

שעתוק, תרגום ו-PCR

# הקוד הגנטי

		Second letter				
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU Phenyl-alanine UUC UUA Leucine UUG	UCU Serine UCC UCA UCG	UAU Tyrosine UAC UAA Stop codon UAG Stop codon	UGU Cysteine UGC UGA Stop codon UGG Tryptophan	U C A G
	C	CUU Leucine CUC CUA CUG	CCU Proline CCC CCA CCG	CAU Histidine CAC CAA Glutamine CAG	CGU Arginine CGC CGA CGG	U C A G
	A	AUU Isoleucine AUC AUA AUG Methionine; start codon	ACU Threonine ACC ACA ACG	AAU Asparagine AAC AAA Lysine AAG	AGU Serine AGC AGA Arginine AGG	U C A G
	G	GUU Valine GUC GUA GUG	GCU Alanine GCC GCA GCG	GAU Aspartic acid GAC GAA Glutamic acid GAG	GGU Glycine GGC GGA GGG	U C A G

**הקוד הגנטי** - מכיל מידע על המבנה הראשוני של חלבון. הקוד הגנטי הוא אוניברסלי (זהה בכל האורגניזם), היוצאים מן הכלל הם המיטוכונדריה, כלורופלסט וקבוצה אחת של חד תאיים.

**קודון** - רצף של שלושה נוקלאוטידים המקודד לחומצה אמינית. למרבית החומצות האמיניות יותר מקודון אחד (תופעה זו נקראת redundant) אולם כל קודון מקודד לחומצה אמינית אחת בלבד.

**קודן התחלה** - מציין את תחילת החלבון. זהו גם הקודון לחומצה האמינית מתיונין.

**קודון סיום** - מקודד לחלבון שחרור המציין את סיום התרגום.

## תופעת Wobble:

לא תמיד מזוהה נכון הנוקלאוטיד השלישי בקודון, זו לא בהכרח בעיה מכיוון שלחלק גדול מחומצות מספיק לדעת את 2 הנוקלאוטידים הראשונים בשביל לזהות את החומצה האמינית.

# RNA

## ההבדלים בין RNA ל-DNA:

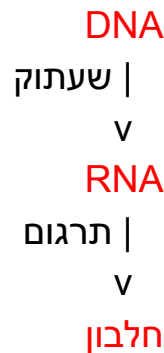
- RNA מורכב מגדיל אחד לעומת DNA שמורכב מ-2.
- \*ישנם RNA יוצאים מן הכלל עם 2 גדילים אבל לא נתייחס אליהם.
- RNA מורכב מסוכר שנקרא "ריבוז" לעומת DNA שמורכב מסוכר שנקרא "דאוקסי-ריבוז".
- ב-RNA הבסיס המשלים לבסיס A (אדנין) הוא U (אורציל) במקום T (טימין) כמו ב-DNA.

## תכונות ה-RNA בהיותו חד-גדילי:

- RNA יכול לעבור זיווג בסיסים עם גדיל DNA (להתחבר כסליל משלים).
- \*ההבדל היחיד בין זיווג בסיסי DNA לזיווג בסיסי DNA ו-RNA הוא שמול בסיס A בגדיל ה-DNA יופיע בסיס U ב-RNA כפי שמתואר למעלה (פסקת "ההבדלים בין RNA ל-DNA", הבדל שלישי).
- מבני ה-RNA החד-גדיליים מתקפלים למבנים שניוניים ע"י זיווג בסיסים בינם לבין עצמם או למולקולת RNA אחרת.

# הדוגמה המרכזית

הדוגמה המרכזית (Dogma):  
תיאור המהלכים מ-DNA לחלבון.



## רטרווירוסים:

היוצאים מן הכלל מבחינת הדוגמה המרכזית הם רטרווירוסים המכילים RNA במקום DNA. יצירה של DNA מ-RNA נקראת שעתוק הפוך (reverse transcription) וזהו תהליך המזורז ע"י האנזים רוורס טראנסקריפטאז (reverse transcriptase). זו הסיבה שהרטרווירוסים קרויים כך.

# שעתוק

**שעתוק** - יצירת מקטע RNA המכיל אינפורמציה לגן יחיד.  
\*מקטע ה-RNA הוא למעשה סליל משלים של ה-DNA. זוהי מולקולה זמנית בעלת אורך חיים קצוב שיכולה לעבור ממקום למקום ולהעביר מידע.

בשעתוק רק סליל אחד של DNA משועתק. הוא נקרא סליל התבנית.  
שעתוק יוצר mRNA. באותה השיטה נוצרים גם tRNA ו-rRNA.  
RNA polymerase הוא אנזים שמסנתז סליל של RNA על סמך התבנית מה-DNA.

# שלבי השעתוק

## התחלה:

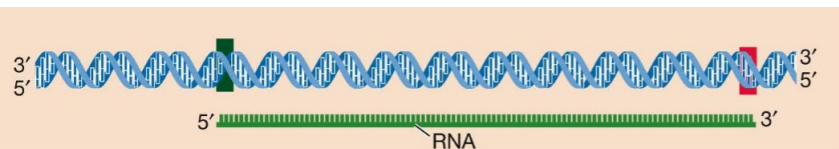
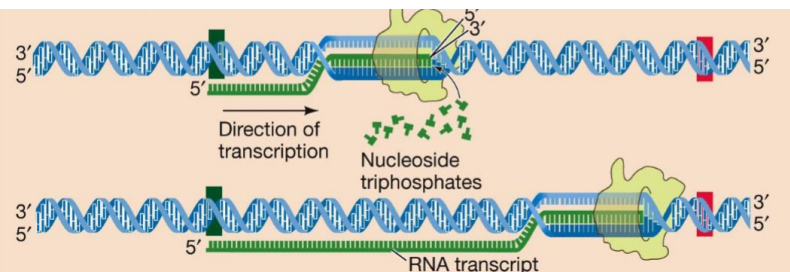
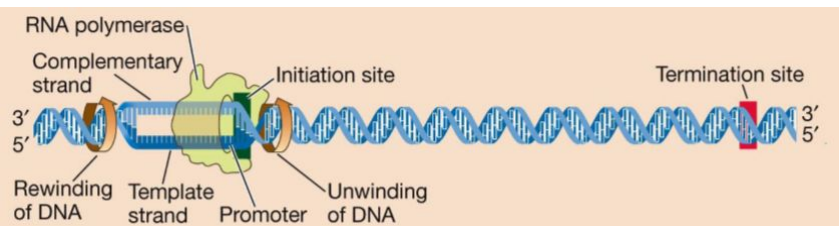
התחלת השעתוק דורשת רצף ייחודי על ה-DNA הנקרא promoter ומדיבור כ-promotor.  
RNA פולימראז נקשר לפרומוטר ומשם הוא מתחיל לשעתק את הגן.

## התארכות:

ה-RNA פולימראז פותח את ה-DNA וקורא מכיוון 3 פריים לכיוון 5 פריים (מה שאומר שהוא בונה את ה-RNA מ-5 פריים ל-3 פריים, בדיוק כמו ה-DNA פולימראז).  
ה-RNA שנוצר הוא אנטיפרללי (בעל כיווניות הפוכה) לתבנית ה-DNA מכיוון שהוא בנוי כסליל משלים.

## סיום:

הסיום מוכתב ע"י רצף ייחודי ב-DNA. המנגנון מורכב ומשתנה.  
באוקריוטים התוצר הראשוני הוא pre-mRNA שעוד עובר עיבוד עד ל-mRNA הבוגר.



# סוגי RNA ושונים ותפקידיהם

## mRNA - שליח:

RNA שליח נוצר כעותק משלים של מקטע ה-DNA. תהליך הייצור של עותק כזה נקרא שעתוק.

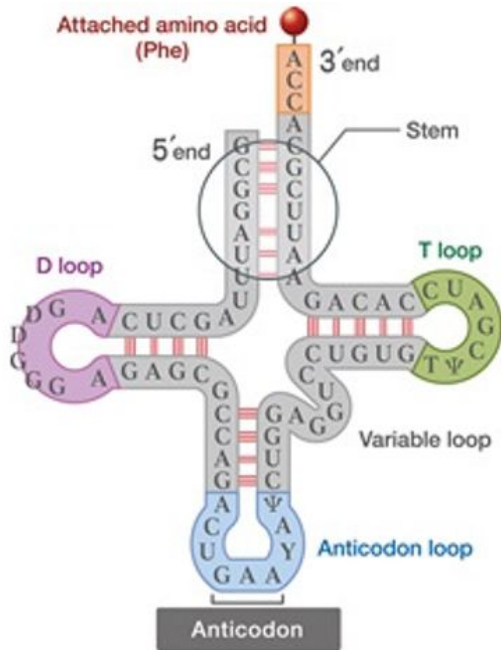
התהליך מתבצע כך:

1. ה-DNA נפתח באזור עם המידע הייעודי.
2. ה-mRNA נוצר כסליל משלים לאותו קטע (למידע נוסף על יצירת ה-RNA ראו: שעתוק).

## tRNA - מעבר:

RNA מעבר הוא מולקולה שיכולה מצד אחד לקשור אליה חומצה אמינית ומצד שני לזהות רצף מסוים ב-mRNA ולהיקשר אליו.

תהליך התרגום - כאשר מולקולות ה-tRNA הנושאות את חומצות האמינו מסתדרות על גבי ה-mRNA בסדר הנכון ונוצרת שרשרת פוליפפטיד.



# הריבוזום

הריבוזום - שולחן העבודה ליצור חלבונים. הריבוזום מחזיק את ה-rRNA ואת ה-tRNA בכיווניות הנכונה בכדי לאפשר יצירת פוליפפטיד. בניגוד לאנזימים ול-tRNA, הריבוזום אינו ספציפי.

## מבנה הריבוזום:

ריבוזומים בנויים משני תתי-יחידות: תת יחידה גדולה ותת יחידה קטנה. כל יחידה בנויה מ-rRNA וחלבונים. הקשר בין תתי היחידות הינו יוני-הידרופובי. כאשר הריבוזום אינו פעיל היחידות מתרחקות זו מזו.

ביחידה הגדולה יש מקום עבור 3 tRNA להיקשר:

- אתר A - אזור הקישור של האנטיקודון.
- אתר P - אזור בו החומצה האמינית מוספת לשרשרת הפוליפפטיד.
- אתר E - אזור בו משתחרר ה-tRNA מהקומפלקס.

בכל פעם שאחד ה-tRNA יוצא מהריבוזום באתר E, ה-tRNA שבאתר P יכול להתקדם לאתר E (ההתקדמות הזו מותנית בכך שה-tRNA סיים את תפקידו באתר P). הפעולה הזו תקפה גם על ה-tRNA שבאתר A. כאשר מתפנה אתר A אז tRNA חדש יכנס לקומפלקס ויתחבר אליו.



# תרגום

**תרגום** - תרגום הקוד הגנטי על פני ה-RNA לחלבון.

## כיצד mRNA מתורגם לחלבון?

tRNA הינה מולקולת מתאם. לכל חומצה אמינית יש tRNA ספציפי. תפקיד ה-tRNA:

- נושא חומצה אמינית.
- יוצר קשר עם ה-mRNA.
- יוצר קשר עם הריבזום.

## תופעת הפוליזום / פוליריבוזום:

כאשר מספר ריבוזומים פועלים ביחד על תעתיק אחד של mRNA ובכך מייצרים מספר עותקים של החלבון.

# שלב התרגום

## שלב החניכה:

- נוצר קומפלקס הנקרא tRNA-initiation complex הטעון בחומצה אמינית. הקומפלקס והתת יחידה הקטנה נקשרים ל-mRNA.
- rRNA נקשר לאזור הכרה על ה-mRNA הנקרא Shine-Dalgarno sequence. \*בפרוקריוטים אזור ההכרה נמצא לפני קודון ההתחלה (AUG).
- \*\*shine dalgarno בקיצור נקרא RBS - ribosome binding site. זהו המקום שבו נקשר הריבוזום ל-mRNA.

## שלב ההתארכות:

- ה-tRNA השני נכנס לאתר A.
- תת היחידה הגדולה מנתקת את הקשר בין tRNA לבין החומצה האמינית שלו באתר P ונוצר קשר פפטידי בין שתי חומצות האמינו באתר A ובאתר P.

## שלב הסיום:

- התרגום נגמר כאשר קודון עצירה נכנס לאתר A.
- קודון העצירה מגיב לחלבון הנקרא release factor אשר גורם להידרוליזה של ה-tRNA מהשרשרת הפוליפפטידית שנמצאת באתר P.

# פעולות לאחר התרגום

התהליכים לאחר התרגום נקראים "post-translation".

חלבונים מתקפלים למבנה השלישוני שלהם עם יציאתם מהריבוזום. החלבונים הללו מכילים signal sequence שהינה "כתובת" אליה החלבון אמור להגיע.

החלבון יכול לעבור לאברון מסוים, להיות מופרש מהתא, לעבור שינויים בכל מיני קבוצות כימיות ואף להיחתך.

\*במקרים מסויימים בהם יש לסיים את התרגום ולעבור לאברון היעד או אפילו מעבר של הריבוזום כולו ל-ER להמשך תרגום שם. אם החלבון נשלח ל-ER ה-signal sequence נקשר ל-signal receptor particle לפני סיום התרגום. הריבוזום נקשר לרצפטור על גבי ה-ER והשרשרת הפוליפפטידית עוברת דרך התעלה (זוהי אינה תעלה רגילה אלא תעלה פוליפפטידית). לבסוף אנזים מסיר את ה-signal sequence.

## לסיכום:

לאחר התרגום החלבון יכול לעבור אחד (או יותר) משלושת התהליכים הבאים:

1. פרוטאוליזה - חיתוך החלבון ע"י אנזים שנקרא protease.
2. גליקוליזציה - הוספת קבוצת סוכר לחלבון (מתבצע בגולג'י).
3. פספורילציה - הוספת קבוצות זרחן לחלבון ע"י האנזים kinase (תהליך זה לא מתבצע בגולג'י).

# PCR

בעקבות גילוי מנגנון ההכפלה של ה-DNA ע"י יצירת עותקים של מקטעי DNA, נהגה רעיון ה-PCR. PCR (ראשי תיבות: polymerase chain reaction) זהו למעשה פיתוח טכנולוגי שמבוסס על הכפלת ה-DNA הטבעית. פיתוח זה מאפשר לשכפל DNA במהירות וביעילות. ה-PCR הומצא ע"י קארל מוליס שזכה על כך בפרס נובל לכימיה.

ה-PCR כולל מספר שלבים שחוזרים על עצמם:

- גדילי ה-DNA עוברים דנטורציה ע"י חימום (ל-95 מעלות צלזיוס) ומתפרקים.  
\*מבצעים את התהליך הזה מכיוון שאין הליקאז שיפריד את הגדילים כמו בתהליך הטבעי.
- פריימר סינתטי, נוקלאוטידים ו-DNA פולימראז מוספים לריאקציה.
- מיוצר גדיל חדש של DNA במבחנה.

לאחר מחזור אחד של ה-PCR מתקבלים  $2^2$  גדילים. הנוסחה לחישוב כמות הגדילים לאחר מספר מחזורים (n) היא:  $2^{n+1}$ .

שימושים ב-PCR:

- בדיקת אבהות (תימצא התאמה קרובה).
- בדיקת חשודים בזירת פשע (תימצא התאמה מושלמת).