

# מאורע היסטורי במדינת ישראל – פרס נובל בכימיה

דפנה מנדלר\* מאמר זה מבוסס על מידע שפורסם לציבור על ידי ועדת הפרס

דוגמה לכך הוא החלבון טריפסין במעי הדק. חלבון זה אחראי לפירוקם של חלבונים מהמזון לחומצות אמיניות. בדומה, הליזוזום, שהוא אברון בתא, גורם לפירוק חלבונים שנקלטו לתוכו מהתא. המשותף לתהליכים אלה הוא העובדה שאין הם דורשים אנרגיה כדי להתרחש.

ניסויים מוקדמים מתחילת שנות ה-50 של המאה שעברה הראו שפירוק חלבונים בתא הוא תהליך הכרוך בצריכת אנרגיה. במשך זמן רב לא הצליחו המדענים לפתור את הפרדוקס שלפיו שבירה של חלבונים בתוך התא דורשת אנרגיה בעוד ששבירה של חלבונים אחרים מתרחשת ללא הוספה של אנרגיה. על פתרון תעלומה זו הוענק פרס נובל של שנת 2004.

צעד ראשון לכיוון פתרון התעלומה של תהליכי שבירה של חלבונים התלויים באנרגיה נעשה על ידי גולדברג ושותפיו בשנת 1977. הם מיצו את נזלי התא מתוך תאי דם (reticulocytes). נזלים אלה מאיצים את השבירה של חלבונים לא נורמלים בתהליך תלוי ATP (אדנוזין תלת זרחתי – המולקולה האחראית לאספקת האנרגיה של התא). שלושת מקבלי הפרס השתמשו בתמצית זו בסדרה של מחקרים ביוכימיים, בתקופה שבין שנות ה-70 ותחילת שנות ה-80, ובאמצעותם הם הצליחו להראות ששבירה של חלבונים בתא הוא תהליך רב שלבי. תחילתו של תהליך זה הוא סימון מולקולת החלבון העומדת בפני השמדה. תהליך זה מאפשר לתא להיפתר מחלבונים לא רצויים, ותהליך ויסות זה (תהליך סימון החלבון) הוא התהליך שדורש אנרגיה. להבדיל מהתהליך ההפוך של שינוי חלבונים, כמו תהליך פוספורילציה (פרס נובל ברפואה לשנת 1992), ויסות תהליך היוביקוטינציה (קשירה של מספר מולקולות יוביקוויטין לחלבון מועמד לפירוק) הוא בדרך כלל לא הפוך מאחר שחלבון המטרה מתפרק.

בתוך תא אדם ניתן למצוא מאות אלפי חלבונים שונים. לחלבונים אלה מספר תפקידים חיוניים כמו: האצה של תהליכים כימיים (אנזימים), סימון מולקולות (הורמונים) ותפקיד מרכזי במערכת ההגנה החיסונית של הגוף.

פרס נובל בכימיה לשנת 2004 ניתן לפרופסורים אהרון צ'חנובר ואברהם הרשקו מהטכניון בחיפה ופרופ' ואירוויין רוז מאוניברסיטת קליפורניה בארה"ב על תרומתם לפיצוח מנגנון שבאמצעותו התא יכול לווסת את נוכחותם של חלבונים מסוימים וזאת על ידי סימון חלבונים לא רצויים ב"תווית" המורכבת מפולי פפטיד המכונה יוביקוויטין (ubiquitin). החלבונים המסומנים עוברים תהליך פירוק ועיכול מהיר על ידי פרוטאזומים (proteasomes), כפי שיוסבר בהמשך.

בעזרת התגלית האירו החוקרים את התהליך המולקולרי שבאמצעותו התא מבקר מספר תהליכים ביוכימיים חשובים כמו מעגל התא, תיקון DNA, העתקת גנים ובדיקות איכות של חלבונים חדשים בתא. ידע חדש זה, שלמעשה עוסק בבקרת חיי חלבון בתא, תרם גם להבנה של תפקידי מערכת החיסון בתא. פגמים במערכת זו יכולים להוביל למחלות שונות, כולל סוגים שונים של סרטן.

## סימון חלבונים לפני פירוקם

### האם דורש תהליך העיכול אנרגיה?

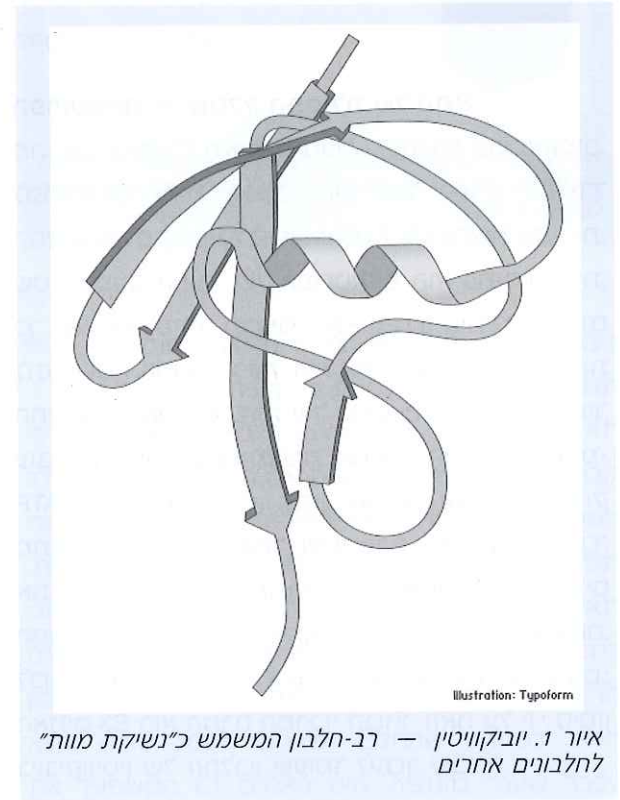
בסוף שנות ה-70 של המאה העשרים התמקדו תשומת הלב ועיקר המחקר בתחום הכימיה של תא חי בהבנת התהליכים שבעזרתם התא מבקר את הסינתזה של חלבונים מסוימים – ובתחום זה ניתנו חמישה פרסי נובל לפחות. התהליך ההפוך, הפירוק של החלבונים, נחשב במשך זמן רב כחשוב פחות. היו ידועים מספר אנזימים שאחראים על פירוקם של חלבונים פשוטים.

\* דפנה מנדלר, עורכת עמיתה עיתון "על-כימיה", מורה לכימיה, תיכון הראל, מבשרת ציון, והגימנסיה העברית, ירושלים



## התווית היא יוביקוויטין

המולקולה, שהוכח בהמשך שהיא הסמן המסמן את החלבון שעומד לעבור פירוק, בודדה לראשונה בתחילת שנת 1975. רב-חלבון זה המורכב מ-76 חומצות אמיניות, בודד מ-calf sweetbread, וההנחה הייתה שהוא משתתף בתהליך ההבשלה של תאי דם לבנים. מאחר והמולקולה נמצאה במספר רב של רקמות ואורגניזמים שונים – אך לא בחיידקים – היא קיבלה את השם יוביקוויטין, מהמילה הלטינית *ubique* שמשמעותה בכל מקום (ראה איור 1).



## גילוי אופן הפעולה של יוביקוויטין

לאחר סיום הדוקטורט המשיך הרשקו ללמוד על האנרגיה הקשורה לתהליכי הרס חלבונים בתאי כבד, אך בשנת 1977 החליט לחקור את תמצית התא, שתוארה זה עתה. תמצית זו הכילה כמויות גדולות של המוגלובין, וכמויות אלה שיבשו בחלק מהמקרים את הניסויים. בניסיונם לסלק את ההמוגלובין, תוך שימוש

בכרומטוגרפיה, גילו הרשקו וצ'חנובר שניתן לחלק את התמצית לשני מקטעים בעלי מאפיינים שונים. אולם מאוחר יותר התברר שכאשר מחברים חזרה את המקטעים, מתחיל תהליך הרס החלבון תלוי ATP. בשנת 1978 דיווחו החוקרים שהמרכיב הפעיל במקטע אחד הוא רב-חלבון עמיד בחום, בעל מסה מולקולרית של 9000. הם כינו אותה את רב-חלבון בשם APF-1 (המרכיב הפעיל במקטע 1, *active principle in fraction 1*). חלבון זה בודד ובשלב מאוחר יותר קיבל את השם יוביקוויטין.

פריצת הדרך המשמעותית במחקר דווחה בשתי עבודות שצ'חנובר, הרשקו ורוז פרסמו בשנת 1980. עד לזמן זה לא היה אופן הפעולה של APF-1 ידוע כלל. בעבודה הראשונה הם הראו ש-APF-1 נקשר בקשר קוולנטי למגוון חלבונים בתמצית. בעבודה השנייה הראו החוקרים שמולקולות APF-1 יכולות להיקשר לאותו חלבון מטרה. תופעה זו כונתה *polyubiquitination*. כיום אנו יודעים ש-*polyubiquitination* של חלבוני המטרה הוא האות המשפעל המוביל לפירוקו של החלבון בפרוטאזום. תגובה זו היא זו המסמנת את החלבון, היא "נשיקת המוות" לחלבון.

בעקבות עבודות אלה ניתן היה להתרכז בזיהוי המערכת האנזימתית שקושרת יוביקוויטין לחלבוני המטרה. מאחר ויוביקוויטין מופיע במגוון רקמות ואורגניזמים, הבינו החוקרים במהרה שתהליך הסימון על ידי יוביקוויטין חייב להיות בעל משמעות כללית לתא. בנוסף שיערו החוקרים שהאנרגיה הדרושה בצורת ATP, מאפשרת לתא לשלוט בתהליכים מסוימים.

במהלך השנים 1981 עד 1983 פיתחו החוקרים בקבוצותיהם את השערת הסימון הרב-שלבי של יוביקוויטין. הם ביססו את השערתם על שלושה אנזימים חדשים שפעילותם אך התגלתה. אנזימים אלה נקראו בשם E1, E2, E3 (ראה איור 2). כיום אנו יודעים שתאי יונק אופייניים מכילים אנזים E1 אחד או יותר מסוגים שונים, כמה עשרות אנזימי E2 וכמה מאות אנזימי E3. הספציפיות של אנזימי E3 היא זו שקובעת אילו חלבונים בתא יסומנו כדי לעבור פירוק בפרוטאזומים.



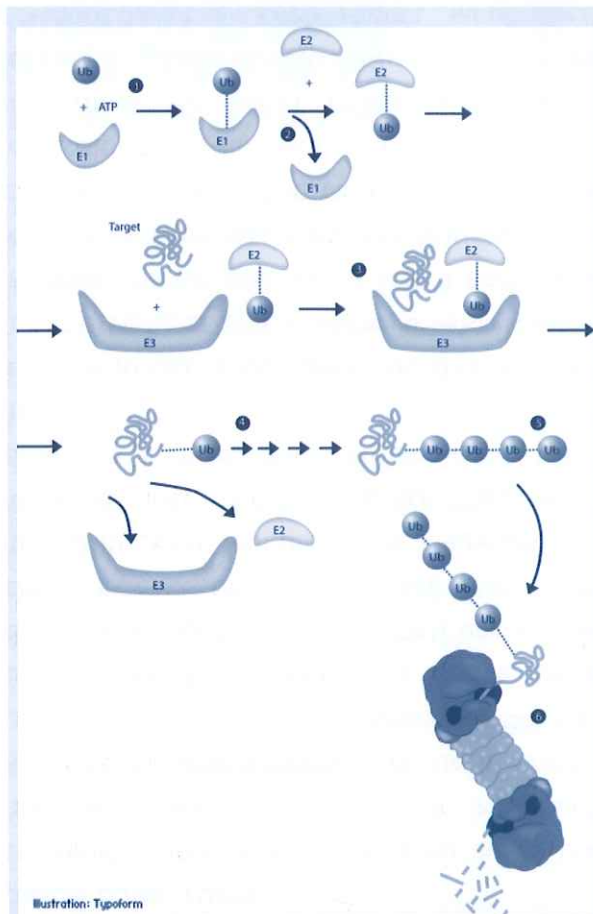
כל המחקרים עד לנקודה זו בוצעו במערכות מחוץ לתא. כדי לחקור את הפעילות הפיזיולוגית של יוביקוויטין ותינוך פירוק של חלבונים, פיתחו הרשקו ושותפיו שיטה חיסון ייחודית. הם השתמשו בנוגדנים (antibodies) ליוביקוויטין שניתן לבודדם מהתאים, ביניהם היו גם חלבוני תא שסומנו באמצעות חומצות אמיניות רדיו אקטיביות שאינן נמצאות ביוביקוויטין. התוצאות הראו שהתאים אכן מפרקים חלבונים פגומים תוך שימוש במערכת יוביקוויטין. כיום אנחנו יודעים שעד 30% מהחלבונים החדשים המופיעים בתא מתפרקים בפרוטאזומים. הסיבה נעוצה בעובדה שהם לא עברו את בקרת האיכות הקפדנית של התא.

### הפרוטאזום – מסלוק הפסולת של התא

מהו הפרוטאזום? תא אדם מכיל כ-30000 פרוטאזומים. לפרוטאזום צורת חבית, והוא יכול לפרק את כל החלבונים למקטעי חלבון שאורכם 7-9 חומצות אמיניות. שטח הפנים הפעיל של הפרוטאזום הוא בתוך החבית, כך הוא מוגן מיתר מרכיבי התא. הדרך היחידה להיכנס לתוך שטח הפנים הפעיל היא דרך "מנעול", המזהה את החלבון הקשור לשרשרת של יוביקוויטין. החלבון הקשור עובר דה-נטורציה באמצעות אנרגיה המשתחררת מ-ATP. אז נכנס החלבון לתוך החבית ותהליך הפירוק מתחיל, וזאת מיד לאחר ששרשרת היוביקוויטין עזבה את החלבון כתוצאה מתהליך הדה-נטורציה. החלבונים הנוצרים משתחררים מהקצה האחר של הפרוטאזום. לכן הפרוטאזום עצמו אינו יכול לבחור את החלבונים; האנזים E3 הוא הגורם המרכזי הבוחר וזאת על ידי סימון ביוביקוויטין של החלבון שעומד לעבור שבירה.

### מחקרים חדשים

בשנת 1983 אופיינו המנגנונים הביוכימיים הקשורים לסימון על ידי יוביקוויטין של החלבונים שעומדים לעבור פירוק, אך החשיבות הפיזיולוגית טרם הובנה כראוי. אמנם הושגה הבנת החשיבות של הרס חלבונים פגומים בתוך התא, אך היה צורך בתא שעבר מוטציה כדי להמשיך ולחקור את תהליך היוביקוויטין. על ידי חקר מפורט של תא שעבר מוטציה והשוואת ההבדלים



איור 2 – תינוך של יוביקוויטין הגורם להרס החלבון

1. אנזים E1 משפעל את מולקולת היוביקוויטין. תגובה זו דורשת אנרגיה ממולקולת ATP.
2. מולקולת היוביקוויטין מועברת לאנזימי E2 שונים.
3. אנזים E3 יכול להכיר את מולקולת חלבון המטרה העומד לעבור תהליך פירוק. התצמיד E2-יוביקוויטין נקשר כל כך קרוב לחלבון המטרה שלמעשה מתבצעת פעולת סימון. מולקולת היוביקוויטין יכולה להיות מועברת מאנזים E2 לחלבון המטרה.
4. אנזים E3 משחרר עכשיו את התצמיד חלבון-יוביקוויטין.
5. השלב האחרון חוזר על עצמו עד שלחלבון יש שרשרת קצרה של מולקולות יוביקוויטין הקשורות אליו.
6. שרשרת היוביקוויטין מוכרת בכניסה לפרוטאזום. סימון היוביקוויטין מתנתק והחלבון מתקבל בפרוטאזום ונחתך לחתיכות קטנות.



מקבלי הפרס השנה הסבירו את הבסיס המולקולרי של ויסות חלבונים שיש להם חשיבות רבה בתאים של בעלי חיים מפותחים. מערכות חדשות המווסתות על ידי מערכת זו מתגלים כל הזמן, והמחקר בתחום זה מיושם במספר רב של מעבדות ברחבי העולם.

### חלקו של היוביקוויטין במניעת הפריה עצמית בצמחים

רוב הצמחים הם דו-מיניים. הפריה עצמית מובילה לירידה הדרגתית של השונות הגנטית, שבטווח הארוך יכולה לגרום למוות של זן כולו. כדי למנוע זאת, צמחים משתמשים בתיווך היוביקוויטין כדי לדחות תאי מין עצמיים. המנגנון המדויק טרם הובהר, אך נמצא שאנזים E3 מעורב בתהליך.

### הפרוטאזום ותפקידו בויסות מעגל התא

כאשר תא צריך לשכפל את עצמו, מגוון תגובות כימיות מתרחשות. בגוף האדם שישה מיליארדי זוגות בסיסים צריכים להשתכפל ב-DNA. אלה מסודרים ב-23 זוגות כרומוזומים שצריכים לעבור שכפול. חלוקה רגילה של תא, מיטוזה, והיווצרות תא המין, מיוזה – יש להן נקודות השקה רבות לתהליך הנידון במאמר זה. אנזים E3 אחראי לתהליך הנקרא בשם "anaphase-promoting complex" (APC). בתהליך זה האנזים בודק אם התא אינו מבצע את תהליך המיטוזה. הוכח גם שהאנזים ממלא תפקיד חשוב בהפרדה של הכרומוזומים במהלך המיטוזה והמיזוזה. תצמיד חלבונים אחר משמש כחבל המחבר בין זוגות החלבונים ומחזיק אותם יחד. במתן האות ה-APC מסמן את המעכב של אנזים הגורם לפירוק של חלבון מסוים, וכתוצאה מכך המעכב מובל לפרוטאזום ונהרס שם. האנזים המשוחרר עובר הפעלה וחותר את החבל מסביב לזוג הכרומוזומים. מהרגע שהחבל הותר, זוג הכרומוזומים יכול להיפרד. חלוקה לא נכונה של כרומוזום במהלך המיטוזה היא הגורם הנפוץ ביותר להפלות במהלך הריון, וכרומוזום נוסף, ה-21 בבני אדם, גורם לתסמונת דאון. רוב הגידולים הממאירים מכילים תאים עם כרומוזומים שעברו שינוי וזאת כתוצאה מחלוקה לא נכונה בשלב המיטוזה.



בינו לבין תא רגיל, קיוו החוקרים להבין טוב יותר, אילו תגובות בתוך התא תלויות במערכת היוביקוויטין. תא עכבר שעבר מוטציה בודד בשנת 1980 על ידי קבוצת חוקרים מטוקיו. תאים אלו הכילו חלבונים שבגלל המוטציה היו רגישים לטמפרטורה. בטמפרטורות נמוכות תפקדו החלבונים כרגיל אך לא בטמפרטורות גבוהות. תאי תרבית שהיו בטמפרטורות גבוהות הפסיקו לגדול. בנוסף התרחשה בהם סינתזה של DNA פגום והתאים הראו מספר תפקודים לקויים אחרים. החוקרים בבוסטון הראו במהרה שהחלבון שרגיש לטמפרטורה בתא עכבר שעבר מוטציה, היה האנזים E1 המשפעל את היוביקוויטין. מובן ששפעול היוביקוויטין הוא הכרחי לתא כדי לתפקד ולייצר את עצמו. פירוק מבוקר של חלבון הוכח כחשוב לא רק לפירוק חלבונים פגומים בתא אלא הוא בוודאי לוקח חלק בבקרה של מעגל התא כולו, הכולל שכפול DNA וכרומוזומים.

משנות ה-80 המאוחרות ועד היום זוהו מספר חומרים החשובים לתהליך פירוק החלבון בתהליך הכולל את היוביקוויטין. באחדים מהם נעסוק בהמשך.



## חלקו של היוביקוויטין בתיקון ה-DNA, סרטן ותכנון מותו של תא

החלבון p53 (ראה מאמר מפורט בידיעון 1997 התשנ"ז, אלול, כרך 70) שקיבל את הכינוי "השומר של הגנום", הוא גורם מדכא גידולים. המשמעות היא שכל זמן שהתא יכול לייצר p53 – התפתחות סרטן אינה אפשרית. ואכן נמצא שב-50% ממקרי הסרטן עבר החלבון מוטציה. כמות החלבון p53 בתא נורמלי היא נמוכה וזאת כתוצאה מתהליכי שבירה והיווצרות מתמשכים. תהליך השבירה מווסת על ידי תהליך ה- יוביקוויטין ויחד עם האנזים E3 נוצר תצמיד עם החלבון p53. בעקבות פגיעה ב-DNA חלבון p53 עובר פוספורילציה ואינו יכול יותר להיקשר לאנזים E3. הפירוק של החלבון p53 נפסק, וכמותו בתא עולה במהירות. החלבון p53 פועל כגורם שכפול, כלומר חלבון שמבקר את הביטוי של גן מסוים. חלבון p53 נקשר ומבקר את הגנים שמווסתים את תיקון ה-DNA וכן את תהליכי מותם המתוכנן של תאים. עלייה ברמות של החלבון p53 מובילה בהתחלה להפרעה במעגל התא, בחלק האחראי לתיקון ה-DNA. אם הנזק הוא נרחב, התא יוזם תהליך של מות תא ובעצם "מתאבד". זיהום בוורוס הפאפילומה (papilloma) בבני אדם נמצא בהתאמה עם הופעה של סרטן הוושט. הוורוס מונע את פעילות הבקרה של החלבון p53. אחד מחלבוני הוורוס משפעל ומשנה את דפוסי ההכרה של אחד מאנזימי E3. אנזים זה למעשה עובר הטעיה וגורם תהליך יוביקוויטין של החלבון p53. התוצאה היא הרס מוחלט של החלבון p53. כתוצאה מכך נגרם זיהום תאי שמונע מהתא כל אפשרות לתקן נזקים ב-DNA מחד או להפעיל את מנגנון מות התא מאידך. המוטציות ב-DNA עולות, והתוצאה היא התפתחות גידול סרטני.

### מעורבות היוביקוויטין בתגובות חיסון

גורם שכפול מסוים מווסת רבים מהגנים בתא החשובים במערכת ההגנה החיסונית. חלבון זה, גורם שכפול, נמצא קשור לחלבון מעכב בציטופלסמה של התא, והצורה הקשורה של גורם השכפול אינה פעילה. כאשר התאים נחשפים לחידקים או לסמנים אחרים,

המעכב החלבוני עובר פוספורילציה, והתוצאה היא תהליך היוביקוויטין ופירוק בפרוטאזום. גורם השכפול המשוחרר מועבר לגרעין התא, שם הוא נקשר וגורם להפעלה של גנים ייחודיים לו.

מערכת היוביקוויטין-פרוטאזום יוצרת גם חלבונים שנמצאים בהגנה החיסונית על שטח פני תאים מודבקים בוורוסים וזאת על ידי פירוק של חלבוני הוורוס. לימפוציטיד מכירים חלבונים אלו ומתקיפים את התא וזאת כחלק ממערכת ההגנה של התא מול הדבקה בוורוסים.

### סיסטיק פיברוזיס, CF והיוביקוויטין

מחלת הסיסטיק פיברוזיס, CF, נגרמת כתוצאה מפגם בתעלה להעברת יוני כלוריד הנמצא בממברנת הפלסמה (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR). כאשר ערוץ זה אינו מתפקד נגרמת המחלה. לרוב חולי ה-CF יש פגם גנטי זהה, חוסר בחומצה האמינית פניל אלנין בחלבון ה-CFTR. המוטציה גורמת למבנה מרחבי שגוי של החלבון וכתוצאה מכך החלבון הופך למועמד לפירוק במערכת המווסתת על ידי היוביקוויטין. תא ללא תעלת כלוריד עובדת אינו יכול להעביר יוני כלוריד דרך קירות התא. התוצאה היא יציאת נוזלים מהתא באיברים שונים, ביניהם הריאות. בשלב הבא נוצרת שכבה דקה של לחלוחית בתוך הריאות. לחלוחית זו פוגעת בתפקוד הריאות ומעלה במידה ניכרת את הסיכויים להיווצרות דלקות.

לסיכום, מערכת היוביקוויטין קיבלה משמעות חדשה בחיפוש אחר תרופות למחלות שונות. ניתן לכוון מערכת יוביקוויטין-פרוטאזום, כך שתמנע פירוק של חלבונים מסוימים. ניתן גם לתכנן את המערכת כך שתגרום להרס של חלבונים לא רצויים. כבר היום קיימים מבדקים קליניים בשימוש במערכת למניעת מילומה, סוג סרטן המשפיע על מערכת ייצור האנטיגנים בתאים.

### מקורות:

<http://nobelprize.org/chemistry/laureates/2004/public.html>  
[www.notes.co.il/aviva/7885.asp](http://www.notes.co.il/aviva/7885.asp)  
<http://www.focus.technion.ac.il/Eubiquitin.html>  
<http://pard.technion.ac.il/archives/HaTechnion/technionfall04.pdf>