

קורס חומצות גרעין, תשע"ד

דר' שירלי דאובה

מיפוי תכנים של הרצאה 3

המיפוי נעשה על ידי מירב דינור בהנחיית פרופ' רון בלונדר

תוכן	זמן
איך מבנה של מולקולת דנ"א מאפשר את התיפקוד בתא. צריך להבין מה עושות המולקולות בתא.	1:14-1:40
חיידק, מימדים:אורך- 2, 1 מיקרון. החוטים הדקים (בתמונה) הם הדנ"א לחיידקים יש רק כרומוזום אחד, לבנ"א יש 23 זוגות כרומוזומים. כרומוזום הוא גנום היצור.	1:40-3:40
המדהים הוא שאורך הדנ"א הוא 1.7 מילימטר, וכולו מקופל בתוך החיידק. התכונה הראשונה והמדהימה של הדנ"א היא הגמישות שלו, שצריך להיארז בתוך נפח שקטן מהאורך שלו פי 3 סדרי גודל.	3:40-4:06
מבנים מכך שצריך דרך אריזה מאוד מיוחדת. אבל א מספיק רק לאירוז הוא צריך גם לתפקד. דוגמא – כדור צמר, אם אורזים אותו לא ניתן לסרוג איתו.	4:10-4:48
דנ"א למרות שהוא ארוז מאוד הוא עדיין מתפקד, וצריך לעבור המון תהליכים. איך כל זה קורה במקום כ"כ צפוף? (תמונה של תא עם גרעין) ניתן להבחין בתוך הגרעין, הצביעה של הדנ"א נתנה תמונה לא אחידה. יש איזורים כהים ואיזורים בהירים.המשמעות היא למרות שבכל הנפח יש דנ"א ארוז עם חלבונים, עדיין זה לא אחיד., יש איזורים שונים. אישורים דלילים יותר ואיזורים צפופים יותר.	4:48-6:27
ע"י הצביעות הגיעו למסקנה שהכרומוזומים למרות גודלם, יש לכל אחד את המקום שלו בתוך הגרעין. לכל כרומוזום יש את הטריטוריה שלו.	6:45-7:09
חושבים שהאיזורים השונים מעידים על איזורים שבהם יש פעילות של הדנ"א, שהגנים שלו באים לידי ביטוי, ואיזורים שלא.	7:12-7:52
המטרה במחקר- למצוא את הקורלציה בין הדחיסות של הדנ"א ומידת הביטוי של הגנים.	8:10-8:17
אפשר היום לעשות צביעה פלורוסנטית שתהיה ספציפית לכל כרומוזום. מכיון שיודעים את רצף הדנ"א ניתן להכין סמנים כדי לסמן היכן נמצא כל כרומוזום בתוך הגרעין.	8:33-9:51
בתמונה (במצגת) ניתן לראות את הגרעין והכרומוזומים השונים, יש מנגנון ששומר שהכרומוזומים לא יתערבבו אחד עם השני.	9:54-10:19
כרומוזומים של האדם, 23 זוגות. כאשר אחד מהזוגות האלו הם xx / xy	10:28-10:47
תמונות כרומוזומים שניתן לקבל היום כשעושים בדיקת מי שפיר.	11:11-11:42
ניתן לגלות בבדיקת דם גם מוטציות נקודתיות ברצף מסוים. בבדיקות ציטוגניות עושים תמונה של כל הכרומוזומים ומחפשים שברים שהם בסקלה גדולה יותר.	11:58-12:15
מה ההבדל בין התמונה הזאת שבה הכרומוזומים מסודרים בזוגות לעומת התמונה שמתייחסת לטריטוריות שבה אין סדר? מדובר בשלבים שונים בחיי הדנ"א אחד מתייחס למצב של דנ"א דחוס מאוד ומאורגן. לפני החלוקה בד"כ הדנ"א הרבה פחות ארוז ותופס שטח יותר גדול.	12:48-13:28

תוכן	זמן
זה מראה שהמבנה של הדנ"א ברמה הגלובלית הוא מאוד דינמי. הדנ"א צריך להיארז, מה שעוזר לו בכך הם חלבונים שנקראים היסטונים. התהליך דומה לליפוף של סליל צמר. הדנ"א עובר תהליך של ליפוף סביב חלבונים (ניתן לראות בשקף) הדנ"א שמלופף על החלבונים נקרא נוקלאוזום.	13:28-14:40
השלים של האריזה עד לנוקלאוזידים אינם שנויים במחלוקת. אבל ממנו והלאה עדיין יש מחלוקת בין החוקרים לגבי המשך האריזה, ומה מאפשר זאת.	14:40-15:41
חזרה- בשלב הראשון יש ליפוף ליפוף לוקאלי סביב החלבונים כשהדנ"א הוא מבחוצ	15:43-15:57
כל כדור אדום הוא קומפלקס של שמונה חלבונים שהדנ"א נכרך סביבו.	16:03-16:15
יש הרבה מחק על מיקום הנוקלאוזידים בכרומוזום והאם הוא קבוע או דינמי. די ברור שהא דינמי. כשגנים מתבטאים לא ניתן לעשות זאת כשהדנ"א מלופף.	16:50-17:10
נוקלאוזום- המבנה של דנ"א סביב היסטון.	17:14-17:18
הסיבה שהכרומוזומים צריכים להיארז בצורה קומפקטית זה כדי לאפשר חלוקה. יש שני סוגי חלוקות	17:46-17:59
מיטוזה- חלוקה של תאים סומטיים (לא תאי מין) יש להם את כל ה 46 כרומוזומים. כאשר תא צריך להתחלק הזוגות צריכים להיפרד.. כל כרומוזום צריך לעבור שיכפול ואז להסתדר על מבנה של חלבונים. בצורה אקטיבית הם נמשכים לשני קצוות שיהפכו לשני תאים.	18:16-19:25
מיוזה- חלוקת הפחתה, מקבלים חצי מכמות הכרומוזומים כיון שאלו תאי מין שנפגשים עם המין השני.	19:25-19:53
הנקודה היא שהכרומוזומים שוכפלו. בצורה ארוזה קשה לדמיין איך מתרחשת הכפלה, משהו צריך לקרות לו.	19:53-20:29
מה זה אומר שהדנ"א מתפקד? זה לא מספיק שהוא רק יהיה ארוז, וישמור על החומר הגנטי, כיון שהחומר הגנטי צריך לבוא לידי ביטוי. כל רצף בדנ"א מקודד למשהו. 95% לא יודעים למה הוא מקודד. החלק שידעם זה הרבה. אלו גנים שמקודדים לרצף של חלבון. מתוך מיליארדים של זוגות בסיסים שיש בכל תא שלנו, רק 5% מקודד לחלבוני.	20:45-21:46
כשריצפו את כל הגנום האנושי (10 שנים) חשבו שכעת יוכלו להבין את הכל, אבל הסתבר שזה לא כך.	21:57-22:23
ברור שיש שם רצפים שקשורים לבקרה, אבל לא יודעים לקרוא את זה, יש עוד דברים שאפשר לגלות.	22:36-22:52
מה כן ידוע? האיזורים שמקודדים לחלבון יש להם רצף שכל שלושה בסיסים בדנ"א עוברים שיעתוק ליצירה של רנ"א והם מקודדים לחומצת אמינו אחת בחלבון.	22:54-23:22
הדנ"א משועתק לרנ"א ומהרנ"א הריבוזומים מסנתזים חלבונים. לא כל הרצף של הדנ"א מקודד לחלבון, חלקו שייך לבקרה וחלקו שייך לסימון של התחלה וסוף הסימונים האלו הם חלק אינטגרלי מכל גן, בלעדיהם הגן לא היה מוגדר.	23:28-24:20
פעם חשבו שיש רק דנ"א שהופך ל רנ"א שהופך לחלבון. כיום יודעים שיש גם מנגנונים שבהם רנ"א הופך לדנ"א- בעיקר בוירוזים. אפשר לסנתז רנ"א מגדיל של דנ"א וגם להיפך, תלוי באינזים.	24:29-25:18
פעם ידעו שזרזים ביולוגיים הם חלבונים בלבד, שזה מה שנותן פעילות לתא. היום יודעים שרוב הפעילות הביולוגית היא לא של חלבונים אלא	25:27-26:34

תוכן	זמן
של רנ"א. מולקולות של רנ"א הם חלק חשוב בפעולות התא, ויש זרזים שהם רנ"א הדוגמה השלטת היום- היא שהעולם הביולוגי התחיל מרנ"א ואח"כ התפתחו גדילי דנ"א וחלבונים.	
בתוך הגרעין נמצא דנ"א שם הוא הופך לרנ"א. כדי שיווצר רנ"א הגדילים צריכים להיפתח, כדי שהאינזים רנ"א פולימראז יוכל להיקשר ולסנתז רנ"א יש בעייתיות בתמונה שבה הדנ"א ארוז ארוז כ"כ, כיון שהוא חייב להיפתח כדי לאפשר את השיעתוק ומצד שני, הדנ"א לא נשפך החוצה, עדיין יש אריזה צפופה.	26:41-27:47
הפתיחה היא לוקלית אבל של הרבה גנים בו זמנית. ז"א הוא לא יכול להיות ארוז בצפיפות גדולה כ"כ ועדיין הוא לא יוכל לנוע בחופשיות גדולה. יש את המגבלה של נפח הגרעין שמונעת מהדנ"א להיות במצב אנטרופי מקסימלי. כשנוצר רנ"א הוא יוצא החוצה לציטופלסמה (בתאים אאוקריוטים) בחיידק הכל קורה ביחד.	27:52-28:45
בתאים אאוקריוטיים- התהליך של השיעתוק ותרגום לחלבון מופרדים. השיעתוק מתרחש בגרעין והתירגום בציטופלסמה. בחיידקים זה קטרה תוך כיד, יש צימוד בין סינתזה של רנ"א ושל חלבון. לפעמים זה קורה בו זמנית.	29:23-30:09
בחיידקים יש איזור שהדנ"א יותר מקובע אליו.	30:12-30:27
הרנ"א עובר חיתוך, כיון שיש חלקים שנוצרו הרנ"א אבל הם לא יתורגמו לחלבון, לכן הם יוצאים החוצה. לתהליך קוראים ספלייסינג	30:45-31:03
לא בכל גן קורה התהליך. יש המון גנים שיש רגולציה, לפעמים הספלייסינג קורה ולפעמים לא. לפעמים לאותו הגן יש כמה אינטרונים ואז יש אפשרות לקומבינציה. ניתן לקבל מספר חלבונים מאותו גן. הסבר של תהליך הספלייסינג.	33:02-33:55
mRNA שעבר ספלייסינג, והגיע למצב שעכשיו הריבזומים נקשרים אליו (יש תמונה בשקף) תהליך סינתזת החלבון- לכל 3 בסיסים ב יש אנטי קודון ב tRNA. אל ה tRNA מחוברת חומצה אמינית ולפי ההתאמה בין הקודונים, חומצות האמניו מסודרות. תפקיד הריבזום הוא לסדר את חומצות האמינו בסדר הנכון ולדאוג שקצב התגובה בניהם יהיה בסקלה של מילישניות.	34:12-35:44
לכל חומצה אמינית יש יותר מקודון אחד, מצב זה נקרא ניוון.	36:28-36:37
התאים בגוף שונים בגלל שיש בהם חלבונים שונים. כיצד זה קורה אם הדנ"א בתוך התאים זהה? זה נובע מהבדלים בביטוי הגנים. יש גנים יכול להיווצר מהם הרבה רנ"א ויהיה הרבה חלבון, ויש גנים שיכול להווצר מהם מעט רנ"א ויהיה מעט חלבון. יש גנים שיהיו מושתקים לחלוטין וזו כל הבקרה הביולוגית.	36:43-37:27
כיצד נעשית ההחלטה מה יתבטא ומה לא? ומתי? זה סוד הביולוגיה!	37:27-37:39
בשביל שיווצר רנ"א הגדילים צריכים להפתח, האינזים רנ"א פולימראז צריך להיקשר כדי לסנתז את הגדיל של הרנ"א. כדי להוסיף על הבעייתיות של המקום, גם הרנ"א תופס מקום בתא. דוגמא- רואים כמה גנים בזמן השיעתוק, מכיון שהשיעתוק מוגבר (בגלל שזה ריבזום) על אותה פיסת דנ"א נמצאים מספר אינזימים אחד על השני. תוך כדי הסינתזה גדל הרנ"א.	37:49-39:52

תוכן	זמן
הרבה אינזימים יוצרים רנ"א, הרנ"א גדל ותופס מקום לפני שהאינזים מפסיק לסנתז. וזה מדגים היטב את רמת הצפיפות בתוך הגרעין, ואת התכונות המיוחדות של חומצות הגרעין שמאפשרות מצב כזה.	40:00-41:06
המטרה היא לתת תחןשה היכן כל התהליכים מתרחשים, והבין את הקונספט של תא ביולוגי, והשוני בינו לבין מבחנה. במקרה של גן מסוים, כל הרנ"א שנוצר ממנו זהה, יש הרבה עותקים מהרנ"א, חייב לצאת מהם אותו חלבון. הנקודות המופיעות מסמנות חלבונים שמסמנים את הרנ"א, להראות שהוא מיועד להיות חלבון ריבוזומלי. והוא כבר מסומן בזמן השיעתוק.	42:22-44:13
כאשר צריך הרבה חלבונים, הריבוזומים מגיעים אל הרנ"א בשורה אחד אחרי השני.	44:22-44:43
סיכום- מה התכונות שמצפים שיהיו לדנ"א או מה המגבלות שהביולוגיה מציבה לדנ"א. ומכך יבע מה התכונות שלו שמאפשרות לו לשרת את התפקוד הביולוגי.	44:51-45:08
בשביל שהדנ"א יהיה ארוז בצורה צפופה מאוד, הוא צריך גמישות מבנית גדולה מאוד. כדי שהוא יוכל לשמש כקוד גנטי הוא חייב להיות מאוד מאוד יציבאם המולקולה לא תהיה יציבה כימית, בקוד הגנטי יהיו הרבה טעויות, והוא עלול להיות מושמד.	45:19-46:00
בשביל הרפליקציה- השיכפול של הדנ"א, צריכים הפרדה בין הגדילים, וגם כאן צריכים גמישות גדולה. גם בשביל ביטוי גנים צריכים להפריד את הגדילים כדי לסנתז רנ"א. צריך דרך לזהות לקרוא את הקוד הגנטי, לא תמיד רצוי לפתוח את הגדילים כדי לזהות רצף.	46:00-46:59
האם באמת יש לפולימר גמישות מבנית? לפולימר הקונפורמציה היציבה ביותר היא רנדום כויל.	47:05-47:33
רנדום כויל- שרשרת פולימר, כשלכל מונומר אין שום אינטראקציה עם מונומר אחר, רק עם זאת המצומדת לה.	47:44-48:03
ניתן לחשב מהי ההסתברות ואיפה במרחב תימצא היחידה הבאה.	48:18-48:30
השרשרת תבחר את המיקום במרחב, כך שתהיה אנטרופיה מקסימלית. ההגבל היא הנפח של האטומים. ההתייחסות היא לפולימר, מונומרים שקשורים אחד לשני. כאשר נתייחס למספר מולקולות של פולימר זה יהיה יותר מורכב. אם אין שיקולים של אינטראקציות השרשרת כל הזמן בתנועה כדי למקסם את האנטרופיה.	48:46-50:20
המצב הוא דינמי ואין סיבה שהמולקולה תבחר בקונפורמציה אחת.	50:22-50:34
יש בממוצע מרחק בין הקצוות (בריבוע) שהוא פרופורציוני לכמוות המונומרים	51:17-51:28
דנ"א לא מתנהג כך, מדוע?	51:45-51:49
מבנה נוסף של פולימר- צורה מאוד מקובעת, המונומרים באים מסודרים מאוד ואין שום דרגות חופש. המרחק בין הקצוות (בריבוע) פרופורציונלי לכמות המונומרים בריבוע N^2	51:58-52:28
בצורה של רנדום כויל המרחק בין הקצוות בריבוע פרופורציונלי ל N לכן המרחק פרופורציונלי ל \sqrt{N}	52:49-53:00
בגלל שכל הזמן השרשרת זזה ובודקת אפשרויות, המרחק הוא רק ממוצע.	53:05-53:18
ריג'יד רוד- מקרה שבו השרשרת מוגבלת במרחב. למרות האנטרופיה	53:32-53:49

תוכן	זמן
הנמוכה של מצב זה, המרחק הממוצע הוא פרופורציוני ל N	
מצב ביניים- המצב שמתאים לדנ"א. איך יראה B דנ"א לאיזה מבנה הוא יהיה דומה?	54:14-54:34
מה יש בדנ"א שיכול לגרום לשרשרת להיות בצורה המקובעת?	54:38-54:43
לכל יחידה של דנ"א יש מטען שדוחה את המטען של היחידה הנוספת. והדחייה היא זו שמכתיבה את המבנה המקובע למרות האנטרופיה הנמוכה.	55:07-55:30
למרות זאת יש גמישות בדנ"א, והאפקט של הדחיה הוא לא משפיע למרחקים ארוכים. מודל ביניים- יש איזורים ריג'דים ואז יש גמישות שמאפשרת לשרשרת להתקפל. ניתן לראות שיש איזורים בדנ"א שנראים כמו מקלות ואחריהם מגיע כיפוף. עבור יחידה בסיסית ניתן לראות את הרנדום כויל, היחידה הבסיסים מורכבת ממונומרים קטנים, והיא מוגדרת $presistance\ length$	55:37-57:00
גודל אופייני לשרשרות של פולימרים והוא מתייחס לכך שהמונומר l הוא באותו כיוון של המונומר שלפניו.	57:05-57:22
גודל המגדיר עד איזה מונומר בשרשרת, השרשרת שמרה על אותו הכיוון.	57:35-57:47
עבור דנ"א האורך הוא 130 זוגות בסיסים או 45 nm	57:54-58:18
ניתן לעשות את החישוב של 130×0.34	58:21-58:30
זו התכונה של השרשרת	58:47-58:52
הסתכלות מקרוב נוצנת תמונה של מקל, אבל מרחוק זה נראה כמו מהלך חופשי. כך זה גם בפולימרים בכימיה.	59:04-1:00:18
יציבות של הפולימר מבחינה כימית	1:00:33-
כל גדיל בפני עצמו מאוד יציב יש לו קשרים קוולנטים. לכן כשמדברים על היציבות של דנ"א מדברים על היציבות של הקשרים בין הגדילים.	1:00:58
היציבות מוגדרת ע"י התהליך של שיווי משקל: דו גדיל מתפרק לחד שדיל. קבוע ש"מ יגדיר עד כמה התגובה מתרחשת ולאן.	1:00:58- 1:01:30
$AB \leftrightarrow A + B$	
הדרך הכי פשוטה לגרום לתהליך ההפתחות דו גדיל היא חימום. כאשר מחממים דנ"א מספקים אנרגיה שמפרקת את קשרי המימן. אם היתה דרך לעקוב אחרי התהליך ניתן היה לראות שיש טמפ' Tm שבה חצי מהמולקולות כבר נפתחו, וחצי לא נפתחו	1:01:36- 1:02:47
בטמפ' נמוכות יש בעיקר דו גדיל, ובטמפ' גבוהות בעיקר חד גדיל. התהליך לא לינארי הוא לא קורה בצורה רציפה, ישנו מקום שבו יש קפיצה. זהו תהליך קואופרטיבי שבו באיזשהו שלב אנחנו צריכים להשקיע הרבה פחות אנרגיה כדי לפתוח את המולקולה כיון שהיא כבר איבדה הרבה מאוד מהיציבות שלה.	1:02:47- 1:03:33
חזרה עם גרף שונה- נקודת האמצע, בין 100% דו גדיל ל 100% חד גדיל היא טמפ' ההתכה.	1:03:54- 1:05:12
האם הטמפ' היא מדד ליציבות? לא בהכרח, כיון שלא מתעסקים עם הטמפרטורות הגבוהות, כאשר רוצים לבדוק יציבות של רצף מסוים לעומת רצף אחר עושים את זה בטמפ' נמוכות כמוטמפ' החדר.	1:05:23- 1:06:25
Tm המספר עצמו מעיד רק על היציבות בטמפרטורות האלו. זה מאפשר להשוות בין המולקולות בטמפ' הגבוהות ולא בהכרח בנמוכות.	1:06:37- 1:06:59

תוכן	זמן
הפולימר בעל טמפ' התכה גבוהה יותר זה אומר שהוא יותר יציב, כיון שהיה צריך לחמם יותר כדי לנתק את הגדילים.	1:07:05- 1:07:14
כדי לדעת באמת מה יציבות המולקולה, אנחנו צריכים את ΔG כיון שהוא מדד ליציבות. נדרשת טמפ' התכה ועוד פרמטרים תרמו דינמיים. $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ בביוכימיה עושים למשוואה שינוי מסוים והיא נקראת משוואת און הוף. המשוואה ישימה רק כשיש תהליכים בעלי מעבר אחד בין מגיבים לתוצרים, בלי שלבים בדרך. מתקבלת משוואת קו ישר. עבור כל טמפ' ניתן לחשב את קבוע ש"מ ולהוציא את הפרמטרים התרמודינמיים. T_m הוא מושג קל לעבודה והבנה, אבל הוא לא באמת המדד ליציבות	1:07:14- 1:08:54
תהליך בי מולקולרי, 2 מולקולות נפגשות ליצירה של מולקולה אחת. תהליך בי מולקולרי מושפע מהריכוז. ולכן טמפ' ההתכה תהיה מושפעת מהריכוז. ולכן גם הוא פרמטר שנלקח בחשבון. הוא לא גודל אבסולוטי, הוא תלוי בפרמטרים של התמיסה כמו רכיז המולקולה לדוג'.	1:09:09- 1:09:59
איך אפשר למדוד, לחשב את קבוע ש"מ? לשם כך אנחנו צריכים גורם שיבדיל בין שני המצבים, חד גדיל ודו גדיל. כיון שבתמיסה שניהם נמצאים ויש להם מבנים די דומים. צריך פרמטר שידע לתת הבדל משמעותי. מבחינת המסה היה ניתן להבדיל אם הם היו מופרדים זה מזה, אבל לנו יש תמיסה ובה נמצאים שני המצבים בש"מ. אנחנו רוצים להיות מסוגלים להפריד בניהם כאשר שניהם ביחד נמצאים בתוך תמיסה.	1:10:07- 1:11:01
בד"כ הפרדות גורמות להסטה של ש"מ, אנחנו צריכים למצוא דרך שמפרידה ע"י הקפאת המצב.	1:11:25- 1:11:35
בד"כ עוקבים אחרי שינוי של דנ"א ע"י בליעת אור בתחום ה UV מסתבר שבסיסים של דנ"א יש להם בליעה מאוד חזקה באורכי הגל הללו.	1:11:56- 1:12:19
ספקטרום בליעה לתמיסה דנ"א יראה פיק אופייני ב 260 נ"מ, זו צורה מאוד אופיינית לבליעת אור ע"י מולקולה. הבליעה הזו לא מאפיינת דוקא את הדנ"א, הרבה קשרי ס בולעים באיזור הזה.	1:12:24- 1:13:01
מה שאופייני לדנ"א היא הבליעה ב UV זו בליעה שאופיינית למולקולה בעלת קשרים מצומדים. הדבר הנוסף האופייני לדנ"א הוא שכמות הבליעה פרופורציונלית לכמות הבסיסים שיש בדנ"א.	1:13:01- 1:13:18
חוק בר למברט, כמות הבליעה פרופורציונלית לריכוז הדנ"א. בדנ"א לכל הבסיסים יש את הבליעה האופיינית אבל לא באותה הכמות.	1:13:30- 1:14:01
הפרמטר אפסילון מקשר בין הבליעה לריכוז $A = \epsilon l C$ אפסילון, מקדם בליעה מולרי, אופייני לכל ומר. מקדם הבליעה המולרי בחד גדילובדו גדיל הוא שונה, וזה מה שנותן את ההבדל. הבסיסים לא מאוד שונים כאשר הם באים ביחד בדו גדיל, אם כן מה גורם להבדל? הגורם לבליעה הוא הדיפול של המולקולה. חתך הפעולה של האור עם המולקולה שונה כאשר יש בסיסים מופרדים לעומת זוג בסיסים.	1:14:17- 1:15:31
בזוגות בסיסים מומנט הדיפול מבטלים קצת את השני, הם בכיוונים הפוכים לכן יש קצת פחות בליעה מאשר בנפרד. אפקט היפו כרומי- כאשר מחממים דנ"א יש עליה בבליעה ללא הוספת חומר. העליה נובעת משינוי ל2 חד גדיל. הבסיסים במצב כזה בולעים יותר אור.	1:15:33- 1:16:48

תוכן	זמן
יש הבדלים בבליעות גם בבסיסים הבודדים לעומת חד גדיל, יש אפקט היפו כרומי. פוספט שמחובר לבסיס לא משנה את הבליעה.	1:19:22- 1:20:11
הרצף משפיע על הבליעה, לנוקליאוטיד A בליעה 15.4 וכאשר יש רצף של שני בסיסי הבליעה היא כבר 13.7 כיון שיש השפעה של מומנט דיפול אחד על השני, והם קצת מבטלים זה את זה. הבליעה המקסימלית היא של נוקלאוטידים בתמיסה כיון שאז כל אחד בפני עצמו ומומנט הדיפול הוא מקסימלי.	1:20:28- 1:21:42
כל צימוד מוריד מהבליעה בודו גדיל ההורדה של ה ε היא ב 30% וזה כבר זהה לכולם ללא הבחנה בין הבסיסים.	1:21:42- 1:22:17
באופן כולל לדנ"א דו גדיל יש בליעה פחות מ 30% מחד גדיל	1:22:21- 1:22:45
צריך לחשוב על הדנ"א בתור מולקולה שלפעמים יודעים את הגודל שלה ולפעמים לא. בניגוד למולקולות קטנות, בדנ"א לא ניתן לדעת את המשקל המולקולרי ולכן זה בעייתי להגדיר ε לדנ"א. כשמדברים על אוליגונוקלאוטיד יהיה לו את ה ε הספציפי שלו, כי המולקולה מוגדרת. אבל במולקולה גדולה של דנ"א אנחנו לא יכולים להגדיר אותה. חוק בר למברט לריכוז מולרי, לכן עובדים בערך משולש ועושים מעין יחס.	1:23:06- 1:24:57
מודדים את הבליעה של המולקולה כמו שהיא. לא ניתן לדעת מכך אם זה דו גדיל או חד גדיל. רק שינוי הטמפ' יאפשר לדעת זאת. מניחים שהתחלנו בודו גדיל.	1:25:03- 1:25:28
חייבים לקבל מידע לפני שמודדים בליעה, האם מדובר בודו גדיל או בחד גדיל כדי לדעת באיזה ε להשתמש בחישוב הריכוז. אם נעשה שינוי כמו חימום ונראה שינוי בבליעה אז נוכל לדעת אם היינו בודו גדיל או לא.	1:25:38- 1:26:05
אנחנו צריכים לדעת להעריך ע"פ Tm אם רצף מסוים בטמפ' החדר הוא יציב או לא. כדי לחשב צריך לדעת את המשקל המולקולרי, לכל נוקליאוטיד יש את המשקל שלו, אבל החישוב נעשה בצורה מאוד גסה. מכיון שהם דומים לוקחים משקל ממוצע של 330 גרם למול (זה כולל גם את הסוכר וגם את הפוספט)	1:26:15- 1:27:15
כשלוקחים כמויות גדולות של דנ"א גנומי, בכמויות שונות של T G מתקבלת טמפ' התכה שונה. השוו בין דנ"א של יצורים שונים בהנחה שההבדל בניהם הוא רק באחוזי C/G A/T ניתן לראות שהריכוזים השונים של C/G משפיעים על ה Tm ככל שיש יותר C/G ה Tm יהיה יותר גדול.	1:27:28- 1:28:22
רואים שיש דנ"א שזחים רק כמות G / C גבוהה יותר לכן Tm גבוה יותר.	1:28:40- 1:28:49
קשרי המימן מבוססים על "דונור" ו"אקספטור", והמיוחד פה הוא שלא ברור מי חייב להיות "דונור" ומי "אקספטור" כיון שיש יותר מאפשרות אחת. דוגמא לתפקידים בקשרי מימן, את קשרי המימן לא ניתן לראות ב x-ray, ווטסון וקריק השתמשו בהרבה ידע כימי כדי לקבוע מהם קשרי המימן.	1:29:37- 1:30:46
הגורם שקובע את קשרי המימן זה ההתאמה המרחבית, צריכה להיות	1:30:56-

תוכן	זמן
התאמה.	1:31:13
מה שגורם לקשרי המימן להיות מאוד מסויימים זה הצורך להתאים מרחבית לתוך המבנה של הדו גדיל והמבנה של B דנ"א	1:31:26- 1:31:45
היציבות של הדנ"א היא תרמו דינמית, אבל תמיד יש גם את התהליך הקינטי, שמוביל ליצירה ולפירוק של המולקולה. מבחינה קינטית המולקולה לא נפתחת שלב אחרי שלב. יש איזורים עם פתיחה לוקלית. ורק כשמגיעים לנקודה קריטית שהמולקולה מאבדת את היציבות שלה אז היא נפרמת לגמרי. יש אורך מינימלי שעדיין שומר על הדו גדיל, אבל מנק' מסויימת המולקולה נפרמת. מהם האיזורים שיפרמו ראשונים בחימום?	1:31:51- 1:32:53
האיזורים שבהם יש A/T שבהם יש שני קשרי מימן ולא שלושה כמו ב C/G הם יותכו ראשונים.	1:31:54- 1:33:05
מעבר ל 3 4 בסיסים מתחילה פרימה שהיא משמעותית. מהגרף (בשקף) ניתן לראות ש Tm לא רק רגיש לריכוז אלא גם רגיש לריכוז המלח. מדוע המלח משפיע על מידת היציבות של שני הגדילים?	1:33:11- 1:33:36
כשיוצרים דו גדיל צריך לקרב 2 מולקולות טעונות שלילית, אם יהיו לנו הרבה יונים חיוביים יהיה קל יותר לקרב את המולקולות וליצור דו גדיל. מלח מייצב את הדו גדיל ולכן Tm יעלה.	1:33:40- 1:34:26
מצד אחד לפי קשרי מימן בלבד אפשר להעריך את יציבות המולקולה, עובדה שהמולקולה נפתחת רק במקומות שבהם יש A/T מחישובים תרמו דינמיים הגדירו כלל- עבור כל זוג בסיסים יש יציבות של 2 מעלות צלזיוס, ב Tm ועבור כל זוג C/G יש יציבות של 4 מעלות. זהו כלל אצבע גס שנותן לנו מדד מה יהיה ה Tm של רצף מסויים.	1:34:49- 1:35:39
נוכל להעריך Tm ולקבוע ש 10 מעלות מתחתיו המולקולה כולה תהיה בדו גדיל ומעליו המולקולה תהיה חד גדיל.	1:35:44- 1:36:00
מדענים שרצו לדעת את ה Tm בצורה מדוייקת עשו מדידות על כל מיני רצפים והם גילו: זה לא מספיק רק לדעת את ההרכב. בהנתן שתי מולקולות מסויימות (על הלוח) לפי כלל האצבע ה Tm שלהם היה צריך להיות זהה, כיון שסופרים את כמות הבסיסים מכל סוג.	1:36:00- 1:37:12
מהטבלה ניתן לראות שה Tm של שני הרצפים לא זהה, הרצף משפיע ולא רק ההרכב. כמו שהבליעה משתנה לפי השכן בדנ"א, גם על היציבות הרצף משפיע. למשל אם משווים גדילים שיש בהם A ליד A לעומת גדילים שבהם יש A ליד C רואים שיש הבדל מאוד גדול.	1:37:24- 1:37:57
יש עוד גורם שמשפיע על היציבות ומחבר את הגדילים ביחד חוץ מקשרי מימן. אם קשרי המימן היו הגורם היחיד לא היינן רואים הבדל ב Tm בשינוי בסדר הבסיסים.	1:37:57- 1:38:25
הכוחות הנוספים שמביאים ליציבות הם קשרי ון דר ולס שיש בין בסיסים לאורך ציר המולקולה. מכיון שמדובר על טבעות של קשרים מצומדים יש הרבה קשרי ׀ יש אינטראקציות ו.ד.ו מראוד חזקות ולכן הרצף משנה. יש הבדלים במבנה ובחפיפה בין הבסיסים וזה משפיע על חוזק האינטראקציות.	1:38:51- 1:39:41
מולקולת הדנ"א בונה את עצמה כך שתהיה חפיפה בין זוגות הבסיסים לאורך ציר המולקולה. לתכונה הזו קוראים stacking	
כשיש חפיפה טובה מקבלים יציבות בתלויה בסדר, כשיש C/G מעל G/C יש יציבות גדולה יותר מאשר G/C מעל A/T	1:39:50- 1:40:09
למה המולקולה היא במבנה של הליקס ולא סולם?	1:40:17:41:16

תוכן	זמן
<p>במבנה של סולם המרווח בין הבסיסים היה נקבע לפי הפוספט. לא היינו מקבלים חפיפה טובה בין הבסיסים, אינטראקציות ו.ד.ו לא היו חזקות ואז המולקולה לא היתה יציבה. כשעושים את הסיבוב מקטינים את המרחק בין זוגות הבסיסים, עורמים בצורה טובה את זוגות הבסיסים אחד על השני.</p>	
<p>סיכום- מה מוביל ליציבות? האם המולקולה תהיה חד גדיל או דו גדיל? 1. קשרי מימן 2. קשרי ו.ד.ו 3. יוניים חיוביים כל אלו דחפים למצב של דו גדיל. ככל שהם עולים העדפת הדו גדיל תגדל.</p>	<p>1:41:16- 1:41:58</p>
<p>1. אנטרופיה- דוחף למצב של חד גדיל. (כיון שהאנטרופיה עולה ממצב של דו גדיל לחד גדיל) 2. דחייה בין הפוספטים- תגרום להעדפת החד גדיל 3. קשרי מימן עם המים (במקום בין הבסיסים) יגרמו להעדפת החד גדיל. הגורמים האלו מראים שלמרות יציבות הדנ"א קל לוקאלית לפתוח אותו, דבר שמאפשר את תפקודו של הדנ"א.</p>	<p>1:42:26- 1:43:49</p>