

סיכומים בגנטיקה כללית חלק א'

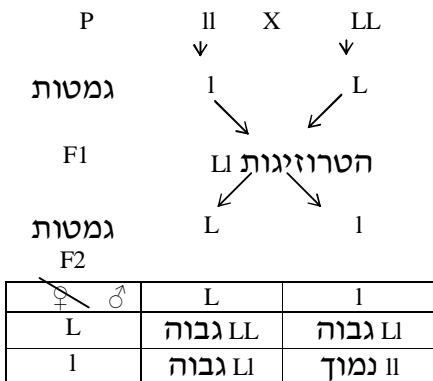
חוקי מנדל

מנדל הוא החוקר הראשון שהחל את הניסויים הגנטיים וזה עוד במאה ה-19, הוא היה כומר שהחל בבדיקה מה גורם לשינוי בין הפרטים בגזעים השונים. הוא ביצע ניסיונות על צמח האפונה כיוון שקל לגדלו ולקבל צאצאים רבים, בנוסף האפונה יכולה לבצע הכלאה עצמית, כלומר אותו צמח הוא בעל אברים נקביים וזכריים. מנדל עקב אחרי מספר תכונות כמו גובה הצמח צבע הפרח וצורת הזרעים.

בהתחלה הוא גידל את הצמחים בהכלאה עצמית לקבלת גזע טהור מכל סוג שהוא בדק, גזע טהור הכוונה לצמחים שהצאצאים שלהם זהים להם. בשלב הבא הוא החל לבצע הכלאות בין שני צמחים בעלי תכונה אחת שונה בלבד צמחים אלו הם דור ההורים (P) הוא הכליא בין צמחים גבוהים לנמוכים ובדור הצאצאים הראשון (F1) הוא קיבל רק צמחים גבוהים, לאחר מכן הוא ביצע הכלאה עצמית בניהם וקיבל את דור הצאצאים השני (F2) בדור זה היו גם צמחים נמוכים (277) וגם צמחים גבוהים (787) כאשר הוא ביצע הכלאה עצמית של צאצאים אלו אז הצמחים הנמוכים תמיד נתנו צמחים נמוכים בעוד שהצמחים הגבוהים נתנו תמיד שליש נמוכים ושני שליש גבוהים.

מנדל גילה כי הדבר זהה גם בשאר התכונות שהוא בודד והיחס תמיד נשאר 3:1, אפילו בהכלאות רציפרוקליות התקבלו אותן תוצאות (הכלאה רציפרוקלית היא הכלאה שבה לוקחים את המינים ההפוכים לתכונות שנלקחו בהפריה המקורית לדוגמה אם במקור הזכר היה גבוה והנקבה נמוכה בהכלאה רציפרוקלית הזכר נמוך והנקבה גבוהה). מכאן הוא הגיע למסקנה שכל התכונות נקבעות על ידי פקטורים תאיים, פקטורים אלו נפרדים בזמן יצירת הגמטות (תאי המין) כך שכל גמטה מקבלת פקטור אחד.

בניסוי של מנדל רואים כי בדור הצאצאים הראשון נעלמת תכונה של אחד הצמחים מכאן שתכונה זו היא רצסיבית (נשלטת) לעומת זאת התכונה שלא נעלמת היא התכונה הדומיננטית (השולטת) והיא מופיעה בכל דור. את הפקטור התאי המסמן גובה נסמן ב-L לצמח גבוה ו-I לצמח נמוך. בכל צמח יש שני פקטורים כך שהצמח הנמוך הוא II והגבוה הטהור הוא LL. אלו הם הגנוטיפים Genotype (ההרכב הגנטי) לפנוטיפים Phenotype (התיאור החיצוני של ביטוי התכונה) של הגובה של הצמח. Allele לפקטור התאי קוראים אלל.



היחס הוא 3:1 מבחינה פנוטיפית ו-1:2:1 מבחינה גנוטיפית.

כשמנדל לקח צמחים נמוכים בלבד הוא קיבל כל הזמן צמחים נמוכים כיוון שהם הומוזיגוטים (גזע טהור) לתכונה זו. ליצור יש מקסימום שני אללים (הומוזיגוטים או הטרוזיגוטים).

Rh הוא סוג דם מסוים, כאשר Rh+ הם אלו שיכולים ליצור אנטיגן ואילו Rh- לא מסוגלים ליצור אנטיגן, אם תינוק הוא Rh+ והאם היא Rh- והדבר לא מטופל אז התינוק הבא של אותה אם ימות במידה והוא Rh+ ולכן אמהות אלו מקבלות זריקה לשם שינוי הדבר.

	מס' צאצאים		Rh של ההורים	
	Rh-	Rh+	האב	האם
גם האב וגם האם הם הומוזיגוטים של Rh-	31	0	- rr	- rr
	8	18	+ Rr	- rr
האב והאם הם הטרוזיגוטים של Rh+	83	73	+ Rr	+ Rr
סה"כ צאצאים	122	91		

מי שיש לו Rh+ יש לו שני אללים לקביעת סוג הדם יתכן ששניהם היו זהים או לא ואז מה שקובע את סוג הדם + הוא הדומיננטי, היחסים במדגם זה הם לא כמו מנדל כיוון שהמדגם קטן וגם כיוון שאלו זיווגים של בני אדם ומדובר על משפחות שונות ויכולים להיות שני ההורים הומוזיגוטים או שניהם הטרוזיגוטים או שאחד הומוזיגוט והשני הטרוזיגוט. באוכלוסייה הם 15% Rh- ו-85% הם Rh+ שזה לא כמו מנדל (היה צריך להיות 25% לפי מנדל) וזאת בגלל זיווגים אקראיים.

מנדל ביצע גם ניסיונות בהם הוא עקב אחר מעבר של שתי תכונות בו זמנית, אחת הדוגמאות היא צמח עם זרעים עגולים וצבע ירוק שהוכלא עם צמחים בעלי גרעינים מקומטים וצבע צהוב:



טבלה להסבר גנוטיפים לצאצאים ב-F2

♀	♂	RY	Ry	rY	ry
RY		RRYY	RRYy	RrYY	RrYy
		עגול צהוב	עגול צהוב	עגול צהוב	עגול צהוב
Ry		RRYy	RRyy	RrYy	Rryy
		עגול צהוב	עגול ירוק	עגול צהוב	עגול ירוק
rY		RrYY	RrYy	rrYY	rrYy
		עגול צהוב	עגול צהוב	מקומט צהוב	מקומט צהוב
ry		RrYy	Rryy	rrYy	rryy
		עגול צהוב	עגול ירוק	מקומט צהוב	מקומט ירוק

יש כאן 16 גנוטיפים שאחד מהם הוא רצסיבי טהור ואחד דומיננטי טהור, עם נעקוב אחר תכונה אחת מהשתיים בהכלאה הזו ניראה כי היחס הוא 3:1.

ההפרדה של זוג אללים האחראיים לתכונה מסוימת אינו תלוי בהפרדה של זוג אללים אחרים ותמיד מקבלים מזיווג של הטרזויגוטים לשני תכונות את היחס 1:3:3:1. זה הוא החוק השני של מנדל.

על מנת לבדוק שתכונות שונות לא תלויות זו בזו לוקחים צאצאים של F1 כלומר RrYy ומכליאים אותם עם הומוזיגוטים רצסיביים כלומר rryy, אנו מקבלים את התוצאות הבאות RrYy ; Rryy ; rrYy ; rryy ביחס של 1:1:1:1 ומכאן שאין תלות בין התכונות הללו. הכלאה של זן מסוים עם הומוזיגוט רצסיבי נקראת הכלאת מבחן Test Cross ובשיטה זו משתמשים לשם ידיעת הגנוטיפים של פנוטיפים ידועים.

תאחיזה למין

לרוב המינים יש שני פנוטיפים אחד זכרי והשני נקבי, בצמחים למשל ההשפעה על המין נובעת מהסביבה (טמפרטורה קרקע וכו') לעומת זאת אצל רוב האורגניזמים קביעת המין היא גנטית.

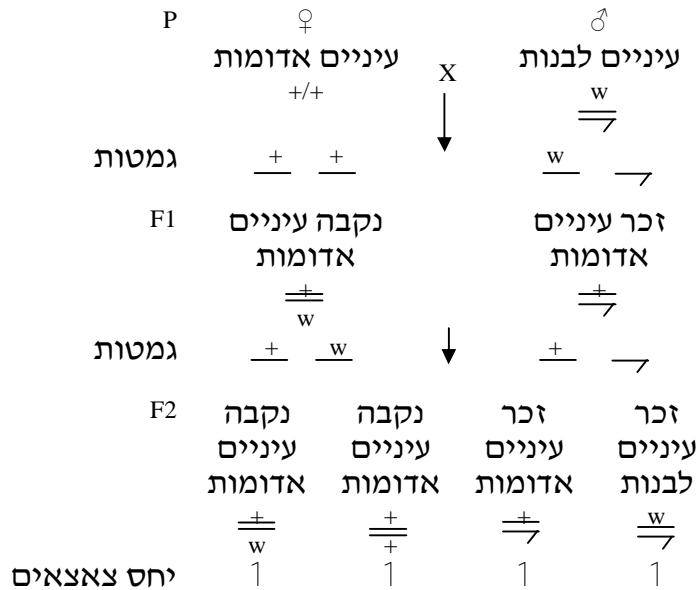
מניסויים שנערכו הסיקו שכרומוזום ה-X הוא זה שקובע את המין ברוב האורגניזמים, כך שבנקבה יש שני כרומוזומי X (Homogametic Sex XX) ובזכר יש כרומוזום X אחד וכרומוזום Y אחד (Heterogametic Sex XY). הכרומוזומים X ו-Y הם לא הומולוגים והם לא מתחברים בזמן המיזוג, אך קיימת הומולוגיה באזור קטן בקצוות שלהם.

תכונות שונות הנמצאות על כרומוזום X נקראות תכונות בתאחיזה ל-X (X-Linked), בבני אדם המין נקבע לפי המצאות או אי-המצאות של כרומוזום Y, כלומר XY ו-XXY הם זכרים.

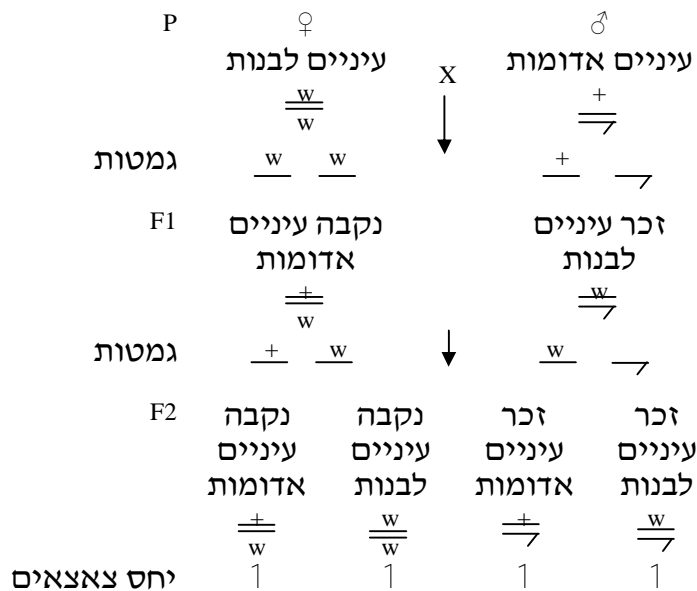
כל הכרומוזומים בגוף מלבד כרומוזומי המין נקראים כרומוזומי גוף או אוטוזומים לכן באדם יש 44 אוטוזומים ושני כרומוזומי מין. התכונות הנישאות על כרומוזומים אוטוזומים מתנהגות לפי חוקי מנדל, נשאלת השאלה האם תכונות בתאחיזה למין מתנהגות לפי חוקי מנדל? כדי לפתור שאלה זו הוכלאו זבובי דרוזופילה בעלי עיניים אדומות עם זבובי דרוזופילה בעלי עיניים לבנות:



מאחר וקיבלנו הבדלים בין הזכרים והנקבות הרי שצבע העיניים הוא לא אוטוזומלי, נסמן את צבע העין האדום ב- w^+ והצבע הלבן ב- w וכמו כן נסמן כרומוזום X בקו ישר וכרומוזום Y בקו עם קצה נטוי.



מהנקבות קיבלנו 50% הטרוזיגוטיות לאלל הדומיננטי ו-50% הומוזיגוטיות לאלל זה. הכלאה רציפרוקלית היא הכלאה הפוכה כלומר התכונות מתהפכות בין הזכר לנקבה כך שהזכר בהכלאה זו הוא בעל התכונות של הנקבה בהכלאה המקורית ואילו הנקבה בהכלאה זו היא בעלת התכונות של הזכר מההכלאה המקורית. במקרה זה ההכלאה הרציפרוקלית תיתן תוצאות שונות.



אנו מקבלים עכשיו כי מחצית מהנקבות ב-F2 הן בעלי עיניים לבנות. מכאן שהתכונה לצבע העיניים בדרוזופולה נקבעת על ידי כרומוזום X ולא לפי חוקי מנדל. הזכרים הם הומוזיגוטים חלקיים כיוון שיש להם רק אלל אחד והוא קובע את הפנוטיפ (עיניים אדומות או לבנות).

כאשר יש שני כרומוזומי מין שונים זה הטרוזיגוט ואילו הומוזיגוט זה שהם זהים כאשר ההומוזיגוט מסמן נקבה והטרוזיגוט זכר אז הכרומוזומים הם X ו-Y כך ש-

xx זה נקבה ו-xy זה זכר אך במצב ההפוך שההומוזיגוט זה זכר וההטרוזיגוט זה נקבה אז אזו הכרומוזומים הם z ו-w כך שנקבה זה zw וזכר הוא zz.

בשולת חיים מסמנים נקבה בעיגול וזכר בריבוע, ומעייין זה כאשר המין לא ידוע (בדרך כלל ילד שעוד לא נולד), כאשר הסימן ריק אז הפרט בריא ושהוא מלא אז הפרט נושא תכונה מסוימת או מחלה. סימון שעליו קו מלכסן מסמן שהפרט מת. קו בין עיגול לריבוע מסמן נישואים, חץ משמעותו האדם ממנו התחלנו לבנות את עץ המשפחה, כשיש שני קווים בין בני זוג (=) הכוונה לנישואי קרובים. כאשר יש קו וממנו התפצלות לצאצאים הכוונה לתאומים זהים (♂) ואם יש התפצלות ללא קו זה תאומים לא זהים (♀). משמאל לעץ המשפחה מציינים את מספר הדור ובכל שורה שהיא דור אחד ממספרים את הפריטים בסדר עולה משמאל לימין.

בבני אדם יש 4 צורות עיקריות שונות של תורשה והם: תורשה אוטוזומלית דומיננטית או רצסיבית בהם התכונות מועברות על ידי אוטוזומים ותורשה בתאחיזה למין שגם היא דומיננטית או רצסיבית והיא בדרך כלל לכרומוזום x.

מחלת התלסמיה היא מחלה שנגרמת מפגיעה בגלובין וההמוגלובין כתוצאה מכך לא יכול לקשור חמצן, במחלה זו הדם לא מסוגל להעביר חמצן ולכן צריך להחליף אותו כל כמה שבועות. מחלת התלסמיה היא מחלה תורשתית אוטוזומלית רצסיבית לכן יתכן כי לילד חולה יש שני הורים בריאים וזה נקרא Oblivatori Hatrozigot, במקרה זה שני ההורים נראים בריאים אך הם בעצם נשאים.

בדרך כלל המחלות הרצסיביות קשות ובעצי משפחה רואים בדרך כלל בדור מסוים מספר חולים. מחלות מסוג זה נפוצות בנשואי קרובים ומספר הבנים והבנות החולים בדרך כלל זהה.

הצורה האוטוזומלית הדומיננטית תיתן יותר חולים במשפחה מסוימת, בכל דור ניתן היה למצוא חולים ולכל צאצא חולה יש לפחות הורה אחד חולה, גם כאן מספר הזכרים החולים זהה בערך למספר הנקבות החולות. היפרכולסטרולומניה זו מחלה תורשתית הגורמת לעודף כולסטרול והתקפי לב בגיל צעיר, החולים במחלה זו הם בדרך כלל הטרוזיגוטים כיוון שמחלות אוטוזומליות דומיננטיות הם בדרך כלל חזקות יותר כשהם הומוזיגוטים ואפילו גורמות למוות. מחלה זו (היפרכולסטרולומניה) היא בשכיחות של 1:500 במצב ההטרוזיגוטי ו-1 למליון במצב ההומוזיגוטי.

$$\begin{array}{ccccccc}
 & & & & X & & \\
 & & & & \downarrow & & \\
 P: & Aa & & & Aa & & \\
 & & & & & & \\
 F1: & aa & : & Aa & : & AA & \\
 & 25\% & & 50\% & & 25\% &
 \end{array}$$

סיכוי ל-AA

$$1/2 * 1/500 * 1/2 * 1/500 = 1/1,000,000$$

על אף שהסיכוי הוא לפי מנדל יתכן כי במשפחה אחת יהיו כל הילדים חולים ובשניה כולם בריאים (שבשני המקרים שני ההורים נשאים).

בתורשה בתאחיזה למין רצסיבית לילד חולה יהיו הורים בריאים בדרך כלל, אנו מוצאים יותר בנים חולים מבנות כיוון שהמחלה עוברת על ידי כרומוזום x ולזכרים יש רק אחד, אז גם במחלה רצסיבית הוא מבוטא בעוד שבנקבות צריך ששני כרומוזומי ה-x יהיו חולים. מחלת ההמופיליה היא בתאחיזה למין ורצסיבית, במידה וגבר חולה מתחתן עם אישה בריאה הומוזיגוטי הסיכוי לילד חולה (בן או בת) הוא אפס כיוון שהבן מקבל את ה-x מהאם והוא בריא ולבת יש x אחד בריא

מהאם והוא דומיננטי על ה- x החולה מהאב. גם עיוורון צבעים הוא רצסיבי ובתאחיזה למין ולכן יש יותר בנים חולים.

בתאחיזה למין דומיננטית אנו מקבלים חולים בכל הדורות וקיימת בעיה להבדיל בין תאחיזה למים דומיננטית לבין תורשה אוטוזומלית דומיננטית.

סוג נוסף של תורשה הוא בתאחיזה לכרומוזום y לא ידוע על כך הרבה אך דוגמה לכך היא אוזן שעירה אשר בה חולים רק גברים במשפחה.

תורשה נוספת היא תורשה מיטוכונדראלית שהיא תורשה אימהית, למיטוכונדריה יש DNA משל עצמה ופגיעה בו יכולה לגרום למחלות שונות, מקור המיטוכונדריות האדם הם מהביצית כיוון שהמיטוכונדריות של תא הזרע מפורקות בכניסה לתא הביצית. במידה והאם חולה במחלה שעוברת בתורשה זו כל ילדיה יהיו חולים אך אם האב חולה אף אחד מילדיו לא יהיה חולה. בין המחלות העוברות בתורשה זו הם סוגים של חירשות ועיוורון כתוצאה מפגיעה ברשתית, מחלות אלו יכולות להיות ברמות שונות תלוי בכמה מיטוכונדריות פגועות ובכמה בריאות יורש הצאצא מאמו.

אנאקטיבציה של כרומוזום X-Inactivation X

הדבר התגלה ביונקים בעת מעקב אחר מעבר בתאחיזה ל- x אחד הגנים G6PD (האחראי על יצירת גלוקוֹז 6 פוספט דהידרוגנאז), פגיעה באנזים זה גורמת לרגישות יתר לפול כיוון שהוא מעכב בתאי דם בעלי האנזים הפגוע את פעילות האנזים ובכך להומוליזה של תאי הדם האדומים.

כשבדקו את פעילות האנזים התברר שרמת הפעילות שלו שווה אצל גברים ונשים במצב הנורמלי, דבר זה נוגד את הציפיות כיוון שלאישה יש שני כרומוזומי x ומצפים לפעילות כפולה של האנזים, מחקר בנושא על ידי Mary Lyon הביא לתיאוריה שבה אחד מכרומוזומי ה- x של הנקבה עובר אנאקטיבציה, כלומר משותק וכך יש רק x אחד פעיל, לשיתוק יש העדפה להיות על כרומוזום x לא קשור ו/או בעל מוטציה אך אין זו העדפה ב-100%. לתיאורית השיתוק קוראים Lyonization.

לפי השערות השיתוק מתבצע לאחר החלוקה ל-100 תאים וההחלטה מי ישותק היא אקראית, כשתא עובר שיתוק כל תא שנוצר ממנו הוא בעל אותו שיתוק, כך נוצרת מוזאיקה, תערובת, של תאים שבחלקה ה- x האימהי משותק ובחלקה ה- x האבהי משותק.

לתיאוריה זו יש הוכחה מיקרוסקופית שהיא גופיף קטן שלא מופיע אצל זכרים (אלא אם הם XXY) והוא ניקרא Barr Body (על שם המדען שגילה אותו). גופיף זה הוא אותו כרומוזום x הלא פעיל, כשהסתכלו על נקבות שהן xxx הם מצאו שני גופיפים כאלו כלומר שני כרומוזומי x לא פעילים.

בעכבר צבע הפרווה הוא בתאחיזה ל- x ואצל נקבות מקבלים תערובת בצבע, כלומר שני צבעים בפרווה משני ההורים, ואילו בזכר מקבלים פרווה בצבע אחיד, כנ"ל גם בחתולים. הדבר מתקבל כיוון שבעת השיתוק הוא מתרחש בחלק מהתאים על ה- x האבהי ובשאר על האימהי ותאים שיוצרים את הפרווה הם משני הסוגים. השיתוק כנראה אינו שיתוק מלא וישנם גנים שעדיין צריכים להיות פעילים בשני עותקים ולכן נקבות שהן xo הן לא בריאות לחלוטין.

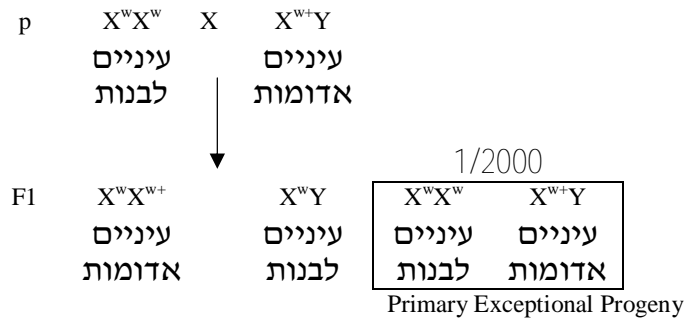
תסמונת ה-X השביר Fragile X היא מחלה הגורמת לפיגור שכלי, במחלה זו נגרמת פגיעה בגן הנמצא על כרומוזום X, זכרים שקיבלו X פגום הם בעלי פיגור שכלי כל שהוא אך נקבה שמקבלת X פגום - הסיכוי שהיא תהיה חולה הוא מקסימום 50% תלוי באיזה X היה השיתוק.

הגוף נוטה לשתק כרומוזום X שלא עובר טרנסלוקציה (חיבור כרומוזומים או מקטעים לא הומולוגים טרנסלוקציה מאוזנת היא ללא איבוד של חומר גנטי), זאת כיוון שאם ההשתקה תהייה לכרומוזום X שעבר טרנסלוקציה היא תשפיע גם על הכרומוזום שמחובר עליו ואז היה לתא פגיעה משמעותית והוא ימות. תסמונת ה-X השביר היא רצסיבית אך מתנהגת כדומיננטית לחלוטין בגברים ורק חלקית בנשים.

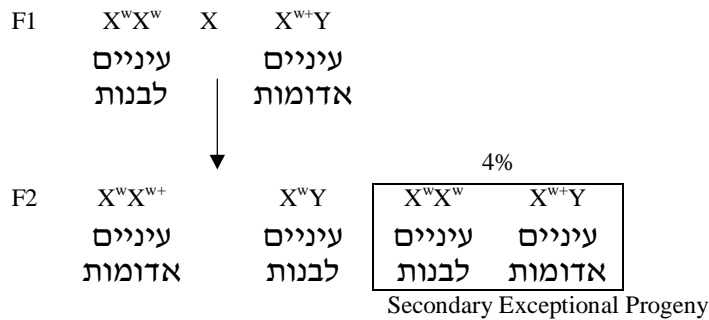
הבסיס הכרומוזומלי לתורשה

מנדל דיבר על פקטורים תאיים ובמקביל התגלו הכרומוטין והכרומוזומים וגם חלוקת התא, כמו כן מצאו הקבלה בין אותם פקטורים תאיים שעליהם דיבר מנדל לבין הכרומוזומים. מנדל טען כי לכל תכונה יש שני פקטורים תאיים, ובזמן יצירת הגמטות יש הפרדה בניהם ואנו רואים כי כך הדבר בכרומוזומים שנפרדים בחלוקת התא לגמטות כך שכל אחד מהתאים מקבל כרומוזום אחד מהצמד בתא המקורי.

מורגן הראה שיש קשר בין התכונה של צבע העין בזבוב לכרומוזומי המין



אנו מקבלים 1 ל-2000 צאצאים חריגים הנקראים Primary Exceptional Progeny, בבדיקה של צאצאים אלו התגלה כי כל הזכרים בעלי העיניים האדומות הם עקרים (סטריילים), כל הנקבות בעלות העיניים הלבנות שהתקבלו הועברו הכלאה עם זכרים בעלי עיניים אדומות (זכרים חדשים ללא קשר להכלאה הקודמת).



התקבלו יותר צאצאים חריגים והם נקראים Secondary Exceptional Progeny וכאן הזכרים בעלי העיניים האדומות לא עקרים.

ההסבר לכך הוא שהנקבות בעלות העיניים הלבנות שנוצרו חייבות לקבל את האלל מהאם והזכרים בעלי העיניים האדומות חייבים לקבל את האלל מהאב. ההשערה היא שהפרדת האללים במקרים אלו נפגעה במאורע נדיר וכתוצאה מכך לא הופרדו כרומוזומי ה-X ביצירת הגמטות, לדבר זה קוראים Non-Disjunction.

הניסוי של Bridges

F1 (1/2000)

♀	♂	X^{w+}	Y
$X^w X^w$	$X^w X^w X^{w+}$ מתים	$X^w X^w Y$ נקבות עם עיניים לבנות	
O	$X^{w+} O$ זכרים עם עיניים אדומות	OY מתים	

כל הזכרים סטרילים

F2 (4%)

♀	♂	X^{w+}	Y
$X^w X^w$	$X^w X^w X^{w+}$ מתים	$X^w X^w Y$ נקבות עם עיניים לבנות	
Y	$X^{w+} Y$ זכרים עם עיניים אדומות	YY מתים	

כל הזכרים פוריים

בדרוזופילה מספר כרומוזומי ה-X הוא זה שקובע את המין ולא קיום או אי קיום כרומוזום Y, אך כרומוזום Y הכרחי לפוריות הזכרים בדרוזופילה.

F2 (96%)

♀	♂	X^{w+}	Y
X^w	$X^w X^{w+}$ נקבות עם עיניים אדומות	$X^w Y$ זכרים עם עיניים לבנות	
$X^w Y$	$X^{w+} X^w Y$ נקבות עם עיניים אדומות	$X^w Y Y$ מתים	

אנו רואים כי בדור השני שהוכלאו הנקבות הבלתי צפויות עם זכרים בעלי עיניים אדומות (גזע טהור) התקבלו 96% מהתוצאות צפויות אך כמות הצאצאים הלא צפויים גדלה. סיבה לקבלת התוצרים הלא צפויים היא אי הפרדות של כרומוזומים הומולוגים.

ב-F2 יש יותר סיכוי לאי הפרדה כיוון שכבר מתחילים מ-XXY ולא XX ולכן גם הזכרים בהכלאה הזו היו פוריים ולא סטריליים כמו בהכלאה הקודמת. גם באדם קיימת תופעה כזו ובתסמונת דאון יש 95% מהמקרים מצב של אי הפרדה של כרומוזומים, שכיחות תסמונת דאון באוכלוסייה היא 1:1000.

גנים רב אללים

קיימים 4 סוגי דם שונים A, B, AB, O - ההפרדה בניהם היא על ידי אנטיגנים אנטיגן A ואנטיגן B, AB מייצר את שני אנטיגנים O - לא מייצר אנטיגנים כלל.

הערות	פנוטיפ הצאצאים				פנוטיפ ההורים	מספר הכלאה
	AB	B	A	O		
הומוזיגוט	-	-	-	+	O X O	1
O רצסיבי ביחס ל-A ו-A הטרוזיגוט	-	-	+	+	A X O	2
B הטרוזיגוט ודומיננטי ביחס ל-O	-	+	-	+	B X O	3
AB כולל שני אללים ל-A ול-B ושניהם מבוטאים	-	+	+	-	AB X O	4
O רצסיבי ו-A הטרוזיגוט בעל הגן ליצירת O	-	-	+	+	A X A	5
	+	+	+	+	B X A	6
	+	+	+	-	AB X A	7
O רצסיבי ו-B הטרוזיגוט בעל הגן ליצירת O	-	+	-	+	B X B	8
	+	+	+	-	AB X B	9
ל-AB אין את האלל ליצירת O	+	+	+	-	AB X AB	10

אנו רואים כי יש שני גנים הבאים לביטוי בצורה שווה הדבר נקרא קו-דומיננטיות Co-Dominant. ה-O הוא רצסיבי ביחס ל-A ול-B. ההנחה היא שיכולים להיות מקסימום 2 גנים אחד ל-A ואחד ל-B והגנים הרצסיבי לשניהם נותנים O. כש-A דומיננטי ו-B רצסיבי נקבל סוג דם A, כש-B דומיננטי ו-A רצסיבי נקבל סוג דם B, כש-A דומיננטי ו-B דומיננטי נקבל סוג דם AB וכש-A רצסיבי ו-B רצסיבי נקבל סוג דם O. לא משנה אם הדומיננטיות נובעת מהומוזיגוט לגן או מהטרוזיגוט לגן.

במידה וההנחה נכונה אז מהכלאת AB עם AB אנו צריכים לקבל גם O לפי החוק השני של מנדל, אך אנו רואים כי זה לא כך מכאן שהנחה לא נכונה. ההסבר לתורשה הזו הוא גן אחד עם 3 אללים שהם I^A, I^B, i ולכן הגנוטיפ של סוגי הדם השונים הוא:

פנוטיפ	גנוטיפ
AB	$I^A I^B$
A	$I^A i$ $I^A I^A$
B	$I^B i$ $I^B I^B$
O	ii

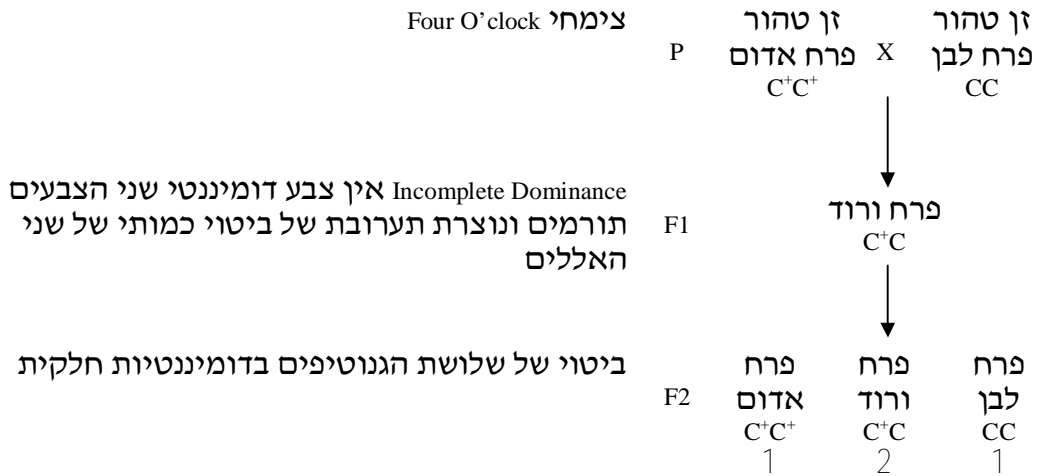
במידה ולשני הורים בעלי סוג דם O נולד ילד בעל סוג דם A או B זה בעכבות רקומבינציה.

גן הוא מקטע DNA האחראי על יצירת חלבון מסוים, יתכן כי ההבדל בין I^A ל- i הוא בסיס אחד או כמה בסיסים והמוטציה שנוצרת גורמת לשינוי בחלבון או פגיעה ואפילו אי יצירה של החלבון.

הגנים של תכונות רצסיביות הם בדרך כלל אנזימים ומספיק שיבוטא עותק אחד לזירוז תהליך, לדוגמה טלסמיה (פגיעה בהמוגלובין) שהיא רצסיבית ואם יש הטרוזיגוט הוא בעל אנמיה חלקית ותהיה פגיעה בהעברת החמצן אך לא יהיה

צורך בהחלפת הדם כל כמה שבועות. בהטרוזיגוט רצסיבי אנו נראה פנוטיפ נורמלי כיוון שהחלק התקין דומיננטי אך עדיין תהיה פגיעה.

דומיננטיות חלקית היא מצב בו הפנוטיפ ההטרוזיגוט מראה פנוטיפ ביניים בין הפנוטיפים של ההורים ההומוזיגוטיים (פנוטיפ הביניים יכול להיות קרוב יותר לאחד ההורים או בדיוק בניהם תלוי במידת הביטוי של האללים משני ההורים).



אנמיה חרמשית היא מחלה של פגיעה בהמוגלובין המצב הנורמלי הוא $H^A H^A$ והחולה הוא $H^S H^S$. בהטרוזיגוט יש $H^A H^S$ שהוא מצב מורכב, במצב זה יש דומיננטיות מלאה לקשירת החמצן ל- H^A , בנוסף יש כדוריות דם אדומות באחוז נמוך שהם בצורת חרמש וזה נובע מדומיננטיות חלקית וגם קיים מצב שבאותו תא יש חלבון נורמלי וחלבון פגוע כלומר ביטוי החלבון בהטרוזיגוט הוא קו-דומיננטי.

פנוטיפים זהים - גנים שונים

לדוגמה שני עיוורים שלהם נולדו ילדים בעלי ראייה תקינה, ההסבר הוא שיש מספר גנים לראיה וכל אחד מההורים פגוע בגן אחר בראיה ואילו הילדים הם הטרוזיגוטים לשני הגנים הפגועים אך בעלי ראייה תקינה.

בזבובי הדריזופולה קיבלו 5 סוגי מוטנטים עם עיניים חומות כדי לבדוק את הגן הפגוע ולראות אם הם באותו גן או בגנים שונים בוצעו ההכלאות הבאות:

+ אדום, M מוטנט

5	4	3	2	1	
+	M	+	+	M	1
M	+	M	M	+	2
M	+	M	M	+	3
+	M	+	+	M	4
M	+	M	M	+	5

כל אלו שנתנו עיניים אדומות הם משלימים אחד של השני כלומר הפגיעה היא בגן שונה בעוד ששני מוטנטים עם פגיעה באותו גן נותנים מוטנט. למבחן זה קוראים מבחן קומפלמנטציה. במקרה זה יש ב-5 מוטנטים פגיעות בשני גנים כך ש-1 ו-4 לא משלימים אחד את השני וגם 2,3 ו-5 לא משלימים אחד את השני, אך שילוב בין שני קבוצות אלו נותן השלמה נהוג לסמן זאת כך:

$$\frac{1}{4} \quad \frac{2}{3} \\ \frac{5}{5}$$

פטריות חיות רוב הזמן כדיפלואידיות ורק לאחר זמן מה הם הופכות להפלואידיות, אם ניקח שני תאים הפלואידים שהם His- כלומר שניהם בעלי פגיעה ביצור ההיסטידין, כשמערבבים אותם נוצר חיבור בניהם בציטופלזמה אך הגרעינים לא עוברים מיזוג, מצב זה נקרא הטרוקריון Heterokaryon, התוצר המתקבל יכול ליצור היסטידין מה שאומר שהייתה השלמה גנטית.

בניסוי בו בודדו 5 מוטציות של פטריית הנורוסדה שלכולם פגיעה ביצור של היסטידין, כאשר ביצעו בניהם הכלאות קיבלו:

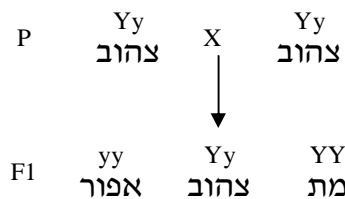
5	4	3	2	1	
-	-	-	-	-	1
+	+	+	-	-	2
+	+	-	+	-	3
-	-	+	+	-	4
-	-	+	+	-	5

מוטנט 1 לא משלים את עצמו עם אף אחד ויתכן כי הפגיעה בו היא בכמה גנים, מוטנט 2 משלים את 3, 4 ו-5, מוטנט 3 משלים את 4 ו-5 ומוטנטים 4 ו-5 הם בעלי פגיעה באותו גן, לכן הסימון הוא:

$$\frac{1}{4} \quad \frac{2}{3} \\ \frac{5}{5}$$

בעכבר הצבע הנפוץ הוא אפור כאשר ביצעו הכלאה עם עכבר צהוב קיבלו צאצאים צהובים ואפורים ב-F1, מכאן המסקנה היא שאחד ההורים הומוזיגוט, כשביצעו הכלאה של הצאצאים הצהובים מ-F1 קיבלו 2/3 צאצאים צהובים ו-1/3 צאצאים אפורים וכך בכל פעם שהכליאו את העכברים הצהובים, ומכאן הגנוטיפ הצהוב הוא הטרוזיגוט והצהוב דומיננטי על האפור.

לפי מנדל אנו אמורים לקבל יחס של 1:3 אך אנו מקבלים יחס של 1:2, כשבדקו בהכלאות רבות גילו כי השגר (מספר הצאצאים בכל המלטה) נמוך ב-25% מהמצופה, כשבדקו הצאצאים ברחם התברר ששם יש תמותה של 25% מהעוברים, כתוצאה מכך ניתן להסיק כי ההומוזיגוט הדומיננטי הוא לטאלי, כלומר יש גן שמבוטא במצב ההטרוזיגוט לנתינת צבע צהוב ובמצב ההומוזיגוט הוא מבוטא וגורם למוות לעובר.



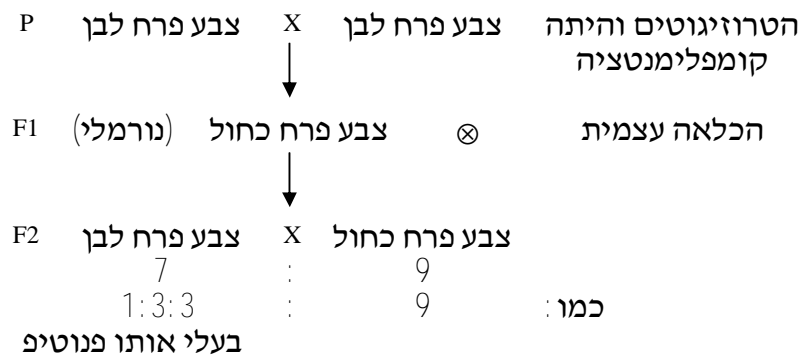
לסוג זה של גנים קוראים גנים קטלניים, וכשגן אחראי על יותר מתכונה אחת הוא ניקרא Pleiotropy, חלק מהגנים הלטאלים יכולים לגרום למוות גם במצב ההטרוזיגוטי. באוכלוסייה יש גנים לטאלים הגורמים למוות עוד לפני שהעובר מגיע להשטרשות ברחם (הפעלה ספונטנית), אך יש גנים לטאלים הפועלים בשלב מאוחר יותר, לדוגמה מחלת הטאי זקס בה כאשר יש הומוזיגוט למחלה הילד נולד ומגיע עד לגיל מקסימלי של 5 שנים, במחלה זו הפעילות הלטאלית מתבטאת בפרוק חלק מהשומנים במוח. קיימות גם מחלות שרירים המתפרצות בגיל מבוגר.

סטיות מחוק מנדל השני

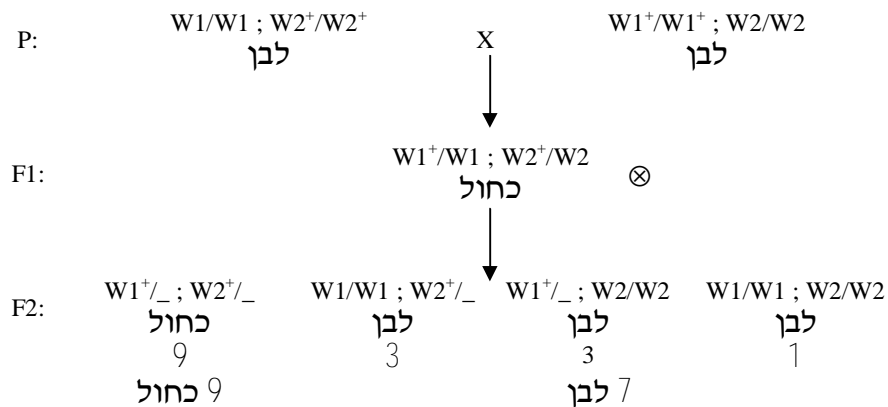
אינטרקציה בין גנים במסלולים שונים, יש שני גנים ליצירת צבע אין קו-דומיננטיות אך יש מצבים שונים של ביטוי:

9	שחור/כתום	O_B_	1
3	כתום	O_bb	2
3	שחור	ooB_	3
1	לבקן (אלבינו)	oobb	4

במוטציה בין גנים באותו מסלול יש שני גנים האחראיים לביטוי הצבע.



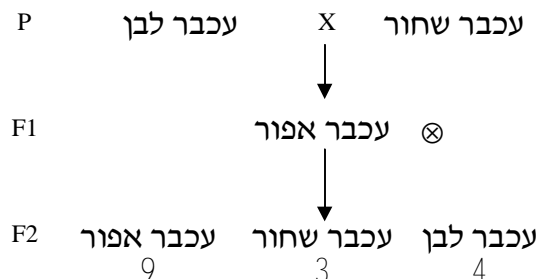
כשיש פגיעה הומוזיגוטית באחד הצבעים נקבל את הצבע הלבן, בהורים היתה פגיעה הומוזיגוטית בצבע אחר וכך קיבלנו לבן בשניהם. מבחינה גנוטיפית ההסבר הוא:



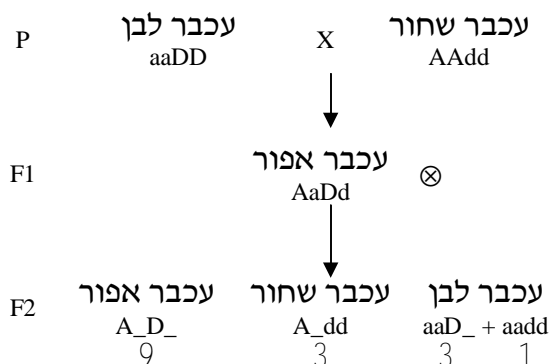
מה שקורה בצמח זה הוא שגן אחד בלבד יוצר את הצבע ואילו הגן השני יוצר חלבון שמפעיל את הגן הראשון, עם יפגע $w1$ לא יוצר החלבון שמפעיל את $w2$ שיוצר צבע

ונקבל לבן ו/או שהפגיעה ב-w2 ואז ייווצר החלבון המפעיל אך הוא לא נותן דבר כיוון שהגן שיוצר את הצבע פגום וגם כאן מקבלים לבן, בשאר המקרים מקבלים כחול.

מוטנטים בעלי פנוטיפים שונים



מכאן יש שני גנים אחראיים לצבע, האחד אחראי לצבע שחור או אפור והשני אחראי על יצירת הצבע. נסמן d שחור, D אפור, a אי יצירת צבע ו-A יצירת צבע.

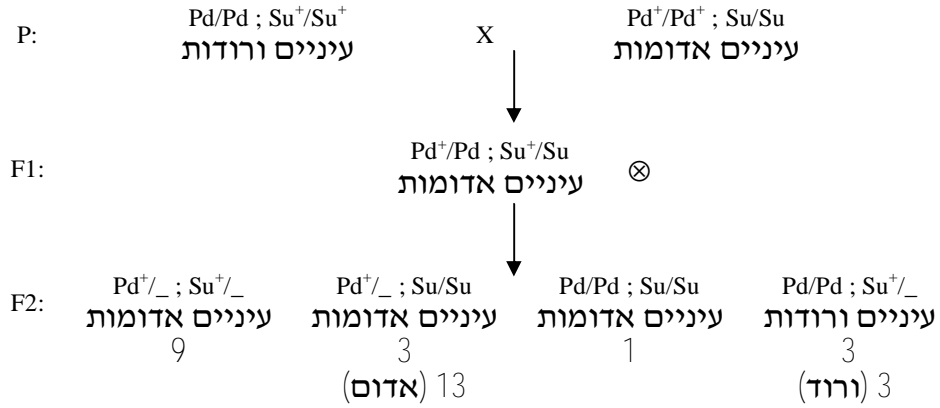


לתופעה זו קוראים אפיסטזיס Epistasis ובמקרה זה היא רצסיבית כלומר מקבלים חוסר ביטוי של צבע כאשר יש הומוזיגוט של הגן במפעיל, קיים גם אפיסטזיס דומיננטי.

סופרסיה Suppressors

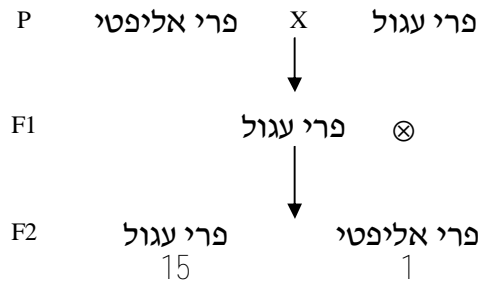
אלל רצסיבי הגורם לביטוי נורמלי של אלל מוטנטי אחר, המקרה הנפוץ ביותר הוא Nonsense Suppressor שבו נוצרים קודוני עצירה, כלומר התא מיצר tRNA שיכול להקשר לקודון עצירה ולהתאים לחומצה אמינית מסוימת, לחומר זה קוראים סופרסור. סופרסיה זה דבר המתבצע בתדירות נמוכה, התיקון שמבצע הסופרסור הוא בפנוטיפ בלבד ולא מתבצע תיקון של הגן.

דוגמה לסופרסיה בדרוזופילה היא Pd: אחראי לצבע עיניים ורוד ו-Pd⁺ אחראי על צבע עיניים אדום, Su מוטנט מבצע סופרסיה לאלל של עיניים ורודות ומתקן אותם לעיניים אדומות ו-Su⁺ לא מתקן את צבע העין.

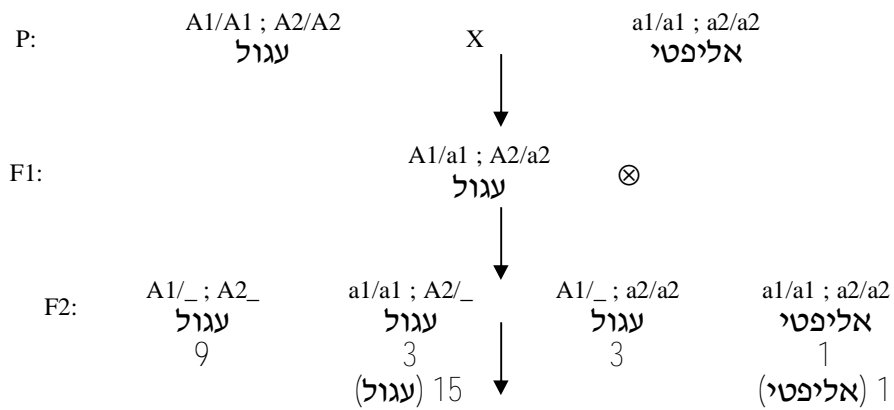


דופליקציה של גנים

גנים כפולים האחראים לאותה תכונה, למשל צורת פרי



שיש שני גנים בעלי אותו פנוטיפ אז מסמנים אותם באותה אות אך עם מספרים שונים ולכן הגנוטיפ הוא:



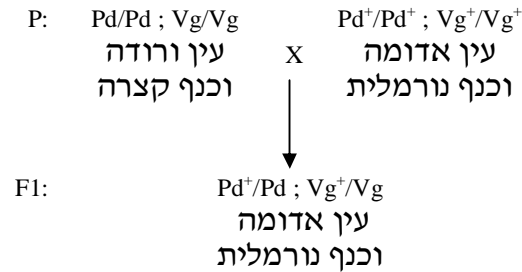
חדירות – Penetrance

ביטוי של גנים מסוימים יכול להיות מושפע מגנים אחרים ואלל מוטנטי מסוים מקבל ביטוי שונה בגורמים שונים. אם יש גנוטיפ שאת הביטוי של פנוטיפ זה מקבלים ב- 100% באוכלוסייה אז החדירות של הגן היא 100%, אם לגן יש 85% חדירות אז ב- 85% מקבלים את הפנוטיפ של הגן וב- 15% מקבלים מאותו גנוטיפ

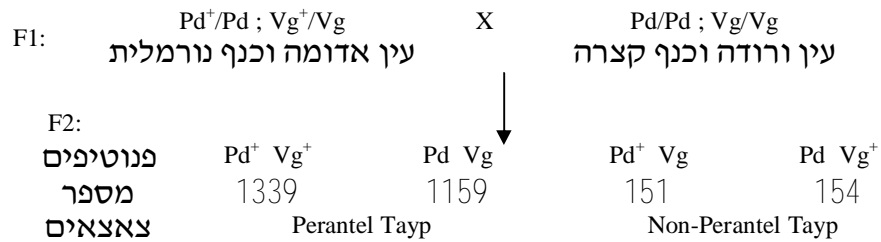
את הפנוטיפ הנורמלי. החדירות יכולה להיות תלויה בגורמים סביבתיים ובחיים עצמם.

מיפוי גנטי

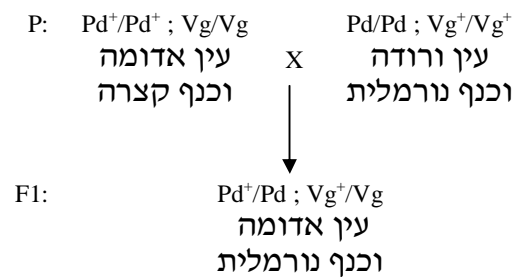
נבצע מעקב בדרוזופילה אחרי צבע עיניים ורוד וגודל כנף כך ש-Pd זה עיניים ורודות, Pd⁺ זה עיניים אדומות Vg זה כנף קטנה ו-Vg⁺ זה כנף נורמלית.



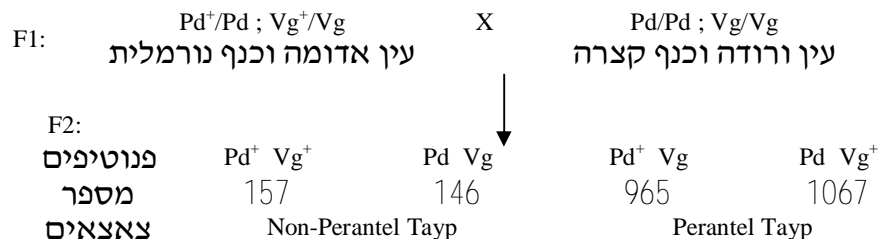
את הנקבות מ-F1 נזווג עם Pd/Pd ; Vg/Vg ונקבל:



זה לא לפי מנדל כיוון שלפי מנדל היינו אמורים לקבל 1:1:1:1 אך כאן יש שתי קבוצות שונות שבכל קבוצה היחס הוא 1:1, הכי הרבה התקבלו הצאצאים מטיפוס ההורים שזה הומוזיגוטים בפנוטיפ צריך לבדוק אם אין לטאליות מסוימת ולשם ביצוע פעולה זו מבצעים הכלאה של הטרזיגוטים:



את הנקבות מ-F1 נזווג עם Pd/Pd ; Vg/Vg ונקבל:

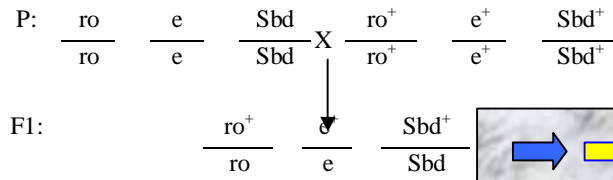


אנו רואים כי שוב התקבלו שתי קבוצות שבכל קבוצה יש יחס של 1:1 והקבוצה של הצאצאים הדומים להורים גדולה יותר, מכאן אין לטאליות. המסקנה היא ששני הגנים ליצירת צבע עיניים וצורת כנפיים קרובים אחד לשני ונמצאים בתאחיזה זה לזה ולכן ברוב המקרים הם הולכים יחד.

מורגן ניסה להסביר זאת על ידי גמטות המתקבלות במיוזה שם הכרומוזומים ההומולוגים עוברים זיווג ובתהליך זה יש שלב של שחלוף Crossing Over שזה בעצם שיחבור כרומטידות לא אחיות (קיים גם עם כרומטידות אחיות אך בהם לא ניתן לראות שינוי), תוצרי ההצלבה הם בכמות נמוכה יותר, תוצרים אלו הם תוצרים רקומבינטיבים, כלומר צרוף של גנוטיפ לגמטות חדשות שלא היו קיימות אצל ההורים. ככל שעולים ברקומבינציה זה מדד של המרחק הגדל בין שני הגנים, ככל שהגנים קרובים יותר יש פחות שינוי ברקומבינציה.

יחידת מפה (סנטימורגן) CM זה שיש 1% תוצרים רקומבינטיים בין שני גנים, או במילים אחרות כאשר יש 1% תוצרים רקומבינטיים המרחק בין הגנים הוא יחידת מפה אחת או 1CM. אנו מחשבים זאת עלפי סכום כל הצאצאים הרקומבינטיים חלקי סכום כל הצאצאים בהכלאה.

רקומבינציה בין 3 גנים (Three Point Test Cross), שלושת הגנים אותם נבדוק הם: גוף כהה e, עין מחוספסת ro וזיפים קצרים Sbd.



נבצע הכלאה של צאצאי F1 עם זן רצסיבי לקבלת F2:

F1: $\frac{ro}{ro} \quad \frac{e}{e} \quad \frac{Sbd}{Sbd} \times \frac{ro^+}{ro} \quad \frac{e^+}{e} \quad \frac{Sbd^+}{Sbd}$

F2:

ro ⁺	e ⁺	Sbd ⁺	269	} טיפוס הורי
ro	e	Sbd	280	
ro ⁺	e	Sbd	65	
ro	e ⁺	Sbd ⁺	76	} שיחלוף 1
ro ⁺	e ⁺	Sbd	42	
ro	e	Sbd ⁺	36	} 1 Crossing Over
ro ⁺	e	Sbd ⁺	8	
ro	e ⁺	Sbd	12	} שני שיחלופים
				} 2 Crossing Over

אם נחשב שינוי רקומבינציה (R.F) נקבל את המרחק בין הגנים הללו.
R.F למרחק בין ro ל-e =

$$R.F = (65+76+8+18)/(269+280) * 100 = 20.4\%$$

R.F למרחק בין Sbd ל-e (לפי אותו עיקרון חישובי)
R.F = 12.4%

וגם למרחק בין Sbd ל-ro (לפי אותו עיקרון חישובי)
R.F = 27.8%

אנו מקבלים משהו לא צפוי כיוון $20.4+12.4$ גדול מ- 27.8 וזה בגלל שיש רקומבינציה כפולה שאליה לא התייחסנו וכאשר נתייחס אליהם נקבל את התוצאה הנכונה.

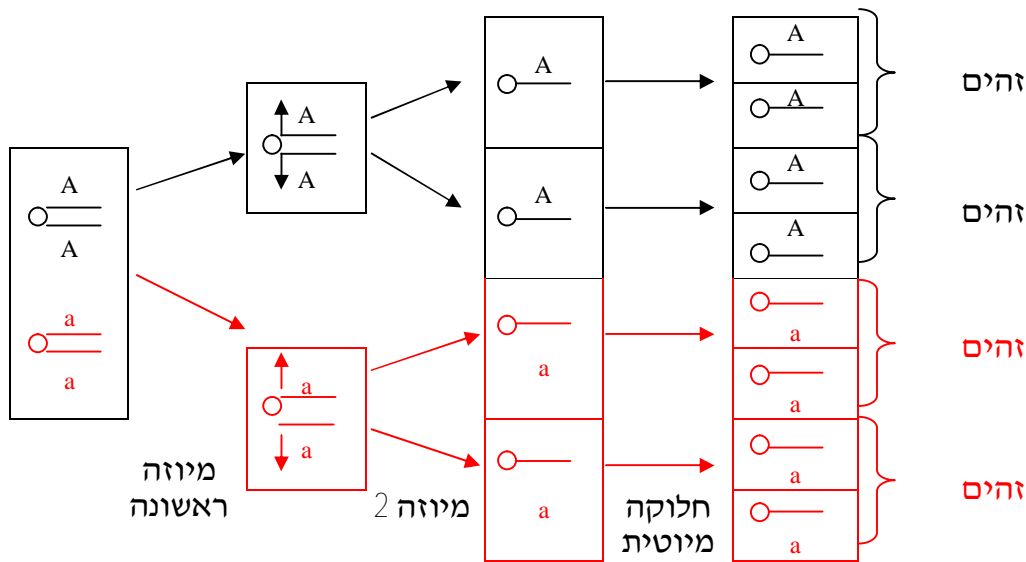
לעיתים מספר השחלופים קטן מהמספר המחושב והסיבה לכך היא ששחלוף במקום אחד מוריד את הסיכוי לשחלוף השני, לתהליך הפרעה זה קוראים Interference. כשיש הפרעה מלאה הסיכוי לקבל צאצאים בעלי שיחלוף כפול הוא אפס וכשאינן הפרעה בכלל אז מספר הצאצאים היה זהה לחישוב. את מידת ה- Interference ניתן לחשב על פי הנוסחה שהיא 1 פחות מספר הצאצאים הרקומביננטים שהתקבלו חלקי מספר הצאצאים הרקומביננטים הצפויים, כך מתקבל ערך מקסימלי 1 ומינימלי אפס.

יתכן כי המרחק המחושב היה גדול בעוד שבבדיקה פיזית מקבלים מרחק קטן יותר, ההסבר הוא שהחישוב לא מדויק כי יש אזורים רגישים לרקומבינציות הנקראים Hot Spots שבהם הסיכוי לשחלוף גדול יותר כך שנקבל יותר שחלופים ועל פיהם נחשב מרחק גדול יותר. יכול להיות גם להפך כשלא היו אזורים רבים בהם יכול להיות שיחלוף.

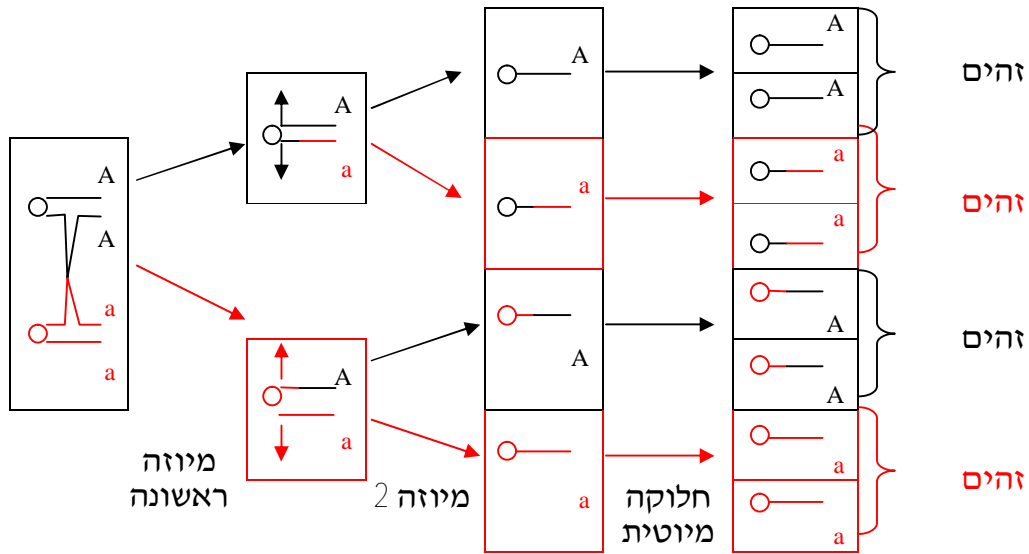
אנליזת טטרדות

כשמסתכלים על פטריות בהם ניתן לעקוב על כל תוצריה של מיוזה יחידה, באדם גמטה אחת ממשיכה ונותנת תוצר וכל ילד הוא תוצר של מיוזה אחרת בעוד שבפטרייה כל תוצרי המיוזה (4 גמטות) נותנים צאצאים. כך ניתן לבדוק שיחלוף, למעקב זה קוראים אנליזת טטרדות.

במיוזה בפטריות התוצרים נשארים בשק אחד ולא עוברים ערבוב, שק זה נקרא אסקוספורס Ascospores. בחלוקה הראשונה מקבלים שני גרעינים, בחלוקה השנייה 4 תאים שמיד לאחר החלוקה המיטוטית נותנים 8 תאים בשק אחד, כלומר יש 4 סטים של תאים זהים כל תא הוא הפלואידי ונקרא ספורה. נעקוב אחרי 2 אללים הקשורים לזיווג A נותן פנוטיפ שחור ו- a נותן פנוטיפ צהוב:

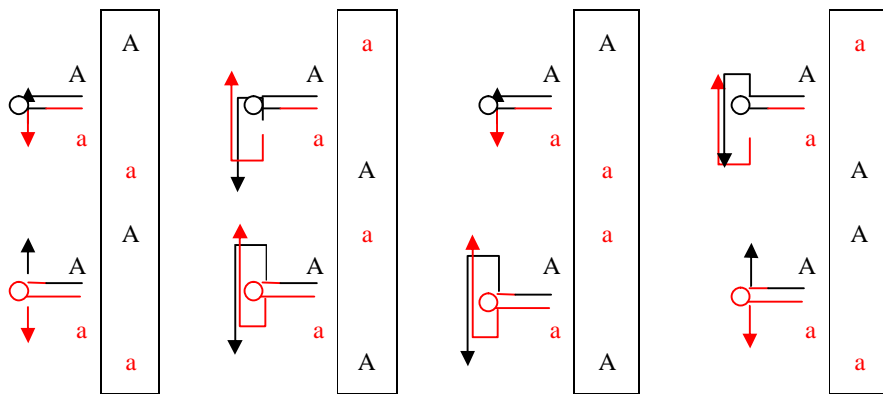


אנו נקבל אסקוס שמחציתו בצבע שחור בעקבות A ומחציתו צהוב בעקבות a. לחלוקה כזו קוראים Meiosis 1 Segregation Pattern או בקיצור M_1 . אם מתרחש שיחלוף בין האלל לצנטרומר נקבל את המצב הבא:



Miosis 2 Segregation אנו מקבלים באסקוס פסים שחור צהוב, לחלוקה כזו קוראים Pattern או בקיצור M_{II} , בכל $\frac{1}{2}$ אוקטדה כלומר טטרדה יש ביטוי של שני סוגי האללים.

בכל חלוקה של מיוזה יכולות הכרומטידות לנוע לשני הכיוונים וכן מקבלים 4 אפשרויות והם:



בפטריות ניתן לקבוע מרחק בין גן לצנטרומר שלו כיוון שיש מתוצרי המיוזה ניתן לקבל את השיעור של הרקומבינציה בין האלל לצנטרומר.

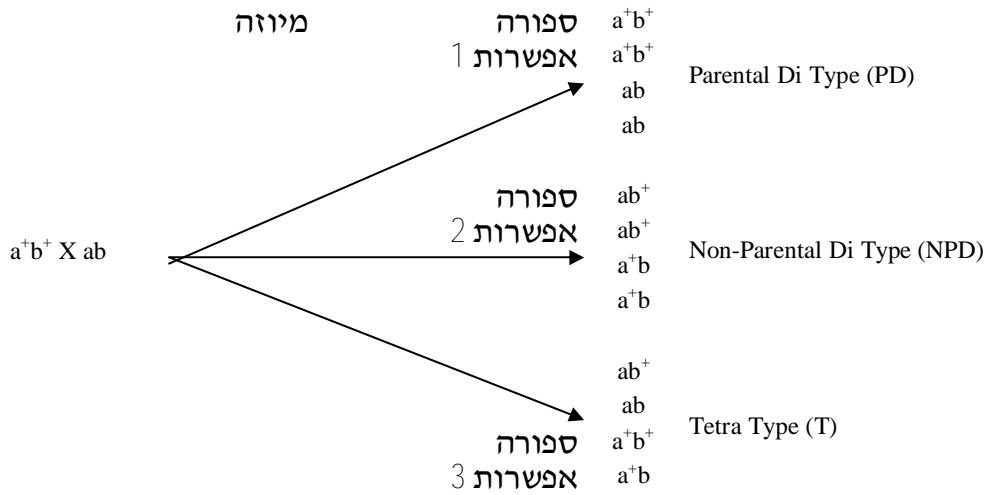
A	a	A	a	A	a
A	a	A	a	A	a
A	a	a	A	a	A
A	a	a	A	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	a	A	A	a
a	A	a	A	A	a
<hr/>		<hr/>		<hr/>	
126	132	9	11	10	12
M_I		M_{II}			

התוצרים של M_{II} הם תוצרי רקומבינציה בכל אוקטדה שני אללים בלבד הם עם רקומבינציה, כלומר רק $1/2$ של אוקטדה היא עם רקומבינציה ולכן:

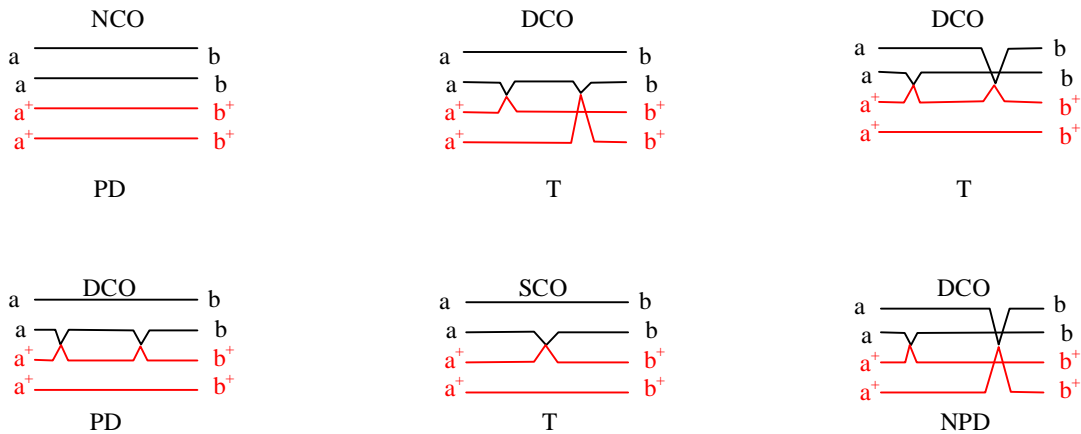
$$R.F = 1/2 * (M_{II}) / Total = 14\% / 2 = 7\%$$

ככל שהמרחק של האלל מהצנטרומר עולה מספר הרקומבינציות עולה אך לעולם לא נגיע ל-100%, בשמרים המקסימום של צאצאים שהם M_{II} הוא 67%, כלומר ה-R.F המקסימלי הוא 35.5%. הסיבה לכך שכאשר מקבלים שני שחלופים אנו מקבלים בחזרה את המקור כלומר את M_I .

באנליזת טטרדות של טטרדות מסודרות הסדר נשמר במהלך החלוקות, אך בשמרים הספרות לא מסודרות באסקוס, לכן צריך להפרידם ולבדוק את הגנוטיפ שלהם ובעזרתו לחשב מרחקים גנטיים.



ה-NPD וה-T הם תוצרי שיחלוף (רקומבינציה). נסמן $NCO = Non\ Crossing\ Over$, $SCO = Single\ Crossing\ Over$, $DCO = Double\ Crossing\ Over$.



אנו רואים כי ב-NPD יש שיחלוף כפול של 4 כרומוסידות, T נוצר על ידי שיחלוף יחיד של שני כרומוסידות או שיחלוף כפול של 3 כרומוסידות ו-PD נוצר על ידי שיחלוף כפול בין שני כרומוסידות או ללא שיחלוף כלל. מכאן ניתן לחשב את שיעור הרקומבינציה.

$$NPD = 1/4 DCO \Rightarrow DCO = 4 NPD$$

$$SCO = T - 1/2 DCO = T - 2 NPD$$

את ה-SCO לא מחשיבים, $1/3T$ לא מתייחסים לשכפולים כפולים במקרה זה ולכן:
$$\text{Total Crossing Over} = \text{Total SCO} + 2\text{DCO} = T + 6\text{NPD}$$
$$\text{R.F} = 1/2*(T + 6\text{NPD})$$

את שלושת האפשרויות (PD, NPD ו-T) אנו נקבל משני גנים או שני סמנים בטטרדות לא מסודרות אשר נמצאים בתאחיזה ביחסים מסוימים, כשאינן תאחיזה אנו מצבים לאחוזים זהים של כל הסוגים.

מיפוי גנטי ביצורים אוקריוטים

בבני אדם אין אנו יכולים לכוון הכלאות וצריך להתמודד עם מה שיש, בנוסף כמות הילדים מכל זיווג נמוכה (גם במשפחות מרובות ילדים אין זה אומר שהם מאותו זיווג), ולכן צריך לבדוק משפחות רבות. את המיפוי הגנטי ניתן לחלק לשתי משפחות הראשונה בה הגן ידוע ונשאר למפות על איזה כרומוזום הוא נמצא, והשניה מיפוי לגן לא ידוע.

למיפוי של גן ידוע יש שתי שיטות עיקריות אחת מהן היא Insitu-Itybridisation ובה משתמשים בגן שאותו מעוניינים למפות לכרומוזום גלאי, את הגן מסמנים בסמן רדיואקטיבי או בצבע פלורסצנטי ואז מבצעים היברידיזציה למשטח שהוא זכוכית נושא שעליה תאים בשלב המטפאזה (שלב בחלוקת התא שבו הכרומוזומים דחוסים). לפני ההיברידיזציה מבצעים דנטורציה ל-DNA (בתאים ושל הגלאי) שתפקידה לפתוח את הסיב הכפול כדי שתוכל להיות היברידיזציה. הגלאי מוסף ואז יש המתנה של מספר שעות.

הגלאי נקשר לאזור המשלים שלו לאורך הכרומוזומים, לאחר מכן שוטפים את העודף של הגלאים ובודקים על ידי חשיפה לפילם בסימון רדיואקטיבי או בעזרת מיקרוסקופ פלורסצנטי במקרה של השימוש בצבע. אנו נראה את הסימון באזור מסוים בכרומוזום.

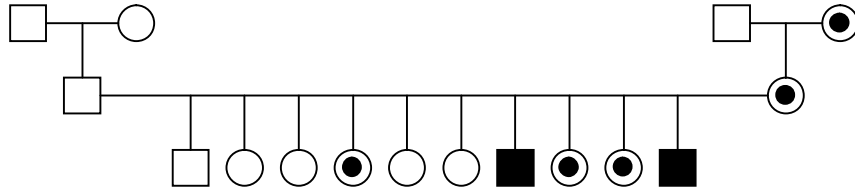
כדי לזהות באיזה כרומוזום מדובר אנו צובעים את הכרומוזומים בצבע גמזה (או צבע אחר) הגורם לפיספוס הפסים שונים מאדם לאדם וגם ניתן להבחין בין 22 האוטוזומים הממוספרים מ-1 הגדול ביותר עד 22 הקטן ביותר, ניתן להבחין גם בכרומוזומי המין X ו-Y. בצביעה הזו האזור הדחוס בכרומוזום נצבע. כאשר אנו יודעים איזה כרומוזום מכיל את הקטע המסומן ניתן למפות את רצף ה-DNA של הכרומוזום.

שיטה שניה למיפוי היא בעזרת היברידיים סומטיים Somatic Cell Hybrids, כך ניתן לבצע איחוי בין תא של אדם לתא של אורגניזם אחר, כאשר מאחים תא אדם ותא של מכרסם עוברות הממברנות איחוי וגם הגרעינים מתאחים וכך מקבלים תא היברידי. בגרעין התא יש את הכרומוזומים של האדם ושל המכרסם, אך עם התחלקויות התאים מתחילים כרומוזומי האדם להעלים ומקבלים תאים שכמות הכרומוזומים של האדם בהם קטנה.

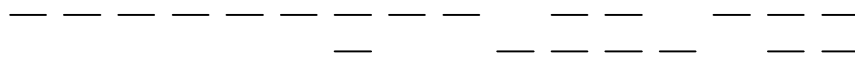
כדי לבצע מיפוי לגנים לא ידועים צריכים סמנים גנטיים. בעזרתם ניתן לאתר את הגן על כרומוזום מסוים ולמפות אותו. את סמנים אלו מוצאים על ידי אנזימי רסטריקציה, אנזימי הריסטריקציה משמשים את החיידק כמערכת חיסונית מוירוסים, אנזימים אלו לא פוגעים ב-DNA של החיידק כיוון שיש עליו מתילציה המונעת זאת. אחד הסמנים שנמצאו בשנות ה-80 הוא RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).

שרוצים לבדוק סמני RFLP לוקחים DNA גנומי וחותרכים אותו באנזימי רסטרקציה, את המקטעים מריצים בג'ל אלקטרופורזה וכך מקבלים הרצה משלילי לחיובי כך שהפרגמנט הקטן ביותר רץ הכי מהר. בשלב הבא מבצעים היברידיזציה עם גלאי, אם יש הומוגניות של אחד נקבל רק את הפרגמנט הגדול ואם יש הטרוזיגוט מקבלים את החלק השני ולא את שני הפרגמנטים כיוון שאחד מהם רץ מהר ולא קושר גלאי.

על ידי שימוש בגלאים שונים ניתן לקבל פרגמנטים שונים וליצור עצי משפחה



לעץ משפחה זה ביצעו חיתוכים עם *ECOR1* וביצעו היברידיזציה וקיבלו

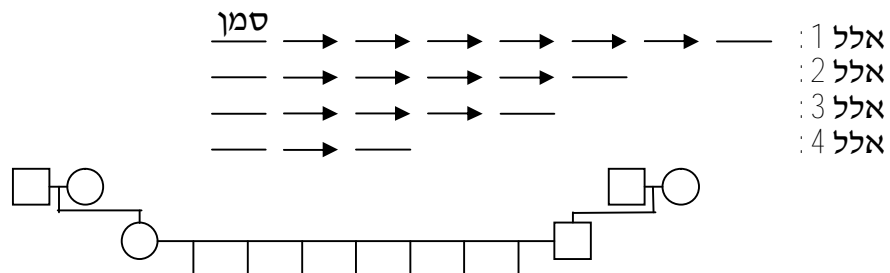


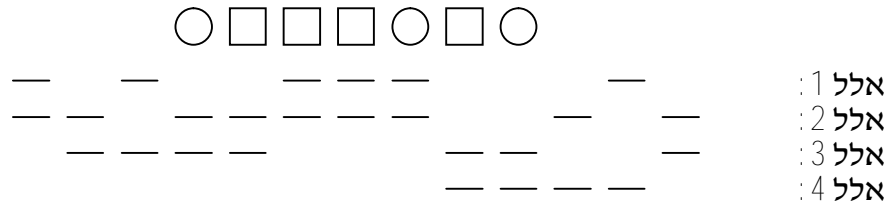
שני החולים קיבלו את הפרגמנט הקטן והנשאים את שני הפרגמנטים, כלומר המחלה היא שיש הומוזיגוט לפרגמנט הקטן והיא בתאחיזה למין אדן הפרגמנט הקטן הוא לא האלל למחלה הוא הסמן בלבד.

בהרצה של DNA שניחתך על ידי אנזימי רסטרקציה בג'ל אנו לא רואים פסים נקיים אלא מריחות (Smear), את המקטע הרצוי אנו מעבירים לממברנה מה שניקרא Blotting ולאחריה אנו מבצעים חשיפה לפילם (הסמן מסומן רדיואקטיבית) ועליו מקבלים את הפרגמנטים, אנו בדרך כלל מריצים גם סמני גודל שאלו חומרים שגודלם ידוע כדי לדעת מהו גודל הפרגמנט. לכל פרגמנט אנו מתייחסים כאלל כך שיש סוג פרגמנט אחד זה הומוזיגוט ושיש שני סוגי פרגמנטים זה הטרוזיגוט. אותו גלאי יכול להיות הטרוזיגוט לאנזים אחד והומוזיגוט לאחר.

החיסרון הוא שניתן תמיד למצוא מקסימום שני אללים, יש גלאים כמו RFLP אשר ניתן למקמם במקומות שונים בכרומוזום על ידי שימוש ב- *In situ-hybridisation*. אנו צריכים לבדוק סמנים רבים על משפחה כדי למצוא סמן אינפורמטיבי אנו רואים כי הסמן נע אך הוא לא האלל של המחלה אך הוא נימצא קרוב למחלה בכרומוזום ולכן הוא נע איתה.

סוג אחר של סמנים גנטיים הוא VNTR (Variable Number Of Tandep Repeat), גלאים אלו נקשרים לפני רצף החוזר על עצמו ומספר החזרות שנות מפרט לפרט. כתוצאה מכך ניתן למצוא יותר אללים לפי מספר החזרות בכל פרט יכולים להיות רק שני אללים לדוגמה:





אחד היתרונות בשימוש בסמנים גנטיים הוא לזיהוי אבהות ולזיהוי פלילי כיום יש סמנים המגלים מספר רב של אללים וכך מקלים על הזיהוי.

ה- VNTR הראשון שתואר דיבר על חזרות של מספר רב של בסיסים בכל חזרה כיום יש VNTR לחזרות של 2, 3 ו-4 בסיסים, ככל שיש פחות בסיסים בחזרה יש יותר וריאציות באוכלוסייה לדוגמה סוג החזרות CA Repeats הנקראים Micro Stalite נותנות אפשרויות רבות.

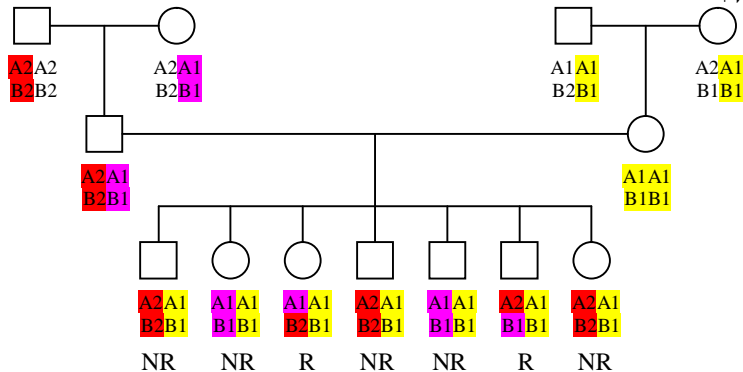
אנו משתמשים בשיטת ה- PCR שהיא שיטה להכפלת מקטע DNA בעזרת שני פריימרים שתוחמים את המקטע המועתק, והוא מועתק פעמים רבות. אנו משתמשים בג'לים עדינים בכדי להפריד מקטעים כאלו, שבודקים את תוצאות ההרצה בג'ל אנו מקבלים כ- 3 מקטעים אחד חזק והשאר חלשים שנוצרים על ידי Slippage שנוצר ברפליקציה שזה דילוג על בסיסים, לכן אנו מתייחסים רק לפסים החזקים.

מיפוי גנטי בבני אדם

מיפוי הגנטי באדם הוא על אותו עיקרון של המיפוי הגנטי הדרוזופילה, גם כאן אנו צריכים להסתכל על רקומבינציה כדי לחשב מרחק בין הלוקוסים. בדרוזופילה, שמרים ופטירות הדבר קל לביצוע אך בבני אדם הדבר יותר מורכב כיוון שתוצרי המיוזה הם הילדים ובמשפחה מסוימת מספר הילדים הוא מדגם קטן מידי.

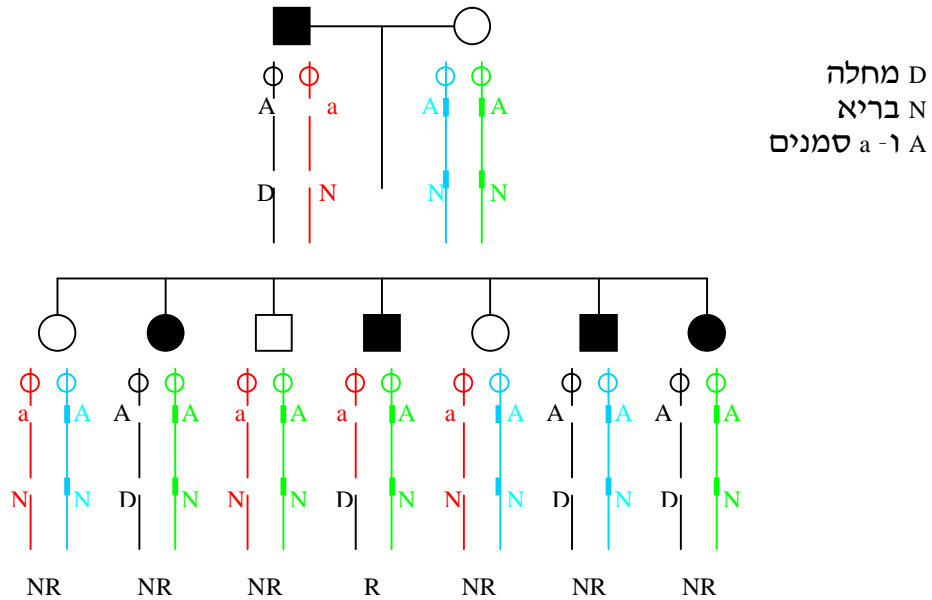
אנו מסתכלים על גן מסוים ועל סמנים גנטיים ואם הגנים רחוקים זה מזה אנו מצפים לקבל הרבה תוצרים רקומבינטיבים. כאשר הגנים רחוקים נקבל יחסים של זהות בין הצירופים השונים ושהם קרובים נקבל מספר קטן יותר של תוצרים רקומבינטיבים.

נעקוב אחרי שני לוקוסים, A שלו שני אללים A1 ו- A2 שגם לו שני אללים B1 ו- B2 בעץ משפחה:

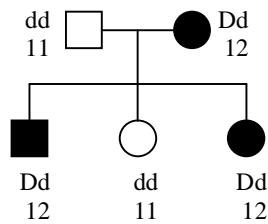


מהאם הילדים מקבלים תמיד A1B1 ומהאב מתקבלות כל האפשרויות כולל רקומבינציה, יש 2 מתוך 7 ילדים שהם רקומבינטיביים ומזה ניתן לחשב מרחק אך התוצאה יכולה להטעות כיוון שזה מדגם קטן.

במעקב אחרי מחלה ניתן לראות את המצב הבא:



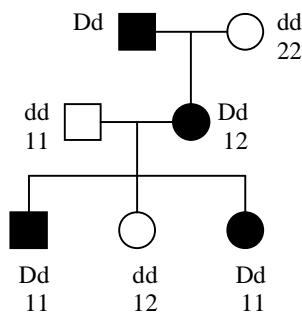
Phase זה מצב שבו יודעים איזה סמן הולך עם איזה מחלה.



לא ניתן לדעת בדיוק מה הולך עם מה יתכן רקומבינציית ולכן יש שתי אפשרויות של Phase:

If D-1/d-2 : R R R
 If D-2/d-1 : NR NR NR

כאשר יש עץ משפחה עם שלושה דורות ניתן לדעת בודאות רבה יותר.



Phase: D-1/d-2 : R R R

הדור השלישי מחייב לכך ש-D ילך עם 1.

כדי לחשב אם יש תאחיזה או לא פותחה נוסחה שהיא :
הסיכוי לקבלת נתונים שהלוקוס בתאחיזה בערך θ
Lod Score (Z) = Log $\frac{\text{הסיכוי לקבלת נתונים שאין תאחיזה}}{\theta}$
 θ - שיעור הרקומבינציה נע בין 0 ל-0.5.

בעץ המשפחה הקודם פתרון המשואה הוא :

$$\text{Lod Score (Z)} = \text{Log} \frac{1/8}{1/64}$$

מכאן מקבלים יחס של 8 תאחיזה ל-1 ללא תאחיזה.

כשה-Lod Score חיובי יש תאחיזה ושהוא שלילי אין תאחיזה, בתחום החיובי עם הוא שווה או גדול מ-3 בערכו אז יש תאחיזה מלאה בין הלוקוסים. כשמבצעים ניסוי מסוג זה משנים את θ ומוצאים באיזו θ יש את התאחיזה הגבוהה ביותר.

ט.ל.ח

סיכומים בגנטיקה כללית חלק ב'

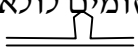
קיימים שני סוגים של מוטציות כרומוזומליות והם אברצות כרומוזומליות שאלו שינויים ברמת הכרומוזום (במבנה) ושינויים במספר הכרומוזומים.

אברצות כרומוזומליות

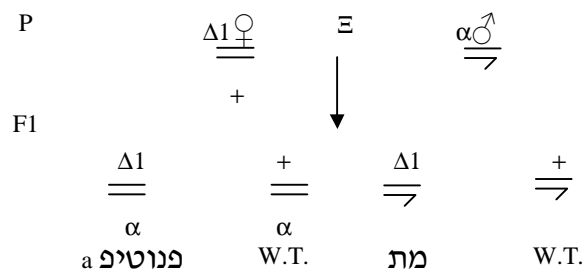
ישנם 4 סוגים של מוטציות כאלו והם חסר, דופליקציה, אינברסיה (היפוך) וטרנסלוקציה.

מוטציית חסר

חסר זה העדר של בסיס או בסיסים ברצף של DNA, כשאנו מסתכלים על גבי הכרומוזומים ניתן לראות חסר על ידי צביעה הגורמת לפיספוס וכך על ידי חוסר בפס מסוים ניתן לראות את החסר כך ניתן לראות חסרים גדולים. ההסתכלות על הכרומוזומים בשלב המטאפאזה ניקרא הסתכלות ציטוזולית.

במיוזה נתן לראות בזמן זיווג הכרומוזומים לולאה הנוצרת מכך שלאחד הכרומוזומים ההומולוגים יש חסר  דרך נוספת לזיהוי היא שמוטציית חסר לא יכולה לעבור ריברסיה כלומר לא ניתנת לתיקון. בנוסף מוטציות חסר הם בדרך כלל לטליות כי הם פוגעות ביצירת החלבון.

הכרומוזום עם החסר יכול להיות קשור לכרומוזום בעל מוטציה נקודתית רצסיבית באזור החופף את החסר וכך נקבל פנוטיפ רצסיבי במצב הטרוזיגוטי. חסר מסומן Δ - ב



קבלת הפנוטיפ a מעיד על כך כי החסר כולל את הגן A.

אם נבצע מספר הכלאות בין זנים שונים ונבדוק את התוצאות נוכל להכין מפה גנטית, אין צורך לבדוק את הזכרים כי מחציתם מתים והחצי השני הוא w.t ואילו בנקבות ניתן לראות מוטציות ונקבל טבלה לדוגמה

	a	b	c	d	e
$\Delta 1$	m	+	m	m	+
$\Delta 2$	m	m	+	+	+
$\Delta 3$	+	m	+	+	m
$\Delta 4$	m	+	m	+	+

כש - m מסמן מוטציה ו + - מסמן פנוטיפ נורמלי אז המפה הגנטית המתקבלת היא:



ניתן לסמן גם את המצב ההפוך, כלומר את החסרים:

דופליקציה

דופליקציה היא מצב בו חלק מה – DNA מכפיל את עצמו ההכפלה יכולה לשמור על סדר ואז היא נקראת Tented Repeat או בסדר הפוך ואז היא נקראת Inverted Repeat, דופליקציה יכולה להיות באותו כרומוזום או בכרומוזומים שונים. בגנום אנו רואים כי יש גנים המופיעים יותר מפעם אחת כך שיש עותק אחד שהוא בטוח תקין, הדופליקציות השונות יכולות להיות בשלבים שונים באבולוציה וכדי לבדוק את ההבדל בניהם צריך לבצע מוטציות שונות ולראות את הפעילות.

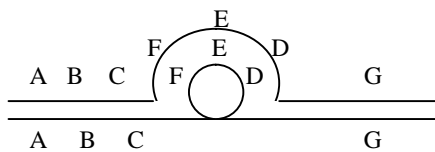
בביצית של צפרדע כדי לאפשר חלוקות ראשונות מהירות הגנים עוברים אמפליפיקציה (ריבוי) ליותר ממיליון עותקים ולאחר מכן הם נעלמים. הדופליקציה יכולה לגרום במיוזה ל – Unequal Crossing Over הגורם למצב של כרומוזום עם 3 עותקים וכרומוזום עם עותק 1.

בדריזופולה יש בעין 779 עיניות במצב נורמלי כאשר יש דופליקציה וסיב אחד כלומר שני עותקים ובשני אחד אז מקבלים עין צרה עם 358 עיניות, כאשר בשני הסיבים יש שני עותקים מקבלים 68 עיניות ואילו שעל סיב אחד יש 3 עותקים ועל השני עותק אחד מקבלים 45 עיניות. המצב של 3 עותקים על סיב אחד ואחד על השני יכול לגרום לבעיה בכל גן שהתופעה הכמותית שלו חשובה.

אינברסיה

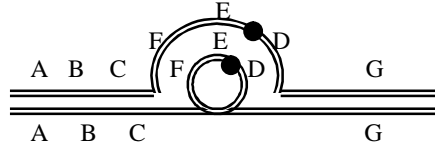
אינברסיה היא מצב בו יש חתיכה של סיב ה – DNA הכפול אשר מתחבר מחדש הפוך ללא שינוי הפולריות על יד כך שהסיב העליון והתחתון גם מתחלפים, השינוי יכול להיות בתאים סומטים ואז הוא יפגע רק בגוף בו חל השינוי. אחת התופעות שנובעות מאינברסיה היא אפקט המקום Position Effect, כלומר ביטוי הגן יכול להיות תלוי במקומו בגנום, באזורים הקרובים לטלומרים או לצנטרומר יש השתקה Silencing ואם גן שצריך ביטוי מהיר רב עובר לאזור זה הוא מושתק ונוצרת פגיעה.

במיוזה יש זיווג של הכרומוזומים וכדי לפתור את בעיית האינברסיה נוצרת לולאה:



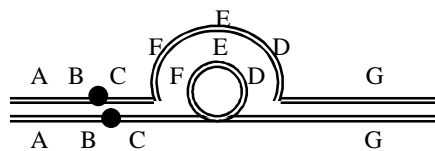
כאשר הצנטרומר נמצא מחוץ ללולאה המיקרוטובולי ניקשר אליו וגורם להפרדה ללא הפרעה כלל. מערכת החלוקה מחייבת שחלוף אחד לפחות בין הכרומוזומים, אך בניגוד להפרדה תופעת השחלוף תלויה במיקום הצנטרומר. אינברסיה פרצנטרית Paracentric Inversion היא שהצנטרומר נמצא מחוץ ללולאה ואינברסיה פריצנטרית Pericentric Inversion היא שהצנטרומר נמצא בתוך ללולאה.

שהצנטרומר נמצא בתוך הלולאה (בין D - E לדוגמה) ויש שיחלוף בשלב של 4 כרומוסידות לא אחיות כשהשחלוף הוא בין E - F אז:



לאחר השחלוף והחלוקה השניה נקבל את הכרומוזומים $ABCD \bullet EFG - 1$ ו- $ABCFE \bullet DG$ שהם הנורמליים ו- $ABCFE \bullet DCBA - 1$ שהוא עם עודף AB וחוסר G ו- $GFE \bullet DG$ שחסר AB ובעל עודף של G.

שהצנטרומר נמצא מחוץ ללולאה (בין B - C לדוגמה) ויש שיחלוף בשלב של 4 כרומוסידות לא אחיות כשהשחלוף הוא בין E - F אז:

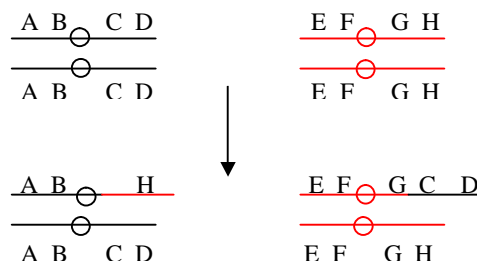


לאחר השחלוף והחלוקה השניה נקבל את הכרומוזומים $AB \bullet CDEFG - 1$ ו- $AB \bullet CFEDG$ שהם הנורמליים ו- $AB \bullet CDEFC \bullet BA - 1$ שהוא עם עודף AB וחוסר G ושני צנטרומרים אשר נקרא די-צנטרי ו- $GFEDG$ שחסר AB ובעל עודף של G וללא צנטרומר כלל הנקרא פרגמנט. התאים הכוללים את הפרמנט לא יכולים להתקיים והם ימותו, התאים עם הכרומוזום הדי-צנטי יבצר גשר Bridge כיוון שכל צנטרומר ימשך לצד השני, המשיכה תיגרם לשבירה כך שנקבל שני כרומוזומים עם חסר.

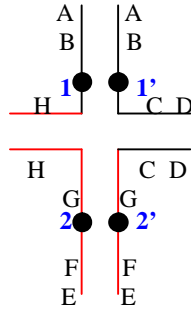
שני הכרומוזומים שיתקבלו מהכרומוזום הדי-צנטי היו ללא טלומרים ולכן הם "יאכלו" על ידי נוקלאזות ויתקצרו ובסופו של דבר גם תאים אלו ימותו, אנו רואים כי האינברסיה מנעה שחלוף כיוון שהתאים שכללו את השחלוף מתו. בנוסף יש ירידה בשיעור רקומבינציה כאשר יש לולאה כיוון שנוצר מתח מכני שמפריע לשחלוף. ניתן להשתמש באינברסיות במעבדה כדי למנוע יצירת צאצאים רקומבינטיבים בניסויים שונים.

טרנסלוקציה רציפרוקלית Reciprocal Translocation

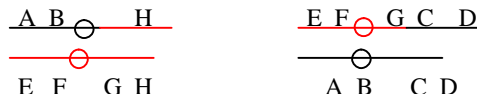
טרנסלוקציה רציפרוקלית היא מצב בו נחתכים מקטעים שונים מכרומוזומים שונים ומתחלפים בניהם כלומר:



התוצר הוא הטרנזיגות של הטרנסלוקציה, ההחלפה יכולה להיות באזורים לא פונקציונלים ואז נקבל שני תאים נורמלים לחלוטין מבחינה פנוטיפית. כיום ניתן לסמן ב-DNA אזורים שונים בצבעים פלורסצנטיים שונים ובכך לראות בדרך ציטולוגית אירועים של טרנסלוקציה. בחלוקות מיוטיות אין בעיות עם המצב של הטרנסלוקציה אך הדבר שונה בחלוקה המיוטית כיוון שהכרומוזומים צריכים לעבור זיווג. הזיווג לא שלם לכל זוג ונוצרת צורת צלב כתוצאה מזיווג של 4 הכרומוסידות.



ההפרדה יכולה להיות בשני אפשרויות הראשונה היא שצנטרומרים אחד 1 - 2 ילכו ביחד וגם 1' - 2' ילכו ביחד והאפשרות השנייה היא שהצנטרומרים 1 - 2' ילכו ביחד וגם 1' - 2 ילכו ביחד. במקרה הראשון לאחר החלוקה המיוטית הראשונה נקבל את הכרומוזומים



זה ניקרא Adjacent, הגמטות לא מאוזנות יש חוסר ודופליקציה הדבר מביא בדרך כלל למוות. במקרה השני לאחר החלוקה המיוטית הראשונה נקבל את הכרומוזומים



לזה קוראים Alternate בכל תא יש את כל האינפורמציה. הסיכוי שהאפשרות הראשונה תתקיים זהה לזה של האפשרות השנייה כלומר היחס של 1:1 אך האפשרות הראשונה מובילה למוות ולכן היו 50% פחות צאצאים מהמצב הנורמלי (50% Viability).

טרנסלוקצית רוברטסון Robertson היא טרנס לוקציה בה שני כרומוזומים שלהם זרוע ארוכה וזרוע קצרה נחתכים ומתחברים החתיכות הארוכות ביחד והקצרות ביחד כך נוצר כרומוזום מטצנטרי גדול וכרומוזום קטן מאוד שהולך לאיבוד (בדרך כלל). באותה צורה נוצר כרומוזום ה- Attached X (X^X) בדריזופולה אך כאן מחוברים כרומוזומים הומולוגים.

בתסמונת דאון העוברת בתורשה מהורה נשא לטרנסלוקציה רציפרוקלית, כרומוזום 14 נורמלי, כרומוזום 21 נורמלי וכרומוזום שהוא חיבור של כרומוזום 14 ו- 21 כך שהחומר שאבד בחיבור לא חיוני, כתוצאה מכך ניתן לקבל 4 אפשרויות צאצאים

מונוזום Monosom מצב של $2n-1$ כרומוזומים
טריזומה Trisomy מצב של $2n+1$ כרומוזומים

גמטות	14:21	14	14/21 ; 21	14/21
ילדים מספר כרומוזומים	46	45	47	45
	נורמלי	Monosom (מת) לטלי	Trisomy תסמונת דאון	נשא כמו ההורה

כשיש רקומבינציה בכרומוזומים שבהם יש טרנסלוקציה השחלוף הוא מאזור הרקומבינציה עד השבר של הטרנסלוקציה, במקרה זה נקבל את כל האפשרויות של הצאצאים אך הם היו בכמויות שונות כלומר לא נקבל את היחס 1:1:1:1.

במחלת הסרטן יש עליה באברציות הכרומוזומליות, כלומר הסרטן מעלה את הסיכוי לאברציות. בלוקמיה לדוגמה מסוג C11 יש טרנסלוקציה של גנים 9 ו-22 מה שיוצר חלבון כימרי בעל תפקיד אחר הפועל כל הזמן ללא הפסקה. פגיעה סרטנית יכולה להיות גם בגן שאחראי לתיקון DNA ובכך גורם לעליה באברציות.

מחלת Fragile X Syndrome היא מצב שניתן לראות לפעמים במטפאזה, בתסמונת זו אנו רואים בכרומוזום X אזור המחובר בסיב דק, זהו אזור רגיש.

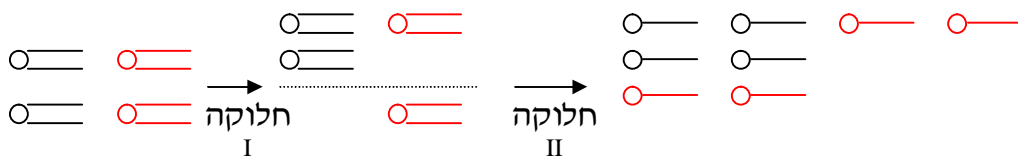


אחת ל-1250 לידות נוצר ילד עם פיגור שכלי כתוצאה ממחלה זו, באזור הסיב יש חזרות של CGG כך שבבני אדם בריאים יש 52 חזרות בנשאים 52 עד 200 חזרות ובחולים מעל ל-200, החזרות הללו הן בגן FMR1.

שינויים במספר כרומוזומים

תאים דיפלואידים הם בעלי $2n$ כרומוזומים, כשיש $2n-1$ כרומוזומים הדבר ניקרא מונוזום Monosome ושיש $2n+1$ כרומוזומים זה טריזום Trizome, יצור הפלוהידי הוא בעל n כרומוזומים ושיש $n+1$ אז זה נקרא דיזום Disome. כמו כן יכולים להיות גם הכפלות של כל הכרומוזומים ואז נקבל $3n$ שזה טריפלואיד Triploid או $4n$ שזה טטרהפלואיד Tetraploid וכך הלאה.

יכולים להיות שני סוגים של Non-Disjunction האחד הוא בחלוקה הראשונה במיזוזה והשני בחלוקה השנייה, כאשר ה- Non-Disjunction הוא בחלוקה הראשונה אז:



ושהוא בשנייה אז:



יכולים להיות מיקרים שבהם הולך לאיבוד כרומוזום כתוצאה מאי קשירה לקישור או אי הגעה למישור המטפאזה וכך נוצרת טריזומה שהנפוצה ביותר היא על כרומוזום 21 והיא נותנת תסמונת דאון (התוצאה זהה לתסמונת דאון מורשת).

התדירות של יצירת צאצאים עם תסמונת דאון תלויה בגיל של שני ההורים (בעיקר באם), כאשר ההורים הם בגיל ה-20 הסיכוי הוא $1/2000$ ואילו בגיל 45 הוא $1/46$, ברוב המקרים מקבלים טריזומות לא חיות.

המחלה הרצסיבית דושן DMD גורמת לניוון שרירים ומוות היא מועברת בתאחיזה למין וכמעט ולא מופיעה בבנות, הזכרים החולים מתים בדרך כלל לפני ההגה למצב הפוריות המינית ולכן הסיכוי לבנות חולות נמוך מאוד. אך בעקבות טרנסלוקציה בין כרומוזום X לאוטוזום יצרה שבירה בפס P21 על כרומוזום X. המחלה קוראת באחד מתאי המין של האם או האב.

כאן נשאלת השאלה איך הטרזויגוטיות למחלה רצסיבית גורם לפנוטיפ חולה, התשובה היא באנאקטיבציה כלומר רק X החופשי עובר אנאקטיבציה ולא הכרומוזום הפגום ולכן מקבלים את המחלה.

שינוי במספר כרומוזומים

מונוזום זה מצב של $2n-1$ כרומוזומים, דוגמה לכך היא תסמונת טרנר Turner Syndrome בתסמונת זו מקבלים נשים שהן 0 נשים אלו הן בעלות עודף עור באזור הכתפיים והן סטריליות (עקרות) התדירות של תסמונת זו היא 1 ל- 5000 לידות של בנות. נדיר לקבל מונוזומים בשאר הכרומוזומים כיוון שיתכן מצב של מוות בשלבים מוקדמים של העובר בעקבות מוטציות רצסיביות. אפשרות נוספת היא שהדבר יביא לשינוי בכמות החלבון שיווצר בגלל חוסר בעותקים שהיו על הכרומוזום החסר ומכך גם יגרם מוות.

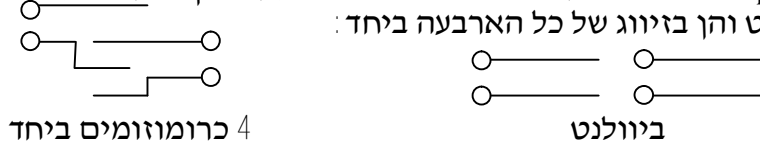
טריזומות זה מצב של $2n+1$ כרומוזומים כלומר כרומוזום מסוים נמצא בעותק נוסף, לדוגמה תסמונת קליינפלטן שהיא $X X Y$ כלומר הכפלה של כרומוזום X בזכרים, התדירות שלה היא 1 ל- 1000 לידות בנים, זכרים אלו הם בעלי פיגור שכלי והם גבוהים מאוד וסטירילים. דוגמה נוספת היא הכפלת כרומוזום Y בזכרים וקבלת $X Y Y$ הנקרא סופרמן הדבר מופיע בתדירות 1 ל- 1000 הדבר התגלה הרבה בלידות בבתי כלא וכיוון שכרומוזום Y כמעט לא מכיל גנים אין פנוטיפ מיוחד, וזכרים אלו הם פוריים.

בצמחים ופטירות ניתן לקבל צאצאים עם יותר מכמות דיפלואידית של כרומוזומים, כך מקבלים צאצאים שהם עמידים יותר ונותנים תפוקה גדולה יותר. לדוגמה החיטה בטבע היא דיפלואידית אך החיטה שאנו אוכלים היא הקסאפלוהידית כלומר $6n$ כרומוזומים, הדבר נעשה על יד קולכיצין הגורם לדפולימריזציה של המיקרוטובולי ובכך הורס את הקישור הדבר גורם לתאים לבצע חלוקה נוספת ללא הפרדת התא ומקבלים $4n$ כרומוזומים כשנבצע הכלאה עם תאים של $2n$ כרומוזומים נקבל גמטות של $3n$.

Autopolyploid זה מצב שבו כל הכרומוזומים הם מאותו הורה ולא משנה כמה סטים יש, לעומת זאת Allopolyploid זה כאשר יש הכלאה ממספר הורים שונים, לדוגמה החיטה שאנו אוכלים היא הקסאפלוהידית שנוצרה מ- 3 הורים שונים ולכן היא Allopolyploid.

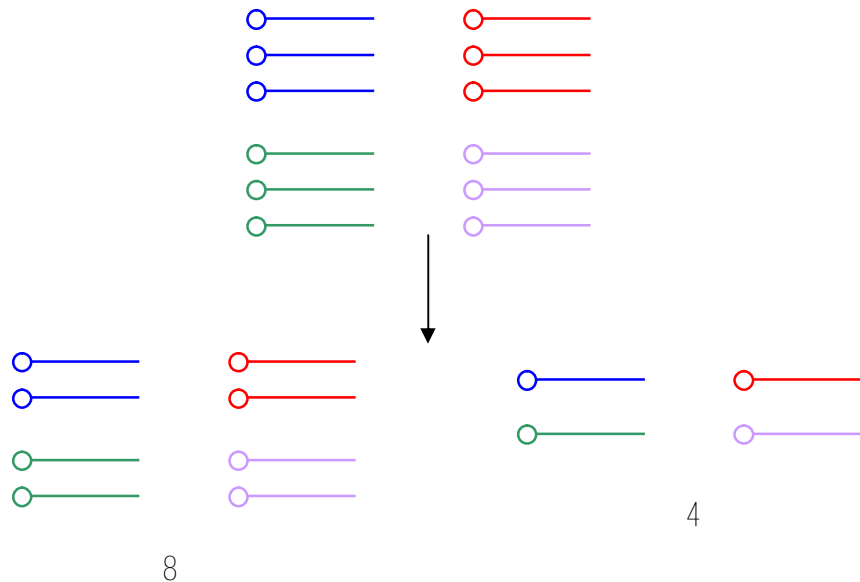
יתכן מצב של מוטציה הנותן תוצאות זהות לטיפול בקולכיצין כך שהמוטציה תגרום להכפלת הגנום ללא חלוקת התא.

ב - Autotetraploid יש 4 כרומוזומים הומולוגים לחלוטין אשר יכולים להזדווג הן כביולנט והן בזיווג של כל הארבעה ביחד:



טריפלואידים העוברים מיוזה יכולים לתת ביולנט ואוניולנט או כטריולנט. בשני המקרים יש בעיה עם הסגרציה בראשון הכרומוזום האוני וולנט יכול לנוע לכל אחד מהתאים שיווצרו כך ניתן לקבל גמטות עם שני עותקים וגמטה עם עותק אחד, כנ"ל גם עם הטריולנט שכאן הכרומוזום האמצעי יכול לנוע לכל אחד מהתאים.

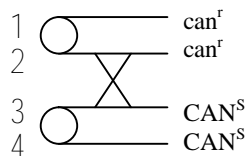
ככל שיש יותר כרומוזומים המורכבות עולה כך שמגמטה של n ניתן לקבל $2n$ ואם יש 4 כרומוזומים אז ניתן לקבל גמטות של 4, 5, 6, 7 ו- 8 כרומוזומים:



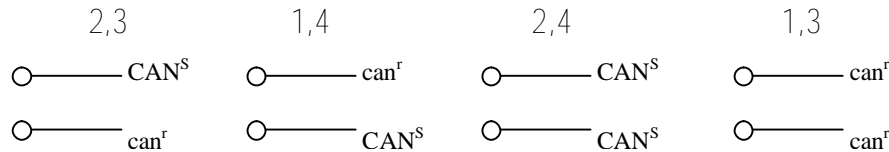
אלו הצירופים הקיצוניים ויכולים להיות כל צרוף שהוא בניהם.

רקומבינציה מיטוטית

גם בחלוקה המיטוטית יכולים להיות אירועי רקומבינציה אך בתדירות נמוכה יותר ב2 עד 4 סדרי גודל. דוגמה לכך ניתן לראות בתאי שמרים כאשר מגדלים תאים שהם הטרוזיגוטיים למוטציה בגן Canavanine כך שהמוטציה מונעת את כניסתו לתא. ה- Canavanine הוא אנלוג של אדנין וכניסתו לתאים גורמת למותם. הרקומבינציה נותנת תאים עמידים לחומר זה. רק ב- 50% מהמקרים ניתן לראות את הרקומבינציה ואלו המקרים שבהם עוברים להומוזיגוט ואילו שאר המיקרים חוזרים להטרוזיגוט ולכן לא ניתן לראות שינוי כלל.



השחלוף בין הגן לצנטרומרואז יכול להיות 1,3 ו- 2,4 או 1,4 ו- 2,3 ואז נקבל:



כמו במיוזה גם במיטוזה ככל שהמרחק בין הגן לצנטרומר גדול יותר יש יותר סיכוי לרקומבינציה.

בעזרת רקומבינציה מיטוטית ניתן לקבל מצב של מוזאיקה, כאשר נעקוב בזבובים אחרי שני גנים בתאחיזה למין האחד צבע צהוב והשני זיפים קצרים ועגולים אנו נקבל 3 סוגי צאצאים האחד הוא Yellow Spot שהוא בעל כתם צהוב על הגוף, סוג שני זה Singed Spot שזה אזור שבו יש זיפים קצרים ועגולים וסוג שלישי הוא Twin Spot שבו יש שתי כתמים צמודים אחד עם זיפים קצרים ועגולים והשני צהוב.

הסיבה לכך שכל פעם כרומוזום X אחר עובר אינאקטיבציה וכך מקבלים פעם Yellow Spot ופעם Singed Spot ואילו ה-Twin Spot נוצר מרקומבינציה.

רקומבינציה מיטוטית יכולה לגרום למחלות מסוימות להיות בעלות חדירות חלקית על ידי יצירת הומוזיגוטיות לביטוי המחלה ומכיוון שזה מתרחש רק בחלק מהצאצאים אז החדירות חלקית. הרקומבינציה המיטוטית יכולה לגרום גם לנזק בשלב מאוחר יותר של ההתפתחות.

מוטציות

אונקוגנים הם גנים אשר מוטציה בהם גורמת למוטציה סרטנית, מוטציה זו היא מוטציה דומיננטית. אחד הגנים המשתתפים בהרבה מחלות סרטן הוא RAS שהוא חלבון G והמוטציה RAS² שהיא נקודתית הופכת אותו למוטציה דומיננטית אשר מופיעה בלמעלה מ-90% מהתאים הסרטניים.

קיימות מוטציות אשר מעבירות אותנו מהמצב הרגיל למצב מוטנטי והם נקראות Forward Mutation, לעומתם יש מוטציות אשר מעבירות מהמצב המוטנטי למצב הנורמלי ונקראות Backward (reversion) mutation, יש מוטציות לתלויות ומוטציות תלויות Conditional Mutation. יש גם מוטציות התלויות בטמפרטורה והם Temperature Sensitive Mutation, יש מוטציות שגורמות לעמידות ומוטציות שנהיות תלויות בגורם סביבתי עם הזמן.

מוטציות יכולות להיות באקראי או בסלקציה כדי לבדוק זאת צריך לעשות מבחן פלקטואציה Fluctuation Test, בניסוי זה לקחו חיידקי E. coli מסוג T1 כ- 10^3 חיידקים וישמו אותם במבחנה עם 1ml של מצע עשיר, הדבר נעשה במספר מבחנות, את המבחנות שמו בטמפרטורה של 37° בטלטול ונתנו להם לגדול עד שבכל מבחנה עם 1ml מצע יש $0.2 \cdot 10^8$ חיידקים, את החיידקים התקיפו עם כמות גדולה של פאג'ים וזרעו על צלחות, כל החיידקים אמורים לעבור ליזיס ואלו שישרדו הם אלו שעמידים לפאג'ים.

במקביל לקחו מבחנה אחת ובה 10ml של מצע וגם כאן נתנו לחיידקים לגדול לכמות של $2 \cdot 10^8$ ושוב התקיפו בפאג'ים וזרעו על צלחות. התקבל כי הממוצע של המושבות החיות זהה פחות או יותר בשני הניסויים. אך היה הבדל בניסוי הראשון היו צלחות שבהם היו מושבות רבות וצלחות ללא מושבות כלל ואילו בניסוי השני על כל הצלחות היו מושבות.

כיוון שיש צלחות עם מושבות וצלחות ללא מושבות אז לא מדובר באדפטציה אלא במוטציה אקראית שיכולה להיות בכל שלב אם בהתחלה אז היו הרבה מושבות ואם בסוף אז מעט, בניסוי השני אנו מחלקים אותם אחרי שכבר התרחשה המוטציה ולכן יש יחס פחות או יותר זהה של מושבות בכל צלחת.



אנו מקבלים התפלגות פואסונית

תדירות המוטציה מסומנת ב- μ ומספר החלוקות מסומן ב- n וכאשר יש הרבה חלוקות אז n שווה למספר התאים ואז תדירות קבוצת האפס היא:

$$= e^{-\mu n} \text{ תדירות קבוצת האפס}$$

ניתן להראות מוטציות אקראיות על ידי רפליקה שבה מעבירים את התאים ממצע עשיר למצע עם אנטיביוטיקה ורואים כי יש מושבות ששרדו במלואם והן מושבות שבהם הייתה מוטציה בהתחלה ומושבות שלא גדלו כלל בהם לא הייתה וכמובן מושבות שהם מושבות מעבר בהם הייתה מוטציה בשלבים שונים בגידול המושבה.

בחידקים יש שיטה להעשרה של מוטנטים המתבססת על פנצילין ההורג תאים מתחלקים, כך מגדלים חידקים על מצע מלא ולאחר מכן מעבירים אותם למצע עם פנצילין מה שהורג את התאים הנורמלים כי הם מתחלקים והמוטנטים נשארים.

בשנת 1928 הוכיח Muller כי יש קשר בין קרינה למוטציות הוא עשה זאת בעזרת זבובי דרוזופילה שלהם כרומוזום מאזן CIB כך שזה כרומוזום עם אינברסיות בכדי למנוע רקומבינציה, מוטציה לתלית רציסבית לבדוק הומוזיגוטיות (i) ומוטציה דומיננטית של עין כיליתית בהטרוזיגות וצרה בהומוזיגוט (B) הוא עשה הכלאה נקבה הטרוזיגוטית לכרומוזון המאזן והכליא אותה עם זכר נורמלי שעבר הקרנה בקרני X מהצאצאים ב- F1 הוא הכלאה את הנקבות בעלות העין הכיליתית עם הזכרים הנורמליים (הזכרים היחידים כיוון שהשאר הם הומוזיגוטים למוטנט הלתלי מה - CIB, בצאצאי F2 הוא בדק את הצאצאים והיכן שלא היו זכרים כלל ניתן היה להסיק כי הדבר הוא מקבלת הלתליות בכרומוזום שעבר הקרנה (רק מחצית מהזכרים כיוון שהחצי השני מת כתוצאה מ- CIB).

הוא קיבל שתדירות המוטציה ללא קרינה היא $0.15 \cdot 10^{-4}$ ואילו בכמות מסוימת של קרני X התדירות הייתה $1.7 \cdot 10^{-4}$ ושכמות הקרינה הייתה כפולה אז תדירות המוטציה הייתה $2.9 \cdot 10^{-4}$ כלומר יש יחס ישר בין החשיפה לקרינה למוטציה הלתלית.

יש שלושה טיפוסים של מוטציות נקודתיות והם Missense, Nonsense ו- Frame Shift. במוטציות Missense יש שינוי בחומצה אמינית, ברוב המקרים המוטציה שקטה בעקבות הניוון של הגנום וגם יתכן שהפגיעה באזור שלא חשוב לתפקוד החלבון. מוטציות Nonsense הם מוטציות אשר בהן נוצרים קודוני עצירה כתוצאה מכך בדרך כלל לא נוצר חלבון כלל. מוטציות מסוג Frame Shift הם מוטציות שבהן יש חסר או תוספת של נוקלאוטיד וכך זה כל מסגרת הקריאה והחלבון כולו משתנה.

כאשר יש מוטציה שבה מתקבל לדוגמה TAA - M GAA ואנו רוצים לחזור למצב של הפנוטיפ הנורמלי יכולות להיות שתי אפשרויות רברסיה וסופרסיה. ברברסיה אנו חוזרים על ידי החלפת הנוקלאוטיד חזרה, החזרה לא תמיד מדויקת אך לפעמים זה לא משנה (כשהמוטציה יוצרת קודון עצירה אז גם ברברסיה לא מדויקת עדין נקבל חלבון פעיל בתנאי שהמוטציה לא באזור חשוב לפעילות).

כשיש מוטציה מסוג Frame Shift אין אפשרות לבצע רברסיה כי יש סטייה ממסגרת הקריאה, אך ניתן לקבל סופרסיה כלומר אם יש נוקלאוטיד בעודף אז יוצא נוקלאוטיד ואם חסר אחד אז הוא יוכנס, הדבר לא ניקרא רברסיה כיוון שההוספה הוא ההוצאה של הבסיס היא לא בהכרח במקום המוטציה. גם למוטציות מסוג Nonsense יש מנגנון סופרסיה אשר בו נוצר tRNA אם חומצה אמינית שמזהה את קודון העצירה וכך החלבון יכול להיות מסוננת. אנו לא נקבל חזרת פעילות של 100% אך עדין נקבל חלבון פעיל.

כשיש מוטציה ורוצים לדעת האם היא מוטצית Nonsense לוקחים סופרסור מתאים אם מוטציה ידועה ובודקים האם זה מתקן את המוטציה צריך לבדוק את שלושת האפשרויות של קודוני העצירה. בנוסף צריך לבצע אנליזה גנטית בין הסופרסור למוטציה בכדי להראות כי אין תאחיזה ואז זה סופרסיה ולא רברסיה.

בקומפלקסים חלבוניים יש אינטראקציה בין חלבונים שונים מוטציה בחלבון תהרוס את האינטראקציה ותגרום לאי יצירת קומפלקס, לתופעה זו יש תיקון בעזרת סופרסיה הגורם למוטציה בחלבון שאליו ניקשר החלבון הפגוע כך שעכשיו הם יכולים ליצור אינטראקציה ואת הקומפלקס.

סוג נוסף של סופרסיה היא בעזרת מסלול עוקף שבדרך כלל לא פעיל והסופרסיה מפעילה אותו ומאפשרת יצירת חלבון ופעילות.

One Gene One Enzyme Theory

תופעת הפנילקטנוריה אוטוזומלית בבני אדם היא גורמת להפרעה מטבולית, בעקבות המוטציה יש מצב בו התא לא מסוגל להפוך פניל אלנין לטירוזין, הפניל אלנין נהפך לחומצה פניל פירובט והוא מצטבר בתא ויש לו אפקט טוקסי, יש מה שניקרא Inborn Error.

כשבדקו מסלולים כמו זה על חיידקים ופטרויות זיהו מסלולים שלכל שלב אחראי אנזים אחר, לאחר מכן בדקו מוטנטים שונים שבהם לא התקבל תוצר וניסו לגדל מוטנטים אלו על חומרי הביניים השונים ועל התוצר ובדקו את התוצאות:

חומרים מוטנט	A	B	C	D	E	F
1	-	-	-	+	-	+
2	-	+	-	+	-	+
3	-	-	-	-	-	+
4	-	+	+	+	-	+
5	+	+	+	+	-	+

ומכאן ניתן לקבל את המסלול ומיקום המוטנטים אך חשוב לציין שזה לא בהכרח כל המסלול יתכן שיש שלבים נוספים שלא נבדקו בניסוי, אך לפי הניסוי ניתן לדעת מחומרים אלו מה בא לפני מה ובין אלו חומרים יש את המוטנטים.

המסלול E → A → C → B → D → F
 המוטנטים 5 4 2 1 3

הפיטריה נירוספורה מסוגלת לגדול ללא חומצות אמינו כלל, כאשר לוקחים מוטנטים שלא יכלו לגדול ללא ארגנין בעלי פגיעה ב-3 גנים שונים מקבלים את התוצאות הבאות מגידול על מצעים שונים:

חומרים מוטנט	ארגנין	אורניטין	ציטרולין
arg 1	+	+	+
arg 2	+	-	+
arg 3	+	-	-

ומכאן המסלול הוא: ארגנין a ציטרולין a אורניטין a פרוקורסור (חומר מוצא והמוטנטים הם: 1 לא ידוע 2 3)

מניסויים אלו ניתן לראות כי בתוך התא מתרחשות ראקציות ביוכימיות בסדר אחת אחרי השניה וכל אנזים מקודד על ידי גן יחיד וכל ראקציה דורשת פעילות של אנזים אחד ומכאן שבמסלולים פשוטים התיאוריה של גן אחד אנזים אחד נכונה.

שמרים יכולים לחיות הן כהפלוהידים והן כדיפלוהידים, כאשר נבצע הכלאה בין שמרים שהם ade^- עם שמרים רגילים ונבצע אנליזת טטרדות נקבל כי בספורה יש 2 תאים שהם רגילים ושניים שהם ade^- , עם נבצע הכלאה של שני זנים הטרוזיגוטים $mut2/+ - 1 mut1/+$ נקבל 3 אפשרויות של טטרדות:

mut1 mut1	mut2 mut2	mut1 + mut1 +	mut1 + mut2	mut1 mut2	mut2 mut2
+	+	+	mut2	mut1	+
+	+	+	mut2	+	+
PD		NPD		T	

יכולות להיות שתי אפשרויות למוטציה הראשונה אומרת שמספיק פגיעה בגן אחד לקבלת פנוטיפ מוטנטי והשניה אומרת שצריך שתהיה פגיעה בשני הגנים לקבלת פנוטיפ מוטנטי. לפי האפשרות הראשונה אז מהספרות שהם PD 2 היו מוטנטיות מאלו שהם NPD כל ה-4 היו מוטנטיות ומאלו שהם T 3 היו מוטנטים, ולפי האפשרות השניה מסוג PD היו 2 מוטנטים מ- NPD לא היו מוטנטים כלל ומ- T היה מוטנט אחד בלבד. לאחר בדיקה של הספרות התברר כי הפגיעה היא בגן אחד בלבד. לאחר אנליזה זו עושים מבחן קומפלימנטציה ומבחן אלליות.

מערכת הקוניוגציה Conjugation

בניסוי מסוים לבדיקת זיווג בין חיידקים נלקחו שני סוגי חיידקים, סוג A שהוא אקסוטרופ שלא יכול לגדול ללא ביוטין ומתיונין וסוג B שהוא אקסוטרופ לטימן טריאונין ולאוצין, מטרת הניסוי היא לראות עם בזיווג התקבל זן חדש שיכיל את התכונות משני הסוגים.

בניסוי גידלו את החיידקים מסוג A לחוד ואת אלו מסוג B לחוד וגם ביחד וזרעו אותם על מצעים מינימליים וראו כי גם בסוג A וגם בסוג B אין מושבות כמצופה, אך באלו שגדלו יחד התקבלו מושבות. כדי לבדוק האם גדילת המושבות קשורה בקומפלימנטציה או בהפרשת חומרים על ידי התאים שעוזרים אחד לשני נעשה ניסוי נוסף בו לקחו מבחנת U שבמרכזה יש פילטר שימנע מגע בין התאים אך יאפשר מעבר חומרים, שחיידקים אלו נבדקו במצע מינימלי הם לא גדלו ומכאן שחייב להיות זיווג בין התאים.

לפי ניסוי זה לא ניתן לדעת האם יש קומפלימנטציה רציפרוקלית או שיש חיידק תורם וחיידק מקבל ולכן נעשה ניסוי נוסף בו טופלו תאי החיידקים על ידי סטרפטומיציין לזמן קצר כך שהם עדיין יוכלו להזדווג. הוא הכין שני מערכות כך שבאחת הוא טיפל בסוג A ובשני בסוג B ואז ביצע הכלאה עם הסוג המשלים הלא מטופל. בניסוי התקבל כי כאשר טיפלו בסוג A התקבלו מושבות ואילו שסוג B טופל לא התקבלו מושבות.

מתוצאות אלו ניתן להסיק כי סוג A הוא הסוג התורם ואילו סוג B הוא הסוג המקבל, ניתן להסיק זאת כיוון שכאשר סוג A טופל התאים ניפגעו אך יוכלו לתרום את האינפורמציה לסוג B כיוון שהוא תקין ואילו שסוג B היה פגוע לא עזרה קבלת האינפורמציה ולא התקבל גידול.

לאחר מכן בוצע ניסוי נוסף בו נילקח זן תורם ידוע מסוג A ובעל מוטציה של עמידות לסטרפטומיציין וזיווג אותו עם הסוג B ואז לא רק שהתקבלו מושבות שגדלו על מצע מינימלי הם היו עמידים גם לסטרפטומיציין, כלומר הזן המקבל קיבל גם את העמידות. בנוסף לכך החיידקים מסוג B שהיו מקבלים לאחר קבלת האינפורמציה הפכו לתורמים.

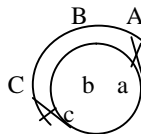
את הזנים התורמים אנו מסמנים כ- F^+ כך ש- F^- זה Fertility ואילו הזנים המקבלים הם F^- . בזמן הזיווג נוצר Pili בין התא התורם לתא המקבל שזה תעלה המחברת את שני התאים, תעלה זו נוצרת מהאלמנט F^+ , בזמן הקוניוגציה נוצרת הכפלה של ה- DNA בחיידק התורם במערכת של Rolling Circle, במערכת זו ה- DNA משוכפל סיב אחד קודם ואחריו השני במעגל, ותוך כדי שיכפול הסיב עובר לתא המקבל דרך התעלה ואחריו עובר גם הסיב השני שמשוכפל, במעבר עובר גם האלמנט F^+ מהתורם למקבל וכך המקבל הופך לתורם.

מסתבר כי בתדירות נמוכה יש תאים התורמים בקוניוגציה גבוהה והם נקראים High Frequency Recombination (HFR), במקרים אלו יש רקומבינציה בין שני מעגלים של DNA בחיידק ומתקבל מעגל אחד גדול. במצב כזה התורם מעביר עותק של כל הגנום שלו, כתוצאה מכך מתקבל מצב של דיפלואידיות חלקית. חשוב לציין כי פלסמיד לא עובר אינטגרציה לתוך הגנום של החיידק אבל אפיזום כן וחוץ מהבדל זה פלסמיד ואפיזום זהים בתכונותיהם.

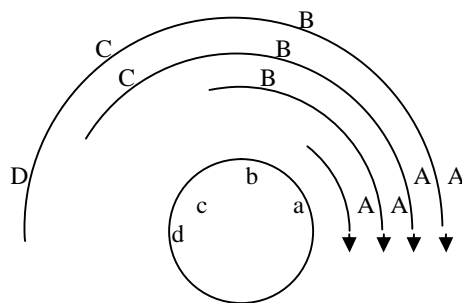
תהליך העברה של המידע מתחיל מנקודה מסוימת על חלקיק F והגנים שיותר קרובים להתחלה יעברו קודם לחיידק השני וככל שהגן רחוק יותר מנקודה זו הסיכוי שלו לעבור נמוך יותר. בעזרת זה ניתן ליצור מפה גנטית לפי הכניסה לחיידק המקבל, אך המרחקים בין הגנים היו ביחידות שונות לעומת אלו שמקבלים בקביעת מפה גנטית מרקומבינציה. אנו רואים כי אנו מקבלים תוצאות שונות והסיבה לכך היא שהאינטגרציה יכולה להיות שונה ואפילו הפוכה ובמקום שונה בגנום.

כאשר יש מצב של דיפלואיד חלקי בו חלק מהגנום של החיידק התורם עובר למקבל קוראים מריזיגוט, בחיידק המקבל יש כתוצאה מכך DNA מעגלי שלו עצמו ו- DNA לינארי שהגיע מהחיידק התורם. כדי שהגנים של התורם יוחלפו עם אלו של המקבל בגנום צריך שהיו מספר זוגי של רקומבינציות כיוון שאחרת מתקבל DNA לינארי וכיוון שאין טלומרים בחיידקים DNA זה יפורק על ידי נוקלאזות.

כדי לבדוק את תדירות הרקומבינציה נבצע בשלב ראשון סלקציה לגן האחרון שניכנס לדוגמה ניקח חיידק תורם לגנים A, B ו-C כך שהמקבל הוא a, b ו-c ואז נקבל:



לאחר סלקציה ל-C נבדוק כמה מושבות חיות גם על A או על B וכך נוכל לחשב מרחק בין הגנים ותדירות רקומבינציה. אנו מבצעים סלקציה לגן האחרון ולא הראשון כיוון שמעכב על הראשון ייתן תדירות כניסה כי ה-DNA שניכנס לתא יכול להפסיק להיכנס לאחר הגן הראשון, השני או אחר כל גן שהוא.



מפות גנטיות אלו לא מדויקות כיוון שה-DNA ניקשר באופן אקראי.

טרנסדוקציה

הטרנסדוקציה דומה בעיקרון לקוניוגציה אך שמעבר המידע הגנטי נעשה על ידי בקטריופאג'ים שהם וירוסים של חיידקים, הבקטריופאג' מורכב מראש חלבוני שבתוכו הגנים (כ-RNA או כ-DNA) אחרי הראש יש צוואר וזנב המורכב מאזור פנימי Core וסביבו מעטפת ובסוף דיסקית סגירה End Plate עם סיבי זנב, הפאג' ניצמד לדופן התא ומזריק את הגנום שלו פנימה לתוך החיידק בעזרת אנרגיה מ-ATP. כך שה-End Plate מגיע לחיידק וחודר לדופן שלו ואז מתבצעת ההזרקה, מהפאג' שנישאר ללא הגנים מקבלים Ghost.

שה-DNA מהפאג' חודר לחיידק הוא גורם לדגרגציה ל-DNA החיידק ובכך לשיתוקו ובמקום זה להכפלות של הגנום שלו וביטוי חלבונים מהגנום שלו הדרושים לו, כלור חלבונים המרקיבים את הפאג'. לאחר יצירת הראשים ניכנס לתוכם ה-DNA ומתחבר הזנב והסיבים כך שבסופו של דבר נוצרים כ-200 פאג'ים חדשים. אחד החלבונים שיוצר הפאג' הוא ליזוזים המפרק את דופן התא וגורם לליזיס שמאפשר לפאג'ים להישפך החוצה, כך נוצרת הגברה של הפאג'ים.

ניתן לראות התפתחות פאג'ים על חיידקים בעזרת Plaque Assay בה לוקחים מבחנה המכילה 10^7 חיידקים וזורעים אותם על צלחת אז מתקבל דשא Lawn אם אנו מגדלים את החיידקים ומוסיפים 10 פאג'ים ואז זורעים אנו מקבלים ב-10 מקומות חללים ללא חיידקים עיגולים אלו נקראים Plaque. למערכת כזו קוראים מערכת ליטית Lytic (מערכת בה הפאג' גורם לליזיס) והפאג'ים הגורמים לכך נקראים פאג'ים וירולנטים Virulent או פאג'ים אלימים, לדוגמה P_1 ו- T_4 .

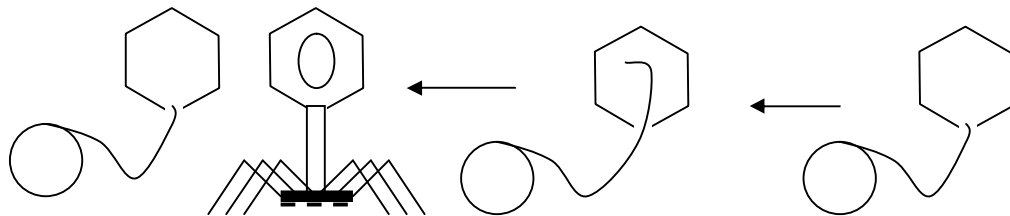
בנוסף לסוג זה של פאג'ים יש גם פאג'ים לא אלימים הנקראים מתונים Temperate והם גורמים למחזור ליזוגני לדוגמה פאג' מסוג λ . פאג'ים אלו מכניסים את ה-DNA שלהם לחיידק המעבר הוא של DNA לינארי עם קצוות דביקים והוא ניסגר ל-DNA מעגלי בחיידק. ה-DNA הזה מכיל אזור Attachment או בקיצור Att, אזור זה הוא בעל הומומבניציה לאזור ב-DNA החיידקי וכתוצאה מכך נוצרת רקומבניציה עם שיחלוף יחיד וכל הגנום של הפאג' ניכנס לגנום החיידקי. כדי למנוע התחלת יצירה של מחזור ליטי קיים רפרסור המונע את ביטוי הגנים של הפאג', כאשר הגנום של הפאג' נמצא בתוך הגנום החיידקי הוא נקרא פרופאג' והוא מוכפל יחד עם הגנום החיידקי, את הרפרסור ניתן להוריד על ידי UV ואז מתקבל מסלול ליטי.

פאג' מסוג λ שהוא פועל במסלול ליזוגני יש שני טיפוסים טרנסדוקציות האחת היא Site Specific והשניה General. בדרך כלל במקרים של פרופאג'ים הגנום של הפאג' ניכנס לאזור ספציפי ושהוא יוצא היציאה יכולה להיות מדויקת לאזור ספציפי או על ידי רקומבניציה באזור אחר ואז עובר חלק מהגנום של החיידק לתוך הפאג' ואז אם נתקיף תאים עם פאג'ים אלו לקבלת מסלול ליזוגני נקבל העברה של גן מגנום של חיידק אחד לגנום של חיידק שני, לדבר זה קוראים טרנסדוקציה Site Specific.

כאשר מתקיפים חיידקים בפאג'ים ניתן לקחת אותם ביחס של 1:1 או ביחסים שונים דבר הנקרא Multiplicity Of Infection (MOI) לדוגמה 10 פאג'ים לחיידק לשם קבלת מסלול ליטי וריבוי של פאג'ים או ביחס של 10 חיידקים לפאג' מה שנותן מסלול ליזוגני. חיידק ליזוגני מחוסן מפאג'ים בעלי רפרסור דומה כלומר אם חיידק שבתוכו יש פאג' ליזוגני אז פאג'ים מאותו סוג לא יתקפו את אותו חיידק.

הטרנסדוקציה הכללית General לא מתקבלת בפאג'ים מסוג T_4 אך כן בסוג P_1 , במקרה זה שהגנום של הפאג' מוחדר לחיידק נישבר ה-DNA של החיידק למקטעים, מקטעים אלו יכולים להיכנס לראש של הפאג'ים ושפאג'ים אלו יתקפו תאים אחרים הם לא יגרמו להריסתם כי אין בהם את הגנום של הפאג' אך הם יתרמו את הגנים שהם לקחו מהחיידק הראשון לחיידק השני. אנו צריכים לעשות זאת ב-MOI נמוך כדי להבטיח שלכל חיידק יכנס פאג' אחד כיוון שאחרת לא ניתן היה לעקוב אחרי מעבר הגנים בעזרת סלקציה, בניסויים אלו מוסיפים Ca^{+} המוריד את הסיכוי לעבור מחזור ליטי, ניתן גם להוסיף Mg^{+2} אך זה לא הכרחי.

ההכפלה של ה-DNA של הפאג' בחיידק היא בצורה מעגלית ותוך כדי ההכפלה ה-DNA ניכנס לראש של החלבון של הפאג' לאחר כניסת העותק נחתך ה-DNA והראש ניסגר על ידי הזנב.



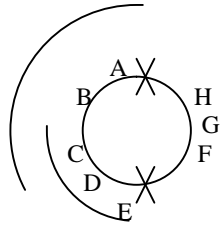
בטרנסדוקציה כללית ככל שהמרחקים בין הגנים קצרים יש יותר סיכוי שהם יעברו יחד לתוך הפאג' ומשם לחיידק אחר ושמשבטים תדירות של טרנסדוקציה על ידי מספר המושבות שלהם יש עמידות לשני גנים חלקי מספר המושבות להם יש עמידות רק לאחד מהגנים הללו וככל שהתדירות גבוהה יותר המרחק בין הגנים

קצר יותר (הפוך מברקומבינציה). בעזרת זה ניתן לבנות מפות גנטיות אך הן היו שונות מהמפות הגנטיות המתקבלות מרקומבינציה.

אנו יכולים לעשות סלקציה לפי כל אחד מהגנים שמועברים כיוון שאנו לא יודעים את סדר הימצאותם וסדר העברתם. לדוגמה אם הגנים המעוברים הם A, B ו-C הסדר יכול להיות ABC, BAC או ACB, כשנעשה סלקציה לפי A נוכל לקבל:

$\overbrace{A \ B \ C}$ $A^+B^+C^+$ $A^+B^+c^-$ $A^+b^-c^-$ $A^+b^-C^+$ <p>לא מתקבל או בתדירות נמוכה מאוד</p>	$\overbrace{B \ A \ C}$ $A^+B^+C^+$ $A^+B^+c^-$ $A^+b^-C^+$ $A^+b^-c^-$ <p>לא מתקבל או בתדירות נמוכה מאוד</p>	$\overbrace{A \ C \ B}$ $A^+B^+C^+$ $A^+b^-C^+$ $A^+b^-c^-$ $A^+B^+c^-$ <p>לא מתקבל או בתדירות נמוכה מאוד</p>
---	---	---

לבי התוצאות המתקבלות מהסלקציות ניתן לקבוע את סדר הגנים ולבצע מפה גנטית. אנו נקבל תוצאות שונות אם נעשה את הסלקציה הראשונה לפי A, B או C כיוון שכניסת ה-DNA לראש של הפאג' היא לא אקראית לחלוטין. ה-DNA של הפאג' ניכנס לראש של הפאג' בגלל אזורי (Package) Pac - וה-DNA הרגיל ניכנס אליו בגלל אזורים דמויי Pac כך שגן מסויים יכול להיכנס משני מקטעי DNA שונים לדוגמה:



X מסמן חתיכה של ה-DNA
A עד H מסמנים גנים חשוב לזכור כי חתיכת ה-DNA אקראית

הגן C יכול להיכנס בשתי מולקולות שונות ולכן התוצאות היו שונות אם נעשה קודם סלקציה ל-C ואחר כך ל-A או להפך.

מיפוי עדין של גנים

בעבר חשבו כי הגנים נמצאים על ה-DNA כמו חרוזים על חוט ורקומבינציה יכולה להיות רק בין גנים, כיום ידוע כי רקומבינציה יכולה להיות בין כל שני בסיסים בגנום. B ו-K הם זנים של חיידקים מסוג E. Coli אך זן K לא יכול להיות עם פאג'ים מסוג rII ומתקבלים פלאקים.

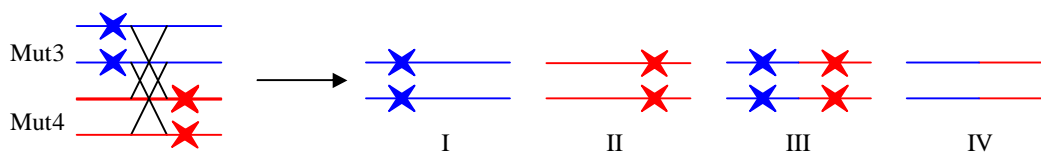
כשבדקו 3 מוטנטים בגידול על B ולאחר מכן העבירו אותם ל-K ובדקו גדילה:

	B	K
Mut1	10^9	אין מושבות
Mut2	10^9	אין מושבות
Mut3	10^9	10 מושבות

ניתן לראות כי במוטנט 3 הייתה ריברסיה בתדירות מאוד נמוכה 10^{-8} , לעומת זאת שני המוטנטים הראשונים לא עברו ריברסיה ומכאן ניתן להסיק כי מוטציה 3 היא נקודתית. נבצע בדיקה עם מוטציה נקודתית אחרת Mut4:

	B	K
Mut4	10^9	100 מושבות

כאן נשאלתה שאלה מה יקרה עם נתקוף את החיידק בפאג'ים עם שני המוטציות, את זה נעשה במכפלת התקפה של 10^9 פאג'ים לחיידק כדי להגדיל את הסיכוי שחיידק יותקף על ידי שני סוגי הפאג'ים. בחיידק מזן B שיקבל את שני מקטעי ה-DNA יכולה להיות רקומבינציה שתיתן לנו 4 צאצאים אפשריים:

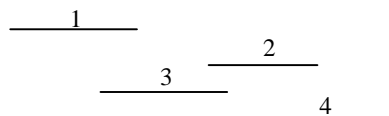


את הליזאט (נוזל המכיל פאג'ים לבד ללא חיידקים) נזרע על K, מהצאצאים I, II ו-III לא נקבל מושבות אך IV ייתן מושבות כי אינו מכיל מוטציה כלל, בניסוי זה התקבלה 0.01% רקומבינציה כלומר תדירות של 10^{-5} . בעזרת זה ניתן לבנות מפות רקומבינציה.

בניסוי נוסף נבדקו 4 מוטציות חסר אחת עם השניה כדי לנסות למפותם התוצאות הם:

	1	2	3	4
1	-	+	+	+
2	+	-	+	+
3	-	-	-	+
4	+	-	+	-

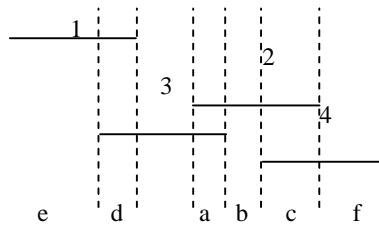
כאשר שני מוטציות חסר יכולות ליצור משהו שחי סימן שהן באזורים שונים בגנום ומכאן 1 ו-2 לא חופפים וגם 3 ו-4 לא חופפים אך 3 חופף ל-1 ול-2 ו-4 חופף ל-2 ו-3 (החסרים מסומנים בקו)



לאחר מכן נבדקו מוטציות שעברו רברסיה יחד עם החסרים כדי לבדוק את מיקומם ביחס לחסרים:

	1	2	3	4
a	+	-	-	+
b	+	-	+	+
c	+	-	+	-
d	-	+	-	+
e	-	+	+	+
f	+	+	+	-

ומכאן הסדר הוא :



בהכלאה של המוטנטים הנקודתיים אחד על השני נקבל :

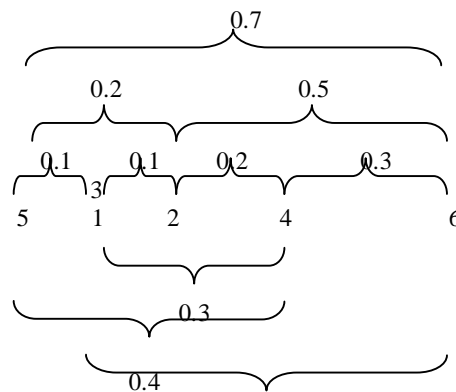
	a	b	c	d	e	f
a	-					
b	+	-				
c	+	+	-			
d	+	+	+	-		
e	+	+	+	+	-	
f	+	+	+	+	+	-

תוצאות אלו הוכיחו כי לא הייתה מוטציה נקודתית חופפת.

כשאנו מגדלים פאג'ים על חיידקים מזן B ורוצים לבדוק תדירות של הרקומבינציה אנו מעבירים אותם גם לזן K וגם לזן B וכך ניתן לזהות יותר בקלות מה שגדל מול מה שלא גדל, כשלוקחים את מספר הפלאקים על K שאלו רק הרקומביננטים ומחלקים במספר הפלאקים על B שזה סך הכול מתקבל טיטר Titer. לדוגמה מתקבלות התוצאות הבאות :

	1	2	3	4	5	6
1	0					
2	0.1	0				
3	0	0.1	0			
4	0.3	0.2	0.3	0		
5	0.1	0.2	0.1	0.4	0	
6	0.6	0.5	0.6	0.3	0.7	0

ומכאן המפה הגנטית היא :



בצורה כזאת ניתן לזהות אירועים של עד 0.01% רקומבינציה ושכל שני בסיסים ב – DNA יכולים לעבור רקומבינציה. לכל יחידת רקומבינציה כלומר נוקלאוטיד ניתן השם Recon. אנו צריכים לבצע גם רקומבינציה בה קודם תוקפים את B ואחר כך את K וגם מבחן קומפלימנטציה בו מדביקים ישר את K ואז עם יש גדילה זו קומפלומינציה ולא רקומבינציה, למבחנים אלו קוראים מבחן ציס טרנס Cis Trans כד שהרקומבינציה היא Cis והקומפלימנטציה היא טרנס ולכל גן קוראים באנלוגיה Cistron כי הגנים נבדקו בהתחלה במבחן Cis Trans. בניסוי התגלו אזורים בהם היו מוטציות רבות מאוד אזורים אלו נקראים Hot Spots.

דוגמה נוספת היא :

rII	MOF 10		MOF 1			
	B	K	B à B	B à K	K à B	K à K
1	10^9	1	10^9	1	10^9	10^9
2	10^9	1	10^9	1	10^9	10^9
3	10^9	1	10^9	1	10^9	10^9
1 X 2	10^9	10^9	10^9	$4 \cdot 10^{-5}$	10^9	$4 \cdot 10^{-5}$
1 X 3	10^9	10^9	10^9	$6 \cdot 10^{-5}$	10^9	$6 \cdot 10^{-5}$
2 X 3	10^9	2	10^9	$2 \cdot 10^{-5}$	10^9	10^9

טבלה זו נותנת לנו את הטיטר של הפאג'ים הנוצרים, כך שהזנים 1 עד 3 הם מוטציות בלתי תלויות והשאר הם מוטציות כפולות, בזן 1 במכפלת הדבקה של 10^{10} פאג'ים לחיידק על K נראה שיש רברסיה וכדי להוכיח זאת בודקים במכפלת הדבקה של 1 ואנו רואים כי בהדבקה זו מקבלים תוצאות מלאות המראות כי אכן היתה רברסיה.

במוטציות הכפולות 2×1 ו- 3×1 הייתה קומפלימנטציה ב – MOF 10 ואילו ב – MOF 1 הייתה רקומבינציה אך במידה שונה ולכן היעילות של הרקומבינציה שונה, הסיבה לכך היא שהמרחק בין המוטציות שונה ולכן מיספר הרקומבינציות שונה. מוטציה הכפולה 3×2 לא הייתה קומפלימנטציה ב – MOF 10 על K ומכאן שהם פגועים על אותו גן, במעבר ל – MOF 1 מ – B ל – K התקבל $2 \cdot 10^5$ וזה נובע מרקומבינציה בתוך הגן ומכאן שהפגיעה היא אכן באותו גן אך במקומות שונים בו.

את המפות הגנטיות הללו ניתן לצייר אך ורק לאחר בדיקת קומפלימנטציה ורקומבינציה כלומר מבחן ציס טרנס.

בצורה כזו ניתן למפות מוטציות רבות בנוסף ל – Hot Spots אנו מקבלים אזורים ללא מוטציות איזורים אלו יכולים להיות מצד אחד אזורים שבהם המוטציה היא לתלית ולכן לא ניתן לבודד אותם או מצד שני אזורים בהם מוטציה לא תשנה את פעילות החלבון שיווצר ובכך הפנוטיפ הוא לא של מוטנט. קיימת גם אפשרות שאזורים אלו בעיקבות המיבנה לא נגישים ולכן לא מתרחשת בהם מוטציה.

רקומבינציה בתוך גנים יכולה להיות גם ביצורים גבוהים ולא רק בחיידקים, לדוגמה ניקח זבובים בעלי עיניים לבנות שתדירות הרקומבינציה היא 10^{-4} , אנו לוקחים זבובה שלה יש אלל אחד בגן עם מוטציה מסוימת ואלל שני עם מוטציה אחרת, דבר זה נקרא הטרואלללי, וכדי לגלות אירוע בתדירות זו צריך לספור כמיליון זבובים ואז כמאה מהם הם בעלי עין אדומה מהרקומבינציה. קשה לבצע ניסוי זה כי קשה לספור מליון זבובים אבל גם שמרים הם יצורים גבוהים וניתן להשתמש בהם.

אנו נבודד מוטציה בגן ADE2 שגורמת לתא להיות אוקסוטרוף ולא נקבל גדילה על צלחת MIN אבל כן על צלחת M+ADE. כשהכנו דיפלואידים שהם ade⁻ לא היה גידול על מצע מינימלי כלומר לא הייתה קומפלימנטציה ומכאן שהפגיעה באותו גן וכיוון שלא ידוע היכן נסמן את המוטנטים כ- ADE2-1, ADE2-2 ו- ADE2-3 שניתן לדיפלואידים ADE2-1 / ADE2-2 לעבור מיוזה נקבל 4 גמטות במידה והייתה רקומבינציה והפגיעה במקום שונה,

אנו יכולים לזרוע על צלחת כ- 10⁶ עד 10⁷ תאים על צלחת MIN ואם תדירות הרקומבינציה היא 10⁻⁴ אז נקבל כ- 100 עד 1000 מושבות שאותם קל לספור ובעזרתם לחשב את אחוז הרקומבינציה.

בניסויים כאלו יש מספר שלבים שחייבים לבצע והם: בהתחלה יש למצוא הפלואיד Wild Type ולחפש מוטציות אקסוטרופיות, לאחר מכן צריך לבדוק שהמוטציה רצסיבית והפגיעה בגן יחיד, בשלב הבא יש לבצע מבחן קומפלימנטציה ובסוף רקומבינציה.

בקרה על ביטוי גנים

כשלקחו חיידקים מוטנטים שלא יכלו לחיות על לקטוז כמקור פחמן הצליחו לבודד 7 מוטנטים, לאחר בדיקת מפת רקומבינציה ביצעו הכלאות בין החיידקים כך שאחד היה Hfr והשני F⁻ כדי לבדוק את הרקומבינציה ללא קומפלימנטציה וקיבלו את הסדר הבא:

7	6	5 4	3	2	1
---	---	--------	---	---	---

מבחן שני שנעשה היה רצסיביות לשם כך השתמשו ב- F⁻ שזה חלקיק F הנושא את הגן התקין והכניסו אותו לזן שהוא F של כל אחד מהמוטנטים 1 עד 7 וקיבלו שמוטציות 1 עד 6 רצסיביות ואילו מוטציות 7 היא דומיננטית. השלב הבא הוא מבחן קומפלימנטציה מבחן זה לא ניתן לעשות עם מוטנט 7 כיוון שהוא דומיננטי, תוצאות המבחן הם:

	1	2	3	4	5	6
A	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-
B	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
	5	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-

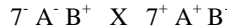
מכאן מוטנטים 1 ו- 2 הם באותה יחידת קומפלימנטציה ונסמנה A וכן גם מוטנטים 3 ו- 4 הם יחידת קומפלימנטציה שניה ונסמנה B. לעומת זאת מוטציה 6 שונה, כאשר מבצעים הכלאה רציפרוקלית לבדוק קומפלימנטציה מתקבלות תוצאות המראות כי מוטציה 6 דומיננטית אך בבדיקה עם מוטנטים נוספים מתקבל כי מוטציה זו משפיעה רק על מה שבתאחיזה אליה ולכן לא היה ביטוי של A, למוטציה כזו קוראים Cis Recessive.

כיוון שמוטציה 6 היא בחלק שלא יוצר חלבון ניתן לשאר כי היא בחלק סטרטורלי שאליו נקשר חלבון המאפשר טרנסקריפציה של גנים הקרובים אליו, אנו רואים כי אין אזור נוסף כזה בין הגנים A ו- B ומכאן שמדובר על Poly-Cistronic Message או

במילים אחרות אופרון ולאזור שעליו נקשר החלבון שגורם לשעתוק קוראים פרומוטור ומוטציה 6 היא באזור זה.

מוטציה 5 מופתה לציסטרון B אך לא נתנה קומפלימנטציה עם ציסטרון A, מוטציה זו היא מסוג Nonsense ואת זאת יודעים על ידי בדיקה של סופרסיה, כאשר באופרון יש באיזה שהוא שלב מוטציה מסוג זה היא משפיע רק במורד הזרם כלומר עם כיוון השעתוק, מוטציה כזו נקראת גם מוטציה פולארית. השפעה כזו למוטציה קיימת רק בפרוקריוטים כיוון שם תוך כדי שעתוק מתחברים ריבוזומים ויוצרים חלבונים, בנוסף ניקשר גם החלבון Rho המפסיק את הטרנסקריפציה שהריבוזום מתנתק (במקום של מוטנט 5). כתוצאה מכך מתקבל חלבון קצר יותר שהוא לא B כיוון שהסינתזה לא הסתיימה וגם לא A כי לא הגענו אליו.

כדי לבדוק את מוטציה 7 הדומיננטית מבצעים מבחן Cis Trans:



ומקבלים שהמוטציה הזו דומיננטית בטרנס כלומר לא משנה מה יש קודם ומכאן מוטציה זו כנראה מקודדת לחלבון.

כדי לבדוק האם המערכת הזאת היא מסוג House Keeping Genes כלומר מערכת שפועלת כל הזמן או מערכת שפועלת רק שצריך להכניס לקטוז ולפרקו צריך לבדוק את ה-RNA בתא בשיטת Northern. בשיטה זו בודקים הימצאות RNA ואם מוצאים RNA של הציסטרונים A ו-B וגם של האזור בו מוטנט 7. תוצאות הבדיקה הראו כי שני הציסטרונים לא מבוטאים בדרך כלל אך בנוכחות לקטוז הם מבוטאים בתדירות גבוהה מאוד.

ציסטרון A שנותן את החלבון פרמאז נקרא הגן Y והוא אחראי להכנסת הגלוקוז לתא ואילו ציסטרון B שהוא מקודד לחלבון β -Galactosidase או בקיצור β -Gal הוא בגן Z והוא אחראי על פרוק הלקטוז לגלוקוז וגלקטוז.

את הימצאות חלבונים אלו ניתן לבדוק על ידי הכנת תמצית תאים Cell Extract ובעזרת סובסטרט ניתן לראות כי ה- β -Gal משנה את צבע הסובסטרט מלבן לצהוב, לדבר זה קוראים Assay במבחנה, על פי מידת הצבע ומהירות הופעתו ניתן לקבוע את מידת ביטוי הגן.

כאשר מגדלים תאים עם הגן β -Gal במצע המכיל X-Gal ולקטוז מקבלים תאים כחולים, תופעה זו ניתנת לניצול במערכות שונות וניתן להכניס גן זה ליצורים שונים כגן מדווח הנותן צבע כחול בפעילותו, ניתן להפעיל את הגן על ידי לקטוז או על ידי IPTG.

כאשר מתקבל הצבע הכחול באופן קונסטיטוטיבי ללא אינדוסר אז יש מוטציה, לאחר בידוד של מוטציות כאלו התגלה כי המוטנט הקונסטיטוטיבי יכול להיות בשני מקומות האחד הוא C1 הנמצא בין האזור של מוטציה נקודתית 6 ל-4 ומוטציה שניה C2 הנמצאת ליד מוטציה נקודתית 7.

המוטציות הללו נבדקו בהכלאות עם כל המוטציות הנקודתיות וקיבלו כי C2 היא רצסיבית עם המוטציות 1 עד 6 אך בהכלאה עם מוטציה 7 לא מתקבל גידול, חוסר בחלבון 7 לעומת זאת גורם לביטוי קונסטיטוטיבי ומכן שיתכן שהוא יוצר רפרסור המונע ביטוי של הגנים של האופרון שמופיע אחריו.

רפרסור זה יכול לפעול באחת משתי דרכים הראשונה היא שבנוכחות גלוקוז הוא פועל כרפרסור ושאינו גלוקוז הוא לא פעיל והדרך השנייה היא שהוא פועל כרפרסור

כל הזמן חוץ מבנוכחות לקטוז (או IPTG). במקרה של אופרון הלקטוז הדרך השנייה היא הנכונה, כלומר שיש אינדיוסר הוא ניקשר לרפרסור ומונע ממנו להתחבר ל-DNA על ידי שינוי המבנה המרחבי שלו.

בבדיקה של המוטציה CI אנו רואים כי המוטציה דומיננטית ובעלת פנוטיפ קונסטיטוטיבי, מוטציה זו צמודה לפרומוטור ושבוצע מבחן ציס – טרנס התקבל כי בהכלאה $F^+CI^+Z^+Y^- / F^+CI^+Z^-Y^+$ ל-Z יש ביטוי קונסטיטוטיבי ול-Y יש ביטוי נורמלי, בהכלאה $F^+CI^+Z^-Y^- / F^+CI^+Z^+Y^+$ היה ביטוי רק לאחר אינדוקציה ומכאן שהמוטציה CI דומיננטית ב-Cis ורצסיבית ב-Trans כלומר היא פעילה רק על מה שצמוד אליה כי בהכלאה זו אבדה הפעילות הקונסטיטוטיבית.

מכאן מוטציה CI היא מוטציה באזור בקרה שאליו נקשר הרפרסור, בתנאים נורמליים הרפרסור יושב באזור זה ב-DNA ומונע פיזית מה-RNA פולימראז שעל הפרומוטור לנוע ולבצע שעתוק כאשר אזור הקישור פגום הרפרסור לא יכול להקשר ונוצר ביטוי קונסטיטוטיבי של הגן, לאזור בקרה זה קוראים אופרטור Operator והוא מסומן באות O.

באופרון הלקטוז מערכת הרפרסור היא בקרה שלילית כיוון שהיא מונעת ביטוי, אך במערכת אופרון הלקטוז יש גם בקרה חיובית שהיא Catabolic Reprasia, מערכת זאת התגלתה במוטציה בשני גנים אחרים לביטוי של אופרון זה. הגן הראשון הוא CAP יוצר את החלבון CAP הנקשר למולקולה של cAMP ואז הוא הופך לפעיל ונקשר ל-DNA ליד הפרומוטור ועוזר ל-RNA פולימראז להיקשר ל-DNA, חוסר בחלבון זה מונע את החיבור של הפולימראז.

הבקרה ב-CAP היא על ידי cAMP אך גם יצירת ה-cAMP מבוקרת על ידי גלוקוז, כך שיש הרבה גלוקוז ריכוז ה-cAMP נמוך ושריכוז הגלוקוז נמוך אז ריכוזו של ה-cAMP גבוה. הגן השני הוא אדניליל ציקלאז שיוצר את ה-cAMP ומבוקר על ידי גלוקוז.

בכל הגנים יש רצפים שמורים Consensus Sequence אחד מהם הוא באזור של 35- בסיסים מנקודת תחילת השעתוק רצף נוסף הוא ה-Bribnow Box הנמצא באזור של 5- עד 8- בסיסים מנקודת תחילת השעתוק.

זו מערכת בקרה בתאים פרוקריוטים אך ביצורים אאוקריוטים המצב מעט שונה, ביצורים אאוקריוטים אין אופרונים אבל יש אזורי בקרה חיוביים ושליילים ואזורים הגורמים לריפרסיה או אינדוקציה במנגנונים אלו הרפרסורים לא מונעים מה-RNA פולימראז לנוע על ה-DNA אך הם מונעים היקשרות של אקטיבטורים והנחוצים לשעתוק בנוסף יש גם בקרה של רפרסורים הגורמים לדה אצטילציה של היסטונים ובכך למנוע את ביטוי הגן.

מערכת בקרה אאוקריוטית בשמרים

בנושא זה אנו נתמקד במערכת ה-Galactose בשמר ההנצה, מערכת זו היא מערכת של בקרה שלילית אך הרפרסיה שלה שונה. במסלול בו נוצר גלוקוז 6 פוספט מגלקטוז יש מספר אנזימים שבניהם פרמאז המכניס את הגלקטוז לתא, קינאז המבצע זירחון וגם טרנספראז ומוטאז, כל אחד מהאנזימים הללו מוקודד על ידי גן אחר הנמצא במקום אחר בגנום, את זה ניתן לראות על ידי בידוד של מוטציות שלא גדלות על גלקטוז כמקור פחמן.

כל הגנים הללו עוברים אקטיבציה יחד על אף שהם לא באופרון והסיבה לכך היא שהם מופעלים על ידי אותה בקרה. נסתכל על מספר מוטציות במבחן קומפלימנטציה:

מוטציה	W.T.	gal 1	gal 10	gal 7	gal 4
gal 1	+	-			
gal 10	+	+	-		
gal 7	+	+	+	-	
gal 4	+	+	+	+	-

לאחר מכן נבדקה יכולת ביטוי גנים עם ובלי גלקטוז:

ביטוי של: עם או בלי גלקטוז/זן	Gal 1		Gal 7		Gal 10		Gal 4	
	ב	ע	ב	ע	ב	ע	ב	ע
Gal 1	-	-	1	1000	1	1000	1	10
Gal 7	1	1000	-	-	1	1000	1	10
Gal 10	1	1000	1	1000	-	-	1	10
Gal 4	-	-	-	-	-	-	-	-
W.T.	1	1000	1	1000	1	1000	1	10
Gal 80	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1	10

מוטציה 4 השפיע על כל הגנים האחרים אך היא מוטציה רצסיבית שמיקומה בגנום שונה משאר הגנים, לכן היא מקודדת לאקטיבטור שדרוש לשם הפעלת שאר הגנים. אנו רואים כי Gal 4 הוא פקטור חיובי כי כשהוא פגום הוא מונע פעילות של שאר הגנים. המוטציה בגן Gal 80 לעומת המוטציה ב - Gal 4 גורמת לתופעה שונה היא גורמת לביטוי קונסטיטוטיבי גם ללא גלקטוז אך אינה משפיעה על Gal 4, מכאן ניתן להסיק כי הגן Gal 80 הוא פקטור שלילי כי הוא מעקב ביטוי בנוכחות גלקטוז כשהוא תקין.

מכאן ניתן להסיק 3 מודלים אפשריים, המודל הראשון טוען כי Gal 4 מפעיל את הגנים ואילו Gal 80 מדכא את Gal 4, מודל שני הוא ש - Gal 80 מפסיק את היצירה ואילו Gal 4 מפסיק את Gal 80 וכך שלילי של שלילי זה חיובי, המודל השלישי טוען כי גם Gal 4 וגם Gal 80 פועלים יחד אך במקביל. כדי לקבוע איזה מודל הוא הנכון צריך לבדוק מוטנטים כפולים Gal 4 Gal 80, זהו מבחן אפיסטזיס Apistasis Test. התוצאות הצפויות הם שבמודל 1 לא היה ביטוי, במודל 2 היה ביטוי קונסטיטוטיבי ומודל 3 ייתן מעט מאוד ביטוי עד חוסר ביטוי.

התוצאות שהתקבלו בניסוי היו שלא היה ביטוי כלל ומכאן מודל 2 ניפסל, אך עדין לא יודעים האם מודל 1 או מודל 3 הוא המודל הנכון, לאחר ניסויים נוספים התברר כי המודל הראשון הוא הנכון וזאת על ידי שתי מוטציות נוספות שהתקבלו הראשונה היא gal 80^o והיא דומיננטית ואינה נותנת ביטוי כלל דבר המקשה על הבנת המודל השלישי, מוטציה שניה היא gal 81 שגם היא מוטציה דומיננטית אך נותנת ביטוי קונסטיטוטיבי, מוטציה זו מופתה לאחר מכן לגן Gal 4 וכך נשלל מודל 3.

כך נשארנו עם המודל הראשון בו הגלקטוז ניקשר ל - Gal 80 ואז הוא משנה צורה ולא יכול להיקשר ל - Gal 4 ואין רפרסיה. המוטציה gal 80^o גורמת לשינוי ב - Gal 80 ואז הוא לא יכול להקשר לאינדיוסר שלו כתוצאה מכך הוא כל הזמן קשור ל - Gal 4 ויש דיכוי מתמיד, המוטציה gal 81 שב - Gal 4 גורמת לשינוי במבנה המרחבי שלו וכך ה - Gal 80 לא ניקשר אליו ומתקבל ביטוי קונסטיטוטיבי.

בקידמת כל אחד מהגנים Gal 1, Gal 7, וכו' לפני האזור ממנו מתחיל ה-mRNA יש אזור של TATA Box שאליו נקשרים חלבונים שהם TATA Box Binding Protein, עוד לפני קטע זה יש אלמנטים נוספים שהם Enhancers או Upstream Activating Sequence (UAS) ולרצף זה במיקרה שלנו ניקשר החלבון Gal 4. הרצף הזה קיים לכל אחד מהגנים במסלול זה וכך החלבון Gal 4 יכול להשפיע על כולם.

כדי לבדוק עם Gal 4 - Gal 80 נמצאים באותו קומפלקס צריך לבצע ניסוי קואמינופריסיטציה, בניסוי זה משתמשים בנוגדן של Gal 4 לשם שיקוע של הקומפלקס בו הוא נמצא, מנקים משאריות ואז מפרקים את הקומפלקס על SDS ומריצים בג'ל אלקטרופורזה ומבצעים Western ל-Gal 80 כדי לבדוק האם הוא עבר עם Gal 4. התוצאה הייתה שכן המעבר היה משותף ומכאן שהם יוצרים קומפלקס משותף, לאחר כן התברר כי הם בקומפלקס גם בנוכחות האינדיוסר וגם בלעדיו אך צורת הקומפלקס שונה.

אופרון הטריפטופן

באופרון זה יש 5 גנים וגם אופרטור ופרומוטור, גנים אלו לא מבוטאים בנוכחות טריפטופן ומבוטאים בהעדרו ומכאן אי אפשר לדעת האם זו בקרה חיובית או שלילית. כשיש מוטציה בגן R שאינו על אופרון זה ואינו נימצא בתאחיזה אליו יש רמת ביטוי של האופרון גם עם טריפטופן ומכאן המערכת היא של בקרה שלילית.

הביטוי שמתאפשר הוא לא מלא ומכאן הוא לא הדבר היחיד שמתתף ברפרסיה, לאחר מכן התגלתה מוטציה נוספת שנתנה את הערכים המלאים של פעילות גם עם וגם בלי טריפטופן, מוטציה זו היא מוטצית חסר בין האופרטור לגן הראשון לאזור זה קוראים Attenuator, שנבדקה מאיפה מתחילה הטרינסקריפציה התגלה שהיא מתחילה מאזור ה-Leader שכולל את ה-Attenuator בתוכו.

מהרצף של ה-Leader ניתן לקבל ביטוי לפפטיד קטן של 11 חומצות אמינו, המכיל שני חומצות אמינו טריפטופן בזה אחר זה וזאת תופעה נדירה בחיידקים, פפטיד זה מתקבל בחיידקים בנוכחות טריפטופן. בהסתכלות על רצף ה-Leader התברר כי יש בו 4 אזורים שיכולים לעבור זיווג אחד עם השני וליצור מבנים של Stem And Loop, מבנה זה הביא לרעיון של מודל שבו חלבון ניקשר ל-DNA ואז יש שינוי מיבנה שמונע טרינסקריפציה.

הריבזום ניקשר ל-Leader ובנוכחות טריפטופן אזור 1 לא יכול להיקשר לאזור 2 בגלל מיקום הריבזום כתוצאה מכך אזור 3 ו-4 נקשרים ונוצר מבנה של Stem And Loop שאחריו יש 7 פעמים U, מבנה זה עוצר את השעתוק באופן אוטומטי, כשאינו טריפטופן הריבזום נישאר תקוע על אזור 1 ואז אזור 2 ו-3 מתחברים ואזור 4 נשאר חופשי, מבנה זה אינו מפריע לשעתוק.

סטיות מחוקי מנדל

בפרק זה נדון בארבע נושאים שונים והם:

- תורשה ציטופלסמית Extrachromosomal Inheritance.
- אפקטים אימהיים – גנוטיפ האם קובע את פנוטיפ העובר.
- הטבעה הורית Parental (Genomic) Imprinting.
- Prions תורשה על ידי חלבון (הפרה המשוגעת).

תורשה ציטופלסמית

הצמח 4O'clock מכיל 3 סוגי עלים ירוקים לבנים ועלים מנומרים ירוק לבן, התפתחות הפרח לא תלויה בצבע העלים, צמחים אלו הם דו מיניים ושמבצעים הכלאות מתקבלות התוצאות הבאות:

פנוטיפ צאצאים	זרע מצמח בעל עלים בצבע:	ביצית מצמח בעל עלים בצבע:
לבן לבן לבן	לבן ירוק מנומר	לבן
ירוק ירוק ירוק	לבן ירוק מנומר	ירוק
לבן, ירוק ומנומר לבן, ירוק ומנומר לבן, ירוק ומנומר	לבן ירוק מנומר	מנומר

מכאן הזרע לא משתתף בקביעת הפנוטיפ, תא הזרע מכיל כמעט ורק גרעין ומעט מאוד ציטופלזמה ואילו הביצית מכילה ציטופלזמה מכאן ההורשה של הצבע היא ציטופלסמית, ליתר דיוק מה שיוצר את הצבע זה הכלורופלסטים המייצרים כלורופיל והם מצויים בציטופלזמה של הביצית, בכלורופלסטים יש DNA משלהם והוא זה שמקודד לכלורופיל.

כשיש ענף לבן זה כתוצאה מאי יצירת כלורופיל, כאשר הביצית היא מצמח בעל עלים ירוקים כל הכלורופלסטים יוצרים כלורופילים ולכן הצאצאים ירוקים, מצמח המנומר יש תאים שהם בעלי כלורופיל וכאלו שהם ללא כלורופיל ובצאצאים של הביצית מצמח זה יכולים להיות גם צאצאים לבנים גם ירוקים וגם מנומרים תלוי בחלוקה של הכלורופלסטים שיוצרים כלורופיל ואלו שלא.

דוגמה נוספת להורשה מסוג זה היא הנוירוספורה שבה נעקוב אחרי המיטוכונדריה שגם לה יש DNA משל עצמה DNA זה מקודד ליצירת ציטוכרום מ³ - סוגים A, B ו- C. קיים זן מסוים של נוירוספורה שיכול להיות רק עם ציטוכרום C וזן מוטנטי זה הוא בעל פנוטיפ של גדילה איטית ולמוטציה קוראים Poky, כשביצעו הכלאות רציפרוקליות של הגן המוטנט עם ה- W.T. התקבל שההורשה מהאם קובעת אך אין תאחיזה למין בנוירוספורה ומכאן מדובר בהורשה ציטופלסמית.

דוגמה נוספת היא בשמר ההנצה שם יכולים להיות תאים עם או בלי מיטוכונדריה כאשר מקור הפחמן הוא גלוקוז, כאשר יש מיטוכונדריות בתאים אז מקבלים מושבות גדולות מה שניקרא Grand ושאין מיטוכונדריות אז מקבלים מושבות קטנות הנקראות Petit.

את המושבות שהם Petit ניתן לחלק ל- 3 טיפוסים כאלו שמקורן במוטציה בגרעין או בגן גרעיני וכדי לבדוק זאת ניתן לבצע הכלאה עם הזן W.T. הנותן מושבות Grand מתקבל דיפלואיד נורמאלי ושמעבירים אותו מיוזה מקבלים שני Grand ושני Petit זו חלוקה לפי מנדל ולכן המוטציה היא גרעינית פשוטה. סוג שני של Petit הוא נוטרלים וכאשר זן זה מוכלא עם W.T. Grand מקבלים צאצאים נורמלים גם לאחר מיוזה, במקרה זה היתה הורשה רק בכיוון אחד (Uniparental) בזן זה אין כלל מיטוכונדריות והוא מקבל מיטוכונדריות תקינות מהזן איתו הוא מוכלא ולכן מתקבלים צאצאים נורמלים.

הסוג השלישי הוא סופרסיבי ובאכלאה שלו עם הזן W.T. Grand מתקבלים גם צאצאים Grand וגם Petit בכל צרוף אפשרי כולל את המצבים הקיצוניים שכולם Grand או כולם Petit. בסוג זה יש חסר גדול במיטוכונדריה והסגרגציה נותנת עירבוב, רוב הצאצאים הם מוטנטים כיוון שבגלל החסר ה-DNA קצר יותר ולכן הכפלתו מהירה יותר.

אפקטים אימהיים

קיים סוג חלזונות שלו שני טיפוסים אחד שבו הקונכייה מסתובבת שמאלה והשני הוא הטיפוס בו קונכייה מסתובבת ימינה, בהכלאות רציפרוקליות התקבלו התוצאות הבאות:



כשביצעו הכלאה של F1 על עצמו (חלזונות הם דו מיניים) התקבלו התוצאות הבאות:



דבר זה נוגד את ההורשה הציטופלזמתית ומכן מדובר כאן על משהו אחר, כשבדקו את F3 ראו כי 3/4 מהצאצאים הם ימניים ו-1/4 הם שמאליים. מה שמתברר הוא שגנוטיפ האם הוא זה שקובע את פנוטיפ העובר כך שימין זה דומיננטי והאלל מסומן ב-D ושמאל זה רצסיבי ולכן האלל שלו מסומן ב-d. ואז התורשה היא:

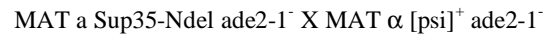
P	♀ שמאל dd	x	♂ ימין DD		♀ ימין DD	x	♂ שמאל dd	
			↓				↓	
F1	⊗ שמאל Dd				⊗ ימין Dd			
F2	DD	Dd	Dd	dd	DD	Dd	Dd	dd
	כולם ימניים כיוון שגנוטיפ האם ימני על אף שהפנוטיפ שלה שמאלי				כולם ימניים כיוון שגנוטיפ האם ימני			

בדור F3 יתקבלו 3/4 ימניים כיוון שהגנוטיפ של 3/4 מצאצאי F2 הם ימניים ואילו 1/4 הם בעלי גנוטיפ שמאלי ופנוטיפ ימני וילדיהם של נקבות אלו יתנו צאצאים שמאליים.

קיים זן של שמרים שבו יש סופרסיה למוטציות מסוג Nonsense, כלומר יכול להיווצר חלבון גם כשקיימת מוטציית Nonsense. כשלוקחים זן הפלוהידי עם סופרסיה ומכליאים אותו עם זן הפלוהידי נורמלי מתקבל דיפלואיד עם רפרסיה ומכאן שזו מוטציה דומיננטית, כשמעבירים את הדיפלואיד מיוזה רואים כי 4 הספורות בטורדה הם בעלות סופרסיה ומכאן התורשה לא מנדלית, ההורשה גם לא קשורה למיטוכונדריה כיוון שגם בשמרים נטולי מיטוכונדריות התקבלו אותם תוצאות, בנוסף ראו גם כי המוטציה לאחר מספר דורות מתחילה לאבד את תכונותיה בקצב גבוהה יותר מרברסיה.

התופעה סומנה כ- $[\text{psi}]^+$ כלומר אלמנט מסוים שהימצאותו גורמת לסופרסיה, ומאוחר יותר התגלה כי מדובר כאן עם פריונים שזה תורשה מחלבון וקומפורמציה של חלבון היא זו שעוברת.

כשעשו את ההכלאה הבאה:



התקבל דיפלואיד ללא סופרסיה כלומר המוטציה חיסנה את הזן מהאלמנט $[\text{psi}]$, הגן SUP35 הוא אותו גן שמקודד לחלבון psi אך החלבון הזה הוא בשינוי קומפורמציה מזה שיש בתא, הקיום של אלמנט psi גורם לחלבון הנורמלי מהגן SUP35 להפוך לפגום כמוהו כלומר ל- psi ובהכלאה האחרונה החלבון Sup35 היה פגום במידה כזו שהוא לא יכול להפוך ל- psi אך ללא פגיעה באתר הקטליתי ולכן תא השמר יכול לחיות ללא בעיות. כאשר החלבון Sup35 פגום בצורה זו לא נוצר עוד psi והוא הולך ונעלם עם החלוקות בדורות הבאים.

בבקר יש מחלה שניקראת Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) שהיא דומה למחלה באדם שהיא Creutzfeldt Jacob Disease, המחלה BSE היא מחלת הפרה המשוגעת הגורמת לניוון במוח הפרה, אנשים שאכלו פרות נגועות במחלה זו הפכו לחולים וקיבלו ניוונים במוח והפגיעה יכולה להופיע כ- 20 עד 30 שנה מאכילת הבשר הנגוע. גם מחלת ה- Kuru שהתגלתה בגינאה החדשה שם שבטים של אוכלי אדם נפגועו מאכילת מוח נגוע במחלה.

הגורם לתורשה במחלה זו הוא חלבון, באדם יש גן המקודד לאותו חלבון שהוא PRP והוא קיים בתאי מוח והוא בעל מבנה של α Helix ואילו החלבון שגורם למחלה הוא במבנה של β Sheet, המצב של ה- β Sheet הוא לא מסיס ויוצר סיבים במוח הגורמים לניוון, החלבון במצב של β Sheet יכול להפוך את החלבון הנורמלי (α Helix) ל- β Sheet וכך מוגדלת כמותו והאפקט שלו. הפתרון היחיד לפרוק המצב של ה- β Sheet הוא על ידי דנטורציה עם גווידין דהידרו-כלוריד למשל אך ראגנט זה יגרום לדנטורציה של חלבונים אחרים ולכן לא יעיל לטיפול.