

## תגובת התא לעקת חום

ח' גינזבורג<sup>1</sup>

### תקציר

במאמר זה נסקרת תגובת התא לעקת חום ברמה המולקולרית, ומתוארות קבוצות החלבונים המיוחדים הנוצרים בתאים בעת חשיפתם לחום, ומנגנוני הבקרה המווסתים את התגובה לעקת החום.

חלבוני עקת-החום שייכים למשפחות של חלבונים. בכמה משפחות, חלק מן החלבונים מושרים על-ידי חום ואחרים נוצרים בכל תא בתנאי גידול רגילים. תפקידם של כמה מן החלבונים הללו נלמד, ונמצא שלכולם תכונה משותפת והיא - פעילות-גומלין עם חלבונים אחרים בצורה המייצבת את המבנה שלהם. יתרונה של תכונה זו - שימור פעילותם של חלבונים בתנאי עקה.

תאים, ואף אורגאניזמים שלמים, יכולים לעבור תהליך של הקשחה, או רכישת עמידות בפני עקת חום, על-ידי חשיפתם המוקדמת לטמפרטורות שאינן קיצוניות. בתנאים אלה נוצרים בתאים חלבוני עקת-חום, ומשך ההקשחה תואם את משך קיומם של חלבוני עקת-החום בתא. בתנאי קיץ קשים גורמת העלייה ההדרגתית בטמפרטורה בשעות הבוקר להפעלת תגובת התאים לעקת-חום טבעית בצמחים הגדלים בשדה, ואנו מניחים שהתהליך תורם ליכולתם של הצמחים להתגבר על תנאי עקת החום בשעות הצהריים.

### מבוא

תאים או אורגאניזמים שלמים סובלים מעקת חום כשהם נחשפים לטמפרטורה גבוהה ב-5-10 מ"צ מטמפרטורת הגידול הרגילה שלהם. תגובה זאת משותפת לכל עולם החי והצומח, מחיידקים ועד למין האנושי. עקת חום גורמת להאטה או להפסקה בייצורם של רבים מחלבוני התא, להרס של ממברנות התא המקיימות את פעילות הנשימה והפוטוסינתזה ומפקחות על תנועת חמרים אל מדורי התא השונים, לקריסה של מערכות נימים (פילאמנטים) המהוות את שלד התא, ולאבדן המבנה הנכון של חלבונים ושל חומצות גרעין. גידולי קיץ בשדה נחשפים מדי יום לעקת-חום

מפרסומי מינהל המחקר החקלאי, סדרה ע', 1990, מסי' 44.

1. המחלקה לצמחי נוי, המכון לגידולי שדה ונן, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית-דגן 50250.

בשעות הצהריים, ועוצמת העקה משפיעה על היבול. הפגיעה קשה במיוחד בשלבים רגישים של התפתחות הצמח, למשל, בזמן יצירת גרגרי האבקה. צירוף של עקת חום ומחסור במים הוא תופעה שכיחה בגידולי בעל ופגיעתה חמורה במיוחד משום שבתנאים אלה אין הצמח יכול לקרר את העלים בעזרת דיות (טרנספיראציה).

### פרק א': הגילוי של "חלבוני עקת-חום"

התא מגיב על חשיפה לעקת-חום בייצור קבוצה אופיינית של חלבוניים הנקראים "חלבוני עקת-חום". התגובה מהירה ומאסיבית ורמתם של חלבוני עקת-החום בתא עולה במהירות בתוך 5-30 דקות, בהתאם לאורגניזם ולעוצמת העקה. לימוד המבנה והתפקיד של חלבוני עקת-החום, ושל חלבוניים דומים הנוצרים בתא בתנאי טמפרטורה רגילים, מחזק את ההנחה שלחלבוניים אלה יש חשיבות בקיום ההומאוסטאזיס של התא בתנאי עקה, ובמלים אחרות - במניעת שינויים במבנה התא ובתפקודו בשל העקה, וגם בקיום מצב המקל על התא לחזור לתפקוד נורמלי. את תגובת התא לעקת-חום גילה לראשונה ריטוסה ב-1962 (9), בעת הסתכלויות ציטולוגיות על הכרומוזומים הענקיים שבבלוטות הרוק של זבוב התסיסה (*Drosophila melanogaster*). גודל הכרומוזומים שבבלוטות הרוק של הזבוב מאפשר לזהות בהם, בהסתכלות מיקרוסקופית, את מקומם הפיזי של גנים בודדים. ריטוסה הבחין בהופעת אזורים תפוחים במקומות מוגדרים על הכרומוזומים לאחר חשיפת הזבובים לחום. כמו כן הוא הבחין בירידה במידת תפיחותם של אזורים אחרים בכרומוזום, לעומת המצב בכרומוזומים שנלקחו מזבובים שגדלו בטמפרטורה נוחה. הופעת תפיחה בכרומוזום מבטאת מצב של פעילות מוגברת של גן. ב-1974, לאחר פיתוחן של שיטות אלקטרופורטיות מדויקות להפרדת חלבוניים, דיווחו תיסייר ועמיתיו מאוניברסיטת גינבה על זיהוי חלבוניים מיוחדים בעלי משקל מולקולתי של 22, 23, 27, 28, 70 ו-83 קילודלטון, שיצירתם מושרית בדוּרוֹזופילה על-ידי עקת-חום בד בבד עם הופעת התפיחות הכרומוזומיות (10).

הגנים המקודדים את החלבוניים הללו היו בין הראשונים ששובטו לאחר פיתוח שיטות ההנדסה הגנטית בסוף שנות השבעים. שיבוטם של גנים אלה הרחיב מאוד את ידיעותינו, שכן הדבר איפשר ללמוד את מעקבות הבסיסים של הגנים, ובעקבות כך - גם את מעקבות חומצות האמינו בחלבוניים המתאימים. בכך הושגה הכרה של מבנה החלבוניים ושל מבנה אזורי הבקרה של הגנים המקודדים אותם. הגנים המשובטים שימשו גם כגלאים גנטיים לקביעת מספרם ולזיהוי מקומם של הגנים המתאימים על הכרומוזום - בהתאם לתפיחות המושרות בחום - ולקביעה כמותית של רמת הרנ"א השליח של חלבוני עקת-החום בתאים, בשלבים שונים לאחר חשיפתם לעקה, ובמהלך החזרה לפעילות נורמלית לאחר חלוף העקה. מידע זה היה חשוב להכרת מנגנוני הבקרה של ייצור החלבון בשלבים שלאחר התיעתוק.

## פרק ב': בקרת פעולתם של הגנים לחלבוני עקת-חום בשלב התיעתוק

אזורי הבקרה של גנים מכילים מעקובות בסיסים קצרות שיש להן פעילות-גומלין עם חלבונים מווסתים. פעילות-גומלין זאת מפעילה, או מעכבת, את פעילות הגן. יו פלהם מקמברידג' (8) השווה את מעקובות הבסיסים באזורי הבקרה של הגנים לחלבוני עקת-חום של זבוב התסיסה, ומצא בכולם את המעקובת C-GAA-TTC-G בצורה מושלמת או חלקית. מעקובת זאת נקראה "יסוד (אלמנט) התגובה לעקת חום". במקרים רבים נמצאו שתי מעקובות כאלה כשהן צמודות, או חופפות זו את זו באופן חלקי, ובאזורי הבקרה של כל גן לעקת-חום בזבוב התסיסה נמצא יותר מצירוף מעקובות אחד כזה, במרחק של כמה עשרות עד כמה מאות בסיסים מנקודת ההתחלה של התיעתוק. חלבון ייחודי - "גורם (פקטור) התיעתוק לעקת-חום" - נמצא תמיד בגרעין בצורה בלתי-פעילה. הפעלתו של גורם זה בתנאי עקה גורמת לקשירתו אל יסוד התגובה לעקת-חום ולהפעלת כל סדרת הגנים לעקת-חום בקואורדינציה.

להלן נשתמש בקיצורים המקובלים האלה: HSP70 יציין את חלבון עקת-החום (heat shock protein) במשקל מולקולתי של 70 אלף דלטון. hsp70 (באותיות קטנות) יציין את הגן המקודד את החלבון הנ"ל. באופן דומה יצינו הגנים האחרים של חלבוני עקת-חום, למשל: hsp20 או hsp90.

גנים מסוימים של חלבוני עקת-חום מופעלים ברקמות מסוימות בתנאי טמפרטורה רגילים. ב-1983 מצאו חוקרים במעבדתו של מסלסון בהארווארד שבארצות-הברית (13) שהגנים המקודדים שלושה חלבוני עקת-חום - HSP83, HSP23, HSP27 - מופעלים בתאי שחלה של זבוב התסיסה בטמפרטורה רגילה, וכי הרני"א-שליח של החלבונים האלה מצטבר בתא הביצה בעת התפתחותה. בתקופה זאת אין תא הביצה יכול ליצור HSP70, וזו גם התקופה שבה הוא רגיש מאוד לטמפרטורה גבוהה. בתקופה זאת גם נמצא ההורמון הסטרואידי אקדיסון ברמה גבוהה בתאי השחלה. מחקרים נוספים הראו שטיפול באקדיסון בטמפרטורות רגילות יכול לגרום להפעלת הגנים המקודדים את חלבוני עקת-החום הקטנים בתרביות תאי הדروزופילה, ושגנים אלו מכילים באזור הבקרה שלהם מעקובת בסיסים מיוחדת הקושרת גורם תיעתוק מיוחד בנוכחות אקדיסון. מעקובת בקרה זו שונה מן המעקובת לעקת-חום. עבודה זאת מלמדת על הצורה שבה נעשית בקרת ההפעלה של גנים באורגאניזמים עילאיים. רמת פעילותו של גן נקבעת על-ידי פעילות-גומלין שבין אותות (סיגנלים) שונים ובין גורמים אוטונומיים באזור הבקרה שלו.

זמינותם של גלאים גנטיים לגנים לעקת-חום של זבוב-התסיסה איפשרה את הזיהוי של גנים הומולוגיים באורגאניזמים נוספים, ובמיוחד נלמדו הגנים שהוצאו משמרים, מאדם, מעכבר, מתרנגולת, מקסנופוס (דו-חיים), מצנורבדיטיס (נמטודה) מלישמניה (טפיל חד-תאי), מסויה, מתירס ומהחידק אשריכיה קולי.



## פרק ג': חלבוני עקת-חום המקודדים על-ידי משפחות גנים שנשתמרו במהלך האבולוציה

כל האורגאניזמים שנלמדו עד היום מכילים גנים המושרים על-ידי חום והשייכים למשפחות האלה: hsp15-30, hsp60, hsp70 ו-hsp83-90. קבוצת החיידקים אינה מכילה גנים המקודדים חלבונים קטנים. ברוב האורגאניזמים העילאיים נמצא יותר מגן אחד מן המשפחות hsp15-30, hsp70, hsp83. הגנים המקודדים את HSP70 הם דוגמה למשפחת גנים שהמבנה שלה נשתמר מאוד במהלך האבולוציה. בין הגנים ההומולוגיים מכל האורגאניזמים העילאיים יש דמיון של יותר מ-70% במעקבות הבסיסים של הגן ובמעקבות חומצות האמינו בחלבון. באזורים חשובים בגן יש שימור גבוה הרבה יותר. הגן של חיידק הקולי דומה לגנים של דרוזופילה בשיעור של 50%. דרגת שימור זו מעידה על חשיבותו של הגן לתפקוד התא. ואמנם, מוטאציות המתרחשות בגן זה הן בדרך כלל מוטאציות לתאליות, הגורמות למות התא. הוכחות נוספות לדמיון הרב בין hsp70 של אורגאניזמים שונים באות מתחום ההנדסה הגנטית (1, 4, 5).

אחת השיטות המקובלות לבחינת תפקידן של מערכות בקרה גנטית היא שימוש בגנים רקומבינאנטיים, המורכבים מאזור בקרה של גן שאת מנגנון הפעלתו אנו מעוניינים לחקור, ומאזור מקודד של גן-סמן שתוצרו ניתן לזיהוי בקלות ברקמה הנבדקת, למשל - בעזרת ריאקציות צבע שהחלבון-הסמן מחולל. התמרה (טרנספורמציה) של תאים בגן רקומבינאנטי כזה תפעיל את הגן-הסמן בתאים המותמרים בהשפעת אותם גורמים המפעילים את אזור הבקרה של הגן המקורי. ניסויים בהתמרת תאים על-ידי גנים שמקורם באורגאניזמים אחרים הראו שהגן hsp70 של זבוב התסיסה מופעל בטמפרטורה גבוהה בתאי קוף ובביצת קסנופוס, ואפילו בתאים צמחיים. טמפרטורת ההפעלה אופיינית למין המקבל. הניסויים מעידים על שימור מנגנון הבקרה של התגובה לעקת-חום במהלך האבולוציה.

### 1. משפחת HSP70

התפתחות מעניינת במחקר חלבוני עקת-החום חלה עם הגילוי של חלבונים מן המשפחות HSP70 ו-HSP83, הנוצרים בתא בטמפרטורות גידול רגילות. דיוננו יתמקד להלן בחלבונים ממשפחת ה-HSP70, שהיא המוכרת והמגוונת שבהן. ב-1977 נתגלו שני חלבונים בעלי משקל מולקולתי של 75 ו-90 קילודלטון, שיצירתם מזוהת בתאי תרבית-רקמה שנלקחה מעובר התרנגולת בזמן מחסור בגלוקוז. חלבונים ההומולוגיים מעכבר ומאדם נחקרו במעבדותיהם של לי בלוס-אנגילס ושל פלהם בקמברידג' (7), שלמדו את מעקבות הבסיסים של הגנים

המתאימים, את תפקידם הפיסיולוגי ואת מקומם בתא. מעקובת חומצות האמינו בקצה האמיני של החלבון כוללת קבוצה של חומצות אמינו המכונה "קבוצת סיגנל", שתפקידה לכוון את החלבון לתוך אותו מדור בתא המוגבל בממברנות הרטיקולום האנדופלאסמתי. תפקידו של חלבון זה בתא "הוסגר" על-ידי חלבון בעל משקל מולקולתי דומה המיוצר בתרבות תאים של המערכת החיסונית מטיפוס B, המייצרת אימונוגלובולינים. חלבון זה כונה BiP (binding protein). התרבות האמורה מייצרת את השרשרת הכבדה של אימונוגלובולין בלבד, ואינה מסוגלת לייצר את השרשרת הקצרה שלו. מולקולות האימונוגלובולין הבלתי-גמורות נמצאו קשורות ל-BiP. חלבון זה מכונה גם GRP78 (glucose regulated protein, MW 78000) והצטברותו ברטיקולום האנדופלאסמתי בתנאי מחסור בגלוקוז מוסברת בכך שזה המדור התאי שבו עוברים חלבונים רבים גליקוזילציה. העדר גלוקוז מונע את השלמתם של חלבונים אלה, הנשארים קשורים ל-GRP78 ומשרים את יצירתו.

מקומו של HSP70 בתא זוהה במעבדותיהם של סוזן לינדקוויסט (11) באוניברסיטת שיקגו ושל יו פלהם בקמברידג' (7) בעזרת שימוש בנוגדנים HSP70 מצטבר בגרעין, ובעיקר בגרעינון, לאחר השראתו בתנאי עקת-חום. בתום העקה נודד HSP70 לציטופלאסמה. שחרור HSP70 לציטופלאסמה מותנה בפירוק התרכובת עשירית-האנרגיה ATP. HSP70 יכול לקשור מולקולות ATP, ותכונה זו נוצלה במעבדתו של פראמיסקו (12) בקולד ספרינג הארבור לשם בידודו בכמויות גדולות על עמודות-אגרוז, בטכניקה המכונה "כרומאטוגרפית זיקה" (אפיניות). מולקולות ATP נקשרו בקשר כימי לגרגרי אגרוז, ומיצוי כללי של חלבוני התא הועבר דרך צינוריות זכוכית מלאות באגרוז-ATP. תנועתם של חלבונים קושרי-ATP עוכבה בעמודה, ולאחר שטיפתם בתמיסת ATP השתחרר מן העמודה תכשיר חלבונים עשיר מאוד ב-HSP70 (12).

בן משפחה נוסף של HSP70, המיוצר אף הוא בטמפרטורות רגילות, נתגלה על-ידי חוקרים באוניברסיטת סטאנפורד שבארצות-הברית, שעסקה בחקר בקרת תנועתן של מקרומולקולות בתא. ממברנות הסגורות לשלפוחיות שמצופות בחלבון קלאטרין משמשות להעברה מבוקרת של חלבונים בין מדורי תא שונים. שחרור תוכן השלפוחית מחייב את הסרת ציפוי הקלאטרין מעליה, ופעולה זאת מתבצעת על-ידי חלבון מיוחד בעזרת אנרגיה המסופקת על-ידי ATP. חלבון זה כונה Clathrin releasing ATPase, ובודד אף הוא בכרומאטוגרפית-זיקה על אגרוז-ATP, ואופיין בשיטות אימונולוגיות ואלקטרופורטיות, בעזרת נוגדנים ל-HSP70. תכונות אלו משייכות אותו למשפחת ה-HSP70. לשלושת בני המשפחה משותף הכושר להתקשר לחלבונים אחרים, או למבנים גרעיניים, ולהשתחרר מהם לאחר מכן תוך כדי פירוק ATP.

משפחות ה-HSP70 בזבוב התסיסה, באדם ובשמרים הן משפחות גנים גדולות המונות כעשרה גנים כל אחת. אנו מניחים שזה המצב גם במינים אחרים שלא נלמדו עד תומם. אפשר להסביר את המורכבות הזאת באופן חלקי בכך שבני משפחה



שונים נמצאים במדורי תא מיוחדים. לדוגמה: בשמרים קיים חלבון אחד שהוא חיוני לקיום התא ברטיקולום האנדופלאסמתי. בן-משפחה חיוני אחר הוא חלבון מיטוכונדרי. כמו כן אופיינה בשמרים תת-משפחה בת ארבעה חלבונים ששלושה מהם מושרים על-ידי חום, ושנוכחות אחד מהם לפחות בתא היא חיונית בכל טמפרטורת גידול. תת-משפחה זו שימשה את קבוצותיהם של בלובל (באוניברסיטת רוקפלר), קרייג (ויסקונסין) ושקמן (ברקלי) ללימוד פרק מרתק נוסף על תפקיד החלבון (3, 5).

קבוצותיהם של שקמן וקרייג (3) השתמשו בשמרים המכילים מוטאנטים משלושה מבני תת-המשפחה hsp70 (ssa1, ssa2 ו-ssa4), וכן בגן רקומבינאנטי הבנוי מהמעקבות הנורמלית של ssa1, שחברה אל אזור הבקרה של הגן gal1. זה האחרון הוא יסוד בקרה גנטי המופעל בנוכחות גלקטוז, אבל לא בנוכחות גלוקוז. מוטאנטים אלה גדלו בצורה נורמלית על גלקטוז, והעברתם למדיום המכיל גלוקוז גרמה בתוך כמה שעות להצטברות של חלבונים שלא הגיעו ליעדם בתא, משום שבתנאים אלה לא נוצר בתא SSA1 היכול להחליף את מוצרי הגנים ששותקו על-ידי מוטאציות. נבדקו: גורם (פקטור) אלפא, שהוא פרומון המופרש מן התא החוצה, קארבוקסיפפטידאז Y, שהוא חלבון המצוי ברטיקולום האנדופלאסמתי, ויחידת F1 של ATPase, שהוא חלבון מיטוכונדרי. החזרת התאים למדיום המכיל גלקטוז מחזירה את התאים למצב נורמלי, ומצביעה על תפקידו של SSA1 בהחדרת חלבונים למיטוכונדריה ולרטיקולום האנדופלאסמתי (3).

מחקרים נוספים עסקו באיפיון חלבונים שיש להם תפקיד בהחדרת חלבונים שונים לרטיקולום האנדופלאסמתי בריאקציות במבחנה (*in vitro*). בעזרת פראקציונציה של כלל חלבוני התא בשמרים זוהו SSA1 ו-SSA2 כבעלי תפקיד בהחדרת גורם אלפא לרטיקולום האנדופלאסמתי. החדרת חלבונים דרך קרומים תלויה באנרגיה שמספק ATP. החוקרים מניחים שאנרגיה זו דרושה לשם שמירת המבנה הנכון של החלבונים המועברים, ו-HSP70 יכול למלא תפקיד ב"יישור" החלבונים המועברים תוך כדי פירוק ATP.

## 2. חלבוני עקת-חום השייכים למשפחות אחרות

חלבוני עקת-חום משתי משפחות נוספות - HSP83-90 ו-HSP60 - ממלאים אף הם תפקידים הכרוכים בהתקשרות לחלבונים אחרים. הורמונים סטרואידיים משרים את יצירתם של חלבונים מסויימים בתא. השלב הראשון במסלול ההשראה הוא התקשרות ההורמון לחלבון מיוחד הנקרא "קולטן" (רצפטור). הקולטן נמצא בציטופלאסמה במצב לא-פעיל, כשהוא קשור ל-HSP90 ולחלבון נוסף. טיפול הורמונאלי משחרר את הקולטן מן הקומפלקס שאליו הוא קשור. מולקולת ההורמון הסטרואידי נקשרת אל הקולטן, ובצורה פעילה זו נודד הקולטן לגרעין ונקשר בו

לאזורי בקרה של גנים המופעלים על-ידי ההורמון. HSP90 משמש כחלבון "מאגר" השומר על יציבות הקולטן הלא-פעיל בציטופלסמה.

ריבולוז ביפוסאפט קארביקסולאז-אוקסיגנאז הוא החלבון הנפוץ ביותר בתאי העלה. הוא קושר פחמן דו-חמצני לסוכר בריאקציה הראשונה של קבוע-הפחמן במסלול הפוטוסינתזה. אנזים זה הוא אוליגומר הבנוי משמונה תת-יחידות גדולות ושמונה קטנות. בניית האנזים מיחידותיו תלויה בנוכחות חלבון מיוחד - ציפרונין - המסייע בצירוף היחידות האלה זו לזו. לימוד מעקובת הבסיסים של גן הציפרונין הראה שהוא דומה לגן המקודד את חלבון עקת-החום groEL מן החידק אשריכיה קולי. חלבון זה ממלא בחידק תפקידים דומים. כמו כן נתגלה במיטוכונדריה של אורגאניזמים מקבוצות סיסטמתיות שונות בן-משפחה נוסף - HSP60 - המושרה על-ידי עקת חום.

חלבוני עקת-החום הקטנים הם הקבוצה הפחות מוכרת מבין חלבוני עקת-החום, ומשקלם המולקולתי מגיע ל-15-30 קילודלטון.

חלבון נוסף המושרה על-ידי עקת-חום הוא יוביקוויטין, שהוא חלבון קצר בן 68 חומצות אמינו שהשתמר מאוד במהלך האבולוציה. ביצורים העילאיים נקשר יוביקוויטין לחלבונים המיועדים לפירוק מבוקר בתא בקשר קוואלנטי. חלבונים אלו מעוכלים על-ידי פרוטאזות מיוחדות, תוך כדי שימוש באנרגיה שמספק ATP. חלבון בעל תפקיד דומה, שהוא תוצר הגן lon, מושרה על-ידי חום בחידקים. תפקיד היוביקוויטין בתא משלים את תפקידם המשוער של חלבוני עקת-החום האחרים. מה שאין לחבוני העקה האחרים מצליחים לשמר, מועיד היוביקוויטין לפירוק ובכך נמנעת הצטברות של חלבונים לא-תקינים בתא.

### **פרק ד': בקרת הייצור של חלבוני עקת-חום בשלב התרגום**

מה מאפשר לתא לקיים סינתזה של חלבוני עקת-חום בתנאי טמפרטורה גבוהה בזמן שחלבונים אחרים אינם מסוגלים להיווצר, ולמרות שמנגנון הייצור של חלבון בתא פועל באופן תקין? במעבדותיהם של סוזן לינדקוויסט מאוניברסיטת שיקגו ושל ולטר גהרינג מבזל נמצא שמולקולות ה-rnA-השליח של חלבוני עקת-חום מכילות מעקובת בסיסים ארוכה, לפני מעקובת הבסיסים המקודדת חלבון. אזור זה מכונה "מעקובת מובילה". הרצף המוביל ברnA-השליח של חלבוני עקת-חום ארוכה מזו של mRNA של חלבונים אחרים, ופגיעה בה מורידה את רמת הסינתזה של חלבוני עקת-חום בטמפרטורה גבוהה, אבל לא בטמפרטורת גידול רגילה (6).

רכיבי התא הנחוצים לשם סינתזה של חלבון בודדו, ואפשר לקבל סינתזה של חלבון על-ידי צירופם בתנאי מבחנה. נערכה השוואה בין כושר ייצור החלבונים של מערכות סינתטיות שבודדו מתאים שהוחזקו בטמפרטורה רגילה, ובין כושר הייצור של אלה שבודדו מתאים שעברו עקת-חום. נמצא כי מערכת ייצור חלבון שבודדה מתאים



שעברו עקת-חום מסוגלת לייצר בעיקר חלבוני עקת-חום ומעט מחלבוני התא הרגילים. ישנו, כפי הנראה, גורם המושרה על-ידי חום, והוא שקובע את הייחודיות (הספציפיות) של מערכת ייצור החלבון בתא בתנאי עקה.

מנגנון בקרה מיוחד קובע את כמות חלבוני עקת-החום בתא. ייצורם נפסק לאחר שריכוזם בתא מגיע לכמות המסוימת הזאת. HSP70 מעורב ככל הנראה בתהליך הבקרה הזה. מוטאנטים של *ssa1* ושל *ssa2*, ממשפחת ה-HSP70 בשמרים, מייצרים כמות גדולה של SSA4 ושל חלבוני עקת-חום נוספים. מוטאציה בחלבון ההומולוגי של חידק הקולי גוררת אף היא ייצור עודף של חלבוני עקת-חום אחרים בחידק. ניסויים עקיפים מעידים על קיום המנגנון גם באורגאניזמים עילאיים שבהם לא אותרו מוטאציות מתאימות. המנגנון התאי המבחין בקיומה של עקת-חום ומפעיל את מערכת התגובה אינו מוכר, והעובדה שמערכות מטאבוליות ומבניות מרובות נפגעות בעת העקה מקשה על איתורו. גורמים נוספים (שאינם חום) - כגון: מחסור בחמצן, אלכוהול ורעלים שונים - משרים ביצורים שונים את ייצורם של חלבוני עקת-חום בעוצמה נמוכה מזו המושרית על-ידי טמפרטורה גבוהה. אנאלוגים של חומצות אמינו - שהם תרכובות הדומות לחומצות האמינו, ואשר מערכת סינתזת החלבון טועה בהכרתם ומשבצת אותם לתוך מולקולות חלבון, במקום חומצות האמינו הנכונות - משרים אף הם סינתזה של חלבוני עקת-חום בתנאי טמפרטורה רגילים ובצורה לא מבוקרת. חלבונים המכילים אנאלוגים של חומצות אמינו אינם פעילים בדרך כלל. השערה רווחת מציעה לקשור את השראת ייצורם של חלבוני עקת-חום להצטברות כמות גדולה של חלבונים לא-תקינים בתא.

### פרק ה': עמידות לחום

תופעה מוכרת מן הפיסיולוגיה של התגובה לעקת-חום מכונה "עמידות נרכשת לחום" (acquired thermotolerance). חשיפת אורגאניזם לעקת-חום חלשה מקשיחה אותו ומאפשרת לו להישדך בתנאי עקת-חום חזקה יותר, שבהם לא היה יכול לעמוד אלמלא נחשף לטיפול ההקשחה המקדים. חשיפת תאים לארסן, לקדמיום או לאלכוהול - הגורמים להשראת ייצורם של חלבוני עקת-חום - גורמת במקרים מסוימים גם ליצירת עמידות נרכשת לחום. ברוב המקרים לא מושגת עמידות נרכשת בתנאים שבהם לא מתקיימת סינתזה של חלבונים בתא, למשל - בנוכחות תרכובות כמו ציקלוהקסימיד המונעות ייצור חלבון. ההקשחה מושגת בתנאים שבהם החלבונים העיקריים שנוצרים בתא הם חלבוני עקת-חום. מידת העמידות הנרכשת נחלשת אם מחזיקים את האורגאניזמים שנחשפו לטיפול הקשחה בטמפרטורות רגילות, לפרק-זמן קצר, לפני חשיפתם לעקה החמורה. העמידות הנרכשת אובדת באותו פרק-זמן שבו מתפרקים חלבוני עקת-החום שנוצרו בתא במהלך ההקשחה.



הניסויים הנ"ל תומכים בהנחה שלחלבוני עקת-החום יש תפקיד בהגנה על התא מעקה. למעשה, צמחים הגדלים בשדה עוברים תהליך הקשחה כזה מדי יום במשך העונות החמות. הטמפרטורה עולה בהדרגה לפני הצהרים וגורמת לצמחים להגיע לעמידות מרבית בשעות החמות והיבשות של אחר-הצהרים. ניסוי שדה בצמחי סויה הראה שרמת הרני"א-השליח של כמה חלבוני עקת-חום עולה ברקמות הצמח בשעות הצהרים ויורדת בלילה.

טפיל הקדחת וקרוביו הם אורגאניזמים חד-תאיים המבלים חלק ממחזור חייהם בתוך חרק (כמו יתוש) שטמפרטורת הגוף שלו נמוכה, וחלק אחר מחייהם הם מבלים בגוף האדם. עם ההדבקה מייצרים תאי הטפיל חלבוני עקת-חום. ככל הנראה דרושים החלבונים האלה לתפקוד הטפיל בטמפרטורה גבוהה באופן יחסי. תאי האדם ויונקים אחרים מייצרים חלבוני עקת-חום בזמן שחומם עולה עקב מחלה. חלבוני עקת-החום מגינים על יצורים מפני עקות שונות שאליהן הם נחשפים במקומות גידולם הטבעיים, כמו למשל טמפרטורה הגבוהה ב-5-10 מ"צ מטמפרטורת הגידול הרגילה. משך הפעולה של מנגנון ההגנה מתאים לאורך חייהם של החלבונים, ודוגמות לכך הן: הגנתם של צמחים הגדלים בשדה בתנאי חמסין, שבהם הטמפרטורה יכולה לעלות במידה קיצונית לזמנים קצרים, או - פעולתם של חלבוני עקת-חום בטפילים, כמו טפיל המלריה החושף את עצמו לעקת-חום חלשה כשהוא חודר לגוף האדם. המנגנון אינו מאפשר ליצורים להחשף לטמפרטורות קיצוניות למשך תקופה ארוכה. למשל, חשיפה של חלקת שדה לחיטוי-שמש לתקופה של כמה שבועות גורמת שינויים באוכלוסיית המיקרואורגאניזמים בקרקע.

קיימים ביקום אורגאניזמים החיים במימי מעיינות גופרית וגייזרים, בטמפרטורות שבין 50 ל-70 מ"צ, ואף במעיינות חמים שבקרקעית האוקיאנוס, בתנאים של לחץ גבוה ובטמפרטורות גבוהות מ-100 מ"צ (2). תנאים כאלו שוררים בדרך כלל בסירי לחץ ובמתקני חיטוי. כל האורגאניזמים החיים בסביבות קיצוניות אלו שייכים לקבוצות חיידקים מיוחדות, הנבדלות משאר האורגאניזמים במבנה של חומצות הגרעין, של החלבונים ושל הממברנות שלהן. אורגאניזמים כאלה חייבים להיות בנויים מממברנות קשיחות מהרגיל ולהכיל אנזימים עמידים שיוכלו לתפקד בתנאים קיצוניים. דרישות אלה מגבילות את יעילותם בתנאים רגילים. חוקרי האבולוציה מניחים שחיידקים מקבוצות אלו איכלסו את כדור הארץ בתקופות גיאולוגיות קדומות, שבהן שררו בעולם תנאי אקלים קיצוניים. מעט מאוד ידוע על תגובתם של אורגאניזמים אלה לעקת-חום, ומובן שמנגנון התגובה לעקת-חום ביצורים רגילים אינו מתאים להגנה עליהם מפני טמפרטורות קיצוניות מעין אלה.

## פרק ו': שימושים חקלאיים בעקת-חום

העשייה החקלאית מנצלת את הידע שנרכש על תגובתם של גידולים חקלאיים או של מזיקים לעקת-חום, לכמה מטרות כלהלן:

א. שחרור צמחים ממחלות נגיפיות. הדבר נעשה על-ידי חשיפת צמחים לעקת-חום חלשה לאורך זמן. טמפרטורת הטיפול ומשך הזמן שלו נקבעים על-פי רגישות הגידול החקלאי, ואפשר להשתמש בהופעתם של חלבוני עקת-חום בתור סמן למצב העקה של הצמח.

ב. חיטוי-שמש של הקרקע. בחודשי הקיץ אפשר לכסות חלקת קרקע ביריעות פלסטיק ולגרום בכך להתחממות הקרקע ולחשיפת המיקרואורגאניזמים שבקרקע לעקה. החקלאי מעוניין לפגוע בפטריות קרקע מזיקות תוך כדי שמירה על חייהם של מיקרואורגאניזמים מועילים הנמצאים בשטח. חלק מן המיקרואורגאניזמים האחרים הם מתחרים ביולוגיים של הפטריות הפאתוגניות, והשמדה כוללת של חיידקי הקרקע עשויה לגרום להדבקה מהירה של השטח בפאתוגנים מיד לאחר הטיפול. רבים מן הפאתוגנים רגישים לחום יותר ממתחריהם, ואפשר לקבוע תנאים לטיפול מיטבי תוך כדי מעקב אחר תגובתם לעקת-חום של אורגאניזמים פאתוגניים ומועילים.

ג. ניסויים בייצור צמחים העמידים לחום. עקת-חום היא גורם חשוב בהפחתת יבולים, במיוחד בארצות בעלות אקלים חם. לכן מוקדש מאמץ רב לברירה של זנים העמידים לחום, וליצירת זנים כאלה בעזרת שיטות גנטיות מקובלות. האפשרות שחלבוני עקת-חום ממלאים תפקיד בהגנה על התא מפני עקה, והיכולת להחדיר גנים המקודדים חלבונים כאלה לצמחים בשיטות ההנדסה הגנטית, פותחים שטח נרחב ומרתק לשימושים חקלאיים בטכנולוגיות מדעיות חדשות.

## רשימת הספרות

1. Bienz, M. and Pelham, H.R.B. (1987) Mechanisms of heat shock gene activation in higher eukaryotes. *Adv. Genet.* 24: 31-72.
2. Brock, T. D. (1988) La vie a haute temperature. *La Recherche* 19: 476-485.
3. Deshaies, R. J., Koch, B.D., Werner-Washburne, M., Craig, E.A. and Schekman, R. (1988) A subfamily of stress proteins facilitates translocation of secretory and mitochondrial precursor polypeptides. *Nature* 332: 800-805.
4. Lindquist, S. (1986) The heat shock response. *A. Revs Biochem.* 55: 1151-1191.



5. Lindquist, S. and Craig, E.A. (1988) The heat shock proteins. *A. Revs Genet.* 22: 631-677.
6. McGarry, T.J. and Lindquist, S. (1985) The preferential translation of *Drosophila* HSP70 mRNA requires sequences in the untranslated leader. *Cell* 42: 903-911.
7. Munro, S. and Pelham, H.R.B. (1986) An hsp70-like protein in the ER. *Cell* 46: 291-300.
8. Pelham, H.R.B. (1982) A regulatory upstream promoter element in the *Drosophila* HSP70 heat shock gene. *Cell* 30: 517.
9. Ritossa, F.M. (1962) A new puffing pattern induced by heat-shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18: 571-573.
10. Tissieres, A., Mitchell, M.K. and Tracey, U.M. (1974) Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila*. *J. mol. Biol.* 84: 389-398.
11. Velazquez, J.M. and Lindquist, S. (1984) HSP70: Nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell* 36: 655-622.
12. Welch, W.J. and Feramisco, J.R. (1985) Rapid purification of mammalian 70 KD stress proteins. *Mol. Cell Biol.* 5: 1228-1237.
13. Zimmerman, J.L., Petri, W. and Meselson, M. (1983) Accumulation of a specific subset of *D. melanogaster* heat-shock mRNAs in normal development without heat shock. *Cell* 32: 1161-1170.