



גנטיקה כללית

סיכום החומר בקורס "גנטיקה כללית" בטכניון

סיכום: אור גלעד

המרצה: ד"ר אמנון הראל

מסמך זה הורד מהאתר <http://www.underwar.co.il>

אין להפיץ מסמך זה במדיה כלשהי, ללא אישור מפורש מאת המחבר.

מחברי המסמך עשו כל שביכולתם למנוע טעויות. עם זאת, מחברי המסמך אינם אחראיים לכל נזק, ישיר או עקיף, שיגרם עקב השימוש במידע המופיע במסמך, וכן לנכונות התוכן של הנושאים המופיעים במסמך.

הבהרה: מסמך זה מסתמך במידה רבה על הקורס "גנטיקה כללית" בטכניון, אך אינו חומר רשמי של הקורס, אלא סיכום אישי בלבד. המקורות לכתובת המסמך הם הרצאות הקורס, והזכויות שמורות לפקולטה לביולוגיה בטכניון ולמוריה.

גנטיקה כללית (אביב תשס"ז) – סיכום החומר

אנליזה גנטית

גנטיקה מנדלית

גן מועבר מדור לדור ולכל פרט יהיה עותק (פיזי) של המידע התורשתי. הוא צריך לספק לפרטים הנושאים אותו מידע לגבי המבנה והתפקוד הביולוגי (קביעת התכונה).

גרגור מנדל – נזיר בעל עניין מיוחד במדעי הטבע שהתחיל ב-1856 בסדרת הכלאות מבוקרות באפון הגינה במנזר שלו.

הסיבות העיקריות להצלחתו –

- צמח נוח לגידול, בעל זמן דור קצר ומספר רב של צאצאים שמאפשר שליטה מכוונת בהכלאות.
- בחר לעקוב אחרי תכונות ברורות וקלות לזיהוי.
- ביצע אנליזה כמותית של התוצאות.
- ניתח את התוצאות, הסיק מסקנות ופיתח היפותזה שאותה הוא בדק בניסויים נוספים.
- תכנן נכון וזהיר של הניסויים.

במשך שנתיים מנדל הכליא כל אחד מהזנים רק על עצמו, על מנת להבטיח שהוא עובד עם זנים טהורים ויוצר קו התחלה נוח לניסויים. הוא בחר באפונה, שהוא צמח שאיברי הרבייה שלו בתוכו (האבקנים והשחלות). כדי להפוך את הפרח לנקבי היה צריך פשוט להסיר ממנו את האבקנים, וכדי לבצע הפריה הוא העביר אבקנים מפרח אחר.

הניסוי הראשון – מנדל הכליא פרח לבן זכרי עם פרח סגול נקבי ובדור הראשון התקבלו רק פרחים סגולים. אותה תוצאה התקבלה גם בהכלאה הרציפרוקלית (סגול זכרי עם לבן נקבי). הוא נתן לצאצאים מהדור הראשון לבצע הפריה עצמית ובדור השני הופיעו שוב פרחים לבנים. מנדל ספר את התוצאות והגיע ליחס של 3:1 לטובת הפרחים הסגולים. מכאן, מנדל הגדיר את מושג **הדומיננטיות** בהתאם לתכונה השלטת (להבדיל מתכונה **רצסיבית** – נשלטת). התכונה הדומיננטית אינה בהכרח התכונה הנפוצה, בעוד התכונה הרצסיבית אינה בהכרח אומרת "פגום".

המסקנות של מנדל –

- קיימים פקטורים דיסקרטיים (חלקיקי תורשה) שקובעים את התכונות הנראות לעין, שלא מתערבבים במהלך ההורשה של התכונות מדור לדור. הפקטורים האלו הם **גנים**.
- הפקטורים מצויים בזוגות ולצורות האלטרנטיביות הוא קרא **אללים** והם יכולים להיות זהים או שונים.
- שני האללים של כל תכונה נפרדים זה מזה בעת יצירת הגמטות.

החוק הראשון של מנדל – שני הגנים נפרדים כאשר הגמטות נוצרות.

גנוטיפ – ההרכב המדויק של 2 עותקי הגן הנבדק. הומוזיגוט כאשר האללים זהים, הטרוזיגוט כאשר הם שונים.

פנוטיפ – מתייחס לביטוי החיצוני של התכונה.

הכלאה מונו היברידי – הכלאת זנים הנבדלים ביניהם רק בגן אחד.

הכלאת מבחן – כדי שמנדל יידע אם הגן שהוא קיבל הוא הטרוזיגוט, הוא הכליא אותו עם הומוזיגוט רצסיבי טהור וקיבל את שני סוגי האללים ביחס קרוב ל-1:1.

השלב השני של מנדל – מנדל בדק 2 תכונות במקביל ושאל אם ההפרדה של 2 האללים בגן הראשון תלויה בהפרדה של הגן הראשון. הוא הכליא בדור ההורים אפון ירוק עם קליפה חלקה עם אפון צהוב בעל קליפה מקומטת. בדור הראשון התקבלו אפונים צהובים וחלקים, ואילו בדור השני התקבלו 9 צהובים חלקים, 3 ירוקים חלקים, 3 צהובים מקומטים ו-1 ירוק ומקומט. אם מסתכלים על כל תכונה בנפרד מקבלים יחס קרוב של 1:3 כך שכל גן שומר על היחס הזה בעצמו.

החוק השני של מנדל – כל אחד משני זוגות האללים מתנהג באופן עצמאי, ו-2 האללים נפרדים בעת יצירת הגמטות בצורה בלתי תלויה ביחס לגן השני.

תורשה מנדלית באדם

חוקי ההסתברות

- הסתברות מוגדרת כסיכוי להתרחשות אירוע מסוים, כאשר המדד הוא חלוקת מספר המקרים שאירוע מסוים קרה במספר האירועים הכולל.
- חוק הכפל – ההסתברות להתרחשות 2 אירועים בלתי תלויים שווה למכפלת ההסתברויות של כל אחד מהם.
- חוק החיבור – ההסתברות להתרחשות אחד מ-2 אירועים בלתי תלויים שווה לסכום ההסתברויות של כל אחד מהם.

ניתוח שושלות

אוטוזום – כרומוזום שאינו כרומוזום מין. דגם תורשה אוטוזומי מעיד על כך שהגן המוטנטי יושב על כרומוזום שאינו מעורב בקביעת המין ולכן, הסגרציה של האללים (או של פנוטיפ המחלה) תהיה בלתי תלויה במין הצאצאים.

דגם התורשה של מוטציה אוטוזומית דומיננטית – כיוון התכונה תהיה בדרך כלל נדירה מאוד באוכלוסיה הכללית, הטיפוס הנפוץ ביותר של נישואין שבהם יופיעו צאצאים חולים יהיה $Aa \times Aa$, כלומר מחצית מצאצאיו של אדם חולה צפויים לרשת ממנו את התכונה. המחלה נדירה באוכלוסיה אך נוטה להופיע בכל דור בשושלת, כך שאם ההורה חולה, כמחצית מילדיו יהיו חולים, אולם ילדים בריאים לא מורשים את התכונה הלאה.

דגם התורשה של מוטציה אוטוזומית רצסיבית – הטיפוס הנפוץ ביותר של נישואין שבהם יופיעו צאצאים חולים יהיה $Aa \times Aa$, כלומר רבע מילדיהם של שני הורים בריאים שהם נשאים (אינם מבטאים את הפנוטיפ), צפויים להיות חולים. המחלה נוטה לדלג על דורות בשושלת, תופיע בצאצאים ולא בהורים, ולהיפך. במרבית המקרים, בני זוג שהגיעו מחוץ למשפחה יהיו כמעט בוודאות לא נשאים.

פולימורפיזם – אללים מוטנטיים שכיחים באוכלוסיה, ובמצב כזה יש קושי לקבוע מי הגן הפגוע ומי המגן התקין. השכיחויות הגבוהות באוכלוסיה ישפיעו על החישוב של נשיאת אחד הגנים.

חוק הרדי-ויינברג – פיתוח מתמטי מתחילת המאה ה-20 שמשמש כמודל בסיסי בגנטיקה של אוכלוסיות ונועד להסביר איך יכול להיווצר שיווי משקל יציב באוכלוסיה גדולה. נסמן את שכיחות האלל הדומיננטי באות p ואת שכיחות האלל הרצסיבי ב- q כך ש- $p + q = 1$. כדי לחשב מה שכיחות הגנוטיפים באוכלוסיה משתמשים בחוקי ההסתברות (למשל כדי לקבל מה היא שכיחות הגנוטיפ AA מכפילים את p בעצמו). מכאן מגיעים לנוסחה: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$. המשמעות של הנוסחה היא שבאוכלוסיה גדולה מאוד מספיק דור של זיווגים אקראיים כדי לקבע את שכיחויות האללים והגנוטיפים. האוכלוסייה נמצאת בשיווי משקל גנטי ולמעשה במצב סטטי. המודל מייצג הפשטה של המציאות כי הוא מניח שהאוכלוסייה גדולה מאוד, הזיווגים אקראיים, אין

סלקציה כנגד אחד הגנוטיפים, לא נוצרות מוטציות חדשות שמשפיעות על שכיחות האללים ואין הגירה אל תוך האוכלוסייה והחוצה.

אלל רצסיבי לא יכול להיעלם כי הוא נשאר קיים בהטרוזיגוטים וגם אם תתקיים סלקציה (כלומר הפרט הרצסיבי לא שורד), עדיין הגן יכול להתבטא ולא להיעלם לגמרי, אם כי סיכוי ההופעה יירד עם הזמן.

הורשה כרומוזמלית

המטען הגנטי השמור בתוך גרעיני התאים האוקריוטים הוא ברוב המקרים כפול (דיפלואידי), ולעומתו, הגמטות נושאות רק חצי מנה (הפלואידי). שני סוגים של חלוקות תא מבטיחים את שמירת המצב המיוחד הזה.

את התרומה המכרעת לגילוי תרם וולטר פלמינג, שב-1879 השתמש בצבעי אלנין לבדיקה מיקרוסקופית של תאים מעוברי סלמנדרה וגילה את הכרומטין, הכרומוזומים ותיאר לראשונה את תהליך החלוקה. הוא קבע שמקורו של כל גרעין תא בגרעין שקדם לו. הוא זיהה את העובדה שהכרומוזומים הם כפולים בעת הכניסה למיטוזה ואחר כך עוברים פיצול לפי קו חלוקה אורכי, חלוקה ל-2 קבוצות שוות ולבסוף ליצירת 2 גרעיני בת.

מתזור התא

מבחינים בין **המיטוזה**, שהיא חלוקת התא ובה נראים בבירור חוטי הכרומטין הדחוסים, לבין **האינטרפאזה** שמתאגדת את שאר שלבי המחזור ובה הכרומטין פחות דחוס ולא ניתן להבחין בכרומוזומים בודדים. האינטרפאזה מכילה שני שלבי ביניים, G_1 ו- G_2 , כאשר רוב התאים ברקמות בגוף אינם נמצאים במצב של מחזור תא פעיל ורציף, אלא במצב של המתנה, G_0 במהלך G_1 . שלב הסינתזה (S) שנמצא בין שלבי הביניים כולל את ההכפלה המדויקת של החומר התורשתי (הכפלה סמי-קונסרבטיבית) הכרומטידות האחיות הן תוצאה של ההכפלה ומכילות מידע גנטי זהה. מטרת המיטוזה היא להכפיל את התא לשניים, ובמהלכה המטען הגנטי שהוכפל בשלב הסינתזה לשני תאי בת זהים לחלוטי, כאשר אין שינוי במספר הכרומוזומים או בחומר הגנטי. המיטוזה מורכבת מ-4 שלבים:

1. **פרופאזה** – סיבי הכישור נוצרים בין הצנטרוזומים, גרעין התא נפתח והכרומוזומים מתחילים להסתדר על סיבי הכישור.
2. **מטאפאזה** – הכרומוזומים מסתדר על סיבי הכישור באמצעות הצנטרומרים שלהם.
3. **אנאפאזה** – כל צנטרוזום נע לכיוון מנוגד ומושך איתו חצי מהכרומוזום הכפול.
4. **טלופאזה** – נוצרת הפרדה בין כל קוטב וכל כרומטידה נעה לכיוון אחר, קרום הגרעין וקרום התא של כל אחד מהתאים החדשים מתחיל להיסגר.

מיטוזה

תהליך שבו נוצרות גמטות שלהן יש חצי ממספר הכרומוזומים. לכן, קיימות שתי חלוקות: חלוקת ההפחתה, שבה כרומוזומים הומולוגים עוברים זיווג ובסופו של דבר נפרדים זה מזה והכרומטידות אחיות נשארות דבוקות זו לזו בצנטרומר, והחלוקה המשווה, שבה הכרומטידות האחיות נפרדות. השלבים:

1. **פרופאזה 1** – כרומוזומים הומולוגיים (כרומוזומים הנושאים את אותו סט של גנים) מתקרבים זה לזה.
2. **מטאפאזה 1** – זוגות הכרומוזומים ההומו לוגיים מסתדרים במרכז התא והצנטרומרים של כל זוג כרומטידות אחיות אינם מופרדים ונקשרים לסיב כישור יחיד שמגיע מקוטב נגדי.
3. **אנאפאזה 1** – שני הכרומוזומים ההומולוגיים נפרדים וכל אחד מהם נע לקוטב מנוגד.
4. **טלופאזה 1** – הציטופלזמה מתחלקת ונוצרים שני תאי בת. בכל תא חדש יש כרומוזום אחד שעבר הכפלה מכל אחד מזוגות הכרומוזומים ההומו לוגיים.

5. פרופאזה 2 – הכרומוזומים מתגלים מחדש וסיבי הכישור ונוצרים בתוך כל גרעין.
6. מאטפאזה 2 – הכרומוזומים המוכפלים נעים למרכז התא ולכל צנטרומר מתחברים שני סיבי כישור (אחד מכל קוטב).
7. אנאפאזה 2 – הצנטרומרים, שמקורם בשתי כרומוטידות אחיות נפרדים, הכרומוטידות נפרדות ונעות לכיוונים מנוגדים.
8. טלופאזה 2 – סיבי הכישור נעלמים, מעטפת הגרעין נוצרת מסביב לכרומוזומים בכל קוטב והציטופלזמה מתחלקת בין כל התאים.

התיאוריה הכרומוזומלית של ההורשה

בראשית המאה הקודמת, אחרי שעקרונות מנדל התגלו מחדש, התחילה להתפתח התיאוריה שמקשרת בין הכרומוזומים לתורשה. הטיעון הבסיסי הוא שהגנים של מנדל נמצאים באופן פיזי על כרומוזומים. שני האללים של גן מנדלי נמצאים על כרומוזומים הומולוגיים. שני האללים עוברים סגרציה עם הפרדות הכרומוזומים ההומולוגיים במיזזה הראשונה ושני סוגי גמטות ביחסים זהים נוצרים לאחר החלוקה המשווה במיזזה השנייה. הדבר נכון גם כשבוחנים את ההטרוזיגוט הכפול, כאשר יש 2 אפשרויות חליפיות להתארגנות שני זוגות ההומולוגיים על גבי הכישור בחלוקה הראשונה, וקבלת 4 סוגי גמטות בסוף החלוקה השנייה. בסיכומו של דבר, כל זוג מבין כל זוגות הכרומוזומים יכול להיפרד באחת משתי הצורות ולכן מספר הקומבינציות האפשריות אצל האדם שיווצרו בעת יצירת הגמטות הינו 2^{23} .

ההתפתחות הגדולה במחקר בתחום נעשתה ע"י האמבריוולוג תומאס האנט מורגן שהחל להרבות זבובי דרוזופילה, שהיו קלים לגידול, בעלי זמן דור של לכל היותר שבועיים, יכולים להעמיד מספר גדול של צאצאים וניתן להבחין בקלות בין זכרים ונקבות. הוא החל בניסויים מתוך כוונה להוכיח שדרויון טעה בתורת האבולוציה. הוא ותלמידיו חיפשו אחר מוטנטים שהפנוטיפ שלהם שונה מהנורמה. הם מצאו זבוב בוגר בעל עיניים לבנות (במקום אדומות) וכאשר הם זיווגו אותו עם נקבות בעלות עיניים אדומות, התקבלו רק צאצאים בעלי עיניים אדומות. כאשר זיווגו צמדים של זכרים ונקבות מדור F_1 התקבלו זבובים אדומים ולבנים ביחס שקרוב ל-3:1, כאשר כל הזבובים לבני העיניים היו זכרים.

באותו שלב היה כבר ידוע כי אצל כל הזכרים (כל היונקים ומרבית החרקים) קיים כרומוזום שאין לו בן זוג, או שכן הזוג שלו אין זהה לו, והוכח כי אלו כרומוזומים שמורשישים את תכונות המין. מורגן ותלמידיו הסיקו כי הגן שאחראי על הפנוטיפ של עין לבנה נמצא על כרומוזום X אצל הזכרים ומשום שהוא אינו ממוסך כמו אצל הנקבות ולכן מתבטא (מצב המי-דיגוטי).

במבט כולל על רצף ההכלאות ניכר דגם ההורשה בזיג-זג (Criss-cross):

1. הזכר מדור P מעביר את האלל המוטנטי רק לבנותיו בדור F_1 שהן נשאיות.
2. הנשאיות בדור F_1 מעבירות את האלל המוטנטי כך שהוא מתבטא פנוטיפית רק במחצית מהבנים שלהן בדור F_2 .

זוהי למעשה התאחזיה למין, שבה יש הבדלים בביטוי הפנוטיפ המוטנטי בין זכרים ונקבות, ובכך שהכלאות רציפרוקליות לא מביאות לתוצאות זהות (ניתן להגיע למצב שבו הפנוטיפ המוטנטי מתגלה גם אצל זכרים וגם אצל נקבות).

דומיננטיות חלקית – מאופיינת בכך שה טרוזיגוט הוא בעל פנוטיפ ייחודי שהוא מצב ביניים בין הפנוטיפים של זני ההורים הטהורים, ולכן הוא יופיע כבר בדור F_1 של ההכלאה ובדור F_2 יתקבלו שלושת הגנוטיפים והפנוטיפים ביחס של 1:2:1.

קודומיננטיות – מצב שבו הטרוזיגוט מבטא באופן שווה את ההשפעות הפנוטיפיות של שני האללים. הדוגמא המפורסמת לעניין היא קבוצת הדם ABO, שבה יש יחסים של דומיננטיות מלאה, קודומיננטיות ואללים מרובים. ישנם 3 אללים שונים לגן שאחראי להוסיף שרשרת סוכרים שונים על

פני השטח של כדוריות הדם. I^A ו- I^B גורמים להוספה של סוכרים שונים, והם דומיננטיים על i שאינו פעיל ואין הוספת סוכרים, בעוד לשניהם אין דומיננטיות האחד על השני, ולכן יש 4 סוגי פנוטיפ.

תאחיזה למין, מנגנוני קביעת המין ואינאקטיבציה של כרומוזום X ביונקים

קבוצות תאחיזה – מורגן הבין שמספר גנים הנמצאים על אותו כרומוזום צפויים להיות מורשים ביחד, וכך ניתן להסביר את ההבדל בין מספר התכונות הרב לכמות הכרומוזומים המועטה (יחסית), ואת הדרישה של החוק השני של מנדל לסגרגציה בלתי תלויה.

כאשר זיהו את כרומוזומי המין, התברר שלא רק תכונות שקשורות במין נמצאות עליהם, ושיש שם צורת הורשה ייחודית.

הורשה רצסיבית אחוזה ב-X

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

הורשה דומיננטית אחוזה ב-X

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

בקצה של כרומוזומי המין X ו-Y ישנו אזור קטן שהוא הומולוגי ומבטיח את הזיווג שלהם במיזוה הראשונה. האזור הלא מזווג של X מכיל גנים רבים הקובעים תכונות שונות, ואילו האזור הלא מזווג של Y מכיל גנים מועטים שרובם ככולם קשורים להתפתחות המינית הזכרית, בין השאר הגן SRY שקובע שהעובר יהיה זכר. תאחיזה לכרומוזום Y קיימת, והמאפיין הבולט שלה הוא הורשה מאב לבנו בלבד.

קביעת המין ברמה הכרומוזומית – בבעלי חיים רבים ההרכב הכרומוזומלי הוא מספר קבוע של $2(n-1)$ אוטוזומים ובנוסף XX לנקבה או X0 או XY לזכר. בחלק מהחרקים קביעת המין ברמת הכרומוזומים נעשית על פי היחס המספרי בין ה-X לאוטוזומים: נקבה תהיה בעלת שני סטים של אוטוזומים + שני כרומוזומי X, ואילו זכר יהיה בעל שני סטים של אוטוזומים + כרומוזום X אחד (ללא קשר אם יש לו Y או לא). מערכת ZW – נפוצה בעופות, זוחלים שונים ורפרפים. הנקבה היא המין ההטרזיגוטי והזכר נושר שני כרומוזומי Z. לא בכל המקרים ברור אם כרומוזום W הוא הכרחי ומספיק לקביעת נקביות. חרקים חברתיים – הזכרים הם הפלואידיים (N, נוצרים ממיטוזות) והנקבות דיפלואידיים (2N, נוצרות מהפריה).

תנאי הסביבה – אצל מינים שונים של זוחלים, המין נקבע לפי טמפרטורת הסביבה בתקופת ההדגרה שלה הביצים.

צמחים – מרבית הצמחים הם הרמפרודיטים, כלומר מכילים איברי רבייה זכריים ונקביים ביחד, בין אם באותו פרח או בחלקים שונים על אותו צמח (שני סוגי פרחים שונים שנמצאים על אותו צמח). רק כ-5% מבין מיני הצמחים הם בעלי צמח זכר וצמח נקבה.

תקלות במנגנון ההפרדה במיזוה - **Non-disjunction** הוא מצב שבו חלה אי הפרדה של כרומוזומי ה-X ההומולוגיים במיזוה הראשונה (התקבלו 2 גמטות בעלות XX ושתי גמטות ללא כרומוזומי מין) או אי הפרדה של 2 הכרומוטידות האחיות של X במיזוה השנייה (בנוסף ל-2 גמטות תקינות, יש גמטה אחת של XX וגמטה ללא כרומוזומי מין). ההנחה היתה שאם אותן נקבות יעברו הפריה עם זכרים נורמליים, יוכלו להיווצר 4 צירופים שונים של כרומוזומי המין בזיגוטות, אולם זיגוטות Y0 לא שורדת (כי אין כרומוזום X) וכמוה XXX.

בעיית המינון ואינאקטיבציה

הועלתה השאלה כיצד יכול זכר לשרוד עם מנה אחת של כל אותם גנים בעוד הנקבה נושאת שתי מנות.

בדרוזופילות התעתוק על כרומוזום ה-X אצל הזכר גבוה פי 2 ביחס לאותו הגן בזוג הכרומוזומים של הנקבה. יכולה להיווצר תופעה נדירה שבה כרומוזום X אחד אובד במהלך חלוקת ההתלמה הראשונה של העובר. מתקבל זבוב שהוא טיפוס מיוחד של מוזאיקה, כלומר נוצר ייצור שמחולק לשניים, כאשר אחד הצדדים מתנהג כמו זכר בעל תכונות רציסיות.

ביונקים קיים מנגנון של אינאקטיבציה של כרומוזום X ע"י גופין בר, שהוא כתם של כרומוטין דחוס בגרעיני תאים במצויים באינטרפאזה ונצפה רק בנקבות. לפי ההיפותזה שהועלתה, בכל תא מתאי הגוף של נקבות יונקים עובר אחד מכרומוזומי המין השתקה של ביטוי הגנים שלו, שמתבטאת בהפיכת אותו כרומוזום לגופין מאוד דחוס של כרומוטין. ההשתקה נעשית בשלב עוברי מוקדם באופן אקראי, כך שבכל תא יכול להשפיע כרומוזום אחר.

מיפוי גנטי

תאחיזה, רקומבינציה ומיפוי גנטי

תאחיזה – אם 2 גנים מצויים על אותו כרומוזום, יש ביניהם קשר פיזי ולכן הם יעברו ביחד לגמטות ולדור הבא.

שחלוף (crossing over) – תהליך שבו חלה שבירה ואיחוי מחדש של מקטעי DNA בין כרומוזומים הומולוגיים במהלך הפרופאזה של המיוזה הראשונה. הרצף של התכונות המורשות כיחידה אחת נשבר, ומתקבלים פנוטיפים **רקומביננטים**, להבדיל מהקומבינציות המקוריות (צירופי האללים) מהכרומוזומים ההוריים. שכיחות אירועי הרקומבינציה נמצאת ביחס ישר למרחק בין שני הגנים הנבדקים, כלומר במרחק הפיזי ביניהם על גבי הכרומוזום.

מיפוי גנטי – ניתוח הכלאות שונות מאפשר למקם את כל אחד מהגנים ביחס לאחרים, כאשר אחוז הרקומבינציה (אחוז הצאצאים שבהם מופיעים פנוטיפים רקומביננטים), מהווה יחידת מדידה. 1% רקומבינציה הוא יחידת מפה אחת (או סנטי-מורגן). בבדיקת סמנים גנטיים לא ניתן לקבל יותר מ-50% רקומבינציה, וגנים שהמרחק שלהם רב זה מזה יראו התפלגות בלתי תלויה, גם אם הם נמצאים על אותו כרומוזום.

בזבובי הדרוזופילה התגלה בנוסף כי רקומבינציה מתרחשת רק בעת יצירת הגמטות הנקביות ולא במיוזה של הזכר.

במהלך הפרופאזה המיוטית הראשונה מתרחשת קריאה של רצפי ה-DNA להתאמת ההומולוגים, ולאחר מכן ישנו זיווג מתמשך לאורך, בצורת ריץ'-ריץ', בין הזוג כרומוזומים הומולוגים (Bivalent). התהליך נעשה ע"י קומפלקס חלבוני גדול הנקרא synaptonemal complex, שנבנה בחלק הראשון של הפרופאזה הראשונה והוא מתווך את הזיווג בין הכרומוזומים ההומולוגים. בכל שחלוף מעורבות שתי כרומוטידות לא אחיות, ומספר שחלופים יכולים להתרחש לאורך אותו ביולנט, כך שכל 4 הכרומוטידות יהיו מעורבות..

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

מיפוי גנטי במרוצת הדורות

שחלופים מרובים יובילו לאומדן מרחק גנטי שהוא נמוך מן המרחק הממשי. מרחקי המפה המדויקים ביותר מתקבלים ע"י צירוף של מספר מדידות של מרווחים קצרים (<10 cM) בין גנים.

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

אנליזת טטרדות – מאמצי מיפוי גדולים הושקעו גם באאוקריוטים חד-תאיים, המבלים חלק ניכר ממחזור החיים שלהם במצב הפלואידי, כמו אצה ירוקה חד תאית, שמר הנצה או פטריית עובש כתומה. ביצורים אלו קל לזהות את הפנוטיפ ולהתאים אותו לגנוטיפ, מהירות הגידול גבוהה ו4 תוצרי המיזזה (טטרדה) נותרים לכודים בתוך שק (ascus). בחלק מהפטריית מתרחשת חלוקה מיטוטית נוספת מיד לאחר סיום המיזזה, כך שמתקבלים 8 תוצרים ב-ascus. לעיתים, נשמר הסידור הליניארי של הנבגים בתוך ה-ascus, וזה מאפשר שיחזור מדויק של סידור האללים על גבי שני זוגות הכרומוטידות האחיות במיזזה שיצרה את השמינייה. בצורה הזו ניתן לעקוב ולראות אם חל שחלוף בין הכרומוטידות.

שיטת מחקר מולקולארית נוספת היא האפשרות לשבט את רצף ה-DNA של גן מסוים ולהשתמש בו כסמן מולקולרי (probe), וכך ניתן לאתר בצורה חד משמעית גן מסוים ע"י סימון פלורוצנטי שמאתר את המקום הספציפי והמדויק בגנום של אותו גן.

מיפוי גנטי באדם

מידת אחוז הרקומבינציה באדם יותר מסובכת מאשר בעלי החיים שבהם השתמשו כדי לפתח את שיטות המיפוי הגנטי בגלל הבעייתיות של זמן דור ארוך, מספר צאצאים נמוך ועוד. כדי לנסות ולמפות את הגנים באדם, השתמשו בנתוני הסתברות ובמבחנים סטטיסטיים כדי להעריך את המרחק בין זוגות של גנים. למשל, אם ידוע ששני גנים נמצאים בתאחיזה מסוימת ושפנוטיפ מסוים אמור להיות רקומביננטי, תוצאה שמראה כי מתוך 100 משפחות בעלות ילד אחד 4 צאצאים הראו את הפנוטיפים הרקומביננטיים מלמדת כי המרחק בין הגנים (בהערכה) הוא 4cM.

עם פרוץ העידן המולקולרי נוספו שיטות העבודה עם DNA רקומביננטי (רצפים משובטים) לשיפורים בציטולוגיה. שיפור שיטות ההכנה והצביעה הביא לזיהוי דגמי פספוס ייחודיים ולהבחנה בין כל הכרומוזומים האנושיים, ובנוסף נוספה גם האפשרות לסימון רדיואקטיבי של גלאי DNA (מאוחר יותר הוחלפו הגלאים הרדיואקטיביים בגלאים פלורוצנטיים).

איחוי בין תאי אדם ועכבר בתרבית – שיטה נוספת למיפוי גנטי. מבצעים את האיחוי ע"י ערבוב 2 סוגי התאים יחד עם חלקיקי וירוס שעברו טיפול בקרני UV. הוירוסים המשותקים עדיין מסוגלים להיקשר לממברנות של שני תאים ולגרום לאיחוי ביניהם, כך שיווצר תא בן כלאיים המכיל 2 גרעינים ממקורות שונים (heterokaryon) שמאוחר יותר מתאחדים. יש צורך בסלקציה על מצע גידול מתאים ולכן משתמשים במצע סלקטיבי כך שיישארו רק התאים ההיברידיים (אלא שהגרעינים בהם התאחדו). בהמשך החלוקות המיטוטיות של כל תא עמיד אובדים בהדרגה רוב הכרומוזומים האנושיים, ולבסוף מתקבלות מושבות שונות בעלות סט כרומוזומים מלא מעכבר יחד עם 1-4 (בדרך כלל) כרומוזומים אנושיים. המיפוי של גן אנושי לכרומוזום מסוים תלוי ביכולת לזהות את תוצר הגן לפי היכולת לגדול על מצע מסוים, או שהחלבון שהגן מייצר מעניק עמידות כנגד חומר מסוים.

אין שום צורך שהגלאי של המקטע יילקח מתוך הרצף של הגן, היות וניתן לבדוק את מידת התאחיזה בין סמן מולקולרי לבין גן. רצף ה-DNA שיתאים במיוחד כגלאי הוא בדרך כלל רצף שבו שינוי של

בסיס אחד יגרום להיעלמות של אתר רסטריקציה, או להופעה של אתר חדש. השיטה נקראת Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). אם נסיר את אתר הרסטריקציה, נקבל "מורף" חדש, ובעזרת גלאי מתאים נוכל לגלות את שני סוגי ה"מורפים" ואפילו אנשים שהם הטרוזיגוטים באתר הנבדק.

קונוגציה ומיפוי גנטי בחיידקים

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

הניסוי הזה שימש השראה לניסוי שבו המדענים ג'ושוע לדרברג ואדוארד טאטום רצו להוכיח את קיומם של גנים בחיידקים ולבדוק את האפשרות של העברת מידע בין זנים. הם גידלו מושבות של E.coli שגודל במושבות והוא התבסס על זנים אוקוטורפיים, שאינם מסוגלים לגדול על מצע מזון מינימלי, ללא תוספת של נוטרינטים מסוימים. תצפית המפתח היתה שערבוב שני זנים בעלי מגבלות גידול שונות, הביא להופעת מושבות פרוטוטורפיות (מסוגלות לייצר לעצמן מזון על מצע מזון מינימלי) בתדירות נמוכה.

החוקרים הגיעו מסקנה שנדרש מעבר פיזי בין 2 זנים החיידקים כדי לאפשר את שינוי התכונות. למעשה התרחש כאן מעבר או החלפה של מידע גנטי בין זני חיידקים, והתגלה כי המעבר הזה הוא חד כיווני (ניתן להבחין בין תורם ובין מקבל). המגע הפיזי נעשה ע"י סיבי ה-pilus (ברבים pilus), שדרכם עובר החומר הגנטי מן התורם למקבל. הגורם הגנטי האחראי לתופעה זכה לשם F factor. מכיוון שהתא התורם (F^+) שומר על זהותו והתא המקבל (F^-) משתנה והופך לתורם לאחר מכן, ניתן להסיק שה-F factor עובר הכפלה לפני תהליך ההעברה (=קונוגציה). בניסויים התגלה שהמעבר בין טיפוס F^- לטיפוס F^+ היה שכיח מאוד, אולם תהליך הקונוגציה (העברת המידע הגנטי שמאפשר גידול על מצב סלקטיבי, למשל) היה נדיר. הסיבה לכך היא שהתוכנות הנ"ל נקבעות ע"י גנים שיושבים על הכרומוזום החיידקי – DNA מעגלי גדול ונפרד, בעוד ה-F factor הוא גורם מעגלי הרבה יותר קטן ועצמאי (פלסמיד).

בהמשך, בודדו זנים מיוחדים שנקראו (Hfr) highly frequency of recombination, שמכילים F factor אבל מראים תדירות גבוהה פי 1000 של הופעת רקומביננטים (מושבות הגדלות על מצע סלקטיבי מתאים), ובהכלאה שלהם עם F^- הם כמעט שאינם גורמים לשינוי של הזן המקבל (ל- F^+ או ל-Hfr). ההסבר לכך הוא שה-F factor עבר אינטגרציה לתוך הכרומוזום החיידקי. למעשה, התרחש כאן סוג אחר של רקומבינציה. אצל החיידק התורם נוצר מצב זמני, ובדרך כלל חלקי בלבד, שבו הוא דיפלואיד. גדיל אחד של DNA פולש מאזור ה-F factor לתא המקבל, ואז מתרחשת רקומבינציה בין הגדיל החדש ל-DNA החיידקי. ה-DNA שלא עבר שחלוף מעוכל ומפורק, או שיאבדו בהמשך החלוקות של החיידק. מכאן הגיעו למסקנה שבזן Hfr נתון יש סדר קבוע של העברת הגנים, ולכן גנים מוקדמים בסדר יעברו רקומבינציה אל תוך כרומוזום הזן המקבל בתדירות גבוהה יותר. בהשוואה של זני Hfr שונים התקבל סדר העברה שונה בכל פעם, אולם למרות זאת היה ניתן למצוא ביניהם התאמה, בגלל המפה המעגלית של הכרומוזום החיידקי.

שינויים גנטיים

שינויים במבנה הכרומוזום

הזיווג של כרומוזומים הומולוגיים מתרחש במהלך הפרופאזה המיוטית הראשונה. במקרים של הטרוזיגוטיות לשינוי במבנה הכרומוזום, יתגלו בדרך כלל מבנים יחודיים בשלב הזה של המיזוזה. רבים מהשינויים בכרומוזומים קשורים באירועי שבירה, כאשר נוצרים קצוות פתוחים שנוטים להיות

דביקים, ולהתאחות מחדש בצורה אחרת. האורגניזם הדיפלואידי השלם הוא רגיש ביותר לשינויים במבנה ובמספר הכרומוזומים והשינויים שמצליחים לזהות, הם רק אלו שהצליחו לשרוד.

חסרים Deletions

חסר נוצר אם חלק מהכרומוזום שאמור להיות, לא נמצא שם. התא הדיפלואידי חי רק אם הוא הטרוזיגוט לחסר, למעט חסרים קטנים מאוד שלא פוגעים באזור חיוני, אולם גם במצב הטרוזיגוט חסרים רבים צפויים להיות לתליים. חסר שהתרחש בתא סומטי לא יעבור בתורשה. זוג הומולוגים מתרחש בחלוקת המיזזה בכרומוזומים הפוליטנים בבלוטת הרוק בדרוזופילה. בזמן זוג ההומו לוגים האזור החסר יוצר לולאה. דוגמא למחלה שנוצרת בגלל חסר – סינדרום יללת החתול שנוצרת בגלל חסר בקצה הזרוע הקצרה של כרומוזום 5. מתרחשת 1 ל-50 אלף לידות, גורמת לפיגור שכלי, התפתחות איטית (אם בכלל) של יכולות מוטוריות וגורמת לבעיות בריאותיות נוספות.

מיפוי גנטי בעזרת חסרים בכרומוזום X בדרוזופילה – ערכו הכלאות בזנים של דרוזופילות, כאשר קיימים 5 זנים שכל אחד מהם מכיל מוטציה נקודתית רצסיבית בתאחיזה ל-X, ובנוסף קיימים 4 זנים שונים כאשר לכל אחד חסר הגורם למוות וגם הוא ממופה לכרומוזום X. הכליאו זכר עם פנוטיפ רצסיבי עם נקבה שמכילה פנוטיפ דומיננטי וחסר ממוסף. הפנוטיפים שהתקבלו היו זכר ונקבה מסוד w.t, זכר מת ונקבה בעלת אלל רצסיבי ואלל עם חסר, שמעיד כי החסר כולל את הגן הספציפי (אחרת הנקבה לא היתה שורדת). המצב כאן הוא **המיזיגוטי** כי קיים רק עותק אחד של הגן המכיל את האינפורמציה (באוטוזומים המצב המקביל הוא פסאודודומיננטיות). בעזרת ההכלאות בין כל המוטנטים לכל החסרים, ניתן למפות את המוטציות הנקודתיות והחסרים ולפי זה לקבוע את הסדר את הגנים על גבי הכרומוזום.

דופליקציות Duplications

תוצאת הדופליקציה היא הכפלה של מקטע מהחומר הגנטי שנוסף לכרומוזום, כאשר הוא יכול להיות באותה אוריינטציה (Tandem repeat) או באוריינטציה הפוכה (Inverted repeat). הטרוזיגוט לדופליקציה יהיו 3 עותקים של החומר המוכפל, אולם לעיתים הטרוזיגוט יהיה גם פנוטיפ ייחודי. ייתכן והדופליקציה לא תשפיע, ואז החומר הגנטי הנוסף יכול לשמש מקור ליצירת גנים חדשים ללא הפרעה מבחון.

אינברסיות Inversions

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

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

פנוטיפ האינברסיה תלוי בנקודת החיתוך. חיתוך באמצע גן יכול לגרום למוטציה רצסיבית בגן הבודד, חיתוך בין גנים ללא ישנה מידע גנים (פנוטיפ נורמלי) ואם השתנה המיקום של הגן השלם בגנום, יכולה להיות השפעה על רמת הביטוי שלו. כאשר כרומוזומים הומולוגים מזווגים במיזזה הראשונה, נוצרות לולאות בזוג הומולוגי.

אם התרחש שחלוף בלולאה, הוא יתרחש רק בין 2 כרומוטידות לא אחיות, כאשר הצנטרומרים יהיו מחוץ ללולאה. נוצר גשר שמחבר בין הכרומוזומים הומולוגיים עד לאנאפאזה הראשונה, אבל בהפרדה הגשר הזה יישר במיקום רנדומאלי, כך שיווצר כרומוזום נטול צנטרומר שיילך לאיבוד. כאשר שני הכרומוזומים האחרים ייפרדו, נקבל שני תוצרי רקומבינציה שלא מכילים את כל הגנים ולכן גם הם ילכו לאיבוד. הדבר יביא לירידה דרסטית בשיעור תוצרי הרקומבינציה. אם השחלוף התרחש באינברסיה פריצנטרית, גם שם תוצרי הרקומבינציה לא יביאו לקבלת צאצאים ויאבילים בגלל שבמקום לקבל את כל הגנים כל הכרומוזום, נקבל שני תוצרי המכילים הכפלה של הגנים מסביב לצנטרומר.

לסיכום, המאפיינים הבולטים של אינברסיות מכל הסוגים הוא לולאות זיווג של כרומוזומים הומוולוגים במצב ההטרוזיגוטי במיזזה והיעדר תוצרים ויאבילים של רקומבינציה בתחום האינברסיה.

טרנסלוקציות Translocations

בעיקר מדובר בטרנסלוקציה רציפרוקלית שבה מתרחשת החלפה של מקטעים בין שני כרומוזומים לא הומוולוגים. כאשר הכרומוזומים מזווגים, נוצרת צורה של צלב במיזזה, או שמזהים שינויים בקרייטיפ. באנפזה יכולה להתרחש הפרדה בשתי אופנים, כאשר אחת הצורות לרוב לא תוביל לגמטות או לצאצאים ויאבילים, בעוד השנייה תיצור גנוטיפ טרנסלוקנטי ונורמלי שישרדו. נוצרים יחסי תאחיזה חדשים וירידה של 50% בחיוניות הגמטות או במספר הצאצאים החיים. כלל אצבע לגבי טרנסלוקציה הוא שבדרך כלל אין תוצרי רקומבינציה כי הגמטות לא יהיו ויאבילות. אם חלה טרנסלוקציה, לא ניתן למדוד מרחקי מפה בין הגנים. מקרה מפורסם של טרנסלוקציה הוא טרנסלוקציה שיוצרת את כרומוזום פילדלפיה. כתוצאה מהעברת גן מפתח לאזור אחר בגנום, נוצר גן מאוחה והשינוי בדגם הביטוי שלו הוא המפתח להתמרה סרטנית שפוגעת בתאי הגזע האחראים ליצירת תאי דם לבנים מסוימים, וגורמת לייצור מוגבר שלהן.

שינויים במספר הכרומוזומים

Aberrant euploidy – שינויים בכל סט הכרומוזומים

מונופלוואידיות – זכרים של דבורים, צרעות ונמלים מתפתחים מביצים לא מופרות. הם בעלי סט אחד של כרומוזומים (n) והם יוצרים גמטות ע"י מיטוזה במקום מיזזה. כמו כן, זהו שלב נורמלי במחזור החיים של יצורים מסויימים כמו שמרים ופטריות. ברוב המינים האחרים זהו מצב לתלי בגלל חשיפה של אללים רצסיביים מיזיקים, הממוסכים במצב הדיפלוואידי הרגיל.

פוליפלוואידיות – נפוצה מאוד בצמחים ונמצאת בהתאמה לעליה בגודל הצמח השלם וחלקיו. עליה במספר הסטים הכרומוזומלים שיחקה תפקיד חשוב באבולוציה של מיני צמחים שונים. תהליך ההשבחה של החיטה התרבותית המודרנית – במהלך הדורות חל פעמיים חיבור בין סטים של כרומוזומים שונים (כל אחד מזן בר מסוים של חיטה). זן בעל שני סטים דיפלוואידים דומים אך לא זהים נקרא allotetraploid.

לעומת זאת, autopolyploids נוצרים בתוך מין בצורה אקראית או ע"י התערבות מכוונת. למשל, קולכיצין גורם לקריסת סיבי הכישור ומונע נדידת הכרומוטידות אחרי פיצול הצנטרומרים, כך שנוצר תא אחד עם 2 סטים דיפלוואידים זהים. ישנו גם מצב טריפלוואידי ($3n$, בדרך כלל autopolyploid), כאשר צמחים אלו הם לרוב עקרים. הדבר יכול להיות שימושי בחקלאות ליצירת צמחים עקרים וחסרי זרעים.

Aneuploidy – שינויים בכרומוזומים בודדים

לעיתים קרובות, כאשר הם נסבלים בצמחים ויכולים להיות לתלים בבעלי חיים. החשד העיקרי הוא שהתרחשה אי הפרדה של כרומוזומים במיזזה. כשל נדיר בתהליך תאי נורמלי, יכול לקרות במיזזה ראשונה או שנייה, כאשר שני הומוולוגים או כרומוטידות אחיות פונים לאותו קוטב במקום להתפצל. בשני המקרים אי ההפרדה תגרום ליצירת גמטות בעלות כרומוזום עודף או חסר. אי ההפרדה מתרחשת בדרך כלל רק בכרומוזום או בביוולנט אחד, כאשר שאר הכרומוזומים מתנהגים באופן רגיל.

מונוזומיה ($2n-1$) – לרוב תוביל למוות במהלך ההתפתחות העוברית בבעלי חיים בגלל חשיפת אללים לתלים רצסיביים (וגם בגלל הפרדת האיזון בביטוי הגנטי). לא נמצא מצב מונוזומי עבור אף אוטוזום באדם מלבד בדיקה של עוברים מהפלות טבעיות. בכרומוזום המין, מצב של X0 קרוי סינדרום טרנר והוא מתרחש אחת ל-5000 לידות, כאשר הצאצא הוא נקבה בגלל היעדר כרומוזום Y. גורם לאוסף של סימפטומים קליניים וחסר התפתחות מינית

בגיל ההתבגרות, אינטליגנציה נורמלית. הסימפטומים משתנים בנשים שונות ונעים בין מום לב חמור לפגמים קוסמטיים בלבד.

טריזומיה (2n+1) – לעיתים קרובות לתלית בבעלי חיים בגלל הפרת האיזון בביטוי גנים. אם המצב הטריזומי הוא ויאבילי לגבי כרומוזום מסוים, ייתכן והפרט החי יהיה פורה. יש כאן למעשה 3 עותקים לכרומוזום אחד מתוך כל הסט השם, כך שהגמטות השונות יהיו נורמליות, או כאלו שישחזרו את המצב הטריזומי לאחר ההפריה. באדם מוכרות 3 טריזומיות של אוטוזומים, בכרומוזומים 13, 18 ו-21, שיכולות לשרוד מעבר ללידה. בכל המקרים מדובר באוסף של בעיות התפתחותיות, שכליות ובריאותיות חמורות ביותר. במקרה של כרומוזומים 13 ו-18, פחות מ-5% מהנולדים יחיו מעבר לשנה. טריזומיה בכרומוזום 21 נקראת תסמונת דאון ספוראדי (ללא היסטוריה משפחתית), והיא בדרך כלל תוצאה של nondisjunction בהורה בריא. ישנה גם צורה מורשת שהיא תוצאה של טרנסלוקציה של חלק מכרומוזום 21. השכיחות היא 1 ל-800 לידות, כאשר ככל שהאם מבוגרת יותר, הסיכוי לטריזומיה עולה.

טריזומיה בכרומוזומי המין היא תוצאה של nondisjunction במיזוזה אצל אחד ההורים + בחלק מהמקרים מצב העובר בתורשה. XXY נקרא סינדרום קליפטר (1 ל-1000 לידות) והוא יוצר צאצאים זכרים עקרים, כאשר רבים לא מודעים למצבם. שאר הסימפטומים ויאביליים. XYY הם גברים פוריים, הנוטים להיות גבוהים וללא סימפטומים מיוחדים. XXX הן נשים פוריות וכמעט שאין להן סימפטומים מיוחדים. כרומוזומי ה-X הנוספים עוברים אינאקטיבציה.

בנוסף, קיים מצב של נוליזומיה (2n-1).

שינויים כרומוזומיים קשורים קשר הדוק לתהליך היצירה של מינים חדשים במסגרת האבולוציה.

מוטציות

מוטציה נקודתית – מוטציה שבה הקידוד של ה-DNA יכול להשתנות, אולם הוא לא חייב לשבש את סדר יצירת החלבון. קיימים מספר סוגים של מוטציות נקודתיות:

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

מוטציות סומטיות ומוטציות בתאי הנבט – מתאפיינות ביצירת גזרות (סקטורים) בהתאם לשלב הופעת המוטציה ודגם החלוקות של התאים או הרקמה הרלוונטית.

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

האם מוטציות מתרחשות באקראי? – הויכוח הרעיוני שעומד בבסיס לשאלה הזו קשור למחלוקת בין לאמארק, שטען כי מוטציות נוצרו במכוון למטרה מסוימת, לבין דארווין שאמר כי קיימת שונות באוכלוסיה וקיימת הסתה לכיוון המועדף והמשופר. ב-1943 ערכו מקס דלבורק וסלבדור לוריה ניסוי בבקטריופאגים שענה על השאלה הזו. כשמדביקים תרבית חיידקים צפופה בפאגים וזורעים את החיידקים על מצע מוצק מקבלים Plaques.

מספר וצורות הפלאקים תלויים במכפלת ההדבקה ובזנים הספציפיים של החיידק והבקטריופאג'.
במכפלת הדבקה גבוהה (למשל 10 בקטריופאג'ים לחיידק) נגרם ליזיס מלא של החיידקים, עד כדי
מחיקה של מרבד חיידקים בצלחת פטרי. לעיתים רחוקות, אך באופן קבוע, מופיעות מושבות חיידקים
עמידות להדבקה ע"י הפאג'.

הניסוי כלל זריעה של 2 סוגי תרביות במפר התחלתי נמוך מאוד של חיידקים וגידול עד לצפיפות של
 10^8 חיידקים למ"ל. הניסוי כלל 20 תרביות בנפח קטן בנפרד, מול ביקורת שכללה תרבית מאוחדת
בנפח גדול פי 50, באותם תנאים. לאחר ההגעה לצפיפות הרצויה, התרביות השונות הודבקו בפאג'ים
במכפלת הדבקה גבוהה וזריעה על צלחות. לקחו דגימות מכל 20 התרביות הקטנות וזרעו על צלחות
נפרדות, ולקחו 20 דגימות זהות מהתרבית הגדולה (באותו נפח כמו התרביות הקטנות) וזרעו על
צלחות נפרדות, ולסיום ספרו את מספר המושבות העמידות על כל צלחת.

לפי המודל של לאמארק, האירוע הקובע הוא המפגש עם הפאג'ים ולכן מספר המושבות העמידות
יהיה קבוע בכל צלחת. לפי המודל של דארווין, המוטציות יכולות להתרחש בכל נקודת זמן במהלך
הגידול, ולכן יכול להיווצר שונות גדולה בתוצאות בין תרבית ותרבית. התוצאות הראו כי בדגימות
שנזרעו מן התרבית הגדולה והמאוחדת היו תנודות קטנות יחסית מסביב לממוצע, בעוד שבדגימות
מהתרביות הבודדות היו תנודות חריפות הרבה יותר. מכאן הגיעו למסקנה שהמוטציות התרחשו
באקראי, והמפגש עם הפאג'ים לא גרם להופעת המוטציות אלא רק יצר סלקציה למושבות העמידות.

מהות הגן

מסלולים מטבוליים ותיאוריית "גן אחד – אנזים אחד"

המושג הקלאסי של גן התפתח עוד לפני בירור האופי הכימי שלו (זיהוי ה-DNA כחומר הגנטי). הגן
הומצא כדי להסביר תופעות של סגרגציה מנדלית, ויחד עם התיאוריה הכרומוזומלית של התורשה,
התפתחה תפישה של Beads on a String. הכרומוזומים דומו כאוסף של חרוזים (=גנים) המתפקדים
כיחידות בלתי תלויות ומופרדים ע"י חומר גנטי.
בהגדרה הקלאסית של החרוז הבודד, הגן הוא היחידה הבסיסית של:

1. **תפקוד (הורשה) – חלקים של גן אינם יכולים לתפקד.**
2. **מוטציה – הגן כולו משתנה, מאלל אחד לשני, או לשלישי וכו', וחלקים של הגן אינם יכולים להשתנות בנפרד.**
3. **רקומבינציה – הגן הוא יחידת המבנה הבסיסית ביותר, ואינו ניתן לחלוקה ע"י רקומבינציה.**

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

הם השתמשו בנוירוספורה (Neurospora), פטריית עובש שרוב מחזור החיים שלה הפלואידי, ולכן
מתאימה לחיפוש מוטנטים רצסיביים. כל מה שהיא דורשת לגידול במצע מינימלי הוא סוכרוז, מספר
מלחים וביוטין (ויטמין), ועל בסיס זה התאים מסוגלים לסנטז את כל המקרומולקולות הדרושות להם.
הם גידלו תרביות מוטנטיות, ובדקו אותן על מצעים עם תוספות. לאחר מכן, הגידול נבדק על מצעים
עם תוספות של חומצות אמינו בודדות. חומצת האמינו ארגינין זוהתה כחומצת האמינו החסרה
למוטנט, ולכן הפגיעה היתה במסלול המטבולי האחראי ליצירת ארגינין.

מסלול מטבולי – יצירת חומר X מחומר Y דורשת מספר שלבים אנזימטיים, כאשר אנזים מסוים
אחראי להפוך חומר אחד לחומר שני במהלך המסלול. אנו מניחים כי כל אנזים מקודד על ידי גן אחר.
פגיעה באחד האנזימים בדרך, תגרום להצטברות החומר שעליו האנזים היה אמור לפעול, ותתקע את
המשך השרשרת, אלא אם מצע הגידול מכיל את חומרי המשך.

בידל וטאטום בודדו קבוצה של מוטנטים של נירוספירה שגדלו על מצע מינימלי בתוספת של ארגינין. הם מצאו שבכל המקרים מדובר במוטציות רצסיביות ומיפו אותם ל-3 אתרים נפרדים. בהמשך נבדקה יכולת הגידול של המוטנטים השונים על מצע מינימלי בתוספת ארגינין או תרכובות כימיות הקרובות לו. על בסיס התוצאות הללו הוצע המודל הביוכימי הראשון למסלול הבייוסינטטי של ארגינין, כשכל המסקנות לקוחות מהאנליזה הגנטית של מוטנטים הפלואידים מנירוספירה. מכאן צמחה ההיפותזה: **גן אחד – אנזים אחד**. עם תחילת גילוי הפרטים המולקולריים לגבי המוגלובין ואנמיה חרמשית הוצע השינוי **גן אחד – פוליפטיד אחד**.

קומפלימנטציה ורקומבינציה בבקטריופאג'ים

מוטציות rII בבקטריופאג' T4 – חיידקי E. Coli B המותקפים ע"י הפאג' T4 נותנים פלאק קטן ומחוספס. סימור בנזר בודד 2400 מוטנטים שונים של הבקטריופאג' שנתנו פלאק גדול וחלק כתוצאה מליזיס מהיר. בשלב מסוים, התגלה לו זן רסטריקטיבי של חיידקים, שהמוטנט לא מדביר אותם (לא משלים את מחזור החיים בהם) ולכן לא נוצרו פלאקים. הוא גילה שלאחר הדבקה בו זמנית של חיידקים מזן B (כאשר שני מוטנטים שונים של פאג'ים חדרו לחיידק), מתרחשת רפליקציה של הגנום הפאג'י, ונוצר מצב גנטי מקביל להטרוזיגוט ביצורים אוקריוטים, ומתאפשרת גם רקומבינציה בין שני המוטנטים. אם באחד מתוצרי הרקומבינציה התקבל מוטנט שלא מכיל את הגנים שאחראים ליצירת הפלאקים ולליזיס התא, החיידק ימשיך להתקיים ולא יוצרו פלאקים. כדי למדוד את תדירות הרקומבינציה (ביחידות מפה) מחלקים את מספר הפלאקים מזן הבר (w) על K כפול 2 במספר הפאג'ים הכולל בזן B (והכל כפול 100).

בנזר גילה כי מדובר בשני גנים צמודים שאחראים לתופעה. הוא מצא מוטנטים שלא עברו בכלל רברסיה, ולכן הוא הניח שמדובר בחסרים. הוא בדק את היכולת של כל מוטנט בפני עצמו לעבור רברסיה בחזרה לפלאק קטן ומחוספס עם יכולת הדבקה של זן K. כל מוטנט שעבר רברסיה (בתדירות נמוכה מאוד) הוגדר כנקודתי, ומוטנטים שלא עברו רברסיה זוהו כחסרים. בצורה הזו התאפשר מיפוי ראשוני של כל אזור הלוקוס rII באמצעות 7 חסרים גדולים ו-47 חסרים קטנים יותר. לאחר מכן, נבדקו קומבינציות של מוטנט נקודתי עם חסר, ולסוף קומבינציות של מוטנטים נקודתיים לקבלת המפה המפורטת.

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

היחידה הבסיסית של הפונקציה – בנזר טבע את המונח **ציסטרון** והגדיר את תנאי הקומפלימנטציה של ה-cis-trans test. תוך כדי העבודה הסתבר שאזור rII מכיל שני גנים צמודים, ולמרות שהלוקוס זוהה במקור ע"פ הפנוטיפ (ליזיס מהיר), ניתן היה לחלק אותו לשניים ע"פ הפונקציה. בנזר הניח שמדובר בגנים המקודדים לפוליפפטידים מסוימים ולכן גם אם יסופקו ממולקולות DNA נפרדות שמקורן בהדבקה משולבת בשני מוטנטים, התוצרים יתערבבו בתוך החיידק. מבחן הקומפלימנטציה כולל 2 אפשרויות:

1. אם אנו לוקחים 2 פאג'ים, כאשר אחד מהם מקודד רק תוצר A תקין והשני מקודד רק לתוצר B תקין (כל אחד בחצי שלו), יש ליזיס והתקבלה קומפלימנטציה ללא צורך ברקומבינציה.
2. אם שני המוטנטים של שני הפאג'ים הם על גן A, נוצר רק תוצר מסיס תקין של גן B ואין השלמה של הפונקציה החסרה, ולכן אין ליזיס ואין קומפלימנטציה.

אינטראקציות גנטיות

דוגמת הכרובולת בתרנגולים – קיימים 4 פנוטיפים לצורת הכרובולת של תרנגול: Walnut, Rose, Pea ו-Single. בניסוי ראשוני התגלה כי Pea ו-Rose דומיננטיים על Single. הכליאו זנים טהורים שלהם ובדור F1 התגלה כי כל הצאצאים הם מסוג Walnut. הכלאה של פריטים מדור F1 נתנה את התוצאה הבאה: Single : 1 Pea : 3 Rose : 3 Walnut : 9. המסקנה היתה שצורת הכרובולת נקבעת לפחות ע"י 2 גנים שונים, ותוצרי הגנים הללו פועלים כנראה יחד, כי השילוב ביניהם יוצר 4 פנוטיפים יחודיים.

דוגמת צבע העין בדרוזופילה – בודדו שני מוטנטים נפרדים בצבע העין (חום וסגול). כל אחד מהם הוכלא בפני עצמו עם wt (אדום) ובדור F1 התקבלו בשתי הכלאות רק זבובים עם עיניים אדומות. ביצעו הכלאה עצמית ובדור F2 התקבל יחס של 3:1 בין העין האדומה לעין בצבע אחר (סגול או חום). הסבר אפשרי לתופעה הוא ששלושת הפנוטיפים שנצפו יכולים להתאים למצב של גן אחד בעל 3 אללים. הנורמלי נותן פיגמנט אדום, ומוטציות באתרים שונים בגן נותנות צבע חום או סגול, אולם לא ברור מה מראה הפנוטיפ שמורכב מהטרזיגוט המכיל אלל לעין חומה ואלל לעין סגולה. ע"פ המודל הזה, הכלאה בין זבוב בעל עין סגולה לזבוב בעל עין חומה, תניב בדור הראשון רק זבובים מהפנוטיפ הנעלם ובדור F2 יתקבלו זבובים ביחס של 1:2:1. בפועל, בדור F1 התקבלו זבובים עם עיניים אדומות, ואילו בדור F2 היחס היה 9 אדום : 3 חום : 3 סגול : 1 לבן.

מודל שני הציע כי מדובר בשני גנים בלתי תלויים שהשילוב ביניהם יוצר 4 פנוטיפים שונים. מודל נוסף הציע כי שני הגנים מהווים חלק ממסלול מטבולי, אולם מודל זה לא תואם את התצפיות כי פגיעה באחד האנזימים היתה חוסמת את המשך המסלול, ועדיין קיבלנו את התוצרים הסופיים שלו. המודל המתאים להסבר הוא ששני מסלולים ביוכימיים נפרדים ליצירת פיגמנטים משתתפים בקביעה של צביעה העין. במצב תקין, אין בעיה ומתקבל זבוב בעל עין אדומה. אם אחד המסלולים נחסם, אנחנו מקבלים זבוב בעל צבע עין מסוים (חום או סגול) ואם שני המסלולים נחסמו, מתקבל זבוב עם עין לבנה. התוצרים מתלכדים לקבלת הצבע האדום הנורמלי.

סטיות מייחסים מנדליים רגילים

15:1 – ההסבר הסביר לתוצאה מהסוג הזה הוא duplicate genes, כלומר שני גנים אחראים לאותה פונקציה. פעילות החלבון הזה ולכן מספיק עותק תקין אחד (=אלל נורמלי) כדי לקבל את הפנוטיפ הדומיננטי. הפנוטיפ הרצסיבי מתקבל רק במצב של הטרזיגוט הרצסיבי הכפול.

ייתכן ויווצר מצב שבו על מנת לראות את הפנוטיפ הדומיננטי נדרשת מנה כפולה של אנזים, התוצר שלו יראה את הפנוטיפ. במקרה של דומיננטיות חלקית, נוצרת רמת ביניים ואז מתקבל פנוטיפ נוסף, שהוא בין הדומיננטי לרצסיבי.

9:6:1 – תוצאה של הכלאה בדור F2 בה שני הגנים משפיעים בצורה אקוויולנטית. אם אין תוצר פעיל בשני הגנים - נקבל את הצורה הרצסיבית, אם בכל לוקוס נקבל אלל דומיננטי - נקבל את הצורה הדומיננטית, ואם יהיה לנו אלל דומיננטי באחד משני הלוקוסים, נקבל את צורת הביניים (דוגמא: קישואים בצורה של דיסקית – דומיננטים, מוארכת – רצסיביים ועגולה).

9:7 – יחס כזה בין פנוטיפים בדור F2 יכול להצביע על פעילות קומפלימנטרית של 2 גנים, כאשר דרוש אלל תקין מכל אחד מהם. אפשר להציע שישנה רמת סף מינימלית של פיגמנט שמצטבר כתוצאה מפעילות של שני אנזימים שונים.

היחס הזה יכול להתאים גם לאחת הגרסאות של המודל למסלול מטבולי רציף, כאשר פגיעה באחד האנזימים (כאשר שני החומרים שבדרך מראים אותו פנוטיפ) תוביל ליחס הזה. ניתן למצוא את היחס הזה גם באינטראקציה בין גן מטרה וגן בקרה.

לתלות – ייתכן ותוצאה של הכלאה מסוימת לא תוביל ליצירת צאצאים. יחס של 2:1 יכול להראות כי אלל מסוים הוא דומיננטי, אולם הוא רצסיבי לתלי, וכאשר הוא מופיע בשני עותקים, הצאצא לא נוצר

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

- **אפיסטזיס רצסיבי** – מתבטא בעיקר באמצעות היחס 9:3:4. במסלול המטבולי קיים הבדל בפנוטיפ בין חומרי הביניים המצטברים בהיעדר אנזים.
- **אפיסטזיס דומיננטי** – מתרחש כאשר הגן האפיסטטי ממסך את השפעתם של שני האללים בגן השני, ונוצר יחס של 12:3:1.

ברוב המקרים של מוטציות loss of function אנו מניחים כי כמות התוצר (כמחצית ממנו) המיוצרת ע"י האלל התקין הטרוזיגוט מספיקה לקבלת פנוטיפ wild type. לכן, רק הומוזיגוט רצסיבי יהיה בעל פנוטיפ מוטנטי והמצב הזה נקרא **haplosufficiency**.

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

Gain of function – יצירת חלבון מוטנטי בעל פונקציה חדשה, או אנזים המייצר תוצר חדש. דוגמה לתופעה היא הטרנסלוקציה הרציפרוקלית שיוצרת את כרומוזום פילדלפיה (החלפה של מקטע גנטי בין כרומוזומים 9 ו-22) ובתוכו גן מאוחה (מקודד לחלבון איחוי בעל מסגרת קריאה רציפה) הכולל את אזור הבקרה (5') ותחילת הגן bcr יחד עם רוב הגן המקודד ל-abl. למרות שחלבון c-abl התקין מתבטא תחת הבקרה הרגילה שלו (מכרומוזום 9 השני), חלבון האיחוי גורם להתמרה של תאים משורת תאי הדם הלבנים (שני מקטעים מכל כרומוזום אוחדו למקטע אחד שמתורגם בצורה שפוגעת בגוף).

דוגמה נוספת היא החלבון Ras שמשמש בקר-על באחד המסלולים המרכזיים של העברת אותות בתאים אוקריוטים, כלומר הוא מתג מולקולרי האחראי לאיזון עדין בבקרת חלוקות תא. מוטציה נקודתית בעותק אחד של הגן יוצרת Gain of function allele וגורמת לחלבון להיות משופעל תמיד והמשיך להפעיל מטרות במורד הזרם (התמרה סרטנית).

Dominant negative – חלבונים רבים מורכבים מאזורים נפרדים שהם בעלי תפקידים שונים. לעיתים קרובות המצב הפעיל הוא של קומפלקס חלבוני הכולל מספר שרשרות פוליפפטידיות נפרדות, כך שהמגע בין תת היחידות יכול להיות נקודתי או לאורך משטחים נרחבים. אלל מוטנטי דומיננטי יכול לכלול פגיעה באתר או משטח מגע בין תת יחידות של קומפלקס חלבוני, ואם אזור המגע בצד השני של תת היחידה המוטנטית עדיין קיים, היא תוכל לקשור עותקים תקינים (המקודדים ע"י האלל הרגיל או ע"י גנים לתת יחידות אחרות). הקשרים הללו יהיו בלתי פוריים וימנעו את היווצרות הקומפלקס השלם, למרות קיומו של האלל התקין לגן שנפגע.

דוגמה נוספת ל-Dominant negative היא יצירת חלבון קטוע, בעל אזור אחד מתפרד, אך חסר באזור חיוני אחר. הדבר יכול להיווצר למשל ע"י מוטציות nonsense שתכניס stop codon באזור הזה. מוטציה באזור הבקרה של הגן יכולה לגרום לו להתבטא בזמן או במקום הלא נכון ולהשפיע על קבוצות של גנים המבוקרים על ידו.

סופרסיה – כל שינוי באתר שונה ממקום המוטציה המקורית שמחזיר לפנוטיפ wild type. קיימים שני סוגי עיקריים:

1. **Intragenic** – מקום אחר בתוך אותו גן.
2. **Intergenic** – השינוי הוא במקום אחר בגנום.

סופרסור יכול להיות רצסיבי או דומיננטי, ובכל מקרה כזה, כשהסופרסור נבדק בפני עצמו (בנפרד מהגנוטיפ המוטנטי aa), יכול להיות לו פנוטיפ מוטנטי ייחודי, או שהוא יהיה wild type. תופעה ה-Intergenic Suppression מעידה על אינטראקציות בין תוצרי הגנים, ויכולה לעיתים לחשוף קשרים בלתי צפויים במסלולים תאיים מורכבים. סופרסים מתאפיינים ביחסי צאצאים מיוחדים בדור F2. הסופרסור יכול להיות דומיננטי או רצסיבי,

בעל או חסר פנוטיפ עצמאי, והוא מבטל את השפעתו של מוטנט מקורי שיכול להיות דומיננטי או רצסיבי.

Nonsense Suppressors – מחזיר תפקוד לאחר שהתרחשה מוטציית Nonsense באמצע אזור מקודד. קיימים 3 קודוני הפסק לקידוד מ-mRNA לחלבון, ואין tRNA שמכיר אותם. לכן, יש עצירה בתרגום ועם קישור ה-Release Factor, משתחררת השרשרת הפוליפטידית. השינוי המשמעותי לקבלת סופרסיה הוא שינוי רצף האנטיקודון שמאפשר את הכרת קודון הפסק. האנטיקודון ב-tRNA משתנה, וזה מאפשר הכנסה של חומצת אמינו (לא בהכרח הנכונה), והמשך תרגום של ה-mRNA. סופר סורים של מוטציות missense קשורים לעיתים קרובות להתאמת "מנעול-מפתח" בין חלבונים בקומפלקס.

חדירות חלקית (penetrance) – אחוז הפרטים בעלי גנוטיפ נתון המבטאים את הפנוטיפ המתאים. זהו מדד אוכלוסייתי המעריך מה הסיכוי שפנוטיפ כלשהו יבוטא.

Expressivity – מושג המתייחס למידת הביטוי של הפנוטיפ, בעיקר כשניכרת שונות רבה באוכלוסיה. ניתן לשלב את שני המושגים כדי לקבל הערכה מציאותית יותר של ההבדלים בין פרטים באוכלוסיה.