

גנטיקה מולקולארית של האדם

בקבוצת דם יש A, B, AB, O. ההבדל הוא בגליקופרוטאינים הנוספים על תאי הדם האדום הגנים לכך הם I^A , I^B , i כך ש- $I^A I^A$ או $I^A i$ זה סוג דם A, $I^B I^B$ או $I^B i$ זה סוג דם B, $I^A I^B$ זה סוג דם AB, ii זה סוג דם O. יכול לתת לו דם. מקור האנטיגנים הוא כנגד חיידקים בפלורה הטבעית בגוף. התכונה הזו היא אוטוזומלית כלומר לא תלויה בכרומוזום מין.

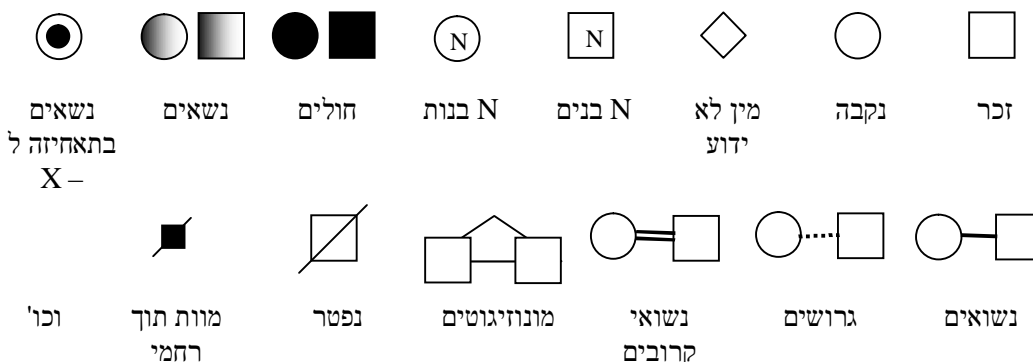
על ממברנת כדורית הדם יש פריקורסור שהוא עובר שוני והופך למולקולה H עליו יש עוד שינוי לקבלת גליקופרוטאינים. יש שני אנזימים האחד מוסיף D-Galactose ואז זה סוג B והאנזים השני מוסיף N-Acetyl Galactose היוצר דם סוג A. בסוג הדם O יש Frame Shift Mutation ולכן אין חלבון פעיל והפנוטיפ הוא סוג דם O. A ו- B יוצרים כל אחד אנזים פעיל ללא תלות בתוצר האלל השני מה שנקרא קודומיננטיות.

המיזוגוטיות זה מצב שיש רק עותק אחד של הגן למשל זכרים הם הומוזיגוטים לכרומוזום X וגם ל- Y. כשמדברים על דומיננטי ורצסיבי יש בכמה רמת ברמה פנוטיפ או גנוטיפ. לדוגמה המחלה אנמיה חרמשית ש Sickle Cell Anemia היא מחלה בה יש הפרעה בהמוגלובין בשרשרת α או β באנמיה חרמשית יש מוטציה אחת בלבד שגורמת למחלה כך שהחלבון מופיע כך שחומצה Glu הופכת ל- Val.

באדם מבוגר ההמוגלובין הוא HbA (שונה מעובר) ובחולה אנמיה חרמשית ההמוגלובין הוא HbS הדבר לא מפריע בקישור החמצן ובפעילות ההמוגלובין אך בלחץ חמצן נמוך מולקולת ההמוגלובין מסתדרת כמקלונים הגורמים לעיוות כדורית הדם לצורת מגל קשיחה. והיא נתקעת בכלי הדם הקטנים (נימים) זה גורם לחוסר חמצן היפוקסיה וחוסר בכדוריות דם אדומות הגורם לאנמיה. המחלה מתפתחת תוך שנתיים ואין התפתחות טובה.

אם למחלה יש ביטוי רק ששני ההורים מקנים לצאצא אלל דפוק אז המחלה רצסיבית מבחינה מולקולרית הטרנזיגות מכיל את שתי המולקולות במצב של קודומיננטיות מבחינה פיזיולוגית גם בהטרנזיגות יש ביטוי קל למחלה בלחץ חמצן נמוך. מצב זה נותן מצב ביניים בין בריא לחולה. במחלות דומיננטיות הפגיעה בחלבון שהגוף צריך בכמות המלאה שנוצרת בעוד שבמחלה רצסיבית גם חצי מהכמות מספיקה כדי להסתדר טוב כדי לדעת מה זה מה מסתכלים על הטרנזיגות.

כשמישהו רוצה לחקור מחלה גנטית צריך להכין עץ משפחה כדי לבדוק את ההיסטוריה הרפואית של המחלה וכך ניתן לדעת איך היא עוברת בתורשה.



חץ מסמן את הבן אדם במשפחה שדרכו הגיעו לבניית העץ המשפחתי. (Ascertainment = ויצוא). הדור מסומן במספר רומי ובתור מסמנים האנשים בשמאל לימין בספרות רגילות. אחאים – זה אחים ואחיות Siblings. דרגה ראשונה של קרבה הורים אחאים צאצאים, דרגה שנייה זה סבים סבתות נכדים נכדות דודים דודות אחיהם אחיותיהם, חצאי אחים ודרגה שלישית זה בני דודים.

דוגמה להורשה אוטוזומלית דומיננטית היא מחלת Huntington. שהיא מחלה ניוונית של מערכת העצבים המתפתחת בעשור הרביעי של החיים. במחלת דומיננטית רבות הם לא מועברות לדור הבא כי הפריטים מתים לפי הגעה להבאת ילדים. נשא במחלה זו יפתח אותה ב – 100%. במחלה זו יש מוטציה של שלשות נוקליאוטידים שעוברים אמפליפיקציה.

יש מצב של חוסר חדירות ואז על אף שאתה נשא של הגן לא מופיעים לך סימנים שלה זה נקרא Non Penetrance מצב אחר הוא מצב של וירבוליות שונה פנוטיפית ויתכן שבמשפחות שיש בהם אותה מוטציה לבני משפחה שונים יכול להיות פנוטיפ שונה בהתאם לשימוש הקלינייים לזה קוראים וירבולית פנוטיפית. לפעמים המצב הוא קל כך שלא רואים את המחלה בפרט אחד אך משני במשפחה המחלה מבוטאת חזק מאד כשיש חוסר חדירות אז אין פנוטיפ של מחלה כלל.

לפי הורשה מנדלית לכל ילד יש סיכוי של 50% לרשת את המוטציה, לשני הורים חולים יכולים להיות ילדים בריאים סיכוי של 25% במצב של Aa X Aa. דוגמה נוספת למחלה אוטוזומלית דומיננטית היא Neuro-Fibromutosis זו מחלה המופיעה במערכת העצבים, במצב החמור שלה בגידולים שפירים על העצבים במוח. מחלה זו מאופיינת על ידי כתמים בצבע קפה על הגוף כך שחולה מכיל כ – 6 כתמים בקוטר של 1.5cm. מחלה זו מתאפיינת בוירבוליות שלה וכל מי שיש לו את המוטציה יש לוי פנוטיפ כל שהוא בין כתמים בלבד עד גידולים. דרך בעיות למידה ושיתוקים עיוורון וכו'. חלק גדול מהחולים במחלה זו לא ירשו את המחלה מהוריהם אלא עקב מוטציה בביצית או בזרע, בגן של המחלה NF1. במקרה זה השכיחות היא 1:3,000 עד 1:5,000. כ – 50% מהחולים הם ממוטציה שלא עברה בירושה מההורים.

כשיש מוטציות בתאי מין יכול להיווצר מצב של מוזאיקה. מוזאיקה זה פסיפס וזה שיש סוגים שונים של תאים בגוף. תאי המין מתחלקים עם המוטציה התרחשה בשלב האחרון של החלוקה אז היה תא אחד שמכיל את המוטציה אם זה בשלב קודם אז מספר תאי מין מכילים את המוטציה כל אלו שיתפתחו מהתא בו נוצרה המוטציה.

ה – NF1 נמצא על כרומוזום 17 והוא גן גדול מאוד הוא משתרע על 300,000bp ומכיל כ – 2,000 a.a בחלבון הוא מעביר סיגנל מהממבראנה לגרעין והוא גם טומרסופרסור ואם הוא לא קיים בשתי עותקים אז יש סרטן. ב – NF כמעט ואין מצבים של הומוזיגוט למוטנט כלומר AA צאצאי הצאצאים שהם Aa היו רבע בריאים ½ הטרוזיגוטים זה AA. לא ידוע אם ישרדו כיוון שלא מוכרים בהיסטוריה תופעות כמו AA – NF.

אקונדרופלזיה היא שם של גמדות זו מחלה גנטית שהיא סינדרום הכולל בתוכו מרכיבים פנוטיפיים במספר מערכות כלומר, זה סינדרום באקונדרופלזיה Achondroplasia אנשים אלו בעלי אינטליגנציה נורמאלית לחלוטין אך הם נמוכי קומה עקב עצירה בהתפתחות העצמות. תדירות מחלה זו היא 1:10,000 כך ש – 80% הם מוטציות חדשות בתאי מין של אחד מההורים והגן הוא FGFR3. יש עליה בתדירות עם עליה בגיל האב. היא בשינוי בבסיס אחד בגן.

תורשה אוטוזומלית רצסיבית.

הדבר קורה באזורים מבודדים בעץ המשפחה במחלה רצסיבית מתקבלים הצאצאים החולים כששני ההורים נשאים. עם יש עוד אדם חולה במשפחה זה היה אחד מהאחאים הדבר נפוץ יותר בנושאי קרובים. גם כמה דורות אחורה. לשני פרטים חולים יש רק צאצאים חולים. המחלה הקלאסית בתורשה זו היא סטיק פיברוזיס (CF).

ב – CF הפגם הוא בטרנספורט של יונים. הדבר גורם ליצירת ריריות צמיגות בריאה ובגבר זה פוגע בצינורות הזרע מהאשכים כך שהם עקרים. ניתן לאבחן את המחלה במבחן זיעה לבדיקה אם היא מלווה. מחלה זו נפוצה ב – Caucasians (לבני עור) ואז 1:22 הוא נשא כך ש – 1:200 הוא חולה CF. 90:2,000 נשאים והשאר נורמאליים ניתן לאבחן בגלוי מוקדם וכך קטנה אוכלוסיית חולי ה – CF בעולם. נושאי המוטציות הם בעיקר בהטרוזיגוטים ולא בחולים.

באופן ממוצע הסיכוי להפרעה בבני דודים ראשונים זה 4.5-5%, ושבאכלוסיה רגילה זה 3%. חולים עקב נישואים במשפחה נפוצים יותר במחלות נדירות. האוכלוסייה באיסלנד נחשבת כמבודדת כיוון שבמשך דורות רבים התחתנו זה עם זה וזה גרם להעלאת המחלות שם. במחלה של אשכנזים יהודים יש מחלות כמו טאי-זקס ועוד שהם נפוצות באוכלוסיות אלו. כי כנראה הייתה תמותה רבה בשלב מסוים ונשארו פריטים מעטים הטאי-זקס היא בתדירות של 1:360,000 בעולם ובאשכנזים היא 1:3,600. אוכלוסיה מבודדת היא לא רק גיאוגרפית היא גם תרבותית שפה וכו'.

הורשה בתאחיזה ל – X.

התאחיזה דרך האישה לדוגמה היא קרישת דם בגנים של פקטור 8 ופקטור 9 הגורמים להמופיליה A והמופיליה B בהתאמה. אם המחלה הייתה מאוד נפוצה היו גם נקבות הומוזיגוטיות. כל הזכרים הם הומוזיגוטים כרומוזום X מלבד לאזורים הסודוזומלים שלהם יש הומולוג ב – Y. בנשים יש השתקה של כרומוזום X וקבלת Barr Body שזה ה – X המושקת המכווץ. הגן ל – G6PD הוא גורם לרגישות לפול, לסולפה ולתרופות נגד מלריה זה בגברים כורדים ועיראקים ובנשים זה קורה בהומוזיגוטיות.

באזור שבו ה – X וה – Y עוברים זיווג מיוזה יש חלק פסאודואוטוזומלי בו יש הומולוגיה. בנקבה הטרוזיגוטית יכולים להיות סימנים למחלה רצסיבית בתאחיזה ל – X כאשר יש אינאקטיבציה ל – X התקין האינאקטיבציה נעשית בשלבים התחלתיים של החלוקה כך שיש אפשרות למוזאיקה. המוזאיקה יכולה להתרחש גם בתאים סומטים בשלב מסוים בהתפתחות ובחלוקה. בתסמונת טרנר יש באישה חלק מהתאים עם שני X וחלק רק עם X אחד וזה מוזאיקה.

כשהדבר מתקבל בשלב התפתחות מוקדם הדבר גורם לאזורים כמו כתמים בפרוות חתול. נושא ההורשה הדומיננטית והרצסיביות על כרומוזום X היא בעייתית כי הנקבה מכילה 2X והגברים X רוב המוטציות בתאחיזה ל – X הם רצסיביות ומבוטאות בגברים רבים בעץ המשפחה. הגבר החולה מעביר את ה – X החולה לכל הבנות אך לא לבנים. דוגמה לזה היא גם HPRT הגורם למחלה Lesch Nyhan וגם מחלת הדושן היא בעלת גן על כרומוזום X. כל אלו מחלות רצסיביות אם יש מחלות דומיננטיות כמו רככת יש פי 2 יותר נקבות חולות במחלות אלו מגברים כי יש להם פי 2 יותר סיכוי לחלות.

תסמונת שערות שלא ניתן לסרק Uncombable Hair Syndrome זו תכונה ולא בדיוק סינדרום זה מתבטא רק בשערות וזה מתבטא בסיבים של השערות.

רוב הגנים שלנו לא מכיל גנם אלה. רצפים אחרים הערכת הראות היו שיש 45,000-140,000 גנים. לפני כשנה פרסמו שני מאמרים של Lander שאמר 29,691 גנים והשני Venter שאמר 39,114 גנים והקבוצה השלישית קבעו כ – 35,000 גנים שזה בערך כמו לצמח הארבידופסיס שלו יש 25,000 גנים. ואז נתנו תירוצים של מורכבות. כשביצעו חתך של 3 התוצאות שקיבלו מצאו שרק כמות קטנה של גנים משותפים והשאר לא. כמו כן יש גם פסאודו-גנים.

גודל הגנום האנושי הוא 6×10^9 bp וההפלואידי 3×10^9 bp יש 22 כרומוזומים אוטוזומלים ושני כרומוזומי מין. הם ממוספרים לפי גודל כך ש 21 ו – 22 הפוכים בסדר עקב טעות במדידה ו – 1 הוא הכי גדול. בהנחה שיש 50-100 אלף גנים אז יש כ – 3,000 גנים בכרומוזומים אך הצפיפות של הגנים בכרומוזום שונה. כרומוזום 21 ו – 22 זהים פחות או יותר בגודל אך לא בצפיפות הגנים בכרומוזום. ב – 21 יש מעט גנים פעילים ולכן ניתן לחיות עימו ב – 3 עותקים.

צפיפות הגנים היא גן לכל 40-45 קילובייס (Kb). גודל הגן יכול להיות עצום כולל הרבה אקסונים ואינטרונים למשל הגן לדושן מכיל 2 מיליון בסיסים. אך הגודל הממוצע הוא 10-15Kb והרווחים בין הגנים 25Kb-30. גודל האקסונים ומספרם הוא בעל שונות רבה. האקסון האחרון הוא הארוך ביותר בדרך כלל כי הוא מכיל את ה – UTR.

הגנים מהווים חלק מזערי מהגנום, יש גנים שהם בודדים ואין דומה להם בגנום אך רוב הגנים הם כמשפחות ויש גנים שדומים להם. יש הרבה סוגי משפחות גנים יש כאלו שהם בודדים ויש ממשפחות הנמצאות על כרומוזומים שונים בגנום או במקומות שונים באותו כרומוזום קרוב או רחוק אחד מהשני. יש גנים שהם Pseudogenes והם כאילו גנים. גנים בצברים נקראים Clustered ונפרדים נקראים Non Clustered. $\alpha - 1$ β גלובין דומים אך שונים α מצוי על כרומוזום 11 ו- β על 16 ובכל מקום יש Clustered של גנים. למצוא גן של מחלה זה דבר מאד טכני.

הערכה מקסימאלית היא שיש 100,000 גנים האורך הממוצע של mRNA הוא 1,800bp ולכן $1.8 * 10^8$ bp ואילו גודל הגנום הוא $3 * 10^9$ זה בערך 5%. במיטוכונדריה יש כ- 16.6Kb של DNA ועל המיטוכונדריה נדבר לקראת סוף הקורס.

בגנום עצמו יש 3,300Mb שהוא כ- 25% קשור לגנים ו- 75% לא. מתוך ה- 25% יש 10% DNA מקודד ו- 90% לא מקודד שזה פסודוגנים חלקי גנים ואינטרונים, רצפים לא מתורגמים, פרומוטורים וכו'. מכאן 10% מ- 25% זה כ- 25% מהרצפים מקודדים לגנים (לא כולל פרומוטורים UTR וכו'). ב- 75% של ה- DNA הלא קשור לגנים יש 60% שלא חוזרים ו- 40% שחוזרים בצורות שונות.

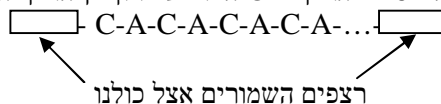
ה- Pseudogenes הם עותקים לא פעילים של גנים או חלקים מהם או רק הרצף המקודד לפי הגדרה. זה ניתן לחלק מקבוצה זו לשנים מעובדים ולא מעובדים. יש 3 סוגים ל פסודוגנים לא מעובדים כלומר שמכילים קטע מגן אך גם שלם שלושת הקבוצות הם: משועתקים ומתורגמים אך החלבון לא מתפקד, משועתקים ולא מתורגמים מבחינת תרגום והשלישי לא משועתקים. גנים אלו לא מפריעים בהימצאותם אך בבדיקה של מחלות גנטיות הם מפריעים כיוון שהפריימרים לגן התקין מתאימים גם לפסודוגן ואז בודקים את שניהם יחד ולא רק אחד מהם.

הפסודוגנים המעובדים הם נוצרים מגן שעבר תעתוק ל- mRNA ואז הוא עובר רוורס טרנסקריפטאז ומקבלים cDNA שזה הגן אך בלי האינטרונים ובלי החלקים שגורמים לתעתוק. ה- cDNA הזה יכול לקפוץ חזרה לגנים ושם הוא יישאר. הוא ברוב המקרים לא עובר שיעתוק אלא אם הוא נכנס על יד פרומוטור. גנים אלו גם גורמים לבעיות בדיאגנוזה אך כיוון שאין להם אינטרונים יותר קל הבחין ביניהם.

מה - DNA שלא משתייך לגנום יש את ה- 40% שחוזר אל עצמו או בקבוצות או במקומות שונים. הרצפים שחוזרים אחד אחרי השני מתחלקים גם הם למספר קבוצות הנקראות לווינים Satellite ויש Micro Satellite שהם 1-4bp Mini Satellite, שהם 6 עד 64 בסיסים. ה- Satellite מופיעים בצנטרומרים בעיקר זה 5-171bp - Mega Satellite שכמעט ולא מופיעים שזה כ- 1Kbp. ה- Mini Satellite מכילים שני קבוצות של DNA האחד DNA של טלומרים שזה בקצה הכרומוזום והוא בנוי מרצף חוזר TTAGGG החוזר אלפי פעמים ומונע דגרדציה של הגנום. השני הוא מקטעים משתנים בהם משתמשים לבדיקות DNA.

ל- Mini Satellite קוראים גם VNTR'S שזה מספר שונה של חזרות לכול אדם יש מספרים שונים ואפילו באדם אחד יכול להיות שתי מספרי חזרות שונים וכרומוזומים שונים. ניתן לראות זאת באנליזת RFLP. יש VNTR פשוט המופיע רק בכרומוזום אחד ומורכב המופיע בכרומוזומים שונים. בתאומים זהים המצב היה זהה.

ה- Micro Satellites הם חזרות קצרות כמו CA או רצף של A שהוא לא מפולי A שמקורו ב- mRNA, 0.3% מהגנום זה חזרות של בסיס אחד. 0.5% מהגנום זה חזרות של שני בסיסים. הרצף CA מאד נפוץ הרצף CG מאד נדיר הוא עובר מתילציה במקומות רבים בגנים. יש גנים המכילים בתוך הגן חזרות של 3 בסיסים חוזרים. המחלה שנקראת ה- X השביר מאופיינת בחזרות כאלו. חזרת של 4 בסיסים הם נדירות מאד. התגלה שסביב הרצף CA המופיע בתוך גן הרצף הוא ייחודי



מה ששונה זה מספר החזרות בין רצפים אלו.

הבעיה ב – PCR היא שמשתמשים ב – taq פולימראז הוא לפעמים קופץ או חוזר ברצפים לזה קוראים גמגום על פולימראז הדבר קיים ברצפים של 2 אך תדיר יותר ב – 4.

הרצפים החוזרים שמפוזרים בגנים מתחלקים לארוכים LINE ולקצרים SINE שם הרצף הכי מפורסם הוא Alu repeat המכיל 280bp המופיע בבני אדם ובקופים הקרובים לנו. הוא מופיע כמיליון פעם בגנום בממוצע כל 1,000bp ולכן מהווה בעיה לפרובים (גלאים) כי עם בפרוב יש את הרצף של Alu אז הכל יסומן. כנראה הוא מפסודוגן שעבר עיבוד. ב – LINE המפורסם ביותר הוא L1 המכיל 6.1Kb אך ממוצע 0.8Kb מספר העותקים שלו הוא 200,000 עד 500,000.

מוטציות.

מוטציה שינוי קבוע בחומר התורשתי. יכולות להיות מוטציות ב – DNA הלא מקודד כ – 95% ואיננו מפריע ואילו בתחום המקודד יתכן שהיא לא תשפיע פולימורפיזם ורק השאר משפע רק מוטציה בגטות תעבור בירושה לדור הבא. המוטציות יכולות להיות גם לטובה אך זה נדיר מאד. המוטציות מתחלקות לקבוצות, מוטציה גנומית זה השפעה על חלק גדול בגנום כמו עיבוד כרומוזום עודף כרומוזום וכן התכונות היא $10^{-2}/\text{Cell Division}$ כלומר 1 לכל 100 חלוקות כולל מוטציה כזו. ברוב המקרים ההיריון מופל בטרימסטר הראשון.

מוטציות כרומוזומליות הן בגודל קטן יותר כיום טראנסלוקציה או חיבור מחדש וזה פעם ב – 60K חלוקת תאים. מוטציה גנית הם קטנות יותר של שינויים בסיסיים חסר הוספה וכו'. הם נדירות יותר $1:10^{10}$ חלוקת (לנקודה ספציפית אך יש הרבה נקודות) עקב מנגנון של Proof Reading. מוטציה המתרחשת ביצירת תאי מין אז אם מתא זה ייוצר עובר אז הוא יכלול מוטציה תא סומאטי בבוגר לא ייתן השלכות בתורשה אך כן בסרטן זה מהלך העניינים ליצירת תא ממקור עם המוטציה היא בהתפתחות העובר אז מקבלים מוזאיקה. גיל ההורים מעלה את הסיכוי למוטציות

אם גן הוא מאד גדול אז יש לו יותר סיכוי למוטציה. גם Hot Spots משפיעות בתאי זרע יש יותר מוטציות בגלל מספר החלוקות שהם עוברים. נשים נולדות כבר עם כל הביציות שהן תקועות בשלב במיזוה אך יש 23 חלוקות עד שנוצר עובר. הזכרים מגיל 15 יש חלוקות מהירות לפני גיל 15 נוצרים תאי זרע ומגיל זה יש מספר חלוקות וכל עוד יש תאי הגזע עוברים חלוקות 23 בשנה כל תא גזע מתחלק לתא גזע ולתא שיוצר תאי זרע בשלים. כך שיש 4 חלוקות מיטוטיות ומהם חלוקה מיטוטית. בגיל 15 תאי הזרע שנוצרו עוברים 35 חלוקות בגיל 20 זה כבר 100 חלוקות ובגיל 30 זה 350 וכך הלאה כל שנה עוד 23 חלוקות.

הסיכוי שלנו לקבל מוטציות חדשות בגן מההורים שלנו הוא 1:10. חלק גדול מהמוטציות הללו הם רצסיביות ולכן זה לא חמור המוטציה הגנטיות הפשוטות ביותר הן שינוי בבסיס Transition (Transversions) פורין לפורין ופרימידין לפרימידין. ה – Transition הנפוץ ביותר הוא C → T ב – CpG ואז ה – C ממותל

${}^m\text{CpG} \rightarrow \text{TpG}$

המוטציות הפשוטות יכולות להיות באזור שלא ישנה את חומצת האמינו מה שנקרא Silent השינוי של בסיס אחד לאחר יוצר פולימורפיזם בבסיס אחד. כלומר Single Nucleotide Polymorphism או בקיצור SNP. ניתן לראות אם הוא משנה אתר רסטריקציה ליצירה או להחסרה. ניתן להבחין בזה בעזרת RFLP או PCR. תספיג דרומי כמעט לא נעשה היום כי זה לוקח זמן רב ויש הרבה אפשרות לתקלות.

מוטציה נוספת נקראת Stop colon, גם אותה ניתן לראות ב – RFLP או ב – PCR. המוטציות הלא שקטות הם Missense שזה החלפת חומצת אמינו, Sense שזה הכנסת חומצה אמינית במקום של Stop Codon ו – Nonsense ההפך מ – Sense. יש גם מוטציות המשפיעות על השיחבור.

ב – Tay Zachs המוטציה בגן HexA והמוטציה היא באזור שחשוב לשיחבור (הנוקליאוטיד הראשון באינטרון) וזה גורם לתעתקו וביטוי לא תקין של החלבון. בטאי זקס יש שתי מוטציות שגורמות למחלה האחת דיברנו קודם. השנייה היא סופרת 4 בסיסים המשנים את מסגרת הקריאה ובכך מקבלים קודון עצירה.

יש מוטציה של הוספת/החסרת של 3 בסיסים וזה לא משנה את מסגרת הקריאה. הדוגמה המפורסמת לזה זה CF שם יש מוטציה D508 שגורמת להחזרת חומצה אמינית אחת מהחלבון ובכך למחלה. יש שיטות שונות לקבל מוטציות בבסיס אחד. יתכן גם דילוג של הפולימראז על בסיסים או הוספת בסיסים. מוטציות ברמה גבוהה יותר כומר של רצפים גדולים יותר של גנים. ב – VNTR's שיש Slippage מקבלים הוספה או החסרה של חתיכות גדולות יותר כמו 40 בסיסים.

יכולות להיות מוטציות שגורמו לעיבוד כל הגן וזה שיש רצף דומה משני צידי הגן ובכך ניתן לקבל שיחלוף Crossing Over וזה מחסל את הגן לגמרי בתוצר אחד ובשני יש פעמיים את הגן. קיימת גם אפשרות שה – DNA יתקפל על עצמו ומבצע ריקומבינציה על הרצף ומאבדים את הגן. כיוון שלא מדווח על אנשים עם 2 עותקים של הגן אז המנגנון השני סביר יותר. רצפי Alu יכולים גם לגרום לכך אך הם קצרים מידי.

Unequal Crossing over יכול לגרום לכך שתא בת אחד יכלול פחות עותקים מהשני זה יכול להיות גם עם פסודוגנים. את זה ניתן לראות בגנים הגורמים לעיוורון צבעים בגנים בתאחיזה ל – X האדום והירוק מוצאים על כרומוזום X (ראה שקף). גם הגן הראשון לאחר האום הוא היחיד שמופעל.

משמעות מיקום המוטציה בתוך הגן.

המוטציה יכולה להיות בתוך הגן בחלקים משועתקים ולא מתורגמים כמו ב – UTR ובאינטרונים. מוטציה ב – 5'UTR יכולת לגרום לבעיות בתרגום מוטציות ב – 3'UTR יכולת לגרום לבעיות יציבות. גם מוטציות באזורי בקרה של שיעתוק יכולים לגרום לבעיות.

תוצאות מוטציה.

אפשר לקבל פונקציה לא קיימת ניתן לקבל חלבון הפועל יותר מידי טוב או פחות מידי טוב או פונקציה חדש שכלל לא הייתה קיימת. אם יש מוטציה באזור הבקרתי הדבר בדרך כלל לא פוגע במבנה החלבון או שיש פחות חלבון או שיש יותר חלבון המצב של חוסר בחלבון קוראים Loss Of Function אם יש יותר מידי חלבון מקבלים Gain Of Function. אם המוטציה באזור המקודד יכולים להיות יותר מנגנונים לאבנורמאליות. אם יש Stop Codon בהתחלה נקבל חלבון קצר ולא פעיל גם זה Loss Of Function. כנ"ל גם שהחלבון לא יציב והוא מתפרק, Gain Of Function נוצר כשהמוטציה גורמת לחלבון להיות פעיל יותר האופציה של Navel Property היא שהחלבון מקבל תכונה חדשה.

Loss Of Function

איבוד פונקציה צריך להבדיל בין רצסיבי שבו יש איבוד מוחלט של שני האללים או שלא נוצר חלבון (Null) או שהוא לא מתפקד. במחלות דומיננטיות מספיק איבוד מחצית הכמות או פונקציה זה קורה בחלבונים שצריך את הכמות המלאה שלהם (זה לא קורה באנזימים) החלבונים האלו מעורבים בתהליכים שכמותם חשובה אם זה באינטראקציות עם חלבונים אחרים. או אנזימים קובעי מהירות שמחסור בהן גורם לפגיעה בשרשרת הריאקציות. גם בחלבונים התפתחותם וביצירת גרדיאנט חלבונים דבר היכול לפגוע בהתפתחות עם הכמות משתנה.

סוג נוסף של Loss Of Function הוא דומיננט נגטיב שזה אלל ששינה את החלבון כך שלא רק שהוא לא פעיל אלא גם שהוא נקשר למולקולה תקינה הוא משבית אותה. מצב זה יכול להיות יותר גרוע אפילו מצב של Null. כיון ש – Null ייתן רק מחצית הכמות של הדימרים האפשרית ואילו בדומיננט נגטיב

רק ¼ מהכמות. המצב של Hploin efficiency זה המצב שמתאר את העובדה שמחצית כמות לא מספיקה.

.Gain Of Function

המוטציה גורמת לחלבון לעבוד יותר מידי לפעמים זה מפריע לפעמים לא. Von Willebrad Factor הוא פקטור לקישור טסיות דם לאנדותרל כלי הדם כשמאבדים פונקציה מקבלים דימום שיש פונקציה מוגברת הוא קושר את הטסיות כולם במקום אחד ואז אין פנויות ויש דימום.

.Navel Property

Sickle Cell Anemia היא מחלה שלחץ חמצן בדם נמוך מקבלים פעילות חדשה והיא יצירת Rods אך פונקציה קישור החמצן לא נפגעת.

הקשר בין מוטציה ספציפית לפנוטיפ (כשמדובר באותו גן).

ברוב המחלות יש הרבה מוטציות במקומות שונים שגורמת למחלה באנמיה חרמשית יש מוטציה נקודתית ספציפית. ב – CF יש קשר בין הגנוטיפ לפנוטיפ. הפגיעה היא בטרנספורט של כלור, הגן כולל הרבה אקסונים היוצרים Domains בחלבון. ה – NBF הוא האזור הקושר ATP לשם פעילות. המוטציה הכי מפורסמת ב – CF היא ΔF508.

החולים הקשים ביותר סובלים מהפרעות בריאות ובלבלב להם קוראים PI כלומר, לבלבל פגום. אם רק בריאות אז PS כלומר, לבלבל תקין ומצב נוסף הוא שיש רק עקרות בגבר ללא בעיה בראות או/ו לבלבל אך שיש פגיעה בהם אז בזכר יש גם עקרות. הטרוגנית קלינית היא המצב שמתאר את העובדה שמוטציות שונות בגן גורמות לפנוטיפים שונים. ולפעמים מקבלים אפילו שתי מחלות שונות לחלוטין עקב כך. יתכן אף שמוטציה אחת גורמת ל – Loss והשנייה ל – Gain. גם כשיש בדיוק אותה מוטציה בשני אחים יכולה להיות גם הטרוגנית קלינית. זה יכול לבוא עקב אלל שונה אפשרות נוספת היא גנים אחרים שמשפיעים אחרת על המחלה. גם בתאומים לא זהים. כי לא כל הגנים זהים לחלוטין. הדבר אפשרי כי כמעט אין מקרה בו גן אחד קובע פנוטיפ.

ל – CF יש שתי מוטציות שחסרה חומצה 508 שהיא נפוצה או שחסרה 507 שהיא נדירה. שניהם קשות מאד ב – CF. המצב של המחלה הקלה נקרא CBAVD והיא גורמת לעקרות עקב חוסר בצינורות הזרע. אצלם התגלה ש – 42% היה בעלי מוטציה אחת באלל אחד ו – 24% הם נשאים מוטציות בשני האללים. מכאן שניתן לקבל הופעת פנוטיפ השונה מהקלאסי. כלומר, בלי בעיות בריאות או בבלבל על ידי מוטציה באותו גן.

לאנשים עם שתי מוטציות שוות באותו גן קוראים Genetic Compound. לאנשים עם שתי מוטציות והתופעה הקלה היה פגיע אלל קשה ΔF508 ואלל קל R117H זה נתן קל כי יש רק פעם אחת 508 תקין. יתכן שהיו שתי מוטציות על אותו אלל וזה שהמוטציות הם לא בהדירה מלאה זה באינטרון 8 קרוב לאקסון 9 באזור הרצף של ה – Splicing. על ידי מישור שונה של T מאזור זה מי שיש לו 7 או 9 השיחבור בסדר. אם יש 5 אז השיחבור פגוע ויש דילוגם על Axon 9. מה שיוצר Frame Sift. לאלו שיש 5 זה לפעמים קורה וגם לפעמים לא. כשיש את אותו אלל גם ST וגם Δ508. ה – ST נפוץ מאד אצל גברים עם CBAVD כך שהקומבינה של Δ508 עם ST נותן מחלה קלה של עקרות.

מחלת קרויצפלד יעקב (JCD) היא פגיעה בחלבון עקב אכילת פרה משוגעת. בניגוד מוחלת למחלה זה המחלה (FFI) Familial Fatal Insomnia היא מחלה של חוסר שינה. התברר ששתי מחלות אלו הן באותו גן ואפילו גורמים לשינוי של אותה חומצה אמינית מ – GAC ל – AAC כלומר, מחומצה אספרטית לאספרגין כל אלו שפיתחו את JCD הייתה החומצה ה – 129 בחלבון Val (וליון) ואילו שהחומצה במקום ה – 129 הייתה Met (מתיון) התקבל FFI. כך שהמוטציה גורמת למחלות שונות עקב קיפול החלבון והחומצה אמינית השנייה שקיימת.

Inborn Errors Of Metabolism

מחלות מטבוליות הן בדרך רצסיבית וכמעט תמיד הם Loss Of Function. המחלה פנילקטונוריה PKU נובעת מהצטברות של חומצה פניל פרוביט. לאחר מכן התגלו שזו מחלה מטבולית ובמידה ומגלים אותה בשלב מוקדם ניתן בעזרת דיאטה להגיע למצב של פנוטיפ בריא לגמרי. ומכאן התפתחה התיאוריה של One Gene One Enzyme.

התדירות של PKU היא 1:10,000-1:20,000. ההפרעה נוצרת בגלל הצטברות החומצה הפנול פירובטיט והמחסור בטירוזין. זה גורם לחוסר איזון במוח ופיגור שכלי כל מה שיגרום לאותם גורמים שזה מחסור בטירוזין ועודף בפנולאלנין יגרמו לאותו פנוטיפ. הדיאטה אם היא נכונה אז אין סימנים של המחלה את הדיאטה צריך לשמור עד לפחות גיל 6 או עד אחרי ההתבררות לאחר מכן גם אם לא כל כך מקפידים אז אין בעיה וגם אז המוח כבר התפתח וזה פחות מזיק לו. נשים עם מחלה זו שהן נכנסות להריון הן צריכות לחזור לדיאטה כדי שלא יהיה לעובר את המחלה. כיום מבצעים בדיקה לאחר לידה ל – PKU ובמידה ומתגלה חולה אז מתחילים את הדיאטה אז בשבוע השני.

מחלת ה – Tay Zachs (TSD) היא עוד דוגמה קלאסית למחלה מטבולית שנגרמת עקב Loss Of Function שם יש אגירה בתוך הליזוזומים בתא ויש משפחות רבות של מחלות כאלו. החומר הוא G_{m2} Ganglioside עקב זה שהאנזים שמפרק אותו פגום ואז יש הצטברות בגלל הפגיעה. הילד נולד נורמאלי כי זו מחלת אגירה ורק כעבור מספר חודשים מתחילה הידרדרות עקב המחלה עד מוות בגיל של 2-3 שנים.

האנזים מורכב מקומפלקס של שתי תת יחידות α ושתי תת יחידות β כך ש – α מכרומוזום 15 ו – β מכרומוזום 5 והוא עובד עם חלבון Activator שהוא גם בכרומוזום 5. אך במקום אחר פגיעה בכל אחד מהם מביאה ל – TSD האקטיבטור יוצר מגע גם עם הסובסטרט וגם עם האנזים. אחת הצורות המוקדמות לאפיין את המחלה זה Cherry Red Spot בעין שזה כתם אדום של נוירונים. יש 1/27 נשאים באכלוסיה יהודים אשכנזים באכלוסיה רגילה יש כ – 1/200.

יש גם מוטציות נספות שגורמת למחלה והם החסרת 4 בסיסים 79% מהיהודים האשכנזים, פגיעה בשחבור 18% והפגיעה השלישית שוני מבסיס G לבסיס A וזה בבסיס 296 ואז מקבלים פנוטיפ חלש ובטיוי בגיל מבוגר של כ – 40 זה בכ – 3% מהאוכלוסייה. הבדיקה ביוכימית ולא מולקולרית כי יש מספר מוטציות וכך אם מבצעים בדיקה מולקולרית ניתן לפסס את ה – 3% כי 3 המוטציות הללו מכסות רק 97% מהאשכנזים היהודים בעוד שהביוכימית לא תחמיץ.

עוד דוגמה למחלה מטבולית היא G6PD רגישות לפול והיא על כרומוזום X ולכן רוב החולים בה הם גברים. יש נשים שהן נשאיות הטרוזיגוטיות המראות את הסימן עקב אינאקטיבציה. המחלה מתוארת ב – Favism (כתא פול באנגלית).

Trinucleotide Repeats And Associated Disease

מחלה עם מוטציה דינאמית שהיא משתנה מדור לדור הם קוראות במיקרו סטלייט ברצפים של 3 נוקליאוטידים שחוזרים על עצמם. והם פולימורפים כי לאנשים שונים יש מספר שונה של חזרות כשהמספר של החזרות גדל הם יכולים לגרום למחלות בבני אדם (לא ביונקים אחרים).

אם הרצף שלהם מתארך במספר החזרות וככל שהוא גודל יש לו סיכוי לגדול עוד יותר בנוסף הסיכוי שתהיה מוטציה תלויה בשלמות של החזרות עם השלמות מושלמת בחזרות אז זה פחות יציב. מהרצף הלא מושלם המעבר ממספר חזרות לא מזיק למספר מזיק נעשה בהדרגתיות. כמעט כל המחלות הנובעות מחזרות נובעות מחזרות של 3 בסיסים. הרצף נקרא STR (מעט בסיסים) שבמקרה של 3 בסיסים זה .TNR

לא ידוע עדיין למה הוא מתרחב יתכן שזה עקב בלבול ב – DNA פולימראז המחלה הראשונה שגילו מסוג זה היא Fragile X בה נגרם פיגור שכלי המלווה בדברים נוספים כולל הופעה חיצונית לא נורמאלית. רוב החולים היו בנים יש להם תווי פנים ארוכים וגמישות במפרקים ואשכים גדולים. זה בשכיחות של 1/5,000 בזכרים. בנקבות יש פנוטיפ קל יותר בתדירות 1/3,000 זה היה הגן הראשון בו הייתה התארכות בגן FMR-I. הגן הזה אופייני בכך שבפרומוטור שלו יש אזור שבו מופיע הרצף CGG בהרבה חזרות כשיש 52-6 חזרות האלל נורמאלי. כשיש 60-200 אז Premutation הם בעלי פנוטיפ בריא ומעל 230 חזרות יש מוטציה. הגודל יכול להיות עד 2,000 חזרות כל מקום שיש בו CG הוא ממוטל וגם כל ה – CG בפרומוטור הזה. וזה משתק את הגן זה מוטציה Null (Loss Of Function). בתסמונת ה – X השביר אין קשר בין כמות ה – X-ים הפגועים לחומרת המחלה. החזרות נמצאות בחלק שלא מתורגם.

בעץ משפחה טיפוסי ניתן לראות גדילה במספר החזרות יש התקדמות בדור. זה יוצא דופן מהורשה מנדלית כי יכול להיות זכר נשא. יתכן ובין הדורות תהיה קפיצה קטנה במספר החזרות או קפיצה גדולה מאד. עדיין לא ידוע מה גורם לקפיצה אך הקפיצה מתבצעת דרך נשים ולא גברים. הקפיצה היא לא יציבה כך שמתקבלים מקבץ רב של כמויות שונות של חזרות בעיקר במחלה מה שנותן ב – Southern Blot שמיר.

תפקיד החלבון שנוצר בגן זה הוא קושר RNA זו מחלה Pleiotrophic הגורמת להשפעה באזורים שונים בגוף. עד היום תואר אדם אחד עם מחלה בלי החזרות אלא מוטציה באתר הקושר RNA בחלבון. פלוטיפים המועדים להרחבה הם שיש יותר מ – 24 חזרות לפעמים יש מערכות הצלה שיש AGG שאחריו 24 CGG וזה מונע קפיצה אך אם יש 35 חזרות אחרי ה – A אז היציבות נפגעת ויכולה להיות קפיצה. שאין את ה – AGG נוצרת חתיכה של 35 חזרות ומעלה וזה גורם לקפיצה. ה – AGG מופיע בדרך כלל אצל אנשים עם הרבה חזרות כך שיש כ – 24 חזרות של CGG אחרי ה – AGG. רוב האינפורמציה לגבי התדירויות נעשית בארץ כי כאן יש בדיקות רבות בנושא.

.Myotonic Dystrophy

מחלת שרירים הסינדרום כולל ניוון שרירים, קטרקטים, פדחת בגברים ואשכים קטנים בגברים גם כאן יש הרחבה של TNR אך הפעם זה CTG המצוי ב – 3'UTR על כרומוזום 9, זו מחלה אוטוזומלית דומיננטית. Anticipation – החומרה של המחלה עולה בדורות הבאים עקב התרחבות הרצף כך שהמחלה נהיית יותר חמורה. החלבון הוא מיוטונין והוא עושה פעולת קינאז לטריאונין וסרין. גם במחלה זו יכולים לקבל קפיצות אך בניגוד ל – X השבור כאן אין מצב ביניים בין בריאות למחלה. כן יש 27-5 לבריא ומעל חמישים זה חולה (יכול להיות גם מעל 2,000). בשקף (63) יש שני אנשים עם מעל 70 חזרות והם ללא סימפטומים. קבוצה שלילית של הרחבות הם ORF (מסגרת קריאה פתוחה). אלו מחלות עם חזרות CAG המקודד לגלוטמין.

המחלה הנפוצה ביותר מסוג זה היא Huntington's Disease. הדבר היה קשה לגילוי כי השינוי הוא בתוך החלבון ולכן ההרחבות הם לא גדולות במיוחד. המחלה נמצאת על כרומוזום Yp16 אצל הבריאים יש 15-34 חזרות ואילו בחולים יש 100-44 חזרות. קבוצה זו של מחלות הרחבה קיימת רק אצל בני אדם ולא בבעלי חיים אפילו הקרובים ביותר אלינו. בעכברים טראנסגנים מכניסים גנים מורחבים לבדיקה כי אין התרחבות של גנים.

דוגמה נוספת היא בגן ORF וגם CAG אך היא בכרומוזום X המחלה היא Kennedy's Disease והיא רק בזכרים במחלה נפגעים עצבים מוטוריים חולשת שרירים ליקויים בפוריות (צמיחת שדיים לזכרים). מתקבל חלבון שונה אך לא ידוע אם זה Gain Of Function או New Function כאן קיימת תופעה הנקראת Allelic Variation שהוא כתוצאה מה – Loss Of Function עקב חוסר בגן. ואז זה מחלה אחרת לגמרי הנקראת Testicular Feminization בה מקבלים גבר עם פנוטיפ אישה (דוגמה השחקנית ג'ימי לי קרטיס) וזה מאותו גן. מחלה זו היא לא כתוצאה של הרחבה אך זה באותו גן כמו המחלה הקודמת. (ראה בשקף 64 מדוע ההרחבה גורמת לפתולוגיה). כל המחלות שאינן לגבי הרחבה הן דומיננטיות.

המחלה Friedrich's Ptaxia.

המחלה הזו אוטוזומלית רצסיבית וגם בה יש הרחבה היא נוירולוגית ויש בה ניוון של חלקים במוח הקטן והצרבלום וגזע המוח. וגם בעצבים ובחוט השדרה. במחלה זו אין החמרה עם הדור. הסימפטומים מופיעים בגיל 5-15 והמוות בעשור השלישי. התדירות היא 1:20,000 והוא נמצא באינטרון בגן 9q12 וההרחבה GAA וזה היווה הפתעה כי זה באינטרון והסיבה של ההשפעה היא הפרעה בשחבור התקין היא 10-21 חזרות והמוטנטי הוא 200-900 חזרות והמנגנון הוא Loss Of Function.

השנה נמצאת מחלה בהרחבה של רצף של 4 בסיסים בכרומוזום 3 והרצף הוא CCTG שיכול להתרחב עד 44Kb. ההרחבה היא גם כן באינטרון.

דיאגנוסטיקה.

ניתן לבצע PCR, RFLP, לרשת לפי עובי הפס ומיקומו כמה חזרות יש. ב – X השביר יש הרבה יותר אפשרות לכמה חזרות כי יש 3 מצבים של קפיצות ולכן קשה לראות זאת ולכן מבצעים Southern Blot. לזכרים נורמאליים אין מתילציה באתר של Eag I בגן בעוד שלחולים יש וכך ניתן לגלות ב – Blot כך שפס של 2.8Kb יתקבל בבריא בעוד שבחולה הפס היה של 5.2Kb (כתוצאה משמוש ב – EcoR I) כיוון שבחולים יש מתילציה. לזכרים בריאים מקבלים רק 2.8Kb כי האתר אף פעם לא עם מתיל. לאישה נורמאלית יש X אחד ממוטל ואחד לא. ולכן מקבלים שני פסים אחד של 2.8Kb ואחד של 5.2Kb.

כשיש מוטציה אז אזור ה – CGG נהיה גדול יותר. לזכר בפרה-מוטציה מקבלים מקטע יותר גדול במקצת מ – 2.8Kb תלוי בגודל ההרחבה. בהרחבה מלאה הכול עובר מתילציה ו – Eag I לא חותך ומקבלים מקטע ארוך מאד כי הקטע יותר גדול מ – 5.2 Kb כי זה 5.2Kb + מה שגדל. ומתקבל "שמיר" כי בכל תא זה גודל למפר אחר.

בנקבה בפרה-מוטציה מתקבלים אחד של 5.2Kb והשני גדול מ – 2.8Kb ובחולה יש אחד ב – 5.2Kb ואחד מעל זה. הבעיה היא שב 50% מהתאים האחד פעיל וגם 50% המוטנט פעיל. כך שבפרה-מוטציה שאם בנקבת המוטנטי מושתק אז מקבלים פסים ב – 2.8Kb ומעט מעל 5.2Kb ואם להיפך אז מקבלים 5.2Kb ומעט מעל 2.8Kb כלומר מקבלים שני פסים ב – 2.8Kb ושני פסים ב – 5.2Kb. בגלל צורת ההפרדה ב – 5.2Kb הפסים היו קרובים יותר ואף מלוכדים בעוד שב – 2.8Kb הם היו רחוקים יותר.

באישה חולה עדיין יש X אחד נורמאלי ואחד עם מוטציה מלאה כאשר הנורמאלי פעיל אז מקבלים 2.8Kb ושהנורמאלי מושתק זה 5.2% במוטנטי הוא תמיד ממותל לא משנה אם ה – X ממותל או לא ולכן מקבלים שמיר של אורך הגדול מ – 5.2Kb כי יש הרחבה. אם לוקחים מהם תאים אז מקבלים רק את הפסים העליונים ולא את ה – 2.8Kb.

שיבוט גנים.

הפרויקט הראשון שעסק בריצוף הגנום האנושי היה NIH. ב – 1986 נכתב מאמר בו רשום שמציאת גן למחלה זה כמו למציאת מחט בערימה של שחת, בחדר חשוך ועם כפפות עבות. העקרונות למציאת גן נשארו אותו דבר אך השיטות השתנו.

- Functional Cloning היא שיטה בה משבטים את הגן ללא התייחסות למיקומו בכרומוזום.
- Positional Cloning שיבוט על סמך המקום בכרומוזום ללא ידיעת הפתולוגיה.
- Candidate Gene Approach היא גישה של הגן המועמד והוא איחוד של השיטות הקודמות על ידי יהויה המקש של הגנים של המחלה בערך ובאזור זה לאחר את הגן.

Positional Cloning

אנו קודם כל עושים מיפוי גנטי לאחר מכן מבצעים מיפוי פיזי על ידי חתיכת DNA עם חפיפה קלה המכסה את כל האזור וביניהם מחפשים את הגן שלנו. אנו קובעים רצף של כל גן שאנו חושדים בו בבריאים ובחולים. ואם מתקבלת מוטציה בחולים שגורמת למחלה אז זה הגן הרצוי לנו. השיטות הזו היא לבידוד שנים למחלות מנדליות.

איך מבצעים את המיפוי הגנטי? לזה יש 3 דרכים עיקריות 2 נובעות ממזל של הגנטיקאים והשיטה השלישית היא קשה יותר. השיטות הן:

1. הפרעות כרומוזומליות.
 2. איבוד הטרוזיגוטיות.
 3. קביעת תאחיזה בין המחלה למרקר פולימורפי.
- המוטציה נגרמה לחולה גרמה להפרעה בכרומוזום וכך קל למצוא אותה. למשל טראנסלוקציה באמצע הגן הגורם למחלה.

אובדן ההטרוזיגוטיות לעומת זאת קשור לרצפי ה – CA Repeats הרצפים בקצוות החוזרות הללו שונים בין אזור לאזור אך באותו מקום הרצפים זהים, וכך ניתן בעזרת פריימרים של PCR ניתן להכפיל את החתיכה האמצעית ולהריץ בג'ל אקריל-אמיד לקבלת אורך המקטע. במידה והחתיכה של כרומוזום הולכת לאיבוד אז נקבל פס אחד ולא 2 בהרצה בג'ל לעומת התאים הבריאים. הדבר קורא בתאים הסומאטיים. בצורה כזו יכולים להעלם גם טומר סופרסורים ובכך תתחיל טרנספורמציה סרטנית. אנו מריצים בג'ל תאים נורמאליים מול סרטניים וכך רואים את ההבדל בין שני האללים. איבוד ההטרוזיגוטיות יעיל לאיתור גנים המעורבים בתהליכי סרטן בתאחיזה הדבר דורש איסוף משפחות. כמו כן חייבים שהמחלה תהיה ברורה מנדלית ולהיזהר ממצב של וירביליות גנטית כלומר שאין שני גנים שונים שגורמים למחלה.

מאנשים אלו מפיקים DNA ומבצעים בדיקה של קו סגריגציה בין המחלה לאלל מסוים כלומר שיש אלל שמופיע ביחד עם המחלה. לדוגמה שכל החולים הם בעלי תכונה מסוימת כמו ג'ינג'ים וזאת עקב קירבת הגן של צבע השיער הג'ינג'י לגן של המחלה. ניתן גם לבדוק זאת בשיטה מולקולרית עם קרבה ל – CA Repeats ובדיקת הקשר בן החזרות למחלה. אנו בודקים בכל המשפחה את כמות החזרות ורואים את הקשר למחלה (ראה שקף 75). צריך לבצע אנליזה בהרבה משפחות כדי להוכיח שזה תאחיזה ולא סתם מיקרי.

גם כשעושים מיפוי גנטי לאזור ועדיין אין את הגן זה מספיק לעזור לדעת אם העובר היה חולה או לא. כי אם ממפים בקרבה זה יכול לעזור לגלות שיש תאחיזה מלאה בין אזורים יש את שני הקצוות אם הם רחוקים אז יש בהם רקומבינציות רבות ומקבלים סגריגציה חופשית שהאללים של שני הגנים מחוברים לעובר ללא תלות אחד לשני.

את פרקצית הריקומבינציה θ מחשבים כמספר הריקומבינטים חלקי כלל מספר הצאצאים. אם האזורים מאד קרובים אז אין ביניהם ריקומבינציה כלל ואז $\theta=0$ ויש מצבי ביניים כך ככל שהמרחק גדול יותר הסיכוי לריקומבינציה גדול יותר במיפוי מחלה אנושית. אנו מחפשים תאחיזה וריקומבינציה בין סמנים בגנים למחלה. אנו משתמשים במיקרו-סטיליטים שהם סוג של אתרים פולימורפים (הכי טובים) אך ניתן להשתמש באתרים פולימורפים אחרים.

אנו בודקים לדוגמה CA Repeats ובודקים את מספר החזרות בכל אחד מבני המשפחה. יתכן שיש תאחיזה לא מלאה (ראה משפחה עמוד 78). זה יכול להיות גם בעקבות ריקומבינציה כך נראה שהגן למחלה קרוב לסמן אך לא צמוד לחלוטין ויש ריקומבינציה. אך כאן מדובר במשפחה קטנה ולא ניתן לדעת האם המחלה היא באה בתאחיזה לסמן הזה או שזה קרה במקרה. ניתן לבחון את זה בצורה סטטיסטית האם זה מקרה או ריקומבינציה.

אנו מניחים ש $\theta=0.1$ כלומר 1 ריקומבינטי לכל 10 צאצאים. אנו רוצים לחשב את Add Ratio שזה יחס ההסתברויות כלומר ההסתברות לתאחיזה חלקי ההסתברות למקרויות.

$$\text{AddRatio} = \frac{(0.9)^5(0.1)}{(0.5)^6} = 3.779 \quad \text{כאשר } \theta=0.1$$

למספר כזה עושים לוג וזה ניקרא Lod Score אם הוא חיובי אז זה הסתברות לתאחיזה אם זה שלילי אז זה חוסר תאחיזה. אם ה- Lod Score של כל המשפחות שאנו בודקים מעל 3 אז יש תאחיזה. אם הוא פחות מ- 2 אז זה חוסר תאחיזה. את זה עושים ב- θ -ות שונות וכך אנו מקבלים האם זה בתאחיזה או לא ואם כן אז באיזה θ . המרחק בין גנים נמדד ביחידות סנטי מורגן (CM) שזה כ- $1 \cdot 10^6 \text{bp}$.

שאנו עושים את החישובים ל- Lod Score עבור משפחות שונות וניתן לחפש בין ה- Lod's שיוצאים היכן הגן. יתכן וה- CA Repeats נמצא בגן שאנו מחפשים אז היה Lod score גבוה מאד ב- $\theta=0$ כי לא תהיה ריקומבינציה אם זה בתוך הגן. Lod score של 3 אומר שהמצב של תאחיזה לעומת אי תאחיזה הוא כ- 1000 ל- 1. אנו מוסיפים שני מרקרים מספיק קרובים כדי שנוכל לאתר את הגן ביניהם. כשאנו בודקים במשפחות של נשואי תערוכת אז מקבלים מקור של מחלה מאותו מקור הסיכוי למחלות גנטיות הוא לא גדול בצורה משמעותית יותר בין בני דודים שמתחתנים. 3% באכלוסיה הכללית לעומת 5% בנשואי בני דודים. הסיכוי שילדים של בני דודים ראשונים יהיו הומוזיגוטים הוא $1/16$ והסיכוי שההומוזיגוטים הזו תהיה aa של המחלה הוא $1/64$ (ראה עמ' 82) לזה קוראים הומוזיגוטים בהורשה מדורות קודמים Homozygote by Descent.

אנו מקבלים בשלב זה של הבדיקה 5CM וממנו צריך למפות את הגנים כך שבין המרקר והגן של המחלה יכולים להיות הרבה גנים. ולכן צריך לבצע מיופי עדין כלומר מזמינים פריימרים ל- CA Repeats באזור זה. זה מהווה צמצום עצום לאזור ספציפי בכרומוזום מסוים. אנו בודקים PCR במשפחה עם הפריימרים החדשים. ואז מבצעים Pasing שבו מקשרים כל אלל לאללים הצמודים אליו. הפלוטיפ זה הקומבינציה של האללים מכמה לוקוסים שונים. המצויים בתאחיזה כך ניתן לצמצם את האזור הבעייתי הגורם למחלה.

רקומבינציות עוזרות מאד בשלב זה הרקומביננטים הללו הם הכלי לבדיקה של הקשר בין הגן למיקומו. יש לפעמים מצב שאם רקומביננטים קשה לאתר את הגן הספציפי למחלה. בזה נגמר השלב הראשון של המיופי הגנטי המקסימאלי האפשרי ומגיעים ל- Critical Region שתחום בין פריימרים ובתוכו יש את הגן למחלה. כשמסתכלים על אוכלוסיות שונות אז האלל המוטנטי יכול להיות בתאחיזה לגורמים שונים ולחזרות שונות. אך בתוך המשפחה זה נשמר.

השלב השני הוא הסריקה של האזור הקריטי. אנו משבטים את האזור הזה למספר יחידות של מליון בסיסים (מתחילים מ- 5 מיליון בסיסים) כל אחד מהם חותכים לחתיכות של 100 אלף ואותם לחתיכות של 20,000 בסיסים ואת זה ניתן להכניס לפלסמידים ולעשות PCR וכו'. השיבוט נעשה בעזרת ספריות גנומיות. שבהם לוקחים את הגנים חותכים ליחידות בגדלים קטנים ומכניסים ספריות. אם לשמר נכניס DNA עם צנטרומר אז הוא מתנהג ככרומוזום. אם אנו רוצים למפות את כל הגנום שלנו שהוא $3 \cdot 10^9$ וכל שמר מסוגל להכיל מיליון בסיסים אז צריך 3,000 שמרים. אנו מוצאים באילו מושבות יש את המרקרים הרצויים 1 ו- 2 והם מכילים את האזור הרצוי לפעמים מוצאים שמר שבו יש את שני המרקרים וזה הכי טוב. אנו לוקחים כ- 10,000 שמרים ולא 3,000 כדי להבטיח שיהיה לפחות פעם אחת את כל הרצף. החיתוך של ה- DNA הוא כך שנוצרים אזורים חופפים וזאת כדי שנוכל לראות שאנו מכסים את כל השטח הרצוי לזה קוראים Contig (ראה עמ' 87 וקטורים שונים לשיבוט).

Yeast Artificial Chromosome – YAC

הם יוצרים רקומבינציות פנימיות ומאבדים DNA זה מקשה על העבודה איתו. זה מתחיל מפלסמיד שניתן לגדלו בחיידק ויש בו אתר של EcoR I להכנסת ה- DNA החתוך חלקית ואז עושים ליגציה. ואז חותכים אם האנזים Bham ומוצאת חתיכה ומקבלים DNA לינארי עם טלומרים בקצוות המכיל אזור רפליקציה בשמר (ARS) ומערכת סלקציה בשמרים.

P1.

ה – P1 זה פאג' שהוציאו מה – DNA שלו את כל הגורמים מלבד אלו הדרושים להתרבות אליו מכניסים את ה – DNA הרצוי (85Kb) ועוטפים בחלבונים של הפאג'.

Phage Artificial Chromosome – PAC

כרומוזום מלאכותי מבוסס על הפאג' P1 אך בו ניתן להגיע ל – 120Kb.

Bacterial Artificial Chromosome – BAC

הוא כרומוזום מלאכותי בחיידקים ונותן להגיע ל – 130Kb והוא יעיל מאד. אנו משתמשים במרקרים 1 ו – 2 לסריקה ראשונה קבלנו מושבות שמכילות מקטעים חופפים בניהם יש חור ואנו מוצאים על ידי מרקרים חדשים שמחפשים אותם בתוך האזורים שמצאנו ובעזרתם מוצאים עוד אזורם וכך הלאה עד שמוצאים את כל התחום. לזה קוראים Chromosome Walking. הפריימרים הללו הם טובים רק למקום אחד בגנום ובכך הם יעילים וטובים. והם נקראים STS (Sequence Tagged Sites). כל סט של פריימרים של CA Repeats במקום מסוים הוא STS. יש כמה סוגים של STS יש כאלו עם מרקרים פולימרים יש כאלו שלא ויש כאלו המכילים cDNA של גן.

Cloning in Silico זה ביצוע שיבוט במחשב בעזרת תוכנה (עמ 91).

ברצפים שמתקבלים צריך למצוא גנים קנדידטים באזור הקריטי. את הגנים ניתן לזהות ב – Blots בעזרת היברידיזציה של RNA צורה שנייה היא Zoo Blots.

Zoo Blots

מכינים Blot עם DNA מהרבה חיות ולוקחים RNA לביצוע הבלוט אם לקחנו חתיכה מגן אז נקבל דומיין בהרבה החיות, ונקבל בהם היברידיזציה (בגדלים שונים) בעוד שבז'אנק לא נקבל היברידיזציה. בשיטה זו כמעט לא משתמשים כיוון שהיום משתמשים במחשב.

Expressed Sequence Tag – EST

חתיכת DNA המכילה גן יש לה דומיין לחתיכה של EST שזה צורה של STS, המופיע בכל הגנים המתבטאים ויש EST מרקמות שונות. את ה – EST מקבלים מספרית cDNA מה – RNA של הרקמה להם עושים בדיקת רצף של 200 בסיסים מהחתיכה הזו ומכניסים למחשב ובמאגרי מידע בודקים אם יש רצף של 200 בסיסים דומה כלומר זה שייך לגן מרקמה זו. כך ניתן לחפש מועמדים טובים למחלה. בפרויקט הגנום מופו EST'S רבים לאזורים בגנום.

לאחר שמוצאים את הגן מחפשים מוטציות בחולים לאחר מכן בודקים תיקון פנוטיפ בתרבית תאים (In Vitro) ולאחר מכן מבצעים מיפוי של המחלה בעכבר. לאחר כל זה צריך לחשוב על ריפוי המחלה לאחר שמצאנו את הגן. אך ניתן כבר להשתמש בגן לדיאגנוסטיקה ובשלב קרוב לאחר מכן לנסות למצוא טיפול תרופתי ובסוף טיפול גנטי.

פרויקט הגנום.

מטרות פרויקט הגנום הם:

1. מיפוי הגנום האנושי יצירת מפת גנטית (סמנים שהמרחק ביניהם נקבע בריקומבינציה) ומפה פיזית לקביעת רצף.
2. זיהוי גנים ברץ, סמנים ואזורים בעלי עניין ביולוגי.
3. קביעת רצף גנומי על אורגניזמים נוספים.

4. פיתוח בצורה גנטית וטפול במחלות גנטיות.
5. פיתוח מאגרי מידע ממוחשבים.
6. פיתוח מדניות חוקית.
7. פיתוח טכניקות חדשות לקביעת רצף ואיתור מוטציה.

חלק גדול מהמטרות הושגו עד כה (ראה דוגמה למפה בשקפים). המאגרים ממוחשבים נותנים כניסה מרמה של כרומוזום עם רמת הבסיס דרך המקטעים דרכם שובט הגן. השלב הראשון בפרויקט הגנום הוא השגת רצף הקונטיגים. מאגרי המידע של ה-NIH הם בחינם אך בחברת סלרה זה בתשלום. בסוף שנת 2000 סיימו למפות את כרומוזום 21 ו-22 מקצה לקצה. נשאר עוד מספר דברים (ראה שקפים).

יש כרומוזומים עשירים בגנים וכאלו שלא עשירים לדוגמה: הגודל של כרומוזום 21 ושל 22 היא פחות או יותר זהה אך בכרומוזום 22 יש בערך פי 2 גנים מאשר ב-21. כמו כן עשו בדיקה של הגנים של שמר האפייה, של תולעת C. Elegance ושל דרוזופילה עדין לא סיימו את העכבר. העכבר הוא מודל במקרים רבים למחלות אדם ולכן חשוב למפות את הגנים שלו.

גנטיקה מולקולרית של סרטן.

1 מכל 3 אנשים מפתח סרטן. ו-1 מכל 4 מתים מסרטן. גידול Tumor הוא צמיחה של תאים ללא בקרה היא מקומית ולא כוללת את כל הגוף שפיר - Benign, ממאיר (Malignant). הסרטן המתפתח באדם הוא מתא אחד בלבד. התפתחות הסרטן הוא במספר שלבים והגוף נלחם בהם כל הזמן. ניתן להראות שסרטן הוא קלונלי בשיטות מולקולריות וביוכימיות.

לראשונה הוכיחו שסרטן הוא קלונלי כשהסתכלו על הגן ל-G6PD הנמצא בתאחיזה ל-X. אז בדקו את תקינותו וזה שיטה ביוכימית. השיטה המולקולרית היא לפי מספר החזרות לפני כל אחד מהאללים בגידול וכיוון שהסרטן הוא מתא אחד אז ככולם זה זהה. צריך להריץ בג'ל ההבדל בין הכרומוזומים הוא שאחד ממוטל והשני לא. ניתן להשתמש באתר הרסטריקציה ל-Hha I שהוא לא פעיל שהוא ממוטל ובזה הפעיל לא נקבל תוצר ומהשני כן נקבל תוצר. סרטנים ספורדים הם לא מורשים (באים בתורשה) אם נעשה RT-PCR אז בתאים הסרטנים נקבל 1, בנורמאלי נקבל 2.

רוב הגידולים הסרטניים הם לא מורשים וזה אומר ששאר התאים בגוף הם ללא המוטציה הנ"ל בעוד שבסרטן מורש זה מופיע בכל התאים ומורש לדור הבא. הגנים לסרטנים אלו יכולים להיות אונקוגנים וטומר-סופרסורים. האונקוגנים הם מוטציות בפרוטאונקוגן שהם גנים המצויים בתא ומתפקדים כ-Hose Keeping. זיהו אותם לראשונה ברטרווירוסים.

הגן Src Gene הוא פרוטאונקוגן והוירוס Rous Sarcoma Virus המכיל גן זה עם שינוי כלשהו גן אנושי הגורם לסרטן בעופות. ניתן להפוך פרוטאונקוגן לאונקוגן על ידי מוטציה נקודתית המשנה את זמן פעולתו או אופי פעילותו, טראנסלוקציה כרומוזומלית שיכולה לגרום ליצור יתר או בחוסר ואמפליפיקציה גנטית (ביטוי ביתר).

הטראנסלוקציה משפיעה על ידי קרבה שנוצרת לאזור בקרה שונה מהנורמאלי למשל: פילדלפיה כרומוזום. בו מקבלים פרומוטור הזה מכרומוזום 22 המפעיל גם עקב הטראנסלוקציה את הפרוטאונקוגן *abl* בכרומוזום 9 ביחד הם כרומוזום פילדלפיה. דוגמה נוספת היא MYC הנמצא תחת בקרה של אמיוגלובולינים. במוטציות סרטניות רבות נהרסת הבקרה שגורמת להרס התא לפני שהוא "יהפוך רע" ולכן הם לא משפיעות והמוטציה הסרטנית ממשיכה. אמפליפיקציה הגן N-MYC יכול להיות מוכפל עד פי 200 וזה ב-40% של הנורובלסטומות.

טומר סופרסור.

מוטציות בטומר סופרסורים הם מוטציות של Loss Of Function וצריך להרוס את שני העותקים כדי לקבל את המחלה הן רצסיבית לרמת התא בלבד אך בהורשה זה דומיננטי. בהרכב מקרים עותק אחד עובד

במוטציה והשני הולך לאיבוד. יתכן שהאדם ירש מוטציה באחד האללים והמוטציה השנייה מתפתחת והורסת את האלל השני ומקבלים סרטן.

.Retinoblastoma

הדוגמה הקלאסית היא רטינובלסטומה בה מתבטאת בצורה ברורה הנוסחה של 2 Hits בהשוואה בין ה- RT המורש והנרכש. כ- 1/20000 מהחולים במחלה זו 40% מהם הם מורשים והשאר הם ספורדים החדירות היא 90%. מי שנולד עם מוטציה אחת כבר בכל התאים שלו אז הסיכוי לקבלת מוטציה באלל השני גבוהה וזה היה בגיל מוקדם וגם בשתי העיניים. ההורשה היא דומיננטית אך בתא המוטציה רצסיבית. ניתן לאבד אלל שלם עם האלל השני הוא עם המוטציה המורשת (ראה שקפים על אובדן הטרנזיגוטיות).

ניתן לאבד כרומוזום שלם או לאבד חלק ממנו ניתן גם לאבד כרומוזום שלם ולקבל עותק נוסף של האלל הראשון ועוד צורות שונות לקבלת אובדן כרומוזום (ראה שקף). המקרה הפשוט ביותר הוא איבוד כרומוזום שלם אנו בודקים מרקרים ורואים שבנורמאלי יש שני אללים ב- A שניים וב- B ואילו בסרטני יש רק 1 בלוקוס A אלל 2 הלך לאיבוד בלוקוס B הלך לאיבוד אלל 4 ומכאן שאבד כרומוזום שלם. שאובד רק חלק מהכרומוזום נראה בסרטני את 1 ו- 2 ב- A וב- B רק את 3. כשמוכפל הכרומוזום הקיים אז יש בנדים עבים יותר של 1 ו- 3 בסרטני. כשמוצעת חלק מהכרומוזום במקום חלק חסר Somatic Recombination נקבל את 1 ו- 2 נורמאליים ו- 3 בעוצמה כפולה. במוטציה נקודתית יש בעיה כי נקבל במוטציה הסרטנית ובנורמאלית אותו הדבר. יש עדויות שה- Second Hit נעשה לא על ידי שינוי ה- DNA אלא על ידי מתילציה המשביתה את הגן.

ה- RB הוא בעל תפקיד חשוב במחזור התא ולפעמים מקבלים שלמות או סרטנים של רקמת חיבור או סרטן בעצמות עקב כך. הגן הזה חשוב בהתקדמות במחזור התא במעבר מ- G_1 ל- S הוא זה שעוצר את התא לפני הכניסה ל- S הוא מתבטא בכל התאים והפעילות שלו תלויה במצב הזירחון שלו.

ה- RB מחובר ל- F2E שהוא פקטור טרנסקריפציה וזה במצב הלא פעיל. כשהוא מזרחון הוא מאבד את הקישור וה- E2F חופשי לבצע טרנסקריפציה של גנים החשובים להתקדמות מחזור התא. זירחון ה- RB הוא על ידי CDK4 העובר הפעלה על ידי ציקלין D שנקשר אליו רק שהתא מקבל סיגנל מחומרים מוטגנים שהם אלו שאומרים לתא להתחלק. יכולות להיות מוטציות ב- RB שמונעות קישור שלו ל- E2F והם גורמות לסרטן יכול להיות מוטציה ב- Cyclin D שגורמת לו להיות קשור כל הזמן ל- CDK4 וזירחון RB. אם דופקים את הגן RB בשני העותקים בעכברים הם מתים בגיל 13 ימים כי התאים לא מפסיקים לגדול והם מתחלקים ללא הפסקה. רק בבני אדם רואים את מחלות ה- RB.

.P53

גם זה הוא טומר סופרסור חשוב. בהתחלה חשב שהוא אונקוגן וזאת עקב הכנסת מוטציה שהיא Dominant Negative כלומר, שמספיקה מוטציה אחת להרוס את הכל. למעלה מ- 50% מהסרטנים הם כאלו מוטציות ב- P53. ל- P53 יש תפקיד חשוב בבקרה בין מעבר מ- G_1 ל- S ומ- G_2 ל- M במחזור התא. ה- P53 הוא פקטור שיעתוק של גנים החשובים לחלוקת התא. הדגרדציה של ה- P53 התקין מהירה מזה של ההטרותרירמר המוטנטי וכך הוא לא עוצר את הגנים ליותר זמן וזה גורם לחלוקות רבות.

Li Froumeni Syndrome היא מחלה בה נולדים עם גן אחד פגום ל- P53 הם מקבלים כבר בגיל צעיר מוטציות סרטניות. אך בגיל מבוגר יותר מאשר אלו עם מוטציה מורשת ב- RB. הסיבה לכך היא חשיבות ומיקום הגנים הללו בהתפתחות הסרטן.

APC

במקרה של סרטן במעי הגס צריכות להיות 7 אירועי מוטציות וזה לוקח הרבה זמן התאים במעי מתחלקים כל הזמן ולכן הסיכוי שם לסרטן גדול יותר. הסרטן הראשון הוא FAP והשני HNPCC שניהם מאד נפוצים הראשון יותר ולפחות 50% מפתחים סרטן במעי עד גיל 70 ש - 15% מהם מורשים דומיננטית.

בשלב הראשון מתפתחים פוליפים הנקראים אדנומות מתוך העשרות והמאות הללו רק 1 או 2 יקבלו עוד מוטציה שיהפכו אותם לסרטניים. מצאו שיש חסר ב - 5q21 לפי ניסוי תאחיזה ואז גילו שהגן הוא APC שהוא טומר סופרסור. כאשר יש מוטציה באזורים שונים בגן מקבלים פנוטיפים שונים הגן הזה נקרא Gate Keeper כי הוא בשלב הראשון של התפתחות הסרטן. מטרתו היא לוודא שמספר התאים החדשים שנוצרים לא יהיה גדול ממספר התאים המתים.

אמרנו שיש שני סוגים של סרטן במעי הגס, האחד מורש עם המון פוליפים והשני הוא עם פוליפ אחד. דיברנו על ה - APC שיודע לבקר את מוות התאים כך שמספרם יהיה מבוקר ולכן זה גן חשוב בהתמרה לכיוון סרטני. התא במעי עובר גידול מוגבר וממנו עוברים לשלבי הפוליפים שזה אדנומות 1, 2 ו - 3. אחרי זה מצב של קרצינומה שהוא ממאיר ואחריו יש כבר שלוחות. במעבר הראשון נפגע ה - APC בשני יש היפו-מתילציה של גנים אחר כך באה מוטציה בגן RAS אחרי זה מוטציה ב - DCC בכרומוזום 18 וכך הלאה.

באדנומה 3 יש הרבה פעמים איבודים של כרומוזום 18 או חלקים שלו וכך מצאו את הגן. אחרי אדנומה 3 יש פגיעה ב - P53 ומעבר לקרצינומה יש אנשים בעלי מוטציה ב - APC מה שגורם להגברת הסיכוי לפוליפים. וצריך לעבור בדיקות תקופות.

ניתן לקבל סרטן במעי הגס אם מוטציה אחרת לא ב - APC אז זה גם מורש אך ללא פוליפים כי אין פגיעה ב - APC למחלה זו קוראים Hereditary Non Polyposis (יש פוליפ אחד שבו מתחיל הסרטן). היו 3 כיווני חקירה להגיע לגן זה.

1. תאחיזה כי היו משפחות מאד גדולות ומצאו שיש תאחיזה ל - 2p16, 3p21 זה כבר מיקם את הגנים.
2. כיוון שזה היה תורשתי הם חיפשו LOH (איבוד הטרוזיגוטיות) הם חיפשו מקומות עם חיסרון אך מצאו שבסרטן יש אללים חדשים לגמרי שאין באחרים לזה קראו חוסר יציבות של מיקרו-סטלייט (MST) Micro Satellite Instability.
3. בדיקה של ה - DNA על ידי שיכפול ביצורים חד תאיים בחיידקים יש מוטנטים שגרמו לאותו דבר. למה שנגרם במעי הגס המוטנטים הם מוטציה באנזימים שמתקנים את ה - DNA. הוא מצא גן אחד שהוא בעל הומולוגיה והוא HNSH₂ הנמצא ב - 2p וכך נמצאו המוטציות הללו.

האנזימים שמיועדים לתקן עיוות הם גם מתקנים טעויות של מיקרו-סטלייט שבהכפלה מוסיפים או מורידים. כשהם לא מתוקנות עקב המוטציה יש בנוסף לחוסר תיקון של המיקרו-סטלייט גם חוסר תיקון בגנים והמוטציות מצטברות בקצב מאד מהיר. למי שיש מוטציות ב - APC יש לו הרבה פוליפים אך הוא צריך לצבור הרבה מוטציות נוספות ובסוג השני התא מחכה לשתי מוטציות ב - APC ואז יש התפתחות מהירה הזמן בדרך כלל לוקח למוטציה תורשתית כזו היא כ - 40 שנה.

כלומר, שתי המערכות הפוכות האחת לוקח לה המון זמן להתחיל ומעט להתפשט והשנייה התפשטות איטית אך מתחילה מהר יותר (APC). מתוך הסרטנים המורשים 85% הם FAP ו - 15% הם מחוסר יציבות של DNA (HNPCC).

Gate Keepers & Caretakers

ב - FAP המוטציה היא ב - Gate Keepers המבקרים את מספר התאים ברקמה לדוגמה במעי זה APC רטינה זה רטינובלסטומה וכו'. לעומתם יש את ה - Caretakers שהם המתחזקים את התאים ובתוכם יש את הגנים האקראיים לתיקון שגיאות. מי שהולך במסלול זה צריך 4 מוטציות להתחלת הסרטן

אם יש לאדם מוטציה ב – APC אז יש לו סיכוי לסרטן פי 1000 מהאוכלוסייה ואם ב – Care Keepers אז הסיכוי שלו פי 50.

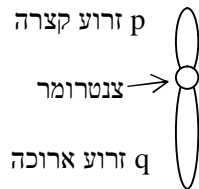
גידולים עם מוטציות ב – Caretakers לא יכולים לתקן DNA ואז זה ניתן לנצל בטיפולים בסרטן כי אין מנגנונים שיתקנו מוטציה שנגרמו בתאי סרטן על מנת שימותו. הטיפולים הכימותרפיים וההקרנות פוגעים ב – DNA שוברים כרומוזומים וגרמים לחלוקות קיצוניות כך שהתאים ימותו. ב – APC ניתן לזהות מוטציות ב – 85% מהמקרים וב – FAP יותר מ – 50-60%. ההורשה פה היא מנדלית אך עם חדירות שווה כך שב – Gate Keeper החדירות גדולה ואילו ב – Caretakers החדירות נמוכה זה לא רצסיבי כי מספיקה מוטציה אחת כדי להתחיל וזה דומיננטי.

יש מחלות גנטיות שגורמות לסרטן שנחשבות רצסיביות כי הם בגנים המתבטאים בהתאם לתנאים סביבתיים בנוסף לפגיעה בשני האללים. ברמת התא הסרטן זה מחלה רצסיבית צריך שתי מוטציות אך בתוך משפחה מספיק שיורשים את המוטציה מהורה אחד כך שזה דומיננטי. רוב התאים מתחילים להתחלק בעת קבלת סיגנל מיטוגני תאים סרטניים נותנים לעצמם את הסיגנל להתחלק הם יוצרים בעצמם את פקטורי הגדילה להפריש אותם ולהפעיל את עצמם דרך הרצפטור. דבר נוסף תאים סרטניים לא מגיבים לסיגנלים לעצור. דבר שלישי הוא התחמקות מאפופטוזיס זה תלוי ב – P53 שמפעיל אפופטוזיס.

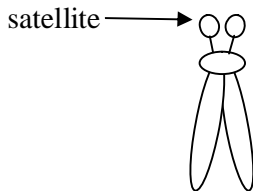
דבר רביעי הוא כושר חלוקה בלתי מוגבל. אצלנו בתאים הטלומרים מתקצרים בכל חלוקה עד גודל קריטי ואז הם מפסיקים להתחלק בתא הסרטני מתפתחת שיטה להארכת הטלומרים על ידי האנזים טלומראז המצוי בתאי גזע ותאים עובריים. אנזים זה פעיל גם בתאים סרטניים יש גם אפשרות למסלול אלטרנטיבי. דבר נוסף זה אנגיוגנזה שזה הצורך ביצירת כלי דם לתוך הגידול כדי שיספקו דם לגידול והדבר האחרון זה היכולת לעבור מטסטזה כלומר, לשלוח גרורות וזה על ידי החדרת תאים סרטניים דרך הדם למקומות אחרים ושם ליצור גידול.

כרומוזום.

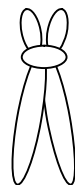
להכין פרפרט של כרומוזומים זה קל. צריך לקחת תאים ולקצור אותם אנו לוקחים דם מוסיפים חומר מיטוגני להגברת חלוקות של לימפוציטים משקיעים בצנטריפוגה מוסיפים להם תמיסה היפוטונית (שיש לה פחות מלחים מאשר בתא, בדרך כלל KCl). התאים מתנפחים עקב כך אך לא מתפוצצים אז שוב משקעים ומוסיפים מתנול עם חומצה אצטית ביחס של 3:1 ואז לוקחים טיפה ושמים על הסלייד מהנפילה על הסלייד הם מתפוצצים ונשארים גרעינים אם הם באינטרפזה או אם הם במטפזה מקבלים כרומוזומים על הסלייד שניתן לראות אותם במיקרוסקופ אור. לכל מין יש מספר מסוים של כרומוזומים עם צורות מסוימות והסידור שלהם הוא קריטי.



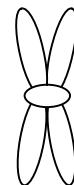
במטאצנטרים הצנטרומר במרכז בסובמטצנטרים הצנטרומר נוטה לצד אחד ובאקסצנטרים כמעט ואין צד שני:



אקסצנטרים (לדוגמה כרומוזום 21)

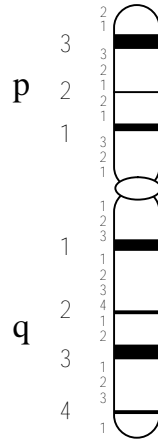


סובמטצנטרים



מטאצנטרים

חלוקת הכרומוזום נעשית לפי פסים מהצנטרומר לפסים הגדולים קוראים 1, 2, ... הספרה השנייה היא לחלוקה עדינה יותר באזור. המספרים הגדולים לפי המצב המכווץ והמספור הקטן (השני בדו ספרתי) הוא של המצב הלא דחוס.



קולצ'יכיד הורס את סיבי הקישור וכל התאים שמגיעים למטפזה לא יכולים לעבור לתאים אז מופצים את התאים כמו שתיארנו קודם צובעים בצביעת G בנד ומשתמשים במצלמה דיגיטאלית המעבירה לתוכנת מחשב המזהה את הכרומוזומים לפי הפוספט ואז יש לסדרם לפי קרייטיפי ב – Slides מטפלים בטריפסין המעכל את הכרומוזומים בפסים כי החלבונים שאורזים את ה – DNA אורזים אותו בצפיפות שונה במקומות שונים כך שהאזורים הדחוסים נעלים פחות מהאזורים הפחות דחוסים וכך מקבלים פספוס. לאחר מכן צובעים בגימזה הצובע כרומטין, כך שאם היה עיכול מקבלים פס בהיר ואם לא היה עיכול אז מקבלים פס כהה.

ניתן להשתמש גם בחומר פלורצנטי זה נקרא Q Bending ויש גם צביעה של R Bending שזה הפוך ל – G בנד. האזורים הכהים עשירים ב – A – T הם עם פחות גנים והם ספציפים לרקמה הם עשירים ברציפי L1 והם עוברים שיכפול מאוחר בשלב S. ה – R Bands הם מכילים הרבה GC ורוב הגנים נמצאים בהם הם עשירים ברציפי Alu וריצפה CpG והם משוכפלים בשלמים הראשונים של שב S צביעה נוספת היא C Bending היא לא נעשית לעיתים קרובות מטפלים בסלייד בבריום הידרוקסיד המעכל את כל הכרומטין מלבד אזורים הכי מכווצים. זה האזורים בצנטרומרים בכרומוזום 9 – 1 וניתן לראות פולימורפיזם ברמת הכרומוזום.

הטרוכרומטין קונסטיטוטיבי הוא כרומטין מכווץ הוא מופיע בכל הכרומוזומים יש הטרוכרומטין פקולטטיבי והוא של כרומוזום X הלא פעיל. ה – C Bands קורה גם באזורים של ה – DNA הריבוזומלי.

Fish – Florescent In-Situ Hybridization

שיטה שפותחה לפני 13 שנה הרעיון זהה ל – Southern Blot כשהגלאי הוא DNA העובר היברידיזציה והוא נושא סמן פלורצנטי. אנו לוקחים את ה – DNA המשמש כפרוב ומכניסים לו נוקליאוטידים עם מולקולה של תוספת שניתן לזהותה. אנו משתמשים בביוטין שמחובר ל – dUTP כי הוא הכי נוח. אנו מבצעים היברידיזציה שוטפים ומשתמשים בנוגדנים עם חומר פלורצנטי והם נדבקים לפרוב וכך הוא זוהר.

זו השיטה הבסיסית של ה – Fish. יש גם פרובים לצנטרומרים, טלומרים וכו'. אם רואים נקודה אחת בפרוב לכרומוזום אז מעותק אחד של כרומוזום זה לאחר הכללת הכרומוזום עם 2 נקודות. ב – 5 שנים האחרונות פותחה שיטה לצבוע כרומוזום שלם. כך שכל כרומוזום ייתן צבע אחר. בהתחלה בין 7 שונים היום יש צביעה שנותנת צבע שונה לכל כרומוזום ואת זה ניתן לראות בעזרת תוכנת מחשב. זה יעיל בזיהוי טראנסלוקציות.

הצבעים הם פסודו-צבעים. גם שיטת צביעה זו היא Fish יש 5 חומרים שמסמנים לנוגדנים ויחסים שונים ביניהם ומשם את הזיהוי השונה כן הכרומוזומים ומקבלים את הצבעים השונים. ב – Fish ניתן לדעת כמה עותקים יש על כרומוזום. ניתן לקחת שני פרובים אחד בביוטין ואחד בדיאוקסי גנין ולסמנם בצבעים שונים אחד מהאזור שנישבר בטראנסלוקציה והשני מהאזור שמעל השבר בכרומוזום השני, וכך אם נראה את הצבעים השונים צמודים אז יש טראנסלוקציה.

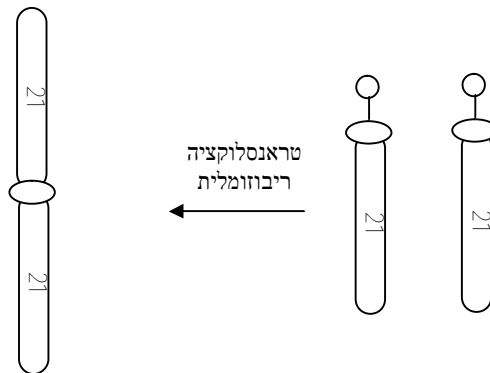
ציטוגנטיקה קלינית.

זה מדע החוקר את אי התקינות בכמות הכרומוזומים או בכרומוזומים עצמם. כמעט ולא נולדים אנשים עם הפרעות גדולות בכרומוזומים כי יש בכרומוזומים הרבה מידע גנטי. בתסמונת דאון יש 47 כרומוזומים ושזה עודף של כרומוזום לאחר מכן התגלה שזה כרומוזום 21 יש הרבה הפרעות שנוצרות מהפרעות כרומוזומליות קטנות.

מכל הלידות 0.7% הם בעלי הפרעות כרומוזומליות. 2% מההריונות של נשים מעל גיל 35 הם עם הפרעות בכרומוזומליות ו – 50% מההפלות בטרימסטר הראשון הם עקב הפרעות. האבנורמליות יכולה להיות במספר הכרומוזומים או במבנה טריפלואיד. זה מצב של 3 סטים של כרומוזומים ויש גם טרה-פלואידים. שיש כרומוזום אחד ב – 3 עותקים זה טריזומיה ומנוזומיה זה שיש חוסר בכרומוזום אחד (לדוגמה תסמונת טרנר).

קריטיפ של פרט עם טריזומיה 21 $47,XX(XY)j+21$
 ↑ ↑
 לזכר לנקבה

הטריזומיה ב – 21 היא היחידה שנולדים בה חיים בטריזומיה של 13 ו – 18 לעיתים רחוקות נולדים ואז מתים מהר. טריזומיה יכולה להיווצר מ – Non Disjunction. ניתן לבדוק בשיטה ציטוגנית על ידי פרובים ל – rDNA ששונה מאנזים. בין הכרומוזומים וכך מקבלים את הסימון מאיזה ההורה היה ה – Non Disjunction.



האדם הוא נורמאלי לחלוטין אין לו בעיה אל אף שיש לו 45 כרומוזומים אך הגמטות שלו הם ללא התאמה לכרומוזום הזה. וכך הילדים היו עם תסמונת דאון. כי הוא נותן את הכרומוזום הזה שהוא $2X21$ ומההורה השני יש $1X21$ כך שבעובר יש $3X21$.

בנשים עם הגיל עולה הסיכוי לאברציות כרומוזומליות. בדיקת סיסי השליה היא בדיקה וגינאלית לוקחים תאים מרקמה שעוטפת את העובר. יש סיכוי להפלה לאחר בדיקה זו. את התאים ניתן לגדל ולבדוק וזאת כדי שניתן היה לקבל תוצאות לפני סוף הטרימסטר הראשון כך שההפלה תהיה בגרדה ולא בהריון מוקדם. תסמונת דאון היא הסיבה הכי שכיחה לפיגור שכלי התדירות הממוצעת היא $1/800$ אך זה משתנה בהתאם לגיל האם.

ככל שה – Non Disjunction בעובר מתרחש בגיל צעיר יותר אז יש לו יותר תאים עם טריזומיה. בנוסף לפיגור שכלי יש עוד פנוטיפים (ראה שקף) יש חולי תסמונת דאון שלהם יש רק חלקות של כרומוזום 21 בעודף וכך גילו אילו אזורים גורמים לפנוטיפים השונים של המחלה. לבעלי תסמונת דאון Down Syndrome יש סיכוי של פי 20 לקבל לוקימיה.

סרטן וכרומוזומים.

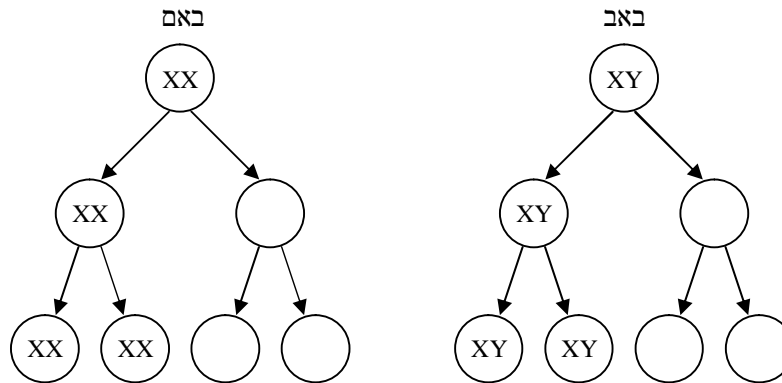
יש סינדרומים של חוסר יציבות כרומוזומלית Bloom Syndrome הגורם לחוסר יציבות ומעלה את הסיכוי למוטציה וקבלת סרטן. אחד הטראנסלוקציות הנפוצות היא שה – c-MYC מכרומוזום 8 נשבר ומגיע לכרומוזום 4 ליד Cpv שיגרום להגברת התעתוק שלו. ההתקדמות בסרטן היא במוטציה הראשונה ב – Gate Keeper ולאחר מכן מוטציה נוספת. בסרטן ניתן לראות אמפליפיקציה בשיטה של HSR יש שיטת אמפליפיקציה נוספת שנקראת Double Minute היא מתרחשת על ידי עותקים מחוץ לכרומוזום הם מפורקים ונוצרים מחדש. הם יכולים לנוע לכל אחד מהתאים בחלוקה כי הם לא קשורים לקישור.

כרומוזומי המין.

קיימת הפרעה קלינית של כרומוזומי מין. יכולות להיות מספר סוגי הפרעות 4 הנפוצות ביותר הן 3 תוספת הראשונה XXY Klinefalter Syndrome, סינדרום XYY וטריזומיה של X – XXX, ההפרעה הרביעית היא חוסר בכרומוזום שמקבלים טרנר סינדרום כלומר X אחד. 1 ל – 1,000 זכרים הוא עם XXY ו – 1/25,000 הוא XXXY יש גם כל מיני צירופים שונים שביחד מהווים 1/10,000. XYY מהווה 1/1,000 יש גם זכרים שהם XX. בנקבות טרנר סינדרום הוא 1/10,000 לידות ויש גם 46Xi(Xp) או 46Xi(Xq) שהם 1/50,000 מהנולדות ו – XXX שהן 1/1,000 מהנולדות.

• XXY

קליינפלטנר ברוב המקרים זה XXY והוא קורה עקב Non Junction. מסתבר ש – 1/2 מהמקרים זה טעויות במיוזה I באב, 1/3 זה במיוזה ראשונה באם, ו – 1/6 מהמקרים זה במיוזה ה – II ובמיטוזה לאחר יצירת הזיגוטה.



אנשים עם תסמונת זו הם גבוהים ורזים עם חוסר התפתחות מינית. במקרים רבים הם גם לא פוריים. לפעמים יש הפרעות למידה. יש הרבה הפלות ספונטניות כ – 15% מהם הם מוזאיקות (שהפרעה לאחר ההפריה) בזכרים אלו יש Bar Body.

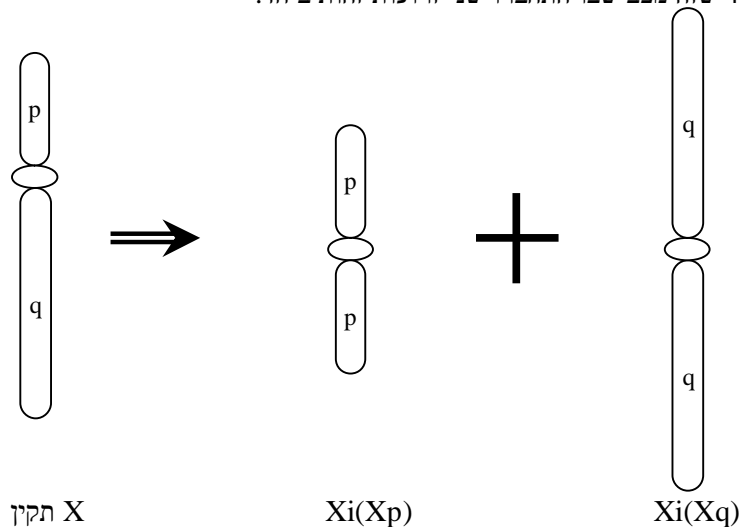
• XYY

פנוטיפ לא ברור תדירות 1/1,000 גם הם גבוהים מהמוצע ולרובם יש בעיות התנהגות אך זה לא מסקנה החלטית אין להם בעיה ללדת ילדים בריאים.

• XXX

גם אין בעיה ללדת ילדים נורמאליים יש ירידה ב – IQ שני כרומוזומים מושתקים כך שגם ניתן לחיות עם טריזומיה זו. הסיבות לבעיה הם שלא כל ה – X עובר השתקה.

- סינדרום טרנר (X)
 - ניתן לזהותו בקלות לאחר הלידה כי הפנוטיפ הגופני מיוחד ויש צוואר מעובה תווי פנים מיוחדים וכו'.
 - מתוך הטרנר רק 50% הם 45X, 15% הם מוזאיקה 45X/45XX. יש גם מצב שנקרא 46Xi(Xq) או 46Xi(Xp) שזה מצב שבו התחברו שני זרועות זהות ביחד.



כך שחסרה זרוע אחת והשנייה יש ב-3 עותקים. כאשר יש $46X(Xq^-)$ או $46X(Xp^-)$ זה שזרוע אחת אבדה.

כרומוזום Y.

הרבה מאד מבעיות הפוריות שייכות לכרומוזום Y כלומר, מתוך 10-15 אחוז מזוגות של בעיות פוריות 50% זה בגבר או שאין זרע או שיש הפחתה בכמות הזרע. הגנים הנמצאים במקומות שחוזרים בכרומוזום Y האזורים שלמעלה ולמטה הם פסודואוטוזימלים ויש להם אזורים דומים ב-X והם אחראיים לצימוד שלהם בזיווג. ביניהם יש אזור ללא ריקומבינציה כך ניתן לעקוב אחר אוכלוסיות שונות בעולם.

בדרוזופילה היחס בין מספר ה-X למספר האוטוזומים קובע אם אתה זכר או נקבה. באדם ב-Y יש את הגן הקובע אם היות האדם זכר. על כרומוזום Y יש כ-50 גנים. הם מתחלקים ל-3 משפחות האחת זה הגנים הפסודואוטוזימלים והם נמצאים בקצוות והם הומולוגיים לכרומוזום X משפחה נוספת היא של גנים שיש להם המולוגים בכרומוזום X כמעט זהה אך בסדר אחר. והמשפחה השלישית הם ייחודיים לכרומוזום Y.

הגנים מהמשפחה השנייה לא משותקים אל אף שיש כרומוזום X. גנים אלו מתבטאים גם בנקבה ב-X שעובר אינאקטיבציה כי באינאקטיבציה יש אזורים לא ממותלים שגנים אלו מצואים בגנים אלו. כשיש XXY הגנים הללו פועלים ב-3 עותקים. הגנים מהמשפחה השלישית מתבטאים רק באשך והם מופיעים במספר עותקים. הגנים הייחודיים ל-Y הם קבורים בתוך רצפים חוזרים והם חסרים DNA ו-RNA.

הגנים באזור הפסודואוטוזימלי זהים ב-X ו-Y ויש החלפה של חומר תורשתי ביניהם. והקו המפריד עובר בתוך גן של סוג דם ב-Y זה שומר אותו ובנקבה לא. הגן לזכריות נמצא מאד קרוב לאזור זה ב-Y וזה גורם לכך שמקבלים זכרים שהם XX ונקבות שהן XY עקב ריקומבינציה שסוחבות בטעות את הגן הזה.

בתסמונת טרנר יש לאנשים גובה נמוך אז מחפשים את הגן הזה באזור הפסודואוטוזומלי וכך גם מצאו אותו. הגן הוא SHOX שהוא חסר בעותק אחד הוא גורם לקומה נמוכה. הם גילו זאת על ידי אנשים עם קומה נמוכה עקב חסרים בכרומוזום X. הם עשו קונטיגים וכוסמידיים של האזור עם חפיפה חלקית ומצאו

את אלו ששיכים לאזור הזה, ובשיטה מיוחדת מצאו אקסונים וראו איזה בן נמצא באזור זה לגן זה קראו SHOX. יש לו שתי צורות שיהבור אחת קצרה יותר ואחת ארוכה יותר. הקצרה מתבטאת בתאי כליה, שריר ומח עצם בעובר. והארוך מתבטאת ברקמות מבוגר. כשנמצאה משפחה עם מוטציה בגן זה אך לא חוסר שלו הם הוכיחו חד משמעית שהוא קשור לקומה נמוכה.

עד גיל 7 שבועות לעובר אין מין חיצוני או יש אזור פנימי מכיל שתי מערכות של צינורות אחת לנקבה ואחד לזכר. המצב הוא של ברירת מחדל אם אין Y אז המערכת מתפתחת לכיוון השני שהצינורות הזכריים מבצעים אפופטוזיס. ואם יש Y הצינורות הנשיים עוברים התנוונות (ראה שקף). האשכים אחראים להפרשה של אנדרוגן הממשיך את יצירת אברי המין הזכריים בנקבות עם XY המצב נתקע בלי התפתחות אברי מין זכריים או נקביים.

תאי סטרולי הנמצאים מסביב לאשך מפרישים הורמון AMH המנוון סופית את הצינורות הנקביים (הנשיים).

חיפוש הגן המקודד ל – TDF.

יש נקבות שהן XY וזכרים שהם XX. בעזרת אזורים שלא פסודואוטוזימלים הגן SRY הוא זה שקובע זכריות. בנקבה עם XY לא חסר חתיכה ב – Y אך יש מוטציה ב – SRY ולכן מקבלים נקבה גם חוסר בגן הזה גורם לנקבה. החלבון של גן זה נקשר לגנים אחרים ומפעיל אותם וכך הוא גורם לזכריות. XX שהוא זכר הוא עקב מעבר של SRY ל – X אך היה לו בעיות כי צריך גנים נוספים על Y ששיכים לאשכים שהם Azoospermia Factors.

סביר להניח שכרומוזום Y הוא שארית של כרומוזום שהתנוון באבולוציה והוא הולך ומתנוון כל הזמן כך שבעוד מיליוני שנים או שה – SRY יעבור לכרומוזום אחר יחד עם אותם גנים הנחוצים לפוריות או שתהיה שיטה אחרת לקביעת מין. האזורים AZF (A, B או C) הם אלו שאחראים להתפתחות תאי זרע המוטציות הן בדרך כלל De Novo ואין זרע כלל או שיש מעט. אזורים אלו של AZF מלאים באזורים חוזרים וקשה לבדוק להם רצף. אך בדקו וראו ש – AZF_C מעבדים ברוב המקרים חלק בין B₂ – B₄ שהם החזרות שכנראה מתקפלות ויוצרות ריקומבינציה ביניהם ומריצות את הגן שביניהם. הגן DAZ שביניהם הוא הכי מועד להורדה.

יש 3 רמות לקביעת מין, לפי כרומוזומים מין גנטי, לפי אברי מין חיצוניים ולפי מין גונאדי (ראה שקף). בהשתקת כרומוזום X לא כל הגנים משתקים אחד מאלו שלא מושתקים הם XisT שהוא משותק ב – X הפעיל ופעיל ב – X המשותק כיוון שהוא זה שמשתיק את ה – X. ביונקי כיס רק ה – X האבהי מושתק. ביונקי שיליה יש השתקה של ה – X מהאב ברקמות החוץ עובריות ובעובר הם אקראיות. השתקת ה – X נעשית על ידי האזור האחראי להשתקה הוא דרוש ב – Cis עם X עובר טראנסלוקציה כך שהחלק הזה עובר לכרומוזום אוטוזומלי או כרומוזום האוטוזומלי הזה משותק.

המערכת יודעת "לספור" את ה – X-ים ביחס למערכות האוטוזומליות כך שהיה אחד פעיל לשני סטים אוטוזומלים. הספירה נעשית על ידי ספרית ה – XisT. ניתן לעשות Fish – RNA ל – RNA וזאת בלי לעשות דינטורציה. ה – XisT מתבטא קצת לפני ההשתקה והתברר חד משמעית על ידי מספר ניסיונות שהוא זה שאחראי לאינאקטיבציה. הניסויים בוצעו בתאי ES (Embryonic Stem cells) ראה תיאור הניסוי בשקפים.

גילו כי יש עדין יכולת ספירה ובחירה אך לא ניתן לעשות השתקה שהאנזים לא מתבטא בעקבות המוטציה שעשו בפרומוטור. בניסויים כאלו הגיע ל – 450 בסיסים בעזרת YAC לאחר מכן בעזרת פלסמיד קיבלו אזור קטן יותר וכך מצאו שהגן XisT מספיק (ראה עוד ניסויים בשקפים). ההשבתה האקראית של כרומוזום X היא יעילה אפילו קימת כדי להוריד את הסיכוי למוטציה.

יתכן שאנשים עם XY יתפתחו כנשים עם הרצפטורים להורמונים הזכריים לא תקינים. יש אנזים שהופך את הטסטוסטרון להידרוטסטוסטרון והוא אחראי על ביטוי פנוטיפ חיצוני זכרי. כשהאנזים מתחיל להיות

פעיל בגיל 12 הוא מפריש המון טסטוסטרון ונוצר הרבה הידרוטסטוסטרון והבנות מתחילות ליצור אבר מין זכרי הם במקור XY שנראות כמו XX.

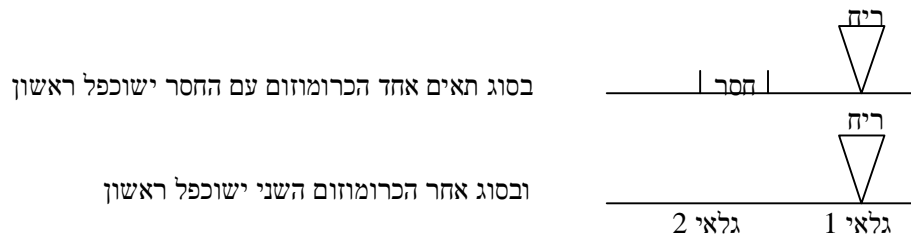
הורשה לא מנדלית.

יש מספר גורמים בהורשה שמקנים מצב של תורשה לא מנדלית והם מוזאיקה, השתקה אללית, Uniparental Disomy ועוד.

מוזאיקה מתארת מצב שבו בפרט יש בגוף שני קווי תאים שונים בחומר הגנטי שלהם ומקורם באותה זיגוטה. המוזאיקה יכולה להתרחש בתאי המין בהתחלה או בשלבים שונים בהתפתחות.

בהשתקה אללית אנו יודעים שהשתקת כרומוזום X היא אקראית בין הזכרי לנקבי. מתברר שיש בגוף אללים שונים שעווק אחד שלהם מהשניים מושק למשל בתאים יוצרים נוגדנים יש אלליק אקסקלוזין כך רק נוגדן אחד מופרש לממבראנה של התא ולא נוגדן עבור כל אלל שזה 2. מסתבר, שיש עוד מקרים בטבע (נמצאו 5 עד היום) שמושקתים למשל רצפטורים לריחות מסוימים. בכל קבוצה של תאי אפיתל יש רצפטור לריח מסוים ויש כ- 1000 רצפטורים שונים המסודרים בצורות אם בתא שני האללים יתנו רצפטורים הם יכולים להיות שונים וזו בעיה.

הבחירה היכן יתבטאו תאים הקשורים לריח מסוים נעשית על ידי גורמי שיעתוק בכל תא מושק אחד מהאללים ובשני יש בחירה של שיעתוק של גן לרצפטור אחר. המתאים לקבוצה בה הוא נמצא.



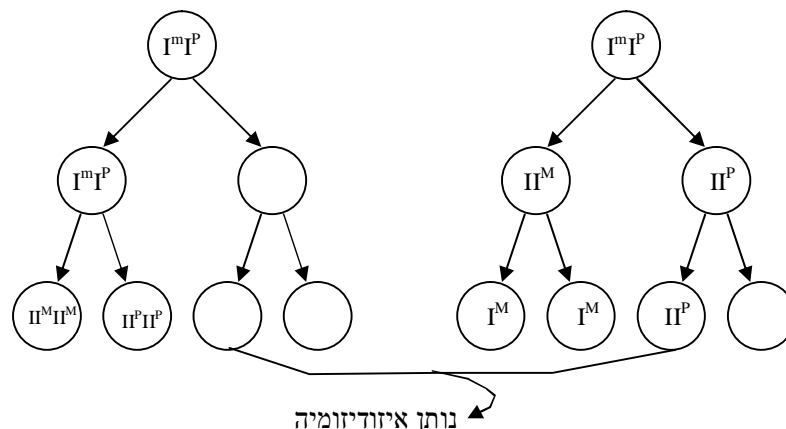
בסוג תאים אחד הכרומוזום עם החסר ישוכפל ראשון

ובסוג אחר הכרומוזום השני ישוכפל ראשון

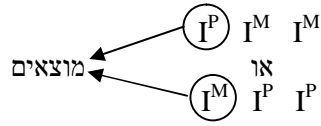
הפעיל מבין השניים עובר שיכפול מוקדם יותר בין אם זה עם החסר ובין אם זה השני.

Uniparental Disomy.

שני כרומוזומים מאותו הורה כלומר, במקום שהכרומוזומים יגיעו עם עותק אחד מכל הורה שניהם מגיעים מאותו הורה. יש שני מצבים עם אחד מהאלו של הורה מסוים מגיע פעמיים או אם שני הכרומוזומים מאותו הורה מכל אחד (אחד מהאם אחד מהאב של אותו הורה). במקרים רבים זה לא משפיע. אך באיזודיזומיה ניתן לקבל כך מחלה כי האלל הפגום מאחד ההורים מגיע פעמיים. הדבר נוצר עקב שני אירועי ריקומבינציה יחד הוא עבר פעמיים לעובר.



אפשרות נוספת שתא עם טריזומיה מוציא כרומוזום אחד ומשאיר שניים זהים ומקבלים איזודיזומיה.



יש גנים בהם הדבר מאד קריטי שצריך שני כרומוזומים אחד מהאם ואחד מהאב. לגנים אלו קוראים Imprinted Genes כיוון שיש עליהם "חותמת" על מקורם מהאם או מהאב. למשל הכלאה בין סוס וחמור. פעם שהאב סוס ופעם שהאם סוסה התוצאות שונות. אחד זה פרד והשני זה משהו אחר. וזו ההוכחה שהתרומה האימהית והאבהית שונות זו מזו.

כאשר שני תאי זרע נכנסים לביצית כך שיש שתי תרומות אבהיות מקבלים עובר שלא נולד אך מתפתחת רקמת חוץ עוברית אך רקמת העובר לא מתפתחת כלל. המצב ההפוך הוא שביצית לא מקבלת כלל תאי זרע והיא גדלה במצב דיפלואידי כמו גידול שוב העובר הוא חסר צורה (ראה בשקפים פרטים נוספים).

בעכברי מעבדה קרו הרבה התאחויות של כרומוזומים כך שיש כרומוזום אחד פחות אך עדיין יש כל המידע הגנטי הדבר יכול לגרום לבעיות בסידור הכרומוזומים במיזוג. כך שבתא אחד יכול להיות פעמיים אותו כרומוזום ובשני עותק אחד שלו. כך שיש ירידה בפוריות אך יש עדיין כאלו שהם בסדר. בהכלאות של עכברים כאלו זכרים עם נקבות ניתן לקבל איזודיזומיה (ראה שקף). בזנים אלו ניתן לראות מה קורה בצורה זו. הם גדלים במעבדה כך שהם הומוזיגוטים מלאים ולכן הם יכולים לחיות. בעכברים אלו יש 40 כרומוזומים וביצעו הכלאות כאלו על כולם וראו שבחלק זה משנה ובחלק מהם לא. לדוגמה: כרומוזום 2-11 מעכבר עם שניהם מהאם העכברים קטנים והיפו-אקטיביים ואם מהאב הם גדולים והיפראקטיביים. יש דומיין בין גנים עכבר לאדם לאלו קוראים אזורים סינטיזים שבהם יש לוקוסים דומים לעכבר ואדם באותו סדר. כלומר הקטע נשמר באבולוציה.

המחלה האנושית הראשונה שהבינו שהיא נגרמת ממוטציה בגנים Imprinted הם Prader Willi Syndrome (PWS) והסינדרום השני הוא סינדרום Angamin והוא מאופיין בפיגור שכלי וצוק רב תנועה כמו בובה על חוט. הגנים של שני מחלות אלו נמצאים באזורים סמוכים. ב-PWS רוב המקרים הם ספורדיים ויש חוסר בכרומוזום זה סמוך לצנטרומר החסרים הללו הופיעו גם ב-Angamin Syndrome (AS). באלו שהם PWS החסר הוא תמיד מהאב וב-AS החסר הוא תמיד מהאם. כנראה שבחסר יש גנים המתבטאים מהאב או מהאם כך שאחד מהם חסר אז יש אחת המחלות בהתאמה. ראו גם שאת המחלות מקבלים גם במקרים של Uniprenatal דיזומיה וכך שוב שייכו בין המחלה לחוסר המתאים למי שהיה פעמיים את כרומוזום האבהי יש AS ואילו שהיה להם פעמיים את האימהי היו PWS.

הדבר המוזר הוא שבאם יש את אותם שניים שיש בילד עם PWS אך שם יש זיכרון שאחד הגיע מהאב שלה ואחד מהאם יכול גם באב וב-AS יש את אותם כרומוזומים אך באב יש זיכרון שאחד מהאב ואחד מהאם. מה שגורם לסימון זה מתלציה וגורמים נוספים. על הגן במקרה זה התברר בסופו של דבר שיש שני אזורים מאד קרובים שאחד מתבטא מהאם והשני מתבטא מהאב. הגילוי נעשה באנליזה מולקולרית עם אנשים בעץ חסרים למחלות אלו.

כך מצאו את הגן של AS באזור הקריטי והוא מתבטא גם מהאם וגם מהאב וזה סטר את ההיגיון. ואז מצאו אנשים עם מוטציה ספציפית ברצף של הגן ומצאו שזה חייב להיות הגן. וכך גילו שרק בשלב של התפתחות המוח בעובר אז רק הטרנסקריפט האימהי מתבטא. הגן ל-PWS עדיין לא זוהה. הגן שנמצא שייך למערכת היוביקוטיין והוא מתבטא משי אללים. עדיין לא ברור למה ההשפעה כל כך קשה.

המוטציה יכולה לעבור הרבה דורות מאב לבן בלי להשפיע כלל אך כשהיא עוברת מאם היא מופעלת. כשנפגש תא זרע עם תא ביצית הגן המסוים יודע אם הוא הגיע מהאב או מהאם. בעובר נוצרים תאים סומאטיים שהם יזכרו איזה עותק הגיע מהאם ואילו מהאב. חלק מהתאים יצרו תאי מין שם אם זה אישה אז שניהם מסומנים כבאים מאישה ואם זה גבר שניהם יסומנו כבאים מגבר. זה נעשה על ידי מתלציה מכוונת.

כשיש הפרעה שאין כלל החתמה יש הסתימות בשלב מוקדם של השרשה לרחם העובר נראה כמו עובר שמקורו בשני גנומים אבהיים אך יש גם גנום אימהי ושדקן ראו שאין סימון של הגנום האימהי באף גן מתוכם כך שלא היה מתלציה. וזה נראה כמו גנום אבהי (בגנום אבהי יש גם אזורים מסומנים). הדבר נוצר בשלב יצירת תאי המין שלא נוצרת החתמה חדשה בתאי המין האימהיים וניסו לחפש באיזה גן נמצאת המוטציה שגרמה לכך. הם מצאו בגן Dnmt3L שהוא חשוב לאימפרינטינג ובדקו זאת בעכברים טראנסגנים וראו שהזכרים שהתקבלו ללא תאי זרע והנקבות היו בעלות אברים לא תקינים. ההתפתחות היא עד שלב ההשתרשות ואז הם מתים. הם נראו כמו בעלי שני גנומים אבהיים. מכן שגן זה נחזר להחתמה אימהית אך באישה שנבדקה לא היו מוטציות בגן זה. אך עם גן זה יש 2 גני עזר DnmT3A ו- DnmT3B שהם מעבירים מתיל ומכאן שהגן הראשון מכווון את שני אלו לבצע מתלציה (זה עדיין בבדיקה בזמן שיעור זה 22 למאי 2002).

ניתן לבדוק את מחלות אלו על ידי Southern Blot עקב אזור מסוים על HPA II הרגיש למתלציה. בין אזורים של Hind III (ראה שקף אזור זה ממותל בעותק האימהי ובאבהי לא). לאדם נורמאלי יש בנד של 6Kb מהאם ו- 4Kb מהאב ולחולים יש רק אחד 4Kb עם חסר האימהי או 6Kb עם חסר האבהי.

תורשה מיטוכונדריואלית.

המחלות מסוג מיטוכונדריואליות מורשות מהאם בלבד כי המיטוכונדריות בעובר מגיעות מהאם (מהביצית) למשל מחלת LHON בה מאבדים ראות עקב דגרדציה של עצב הראיה. המיטוכונדריה מכונה גם כרומוזום 24 יש שם הרבה אנזימים פעילים אך רובם מקודדים מגנום התאי שבגרעין ורק חלק קטן 13 במספר מסונתזים במיטוכונדריה. היא מייצרת בעצמה את ה- rRNA שלה וה- tRNA שלה ויש לה קוד גנטי שונה מהאנושי כי היא דומה לזה של חיידק. הגודל הוא 16.5Kb והוא יעיל בקידוד כמעט כל השטח מקודד ויש חלק קטן וירבילי שם ניתן לעקוב אחרי שושלת אימהיות.

בכול מיטוכונדריה יכולים להיות מספר מעגלי DNA כאלו ובכל תא יש אלפי מיטוכונדריות. חוקי ההורשה הם לא מנדלים שיש מוטציה במיטוכונדריה בתא יכולות להיות שני אוכלוסיות של מיטוכונדריות באותו תא. המיטוכונדריות לא מתחלקות באופן שווה. ויתכן שבחלוקת התא, בתא אחד יגיעו יותר מיטוכונדריות מוטנטיות ולתא אחר פחות או 50/50 וכו'. למצב כזה שיש קבוצות שונות קוראים הטרופלסמי.

כתוצאה מכך ברקמות שונות יכולות להיות רמות שונות של מוטציה. ברקמות שמתחלקות מהר צריך הרבה אנרגיה ויכול להיות סלקציה נגד זה. יתכן שיש הבדל של 30-15 בסיסי בגנום המיטוכונדריואלי בין שני אנשים שונים. המוטציות שגורמות למחלות הם שינוי הסדר של הגנים, מוטציות נקודתיות או חסרים בגנים המיטוכונדריואליים.

הורשה מולטיפקטוריאלי (MF).

אפילו מחלות בהורשה מנדלית קלאסית הם עושות אינטראקציה עם הסביבה. בהורשה MF ביטוי התכונה מותנה גם בגורמים תורשתיים וגם בגורמים לא תורשתיים וכל אחד תורם קצת. יש גם הורשה פוליגנית שהיא על ידי מספר רב של גנים שכל אחד מהם משפיע קצת וכביכול אין השפעת הסביבה. יש 3 קבוצות של תכונת MF:

1. תכונה נורמאלית בעלת שונות רציפה הפנוטיפ האבנורמאלי נקבע על ידי סטייה מהממוצע לדוגמה גובה.
2. הפרעות MF הגורמות להפרעות מולדות כגון שפה שסועה.
3. הפרעות MF שכיחות בחיי הבוגר כמו מחלות לב סכרת וכו'.

תכונות עם שונות רציפה כמו IQ וגובה. יש אתרים גנטיים שונים התורמים בצורה יסיפה אדטיבית מתקבלת התפלגות בצורת פעמון גאוס. והפנוטיפ האבנורמאלי נקבע לפי הסטייה מהממוצע. אלו שנמצאים בקצוות הם בעלי מוטציה שנותנת להם סיבה להיות בקצה כלומר, מאד גבוה או מאד נמוך. גם גורמי הסביבה משפיעים על הגובה כלומר מזון וכו'. הצאצא הוא בעל גובה קרוב יותר לממוצע של האוכלוסייה מאשר לממוצע של שני הוריו. ניתן לחשב כמה תכונה נשלטת על ידי גנים וכמה על ידי הסביבה. המוסג Heritability משמעו איזה חלק מהשונות הפנוטיפית של תחום נגרמת משונות גנטית אדטיבית.

$$h^2 = \frac{G}{G+B+E} = \frac{G}{V}$$

h = Heritability
 G = Gene Variation
 B = Close Environment Variation
 E = External Environment Variation
 V = G + B + E = All The Variations

תאומים.

תאומים זהים הם כלונים תאומים דיזיגוטים (DZ) הם כמו שני אחים תאומים מונוזיגוטים (MZ) מקורם מהפריה אחת בה בתחילת ההתחלקות יש התפלגות לשני עוברים. ניתן להבדיל ביניהם בעזרת סימנים גנטיים של DNA. בעבר היו עושים זאת בשתי צורות פרימיטיביות והן עלפי טביעת האצבעות, ועל פי התפתחות ברחם. עוברים ברחם הם בעלי כמה שכבות. השכבה הפנימית נקראת אמניון אקריה קוריינן ואחריהם הפלצנטה (השליה). הסידורים של שכבות אלו שונות בין תאומים זהים או לא. שיש פלצנטה אחת מחוברת אז זה רק במונוזיגוטים להם יש גם שני קוריונים ושני שקים של אמניון (בתאומים סיאמיים המחברים יחד יש אמניון אחד לשניהם).

טביעות האצבעות שונות מאדם לאדם וניתן למדוד את המרחב של הקווים עד התפלגות מהמרכז ומחברים את הקווים ומקבלים התפלגות. הערך של התורשתיות הוא $h^2=0.95$ וזה לפי הוריאציה בתאומים זהים לתאומים לא זהים במונוזיגוטים הוריאציה היא 0 עם היא מגנים ואם רק מהסביבה אז $h^2=0$ ואם רק גנים $h^2=1$ ראה שקף.

קונקורדנס זה מצב בו בתאומים יש אותם תכונות יש יתר התאמה בין שני התאומים בתכונה לפי הקרבה הגנטית ביניהם. סוג דם בתאומים זהים היא 1 כלומר שניהם אותו סוג דם גם צבע עיניים זה קרוב ל 1 – (0.97) בתאומים מונוזיגוטים ואילו בדיזיגוטים 0.28. יש גם הריונות רב עוברים הייתה משפחה שם נולדו 5 תאומים זהים גנטית הם נלקחו מהמשפחה למחקרים ובעקבות כך הם נפטרו בגיל צעיר ועברו בעיות נפשיות. לארמדילו Nine Band יש הריון עם התפלגות כך שמקבלים 6 צאצאים זהים גנטית.

תכונות בעלות סף Multifactorial Threshold Traits.

מחלות לב בגיל צעיר בעיות בסגירת צינור העצבים, Club Foot, פריקת עצם הירך וכו'. באוכלוסייה יש התפלגות נורמאלית של אללים שגורמים לנו להיות יותר מיעדים למחלות אלו. ככל שיש פחות אללים "רעים" אנו יותר מוגנים מהמחלה. כאשר עוברים סף מסוים אז יש לנו את המחלה. הפרעות אלו הם בתדירות ממוצעת של 1:1,000 והם לא כתסמונת יש רק מחלה אחת ולא כמה ביחד מהם. ככל שהתכונה יותר נדירה לבני המשפחה הקרובים יש סיכוי גדול יותר לקבלה כלומר שורש. אם הסיכוי באוכלוסייה הוא 1 למיליון אז במשפחה היחס הוא 1/1,000.

אם לקרובי משפחה מדרגה ראשונה הסיכוי גבוה אז הוא נמוך בהרבה לדרגה שנייה. אם במשפחה יש מספר חולים אז הסיכוי גדול יותר. כנ"ל גם שככל שהפגם חמור יותר הסיכוי למקרה נוסף במשפחה גדול יותר. אם ההפרעות המחלה נפוצות יותר במין מסוים הסיכוי למקרה נוסף גבוה יותר לקרובי משפחה אם

החולה הוא מהמין הפחות פגיע. כלומר, אם הפחות פגיע חולה סימן שיש המון אללים פגיעים והסיכוי לחולה גדול יותר.

.Neural Tube Defects (NTD's)

צריכה של חומצה פולית מורידה בצורה משמעותית את הסיכוי לכך. יש סידרת הפרעות בהם הסגירה של צינורית העצבים לא שלמה וזה גורם להפרעות רבות. אם זה לא נסגר לכל האורך אז העובר מת אם רק בחלק העליון אז יש Anencephaly והעובר מת עם זה יותר למטה זה חסר ב – Midbrain גורם להפרעות נוירולוגיות חמורות. הכי נפוץ זה אי סגירה באזור המותניים (Lumbar Region) זה מעכב עצבים של חלק תחתון וגורם לנכות של גפיים תחתונות ובעיה במתן שתן. לסימפטומים אלה קוראים באופן כללי NTD's.

באוכלוסיה הסיכוי הוא 1/1,000 ויש אזורים שונים בהם הסיכוי שונה. ההורשה מתאימה ל – MF מבחינת סיכויים במשפחה עם חולים. נקבות יותר סובלות ממחלה זו. מבחינת אבחון טרום לידתי ניתן לראות Anencephaly באולטרא-סאונד וכן"ל גם בשני המקרים הנוספים. בדרך כלל נוצר שק נוזלים באזור וניתן להורידו בקלות יחסית כי אי אפשר להיוולד איתו בלידה וגינאלית, אלא רק בניתוח קיסרי. α -Fetoprotein – זה החלבון העוברי של אלבומין ואם יש פתח של צינור העצבים החלבון הזה נשפך למי השפיר וניתן לבדוק זאת בקלות וזו אינדיקציה לפגיעה בצינור עצבים וירידה זה סימן לתסמונת דאון. במקומות שונים בעולם יש תדירות שונה.

לקיחת פוליק אסיד מלפני ההיריון מועילה להורדת המקרים הללו ואם יש היסטוריה של המחלה במשפחה לוקחים פי 10 יותר פוליק אסיד. הסגירה של צינור העצבים היא בתחילת ההיריון ולכן חשוב להתחיל מספיק זמן לפני ההיריון (כ – 3 חודשים). החומצה הפולית חשבויה להפעלת מתיונין סינטטאז ההופך הומוציסטיין למתנין. החומצה הפולית גם משמשת כפקטור ל – 16 אנזימים. במחלת MF זו אנו רואים כי אחד הגורמים הסביבתיים המשפיעים ביותר הוא התזונה והגן הוא המתיונין סינטטאז.

מחלות מולטיפקטוריות אליות בבוגר.

בעיות כלי דם קליליים, השמנת יתר וסכרת (כבוגר) הם דוגמאות לכך. יש שני סוגים של סכר סכרת נעורים שזה IDDM ובבוגר NIDDM. בסכרת נעורים נהרסים תאי β ואין ייצור אינסולין בעוד שבבוגר הסכרת היא עקב בעיות הפרשה של אינסולין לדם. כמו כן יש הפרעות נוספות ראה שקף. בסכרת ה – NIDDM יש קשר להשמנה עודף משקל. בשני המקרים ההורשה MF אך מגנים שונים. הסכרת זה לא רק גנטי כי אם יש לתאום אחד מתאומים זהים סכרת, אז לשני היה סכרת רק ב – 30 עד 40 אחוז מהמקרים (במונוזיגוטים) ואילו בדיזיגוטים זה בערך 6% מהמקרים. מכאן יש תרומה גנטית מסוימת קטנה אך קיימת.

מחלת הסכרת יש תקיפה של הגוף על ידי עצמו. כנראה מתוך 40% כ – 13% זה תרומה של גנים של MHC. גילו ש – 95% מהחולים ב – IDDM הם הטרוזיגוטים ל – HLA-DR3 או DR4 שהם סוגים של MHC. כמו כן ראו שאם יש בגנים של DQ חומצה אספרטית בעמדה 57 ומי שיש לו חומצה זו מוגן מסכרת נעורים. ב – 90% מהמקרים של סכרת נעורים יש חוסר בעמדה זו. לאינסולין בפרומוטור יש חזרה של 200-300 בסיסים ויש קורלציה בין האלל הקיים לסכרת נעורים, אך לא ברור עדיין המנגנון לכך. הפקטורים הלא גנטיים הם בדרך כלל יש פריצה של סכרת נעורים כשבועיים לאחר הידבקות בוורוס שגורמת למערכת החיסון להתקיף את תאי β בבלב.

גנים והתנהגות.

בעבר חשבו שהתנהגות היא מושפעת רק מהסביבה אך כיום מדברים על גנים מסוימים הקשורים להתנהגות. למשל לא משנה כמה פודל יגדל בתנאים שיגרמו לו להיות אכזרי הוא לא יהיה אכזרי כמו רוטוילר. כמו שיש גנים שמשפיעים על התנהגות בבעלי חיים יש גם באדם מצב כזה. מחקר של זה עשו בפרויקט התאומים של מינסוטה בו לקחו המוני זוגות תאומים מונוזיגוטים ודיזיגוטים שהופרדו בגיל צעיר

ובדקו התנהגות. יש סידרה של מבחנים פסיכולוגים לאפיון התנהגו על 3 צירים מרכזיים נוירוטי זה אחד הצורות ובכל קצה יש קיצוניות. יש חוסר התאמה של אדם ממבחן למבחן אך זה אמור להיות בסטייה נמוכה בין הפעמים.

במונזיגוטים שהופרדו בלידתם יש יותר דמיון בתכונות מדיזיגוטים מבחינת דת יש יחס הפוך בדיזיגוטים (ראה שקף). התרומה הגנטית היא קבועה כי ראו שזה לא משנה אם הם גדלו ביחד או לחוד במונזיגוטים (בערך 50%) והדיזיגוטים זה פחות דמיון לאלו שגדלים בנפרד. התנהגות היא מאד מורכבת ולכן מושפעת ממספר גנים כשמסתכלים בעכברים על תכונה הפחדנות מול אומץ רואים התפלגות של פעמון גאוס. תכונות הללו שנקבעות על ידי הרבה גנים נקראים Quantitative Genetic Trait והאתרים נקראים QTL's (Quantitative Trait Loci).

בקבוצות התורמות כל אחד יכול לתרום במידה אחרת או כולם באותה מידה. הגן ל – Huntington משפיע בצורה מסוימת על התנהגות שיש בו מוטציה, אלצהיימר, Fragile X (פיגור שכלי זה גם התנהגות), Williams סובלים מפיגור שכלי חלו אך הם יכולים לנהל שיחות עם כל אחד ובעילי קישורים מוזיקאליים גדולים.

דוגמה נוספת היא מחלת לייש ניים הנגרם עקב מוטציה בגן HPRT. במחלה זו יש התעללות עצמית שהם נוגשים חתיכות מהידיים והשפתיים. כדי להבין פעילות נורמאלית של חלבון אנו מסתכלים על מוטנטים ורואים מה לא בסדר מזה ניתן להזיק מה הגן עושה. שמחפשים גנים להתנהגות יש בעיה כי המורכבות מפריעה על ניסוי תאחיזה, קשה למדוד את התכונות וגם הסביבה משפיעה מאד.

מוטציה בגן של MAOA גורמת לתוקפנות ואימפולסיביות. גן זה התגלה במשפחה הולנדית בת 6 דורות שבה היו גברים בלבד שהתנהגו בצורה אלימה וקיצונית רוצחים, אנסים, מציתים וכו' הם סבלו גם מפיגור שכלי קל. ההורשה רצסיבית בתאחיזה ל – X קלאסית. ההתנהגות בגברים הייתה שונה. כשעשו ניסוי תאחיזה לכרומוזום X מצאו בתאחיזה ל – Xp11-21. ומצאו שיש שם שני אנזימים MAOA ו – MAOB והם מעורבים בתהליכים של נוירורנסמיטורים. נבדקו פעולות של אנזימים אלו בנשים נשאות שני האנזימים פועלים ובזיכרון חולים ה – MAOA לא פעיל.

הם בדקו רצף ומצאו שבחולים יש שינוי רצף שגרם ל – Stop Codon. אם אנו ניקח מעקבים ל – MAOA לאנשים בריאים זה ייתן תופעה הפוכה של דיכוי. וזה עקב שינוי בהתנהגות המוח עקב מחסור ב – MAOA במהלך ההתפתחות. מודלים בחיות תורמות להבנה עם הגן הזה תורם גם בחיות וראו במקרה זה הגן גורם גם לתוקפנות גדולה בעכברים.

יש שתי קבוצות עיקריות של נוירורנסמיטורים הקטנה ביניהן דומיין אפינפרין וכו' והגדולות שהם פפטידים. דופאמין, סרטונין ונוראפינפרין הם העיקריות המשפיעות על התנהגות (ראה שקפים). אנו משתמשים בשיטת פולימורפיזם בגן ובדקים המוני אנשים באוכלוסיה ובדקים קשר בין פולימורפיזם להתנהגות באוכלוסיה. בטרנספורטר לסרטונין יש שני מבנים באחד יש 44bp יותר בפרומוטור ורואים כי הפרומוטור הארוך (L) פעיל יותר מזה הקצר (S).

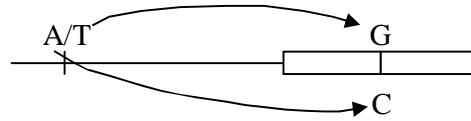
הם ראו שאלו שהם S/S או L/S הם פחות פעילים והפנוטיפ הוא נוירוטי ומי שהוא הומוזיגוט L/L הוא בעל יותר פעילות והוא פחות נוירוטי. הם הגיעו למסקנה שהתרומה היא 7-9% מהוריאציה הגנטית ו – 3 עד 4 אחוז מהוריאציה הכללית. בתאומים ראו ש – 40-60% תרומה גנטית לשונות באוכלוסיה (ראה שקף). הפולימורפיזם ברצפטור D4 לדופאמין היא הבסיס להתמכרות.

אלכוהוליזם.

אם למחלות ההתמכרות יש תרומה גנטית שונה לסוגי התמכרות שונים. לפי מחקר בצפון אמריקה. יש שני סוגים Type I זה מבוגרים שהחלו לשתות עקב Stress או מאורע טראומטי והתדרדרו לאלכוהוליזם. הסוג השני הוא Type II והוא התמכרות הלוקחת זמן בבני נוער בעיקר בגברים ויש בעיות התנהגות נוספת.

ב – Type I יש מעט תרומה גנטית לא יותר מ – 30% ואילו ב – Type II יש 90% תרומה גנטית וכמעט כולם זכרים. אלל A1 יכול להיות שגורם להתמכרות לאלכוהול. כשחיפשו QTL's שמשפיעים על התמכרות לאלכוהול מצאו בעכברים אחד הקרוב לסרטונין רצפטור $\beta 1$. גם דיכאון קשור לרמות סרטונין ודופאמין שנמוכות בדיכאון.

יתכן ומדובר ב – SNP's בתאחיזה בקבוצה מסוימת בלבד. בקבוצה אחת יכול להיות לינקג' אחר.



באוכלוסיית ה – Amish ערכו ניסוי בתאחיזה לאזור מסוים בכרומוזומים 11 לעומת דיכאון וקיבלו Lod Score = 3 שזה אומר שזה בתאחיזה כאשר 2 מהם חלו זה הרס את כל החישוב ואז ה – Lod Score ירד מהמצב של תאחיזה.

העדפה מינית.

ראו שבתאומים MZ אז ב – 60% אם אחד הומוסקסואל אז גם השני. ב – DZ זה כ – 20% אחים קצת פחות ובאוכלוסייה נמוך יותר. ככל שהראה יש תרומה גנטית מסוימת של 20-70%. היה מדען שהראה שיש דומיין גדול יותר ב – 3 אזורים במוח של הומוסקסואליות למוח של נשים לעומת מוח של גברים. ב – 1993 נמצא לינקג' בין הומוסקסואליות לכרומוזום X הוא מצא את זה כשחיפש תאחיזה עם גן שנראה דרך כרומוזום X. הוא בדק 22 סימנים ב – 38 זוגות אחים ב – 31 זוגות היה תאחיזה ל Xq28 בניסוי נוסף הם קיבלו 67% בהומוסקסואלים ו – 22 בהטרוסקסואלים. בנשים לא מצאו הבדל באזור זה בין לסביות להטרוסקסואליות.

היכולת להבין דיבור ושפה לגנים.

”KES” משפחה עם הפרעות בקושי בדיבור בביטוי אותיות אך לא בשאר הגוף לא היה פיגור שכלי. הם מצאו אזור בכרומוזום 7 שבתוכו חיפשו את הגן ובו מצאו פרט שיש לו גם הפרעות בשפה. אך עקב טראנסלוקציה של כרומוזום 7 ומכאן מצאו ישר את הגן הנקרא FOXP2. המוטציה במשפחה הזו היא באתר הקישור של גורם השיעתוק ל – DNA וכך יש פגיעה בנוירונים במוח שמכוונים דיבור ושפה. הדבר צריך להתבטא בשני העותקים כי אם הביטוי בעותק אחד אז זה לא מספיק ויש כבר פנוטיפ.

הזדקנות ומחלת אלצהיימר.

כיום שאנשים מגיעים לגיל מבוגר צצות מחלות נוספות של זקנה שבעבר מתו ללפני שהגיעו לגיל בו הם פרצו לדוגמה סרטן מופיע בדרך כלל אחרי גיל 50. אלצהיימר היא גם מחלה בגיל מבוגר ונדירה מתחת לגיל של 45, יש מעט מאד חולים בין 45 ל – 65 ומעל 65 יש עליה הדרגתית של המחלה. מחלה זו תוארה לראשונה כמחלה ב – 1907.

הפתולוגיה של המחלה זה הפרעות עצביות במוח בעיקר בהיפוקמפוס והמוגדלה זה אזור החשוב לזיכרון מה שקורה זה שחלבונים שנקראים אמילוידיים שוקעים מחוץ לתאים וגורמים להתנוונות. אלו חלבונים טרנס-ממבראנליים ושהם שוקעים הם שוקעים כסיבים עד היום לא ידוע מה תפקידם שלא במחלה. החלק שמופרש ויוצר את המשקע הוא של 40 חומצות אמינו שמבוקעים מתוך החלבון המלא על ידי פרוטאזות במיוחדת הנקראת β סקרטאז ו – γ סקרטאז.

באלצהיימר מקבלים פפטיד של 42 חומצות אמינו והוא יוצר את הסיבים שהם לא ניתנים לפרוק על ידי התאים שסביבם והם גורמים לניוון ומוות של הנוירונים שלידם. חלק מהתאים מסביב מתים בנקרוזיס אך חלק מהם מתים באפופטוזיס כלומר, מתאבדים עדיין לא ידוע למה.

ניתן לראות שיש הורשה אוטוזומלית דומיננטית. לקרוב משפחה מדרגה ראשונה יש סיכוי של 24-50% שיקבל אלצהיימר עד גיל 90. בתאומים MZ (מונוזיגוטים) 40-50% שאם לאחד יש אז לשני יהיה. ל – DZ (דיזיגוטים) יש סיכוי של 10-50%. לאלצהיימר יש 2 צורות הורשה האחת אוטוזומלית דומיננטית שבה מקבלים בגיל צעיר את המחלה והורשה מולטיפקטוריאליית שבה המחלה בגיל מבוגר. במחלה מעורבים 4 גנים אך הם לא מסבירים את כל המקרים לחולי תסמונת דאון יש קבלת אלצהיימר בגיל צעיר עקב עודף של כרומוזום 21. שם יש את אחד הגנים הללו (APP) ועודף שלו גורם למחלה. מוטציות אחרות בגן זה גורמות למחלות אחרות.

גן נוסף הוא Presenillin שיש 2 כאלה. אחד נמצא בכרומוזום 14 והשני נמצא בכרומוזום 4 ביניהם יש 67% הומולוגיה והם חוצים את הממבראנה 7 פעמים לא ידוע מה הם בדיוק עושים. מצאו דמיון של גנים אלו ב – C. Elegance בהתפתחות ה – Vulva שם הגנים משמשים להעברת סיגנלים וזה רמז שגם באדם הם יכולים לשמש להעברת סיגנלים.

ניסוי למצוא מהם הגנים שמורשים לסקרטאז וב – 1999 מצאו את הגן ל – β סקרטאז. האנזים הזה הוא BACF או Asp-2 הוא נמצא ב – 21q22 ויש לו הומולוג בכרומוזום 11q. ב – 2000 בודדו את הגן של γ סקרטאז והוא ה – Presenillin שזה אומר שזה פרוטאז טרנס-ממבראנלי שחוצה את הממבראנה 7 פעמים. K.O. של גן זה מבטל את החיתוך ב – γ סקרטאז.

משערים שאנזים זה לא פעיל עד שהוא נחתך והופך פעיל יש בעיה להביא תרופות למוח עקב ה – BBB (Blood Brain Barrier) הגן של APOE זה גן של אפו ליפו פרוטאין הקשור לקבוצה שומנית המעורב בקליטת מולקולת שומן לתוך תאים וידוע כגורם למחלות לב. אך הוא מתקשר לאלצהיימר. התברר שבחוט השדרה הוא קשור ל – APP. וכשצובעים את הפלאקים שנוצרים באלצהיימר מקבלים תגובה ל – APOE. כשבדקו את האללים מצאו כמה אפשרויות (ראה שקף). ומצאו שיש קשר חזק מאד בין APOE4 לסיכוי מוגבר לאלצהיימר בהורשה ספורדית בגיל מבוגר. מי שיש לו שני אללים של E4 הוא יותר מוגבר ואילו מי שיש לו E2 מוגן מהמחלה.

בחולי אלצהיימר ראו שיש הומוזיגוטים לאלל עם A בפרומוטור שגורם ליצירה של יותר חלבון. כי הפרומוטור עם ה – A במקום עם ה – T חזק יותר. בוצעו ניסיונות רבים למצוא קשר בין APOE ל – APP מסתבר שיש רצפטור הנקרא LRP היכול לקשור אליו APP, APOE או α -2m שזה מיקרוגלובולין המעורב בדגרדציה של פפטידים. חלק שחזרו על זה קבלו אסוציאציה חזקה וחלק מצאו שאין שום אסוציאציה.

הרעיון שיש תחרות של שלושת המולקולות הללו על הרצפטור ושרכוז APOE גדל אז פחות APP ו – α -2m נכנסים לתא ושוקעים. עדיין לא ידוע אם זה נכון (ראה שקף סיכום). שלושת המקרים שדיברנו עליהם כוללים רק כ – 50% ממקרי האלצהיימר שאר המקרים עדיין לא ידועים.

יתכן חלבון מסוים יצא לא תקין עקב בעיה ביצירתו לא עקב פגם בגנים לדוגמה ב – APP באלצהיימר וב – Downe אז בזמן יצירת הטרנסקריפט ה – RNA פולימראז מדלג על שני בסיסים ומשנים את סדר הקריאה וחלבון מוטנטי.

אבחון גנטי טרום לידתי וסקרי אוכלוסין.

כשבאים לקבל אינפורמציה למחלה מסוימת צריך לבדוק את האדם עצמו או בדיקת משפחה. כיום ניתן לבדוק בעזרת PCR מצבים עם חומר מינימאלי. ניתן לבדוק DNA, RNA וחלבון בדם, שטיפות פה וכו'. לגבי טרום לידתי ניתן לבצע CVS (סיסי שליה) ניתן לבדוק שערות, תאי זרע, דוגמאות מפתולוגיה או מתספיגי דם שמשמשים לבדיקת של פנילקטנוריה (ראה שקפים).

יש סוגי מחלות עם מוטציה אחת ושם זה ברור וקל למצוא יש מוטציה אחרת שמהם יש כמה מוטציות שצריך לבדוק. ASO היברידיזציון כאן מדברים על היברידיזציות שיופרעו עקב מוטציה וכך ניתן להבחין

בניהם. שיטה מקובלת יותר היא ArmS שהיא PCR הספציפי לאללים. בפריימר צריך התאמה טובה בין הבסיס שממנו תהיה סינתזה ל – DNA. אנו מכינים אוליגו שמתאים לשניהם ומהצד השני אוליגו רק לנורמאלי ואוליגו המתאים רק למוטנט. ניתן לסדר שלכל ריאקציה יהיה תוצר בגודל שונה ולבצע את כולן ביחד. בכל PCR משתמשים בקונטרול שהוא הפריימרים של אזור אחר בגנום לבדוק אם ה – PCR עבד.

ניתן לבדוק גם מוטציות ב – Southern Blot ובו משתמשים כיום רק ל – X שביר ול – Myotonic Dys, כשרוצים לסרוק גן לא ידוע ניתן לקבוע רצף. ניתן להשתמש בשיטה הנקראת הטרודופלקס אנליסיס והוא שעושים PCR לקטע מסוים מחממים ונותנים למבחנה להתקרר וליצור דופלקסים גם מעורבים של מוטנט עם תקין. וכך בנקודה מסוימת יש חוסר התאמה מה שרץ אחרת בג'ל צריך לעשות PCR למקטעים של 200 בסיסים כי אם זה יותר קשה לראות את ההבדלים.

שיטה חדשה יותר היא Gene Chip Arrays. בדיקה נוספת היא ריארינזומנט כאן מדובר למשל בדווק שזה הגן הגדול ביותר שאורכו 2Mb זה עובר דרך האם כי הבנים מתים בגיל צעיר ברוב המקרים זה עקב חסרים ענקיים בגנים של הגן והבדיקה לזה שמגלה 98% מהחסרים היא Multiplex PCR. DMD ניתן לזהות גם ב – Fish בפולימורפים מיקרו-סטלייט או ב – Gene Tracking.

לפעמים לא מסתכלים על הגן אלא על הסביבה שלו כדי לדעת האם העובר היה חולה. צריך לדעת להבדיל בין הכרומוזומים של האדם הבא ליעוץ כדי לדעת ממי מההורים זה התקבל גם רצוי DNA מקרובים רבים כדי לדעת את אופן ההורשה במשפחה. אנו צריכים לבדוק את הפאזה כדי לדעת איזה אלל בסביבה גורם למחלה האללים הם לא של גן המחלה אלא של מרקר שקרוב לגן של המחלה וזה ספציפי למשפחה. במשפחה אחת האלל 1 היה צמוד למוטציה בשנייה יתכן שאלל 4 היה צמוד וכו'. לכך יש נכונות עד כדי ריקומבינציה.

יש מקרים בהם לא ניתן לבצע Gene Tracking (ראה שקף).

.Population Screening

סקירת אוכלוסיה למחלה. אנו מחפשים מחלות שניתן לטפל בהן אם מוצאים מחלה כמו למשל פנילקטנוריה. סיבה נוספת לעשות זאת היא כדי למנוע הולדת ילד חולה כמו במקרה של טאי-זקס, מניעת סבל מחוסר ידיעה היא גם סיבה ומניעת נישואים של אנשים שיתחייבו לבצע הפסקת הריון כמו דתות שונות (ראה שקף).

רגישות הבדיקה והספציפיות יכולה לגרום לפיספוס אנשים ולקבל אבחון חולה באנשים בריאים. בבדיקה של DNA זה כמעט לא קורה בבדיקת ביוכימית אחוז השגיאות גדל למשל בבדיקה של חלבון עוברי. במחלה עם מוטציה אחת הרגישות גבוהה כי קל לזהות. אם זו מחלה עם המון מוטציות זה יותר קשה. אם יש מחלה שכל חולה הוא בעל מוטציה שונה אז לא ניתן לחפש מוטציה ואז עושים Gene Tracking.

ט.ל.ח.