יכולים לעכב או למנוע כיכוב של אנזימים שונים.

היכולת של פקטורים כמו FGF להיקשר לפרוטוגליקנים נותנת את האפשרות לצבור אותם ב – ECM ולצור מאגר שהייה לא פעיל ומשוחרר בעת צורך, כתוצאה מכך מתקבל מנגנון פעולה מאוד מהיר. השחרור מתבצע על ידי פרוק של חלק מהפרוטוגליקנים ובכך גדלה חזירות הרקמה למעבר בדיפוזיה.

בתאים סרטניים מפורקים הפרוטוגליקנים באזור ועולה חזירות מה שמאפשר להם להתנתק מה – ECM ולנוע ברקמה.

מחזור התא מבוא

התאים מתחלקים בסדר חלוקה ברור מאוד והוא מחזור התא, יש תאים המתחלקים לאט ויש כאלו המתחלקים במהירות. תאים מתחלקים לא משנים את גודלם ומסתם כל הזמן עד לחלוקה. קיימים תאים כמו תאי עצב שמאבדים את פוטנציאל החלוקה שלהם. כשהתאים במצב בו הם לא מתחלקים הם בשלב G_0 . בשלב מסוים מגיע אות חיצוני כמו FGF או אות פנימי מיצירת FGF בתוך התא (מעגל אוטוקריני) ואז מתחילה ההערכות לחלוקה שהיא שלב G_1 .

בשלב G_1 התא מתחיל לגדול בנפח. בשלב מסוים מגיעים לנקודת האל חזור שעד אליה התא יכול לחזור לשלב הקודם וממנה חייבים ללכת עד הסוף. השלב הבא הוא שלב ה – S בו יש רפליקציה של DNA פעם אחת ולאחריה מגיעים לשלב G_2 שבו יש שלב בקרה לקראת המעבר לשלב M בבקרה זו בודקים אם הכול מוכן לחלוקה. שלב M הוא שלב במיטוזה עצמה וגם בו יש בקרה בשלב המטאפזה כדי לבדוק שכל הכרומוזומים הגיעו למישור החלוקה.

כאשר מבצעים איחוי בין תא בשלב G_1 לבין תא בשלב M התוצר מתחיל מייד בחלוקה ללא הכפלת הגנום ומכאן שיש פקטורים בציטופלזמה שאחרים על המעבר של הביקורות. פקטורים אלו הם דומיננטיים והם נקראו MPF (Mitotic Promoting Factor). גם אם נאחה תא בשלב G_1 עם תא

בשלב S ניראה כי יש מעבר של הבקרה והכפלת ה-DNA תתחיל מיידית. כאשר נעשה את האיחוי בין תא ב-G₂ עם תא בשלב S אז הגרעין שב-G₂ יחכה עד שהגרעין השני יכפיל את ה-DNA שלו ואז יחד הם יעברו לשלב M. מניסוי זה רואים שחייבים להיפטר מהפקטור בכל מעבר בנקודת בקרה ולהחליפו בפקטור חדש.

ט.ל.ח.

סיכומים בביולוגיה של התא 2 חלק ב'

מחזור התא

בשנות השמונים חקרו הרבה את מחזור התא בחסרי חוליות ובצפרדעים וגילו כי אותם אנזימים פועלים גם בחסרי חוליות גם בשמרים וגם באדם.

במחזור התא השלבים העיקריים הם המיטוזה M ושלב הכפלת ה-DNA כלומר S, שני שלבים אלו נמצאים לכן בבקרה הדוקה. האנזים המרכזי שעושה רגולציה למחזור הוא CDK (Cyclin Dependent Kinase). אנזים זה הוא הטרודימר בעל תת יחידה אחת שהיא הקינאז ותת יחידה שנייה שהיא הציקלין והיא רגולטורית. הבקרה של ה-CDK היא יכולה להיות חיובית או שלילית כלומר ה-CDK הפעיל יכול לגרום להפעלה או לשיתוק של חלבונים אחרים. דגרדציה של הציקלין היא זו שמפסיקה את פעילות ה-CDK.

השלב G_1 הוא שלב ההכנה לשלב ה-S. בסוף שלב ה-S יש כמות כפולה של DNA בתא אחרי שלב זה יש שלב G_2 שהוא שלב ההכנה לשלב ה-M. זמני מחזור התא משתנים בין האורגניזמים השונים, בשמרים אורך המחזור הוא 24 שעות. בתאים עובריים צעירים של אורגניזמים מסוימים אין שלבי G_1 ו- G_2 כלומר יש רק שלבים של S ו-M בהם התא מתחלק במהירות. לדוגמה תא ביצית של צפרדע מתחלק חלוקות ראשונות ללא גדיל של התא אלה התאים החדשים שנוצרים הם קטנים מחלוקה לחלוקה ורק בשלב מאוחר יותר התא מתחיל לעבור את מחזור התא המלא.

רוב התאים באורגניזם מצויים בשלב G_1 שבו כמות ה-DNA היא 1. את זה ניתן לראות על ידי סימונים רדיואקטיביים או פלורוצנטים ושימוש במכשיר FACS. אנו רואים גם אוכלוסיה גדולה בשלב G_2 ומאט תאים בשלבים השונים בניהם כלומר שלב S.

במחזור התא קיימות שלושה נקודות בקרה הראשונה הוא בכניסה לשלב S. בנקודה זו מוודאים כי התא צריך ללכת לחלוקה ומוכן להכפלת ה-DNA מבחינת גודל חלבונים ונוקליאוטידים. בקרה שנייה היא בסוף שלב G_2 לפני הכניסה לשלב M בקרה זו היא לשם בדיקה שכל הגנום הוכפל פעם אחת ושהכול מוכן לשלב החלוקה מבחינת גודל וחלבונים. הבקרה השלישית היא בשלב M עצמו ולייתר דיוק לפני המעבר לאנפאזה ומטרתה לבדוק שכל הכרומוזומים הגיעו למשור החלוקה דבר שמונע חלוקה לא שווה.

כדי לקיים את מחזור התא צריך לפחות שני סוגי CDK כך שהחלק שמבצע את הקטליזה זהה אך הציקלין שונה, שני הציקלינים הם אחד במעבר לשלב ה-S והשני לסיום שלב ה-M. כאשר הציקלין מפורק ה-CDK מאבד את פעולתו. בנוסף לציקלין יש גם פוספורילציה של ה-CDK. כיוון שהציקלינים שונים המבנה המרחבי של ה-CDK משתנה וכך הוא פועל על חלבונים שונים.

הביצית של הצפרדע היא מאוד גדולה היא עוצרת את ההתפתחות במטאפאזה הראשונה עד כניסת תא הזרע. כאשר יש הפריה מתחילות החלוקות ואז מקבלים Polar Body השני (הראשון מתקבל לאחר מיוזה ראשונה לפני ההפריה) ואז 12 חלקות מהירות.

כשביצעו איחויים של תאים בשלבים שונים של מחזור התא התברר שקיימים פקטורים שאחראים למעבר של התא בין השלבים השונים והם נקראו MPF (Mitosis Promotion Factors) לאחר מכן התברר כי פקטורים אלו הם בעצם ה-CDK.

האזור הקטליטי של ה-CDK עובר פוספורילציה ודי-פוספורילציה וחיבור הציקלין, רק שלושת גורמים אלו ביחד נותנים את פעילות ה-CDK. הפוספורילציה היא על טריאונין ואז מתחבר הציקלין ואז מורד פוספט שמעכב את הפעילות ומתקבל האנזים הפעיל.

ניתן לראות כי יש עליה של ריכוז הציקלינים לפני ההפעלה של ה-MPF ואחרי הפעולה של ה-MPF ריכוז הציקלינים יורד בצורה חדה ונעלם. ניסוי זה מוכיח כי הייתה דגרדציה של הציקלין והיא

זו שהפסיקה את פעילות ה-CDK. הדגדגיה מתבצעת על ידי יוביקוויטין הנקשר לחלבונים שצריכים להיות מפורקים והוא מסמן לפרוטאזות לפרק אותם.

תאי שמרים יכולים להיות בשני מצבים האחד הוא המצב ההפלואידי והשני הוא המצב הדיפלואידי (המצב הנפוץ יותר). התאים הדיפלואידיים יכולים לעבור מיוזה ומתא אחד, המכיל כמות של $2n$ DNA, נקבל 4 תאים, שכל אחד הוא בעל כמות של n , כל ארבעת התאים שיבצרו היו בתוך ספורה. תופעה זו מתרחשת כאשר בסביבה אין מספיק מזון או שאין את תנאים נוחים למחייה.

התאים ההפלואידיים יכולים לעבור זיווג בין שני המינים (זוויגים) מינים) כגון $\text{MAT}\alpha$ ו- $\text{MAT}a$ בשמר ההנצה, מאיחוי התאים ניתן לקבל דיפלואיד. התאים ההפלואידיים בשמרים מסוגלים לעבור את מחזור התא. בשמר ההנצה Budding Yeast יש פיצול של התאים שהם לא באותו גודל כלומר אחד מגן מהשני ואז גודל, לאומת זאת ה- Fission Yeast ההתפצלות היא לשני תאים בעלי אותו גודל בדומה לתאים אנימליים.

השמרים יכולים להגיב לתנאי סביבה שונים, לדוגמה כאשר נוריד את כמות האוכל בסביבתם החלוקות יתרחשו במסה קטנה יותר, עד למצב בו כמעט ואין ציטופלסמה ורוב שטח התא הוא גרעין. בנוסף גם הזמן בין החלוקות גדל. על פי תופעות אלו ניתן ליראות כי קיימת בקרה על תהליך החלוקה.

ב- Fission Yeast קיימת בקרה לקראת סוף שלב G_1 , נקודת בקרה שנייה היא במיטוזה. שלב ה- G_1 בשמר ההנצה ארוך יותר מאשר ב- Fission. במהלך שלב ה- S בשמר ההנצה מתחילה להיווצר ההנצה וקיימת חפיפה בין שלב ה- S לשלב ה- M, כלומר אין שלב G_2 . בשמרים אלו קיימת בקרה שכמות ה- DNA תוכפל ותחולק בדיוק למרות שגודל התאים אינו שווה.

כדי לבדוק שלבים שונים במחזור התא ניתן להכין תאי שמרים שבהם יש מוטציה תלויה (Conditional Mutation) לדוגמה מוטציה שתאפשר את מחזור התא בתנאים רגילים אך כשנעלה את הטמפרטורה מחזור התא ייעצר. לאחר שנמצאו מאות מוטציות כאלו ניתן היה לעקוב אחר מחזור התא. כמו כן ניתן לעצור את כל התאים בתרבית באותו שלב של החלוקה ואז לגרום להם להתחלק ביחד.

השלב הבא הוא לאתר את הגן הפגוע (למוטציות של מחזור התא קוראים CDC), כדי לעשות זאת ביצעו מבחני קומפלימנטציה או Sequencing. את מבחני הקומפלימנטציה עושים מול פלסמידים המשמשים כספרייה המכילה את כל הגנום כך שלכל תא מוחדר פלסמיד אחר. כיוון שהספרייה היא מגוון שהוא Wild Type אז נקבל הצלה בטמפרטורה גבוהה רק איכן שניכנס הגן התקין והייתה קומפלימנטציה.

אחד הגנים בהם נמצאה הצלה הוא CDC28 גן זה התברר כאחראי על יצירת ה-CDK. ב- Pombe הגן CDC2 זהה לגן CDC28 ב- Cerevisiae. כאשר יש מוטציה דומיננטית מסוג $\text{CDC}2^d$ יש יצירה מוגברת של היחידה הקטליטית של CDK כך שהתאים מתחלקים בעודם קטנים. לעומת זאת המוטציה $\text{CDC}2^-$ גורמת ליצירת תאים ענקיים כי יש מעט מידי או שכלל אין פעילות של CDK. נגד מצבים אלו קיימת בקרה הקובעת מתי תהיה חלוקת התא וזאת על ידי קינאז שמעקב את הפעילות של ה-CDK והוא ניקרא Wee1 (קטן בסקוטית). כאשר יש איבוד של פעילות האנזים Wee1 התוצאה זהה ליתר פעילות של CDC2 וזאת כיוון שאנזים זה מעכב את ה-CDK וזה זהה לתופעה של המוטציה שגורמת לפעילות יתר.

הגורם שמקנה ל-CDK את הספציפיות זה הציקלין כלומר ה- Targets בכל פעם שמופעל ה-CDK במחזור התא הם שונים. חיבור הציקלין ל-CDK מלווה בפוספורילציה ודה-פוספורילציה של ה-CDK. הפרוק של הציקלינים נקבע על ידי סימון ביוביקוויטין של הציקלין ללא ה-CDK, הסימון הוא ברצף שניקרא Mitotic Cyclin Destruction Box והפרוק מתרחש בפרוטאזום (Proteasom). עם נוסף לתא הידרוקסי אוריה אז תהיה עצירה בשלב ה- S. במידה ונוסיף הידרוקסי אוריה וקפאין תתקבל מיטוזה אך פגומה והתא יתאבד. בשלב המיוזה כאשר הציקלין המתאים נקשר ל-CDK אנו מקבלים את ה-MPF שמבצע בקרה לבדיקת גודל התאים והאם הכרומוזומים הגיעו למישור החלוקה.

כשיש כמות נמוכה של CDC25 וגבוהה של Wee1 אז מתקבלים תאים גדולים ושיש עודף של CDC25 ומעט Wee1 אז התאים מתחלקים קטנים. האנזים Wee1 עושה פוספורילציה ב – Y15 ואנזים נוסף מזרחן ב – T161 לאחר מכאן ה – CDC25 מוריד את הזרחן מה – Y15 מה שמאפשר קשירת הציקלין. מכאן יש תלות הפוכה של Wee1 לעומת CDC25. הפעילות של שני אנזימים אלו היא מקבילה וללא השפעה של אחד על השני אלה השפעה של שניהם על אותו גורם.

במעטפת גרעין התא יש את הלמינה בצד החיצוני של המעטפת יש ריבוזומים הקשורים ל – ER. בשלב המיטוזה מפורקת הלמינה, אך כשיש מוטציה בלמין A הפוספורילציה של ה – MPF הפעיל לא גורמת לפרוק הממבראנה.

קיים גם שלב שניקרא G_0 , שלב זה נמצא מחוץ למחזור התא וקיים בתאים שעברו התמיינות. למשל נוירונים הם תאים שעברו התמיינות ויצאו על מחוץ למחזור התא, הנוירונים אינם יכולים לחזור למחזור התא לאחר היציאה אך ישנם תאים שיכולים לעשות זאת. המעבר משלב G_0 חזרה למחזור התא תלוי בגירוי סביבתי המורה לו לחזור ולהתחלק.

הרטינו בלסטומה יכול להשפיע על מחזור התא כך שהוא מונע מחלבון מסוים להפעיל מספר חלבונים, כאשר הוא עובר זירחון או שיש בו מוטציה הוא לא מפסיק את החלבון ואז נגרמת התחלקות של התא במחזור התא כאילו התאים עוברים, דבר זה יכול לגרום לנזק ואף לגידול סרטני.

אפופטוזיס הוא מוות מתוכנן של תאים ולא ממחסור במשאבים אלא בעקבות משהו מתוכנן שבו התא מתאבד. את המנגנון גילו בתולעים. באפופטוזיס התא מתחיל לקטון ויש דחיסה של הכרומוטין ואז הציטופלזמה נפרדת לחתיכות ואז התא נאכל על ידי תא אחר. קיימים גנים שגורמים לסרטן בגלל שיש להם בעיה במוות המתוכנן ואותם גנים הם אלו שקובעים את מספר התאים שמתאבדים, דבר זה חשוב כיוון שאם לא ימותו תאים אז מספר התאים יגדל עקב החלוקות וכך יגרם גידול סרטני.

בנמטודה *C. Elegans* החלבון CED9 עושה רגולציה ל – CED4 שהוא המתאם של CED3 שזה החלבון שגורם לאפופטוזיס. כלומר, הגן CED9 מגן על התאים מפני התאבדות ומבקר על תמותה של תאים כדי למנוע גידולים סרטניים.

דולי

התא לפני ההתמיינות הוא תא גזע Stem Cell ותאים אלו עוברים התמיינות במהלך ההתפתחות העוברית. במהלך ההתמיינות התא מאבד תכונות ומתמחה בפעילות מסוימת. כאן נשאלת השאלה האם יש שינוי של ה – DNA בתהליך ההתמיינות? והאם הוא לא ניתן לחזרה?

בכדי לענות על שאלות אלו נלקח תא שעבר התמיינות וגודל במעבדה התא היה תא דיפלואידי מעטין של כבשה בוגרת המכיל $2n$ כרומוזומים. בנוסף הם לקחו תא ביצית מכבשה אחרת והוציאו ממנו את הגרעין המכיל $1n$ כרומוזומים על ידי שאיבה. לאחר מכאן הם איחו את התאים לקבלת תא אחד של ביצית ובו גרעין של תא בוגר. בתא הועבר זרם השמלי על מנת לגרום לאקטיבציה ואז הכניסו את התא לרחם של כבשה הרה, וכך אחד מתוך 277 נתן את דולי. המסקנה של הניסוי הזה היא שתאים בוגרים שעברו התמיינות יכולים לחזור ולתת עובר, כלומר אין שינויים בלתי הפיכים.

בנוסף נעשו ניסויים דומים אך עם תאים בשלבי התפתחות שונים. מתאי Blastocysts בני 9 ימים התקבלו 4 מתוך 385 ומתאי Fibroblast בני 26 ימים התקבלו 3 מתוך 172 כך שסך הכול התקבלו 8 הצלחות מתוך 834 ניסיונות כלומר 1%. לטענת החוקרים שביצעו ניסויים אלו הסיבה להצלחה היא בשלב G_0 כיוון שלא קיימות בו טעויות של מחזור התא שגורמים לתא להיות בשלב השונה מהמצופה.

סיכומים בביולוגיה של התא 2 חלק ג'

על פי מחקר מאובנים המעבר ליצורים רב תאיים מיצורים חד תאיים לקח כ – 2.5 מיליארד שנה. דבר זה ככל הנראה נובע מהקושי במעבר האותות בין התאים ביצורים רב תאיים. מערכת סיגנלים ביצורים רב תאיים הינה מאד מסובכת ומורכבת. אך ביצורים חד תאיים קיימת גם מערכת אותות בין התאים לסביבה ובין תא אחד לשני.

בחלק זה אנו נדבר על המולקולות הגורמות לסיגנל (SM) signal molecules נדבר גם על המולקולות הקולטות סיגנל כלומר רצפטורים ובנוסף נדבר גם על מהלך האירועים בתוך התא לאחר קליטת סיגנל. אנו נתרכז בעיקר במערכות של רצפטורים שהן טירוזין קינאז TKR. אנו גם נלמד על גישות לזיהוי רצפטורים וגישות מחקריו לחקר סיגנלים. לסיכום נדבר על סרטן מבחינה ביולוגית וגנטית ועל מערכות שונות הבאות לידי ביטוי במהלכו.

כשאנו מסתכלים על מעבר אותות ניתן לחלקו באופן גס ל – 6 שלבים הדבר הראשון הוא יצירה / סינתזה של SM וכאן נדבר בעיקר על כאלו הנוצרות בתא המופרשות ממנו ופועלות על תא מטרה. תתיכן גם פעילות של SM ללא יציאתו מהתא. ובה יש מעבר של מולקולות מתא לתא דרך Gap Junction. השלב השני הוא השחרור מתוך התא. שלב זה יכול להיות בדיפוזיה או באקסוציטוזה.

השלב השלישי הוא הטרנספורט של ה – SM לתא מטרה. שלב הרביעי הוא שלב ההכרה והאינטראקציה בין ה – SM לרצפטור. השלב החמישי הוא אקטיבציה של הרצפטור הוא מסלול של מאורעות בתוך התא המאורעות יכולים להיות מטבולים או קשורים לנדידה והתמיינות ואף דברים נוספים. השלב השישי הוא שלב הטרמינציה של הסיגנל.

יתכן שמולקולות יפרשו מתא מסוים ויגיעו לתא מטרה ובו יקשרו ויפעילו רצפטור. אך קיימת אפשרות שהמולקולה המפעילה היא חלבון ממבראנלי בתא מסוים כך שהוא בולט החוצה מפני התא ומתקשר לרצפטור על תא שכן. לצורך כך צריך שהתאים יהיו קרובים זה לזה. גם הרצפטורים יכולים להיות חלבונים ממבראנליים אך יש רצפטורים שהם תוך תאיים וכדי ש – SM יתחבר אליהם עליו לחדור לתוך התא.

את סוגי הסיגנלים ניתן לחלק ל – 4 סוגים. סיגנל פאראקרני, סיגנל סינפטי, סיגנל אנדוקריני וסיגנל אוטוקריני. סיגנל הפועל על תא הנמצא בסמוך לדוגמה ברקמה שיש מספר שכבות כמו במעיים שם יש אפיתל ומתחתיו רקמת חיבור ועוד הסיגנל שמועבר נקרא פאראקרני. רוב גורמי הגדילה Growth Factors פועלים במנגנון פאראקרני. הסיגנל האנדוקריני הוא בא ממערכות רחוקות לדוגמה המוח והוא בעיקר ההורמונים הנוצרים במקום מסוים ופועלים במקום אחר.

הסיגנל הסינפטי הוא גם מתייחס להולכת סיגנל מרחוק אך הוא שונה מהסיגנל האנדוקריני ויותר דומה לסיגנל הפאראקרני כיון שהוא משתחרר מקצוות תא עצב ופועל על תא מטרה הנמצא קרוב. אך זה לא סיגנל פאראקרני כי האות מגיע מרחוק דרך מערכת העצבים. הסיגנל האוטוקריני כשמו כן הוא סיגנל עצמי בו התא מפריש מולקולה המשפיעה על התא עצמו. דוגמה לכך היא יצור גורמי גדילה בתא סרטני המייצר כמויות גדולות של גורמי גדילה המאפשרות לו להתחלק באופן מהיר.

כמו שאמרנו גם הסיגנל הסינפטי וגם הסיגנל האנדוקריני נועדו לתקשורת מאברים רחוקים אך בניהם קיימים הבדלים רבים. בסיגנל הסינפטי תא מקור ותא המטרה רחוקים אך קצות העצב קרובים לתא המטרה בסניפסות משתחררים נוירורנסמיטורים לדוגמה אצטיל כולין וזה קורה תוך זמן קצר וקרוב לתא המטרה כלומר, ריכוזו המקומי גבוה מאד. לעומת זאת בסיגנל אנדוקריני ההורמון מגיע מהתא המייצר אל זרם הדם שם הוא נמהל ולכן ריכוזו המקומי נמוך מאד. לכן ההורמון יהיה קשה יותר לאתר את הרצפטור אליו הוא צריך להגיע. כדי לאפשר את פעולתו של ההורמון על האפיניות שלו להיות גדולה מאד. גם הדיסוציאציה של הנוירורנסמיטורים והרצפטור מהירה מהדיסוציאציה של ההורמון מהרצפטור וזאת על ידי אנזימים המשתחררים ועוזרים לפרק את המולקולה שמפעילה את הרצפטור.

אותה מולקולה יכולה לפעול לפעמים בשתי דרכים שונות למשל גורמי גדילה יכולים לפעול באופן פאראקריני וגם באופן אוטוקריני. כמו כן ברקמות שונות אותה מולקולה יכולה להפעיל רצפטורים שונים ואף מסלולים שונים לחלוטין. לדוגמה אצטיל כולין גורם להתכווצות של שריר שלד אך להרפיה של שרירי לב. בשני מקרים אלו מנגנון הפעולה זהים לחלוטין אך הרצפטור שונה. יתכן גם שליגנדים שונים הנקשרים לרצפטורים שונים יגרמו לפעולה זהה. לדוגמה, גלוקגון ונוראדרנילין משפעלים פרוק של גלוקגן.

קיימות מולקולות המסיסות במים וכאלו המסיסות בשומן כמו הורמונים וסטרואידים וגם פרוסטגלנדינים החשובים בהתכווצות שרירים חלקים ואגריגציה של תסיות דם. גם נגזרות של ויטמין A כמו חומצה רטינואית וההורמון טירוקסין שנוצר מבלוטת התריס וגם ויטמין D שייכות למולקולות המסיסות בשומן. ההבדל מהפרוסטגלנדינים לשאר המולקולות בקבוצה זו הוא שהרצפטור שלהם הוא על פני התא בעוד שהשאר הרצפטור הוא בתוך התא. המולקולות המסיסות במים הם הניורטרנסמיטורים ההורמונים שהם פפטידים חלבונים וגזים שונים כמו NO.

ההיכרות בין SM לרצפטור היא תמיד הכרה ספציפית וזה אומר שקיימת בניהם אפיניות גבוהה. כלומר רצפטור ל – FGF לא יכיר שום גורם גדילה אחר ויתכן אף שיכיר רק חלק מתוך משפחת ה – FGF-ים. לאחר ההיכרות נוצר קומפלקס הגורם לשינוי קונפורמציה ולפעמים גם לדימריזציה של שני מולקולות רצפטור לאחר ערעור הסיגנל הליגנד מתפרק או שעובר אינאקטיבציה דבר שאומר שתפקיד ה – SM הוא רק להפעיל את הרצפטור.

הרצפטורים התוך תאיים השונים מכירים מולקולות שונות אך אופן פעולתם בדרך כלל דומה. המולקולות המסיסות בשומן עוברות בדם בעזרת נשאים המשחררים אותם בסמוך לתא המטרה. מולקולות אלו נכנסות לתא ומפעילות את הרצפטורים. הרצפטורים השונים שונים אחד מהשני באזורים רבים אך קיימים בהם אזורים שמורים לדוגמה בחלק ה – C טרמינלי יש אזור זהה. נוסף לכך יש גם אתר קשירה ל – DNA הנקרא DNA Binding Domain מה שמאפשר להם להיות פקטורי שיעתוק. כל הורמוני המין פועלים במנגנון תוך תאי גם ויטמין D הנוצר בעור ועקב חשיפה ל – UV הוא מגביר ספיחת קלציום לעצמות. משך הפעולה של הורמונים אלו הוא מספר שעות ואף ימים זה זמן ארוך לגבי הורמונים. מכאן הורמונים המסיסים בשומן יעילים לתגובות ארוכות טווח.

רצפטור תוך תאי שונה הוא הרצפטור ל – NO והוא גואנליל ציקלאז. NO יודע לגרום להרפיה של כלי דם ושריר הלב NO גם משוחרר ממקרופאגים ונויטרופילים ועוזר להם להרוג מיקרו-אורגניזמים שונים. אצטיל כולין הפועל על תאי אנדוהל בכלי דם גורם לשחרור NO על ידי האנזים NO Synthase וזה על ידי דה-אמינציה של ארגנין והוא עובר בדיפוזיה לשריר חלק שם הוא נקשר לקבוצה של Heme. זמן הפעולה של NO הוא כ – 5 עד 10 שניות.

הרצפטורים על הממבראנה ניתנים גם הם לחלוקה לשתי קבוצות כאלו הפועלים אנזימטית וכאלו הפועלים ללא פעילות אנזימטית. הרצפטורים שללא פעילות אנזימטית כוללים את הרצפטורים של תעלות יונים המורכבים ממספר תת יחידות (במקרה של אצטיל כולין מדובר ב – 5 תת יחידות). משפחה נוספת של רצפטורים ללא פעילות אנזימטית הם G – Protein Linked Receptors יש חלבוני G שלא קשורים למנגנון זה החשובים בהעברת סיגנלים אך כאן מדובר בטרימרים והסיגנל גורם לשחרור חלבון G המגיע לאפקטור שהוא בדרך כלל אדנילאט ציקלאז וגורם להפעלתו. כל הרצפטורים הקשורים לחלבוני G חוצים את הממבראנה 7 פעמים.

הקבוצה השנייה של הרצפטורים היא זו שבהם יש פעילות אנזימטית או שהם קשורים לחלבון שהוא פעיל אנזימטית. התוצאה הסופית של הפעילות זהה. אך במקרה אחד הרצפטור עצמו הוא אנזים ובמקרה השני האנזים קשור לרצפטור לא קוולנטית. דוגמה לכך הוא הרצפטור לציטוקינים.

הרצפטורים שהם בעלי פעילות אנזימטית ניתנים לחלוקה לשתי קבוצות האחת היא רצפטורים שהם טירוזין קינאזות עליה נדבר בהרחבה בהמשך והקבוצה השנייה היא גואנליל ציקלאז שלו קיימת גם צורה תוך תאית המתווכת ביצירת NO.

האפינפריין נוצר במדולה של האדרנל (יותרת כליה) והוא דוגמה טובה, להורמון הנקשר לרצפטור כלומר SM. מולקולה נוספת היא היסטמין הנפלט מתאי Mast (פטם) המשמשת כמתווך בפעילות דלקתית. מולקולה נוספת היא פרוסטגלנדין היא ליפופילית ונוצרת כמעט בכל התאים היא פועלת דרך רצפטור ממבראנלי והיא נגזרת של חומצה ארכידאית. מולקולה זו חשובה לנשים בזמן הלידה לכיווץ הרחם וגם לאגריגציה של תסיות דם. אגריגציה לא מבוקרת יוצרת פלאקים בכלי דם והדבר יכול לגרום להתקפי לב. לחולי לב נותנים אספירין שמעכב את אחד התהליכים ביצירת הפרוסטגלנדין דבר הגורם לכך שיהיה פחות אגריגציה של תסיות והסיכוי לקבל טרשת חוזרת יורד.

הסיגנל מתחיל כאשר הליגנד נקשר לרצפטור ואז יש שיפעול של החלק התוך תאי הוא מתחיל נתיב של מעבר אותות שיכול להתבצע דרך שליחים משניים למשל יוני סידן, cAMP, (די-אציל גליצרול) DAG, I3P.

קיימים מספר גדול מאד של רצפטורים הניתנים לחלוקה לפי דמיון מבני ודמיון במנגנון הפעולה. סוג אחד של רצפטורים נקרא Type 1 הוא חוצה את הממבראנה פעם אחת החלק התוך תאי מכיל פעילות קטליטית והחלק החיצוני נקרא EC Domain וזה האזור שקושר את הליגנד. בתוך משפחות של רצפטור זה יש דמיון רב ברצף חומצות האמינו 85 עד 90 אחוז ואילו בין משפחות מסוג זה יש 50 אחוז דמיון. הרצפטור ל EGF – למשל מכיל אזורים העשירים בציטואין החוזרים על עצמם, יש משפחות בהם נוצרות לולאות כמו באימונוגלובולינים מה שנקרא Ig Like Domain. הרצפטור לאינסולין מורכב מהתחלה כדימר והוא מורכב מ – 4 תת יחידות הקשורות בניהן בקשרי SS. הוא חוצה פעמיים את הממבראנה והליגנד שלו כלומר האינסולין הוא מונומר.

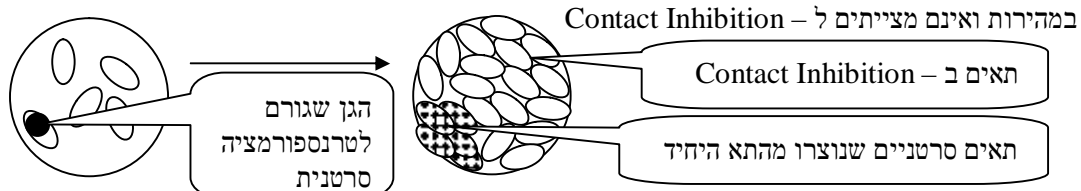
אחד הדרכים לזהות רצפטור היא על ידי קישור ספציפי של הליגנד לרצפטור. אנו מסמנים את הליגנד בצורה רדיו אקטיבית כך שפעולתו לא נפגעת ומבצעים בוחן קישור Binding Assay. אנו יוצרים גרף של כמה שנקשר ביחס לכמה שהוצא ורואים את העלייה עד לרוויה. אנו צריכים לזהות קישור ספציפי לקישור לא ספציפי ואת זה אנו עושים על ידי הוספה של ליגנד לא מסומן בריכוז גבוהה (בדרך כלל פי 100). מה שיוצר תחרות על הקישור לרצפטור. קבוע הדיסוציאציה נקבע על פי האזור בו 50% של הרצפטורים תפוסים על ידי הליגנד.

דרך נוספת היא הסתכלות על קומפלקס ליגנד רצפטור. כך שמשמשים בליגנד מסוים ומקבעים את הקשר בינו לרצפטור. כאן קיימת תקיפה קוולנטית בקשר בין החלבון לג'ל לריאקציה זו קוראים Cross linker.

לא ניתן לבדוק ספציפית על ידי תחרות של פעילות האנזים ולכן ניתן להשתמש במעכב ספציפי או באנלוג. אם אנו משווים את עקום התגובה ב – 50% רוויה מסתבר שבתגובה ביולוגית 50% הקישור נמוך בכפי 10 מאשר במערכות חוץ תאיות. כלומר, שבכדי לקבל תגובה פיזיולוגית מספיק להפעיל מעט מאד רצפטורים אך בכדי לראות את הקישור בין הליגנד לרצפטור צריך יותר מולקולות. כלומר שריכוז תגובה פיזיולוגית מהריכוז לגילוי הרצפטור.

מאחר וזיהוי קישור ספציפי ניתן לחשב משקל מולקולארי של הרצפטור וניתן להפריד אותו בעזרת קולונת בדיקה שתהיה מורכבת מהליגנד. ניתן גם לקבוע רצף ללא ניקוי החלבון בעזרת שימוש בספרית ביטוי. בכדי לגלות רצפטור יש צורך להכניס את הספרייה לתאים שלא מגיבים לליגנד וה – Assay יהיה תגובה ביולוגית בנוכחות הליגנד בתאים שבהם יש את חלק הספרייה המכיל את הגן לרצפטור. את המבחנה אנו מחלקים ל – 50 צלחות שונות ושמים פילים לראות סימון רדיו אקטיבי ואז יודעים באילו צלחות הייתה פעילות. צלחות אלו אנו מבודדים וכך מוצאים את הגן של הרצפטור.

כשיש פנוטיפ המבוטא ברמה גבוהה יכולה להיגרם תופעה של סרטן במקרה זה התאים מתחלקים



ניתן להוציא את הגוש של התאים להפריד אותם ולגדל בצלחות כך שנקבל צלחות עם פוקוסים רבים.

הקרבה האבולוציונית לחומצות אמינו גדולה מהקרבה ב – DNA. כשעושים היברידיזציה בתנאים פחות מחמירים אז יש קישור של רצפטורים נוספים במשפחה כיוון שיש הומולוגיה חלקית בניהם בדרך כלל זה אזור הטירוזין קינאז במשפחת ה – TKR.

כל רצפטורים לטירוזין קינאז משופעלים על ידי דימריזציה של הרצפטור. רצפטור משופעל הוא רצפטור שמזרחן על טירוזין באחד בשתי הדרכים. זירחון עצמי (אוטו-פוספורילציה) או בטרנס-פוספורילציה על ידי רצפטור אחר. וכדי שזה יקרה יש צורך בדימריזציה של הרצפטור. דבר המתרחש עקב קישור הליגנד. קיימים מנגנונים שונים לדימריזציה.

מסתבר שלמרות שאין שני אתרי קישור סימטריים יכול להיות קישור וזה חשוב להורמוני גדילה שבהם התגלה שיש שני אתרי קישור לרצפטור אתר ראשוני ואתר משני. כך שהאפיניות בשני האתרים שונה. באתר הראשוני האפיניות חזקה יותר מה שמאפשר לו קישור לרצפטור כתוצאה מכך האתר המשני יקבל יכולת לקשור רצפטור גם הוא. הקישור נעשה באותו מקום רק עם רצף חומצות אמינו שונה על הליגנד. האפיניות של הקישור של האתר המשני מאד נמוכה כך שכמעט לא ניתן למדוד אותה. ניתן למנוע קישור של האתר המשני לרצפטור אך זה לא ישפיע כלל על קישור האתר הראשוני. אך אם נמנע קישור של האתר ראשוני לא יהיה קישור כלל של הליגנד לרצפטור.

קולטנים שונים אפילו ממשפחות שונות יכולים לעורר אותה תגובה ואז נשאלת השאלה איך מופעלת הספציפיות אפילו שאותה מולקולה גורמת ברצפטורים שונים לתגובות שונות. גם ברצפטור עצמו יש אזור של דימריזציה עצמית וכאן נשאלת השאלה למה הרצפטור לא עושה דימריזציה עצמית. לשאלה זו התשובה היא שהאפיניות חלשה מידי בשביל לקשור רצפטור לרצפטור ללא הליגנד. הליגנד מחזק את הקשר למינימום הדרוש לשם הפעלת הסיגנל בתוך התא.

ל – Signal Transduction יש מספר שלבים. 1. קישור הליגנד לרצפטור. 2. דימריזציה של הרצפטור. 3. הפעלה של הרצפטור הפעלה זו מתבטאת בקיטלוז פוספורילציה על טירוזין ברצפטור עצמו. בנוסף להפעלת הרצפטור יש תפקיד מכריע לגיוס של חלק או כל המולקולות הקשורות בהעברת הסיגנל. 4. המסלולים עצמם של העברת הסיגנל עליהם נדבר בהמשך.

המולקולה P21 היא בעלת משקל של 21 קילו דלתון. מולקולה זו ידועה גם בשם Ras. מולקולה זו קשורה גם במעבר מתאים נורמאליים לתאים סרטניים עקב היותה בעלת תפקיד עקרי במעבר אותות. מולקולה זו שייכת לקבוצה של חלבונים הנקראים חלבונים קטנים קושרי GTP. חלבונים אלו מצויים בשני מצבים מצב הקושר GTP ומצב הקושר GDP. כאשר Ras קשור ל – GTP הוא פעיל וכאשר הוא קשור ל – GDP הוא אינו פעיל. קיים חלבון שמחליף את ה – GDP ל – GTP והוא נקרא פקטור שיחלוף. כאשר Ras פעיל באופן קונסטטיטוטיבי נוצר סרטן. מולקולה זו היא בעלת מוטציה ב – 20% עד 30% ממקרי הסרטן ב – 80% ממקרי הסרטן בלבלב.

הפסקת הפעילות של Ras היא על ידי הידרוליזה של GTP ל – GDP. ל – Ras יש פעילות פוספטאז כלומר יכולת להוריד פוספטים אך היכולת העצמית שלו נמוכה לשם כך יש חלבון בשם GAP שהופך את ה – Ras ממצב של GTP למצב של GDP. כמו ש – Ras הוא שם של משפחה גם GAP הוא שם של משפחה ולכל Ras יש את ה – GAP שלו.

כשלקחו תאים והוסיפו למצע הגידול שלהם פקטורי גדילה שונים ממשפחות שונות מצאו את Ras וראו שהכמות הקושרת GTP עולה בנוכחות פקטורי הגדילה השונים. בנוסף ניסו ואף הצליחו ליצור נוגדן מונוקלונלי שיכול לעכב את הפעילות של Ras. בשלב הבא נשאר לברר מה עובר בין הרצפטור ל – Ras ומה קורה לאחר Ras במסלול העברת האותות. ה – Ras לא מצוי באסוציאציה עם הרצפטור ולכן חייב להיות משהו בין הרצפטור ל – Ras. כדי להפעיל את Ras אנו צריכים Exchange Factor (EF) כאן קיימת אפשרות שה – EF יהיה קשור לרצפטור אך במקרה זה לא כך.

כדי לבדוק את המסלול קיימות 3 גישות והן הגישה הביוכימית הגישה המולקולארית והגישה הגנטית. היכולת להשתמש בגישה הגנטית דורשת עבודה עם יצורים פחות מתוחכמים שבהם קל לבצע מוטציות מערכת טובה לכך היא הדרוזופילה. העין של הדרוזופילה מורכבת מעיניות רבות שבכל עינית 8 תאים פוטואלקטריים. במהלך ההתפתחות 7 מתאים אלו הופכים לתאים פוטו-רצפטורים על ידי שליחת אקסונים ל"מוח" (בדרוזופילה אין כל כך מוח אלא צברי גנגליונים). התא ה-8 נמצא בחלק הפנימי של העינית.

ידועה מוטציה בדרוזופילה הגורמת לכך ש- R7 (התא השביעי) לא עובר להיות תא עצב פוטו-רצפטורי ואז הזכוב אינו מסוגל לראות UV. התגלה כי התא מספר 8 נחוץ לשם התפתחות נכונה של תא מספר 7 ליתר דיוק קיים רצפטור על הממבראנה של R7 רצפטור זה הוא מסוג טירוזין קינאז ושמו הוא Seven Less (7Less). כדי להפעיל את 7Less יש חלבון שמתבטא על הממבראנה של תא R8 כך שתא 7 לא יתפתח עם אחד משני חלבונים אלו פגום. החלבון על תא 8 נקרא Bride Of Seven או בקיצור BOS. אם לדרוזופילה אנו מכניסים מוטציה של Ras קונסטיטוטיבי ניתן לעקוף את כל מה שנמצא מעליו במסלול ולקבל תא פוטו-רצפטורי מהתפתחות נכונה של R7.

אם יש מוטציה הפוגמת באלל 1 של 7Less יהיה לנו מחצית מכמות הרצפטור הפעיל ואם תהיה מוטציה נוספת בדרך נוכל לגלות פגמים לפי עיוורון ל- UV. המוטציה הנוספת יכולה להיות ב- BOS ב- 7Less באלל השני ואף גם ב- Ras. כשבדקו את הגנים המוטנטים ובצעו בדיקת רצף ופעילות ביוכימית מצאו 3 גנים שונים שיכולים לגרום למוטציה והם: Ras, SOS (San Of 7Less) ו- DRK (Downstream Receptor Kinase). ה- SOS הוא EF כך ש- SOS הוא זה שמפעיל את Ras ו- DRK הוא זה שנמצא בינו לבין הרצפטור.

כשעושים שיקוע של חלבון על ידי נוגדן ספציפי הדבר נקרא אימונו-פריספקציה. קיימת גם שיטה שנקראת CoIP (קו-אימונו-פריספקציה). כך שהנוגדן מוריד חלבונים נוספים הקשורים לחלבון שאותו הנוגדן מזהה על אף שהנוגדן לא מכיר אותם כלל. לדוגמה נוגדנים נגד SOS מורידים גם את DRK ונוגדנים נגד DRK מורידים גם את ה- TKR. קיימת גם שיטה שנקראת 2 Hybrid System שבה אפשר לבדוק אינטראקציה בין חלבונים.

באותו הזמן בה רעיון בתאים הומאניים לשימוש ברצפטורים מזורחנים וספריות ביטוי של תאים שבהם הרצפטור מבוטא. אנו בודקים זאת שהרצפטור מזורחן בפוספט רדיואקטיבי וניתן לזהותו. אנו שמים אותו על צלחת עם ספרית ביטוי ואם הוא נקשר ניתן לראות היכן הוא נקשר באופן ספציפי על ידי נקודה מוארת על הפילם. כך נמצא ההומולוג של DRK בתאים הומאניים ושמו הוא GRB2. המולקולות DRK ו- GRB2 אינם בעלי שום פעילות אנזימטית והם שייכים למשפחת חלבונים מתווכים הנקראים Adaptors. בתוך מתאמים אלו יש מודלים של 100 עד 150 חומצות אמינו המכירים טירוזין מזורחן ולהם קוראים SH2 Domain.

הרצפטור מצוי בממבראנת התא ונשאלת השאלה היכן מצויים שאר המרכיבים. מסתבר שגם Ras הוא תמיד חלבון ממבראנלי וה- SOS הוא ממבראנלי אך לא תמיד. הוא נקשר לממבראנה בצידה הפנימי רק לאחר הפעלת הרצפטור. הרצפטור ביחד עם DRK מעבירים את ה- SOS ומבצעים לו טראנסלוקציה לממבראנה. כאשר SOS מתחבר לממבראנה הוא מפעיל את Ras ללא צורך נוסף בהפעלת הרצפטור. לזה קוראים ביטוי אקטופי וזו גם ההוכחה שתפקיד הרצפטור הוא לבצע טראנסלוקציה של SOS לממבראנה. האתר ב- SOS שחשוב להכרה עשיר בפרולין ונקרא SH3 Domain. גם הוא כמו ה- SH2 מצוי על GRB2 כך שה- SH2 קשור ל- TKR וה- SH3 קשור ל- SOS.

עכשיו נשאר לגלות מה יש בין Ras עד להפעלת השיעווק. כפי שאמרנו Ras אינו מגיע לגרעין ולכן השתמשנו בגישות מולקולאריות וביוכימיות לגלות את שאר המסלול. אנו בודקים את התאים עם גורמי גידול ובודקים את המרכיבים בתאים. ובודקים אם הפפטידים מזורחנים על ידי פרוטאין קינאז. למולקולות כאלו קוראים MAP K (K=Kinase). והוא נמצא מתחת Ras ולא באופן ישיר. בנייהם יש שני חלבונים האחד הוא זה המפעיל את ה- MAP K והוא נקרא MAP KK ומעליו יש Kinase נוסף

שהוא קשור גם לגן הגורם לסרטן ושמו הוא Raf או בשמו כיום MAP KKK. הוא זה הנקשר ישירות ל-Ras.

את האינטראקציה בין Ras ל-Raf ניתן לראות בעזרת CoIP אך זו שיטה בעייתית במקרה זה ולכן משתמשים בשיטת ה-2 Hybrid System. שיטה זו מבוססת על ביטוי בשמר של Ras המאוחה ל-DNA Binding Domain ושהוא מתבטא הוא נקשר לפרוטומור ספציפי. המתאים לאותו אתר קישור. עכשיו מכינים ספריה של חלבונים בתאים בהם יש Ras המאוחה ל-Activation Domain ויהיה ביטוי רק כאשר Ras יוצר קישור עם אחד החלבונים. הגן שיופעל כתוצאה מכך הוא לדוגמה הגן ליצור היסטידין. ואנו מגדלים את השמרים בצלחות ללא היסטידין כך שהמושבות שיגדלו הן אלו שבהן יש ביטוי של הגן כלומר המושבות שבהן יש בספריה את הגן לחלבון שנקשר ל-Ras. כך ש-Ras משמש כפיתיון והחלבון שנקשר אליו הוא הדג.

קיימים מסלולים רבים שכל אחד יכול להיות מופעל על ידי מספר רצפטורים ויש קישור (דיבור) בין המסלולים אך בכל זאת קיימת ספציפיות בניהם. עד כה דברנו על מסלול אחד אך יש משפחות שונות של מרכיבים למשל: MAP K שמרכיב ממשפחתו גורם לתגובה של סטרס וגם תהליך דלקתי. בנוסף הוא גם גורם לאינטראקציה של התאים עם המטריקס החוץ תאי.

ניתן להגביר נתיב מסוים על ידי מולטי אדפטור כך שבמקום אדפטור יחיד כמו GRB2 או DRK המתאמים פעם אחת יהיה מולטי אדפטור שיכול להתקשר ליותר מולקולות השייכות למסלול העברת האות כיוון שיש לו אתרים רבים יותר לזירחון על טירוזין. למולטי אדפטור יש אתר קישור לממבראנה ואתר הכרה לרצפטור הטירוזין המזורחן. המולטי אדפטור FRS2 שקשור בגורמי גדילה של מערכת העצבים (NGF) נקשר גם ל-FGF ומכיל 4 טירוזינים מזורחנים כך שניתן לגייס פי 4 מולקולות של SOS וכך לבצע אמפליפיקציה של המסלול. החלבון Ras מאוקטב גם על ידי רצפטורים לציטוקינים ולא רק במסלול שדברנו עליו. גם פיברוניקטין הנקשר לאינטיגרין גורם להפעלת Ras.

קיימים גם מסלולים שאינם תלויים ב-Ras אנו נדבר על שני מסלולים כאלה. המסלול הראשון הוא מסלול STAT המאוקטב על ידי רצפטורים של ציטוקינים לדוגמה אינטרפרון. האקטיבציה מתרחשת על ידי זירחון של מולקולות העוברות ישר לגרעין ומשמשות כפקטורי שיעתוק. אנו חייבים שלחלבון יהיה מודל כמו HS2 כך שיוכל להכיר את האתר לזירחון. ה-STAT חייב להיות בצורה דימרית על מנת לעבוד אך הוא יכול ליצור הטרודימרים כלומר ששתי היחידות בדימר שונות ולא רק הומודימרים של שתי היחידות זהות. כתוצאה מכך נוצרת שונות גדולה במסלול.

המסלול השני הוא מסלול הפוספואינוזיטול. הליפיד פוספטידיל אינוזיטול מעוגן בממבראנה. הפוספוליפאז C γ (PLC γ) גורם לפרוק של PIP2 לשתי מולקולות שהן מהוות שליחים משניים. המולקולה הראשונה היא די-אציל גליצרול או בקיצור DAG והמולקולה השנייה היא אינוזיטול 3 פוספאט או בקיצור IP3. האקטיבציה של PLC γ נעשית על ידי זירחון. ה-IP3 גורם לשחרור מהיר של יוני סידן ממאגרים תוך תאיים וגם מחוץ לתאיים. ה-DAG גורם לשיפעול PKC (Protein Kinase) C בין היתר בעזרת יוני הסידן.

יוני הסידן חשובים בגוף בתהליכים רבים בהפרשות, בפעילות אנזימים, בהורמונים, בהתכווצויות, אגריגציה של תסיות דם ועוד. וכל זה מושפע עקב IP3 שמעלה את ריכוז הסידן. הריכוז הגבוה של יוני הסידן בתא אינו טוב לתא ולכן קיימות משאבות המוציאות את יוני הסידן מהתא או שמחזירות אותו למאגרים שונים בתוך התא כמו ה-ER.

מסלול NF- κ B מופעל כאשר מסולקת תת היחידה הנקראת I- κ B ואז היחידה הקטליטית הופכת פעילה. האנזים PI3 קינאז הוא היחיד שידוע לזרחה פוספואינוזיטול בעמדה 3 והתוצר שמתקבל חשוב למסלולים רבים כולל מסלול אפופטוזיס. ה-PI3 קינאז התגלה בתאים שעברו טרנספורמציה סרטנית על ידי פוליומה וגילו שלווירוס זה יש חלבון שנקרא T Antigen והוא גורם לגידולים סרטניים. חלבון זה הוא בעל פעילות של PI3 קינאז כלומר, הוא מסוגל לזרחה פוספואינוזיטול בעמדה 3. ראינו שלמרות שיש

מספר ניכר של חלבונים שעוברים אקטיבציה יש מספר קטן של מנגנונים המסבירים כיצד הם פעילים. והם טראנסלוקציה שינוי קונפורמציה וזירחון.

לכל פעילות של רצפטור חייב להיות סוף, חשיבות הטרימינציה היא בזה שחוסר בה גורם למחלות כמו סרטן. אך לא רק סרטן גם גמדות יכולה לנבוע מפגם בטירוזין קינאז (95% ממקרי הגמדות). לכן חייבת להיות בקרה הדוקה על תהליכים אלו בתאים וקיימים מספר מנגנונים לשם כך. אחד המנגנונים הכי חשובים הוא שימוש בפוספטאזות המגויסות על ידי אותו רצפטור שמזרחן. תפקיד הפוספטאזות הוא להוריד את הפוספטים מהרצפטור ובכך להפסיק את פעולתו. יש פוספטאזות ספציפיות לרצפטורים השונים ויש כאלו המצויות בציטופלזמה ויש כאלו בממבראנה. מנגנון נוסף חשוב הוא על ידי שימוש באנדוציטוזה בדגרדציה בליזוזום.

את הרצפטור ל-EGF שהוא טירוזין קינאז ניתן להשבית על ידי נוגדן הנקרא הרספטין Herceptin והוא התגלה בוורוס שגורם לסרטן בעופות. כך שהוא מבטא את הרצפטור בלי החלק החוץ תאי כתוצאה מכך יש רצפטור הפעיל כל הזמן וזה גורם לסרטן. הנוירובלסטומה הוא סרטן שנגרם עקב פגיעה בבסיס אחד בגן לטירוזין קינאז וידוע גם בשמו Her2 או Cerb1 שהוא פגיעה ברצפטור של EGFR הידוע גם כ- Her1.

ההרספטין הם נוגדנים נגד Her2 שעד היום לא נמצא הליגנד לרצפטור זה. רצפטור זה יודע ליצור הטרודימרים עם רצפטורים אחרים במשפחה וגורם להם לעבור מחזור בליזוזים ולא דגרדציה. כך שתמיד קיים רצפטור בממבראנה.

ככל הנראה הכמות של MAP K שמופעל היא זו המכתיבה אלו פעילויות יהיו יתכן אף פעילויות מנוגדות בריכוזים שונים. קיימים גם עדויות למידור בתוך התא. וקיימים רצפטורים וסובסטרטים שונים למדורים שונים. בשביל זה צריך חלבוני שלד (לא שלד התא) אשר יקשרו את המרכיבים במקום אחד. דוגמה לשני חלבונים החשובים למידור הם FUS ו- KSS1.

סרטן

מחלת הסרטן נגרמת על ידי גנים נורמאליים המהווים גורמים חשובים לפעילות הרגילה של התא. מחלת הסרטן יכולה לעבור מתרנגולת אחת לשנייה והסיבה למעבר היא וירוס שגורם לסרטן זה התגלה על ידי Raus ולכן וירוס זה נקרא Raus Sarcoma Virus או בקיצור RSV. רק ב- 1970 התגלה בעזרת היברידיזציה כי הגן שגורם לסרטן שמור באבולוציה ומצוי בכל אורגניזם מכאן שגן זה ממלא תפקיד חשוב מאד. דבר זה שינה את התיאוריה שהייתה עד אז כי הפרו-וירוס הוא הגורם לסרטן. תיאוריה זו הייתה בעייתית כיוון שהיו וירוסים אנדו-גנים רבים שלא גרמו לסרטן וגם מקרי סרטן רבים שלא היו תלויים בוירוס. בתחילת שנות ה-80 הוכנס DNA מתא סרטני של עכבר לתא אחר וקבלו תא סרטני. הם השתמשו בתאי עכבר מסוג NIH/3T3 שהם תאים פיברובלסטים.

לתאים סרטניים יש מספר קריטריונים קבועים והם: 1. חלוקה מוגברת של התאים. 2. חוסר תלות בפקטורי גידול או בגורמים כמו סרום הדרושים לגדילת תאים מחוץ לגוף. ישנם תאים סרטניים שיכולים לגדול בכלל ללא סרום וכל השאר משתמשים בכמות קטנה ביותר. 3. תאים סרטניים יכולים להיות הן בתאחיזה למצע ואין ללא תאחיזה (אגר רך). 4. תאים סרטניים אינם מבצעים Contact Inhibition וכך ניצר פוקוס (ברבים פוסיי).

הגן הראשון שממנו קבלו גידול סרטני בני אדם והזריקו אותו לעכבר היה הגן Ras. נמצא גם וירוס בשם HR (הרווי Ras) המכיל את הגן שגורם לסרטן ב- Ras. הגן השני של סרטן שנמצא הוא הגן pD6F-SIS הוא יוצר חלבון בטסיות דם ופועל על רקמות חיבור.

חלוקת התאים חייבת להיות מבוקרת בצורה חזקה. בעובר החלוקה מואצת ותמותת התאים פחותה. כתוצאה מכך יש גדילה לעומת זאת בבוגר יש איזון בין התמותה לחלוקה של התאים. בין רקמות שונות קיים קצב החלפת תאים שונה למשל במעיים יש התחלפות תאים מהירה כנ"ל גם בתאי הדם הלבנים

ובתאי העור. לעומת זאת בתאי הדם האדומים יש התחדשות איטית בכבד אין כלל יצירה של תאים חדשים אלא עם כן הוא נפגע. גם במוח ובתאי שריר אין התחלקות של תאים. כאשר בין תאים לא מתחלקים יש תא שמקבל שוב את היכולת להתחלק נוצר Clone שיכול להתחלק עד שנוצר מאסה של תאים שהיא גידול Tumor ולא כל גידול הוא מסוכן.

הגידולים מתחלקים לשניים שפיר וממאיר. גידול שפיר הוא בתוך קפסולה של רקמת חיבור וניתן להוציאו בקלות כיוון שאינו מפריע לסביבה אלא עם כן הוא לוחץ על משהו או מפריש חומרים שמגרים את הסביבה. גידולים ממאירים לעומת זאת לא סגורים בקפסולה והתאים מתפרצים מהגידול וחודרים לרקמה בסביבה ואף גם יכולים לשלוח גרורות רחוקות מהסביבה בה מתפתח הגידול.

גידול קרצינואיד נוצר בעיקר מגורמים קרצינוגניים במערכת העצבים. חוץ מכך תאים סרטניים הם פחות ממוניים משאר התאים ברקמה כלומר הם מאבדים את הדיפרנציאציה שלהם וחוזרים להידמות לתאים עוברים. השלב בו התאים עדיין לא סרטניים אך הם כבר מתחלקים מהר נקרא סיספלסיה שזה שלב הביניים בין נורמאלי לסרטני. תאים סרטניים הם בעלי צורה לא רגילה וגודלם אינו אחיד. בכבד נוצרות גרורות רבות כיוון שהדם עובר דרכו כדי להתנקות.

גידול מוגדר לפי מספר קריטריונים מורפולוגיים ומולקולאריים. שמות הגידולים נובעים מהמקור העוברי של התאים שמהם נוצר הגידול. מזוהים אלו התאים היוצרים את רקמות החיבור השרירים וכו'. האקטודרם יוצר את השכבה החיצונית כמו העור את המוח וכו'. והאנדודרם יוצר תאי אפיתל וכו'. לכל הגידולים ממקור מזוהים קוראים סרקומה. לכל הגידולים ממקור אנדורמלי קוראים קרצינומות לכל הגידולים במערכת הדם כולל מח העצם קוראים לוקמיה, בגידולים של מערכת העצבים קוראים בהתאם לתאים שהופכים לגידולים תאי גליה Gelia יוצרים גליומות ותאים אסטרוציטיים יוצרים אסטרוציטומה נירונים יוצרים נירובלסטומה. תאי עצב במערכת הראיה יוצרים רטינובלסטומה וכו'.

גידולים באברים בהם ההתחלקות הטבעית היא איטית מאד או לא קיימת הם נדירים לדוגמה גידולים בתאי עצב. אך גידולים במוח קיימים כיוון שהם נוצרים בתאים אחרים במוח כמו תאי גליה ואסטרוציטיים. המלנומה היא סרטן עור אשר שכיחותה עולה עם השנים עקב חשיפה רבה יותר לשמש. בשריר ניתן לקבל סרטן למרות שהתאים לא מתחלקים כיוון שיש עתודה של תאים שמטרתם להתחלק בעת פגיעה בשריר וליצור סיב שריר חדש תאים אלו נקראים סטאליטים והם תאים קטנים בעלי מחויבות להפוך לשריר, אך התמיינותם לא מלאה והם בעלי יכולת להתחלק. כתוצאה מכך הם מהווים מועדים לסרטן.

רוב הגידולים הסרטניים הם כתוצאה מתופעה קלונלית כלומר, מקורם מתא אחד. את זה יודעים מכרומוזומי X אצל האישה אשר אחד מהם עובר אינאקטיבציה כך שאם יש תא מין סרטני שמכיל את ה-X שעובר אינאקטיבציה אז ניתן לראות זאת בתוך הרקמה. התא לא יוצא מהרקמה עקב קשר בינו לבין המצע החוץ תאי ולתאים השכנים. גידולים סרטניים לעומת זאת מאבדים את הקשר שלהם למצע החוץ תאי ויכולים להתנתק אחד מהשני וכך לשלוח גרורות.

קרצינומה בה תאים מרוכזים במקום אחד נקראת Carcinoma In-situ. וזה השלב הראשוני לאחרי ים פריצה של הממבראנה הבאזלית והתאים נמצאים ברקמת החיבור ממנה הם נכנסים לכלי הדם דרך תאי האנדותרל בקפילרות ואז זורמים בדם כך שאחד מתוך 1000 תאים כאלו מתיישב ברקמה אחרת על ידי כך שהוא יוצא מכלי הדם ברקמה זו ויוצר שם גידול כך נוצרת גרורה. לכך בכבד יש גרורות רבות כיוון שמערכת הדם מתנקזת בו.

אחד היכולות שתא גידול צריך לרכוש כדי לצאת מהרקמה זה יצירת מרכיבים לפרוק הממבראנה הבאזלית וגם לפרוק המטריקס החוץ תאי בנוסף התאים צריכים גם ליצור פקטורי גידול וחומרים המשמרים התחלקות ובכך לבטל את התלות שלהם בסביבה. כמו כן גם צריך להעלות את כמות הרצפטורים בממבראנה בכדי לתפוס מרכיבים אלו הרצפטורים המפורסמים ביותר המוגברים הם טירוזין קינאז.

בין סוגי גידולים ניתן להבחין בגידולים מוצקים וגידולים לא מוצקים (גידולים של מערכת הדם לדוגמה). כדי שגידולים מוצקים יתפתחו צריך שני גורמים האחד אספקת אנרגיה והשני סילוק פסולת. לזה צריך כלי דם ולכן גידולים מוצקים מפתחים יכולת להשרות צמיחה של כלי דם חדשים לתוך הגידול זה נקרא אנגיוגנזה. יכולות לעבור כ- 10 שנים מיצירת הגידול עד התפרצות ממאירה ומה שתלוי בזה זו היכולת להשרות יצירת כלי דם לגידול. את זה עושים על ידי הפרשה של פקטורי גדילה שגורמים ליצירת כלי דם לזה קוראים Dormant (ישנוני). בשלב זה הגידול לא מתפתח אך כלי הדם כן והפריצה של הגידול מתבצעת לאחר יצירת כלי הדם. כדי שזה יקרה צריך שיהיה פרוק של הממבראנה הבאזלית של כלי הדם ונדידה של תאי אנדותל לכיוון הגידול ואז הם מתחלקים ויוצרים צינורות שהם כלי הדם החדשים וסביבם נוצרת ממבראנה באזלית חדשה.

Cancer Therapy

נגד סרטן ניתן לבצע כימותרפיה שמטרתה למנוע חלוקה של תאים על ידי פגיעה ב-DNA, ביצירת הקישור וכו'. דבר זה גורם לנסיגה של הגידול אך נוצר Drug Resistance של התאים הסרטניים וכך הם מקבלים עמידות לתרופה. כשנותנים תרופה X אז העמידות נוצרת היא לא רק לתרופה X אלא גם נגד תרופות רבות נוספות כאלו שהחולה מעולם לא קיבל. דבר זה נוצר עקב משאבה שפולטת את התרופה מתוך התא מיד עם חדירת התרופה פנימה לכן מנסים לפתח שיטות חדשות של Immuno Therapy ואנטי-אנגיוגנים המונעים צמיחת כלי דם חדשים וגם חומרים המונעים פרוק של הממבראנה הבאזלית.

הגישה של ה- Immuno Therapy היא על ידי שימוש במערכת החיסון ובנוגדנים שיתקפו את הייחודיות של התאים הסרטניים ידוע שתאים סרטניים יוצרים רצפטורים רבים על הממבראנה וניתן ליצור נוגדן שימשמש כמעכב ויעכב את מעבר האותות וחלוקת התאים. אפשרות שנייה היא נוגדן שיתחבר ספציפית לרצפטור ואילו יהיה מחובר רעל וכאשר הוא יכנס לתא עם הרצפטור הוא יגרום למוות של התא. הרעל צריך להיות כזה שמספיקה מולקולה אחת להריגת התא. ככל שזיהוי הנוגדן יהיה טוב יותר הרג התאים יהיה יעיל יותר טיפולים אלו ניתן לתת בשילוב עם כימותרפיה אך הם יקרים (כ- 10,000 שקלים לטיפול). שיטה נוספת היא יצור של נוגדנים רקומביננטיים קטנים יותר שיהיה להם יותר קל לחזור לתאים הסרטניים.

הגישה של האנטי-אנגיוגנים בה אנו מונעים אספקה לגידול על ידי שאנו מונעים יצירת כלי דם אליו וכך הוא מתכווץ. גישה זו לא מכוונת לתא סרטני אלא לתא נורמאלי לכן הסיכוי לעמידות קטן יותר כי הגנום של התאים הנורמאליים יציב יותר. בבוגר צמיחת כלי דם חדשים מתרחשת רק בפציעה לכן הדבר יעיל ומבוקר בצורה טובה. הגישה השלישית של חומרים המונעים את פרוק הממבראנה הבאזלית היא גם יעילה כיוון שאין צורך לחזור לתוך התא החומרים שבהם משתמשים הם מעכבים של מטלופרוטאזות המפרקות את המצע החוץ תאי.

המבנה המולקולארי של הסרטן

סרטן נגרם כתוצאה ממוטציות מרובות ולכך יש מספר עדויות מכיוונים שונים. 1. אפידמיולוגי – בדיקה במקומות שונים והקשר בין השפעת הסביבה למחלה. 2. אנליזה של DNA שנלקח מגידולים סרטניים. 3. עבודה בתרבויות תאים. בכיוון האפידמיולוגי ניתן לראות כי שכיהות הסרטן היא כפונקציה של גיל כך שעד גיל 35 הגידולים הם נדירים ומעל גיל 40 השכיחות מתחילה לעלות. מכאן ניתן להסיק שגידול בגיל צעיר מתחיל ממוטציות בגיל מאד צעיר או אף מוטציות מורשות. חומרים קרצינוגניים משפיעים יותר ככל שזמן החשיפה אליהם ממושך יותר. וככל שהזמן ממושך יותר הסרטן מופיע מוקדם יותר.

בכיוון של האנליזה כבר מוכרים גנים רבים וניתן לבדוק גנים ידועים לגבי מוטציות ולהשוות אותם עם גנים סרטניים. בתרבויות ניתן לראות כי כאשר תאים הופכים לסרטניים הם מתעגלים ומתרבים בצורה בלתי מבוקרת אחד על השני ולא בשכבה אחת. כאשר הדבר קורה במעי נוצר פוליפ אשר ניתן להוציא אותו וממנו להפיק תאים סרטניים בתרבות. המצב בו יש פוליפים רבים נוצר עקב פגיעה ב- APC שזה טומור סופרסור והוא מעכב אקטיבציה של הגן C-myc שהוא פקטור שיעתוק של אונקוגן.

פרו-אונקוגנים הם הגנים הנורמאליים שכאשר קורה להם משהו הם הופכים לסרטניים. ה- C-myc אחראי למעבר מ- G1 ל- S במחזור התא וה- APC מבקר ביטוי של C-myc. איבוד של APC גורם לחלוקה מוגברת ובכך קבלת גידול. אנו רואים מוטציה שגורמת לשיפעול של K-Ras ובשלב זה הגידול נקרא אדנומה. בשלב מוקדם של אדנומה יש איבוד של טומור סופרסור נוסף הנקרא DCC. בשלב הבא יש איבוד של פעילות P53 ואז יש מעבר לגידול ממאיר לפריצה של הגידול לכיוון כלי הדם. לאחר מכן יכולים להתרחש עוד שינויים שמגבירים את המאורעות ואת תנודת התאים. לאחר שהתאים נכנסים לכלי הדם הם כבר יכולים לשלוח גרורות.

לגידול שרובו שפיר אך חלק ממנו כמעט ממאיר קוראים סופרסומה. בדרך כלל זה הסדר של המוטציות אך לפעמים יכולות להתרחש המוטציות בסדר שונה לדוגמה P53 לפני Ras ואז ההתפתחות לגידול ממאיר מהירה מאד.

בתרבויות תאים גילו פקטורים של אונקוגנים שגרמו לסרטן. כשהוסיפו DNA מוטנטי של Ras הופעל מנגנון שגרם לטרנספורמציה סרטנית בתאי 3T3 אך בתאים ראשוניים לא נגרם סרטן. כאשר הכניסו לתאים גם מוטציה ב- Ras וגם ב- myc אז ההתחלקות של התאים הופכת למהירה מאד גם באגר רך אך עדיין אין גידול סרטני. כשיוצרים עכברים טרנס-גנים תחת הפרומוטור של MMTV השייך לבלוטות השד הוא מופעל בעכברות הרות כיוון שהוא מופעל רק בנוכחות הורמוני מין בזמן ההיריון אנו מקבלים ביטוי של הגן בבלוטת השד כאר אנו משתמשים באונקוגן אנו רואים כי נוצר שם סרטן. כאשר העכברים הטרנס-גנים הם עם הגן myc אנו רואים כי עוברים עד 100 יום ללא הופעת גידולים ורק אז מופיעים גידולים קטנים. לעומת זאת כאשר מבצעים Ras אז מתחילים לראות גידולים כבר מ- 50 יום והגידולים גדלים בקצב גבוה יותר. כאשר מבצעים הכלאה בין העכברים ויוצרים עכברה המכילה את שני הגנים אז הגידולים מופיעים בגיל מוקדם יותר וכל העכברות מתות תוך מקסימום 150 יום.

את הגורמים לסרטן ניתן לחלק ל- 7 קבוצות פונקציונאליות והן: 1. גורמי גדילה. 2. רצפטורים לגורמי גדילה. 3. מולקולות של מעבר סיגנלים אדפטורים וכו'. 4. פקטורי שיעתוק. 5. גנים המשתתפים ברגולציה של מחזור התא. 6. גנים אנטי-אפופטוטים כלומר מניעת אפופטוזיס. 7. מנגנוני DNA Repair שבאופן נורמאלי מתקנים DNA אך מוטציות בהם מונעות תיקון DNA ובכך נוצרות יותר מוטציות וסרטן.

Tumor Suppressor Gene

איבוד של Retino Blastoma (RB) גורם לגידולים בעין ולאיבוד הראיה. הגן ל- RB הוא רצסיבי אך הורשתו היא דומיננטית וזאת כיוון שהוא טומור סופרסור. כשאדם נולד עם אלל אחד פגום של RB אז בכל מקום שיש אינאקטיבציה של הגן השני או מוטציה בו יהיה סרטן. מוטציות אלו יגרמו לתאים סרטניים רק כאשר הן קורות בתאים מתחלקים. גידולים אלו מתפתחים בגיל צעיר בדרך כלל במידה והפגיעה היא בכל הגוף ואז מקבלים מוקדים סרטניים רבים. אנו חייבים ששני האללים לא יעבדו כדי לקבל סרטן.

ה- P53 הוא גם טומור סופרסור אך הוא מעכב דומיננטי הפועל בקומפלקס ומספיק שתת יחידה אחת שלו תהיה פגומה כדי שכל החלבון יהיה לא פעיל ויתקבל סרטן.

אונקוגנים

אונקוגנים יכולים להיות ויראליים או תאיים. הפפילומה היא וירוס שיוצר סרטן צוואר הרחם על ידי קשירה של טומור סופרסור. רוב הרטרווירוסים לא גורמים לסרטן באדם מלבד אחד שפועל על תאי T. האונקוגנים התאיים הם פרו-אונקוגנים הקיימים בתוך התאים ושינוי מסוים בהם גורם לאקטיבציה בהם ויצירת גן סרטני. לכך יש מספר מנגנונים. המנגנון הראשון הוא מוטציה נקודתית למשל ב- Ras שם הפגיעה היא בקשירה ל- GTP או דוגמה נוספת עם מוטציה ברצפטורים Her 2 שגורמת להם ליצור דימר.

מנגנון שני הוא ביטוי ברמה גבוהה לדוגמה ביטוי רצפטורים רבים מסוג טירוזין קינאז. ה – C-myc נמצא על כרומוזום 8 וקיימת טראנסלוקציה בה הוא מתחבר לאזור הקבוע באימונו-גלובולין בכרומוזום 14 דבר שיכול להביא לפעילות יתר. כיוון שהבקרה על הגן שונה עכשיו. תתכן גם אמפליפיקציה של מקטע מסוים אשר גורמת לשינוי בבקרה בביטוי גן.

מנגנון שלישי הוא שינויים דרסטיים יותר היוצרים מחלה כרונית שקטה ההופכת בפתאומיות לאקוטית לדוגמה CML. בין שינויים אלו ישנם גם שינויים ברמת הכרומוזומים לדוגמה טראנסלוקציה בין כרומוזום 9 ל – 22 היוצרת את כרומוזום פילדלפיה. מהגנים BCR המצוי על כרומוזום 22 ו – C-abl המצוי על כרומוזום 9 והוא טירוזין קינאז נוצר גן כימרי חדש הנקרא BCR-abl שהוא קינאז הפעיל באופן קונסטיטוטיבי דבר הגורם לסרטן. כיום פותחה תרופה המעכבת את הפעילות של abl על ידי עיכוב קישור של ATP לחלבון זה.

ט.ל.ח.