

## קורס חומצות גרעין, תשע"ד

דר' שירלי דאובה

### מיפוי תכנים של הרצאה 4

המיפוי נעשה על ידי מירב דינור בהנחיית פרופ' רון בלונדר

תוכן	זמן
איך דנ"א משוכפל? איך ממולקולה אחת מקבלים שתיים? כשווטסון וקריק גילו את המבנה, מה שנתן להם חיזוק הוא העובדה שמיד היה ניתן לראות איך המולקולה יכולה להשתכפל. בין שתי השרשראות הקוולנטיות יש קשרים חלשים (מימן ו.ו.ד.ו.) זה נותן מנגנון לשיכפול.	0:31-1:35
אם הגדילים יכולים להיפתח אז תהיה דרך ליצור גדיל חדש, זהו מנגנון פשוט לשיכפול. ניתן היה לחשוב על 3 מנגנונים שונים בהם השיכפול יכול היה להתבצע: מנגנון קונסרבטיבי- יש מולקולה מקורית של דנ"א, כאשר המולקולה משתכפלת נוצר עותק חדש שלה ז"א שני הגדילים החדשים יהיו באותה המולקולה ושני המקוריים יהיו באותה מולקולה.	1:35-2:25
מנגנון דיספרסיבי- אין המשכיות. באותה המולקולה, יש מקטעים שונים שעוברים שכפול, ותמיד נמצא מולקולה היברידית. ז"א תמיד נמצא מולקולה שבה חלק מהאטומים מקוריים וחלק חדשים. ואז מרגע שמתחיל שיכפול אף אחת מהמולקולות היא לא אחידה, 2 המולקולות הן תערובת.	2:45-3:25
מודל סמי קונסרבטיבי- בכל מולקולה יש גדיל אחד מקורי וגדיל אחד חדש. זה מתאים למנגנון הפשוט: המולקולה נפתחת, ומתחילה סינתזה של גדיל חדש. גם המודל הדיספרסיבי יכול לענות על המנגנון הפשוט. ניתן לדמיין שהפתיחה והשיכפול מתבצעים בחלקים.	3:25-4:06
חזרה על המודל הקונסרבטיבי והסמי קונסרבטיבי מבחינת התוצאות של השכפול בכל שיטה.	4:20-5:08
שני חוקרים- חוקרים שרוצים הבין איזה מהמנגנונים באמת מתרחש בתאים. ניסוי מאוד יפה, מראה בצרה חד משמעית איזה מנגנון באמת תקף.	5:11-5:47
יש צורך לסמן את הבסיסים, אנחנו רוצים להבדיל בין הגדילים, בין חומר ישן לחדש. הם השתמשו בבסיסים שמכילים חנקן איזוטופי $N^{15}$ בגלל שבדנ"א יש הרבה חנקן. גידלו חיידקים במצע של $N^{14}$ ואז כל הדנ"א שלהם הכיל $N^{14}$ . ומשלב מסוים הם החליפו את מצע הגידול והוסיפו בסיסים שהם $N^{15}$ , או איזושהו מקור חנקני $N^{15}$ מאותו הרגע כאשר הדנ"א עבר שיכפול הבסיסים שיכנסו אליו יכילו $N^{15}$ כדי לזהות, בגלל ההבדל במשקל. יש הבדל בצפיפות חיפשו שיטה שמפרידה ע"פ צפיפות. הם הפיקו את הדנ"א מהחיידקים, והכינו גרדיאנט של צפיפויות.	6:41-8:36
גרדיאנט צפיפויות- דוגמא: סוכרוז, מכינים תמיסה ושמים בצנטריפוגה. הדיפוזיה והכח הצנטריפוגלי מתנגדים אחד לשני ומתקבל גרדיאנט. למטה במבחנה צפיפות גבוהה וככל	8:36-9:40

תוכן	זמן
שמתקדמים כלפי מעלה הצפיפות יורדת. מסתבר שכאשר מוסיפים מולקולה לגרדיאנט הצפיפויות, הן יסתדרו על פי המבנה שלהן. בסירכוז ארוך מגיעים למצב ש"מ.	
כביקורת הם גידלו חיידקים פעם רק על $N^{14}$ ופעם על $N^{15}$ הפיקו את הדנ"א והפרידו על גרדיאנט. השיטה היא מספיק טובה, מתקבלים 2 פסים ברורים בגרדיאנט. עשו את הניסוי האמיתי, החליפו את $N^{14}$ ב $N^{15}$ ובדקו בגרדיאנט מה קרה.	9:40-10:29
מעקב בזמן אחרי השינוי – התחילו מ $N^{15}$ ועוברים ל $N^{14}$ עוקבים אחרי הדורות: ניתן לראות שאלרי דור אחד יש תערובת. יש מולקולות שהן לא בצפיפות המקסימלית. ניתן לראות פיק שנמצא האמצע בין הפיק של $N^{15}$ ל $N^{14}$ .	10:32-12:20
איזה מודל שוללים כבר בשלב זה? המודל הקונסרבטיבי! אבל עדיין בשלב זה של הניסוי לא ניתן להבדיל בין המודל הסמי קונסרבטיבי לבין הדיספרסיבי.	12:35-12:52
ניתן לראות בניסוי שלאחר דור אחד מתקבלת תערובת לא כולו $N^{14}$ ולא כולו $N^{15}$ . ככל שמתקדמים בדורות ניתן לראות שיש הפרדה ונוצר עוד פיק שכולו $N^{14}$ מתחילים מ $N^{15}$ בלבד ומסיימים בפיק נוסף שכולו $N^{14}$	13:11-13:49
התרבות של החיידקים הוחלפה ל $N^{14}$ וכך החומר נמהל, כל פעם שחידק מתחלק הוא חייב לשכפל את הדנ"א שלו.	13:56-14:32
ניתן לשלול את המודל הדיספרסיבי	14:37-14:47
במודל הדיספרסיבי ברגע שנותר הפיק האמצעי הוא היה ממשיך. למרות שאחרי הרבה דורות כבר לא בטוח שאפשר היה להבדיל.	14:51-15:15
ראינו תכונה אחת. התכונה הכי משמעותית, השיכפול של הדנ"א נעשה בצורה סמי קונסרבטיבי, כל גדיל מהווה תבנית, בסיס ליצירת גדיל חדש שבסוף התהליך מזווג אליו.	15:20-15:45
מה לגבי הכיווניות של התהליך? נעשה ניסוי נוסף שהראה שהשיכפול הוא דו כיווני אם מסתכלים על דנ"א של חיידק שהוא מעגלי, במקופ חנקן כבד שמו איזוטופ רדיואקטיבי.	15:45-16:20
אחרי שמולקולות מסומנות רדיואקטיבית ניתן לחשוף אותן לסרט צילום, ניתן לקבל את התמונה איפה נמצא החומר הרדיואקטיבי. הסתכלו על איזור בכרומוזום כשהוא רק התחיל לעבור שיכפול, רואים שיש שני איזורים שנפתחים. מניסויים מהסוג הזה ניתן היה להוכיח שהשיכפול של הדנ"א הוא דו כיווני. לתופעה הזאת קוראים מזלג ההכפלה כיון שכך הוא נראה.	16:23-17:35
מה זה אומר מבחינה מנגנונית? אם יש כיוון מסוים של סינתזה של דנ"T הכיוון צריך להתהפך יש שתי אפשרויות: 1. או שסינתזת הדנ"א יכולה להתבצע גם מ 5 ל 3 וגם מ 3 ל 5, ואז מזלג ההכפלה מתקדם משני כיוונים.	17:35-18:23
2. גילו ששכפול הדנ"א קורה רק בכיוון אחד והמנגנון הוא שבגדיל אחד השיכפול שלו רציף, ובגדיל השני השיכפול נעשה במקטעים, בכיוון הנכון. (הסבר ופירוט בשקף) הגדילים נפתחו- יש התחלה שיכפול של דנ"א חייב התחלה, חתיכה קטנה (ברמה המולקולארית) שנקראת פריימר, שהוא מאתחל את התהליך.	18:23-20:26

תוכן	זמן
אל ההתחלה נקשר אינזים, והוא מתחיל להאריך את השרשרת, גדיל אחד משניהם מתעכב ונקרא "לגינג"	
גדיל אחד מאחר, הוא מאחר להתקדם בסינתזה. הגדיל המוביל נקרא "לידינג" כי הוא מוביל בסינתזה. זה מה שגורם לגדיל המאחר להיות בסינתזה במקטעים. לחוקר שגילה את התהליך קוראים אוקקזקי וגם החתיכות של גדיל הדנ"א נקראות חתיכת אוקקזקי. אי אפשר להישאר במצב כזה זמן ממושך כיון שאז יכול להאבד חלק מהחומר הגנטי, שזה דבר חמור מאוד.	20:34-21:46
יש מנגנון מורכב ששומר על זה שיהיה צימוד בין התהליכים, זה קורה מאוד מהר ולאורך זמן המקטעים לא נשארים כך.	21:46-22:07
מבחינה מבנית כיצד ניתן לתזמן בין התהליכים? מודל הטרומבון- יש שני אינזימים, אחד משכפל את הגדיל המוביל והשני את הגדיל המאחר. הם מחוברים אחד לשני. לשם כך צריך שהדנ"א יעשה טבעת כך ששני האנזימים יוכלו לעבוד ביחד למרות שאחד הולך אחורה. זה עוד אחד מהאלוצים הביולוגים המכתיבים לדנ"א להיות פולימר גמיש.	22:07-24:07
כשווטסון וקריק פענחו את המבנה והציעו מנגנון עוד לא ידעו על שום אינזים. ב-1956 חוקר בודד פעילות מתוך תאים וראה שיש לו את היכולת לסנתז דנ"א.	24:21-24:41
קורנברג חפש פעילות אינזימטית שתדע לקחת נוקליאוטידים ולהרכיב אותם לפולימר. הוא מצא שאם שמים דנ"א ונוקליאוטידים מקבלים דנ"א מסונתז, אבל חייבים קצה ל דנ"א כדי שהנוקליאוטידים יתווספו אליו. אי אפשר לקבל סינתזה של דנ"א מחדש.	25:46-27:09
סינתזה של דנ"א בניגוד לסינתזה של רנ"א לא יכולה להתבצע מכלום היא דושת חתיכה שכבר תהיה שם.	27:09-27:27
דוג' לקצה הפריימר- (בפועל צריך להיות איתו עוד גי'דיל של דנ"א). הראקציה מתרחשת סביב הפוספט. הקצה של ה 3' של הפריימר תוקף את הנוקליאוטיד. מנגנון הפעולה מאוד דומה למה שמתרחש גם בפתיחה של הדנ"א (ניתן לראות בשקף) בתקיפה משתחררים 2 פוספטים, הם נקראים פירופוספטים. לדנ"א נכנס מונו פוספט ומשתחרר פירופוספט, את הפוספט שמתחרר מסמנים Pi (אנאורגני כיון שאינו מחובר לשום פחמן)	27:27-28:20
ההבדל בין התהליך הזה לבין התהליך של ATP הוא מקום שבירת הקשר. בין הפוספטים. במקרה שלנו הוא בין $\alpha$ ל $\beta$ . ובמקרה של ATP הוא בין $\beta$ ל $\gamma$ .	28:30-29:05
מבחינה אנרגטית לא שינינו כלום. הקשר שנשבר התחלף עם הקשר שנוצר. מה הכח הדוחף לתהליך? יש אינזים שמפרק את הפירופוספט, ומונע מהתגובה ללכת בכיוון ההפוך.	29:10-30:01
ניתן לראות סכימה של התהליך? איך יוצרים שכפול של דנ"א ולא רק סינתזה של דנ"א מבסיסים קיימים? אנחנו רוצים שהאינזים ידע גם לשכפל, לקחת מולקולה אחת	30:07-31:17
	31:56-32:41

תוכן	זמן
ולהכין עותק זהה שלה.	
התבנית- גדיל + פרימר- האינזים לא רק מוסיף נוקליאוטיד אלא הוא מוסיף אותו ע"פ הרצף שהוא רואה בתבנית. מבנה האינזים- כמו כף יד.	32:45-33:19
פריימר טמפלט- הפריימר הוא זה שמתארך. הפריימר טמפלט יושב בתוך אותואתר פעיל של האינזים. כשמגיע נוקליאוטיד, האינזים בודק אם הוא מתאים לו או לא.	33:47-34:42
האינזים תופס את הדנ"א והוא יודע לזהות את המבנה של הקצה של הפריימר טמפלט.	34:45-34:59
האינזים צריך לזהות שתהיה התאמה במרב, בין הבסיסים שמגיעית לבין מה שמולם. מבחינת קשרי מימן יש כל מיני אפשרויות, אבל מהבחינה מרחבית C מתאים ל G ו A מתאים ל T וההתאמה מתרחשת באתר הפעיל.	35:30-36:18
שי מצב שהאינזים יודע לקשור את כל 4 הבסיסים אבל יש לו 4 מבנים שונים אם נכנס C ו G הוא יכול לקשור בניהם, ואם נכנס C ו T הוא לא יכול לקשור בניהם. זה תהליך מאוד מסובך, אבל זה מה שמתרחש בפועל.	36:24-37:13
לאינזים יש עוד אתר פעיל וזה מכיון שהזיהוי הוא לא מושלם, לכן צריך להתפתח מנגנון נוסף שישמור שלא יהיו טעויות.	37:13-37:26
לאינזים יש עוד אתר פעיל והוא של פעילות של אקסונוקלאז. הפילמור הוא מ 5 ל 3 והאקסונוקלאז הוא מ 3 ל 5 כשנוקליאוטיז מגיע לאתר הפעיל האינזים קושר אותו או לא קושר אותו לפי התאמה מרחבית. מה קורה אם נוקליאוטיד לא מתאים נכנס? כל המבנה של הפריימר זז לאתר האתר הפעיל החדש ושם מתבצע החיתוך.	37:36-39:04
יש כאילו מנגנון עריכה, זהו מנגנון שמראה את היתרון של הביולוגיה על העולם האנאורגאני, היכולת לעשות תיקונים. בכימיה האנאורגאנית הדרך לחזור היא רק ש"מ שתלויה בריכוזים. וכאן יש דרך לתקן.	39:09-40:03
מנגנון קינטי (לא אקטיבי פעיל) יש פה תחרות בין 2 תגובות כימיות, שיכפול וחיתוך. איפה שהדנ"א יושב בצורה יותר יציבה על האינזים, זה התהליך שיקרה באותו הרגע. אם יש התאמה במבנה הדנ"א ישב רק באתר הפעיל הראשון ולכן הסינתזה רק תימשך. אבל אם אין התאמה, נוצר מבנה שלא יושב טוב, האינזים פועל לאט יותר, הקצה של הפריימר עובר לאתר הפעיל השני ואז יתבצע חיתוך.	40:12-41:54
לאינזים הספציפי הזה יש עוד אתר פעיל אבל הוא אינו קשור לשיכפול. הוא מ 5 ל 3 אקסונוקלאז.	41:54-42:55
כל התגובות שקורות בתוך התא, סינתזה של דנ"א / רנ"א / חלבונים האינזים נחוץ גם לזירוז התהליך וגם לשמירה על רצף מסוים.	44:51-45:52
הריכוז של הנוקליאוטידים הזמינים בתא הוא חשוב. באתר הפעיל חייב להיות מקום לקישור הנוקליאוטיד. קבוע הקישור הוא קבוע ש"מ. אנחנו חייבים ריכוז מסוים שמעליו נדע שתמיד יש נוקליאוטיד קשור באתר הפעיל ומתחת לריכוז לא יהיה.	46:06-46:53
זו הדרך של התא לשלוט בתהליכים: העלאת או הורדת הריכוז של	46:56-47:15

תוכן	זמן
הנוקליאוטידים.	
מה שקובע אם תגובה תקרה, זה ריכוז, כיון שזה משפיע על ההתנגשויות. דיסקרימינציה- האינזים לפעמים יודע להבחין, ולא יכניס נוקליאוטיד לא קשור (זה תחום נחקר) לאנזימים שונים יש מנגנונים שונים ודרך שונה לזהות התאמה.	47:37-48:56
בגלל שזה אינזימים, יכולות לקרות טעויות. זיהוי טעויות היא על בסיס קינטי.	49:05-49:30
תשובה לשאלה "איך שולטים בריכוז?"- איך תא חי עובד? מטבוליזם, התא יש עשרות אלפי מסלולים מטבוליים.	50:02-50:29
לאנזימים יש פולימראזות, חלקן צריכות לעשות הגהה. וזה קורה בדרך קינטית. בתחרות על שני האתרים הפעילים של האינזים. האינזים משנה את מבנהו בהתאמה- זו עוד דוגמה עד כמה הדנ"א צריך להיות גמיש.	52:00-52:51
יש חלוקה קינטית כמה זמן הדנ"א יושב ובאיזה אתר. אם המבנה של הדנ"א תקין הוא לא מספיק לעבור לאתר השני וכבר מגיע עוד נוקליאוטיד וסינתזה ממשיכה. אם זה לא מסתדר יש השהייה והדנ"א עובר לאתר השני.	52:57-53:36
הפעילות הנוספת לאינזים- בגדיל המאחר יש פריימרים. הפריימרים הם של רנ"א. יש אינזים אחר שמכין את הפריימרים כדי שהדנ"א פולימראז יתחיל מהם. הפעילות הנוספת היא לסלק את הפריימרים ל 5 ל 3.	53:53-55:15
חזרה על התפקיד הנוסף	55:20-55:28
לאינזים שמסנתז את הפריימרים קוראים פרימאז, והוא מסנתז פריימרים של רנ"א. ניתן לראות שהפילמור כאן הוא אותה התגובה, הוספה של בסיס לשרשרת. אבל כיוול להיות שאבני הבניין יהיו של רנ"א (ריבונוקלאוטידים או דאוקסיריבונוקלאוטידים) יכול להיות שהטמפלט הוא דנ"א או רנ"א.	55:32-56:15
יכול להיות שהתבנית רנ"א ומסונתז דנ"א ז"א שהבסיס דומה. יש תבנית ויש אבני בניין, והכיוון הו 5 ל 3 זה מה שמשותף לכל התגובות האלו, כל השאר נתון לשינויים.	56:28-57:03
(שקף) ניתן לראות איך דנ"א פולימראז יכול "לאכול" את הפריימרים. לפעמים הוא "אוכל" לא רק את הפריימרים של רנ"א אלא גם חתיכות של דנ"א. העובדה שדנ"א פולימראז "אוכל" דנ"א מסייעת בתיקון נזקים בדנ"א ומונעת מוטציות.	57:15-58:33
לפעמים יש טעויות שלא קורות בזמן השיכפול אלא אח"כ. למשל מקרינת UV או מחומרים שאוכלים. זה עושה מוטציות בדנ"א שלא קשורות לשיכפול, הפעילות 5 ל 3 היא תיקון טעויות כאלו.	58:42-59:25
הדבר היחידי בשיכפול דנ"א שהוא אוניברסאלי זה הכיווניות. מדוע זה קרה? יכול להיות שהכיווניות נשמרה כדי לשמר את העריכה / את יכולה ההגהה.	59:34-1:00:20
צורת כתיבה חדשה, דרך נוחה להדגיש את הקצוות 3 ו 5. הקו הישר הוא טבעת הסוכר, שרשרת של דנ"א- פריימר בסינתזה הרגילה 5 ל 3 הנוקלאוטיד מתווסף במקום ידוע. מה היה קורה אם הוא היה מתווסף מ 3 ל 5? הנוקליאוטיד היה מתווסף, היה משתחרר פירופוספט, מבחינה כימית זה יכול לקרות. אבל אם	1:00:28-1:03:20

תוכן	זמן
היינו צריכים עריכה. אם נוקליאוטיד לא נמצא במקום הנכון והוא יצא, נקבל מצב שבו התוצר הסופי לא זהה למה שהתחלנו. ז"א הריאקציה של הנוקלאוז לא היתה מייצרת שרשרת כמו בהתחלה. לכן הטענה שהכיוונית נשמרה 5 ל 3 כדי שתוכל להיות עריכה שהיא מאוד חשובה. היא מורידה את אחוז המוטציות.	
אם יש שיכפול של דנ"א ללא יכולת לתקן, יש הסתברות של 1:105 שתקרה טעות. זה נשמע מספר קטן אבל הוא לא כ"כ קטן ביחס לדנ"א לדוג' לחיידק יש כרומוזום עם כמיליון בסיסים, אז בשיכפול ללא יכולת תיקון יהיו 10 מוטציות בכל פעם.	1:03:30-1:04:56
פעילות "ההגהה" 3 ל 5 מוסיפה עוד שני סדרי גודל- עכשיו השכיחות למוטיציה היא $1:10^7$	1:04:56-1:15:13
אם לא היו מוטציות בכלל, רוב המינים היו נכחדים, כי הם לא היו יודעים להתמודד עם השינויים בסביבה. אנחנו מעוניינים בקצת מוטציות, אבל אם זה יצא משליטה האורגניזם ימות. יש איזון עדין בין היכולת לעשות אדי פיקציה (להתאים לסביבה) לבין היכולת לשמור על שלמות הגנום.	1:05:26-1:06:14
מנגנון נוסף אם בכ"ז יש טעויות בשיכפול שגם ה"עריכה" פיפסה, יש מנגנון שנקרא mismatch repair קב' של אינזימים שכשנכנס הבסיס הלא נכון והשרשרת התארכה, יש אינזימים שמזהים את זה ויודעים לתקן, וזה מוסיף עוד שני סדרי גודל. סה"כ השכיחות של המוטציות היא $1:10^9$ .	1:06:29-1:07:17
סוגים שונים של דנ"א פולימראזות שיש בתאים שונים	1:07:40-1:07:50
e-coli חיידק ויש לו 5 סוגים שונים של דנ"א פולימראזות. יש להם תפקידים שונים. הפולימר אז הראשון שהתגלה, הסתבר שדוקא הוא לא הפולימר אז שמשכפל את הכרומוזום. יש לו תפקיד בתיקון נזקים. הפולימראז שעושה את השיכפול הוא 3 pol המספרים הם ע"פ הסדר הכרונולוגי של הגילוי.	1:07:53-1:08:59
בתאים אאוקריוטיים לדוג' שמרים, אדם... התגלה שהכרומוזום יותר מורכב אז יש 3 סוגים של פולימראזות שמעורבים בשיכפול, בגלל גודלו ומורכבותו של הדנ"א.	1:09:18-1:10:07
יש פולימראז ששיך למיטוכונדריה, שבה יש גם דנ"א. המיטוכונדריה היא אברון מאוד מעניין שיש לו גנום משלו. יש שני פולימראזות שעושים את השיכפול של הדנ"א בגרעין. כל שאר הפולימראזות שלא עוסקות בשיכפול הדנ"א עושים דברים שקשורים בתיקון דנ"א. לדוג' הם מסנתזים חלקים קטנים של דנ"א כדי לתקן מוטציות שקרו בשיכפול עצמו.	1:10:22-1:12:00
חוקרים את הפולימראזות ממקורות שונים ומנסים להבין לפי הרצף שלהם אם המנגנון דומה ומאיפה הם נוצרו.	1:12:15-1:12:57
תחום מחקר עכשיו- יותר קל לעבוד עם תאי שמרים ומנסים להשליך מהם על אינזימים של בנ"א	1:13:02-1:13:18
מה ההבדל בין דנ"א פולימראזות שמשכפלות כרומוזום לדנ"א פולימראזות שעושות תיקון טעויות? אנחנו מצפים שהפולימראזות שמשכפלים יהיו להן תכונות מיוחדות. לדוג' הם צריכים להיות מהירים.	1:13:20-1:13:38
אפשר לישב כמה זמן לוקח לחיידק להתחלק, וכמה זמן לוקח לו	1:13:52-1:15:23

תוכן	זמן
לשכפל את כל הכרומוזום שלו, צריכה להיות התאמה בין השניים. תהליך השיכפול צריך להיות מהיר, ולהיות מסונכרן עם שיכפול התא. בנוסף הוא צריך מעט מאוד טעויות. פעילות האינזים צריכה להיות מסוגלת לפתוח את הגדילים, לא קר לוקלית. פולימראז שצריך לשכפל צריך ממש יכולת לפרום את הדנ"א צריך גם משהו שיוכל לחבר חתיכות אוקזקי.	
יש פה המון פעילויות אינזימטיות, ולכן משתתפים המון אינזימים את הפילמור 5 ל 3 עושה הדנ"א פולימראז, וגם את תיקון הטעויות אבל על פתיחת הגדילים אחראי אינזים אחר- הליקאז.	1:15:52-1:16:15
חוקר של התהליך הגדיר מעין מכונות- התא מורכב מקומפלקסים חלבונים שעובדים כמו מכונות. החלבונים מתארגנים יחד ועובדים כמו פס ייצור.	1:16:18-1:16:57
החייידקים הגדיל המוביל, רציף, נקרא ללא הפסקה אבל הגדיל לגינג הוא בהגדרה בחתיכות.	1:17:06-1:17:19
כשיש שיכפול חובה שכל הדנ"א ישתכפל כדי שכל המידע הגנטי יעבור לתא החדש.	1:18:02-1:18:21
הליקאז מחובר לפרימאז, ביחד הם פותחים את הגדילים, ומגדירים איפה יהיה מזלג ההכפלה. ליגאז- אינזים שיודע לחבר את הקשר הפוספואסטרני בין הגדיל שנגמא לגדיל החדש, רחאי שירד הפריימר וסונתז עוד דנ"א.	1:18:23-1:19:10
אם יש מרווחים הם נקראים "ניק" והליגאז הוא זה עושה את החיבור.	1:19:19-1:19:47
מה בא קודם? יכול להיות שהיתה בהתחלה פעילות מסויימת של שיכפול שהמנגנונים שלה השתכללו עם השנים. קשה לדמיים שחלבון מאוד מאוד גדול עשה את כל התהליכים ביחד- השאלות עדיין פתוחות.	1:20:10-1:21:27
מבחינת הקיפול של הדנ"א יש משהו מאוד אחיד, משהו ששומר שזה כל הזמן יתקפל כמו שצריך. ההליקאז פותח ואח"כ הדנ"א מאחורה נסגר.	1:22:02-1:22:14
חלבון נוסף שהוא עזר- מדהים מבחינת ההתאמה בין מבנה לתפקיד	1:22:26-1:23:01
איך אינזים יכול להחזיק על הדנ"א ולא ליפול? בשביל שהתהליך יהיה מהיר הוא צריך לא ליפול, ההקשרות לוקחת הרבה זמן כיון שהיא פועלת נגד האנטרופיה. התפתח מנגנון לשמור את הפולימראז על הדנ"א. החלבון שעושה את זה, (ניתן לראות בשקף) הוא בצורת טבעת שתופסת כמו אזיק את הדנ"א פולימראז על הדנ"א, נעה איתו לאורך הדנ"א ולא נותנת לו ליפול.	1:23:01-1:24:31
לחלבון שי מבנה מדהים, כמו טבעת שיודעת להיפתח ולהיסגר על הדנ"א. היא מותאמת למבנה הדנ"א. ברגע שהוא תופס גם את הפולימראז הוא לא נותן לו ליפול.	1:24:50-1:25:26
פרוס סיביות- מדד להאם דנ"א פולימראז יהיה מסוגל לשכפל כרומוזום?, ללכת למרחקים ארוכים? או שהוא כל הזמן מסנתז ונופל, ואז הוא לא מתאים לשכפל מרחקים ארוכים, אלא רק לתקן טעויות קטנות.	1:26:29-1:26:49
פרוס סיביות- מה ההסתברות שהאינזים האריך בנוקליאוטיד אחד,	1:26:54-1:27:03

תוכן	זמן
ועכשיו הוא יאריך בנוקליאוטיד נוסף בלי ליפול.	
פרוס סיביות של 1- הסתברות של 100% להוסיף נוקליאוטיד אחד אחרי שכבר נוסף עוד אחד. בד"כ מודדים כמה זוגות בסיסים אינזים יכול להוסיף בלי ליפול. בפולימראזות שמשכפלות כרומוזום הפרוס סיביות היא בסדר גודל של אלפי בסיסים.	1:27:03-1:27:38
הפרוס סיביות לא תהיה לגמרי 1 כיון שזה אומר שהאינזים לא יפול אף פעם. והפרוס סיביות הכללית היא מכפלת ההסתברויות. לאנזימים שיש פרוס סיביות גבוהה, ז"א שהיא קרובה ל 1.	1:28:07-1:28:37
מתישהוא התהליך צריך להתחיל, צריך להגדיר קצה. לכל כרומוזום יש מקום שמגדיר התחלה. זה קורה באיזור שנקרא ori. לכרומוזומים של חיידקים יש ori אחד. ולכרומוזום של יצורים גדולים כמו האדם יש כמה ori. מה קורה בסוף הכרומוזום? יש שני סוגים של סוף. יש סוף בכרומוזום לינארי, ויש סוף בכרומוזום מעגלי.	1:29:02-1:29:50
סוף בכרומוזום לינארי (כמו שיש לבנ"א) מדוע יש בעיה? הרי יש קצה?	1:30:01-1:31:24
בגדיל המוביל אין בעיה, הסינתזה ממשיכה עד הסוף. בגדיל המאחר צריך פריימר, בקטע האחרון אין איפה לשים את הפריימר. הבעיה היא במספר קטן שח נוקליאוטידים אבל אם לא נשכפל אותם אחרי מספר דורות הכרומוזומים יתחלו להתקצר, ואם יש שם מידע חשוב הוא ילך לאיבוד, והתא יפסיק לתפקד.	1:31:24-1:31:47
התפתח מנגנון לשמירת הכרומוזומים. התגלה שבקצה הכרומוזום יש רצף אופייני שמאוד דומה בין יצורים שונים. (בעיקר GGGTTT בכל מיני וריאציות)	1:31:53-1:32:06
זה מראה שהרצף הזה לא מקודד לשום דבר (עובדה שהוא נמצא אצל יצורים שונים לגמרי- קיבלו על זה פרס נובל)	1:32:10-1:33:04
הגילוי- אינזים נוסף ששומר על זה שקצוות של כרומוזומים יוכפלו במנגנון שונה. אינזים בשם טלומראז מוסיף להם חומר גנטי, ובכך הוא מאריך את השרשרת לסיום. האינזים הזה נמצא הרבה פעמים בסרטן, וחושבים שהפעילות הזו קובעת את תולחת החיים של אורגניזם מסויים.	1:33:04-1:34:18
המיוחד באינזים, שהוא לא רק חלבון הוא מכיל גם חתיכות של רנ"א, שמשמשת כתבנית לסינתזה. האינזים מביא איתו את התבנית לסוף הגדיל. על סמך תבנית הרנ"א האינזים מאריך את גדיל הדנ"א. ולכן כל פעם אותו רצף ששייך לרנ"א שהוא חלק מהאינזים	1:34:24-1:34:27
האיזור הזה בכרומוזום לא חיוני למשהו באורגניזם בשלב מסויים כשנהיים בוגרים, התאים בגוף מפסיקים להשתכפל, הטלומראז מפסיק לפעול.	1:35:31-1:35:42
בכבד וגם בעור תאים מתחדשים, אבל בלב לב למשל התאים לא מתחדשים	1:36:01-1:36:47
ברוב האיברים תאים מפסיקים להיווצר, ואז לא צריך את הטלומראז. אבל אם תא הפך לסרטני, פתאום יש התחדשות, תאים מתחילים להשתכפל, אבל כבר אין טלומראז, אז הגדיל לא היה אמור לשרוד. גלו שבהרבה מהגידולים התחדשה פעילות הטלומראז.	1:36:06-1:37:00

תוכן	זמן
חלק מתהליך צירת הגידול הוא יצירת טלומראז. היום מנסים להשתיק את הטלומראז כדרך לטפל בהתפשטות של גידול.	1:37:11-1:37:37
יש הסתברות גבוהה לקיום של גידול כאשר מוצאים טלומראז.	1:37:44-1:38:08
למה שבכרומוזום מעגלי תהיה בעיה בקצה? הדגמה- נניח שיש כרומוזום מעגלי והוא מתחלק לשניים(מגזרת הנייר לא באמת נראית כמו הדנ"א)	1:38:13-1:39:05
דנ"א הוא בצורה של הליקס.	1:39:26-1:39:39
לדנ"א יש תכונה מאוד מיוחדת, שהוא יוצר קיפולים גם במרחב. כשנוצר מתח בגלל הסיבובים של השרשרת הוא עושה סיבובים הפוכים כדי להרפות את המתח.	1:39:54-1:40:23
שיכפול המולקולה- בהדגמה- גזירה לשניים. מה שקורה במצב כזה הוא ששני העיגולים, הכרומוזומים נשארים מחוברים.	1:40:23-1:41:33
בקצה מעגיל הבעיה היא להפריד בין הכרומוזומים. הגמישות הגדולה של הדנ"א יוצרת סיבובים הפוכים במרחב (כמו מחוט טלפון שמסולסל) דנ"א נוטה להתקפל בצורה מסולסלת בגלל שהוא הליקס. תהליך השיכפול יוצר מתח, יש מתח גבוה לפני מזלג ההכפלה שגורם לכל הקיפולים הללו.	1:41:33-1:43:16
גם בכרומוזום לינארי מאוד גדול, כשמסתכלים מיקרוסקופית יש מתח.	1:43:20-1:43:28
כל הזמן הכרומוזום נמצא במצב שהוא מאוד מסולסל ומקופל, וניתן לראות כעת כיצד זה יכול להפריע לתהליכים הטבעיים. יש אינזימים שנועדו לשמור שהכרומוזום לא יהיה מקופל מדי.	1:43:52-1:44:15
האנזימים האלו הם מוקד לתרופות לסרטן. מכיון שכשכרומוזומים נמצאים בשיכפול רב מי שמאפשר את השיכפול אלו אינזימים שנקראים קופואיזומרזות, האנזימים עושים חתך בדנ"א כדי שישתחרר.	1:44:23-1:45:25
כדי להפריד בין שתי טבעות הנייר/ ובין שתי המולוקולות חייבים לבצע חיתוך. האנזימים מבצעים את החיתוך הזה ומאפשרים לשחרר את המתח ולהפריד לגמרי את 2 המולוקולות.	1:45:25-1:45:37
תא סרטני שמשתכפל הרבה, אם הקופואיזומרזות לא יעבדו האו פשוט יתקע. כיום מנסים ליצור חלבונים שיעכבו את הקופואיזומרזות. במהלך תהליך החיתוך נוצר קשר קוולנטי בין חומצה אמינית על החלבון לבסיס בדנ"א. אם מערבבים בשלב זה את החלבון הורסים את הדנ"א כיון שהוא כבר השתבש.	1:45:37-1:46:33
באנזימים לינארים גדולים יש בעיה לוקאלית, וצריכים את האנזימים האלו כדי לשחרר פלונטרים.	1:47:02-1:47:17
אחת הסיבות לכך שנוצר קשר קוולנטי הוא כדי לא לאבד את הקצה. ואחרי שהדנ"א נפתח הוא נקשר שוב לקצה זה עניין הזתברותי.	1:47:42-1:48:08
בדנ"א מעגלי יש שמגדיר את הסוף ואז הדנ"א פולימראז יודע שצריך ליפול שם.	1:48:37-1:48:48
כשמפיקים דנ"א מחיידקים (דנ"א מעגלי) לפעמים רואים טבעת מחוברות, תלוי בכמה מהאנזימים הפותחים פעילים.	1:49:33-1:50:02