

A. אנליזה גנטית

גנטיקה על פי מנדל

גן: מקטע של DNA המקודד לחלבון.

הדוגמה המרכזית: DNA ← RNA ← חלבון.

דוגמא- תופעת האלביניזם (לבקות) באדם:

במצב הנורמאלי: גרעין התא מכיל את החומר התורשתי, כולל 2 עותקים תקינים של הגן המקודד לאנזים תירוזינאז. שינוי ב-DNA, מוטציה, יוביל לקבלת חלבון באורך מלא, אבל פגום. השינוי בחלבון = באתר הפעיל של האנזים, מביא לכך שהוא אינו יכול לקשור את חומר המוצא (תירוזין). האנזים הפגום אינו מייצר תוצר.

אבל, האלל השני, התקין, מביא ליצירת חלבון פעיל ומספק תוצר לקבלת פנוטיפ נורמאלי. רק במקרה שבו שני עותקי הגן פגומים (2 אללים מוטנטים) לא ייווצר חלבון פעיל ולכן גם לא ייווצר תוצר.

הערה: זהו רק מקרה פרטי מסוים. לא בכל מקרה תספיק כמות החלבון המיוצר מן האלל התקן לקבלת הפנוטיפ הנורמלי.



מנדל והאפונים:

מנדל, נזיר ומלומד בעל עניין מיוחד במדעי הטבע, החל ב-1856 בסדרת הכלאות מבוקרות בצמח אפון הגינה, בחצר המנזר שלו.

- הוא בחר בצמח נוח לגידול, בעל זמן דור קצר ומספר רב של צאצאים, שמאפשר שליטה מכוונת בהכלאות ע"י הפריה מלאכותית.

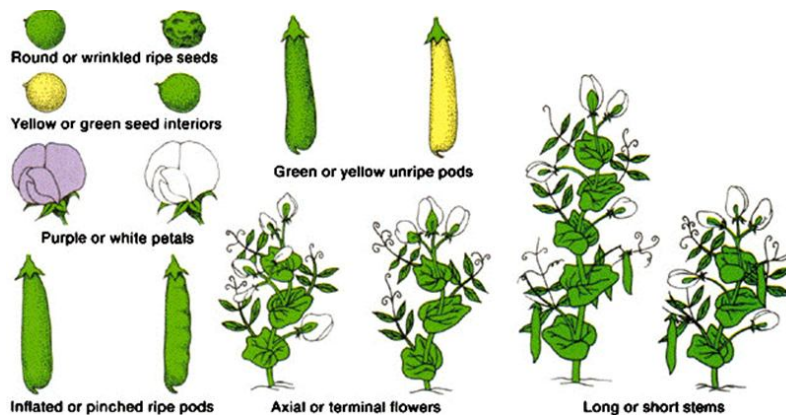
- הוא בחר לעקוב אחר תכונות ברורות וקלות לזיהוי.

- הוא ביצע אנליזה כמותית של התוצאות.

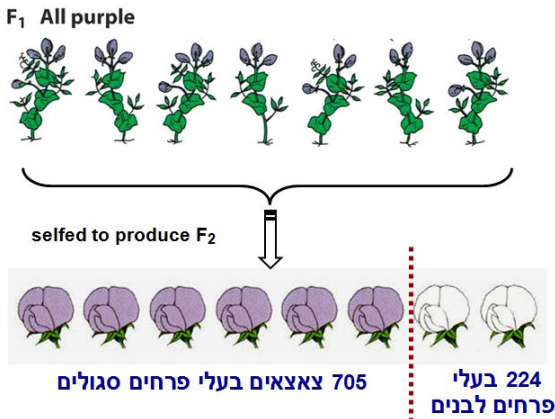
- הוא ניתח את התוצאות, הסיק מסקנות ופיתח היפותזה שאותה בחן באמצעות ניסויים נוספים.



התכונות אחריון עקב מנדל:



מנדל השיג את הזנים המתאימים מסוחר זרעים מקומיים ובשלב ההכנה למחקר- במשך שנתיים, הכליא כל אחד מהם רק עם עצמו. בכך הבטיח למעשה שהוא עובד עם זנים טהורים ויצר קו התחלה נוח לניסויים.



דוגמא להכלאה- לבן X סגול:

הפריית פרח לבן עם סגול- דור F₁: כל הפרחים סגולים.
 הפריה עצמית של דור F₁ – דור F₂: הרוב סגולים אך הופיעה מחדש התכונה פרח לבן בחלק מן הצאצאים.
 היחס המספרי בין הפנוטיפים בדור F₂ הוא קרוב ל 3:1.
מסקנה: התכונה "פרח לבן" הייתה מוכרחה להיות נוכחת בדור F₁, אך לא התבטאה פנוטיפית.
 "פרח סגול" הוא דומיננטי ביחס ל"פרח לבן" שהוא רצסיבי.

3:1

מנדל המשיך ובדק 6 זוגות נוספים של תכונות ובכולם צפה בתופעה דומה: התכונה הדומיננטית משתלטת בדור F₁ ו-F₂ התכונות מופיעות בדור F₂ ביחס מספרי של 3:1 (רצסיבי:דומיננטי).

Table 2-1 Results of All Mendel's Crosses in Which Parents Differed in One Character

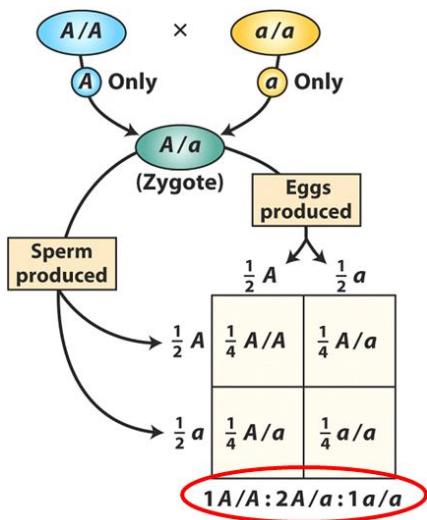
Parental phenotype	F ₁	F ₂	F ₂ ratio
1. Round × wrinkled seeds	All round	5474 round; 1850 wrinkled	2.96 : 1
2. Yellow × green seeds	All yellow	6022 yellow; 2001 green	3.01 : 1
3. Purple × white petals	All purple	705 purple; 224 white	3.15 : 1
4. Inflate × pinched pods	All inflated	882 inflated; 299 pinched	2.95 : 1
5. Green × yellow pods	All green	428 green; 152 yellow	2.82 : 1
6. Axial × terminal flowers	All axial	651 axial; 207 terminal	3.14 : 1
7. Long × short stems	All long	787 long; 277 short	2.84 : 1

התכונות שהתגלו כדומיננטיות בכל זוג

היחס המספרי בין 2 הפנוטיפים שהתגלו בדור F₂

המסקנות של מנדל:

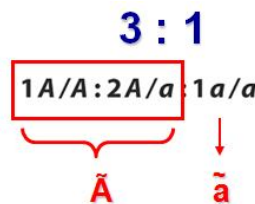
- קיימים פקטורים דיסקרטיים ("חלקיקי תורשה") הקובעים את התכונות הנראות לעין (הפנוטיפ). הם אינם מתערבבים או נמהלים במהלך ההורשה של התכונות מדור לדור.
- ה"פקטורים" (גנים) מצויים בזוגות. לצורות האלטרנטיביות של הגנים נקרא: אללים. בצמחים בוגרים האללים מצויים בזוגות, כששני האללים יכולים להיות זהים או שונים.
- שני האללים של כל תכונה נפרדים זה מזה בעת יצירת הגמטות – החוק הראשון של מנדל.



הטרוזיגוט: פרט הנושא שני אללים שונים עבור הגן הנבדק.

דוגמא כללית: הגן הנבדק הוא a/A. הפנוטיפ הנקבע ע"י האלל הדומיננטי מסומן לעיתים- \tilde{A} . הפנוטיפ הרצסיבי נראה בזן הטהור aa.

היחס המתקבל בגנוטיפים בדור F₂ הוא למעשה 1:2:1 אבל זה מיתרגם ליחס פנוטיפים.

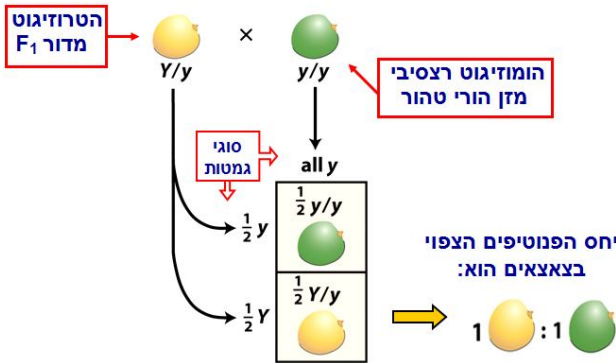


Punnet square: שיטת הריבוע הנכונה להדגמה.

גנוטיפ: מתייחס להרכב המדויק של שני עותקי הגן הנבדק.

פנוטיפ: מתייחס לביטוי החיצוני של התכונה.

הערה: אלל דומיננטי אינו בהכרח הנפוץ יותר. לדוגמא האלל הרצסיבי האחראי לצבע הירוק באפון הוא נפוץ הרבה יותר מהאלל הצהוב. כמו-כן, אלל רצסיבי אינו בהכרח "פגום".



הכלאת מבחן:

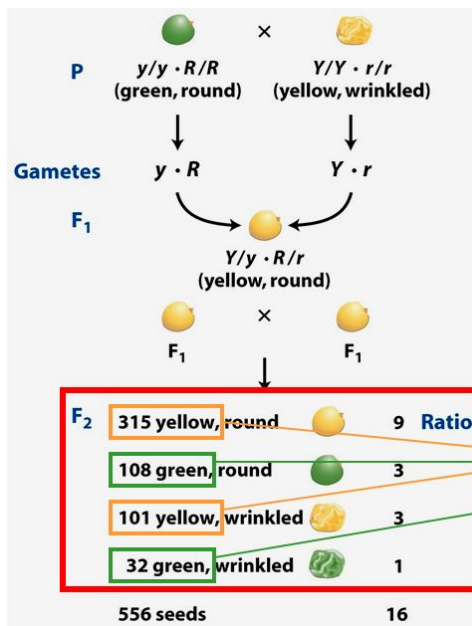
הכלאה של הטרוזיגוט מדור F₁ עם הזן ההורי הטהור yy.

זו השיטה בה השתמש מנדל לבדיקת ההיפותזה שלו.

מסקנה: התכונה הרצסיבית אכן הופיעה בגנוטיפ של דור F₁.

הכלאה דיהיברידית:

בדיקת שני זוגות של תכונות (2 גנים). האם הסגרגציה של שני האללים בגן השני תלויה בסגרגציה בגן הראשון?



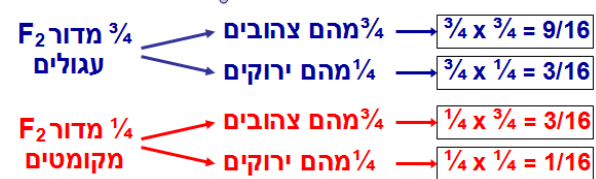
הניסוי:

תחילה היה צורך לאתר שני זנים טהורים הנבדלים ביניהם בשתי התכונות הנבדקות ולהכליא ביניהם.

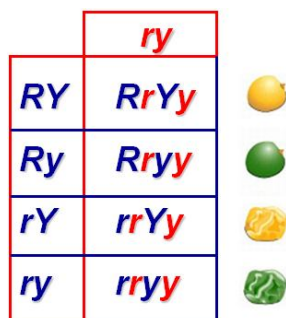
דור F₁: נוצרו הטרוזיגוטים כפולים.

דור F₂: הפריה עצמית של F₁, או הכלאה בינם לבין עצמם מובילה ל-4 סוגי פנוטיפים ביחס מספרי חדש: 9:3:3:1.

מסקנה: כל גן בפני עצמו ממשיך לשמור על היחס 3:1.



החוק השני של מנדל: היפרדות שני אללים בעת יצירת הגמטות היא בלתי תלויה בין שני גנים שונים.



הכלאת מבחן:

הכלאה של פרט מדור F₁ עם הומוזיגוט רצסיבי כפול.

יחס הפנוטיפים: 1:1:1:1.

תורשה מנדלית באדם וגנטיקה של אוכלוסיות

חוקי הסתברות בסיסיים:

$$P = \frac{\# \text{ of anticipated events}}{\text{total \# of possibilities}}$$

הסתברות: הסיכוי להתרחשות אירוע מסוים

התרחשות שני אירועים בלתי תלויים: מכפלת ההסתברויות: $P(A \text{ and } B) = P(A) \times P(B)$

התרחשות אחד משני אירועים: סכום ההסתברויות: $P(A \text{ or } B) = P(A) + P(B)$

יישום חוקי ההסתברות בהכלאות מנדליות:

הסיכוי לקבלת צאצא בעל הפנוטיפ הדומיננטי בדור F2: $P(\tilde{A}) = P(AA \text{ or } Aa) = \frac{2}{4} + \frac{1}{4} = \frac{3}{4}$
 בהכלאה די היברידיית יש מכפלת הסתברויות לחישוב השכיחות של כל פנוטיפ (בדף הקודם).

דוגמא:

בהכלאה בין שני פרטים בעלי הגנוטיפים: $AabbCcDdEe \times AaBbCcddEe$ מה הסיכוי לקבל צאצא שהוא הומוזיגוט רצסיבי בכל חמשת הגנים הנבדקים?

פיתרון: $P(aa) \times P(bb) \times P(cc) \times P(dd) \times P(ee) = \frac{1}{4} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{4} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{4} = \frac{1}{256}$

ניתוח שושלות:

ניתן בהחלט לזהות דגמי הורשה מנדליים באדם אבל קשה לעקוב אחר אופן ההורשה באוכלוסיות אנושיות בגלל מספר הצאצאים הנמוך, זמן הדור הארוך והעדר הכלאות מכוונות. הפיתרון שנמצא הינו ניתוח שושלות.

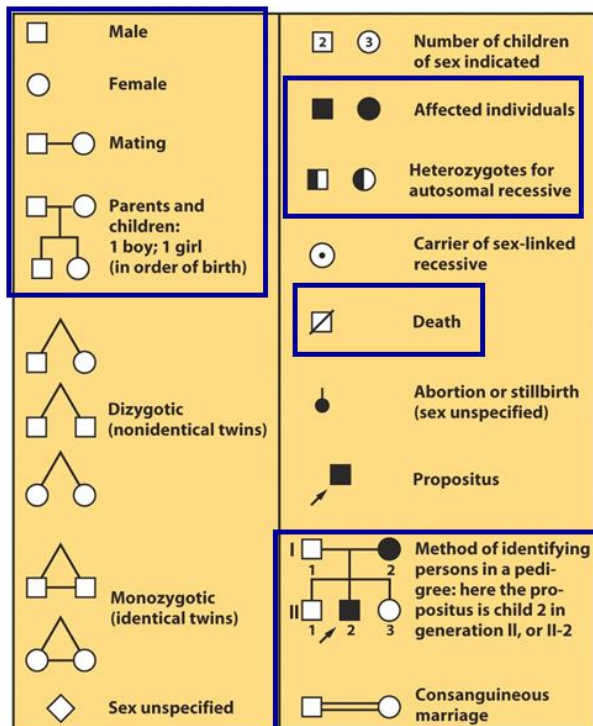
כדי להגיע למסקנות חותכות לגבי אופן ההורשה של מחלה יש בד"כ צורך לבדוק שושלות רבות.

סימונים מוסכמים בשושלות:

אוטוזום: כרומוזום שאינו כרומוזום מין.

דגם הורשה אוטוזומי: מעיד על כך שהגן המוטנטי יושב על כרומוזום שאינו מעורב בקביעת המין.

ולכן הסגרגציה של האללים תהיה בלתי תלויה במין הצאצאים.



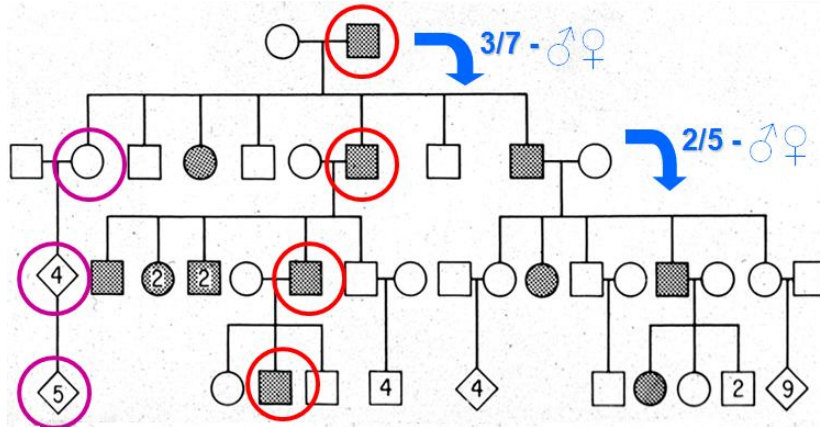
דגם הורשה של מוטציה אוטוזומית דומיננטית:

כיוון שהתכונה תהיה בד"כ נדירה מאוד באוכלוסיה הכללית,

הטיפוס הנפוץ ביותר של נישואין שבהם יופיעו צאצאים חולים יהיה: $Aa \times aa$.

תכונות דגם ההורשה:

- המחלה נדירה באוכלוסיה אך נוטה להופיע בכל דור בשושלת.
- אם ההורה חולה, כמחצית מילדיו, בנים ובנות יהיו חולים.
- ילדים בריאים אינם מורשים את התכונה לדורות הבאים.



דגם הורשה של מוטציה אוטוזומית רצסיבית:

גם כאן מניחים, ברוב הגדול של המקרים, שהתכונה נדירה מאוד באוכלוסיה הכללית.

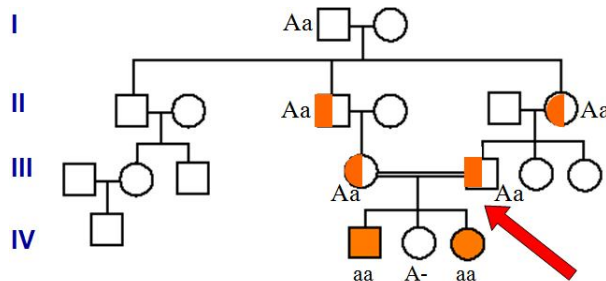
הטיפוס הנפוץ ביותר של נישואין שבהם יופיעו צאצאים חולים יהיה: $Aa \times Aa$.

תכונות דגם ההורשה:

- המחלה נוטה לדלג על דורות בשושלת: מופיעה בצאצאים אך לא בהורים, או להפך.
- היא תופיע בממוצע ב $1/4$ מילדיהם של שני הורים הטרוזיגוטים ותשפיע במידה שווה על בנים ועל בנות.

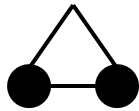
נישואי קרובים:

הופעה של תכונות אוטוזומיות רצסיביות קשורה לפעמים לנישואי קרובים.



בני הדודים האלה קיבלו את אותו אלל פגום מסבא או סבתא שלהם

מחלה נדירה: ניתן להניח שפרטים מחוץ לשושלת אינם נושאים אלל למחלה. כדי לחשב במדויק יש לדעת מהי שכיחות האלל באוכלוסיה.



תאומים זהים: מקורם של תאומים זהים הוא בביצית אחת שעברה הפריה ע"י תא זרע בודד ואח"כ הופרדה לשני עוברים. ולכן, הסיכוי ששני התאומים יהיו חולים שווה לסיכוי שאחד מהם יהיה חולה.

"מחלות מנדליות": מחלות תורשתיות שאופן ההורשה שלהם קשור בפגיעה בגן אחד (לא תמיד אוטוזומי).

פולימורפיזמים: אללים שאינם קשורים במחלות. (למשל היכולת לטעום PTC, שם היכולת לטעום היא תכונה רצסיבית וזוהו דווקא האלל הדומיננטי באוכלוסיה).

גונדות: בלוטות מין (שחלה, אשך).

גמטות: תאי מין (תא זרע, תא ביצה).

זיגוטה: ביצה מופרית.

חוק הרדי ויינברג:

מהם הכוחות המשפיעים על השכיחות של 2 האללים של "גן מנדלי" באוכלוסיה? החוק מסביר איך יכול להיווצר שיווי-משקל יציב באוכלוסיה גדולה. כמו בכל מודל, מדובר בהפשטה של מציאות הרבה יותר מורכבת. שכיחות האלל הדומיננטי: $p = frequency(A)$. שכיחות האלל הרצסיבי: $q = frequency(a)$.

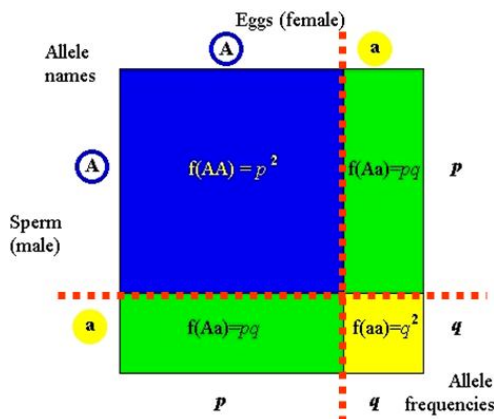
$$p + q = 1$$

דוגמא: $p = 0.6, q = 0.4$. הסיכוי שתא זרע בעל גנוטיפ A יפגוש ביצית בעלת גנוטיפ A היא מכפלת השכיחויות: $0.6 \times 0.6 = 0.36$ וזוהי שכיחות הזיגוטות בעלות גנוטיפ AA באוכלוסיה.

ובסה"כ 4 סוגי מפגשים ייצרו את הגנוטיפים בדור הבא:

Egg	Sperm	Zygote	Probability
A	A	AA	$0.6 \times 0.6 = 0.36$
A	a	Aa	$0.6 \times 0.4 = 0.24$
a	A	aA	$0.4 \times 0.6 = 0.24$
a	a	aa	$0.4 \times 0.4 = 0.16$

} שכיחות נשאים (Aa)



ניתן להציג את אותם מפגשי גמטות בצורה של Punnet square מיוחד, הלוקח בחשבון את שכיחות האללים ומכאן שכיחות הגנוטיפים בדור הבא: $p^2 + 2pq + q^2$

המשמעות: באוכלוסייה גדולה מאוד, מספיק דור אחד של זיווגים אקראיים כדי לקבל את שכיחויות האללים והגנוטיפים. האוכלוסייה נמצאת עכשיו בשיווי-משקל גנטי ולמעשה, במצב סטטי.

דוגמא: שכיחות החולים באוכלוסיה היא 1:2000 אז: $q^2 = 0.0005 \rightarrow q = \sqrt{0.0005} = 0.022$
 $p = 1 - 0.022 = 0.978$. לפי נתונים אלה, שכיחות הטרוזיגוטים: $2 \cdot 0.978 \cdot 0.022 = 0.043$ כלומר 4.3% מהאוכלוסיה הם נשאים.

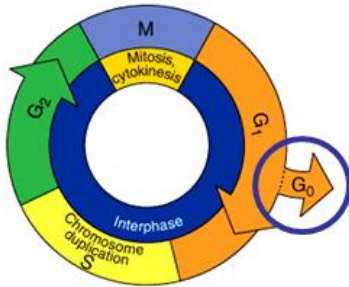
הסיכוי של בני זוג בריאים להוליד ילד חולה היא: $2pq \cdot 2pq \cdot \frac{1}{4}$.

זהו למעשה אומדן מקורב, אנו מזניחים את הביטוי המלא: $\frac{2pq}{(p^2 + 2pq)} \cong \frac{2pq}{\sim 1}$

מחלות רצסיביות בהן הפרט החולה לא מגיע לבגרות מינית ולא מעמיד צאצאים: האלל הרצסיבי לא יעלם. שכיחותו צפויה לרדת תחילה בקצב גבוה, אבל אח"כ להתייצב בהדרגה. היא תישמר ברמה נמוכה וקבועה לאורך דורות רבים, בגלל קיומו של האלל בהטרוזיגוטים.

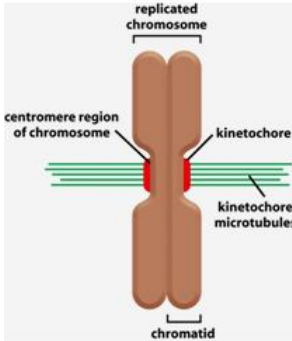
כרומוזומים, חלוקות תא והקשר שלהם למנדל

מחזור התא:



אינטרפאזה: מאגדת את כל שלבי מחזור התא מלבד המיטוזה, ובה הכרומטין פחות דחוס ולכן לא ניתן להבחין בכרומוזומים בודדים. רוב התאים בגוף אינם נמצאים במצב של מחזור תא פעיל ורציף. במקום זאת, הם נמצאים במצב של המתנה: G₀.

שלב ה-S: כולל הכפלה מדויקת של החומר התורשתי (ע"י שכפול סמי-קונסרבטיבי של ה-DNA), מתרחש בזמן שאי-אפשר להבחין בכרומוזומים.

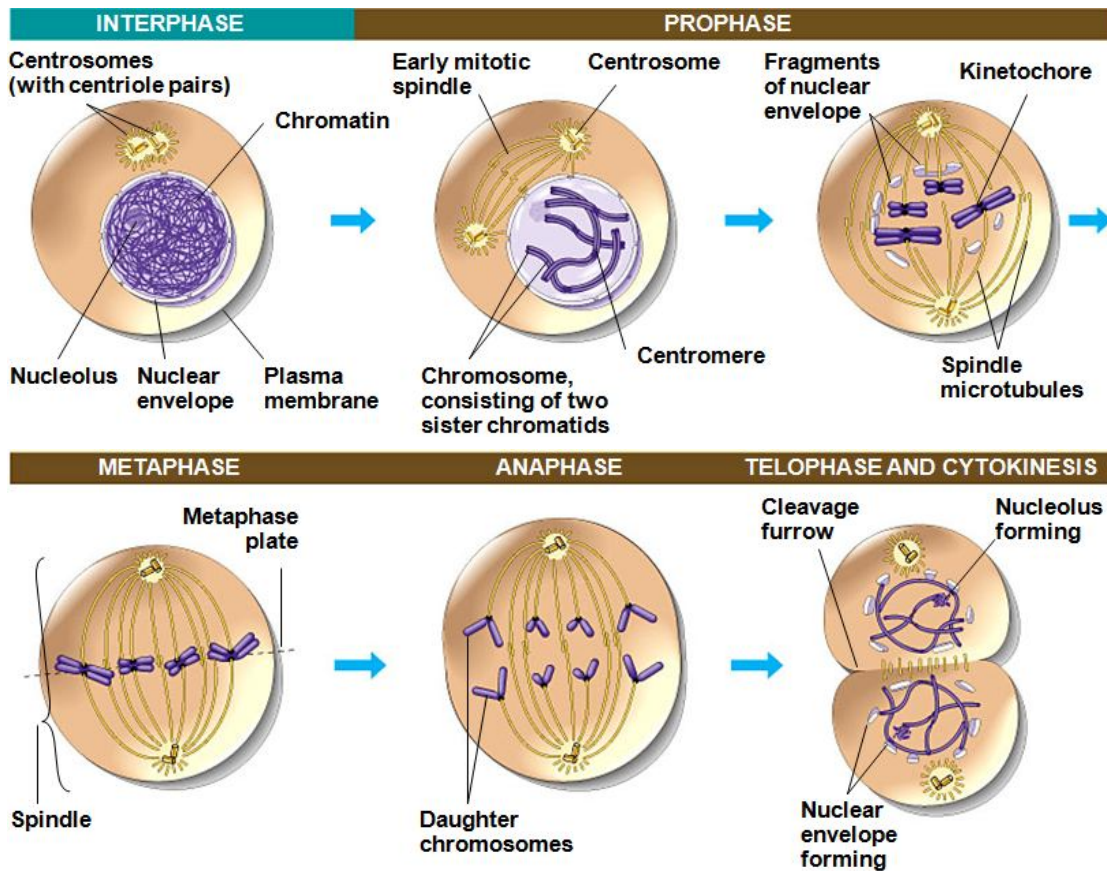


כרומטידות אחיות: תוצאה של ההכפלה והן מכילות מידע גנטי זהה. כל אחת מהן מורכבת ממולקולה אחת ארוכה מאוד של DNA (סליל כפול אחד).

צנטרומר: האזור בו שתי הכרומטידות אחיות אחוזות ביחד. עשרות רבות של חלבונים קשורים לתהליך. יש לו שני צדדים: קינטוכורים, והוא יכול להיות באמצע הכרומטידות או אפילו ממש בצד שלהן.

מיקרוטוביולס: סיבים שיש להם כיוונית, צד של + וצד של -.

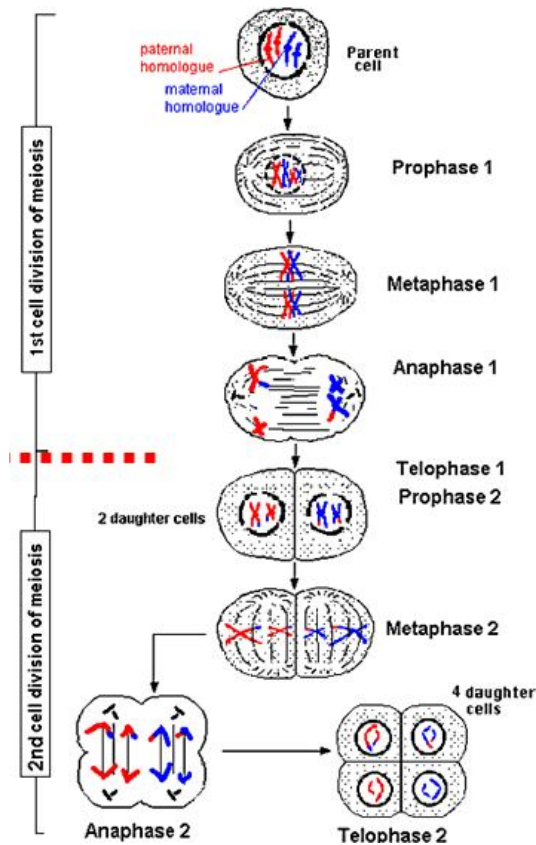
מיטוזה:



מיזזה:

תהליך המיזזה מביא ליצירת הגמטות ותפקידו להפחית את כמות המטען הגנטי לחצי. הוא כולל שתי חלוקות תאים עוקבות ללא הכפלת ה-DNA ביניהן.

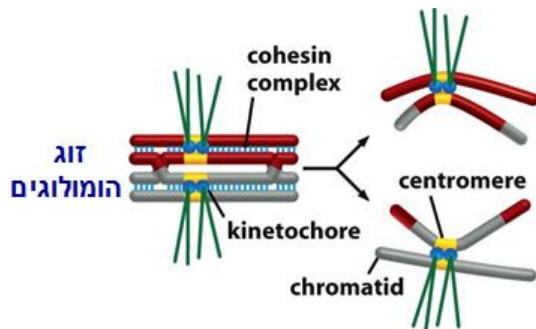
התאים שעוברים מיזזה הם אינם גמטות. גם תוצרי המיזזה הם אינם גמטות. יש צורך בתהליך התמיינות נוסף ובד"כ אחד מכל ארבעה תאים הופך לגמטה וה-3 האחרים מתנוונים.



הבדלים עיקריים בין שתי חלוקות המיזזה:

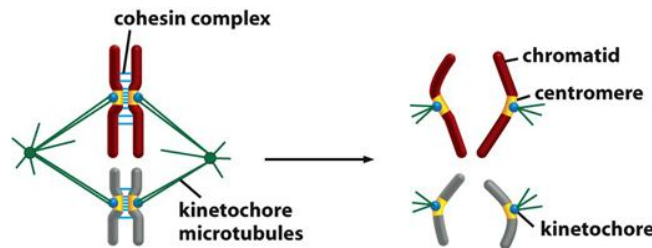
החלוקה הראשונה – חלוקת הפתחה: כרומוזומים הומוולוגים עוברים זיווג (במיטוזה כרומוזומים הומוולוגים אינם מתקרבים אחד לשני), ובאנפזה הם נפרדים זה מזה. כרומוטידות אחיות נשארות דבוקות זו לזו באזור הצנטרומר, ולכן אינן נפרדות. בסוף החלוקה הראשונה, ירד מספר הכרומוזומים בכל תא לחצי, אך הם עדיין כפולים.

קוהזין: החלבונים שמחזיקים את הכרומוזומים ההומוולוגים ביחד.



החלוקה השנייה – החלוקה המשווה:

כרומוטידות אחיות נפרדות, כמו במיטוזה.



התיאוריה הכרומוזמלית של התורשה

התיאוריה הכרומוזמית של Sutton-Boveri:

הזיווג של הכרומוזומים ההומולוגיים במהלך חלוקת המיטוזה מהווה את הבסיס הפיזי לחוקי התורשה של מנדל, כלומר, הגנים של מנדל נמצאים באופן פיזי על הכרומוזומים. שני האללים של גן מנדלי נמצאים על כרומוזומים הומולוגיים בתאי צור דיפלואידים.

שני האללים עוברים סגרגציה עם הפרדות הכרומוזומים ההומולוגיים במיזוג-1. כל זוג של הומולוגים מסתדר במישור וכל הומולוג נמשך לקוטב אחד (בהסתברות יגיע ב-50% מהמקרים לקוטב אחד וב-50% לקוטב השני). הקוטב אליו הולך ההומולוג משפיע על השונות הגנטית. הפרדה בין זוג הומולוגים אחד בלתי תלוי בהפרדות הומולוגים אחרים, כלומר: 2^{23} אפשרויות הפרדה. ולכן גנים שיושבים על כרומוזומים שונים מתפלגים באופן בלתי תלוי.

הניסויים של מורגן:

מורגן פקפק בתיאוריה הכרומוזמית שהתבססה לדבריו על קיומם של "פקטורים או כוחות בלתי נראים". הוא החל להרבות יצור מעבדה חדש: **זבובי דרוזופילה**.



מורגן ותלמידיו השקיעו כמעט שנתיים בחיפוש אחר "מוטנטים"- זבובים שהפנוטיפ שלהם יחרוג בצורה מובהקת מהפנוטיפ הנורמלי. יום אחד התגלה באחד מבקבוקי השטיפה זבוב בוגר בעל עיניים לבנות.

F ₂		Male gametes	
		w ⁺	w
Female gametes	w ⁺	$\frac{1}{2}$ w ⁺ w ⁺ (Red female)	$\frac{1}{2}$ w ⁺ w (Red female)
	w	$\frac{1}{2}$ w w ⁺ (Red female)	$\frac{1}{2}$ w w (White male)

המוטנט זווג עם מספר נקבות בעלות עיניים אדומות וכל הצאצאים בדור הראשון היו אדומי עיניים. בשלב הבא זווגו צאצאים מהדור הראשון ביניהם. בדור הבא כרבע היו לבני עיניים וכולם היו זכרים.

המסקנה של מורגן: הגן הקובע את צבע העין נמצא פיזית על כרומוזום ה-X. הזכרים שמראים את הפנוטיפ עין לבנה עושים זאת מכיוון שהם נושאים אלל מוטנטי שאינו ממוסך ע"י אלל נורמלי.

מצב המיזוגוטי: מצב של גן על כרומוזום X יחיד, המי-חצי מנה.

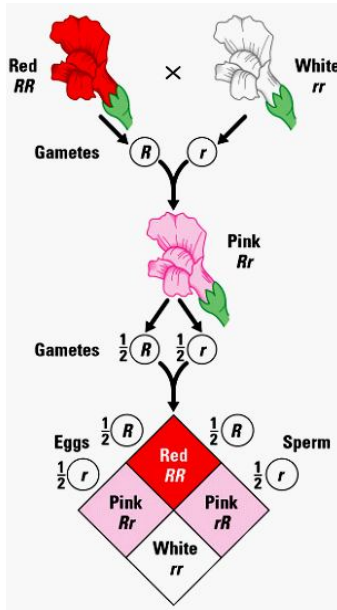
כרומוזומי מין: ברוב המקרים (כל היונקים ומרבית החרקים), כרומוזום שלא תמיד היה לו בן-זוג היה X כאשר הדגם הקובע הוא: נקבה = XX, זכר = X0 או XY (X0-כרומוזום X לא מזווג, בלי כרומוזום Y).

מורגן ותלמידיו זיהו את **התאחיזה למין**, צורת הורשה המתאפיינת בהבדלים בביטוי הפנוטיפ המוטנטי בין זכרים לנקבות, ובכך שהכלאות רציפרוקליות אינן מובילות לתוצאות זהות.

הגן white בזבובים היה דוגמא ראשונה **לחריגה מחוקי מנדל** (שינוי בהתפלגות הפנוטיפים עקב התאחיזה למין).

דגם הורשה "בזיג-זג" – רצסיבי אחוז ב-X:

- גברים חולים יורשים את האלל המוטנטי מאם נשאית.
- אין העברה מאב לבנו. כל הבנות של חולה יהיו נשאיות.
- נשים חולות הן הרבה יותר נדירות מגברים והן ירשו את התכונה מאב חולה ואם נשאית.



דומיננטיות חלקית: ההטרוזיגוט הוא בעל פנוטיפ ייחודי- מצב ביניים של זני ההורים הטהורים.

לכן, פנוטיפ הביניים יופיע כבר בדור F1 של הכלאה, ובדור F2 יתקבלו שלושת הפנוטיפים ביחס של 1:2:1.

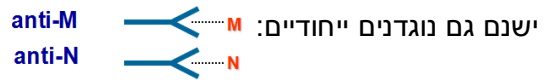
קודומיננטיות: הגדרה דומה, אך שונה. הטרוזיגוט שמבטא **באופן שווה** את ההשפעות הפנוטיפיות של שני האללים.

דוגמא: קבוצת הדם באדם.

קבוצות הדם M ו-N:

גן אחד בעל שני אללים, המראים יחס של קודומיננטיות. הגן מקודד לגליקופורטאין- חלבון אליו מצמידים שיירים סוכריים- הנמצא על-פני השטח של כדוריות דם אדומות.

קיימים שני טיפוסים של החלבון (M,N). אנשים שהם הטרוזיגוטים לגן מבטאים את שני הטיפוסים על פני כדוריות הדם שלהם.



- נוגדני anti-M יגרמו לאגלוטינציה בדגימות דם של אנשים בעלי הגנוטיפ MM או MN.
- נוגדני anti-N יגרמו לאגלוטינציה בדגימות דם של אנשים בעלי הגנוטיפ NN או MN.

קבוצות הדם A,B,O:

מבחינה גנטית יש כאן גם יחסים של **דומיננטיות מלאה** וגם **קודומיננטיות** בנוסף למצב של אללים מרובים בגן אחד. ישנם 4 סוגי דם בקבוצה: A,B,AB,O- אלה הם הפנוטיפים.

פנוטיפ (סוג הדם)	גנוטיפ	דומיננטיות
A	$I^A i$ או $I^A I^A$	דומיננטי על i
B	$I^B i$ או $I^B I^B$	דומיננטי על i
AB	$I^A I^B$	קודומיננטים
O	ii	

הבסיס הגנטי: ישנם 3 אללים שונים של אותו גן, האחראי להוספה של שרשראות סוכריות מסוימות על-פני השטח של כדוריות הדם. I^A ו- I^B גורמים להוספה של סוכרים **שונים**, בעוד ש- ii אינו פעיל ולכן אין הוספת סוכרים.

אנטיגנים: מולקולות המעוררות את התגובה החיסונית.

המערכת החיסונית מזהה את המולקולות שעל פני תאי הדם כ"עצמי" ולכן לא מפתחת כנגדם נוגדנים. כך למשל, באדם בעל סוג דם A לא יהיו נוגדנים מטיפוס anti-A אבל יהיו לו נוגדני anti-B.

לכן, מנקודת מבט רפואית, יש לבדוק את הפנוטיפ משתי בחינות:

Blood Type (genotype)	Type A	Type B	Type AB	Type O
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	A	B	A, B	
Plasma Antibodies (phenotype)	b, b	a, a	NONE	a, b

1. סוג האנטיגן המוצג על פני תאי הדם.

2. סוג הנוגדנים המצויים בנוזל הדם.

בעירו דם, החשיבות המכרעת היא למנוע מצב בו יותקפו כדוריות הדם של התורם ע"י הנוגדנים בדמו של החולה. לכן O מכונה "התורם האוניברסאלי" בעוד ש-AB מסוגל לקבל עירו מכולם אך תורם רק לעצמו.

תאחיזה למין ואינאקטיבציה של כרומוזום X ביונקים

גנים שונים על אותו כרומוזום:

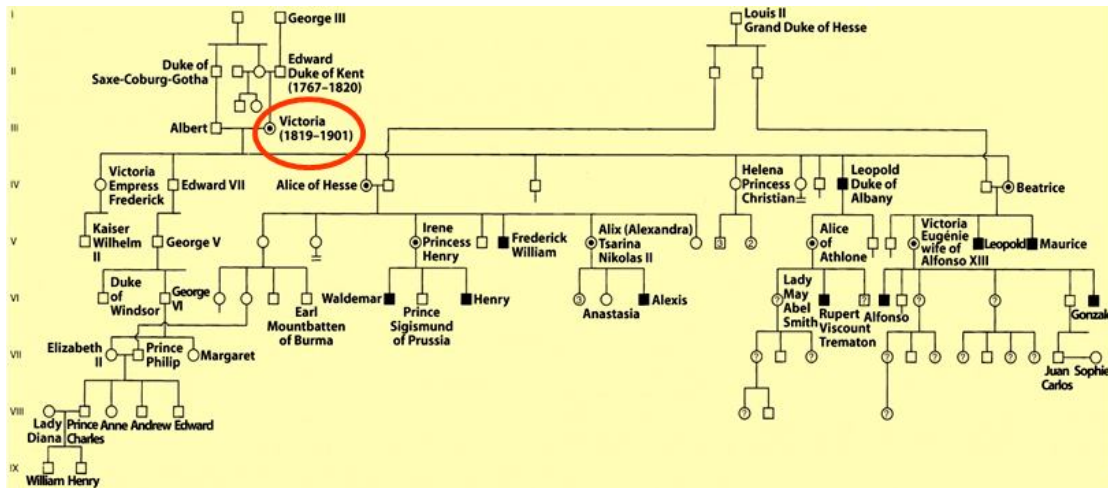
ישנן הרבה יותר תכונות תורשתיות מאשר זוגות כרומוזומים, אך החוק השני של מנדל דורש ששתי תכונות נפרדות יעברו סגרגציה בלתי תלויה, אז איך מתנהגים שני גנים שיושבים על אותו כרומוזום? תחילה עם הזיהוי של כרומוזומי מין, הייתה נטייה לחשוב שהם יישאו תכונות הקשורות במין אך הסתבר שגם תכונות "רגילות" כמו צבע הגוף והעין אחוזות לכרומוזום X.

עיוורון צבעים אדום-ירוק:

נפוץ בגברים, נדיר הרבה יותר בנשים. מדובר ב-2 גנים על כרומוזום X המשפיעים על נוכחות הפיגמנטים בקולטני הצבע ברשתית העין.

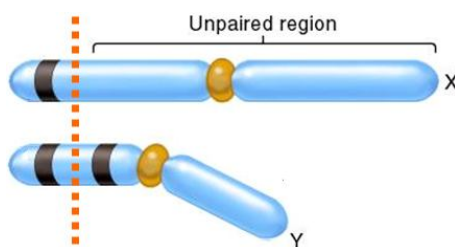
המופיליה בשושלת מלוכה באירופה:

ניתן להסיק מהשושלת שהמלכה ויקטוריה הייתה נשאת ונראה שהמוטציה התרחשה בגונדות של מישהו בדור ההורים או הסבים שלה.



כרומוזומי המין באדם:

כרומוזום X גדול יותר ומכיל הרבה גנים ואילו כרומוזום Y קטן ומכיל מעט גנים. ישנו אזור קטן בקצה



הכרומוזומים X ו-Y שהוא הומולוגי ומבטיח את הזיווג (ולכן גם את ההפרדה הנכונה) שלהם במיזוג 1. האזור הלא מזווג של X מכיל גנים רבים הקובעים תכונות רבות (רובן לא קשורות למין). האזור הלא מזווג של Y מכיל גנים מועטים שרובם ככולם קשורים להתפתחות המינית הזכרית. אין כמעט עדויות לגנים הייחודיים לכרומוזום Y ושאינם קשורים להתפתחות המינית הזכרית.

דגם הורשה של מוטציה דומיננטית אחוזה ב-X:

- אב חולה מוריש את המחלה לכל בנותיו.
- אין העברה מאב לבנו.
- אם חולה מורישה את המחלה ל-כמחצית מבניה ובנותיה.

הערה: בשושלת בודדת, אם אין גבר חולה המוליד ילדים- לא ניתן להבחין בין אופן הורשה זה לדומיננטי אוטוזומי.

דגם תורשה בתאחיזה לכרומוזום Y:

המאפיין הבולט הוא, כמובן, הורשה מאב לבנו בלבד.

קביעת המין:

באדם: נוכחות כרומוזום Y תקין קובעת זכריות.

בדרוזופילה: מגנון שונה לקביעת המין –

מנגנון XO:

קביעת המין ברמת הכרומוזומים נעשית ע"פ היחס המספרי בין ה-X לאוטוזומים:

- שני סטים של אוטוזומים + שני כרומוזומי X ← נקבה.

- שני סטים של אוטוזומים + כרומוזום X אחד ← זכר.

הערה: כאן נוכחות או היעדרות של כרומוזום Y אינה משפיעה על מינו של הפרט.

מערכת קביעת מין נוספת-ZW:

נפוצה בעופות, בזוחלים שונים וברפרפים.

הנקבה היא המין ההטרזיגוטי, כלומר: הנקבה היא: ZW והזכר הוא: ZZ.

לא ברור אם כרומוזום W הוא הכרחי ומספיק כדי לקבוע נקביות.

מנגנונים נוספים לקביעת המין:

- בחרקים חברתיים (דבורים, צרעות, נמלים), הזכרים הם הפלואידיים והנקבות דיפלואידיות.
- ע"י תנאי הסביבה: במיני זוחלים שונים, טמפ' הסביבה בתקופת ההדגרה של הביצים קובעת את מינם של הצאצאים.

קביעת המין בצמחים:

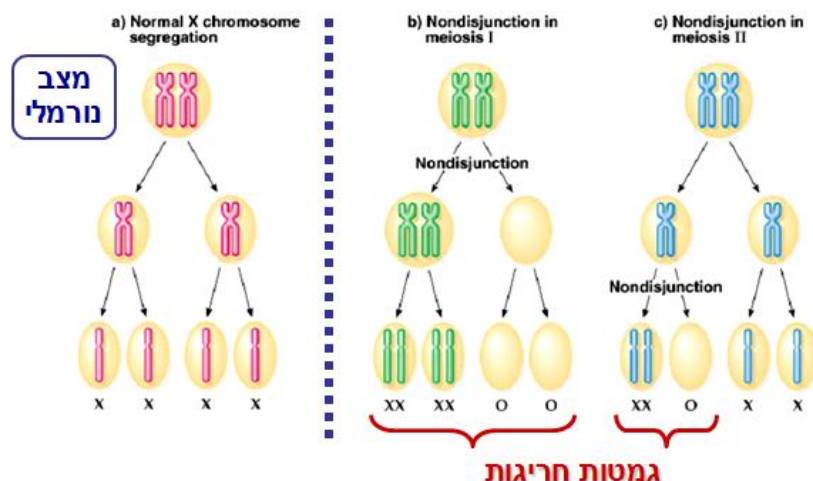
כ-95% ממיני הצמחים הם הרמפרודיטים, כלומר מכילים אברי רבייה זכריים ונקביים גם יחד. בחלקם האיברים מצויים באותו הפרח (כמו באפונה). במקרים אחרים, פרחי זכר ופרחי נקבה נמצאים על אותו צמח.

רק כ-5% ממיני הצמחים הם דו-ביתיים, כלומר: יש בהם צמח זכר וצמח נקבה נפרדים. לחלק מאלה יש כרומוזומי מין מזוהים, ולעיתים קרובות, מערכת XY דומה לזו של היונקים.

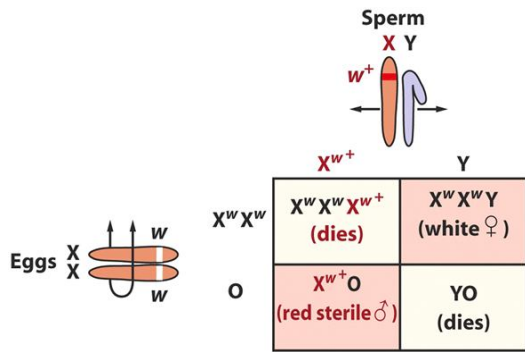
תקלות בהפרדה במיזזה – Non disjunction:

1. אי הפרדה של שני כרומוזומי ה-X ההומולוגים במיזזה-1.

2. אי הפרדה של שתי הכרומוטידות האחיות של X במיזזה-2.



בדרוזופילה: הגמטות החריגות יעברו הפריה ע"י תאי זרע נורמאליים ולכן יוכלו להיווצר 4 צירופים שונים של כרומוזומי המין בזיגוטות.



YO - לא שורד כי אין לו גנים חשובים שמצויים על X.

XXX - בתצפיות ראשונות לא מצאו כלל נקבות כאלה.

XO - זכר עם עיניים אדומות. הוא עקר כי Y דרוש לפוריות.

XXY - נקבה פורייה עם עיניים לבנות.

Y לא קובע זכריות כי XXY זו נקבה.

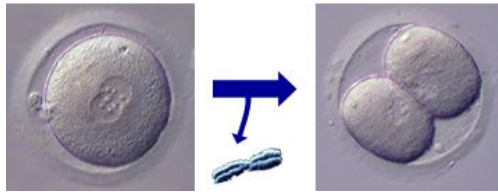
dosage compensation

איך יכול הזכר לשרוד עם מנה אחת של כל אותם גנים בשעה שהנקבה נושאת שתי מנות?

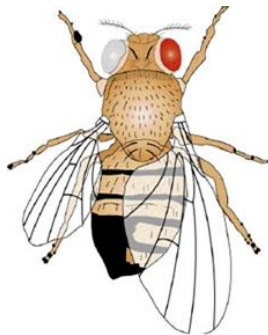
בדרוזופילה: הפיתרון הוא תעתוק בקצב גבוה פי-2 מגן המצוי על כרומוזום ה-X הבודד של הזכר, ביחס לאותו הגן בזוג הכרומוזומים של הנקבה.

אובדן של כרומוזום X אחד:

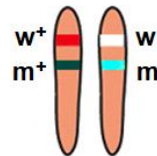
יכול לקרות אובדן של כרומוזום X אחד במהלך חלוקת התלמה הראשונה של העובר.



מה שקובע את התוצאה הסופית מבחינת ציר החלוקה של גוף הזבוב הבוגר הוא: זווית המיקום המדויקת של הכישור המיטוטי בחלוקה הראשונה. במקרה זה כישור המיטוזה הראשונה התארגן כך שתא אחד יצר את החלק הימני והתא השני יצר את החלק השמאלי.



יכול להיווצר טיפוס מיוחד של **מוזאיקה** - החצי הימני של הזבוב הזה בעל מאפיינים של נקבה והחצי השמאלי בעל מאפיינים בולטים של זכר, בתוספת ביטוי אללים רצסיביים היושבים על כרומוזום X היחיד של חלק זה (עין לבנה וכנף מיניאטורית).



אינאקטיבציה של כרומוזום X:

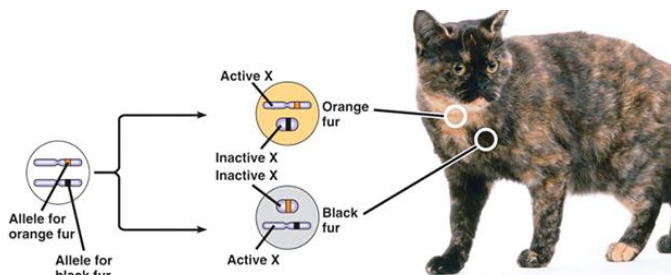
זה הינו הפיתרון של היונקים לבעית המינון.

גופיף בר - כתם של כרומטין דחוס בגרעיני תאים המצויים באינטרפאזה, הנצפה רק בנקבות.

בכל תא מתאי הגוף של נקבות יונקים, עובר אחד מכרומוזומי ה-X אינאקטיבציה, כלומר: השתקה של ביטוי הגנים, המתבטאת בהפיכת אותו כרומוזום לגופיף דחוס מאוד של כרומטין. ההשתקה הזו מתרחשת בשלב עוברי מוקדם מאוד, באופן אקראי והיא בלתי הפיכה. וכך מתקבלות קבוצות של תאים, בכל אחד X אחר מושתק וכל תאי הבת שלו ימשיכו להשתיק את אותו הכרומוזום.

במקרה של צבע הפרווה האללים הם:
O = orange
o = black

נדידה של התאים והמשך חלוקות יוצרים מצב של מוזאיקה, עם דגם לא מסודר של כתמי פרווה.



B. מיפוי גנטי

תאחיזה, רקומבינציה ומיפוי גנטי

תאחיזה: אם שני גנים מצויים על גבי אותו כרומוזום, יש ביניהם קשר פסי רציף ולכן הם יעברו ביחד לגמטות ולדור הבא.

רקומביננטים: טיפוס פנוטיפים נדירים השונים מהקומבינציות המקוריות של הכרומוזומים ההוריים.

שחלוף – chromosome recombination – crossing over

תהליך פסי של החלפת מידע בין כרומוזומים הומולוגים בפרופאזה של מיזזה-1. מדובר בתהליך של שבירה ואיחוי מחדש. השבירה אינה סתם אקראית, היא קורית באותו מקום בדיוק בשני כרומוזומים הומולוגים.

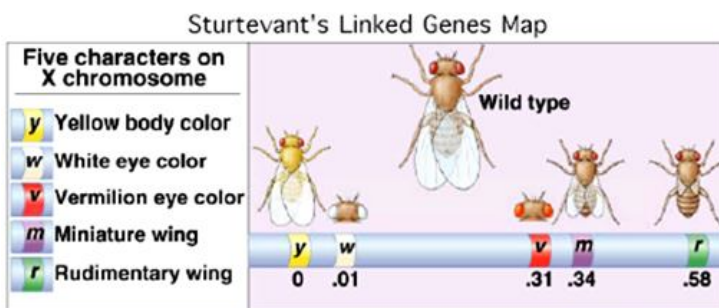
הסתברות לשחלוף: שכיחות אירועי הרקומבינציה נמצאת ביחס ישר למרחק בין שני הגנים הנבדקים. הנחה נוספת: המרחקים בין הגנים הם קבועים.

הכלאה של שני גנים בתאחיזה:
הנקבה מייצרת 4 סוגי גמטות, 2 זכריות ו-2 רקומביננטיות.



	נקבות	זכרים	פנוטיפ	Genotypes
63.1% הוריים	439	352	עין אדומה כנף גדולה	$w^+ m^+ / w m$
	359	391	עין לבנה כנף מיניאטורית	$w m / w^+ m^+$
36.9%	235	210	עין אדומה כנף מיניאטורית	$w^+ m / w m^+$
	218	237	עין לבנה כנף גדולה	$w m^+ / w^+ m$

עלה הרעיון להשתמש באחוזי הרקומבינציה כמדד למרחק בין גנים שונים על אותו כרומוזום.



המפה הגנטית הראשונה:

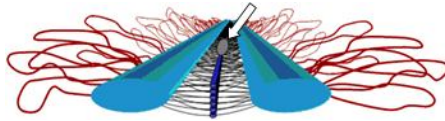
המרחקים במפה הגנטית היו רק יחסיים, ולא ניתן היה לקבוע נקודת ציון פיזית על הכרומוזום.

1% רקומבינציה = map unit 1
שם נוסף ליח' מידה: centi-Morgan.

הערה: בבדיקה של שני סמנים גנטיים, % הרקומבינציה אף-פעם לא עובר את ה-50%. ככל שגנים יותר רחוקים פיזית, הם מתקרבים למצב של גנים מנדליים היושבים על שני כרומוזומים שונים. במצב של גנים מנדליים, קיימת הסתברות של 50% לשני אללים ללכת האחד עם השני. במרחק גדול: ייתכן שחלק מהשחלופים יחזירו חזרה למצב ההורי.

תהליך השחלוף:

המנגנון של חיפוש והתאמה של רצפי DNA בין ההומולוגים. זיווג מתמשך לאורך ליצירת **Bivalent**: זוג כרומוזומים הומולוגים מזווגים. השחלוף הפיסי מתרחש במספר נקודות בודדות ב-Bivalent. כל אירוע שחלוף כולל חיתוך ואיחוי מחדש בנקודות מקבילות בשתי מולקולות של DNA דו-גדילי.



Synaptonemal complex: קומפלקס חלבוני גדול הנבנה בחלק הראשון של פרופאזה 1, ומתווך את הזיווג בין הכרומוזומים ההומולוגים. הקומפלקס דואג לכך שהשחלוף יקרה בין שתי כרומטידות לא אחיות. תמיד שתיים יהיו מעורבות בשחלוף והשתיים האחרות לא. מספר שחלופים יכולים להתרחש לאורך אותו ביוולנט כך שכל 4 הכרומטידות עשויות להיות מעורבות.

chiasmata: הנקודות בביוולנט בהן אירעו שחלופים (chiasma ביחיד).

הערות:

– הדרך היחידה בגנטיקה הקלאסית לזהות שחלופים ותוצרי מיזזה שונים היא ע"י סמנים גנטיים בעלי פנוטיפים ברורים שניתן לראות בעין.



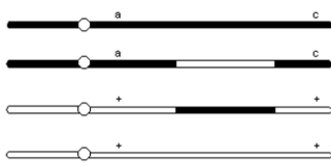
– בהטרוזיגוטים כפולים המשמשים למיפוי, יתכנו שני מצבים שונים מבחינת האללים, אבל בשניהם צפוי להתקבל אותו אחוז רקומבינציה.

שחלוף בדרוזופילה- רק בנקבות:

תופעה יוצאת דופן: רקומבינציה מתרחשת רק בעת יצירת הגמטות הנקביות ולא במיזזה של הזכר.

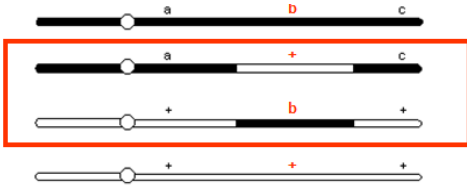
כלי המיפוי The 3 points cross: במידה ונתונות תוצאות הכלאות בלבד, מוצאים מהם הטיפוסים ההוריים, שבדרך כלל מהווים את רוב התוצאות. התוצאות הקטנות ביותר הינן התוצאה של השחלוף הכפול (כלומר התבצעו שני שחלופים) ולפי זה ניתן לקבוע את הסדר הנכון של הגנים. כדי לחשב את שיעור הרקומבינציה סוכמים את מספר הצאצאים שבהם התרחשו השינויים ומחלקים בסך הכל. במידה ומחשבים את המרחק בין שני הקטעים המרוחקים, מחשבים את מספר הפעמים שהתרחש שחלוף כפול פעמיים.

מיפוי גנטי במרוצת הדורות



שחלופים מרובים, בין גנים רחוקים למשל, יובילו לאומדן מרחק גנטי שהוא נמוך מן המרחק הממשי עקב חזרה לפנוטיפ ההורי.

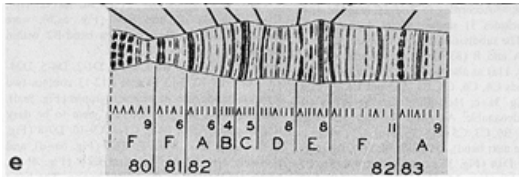
מרחקי המפה המדויקים ביותר מתקבלים ע"י צירוף של מספר מדידות של מרווחים קצרים (<math><10\text{ cM}</math>) בין גנים.



ברגע שיש עוד סמן בין שני הגנים הרחוקים, כן ניתן יהיה לראות את תוצאת השחלוף הכפול.

כרומוזמים פוליטנים:

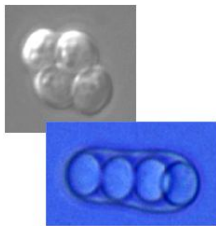
המיפויים הגנטיים הראשונים נתנו את סדר הגנים ומרחקי המפה היחסיים ביניהם, אבל ללא נקודת ייחוס ברורה על הכרומוזום. השינוי המשמעותי הראשון למצב הזה היה ב-1933 כאשר גילו מחדש את הכרומוזומים הפוליטנים בבלוטות הרוק של מספר משפחות של חרקים. הכרומוזומים הפוליטנים הם תוצאה של 10 הכפלות חוזרות של ה-DNA ללא חלוקות תא, כאשר כל מולקולות ה-DNA נשארות מסודרות במקביל זו לזו ורמות דחיסה שונות של הכרומטין לאורך הכרומוזום יוצרות פסים בהירים וכהים.



דגם הפספוס הייחודי הזה איפשר קבלת מפה פיסית מדויקת שעליה ניתן היה למקם את כל אחד מהגנים שמופו בשיטות הקלאסיות.

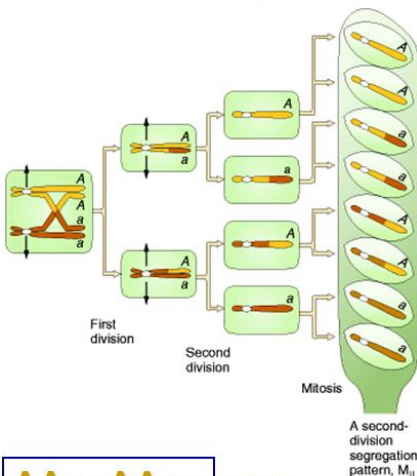
גילו שיש קשר בין רמת הדחיסה של הכרומטין ובין רמת השעתוק ובעקבותיה- רמת הביטוי הגנטי. זה למעשה הפיתרון של החרק לצורך ליצור הרבה מגנים מסוימים רק שהפיתרון הוא בזבזני ומשתמש במנגנון הרגיל של שכפול ה-DNA בתא.

אנליזת טטרדות:



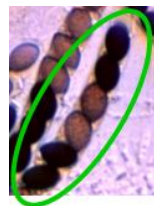
מאמצי מיפוי גדולים הושקעו גם באאוקריוטים חד-תאיים, המבלים חלק ניכר ממחזור החיים שלהם במצב הפלואידי. ביצורים אלו קל לזהות את הפנוטיפ ולהתאים אותו לגנוטיפ, מהירות הגידול גבוהה ו-4 תוצרי המיזזה (טטרדה) נותרים לכודים בתוך שק (ascus).

שחלוף בודד



בחלק מהפטריות מתרחשת חלוקה מיטוטית נוספת מיד לאחר סיום המיזזה, כך שמתקבלים 8 תוצרים ב-ascus. לעיתים, נשמר הסידור הליניארי של הנבגים בתוך ה-ascus, וזה מאפשר שיחזור מדויק של סידור האללים על גבי שני זוגות הכרומטידות האחיות במיזזה שיצרה את השמינייה. בצורה הזו ניתן לעקוב ולראות אם חל שחלוף בין הכרומטידות.

דוגמא: כאשר עוקבים אחרי הגן הקובע את צבע הנבגים, ניתן להבחין בדגם הפנוטיפ ישירות ולכמת את התוצאות. שיטות אלה מאפשרות מיפוי של סמנים גנטיים – בינם לבין עצמם וגם ביחס למיקום הצנטרומר.



תוצר: AAaaAAaa

מיפוי גנים באדם

מדידת מרחקים בין גנים:

מדידת אחוז הרקומבינציה באדם יותר מסובכת מאשר בבעלי החיים שבהם השתמשו כדי לפתח את שיטות המיפוי הגנטי, בגלל הבעייתיות של זמן דור ארוך, מספר צאצאים נמוך וכן לא ניתן להעמיד "הכלאות מכוונות" ו"הכלאות מבחן".

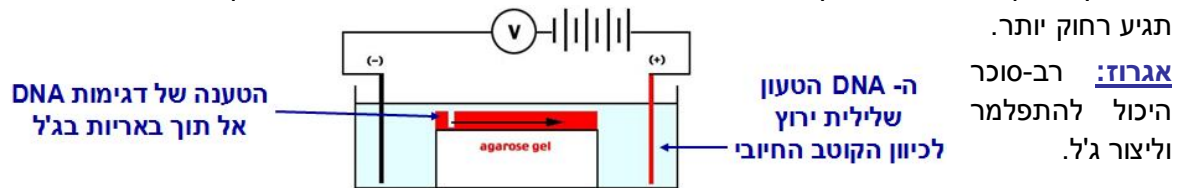
כדי לנסות ולמפות את הגנים באדם, השתמשו בנתוני הסתברות ובמבחנים סטטיסטיים כדי להעריך את המרחק בין זוגות של גנים. למשל, אם ידוע ששני גנים נמצאים בתאחיזה מסוימת ושפנוטיפ מסוים אמור להיות רקומביננטי, תוצאה שמראה כי מתוך 100 משפחות בעלות ילד אחד 4 צאצאים הראו את הפנוטיפים הרקומביננטיים מלמדת כי המרחק בין הגנים (בהערכה) הוא 4cM.

שיטות מולקולאריות:

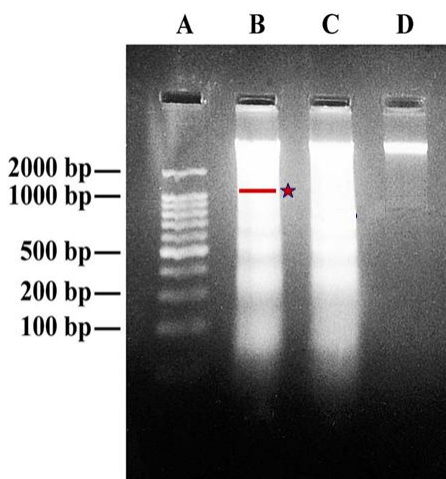
התפתחות השיטות המולקולאריות, בעיקר מבחינת "הנדסה גנטית", הביאה לשינוי דרמטי מאוד באנליזה הגנטית- נשברה התלות המוחלטת בפנוטיפ.

הצת DNA בג'ל אגרוז:

מזריקים עם פיטה דוגמה של DNA לבאריות של ג'ל ומפעילים שדה חשמלי. ה-DNA הוא טעון שלילית ולכן יימשך לצד החיובי. חיתוך ה-DNA נעשה ע"י אנזים רסטרקציה שיש לו אתר הכרה, בד"כ בן 6 נוקליאוטידים. תהליך זה מפריד את ה-DNA לפי גודל- ככל שהחתיכה קטנה יותר, היא תגיע רחוק יותר.



אגרוז: רב-סוכר היכול להתפלמר וליצור ג'ל.



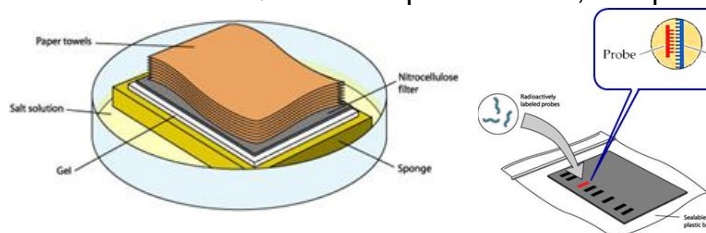
כאשר מריצים DNA החתוך באנזימי רסטרקציה, ישנם כל-כך הרבה גדלים מקטעים שונים שמתקבלת מריחה (smear).

A- תערובת של מקטעים שהוכנו מראש בגדלים קבועים כדי לשמש כ"סרגל מולקולארי" לשם השוואה.

בתוך כל זה מסתתרים מקטעים ייחודיים. למשל: מקטע המכיל גן ספציפי- ניתן יהיה לגלות את הבנד המתאים ע"י גלאי רדיואקטיבי המכיל את רצף ה-DNA של הגן.

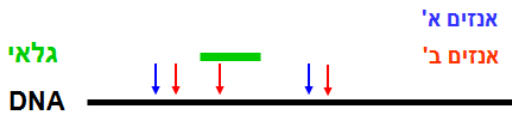
שימוש בגלאי – שיטת Southern blot:

ה-DNA עובר דנטורציה (הפרדה של הגדילים) ואח"כ העתקה אל פילטר של ניטרוצלולוז. מדגירים את מקטעי ה-DNA, והגלאי המסומן רדיואקטיבית, מתחבר לרצף המתאים ע"י זיווג בסיסים. את

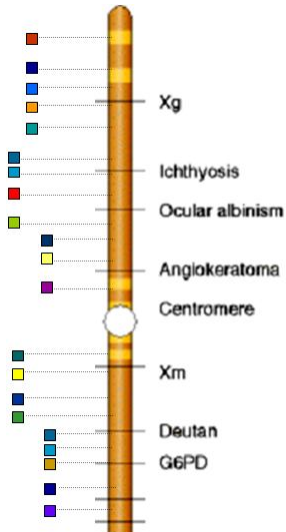


הפילים חושפים בחושך ומתקבלים עליו פסים במקומות שבהם הגלאי מצא רצף מתאים להתחבר אליו.

נקבל פס אחד כאשר זהו אנזים רסטריקציה אחד החותך בשני מקומות. שימוש בכמה אנזימי רסטריקציה ייתן מספר פסים (bands).



גלאים:

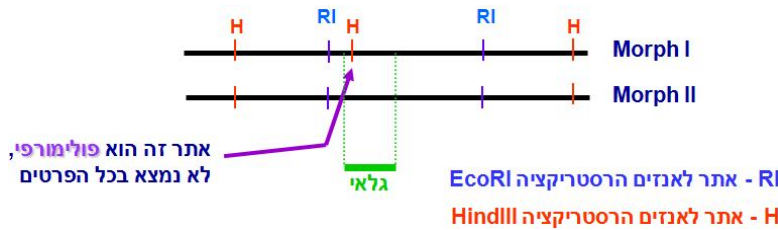


רצפים המתאימים למקום מסוים בגנום, שעוזרים למיפוי סביבתם. הם יהיו שימושיים בעיקר אם יש בהם שינויים כאשר האללים של הגן הם שונים (ויאפשרו זיהוי האלל הספציפי).

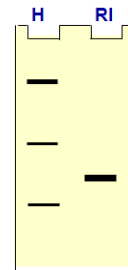
אין שום צורך שהגלאי יילקח מתוך הרצף של הגן. אך ניתן לבדוק את מידת התאחיזה בין הגלאי לבין הגן. האיסוף של מספר גדול מאוד של גלאים בינם לבין עצמם וביחס לגנים ידועים- הביא לפיתוח מפות תאחיזה מפורטות.

RFLP- Restriction Fragment Length Polymorphism

איזה רצפי DNA מתאימים במיוחד כגלאי? בדרך-כלל רצפים שבהם שינוי של בסיס אחד יגרום להעלמות של אתר רסטריקציה או להופעה של אתר חדש.



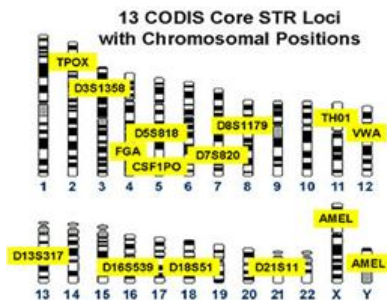
במקרה זה, בהוספת הגלאי המתאים, ניתן יהיה לגלות את שני סוגי ה"מורפים" ואפילו אדם שהוא הטרוזיגוט לשניהם:



הגלאי יכול לזהות אפילו את החלק השמאלי הקטן שנוצר מחיתוך H וליצור גם מזה band רדיואקטיבי.

DNA- fingerprinting

בדיקת דגימות מזירת פשע, בדיקות אבהות וכו' נבדקים סמנים מיוחדים שיש להם דגמים בעלי פסים רבים, השונים מאדם לאדם. הגנום מלא ברצפים חוזרים, לכל אדם יש מספר שונה של רצפים חוזרים הצמודים אחד לשני. האוכלוסייה הינה מאוד פולימורפית לרצפים אלה ולמספרם (כי כמה גנים שונים אחראים לכך).



פנל של 13 אתרי VNTR בגנום האנושי המשמש את מאגר הדגימות של ה-FBI

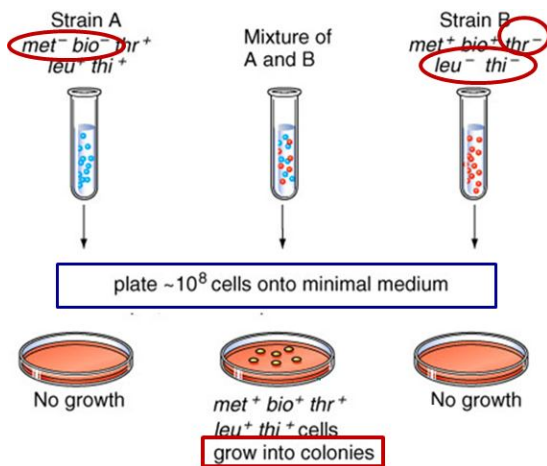
קונוגציה ומיפוי גנטי בחיידקים

בשנות ה-30 וה-40 רוב המדענים חשבו שחיידקים הם יצורים קטנים מכדי שיהיו להם גנים או תכונות כלליות המשותפות לאאוקריוטים, ובנוסף, הם שיערו שחלבון הוא המרכיב הקריטי למבנה הכימי של הגן. ב-1944 הוכח בניסוי של אוסוולד אייברי כי DNA הוא המרכיב הכימי החיוני של הגן, באמצעות העברת התכונה של וירולנטיות (היכולת לחולל מחלה) מזן פתוגני לזן בלתי מזיק (R ו-S).

העברת מידע גנטי בין חיידקים:

הניסוי של לדרברג וטאטום:

הניסוי ההוא שימש הראה לניסוי שבו המדענים ג'ושוע לדרברג ואדוארד טאטום רצו להוכיח את קיומם של גנים בחיידקים ולבדוק את האפשרות של העברת מידע בין זנים. הם גידלו מושבות של E.coli והניסוי התבסס על זנים אוקסוטרופיים, שאינם מסוגלים לגדול על מצע מזון מינימאלי, ללא תוספת של נוטריינטים מסוימים.



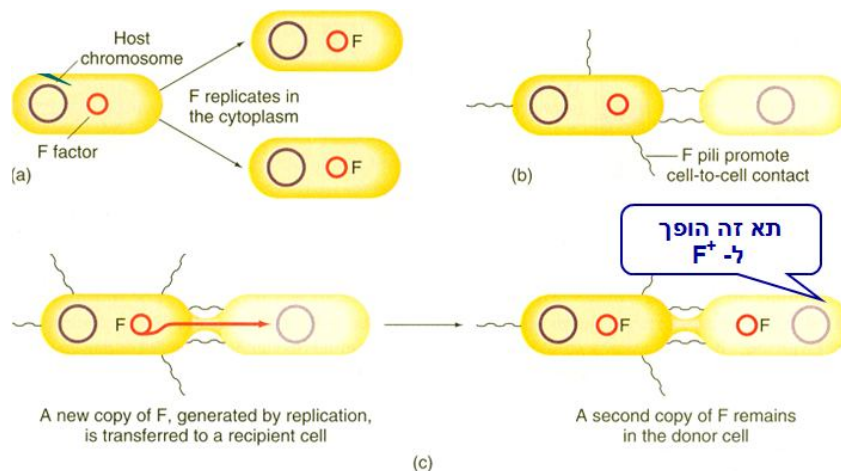
תצפית המפתח הייתה שערבוב שני זנים בעלי מגבלות גידול שונות הביאה להופעת מושבות פרוטטרופיות אשר לא זקוקות לשום תוספות במצע, בתדירות נמוכה.

תהליך העברת המידע – F factor:

ישנם שני זנים: "תא תורם" = F^+ .

"תא מקבל" = F^- .

קיימת משיכה בין שני הזנים, החיידקים מתקרבים ונוצר גשר ציטופלסמאטי שמאפשר העברה של חומרים. מועבר חומר גנטי מהתורם למקבל וכתוצאה מכך משתנה סטטוס המקבל והופך ל-תורם. מכיוון שהתא התורם שומר על זהותו, ניתן להסיק שה-F factor עובר הכפלה לפני תהליך ההעברה.



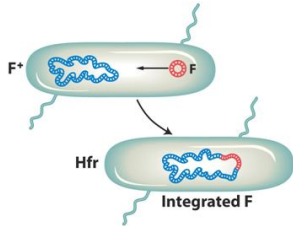
הערה: זהו תהליך שכיח מאוד שקורה בעת מפגש בין שני סוגי התאים.

קונויגציה:

זהו תהליך של העברת המידע הגנטי המאפשר גידול על מצע סלקטיבי. למרות שהעברת ה-F factor היא תהליך שכיח, כאן מדובר בתהליך נדיר. הסיבה לכך היא שהתכונות הנ"ל נקבעות ע"י גנים היושבים על הכרומוזום החיידקי – DNA מעגלי גדול ונפרד. ה-F factor הוא גורם מעגלי קטן הרבה יותר ועצמאי (פלסמיד).

Hfr – High frequency of recombination

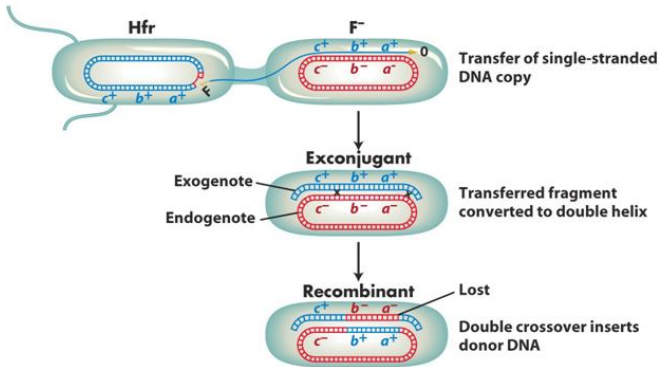
זני חיידקים מיוחדים המכילים F factor אבל מראים תדירות גבוהה פי 1000 של הופעת רקומביננטים (מושבות הגדלות על מצע סלקטיבי מתאים). הסיבה: ה-F factor עבר אינטגרציה לתוך הכרומוזום החיידקי.



מסקנה: גם המושבות הבודדות בניסוי הראשון היו תוצאה של אירועי אינטגרציה ספונטאניים (אך נדירים) כאלה.

תהליך הקונויגציה:

ה-F factor שבתוך ה-DNA החיידקי, למעשה סוחב איתו את כל או חלק מה-DNA של החיידק התורם כדי להעביר את הפלסמיד. התהליך מתחיל מפלישה של גדיל אחד של DNA מאזור ה-F factor לתא המקבל.



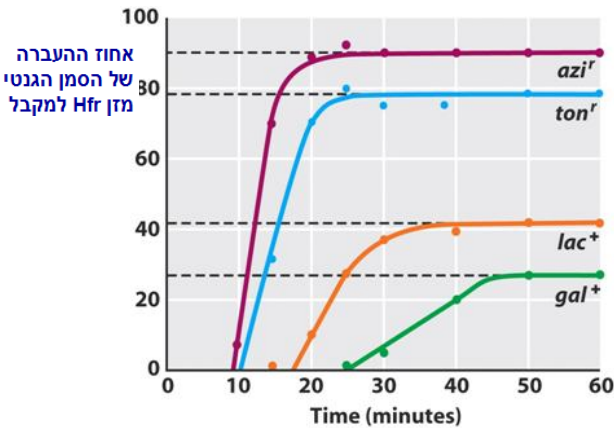
ואז יכולה להתרחש רקומבינציה בין ה-DNA שהגיע ל-DNA שבתא.

שני אירועי שחלוף יאפשרו העברה של מקטע מסוים מזן ה-Hfr ל-F⁻.

הערה: עקב מנגנון הגנה של החיידקים, מקטעי DNA שלא נכללים בכרומוזום המעגלי עם תום התהליך- יאבדו בהמשך החלוקות של החיידק.

זני Hfr שונים:

לא כל זן Hfr זהה לאחרים. בזן Hfr נתון ישנו סדר קבוע שבו הגנים עוברים מהתורם למקבל, לפיכך, "גנים מוקדמים" יעברו רקומבינציה אל תוך כרומוזום הזן המקבל בתדירות גבוהה יותר מ"גנים מאוחרים". רק החלק מה-DNA שהספיק להיכנס פנימה, יש לו סיכוי לעבור רקומבינציה.

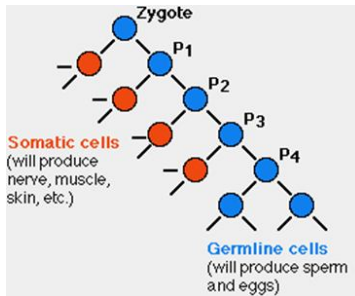


סיבה: תהליך ההעברה של ה-DNA החד-גדילי מתחיל ביצירת שבר בנקודה מסוימת בתוך אזור ה-F factor. הנקודה הזו נקראת: **origin**. לכן מתקבל סדר העברה קבוע. וניתן למדוד את ההעברה בדקות (ובכך למעשה למדוד את המרחקים בין הגנים).

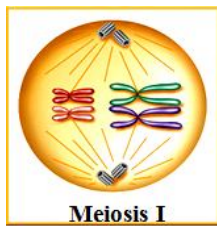
הערה: בהשוואה בין זני Hfr שונים, התקבל סדר העברה שונה בכל פעם כי בכל זן ה-F factor נכנס במקום אחר וייתכן שגם בכיוון הפוך.

C. שינויים גנטיים

שינויים ("אברציות") במבנה הכרומוזומים

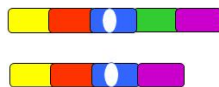


תאי נבט: שומרים על היכולת להמשיך ולהתחלק וכן- ליצור את בעל-החיים השלם. הם יוצרים את הגונדות (בלוטות המין) ומתן את הגמטות. בכל עובר יש מאגר תאים שהם ה-germ line ומהם מתפתחות הגונדות.



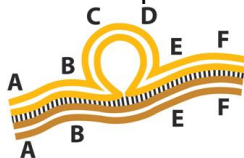
הזיווג של כרומוזומים הומולוגיים מתרחש במהלך הפרופאזה המיוטית הראשונה. במקרים של הטרוזיגוטיות לשינוי במבנה הכרומוזום, יתגלו בדרך כלל מבנים ייחודיים בשלב הזה של המיוזה. רבים מהשינויים בכרומוזומים קשורים באירועי שבירה, כאשר נוצרים קצוות פתוחים שנוטים להיות דביקים, ולהתאחות מחדש בצורה אחרת. האורגניזם הדיפלואידי השלם הוא רגיש ביותר לשינויים במבנה ובמספר הכרומוזומים והשינויים שמצליחים לזהות, הם רק אלו שהצליחו לשרוד.

חסרים – Deletions:



התא הדיפלואידי חי רק אם הוא הטרוזיגוט לחסר, למעט כרומוזום נורמלי כרומוזום עם חסר

ייתכן שבקטע הירוק יש אללים רצסיביים שקודם מוסכו ע"י אללים דומיננטיים בקטע הירוק שאבד. בזמן זיווג ההומולוגים, האזור החסר יוצר לולאה.



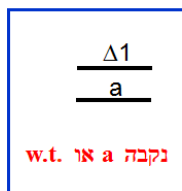
מיפוי גנטי בעזרת חסרים:

ערכו הכלאות בזנים של דרוזופילות, כאשר קיימים 5 זנים שכל אחד מהם מכיל מוטציה נקודתית רצסיבית בתאחיזה ל-X, ובנוסף קיימים 4 זנים שונים כאשר לכל אחד חסר הגורם למוות וגם הוא ממופה לכרומוזום X.

הכליאו זכר עם פנוטיפ רצסיבי עם נקבה שמכילה פנוטיפ דומיננטי וחסר ממוסף. הפנוטיפים שהתקבלו היו זכר ונקבה מסוג w.t, זכר מת ונקבה בעלת אלל רצסיבי ואלל עם חסר.

$$\text{♀ } \frac{\Delta 1}{+} \times \text{♂ } \frac{a}{+}$$

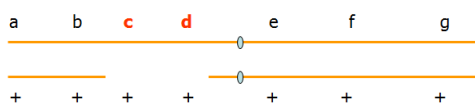
אם הנקבה היא w.t: הגן a לא חופף לחסר, והגן a ממוסף ע"י הכרומוזום השני.



$$\begin{array}{c} \frac{\Delta 1}{+} \\ \frac{+}{a} \end{array} \quad \begin{array}{c} \frac{\Delta 1}{+} \\ \frac{+}{+} \end{array} \quad \begin{array}{c} \frac{\Delta 1}{+} \\ \frac{+}{+} \end{array}$$

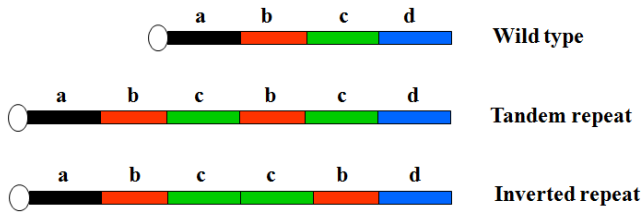
נקבה w.t. זכר מת זכר w.t.

אם הנקבה היא a: הגן a כן חופף לחסר ונוצר מצב המיזיגוטי כי קיים רק עותק אחד של הגן המכיל את האינפורמציה (באוטוזומים המצב המקביל הוא פסאודו-מיננטיות).



בעזרת הכלאות בין כל המוטנטים לכל החסרים, ניתן למפות את המוטציות הנקודתיות והחסרים ולפי זה לקבוע את הסדר של הגנים על גבי הכרומוזום.

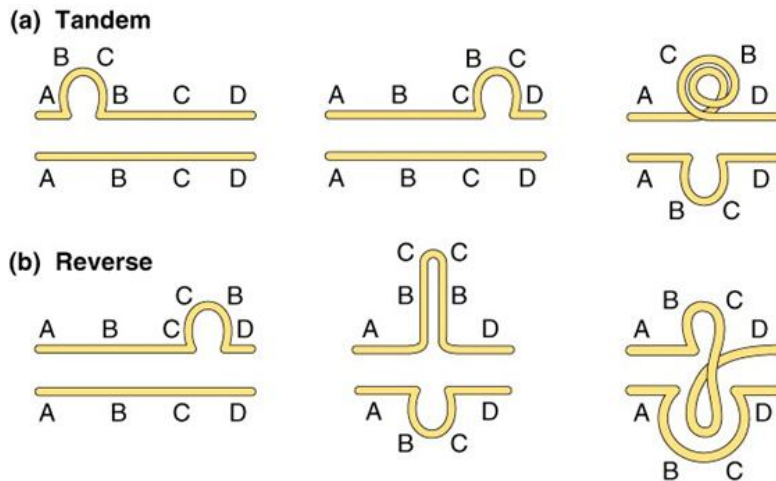
דופליקציות – Duplications



תוצאת הדופליקציה היא תוספת חומר גנטי. זו הכפלה של מקטע מהחומר הגנטי שנוסף לכרומוזום, כאשר הוא יכול להיות באותה אוריינטציה (Tandem repeat) או באוריינטציה הפוכה (Inverted repeat).

בהטרוזיגוט לדופליקציה יהיו 3 עותקים של החומר המוכפל (1 בכרומוזום המקורי ו-2 במוטנטי). לעיתים להטרוזיגוט יהיה גם פנוטיפ ייחודי. ייתכן והדופליקציה לא תשפיע, ואז החומר הגנטי הנוסף יכול לשמש מקור ליצירת גנים חדשים ללא הפרעה מבחוץ.

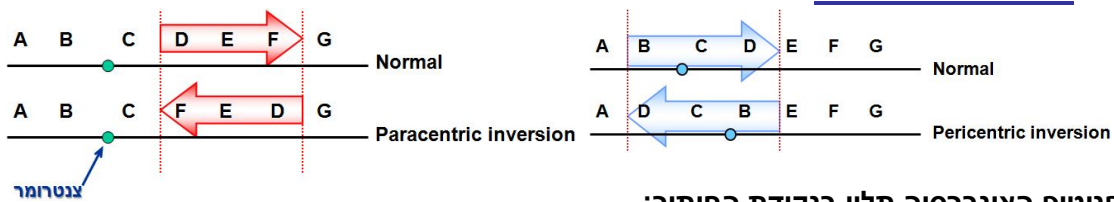
בדופליקציה ישנן דרכים שונות בהם הכרומוזומים ההומולוגים יכולים לעבור זיווג:



אינברסיות (היפוכים) – Inversions

אינברסיה היא היפוך של אזור בכרומוזום, כאשר אין שינוי בתכולה הגנטית אלא רק במיקום ובסדר של הגנים על הכרומוזומים. קיימים שני סוגים של אינברסיה:

- **אינברסיה פראצנטרית:** אינה כוללת את אזור הצנטרומר.
- **אינברסיה פריצנטרית:** כוללת את אזור הצנטרומר.

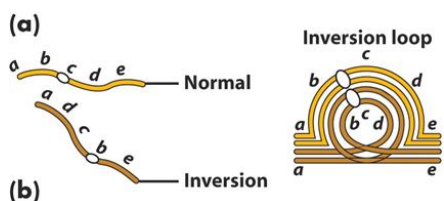


פנוטיפ האינברסיה תלוי בנקודת החיתוך:

- חיתוך באמצע הגן: יכול לגרום למוטציה רצסיבית בגן הבודד.
- חיתוך בין גנים: לא ישנה מידע גנטי ולכן ← פנוטיפ נורמלי.

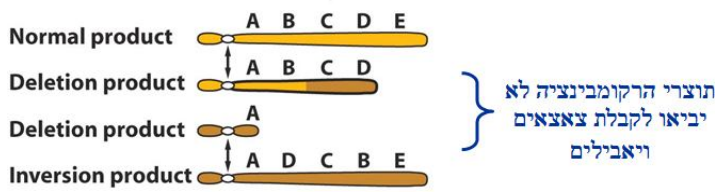
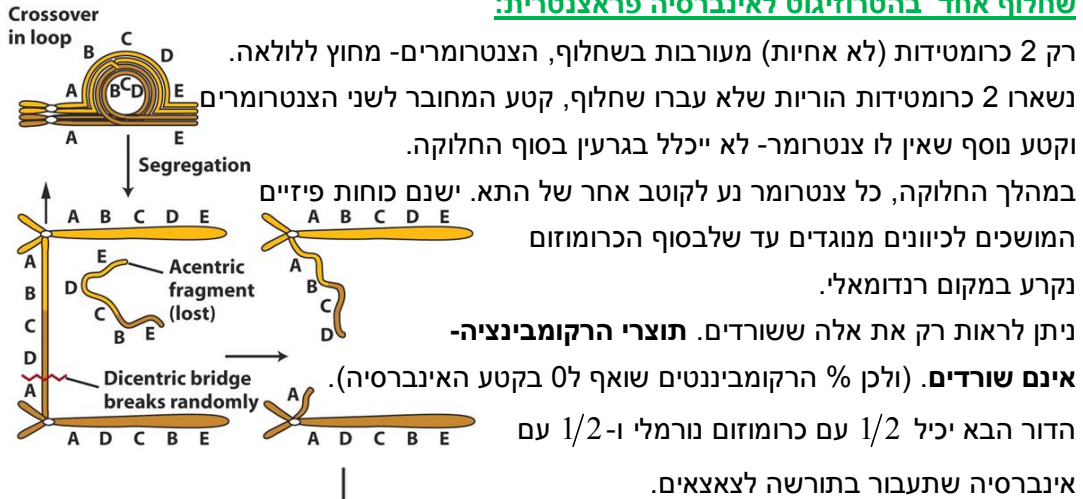
אבל גם למיקום הגן (השלם) בגנום יכולה להיות השפעה על רמת הביטוי שלו. לעיתים אינברסיה גורמת להכנסת הגן לאזור שהוא "מושקע גנטית" – Position effect.

מיזוג בפרטים הטרוזיגוטים לאינברסיה:

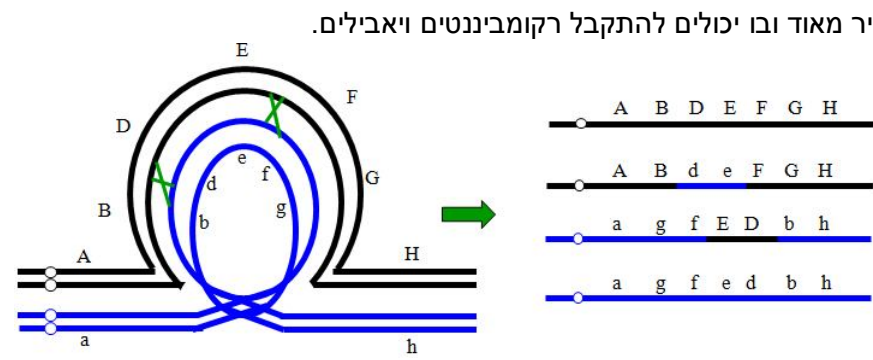


זיווג הומומולגים מתאפשר ע"י יצירת לולאה במיזוג. ללא שחלוף באזור הלולאה, אין בעיה בהפרדת הכרומוזומים ההומומולגים. ככל שהלולאה גדולה יותר, ייתכנו בתוכה יותר שחלופים.

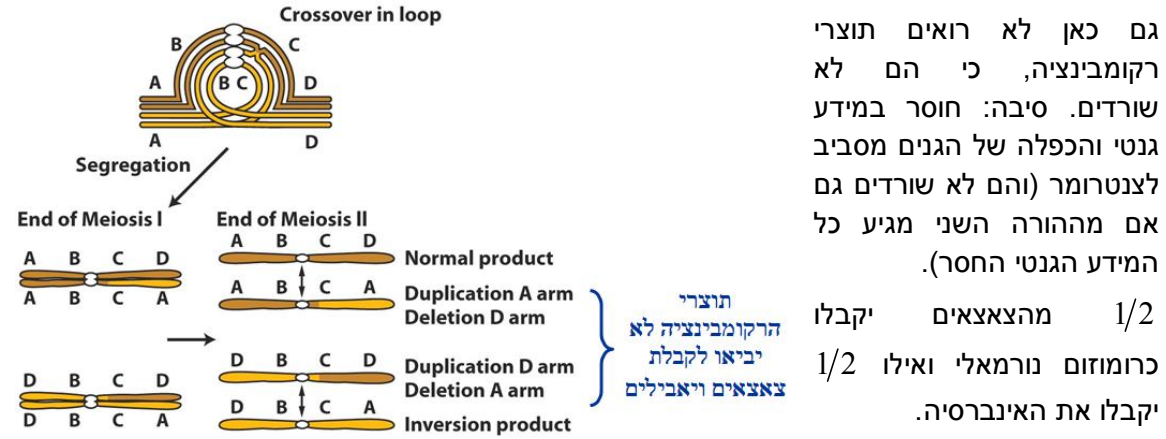
שחלוף אחד בהטרוזיגוט לאינברסיה פראצנטרית:



שחלוף כפול בהטרוזיגוט לאינברסיה פראצנטרית:



שחלוף יחיד בהטרוזיגוט לאינברסיה פריצנטרית:

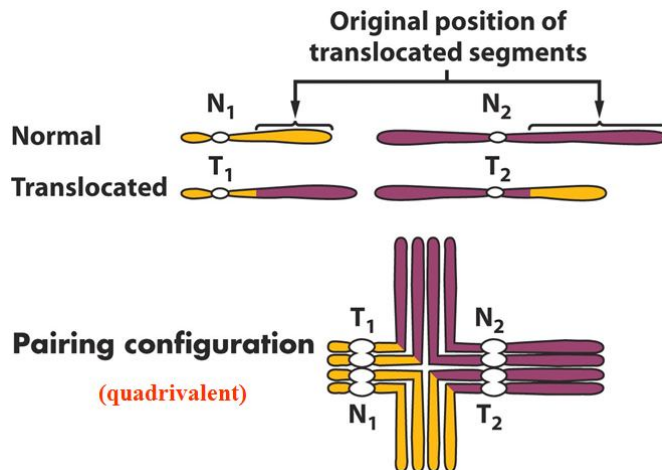


הערה: להומוזיגוט לאינברסיה אין בעיה, אבל זה מאוד-מאוד נדיר.

טרנסלוקציות – Translocations:

בעיקר מדובר בטרנסלוקציה רציפוקלית שבה מתרחשת החלפה של מקטעים בין שני כרומוזומים לא הומולוגים. החלפת קטעים זו כלל אינה קשורה לשחלוף. ייתכן שהשינוי קרה באינטרפאזה במיטוזה כאשר הכרומטין פתוח ואז נוצרו שברים ואיחויים בכרומוזומים.

זיווג הומולוגים במיזזה:



כאשר הכרומוזומים מזווגים, נוצרת צורה של צלב במיזזה, או שמזהים שינויים בקריוטיפ.

יכולה להתרחש הפרדה בשני אופנים: $T_1 + T_2, N_1 + N_2$: גנוטיפ נורמאלי וטרנסלוקאנטי, שניהם שורדים.

$T_1 + N_2, N_1 + T_2$: לרוב לא יביאו לצאצאים ויאבילים.

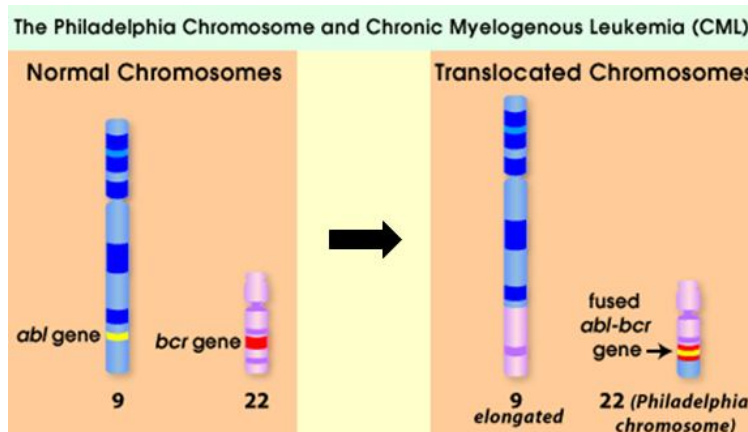
שתי אפשרויות הפרידה שכיחות, בערך 1:1.

הערה: קומבינציות אחרות לא יקרו כמעט כי אלה צנטרומרים שאמורים להיפרד גם במיזזה רגילה.

נוצרים יחסי תאחיזה חדשים וירידה של 50% בחיוניות הגמטות או במספר הצאצאים החיים. כלל אצבע לגבי טרנסלוקציה הוא שבדרך כלל אין תוצרי רקומבינציה כי הגמטות לא יהיו ויאבילות. אם חלה טרנסלוקציה, לא ניתן למדוד מרחקי מפה בין הגנים.

כרומוזום פילדלפיה:

מקרה מפורסם של טרנסלוקציה הוא יצירת כרומוזום פילדלפיה. כתוצאה מהעברת גן מפתח הפרוטו-אונקוגן לאזור אחר בגנום. נוצר גן מאוחה והשינוי בדגם הביטוי שלו הוא המפתח להתמרה סרטנית שפוגעת בתאי הגזע האחראים ליצירת תאי דם לבנים מסוימים, וגורמת לייצור מוגבר שלהן. השינוי הזה הוא סומטי ואינו עובר בתורשה. המוטציות הללו קורות שוב ושוב בתאי מוח העצם של חולים שונים.



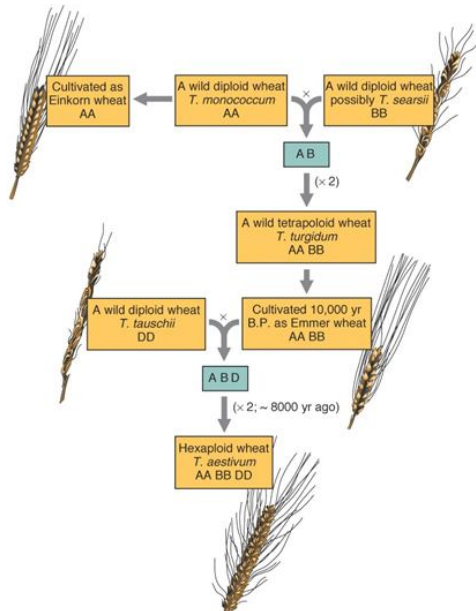
שינויים במספר הכרומוזומים

שינויים במספר הסטים של כרומוזומים – Aberrant euploidy:

מונפלואידיות: זכרים של דבורים, צרעות ונמלים מתפתחים מביצים לא מופרות (parthenogenetic development). הם בעלי סט אחד של כרומוזומים (n) והם יוצרים גמטות ע"י מיטוזה במקום מיזוג. כמו כן, זהו שלב נורמלי במחזור החיים של יצורים מסוימים כמו שמרים ופטריות. ברוב המינים האחרים זהו מצב לתלי בגלל חשיפה של אללים רצסיביים מזיקים, הממוסכים במצב הדיפלואידי הרגיל. הצטברות של אללים רצסיביים כאלו נקראת "עול גנטי" – genetic load.

פוליפלואידיות: נפוצה מאוד בצמחים (הם יותר tolerant לשינויים כאלה) ונמצאת בהתאמה לעליה בגודל הצמח השלם וחלקיו. עליה במספר הסטים הכרומוזומלים שיחקה תפקיד חשוב באבולוציה של מיני צמחים שונים.

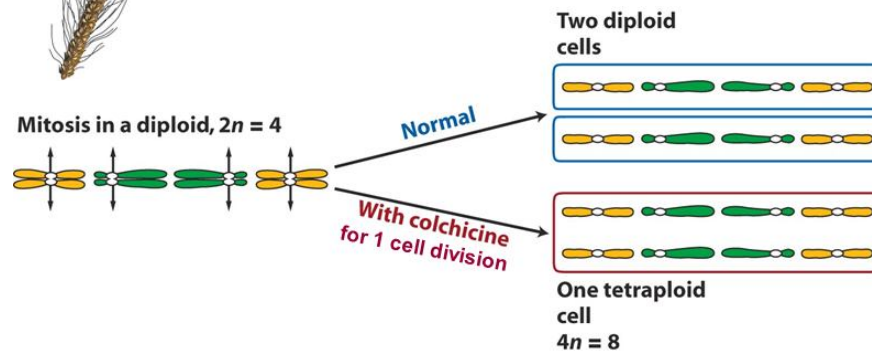
תהליך ההשבחה של החיטה התרבותית המודרנית:



במהלך הדורות חל פעמיים חיבור בין סטים של כרומוזומים שונים (כל אחד מזן בר מסוים של חיטה). זן בעל שני סטים דיפלואידים דומים אך לא זהים נקרא **allotetraploid**. החיטה המודרנית היא הקספלואידית ($6n = 42$).

לעומת זאת, **autopolyploids** נוצרים בתוך מין בצורה אקראית או ע"י התערבות מכוונת. למשל יצירת טטרפלואיד מדיפלואיד.

למשל, קולכיצין גורם לקריסת סיבי הכישור ומונע נדידת הכרומוטידות אחרי פיצול הצנטרומרים, כך שנוצר תא אחד עם 2 סטים דיפלואידים זהים.



ישנו גם מצב **טריפלואיד** ($3n$, בדרך כלל autopolyploid), כאשר צמחים אלו הם לרוב עקרים. הדבר יכול להיות שימושי בחקלאות ליצירת צמחים עקרים וחסרי זרעים. סיבה: לכל כרומוזום יש 3 עותקים, ובכל כרומוזום קורית הפרדה אחרת ל-2 גמטות. מתקבלות 2 גמטות שאינן מאוזנות ולכן מנוונות.

השבחת צמחים:

ניתן ליצור צמחים מונפלואידים מתוצרי המיזוג באבקני צמחים. וכך ניתן לעשות סלקציה, למשל לעמידות לקוטלי עשבים- במצב המונפלואיד של התרבית. ואז ניתן להחזיר את הצמח למצב דיפלואידי באמצעות קולכיצין.

שינויים בכרומוזמים בודדים – Aneuploidy:

לעיתים קרובות, הם נסבלים בצמחים ויכולים להיות לתלים בבעלי חיים. החשד העיקרי הוא שהתרחשה אי הפרדה של כרומוזמים במיזוג. כשל נדיר בתהליך תאי נורמלי, יכול לקרות במיזוג ראשונה או שנייה, כאשר שני הומולוגים או כרומטידות אחיות פונים לאותו קוטב במקום להתפצל. בשני המקרים אי הפרדה תגרום ליצירת גמטות בעלות כרומוזום עודף או חסר. אי הפרדה מתרחשת בדרך כלל רק בכרומוזום או בביוולנט אחד, כאשר שאר הכרומוזומים מתנהגים באופן רגיל ולכן הגמטות החריגות נושאות $n+1$ או $n-1$ כרומוזומים.

מונוזומיה – $(2n - 1)$:

לרוב תוביל למוות במהלך ההתפתחות העוברית בבעלי חיים בגלל חשיפת אללים לתלים רצסיביים (וגם בגלל הפרת האיזון בביטוי הגנטי). לא נמצא מצב מונוזומי עבור אף אוטוזום באדם מלבד בדיקה של עוברים מהפלות טבעיות.

סינדרום טרנר: מצב של X0 באדם, מתרחש 1 ל-5000 לידות. הצאצא הוא נקבה (בגלל היעדר כרומוזום Y). גורם לאוסף של סימפטומים קליניים וחוסר התפתחות מינית בגיל ההתבגרות. אינטליגנציה נורמאלית. הסימפטומים משתנים בנשים שונות ונעים בין מום לב חמור לפגמים קוסמטיים בלבד.

הערות:

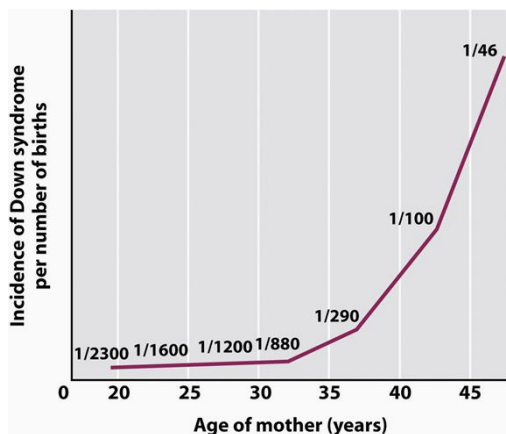
- סינדרום טרנר שורד עם X אחד בלבד, כנראה בגלל שגם לזכר יש עותק בודד.
- לעיתים הקריטיפי שונה ומדובר בהטרוזיגוטיות לחסרים גדולים על X או ב-X נורמלי + שאריות מ-Y.

טריזומיה – $(2n + 1)$:

לעיתים קרובות לתלית בבעלי חיים בגלל הפרת האיזון בביטוי גנים. אם המצב הטריזומי הוא ויאבילי (לגבי כרומוזום מסוים), ייתכן והפרט החי יהיה פורה. יש כאן למעשה 3 עותקים לכרומוזום אחד מתוך כל הסט השלם, כך שהגמטות השונות יהיו נורמליות, או כאלו שישחזרו את המצב הטריזומי לאחר ההפריה.

באדם מוכרות 3 טריזומיות של אוטוזומים, בכרומוזומים 13, 18 ו-21 (אלה כרומוזומים קטנים יחסית שאין עליהם הרבה גנים) שיכולות לשרוד מעבר ללידה. בכל המקרים מדובר באוסף של בעיות התפתחותיות, שכליות ובריאותיות חמורות ביותר. במקרה של כרומוזומים 13 ו-18, פחות מ-5% מהנולדים יחיו מעבר לשנה. טריזומיה בכרומוזום 21 נקראת **תסמונת דאון ספוראדי** (ללא היסטוריה משפחתית), והיא בדרך כלל תוצאה של nondisjunction בהורה בריא. ישנה גם צורה מורשת שהיא תוצאה של טרנסלוקציה של חלק מכרומוזום 21. השכיחות היא 1 ל-800 לידות, כאשר ככל שהאם מבוגרת יותר, הסיכוי לטריזומיה עולה.

יש קורלציה בין גיל האם להסתברות לאי-הפרדה הגורמת לתסמונת דאון:



הערה: בדיקות הטרומ-לידה וההפלות כבר השפיעו ושינו את הסטטיסטיקה של הלידות המוצגת כאן.

טריזומיה (2n + 1) בכרומוזומי המין:

תוצאה של חוסר הפרדה במיזזה אצל אחד ההורים ובחלק מהמקרים מצב העובר בתורשה (גמטות ויאבילות).

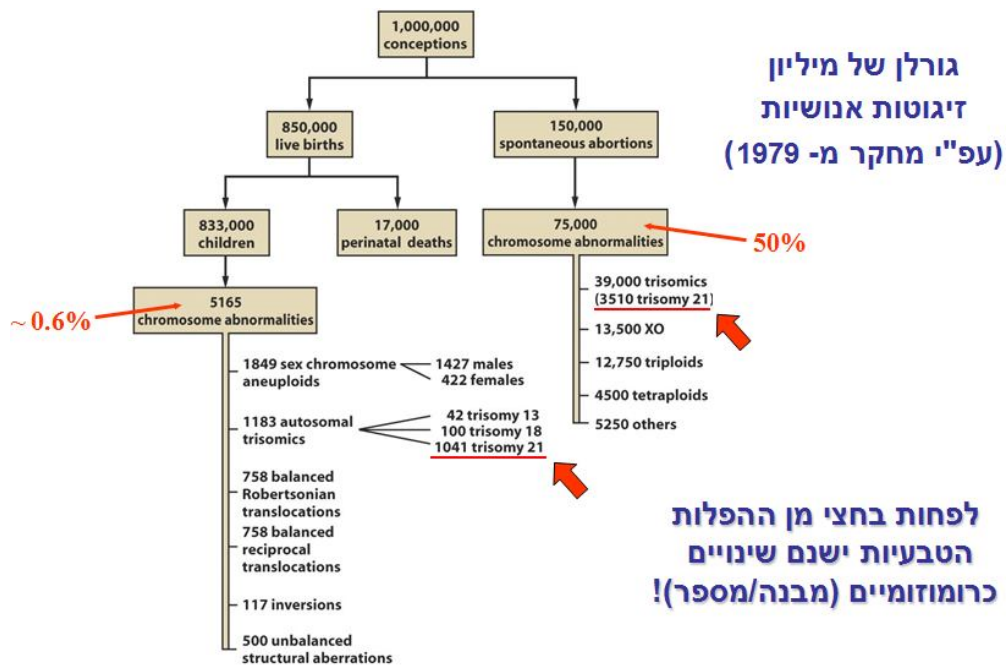
סינדרום קלינפלטור: מצב של XXY באדם, מתרחש 1 ל-1000 לידות. אלה גברים עקרים, רבים מהם לא מודעים למצבם.

XYX: גברים פוריים, נוטים להיות גבוהים. אין סימפטומים מיוחדים.

triplo-X: XXX באדם, נשים פוריות, כמעט שאין סימפטומים מיוחדים. כרומוזומי ה-X הנוספים עוברים אינאקטיבציה.

הערה: עודף בכרומוזום X הוא מעט יותר מורכב מכך: באישה שיש בה אינאקטיבציה של-X, ידוע שיש לפחות 8% מהגנים שלא מציינים לאינאקטיבציה.

השכיחות הכללית של שינויים במבנה ומספר הכרומוזומים:



ניתן לראות כי 3/4 בעלי סינדרום דאון לא שורדים לעומת 1/4 שכן. ייתכן שזה נובע מהבדלים קטנים בגנים ספציפיים, רגישים יותר או פחות.

מוטציות

מושגי יסוד:

מוטציה: שינוי ביחס לזן הבר – wild type.

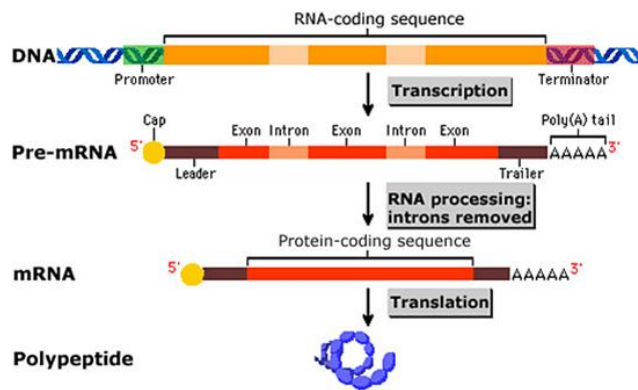
הורסיה: מוטציה שמחזירה ל-wild type.

מוטציה נקודתית: מוטציה שבה הקידוד של ה-DNA יכול להשתנות, בד"כ הכוונה היא לשינוי בנוקליאוטיד בודד. אולם הוא לא חייב לשבש את יצירת החלבון (ישנם כאמור מספר קודים שונים לאותה חומצה אמינית).

קיימים מספר סוגים של מוטציות נקודתיות:

- **Silent mutation** – שינוי בקידוד שלא משנה את התרגום לחומצת אמינו.
- **Frameshift** – הוספה או החסרה של נוקליאוטיד שגורמת להסטת מסגרת הקריאה.
- **Nonsense mutation** – שינוי בנוקליאוטיד שגורם ליצירת stop codon.
- **Missense mutation** – שינוי בנוקליאוטיד שגורם ליצירת חומצת אמינו שונה, כך שיווצר חלבון שגוי.

מיקום מוטציות בגנום:



גנים רבים משתרעים על פני שטחים נרחבים והאזור המקודד לחלבון איננו רציף, אלא מקוטע ע"י אינטרונים. בנוסף על רצפי הפרומוטור והטרמינטור המצוינים כאן, יהיו גם רצפי בקרה מרוחקים יותר המשפיעים ישירות על רמת הביטוי של הגן.

איפה יהיו המוטציות המשפיעות על תוצרי גן זה?

נהוג לחפש Enhancers ב"מעלה הזרם"

– up stream ביחס לאזור המקודד לחלבון. כאשר בודקים אתרים שבהם יכלו להתרחש מוטציות המשפיעות על גן מסוים, צריך לקחת בחשבון גם רצפי בקרה מרוחקים.

מוטציות סומטיות ומוטציות בתאי הנבט:

מתאפיינות ביצירת גזרות (סקטורים) בהתאם לשלב הופעת המוטציה ודגם החלוקות של התאים או הרקמה הרלוונטית.



תדירות אירועי המוטציה:

ב-1928 פותחה מערכת למדידה מדויקת של הופעת מוטציות לתליות חדשות על כרומוזום X ע"י הרמן מולר. הוא גילה כי תדירות ההופעה של מוטציות רצסיביות לתליות בתנאי גידול רגילים עולה לאחר טיפול בקרני רנטגן. הוא השווה רמות קרינה וסוגי קרינה שונים ומצא יחס ישר בין רמת קרני ה-X לשיעור המוטציות. קרינה מייננת יוצרת שברים ב-DNA ← מוטציות.

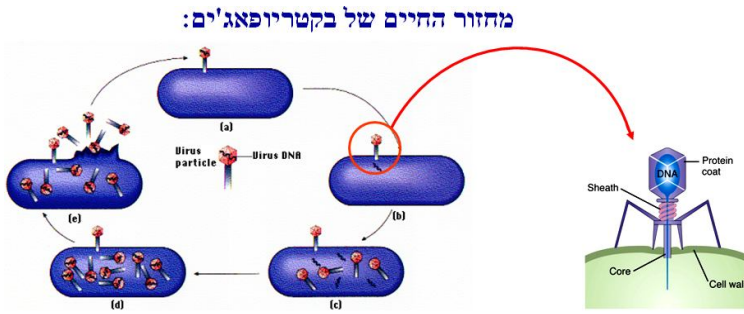
האם מוטציות מתרחשות באקראי?

היכוח הרעיוני שעומד בבסיס השאלה הזו קשור למחלוקת בין לאמארק, שטען כי השינויים אינם ממש אקראיים אלא מכוונים למטרה מסוימת ושינויים במהלך חיי האורגניזם משפיעים על העברת תכונות מסוימת לדור הבא, לבין דארווין שאמר כי קיימת שונות באוכלוסיה וקיימת הסתה לכיוון המועדף והמשופר המאפשר הישרדות טובה יותר.

The Fluctuation test

רקע על בקטריופאגים:

לאחר החדרת ה-DNA לתא החיידק, יש השהייה מסוימת ואז ייצור DNA של פאגים חדשים. בסופו של דבר יש הריסה של תא החיידק והפאגים מתפזרים ומדביקים חיידקים הנמצאים בסביבה.



מתחזור החיים של בקטריופאגים:

פלאקים: אלה חורים במרבד החיידקים. כשמדביקים תרבית חיידקים צפופה בפאגים זורעים את החיידקים על מצע מוצק, מתקבלים פלאקים. מספר וצורת הפלאקים תלוי במכפלת ההדבקה ובזנים הספציפיים של החיידק והבקטריופאג. בכל מקום בו "נפל" בזריעת חיידקים על מצע מוצק, חיידק מודבק, יוצרו חורים בצפיפות המרבד כעבור זמן קצר.

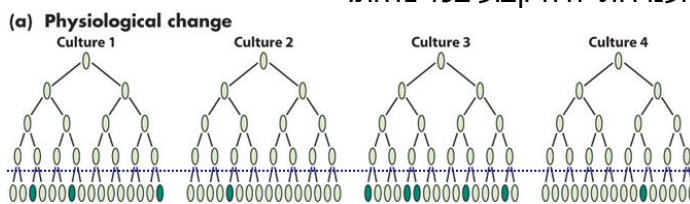
מכפלת הדבקה גבוהה מוחקת את מרבד החיידקים (ליזיס מלא), אלא אם כן ישנה מוטציה עמידה. מוטציות כאלה מופיעות לעיתים רחוקות אך באופן קבוע ונוצרות מושבות חיידקים עמידות להדבקה ע"י הפאג.

מהלך הניסוי:

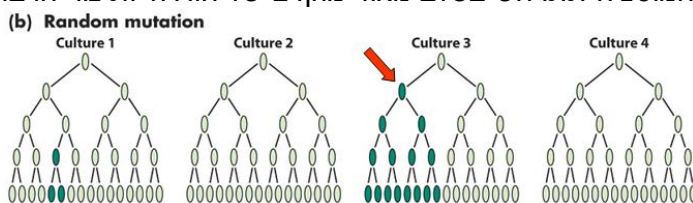
הניסוי כלל זריעה של 2 סוגי תרביות במספר התחלתי נמוך מאוד של חיידקים וגידול עד לצפיפות של 10^8 חיידקים למ"ל. הניסוי כלל 20 תרביות בנפח קטן בנפרד, מול ביקורת שכללה תרבית מאוחדת בנפח גדול פי 50, באותם תנאים.

לאחר ההגעה לצפיפות הרצויה, התרביות השונות הודבקו בפאגים במכפלת הדבקה גבוהה וזריעה על צלחות. לקחו דגימות מכל 20 התרביות הקטנות וזרעו על צלחות נפרדות, ולקחו 20 דגימות זהות מהתרבית הגדולה (באותו נפח כמו התרביות הקטנות) וזרעו על צלחות נפרדות, ולסיום ספרו את מספר המושבות העמידות על כל צלחת.

התחזית לפי המודל של לאמארק: אם המוטציות מושרות ע"י הסביבה, האירוע הקובע הוא המפגש עם הפאגים ולכן מספר המושבות העמידות יהיה קבוע בכל צלחת.



התחזית לפי המודל של דארווין: אם המוטציות הן אקראיות, הן יכולות להתרחש בכל נקודת זמן במהלך הגידול. פעם בכמה ניסויים, המוטציה תתרחש בשלב מאוד מוקדם של הגידול ותיצור הרבה מאוד חיידקים עמידים.

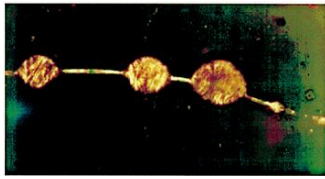


התוצאות: בדגימות שנזרעו מן התרבית הגדולה והמאוחדת היו תנודות קטנות יחסית מסביב לממוצע, בעוד שבדגימות מהתרביות הבודדות היו תנודות חריפות הרבה יותר.

מסקנה: המוטציות התרחשו באקראי, והמפגש עם הפאגים לא גרם להופעתן אלא רק יצר סלקציה.

D. מהות הגן

מסלולים מטבולים ותאורית "גן אחד- אנזים אחד"



מושג הגן: הגן הומצא כדי להסביר תופעות של סגרגציה מנדלית. יחד עם התיאוריה הכרומוזומית של התורשה זה הביא לתפיסה של: "Beads on a string". דוגמא לתפיסה לא נכונה: החומר הגנטי (החרוזים) מופרדים ע"י חומר שאינו גנטי. כיום יודעים כי DNA מרכיב את כל הסליל.

בהגדרה הקלאסית של החרוז הבודד, הגן הוא היחידה הבסיסית של: **תפקוד (הורשה):** חלקים של גן אינם יכולים לתפקד.

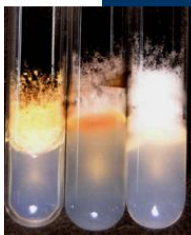
מוטציה: הגן כולו משתנה, מאלל אחד לשני, או לשלישי וכו', וחלקים של הגן אינם יכולים להשתנות בנפרד.

רקומבינציה: הגן הוא יחידת המבנה הבסיסית ביותר, ואינו ניתן לחלוקה ע"י רקומבינציה.

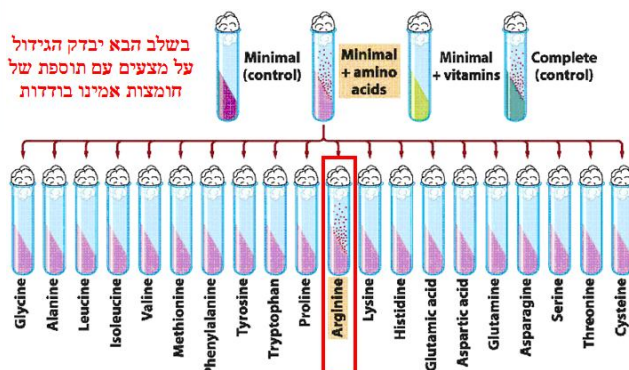
בתחילת המאה ה-20, רופא אנגלי בשם Archibald Garrod גילה את הקשר בין מספר מחלות רצסיביות באדם לבין פגמים במטבוליזם הבסיסי של הגוף. ב-1941, ג'ורג' בידל ואדוארד טאטום הצליחו להפוך את סדר החיפוש ולבודד מוטנטים הפגומים במסלולים מטבוליים ידועים.



הם השתמשו ב**ניורוספורה (Neurospora)**, פטריית עובש שרוב מחזור החיים שלה הפלואידי, ולכן מתאימה לחיפוש מוטנטים רצסיביים. כל מה שהיא דורשת לגידול במצע מינימלי הוא סוכרוז, מספר מלחים וביוטין (ויטמין), ועל בסיס זה התאים מסוגלים לסנטז את כל המקרומולקולות הדרושות להם.



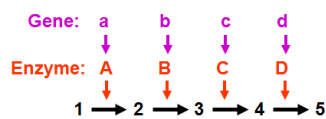
בשלב הבא יבדק הגידול על מצעים עם תוספת של חומצות אמינו בודדות



Addition of arginine to minimal medium restores growth

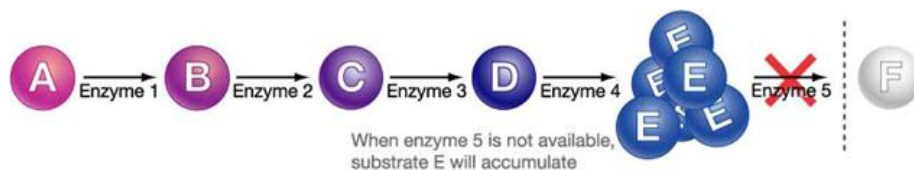
הם גידלו תרביות מוטנטיות, ובדקו אותן על מצעים עם תוספות. לאחר מכן, הגידול נבדק על מצעים עם תוספות של חומצות אמינו בודדות. חומצת האמינו ארגינין זוהתה כחומצת האמינו החסרה למוטנט, ולכן הפגיעה הייתה במסלול המטבולי האחראי ליצירת ארגינין.

הערה: יש לבצע ביקורת כדי לוודא כי המוטנט לא גדל על מצע מינימאלי אך כן גדל על מצע עשיר.



מסלול מטבולי: יצירת חומר X מחומר Y תוך מספר שלבים אנזימטיים. אנזים a דרוש להפיכת חומר-1 ל-2, אנזים B דרוש להפיכת חומר-2 ל-3 וכן הלאה. מניחים כי כל אנזים מקודד ע"י גן אחר.

דוגמא: פגיעה באנזים החמישי בשרשרת תגרום להצטברות החומר E, ולא ייווצר התוצר הסופי-F:



באופן כללי מוטציה במסלול מטבולי תגרום להצטברות החומר שעליו האנזים היה אמור לפעול, ותתקע את המשך השרשרת, אלא אם מצע הגידול מכיל את חומרי ההמשך.

קופלמנטציה ורקומבינציה בבקטריופאגים:

מוטציות *rII* בבקטריופאג' T4:

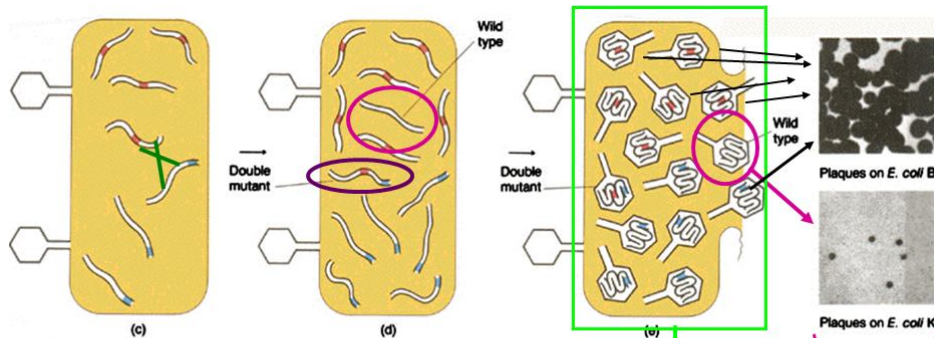
חיידקי E. Coli מסוג B המותקפים ע"י הפאג' T4 נותנים פלאק קטן ומחוספס. קיימים גם מוטנטים שונים של הפאג' שנתנו פלאק עגול, גדול וחלק (נובע מליזיס מהיר). במעקב אחר מוטנט מסוים בפאג': *rII*, התגלה גם זן K של חיידקי E. Coli עמיד לחלוטין למוטנט.

T4 strain	E. coli B	E. coli K12(λ)
wt	קטן, מחוספס	קטן, מחוספס
<i>rII</i>	עגול, חלק, גדול	אין פלאק

זהו זן רסטריקטיבי שלא מאפשר קבלת פלאק- הפאג' לא מסוגל להשלים את מחזור החיים שלו.

רקומבינציה בין פאג'ים מוטנטים:

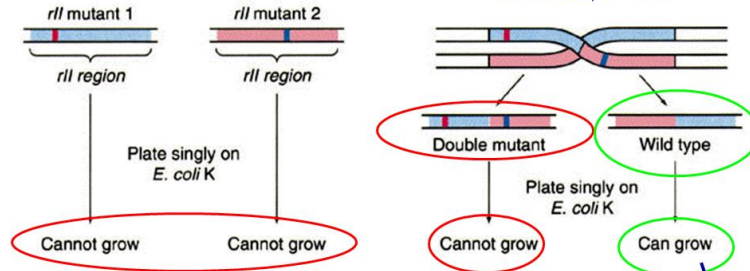
במערכת של חיידק ה- E. Coli ישנם אנזימים המאפשרים רקומבינציה. ולכן, כאשר מדביקים בו-זמנית חיידק מסוג B (הזן שבו פאג'ים מוטנטים יכולים להשלים את מחזור חייהם) בשני פאג'ים עם מוטנטים שונים, רקומבינציה יכולה להתרחש בתוך החיידק לקבלת DNA פאג' מוטנטי המכיל את שתי המוטציות ו-DNA נוסף ללא המוטציות- *w.t.* וכמובן שתוצרי הפאג'ים יכלו גם את ה-DNA המקורי המכיל אחת משתי המוטציות.



ליזיס של החיידקים ואיסוף "דור ההמשך" (כולל רקומביננטים) - **progeny phages** משמשים להדבקה בנפרד של שני זני החיידקים.

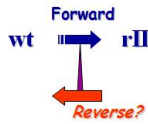
רק **wt** יכול ליצור פלאקים על זן **K12(λ)**

הבדיקה כי התקבל DNA רקומביננטי המכיל *w.t.* התבצעה באמצעות איסוף הפאג'ים וזריעתם על תרבית של חיידקים מסוג K, פלאקים ייתקבלו רק אם קיימים פאג'ים מסוג *w.t.* וכך אכן היה. תוצרי רקומבינציה:



מידת תדירות הרקומבינציה:

מכפילים ב-2 כי אלה הם רק 1/2 מתוצרי הרקומבינציה, תדירות רקומבינציה (יחידות מפה) $\times 100 = \frac{2x \text{ (wt plaques on strain K)}}{\text{total phage on strain B}}$ החצי השני מכיל שתי מוטציות ולא שורד על זן K.



בנזר גילה כי מדובר בשני גנים צמודים שאחראים לתופעה. הוא מצא מוטנטים שלא עברו בכלל רברסיה, ולכן הוא הניח שמדובר בחסרים. הוא בדק את היכולת של כל מוטנט בפני עצמו לעבור רברסיה בחזרה לפלאק קטן ומחוספס עם יכולת הדבקה של זן K.

כל מוטנט שעבר רברסיה (בתדירות נמוכה מאוד) הוגדר כנקודתי, ומוטנטים שלא עברו רברסיה זוהו כחסרים. בצורה הזו התאפשר מיפוי ראשוני של כל אזור הלוקוס rII באמצעות 7 חסרים גדולים ו-47 חסרים קטנים יותר. לאחר מכן, נבדקו קומבינציות של מוטנט נקודתי עם חסר, ולבסוף קומבינציות של מוטנטים נקודתיים לקבלת המפה המפורטת.

היחידה הבסיסית של הרקומבינציה:

את גודל הגנום של הפאג' T4 היה ניתן להעריך אז בכ-200,000bp, ואילו גודל הגנום הוערך ב-1500 יחידות מפה לפי מדידות שנעשו לרקומבינציה בין גנים שונים. המוטציות הקרובות ביותר שבנזר מיפה היו במרחק 0.02 יחידות מפה זו מזו ולכן הוא העריך שהמרחק הקטן ביותר הניתן למיפוי ע"י רקומבינציה הוא זוג נוקליאוטידים שכן. הוא הסיק מהחישובים שמוטציה בסיסית יכולה להתרחש ברמת הנוקליאוטיד הבודד ובמרחק של bp מהמוטציה השכנה. פיזור המוטציות לאורך רצף ה-DNA אינו אקראי, כאשר נוקליאוטידים מסוימים בתוך הגן מועדים במיוחד לעבור מוטציה (hot spots).

קומפלמנטציה:

ציסטרוני: רצף של DNA המקודד למולקולת חלבון אחת.

כאמור אזור rII מכיל שני גנים צמודים. מדובר בגנים המקודדים לשני חלבונים ולכן גם אם יסופקו ממולקולות DNA נפרדות שמקורן בהדבקה משולבת בשני מוטנטים, התוצרים "יתערבבו" בתוך החיידק.

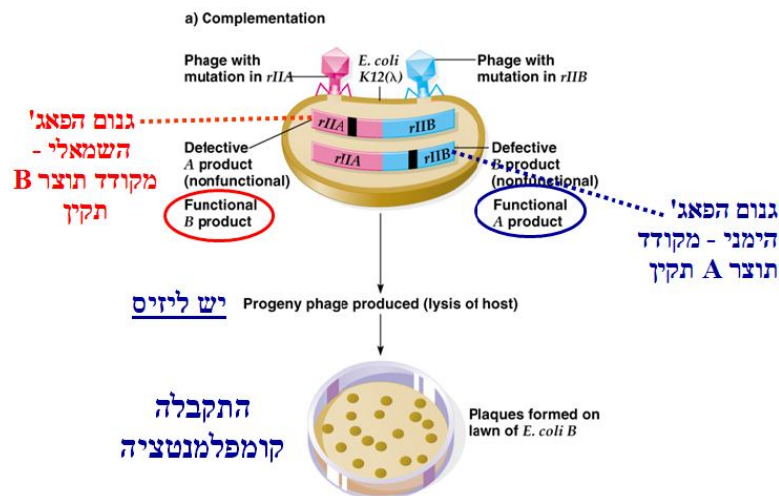
קומפלמנטציה: גן אחד פגוע אך קיים גן נורמאלי שמשלים את פעולתו ודואג לפנוטיפ נורמאלי.

מבחן הקומפלמנטציה:

הדבקה של חיידקים מזן K במכפלת הדבקה גבוהה: 3 פאג'ים לחיידק בעלי שתי מוטציות שונות.

אפשרות-1: יש ליזיס, התקבלה קומפלמנטציה.

ביקורת: הדבקה של זן B כדי לוודא שאכן התקבלו פלאקים המאפיינים את המוטציות.



אפשרות-2: אין ליזיס, אין קומפלמנטציה. כאשר שני המוטנטים באותו הציסטרוני, לא נוצר תוצר תקין של הגן ואין קומפלמנטציה. (בחיידקי K אין רקומבינציה, לא ידוע למה).

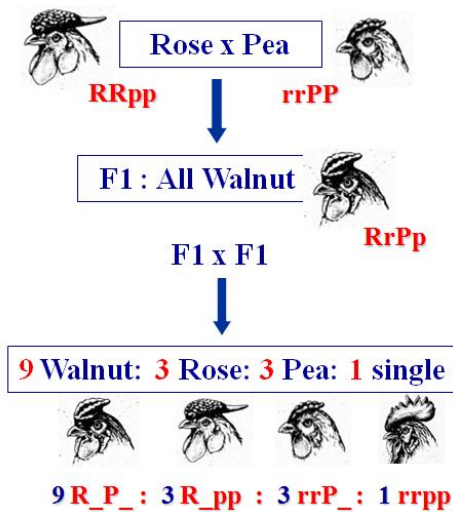
E. אינטראקציות גנטיות

No gene is an island

פעולת שני גנים משפיעה על אותה תכונה:

דוגמת הכרבולות בתרנגולים:

קיימים 4 פנוטיפים לצורת הכרבולת של תרנגול: Single ו Walnut, Rose, Pea. בניסוי ראשוני התגלה כי Pea ו Rose דומיננטיים על Single. הכליאו זנים טהורים שלהם ובדור F1 התגלה כי כל הצאצאים הם מסוג Walnut. הכלאה של פריטים מדור F1 נתנה את התוצאה הבאה: 9 Walnut : 3 Rose : 3 Pea : 1 Single.



מסקנה: צורת הכרבולת נקבעת ע"י 2 גנים שונים (לפחות), ותוצרי הגנים הללו פועלים כנראה יחד, כי השילוב ביניהם יוצר 4 פנוטיפים יחודיים. היחס הזה מוכר מהחוק השני של מנדל לגבי סגרגציה של שני גנים בלתי תלויים. הערה: זה אינו מקרה של קו-דומיננטיות, שם היחסים הם אחרים.

דוגמת צבע העין בדרוזופילה:

בודדו שני מוטנטים נפרדים בצבע העין (חום וסגול). כל אחד מהם הוכלא בפני עצמו עם wt (אדום) ובדור F1 התקבלו בשתי ההכלאות רק זבובים עם עיניים אדומות. ביצעו הכלאה עצמית ובדור F2 התקבל יחס של 3:1 בין העין האדומה לעין בצבע אחר (סגול או חום).



הסבר אפשרי לתופעה הוא ששלושת הפנוטיפים שנצפו יכולים להתאים למצב של גן אחד בעל 3 אללים. הנורמלי נותן פיגמנט אדום, ומוטציות באתרים שונים בגן נותנות צבע חום או סגול.

סימון האללים:

E^+ - עין אדומה.

E^b - עין חומה.

E^s - עין סגולה

התוצאות עד כאן מעידות על כך שכ"א מהפנוטיפים (חום, סגול) נבע ממוטציה רצסיבית בגן יחיד.

אולם לא ברור מה מראה הפנוטיפ שמורכב מהטרזיגוט המכיל אלל לעין חומה ואלל לעין סגולה.

P $bw^+/bw^+ st/st$ X $bw/bw st^+/st^+$
 עין סגולה עין חומה
 ↓
 F1 $bw^+/bw st^+/st$
 עין אדומה
 ↓
 F1 X F1

gametes	$bw^+ st^+$	$bw^+ st$	$bw st^+$	$bw st$
$bw^+ st^+$	red	red	red	red
$bw^+ st$	red	scarlet	red	scarlet
$bw st^+$	red	red	brown	brown
$bw st$	red	scarlet	brown	white

Type of segregation 9:3:3:1

ע"פ המודל הזה, הכלאה בין זבוב בעל עין סגולה לזבוב בעל עין חומה, תניב בדור הראשון רק זבובים מהפנוטיפ הנעלם ובדור F2 יתקבלו זבובים ביחס של 1:2:1.

בפועל, בדור F1 התקבלו זבובים עם עיניים אדומות, ואילו בדור F2 היחס היה 9 אדום : 3 לבן : 3 סגול : 1 לבן.

יחס זה מתאים לסגרגציה של שני גנים בלתי תלויים שהשילוב ביניהם יוצר 4 פנוטיפים שונים.

אדום- לפחות אחד מן האללים הוא דומיננטי בשני הגנים.

לבן- אף-אחד מהאללים אינו דומיננטי.

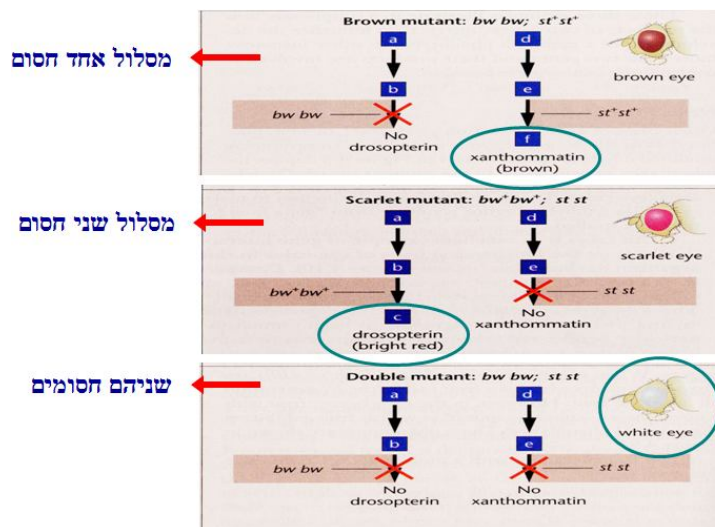
מודל מסלול מטבולי:

המודל המתאים הוא של שני מסלולים ביוכימיים נפרדים ליצירת פיגמנטים, המשתתפים בקביעת צבע העין.

במצב הנורמאלי, ללא מוטציות, המסלול ממשיך עד לצבע האדום.

כל מוטציה גורמת לחסימה אחרת במסלול.

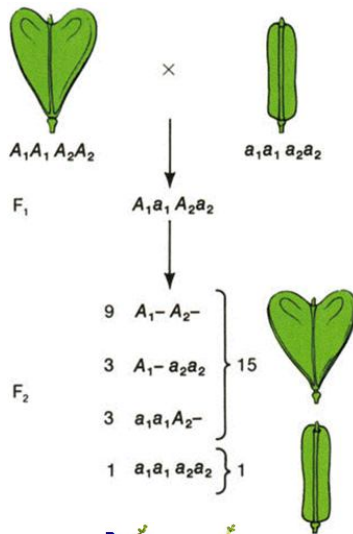
כאשר שני המסלולים חסומים, צבע העין לבן.



סטיות מיחסים מנדליים רגילים

יחס של 1:15 - שני גנים אחראים לאותה פונקציה:

דומיננטיות מלאה:

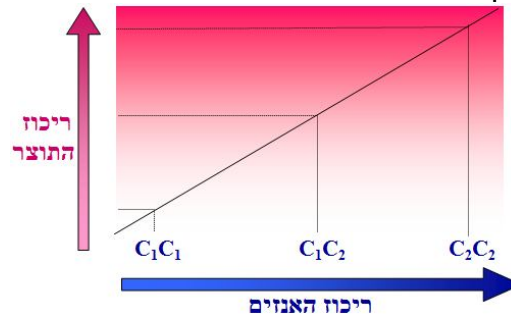
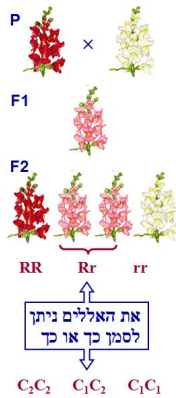


ההסבר הסביר לתוצאה מהסוג הזה הוא duplicate genes, כלומר שני גנים אחראים לאותה פונקציה - לחלבון בעל אותה פעילות. פעילות החלבון זהה ולכן מספיק עותק תקין אחד (=אלל נורמלי) כדי לקבל את הפנוטיפ הדומיננטי. הפנוטיפ הרצסיבי מתקבל רק במצב של ההטרוזיגוט הרצסיבי הכפול.

דומיננטיות חלקית:

ייתכן וייווצר מצב שבו על מנת לראות את הפנוטיפ הדומיננטי נדרשת מנה כפולה של אנזים, ואז התוצר שלו יראה את הפנוטיפ. במקרה של דומיננטיות חלקית, נוצרת רמת ביניים ואז מתקבל

פנוטיפ נוסף, שהוא בין הדומיננטי לרצסיבי.



יחס של 1:6:9 - השפעה אקוויוולנטית של שני גנים:

תוצאה של הכלאה בדור F2 בה שני הגנים משפיעים בצורה אקוויוולנטית. אם אין תוצר פעיל בשני הגנים - נקבל את הצורה הרצסיבית, אם בכל לוקוס נקבל אלל דומיננטי - נקבל את הצורה הדומיננטית, ואם יהיה לנו אלל דומיננטי באחד משני הלוקוסים, נקבל את צורת הביניים.

F2: A-B- 9/16 **A-bb 3/16** **aabb 1/16**

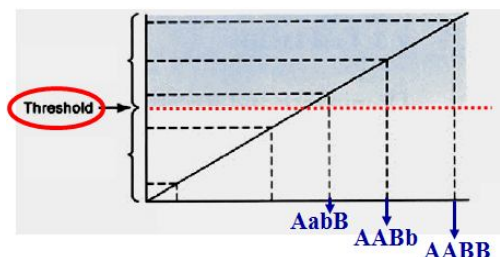


aaB- 3/16

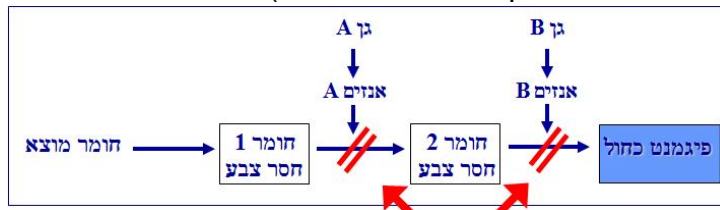


יחס של 7:9 - פעילות משלימה של שני גנים - דרוש אלל תקין מכל אחד:

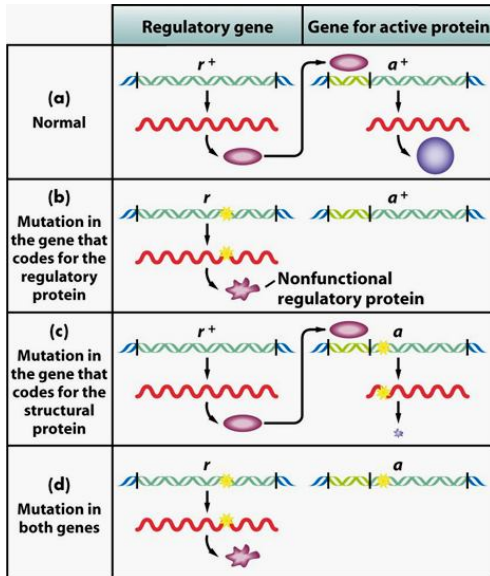
פעילות קומפלמנטרית של 2 גנים, כאשר דרוש אלל תקין מכל אחד מהם. אפשר להציע שישנה רמת סף מינימלית של פיגמנט שמצטבר כתוצאה מפעילות של שני אנזימים שונים.



היחס הזה יכול להתאים גם לאחת הגרסאות של המודל למסלול מטבולי רציף, כאשר פגיעה באחד האנזימים (כאשר שני החומרים שבדרך מראים אותו פנוטיפ), תוביל ליחס הזה.



ניתן למצוא את היחס הזה גם באינטראקציה בין גן מטרה וגן בקרה.



יחס פעילות גנוטיפ

R-A- 9 כן

rrA- לא } החלבון מגן r לא תקין ולא יכול להיקשר ל a^+ .

R-aa לא } יש מוטציה בגן המקודד לחלבון השני- a . 7

rrea לא

אפיסטזיס וגנים לתליים:

יחס של 1:2 - פנוטיפ דומיננטי ולתלי רציבי:

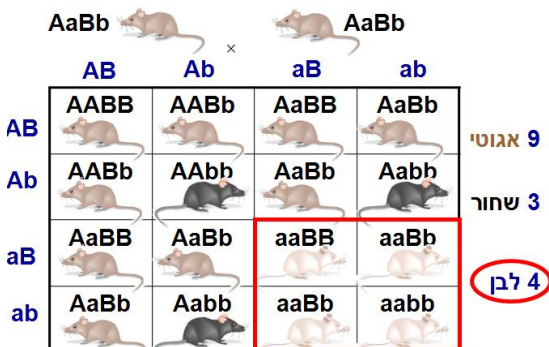
	A	A^Y
A	AA Agouti	AA^Y Yellow
A^Y	AA^Y Yellow	$A^Y A^Y$ Yellow, lethal

מצד אחד האלל מתנהג כדומיננטי מבחינת הפנוטיפ אבל גם כאלל רציבי לתלי, כלומר: הומוזיגוטים למוטנט מתים. ולכן מתקבל יחס מונו היברידי חריג (ולא 1:3 הרגיל).

אפיסטזיס: מצב שבו אחד הגנים משתלט על הפנוטיפ ומבטל את השפעת הגן השני על הפנוטיפ. הדבר מתבטא במסלול מטבולי כאשר חוסר באנזים מסוים עוצר את המסלול.

יחס של 3:4:9 - אפיסטזיס רציבי:

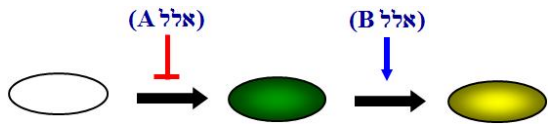
שני גנים המשפיעים על אותה תכונה, אבל האלל הרציבי הוא אפיסטטי, כלומר ממסך (מבטל) את השפעת הגן השני.



העכברים הלבנים הם הומוזיגוטים רציביים בגן האפיסטטי- aa. לעכברים השחורים יש לפחות אלל A אחד והם הומוזיגוטים רציביים בגן השני- bb.

יחס של 1:3:12 – אפיסטזיס דומיננטי:

האלל הדומיננטי בגן האפיסטטי ממסך את השפעתם של שני האללים בגן השני.



מודל המסלול המטבולי:

אלל אחד דומיננטי (A) יספיק לחסימת המסלול אם מדובר בבקרה שלילית, למשל: מעכב של אנזים או חלבון רגולטורי הנקשר לאזור הבקרה של הגן ומשתיק אותו.

haplosufficiency: ברוב המקרים של מוטציות **loss of function** אנו מניחים כי כמות התוצר (כמחצית ממנו) המיוצרת ע"י האלל התקין בהטרוזיגוט מספיקה לקבלת פנוטיפ w.t. לכן, רק הומוזיגוט רצסיבי יהיה בעל פנוטיפ מוטנטי.

haploinsufficiency: מקרים בהם חצי מנה לא תספיק. זה מתאים להנחה של רמת סף דרושה של האנזים או של התוצר שלו. במקרים כאלו תהיה הפרדה פנוטיפית לא רגילה בין Aa,aa לבין AA.

Gain of function: יצירת חלבון מוטנטי בעל פונקציה חדשה, או אנזים המייצר **תוצר חדש**. דוגמא: החלבון Ras שמשמש בקר-על באחד המסלולים המרכזיים של העברת אותות בתאים אוקריוטים, כלומר הוא מתג מולקולרי האחראי לאיזון עדין בבקרת חלוקות תא. מוטציה נקודתית בעותק אחד של הגן יוצרת Gain of function allele וגורמת לחלבון להיות משופעל תמיד ולהמשיך להפעיל מטרות במורד הזרם (התמרה סרטנית).

Dominant negative: האללים הפגועים מפריעים גם לאללים הנורמלים.



חלבונים רבים מורכבים מאזורים נפרדים (domains) שהם בעלי תפקידים שונים. לעיתים קרובות המצב הפעיל הוא של קומפלקס חלבוני הכולל מספר שרשרות פוליפפטידיות נפרדות, כך שהמגע בין תת היחידות יכול להיות נקודתי או לאורך משטחים נרחבים.

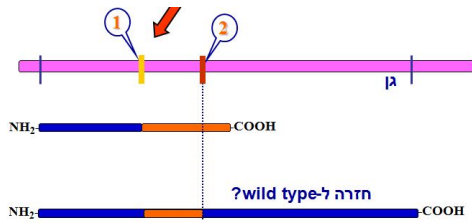
אלל מוטנטי דומיננטי יכול לכלול פגיעה באתר או משטח מגע בין תת יחידות של קומפלקס חלבוני, ואם אזור המגע בצד השני של תת היחידה המוטנטית עדיין קיים, היא תוכל לקשור עותקים תקינים (המקודדים ע"י האלל הרגיל או ע"י גנים לתת יחידות אחרות). הקשרים הללו יהיו בלתי פוריים וימנעו את היווצרות הקומפלקס השלם, למרות קיומו של האלל התקין לגן שנפגע.

במקום שיווצר: נוצר כזה: המכיל גם תוצרי α תקינים וגם מוטנטים המפריעים לתקינות הקומפלקס כולו. הסיכוי למפגש של רק יחידות α תקינות הוא מאוד נמוך.

דוגמא נוספת: מוטציה באזור הבקרה של הגן יכולה לגרום לו להתבטא בזמן או במקום הלא נכון ולהשפיע על קבוצות של גנים המבוקרים על ידו.

סופרסיה

כל שינוי באתר שונה ממקום המוטציה המקורית (לא כל רוורסיה רגילה) שמחזיר לפנוטיפ w.t.



Intragenic: מקום אחר בתוך אותו גן.

דוגמא: מוטציית frame shift, ומוטציה שנייה במורד הזרם של הגן יכולה להחזיר את מסגרת הקריאה.

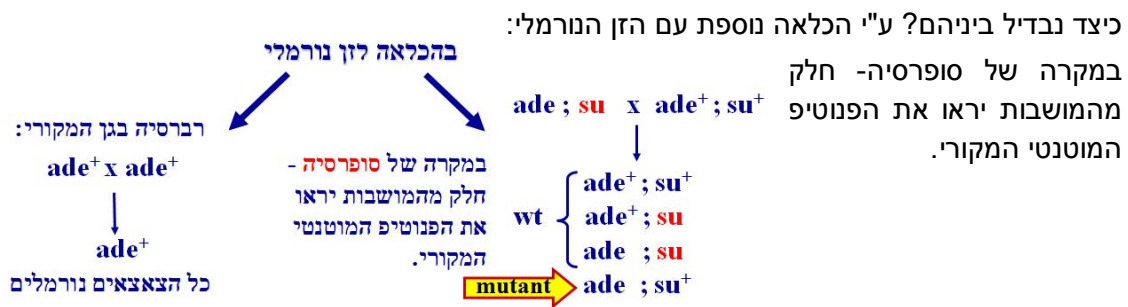
Intergenic: השינוי הוא במקום אחר בגנום.

aa ; ss → wild type, סופרסור יכול להיות רצסיבי או דומיננטי, ובכל מקרה כזה, כשהסופרסור נבדק בפני עצמו (בנפרד מהגנוטיפ המוטנטי aa), יכול להיות לו פנוטיפ מוטנטי ייחודי, או שהוא יהיה wild type.

aa ; S- → wild type

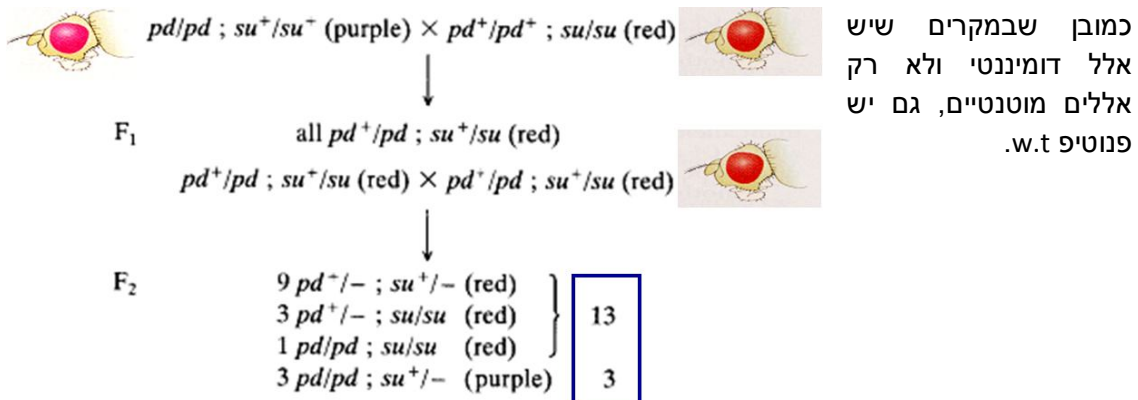
חיפוש סופרסורים במצב הפלואידי:

בשמרים ופטריות- לזרוע על צלחות מספר עצום של מוטנט א שלא מסוגל לגדול בהיעדר אדנין, על צלחות של מצע מינימאלי. המושבות הבודדות שיגדלו יהיו: רוורסיה או סופרסיה.



יחס של 3:13 – סופרסור רצסיבי:

אלל רצסיבי שהוא אפיסטטי לאלל מוטנטי רצסיבי אחר. במצב שבו יש הומוזיגוט למוטנט הרצסיבי והומוזיגוט לאלל האפיסטטי הרצסיבי, יש ביטוי של האפיסטטיות ויש חזרה לפנוטיפ w.t.

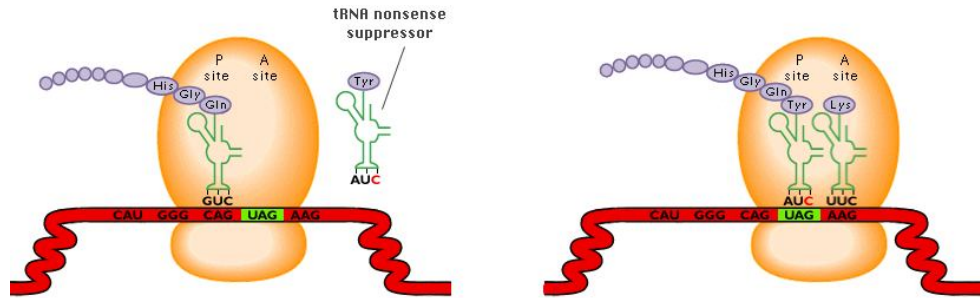


כמובן שבמקרים שיש אלל דומיננטי ולא רק אללים מוטנטיים, גם יש פנוטיפ w.t.

Nonsense Suppressors – סופרסורים דומיננטים ללא פנוטיפ עצמאי:

מחזיר תפקוד לאחר שהתרחשה מוטציית Nonsense באמצע אזור מקודד. קיימים 3 קודוני הפסק לקידוד מ-mRNA לחלבון, ואין tRNA שמכיר אותם. לכן, יש עצירה בתרגום ועם קישור ה-Release Factor, משתחררת השרשרת הפוליפטידית.

השינוי המשמעותי לקבלת סופרסיה הוא שינוי רצף האנטיקודון שמאפשר את הכרת קודון הפסק. האנטיקודון ב-tRNA משתנה, וזה מאפשר הכנסה של חומצת אמינו (לא בהכרח הנכונה), והמשך תרגום של ה-mRNA.



הערה: בד"כ בסוף מסגרת הקריאה יש כמה stop codon, ולכן תרגום החלבון לא ימשיך הרבה. ייתכן כי זהו מנגנון של הטבע להתגבר על טעויות.

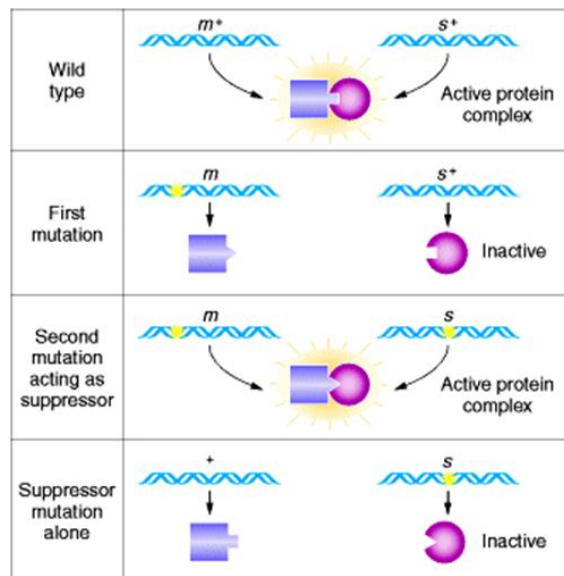
סופרסורים של מוטציות missense קשורים לעיתים קרובות להתאמת "מנעול-מפתח" בין חלבונים בקומפלקס.

(2 החלבונים יוצרים הטרודימר)

מוטציה בחלבון הראשון פוגעת באינטראקציה

מוטציה משלימה בחלבון השני יוצרת אינטראקציה חדשה

הסופרסור בפני עצמו - בעל פנוטיפ מוטנטי



חדירות חלקית (penetrance): אחוז הפרטים בעלי גנוטיפ נתון המבטאים את הפנוטיפ המתאים. זהו מדד אוכלוסייתי שנמדד על-פני שושלות רבות המעריך מה הסיכוי שפנוטיפ כלשהו יבוטא.

Expressivity: מושג המתייחס למידת הביטוי של הפנוטיפ, בעיקר כשניכרת שונות רבה באוכלוסיה.

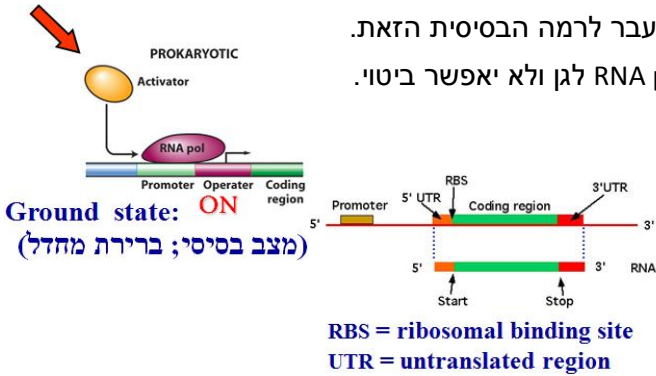
F. בקרת הביטוי הגנטי

בקרת ביטוי גנים פרוקריוטים

בהעדר גורמים אחרים, RNA polymerase יכול להיקשר לאזור הגן ולשעתק את ה-mRNA.

אקטיבטור: חלבון בקרה שיגביר את רמת הביטוי, מעבר לרמה הבסיסית הזאת.

רפרסור: חלבון שיחסום את הגישה של RNA polymerase לגן ולא יאפשר ביטוי.



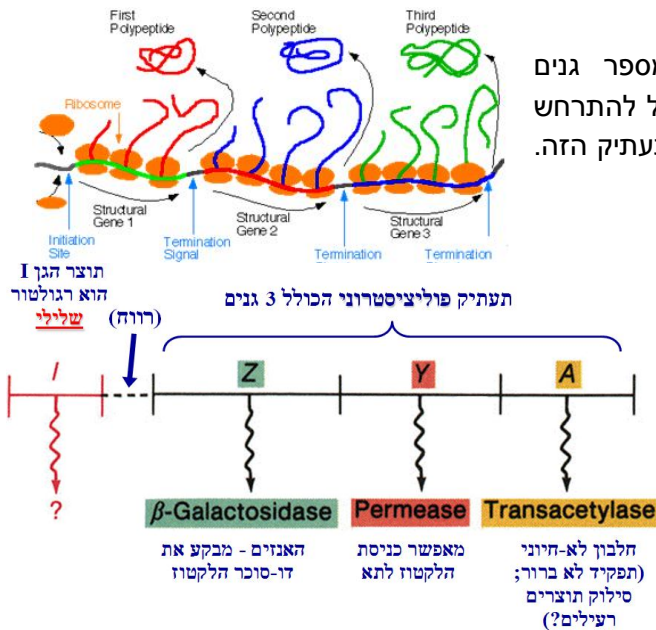
מבנה הגן הפרוקריוטי:

בכל mRNA ישנם אזורים שאינם מתורגמים, משני צידי האזור המקודד.

השעתוק והתרגום מתרחשים בו-זמנית,

בסביבה התוך תאית המשותפת- תוך כדי

השעתוק כבר מגיעים ריבוזומים ומתחילים לסנתז חלבונים, באוקריוטים זה לא קורה כך.



ה"אופרון" החיידקי:

הבקרה הגנטית על מנגנון ניצול הלוקטוז ב-E.coli.

מבנה האופרון:

אלו למעשה 3 גנים עם רווחים מאוד קטנים ביניהם.

ו- חלבון בקרה רפרסור, הוא נקשר ל-DNA ומונע ביטוי (מעכב).

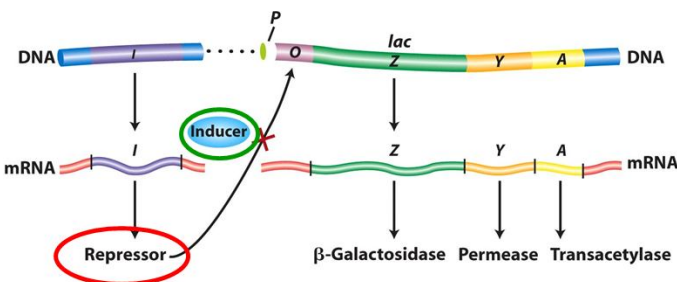
כמות האנזים בחיידק הראתה תלות גדולה

בהרכב הסוכרים של מצע הגידול, כלומר, החיידקים יודעים להתאים את רמת הביטוי שלהם כתלות בריכוזים שבסביבה שלהם.

רק גלוקוז: לחיידק לא כדאי להשקיע אנרגיה בייצור ותרגום החלבונים שמטרתם לייצר גלוקוז מלקטוז כשממילא יש גלוקוז.

Sugar(s) in Growth Medium	Relative amount of β-galactosidase
glucose	1
glucose+lactose	50
lactose	2500

המנגנון:

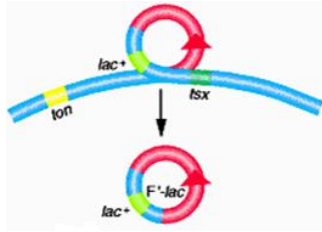


הרפרסור, חלבון המקודד ע"י הגן I שמחוץ

לאזור האופרון, נקשר לרצף ה-DNA O בתחילת האזור המשועתק מאופרון הלוקטוז, וחוסם אותו.

לקטוז משמש כ-inducer, נקשר לרפרסור ומבטל את פעולתו.

איך נערכו הניסויים:



נבדקו צירופים שונים של מוטנטים, ונבדקו יחסי דומיננטיות-רציסיות בין אללים מוטנטים ע"י שימוש בדיפלואידים חלקיים.

כאמור, בזני Hfr ה-F factor עברו אינטגרציה במקום כלשהו בגנום החיידק. באופן נדיר ישנה גם רברסיה של התהליך: רקומבינציה והוצאה של F' factor הכולל גם קטע מהגנום החיידקי (כאן- אזור lac+).

כך ניתן ליצור מצב הטרנזיגוטי בחיידקי F⁻ הנושא מוטציות באזור lac-.

הרפרטור:

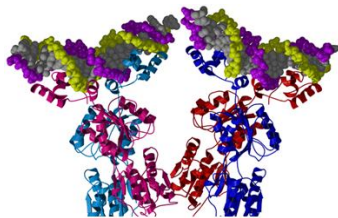
I⁻ אלל מוטנטי רציסיבי- לא נוצר חלבון רפרטור שיכול להתקשר לאתר O⁺. התוצאה: ביטוי רציף של גנים Z⁺, Y⁺ בלי קשר לנוכחות של inducer (לקטוז).



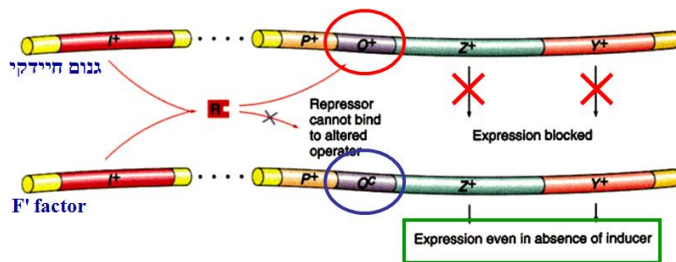
מוטציה נוספת ברפרטור: I^s הרפרטור המוטנטי נקשר לאופרטור אך אינו מסוגל להגיב לאינדוקציה מ-inducer. זהו אלל דומיננטי, גם בנוכחות I⁺ הוא ייקשר לשתי מולקולות ה-DNA ויחסום לחלוטין את הביטוי. זהו **dominant negative** אמיתי.

לרפרטור יש אזורים נפרדים האחראיים ל-2 פונקציות שונות (קישור ל-DNA ותגובה ללקטוז).

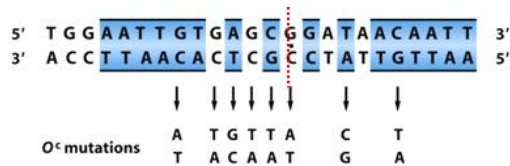
מבנה הרפרטור: טטרמר. קישור של לקטוז גורם לשינוי קונפורמציה ולכן לשחרור מה-DNA.



האופרטור:



O^c - רצף שהשתנה באופרטור. הרפרטור אינו יכול להיקשר לאתר המוטנטי. המוטציה הזו היא דומיננטית ב-cis, רק כלפי מולקולת ה-DNA שבו הרצף יושב. כלומר, יהיה ביטוי קונסטיטוטיבי של תוצרי Z⁺, Y⁺ רק מהגנים על אותה מולקולת DNA עם המוטציה.



מבנה: האופרטור מורכב משני רצפים כפולים, כל אחד מהם בעל סימטריה פנימית.

Catabolic Repression

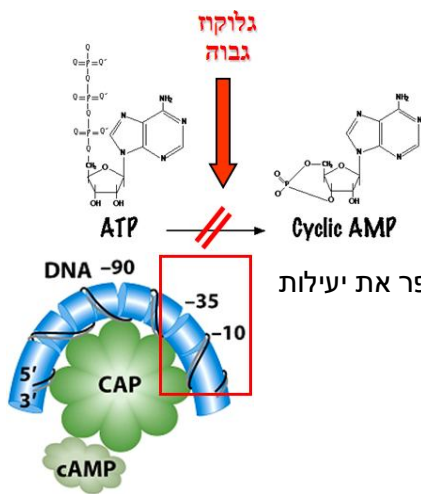
בנוכחות גלוקוז ולקטוז ביחד במצע, נמדדת רמת-ביניים של ייצור האנזים. זוהי תוצאת שילוב של בקרה שלילית (ע"י הרפרסור) ובקרה חיובית ע"י אקטיבטור שמגיב לרמת הגלוקוז במצע (כשיש גלוקוז במצע, כדאי לחייך לנצל קודם אותו).

CAP - החלבון המשמש כאקטיבטור.

האפקט האלוסטרי שלו הוא: cAMP (cyclic AMP).

החלבון CAP יכול להיקשר לרצף המטרה שלו רק בנוכחות האפקטור: cAMP.

החלבון CAP נקשר לזוג רצפי מטרה וגורם לכיפוף ב-DNA שחושף את אתרי הקישור ל-RNA polymerase. כלומר, הוא משפר את יעילות הקשירה שלו.



תמונה כללית של הבקרה באופרון הלקטוז:

רמה יחסית של האנזים:

