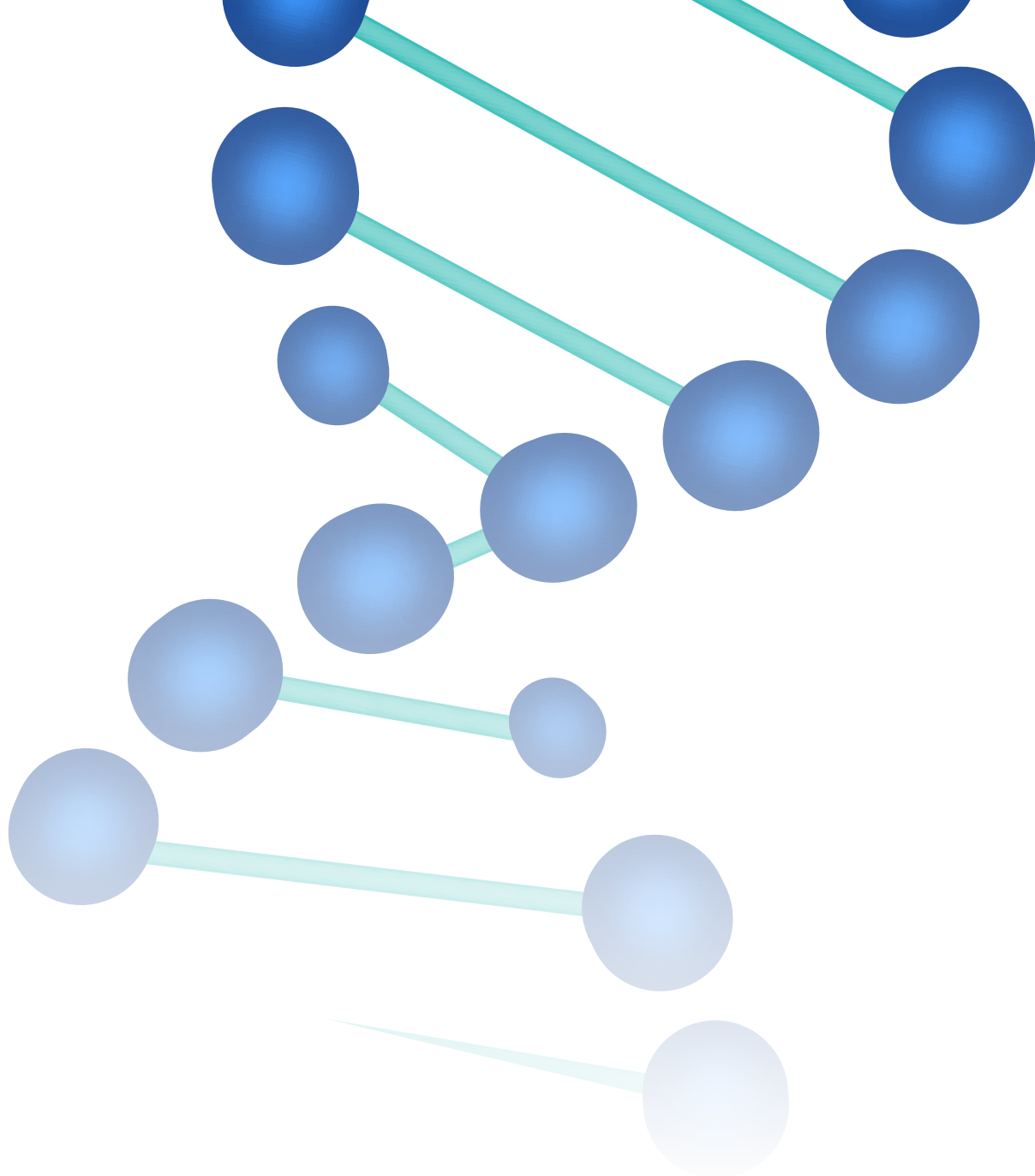




בקרה על ביטוי הגנים והנדסה גנטית

אורה כהנא



ספר זה מוקדש לזכרה של המורה לביולוגיה סימונה דודסון

פיתוח וכתיבה: ד"ר אורה כהנא

ניהול הפרויקט: ד"ר רונית רוזנשיין, ד"ר מוריה אריאלי

ייעוץ מדעי: ד"ר ערן רום

ייעוץ אקדמי: פרופ' ענת ירדן

עריכה לשונית: ענבל גיל

עיבוד תמונות: זיו אריאלי

עימוד: אבי טל

תרמו בעצות ובהערות: ד"ר קרין הלוי, ד"ר עומר חורש, אסנת יוטקו-צרפתי, ד"ר שירי מסה, חגית קליין

אין להפיץ, לשכפל, להעתיק, למכור, לשדר, לפרסם, או לאפשר לאחרים לעשות כן בדרכים אלה או בכל דרך אחרת את התכנים בקובץ זה, לרבות באתרי אינטרנט אחרים, בפרסומים אלקטרוניים, בפרסומים מודפסים וכדומה, לכל מטרה, בין שהיא מסחרית ובין שאינה מסחרית אלא אם ניתנה לכך רשות כתובה בכתב וחתומה על ידי המרכז למורי הביולוגיה במכון ויצמן למדע.

© כל הזכויות שמורות למשרד החינוך

אב תשע"ח

יולי 2018

תוכן העניינים

1	פרק א: בקרה על ביטוי הגנים
1	בקרה ביצורים פרוקריוטיים
3	אופרון הלקטוז בחיידק אי קולי
4	בקרה שלילית באופרון הלקטוז
5	בקרה חיובית באופרון הלקטוז
6	שאלות
8	בקרה ביצורים אאוקריוטיים
8	גורמים המפעילים את הבקרה על ביטוי הגנים
9	השלבים שבהם נעשית הבקרה על ביטוי הגנים
11	בקרה על ידי שינויים במבנה הכרומטין – בקרה אפיגנטית
11	מבנה הכרומטין
12	שינויים בהיסטונים
13	שינויים ב-DNA - מתילציה של DNA
15	השתקת כרומוזום X בעזרת שינוי מבנה הכרומטין
18	שאלות
19	בקרת התעתוק
21	אתרי בקרה לתעתוק גן
21	גורמי תעתוק ייחודיים
21	הפעלת התעתוק על ידי גורמי תעתוק מפעילים
23	בקרה של צירופים
24	דיכוי התעתוק על ידי גורמי תעתוק דכאנים
25	הפעלה מתואמת של גנים
25	שאלות
27	בקרה אחרי התעתוק
27	עיבוד RNA
27	הוספת כיפה וזנב
28	תהליך השחבור
29	השחבור החלופי
29	בקרת השחבור החלופי
30	שחבור חלופי ברקמות שונות ובמועדים שונים
31	בקרת יציבות מולקולת RNA-שליח
32	בקרת יציבות RNA-שליח המקודד את קולטן הטרנספרין
33	פירוק RNA-שליח על ידי מולקולות מיקרו-RNA
35	מנגנון ההשתקה של מולקולות מיקרו-RNA
36	תפקידי מנגנון ההשתקה באמצעות מיקרו-RNA
36	יישומים של מנגנון ההשתקה בחקלאות וברפואה

38.....	שאלות
41.....	בקרת התרגום
42	בקרת אתחול תרגום RNA-שליח המקודד פריטין
44.....	בקרה אחרי התרגום
44	שינויים במבנה החלבון
44	פירוק החלבון
47.....	שאלות

49..... התמיינות תאים מותנית בביטוי מבוקר של גנים

49.....	התמיינות תאי העובר בייצור רב-תאי
50	גורמי גדילה משפיעים על ביטוי גנים בעובר
51	גורמי התעתוק מפעילים ומשתיקים גנים באמצעות שינויים במבנה הכרומטין
52	התמיינות תאי שריר בעוברי יונקים
54	הפעלה והשתקה של גנים בהתמיינות תאי שריר באמצעות שינויים אפיגנטיים
54	השתקה והפעלה של גנים על ידי מיקרו-RNA
54	מדענים הצליחו להפוך תאים בוגרים לתאי גזע עובריים
57.....	שאלות

58..... פרק ב: גנום האדם וגנומיקה

58..... גנום האדם

59.....	בגנום יש רק 20,000 גנים
59.....	98.5% מהרצפים בגנום אינם מקודדים לחלבונים
60.....	בני אדם שונים זה מזה רק ב-0.5% מהגנום
60.....	גנומיקה היא לא רק פענוח הארגון הפיזי של הגנום

63..... אבחון מחלות גנטיות

63.....	בדיקת כרומוזומים
65.....	בדיקות גנים
65.....	ריבוי מקטעי DNA בשיטת PCR
67.....	אבחון מוטציה על ידי הכלאה לגלאים
68.....	אבחון מחלות גנטיות בעזרת שבב DNA
68	הכנת השבב
69	איתור הגן המוטנטי ב-DNA הנבדק
70.....	אבחון מחלות גנטיות בעזרת ריצוף DNA
71	ריצוף בשיטת סנגר
72	הדור החדש של הריצוף
73	ריצוף אקסומי
74	ריצוף גנומי מלא
77.....	שאלות

80	זיהוי גנטי
80	חשיבות הזיהוי הגנטי
81	תעודת זהות גנטית
81	שלבים בהכנת הפרופיל הגנטי
82	הפרדת מקטעי DNA על ידי אלקטרופורזה בג'ל
83	הגלאי שמאתר לוויינים זעירים ב-DNA
84	DNA בזירת הפשע
85	מאגר דגימות ה-DNA של משטרת ישראל
86	הגנה על מידע גנטי
86	זיהוי קרבה משפחתית
87	זיהוי קרבה אמהית
87	מהו DNA מיטוכונדריוני? מתי משתמשים בו לצורך זיהוי?
88	חשיבות השכיחות של מוטציות באוכלוסייה
90	שאלות

פרק ג: הנדסה גנטית

93	תהליך ההנדסה הגנטית
94	הנדסה גנטית של הגן אינסולין בחיידק אי קולי
94	בידוד גן האינסולין
94	יצירת DNA-משלים
95	נשאים להחדרת הגן
95	נשאים פלסמידיים
96	נשאים נגיפיים
97	קישור הגן לנשא
97	חיתוך DNA בעזרת אנזימי הגבלה
98	חיבור הגן לאתר בקרה מתאים
100	חיבור לגן בורר
100	חיבור לגן מדווח
100	הכנסת הנשאים לחיידקים
101	גידול חיידקים בכמויות גדולות

יישומי ההנדסה הגנטית

103	יישומים בחקלאות
104	צמחים עמידים לחרקים מזיקים
104	ביטוי הרעלן של החיידק Bt
104	הכנסת גן הרעלן לתאי הצמח באמצעות חיידקי אגרובקטריום
105	הכנת הפלסמיד
106	הדבקת הצמח
106	רגנרציה של הצמחים המהונדסים
107	החדרה ישירה של הגן לצמחים

108.....	צמחים עמידים לקוטלי עשבים
108.....	צמחים עמידים למחלות נגיפים
109.....	עמידות לעקת יובש
109.....	שיפור הערך התזונתי של היבול
110	שינוי הרכב הוויטמינים
110.....	בעד ונגד הנדסה גנטית בצמחים
113.....	תכנון לעתיד
114.....	ייצור תרופות בבעלי חיים מהונדסים
114.....	החדרת הגן הזר לבעלי חיים
117	החדרת גנים גורמת למוטציות
119.....	ריפוי גני
120	ריפוי גני - בתאים עוברים או בתאים סומטיים?
121	החדרת הגן התקין
121	החדרת הגן בעזרת נגיפים
122	נשאים אחרים להחדרת הגן
123	הצלחה ראשונה בריפוי גני – פריצת הבועה הסטרילית
124	כישלונות בריפוי גני
125	דור שני של ריפוי גני
125	ריפוי גני של מחלת הסרטן
128.....	שאלות
131.....	עריכת גנים
131.....	מערכת קריספאר-קאס מקנה הגנה לחיידקים מפני נגיפים
132	מנגנון ההגנה
133.....	מערכת קריספאר-קאס ⁹ לעריכת גנים
135	ריפוי מחלות גנטיות
135	עריכת גנים בחקלאות
136	היבטים אתיים
139.....	שאלות

פרק א: בקרה על ביטוי הגנים



הוראות הייצור של כל אחד מהחלבונים הנחוצים לתא מצויות בגנים. כל חלבון נוצר בתא בעקבות תהליך הביטוי (או ההתבטאות) של הגן המקודד אותו. המידע הגנטי הטמון בגן בא לידי ביטוי כאשר ה-DNA מתועתק תחילה למולקולת ה-RNA שליח, ומולקולת ה-RNA שליח מתורגמת לחלבון. בביטוי גן מעורבים אפוא תהליך התעתוק ותהליך התרגום.

לא כל הגנים באורגניזם מתבטאים בו בזמן. המידע האצור ב-DNA של חיידק אי קולי, למשל, שהוא תא פשוט למדי, די בו לייצור כ-4,300 חלבונים שונים. ואולם, מבחינה אנרגטית, ייצור 4,300 חלבונים שאינם בהכרח דרושים לתא בעת ובעונה אחת – מיותר; ואף אין בו ניצול יעיל של אבני הבניין הדרושות לייצור החלבונים. לא כל שכן ביצור רב-תאי בעל גנום שממדיו עצומים יחסית לגנום של החיידק.

ביצורים רב-תאיים מתעוררת בעיה נוספת, מאחר שיש בהם התמחות של תאים. לכל רקמה נועד תפקיד מיוחד, ולכן כל תא ברקמה מייצר צירוף של חלבונים השונה מזה של התאים ברקמות אחרות. כך, למשל, החלבון המוגלובין ייחודי לתאי דם אדומים, בעוד שהחלבון קרטין ייחודי לרקמת העור והציפורניים. בכל תא ותא מתאי הגוף של אורגניזם רב-תאי קיים מידע גנטי זהה; בכל התאים קיים אותו ה-DNA המכיל את כל הגנים שבגנום. מה יקרה אם כל אותם הגנים יתועתקו ויתורגמו כל הזמן בכל תאי הגוף? במצב כזה, נוסף על בזבז עצום של משאבי התא בייצור חלבונים שאינם נחוצים לו, יכול אף להיווצר מצב שבו הביטוי המיותר אף מזיק לאורגניזם. למשל: גנים הקשורים לחלוקת התאים חייבים להתבטא רק במועד מסוים, והוא כשתאי הרקמה צריכים להתרבות. אם גנים אלה ימשיכו להתבטא כל הזמן, ייווצרו גידולים סרטניים המסכנים את האורגניזם.

מכאן ברור, שיש צורך לווסת את המיקום, את העיתוי ואת העוצמה של תהליכי התעתוק והתרגום. במילים אחרות, יש צורך לבקר את התבטאות הגנים. כל תא מבטא רק חלק מסוים של המידע הטמון בו. חלק זה הכרחי לקיום התא ולתפקודו. שאר הגנים, שאינם חיוניים לתפקודו של התא – מדוכאים. על הביטוי של הגנים בתא ועל דיכויים שולטים מנגנוני בקרה שונים. בתחילת פרק זה נעסוק בבקרת ביטוי הגנים בייצורים פרוקריוטיים (חיידקים), ובהמשכו – במנגנוני בקרה המווסתים את ביטוי הגנים ביצורים אוקריוטיים.

בקרה ביצורים פרוקריוטיים

המנגנונים של בקרת התבטאות הגן נחקרו לראשונה בתאי חיידקים. הקלות שבה מגדלים חיידקים במעבדה וחוקרים אותם, והימצאותם של מוטנטים שונים, אפשרה לחקור את הבקרה שלהם. בין תאים פרוקריוטיים ובין הסביבה החיצונית שבה הם גדלים מתקיימים יחסי גומלין הדוקים. שינויים בסביבה החיצונית גורמים תגובה מיידית וישירה על התבטאות הגנים בחיידקים.

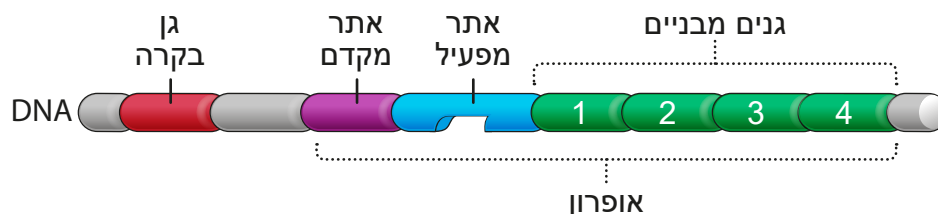
המדענים הצרפתים ז'קוב ומונו (Jacob and Monod), שעבדו במכון פסטר בפריז, היו הראשונים שהציעו פתח להבנת מנגנוני הבקרה של התבטאות גנים בחיידקים. הם גילו לראשונה את חלבוני הבקרה הנקשרים לרצפי DNA מסוימים בחיידקים ומסוגלים להשתיק גנים או להפעילם בתגובה לשינויים בתנאי הסביבה. המודל שהציעו ז'קוב ומונו בתחילת שנות ה-60 מדגים את מנגנון הבקרה של פעילות הגנים בחיידק אי קולי (*E. coli*), ועל כך זכו השניים בפרס נובל בשנת 1965.

הכרומוזום של החיידק אי קולי מורכב ממולקולת DNA אחת מעגלית המקדדת 4,300 חלבונים. רק חלק קטן מהחלבונים האלה מיוצר בכל רגע נתון. הביטוי של רבים מהגנים מבוקר בהתאם לזמינות המזון בסביבת החיידק. המודל שהציעו החוקרים מסביר את המנגנון שבאמצעותו יכולים תאים לתת ביטוי להרכב מסוים של גנים מתוך כלל הגנים, וזאת בתלות בתנאים החיצוניים כגון זמינות המזון. לצורך בקרת ביטוי הגנים התאים זקוקים למנגנונים העונים על הדרישות האלה:

- הם חייבים להיות בעלי יכולת לזהות תנאים סביבתיים שבהם עליהם להפעיל או לדכא את תעתוק הגנים הרלוונטיים.
- הם חייבים להכיל חלבוני בקרה ורצפי בקרה המפעילים או מפסיקים את התעתוק של כל גן או של קבוצת גנים לפי הצורך.

לפי ממצאיהם של זקוב ומונו, חלק מהגנים של החיידק פועלים בקבוצת גנים המקודדים לאנזימים הקשורים לאותו מסלול של פירוק או הרכבה של אותו תוצר. גנים אלה נמצאים בסמיכות בכרומוזום החיידק ועוברים תעתוק כיחידה אחת למולקולה אחת של RNA-שליח. קטע DNA כזה, הכולל כמה גנים ומתועתק כיחידה אחת, נקרא **אופרון** (Operon). הבקרה המשותפת על גנים המקובצים באופרון מאפשרת לחיידק לשלוט באופן יעיל במגוון גנים. כאשר שינוי כלשהו בתנאי הסביבה מפעיל את אזור הבקרה של האופרון, מופעלים יחדיו כל הגנים הדרושים לביטוי התוצרים הנחוצים לסביבה שהשתנתה.

אופרון כולל גנים מבניים ואזורים של בקרה הפועלים כיחידה אחת (איור א-1). **גנים מבניים** הם גנים המקודדים חלבונים (אנזימים או חלבונים מבניים). גנים מבניים באופרון מקודדים חלבונים של מסלול מטבולי אחד הקשורים בתפקוד מסוים ומתועתקים כיחידה אחת. באזור הבקרה של כל אופרון נמצאים שני אתרי בקרה: **אתר מקדם** (Promoter), רצף נוקלאוטידים שאליו נקשר האנזים המתעתק RNA-פולימראז כאשר הוא מתחיל לתעתק את הגנים המבניים; ו**אתר מפעיל** (Operator), רצף בקרה שאליו נקשר חלבון בקרה (איור א-1). יש אופרונים עם רצפי בקרה נוספים הפועלים אף הם כאתרים הקושרים אליהם חלבון בקרה (איור א-2, אתר CAP).



איור א-1: מבנה אופרון

חלק מחלבוני הבקרה הם חלבונים מדכאי תעתוק הנקראים **דכאנים** (Repressors). דכאן הנקשר לאתר המפעיל מונע קשירה של RNA-פולימראז לאתר המקדם ומדכא את תהליך התעתוק. בקרה שבה חלבון בקרה מונע את תהליך התעתוק נקראת **בקרה שלילית**.

חלק מחלבוני הבקרה הם חלבונים מפעילי תעתוק. **מפעיל תעתוק** (Activator) הוא חלבון בקרה שנקשר לאזור בקרה ייחודי לו באופרון, וכתוצאה מכך הוא מגביר את התעתוק על ידי חיזוק הקשר בין RNA-פולימראז לאתר המקדם. בקרה שבה חלבון בקרה מעודד את התעתוק היא **בקרה חיובית**.

הגן המקודד את חלבון הבקרה נקרא **גן בקרה**. גן הבקרה אינו מהווה חלק מהאופרון והוא נמצא בריחוק ממנו (איור א-1).

אופרון הלפטוז בחיידק אי קולי

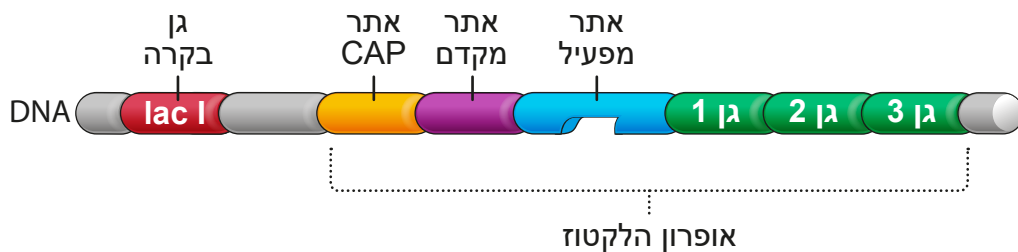
עבודתם החלוצית של ז'קוב ומונו הציגה את האופן שבו מבוקר המטבוליזם של לקטוז בחיידק אי קולי. ההתבטאות של אופרון הלפטוז משלבת בקרה שלילית ובקרה חיובית של תעתוק גנים בחיידק. חיידקי אי קולי יכולים לנצל לקטוז (דו-סוכר המורכב מהסוכרים גלוקוז וגלקטוז) כמקור לאנרגיה, אבל זה לא מקור המזון המועדף עליהם. אם יש גלוקוז בסביבתם, הם יעדיפו לנצל אותו. תהליך פירוק הגלוקוז וניצולו קצר יותר ודורש פחות השקעת אנרגיה בהשוואה לניצול הלפטוז. ואולם, אם הלפטוז הוא הסוכר היחיד שנמצא בסביבת החיידק, אי קולי ינצל אותו כמקור אנרגיה.

לניצול הלפטוז צריך החיידק לבטא שלושה גנים מבניים של אופרון הלפטוז (איור א-2) המקודדים לשלושה אנזימים הדרושים לניצול הלפטוז:

- גן אחד מקודד לאנזים בטא-גלקטוזידאז שמפרק את הלפטוז לגלוקוז ולגלקטוז.
- גן שני מקודד לחלבון נשא לאנזים פרמאז, שמאפשר ללקטוז לחדור לתא החיידק.
- גן שלישי מקודד לאנזים טראנסאצטילאז שמסייע בניצול הלפטוז.

נוסף על כך, אופרון הלפטוז מכיל גם שלושה אתרי בקרה:

- אתר מקדם: אתר הקשירה של האנזים RNA-פולימראז שמתעתק את שלושת הגנים המבניים.
- אתר מפעיל: אתר הקשירה של דכאן הלפטוז – חלבון המדכא את תעתוק הגנים המבניים. האתר המפעיל חופף בחלקו את האתר המקדם.
- אתר קשירת CAP: אתר קשירת החלבון CAP – חלבון המפעיל את תעתוק הגנים המבניים. אתר זה חופף בחלקו את האתר המקדם.



איור א-2: מבנה אופרון הלפטוז בחיידק אי קולי

תעתוק אופרון הלפטוז באי קולי נעשה רק כאשר מתקיימים שני תנאים:

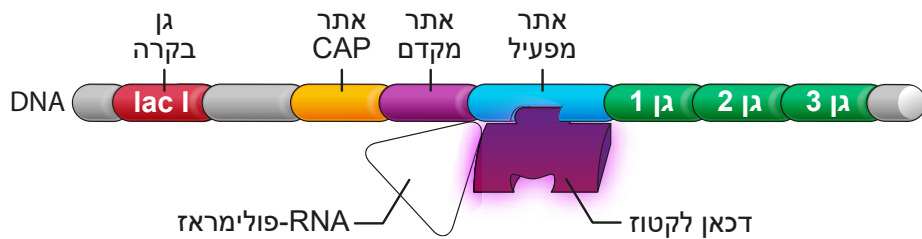
- יש לקטוז בסביבת החיידק
- אין גלוקוז בסביבת החיידק

במצב זה פועלים שני חלבוני בקרה: דכאן הלפטוז הפועל כחיישן לקטוז, והחלבון המפעיל CAP הפועל כחיישן גלוקוז. חלבוני בקרה אלה נקשרים לאתרי הבקרה באופרון הלפטוז ומווסתים את התעתוק שלו בהתאם לרמת הלפטוז והגלוקוז.

בקרה שלילית באופרון הלקטוז

סמוך לאופרון הלקטוז נמצא גן בקרה *lacI* המקודד את חלבון הבקרה דכאן הלקטוז (איור א-3). הגן אינו מהווה חלק מהאופרון ומתבטא באופן עצמאי. *lacI* מתבטא באופן תמידי, כך שדכאן הלקטוז מצוי תמיד בתא החיידק ויכול להשפיע על הביטוי של אופרון הלקטוז. דכאן הלקטוז קשור תמיד לאתר המפעיל, אלא אם חל שינוי במבנה שלו.

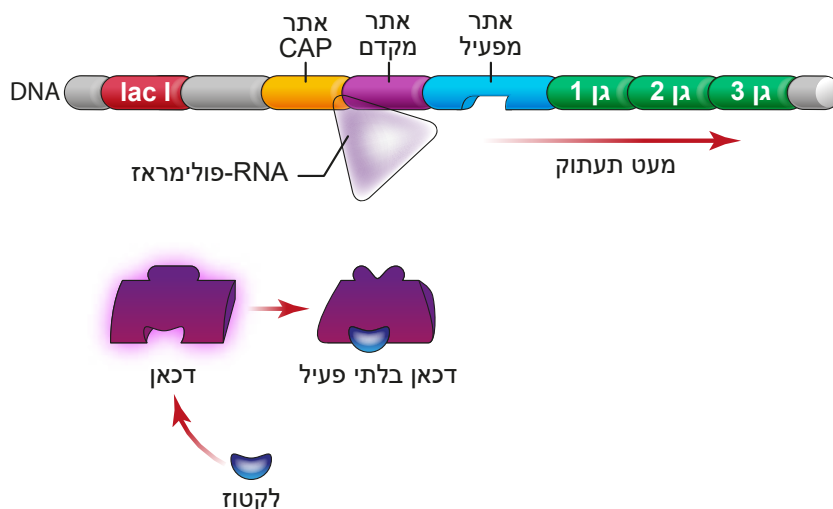
כאשר אין לקטוז בסביבת החיידק, הדכאן קשור לאתר המפעיל (איור א-3). האתר המפעיל חופף בחלקו את האתר המקדם, ולכן קשירת הדכאן לאתר המפעיל מפריעה לקשירת RNA-פולימראז לאתר המקדם. כתוצאה מכך נמנע התעתוק של הגנים המבניים של אופרון הלקטוז. כאשר אין לקטוז, הבקרה היא בקרה שלילית, המונעת ייצור אנזימים שאינם דרושים לחיידק.



איור א-3: השפעת דכאן הלקטוז על תעתוק אופרון הלקטוז בהעדר לקטוז

כאשר יש לקטוז בסביבת החיידק, הוא נקשר אל הדכאן. קשירת הלקטוז לדכאן גורמת לשינוי במבנה הדכאן באופן שהוא אינו יכול להישאר קשור לאתר המפעיל (איור א-4). ניתוק הדכאן מהאתר המפעיל מאפשר ל-RNA-פולימראז להיקשר לאתר המקדם ולתעתק את הגנים המבניים באופרון. הלקטוז הוא דוגמה ל**משרן** (Inducer), מולקולה שמשרה תעתוק של גנים באופרון. אופרון הלקטוז הוא **אופרון מושרה**, מאחר שהוא נמצא תמיד במצב מדוכא, אולם יכול להיות מופעל על ידי משרן.

משרן לקטוז מאפשר אמנם ל-RNA-פולימראז לתעתק את אופרון הלקטוז, אולם התעתוק אינו יעיל. RNA-פולימראז נקשר באופן רופף לאתר המקדם באופרון הלקטוז ומתעתק רק מולקולות מעטות של RNA-שליח (איור א-4).

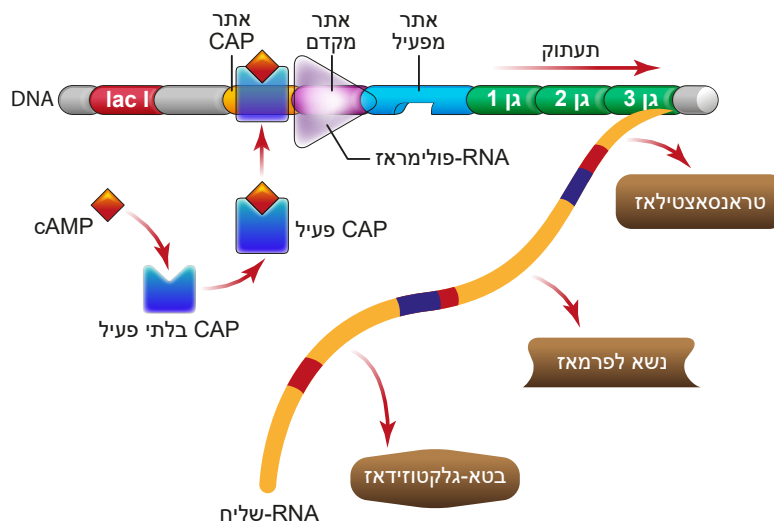


איור א-4: השפעת דכאן הלקטוז על תעתוק אופרון הלקטוז בנוכחות לקטוז

בקרה חיובית באופרון הלקטוז

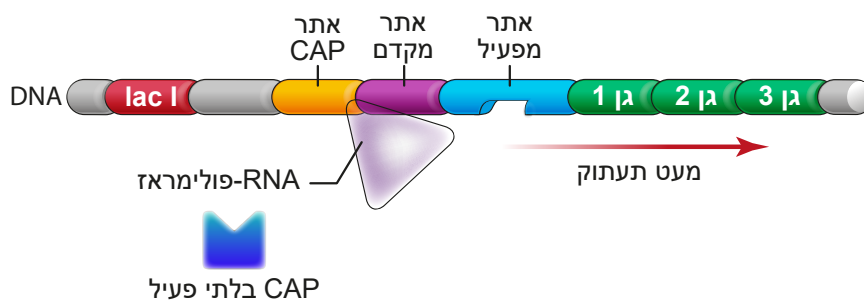
לתעתוק יעיל של אופרון הלקטוז דרוש חלבון בקרה נוסף – החלבון המפעיל CAP. CAP מקוֹדֵד על ידי גן בקרה שנמצא בכרומוזום החיידק באזור מרוחק מהאופרון ואינו מהווה חלק מהאופרון. גן הבקרה מתבטא באופן תמידי, ולכן החלבון CAP נמצא תמיד בתא החיידק. ואולם, הוא אינו פעיל כל הזמן. הפעילות שלו תלויה בריכוז הגלוקוז בתא.

כאשר ריכוז הגלוקוז בתא נמוך, נוצרות בתא מולקולות של AMP מעגלי (cAMP). AMP מעגלי היא מולקולת "סמן רעב" שנוצרת בחיידק רק כאשר ריכוז הגלוקוז בתא נמוך. AMP מעגלי נקשר לחלבון CAP ומשנה את המבנה שלו כך ש-CAP יכול להיקשר לאתר הבקרה הייחודי לו הסמוך לאתר המקדם באופרון הלקטוז. קשירה לאתר CAP מחזקת את הקשירה של RNA-פולימראז לאתר המקדם ומגבירה את התעתוק של הגנים המבניים (איור 5-א). אופרון הלקטוז מתועתק בכמות גדולה רק כאשר אין גלוקוז בסביבה. מנגנון זה מבטיח שהחיידקים יתחילו לנצל את הלקטוז רק לאחר שניצלו את כל הגלוקוז, הסוכר המועדף עליהם. בקרה מסוג זה, שבה החלבון המפעיל מגביר תעתוק על ידי קשירה לאופרון היא כאמור בקרה חיובית.



איור 5-א: תעתוק אופרון הלקטוז בהעדר גלוקוז

כאשר ריכוז הגלוקוז גבוה, לא נוצר AMP מעגלי. ללא AMP מעגלי, CAP אינו יכול להיקשר לאתר שלו והוא אינו פעיל. RNA-פולימראז נקשר לאתר המקדם, אולם הקשירה רופפת והתעתוק חלש (איור 6-א).



איור 6-א: תעתוק אופרון הלקטוז בנוכחות גלוקוז

דגם הביטוי של הגנים באופרון הלקטוז מושפע מתפקודיהם של החלבון הדכאן המפעיל בקרה שלילית; ושל התצמיד המכיל את החלבון CAP, המפעיל בקרה חיובית. הבקרה הכפולה הפועלת על אתחול התעתוק מאפשרת לחיידק ניצול יעיל וחסכני של מקורות הפחמן.

מן הרשת



בקרה שלילית באופרון הלקטוז

סרטון אנימציה (2:50 דקות) מדגים בקרה שלילית באופרון הלקטוז (דיבוב וכתוביות באנגלית).

אופרון הלקטוז

סרטון אנימציה (3:26 דקות) המדגים את הבקרה באופרון הלקטוז. הסרטון מלווה בכתוביות בעברית.

שאלות

1. השלימו את הטבלה ב"כן" ו"לא".

טבלה א-1: בקרה באופרון הלקטוז

המצב	דכאן לקטוז קשור לאתר המפעיל?	האנזים המתעתק נקשר לאתר המקדם?	רמת cAMP גבוהה?	חלבון CAP קשור לאתר הקשירה שלו?	התעתוק מתבצע ברמה גבוהה?
בנוכחות גלוקוז בהעדר לקטוז					
בהעדר גלוקוז בנוכחות לקטוז					
בנוכחות גלוקוז בנוכחות לקטוז					
בהעדר גלוקוז בהעדר לקטוז					

2. באתרים שונים, על גבי ה-DNA של חיידקי אי קולי, התרחשו מוטציות. שערך למה תגורם כל אחת מן המוטציות המופיעות לפניכם לביטוי גנים מבניים באופרון הלקטוז בהנחה שאין גלוקוז במצע.

- התרחשה מוטציה בגן הבקרה והיא מונעת יצירת חלבון דכאן.
- התרחשה מוטציה בגן הבקרה, כך שהחלבון דכאן שנוצר אינו מסוגל להתקשר לאזור המפעיל.
- התרחשה מוטציה בגן הבקרה, כך שמולקולת לקטוז אינה מסוגלת להתקשר לחלבון דכאן שנוצר.
- התרחשה מוטציה באתר המקדם, כך שלא מתאפשרת קשירה של האנזים RNA-פולימראז.

3. באופרון הטריפטופן של החיידק אי קולי יש חמישה גנים מבניים ואזור בקרה. הגנים המבניים מקודדים חמישה אנזימים המשתתפים בתהליך שבסופו מתקבלת החומצה האמינית טריפטופן. באזור אחר על גבי מולקולת ה-DNA של החיידק קיים גן בקרה. גן זה מקודד ליצירת דכאן הטריפטופן. גן זה פעיל באופן תמידי ומביא ליצירתו של הדכאן גם כאשר החומצה האמינית טריפטופן נמצאת במצע וגם כאשר היא חסרה בו.

דכאן הטריפטופן (בניגוד לדכאן הלקטוז) אינו נקשר כברירת מחדל לאתר המפעיל. הוא נקשר רק בנוכחות טריפטופן.

א. תארו את התהליכים המתרחשים באופרון הטריפטופן כאשר יש טריפטופן בתא החיידק.

ב. תארו את התהליכים המתרחשים באופרון הטריפטופן כאשר אין טריפטופן בתא החיידק.

ג. האם הבקרה של אופרון הטריפטופן היא חיובית או שלילית? הסבירו.

ד. האם הטריפטופן הוא משרן? הסבירו.

ה. האם באופרון הטריפטופן יש בקרה חיובית? הסבירו.

ו. מהי החשיבות של בקרת אופרון הטריפטופן לחיידק אי קולי?

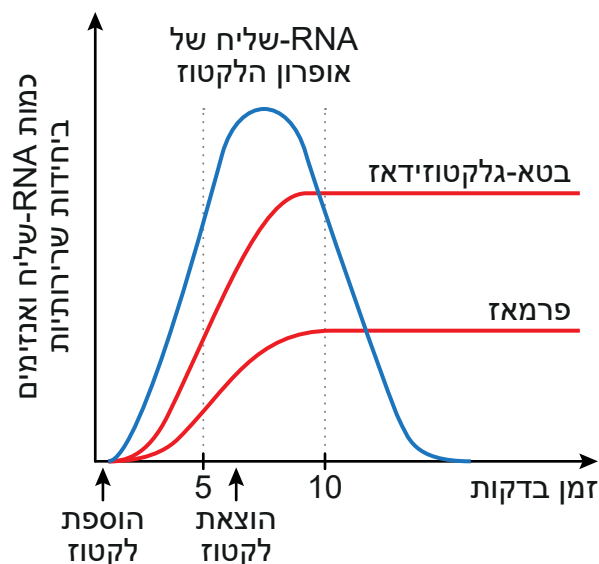
4. רצף DNA המקודד לחלבון מסוים כולל גן מבני ואת האתר המקדם שלו.

א. האם מוטציה בגן המבני יכולה לגרום להיווצרות חלבון שונה מן החלבון התקין? הסבירו.

ב. האם מוטציה באתר המקדם יכולה לגרום להיווצרות חלבון שונה מן החלבון התקין? הסבירו.

5. מולקולת ה-RNA-שליח של חלבוני אופרון הלקטוז אינה יציבה ומתפרקת בקלות ובמהירות. מהו היתרון של תכונה זו ביעילות מנגנון הבקרה באופרון זה?

6. הגרף באיור א-7 מתאר יצירה מושרית של RNA-שליח ושל האנזימים בטא-גלקטוזידאז ופרמאז שיצר אופרון הלקטוז בחיידקי אי קולי.



איור א-7: שינוי בריכוזים של RNA-שליח ושל אנזימים בהשפעת לקטוז

א. תארו את התהליכים שהתרחשו בתאי החיידקים כאשר הוסיפו את הלקטוז למצע המזון. הסבירו על פי מודל אופרון הלקטוז.

ב. ייצור האנזימים החל 1-2 דקות לאחר ייצור ה-RNA-שליח. הסבירו מדוע.

ג. מה התרחש בתאי החיידקים כאשר הוציאו את הלקטוז ממצע המזון? הסבירו על פי מודל אופרון הלקטוז.

ד. איזה יתרון יש לחיידק בהתרחשות המתארת את תגובת RNA-שליח להוצאת הלקטוז?

ה. כאשר מוציאים את הלקטוז ממצע הגידול, החיידק אינו זקוק לאנזימים הפועלים לפירוקו ולהכנסתו לתא. מדוע לא רואים ירידה בכמות האנזימים בטא-גלקטוזידאז ופרמאז מייד לאחר הוצאת הלקטוז מהמצע? ציינו והסבירו בקצרה שתי סיבות.

בקה ביצורים אוקריוטיים

בקה גנים מווסתת את קצב ייצור התוצרים המבטאים את הגנים, לפי הצורך. ביצורים חד-תאיים הבקה מיעלת את השימוש במקורות התאיים בתגובה לתנאים הסביבתיים של התא. באורגניזמים רב-תאיים מגדירה בקה הביטוי של הגן את מבנה התא ואת תפקודו, ובסופו של דבר את כל האורגניזם. בקה לקויה גורמת לסרטן, לפגמים מולדים ואף למוות.

בקה הביטוי של גנים ביצורים אוקריוטיים מורכבת יותר בהשוואה לאלה הפרוקריוטיים, ומשתתפים בה מרכיבים רבים. היא פחות ידועה מזו של החיידקים בגלל הגנומים הגדולים של אוקריוטים, המורכבות הגדולה יותר של רצפי הנוקלאוטידים בגנום, ובגלל הקושי לייצר ולבודד מוטציות שבעזרתן אפשר ללמוד על בקה הגן. כשהחלו לחקור את מנגנוני הבקה ביצורים אוקריוטים רב-תאיים נראה היה שהם שונים מאוד מאלה שבחיידקים, אולם במשך הזמן התברר שיש הרבה מאפיינים דומים. המחקרים שנעשו בחיידקים והדגמים שהוצעו על פי הממצאים שהתקבלו שימשו בסיס בחקר מערכות בקה על ביטוי של גנים ביצורים אוקריוטיים. בשנים האחרונות חלה התקדמות גדולה בהבנת המנגנונים המורכבים הזדות למחקרים רבים שנמשכים גם היום ולפיתוח טכנולוגיות מולקולריות.

אפשר לסווג את מנגנוני הבקה בתאים אוקריוטיים לשני סוגים:

- מנגנוני בקה לטווח קצר שהם מנגנונים של בקה הפיכה. מנגנונים אלה מאפשרים לתא להגיב במהירות לשינויים החלים בסביבה החיצונית.
- מנגנוני בקה לטווח ארוך שהם מנגנונים של בקה בלתי הפיכה. מנגנונים אלה פועלים בתהליכי ההתמיינות וההתפתחות של תאים.

לפני שנתעמק במנגנוני הבקה עצמם, נדון תחילה בגורמים המפעילים את מנגנוני הבקה באוקריוטים.

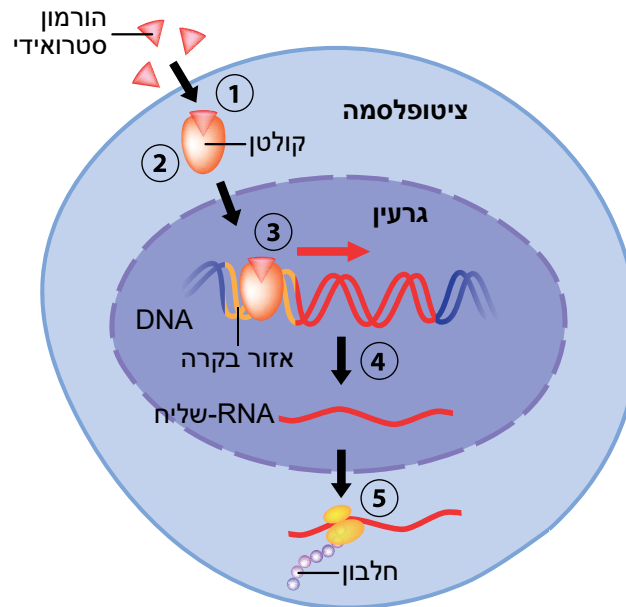
גורמים המפעילים את הבקה על ביטוי הגנים

תאים אינם מחליטים אילו גנים להפעיל או להשתיק. התאים מגיבים לאותות המסמנים להם אילו גנים לבטא. באורגניזמים חד-תאיים, כמו חיידקים, יש גנים שמופעלים בתגובה לאותות סביבתיים. ביצורים רב-תאיים מגיב התא האוקריוטי לאותות המגיעים אליו מתוך התא, מתאים שכנים, ומהסביבה החיצונית של האורגניזם. עצים, למשל, משירים את עליהם בתגובה לשינוי באורך היום; תאים במערכת העיכול מפרישים אנזימים ייחודיים בהתאם לסוג המזון שנאכל.

אותות פנימיים המגיעים מתוך התא הם, למשל, אותות המסמנים אם ה-DNA ניזוק, או מהי כמות ה-ATP שנמצאת בתא. אותות המגיעים מחוץ לתא הם, למשל, אותות כימיים ומכניים מתאים סמוכים המסמנים לתא לעבור חלוקה. האותות השונים מפעילים מסלולים כימיים בתוך התא המשפיעים על הביטוי של הגן.

רבים מן האותות המווסתים התבטאות של גנים עדיין לא זוהו. אך לחוקרים ברור כי רוב האותות המפעילים את מנגנוני הבקה בתא האוקריוטי הם גורמים כימיים, המופרשים גם הם כתגובה לאותות ייחודיים. הקבוצה הגדולה ביותר של גורמים כאלה כוללת את ההורמונים, המשפיעים הן על מהלך ההתפתחות העוברית והן על היצור הבוגר. טווח ההשפעה של ההורמונים שונה ממקרה למקרה: הורמונים מסוימים מפעילים סדרה של גנים בתאי המטרה שלהם, ואילו אחרים משפיעים על גנים בודדים. ההורמון אינסולין משפיע על קשת רחבה של תאים, בעוד שההורמון פרולקטין מעודד רק תאים מיוחדים המצויים ברקמת השד לייצר את חלבוני החלב. המידע המפורט ביותר המצוי בידינו הוא בדבר אורח פעולתם של הורמונים סטרואידיים (שבהם הורמוני המין אסטרוגן וטסטוסטרון). שלבי הפעולה של הורמון סטרואיד מתוארים באיור א-8.

1. הורמון סטרואידי חודר בדיפוזיה דרך קרום התא אל תוך תא מטרה הודות למסיסותו בשומן.
2. בציטופלסמה של תא המטרה הוא נקשר למולקולת קולטן ייחודית.
3. התצמיד הורמון-קולטן חודר לגרעין התא, ושם הוא נקשר לאזור בקרה של גן.
4. קישור זה מהווה אות שמפעיל את תעתוק הגן ל-RNA-שליח.
5. RNA-שליח מתורגם בציטופלסמה לחלבון.



איור א-8: תצמיד הורמון סטרואידי-קולטן מפעיל תעתוק גן

נוסף על ההורמונים, יש קבוצה גדולה של חלבונים, שמופרשים מסוג אחד של תאים ומשפיעים על התבטאות של גנים בתאים אחרים. בקבוצה זו נכללים גורמי גדילה. על השפעת גורמי גדילה בבקרת הביטוי של גנים תוכלו לקרוא בפרק על ההתמיינות של תאים בעמ' 50.

השלבים שבהם נעשית הבקרה על ביטוי הגנים

המעבר מגן לתוצר חלבוני בתאים אאוקריוטיים, ובמיוחד ביצורים רב-תאיים, הוא תהליך ארוך ומורכב בעל מספר שלבים. כל שלב ושלב נתון לבקרה, והאצה או האטה של כל שלב הינה בקרה - חיובית או שלילית - על ביטוי הגן. מנגנוני בקרה על הביטוי של הגנים יכולים לפעול בכל אחד מהשלבים שבהם זורם המידע התורשתי, החל ב-DNA שבכרומוזום וכלה במולקולות חלבון המיוצרות בתא ופועלות בו (איור א-9).



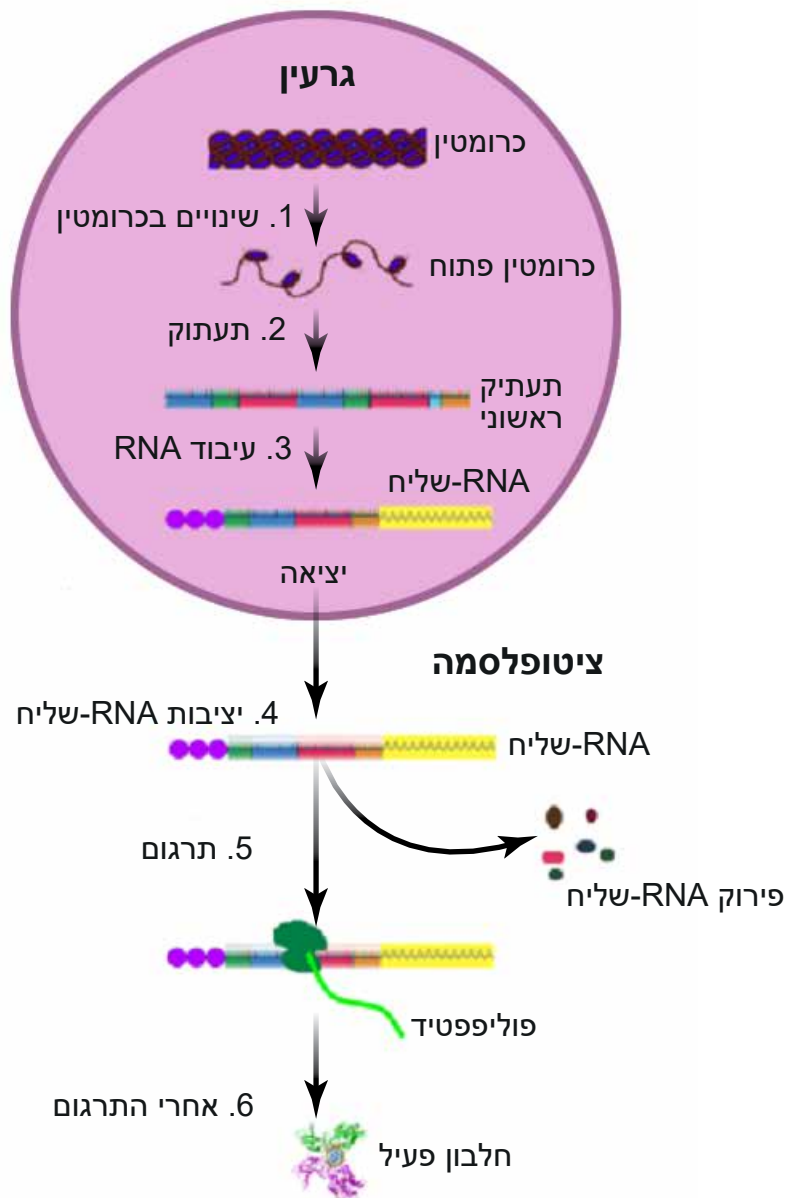
איור א-9: זרימת המידע הגנטי מ-DNA לחלבון

בהמשך הפרק נדון במנגנוני בקרה הפועלים בשישה שלבים בשלוש רמות שונות (איור א-10):

ברמת ה-DNA: שינויים במבנה הכרומטין (1)

ברמת ה-RNA: תעתוק (2), עיבוד RNA (3), יציבות RNA-שליח (4)

ברמת החלבון: תרגום (5), אחרי התרגום (6).



איור א-10: שישה שלבים בהם נעשית הבקרה על הביטוי של הגנים בתא אאוקריוטי

מנ הרשת

מנגנון הפעולה של הורמון סטרואידי

סרטון אנימציה מדגים את מנגנון הפעולה של הורמון סטרואידי בבקרת תעתוק של גן (דיבוב עם כתוביות באנגלית).

מ-DNA לחלבון

סרטון אנימציה (2:41 דקות) להדגמת שלבי מעבר המידע מ-DNA לחלבון באאוקריוטים. הסרטון מלווה בכתוביות בעברית.

בקרת הביטוי של גנים באאוקריוטים

סרטון אנימציה (1:45 דקות) מדגים בקרת הביטוי של גנים באאוקריוטים בשלבים שונים של העברת המידע מ-DNA לחלבון (דיבוב עם כתוביות באנגלית).

בקרה על ידי שינויים במבנה הכרומטין – בקרה אפיגנטית

התעתוק מהווה את השלב העיקרי והחשוב ביותר בבקרת הביטוי של גן בכל היצורים. ואולם, לפני התעתוק, חייבת אריזת הכרומטין להיפתח כדי לאפשר גישה של מערכת התעתוק אל הגן.

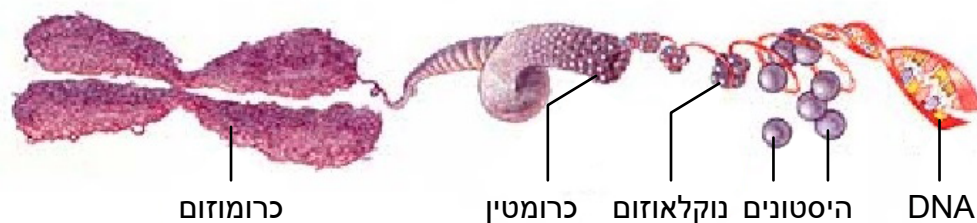
שינויים כימיים הגורמים לשינויים בצפיפות מבנה הכרומטין יכולים להשפיע על הביטוי של גנים. כרומטין דחוס לא מאפשר גישה של גורמים החיוניים לתעתוק הגנים, ואילו כרומטין פתוח מאפשר גישה של גורמים אלה למולקולת ה-DNA, ומתרחש תעתוק של הגן. שינויים כימיים הגורמים לשינוי דחיסות הכרומטין אינם גורמים שינוי כלשהו ברצף ה-DNA עצמו, ועשויים לעבור בתורשה מתא אֶם לתאי הבת שלו, או מהורה לצאצא. שינויים בביטוי של הגן שעוברים בתורשה באמצעות שינויים שאינם משפיעים על רצף ה-DNA נקראים **שינויים אפיגנטיים**; אֶפִי – נוסף, כלומר נוסף לגנטיקה, נוסף לרצף הנוקלאוטידים של ה-DNA. הגנטיקה עוסקת בתורשה של שינויים ברצף ה-DNA (מוטציות); ואילו האפיגנטיקה עוסקת בתורשה של שינויים שאינם פרי מוטציות, אלא תוצאת שינויים כימיים בכרומטין. שינויים אפיגנטיים מפעילים ומשתיקים גנים ביעילות רבה.

בשנים האחרונות גילו מדענים שתופעות גנטיות רבות שלא זכו להסבר בעבר נובעות משינויים אפיגנטיים במבנה הכרומטין, שמשפיעים על הביטוי של הגנים. לדוגמה, שינויים אפיגנטיים יכולים להסביר מדוע אחד מתאומים זהים סובל ממחלה עם בסיס גנטי כמו סכיזופרניה, ואחיו התאום, עם גנום זהה, אינו סובל ממנה. שינויים אפיגנטיים עוברים בתורשה לפעמים מספר דורות, אולם הם שונים מתכונות גנטיות; הם אינם מקודדים ב-DNA והם הפיכים.

בבקרה אפיגנטית על הביטוי של הגנים מעורבים שינויים כימיים במבנה הכרומטין. בהמשך הפרק נדון בעיקריים שבהם.

מבנה הכרומטין

באאוקריוטים ארוז החומר הגנטי בגרעין התא ככרומטין שבו ה-DNA מלוּפֵּף סביב חלבונים, בעיקר היסטונים (איור א-11). הודות למטענים החשמליים המנוגדים שלהם קיים קשר הדוק בין ה-DNA לבין ההיסטונים; ההיסטונים עשירים בחומצות אמיניות ארגינין וליזין המקנות להם מטען חשמלי חיובי, וה-DNA טעון במטען חשמלי שלילי. תצמיד ה-DNA עם ההיסטונים מסודרים כ"מחרוזת" לאורך מולקולת ה-DNA הארוכה. כל "חרוז" נקרא נוקלאוזום, והוא בנוי מ-DNA ומ-8 מולקולות של היסטונים (איור א-11). להיסטונים יש זנבות של שיירי חומצות אמיניות הבולטות כלפי חוץ, ואליהן יכולות להיקשר קבוצות כימיות שונות כפי שנראה בהמשך.



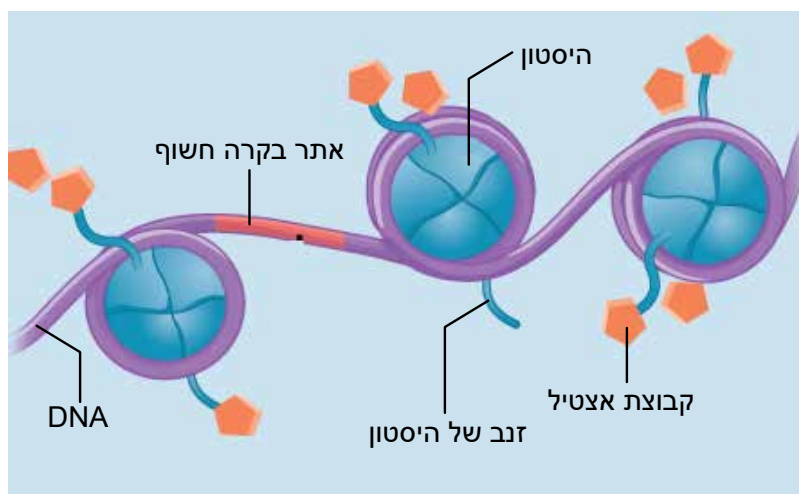
איור א-11: מבנה הכרומטין

אריזת ה-DNA בנוקלאוזום מגנה על ה-DNA מפני פגעים שונים; ונוסף על כך, הליפוף המיוחד של מולקולת ה-DNA סביב היסטונים מאפשר אריזה צפופה ביותר שלה. הליפוף מקטין פי 10,000 את גודלה של מולקולת ה-DNA, ומאפשר למולקולה באורך 5 ס"מ להידחס לגרעין התא שקוטרו הוא 5-10 מיקרומטר.

לכרומטין השפעה רבה על מידת הביטוי של כל גן. כאשר מבנה הכרומטין צפוף באזור בקרת תעתוק הגן, נחסמת הגישה של האנזים המתעתק ושל חלבונים חיוניים לתעתוק אל אזור הבקרה, ובכך נמנע תהליך התעתוק. הודות לאריזה הצפופה של הכרומטין באזורי הבקרה רוב הגנים האאוקריוטיים, בכל מצב נתון, מושתקים ולא מתועתקים. מבנה מרווח של הכרומטין, לעומת זאת, מאפשר גישה אל האזורים החיוניים ב-DNA לתעתוק הגן. כאשר יש צורך בתעתוק גן, חלים שינויים במבנה הכרומטין ממבנה צפוף למבנה מרווח המאפשר את התעתוק. שינוי מבנה הכרומטין הוא מאפיין מיוחד של בקרת ההתבטאות בגנים אאוקריוטיים. אנזימים מיוחדים יכולים להשפיע על הקשר בין ה-DNA למרכיבים האחרים של הכרומטין ובכך לצופף או לרווח אותו. השינויים בכרומטין יכולים להתרחש על ידי שינויים בהיסטונים או שינויים ב-DNA.

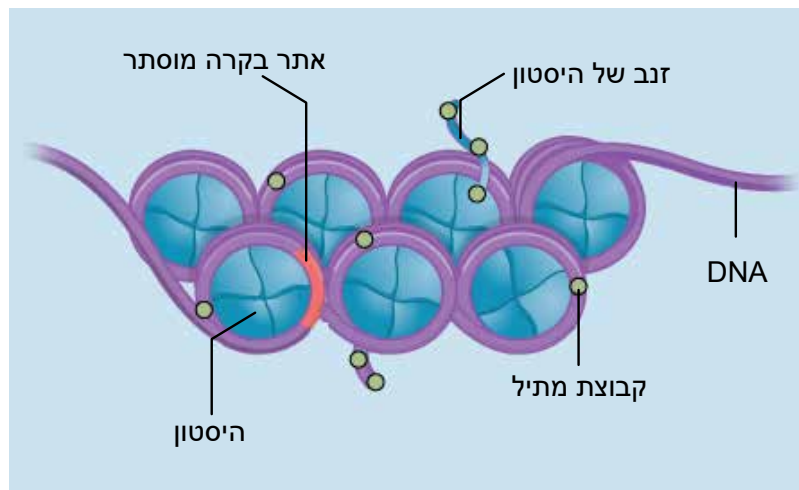
שינויים בהיסטונים

שינויים כימיים בהיסטונים גורמים לשינוי מבנה הכרומטין על ידי החלשה או חיזוק הקשר בין ההיסטונים וה-DNA בנוקלאוזומים. שינוי כזה יכול להיות אצטילציה – הוספת קבוצות אצטיל (CH_3CO) על ידי אנזימים הקושרים קבוצות אצטיל. אצטילציה מופיעה בשיירי החומצה האמינית ליזין בזנבות של היסטון. שינוי זה מפחית את המטען החיובי של זנבות ההיסטון ומפחית את חוזק הקשירה של הזנבות ל-DNA הטעון במטען שלילי. שינויים כאלה באזור הנוקלאוזום חושפים את אתר הבקרה - אזור ב-DNA החיוני לתהליך התעתוק (איור א-12). באופן דומה, יש אנזימים המרחיקים קבוצות אצטיל מזנבות מולקולות היסטון (דאצטילציה), גורמים לדחיסת הכרומטין ומונעים בכך את תעתוק הגן.



איור א-12: אצטילציה של זנבות היסטונים חושפת את ה-DNA ומאפשרת תעתוק גן

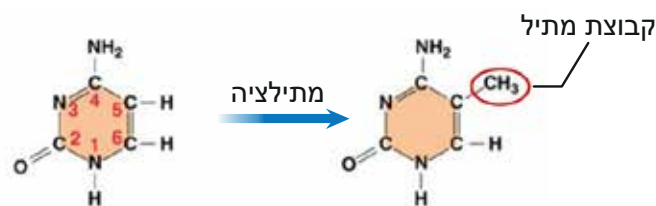
היסטונים יכולים להשתנות גם בעקבות מתילציה (הוספת קבוצות מתיל). מתילציה במקומות מסוימים בהיסטונים מחזקת את הקשר בין ההיסטונים ל-DNA וגורמת לכרומטין להידחס. דחיסת הכרומטין מסתירה אתרי בקרה ב-DNA ומונעת את תעתוק הגן (איור א-13). מתילציה בהיסטונים מסוימים גורמת לפתיחת הכרומטין ולחשיפה של אתר הבקרה. נוסף על אצטילציה ומתילציה יש שינויים כימיים נוספים בהיסטונים שיכולים לגרום לדחיסת הכרומטין או לפתיחה שלו, ובהם זרחון.



איור א-13: מתילציה של היסטונים מונעת תעתוק גן

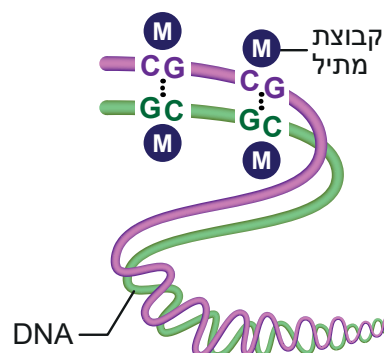
שינויים ב-DNA - מתילציה של DNA

דרך נוספת לשינוי מבנה הכרומטין היא שינוי ה-DNA. השינוי העיקרי נעשה על ידי הוספה של קבוצות מתיל (CH_3) ל-DNA או הרחקה שלהן באמצעות אנזימים ייחודיים לכך. הוספת קבוצות המתיל נקראת מתילציה; והרחקת קבוצות המתיל – דמיתילציה. המתילציה ב-DNA מתרחשת אחרי תהליך השכפול על ידי אנזים המוסיף קבוצות מתיל לבסיסים החנקניים או לסוכרים. ביונקים, קבוצות המתיל נקשרות לרוב לפחמן 5 בבסיסי ציטוזין (איור א-14).



איור א-14: מתילציה של DNA בציטוזין

מתילציה מתרחשת בדרך כלל ברצפי CG - שבהם הבסיס ציטוזין נמצא סמוך לבסיס גואנין באותו גדיל של ה-DNA (איור א-15).



איור א-15: מתילציה של בסיסי ציטוזין ברצפי CG

רצפי CG שעברו מתילציה אינם מפוזרים באופן אקראי בגנום, אלא מרוכזים באתרי הבקרה הסמוכים לפני רצף הגן, בדרך כלל באתר המקדם. אזורים אלה קרויים AII CG. לכ-70% מהגנים באדם יש AII CG באתרים המקדמים של הגנים. מתילציה של צמדי CG באתרים מקדמים מובילה להשתקה של התבטאות הגן. מתילציה של DNA הכרחית להתפתחות נורמלית של העובר, וקשורה לתהליכי מפתח אחדים כמו: השתקה של כרומוזום X ביונקים (עמ' 15), הזדקנות וסרטן.

נראה שמתילציה של DNA יכולה להשפיע על תעתוק גן בשתי דרכים. המתילציה יכולה לעכב באופן פיזי את הקשירה של חלבונים הדרושים לתעתוק אל רצף הבקרה בגן. המתילציה יכולה גם לגייס חלבונים שנקשרים ישירות לקבוצות המתיל. חלבונים אלה "מגייסים" חלבונים נוספים לאתר, כמו חלבונים שגורמים לדאצטילציה של היסטונים, וכתוצאה מכך נוצר כרומטין צפוף ובלתי פעיל.

השתקת גנים על ידי מתילציה של DNA מוגבלת בעיקר לגנים שצריכים להיות מושתקים לתמיד וברוב הרקמות, כמו למשל גנים שסיימו את תפקידם בהתמיינות תאים. השתקת גנים במנגנון זה אינה מהירה מספיק ולכן אינה מתאימה לשינויים מהירים בתנאי הסביבה.

חלוצי האפיגנטיקה הישראלים

שני חוקרים מהאוניברסיטה העברית זכו בפרס גרדנר 2011 – פרס המוענק מדי שנה לחוקרים מרחבי העולם על תרומה יוצאת דופן למחקר הרפואי: פרופ' חיים סידר ופרופ' אהרון רזין מהמכון למחקר רפואי בפקולטה לרפואה של האוניברסיטה העברית. על מחקריהם המשותפים שנמשכים כבר 35 שנה זכו החוקרים בפרסים יוקרתיים נוספים: פרס ישראל, פרס וולף, פרס א.מ.ת, והפרס ע"ש לואיזה גרוס הורוביץ.

לפי ועדת השופטים, הפרס ניתן לשניים "על תרומתם היסודית והחלוצית להבנת תפקיד המתילציה של ה-DNA בבקרת ביטוי גנים". החוקרים זכו בפרס בזכות עבודתם בתחום מנגנון הבקרה על גנים, כמו שהסבירו: "התאים בגופנו יודעים כיצד ליצור את הרכיבים השונים בגוף באמצעות קריאת המידע המקודד בגנים שלנו. המידע הקיים בכל תא בגופנו פוענח לחלוטין כחלק מפרויקט גנום האדם, והוא משמש בסיס להבנת מחלות גנטיות. במחקרנו גילינו שאותו מידע מפורש באמצעות תהליך כימיקלי הקרוי מתילציית DNA. תהליך המתילציה מהווה מנגנון בקרה על הגנים – הוא מסמן לגנים ברקמות השונות אם עליהם לקרוא מידע מסוים או להתעלם ממנו. גילינו שלמנגנון זה חשיבות קריטית בבקרת ההתפתחות העוברית ובקביעת ביטוי של גנים ברקמות מסוימות. כמו כן, הוא מאפשר התאמה מהירה של האורגניזם לשינויים בסביבה ללא שינוי ברצף ה-DNA. תחום נוסף שבו קיימת חשיבות רבה למנגנון המתילציה של DNA הוא חקר הסרטן, מכיוון שבקרה לקויה של המנגנון גורמת לדיכוי ההתבטאות של גנים שתפקידם למנוע התפתחות סרטנית. מדובר בסוג חדש של מידע ביולוגי שלא היה מוכר בעבר ושאחראי על הסדרת תהליך ההתפתחות של האדם".

בשלושת העשורים האחרונים הולכת וגדלה המודעות לתפקיד המרכזי שממלאת האפיגנטיקה בבקרה על ביטוי של גנים. בד בבד הולכת ומתבררת החשיבות שיש לתפקוד לקוי של האפיגנטיקה במצבי מחלה כמו סרטן, מחלות התנהגותיות, מחלות גנטיות של מערכת העצבים ועוד.

שינויים אפיגנטיים יכולים לגרום לסרטן

במשך שנים רבות היה מקובל שמוטציה ב-DNA גורמת לשינוי בהרכב הבסיסים של ה-DNA, וכי כתוצאה מהשינוי הגנטי תא בריא הופך לתא סרטני. בשנים האחרונות התגלה כי לשינויים אפיגנטיים במבנה הכרומטין השפעה רבה על התפתחות סרטן, נוסף על מוטציות ב-DNA. שינויים אפיגנטיים, כמו מתילציה של DNA או דאצטילציה של חלבוני היסטון באזורי הבקרה של גנים מסוימים, יכולים לגרום לשינוי בהתבטאות הגנים ולהפיכת התאים לסרטניים.

נמצא כי בתאים הסרטניים חל שינוי אפיגנטי המתבטא ברמת המתילציה. עלייה ברמת המתילציה באזורי הבקרה של גנים מדכאי סרטן גורמת להפיכת התאים לסרטניים. מתילציה זו מובילה להשתקת גנים שמעורבים בתהליכים כמו תיקון DNA, בקרה על חלוקת התא, ותהליך המוות המתוכננת מראש (אפופטוזיס) – תהליכים המעכבים את התפתחות הסרטן. ירידה ברמת מתילציה בגנים אונקוגנים (מחוללי סרטן) גורמת אף היא להתמרת התא הנורמלי לתא סרטני. אונקוגנים הם גנים המעודדים חלוקות תאים. הגברת התעתוק של אונקוגנים כגון CT-I HRAS בתאי העור היא גורם חשוב בהתפתחות מלנומה.

השתקת כרומוזום X בעזרת שינוי מבנה הכרומטין

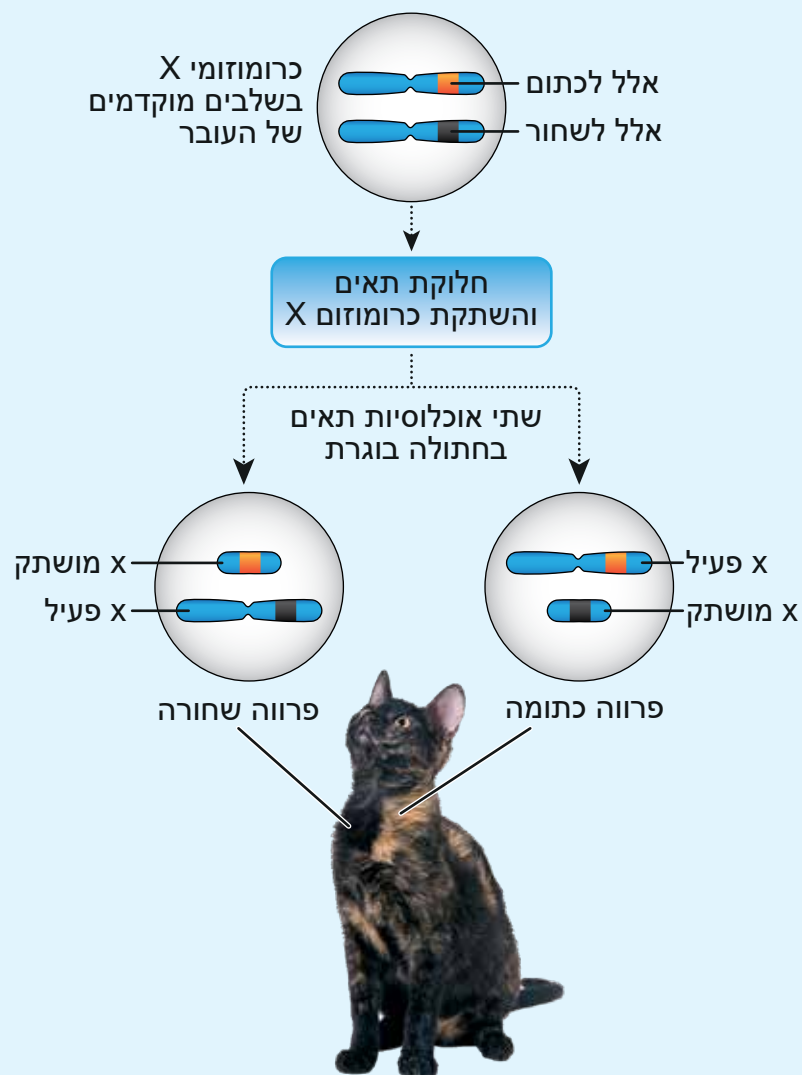
השפעת מתילציה של DNA על ביטוי גנים אפשר לראות בתופעה של השתקת כרומוזום X בנקבות יונקים. מראשית המאה הקודמת עסקו חוקרי הגנטיקה בשאלה מהו המנגנון האחראי להתבטאות השווה של גנים הנמצאים על כרומוזום X בין זכרים ונקבות, אף על פי שלנקבות יש מנה כפולה של כרומוזום זה לעומת זכרים. ב-1961 הציעה החוקרת מרי ליון (Mary Lyon) הסבר לתופעה. בתאים של נקבות יונקים פעיל רק כרומוזום X אחד, ואילו כרומוזום X השני הוא בלתי פעיל.

לפי התיאוריה של ליון ההשתקה של כרומוזום X מתרחשת בשלב העוברי של התפתחות הנקבה ביונקים, כאשר ישנם כבר כמה מאות תאים בעובר. בכל תא בנפרד מתרחשים שינויים בכרומטין (מתילציה של DNA, דאצטילציה של היסטונים, ומתילציה של היסטונים) של אחד מכרומוזומי ה-X. השינויים גורמים לדחיסה ונטרול של הכרומוזום. התהליך אקראי, ולכן בכל תא של העובר יושקת כרומוזום X אחר: במחצית מהתאים של העובר יתבטא כרומוזום X מהאם, וכרומוזום X מהאב יושקת; ובמחצית מהתאים יתבטא כרומוזום X של האב, וכרומוזום X מהאם יושקת. הכרומוזום המושקת ממשיך להיות משוכפל במיטוזה, אך לא מתועקת ולכן לא יתבטא בתא. ההשתקה של אותו כרומוזום נמשכת גם בתאי הבת שנוצרים מחלוקת התא. כאשר מסתכלים במיקרוסקופ בתאי נקבה, אפשר להבחין בכרומוזום X המושקת, הנראה כגופיף כהה קטן הנמצא סמוך לקרום הגרעין. גופיף זה נקרא גופיף בר.

מוזאיקה של אללים בנקבות יונקים

בשלבים רבים של התפתחות האורגניזם נשארים תאים ממוצא משותף סמוכים זה לזה, ולכן גופה של נקבת היונק הוא תמיד מעין מעשה תשבץ: אזורים שבהם פעיל כרומוזום X שירשה מאמה לצד אזורים שבהם פעיל כרומוזום X שירשה מאביה.

האללים בכרומוזומי X השונים מקדדים ביטוי שונה של תכונה מסוימת, ולכן אפשר לראות מעין מוזאיקה של התכונה בגוף. דוגמה מוחשית למנגנון ההשתקה של כרומוזום X הוא התבטאות צבע פרווה בחתולות קליקו (calico) שלהן שני צבעים, כתום ושחור; תכונה זו מקודדת על ידי גן המצוי בכרומוזום X. בחתולות אלה יש מעורבות של גן צבע המצוי בכרומוזום X ובעל אללים כתום או שחור. אם נקבת חתול מקבלת מהאם כרומוזום X עם צבע אחד (למשל, כתום) ומהאב כרומוזום X עם הצבע השחור, כתוצאה מהשתקה אקראית של כרומוזום X בחלק מהאזורים בעור השיער יהיה כתום, ובאחרים שחור (איור א-16). זכרים יכולים להיות בעלי צבע אחד בלבד, כתום או שחור.



איור א-16: התבטאות צבע בפרוות חתולות calico עקב השתקת כרומוזום X



אפיגנטיקה בשירות הבקרה על ביטוי גנים

פרופ' אהרון רזין מתאר את מחקריו המשותפים עם פרופ' חיים סידר אשר גילו לפני 35 שנים מנגנון חדש לבקרת ביטוי גנים. מנגנון שאינו "כתוב" ישירות ברצף ה-DNA, אלא נובע משינויים כימיים של בסיסי ה-DNA. ברבות הזמן קיבלה הבקרה הזאת את השם אֶפִּיגֶנְטִיקָה.

אפיגנטיקה – תורשה לא רק בגנים

פרופ' חיים סידר שינה את הדרך שבה אנו מבינים כיצד גנים פועלים. סידר גילה שלאחר הפריית הביצית, כל המתילציות נמחקות כדי לאפשר תכנות מחדש של התא. דגם המתילציה משתנה במהלך ההתפתחות העוברית כדי לאפשר השתקה של גנים שתפקידם הסתיים ולאפשר הפעלה של גנים הדרושים להמשך ההתמיינות.

מה זה אפיגנטיקה?

סרטון אנימציה של Ted (5 דקות) מתאר כיצד שינויים אפיגנטיים מסבירים התפתחות שונה אצל תאומים זהים גם בתכונות עם בסיס גנטי. הסרטון מלווה בכתוביות בעברית.

איך החוויות המוקדמות שלנו נרשמות בתוך ה-DNA?

בסרטון Ted (עם תרגום לעברית) משה שיף טוען שה-DNA אינו רק רצף של אותיות; הוא לא רק תסריט, הוא סרט דינמי שעליו נכתבות החוויות שלנו. שיף הוא חלוץ בתחום האפיגנטיקה, החוקר איך יצורים חיים מתכנתים את הגנום שלהם מחדש בתגובה לגורמים חברתיים כמו לחץ ומחסור במזון. המחקר שלו מציג שאותות ביוכימיים (שינויים אפיגנטיים) העוברים מאמהות לצאצאים שלהן אומרים לילד באיזה עולם הוא הולך לחיות, באופן שמשנה את ביטוי הגנים.

השתקת כרומוזום X ואפיגנטיקה

סרטון עם תרגום לעברית (11 דקות), מתמקד בהשתקה (אינאקטיבציה) של כרומוזום X בנקבות של יונקים בבקרה אפיגנטית.

מדענים הוכיחו יכולת להשתקת הכרומוזום המיותר האחראי לתסמונת דאון

עד כה נחשבה השתקה של כרומוזום המכיל אלפי גנים לבלתי אפשרית משום שהיה צורך להשתיק כל גן בנפרד. המדענים השתמשו באמצעי שבו הגוף משתיק כרומוזום X אחד אצל נקבות היונקים כדי להשתיק את כרומוזום 21 המיותר אצל חולי תסמונת דאון.

אפיגנטיקה: המתגים הסמויים של הנפש

חוויות החיים עשויות לעורר מחלות נפש בדרך מפתיעה: הן יוצרות שינויים "אֶפִּיגֶנְטִיים" במוח המפעילים ומכבים גנים בלי לשנות את הגנים עצמם.

האם אני זה (רק) הגנים שלי?

האם כל התכונות שלנו נקבעות על ידי המטען התורשתי שאיתו באנו לעולם? מדע האפיגנטיקה טוען שאנחנו יכולים ממש להשפיע על הגנים שלנו ושל צאצאנו באופן פעיל.

אפיגנטיקה – גישה חדשה למניעה ולטיפול במחלות ניווניות

אפיגנטיקה היא תיאוריה חדשה יחסית שלפיה שינויים בהיסטון והשפעתם על יכולת ההתבטאות של ה-DNA בתאים מסבירים לפחות חלקית בעיות בריאות רבות כמו סרטן, מחלות לב ומחלות נירולוגיות. תזונה ושינוי התנהגותי יכולים למנוע את השינויים בהיסטון, ובעקבות כך לטפל במחלות הניווניות.

בשאלות 1-3 בחרו תשובה אחת נכונה.

1. אילו שינויים הם אפיגנטיים?
 - א. הוספה או סילוק קבוצות כימיות להיסטונים ול-DNA
 - ב. הרחקת נוקלאוזומים מה-DNA
 - ג. הוספת נוקלאוזומים ל-DNA
 - ד. שינויים בקוד הגנטי
2. איזה מהמשפטים הבאים **אינו** נכון לגבי תהליך השתקת כרומוזום X בנקבות יונקים?
 - א. התהליך הוא אקראי
 - ב. התהליך מתרחש במהלך התפתחות העובר
 - ג. התהליך מתרחש בעקבות שינויים אפיגנטיים באחד מכרומוזומי ה-X
 - ד. ברוב התאים מושתק כרומוזום X של האם
 - ה. שיתוק הכרומוזום ממשיך בתאי הבת לאחר חלוקת התא
3. איזה מהמשפטים הבאים **נכון** לגבי שינויים אפיגנטיים?
 - א. גורמים תמיד לדחיסת אריזת הכרומטין באזור בקרת הגן
 - ב. לתאומים זהים יש אותם שינויים אפיגנטיים
 - ג. מדכאים תמיד התבטאות גן
 - ד. אינם עוברים בתורשה
 - ה. גורמים לשינויים ב-DNA
4. הסבירו כיצד אריזת ה-DNA באאוקריוטים משפיעה על התבטאות הגנים.
5. עיוורון צבעים היא מחלה רצסיבית שמקורה במוטציה שהתרחשה בגן הנמצא בכרומוזום X. גן זה מקודד חלבון הדרוש לראיית צבעים. גבר הנושא את האלל הפגום הוא עיוור צבעים. אישה הטרוזיגוטית הנושאת את האלל הפגום תוכל לראות צבעים (בצורה חלקית או מלאה).
 - א. מדוע גבר הנושא את האלל הפגום הוא עיוור צבעים?
 - ב. מדוע אישה נשאית אינה עיוורת צבעים, למרות שרק כרומוזום X אחד פעיל בכל אחד מתאי הגוף שלה? הסבירו.
 - ג. באיזה מקרה ראיית הצבעים של אישה נשאית תהיה מלאה, ובאיזה מקרה היא תהיה חלקית? התייחסו לתוצר החלבוני שנוצר על ידי הגן המקודד ראיית צבעים.
6. ניוון שרירים על שם דושן היא תסמונת גנטית רצסיבית. המחלה נגרמת כתוצאה מאלל מוטנטי בגן המקודד לחלבון דיסטרופין, המהווה רכיב מבני חשוב של תאי שריר. האלל המוטנטי גורם להיווצרות חלבון פגום שאינו מתפקד. תאי השריר הופכים להיות שבירים וגורמים לניוון רקמת השריר. רוב הסובלים מן המחלה הם גברים. אצל נשים הטרוזיגוטיות לאלל הפגום יש ברקמת השריר אזורים מנוונים ולצידם אזורים תקינים.
 - א. באיזה כרומוזום נמצא הגן המקודד דיסטרופין? רשמו שתי עובדות התומכות בתשובתכם והסבירו.
 - ב. הסבירו כיצד נוצרו אצל נשים הטרוזיגוטיות לאלל הפגום, זה לצד זה, אזורים פגועים ואזורים בריאים ברקמת השריר.
 - ג. הגן לדיסטרופין נמצא גם בתאי העצב של אישה נשאית. האם ימצאו אזורים מנוונים ואזורים תקינים ברקמת העצב? הסבירו.

בקרת התעתוק

מנגנון בקרה חשוב על ביטוי גנים באאוקריוטים נעשה בשלב התעתוק, ובאופן מיוחד בשלב האתחול – שלב התחלת התעתוק. בקרה בשלב אתחול התעתוק משיגה רמת ביטוי של גן הדרושה לתא באופן יעיל וחסכני; התא אינו מבזבז את משאביו על ייצור מולקולות RNA-שליח וחלבונים מיותרים.

על מנת להתחיל בתעתוק גן, האנזים RNA-פולימראז חייב להגיע לגדיל ה-DNA ולהיקשר אל האתר המקדם של הגן. מהאתר המקדם האנזים מתחיל לתעתק את רצף ה-DNA למולקולות RNA-שליח. המנגנון לבקרת אתחול התעתוק זהה בעיקרו בכל היצורים. חלבוני בקרה מזהים אתרי בקרה בעלי רצפים קצרים ב-DNA (באורך של 10-15 נוקלאוטידים) ונקשרים אליהם באופן ייחודי. מבנה תלת ממדי מסוים בחלבון ייקשר לרצף נוקלאוטידים מסוים ב-DNA על פי התאמה מרחבית ביניהם (ראו איור א-18). קשירה של חלבון הבקרה לאתר הבקרה יכול לזרז את התעתוק על ידי קשירת RNA-פולימראז לאתר המקדם, או יכול לדכא את תעתוק הגן על ידי מניעת קשירת האנזים לאתר המקדם. קישור של חלבוני בקרה מפעילים (אקטיבטורים) לאתר המקדם מאפשר תעתוק של הגן וייצור חלבון. לחלופין, קישור של חלבוני בקרה מעכבים (דכאנים) לאתר המקדם יעכב את התעתוק ואת ייצור החלבון המקודד על ידי גן זה. בקרה זו על תהליך תעתוק הגן היא הבקרה הנפוצה ביותר ומתרחשת בהרבה גנים המקודדים חלבונים.

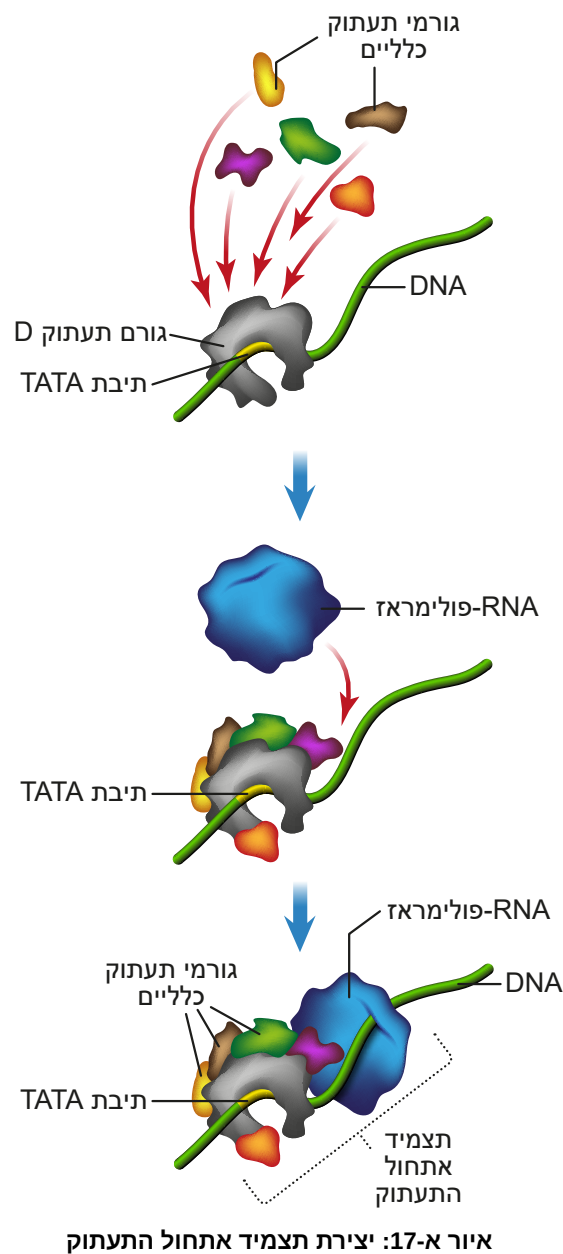
כדי לקשור את RNA-פולימראז לאתר המקדם נדרשות שתי פעולות עיקריות:

- לאפשר נגישות של RNA-פולימראז אל האתר המקדם של הגן

- ליצור תצמיד חלבונים לאתחול התעתוק

הנגישות של RNA-פולימראז אל האתר המקדם מתאפשרת הודות לאנזימים הגורמים לשינוי מבנה הכרומטין ופתיחתו באזור האתר המקדם של הגן. בניגוד ל-RNA-פולימראז של פרוקריוטים, ה-RNA-פולימראז של אאוקריוטים לא מצליח לזהות את האתר המקדם בתוך הגנום העצום. חלבוני בקרה מיוחדים מזהים רצף בקרה באתר המקדם ונקשרים אליו. הקשירה של חלבוני הבקרה לאתר המקדם "מגייסת" את ה-RNA-פולימראז ומובילה אותו אל האתר המקדם. חלבוני בקרה אלה נקראים **גורמי תעתוק כלליים** (general transcription factors). שישה גורמי תעתוק כלליים דרושים לתעתוק של כל אחד מהגנים בגנום ונמצאים לכן בכל התאים.

התקבצות גורמי התעתוק הכלליים מתחילה ברצף בקרה המורכב מהנוקלאוטידים TATA ונקרא **תיבת TATA**. רצף זה נמצא במרחק 30-30, כלומר 30 נוקלאוטידים לפני רצף תחילת התעתוק. לאזור זה נקשר תחילה גורם תעתוק ששמוזהה את רצף ה-TATA, ובזה אחר זה נקשרים גורמי התעתוק הכלליים הנוספים (איור א-17). גורמי התעתוק שנקשרו לתיבת ה-TATA מושכים אליהם את ה-RNA-פולימראז ויוצרים תצמיד שנקרא **תצמיד אתחול התעתוק**. תצמיד אתחול התעתוק מוביל את ה-RNA-פולימראז ומייצב אותו בנקודת התחלת התעתוק באתר המקדם (איור א-17).



פרס נובל לכימיה 2006 הוענק לרוג'ר קורנברג על תגלית תצמיד אתחול התעתוק

פרס נובל בכימיה לשנת 2006 ניתן לפרופ' רוג'ר קורנברג (Roger D. Kornberg) על גילוי פרטי התעתוק של גנים באאוקריוטים. רוג'ר קורנברג הוא פרופסור לביולוגיה מבנית באוניברסיטת סטנפורד בארצות הברית, והוא גם עמית במכון למדעי החיים ופרופסור אורח בפקולטה למדעי הטבע באוניברסיטה העברית.

בשנת 2001 פרסמו קורנברג וקבוצת המחקר שלו לראשונה תמונה מוחשית של שלבי התעתוק ברמה המולקולרית, אשר מבוססים על האנזים פולימראז II שהופק משמרים, ומכלול גורמי התעתוק הכלליים המעורבים ביצירת תצמיד ענק המבצע את התעתוק על ה-DNA. המחקר נעשה באמצעות שימוש בשיטה של קריסטלוגרפיה של קרני X.

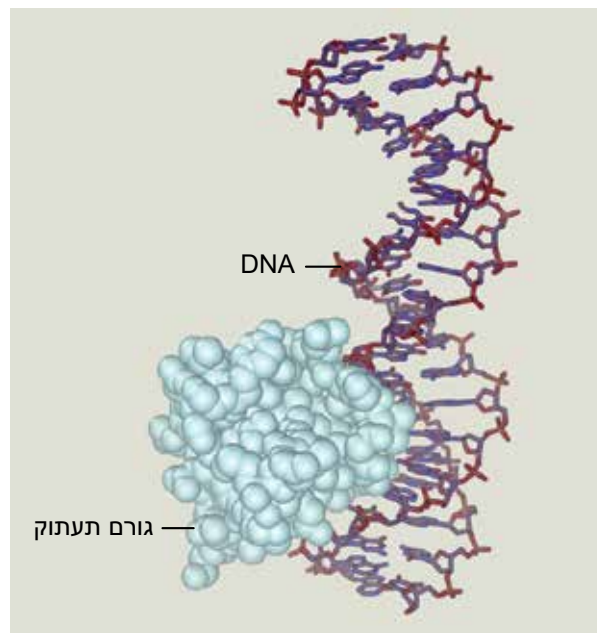
תצמיד אתחול התעתוק יכול לתעתק את הגן ברמה נמוכה שאינה מספיקה לתפקוד התא. כדי להגביר את התעתוק יש צורך באתרי בקרה נוספים וגורמי תעתוק ייחודיים המווסתים את תעתוק הגן.

אתרי בקרה לתעתוק גן

אתרי הבקרה לתעתוק הגנים באאוקריוטים הם רצפים מיוחדים של DNA הפזורים בגנום שאינם מקודדים תוצר כלשהו. תפקידם של הרצפים האלה לבקר את תעתוק הגנים. אתרי בקרה אלה יכולים להימצא בתוך גנים, באתר המקדם של הגנים, בקרבת גנים או באזורים הנמצאים במרחק רב מהגנים. כמו כן יש אתרי בקרה מיוחדים להגברת התעתוק ויש אתרים לדיכוי התעתוק. אתרי בקרה המגבירים את התעתוק נקראים **מעצמים** (enhancers). כשמים כן הם, הם יכולים להגביר את תהליך התעתוק פי 1,000 עד פי 10,000. אתרי בקרה המדכאים את התעתוק נקראים **משתקים** (silencers).

גורמי תעתוק ייחודיים

חלבוני הבקרה הנקשרים אל אתרי הבקרה, הן המעצמים והן המשתקים, נקראים **גורמי תעתוק ייחודיים** (specific transcription factors). גורמי התעתוק הייחודיים נקשרים באופן ייחודי לאתרי הבקרה ופועלים **כמפעילים** או **כדכאנים** של התעתוק. גורמי התעתוק הייחודיים אופייניים בכך שיש להם שני חלקים תפקודיים: חלק אחד נקשר לרצף מיוחד ב-DNA באתר הבקרה, והחלק השני נקשר לחלבון (גורם תעתוק או RNA-פולימראז) ומפעיל או מדכא את התעתוק. הקשירה ל-DNA היא ייחודית; מבנה תלת מימדי מסוים בחלבון ייקשר לרצף נוקלאוטידים מסוים ב-DNA על פי ההתאמה המרחבית ביניהם (איור א-18).



איור א-18: קשירת גורם תעתוק ייחודי לאזור בקרה ב-DNA על פי ההתאמה המרחבית ביניהם

הערה: בספר זה נכנה את גורמי התעתוק הייחודיים **גורמי תעתוק** כפי שמקובל לכנותם בספרות המקצועית. גורמי התעתוק היוצרים את תצמיד התעתוק מכונים גורמי תעתוק כלליים.

הפעלת התעתוק על ידי גורמי תעתוק מפעילים

גורמי תעתוק מפעילים יכולים להשפיע על אתר מקדם גם כאשר הם נקשרים ל-DNA במעצמים המרוחקים ממנו במרחק רב. לדוגמה, המעצם המבקר את הגן המקודד לשרשרת אלפא של קולטן תאי T (לימפוציט T) ממוקם במרחק של 69,000 זוגות בסיסים מהאתר המקדם של הגן. השפעה ממרחק של עשרות אלפי בסיסים מתאפשרת, כנראה, הודות ליצירת לולאה, כיפוף ה-DNA, וקירוב המעצם לאתר המקדם של הגן כפי שמתואר באיור א-19.



22

לגורמי התעתוק יש חלק שמותאם לקשירה לרצף מיוחד ב-DNA וחלק שמותאם לקשירה לחלבונים שונים. כמו שאפשר לראות באיור א-20 שלושה גורמי תעתוק מפעילים נקשרים בצד האחד למעצם ב-DNA ובחלקם האחר לחלבון כלשהו. הם נקשרים למרכיבים שונים בתצמיד אתחול התעתוק בשלוש דרכים: (א) ישירות לגורמי התעתוק הכלליים; (ב) באופן עקיף, באמצעות חלבונים מתווכים הנקראים "מפעילים שותפים", קואקטיבטורים (coactivators); (ג) אל RNA-פולימראז.

קשירה זו של גורמי תעתוק לחלבונים שונים בתצמיד אתחול מייצבת את התצמיד ומגבירה את התעתוק. קצב התעתוק גדל על ידי הגברת קצב התקבצות המרכיבים ביצירת תצמיד התעתוק, או על ידי השפעה על יציבות התצמיד. תצמיד התעתוק מאפשר ל-RNA-פולימראז להיכנס לפעולה פעם אחר פעם לצורך תעתוק חוזר ונשנה של הגן, וכתוצאה מכך מתקבלים עותקים רבים של RNA-שליח. כאשר בנוסף למפעילי תעתוק משתתפים גם דכאני תעתוק, פוחתת רמת התעתוק. מעורבות של מפעילים ומדכאים בהרכבים שונים קובעת את קצב התעתוק של מולקולות RNA-שליח.

תהליך התעתוק אינו מהיר, לכן בקרת תעתוק אינה מתאימה לתגובות לשינויים סביבתיים הדורשים תגובה בפחות מ-15 דקות. כמו שנראה בהמשך, יש מנגנוני בקרה הגורמים לשינויים מהירים בהתבטאות של גנים.

נוסף על ההשפעה הישירה על תהליך התעתוק, לגורמי התעתוק יש גם השפעה עקיפה. יש גורמי תעתוק שמשפיעים על מבנה הכרומטין. גורמי תעתוק אלה "מגייסים" חלבונים שגורמים לאצטילציה של היסטונים בקרבת האתר המקדם של גנים מסוימים, וכתוצאה מכך מאפשרים את התעתוק של הגנים האלה.

בקרה של צירופים

הבקרה מרחוק מאפשרת בקרה על ידי מספר גורמי תעתוק. הבקרה של ביטוי הגן על ידי כמה גורמי תעתוק היא בקרה של צירופים (קומבינאטוריאליים). לכל גן יש דגם מסוים של צירוף גורמי תעתוק האחראים על התעתוק שלו. למשל, צירוף של גורמי התעתוק 1, 2 ו-3 יפעיל תעתוק של גן א; הצירוף 1 ו-3 יפעיל תעתוק של גן ב; וצירוף 2 ו-3 יפעיל תעתוק של גן ג. הבקרה של צירופים מאפשרת בקרה של עשרות אלפי גנים בגנומים של יצורים אאוקריוטים מורכבים בעזרת מספר קטן יחסית של גורמי תעתוק.

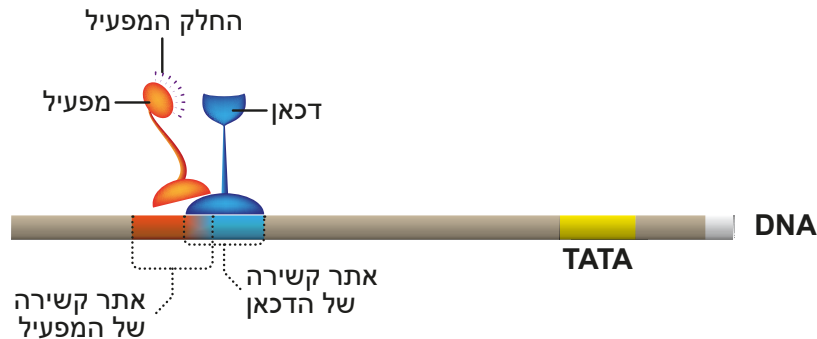
צירופים שונים של גורמי תעתוק מאפשרים יצירת דגמי התבטאות שונים ומורכבים, מה שמסביר את מגוון התאים בגוף שהם בעלי תכונות שונות. צירוף של גורמי תעתוק מאפיינים את התא ומקנים לו את תכונותיו המיוחדות. גורמי תעתוק מסוימים נוצרים רק בתאים מסוג מסוים, או רק בזמן מסוים, וקובעים בכך באילו תאים ומתי יתבטא הגן שהם מווסתים. תאי כבד, למשל, מכילים מערכת של גורמי תעתוק ייחודיים הדרושים לבקרת הביטוי של הגן לאלבומין. בתאי עדשת העין יש מערכת גורמי תעתוק ייחודיים הדרושים לבקרת הביטוי של הגן לקריסטלין, אולם אין בהם את אלה הדרושים לתעתוק גן האלבומין. כתוצאה מכך, בתאי עדשת העין יכול תעתוק של גן הקריסטלין – אולם גן האלבומין לא יתבטא.

בקרה של צירופים מווסתת גם את רמת הביטוי. למשל, הפעלת גורמי תעתוק 1, 7, 19 ו-30 תגרום לביטוי של מאה יחידות קריסטלין בתאי עדשת העין מהיום השמיני עד העשירי בהתפתחות העוברית, בעוד שגורמי תעתוק 14, 34, 37 יגרמו לביטוי של 50 יחידות במקרה של פציעה בעדשה. מספר הצירופים האפשרי של גורמי התעתוק הוא עצום, וזה מאפשר תגובה יעילה של התא למגוון גדול של אותות הדורשים תגובות שונות.

דיכוי התעתוק על ידי גורמי תעתוק דכאנים

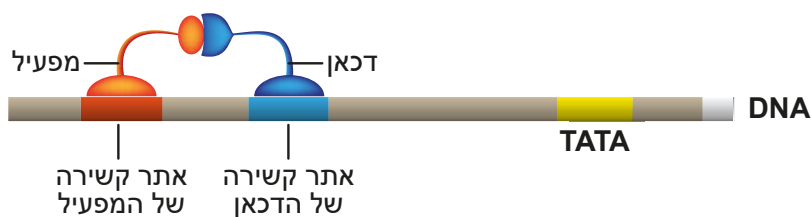
גורמי תעתוק דכאנים הנקשרים לאתרי בקרה משתיקים מדכאים את התעתוק באחד מארבעה מנגנוני דיכוי:

א. הדכאן נקשר לאתר ב-DNA שחופף בחלקו לאתר קשירה של גורם מפעיל וחוסם את קשירתו ופעולתו של מפעיל התעתוק (איור א-21).



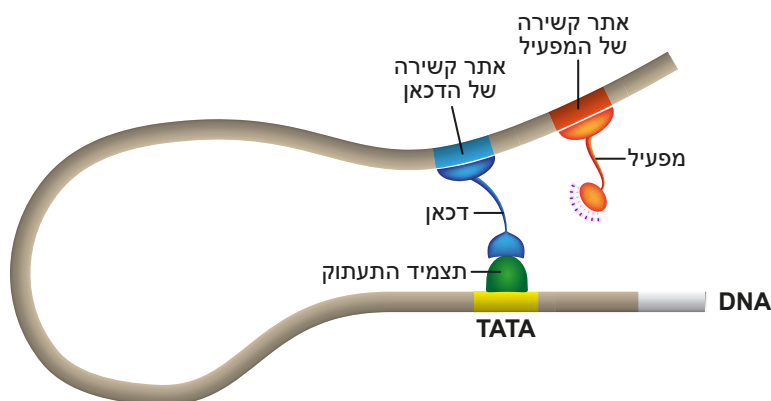
איור א-21: דיכוי התעתוק על ידי חסימת הקשירה של הגורם המפעיל

ב. הדכאן נקשר לאתר ב-DNA הסמוך לאתר הקשירה של גורם תעתוק מפעיל, בא במגע עם גורם התעתוק המפעיל וחוסם את החלק המפעיל שלו (איור א-22).



איור א-22: דיכוי התעתוק על ידי חסימת החלק המפעיל של הגורם המפעיל

ג. הדכאן נקשר לתצמיד התעתוק ומעכב את התעתוק (איור א-23).



איור א-23: דיכוי התעתוק על ידי קשירת הדכאן לתצמיד התעתוק

ד. הדכאן "מגייס" אנזימים שיוצרים כרומטין דחוס (דאצטילאזות, למשל) ואינו מאפשר גישה של גורמי תעתוק כלליים ו-RNA-פולימראז לאזור בקרת התעתוק.

הפעלה מתואמת של גנים

תגובות שונות של תאים באוקריוטיים כרוכות בהפעלת גנים רבים בזמנית. לדוגמה, תאים באוקריוטיים רבים מגיבים לחום קיצוני על ידי ייצור חלבוני עקת חום שמונעים נזק בתאים. חלבוני עקת חום נוצרים על ידי קבוצה גדולה של גנים. בזמן עקת חום התעתוק של הגנים האלה גדל בהרבה. בחיידקים, כמו שראינו, קבוצת גנים המופעלים באותו תהליך מקובצים יחד באופרון, והתעתוק והתרגום שלהם נעשה בו בזמן. אולם באוקריוטיים גנים הפועלים יחד אינם מקובצים. הם מפוזרים בכרומוזום ולעיתים אף בכרומוזומים שונים. כיצד אם כן הם מתבטאים בזמנית אם אינם מאורגנים באופרון אחד?

גנים הפועלים יחדיו בצורה מתואמת בתאים באוקריוטיים מסוגלים להגיב לאותו גירוי מאחר שיש להם אותו רצף בקרה באתר המקדם שלהם או באתרים המעצמים. כל עוד גנים שונים מכילים רצפי בקרה שמזוהים על ידי אותו גורם תעתוק מפעיל, הם יכולים להיות מופעלים יחד כיחידה אחת. דוגמה לגורם תעתוק כזה הוא החלבון מיו-די (Myo-D). רצף הבקרה הקושר את גורם התעתוק מיו-די נמצא לפני כל אחד מהגנים הדרושים ליצירה של תא שריר. כך, ברגע שמתקבל בתא מסוים אות הגורם לייצור גורם התעתוק מיו-די – מתבטאים בו כל הגנים האחראים על יצירת החלבונים הדרושים לבניית שריר, וכך נוצר תא שריר.

מן הרשת



בקרת ביטוי גן באוקריוטים

סרטון אנימציה (3:37 דקות) מדגים את תהליך בקרת ביטוי תעתוק גן באוקריוטים (דיבוב וכתוביות באנגלית).

בקרה חיובית ובקרה שלילית של תעתוק גן באוקריוטים

סרטון אנימציה (2 דקות) מדגים בקרה חיובית על ידי חלבונים מפעילים ובקרה שלילית על ידי דכאנים של גן באוקריוטים (דיבוב וכתוביות באנגלית).

תצמיד התעתוק ומעצמים

סרטון אנימציה (1:45 דקות) מדגים את יצירת תצמיד התעתוק ובקרת תעתוק הגן על ידי מעצמים וגורמי תעתוק (דיבוב וכתוביות באנגלית).

שאלות

בשאלות 1-5 בחרו תשובה אחת נכונה.

1. איזה מהמרכיבים הבאים אינו מעורב בבקרה על תעתוק גן באוקריוטים?

- א. אתרים מעצמים
- ב. ריבוזומים
- ג. אתרים משתיקים
- ד. גורמי תעתוק
- ה. אתרים מקדמים

2. כל המרכיבים הבאים יכולים להיקשר לתצמיד אתחול התעתוק חוץ מ:
 - א. גורם תעתוק כללי
 - ב. DNA
 - ג. RNA-פולימראז
 - ד. גורם תעתוק מפעיל
 - ה. RNA
3. חלבונים המעכבים את ההתקדמות של RNA-פולימראז נקראים:
 - א. אופרונים
 - ב. מפעילים
 - ג. דכאנים
 - ד. מעצמים
 - ה. מקדמים
4. בבקרת נגישות RNA-פולימראז לתעתוק גן מעורבים:
 - א. אנזימים הגורמים לשינויים כימיים בהיסטונים
 - ב. גורמי תעתוק
 - ג. אתרים מעצמים ואתרים משתיקים
 - ד. כל התשובות נכונות
5. קצב גבוה של תעתוק בתאים אאוקריוטיים תלוי בדרך כלל ב:
 - א. קשירת גורמי תעתוק כלליים לתיבת TATA
 - ב. קשירת גורמי תעתוק מפעילים לחלבונים בתצמיד אתחול התעתוק
 - ג. נגישות RNA-פולימראז אל האתר המקדם
 - ד. יצירת תצמיד אתחול התעתוק
6. מי מקנה לתאי הגוף השונים את הייחודיות שלהם: המעצמים או גורמי התעתוק? הסבירו.
7. רשמו את השווה ואת השונה בין שלושה טיפוסים אתרים ב-DNA של אאוקריוטים: מקדמים, מעצמים ומשתיקים.
8. בזמן עקת חום מופעל גורם התעתוק HSF (Heat shock factor) המפעיל בוזמנית את כל הגנים הדרושים לייצור חלבוני עקת חום.
 - א. הסבירו כיצד מופעלים הגנים השונים לעקת חום בוזמנית.
 - ב. במה דומה ובמה שונה הפעלת הגנים לעקת חום להפעלת הגנים באופרון הלקטוז באי קולי?
9. חלק מדכאני התעתוק באאוקריוטים פועלים כמו דכאנים בחיידקים. איזה מנגנון מהמנגנונים המתוארים בעמוד 24 מתאר את פעולת הדכאנים בחיידקים?
10. אילו חלבונים מגייס דכאן התעתוק הפועל במנגנון שינוי הכרומטין? כיצד פעולה זאת גורמת לדיכוי הביטוי של הגן?
11. מיינו את ארבעה המנגנונים מדכאי התעתוק למנגנונים ישירים ולמנגנונים עקיפים. הסבירו את תשובתכם.

בקה אחרי התעתוק

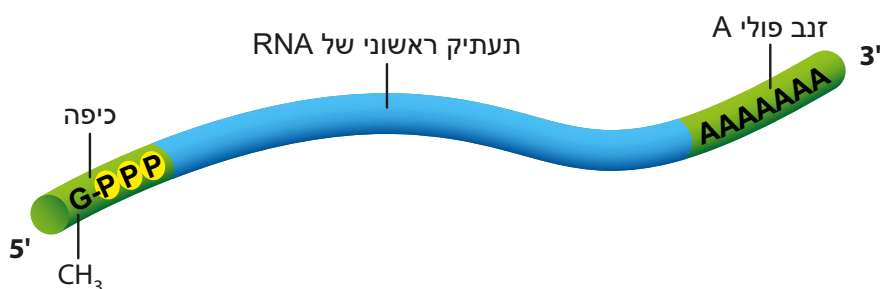
רוב הגנים האאוקריוטיים המקודדים חלבונים מבוקרים בשלב התעתוק. אולם יש גנים שהבקרה שלהם נעשית אחרי התעתוק. בקרה אחרי התעתוק היא בקרה ברמת ה-RNA. רוב צורות הבקרה הללו מתבססות על חלבוני בקרה שנקשרים לרצפים מיוחדים ב-RNA-שליח. כמו שראינו, בבקרת התעתוק הנעשית ברמת ה-DNA חלבוני בקרה (גורמי תעתוק) נקשרים לרצפים מיוחדים ב-DNA ומווסתים את התעתוק. באופן דומה, חלבוני בקרה מיוחדים מזהים ונקשרים לרצפים ייחודיים ב-RNA-שליח ומווסתים את הביטוי של הגן בשלבים אחרי התעתוק. מדוע יש צורך במנגנוני בקרה רבים כל כך? מתברר שקיומם מאפשר לפעמים קונון עדין יותר של כמות החלבון הנוצרת בתא, ומאפשר תגובה מהירה יותר לאותות חיצוניים המשפיעים על ביטוי של גנים. למשל, אם יש צורך בהתבטאות מהירה של גן מסוים כתגובה לאות חיצוני כלשהו, יהיה מהיר יותר לתרגם RNA-שליח שכבר קיים בציטופלסמה (אך לא תורגם עד כה) מאשר לייצר RNA-שליח חדש בתהליך התעתוק.

עיבוד RNA

כדי להבין את הבקרה בשלבים אחרי התעתוק חשוב להכיר את השינויים המתרחשים במולקולות RNA לאחר התעתוק. בתהליך התעתוק באאוקריוטים, מולקולות RNA מתועתקות על פי ה-DNA למולקולות שנקראות **תעתיק ראשוני**. כאשר מולקולות התעתיק הראשוני נמצאות עדיין בגרעין, לפני יציאתן לציטופלסמה, הן עוברות בדרך כלל תהליכי עיבוד, ובסופם נוצרות מולקולות RNA-שליח (איור א-10). תהליכי העיבוד העיקריים כוללים הוספת מספר קטן של בסיסים חנקניים בתחילת המולקולה ובסופה, וכן תהליכי שחבור. כל אחד מהתהליכים האלה יכול להיות מבוקר כדי לווסת את כמות התוצר החלבוני של הגן.

הוספת כיפה וזנב

לקצה אחד של מולקולת ה-RNA (קצה 5') נוסף נוקלאוטיד מטיפוס גואנין (G), ואילו קשורה קבוצה מתילית (CH_3). מבנה זה נקרא **כיפה** (איור א-24). הכיפה מאפשרת את הקישור לריבוזום בשלב התרגום. הכיפה שומרת על מולקולת ה-RNA מפני פירוק על ידי אנזימים שונים.



איור א-24: הוספת כיפה וזנב למולקולת התעתיק הראשוני של RNA

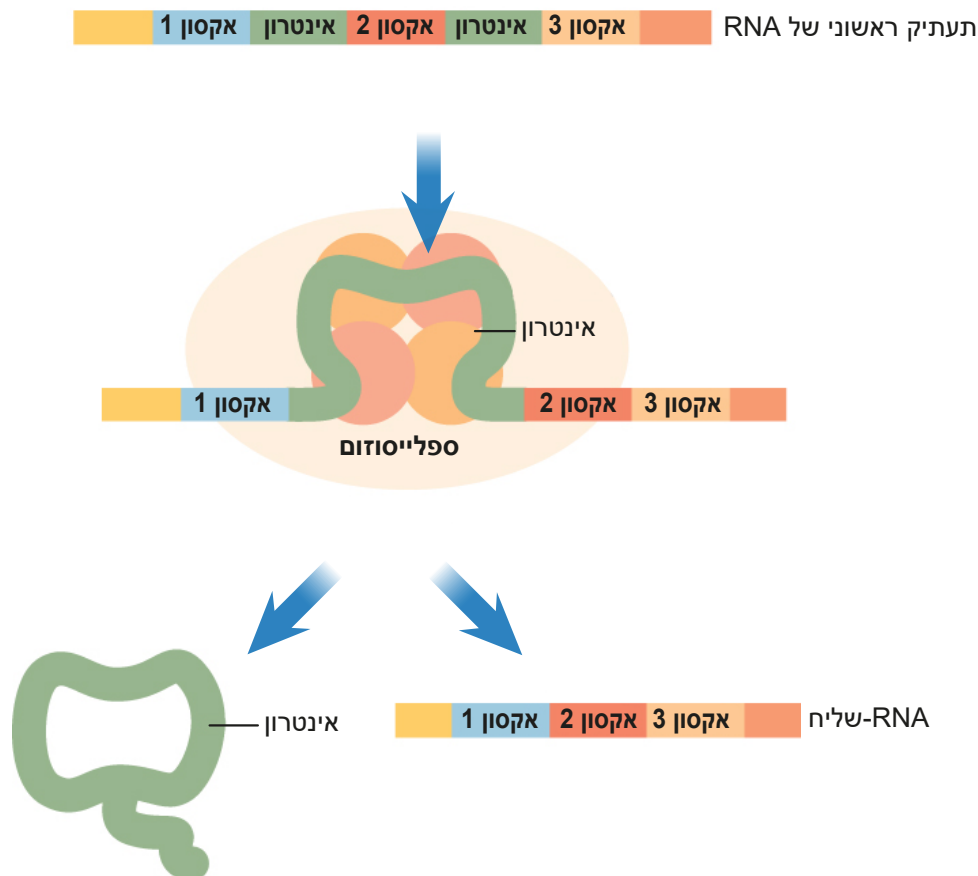
לקצה האחר של מולקולת ה-RNA (קצה 3') נוספים שיירים של נוקלאוטידים מטיפוס אדינין (A), ולרצף שנוצר קוראים **זנב פולי A**. הזנב מסייע ל-RNA-שליח המעובד לצאת מן הגרעין לציטופלסמה. כמו-כן מניחים כי הזנב מגן על ה-RNA-שליח מפני אנזימים המפרקים RNA (ריבונוקלאזות), הנמצאים בציטופלסמה. הנחה זו מתבססת על כמה ניסויים שבהם הראו כי מולקולות RNA-שליח, שאין להן זנב פולי A, מתקיימות בציטופלסמה דקות אחדות בלבד. לעומת זאת, מולקולות בעלות זנב שומרות על יציבותן במשך שעות ואף ימים.

על הבקרה המתרחשת בהוספת הרצפים בקצוות של מולקולת התעתיק הראשוני ידוע מעט מאוד. עד היום ידועים מקרים בודדים של בקרה בשלב זה שיש להם השפעה על ייצור חלבונים. לעומת זאת, לבקרה על תהליך השחבור המתוארת להלן בעמ' 29 יש השפעה רבה על הביטוי של הגן, והיא נחקרה וממשיכה להיחקר באופן נרחב.

תהליך השחבור

בשנת 1977 גילו הביולוגים פיליפ שארפ וריצ'ארד רוברטס שרוב התעתיקים הראשוניים של מולקולות RNA באאוקריוטים מכילים אזורים שמורחקים מהמולקולה לפני התרגום. ההשמטה נעשית בתהליך בן שלבים מספר הנקרא **שחבור** (splicing). קטעי ה-RNA המורחקים מהתעתיק הראשוני נקראים **אינטרונים** (introns); הקטעים שנשארים במולקולה אחרי העיבוד נקראים **אקסונים** (exons). בהמשך התברר שהאינטרונים אינם נושאים מידע הדרוש לבניית החלבון, ואילו האקסונים יוצרים בהתחברם את הרצף הגנטי הדרוש לבנייתו של החלבון. גילוי תהליך השחבור זיכה את שארפ ורוברטס בפרס נובל לרפואה לשנת 1993.

השחבור מתבצע בחלקיק המצוי בגרעין התא הקרוי **ספלייסוזום** (splicing = שחבור). חלקיק זה הוא מעין פקעת מסובכת של חלבונים וגדילים קצרים של RNA. הספלייסוזום נקשר למולקולות תעתיק ראשוני של RNA ומזהה בהן אינטרונים. הספלייסוזום נקשר לשני הקצוות של אינטרון, מכופף אותו למבנה לולאה, חותך ומרחיק אותו ממולקולת התעתיק הראשוני (איור א-25). שני הקצוות של האקסונים באזור החיתוך מתחברים ביניהם. האקסונים נותרים במולקולה ומהווים את מולקולת ה-RNA-שליח הבוגרת. האורך של מולקולות התעתיק הראשוני של RNA בגרעין יכול להגיע עד ל-50,000 בסיסים. לעומת זאת, האורך של מולקולות ה-RNA-שליח בציטופלסמה נע בין 500 ל-3,000 בסיסים בלבד. מכאן שהאינטרונים ארוכים הרבה יותר מהאקסונים.

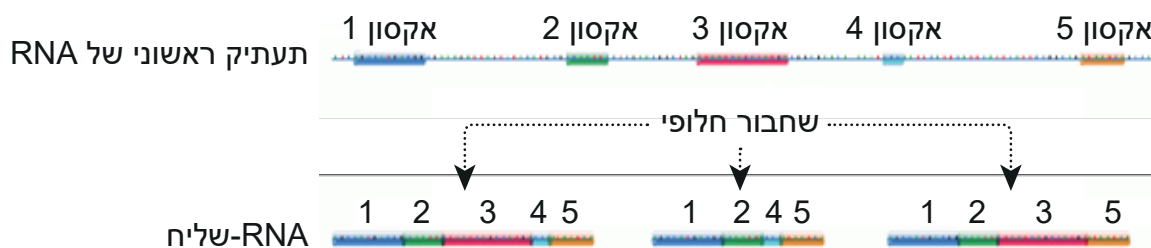


איור א-25: חיתוך וסילוק אינטרונים בתהליך השחבור

השחבור החלופי

כבר בשנת 1980 הראה רנדולף וול מאוניברסיטת קליפורניה בלוס אנג'לס שההשקפה הבסיסית של שחבור RNA, שעל פיה כל האינטרונים תמיד מורחקים וכל האקסונים תמיד מצורפים ל-RNA-שליח, אינה נכונה תמיד. למעשה, המנגנון התאי יכול "להחליט" לחתוך החוצה אקסון, או להשאיר אינטרון או חלק מאינטרון, בתעתיק הסופי של ה-RNA-שליח. תהליך זה מכונה **שחבור חלופי** (alternative splicing). יכולת זו לערוך עריכה חלופית של תעתיקי RNA ראשוניים יכולה להגדיל במידה ניכרת את יכולת הקידוד של כל גן.

השחבור החלופי מתואר באיור א-26. תעתיק ראשוני המכיל חמישה אקסונים: 1, 2, 3, 4, 5 יכול להפוך לאחר השחבור ל-RNA-שליח בעל חמישה אקסונים: 1, 2, 3, 4, 5, או ל-RNA-שליח בעל ארבעה אקסונים: 1, 2, 4, 5, או 1, 2, 3, 5.



איור א-26: שלוש מולקולות שליח-RNA שונות המתקבלות משחבור חלופי של גן אחד

בתהליך השחבור החלופי משתתף רצף אחד של DNA בבניית מולקולות שונות של RNA-שליח המקודדות לחלבונים שונים. בעזרת שחבור חלופי אפשר לערוך במגוון דרכים את המידע האצור בגנים של יצורים מורכבים, כך שגן אחד יכול לקודד מידע ליצירת שני חלבונים שונים ואף יותר. כתוצאה מכך, מספר החלבונים של אורגניזם יכול להיות גדול בהרבה ממספר הגנים שלו. שחבור חלופי מצוי בכל היצורים האאוקריוטיים אבל נפוץ ביותר בחולייתנים כולל באדם. לפי הערכת חוקרים, כ-95% מהגנים באדם עוברים שחבור חלופי. שחבור חלופי מאפשר לאדם לייצר יותר מ-90,000 חלבונים בלי שיצטרך לתחזק 90,000 גנים. בממוצע, כל אחד מהגנים שלנו מפיק כשלוש מולקולות RNA-שליח שונות שנוצרו באמצעות שחבור חלופי. השחבור החלופי יכול לגרום לפעילות שונה של תאים, או להתפתחות שונה של תאים, ולכן הוא נחשב לאחת מרמות הבקרה על הביטוי של הגנים. הבחירה של תהליך שחבור מסוים מבין האפשרויות השונות היא אחד המנגנונים לבקרת התבטאות של גנים בשלב עיבוד ה-RNA.

בקרת השחבור החלופי

השחבור החלופי אינו תהליך אקראי. הוא מבוקר כמו תהליכי בקרה אחרים של ביטוי הגנים. חלבוני בקרת השחבור נקשרים לאתרי בקרה מיוחדים על התעתיק הראשוני של ה-RNA. קשירת חלבוני הבקרה לאתרים מסוימים קובעת אילו אקסונים יהיו במולקולת ה-RNA-שליח, וכתוצאה מכך – איזה חלבון ייווצר. חלבוני הבקרה כוללים מפעילי שחבור ומדכאי שחבור. אתרי הבקרה כוללים אתרים מעצמים ואתרים משתיקים. חלבון בקרה מפעיל שחבור הנקשר לאתר מעצם – מאפשר לספלייסוזום להגיע לאתר חיתוך של אקסון סמוך, וכתוצאה מכך האקסון ייחתך ויופיע בתוצר הסופי. חלבון בקרה מדכא שחבור הנקשר לאתר משתיק – מונע מהספלייסוזום להגיע לאתר החיתוך של האקסון הסמוך ולזהות אותו, ולכן התוצר הסופי לא יכיל את האקסון.

שחבור חלופי ברקמות שונות ובמועדים שונים

ידועות דוגמאות רבות של שחבור חלופי בגנים. בקרה בשלב השחבור יכולה לבקר התבטאות גנים ברקמות שונות. דוגמה לבקרה כזאת הוא השחבור החלופי בגן המקודד להורמון קלציטונין המיוצר בבלוטת התריס. חוקרים מצאו שיש דמיון רב בין רצפי הנוקלאוטידים של ה-RNA-שליח שנבנים על הגן לקלציטונין בבלוטת התריס וביותרת המוח. אף על פי שהתעתיק הראשוני זהה בשתי הרקמות, נוצרים בתהליך השחבור שני סוגים של RNA-שליח: האחד מקודד לקלציטונין המיוצר בעיקר בבלוטת התריס; האחר מקודד לחלבון קטן שתפקידו אינו ידוע – CGRP – המיוצר בעיקר ביותרת המוח. אותו רצף של DNA משמש ליצירת חלבונים שונים בשתי רקמות שונות. שחבור חלופי של RNA מתרחש גם במהלך ההתמיינות של תאים שבהם משמשים אותם רצפי DNA ליצירת חלבונים דומים אך לא זהים.

בקרה בשלב השחבור של ה-RNA יכולה גם לבקר התבטאות גנים באותה רקמה בזמנים שונים במהלך ההתפתחות. לדוגמה, השחבור החלופי בגן המקודד לחלבון טרופומיוזין בדרוזופילה. חלבון זה מופיע בשתי צורות דומות אך לא זהות, בשרירי עוברים ובשרירי בוגרים של דרוזופילה. בתעתיק הראשוני יש ארבעה אקסונים. בעובר מכילים השרירים RNA-שליח המורכב משלושה אקסונים, ואילו בבוגר יש בשריר החזה RNA-שליח המכיל את כל ארבעת האקסונים. החלבון העוברי נבדל מן החלבון הבוגר ב-27 חומצות אמיניות בלבד.

שחבור חלופי ואבולוציה

בקיץ 2000, כשפרסם צוות המחקר את הטיוטה הראשונה של רצף הגנום האנושי, נדהמו רבים מהערכתם שיש בו רק 30,000 עד 35,000 גנים מקודדי חלבונים. בשנים שעברו מאז שהושלמה מפת הגנום האנושי ירד מספרם של הגנים בהערכה המעודכנת ל-20,000. אבל בינתיים החלו גנטיקאים להבין שמספרם של הגנים בגנום האנושי יכול להעיד דווקא על רמת התחכום שלנו, משום שבני האדם עושים שימוש מגוון להפליא במספר כה מועט של גנים.

באמצעות השוואת הגנום האנושי לגנומים של יצורים אחרים מתחילים מדענים להבין ששחבור חלופי אחראי לחלק גדול מהשונות בין יצורים שמאגרי הגנים שלהם דומים יחסית. מלבד זאת, שחבור חלופי מאפשר לרקמות שונות באותו אורגניזם לבצע תפקידים שונים בעזרת אותו מאגר גנים קטן.

אכן, נראה כי שכיחות השחבור החלופי עולה ככל שעולה מורכבות היצור, ולפיכך כ-95% מהגנים האנושיים נתונים לשחבור חלופי. מנגנון השחבור החלופי עצמו תרם ככל הנראה לאבולוציה של כל בעלי החיים. מדענים אף מתחילים להבין איך שחבור פגום של גנים גורם לסוגי סרטן מסוימים ולמחלות מולדות, וכן איך אפשר להשתמש במנגנון השחבור לריפוי.

מחקרים מראים כי שחבור חלופי יכול להיות המקור החשוב ביותר לשינויים אבולוציוניים שמייחדים פרימטים ובהם האדם מיצורים אחרים שיש להם אותו מספר גנים, כמו תולעים וזבובים. הייחוד של פרימטים והאדם אינו קשור לגנים מסוימים הפועלים ברקמות מסוימות, אלא בשחבור החלופי. למיני בעלי חיים שונים יש שחבור חלופי שונה וייחודי לכל מין.



שחבור ושחבור חלופי

סרטון אנימציה (1:50 דקות) מדגים את תהליך השחבור והשחבור החלופי (דיבוב וכתוביות באנגלית).

הגנום החלופי

מחקרים עדכניים הראו שגנים כמעט זהים של אדם ושימפנזה יוצרים חלבונים זהים ברוב הרקמות, מלבד באזורים מסוימים במוח. באזורים אלה גנים אנושיים מסוימים פעילים יותר, ואחרים יוצרים חלבונים השונים שוני משמעותי באמצעות שחבור חלופי של תעתיקי גנים. מנגנון השחבור החלופי עצמו תרם ככל הנראה לאבולוציה של כל בעלי החיים, והוא זה שיכול לתרום להמשך האבולוציה שלנו.

פוצח קוד השחבור

חוקרים מאוניברסיטת טורונטו גילו דרך חדשה לבחון את האופן שבו תאים חיים משתמשים במספר מוגבל של גנים כדי לייצר כמות עצומה של איברים מורכבים, כמו המוח למשל.

עריכה תחת לחץ

שני קולטנים להורמון CRH, המצויים על פני השטח של תאי העצב, מתפקדים למעשה כמתגי "הדלקה" ו"כיבוי". המדענים גילו כי שני הקולטנים מתקבלים מגן יחיד באמצעות שחבור חלופי במצבי לחץ בגוף.

בקרת יציבות מולקולת RNA-שליח

בקרה נוספת ברמת ה-RNA היא בקרה על רמת היציבות של מולקולת RNA-שליח. ליציבות מולקולות RNA-שליח יש השפעה מכרעת על כמות החלבונים שיייווצרו בתא. כמו שראינו, התא יכול לווסת את כמות החלבון שנוצר על ידי בקרה של רמת התעתוק. מעורבות של מעצמים ומשתתקים בהרכבים שונים קובעת את רמת התעתוק של מולקולות RNA-שליח. קצב הפירוק של מולקולות RNA-שליח היא בקרה נוספת הקובעת את כמות החלבון שיייווצר. ככל שמולקולת RNA-שליח יציבה יותר בציטופלסמה, כך יעלה מספר הפעמים שתעבור תהליך תרגום בריבוזומים, ומספר מולקולות החלבונים שיייווצרו יהיה גדול יותר. משך החיים של מולקולות RNA-שליח מבוקר בתגובה לצרכים של התא.

זמן מחצית החיים של מולקולות RNA-שליח הוא הזמן שלוקח למחצית ממולקולות ה-RNA-שליח להתפרק. בתאים אאוקריוטיים יש מולקולות RNA-שליח שזמן מחצית החיים שלהן 30 דקות ואף פחות, ובהן מולקולות המקודדות גורמי גדילה אחדים. אחרות, למשל אלה המקודדות גלובין, זמן מחצית החיים שלהן יותר מ-10 שעות. במקרים רבים נקבע אורך החיים לפי מידת הזדקקותו של התא לחלבון שלו מקודדת אותה מולקולת RNA-שליח. יהיה זה בזבז או אף מזיק להוסיף ולתרגם את המידע שב-RNA-שליח לחלבונים שלתא אין צורך בהם. למשל, זמן מחצית החיים של מולקולות RNA-שליח המקודדות את החלבון היסטון הוא כשעה בתאים שמייצרים DNA; בזמנים אחרים במהלך מחזור חיי התא, מולקולות ה-RNA-שליח המקודדות היסטון מתפרקות בתוך דקות ספורות. מנגנון כזה מאפשר שינויים מהירים בכמות חלבוני התא בהתאם לשינויים בתנאי הסביבה, בניגוד לבקרת התעתוק שאינה מאפשרת שינויים מהירים בכמות החלבונים.

גורמים שונים, כולל הכיפה בקצה 5' וזנב הפולי A בקצה 3', תורמים ליציבות מולקולת RNA-שליח. נוסף על כך, קשירת חלבוני בקרה מיוחדים למולקולת RNA-שליח משפיעה על יציבות המולקולה. חלבוני בקרה אלה נקשרים לאזורים ב-RNA שאינם מתורגמים לחלבון. אזורים אלה הם אזורי בקרה שמשפיעים על היציבות של RNA-שליח ועל התרגום שלו. אזור אחד נמצא לפני האזור המקודד לחלבון ונקרא אזור קצה 5', ואזור שני נמצא

אחרי האזור המקודד את החלבון ונקרא אזור קצה 3'. קשירת חלבוני הבקרה לאזורים אלה מגדילה או מקטינה את יציבות המולקולה, תלוי בחלבון שנקשר (איור א-27).



איור א-27: חלבוני בקרה שנקשרים לאזורי בקרה ב-RNA-שליח משפיעים על יציבות המולקולה

דרך אחת לפירוק RNA-שליח היא קיצור זנב הפולי A. נמצא כי זנב הפולי A הולך ומתקצר עם הזמן, ובכך גורם לירידה ביציבות המולקולה. במולקולה חדשה של RNA-שליח באדם יש 200 נוקלאוטידים בזנב הפולי A. אם הזנב מתקצר לאורך הפוחת מ-30 נוקלאוטידים, ה-RNA-שליח נעשה בלתי יציב והוא מתפרק על ידי אנזימים המפרקים RNA (ריבונוקלאזות). בתאים שיש בהם דרישה לכמות קטנה של חלבון, אזור בקרה בקצה 3' "מגייס" חלבון בקרה שנקשר אליו ומקצר את זנב הפולי A, וכתוצאה מכך גורם לפירוק מהיר של RNA-שליח. חוקרים העבירו רצף כזה ממולקולת RNA-שליח קצרת חיים של גורם גידול לקצה 3' של RNA-שליח של מולקולת גלובין. מולקולת RNA-שליח של הגלובין התפרקה במהירות.

בקרת יציבות RNA-שליח המקודד את קולטן הטרנספרין

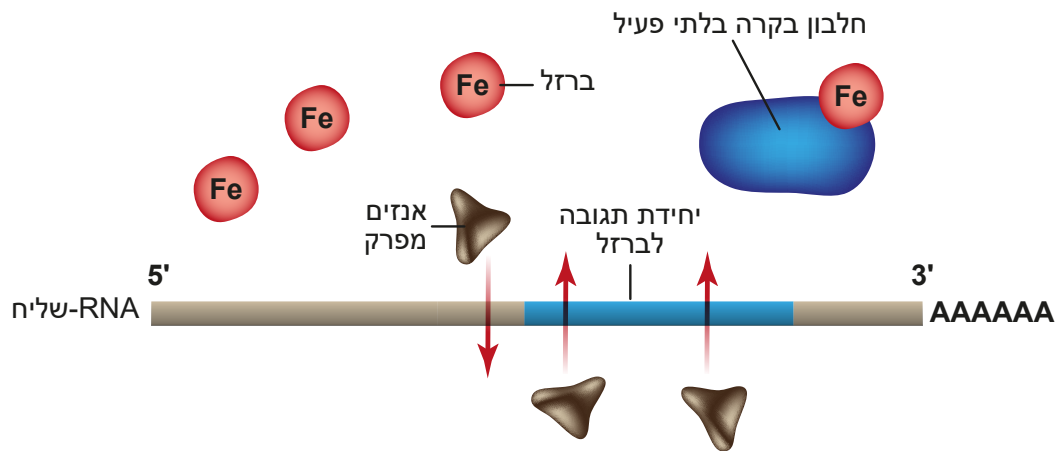
בקרת הביטוי של הגן לקולטן הטרנספרין היא דוגמה לבקרה על-ידי השפעה על יציבות מולקולת RNA-שליח. בקרה זו היא חלק מהבקרה לשמירת ריכוז מתאים של ברזל בתאים.

יונקים קולטים ברזל מהמזון דרך מערכת העיכול. הברזל נספג לדם ומועבר אל תאי הגוף באמצעות נשא חלבוני בשם טרנספרין. התא מווסת את כמות הברזל באמצעות בקרת הכמות של שני חלבונים: קולטן לטרנספרין ופריטין. עודף של יוני ברזל בתא רעיל ועלול לשבש תהליכים חיוניים. גם מחסור בברזל יכול לגרום נזק לגוף.

כניסת הברזל לתאים נעשית באמצעות קולטן חלבוני ייחודי, הנמצא בקרומי התאים. הקולטן קושר אליו את הטרנספרין הנושא את הברזל ומעבירו אל תוך התא. הברזל משתחרר בתוך התא. הטרנספרין החופשי מוצא אל מחוץ לתא, ויוני הברזל שהשתחררו בתא זמינים לתהליכים ביולוגיים שלהם הם נחוצים. במקרה של עודף ביוני ברזל בתא, נכנס לפעולה הפריטין, חלבון שנוצר בתוך התא ומסוגל ל"כלוא" אלפי יוני ברזל וכך "לפתור" את בעיית עודף הברזל. בתנאים של חוסר ברזל בתא יכול הפריטין לשחרר יוני ברזל לתוך התא. ויסות כמות הברזל בתא נעשה באמצעות איזון מבוקר בין קליטת יוני הברזל מהדם לבין כליאתם על ידי פריטין בתוך התא. כך נשמרת רמה פחות או יותר קבועה של ברזל זמין בתא.

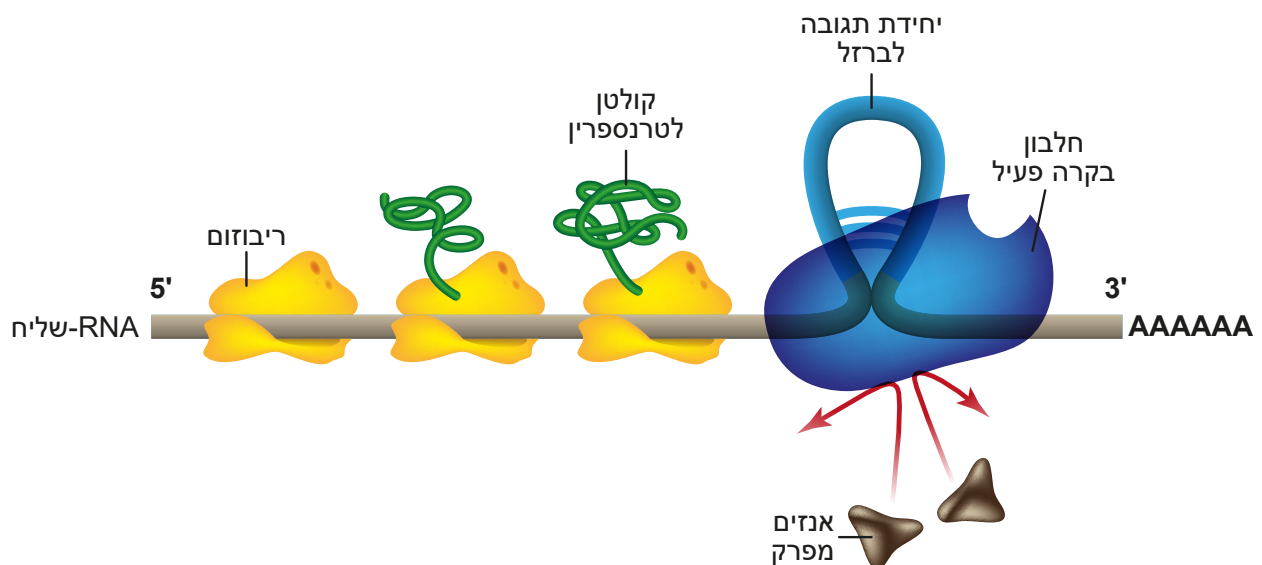
בתאי יונקים יש חיישן הרגיש לריכוז הברזל הזמין. החיישן משפיע הן על מספר הקולטנים לטרנספרין בקרום התא והן על מספר מולקולות הפריטין בתא. את כמות שני החלבונים בתאים מבקרת הזמינות של הברזל. בקרה זו מתווכת על ידי חלבון בקרה שנקשר לרצפים מיוחדים ב-RNA-שליח שנקראים יחידות תגובה לברזל (IRE). ב-RNA-שליח נמצאות יחידות אלה של קולטן הטרנספרין ליד קצה 3', ומגינות על ה-RNA מפני פירוק (איור א-28).

אם יש מספיק ברזל, יוני ברזל נקשרים לחלבון הבקרה. חלבון הבקרה הקשור לברזל אינו יכול להיקשר ליחידת התגובה לברזל. כתוצאה מכך, RNA-שליח המקודד את קולטן הטרנספריין מפורק במהירות על ידי אנזים ייחודי המפרק בקצה 3', ומופסק ייצור הקולטן לטרנספריין.



איור א-28: בנוכחות ברזל RNA-שליח מתפרק ואין תרגום לקולטן טרנספריין

כאשר ריכוז הברזל נמוך, חלבון הבקרה יכול להיקשר ליחידת התגובה לברזל. ה-RNA-שליח מיוצב, ונוצר הקולטן לטרנספריין (איור א-29). כתוצאה מכך גדלה הקליטה של הברזל לתא.



איור א-29: כאשר אין די ברזל, RNA-שליח אינו מפורק ויש תרגום לקולטן הטרנספריין

פירוק RNA-שליח על ידי מולקולות מיקרו-RNA

רוב השתקות הגנים שמתחוללות לאחר סיום שלב התעתוק אינן נגרמות על-ידי חלבונים, אלא על-ידי מולקולות מיקרו-RNA (מולקולות RNA קטנות). תגלית מפתיעה זו זיכתה את אנדרו פייר וקרייג מלו בפרס נובל לרפואה לשנת 2006. קודם לכן סברו חוקרים כי ל-RNA אין כלל תפקיד בבקרת ביטוי הגנים. עבודתם של מלו ופייר הראתה כי למעשה יש להם תפקיד מרכזי בבקרה.

RNA דו-גדילי מפריע לתולעת הטבעתית

בשנת 1998 ביקשו החוקרים פייר ומלו לבחון דרכים למניעת ביטוי של גנים בתולעת הטבעתית נמטודה מהמין *Caenorhabditis elegans*, בעל-חיים פשוט שמרבים להשתמש בו כמודל לחקר התפתחות בבעלי-חיים. הם הזריקו RNA חד-גדילי וגם גרסה דו-גדילית של אותו RNA לתולעים, ובדקו את השפעת ההזרקות על התבטאות גן המטרה בתולעת.

להפתעת החוקרים התברר שדווקא RNA דו-גדילי, שלכאורה אינו יכול ליצור זיווג בסיסים, ושימש כביקורת, השתיק את הביטוי של גן המטרה ביעילות גבוהה ביותר. עוד נמצא כי אפקט ההשתקה נגרם על-ידי הרס ה-RNA-שליח התואם לו (איור א-30). למעשה יעילות ההשתקה הייתה כה גבוהה, שהזרקה של מולקולות בודדות של RNA דו-גדילי הספיקה לגרום להרס כמות גדולה הרבה יותר של RNA-שליח המטרה, ומכך הסיקו החוקרים שבמנגנון ההשתקה חייב להיות מעורב אנזים או אפקט הגברה כלשהו. עוד מצאו החוקרים שהשתקה של גן על-ידי ה-RNA הדו-גדילי מתאפשרת רק בתנאי ש-RNA זה תואם לחלקים מרצף הגן המצויים ב-RNA-שליח, ואינה מתרחשת כאשר ה-RNA הדו-גדילי תואם לאינטרון או לאתר מקדם. כמו כן הדגימו החוקרים כי ה-RNA הדו-גדילי גורם לייצור עותקים נוספים של עצמו, מתפשט לתאים נוספים ואף עובר לצאצאי התולעת שלה הזריקו אותו. החוקרים כינו את התופעה RNA מפריע (= RNA interference) (RNAi).

בניגוד לעדויות קודמות בצמחים ובפטריות לגבי מעורבותו של RNA דו-גדילי בהשתקה, הניסויים שערכו פייר, מלו ועמיתיהם הוכיחו באופן ישיר וחד-משמעי ש-RNA דו-גדילי הוא הגורם האחראי להשתקה, וכן סיפקו הסבר משכנע לתופעות ההשתקה השונות שתוארו עד אז רק בצמחים ובפטריות. ניסויים רבים אחרים שנערכו מאוחר יותר איששו את ממצאיהם של פייר ומלו ואישרו כי RNA דו-גדילי יעיל ביותר בהשתקת גן בעל רצף תואם לא רק בתולעים, אלא גם בפטריות, בצמחים, בזבובים, בדגים, בעכברים ואף בתאי אדם. על מחקרם זה זכו פייר ומלו בפרס נובל לרפואה בשנת 2006.

סדרה של תגליות בשנים האחרונות של המאה ה-20 חשפה כמה צורות של RNA בעלות תפקידים חשובים בבקרת ביטוי של גנים. התגליות חשפו ש-RNA יכול להשפיע על הביטוי של גנים בכך שהוא חותך RNA-שליח ספציפי, או מונע את תרגומו לחלבון.

פרויקט הפענוח של הגנום האנושי הראה שרק כ-1.5% מה-DNA שבגנום האדם מקודד לייצור חלבונים (ראו עמ' 59). חלק גדול מ-98.5 האחוזים הנוותרים מתועתק למולקולות RNA הנקראות בשם הכללי "RNA בלתי-מקודד". חלק ממולקולות RNA אלה שאינן מקודדות לחלבון משתתפות בבקרת ביטוי הגנים. מולקולות ה-RNA המשתתפות בבקרת ביטוי הגנים כוללות כמה סוגים של מולקולות RNA קטנות הנקראות מיקרו-RNA, ומולקולות קטנות המתערבות בתהליכים שונים הנקראות siRNA (small interfering RNA). מולקולות RNA קטנות מדכאות ביטוי של אלפי גנים בבעלי חיים ובצמחים. מולקולות אלה נחקרו בהרחבה בשנים האחרונות בפרט מאז הזכייה בנובל ב-2006.

גנים המתועתקים למיקרו-RNA התגלו תחילה ב-DNA של תולעים שטוחות, צמחים וחרקים. בשני העשורים האחרונים חשפו חוקרים את מנגנון פעולתם ואימתו את נוכחותם ב-DNA של רוב היצורים המוכרים לנו. בגנום האנושי כלולים אלפי גנים זעירים ממשפחה זו שחלקם ייחודיים לאדם.

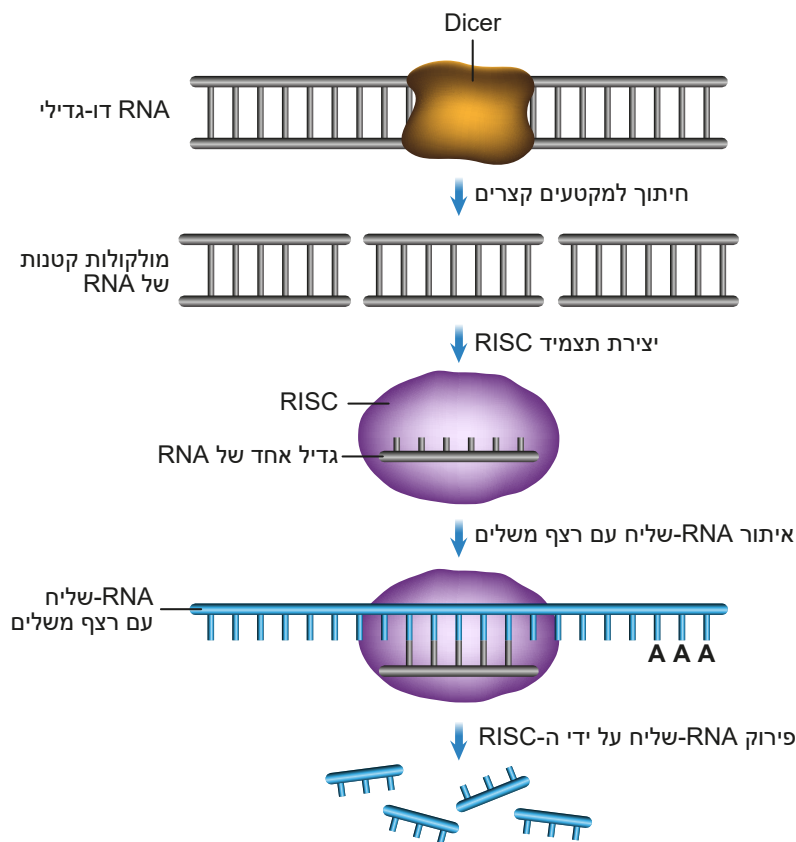
המיקרו-RNA יודעים לזהות את רצף ה-RNA המתאים ולהיקשר אל מספר זעיר של שבעה נוקלאוטידים. המיקרו-RNA אינם משתיקים את הגנים שהם מכירים, אלא מדכאים את פעילותם במידה מתונה. בכך מצטמצם הסיכון לנזק משמעותי כתוצאה משפעול יתר של המיקרו-RNA – או לחלופין מירידה בפעילותם.

נוסף על כך, מיקרו-RNA יחיד מסוגל לדכא מסלול שלם, כי רצפי ה"היכרות" שלו המאפשרים לו לזהות רצפי RNA משותפים לקבוצות גנים המפקחות יחדיו על תהליכים מרכזיים בגוף כמו חלוקת תאים. כתוצאה מכך שינויים קטנים יחסית ברמות המיקרו-RNA יכולים להשפיע על מסלולים שלמים בתאים חיים וברקמות שונות במהירות, ביעילות ותוך השקעה אנרגטית מינימלית. ערכה של היעילות הזאת רב במיוחד במצבי עקה המחייבים היערכות מיידית ברמה המערכתית.

מנגנון ההשתקה של מולקולות מיקרו-RNA

שנים אחדות לאחר הגילוי של פייר ומלו התגלה המנגנון שבו מולקולות מיקרו-RNA גורמות לפירוק והשתקה של RNA-שליח. המנגנון התגלה במחקר שבדק כיצד מולקולות דו-גדיליות של RNA משתיקות גנים.

לאחר שמולקולות ה-RNA הדו-גדיליות מופיעות בציטופלסמה, אנזים הקרוי Dicer מפרק ומעבד אותן ויוצר מהן רצפים קצרים של 21-25 נוקלאוטידים. האנזים קושר את המולקולות הקטנות לחלבונים ויוצר תצמיד שגורם להשתקת הגנים שנקרא RISC (RNA-induced silencing complex). בכל תצמיד משולב גדיל אחד של מולקולת מיקרו-RNA. גדיל זה מוביל את התצמיד שמשוטט בציטופלסמה למולקולות RNA-שליח שיש להן רצפי נוקלאוטידים משלימים לרצף שלו. לאחר הזיווג בין הרצפים המשלימים, נהרס ה-RNA-שליח על ידי אנזימים (ריבונוקלאזות) שנמצאים ב-RISC, או שהתרגום שלו מופסק מיידית והוא מובל לאזור אחר בציטופלסמה, שם מצויות ריבונוקלאזות שמפרקות אותו. לאחר פירוק ה-RNA-שליח משתחרר תצמיד ה-RISC והוא פנוי לאיתור מולקולות RNA-שליח נוספות. מולקולת מיקרו-RNA אחת, כחלק מהתצמיד, יכולה לנטרל באופן זה מולקולות RNA-שליח רבות ומונעת ביעילות תרגום לחלבון המקודד על-ידי ה-RNA-שליח שהתפרק (איור א-30).



איור א-30: מולקולת מיקרו-RNA מאתרת רצף משלים וגורמת לפירוק מולקולת RNA-שליח

תפקידי מנגנון ההשתקה באמצעות מיקרו-RNA

מנגנון ההשתקה על ידי מיקרו-RNA בתאים של יצורים אוקריוטיים הוא מנגנון הגנה נגד פלישת RNA נגיפי או נגד רכיבים נודדים בגנום כמו "גנים קופצים" (טרנספוזונים) (ראו עמ' 59). רוב הנגיפים הצמחיים נושאים את המידע הגנטי שלהם במולקולת RNA חד-גדילית. בעת שכפולם בתא הצמח, החומר הגנטי של נגיפים אלה עובר שלב של RNA דו-גדילי. האנזים הצמחי DICER מזהה את ה-RNA הדו-גדילי ומפרק אותו למקטעים קצרים, המשתלבים ב-RISC ומנחים אותו לחתוך את ה-RNA הנגיפי. בדרך זו נמנעת התפשטותו של הנגיף התוקף בצמח. גם בבעלי חיים שונים נמצא שזה המנגנון התוקף נגיפי RNA.

השתקה על ידי מיקרו-RNA היא מנגנון חיוני לבקרה על ביטוי גנים בהתפתחות העוברית. מתברר כי בקרת הביטוי על-ידי מיקרו-RNA היא גורם הכרחי להתפתחות התקינה של בעלי חיים, ושיבוש בקרה זו גורם לפגיעה קשה בהתפתחות האורגניזם ואף למוות. בין היתר, מתברר כי מיקרו-RNA בבעלי חיים מבקרים גנים המעורבים בבקרה על עיתוי התפתחות העובר, התמיינות תאי גזע, בקרת גדילה ועוד. רוב הגנים המבוקרים על-ידי מיקרו-RNA בצמחים הם גנים המקודדים גורמי תעתוק המעורבים בבקרת תהליכים מכריעים בהתפתחות הצמח, כמו התפתחות העלה, התמיינות הפרח, בקרת מועד הפריחה, תגובה להורמונים וכן תגובה לעקות סביבתיות שונות. לאור המידע הזה אפשר לומר, שלמולקולות RNA קטנות, לצד גורמי התעתוק, יש תפקיד חשוב בבקרת ביטוי גנים בצמחים ובבעלי חיים. מדהים לחשוב שעד לפני שנים אחדות כלל לא היה ידוע קיומו של מנגנון חשוב זה.

עד כה בודדו כמה אלפי גנים כאלו בבעלי חיים ומאות מצמחים. מעריכים כי מולקולות מיקרו-RNA מעורבות בבקרת לפחות 50% מהגנים באדם.

יישומים של מנגנון ההשתקה בחקלאות וברפואה

גילוי מנגנון הבקרה על ידי מיקרו-RNA אפשר לראשונה להשתיק ביעילות התבטאות של גן מסוים, שחלק קטן מרצף הבסיסים שלו ידוע. לחוקרים זהו כלי עבודה חדש רב עוצמה לחקר תפקידם של גנים שהרצף שלהם זוהה - אפשר לשתק גנים ולברר מהו תפקידם. שיטה זו האיצה את חקר התפקוד של גנים ממגוון רחב של יצורים אוקריוטיים לאחר שפרויקטים רבים לקביעת רצפי הגנום של יצורים שונים חשפו מספר רב של גנים שתפקידם אינו ידוע. השימוש במנגנון ההשתקה לפגיעה בביטוי של גנים מסוימים, אם ביצור השלם ואם בחלק מתאיו, מספק מידע על תפקודי גנים על דרך השלילה. כלומר, אילו תפקודים נפגעים כאשר מושתק גן זה או אחר.

ליכולת להשתיק גן מטרה מסוים יש שימושים ביוטכנולוגיים ורפואיים. דוגמה טובה לכך היא יצירת צמחים עמידים לנגיפים. מחלות נגיפיות בצמחים גורמות לנזקים עצומים בגידולים חקלאיים, שבחלקם פוגעים כמה נגיפים שונים. החדרה לצמח של גן המקודד ל-RNA דו-גדילי התואם לרצף הגנום של נגיף צמחי יחיד, או אף לכמה גנומים מנגיפים שונים, מעוררת בצמח יצירת siRNAs אנטי-נגיפיים, ומקנה לצמח עמידות מוחלטת נגד הנגיפים האלה. המנגנון מיושם גם בעיכוב תהליכי ההבשלה בפרי העגבנייה, למשל.

דוגמה חשובה אחרת הן תרופות המבוססות על מיקרו-RNA לטיפול במחלות. העובדה שמולקולות קטנות של RNA יכולות לשבש התבטאות של גנים מסוימים בגוף, ולהקל על חולה בלי לפגוע ב-DNA שלו, מעודדת כיום מדענים רבים בעולם לפתח טיפולים למחלות שונות באמצעות מיקרו-RNA. בין היתר התברר שאפשר להשתמש באופן יעיל במיקרו-RNA לנטרול פעילותם של נגיפי מחלה כדוגמת נגיף האיידס ונגיף צהבת מסוג B בתאים שהודבקו. לגבי נגיף צהבת מסוג B, נוטרלו נגיפים מדביקים לא רק בתרבויות תאים, אלא אף באורגניזמים שלמים – בעכברים. תרופה שכבר נמצאת בשימוש היא תרופה לטיפול ב-CMV – דלקת עיניים נגיפית האופיינית בעיקר לחולי איידס. התרופה היא רצף של 21 נוקליאוטידים המשלים לאזור ב-RNA של הנגיף. הקישור של התרופה ל-RNA-שליח של הנגיף בולם יצירה של חלבונים חיוניים לתהליך ההתרבות שלו.

חשוב מכול – חוקרים תולים תקוות רבות במיקרו-RNA בריפוי סרטן על-ידי האטה של צמיחת גידולים. ניסויים בהשתקה של גנים אונקוגניים (מחוללי סרטן) בתאים סרטניים הצליחו בכמה מקרים לעצור את ההתבטאות שלהם ולפגוע ביכולת הפלישה וההתחלקות של התאים.

מן הרשת



[פרסי הנובל בכימיה וברפואה לשנת 2006 מפנים את מולקולת ה-RNA אל קדמת הבמה של הביולוגיה המולקולרית](#)

פרס נובל בכימיה ניתן לרוג'ר קורנברג על גילוי פרטי התעתוק של המידע הגנטי מ-DNA ל-RNA. פרס נובל ברפואה ניתן לאנדרו פייר וקרייג מלו על גילוי מעורבותן של מולקולות RNA דו-גדילי במנגנון השתקת ביטוי גנים.

[להרוג את השליח – השתקת גנים ויישומיה](#)

ההשתקה באמצעות RNA או RNAi התגלתה כתופעה כללית, המתקיימת באורגניזמים משמרים ועד בני אדם. המאמר מתאר כיצד התגלה מנגנון בקרת הביטוי באמצעות מולקולות RNA זעירות, מה הם רכיבי ותפקידיו וכיצד אפשר לנצל לשימושים ביוטכנולוגיים.

[אבטלה סמויה](#)

רוב מולקולות ה-RNA ממתינות בגרעין התא במשך כ-10 דקות לפני שהן יוצאות לציטופלסמה למשך כמה שעות. הגנים שאופיינו במחקר החדש מייצרים מולקולות RNA הממתינות בגרעין כשעה, אך לאחר יציאתן לציטופלסמה הן חיות כ-30 דקות בלבד. ממצאים אלה עשויים לפתוח אפיקים חדשים בחקר ה-RNA, ואף לסייע בזירוז יכולת התגובה של התא.

[מהפכת ה-RNA](#)

סדרה של תגליות בשלהי המאה ה-20 חשפה כמה צורות של RNA בעלות תפקידים פעילים של ויסות בתאים: הן קובעות אילו חלבונים ייווצרו ובאיזו כמות ואפילו משתיקות כמה גנים. תובנות חדשות אלה מאפשרות למדענים ליצור עולם חדש של תרופות ניסיוניות נגד חיידקים, נגיפים, סרטן ומחלות כרוניות שונות שיהיו מדויקות ויעילות מן התרופות הזמינות כיום.

[כמה קטנים, ככה גדולים](#)

לראשונה, טיפול במיקרו-RNA הצליח להוריד את כמות הכולסטרול בקופים, ופותח את הדרך לטיפולים דומים בבני אדם.

[מעמעם \(ראו עמ' 20 בחוברת\)](#)

המיקרו-RNA, העמעמים הקטנים והחכמים של הגנום האנושי, ששולטים ברזי ייצור החלבונים המרכיבים את גופנו, תרמו להתפתחות המטאורית של חקר המוח, תורמים להבנת האבולוציה של הגוף האנושי גם בימינו, וטומנים בחובם הבטחה לדור חדש של תרופות גנטיות.

[תור ה-RNA](#)

מדענים מתחילים להבין את השפעותיהם האמיתיות של גנים ממשפחת המיקרו-RNA, גם בהתפתחות הרגילה של האורגניזם וגם בעת מחלה. ידע חדש בתחום זה עשוי להוביל לפיתוח טיפולים חדשים שיתמקדו במנגנונים שלא היו ידועים בעבר.

מפתח-על

חוקרים ממכון וייצמן גילו כי מיקרו-RNA הקרוי miR-142 הוא מעין מפתח-על שמפעיל ומפסיק מספר תהליכים תאיים ההכרחיים לפיקוח על שלד התא ועל ארגונו, ובמיוחד על ארגונו של חלבונים מבניים, הלוא הם סיבי האקטין.

מצב הרוח

ממצאים מלמדים, שרמה מתאימה של מיקרו-RNA 135 במוח חיונית על מנת ליצור תגובה תקינה ללחץ, לבקרה של חרדה ולדיכאון, ותגובה יעילה לתרופות נוגדות דיכאון. בבדיקות שבוצעו בבני אדם הסובלים מדיכאון נמצא שרמת המיקרו-RNA 135 בדמם הייתה נמוכה במיוחד. ממצאים אלה מצביעים על כך שהמיקרו-RNA 135 עשוי להיות תרופה מתקדמת לדיכאון, לחרדה ולהפרעות נוספות. כן מתברר שאפשר להשתמש בשינויים ברמות מיקרו-RNA 135 בדם לשם בדיקת דיכאון ותגובה לטיפול תרופתי.

גורם נוסף שעלול להביא לאובדן שמיעה – העדר של מולקולות מיקרו-RNA

תאי חישה באוזן הפנימית, המכונים "תאי שיער", אחראים לתרגום הקול לגירויים חשמליים המועברים למוח. מדענים גילו שמולקולות מיקרו-RNA חיוניות להיווצרותם של תאי השיער באוזן הפנימית ולשרידותם של תאים אלה. חוקרים מאוניברסיטת תל-אביב וממכון וייצמן הצליחו לגרום לאובדן השמיעה בעכברים באמצעות סילוק המיקרו-RNA מאוזניהם. בעתיד הם מקווים כי אפשר יהיה למנוע מותם של תאים כאלה ולחסל חלק ניכר ממקרי החרשות.

מישהו כיבה את המתג

מדענים ממכון וייצמן מצאו מתגים מולקולריים המפעילים חלבונים שמקנים לחיידקים עמידות לאנטיביוטיקה. "כיבוי" מתגים אלה עשוי לבלום את עמידות החיידקים. מתגי שליטה המורכבים מ-RNA, הקרויים בשם הכולל riboswitches ו־ riboregulators (ribo מתגים או ribo נסתים) הם סלילים קצרים של RNA שמחוברים ל-RNA-שליח. הם פועלים בדומה לחיישנים, שנדלקים או כבים כאשר הם מזהים רמה מסוימת של חומר מוגדר, כמו חומצת אמינו מסוימת, ובכך הם שולטים על הביטוי של ה-RNA-שליח שאליו הם מחוברים.

שאלות

בשאלות 1-5 בחרו תשובה אחת נכונה.

1. כיצד מולקולות מיקרו-RNA משפיעות על הביטוי של גן?
 - א. מעכבות תרגום הגן על ידי קשירה לרצף משלים במולקולת RNA-שליח
 - ב. גורמות לפירוק מולקולת RNA-שליח על ידי קיצור זנב הפולי A
 - ג. מונעות קשירת RNA-פולימראז לתצמיד אתחול התעתוק
 - ד. מונעות הוספת כיפה וזנב פולי A לתעתיק הראשוני של מולקולת RNA
2. החסרת זוג בסיסים באחד האקסונים של גן המקודד חלבון יגרום ל:
 - א. הפרעה בקשירה של RNA-פולימראז אל האתר המקדם
 - ב. שינוי מסגרת הקריאה וייצור חלבון שונה
 - ג. הפרעה בהוספת כיפה לתעתיק הראשוני של מולקולת RNA
 - ד. הפרעה בהרחקת האינטרונים בתהליך השחבור

3. איזה מהמנגנונים הבאים הוא מנגנון לבקרת ביטוי גן הקיים בפרוקריוטים ואינו קיים באאוקריוטים?

- א. מתילציה של DNA
- ב. אופרון הלקטוז
- ג. שחבור חלופי
- ד. קשירת גורמי תעתוק ל-DNA
- ה. קיצור זנב פולי A

4. בגן של תא אאוקריוטי:

- א. אינטרונים מכילים נוקלאוטידים המקודדים חלבון
- ב. אקסון תמיד מתועתק אולם לא תמיד מתורגם
- ג. האקסונים ארוכים יותר מהאינטרונים
- ד. האינטרונים תמיד מורחקים בתהליך השחבור

5. כמות החלבון הנוצרת בתא ממולקולת RNA-שליח מסוימת תלויה ב:

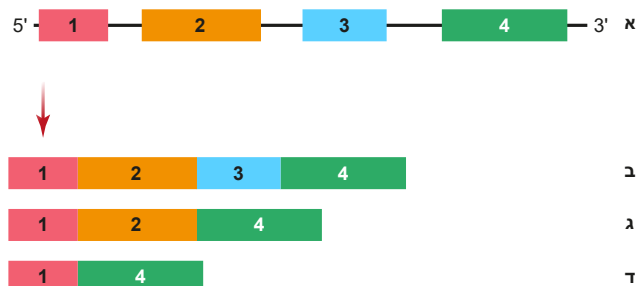
- א. מספר האקסונים במולקולת ה-RNA-שליח
- ב. נוכחות גורמי תעתוק מסוימים
- ג. רמת המתילציה של ה-DNA
- ד. סוגי הריבוזומים הנמצאים בציטופלזמה
- ה. קצב פירוק מולקולת ה-RNA-שליח

6. זמן מחצית החיים של RNA-שליח ביונקים נע בין 30 דקות ל-20 שעות. המולקולות הבלתי יציבות מקודדות בדרך כלל לחלבונים בקרה כולל גורמי תעתוק. הסבירו מה היתרון בכך.

7. ככל שגן מתועתק יותר, כך ייווצר יותר חלבון. האם מצב זה נכון תמיד?

8. כאשר חוקרים הוסיפו את ההורמון פרולקטין לרקמת בלוטת חלב שגדלה בתרבית, היא הגיבה בעלייה בייצור חלבון החלב קזאין. נמצא, שמספר מולקולות RNA-שליח לקזאין עלה פי 20 במשך 24 שעות אחרי הטיפול בהורמון. החוקרים מצאו שקצב הייצור של RNA-שליח לקזאין עלה רק פי 2-3, ולא פי 20 כפי שציפו. הסבירו מה גרם לעלייה הגדולה ברמת הקזאין.

9. באיור א-31 מתואר מנגנון בקרה על ביטוי גן בתא אאוקריוטי. בכל שורה באיור מתואר רצף של גן כחלק ממולקולת RNA. התבוננו באיור וענו על השאלות.



איור א-31

- א. מה השוני בין מולקולת RNA המתוארת בשורה א, לבין אלה המתוארות בשורות ב, ג, ו-ד?
- ב. כיצד נקראת המולקולה המתוארת בשורה א, וכיצד נקראות המולקולות המתוארות בשורות ב, ג, ו-ד?
- ג. תארו את התהליך שגרם לשינוי זה.
- ד. איך נקראים המקטעים שמצוינים במספרים?
- ה. מה הם ההבדלים בין המולקולות המתוארות בשורות ב, ג, ו-ד?
- ו. כמה תוצרים חלבוניים נוצרו מהגן המתואר באיור א-31?
- ז. איזה מנגנון של בקרה על ביטוי גן מתואר באיור א-31?
- ח. מהו היתרון שמקנה מנגנון זה לאדם?

10. אם יפיקו את כל ה-RNA שליוח מרקמת שריר ומרקמת כבד, האם ה-RNA שליוח שיופק משתי הרקמות יהיה זהה? הסבירו.

11. חוקרים רצו לבדוק מה גורם לשינוי במספר הקולטנים לטרנספרין בקרום התא במצב של חוסר ברזל. אחת ההשערות שהעלו היא כי במצב של חוסר ברזל נוצרים קולטנים חדשים לטרנספרין בתא. כדי לבדוק את השערתם העמידו החוקרים ארבע מערכות ניסוי של תאים, שאותם גידלו במצע גידול שהכיל את כל צורכי התא, למעט ברזל שנמצא בכמות שונה במערכות השונות. זאת ועוד: לחלק ממערכות הניסוי הוסיפו חומר המעכב ייצור של חלבונים. בטבלה הבאה מפורט הרכב המערכות:

מספר המערכת	תכולת הברזל במצע	תוספת למצע	מספר ממוצע של מולקולות קולטנים לתא
1	נורמלית	-	95,000
2	נורמלית	מעכב*	80,000
3	דלה	-	200,000
4	דלה	מעכב*	97,000

* מעכב יצירת חלבונים

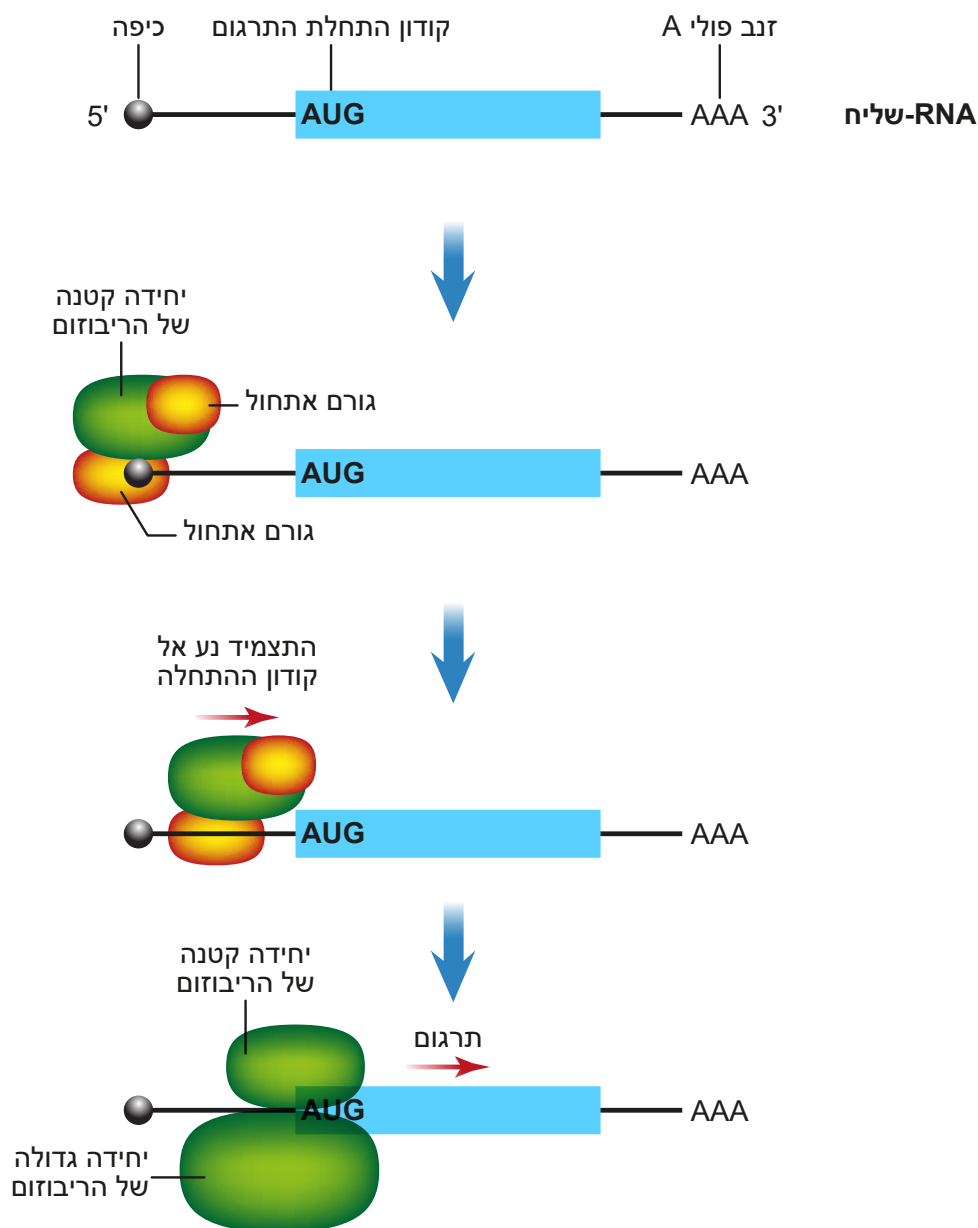
- א. מה אפשר ללמוד מהתוצאות המוצגות בטבלה לגבי השפעת הרכב המצע על כמות מולקולות הקולטן לטרנספרין?
- ב. האם התוצאות תומכות בהשערת החוקרים?
- ג. הסבירו את תוצאות הניסוי על פי מה שידוע על מנגנון בקרת הביטוי של הגן לקולטן לטרנספרין.
- ד. באיזה שלב (מ-RNA לחלבון) של ביטוי הגן לקולטן הטרנספרין מופעל מנגנון זה? הסבירו.
- ה. בהנחה שמנגנון בקרת תעתוק הגן לקולטן הטרנספרין יכול לווסת את כמות הברזל בתא. כתבו מה היתרון ומה החיסרון של מנגנון זה למטרה הזאת.

בקרת התרגום

תרגום RNA-שליח לחלבון מהווה שלב נוסף שבו אפשר לווסת ביטוי של גן. בשלב זה הבקרה מתרחשת בדרך כלל באתחול התרגום.

תרגום RNA-שליח לחלבון נעשה על ידי הריבוזומים. הריבוזומים נעים לאורך שרשרת הנוקלאוטידים של ה-RNA-שליח ו"קוראים" את הקודונים. כל קודון גורם לריבוזום להוסיף חומצה אמינית מסוימת ולבנות את שרשרת החומצות האמיניות של החלבון. שלב מפתח בבקרת תהליך התרגום הוא אתחול התרגום.

בדרך כלל הקודון ההתחלתי הוא AUG – הקודון של החומצה האמינית מתיונין. גורמי אתחול (initiation factors) הם חלבונים ייחודיים המזהים ב-RNA-שליח את קוד המתיונין המסמן את אתר הכניסה של הריבוזום. תצמיד של גורמי אתחול נקשר אל היחידה הקטנה של הריבוזום, מוביל וקושר אותה אל הקודון ההתחלתי. לאחר הקשירה משתחררים גורמי האתחול, היחידה הגדולה של הריבוזום נקשרת אל היחידה הקטנה ומתחיל תהליך התרגום (איור א-32).



איור א-32: תהליך אתחול התרגום

בקרת אתחול התרגום נעשית על ידי שינויים בזמינות או בפעילות של החלבונים גורמי האתחול. חלבון בקרה שמזהה רצף בקרה מסוים ב-RNA-שליח יכול להיקשר לרצף זה, למנוע או להגביר את היצירה של התצמיד הדרוש להתחלת התרגום ובכך להשפיע על התרגום של ה-RNA-שליח.

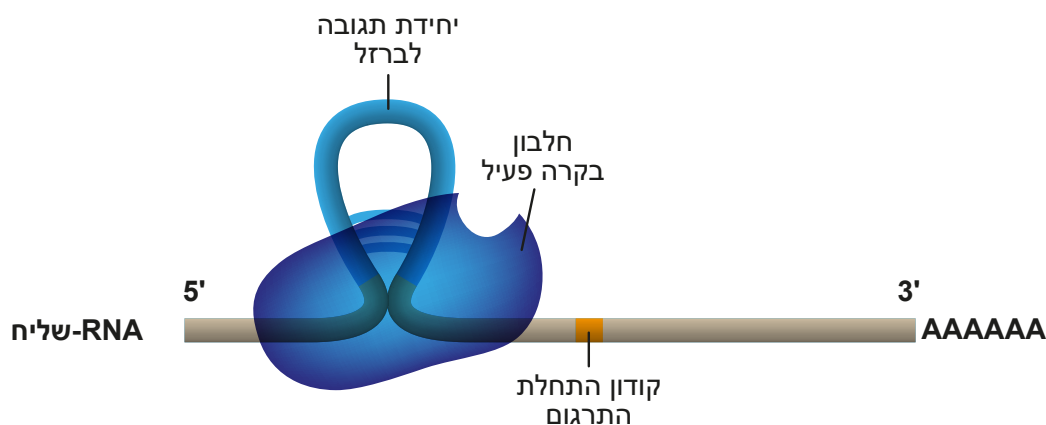
לדוגמה, כדי להתחיל את התרגום באאוקריוטים, חלבון גורם אתחול 2 (eIF-2) חייב להיקשר ליחידה הקטנה של הריבוזום. הקשירה של גורם האתחול מבוקרת על ידי זרחון – הוספת קבוצת זרחה לחלבון גורם האתחול. כאשר גורם האתחול מזורחן, הוא נעשה בלתי פעיל, ואינו יכול להתחיל את התרגום. כל עוד אינו מזורחן הוא יכול להתחיל את התרגום. באופן זה זרחון גורם האתחול משמש כמתג המפעיל או מנטרל את פעילותו וכך גם את תהליך התרגום. השבתת התרגום יכולה להיות אמצעי טוב בתקופות שהתא לא יכול לייצר חלבונים חדשים: למשל, במצב של מחסור בחומצות אמיניות. בקרה זו היא כללית, ומתאימה להשבתה של כל התרגום. לא של חלבונים מסוימים. בקרה כללית זו מתאימה גם למצב של הפעלה מהירה של הרבה חלבונים בזמנית, כמו למשל בעת תרגום כל מולקולות ה-RNA-שליח שנמצאות בביצית של אורגניזמים שונים. מייד לאחר ההפריה, הפעלה של גורמי אתחול תרגום מפעילה מייד את התרגום של כל החלבונים בביצית.

עם זאת, חשוב לציין שיש מקרים שבהם מתרחשת בקרה על אתחול התרגום של חלבון מסוים. מערכת בקרת התרגום יכולה לבחור אילו מולקולות ה-RNA-שליח יתורגמו מתוך מגוון מולקולות ה-RNA-שליח הקיימות בתא. בקרה כזאת נעשית על ידי קשירת חלבון בקרה לרצף מיוחד במולקולת ה-RNA-שליח הנקרא יחידת תגובה.

בקרת אתחול תרגום ה-RNA-שליח המקודד פריטין

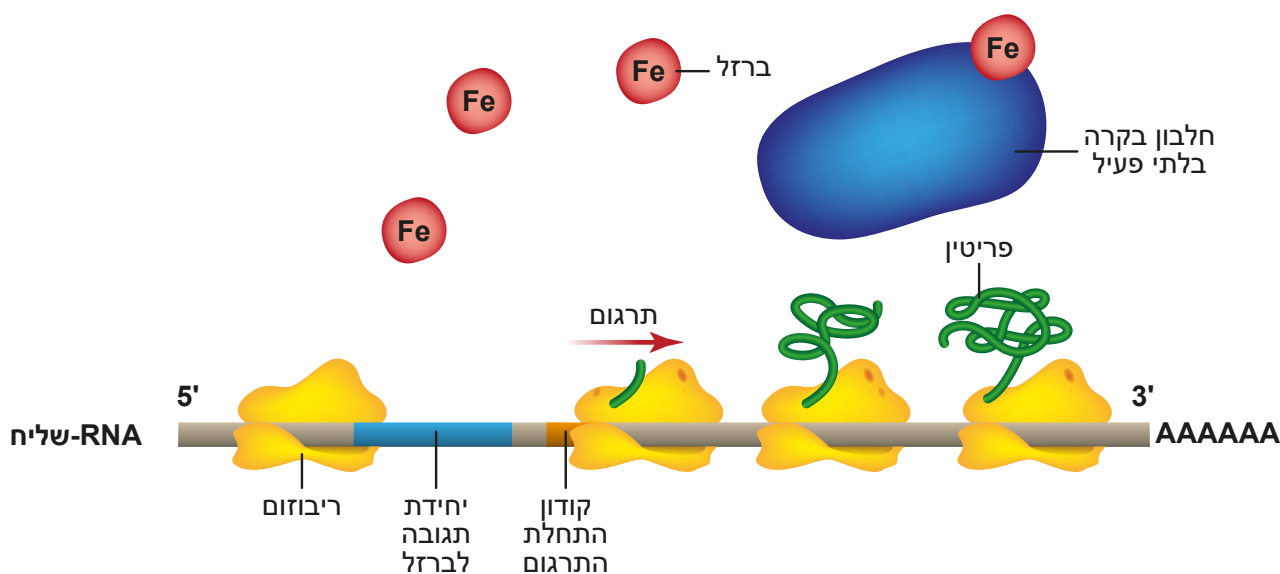
בקרת תרגום ה-RNA-שליח המקודד פריטין היא דוגמה לבקרת אתחול התרגום של חלבון מסוים. פריטין הוא חלבון מאגר של ברזל, והגירוי לייצורו הוא נוכחות ברזל. כמו שראינו (עמ' 32), ויסות כמות הברזל בתא נעשה באמצעות איזון מבוקר בין קליטת יוני הברזל מהדם לבין כליאתם על ידי פריטין בתוך התא. במקרה של עודף ביוני ברזל בתא, הפריטין מסוגל ל"כלוא" אלפי יוני ברזל ו"לפתור" את בעיית עודף הברזל. אם חסר ברזל בתא, יכול הפריטין לשחרר יוני ברזל לתוך התא. כך נשמרת רמה פחות או יותר קבועה של ברזל זמין בתא.

כאשר ריכוז הברזל נמוך, חלבון בקרה מיוחד נקשר ליחידת התגובה לברזל. יחידת התגובה לברזל היא מקטע של 28 נוקלאוטידים ברצף הלא מתורגם בקצה 5' של מולקולת ה-RNA-שליח לפריטין. יחידה זו יוצרת לולאה דמוית סיכת ראש הדרושה לגירוי ליצירת פריטין. קשירה זו מונעת את יצירת התצמיד לאתחול התרגום של ה-RNA-שליח, וייצור פריטין מעוכב (איור א-33).



איור א-33: בריכוז נמוך של ברזל החלבון פריטין אינו מתורגם

כאשר יש ברזל, חלבון הבקרה נקשר לברזל ועובר שינוי במבנה שלו. כתוצאה מכך משתחרר החלבון מיחידת התגובה לברזל. השחרור מאפשר את יצירת תצמיד אתחול התרגום ועמו את התרגום לחלבון פריטין (איור א-34). החלבון שנקשר ליחידת התגובה לברזל הוא דוגמה לדכאן תרגום.



איור א-34: בריכוז גבוה של ברזל החלבון פריטין מתורגם

חשוב לציין: יסודות כמות של קולטן הטרנספרין (עמ' 33) ושל הפריטין פועל בזמנית בשני מנגנונים שונים. כאשר כמות הברזל גבוהה לא נוצר קולטן הטרנספרין (על ידי פירוק ה-RNA-שליח שלו), ומצד אחר עולה רמת הפריטין (על ידי הגברת אתחול התרגום והייצור שלו). באופן דומה, כאשר יש מחסור בברזל – עולה כמות הקולטן של הטרנספרין ויורדת רמת הפריטין, הודות לשני מנגנוני הבקרה המשפיעים על ייצור החלבונים הללו.

מנגנון נוסף של בקרת אתחול התרגום אפשר לראות בתאי הביצה של אורגניזמים שונים. קיים מגוון של מולקולות RNA-שליח בתאי הביצה עם זנב פולי A קצר מכדי להתחיל את התרגום. בזמן המתאים במהלך התפתחות העובר, אנזים ציטופלסמטי מוסיף נוקלאוטידים מסוג אדינין לזנב עד לקבלת זנב באורך המתאים לאתחול התרגום.

מן הרשת

בקרת יצירת חלבונים בגוף

פרופ' מישל רבל מתאר את מחקריו לגילוי גורמי האתחול של סינתזת החלבונים ובקרת תרגום המידע הגנטי בחיידקים ובתאי יונקים (עמ' 13-15 במאמר).

אזורי בקרה

מידת יכולתו של גן בשלב ה-RNA-שליח "לגייס" ריבזום וליצור חלבון היא שאלה בסיסית חשובה, שנודעת לה גם משמעות בתחום היישומים הרפואיים. חוקרים בדקו לאילו רצפים הריבזום "מגויס" להתחלת התרגום, והיכן רצפים אלה ממוקמים על מולקולת ה-RNA-שליח. הם הצליחו לזהות כמה אלפי "אזורי גיוס" על ה-RNA-שליח. "אזורי גיוס" אלה עשויים להוות מעין "בנק מטרות" למגוון תרופות למחלות שונות.

בקה אחרי התרגום

ההזדמנות האחרונה לבקרת ביטוי גן היא בשלב אחרי התרגום. בקרה אחרי התרגום תורמת לאפשרות של תא להגיב במהירות לגירוי הדורש שינויים בהרכב החלבונים. לדוגמה, חלבון שכבר נוצר אבל נמצא במצב בלתי פעיל יכול להיות מופעל על ידי שינוי כימי פשוט, ללא הצורך של תעתוק ותרגום של גן הדורשים זמן עד לייצור החלבון הדרוש. למשל, פירוק הפוליפפטיד של האינסולין (פרואינסולין) יוצר את ההורמון הפעיל. חלבוני בקרה נעשים פעילים או לא פעילים על ידי הוספה או הרחקה של קבוצת זרחה. יש חלבונים שצריכים לנוע אל קרום התא או למקום אחר בתא. מנגנוני בקרה פועלים לביצוע השינויים הכימיים הדרושים להובלת החלבונים למקום פעולתם.

בבקרה אחרי התרגום מעורבים מנגנונים שונים הגורמים ל: (א) שינויים במבנה המשפיעים על תפקוד החלבון; (ב) פירוק החלבון; (ג) הכוונה של החלבון לאזורים מסוימים בתא; (ד) אינטראקציה של החלבון עם מולקולות בקרה.

בהמשך הפרק נדון בשניים מהמנגנונים: שינויים במבנה החלבון ופירוק החלבון.

שינויים במבנה החלבון

הוספת קבוצות כימיות לחלבון או סילוקן ממנו יכולים לווסת את פעילות החלבון או את משך הזמן שהחלבון נשאר בתא לפני שהוא עובר פירוק. לעיתים שינויים כימיים יכולים לקבוע היכן ימצא החלבון בתא – למשל, בגרעין או בציטופלסמה, או קשור לקרום התא.

זרחון. אחד השינויים הכימיים העיקריים שחלבונים עוברים אחרי התרגום הוא תהליך הזרחון – הוספת קבוצת זרחה. לזרחון יש השפעות שונות על חלבונים שונים: הוא יכול להפעיל חלבונים, להשבית אותם, להעבירם למקום אחר בתא או להשפיע על יציבותם. הזרחון הוא ממנגנוני הבקרה הנפוצים ביותר בחלבונים בתאי בעלי חיים.

הזרחון מבקר את פעילות החלבון באמצעות קישור או הסרה של קבוצת זרחה. במקרים רבים נקשרת יותר מקבוצת זרחה אחת. אנזימים (הנקראים קינאזות) קושרים קבוצת זרחה לקבוצת הידרוקסיל (OH) של חומצות אמיניות אחדות; ואילו אנזימים (הנקראים פוספטאזות) מסירים את קבוצת הזרחה האלה. מאחר שלקבוצת זרחה יש מטען שלילי, הוספה שלה לחלבון משנה את מבנה החלבון. ההוספה של קבוצת זרחה או החסרתן משמשות מתג הפיך לבקרה על מגוון תהליכים אנזימיים בתא, על התקשרויות בין חלבונים ל-DNA, ועל התקשרות בין חלבונים ל-RNA כמו שראינו בחלבון אתחול התרגום (ראו עמ' 42).

חשיבות הזרחון של חלבונים נבחנת על פי מספר הגנים בגנום המקודדים קינאזות. אפילו באורגניזם פשוט כמו שמר יש מאות גנים לקינאזות, ובצמח תודרנית לבנה יש יותר מ-1,000.

פירוק החלבון

יוביקוויטינציה. בקרה חשובה נוספת לאחר התרגום היא פירוק של חלבונים בתהליך הנקרא **יוביקוויטינציה** (ubiquitination). שרשרת של מולקולות מסוג **יוביקוויטין** מסמנת חלבונים המיועדים לפירוק. קבוצה אחת של חלבונים המסומנת לפירוק באמצעות יוביקוויטין הם חלבונים קצרי חיים ובהם חלבונים המבקרים את מחזור התא; וחלבוני בקרה שפעילות מוגזמת שלהם עלולה לשבש את התהליכים שהם מבקרים. בקבוצה אחרת: חלבונים שנפגמו. תהליך היוביקוויטינציה מהיר ביותר, ולכן הוא מאפשר הפעלה מהירה של בקרה על פעילות החלבונים.

חוקרים מהטכניון זכו בפרס נובל לכימיה לשנת 2004 על גילוי תהליך היוביקוויטינציה

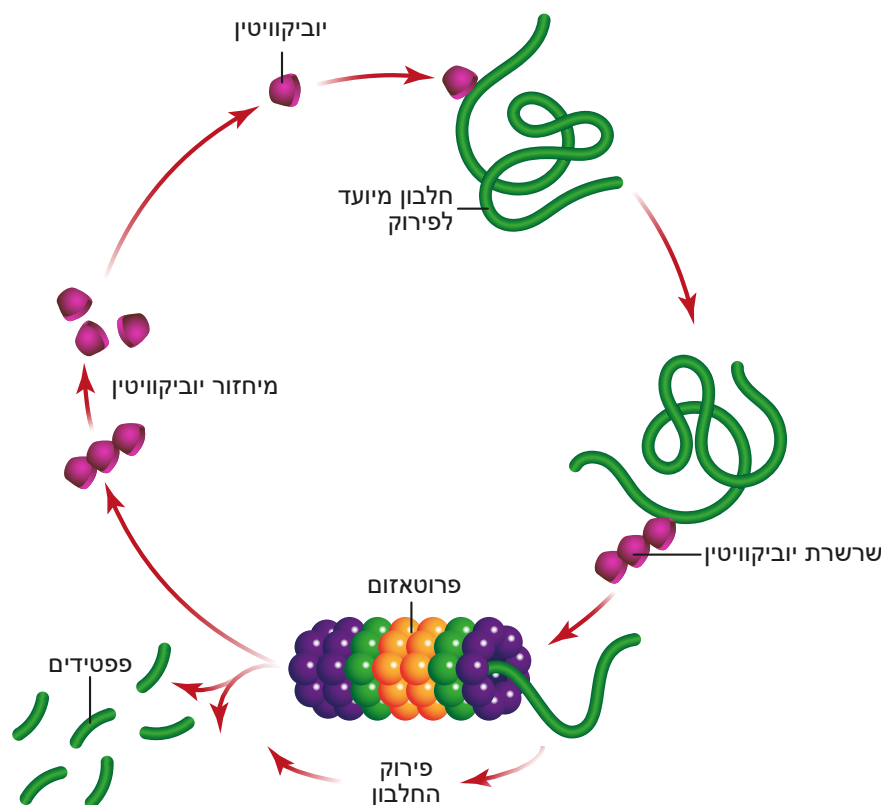
היוביקוויטינציה התגלתה ואופיינה במסגרת מחקר שערכו בסוף שנות השבעים פרופ' אברהם הרשקו ופרופ' אהרון צ'חנובר מהפקולטה לרפואה בטכניון, בשיתוף עם פרופ' אירוין רוז מהמכון לחקר הסרטן בפילדלפיה. מחקר זה, שהביא לפריצת דרך בחקר הסרטן, מחלות ניווניות במוח ומחלות אחרות, זיכה את השלושה בפרס נובל לכימיה לשנת 2004.



איור א-35: זוכי פרס נובל לכימיה לשנת 2004. מימין לשמאל: אהרון צ'חנובר, אברהם הרשקו ואירוין רוז

היוביקוויטיין הוא חלבון קטן המורכב מ-76 חומצות אמיניות, והוא קיים רק באוקריוטים שבהם הוא השתמר במהלך האבולוציה של צמחים ושל בעלי חיים. מולקולת יוביקוויטיין נצמדת לחלבון היעד. מיד לאחר מכן נצמדת מולקולת יוביקוויטיין שנייה לקודמתה, והתהליך נמשך עד שנוצרת שרשרת רבת-יוביקוויטיין הקשורה לחלבון היעד דרך מולקולת היוביקוויטיין הראשונה. שרשרת זו היא סמן המסמן לאנזימי הפירוק להתחיל את פירוק החלבון. תהליך הפירוק מתבצע באמצעות אנזים ענקי הנקרא **פרוטאזום** (proteasome), המפרק תצמידי יוביקוויטיין (איור א-36).

פענוח המבנה הגבישי של הפרוטאזום בשמרים הביא לפריצת דרך בהבנת מנגנון פעולתו של אנזים ענק זה. הוא בנוי ממספר רב של תת-יחידות המקנות לו מבנה דמוי גליל שבליבתו נמצא החלק המפרק ובשני קצותיו נמצאות תת-יחידות הבקרה האחראיות להכרת השרשרת רבת-היוביקוויטיין. בסופו של התהליך החלבון מתפרק לפפטידים, ומולקולות היוביקוויטיין משתחררות למאגר התאי (איור א-36). שלב זה חשוב למחזור מולקולות היוביקוויטיין ולסימון חלבונים נוספים המיועדים לפירוק, וכן לתיקון ולהסרת שרשרות אלה מחלבונים שסומנו בטעות ואינם מיועדים להשמדה. בסוף התהליך משתחררות גם החומצות האמיניות מהפפטידים, תוצרי פירוק החלבון. החומצות האמיניות משמשות לבניית חלבונים חדשים.



איור א-36: פירוק חלבון על ידי פרוטאזום בתהליך יוביקוויטניציה

גילוי מערכת פירוק זו הוביל להבנה שפירוק תוך-תאי של חלבונים יכול להיות מעורב וחיוני בבקרה של תהליכים רבים בתא, כמו: חלוקת התא, תעתוק של גנים, גדילה והתמיינות, מוות של תאים, תהליכים מטאבוליים, מעבר אותות בתא ופעילות תקינה של התאים. לכן אין זה מפתיע שפגיעה במערכת הפירוק של החלבונים יכולה לגרום למחלות כמו סרטן, מחלות של מערכת העצבים ומחלות שפוגעות במערכת החיסון. הבנה זו הביאה לפיתוח תרופות שמחזירות את הבקרה על פירוק חלבונים, והיום תרופות כאלה כבר נמצאות בשימוש.

מעורבות היוביקוויטין בתהליכי התפתחות

הזחל מצויד בשרירים מפותחים בגבו המאפשרים לו זחילה יעילה על העלים שמהם הוא ניזון. לעומתו, לפרפר הבוגר יש שרירי כנפיים מפותחים המאפשרים את תעופתו. כיצד נעשה המעבר ממערכת שרירים אחת לאחרת בהתאם לתפקיד שעליהן למלא? במהלך ההתפתחות, בתיווכה של מערכת היוביקוויטין, מתפרקים חלבוני שריר הגב של הזחל, ואבני הבניין - החומצות האמיניות - משמשות עתה ליצירת שרירי הכנף בפרפר הבוגר.

דוגמה אחרת קשורה בהתפתחות הלוברסטר, סרטן הגדל במים הקרים של צפון האוקיינוס האטלנטי. במהלך התפתחותו עובר סרטן זה מחזורים מספר בהם הוא משיל את מעטה גופו ומפריש מעטה חדש המתאים למידותיו שגדלו. בתהליך הנשל "מטייל" הסרטן החוצה מביתו הקשיח, ואז הוא אינו מסוגל להוציא את שרירי הלסתות העבים שלו דרך המפרקים הדקים המחברים אותם לגופו. על מנת להתגבר על בעיה זו, ובעזרתה של מערכת היוביקוויטין, מתפרקים חלבוני שרירי הלסת; השרירים נעשים דקים יותר, וכך מתאפשר מעברם דרך המפרקים. בתום התהליך מיוצרים מחדש חלבוני השריר, השריר מתעבה וחוזר לתפקודו הקודם. בתקופה בין הנשלים, כאשר שריריו של הסרטן מנוונים, הוא מוצא לעצמו מחבוא מתחת לחול שבמימי האוקיינוס.



אהרון צ'חנובר ואברהם הרשקו מהטכניון, והאמריקני אירוין רוז, זכו בפרס נובל לכימיה לשנת 2004
השלושה גילו בסוף שנות השבעים ותחילת שנות השמונים את מערכת היוביקוויטין, האחראית לפירוק חלבונים בתוך התא ושולטת בתהליכים ביולוגיים רבים כמו חלוקת תאים, תיקון DNA ואיכות ייצור חלבונים חדשים, וכן חלקים מהותיים במערכת החיסונית.

מאורע היסטורי במדינת ישראל – פרס נובל בכימיה

בעזרת התגלית על מערכת היוביקוויטין האירו החוקרים את התהליך המולקולרי שבאמצעותו התא מבקר מספר תהליכים ביוכימיים חשובים כמו מחזור חיי התא, תיקון DNA, העתקת גנים ובדיקות איכות של חלבונים חדשים בתא. ידע חדש זה, שלמעשה עוסק בבקרת חיי החלבון בתא, תרם גם להבנה של תפקידי מערכת החיסון בתא. פגמים במערכת זו יכולים להוביל למחלות שונות, כולל סוגים שונים של סרטן. מערכת היוביקוויטין קיבלה משמעות חדשה בחיפוש אחר תרופות למחלות שונות.

חלבונים ומפרקים

חלבונים נחשבים לאבני הבניין של הגוף, אלא שאינם יציבים כמו שאפשר היה לצפות. לכל אחד מן החלבונים בתא תוחלת חיים משלו, מספר שעות או אף דקות אחדות בלבד. תחלופת החלבונים בגוף היא צורך חיוני ממדרגה ראשונה. מערכת אנזימית מיוחדת מופקדת על פירוק חלבונים בתא. המערכת כוללת עשרות אנזימים, והיא אחת המערכות המרכזיות המעורבות בחיי התא החי. פגיעות במרכיבי המערכת יכולות לגרום מחלות קשות ואף למוות.

שאלות

בשאלות 1-4 בחרו תשובה אחת נכונה.

1. אחת מהדרכים לשינוי חלבון לאחר התרגום היא:

- א. הרחקת אינטרונים
- ב. הוספת קבוצות זרחה
- ג. הרחקת אקסונים
- ד. הוספת זנב פולי A וכיפה

2. מי מהמרכיבים הבאים אינו משתתף בבקרת תרגום חלבון?

- א. RNA-שליח
- ב. DNA
- ג. ריבוזומים
- ד. חלבון בקרה

3. איזה מהמשפטים הבאים אינו נכון לגבי זנב פולי A של מולקולת RNA-שליח?

- א. הוא מסייע ל-RNA-שליח המעובד לצאת מן הגרעין לציטופלסמה
- ב. הוא מוסף בגרעין למולקולת התעתיק הראשוני של RNA
- ג. הוא אינו חיוני לייצור חלבונים
- ד. הוא תורם ליציבות מולקולת RNA-שליח

4. שינויים בחלבונים לאחר התרגום יכולים להשפיע על:

- א. תפקוד החלבון
- ב. בקרה על תעתוק גן
- ג. שינויים בכרומטין
- ד. כל התשובות נכונות

5. במהלך פיתוח תרופה חדשה נגד סרטן גילו חוקרים שלוש מולקולות הגורמות לזרחון החלבון eIF-2. החוקרים גרמו לזרחון eIF-2 בחיות חולות בסרטן, ובתאי סרטן שגדלו בתרבית. בעקבות הזרחון חל עיכוב בחלוקות תאים, וכתוצאה מכך הגידולים הסרטניים הפסיקו להתפתח.

א. מהו חלבון eIF-2 ומה תפקידו?

ב. תארו מנגנון אפשרי שיכול לגרום לעיכוב התפתחות הגידולים הסרטניים בעקבות זרחון eIF-2.

6. בכל תא ותא רכיביו הכימיים של הגוף נתונים במצב של תחלופה קבועה – יצירה ופירוק. תחלופת הסוכרים והשומנים נובעת בעיקר מצרכים אנרגטיים; אנו צוברים אותם במצבי שובע ומפרקים אותם במצבי רעב. לתחלופת החלבונים סיבות אחרות.

א. ציינו שתי סיבות לתחלופה של חלבוני הגוף.

ב. תנו דוגמה לחלבונים בעלי תחלופה מהירה והסבירו את הצורך במהירות הייצור והפירוק שלהם.

7. הסבירו מהו היתרון של תא כאשר בקרת ביטוי הגנים שלו נעשית בשלב התעתוק, ומהו היתרון של בקרה בשלב התרגום.

8. ציינו והסבירו שלושה מאפיינים של תהליך היוביקוויטינציה המייעלים את תחלופת החלבונים בגוף.

9. חלבונים מפורקים במערכות שונות בגוף (כמו במעי) על ידי האנזימים שתפקידם לפרק חלבונים. ציינו מהו ההבדל העקרוני בין פירוק החלבונים במעי לבין פירוק החלבונים בתהליך היוביקוויטינציה.

10. אחד מהחלבונים במערכת היוביקוויטינציה זכה לכינוי חלבון "תג המוות". ציינו איזה חלבון והסבירו מדוע הוא נקרא כך.

11. בקרב חלק גדול מחולי אלצהיימר, הגורם הראשוני למחלה הוא הצטברות מולקולות פגומות של חלבון הנקרא עמילואיד-בטא בתוך תאי המוח, ובמרווחים הבין תאיים. הצברים נקראים "פלאקים". לפלאקים יש השפעות רעילות על תאי העצב, דבר המוביל לפגיעה ברקמת המוח, אובדן הזיכרון והכישורים הקוגניטיביים אצל הסובלים מהמחלה. חוקרי הפקולטה לביולוגיה בטכניון אפיינו מוטציה אצל חולי אלצהיימר הנקראת UBB+1 הפוגעת בגן המקודד את חלבון היוביקוויטין. לדברי החוקרים, "הגילוי פותח אפיק חדש לפיתוח תרופה למחלת האלצהיימר".

א. תארו את התהליך שגורם לאלצהיימר אצל נושאי המוטציה UBB+1.

ב. הסבירו כיצד התגלית עשויה להוביל לגילוי תרופה חדשה.

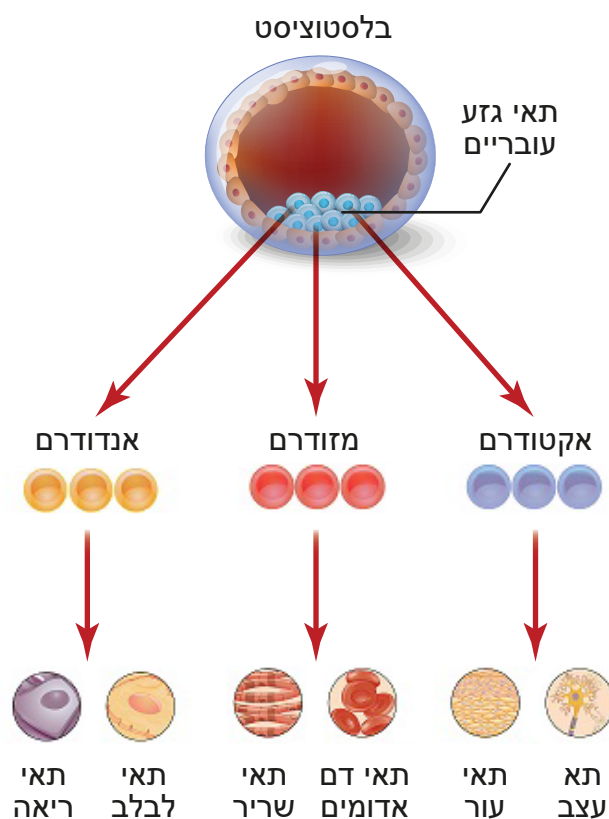
התמיינות תאים מותנית בביטוי מבוקר של גנים

התמיינות תאי העובר בייצור רב-תאי

תפקידם של המנגנונים המפקחים על ייצור החלבונים בולט במהלך התפתחותו של ייצור אאוקריוטי רב-תאי. בעובר המתפתח בכל היצורים הרב-תאיים יש התמחות של התאים לתפקידים שונים. התהליך שבו תאים רוכשים צורה, מבנה ופעילות ייחודיים והופכים לתאי רקמה בעלי תפקידים מוגדרים באיברים השונים (תאי כבד, שריר, עצב, כליה ועוד) – נקרא **התמיינות**. בתאים שהתמיינו, נוסף על אלפי החלבונים הזוהים לחלבוני התאים האחרים (למשל, חלבונים הקשורים לנשימה התאית), יש גם חלבונים ייחודיים. וכך, את החלבונים הייחודיים לתא שריר לא נמצא בתא עצב, ולהפך. למרות ההתמיינות מכילים כל התאים של הייצור הבוגר אותם גנים, ויכולים, לפחות להלכה, לייצר אותם חלבונים. התא חייב אפוא להכיל מנגנון ש"ישתק" את רוב המטען התורשתי ויאפשר ייצור של חלבונים ייחודיים בעת שהוא נזקק להם.

התמיינות התאים בעובר מתחילה בזיגוטה, תא הגזע הראשי שממנו יתפתח העובר. **תא גזע** הוא תא המתייחד בשתי תכונות עיקריות: יכולת התמיינות לכמה סוגים של תאים; ויכולת לחלוקה אין סופית, בניגוד לתאים אחרים שמתים אחרי כמה עשרות חלוקות.

בעובר האדם עוברת הזיגוטה תהליך של חלוקות חוזרות ונשנות במשך 4-5 ימים עד שנוצר כדור תאים (בלסטוציסט). חלק מסוים מתוך התאים האלה, הקרוי "מסת התאים הפנימיים", מורכב מתאי גזע עובריים שייצרו את האורגניזם השלם והבוגר. תאי הגזע העובריים הם תאי גזע רבי-יכולת; כל תא כזה יכול להפוך לכל סוג תא שהוא בכל מקום בגוף (איור א-37).



איור א-37: תאי גזע עובריים מתמיינים לסוגים רבים של תאים

בשלב ראשון תאי הגזע רבי-יכולת מתחלקים, מתמיינים ו"מתחייבים" למסלול מסוים. יש להם יכולת להתפתח לכל אחת משלוש הרקמות העובריות הראשוניות (אקטודרם, מזודרם ואנדודרם). חלבוני בקרה מסוימים בתאי הגזע משפיעים על התמיינותם במסלול מסוים.

כאשר תאי גזע ברקמות העובריות מתמיינים לתאים מסוימים, מושתקים בהם הגנים הדרושים לתאי גזע, למשל גנים המשמרים את המצב המתמשך של חלוקות תאים. תאי הגזע מאבדים את יכולתם לשוב ולהיות תאי גזע. התאים שהתמיינו לא יכולים להתפתח לתאים אחרים. תאים שהתפתחו לסוגים שונים של תאי הדם, לתאי שריר-לב או תאי השלד, למשל, שוב לא יוכלו להתפתח לתאי עצב או תאי עור.

השימוש בתאי גזע עובריים לצרכים רפואיים

בתאי גזע עובריים טרם התרחש תהליך ה"התמחות", ולכן הם יכולים להפוך לכל אחד מתאי הגוף. הודות לכך אפשר להשתמש בהם, בין היתר, לשיקום רקמות פגועות, לריפוי מחלות ניווניות ואוטו-אימוניות, ואף לגידול איברים להשתלה.

תאי גזע עובריים מבודדים מהעובר 5-6 ימים לאחר הפריית הביצית, לפני השלב שבו הוא עובר השרשה לדופן הרחם. תאי גזע עובריים מבודדים מעוברים שנוצרו בתהליך של הפריית מבחנה. הפריית מבחנה מאפשרת טיפול במצבים מסוימים של חוסר פוריות, ובמהלכה נוצרים עוברים אחדים, שלא כולם מושבים לרחם. מעוברים אלה מבודדים את תאי המסה הפנימית, ונוצרים קווים חדשים של תאי גזע עובריים הגדלים בתרבות. כיום מתבצעים מחקרים רבים במטרה לכוון את התמיינותם של תאי גזע עובריים לתאים מרקמה מסוימת. מספר מחקרים כבר תיארו הצלחה בהתמיינות תאי גזע עובריים לתאי עצב, עצם, לב, כבד, דם, לבלב ועוד.

הנצרות מתקשה להתמודד עם המחשבה שעושים שימוש מדעי בישות שיש בה פוטנציאל להפוך לעובר. ב-2006 התנגדו שמונה מדינות מן האיחוד האירופי, קתוליות ברובן, למימון המחקר בתאי גזע. בארצות הברית יש התנגדות להפקת תאי גזע עובריים, וממשל בוש אף עצר ב-2007 את המימון הפדרלי למחקרים בתאי גזע אלה; הנשיא אובמה חידש ב-2009 את תמיכת הממשל האמריקאי במחקרים אלה, ועדיין קיימת הגבלה האוסרת לתמוך במחקרים שבהם משמידים תאי גזע עובריים או עוברים.

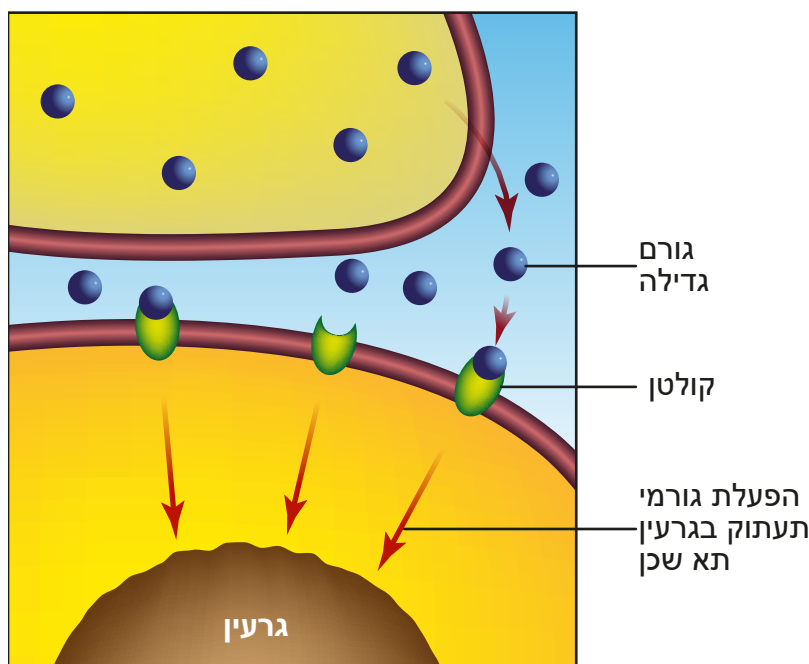
בגישות של היהדות ושל האסלאם אין דינו של עובר בן מספר ימים כדינו של אדם, ואין התנגדות לשימוש בביציות מופרות למחקר מציל חיים. החוק הישראלי וגם המסד הדתי מאפשרים הפקת תאי גזע מביצית מופרית שטרם הושתלה ברחם. מלבד זאת, ישראל היא מהמדינות הראשונות בעולם שהסדירה את תהליך הפקתם של תאי גזע עובריים באמצעות חוק איסור התערבות גנטית מ-1998 וכן הנחיות שהופצו ב-2001 על סמך המלצות האקדמיה הלאומית למדעים. בהנחיות אלה נקבע שהשימוש ברקמות שמקורן בתאי גזע עובריים ומיועדות להשתלה כתחליף לרקמות פגועות יהיה למטרות רפואיות בלבד ולא למטרות קוסמטיות.

אל האישור המוסרי מצטרפת גם תעשיית טיפולי הפוריות הענפה בישראל, שתורמת את חומרי הגלם למחקר – מה שמוביל לשגשוגו של מחקר תאי הגזע בישראל ולהצבתו בקדמת הבמה העולמית. ישראל מדורגת במקום הראשון לנפש במספר המאמרים, הפטנטים והמחקרים על תאי גזע.

גורמי גדילה משפיעים על ביטוי גנים בעובר

הפעלה או השתקה של גנים במהלך התמיינות תאים מופעלת על ידי גורמי גדילה המגיעים מחוץ לתא. תאי העובר יוצרים גורמי גדילה שונים, ואלה מופרשים ומגיעים לתאים שכנים (איור א-38). גורם הגדילה אינו חוזר אל התא; הוא נקשר לקולטן על פני קרום התא. קשירת גורם הגדילה גורמת לשינוי המבנה של הקולטן החלבוני, וכתוצאה מכך מתרחשת סדרה של אירועים כימיים שמפעילה גורמי תעתוק. גורמי התעתוק נקשרים לרצפים ייחודיים ב-DNA שבגרעין התא, וכתוצאה מכך מתרחש תעתוק של גנים הקשורים להתמיינות התא.

תאים הקולטים גורם גדילה הקרוי חומצה רטינואית, למשל, מתמיינים לרקמה עצבית או לרקמת שריר, תלוי מהי כמות החומצה הרטינואית שהם חשים מסביבם. שילוב של מספר גורמי גדילה בתוך הגוף מכון כל תא ותא ליצירת הרקמה הנכונה במקום הנכון.



איור א-38: גורמי גדילה המופרשים מתאים משפיעים על ביטוי הגנים בתאי העובר השכנים

גורמי התעתוק מפעילים ומשתיקים גנים באמצעות שינויים במבנה הכרומטין

למרות שהתמיינות התאים נחשבת לתהליך שאינו כרוך בשינוי הקוד הגנטי, ה-DNA משתנה במהלך ההתמיינות בדרך אפיגנטית שמשפיעה על ביטוי הגנים. ראינו (עמודים 12-14) כי שינויים כימיים בכרומטין יכולים להשפיע על ביטוי של גן על ידי שינוי הנגישות של גנים לגורמי תעתוק, בבקרה חיובית או שלילית. שינויים כימיים כאלה כוללים מתילציה של DNA ומתילציה או אצטילציה של היסטונים. אלה הם שינויים אפיגנטיים, מאחר שאינם משנים את הרצף של הבסיסים ב-DNA. למרות שהשינויים האלה אינם גנטיים, לתאים יש מנגנונים להעתיק את המידע האפיגנטי הזה במהלך החלוקות שלהם כך שתאי הבת יכלו את אותו מידע לבקרת הביטוי של הגנים.

תאי הגוף מכילים בדיוק אותם גנים, ובכל זאת התאים נבדלים זה מזה במידה, באופן ובתזמון שבהם גנים אלה מתבטאים. ההבדלים בביטוי מתרחשים ברמת ה-DNA, ונובעים מהאופן שבו ארוז הכרומטין באזור הבקרה של הגנים. בכל אחד מהתאים, בהתאם לסוגו (ולתפקודו), אזור הבקרה של גנים מסוימים חשוף – ולכן הם יכולים להתבטא, ואילו אזור הבקרה של גנים אחרים ארוז היטב, ולא נעשה בהם שימוש. במהלך ההתמיינות מתרחשים שינויים בכרומטין: גנים מסוימים נאזרים ומושתיקים, וגנים אחרים נחשפים ומופעלים. גורמי התעתוק מגייסים אנזימים שמסייפים קבוצות אצטיל או מסירים אותן מזנבות של היסטונים (ראו עמ' 12). שינויים כימיים אלה גורמים לדחיסה או לפתיחה של מבנה הכרומטין, ובכך משפיעים על התעתוק של הגנים הקשורים להתמיינות התאים.

בתא גזע הכרומטין ארוז בצורה רופפת ומאפשר גישה של מערכת התעתוק אל אזור התחלת תעתוק הגנים. כאשר מתקבל איתות מיוחד בתא, מערכת התעתוק מתחילה לתעתק את הגנים הדרושים למסלול ההתמיינות. לאחר סיום ההתמיינות, הגנים אינם דרושים עוד, ומבנה הכרומטין באזור הגנים האלה נעשה צפוף ונסגר.

סגירת אזור התעתוק בפני מערכת התעתוק גורמת להשתקת הגן. השתקה זו היא ארוכת טווח ואופיינית לשלבי התמיינות תאים בהתפתחות העובר. בתאים שהתמיינו, רוב הגנים מושתקים ולכרומטין יש מבנה צפוף. אזורי הגנים הדרושים לפעילות התא נשארים פתוחים ופעילים. הערכה מקובלת היא שבתא מסוים פעילים רק בין 5% ל-10% מכלל הגנים. אפשר לחלק את הגנים הפעילים בתאים לשתי קבוצות גדולות:

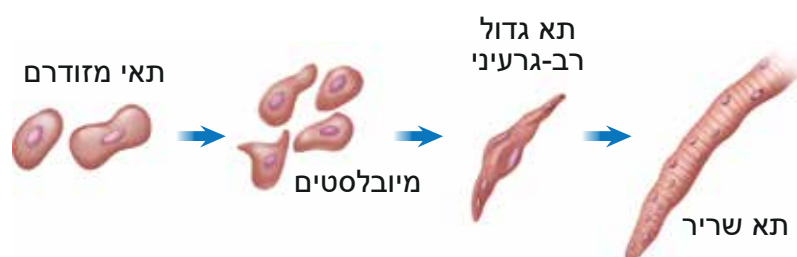
1. גנים הקשורים ל"אחזקה שוטפת" של התא הם גנים של משק הבית (Housekeeping genes). למשל, גנים המקודדים אנזימים לתיקון DNA, חלבונים ריבוזומאליים, אנזימים המעורבים בתהליך הנשימה התאית ובתהליכים מטבוליים בסיסיים אחרים, והרבה מהחלבונים שיוצרים את השלד התאי. גנים של משק הבית מתבטאים בכל התאים ואינם עוברים תהליכי מתילציה באזור הבקרה שלהם. לפני הגנים של משק הבית יש בדרך כלל רצף DNA המונע את הוספת קבוצות המתיל, כדי שלא יושתקו וימשיכו לתפקד.

2. גנים שהתבטאותם מוגבלת לתאים, לרקמות או לאיברים ייחודיים. ביונקים, למשל, המוגלובין נוצר רק בתאים המתפתחים לתאי דם אדומים, ואי אפשר למצוא אותו בתאים אחרים. גנים ייחודיים לרקמה אינם עוברים מתילציה ברקמה שבה הם מתבטאים. בכל שאר הרקמות, שבהן הם מושתקים, מתרחשת מתילציה באזור הבקרה שלהם.

התמיינות תאי שריר בעוברי יונקים

אפשר להדגים בעוברי יונקים את בקרת הביטוי של גנים בתהליך ההתמיינות של תאי שריר השלד. תאי המוצא שמהם מתפתחים תאי השריר בעובר הם תאי המזודרם (איור א-37). תאי המזודרם יכולים להתמייין לא רק לתאי שריר אלא גם לתאים אחרים כמו תאי דם, לב וכליות. איתות של גורם גדילה מסוים לתאי המזודרם קובע את מסלול ההתמיינות לתאי שריר. שלב זה במהלך ההתמיינות נקרא שלב ההתחייבות, שכן תא המזודרם מתחייב מכאן ואילך למסלול מסוים ואינו יכול לפנות ליצירת תאים במסלול אחר. בשלב ההתחייבות מופעלים גנים ייחודיים למסלול ההתחייבות ומושתקים הגנים של המסלולים האחרים. נוסף על כך חלה השתקה של גנים אחרים על חלוקות התאים. חלוקת התאים שומרת על התכונה האופיינית של תאי הגזע, ורק הפסקת חלוקות התאים מאפשרת את התחלת ההתמיינות של תאי גזע במסלולים השונים.

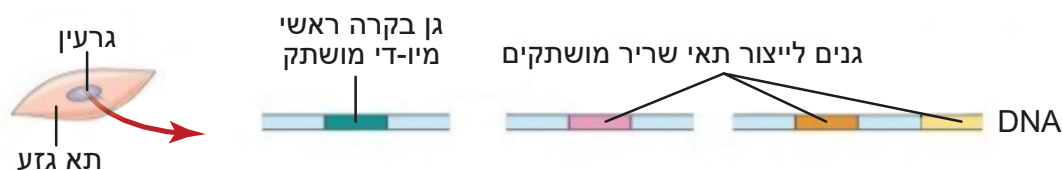
במסלול התמיינות לתאי שריר מתמיינים תאי המזודרם תחילה לתאים הנקראים מיובלסטים. המיובלסטים מזהים אלה את אלה, ונצמדים זה לזה. הקרומים שבין המיובלסטים מתאחים ונפרצים, כך שנוצרים תאים מאוחדים, גדולים ורבי-גרעינים. תאים מאוחדים ומאוחדים אלה מתפתחים לתאי השריר (סיבי השריר) שמסוגלים להתכווץ, להפעיל כוח ולבצע עבודה (איור א-39).



איור א-39: מסלול התמיינות של תא שריר

בהתמיינות תאי שריר משתתפים גנים רבים וביניהם גנים של בקרה ראשית. **גן בקרה ראשי** הוא גן המקודד גורם תעתוק שיכול להפעיל גנים אחרים המשתתפים בתהליך מסוים. לשם ההפשטה נתמקד בגן מיו-די שנחקר רבות. מיו-די הוא אחד מארבעה גנים הפועלים במשותף ומפעילים גנים נוספים המשתתפים בהתמיינות תאי שריר בעובר.

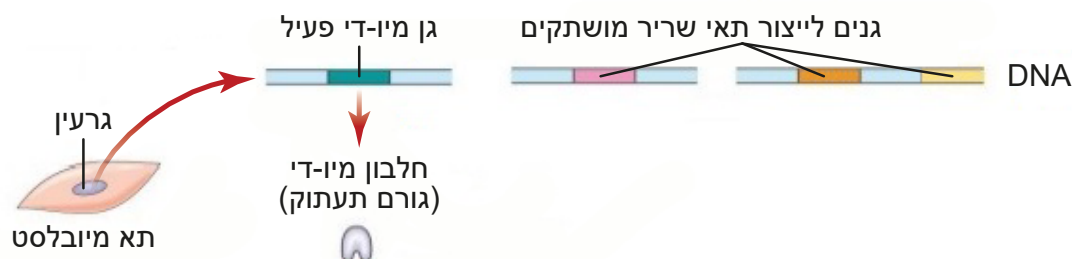
בתאי הגזע במזודרם, שמהם יתפתחו תאי השריר, מושתקים הגנים המשתתפים בייצור תאי שריר כולל הגן מיו-די (איור א-40).



איור א-40: השתקה של גנים בתא גזע של המזודרם

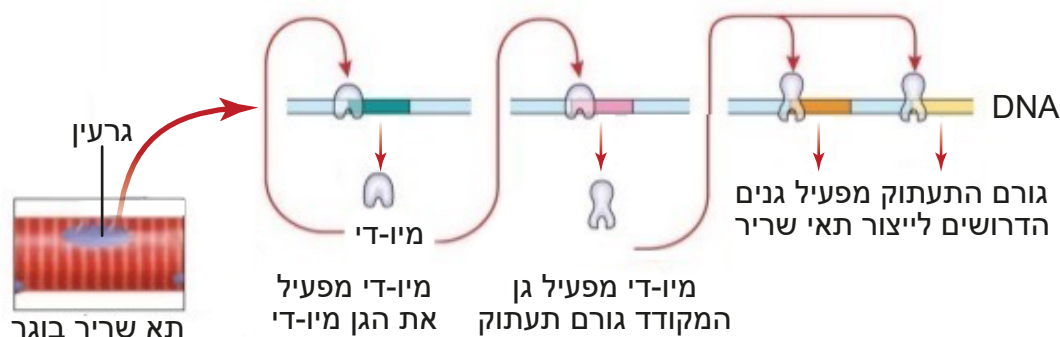
כאשר אותות להתמיינות תאי שריר מגיעים לתאי גזע מסוימים במזודרם, תאי הגזע האלה נכנסים למסלול התחייבות להתפתח לתאי שריר ומתפתחים לתאים מיובלסטים.

בתאים המיובלסטים מופעל הגן מיו-די, ונוצר גורם התעתוק מיו-די. הגנים לייצור תאי השריר מושתקים (איור א-41).



איור א-41: הפעלה והשתקה של גנים בתא מיובלסט

במהלך ההתמיינות של מיובלסטים לתאי שריר, גורם התעתוק מיו-די נקשר לאתרים מקדמים של גנים רבים ומפעיל אותם. גנים אלה מקודדים גורמי תעתוק, ואלה מפעילים גנים המייצרים חלבונים ייחודיים לתאי שריר כמו אקטין ומיוזין. גורם התעתוק מיו-די מווסת גם את הביטוי של הגן מיו-די. במשוב חיובי זה הוא שומר על מצב התמיינות ממושך של תאי השריר (איור א-42).



איור א-42: הפעלת גנים בתא שריר בוגר

הפעלה והשתקה של גנים בהתמיינות תאי שריר באמצעות שינויים אפיגנטיים

חוקרים הבחינו שסמוך לפני התבטאות הגן למי-די במיובלסטים חלה ירידה משמעותית במתילציה של ה-DNA באזור בקרת הגן. דמתילציה זו גורמת לפתיחת הכרומטין באזור הבקרה של הגן, ובכך מאפשרת את תעתוק הגן.

מהפעלת הגן למי-די במיובלסטים נוצר גורם התעתוק מי-די. בשלב ההתחלתי, מי-די מעכב במיובלסטים התבטאות גנים שונים, ביניהם גנים האחראים לייצור חלבונים הדרושים לתאי השריר. עיכוב גנים אלה נעשה על ידי דחיסת הכרומטין באזורי הבקרה של הגנים ומניעת גישה של מערכת התעתוק. מי-די נקשר לאזורי הבקרה של הגנים שהוא משתיק ו"מגייס" לשם אנזימים הגורמים לדאצטילציה של היסטונים. פעולה זו גורמת לדחיסת הכרומטין ומניעת התעתוק.

עם התקדמות תהליך ההתמיינות מי-די מפעיל בהדרגה את הגנים המעורבים בהתמיינות ולאחר מכן את הגנים המקודדים את החלבונים של תאי השריר. כל הפעלה כזו כרוכה בקשירה לרצפי הבקרה של הגנים המופעלים ובגיוס אנזימים הגורמים לאצטילציה של היסטונים – וכתוצאה מכך לפתיחת הכרומטין ותעתוק הגנים. בתאי שריר בוגרים אפשר לראות פתיחה של כרומטין וביטוי הגנים של תאי שריר.

בעזרת שינויים במבנה הכרומטין מווסת מי-די את ההפעלה וההשתקה של הגנים הנחוצים בתזמון מדויק.

השתקה והפעלה של גנים על ידי מיקרו-RNA

בהתמיינות תאי השריר מושתקים ומופעלים גנים גם על ידי מולקולות מיקרו-RNA. מיקרו-RNA משתיקים גנים על ידי עיכוב התרגום של מולקולות RNA-שליח בעלות רצפים משלימים לרצפים שלהם (ראו עמ' 35). חשיבות מיקרו-RNA להתמיינות תאי שריר הוכחה בניסויים שבהם השתיקו בעכברים את הגן המקודד את האנזים דייסר (DICER) המעורב בייצור מולקולות המיקרו-RNA. בעכברים אלה התפתחה כמות מועטה של מסת שרירים, ותאי השריר התפתחו באופן לא תקין.

כאשר בדקו את כמות מיקרו-RNA במהלך ההתמיינות של מיובלסטים, נמצאה עלייה משמעותית של כמה סוגים. נמצא שחלק ממולקולות אלה עיכבו את תהליך ההתמיינות של תאי השריר וחלק אחר עודדו את התהליך. באמצעות פתיחה או דחיסה של הכרומטין באזורי הבקרה של הגנים משפיעים מיקרו-RNA על התבטאות הגנים של תאי השריר. כאשר הם מעכבים ייצור אנזימים הדרושים לפתיחת הכרומטין, הם מונעים תעתוק גנים הדרושים להתמיינות; כאשר הם מונעים ייצור אנזימים הדרושים לסגירת הכרומטין הם מזרזים את תהליך ההתמיינות הגנים לתאי שריר.

מדענים הצליחו להפוך תאים בוגרים לתאי גזע עובריים

כפי שראינו, תאי גזע עובריים שהתמיינו לתאים מסוימים בעובר המתפתח "התחייבו" למסלול מסוים ואינם יכולים לחזור לאחור ולהיות שוב תאי גזע, מאחר שגנים הדרושים לתאי הגזע הושתקו בהם לתמיד. חוקרים הצליחו להפוך תאים בוגרים לתאי גזע עובריים.

פרס נובל לרפואה למפתחי תאי גזע מושרים: ג'ון גורדון ושיניה יאמאנאקה

פרס נובל לרפואה ופיסילוגיה לשנת 2012 ניתן למגלי היכולת לתכנת מחדש תאים בוגרים שהתמחו כבר (לרוב תאי עור הנגישים ביותר) לכל הרקמות בגוף. מוועדת פרס נובל נמסר כי הממצאים הם מהפכניים מבחינת ההבנה שלנו כיצד תאים ויצורים מתפתחים.

ג'ון גורדון הבריטי גילה ב-1962 כי ההתמיינות של תאים היא הפיכה. בניסוי הקלאסי הוא החליף את גרעיניהם של תאי ביצה בלתי מופרים של צפרדע בגרעינים של תאים בוגרים ממעי הצפרדע. חלק מתאי הביצה התפתחו לראשנים, וחלק מהראשנים התפתחו לצפרדעים בוגרות ופוריות. ה-DNA של תאי המעי הבוגרים הכיל את כל המידע הנדרש להתפתחות כל מגוון התאים של צפרדע בוגרת.

שיניה יאמאנאקה היפני גילה למעלה מ-40 שנה מאוחר יותר, ב-2006, כיצד תאים בוגרים של עכברים יכולים לעבור תכנות מחדש ולהפוך לתאי גזע עובריים. למרבה ההפתעה, הוא יכול לתכנת מחדש תאים בוגרים כדי שיהפכו לכל סוג של תא בגוף – וזאת באמצעות גנים בודדים.

התגליות פורצות הדרך האלה שינו לחלוטין את ההבנה של התמיינות התאים. כעת ברור לנו כי תא בוגר לא חייב להישאר לנצח במצב מתמחה. ספרי הלימוד נכתבו מחדש ושדה מחקר חדש נוסד. באמצעות תכנות מחדש של תאי האדם יוכלו המדענים ליצור הזדמנויות חדשות לחקר מחלות ולפתח שיטות לאבחון ולריפוי.

המדען היפני שיג'ה יאמאנאקה גילה איך להחזיר תאי עור בוגרים של עכבר למצב עוברי. יאמאנאקה ניסה לגלות, ראשית, כיצד שומרים תאי הגזע העובריים של עכבר על יכולתם להתמייין לכל סוגי התאים בגוף. הוא שיער שחלבונים מסוימים ימצאו בתאי הגזע העובריים, אך לא בתאים שעברו התמיינות. הוא גם שיער שאם יחדירו לכרומוזומים של תאי עור רגילים את הגנים המכילים את הקוד לייצור החלבונים האלה, ובייחוד את הגנים ליצירת גורמי תעתוק המבקרים את פעילותם של גנים אחרים, יהפכו תאי העור לתאים עובריים. הוא מצא שהדבר אפשרי בזכות שילוב של ארבעה גנים מסוימים. ב-2006 פרסם יאמאנאקה בכתב העת המדעי Cell מאמר שהפך לציון דרך, ובו תיאר את זיהויים של ארבעת הגנים.

החדשות על ההישג המדהים המריצו מדענים ברחבי העולם לחזור על הניסוי – הפעם בתאים אנושיים. ב-2007 עמד יאמאנאקה בראש אחת משתי קבוצות מחקר שהראו שאפשר לתכנת מחדש את הגנים של תאי עור אנושיים רגילים כדי שיהפכו לתאי גזע. תאים אלה, המכונים תאי גזע מושרים, זהים למעשה לתאי גזע עובריים והם בעלי יכולת להתמייין לכל סוג תא אחר. אפשר לקחת תאי עור מחולים במחלות קשות, להעביר אותם תכנות מחדש ולבחון במעבדה במה הם שונים מתאים בריאים. תאים אלה מאפשרים פיתוח כלים רבי ערך להבנת מגוונים של מחלות ולספק הזדמנויות חדשות לפיתוח טכנולוגיות ריפוי. חוקרים השוו את פריצת הדרך הזאת לרעיון שאפשר להפוך עופרת לזהב. על הישגו זה זכה יאמאנאקה עם החוקר ג'ון גורדון בפרס נובל לרפואה לשנת 2012.



ה-DNA ננעל, האריזה נסגרת, וחופש הביטוי של הגנים נגמר

מנגנון נעילה ושחרור הגנים מסביר את שלבי ההתפתחות הראשונים של העובר – התמיינות התאים באמצעות השתקת הגנים שאינם נחוצים לתפקוד הרקמה. לחקר המנגנון עשויות להיות השלכות לא רק על הבנת הפעילויות הבסיסיות של התא, אלא גם על המחקר בתחום הסרטן. בשנים האחרונות התברר שבתאים סרטניים מצויים גנים רבים שעוברים נעילה המונעת את פעילותם. במקרים מסוימים הנעילה מעוררת את התהליך הסרטני.

רפואה – המרפאים הפנימיים שלנו

תכנות מחדש של תאים מגופנו עשוי להעניק להם כוחות ריפוי הדומים לאלו של תאי גזע ללא המחלוקת הפוליטית. תאי גזע מושרים יוסיפו להשפיע על גישות שונות לחקר ולטיפול במחלות קשות רבות ובכוחם לחולל מהפכה ברפואת המאה ה-21 בדיוק כמו שחיסונים ואנטיביוטיקה חוללו במאה ה-20.

שיטה להגברת יעילות הייצור של תאי הגזע

מדענים פיתחו שיטה להקלת ייצור תאי גזע בחולים לצורך השתלתם בגופם. בעקבות החדרת ארבעה גנים לתוך תאים בוגרים – לדוגמה, תאי עור – מתרחש בתאים מעין "מסע התפתחותי לאחור" עד שהם מגיעים כמעט (אך לא לגמרי) למצב של תא גזע עוברי. החוקרים הבינו גם כי יש לעצור את נטייתם להתמייין במהירות.

צעירים לנצח

תאי גזע המתוכננים מחדש באמצעות RNA עשויים לקדם את פיתוחה של רפואה אישית על-ידי תאים. בעתיד אפשר יהיה ליצור תאי גזע מושרים באמצעות תכנות מחדש של תאי אדם בוגר, ובהמשך – להפוך את תאי הגזע האלה לסוג התאים הרצוי, וגם זאת באמצעות RNA-שליח של הגנים האחראים להתמיינות הרצויה, כמו שריר, עצב וכדומה. תאים אלה יוכלו לשמש לטיפול במחלות רבות, ובהן מחלות שכיום אין דרך לרפאן.

לראשונה יצרו חוקרים כבד אנושי מתפקד מתאי גזע מושרים

חוקרים מבית הספר לרפואה באוניברסיטת יוקהמה השתמשו בתאי גזע מושרים, המופקים לרוב מתאי דם או עור, כדי ליצור שלושה סוגי תאים המרכיבים את הכבד האנושי בשלב העוברי. הכבד האנושי נקלט היטב בעכברים. במחקר שפורסם בניצ'ר אומרים החוקרים היפנים כי בעוד כעשור תוכל השיטה לאפשר חידוש הכבד ויבוטל הצורך בהשתלת כבד ומות החולים בהמתנה.

תאי גזע מושרים בשרות המחקר המדעי – תרופה פוטנציאלית ל-ALS?

חוקרים הפיקו תאי גזע מושרים מחולי ALS, מחלה נוירולוגית ניוונית קשה וחשוכת מרפא. הם השתמשו בתאים אלה לחקר התפתחות המחלה, ואף מצאו שחומר מסוים (חומצה אנאקרידית) עשוי להוביל לתיקונם של מאפייני מחלה שונים בתאים אלה. השימוש בתאי גזע עובריים מושרים שמקורם בחולים עשוי לקדם משמעותית את המחקר הרפואי של מחלות רבות.

בשאלות 1-4 בחרו תשובה אחת נכונה.

1. גן ABC מקודד אנזים הפועל בעיכול המזון. האנזים נמצא רק בתאי המעי. באילו תאים נמצא הגן ABC?
 - א. רק בתאי המוח
 - ב. רק בתאי המעי
 - ג. בכל תאי הגוף
 - ד. רק בתאי הרבייה
 - ה. בתאי המעי ובתאי הרבייה
2. בקרת הביטוי של גן באאוקריוטים יכולה להיות מושפעת מ:
 - א. תנאים סביבתיים
 - ב. שלב התפתחותי
 - ג. סוג התא או הרקמה
 - ד. כל התשובות נכונות
3. התמיינות תאים כוללת תמיד:
 - א. תנועה של התאים
 - ב. איבוד גנים מסוימים מהגנום
 - ג. ייצור חלבונים ייחודיים לתא
 - ד. שינויים בקוד הגנטי
 - ה. תגובה לשינויים בתנאים סביבתיים כמו אור או חום
4. החלבון אלבומין נוצר רק בתאי הכבד בגוף, והחלבון קריסטלין נוצר רק בתאי עדשת העין. ההבדל בין שני סוגי תאים אלה מבחינת ייצור החלבונים הוא:
 - א. בתאי הכבד יש גנים המקודדים אלבומין ובתאי עדשת העין יש גנים המקודדים קריסטלין
 - ב. תאי עדשת העין מכילים גורמי תעתוק לגן המקודד קריסטלין
 - ג. האנזים RNA-פולימראז נמצא בתאי עדשת העין ולא בתאי הכבד
 - ד. בתאי הכבד אין גנים המקודדים קריסטלין
 - ה. בשני סוגי התאים יש אותם גורמי תעתוק מפעילים
5. במהלך התמיינות תאים מופעלים גנים מסוימים ומושקעים גנים אחרים. אילו מנגנונים יכולים לגרום להפעלת הגנים במהלך ההתמיינות ואילו יכולים לגרום להשקעתם?
 - א. האם בקרה על הביטוי של גנים נחוצה בתאים שתהליך ההתמיינות שלהם הסתיים? הסבירו.
 - ב. רשמו את השווה ואת השונה בין גנים של "משק הבית" לגנים ייחודיים לתאים מסוימים.
 - ג. רשמו שני מאפיינים ייחודיים לתאי גזע, והסבירו כיצד אפשר להשתמש בתאי גזע למטרות רפואיות.
 - ד. הציעו טיעונים בעד ונגד שימוש בתאי גזע עובריים.
 - ה. חוקרים יצרו תאי גזע מושרים על ידי החזרת תכונות של תאי גזע עובריים לתאים שעברו התמיינות.
 - א. מדוע תגלית זו נחשבת למהפכנית?
 - ב. כיצד הקנו לתאים שעברו התמיינות תכונות של תאי גזע עובריים?
 - ג. מה יכולות להיות ההשלכות הרפואיות של תגלית זו?
 - ו. לשימוש רפואי בתאי גזע מושרים יש יתרונות בהשוואה לשימוש בתאי גזע עובריים שאינם מושרים.
 - א. הסבירו את היתרון מבחינה אתית.
 - ב. מהו היתרון הרפואי?

פרק ב: גנום האדם וגנומיקה



פרנסיס קולינס, חוקר ותיק של ה-DNA, אמר כי "הגנום שלנו הוא כמו ספר היסטוריה: סיפור מסעו בזמן של המין שלנו. הוא גם ספר הדרכה, עם תוכניות מפורטות להדהים לבניית כל תא בגוף האדם. והוא גם ספר לימוד לרפואה, המכיל תובנות שיעניקו לחוקרים כלים רבי עצמה לטפל, למנוע או לרפא מחלות."

הגנום הוא כל החומר הגנטי המצוי באורגניזם. חקר הגנומים של יצורים שונים, שהחל בסוף שנות השמונים של המאה העשרים, פתח תחום מחקר חדש בביולוגיה שנקרא **גנומיקה**. חוקרי הגנומיקה מחפשים מאפיינים ייחודיים בגנום של יצורים שונים ואזורים מוגדרים כמו למשל: אקסונים, אינטרונים, רצפים חוזרים ואתרי בקרה של גנים, ועוסקים בשאלות הנוגעות הן לארגון הפיזי של הגנום והן לתפקודו.

חוקרים עמדו במיוחד על חשיבות חקר גנום האדם להבנת אורח הבקרה על התבטאות הגנים השונים בכל סוגי התאים, ההתמרה הסרטנית בבני אדם, תהליכי ההתפתחות העוברית, זיהוי ואבחון של מחלות תורשתיות ושל הנטייה למחלות נפוצות שונות. בעקבות לחץ גובר של חוקרים התקבלה החלטה לפענח את הרצף המלא של גנום האדם.

גנום האדם

בשנת 1990 יצא לדרך אחד המבצעים הגדולים ביותר בתולדות המדע: "פרויקט הגנום האנושי". הפרויקט נועד לקבוע את הרצף המלא של כל שלושה מיליארדי הנוקלאוטידים המרכיבים את גנום האדם. בפרויקט השתתפו 50 מדינות, וישראל ביניהן. מדי יום הפקידו כל המדענים רצפים בבסיס הנתונים הציבורי שבאינטרנט. בסיס הנתונים הזה מהווה מאגר של כל הרצפים המפוענחים בגנום האנושי ובגנומים של אורגניזמים אחרים.

מטרות הפרויקט היו:

- פענוח הרצף של כ-3 מיליארדי זוגות הבסיסים (נוקלאוטידים) המרכיבים את ה-DNA של האדם
- אחסון המידע בבסיס נתונים
- זיהוי הגנים בגנום האדם
- טיפול בנושאים האתיים, המשפטיים והחברתיים שיעלו בעקבות הפרויקט

ההנחה הייתה כי פענוח הרצף ייתן בידינו "ספר הוראות" ליצירת כל אחד מעשרות אלפי החלבונים שבגופנו. מידע כזה יאפשר לאתר גנים שאחראים לגרימת מחלות, יעזור לפענח את אופן התהוות המחלות ויאפשר לפתח אמצעים לטיפול בהן. מעבר לכך, הכרת המגוון הגדול של החלבונים המשתתפים בתהליכי החיים תקדם אותנו בהבנת תהליכים רבים, ובהם תהליך ההתפתחות העוברית, תהליך ההזדקנות וההתמרה הסרטנית. מטרה נוספת של הפרויקט הייתה למפות את הגנומים של אורגניזמים אחרים.

הפרויקט תוכנן להימשך 15 שנים בתקציב של שלושה מיליארדים דולר. ההתקדמות הטכנולוגית האיצה את קצב המחקר, והוא הסתיים כעבור 13 שנים בלבד, ב-14 באפריל 2003.

מה למדנו על גנום האדם?

בגנום יש רק 20,000 גנים

אחת התוצאות המפתיעות של הפרויקט היא שלבני אדם יש הרבה פחות גנים מכפי שהעריכו המדענים קודם לכן: במקום מאה אלף גנים, רק כעשרים אלף. משמעות הממצא הזה היא שה-DNA שלנו מורכב הרבה יותר משחשבנו. אם פעם האמינו המדענים שלכל תכונה ומאפיין יש גן אחד ויחיד ששולט עליו – היום אנו יודעים שכל תכונה שלנו מושפעת על ידי כמה וכמה גנים שונים, וגם על ידי אזורי בקרה ב-DNA שאינם מקודדים חלבונים. המשמעות המעשית היא שהיום אנחנו מבינים כי ריצוף ה-DNA הוא תנאי הכרחי אבל לא מספיק לפענוח צפונותיו של ה-DNA האנושי.

98.5% מהרצפים בגנום אינם מקודדים לחלבונים

תגלית מפתיעה נוספת היא שחלקם של הגנים המקודדים חלבונים מכלל ה-DNA בגנום הוא כ-1.5% בלבד. 98.5% הנוקלאוטידים הנותרים הם רצפים לא-מקודדים הנמצאים בין הגנים ובתוך הגנים. לפי שעה ידוע רק תפקידם של מעטים מהרצפים שאינם מקודדים חלבונים.

רצפים המקודדים RNA. חלק מרצפי ה-DNA מקודדים מולקולות RNA שאינן מתורגמות לחלבונים, אך בעלות פעילות ביולוגית אחרת, כמו: RNA-ריבוזומלי ומיקרו-RNA.

רצפי בקרה של תעתוק גנים. חלק מהרצפים הם רצפי בקרה המווסתים הפעלה או דיכוי של תעתוק גנים (ראו עמ' 21, אתרי בקרה). לרצפים אלה נקשרים גורמי התעתוק המבקרים את סוג החלבון שייווצר ואת כמותו.

לא ברור עדיין תפקידם של רוב הרצפים שאינם מקודדים חלבונים. ביולוגים אחדים סבורים כי במרוצת השכפולים הרבים שמולקולות ה-DNA השתכפלו במשך הדורות נוצרו גם רצפים פגומים וסתמיים. על פי רוב, הרצפים הפגומים פגעו בכושר שרידותו של האורגניזם ונכחדו יחד אתו. אבל במקרים שהרצפים האלה לא הזיקו – הם המשיכו להשתכפל ועברו מדור לדור. יש סוגים שונים של רצפים כאלה:

פסוידוגנים (גנים מדומים) הם גנים לא-פעילים אשר נוצרו מהכפלת גנים פעילים, שלאחריה חלה מוטציה המונעת את התבטאותם כחלבונים. הגנים המדומים מהווים מרכיב יציב וקבוע בגנום של יצורים שונים, עוברים בתורשה לצאצאים ואופייניים לכל מין. יש חוקרים שרואים בגנים המדומים מאגר של גנים בעלי חשיבות לתהליך האבולוציה. במרוצת הזמן, ככל שגן מדומה ישתכפל בעשרות ובמאות עותקים, עשוי אחד מן העותקים לעבור מוטציה וליצור גן שונה לחלוטין, בעל פונקציה חדשה וחיונית לאורגניזם. עותקים רבים של אותו גן מדומה מעניקים יתרון אבולוציוני לאורגניזם, מאחר שהם מאפשרים התבססות של מוטציות ללא סכנת נזק לאורגניזם. מוטציה בגן שאין לו עותקים יכולה לגרום לפגיעה או אף להכחדה של האורגניזם.

אינטרונים. יש השערה שגם האינטרונים ממלאים תפקיד חשוב בקיום האבולוציה ובהאצתה. ה-DNA האינטרוני המרובה מספק כמות גדולה של נקודות שבירה פוטנציאליות בתהליכי השחבור החלופי, ותהליכים כאלה יוצרים צירופים שונים של אקסונים (ראו עמ' 29). צירופים שונים של אקסונים מגדילים את מגוון התוצרים החלבוניים ותורמים לתהליך האבולוציה.

טרנספוזונים. טרנספוזונים הם קטעי DNA ניידים, שיש בהם רצפים חוזרים, והם משנים מקומם בגנום בדרך של "חיתוך והדבקה", או "העתקה והדבקה". הם ניתנים ממקומם ומשתלבים במקום אחר בגנום. אם השילוב מתרחש בתוך רצף בסיסים של גן או סמוך מאוד אליו, יכולה להיות לטרנספוזון השפעה על פעילותו של הגן. הוא יכול לגרום למוטציה בו או למנוע את תעתוקו. ברוב המקרים לשינוי המיקום של טרנספוזון אין השפעה בולטת על הפנוטיפ. הטרנספוזונים מעוררים עניין רב, ואחת הסיבות לכך היא שקיומם מלמד על היבט חשוב של הגנום: היותו מערכת דינמית – מערכת שחלים בה שינויים.

רצפים חוזרים ונשנים. יש סוגים שונים של רצפי DNA שחוזרים ונשנים בגנום. הם שונים באורכם, באורך המרווחים ביניהם ובמספר העותקים שלהם. רצפים נשנים ועוקבים מצויים אמנם בגנום של כל האורגניזמים העילאיים, אך הכמות הכללית שלהם והרכבם שונים מיצור ליצור. ברוב המקרים אורכו של רצף כזה הוא קצר ביותר, 5-10 נוקלאוטידים. עותקים של רצפים נשנים קצרים נמצאים במספר רב בשני אזורים בכרומוזומים: בצנטרומרים ובטלומרים. גם הרצפים האלה אינם מקודדים, אולם יש להם כנראה חשיבות בשמירה על יציבות הכרומוזום בחלוקת התא.

בני אדם שונים זה מזה רק ב-0.5% מהגנום

אין שני בני אדם שהם זהים לחלוטין מבחינה גנטית. אפילו תאומים זהים שהתפתחו מאותו התא הם בעלי שונות גנטית מסוימת בגלל מוטציות שמתרחשות במהלך החיים. מחקרים מראים שיש בממוצע לפחות 60 מוטציות חדשות בכל אדם ביחס להוריו. בני אדם שונים בגובה, בצבע העיניים, בצבע השיער והעור ובעוד אלפי תכונות. הבדלים אלה נובעים משונות של 0.5% בגנום שמביאה לתרגום שונה של חלבונים שבסופו של דבר מתגלים בשונות שרואים בין אדם לזולתו. מתוך שלושה מיליארדי הבסיסים המרכיבים את גנום האדם, 15 מיליון בסיסים עשויים להיות שונים בין פרט למשנהו.

חוקרים מייחסים חשיבות רבה לחקר השונות הקיימת בגנום של אנשים שונים, שכן לעיתים אפשר להסביר באמצעותה מדוע לאנשים מסוימים יש נטייה לחלות במחלות מסוימות בעוד שאחרים עמידים לאותן מחלות. אם נדע לקבוע במדויק היכן ב-DNA קיימת בין פרטים שונות בעלת חשיבות רפואית, נוכל לא רק להבין את הגורמים הגנטיים למחלות אלא גם לייצר את הפרופיל הרפואי של אדם כדי לעזור בבחירת התרופה הטובה ביותר למענו. היכולת לדעת מהו רצף הבסיסים המלא ב-DNA של כל אדם ואדם, והידעה מהי תרומתם של בסיסים במיקום מסוים לתכונות הפרט, פותחת בפני החוקרים והרופאים את עידן הרפואה האישית. בעידן כזה מתאימים תרופה לא רק על פי סוג המחלה אלא גם על פי המידע שמקורו ברצף ה-DNA של כל פרט.

השונות בגנום היא תוצאה מצטברת של מוטציות בחומר הגנטי, הגורמות לשינוי ב-DNA. חלק מן המוטציות מזיקות: מחלות רבות נגרמות כתוצאה מהן. ואולם, המוטציות הן גם "חומר הגלם" של תהליך האבולוציה. לעיתים שינוי בחומר התורשתי מוביל לקבלת תכונה חדשה, שמעניקה יתרון לאורגניזם. שינוי כזה מהווה מנוף ליצירת אוכלוסייה חדשה. אם עוקבים אחר מוטציות באורגניזמים השייכים לאוכלוסיות שונות, אפשר לעמוד על הקרבה בין האוכלוסיות. מעקב כזה יכול לתרום רבות לחקר היווצרות המינים.

גנומיקה היא לא רק פענוח הארגון הפיזי של הגנום

חוקרי הגנומיקה עוסקים בשאלות הנוגעות הן לארגון הפיזי של הגנום והן לתפקודו. יוזמי הפרויקט הניחו שפענוח הגנום האנושי השלם יאפשר להבין את אופן תפקודו של הגוף. על סמך רצף הבסיסים אפשר להתקדם מן הגן היחיד אל החלבונים ואל האינטראקציה שביניהם, להמשיך לתאים ולתהליכים שעוברים עליהם, לרקמות ולאופן צמיחתן, לאיברים ופעולתם עד להבנת התפקוד של הגוף השלם. במהלך המיפוי של הגנום האנושי התגלו גנים חדשים רבים שלא היו מוכרים לפני כן. בכל גן יש הוראות ליצירת חלבון מסוים. בשיטות כימיות פשוטות, יחסית, אפשר לקבוע מהו ההרכב הכימי של כל חלבון, מה אורכו, מה משקלו ולעיתים אפילו כיצד הוא נראה.

אבל מה עושה כל חלבון? כיצד הוא מתקשר עם חלבונים אחרים בתא, ובאיזה שלב הוא עושה זאת? המידע על הרצף בלבד אינו יכול לענות על שאלות כאלה. לכן הלכו והתפתחו תחומים חדשים, כמו גנומיקה תפקודית ופרוטאומיקה (חקר פענוח תפקודי החלבונים והאינטראקציות ביניהם). בעזרתם מנסים להבין מתי מתבטאים החלבונים בתא, וכיצד הם פועלים; כיצד הם מתקשרים עם חלבונים אחרים בתא ובאיזה שלב בחיי התא מתרחשת ההתקשרות? כדי לענות על שאלות כאלה צריך לחפש את החוקים להתקשרויות האלה, ולשם כך פותחו נוסחאות ומודלים שונים.

המניע העיקרי לכל הפעילות הזו ולהשקעה העצומה בה היה פיתוח וייצור של תרופות. אם יגלו את תפקידו של כל חלבון ויזהו את הדמיון שיש בין החלבונים, ואם יאתרו את החלבונים שגורמים מחלה מסוימת, יהיה אפשר לפתח תרופות למחלות רבות. החוקרים מודים כי לא הגנים מעניינים היום בגנום, אלא מה אפשר לעשות בהם.

הידע הרב שהצטבר עם פענוח הגנום הוביל להתפתחות תחום חדש שנקרא ביואינפורמטיקה. התחום הזה משלב מידע מתחומי הביולוגיה והמחשבים וכולל פעילויות ממוחשבות רבות ושיטות מתמטיות, שבעזרתן אפשר לנתח מידע ביולוגי רב. הגנטיקה של המאה העשרים התמקדה בעיקר בחקירת גן בודד. הביואינפורמטיקה, לעומת זאת, מאפשרת לנתח נתונים של עשרות אלפי גנים בבת-אחת. הגישה הזאת מאפשרת לקבל מושג טוב יותר על הפעילות של החלבונים בגוף. אם בעבר התרכזו במולקולה בודדת, עכשיו מנסים להסתכל על מערכות גדולות ולעבוד בגישה מערכתית. המטרה היא לנסות לראות את התמונה כולה, מרמת המולקולה ועד רמת התא ורמת האורגניזם השלם. התפתחות הביואינפורמטיקה ופיתוח שיטות מולקולריות אפשרו להשתמש בידע שהצטבר על מבנה הגנום וליישם אותו בתחומים שונים, בעיקר בתחום של בריאות האדם.

מן הרשת



ריצוף גנום האדם

הסרטון (12 דקות) מסביר איך רוצף הגנום האנושי, על שלביו השונים של התהליך, ומלווה בכתוביות בעברית.

הסתיים פרויקט ENCODE ומסקנתו: למה שקראנו DNA זבל יש תפקיד חשוב ברגולציה של גנים

לדברי המדענים נחשפה 'מפת גוגל' של הגנום האנושי. מתברר שכל גן מקבל אותות בקרה מעשרות 'מתגים' המפוזרים בתוך הגנום. עם זאת, עדיין רחוקה הדרך מתובנה זו לטיפולים רפואיים.

פרויקט 1000 הגנומים

בינואר 2008 הוכרז על פתיחתו של פרויקט שאפתני לריצופם המלא של גנומים של יותר מ-1000 אנשים שונים ברחבי העולם. מטרתו – יצירה של בסיס מחקר-השוואתי ומפת ייחוס מפורטת להבנת השונות בין בני האדם. המידע יהיה נגיש לכלל הקהילה המדעית ולציבור כולו.

אחוז אחד של אנושיות

ה-DNA האנושי זהה בכמעט 99% לזה של השימפנזה. אילו אזורים בגנום נכללים באחוז האחד שהופך אותנו לאנושיים, על מה הם אחראיים ומדוע דווקא הם התפתחו אחרת? ואיך זה שחומר גנטי מועט כל כך גורם להיווצרות של מינים שונים כל כך?

ברוכים הבאים למהפכה הגנומית

בסרטון של טד (11 דקות), המלווה בכתוביות בעברית, מראה ריצ'רד רזניק כיצד ריצוף גנומי זול ומהיר עומד לחולל מהפכה בשירותי הבריאות, בביטוח ובפוליטיקה.

החיים האמיתיים של הגנים המדומים

יש שלדים בארון הגנטי שלנו: שרידי גנים שמתו לפני עידנים ומכונים פסוידו-גנים (גנים מדומים) פזורים בכרומוזומים שלנו. בדומה למאובנים אחרים, גם הפסוידו-גנים שופכים אור על תהליך האבולוציה שעברו הגנים של ימינו. כמו כן, הולכות ומצטברות עדויות שחלק מהדינוזאורים הגנטיים האלה אינם כה מתים כמו שחשבנו. סימני פעילות של פסוידו-גנים הם תזכורת נוספת לכך שעם סיומו הרשמי של פרויקט הגנום האנושי – המדענים רק מתחילים לפענח את צפונותיו.

גם לגנים יש רשתות חברתיות

תקשורת זו היא הבסיס לתהליכים מולקולריים הקרויים "מסלולים ביולוגיים", אשר מתנהלים בתא החי, והם מיסודותיה של תופעת החיים. אחת המטרות העיקריות של מיזם מחקר זה היא לסייע למדענים לזהות קשרים בלתי-צפויים ובעלי חשיבות בין גנים שונים, על מנת לגלות גנים נוספים הקשורים להיווצרות מחלות שונות וכדי לפתח תרופות חדשות.

כיצד לקרוא את הגנום ולבנות את האדם

בסרטון של טד (עם תרגום לעברית) מראה המדען והיזם ריקרדו סבטיני שיש לנו היום את היכולת לקרוא מתוך מבחנה של דם את הקוד המורכב של החיים, שחווה גובה, צבע עיניים, גיל, ואפילו מבנה פנים.

מאגר הגנומים המפוענחים

במאגר של NCBI, המרכז הלאומי למידע ביוטכנולוגי של ארצות הברית, יש מידע על הגנומים המלאים של אאוקריוטים, פרוקריוטים וגניפים שפוענחו. המאגר מתעדכן כל הזמן ומכיל פרטים על כל גנום שפוענח.

מופה הגנום המלא של הממותה הצמרית

צוות חוקרים בין לאומי מיפה גנום כמעט שלם של שתי ממותות צמריות סיביריות. המיפוי החדש חושף את התמונה המלאה ביותר עד כה – לרבות נתונים חדשים על ההיסטוריה האבולוציונית של המין ועל התנאים שהובילו להכחדתו ההמונית בתום עידן הקרח.

גנים של חתול

במחקר שהתפרסם במגזין PNAS חשפו חוקרים מבית הספר לרפואה של אוניברסיטת וושינגטון ממצאים חדשים בדבר תהליך הביות של החתול, אשר עלו בעקבות סיום ריצוף הגנום שלו. החוקרים הצליחו להבין טוב יותר היבטים הנוגעים לכישורי ההישרדות של חתולים ולספק מידע שיסייע בעתיד לריפוי מחלות גנטיות בחתולים, ואולי אף בבעליהם.

פוענח גנום הכבש; נפרד מהעז לפני 4 מיליוני שנים

הכבש הוא מבעלי החיים הראשונים שבוינו לחקלאות והוא עדיין מרכיב חשוב בכלכלה החקלאית העולמית. הבנת ההרכב הגנטי שלו יסייע לנו להרבות כבשים בריאות יותר ובעלות תנובה גבוהה יותר של צמר וחלב.

פענוח גנום זבוב הצה צה חשף את חולשותיו

פענוח הגנום של זבוב הצה צה אפשר לחוקרים לחשוף את המאפיינים הגנטיים המסבירים איך הזבוב מקיים את הביולוגיה הייחודית שלו ומעביר מחלות הן לבעלי חיים והן לבני אדם. מידע זה יהיה שימושי בסיוע לפיתוח כלים חדשים שיכולים להפחית או אפילו להשמיד את זבוב הצה צה.

פוענחו רצפי הגנומים של העגבנייה המתורבתת ושל עגבניית הבר

כאשר קולומבוס הביא את זרעי העגבנייה מאמריקה לעולם הישן לפני כ-500 שנה, הוא לא תיאר לעצמו שהיא תתרום כה רבות לתזונה, הבריאות, ההנאה הקולינרית ולשיתופי פעולה בינלאומיים. קפיצת המדרגה בידע על הקוד הגנטי של העגבנייה (35 אלף גנים) מספקת אמצעי להתאמת רצפי ה-DNA לתכונות ספציפיות החשובות לרווחת האדם או לטעם כגון ריח, ארומה, צבע ויבול.

גוגל ואוניברסיטת סטנפורד ישתפו פעולה במטרה להאיץ את ניתוח המידע הגנומי

בגוגל צופים כי כלי מחשוב הענן של החברה, יחד עם טכנולוגיות "למידת מכונה" (Machine Learning) ומסד נתונים – כשהם משולבים עם מומחיותה של אוניברסיטת סטנפורד בתחומי הגנום והרפואה – יובילו להתקדמות חשובה של "רפואה מדויקת", גישה ברפואה הפועלת על בסיס חיזוי ומניעה. כלים טכנולוגיים יסייעו למדענים ועובדי רפואה אחרים לאחסן ולנתח כמות עצומה של מידע גנומי כחלק מהשאיפה לפרוץ דרכים חדשות בעולם המחקר והטיפול הרפואי.

האם עלינו לקבוע את רצף הגנום המלא של תינוקות?

קביעת רצף הגנום למיפוי הקוד הגנטי המלא של ילודים לשם איתור פגמים קיימים ופוטנציאליים אפשרי כיום מבחינה טכנולוגית ועשוי להפוך בתוך זמן קצר לבר־ביצוע גם מבחינה כלכלית. מדענים עורכים מחקרים במטרה לבחון אם שטף המידע הגנטי המתקבל באופן זה אכן יסייע להורים ולרופאים להעניק טיפול טוב יותר לתינוקות שאך זה נולדו – או רק יגביר את החרדה, המורכבות והעלויות של הטיפול הרפואי בילודים.

בהמשך הפרק נדון בהבדלים בין אנשים שמקורם בשינויים בגנום ונראה כיצד בדיקות DNA המזהות הבדלים אלה תורמות לרווחת האדם. נדון תחילה באבחון מחלות גנטיות, ובהמשך – בתחום הזיהוי הגנטי למטרות זיהוי פלילי וזיהוי קרבה משפחתית.

אבחון מחלות גנטיות

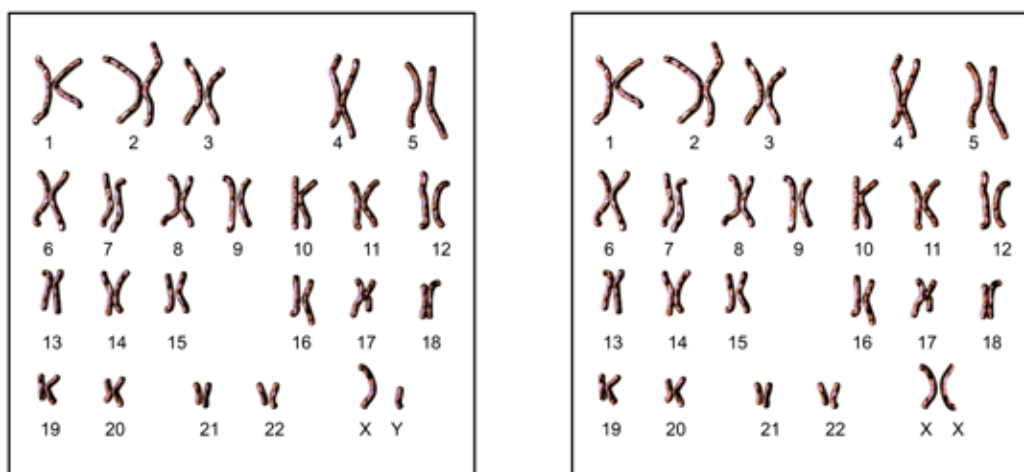
מחלה גנטית נגרמת כתוצאה משינוי ב-DNA. ישנם סוגים שונים של מחלות גנטיות:

- מחלות הנובעות מפגמים כרומוזומליים (שינויים במספר הכרומוזומים או במבנה שלהם)
- מחלות הנובעות ממוטציה בודדת בגן ספציפי
- מחלות הנובעות ממוטציות בכמה גנים

קיימות בדיקות גנטיות שונות המותאמות לאבחון מחלות לפי סוג המחלה. נתאר בדיקות שונות הנעשות היום בבתי חולים ובמעבדות לאבחון פגמים גנטיים. חלק מהבדיקות בשימוש רחב ונעשות כבר שנים רבות, וחלקן חדשות ויקרות ונעשות לפי שעה באופן מצומצם. הזיהוי של שינויים גנטיים ברצף הנוקלאוטידים בגנום הפך למהיר וזמין יותר עם התפתחות הטכנולוגיות החדשות במהלך פענוח גנום האדם. לזיהוי מוטציות בגנום יש חשיבות מרכזית באבחון מחלות גנטיות. אפשר לאבחן היום מספר גדול של מחלות גנטיות בבדיקה אחת שנעשית מדגימת תאים של הנבדק, ולקבל תוצאות בתוך יום או יומיים. נתאר את הבדיקות המקובלות היום לאבחון מחלות גנטיות, גם כאלה המבוססות על טכניקות הנמצאות בשימוש כבר שנים רבות.

בדיקת כרומוזומים

מספר שגוי של כרומוזומים, השמטה או הוספה של מקטעים בכרומוזומים, החלפת קטעים בין כרומוזומים שאינם הומולוגים, היפוך חומר גנטי על גבי כרומוזום – כל אלה גורמים כמעט תמיד לפגמים גנטיים. את המחלות הגנטיות שמקורן בפגמים בכרומוזומים מאבחנים בבדיקת הכרומוזומים תחת מיקרוסקופ **בבדיקת קריוטיפ**. קריוטיפ (Karyotype) הוא מערכת הכרומוזומים של אורגניזם. הקריוטיפ מוצג על גבי צילום, שבו מסודרים הכרומוזומים בזוגות של כרומוזומים הומולוגים לפי גודלם מצד שמאל למעלה. יוצאים מכלל זה הם כרומוזומי המין, שאינם ממוספרים אלא מסומנים ב-X וב-Y (איור ב-1).

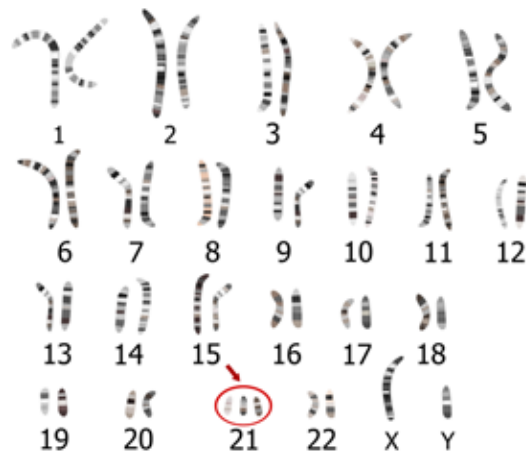


איור ב-1: קריוטיפ של אישה (ימין) ושל גבר (שמאל)

בדיקת קריוטיפ מתבצעת בדרך כלל במהלך ההיריון לאבחון מומים כרומוזומליים בעובר. הבדיקה מתבצעת בעיקר לנוכח סיכון להפרעה כרומוזומלית. לשם בדיקת תקינות הכרומוזומים בעובר נוהגים לקחת דגימת נוזל מי שפיר ולבחון את הרכב הכרומוזומים בתאי העור של העובר המצויים בנוזל זה. אפשר לבדוק גם בדגימה של תאי סיסטי שליה או דם מחבל הטבור של העובר.

את התאים שנדגמים מגדלים בתרבית רקמה עם חומרים המעודדים חלוקת תאים. בשלב שבו הכרומוזומים מכווצים ואפשר לראות אותם במיקרוסקופ – מוסיפים חומר שמפסיק את חלוקת התאים. הכרומוזומים נצבעים בצביעה שמבחינה ביניהם. בצביעה מיוחדת המכונה גימזא מתגלים בכרומוזומים פסים אופייניים המאפשרים זיהוי של כל כרומוזום. פס שחור בכרומוזום מעיד על אזור עם צפיפות גבוהה של הבסיסים אדנין וטימין. לאחר מכן הכרומוזומים מצולמים, ולבסוף מסדרים את תמונות הכרומוזומים בזוגות הומולוגיים לפי הגודל ולפי מיקום הצנטרומר, ובכך מאפשרים בדיקה יסודית של מספרם והמבנה שלהם (איור ב-1).

בדיקה כזאת מאפשרת לגלות את מין העובר (אם יש כרומוזום Y או לא) ופגמים שונים במספר הכרומוזומים או במבנה שלהם. חלק מהפגמים מנבא מחלות חמורות. לדוגמה: כרומוזום X אחד וחוסר בכרומוזום Y משמעותו תסמונת טרנר. על גבי כרומוזום X נמצאים גנים רבים וחשובים, ולכן מחסור בו מנבא פגיעה רב מערכתית. המאפיינים העיקריים של התסמונת הם קומה נמוכה, שחלות שלא נוצרו וסימני מין נשיים שאינם מפותחים היטב. אצל חלק מהחולות מאבחנים בעיות במערכת הלב, המערכת ההורמונלית, השלד, הכליות, והשמיעה. פגם אחר במספר הכרומוזומים הוא שלושה העתקים של כרומוזום 21, ומשמעותו שהעובר לוקה בתסמונת דאון (איור ב-2). במצב זה עודף החומר הגנטי גורם למגוון תופעות גופניות ושכליות אופייניות כמו: עיכוב התפתחותי, מנת משכל נמוכה, מאפייני מראה ייחודיים, קשיים בדיבור, והפרעות בריאותיות שונות. תסמונת דאון שכיחה מכל התסמונות הכרומוזומליות. השיעור הצפוי בלידה הוא אחד לכל 800–1000 לידות. השכיחות ללדת תינוק עם תסמונת דאון עולה משמעותית בהתאם לגיל האם, ובעיקר לאחר גיל 40.



איור ב-2: קריוטיפ של זכר הלוקה בתסמונת דאון

בדיקות גנים

בדיקת קריוטיפ לא מאפשרת זיהוי של שינויים בסדרי גודל קטנים כמו מוטציות נקודתיות, שהן מוטציות שמתרחסות בגן אחד וגורמות שינוי ברצף בבסיס אחד בלבד. שינוי כזה יכול להיגרם כתוצאה מהחלפה של בסיס אחד בבסיס אחר, מהוספת בסיס או מהחסרה של בסיס. כאשר הוספת בסיס או החסרתו מתרחשת בגן המקודד חלבון, המוטציה גורמת להזזת רצף הקודונים המשמש לקידוד בנייתו של החלבון (מסגרת הקריאה). המבנה של החלבון שמתקבל משתבש, וברוב המקרים מתקבל חלבון אחר. מוטציה נקודתית באזור האתר המקדם של הגן עשויה להאט את קצב התעתוק של הגן. מוטציה נקודתית אחרת, המתרחשת בנקודת החיבור שבין אחד האקסונים של הגן לבין האינטרון שלידו, יכולה לשבש את פעולת השחבור של ה-RNA. למשל: למנוע את הוצאתו של רצף האינטרון מתוך ה-RNA. כתוצאה מכך, יתקבל RNA ארוך יותר שיתורגם לחלבון שגוי.

מוטציות נקודתיות הן זעירות ואין דרך לחשוף אותן בבדיקת קריוטיפ. כאשר אי אפשר לזהות מוטציות במיקרוסקופ, נעשות בדיקות מולקולריות הבודקות הבדלים בגנים. בהמשך הפרק נרחיב על הבדיקות המולקולריות האלה: בדיקות הכלאה (היברידיזציה) לגלאים, בדיקות בעזרת שבבי DNA ובדיקות של רצף הגנים. הבדיקות המולקולריות מבוצעות על דגימות DNA. מכיוון שכל רקמה בגוף מורכבת מתאים המכילים DNA, כל רקמה יכולה לשמש כמקור ל-DNA. דם הוא המקור השכיח ביותר, מאחר שקל לקבלו בכמויות מספיקות. במעבדות מסוימות לוקחים משטח לחי להפקת DNA. במקרים אלה התאים נלקחים על ידי שפשוף פנים הלחי עם מברשת קטנה.

את הבדיקות המולקולריות אפשר פיתוח טכניקה לשכפול מהיר של מקטעי DNA – טכניקת PCR.

ריבוי מקטעי DNA בשיטת PCR

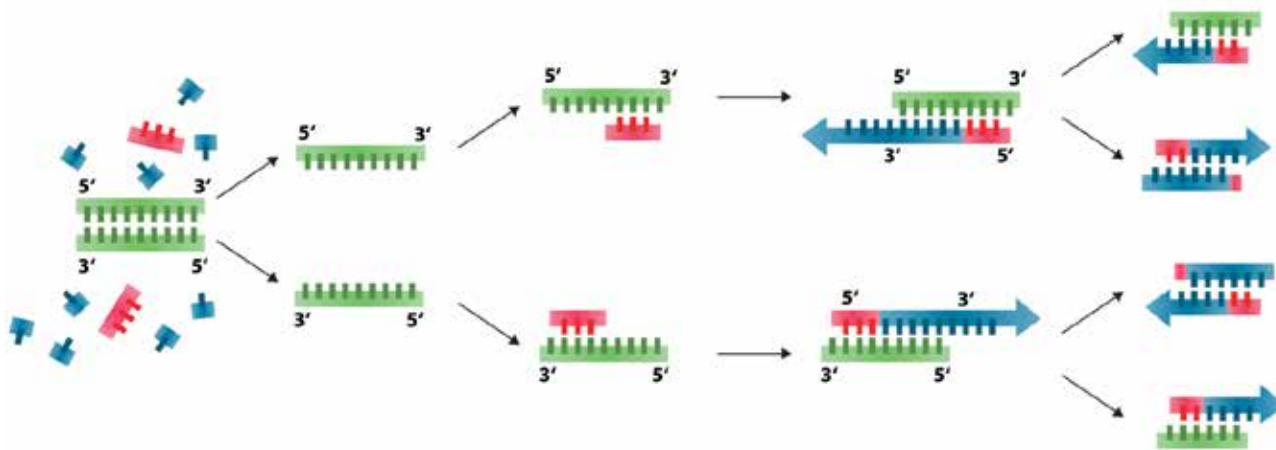
מרקמה בודדת או ממושבת חיידקים אפשר להפיק רק מעט עותקים של גן מסוים בגנום. ולכן, כאשר רוצים לזהות גן מסוים או מקטע DNA, צריכים להפיק מאות מיליוני מולקולות של DNA כדי שיהיה אפשר לבצע ריאקציות מולקולריות בשיטות המקובלות. לשם כך משתמשים בשיטת PCR (Polymerase Chain Reaction) תגובת השרשרת של פולימראז. באמצעות השיטה הזאת אפשר לשים במבחנה כמות זעירה של DNA, ותוך זמן קצר לקבל את הכמות הדרושה, שהיא גדולה אלפי מונים מן הכמות ששמנו במבחנה. שיטת PCR פותחה על ידי מוליס (Mullis) בשנת 1983, והיא הייתה מהפכה בתחום הביולוגיה המולקולרית. ממציא השיטה זכה בפרס נובל לכימיה בשנת 1993.

בשיטה הזאת מפרידים את שני הגדילים של מולקולת DNA שרוצים לשכפל. האנזים DNA פולימראז משתמש בגדיל ה-DNA כתבנית לבניית גדיל משלים לו, ויוצר שתי מולקולות DNA חדשות, זהות לחלוטין למולקולה המקורית. על התהליך הזה חוזרים שוב ושוב (איור ב-3) עד שמתקבלים עותקים רבים של הגדיל המקורי.

נוסף על גדיל התבנית, כדי לשכפל את ה-DNA האנזים צריך גם נקודת התחלה שנקראת **תחל** (Primer). התחל הוא קטע קצר של גדיל משלים, שעבר הכלאה עם גדיל התבנית. הסיבה לקיומו היא אי-יכולתו של האנזים DNA-פולימראז להתחיל ביצירת גדיל חדש של DNA; האנזים מסוגל אך ורק להאריך גדיל DNA קיים. למעשה, האנזים נאחז בקצהו של התחל ומאריך אותו, והגדיל הנבנה הוא המשכו של התחל. בגרעין התא ממלאות מולקולות RNA קצרות את תפקיד התחל. בריאקציה של תגובת השרשרת משתמשים בתחלים מלאכותיים המיוצרים במעבדה. תחל כזה הוא קטע DNA חד-גדילי קצר (15-30 בסיסים), שרצף הבסיסים שלו משלים לרצפים הנמצאים משני צידי האזור שמבקשים להכפיל; כל רצף – על גדיל אחר. לשם כך יש להכיר את רצף הבסיסים של האזור המוכפל, מכיוון שהרצף הזה יכתיב את רצף התחלים שצריך להכין.

למבחנה שבה מתבצעת תגובת השרשרת מכניסים את ה-DNA עם הרצף שרוצים לשכפל. אין צורך לבדוד את הרצף המוגדר על ידי התחלים המוכלאים לקצותיו. את התחלים מכליאים למולקולת ה-DNA הדו-גדילית: תחל אחד לקצה ה-5' של כל גדיל. מוסיפים למבחנה גם ארבעה דאוקסינוקלאוטידים וכן DNA-פולימראז. עם הוספת הפולימראז למבחנה מתחילה התגובה: הפולימראז מסנתז גדיל משלים לכל אחד משני הגדילים.

בשלב הבא מחממים את ה-DNA ל-90°C, כדי להפריד בין שני הגדילים, ומקררים את התערובת. בזמן הקירור מתחברות מולקולות תחל לרצפים המשלימים להן, בכללם הרצפים בגדילים החדשים. הפולימראז מבצע מחזור שכפול שני, והפעם על כמות כפולה של תצמידי תבנית עם תחל. עם סיום מחזור השכפול השני מתקבלים שמונה עותקים של DNA (איור ב-3). ביצוע מספר גדול של מחזורי חימום-קירור יגדיל את כמות ה-DNA בצורה מעריכית, ומעותק דו-גדילי יחיד אפשר להגיע ל- 10^{11} - 10^8 עותקים.



איור ב-3: ריבוי מקטעי DNA בשיטת PCR

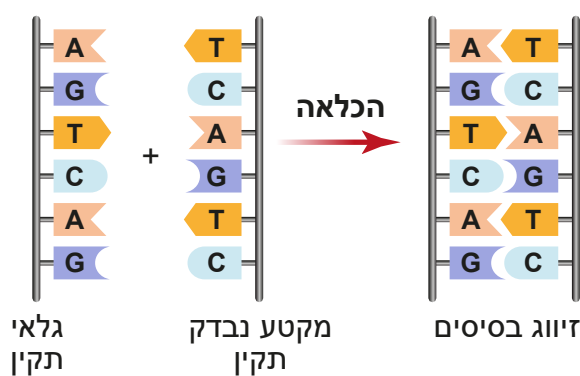
בשנים הראשונות של השימוש בשיטת PCR העבודה הייתה ממושכת ומייגעת. חימום תערובת ה-DNA ל-90°C, כדי להפריד את הגדילים, היה הורס את האנזים פולימראז, והיה צריך לבצע כל הכפלה בנפרד (לאחר שהוסיפו פולימראז חדש בכל פעם). המפנה חל עם גילוי הפולימראז של חיידקים תרמופיליים (אוהבי חום) החיים במי מעיינות חמים בטמפרטורה שקרובה לרתיחה. הפולימראז של החיידקים התרמופיליים, כמו אנזימים אחרים ביצורים האלה, עמיד בחום ומתאים לשיטת ה-PCR. היום מבוצע התהליך על ידי אנזים המופק מן החיידק *Thermus aquaticus* ומכאן שמו של האנזים - פולימראז Taq.

את התמיסה מחממים ומקררים לסירוגין, מדי כמה דקות. לצורך הריאקציה הזאת פיתחו מכשיר מיוחד, שנקרא מכשיר "מחזורי-טמפרטורה", המאפשר לבצע את התהליך באופן אוטומטי, וכך אפשר לקבל כמות עצומה של DNA בתוך כמה שעות.

בשיטת PCR משתמשים ביישומים רבים ומגוונים, לדוגמה: בשיבוט מולקולרי, בזיהוי פגמים תורשתיים, באיתור פתוגן, בהנדסה גנטית, במחקר DNA של חיות מאובנות, בזיהוי פושעים, ובקביעת הורות וקשרי משפחה.

אבחון מוטציה על ידי הכלאה לגלאים

אחת מהשיטות לזיהוי מוטציה בגן נעשית על ידי הכלאת המקטע הנבדק לגלאים מולקולריים המיוצרים במעבדה. **גלאי** (probe) הוא מולקולה בעלת רצף ידוע, מסומנת בסימון רדיואקטיבי או פלואורסצנטי ומשמשת לאיתור מולקולה אחרת; הגלאי משמש לגילוי רצפים משלימים. שיטת זיהוי זאת מתאפשרת רק במחלות שהמוטציה למחלה זוהתה וידוע הרצף הפגום באזור המוטציה. הבדיקה מבוססת על גלאים מולקולריים שהם ייחודיים למוטציה ולרצף הגן התקין.



איור ב-4: הכלאת מקטע תקין לגלאי תקין

מפיקים DNA מתאי הנבדק, ובעזרת תחלים מתאימים נעשה שכפול מהיר של האזור שהמוטציה החשודה עשויה להיות בו. מפרידים את המקטעים למולקולות חד-גדיליות. מתבצעת הכלאה של המקטעים החד-גדיליים לשני גלאים המיוצרים באופן מלאכותי: לגלאי מוטנטי ולגלאי תקין. הגלאי המוטנטי הוא גדיל המורכב מרצף הבסיסים של הגן עם המוטציה הידועה, ובגדיל הגלאי התקין יש רצף בסיסים הזהה לגן התקין. אם המקטעים של הנבדק תקינים, תתרחש הכלאה (היברידיזציה) לגלאים התקינים הודות להתאמת הבסיסים בין מולקולות ה-DNA החד-גדיליות והגלאי התקין (איור ב-4).

אם המקטעים מכילים מוטציה, תתרחש הצמדה לגלאים המוטנטיים. בדיקה זו מזהה גם הטרוזיגוטים למוטציה, שהם למעשה נשאים של המחלה. אם הנבדק הוא נשא של המוטציה ומכיל אלל אחד תקין ואלל אחד פגום, תתרחש הכלאה לשני הגלאים.

בשיטה הנקראת "הספג נקודתי" מספיגים את הגלאים על ניר סופג; בשורה אחת את הגלאי התקין ובשורה אחרת את הגלאי המוטנטי. מוסיפים את המקטעים הנבדקים לכל אחד מהגלאים וצובעים את גדילי ה-DNA. כאשר יש הכלאה, גדילי ה-DNA נצבעים; אם אין הכלאה, הם נשטפים מהמשטח ולא מופיע כתם הצבע.

באיור ב-5 מובאות תוצאות של שישה נבדקים למחלה גנטית. בשורה העליונה נעשתה הכלאה לגלאי התקין, ובשורה התחתונה – לגלאי המוטנטי. לפי תוצאות הבדיקה נבדקים 1 ו-4 אינם סובלים מהמחלה; הם נושאים רק את האלל התקין. נבדקים 2 ו-6 סובלים מהמחלה; הם נושאים שני אללים פגומים. נבדקים 3 ו-5 הם נשאים של המחלה; הם נושאים את הגן הפגום בנוסף לגן התקין.



איור ב-5: זיהוי מחלה גנטית בעזרת הכלאה לגלאים

אבחון מחלות גנטיות בעזרת שבב DNA

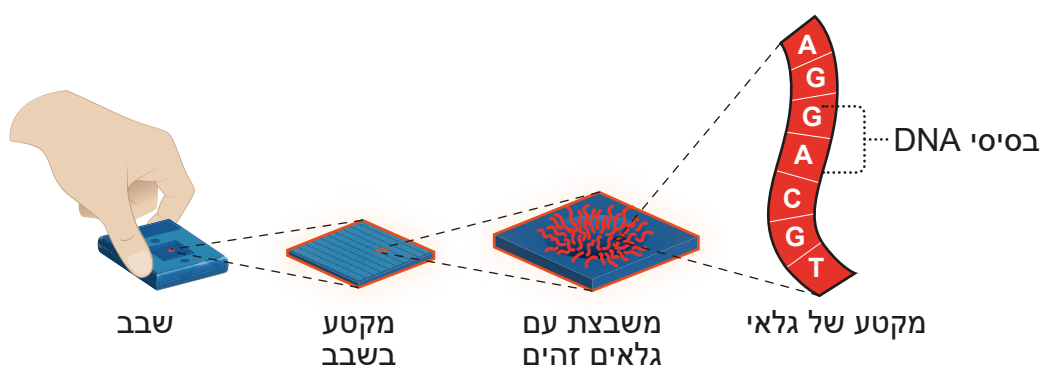
בשבב DNA (DNA chip) או שבב גנים (genes chip) נעשית בדיקה ביוכימית מדויקת ומהירה היכולה לסרוק בו זמנית אלפי גנים, או אלפי מוטציות בגן אחד. בדיקה בעזרת שבבי DNA יעילה במיוחד כאשר מספר גדול של מוטציות נקודתיות בגן אחד גורמות למחלה, כמו למשל במחלת סיסטיק פיברוזיס. את השבבים מרכיבים באותן שיטות של תעשיית שבבי המחשבים. אלא שהשבבים האלה אינם עשויים משכבות סיליקון אלא מ-DNA. שבב ה-DNA הוא פיסת זכוכית בגודל של כ-1 סמ"ר (איור ב-6).



איור ב-6: שבב DNA

הכנת השבב

השבב מחולק לעשרות אלפי משבצות קטנות המסודרות בשורות ובטורים במרווחים של כ-20 מיקרון (מיקרון = אלפית המילימטר). יוצרים מקטעי מולקולות סינתטיות חד-גדיליות של DNA המשמשים גלאים. כל גלאי מורכב מרצף באורך של 25 נוקלאוטידים של אחד האללים המוטנטים בגן. לכל משבצת מכניסים, בעזרת רובוט, גלאי אחר (איור ב-7). כל קטע כזה יכול לעבור הכלאה לקטע בעל רצף זהה של DNA. החוקר שמתכנן את השבב קובע מה יהיו הרצפים בכל אחת מעשרות אלפי המשבצות שעל גבי השבב, בהתאם לשימוש שהוא מעוניין לעשות בשבב. לדוגמה, אפשר ליצר שבב שעליו קטעים קצרים מכמה גנים שונים, או שבב שעליו קטעים שונים מגן אחד מסוים. מכניסים את מולקולות הגלאי עם האללים המוטנטיים למשבצות השבב. רישום אוטומטי של המיקום המדויק של כל אחד מהגלאים בשבב נעשה באופן ממוחשב.



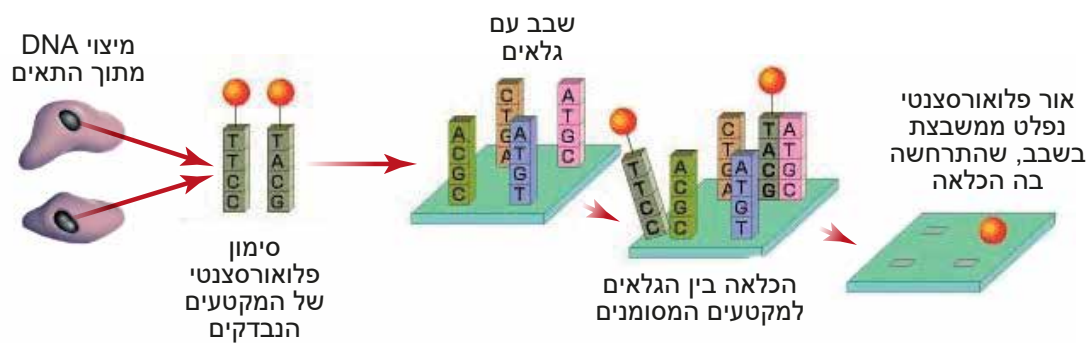
איור ב-7: ייצור שבב DNA לאבחון שינוי גנטי

בעזרת שבב DNA מזהים באופן ממוקד מוטציות הגורמות למחלה. אפשר לבצע את הבדיקה רק אם המוטציות הגורמות למחלה ידועות מראש. מכיוון שרוב המוטציות הנקודתיות הגורמות למחלות תורשתיות ידועות נמצאות בגן אחד, אפשר להשתמש בשבבי DNA לאבחנה של מחלות כאלה.

איתור הגן המוטנטי ב-DNA הנבדק

מפיקים DNA מתאי אדם שנבדק לאבחון מוטציה. את המקטע הנבדק משכפלים בשיטת PCR בעזרת תחלים מתאימים ומפרידים את המקטעים למולקולות חד-גדיליות. מסמנים את המולקולות החד-גדיליות בסימון פלואורסצנטי בצבע שנבחר. מכניסים את המולקולות המסומנות לכל משבצת השבב ומאפשרים להן לעבור הכלאה עם מולקולות הגלאי.

אם לפרט הנבדק יש מוטציה, המקטעים עם המוטציה ייקשרו למקטעי הגלאים בשבב המכילים את הרצף המשלים למוטציה הזאת. כל משבצת בשבב שמתרחשת בה הכלאה ונוצר בה DNA דו-גדילי פולטת אור. סורק אופטי בעל קרן לייזר יזהה במשבצת שהתרחשה בה קשירה את הצבע הפלואורסצנטי. רוב המקטעים הנבדקים אינם מכילים את הרצף המוטנטי. הם לא נקשרים לגלאים, וכתוצאה מכך הם נשטפים ומורחקים מהשבב. רק משבצות צבועות בסימון הפלואורסצנטי מעידות על מוטציה בגן (איור ב-8).



איור ב-8: איתור מוטציה ב-DNA של הנבדק

מחלת הסיסטיק פיברוזיס, למשל, נגרמת בגלל מוטציות בגן CFTR. המוטציות עלולות להתרחש באתרים רבים לאורך הגן הזה. עד היום זוהו אצל חולים שונים יותר מאלף מוטציות באתרים שונים בגן. כדי לבדוק אם לאדם יש מוטציות שגורמות לסיסטיק פיברוזיס, בנו שבב שעליו מצויות דוגמאות DNA מעשרות אתרים שונים בגן CFTR שבהם מתרחשות מוטציות שכיחות. מאחר שיודעים איזה מקטע משמש גלאי, אפשר לקבוע אילו מוטציות יש לנבדק. כך, בניסוי פשוט אחד, אפשר לבדוק אם אדם נושא מוטציה כלשהי בגן, ומהי אותה מוטציה.

אחד ממוקדי המחקר בשבבים הוא הגן p53 בכרומוזום 17. מוטציה בגן הזה מאפיינת מחלות סרטניות רבות. חברת אפיימטריקס האמריקאית יצרה מקטעי DNA שמכילים את כל המוטציות המוכרות בגן p53, מוטציות שעלולות לגרום סרטן. את כל המקטעים עם המוטציות האלה היא שמה על שבב DNA, שנקרא "שבב המוטציות". בתוך שניות אפשר לקבל מידע על המוטציות שיש בדוגמת DNA שאותה בודקים.

בדיקות גנטיות לאיתור נשאים של מחלות תורשתיות

ישראל היא המדינה היחידה בעולם שבה קיימת תוכנית למניעת מחלות תורשתיות, המיועדת לאיתור זוגות בסיכון ללדת ילד עם מחלה גנטית. זאת, באמצעות בדיקות גנטיות של זוגות המתכננים היריון.

שבב DNA לאיתור נשאים של מחלות תורשתיות מכיל רצפי מוטציות שנמצאו באוכלוסייה הישראלית ושקשורים למחלות העוברות לעובר בצורה אוטוזומלית רצסיבית (רק אם שני בני הזוג נשאים). השבב מכיל רצפי מוטציות של כ-150 מחלות קשות, ובכל מחלה מגוון רחב של המוטציות המשמעותיות המוכרות כמשפיעות.

קיימים מקרים שבהם בני זוג מתחתנים בתוך אוכלוסייה סגורה ומצומצמת. במקרים האלה, בני הזוג אמנם אינם בני משפחה, אך הם חיים באוכלוסייה אשר הייתה סגורה במשך שנים רבות, והנישואין בתוכה הובילו לעלייה בשכיחות המוטציות הגנטיות והמחלות הגנטיות. אחת הדוגמאות הבולטות לכך הוא הציבור החרדי. ארגון "דור ישרים", מספק בדיקות גנטיות אנונימיות לציבור החרדי, ומאפשר למנוע שידוך של בני זוג אשר נושאים את אותה מוטציה למחלה.

מן הרשת



תגובת השרשרת של הפולימראז - PCR

סרטון אנימציה (1:12 דקות) מדגים את תגובת השרשרת של הפולימראז (PCR) להגברת שכפול DNA (דיבוב וכתוביות באנגלית).

ציבוד שבבי (של גנים)

הציפי הגנטי הוא טכנולוגיה חדשנית לבדיקה מפורטת לאיתור חוסרים או עודפים זעירים בגנום ומשפר מאוד את יכולת האבחון.

שבבי / מערך DNA

סרטון עם תרגום לעברית מדגים את מאפייני השיטה לסריקה של התאמת DNA של אלפי גנים בעזרת שבבי DNA. עקרון השיטה מבוסס על הצמדת DNA חד-גדילי לגדיל המשלים שלו. משתמשים בשיטה זו לרוב לאפיון הביטוי של גנים ברקמות שונות של הגוף, או השוואת פרופיל גנטי בין רקמות או סוגי תאים שונים.

בדיקה אחת יכולה למנוע מחלות תורשתיות

התוכנית למניעת מחלות תורשתיות בישראל, המיועדת לאיתור זוגות הנמצאים בסיכון יתר ללדת ילד עם מחלה תורשתית, מתבססת על בדיקות סקר גנטיות בקרב כלל האוכלוסייה המתכננת היריון. הבדיקה מתבצעת בטכנולוגיה חדשנית על שבבי גנטי וכוללת 410 מוטציות לכ-100 מחלות תורשתיות המוכרות בארץ ובעולם. בפאנל כלולות מוטציות נפוצות הגורמות למחלות תורשתיות קשות, המתבטאות בגיל ילדות ואין לזהותן במסגרת בדיקות מעקב רגילות במהלך ההיריון.

אבחון מחלות גנטיות בעזרת ריצוף DNA

אם הגן הפגום ידוע, אפשר לאבחן מחלות גנטיות גם כשרצף הבסיסים במוטציה אינו ידוע. על ידי שימוש ב-PCR מגבירים את הגן או קטע מהגן שעשוי להכיל את המוטציה, וקובעים את רצף הבסיסים של הקטע לאחר הגברתו. משווים את הרצף של הגן שבדד מהנבדק עם הרצף הידוע התקין של אותו גן. ההשוואה מאפשרת גילוי שינויים ברצף שאולי משפיעים על תפקוד הגן. חשוב לזכור שחלק מהשינויים הגנטיים הנצפים ברצף הגן אינם מוכרים ומשמעותם לא ברורה; לא כל השינויים ברצף בגן גורמים למחלה. אפשר לרצף בשיטת סנגר או בשיטות חדשניות המכונות הדור החדש של הריצוף.

ריצוף בשיטת סנגר

שיטת סנגר היא עדיין שיטת הריצוף השכיחה ביותר, ובאמצעותה נקבעו רוב הרצפים הגנטיים הידועים כיום. השיטה מאפשרת קריאה של מקטעים קצרים יחסית, בדרך כלל פחות מ-500 בסיסים. את השיטה פיתח פרדריק סנגר בשנת 1977. על פיתוח השיטה והשימוש בה זכה סנגר בפרס נובל לכימיה בשנת 1980. השיטה שוכללה במשך השנים, והיום היא מהירה יותר וזולה יותר הודות לאוטומציה של הריצוף.

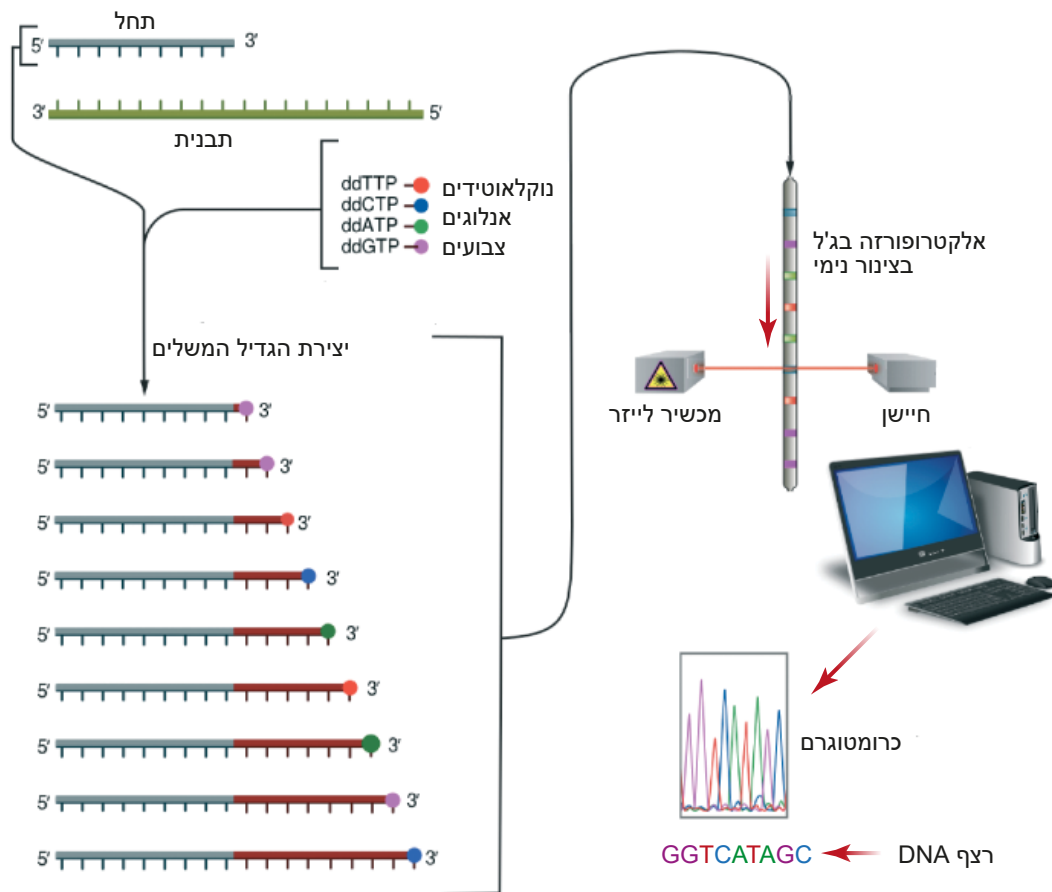
בשיטה זו יוצרים העתקים רבים של מקטע DNA שרוצים לרצף אותו. המרכיבים המשתתפים בתהליך זהים למרכיבים של תהליך השכפול של DNA: (א) גדיל אחד של DNA שאת הרצף שלו רוצים לקבוע משמש כתבנית לגדיל המשלים; (ב) אנזימים DNA-פולימראז; (ג) תחל (פריימר), מקטע DNA קצר חד-גדילי משלים, נקשר לגדיל המרוצף ומאתחל את הפולימראז; (ד) ארבעת הנוקלאוטידים של DNA (dATP, dTTP, dCTP, dGTP); (ה) ארבעה אנלוגים של ארבעת הנוקלאוטידים (ddATP, ddTTP, ddCTP, ddGTP) צבועים בארבעה צבעים פלואורוסצנטיים שונים.

השיטה של סנגר מתבססת על סינתזה של DNA חד-גדילי בנוכחות ארבעת הנוקלאוטידים הרגילים ובנוכחות האנלוגים שלהם. כל אנלוג הוא נוקלאוטיד שחסרים בו שני אטומי חמצן, והוא נקרא דיאוקסינוקלאוטיד-טרי-פוספט (ddNTP). לאנלוג כזה חסרה קבוצת 3'-OH, שהיא חיונית ליצירת קשר פוספודיאסטר בין נוקלאוטידים שכנים. מרגע שמכלילים אנלוג כזה בגדיל, נפסקת הסינתזה של ה-DNA, מאחר שהאנלוג אינו יכול להיקשר לנוקלאוטיד הבא בשרשרת. האנלוגים המוכנסים הם רק עשירית מכמות הנוקלאוטידים, וכמות זו קובעת את תדירות הפסקת ההתארכות.

ה-DNA-פולימראז שבתערובת הריאקציה מסנתז את הגדיל המשלים בעזרת הנוקלאוטידים והאנלוגים שבתערובת. בין הנוקלאוטידים ובין האנלוגים שבתערובת יש תחרות על ההשתלבות בגדיל הנבנה. בכל מקום שאנלוג משתלב הוא מפסיק את הריאקציה ונוצרים גדילים משלימים באורכים שונים. אורכו של כל אחד מן הגדילים שנוצרו תלוי במיקום האנלוג ביחס לקצה 5' – תחילת התחל (איור ב-9).

בתום התהליך מתקבלות מולקולות רבות המכילות את גדיל התבנית הקבוע באורכו, וכן גדילים חדשים שאורכם משתנה ממולקולה למולקולה. את הגדילים החדשים מכניסים למכשיר הריצוף שמפריד בין המולקולות וקורא את הרצף שלהן. ההפרדה נעשית על פי אורכם באמצעות אלקטרופורזה בג'ל (ראו עמ' 82) שנבנה כך שיתאים להפרדה בין מולקולות חד-גדיליות הנבדלות באורכיהן בנוקלאוטיד אחד בלבד. מכשירי הריצוף האוטומטיים מפרידים בין המולקולות בצינור נימי, קוראים את הרצף לפי סדר הופעת הצבעים הפלואורוסצנטיים בעזרת מכשיר לייזר, ומתעדים את הרצף במחשב כך שנראים פיקים צבעוניים בכרומטוגרם (איור ב-9).

העיקרון הבסיסי של השיטה הוא יצירת סדרה של מקטעי DNA שבה כל מקטע קצר מהמקטע הבא בבסיס אחד, והבסיס האחרון בכל מקטע הוא המזוהה הודות לצבעו. לדוגמה, אם לאחר שמסדרים 5 מקטעים לפי אורכם, האותיות האחרונות בכל מקטע, הן G, A, T, C, A, רצף הבסיסים בקטע הנבדק הוא...GATCA. הרצף המשלים לו לפי שיטת סנגר.



איור ב-9: ריצוף DNA בשיטת סנגר

הדור החדש של הריצוף

בריצוף מקטעים ארוכים של DNA או בגנום כולו משתמשים בשיטות חדשות הנקראות "הדור החדש של הריצוף". שיטות אלה נועדו להגביר את מהירות התהליך ולהוזיל את עלותו. בין הגישות: צמצום שלב ההפרדה האיטי, מזעור רכיבים כדי להקטין את נפח התגובות הכימיות, וביצוע תגובות רבות כדי לקרוא בו בזמן את הרצף של מיליוני מקטעים. ריצוף מקטעים ארוכים נעשה על ידי חיתוך ה-DNA למקטעים קצרים וחופפים, ריצוף של כל אחד מהם בנפרד, והרכבת הרצף הארוך על פי הקטעים החופפים.

קבוצות מחקר רבות פיתחו שיטות המכונות "קביעת רצף באמצעות סינתזה" משום שהן מחקות את תהליך הסינתזה של ה-DNA – תהליך השכפול. רצף תבנית ה-DNA מפוענח כשהפולימראז מוסיף בסיסים לתחל של הגדיל המשלים. מולקולות פלואורסצנטיות מחוברות לבסיסים שנוספו, והן מזוהות בעזרת מיקרוסקופ אופטי. יש צורך בהתרחשות בוזמנית רב-פעמית של תגובת התאמת הבסיס כדי שהאות יהיה חזק מספיק לזיהוי, וכדי שמספר עותקים רב של אותו רצף יוכל להיבחן בו בזמן. זיהוי אות ממולקולה פלואורסצנטית יחידה הוא עדיין אתגר גדול. מכיוון שרק כ-95% מהאותות מזוהים, יש צורך לבצע "קריאות" מספר כדי לתקן את הטעויות שנוצרו. זו הסיבה שרוב קבוצות המחקר משכפלות תחילה את תבנית ה-DNA היחידה בעזרת תהליך תגובת שרשרת של האנזים DNA פולימראז (PCR).

קביעת הרצף בעזרת נקבים ננומטריים

קיימת גישה אחרת לגמרי לזיהוי בסיסי ה-DNA הצופנת בחובה הבטחה גדולה לטווח הרחוק. גישה זו מכונה קביעת רצף בעזרת נקבים ננומטריים (nanopore sequencing), והיא מתמקדת בהבדלים הפיזיקליים בין ארבעת בסיסי ה-DNA כדי לייצר אות שאפשר לזהותו. כשמעבירים גדיל בודד של DNA דרך נקב בקוטר של 1.5 ננומטר, הגדיל גורם לתנודות במוליכות החשמלית של הנקב. כל בסיס DNA גורם לשינוי מוליכות מעט שונה המאפשר לזהותו. השיטה הזאת נמצאת כעת בשלבי פיתוח.

ריצוף אקסומי

הודות להתקדמות בטכנולוגיות ריצוף ה-DNA, אפשר לזהות היום את הבסיס הגנטי של מחלות נדירות גם כאשר הגן הפגום אינו ידוע. אם הגן הפגום אינו ידוע, מאבחנים את המחלה בעזרת ריצוף האקסונים בגנום הנקרא ריצוף אקסומי. בריצוף זה מרצפים אך ורק את האקסונים – האזורים המקודדים ב-DNA, בלי האזורים הלא מקודדים שאינם שייכים לגנים ידועים. רוב גדול מהמוטציות והשינויים המשמעותיים ב-DNA נמצאים באזורים המקודדים, ולכן שיטה זו מאפשרת ריצוף חלק קטן בהרבה של הגנום, תוך הפסד קטן של מוטציות חשובות. בדיקה זו יכולה לגלות את רוב המחלות התורשתיות הידועות, וכן לזהות מוטציות בלתי ידועות ולנסות לברר את משמעותן. חסרונה הבולט של השיטה: חוסר רגישותה לשינויים באזורי הבקרה של ה-DNA, ואזורים שתפקידם טרם הוברר לחלוטין. ריצוף אקסומי מאפשר, בדיקה של הגנום האנושי במחיר סביר.

בבדיקת האקסום מרצפים בו זמנית כמעט את כל אזורי הקידוד (אקסונים) בגנום האנושי. בדיקת האקסום למחלות נדירות היא אחד היישומים החשובים של אבחון ורפואה מותאמת אישית. בדיקה זו מקצרת את הזמן הנחוץ לאבחון, משפרת את יכולת ניהול המחלה, כולל טיפולים ממוקדים ומעקב אחר מחלות רקע שיכולות להתפרץ מאוחר יותר, ומאפשרת מתן ייעוץ גנטי למשפחות לגבי הישנות סיכונים ואפשרויות אבחון טרום לידתי.

ניק ניצל הודות לריצוף כל האקסונים שלו

ניק וולקר, שחלה במחלה גנטית נדירה, הוא אחד מהראשונים שנהנה מהמאמץ האדיר של פענוח גנום האדם. מאז היותו בן שנתיים הרופאים לא הצליחו לאבחן את גורם המחלה גם לאחר אשפוז של 700 ימים בבית חולים עם מחלת מעיים קשה. ניק לא אכל ומשקלו צנח ל-8 קילוגרמים. הוא לא יכול היה ללכת וסבל מכאב תמידי. הרופאים שיערו שהוא סובל ממחלה גנטית נדירה.

באפריל 2009, בהיותו בן ארבע, החליטו רופאי בית החולים לילדים בויסקונסין לנקוט פעולה שלא נוסתה עדיין – לרצף את הגנום שלו. באותה עת ריצוף מלא של הגנום עלה מיליון דולר, ולכן הוחלט לרצף את האקסום שלו בעלות של 75,000 דולר. האקסום כולל את כל האקסונים המקודדים חלבונים - כ-1.5% מהגנום המלא. החוקרים הסתפקו בריצוף האקסום מפני ששיערו כי המוטציה נמצאת בגן המקודד חלבון כלשהו. הייתה זו הפעם הראשונה שנעשה ריצוף כזה לצורך אבחון מחלה.

לאחר הריצוף התמקדו החוקרים ב-2,000 גנים עם פוטנציאל גבוה לאיתור המוטציות למחלת המעיים, ומצאו בהם 16,000 מוטציות נקודתיות, שאחת מהן היא כנראה הגורם למחלה. לאחר שיתוף חוקרים רבים, תוכנות מתקדמות ומאגרי מידע גדולים, אותרה המוטציה הגורמת למחלה: מוטציה בגן המקודד לחלבון XIAP הנמצא בכרומוזום X. החלבון מעורב במערכת האפופטוזיס (מוות תאי מתוכנת) ובמערכת העברת אותות הנחוצים לזיהוי חלבונים חידקיים בתא. מוטציה בגן גרמה להחסרת החומצה האמינית ציסטין במקום שבו היא נחוצה להתקשרות החלבון לחלבונים אחרים, וכתוצאה מכך גרמה לפגיעה בתפקוד

מערכת החיסון. חיידקים שחדרו למערכת העיכול של ניק הפעילו את מערכת החיסון, והוא לא יכול היה להפסיק את פעולתה. ההפעלה הממושכת של מערכת החיסון גרמה לדלקת כרונית שהלכה והחמירה. בדיקות נוספות של ריצוף הגן עצמו ובדיקות אחרות הובילו להחלטת הרופאים לטפל בניק בעזרת השתלת מוח עצם. ניק קיבל ביולי 2011 מערכת חיסון חדשה, והבריא.

ריצוף גנומי מלא

השיטה המקיפה והיעילה ביותר לאבחנה של מחלות גנטיות היא ריצוף מלא של הגנום. בדיקת ריצוף גנומי היא המלאה ביותר (וגם היקרה ביותר), ונועדה לזהות מחלות גנטיות בלתי מאובחנות. בריצוף כזה נערכת בדיקה מלאה של כל החומר התורשתי של אדם אחד ונערך רישום מלא של סדר הבסיסים בגנום שלו. את הרישום משווים למאגרי מידע ידועים על הגנום האנושי – כדי לבחון שינויים בעלי משמעות שנקשרים להופעה של מחלות גנטיות. עם ההתפתחות הטכנולוגית בשנים האחרונות הפך המיפוי הכללי גנומי לזמין יותר, מהיר יותר וזול יותר. עם זאת, עדיין מדובר בהוצאה גדולה מבחינה כספית ומעבדתית, ומבצעים אותה רק במקרים נדירים. הבדיקה מיועדת בעיקר כשיש חשד למחלה גנטית – אך לא ברור באיזו מחלה מדובר ואיזה גן לבדוק.

בשנת 2006 עלה יותר ממיליון דולר לרצף את הגנום האנושי. אדם אחד שילם את הסכום הזה לחברה פרטית כדי שתורצף את הגנום שלו, והדבר התפרסם בכלי התקשורת. בשנת 2018 עמדה העלות על 600 דולר, והריצוף נגיש לכל אחד. לפני עשר שנים כל מיפוי מוטציה לאבחון מחלה גנטית היה פרויקט של מעבדות אחדות שעבדו על זה שנים רבות. עשרות אנשים הקדישו את חייהם ועבדו שנים כדי למצוא את המוטציה הגורמת לסיסטיק פיברוזיס. היום, בעזרת ריצוף גנומי, אפשר לאבחן מוטציות לא מוכרות בתוך חודשים ספורים.

אבחון גנטי של סרטן בעזרת ריצוף גנומי מלא של הגידול

הגורם העיקרי לסרטן הוא מוטציות סומאטיות (שאינן בתאי המין) שגורמות להתרבות בלתי מבוקרת של תאים. הכימותרפיה פועלת על פגיעה בחלוקת התאים. במשך עשרות שנים סיווגו רופאים את הסרטן על פי המיקום או האיבר שממנו החל, וטיפלו בצורה דומה בחולים שסבלו מאותו סוג של סרטן – שד, ריאה, כבד, או ערמונית. תוכנית הטיפול הייתה בחזקת ניחוש מושכל, לכן, ופעמים רבות הכימותרפיה לא הייתה יעילה למספר רב של חולים.

הודות לפיצוח הגנום האנושי וההבנה כי קיימים הבדלים גנטיים בין גידולים סרטניים, יודעים היום כי השוני בתגובה לטיפולים נעוץ בשונות הגנטית של כל אדם; במילים אחרות – המוטציות הייחודיות שהתרחשו ב-DNA והביאו להתפתחות הגידול המסוים. היכולת לבדוק את הפרופיל הגנומי של הגידול מאפשרת למקד את הטיפול ולהתאים אותו לגידול המסוים של החולה. היא מאפשרת לרופא לנבא טוב יותר כיצד הגידול יגיב לטיפולים מכווני מטרות, כגון טיפולים ביולוגיים, לפעמים גם כאלה שאולי לא היו נשקלים כלל – אלמלא המידע הגנומי.

לדוגמה, ב-15% מחולי סרטן ריאות התגלו מוטציות בשני הגנים EGFR ו-ALK. היום יש טיפולים ביולוגיים המכוונים לפגיעה במוטציות בשני הגנים האלה ויעילים רק לנשאי המוטציות האלה. בדיקות גנטיות בסרטן מתבצעות כדרך שגרה כחלק מתהליך אבחון המחלה, אך מכיוון שהן מתוכננות לבדוק רק מספר מצומצם של גנים, בדיקות אלה אינן תמיד מספיקות. בבדיקת פרופיל גנומי שסורקת את הגידול ונמצאת כיום בשימוש, אפשר לאבחן מעל 300 גנים ומוטציות הקשורים לסרטן. בדיקה זו יכולה למצוא מגוון רחב יותר של מוטציות שאפשר לטפל בהן, כדוגמת: BRAF, HER2, MSH2, הנמצאות ב-20% עד 30% מחולי סרטן

ריאות, וכך לסייע למצוא טיפול מכון מטרה המתאים למוטציות אלה. בדיקת פרופיל גנומי הפכה את גישת הטיפול על פיה. לדוגמה, תרופה שמאפשרת לטיפול בסרטן השד עשויה להועיל בטיפול בסרטן ריאות שיש לו מוטציות גנטיות דומות. כאשר הטיפול מכון מטרה ותוקפים את המוטציה, משיגים שיעור תגובה גבוה יותר עם פחות תופעות לוואי.

מן הרשת



ריצוף בשיטת סנגר

סרטון אנימציה (1:45 דקות) מדגים ריצוף DNA בשיטת סנגר (דיבוב וכתוביות באנגלית). הסרטון מציג את השיטה המקורית (השונה מהשיטה המתוארת באיור ב-9), שבה היו מריצים כל ריאקציה עם דידאוקסינוקלאוטיד במבחנה נפרדת ומריצים על ג'ל.

לראשונה מופה גנום של חולת סרטן

המדענים באוניברסיטת וושינגטון מקווים כי פענוח הגנום של חולה, שלקתה בלוקמיה מילואידית חריפה, יאפשר לגלות דרכים חדשות לטיפול בסרטן. התגלה כי צירוף של עשר מוטציות בלבד הוא הגורם לסרטן אצל חולה זו.

מוטציה גנטית גורמת לכשל שחלתי מוקדם

חוקרים גילו מוטציה גנטית חדשה הגורמת לכשל שחלתי ראשוני – שמשמעה היעדר מחזור חודשי בנשים מתחת לגיל 40. לצורך המחקר נעזרו החוקרים בשיטות הקרויות 'גנטיקה של הדור הבא'. הם ביצעו אפיון גנטי של שתי נערות שנשארו את המוטציה, הוריהן, אחיהן ואחיותיהן, והוסיפו לכך ריצוף מלא של האקסומים – הגנים מקדדי החלבונים – ב-DNA של שתי הבנות הפגועות.

ריצוף גנומי מהדור החדש משנה החלטות טיפול בסרטן ריאה

מאז הסתיים פרויקט מיפוי הגנום האנושי ב-2003 הצליחו החוקרים לגלות גנים הקשורים למגוון רחב של מחלות, בהן סרטן. הודות לכך אנו יכולים כיום לסרוק דגימה מהגידול הסרטני, לחפש אחר גנים ספציפיים הקשורים לסרטן, ועל פי זאת להתאים את הטיפול לחולה. מחקר חדש בראשות פרופ' ניר פלד חשף כי החלטות הטיפול משתנות כשסרטן ריאה מאובחן באמצעות בדיקה גנומית חדשנית.

מדוע בדיקות גנטיות לסרטן אינן מספקות תשובות ברורות יותר?

המידע המתקבל יכול לעזור בדרך הטיפול, ואנליזה גנטית נעשתה הליך תקני במחלות ממאירות רבות, כמו סרטן השד, סרטן הריאות וסרטן המעי הגס. רופאים צברו מבחר צנוע של תרופות שיכולות לנטרל כמה מן המוטציות הנפוצות. למרות ההתקדמות, עדיין ארוכה הדרך ליצירת פרופילים גנטיים של גידולים סרטניים.

האם עלינו לקבוע את רצף הגנום המלא של תינוקות?

אפשר לאבחן מייד לאחר הלידה מחלות חמורות רבות, אך הן אינן נכללות ברשימת הבדיקות הגנטיות הנערכות ביילודים דרך קבע. מבחינה טכנולוגית אפשרית כיום קביעת רצף הגנום למיפוי הקוד הגנטי המלא של ילודים לשם איתור פגמים קיימים ופוטנציאליים, ועשויה להפוך בקרוב לבת-ביצוע גם מבחינה כלכלית. מדענים עורכים מחקרים במטרה לבחון אם שטף המידע הגנטי המתקבל באופן זה אכן יסייע להורים ולרופאים להעניק טיפול טוב יותר לתינוקות שאך נולדו – או רק יגביר את החרדה, המורכבות והעלויות של הטיפול הרפואי ביילודים.

ריצוף רחב היקף של DNA – תחילת העידן הגנומי?

בשיטה חדשנית שמוצגת בסרטון (עם תרגום לעברית) מקודדים במקביל הרבה גדילי DNA קצרים, ואפשר לעבד מידע רב בזמן קצר. את המידע מכל הגדילים הקצרים מחברים, ומקבלים תמונה מלאה של ה-DNA.

בקרוב: מפה גנטית אישית ב-1,000 דולר

כבר היום אנחנו יכולים לקבל מפה מדויקת של עשרות אלפי הגנים שמרכיבים את הרצף הגנטי האישי שלנו. עכשיו צריך להתמודד עם בעיות אחרות הנגזרות מהמהפכה הגנטית: מה משמעות המידע הרב המתקבל בבדיקה, מי יהיה זכאי לקבל גישה אליו, ולא פחות חשוב – כיצד להגן על פרטיות המידע הרגיש הזה, שהוא האינטימי ביותר שיש לכל אחד מאיתנו?

להתאים את התרופה המתאימה לכם ביותר

כמחצית מן החולים מקבלים מדי שנה תרופה העלולה להגיב עם אחד מהגנים שלהם ולגרום לתופעות לוואי חמורות. בדיקות גנטיות לא יקרות, הזמינות כיום רק בבתי חולים מעטים, עשויות למנוע את הבעיות האלה, שקצתן מסכנות חיים. ועם זאת, היעדר כיסוי של חברות ביטוח ומבוכת רופאים באשר לשאלה איך ומתי יש לשנות מרשם מעכבים שימוש נרחב בבדיקות החדשות.

רפואת הספילרים: כבר היום אפשר לחזות כמעט כל מחלה קשה

הגנטיקה מתקדמת בצעדי ענק למציאות שבה אפשר לחזות כמעט כל בעיה רפואית. אבל הידיעה על גן הרסני או מחלה תורשתית יכולה גם להרוס חיים, וישנם כאלה שמעדיפים לא לקרוס תחת עודף המידע. הרופאים נותרו עם הדילמה: מתי חייבים לספר, ומתי אפשר לחסוך מהחולים את הבשורה המרה.

אתיקה בגנטיקה

מיפוי הגנום האנושי העמיד את העולם על ספו של עידן חדש, שבו אפשר ל"תקן" פגמים גנטיים, לרפא מחלות שעד כה הגורם להן לא היה ברור או למנוע אותן, וכן להעלות את תוחלת החיים ואת איכותם. אולם פריצות הדרך המדעיות האלה מעלות על סדר היום סוגיות ודילמות מורכבות בתחום האתי, החברתי, הפילוסופי והדתי.

הבדיקה שתאפשר תכנון היריון ותבטיח תינוק בריא

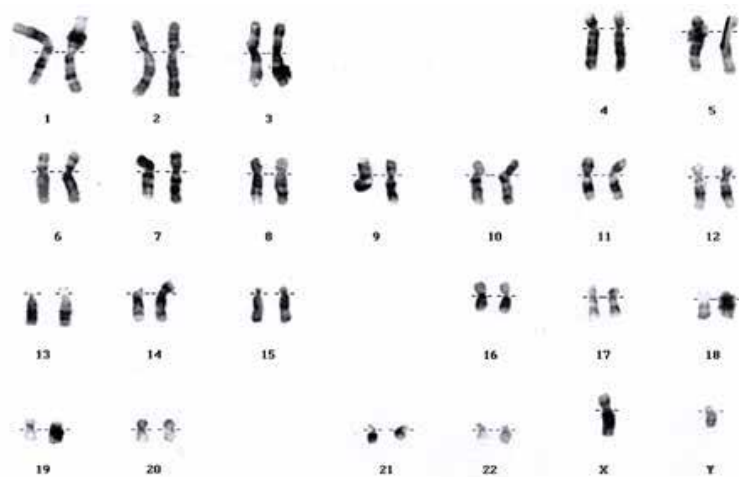
אחד האתגרים העומד לפתחנו בשימוש קליני בטכנולוגיית ריצוף האקסום החדשה הינו מציאת אותם שינויים בעלי חשיבות, גורמי המחלה, אלה שחשובים לבני הזוג לפני תכנון היריון ואלו שיימנעו את ההישנות של המחלה במשפחה – ולא שינויים אחרים, חסרי משמעות.

הפרדוקס שברפואה מותאמת אישית

הניסיונות הראשונים להתאים טיפול במחלה מסוימת לחולים מסוימים על פי ה-DNA שלהם, נחלו הצלחה חלקית והעלו ספקות לגבי הרחבת השימוש בגישה הזאת.

בשאלות 1-6 בחרו תשובה אחת נכונה

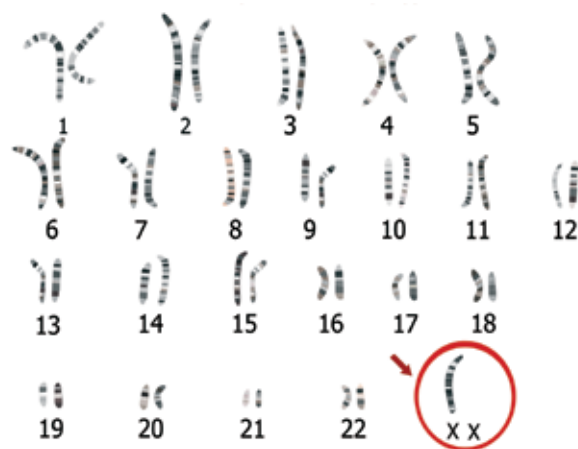
1. איזה משפט נכון לגבי גנום האדם?
 - א. כ-5% מהרצפים מקדדים חלבונים
 - ב. רצף הבסיסים בגנום זהה בתאומים זהים בוגרים
 - ג. חלק מהרצפים שאינם מקדדים חלבונים הם רצפי בקרה המווסתים תעתוק גנים
 - ד. גנום האדם הוא סך כול הגנים האנושיים
2. איזה מהמרכיבים הבאים אינו מעורב בשיטת PCR?
 - א. דאוקסינוקלאוטידים
 - ב. DNA-פולימראז מחיידק אי קולי
 - ג. תחלים
 - ד. גדיל DNA המשמש כתבנית
3. איזה מהמשפטים הבאים אינו נכון לגבי שיטת PCR?
 - א. היא יכולה להגדיל את כמות ה-DNA במדגם
 - ב. יש לה יכולת לאבחן דלקת מעותק יחיד של גן
 - ג. היא יכולה לשכפל כל גן גם ללא הכרת הרצף שלו
 - ד. היא מחקה את תהליך השכפול הטבעי של DNA
4. ריצוף DNA שימושי ב:
 - א. זיהוי פלילי
 - ב. ביוטכנולוגיה
 - ג. אבחון מחלות
 - ד. כל התשובות נכונות
5. מולקולת גלאי מוגדרת כ:
 - א. אנזים שמפרק DNA זר
 - ב. מקטע DNA המכיל גן ידוע
 - ג. מקטע DNA הנחוץ להתחלת שכפול ה-DNA
 - ד. קטע קצר של DNA עם רצף ידוע שמתקשר לרצף משלים
6. מדוע בשיטת PCR משתמשים ב-DNA-פולימראז המופק מחיידקים תרמופיליים?
 - א. הוא נחוץ להפרדת שני גדילי ה-DNA
 - ב. הוא אינו יכול להוסיף נוקלאוטידים חדשים בטמפרטורה נמוכה
 - ג. כדי שיהיה עמיד בטמפרטורה גבוהה הדרושה להפרדת הגדילים
 - ד. קל להפיק אותו מחיידקים אלה
7. האם בדיקת קריטיפ תקינה מבטיחה שאין בתאי הנבדק ליקוי תורשתי? הסבירו.
8. בקריטיפ שלפניכם (איור ב-10) מתואר מצב שאחד מכרומוזומי 21 "נדבק" לכרומוזום 14. החוקר שראה את הקריטיפ, ידע שהאדם לוקה בתסמונת דאון.



איור ב-10: קריוטיפ של אדם שבו "נדבק" כרומוזום 21 לכרומוזום 14

- א. כיצד הגיע החוקר למסקנה הזאת?
 ב. כיצד, לדעתכם, ייראה קריוטיפ של אדם שאינו לוקה בתסמונת דאון, אך גם אצלו אחד מכרומוזומי 21 "נדבק" לכרומוזום 14?

9. התבוננו בקריוטיפ שלפניכם (איור ב-11) וענו על השאלות האלה:



איור ב-11: קריוטיפ של אדם עם פגם כרומוזומלי

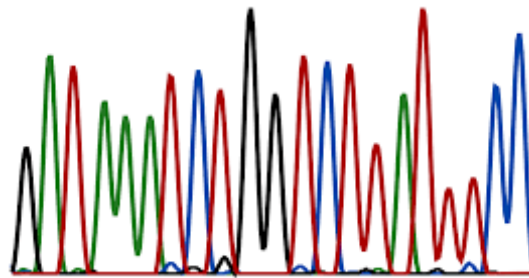
- א. מה הוא הפגם בקריוטיפ?
 ב. ציינו את שמה של התסמונת שממנה סובל האדם ותארו את מאפייני התסמונת.
 ג. האם האדם בעל הקריוטיפ הזה הוא זכר או נקבה?
10. מדוע לא מפיקים DNA לאבחון מחלות גנטיות מתאי דם אדומים?
11. התבוננו באיור ב-8 (עמ' 69). מהו הרצף של המוטציה שנמצא ב-DNA של הנבדק? הסבירו כיצד קבעתם זאת.

12. באיור ב-12 מתואר תרשים שהתקבל ממכשיר לריצוף אוטומטי של קטע DNA. 4 צבעים שונים מסמנים את ארבעת הבסיסים:

- א. אדום - T
- ב. ירוק - A
- ג. שחור - G
- ד. כחול - C

התבוננו באיור והשיבו על השאלות האלה:

- א. מהו רצף הבסיסים בקטע ה-DNA (משמאל לימין), כפי שנקרא על ידי המכשיר האוטומטי?
- ב. באיזו שיטה נקבע הרצף הזה?
- ג. מהו העיקרון הבסיסי שעליו מבוססת שיטת ריצוף זאת?
- ד. אילו פיתוחים טכנולוגיים אפשרו להגיע לשיטה הזאת?
- ה. כיצד אפשר לאבחן מחלה גנטית בעזרת שיטה זאת?



איור ב-12: תרשים של רצף DNA שהתקבל ממכשיר לריצוף אוטומטי

13. טכניקת ההפריה החוץ-גופית משמשת בין היתר לבחירת עוברים. מוחזר לרחם רק עובר שנמצא בריא. טכנולוגיה לאבחון עוברים בריאים בטרם השרשתם ברחם מאפשרת לזוגות שנושאים מחלות גנטיות להביא ילד בריא לעולם. האבחון עשוי אמנם לעזור לאלפי זוגות בישראל מדי שנה, אך הוא כרוך גם בסוגיות אתיות מורכבות, בהן האפשרות לבחירת מין היילוד. האם יש לאפשר להורים להשתמש בטכניקה של הפריה חוץ גופית ובדיקה גנטית טרום השרשתית ולבחור את מין העובר? ציינו נימוקים בעד ונגד. היעזרו בתשובתכם בקישורים: [בחירת מין היילוד](#); [חשיפה: שלמו 100 אלף שקל, ובחרו את מין היילוד](#); וקישורים נוספים מתאימים שתמצאו.

14. בעזרת ריצוף אקסומי או גנומי אפשר היום לדעת דברים רבים, כגון: באילו מחלות עתיד אותו אדם לחלות? לאילו מחלות הוא רגיש יותר מאנשים אחרים באוכלוסייה? כתבו נימוקים בעד ונגד עריכת בדיקה של ריצוף ה-DNA לאיתור מחלות גנטיות. היעזרו בתשובתכם בקישור, [בקרוב: מפה גנטית אישית ב-1,000 דולר](#) או בכל קישור מתאים שתמצאו.

15. הסבירו כיצד מאתרים גנים הגורמים למחלות או גנים שמצביעים על סיכוי להתפתחות מחלה.

16. אם הרופא יודע על קיומה של בדיקה גנטית ויודע גם את תוצאותיה, האם בכל מקרה הוא חייב למסור את המידע הזה למטופל שלו? כתבו נימוקים בעד ונגד.

17. יש טוענים שחובה על אדם לידע את אשתו לעתיד, חברת הביטוח שלו, ומקום העבודה שלו אם יש לו גנים הגורמים למחלות. כתבו נימוקים בעד ונגד. היעזרו בתשובתכם בקישור [אתיקה בגנטיקה](#) או כל קישור מתאים שתמצאו.

זיהוי גנטי

יישום נוסף המבוסס על השוואת הקיימת אצל פרטים שונים ברצף הבסיסים במולקולות ה-DNA שלהם, הוא הזיהוי הגנטי. לאפיון ה-DNA של כל פרט משתמשים בסמנים גנטיים. סמן גנטי הוא רצף ב-DNA הניתן לזיהוי ייחודי כמו אלל של גן או תוספת לכרומוזום. מקור הסמנים הגנטיים הייחודיים הוא במוטציות. הגנום של כל פרט נמצא במצב דינמי, ובמהלך האבולוציה חלים בו שינויים בגלל מוטציות המתרחשות במולקולת ה-DNA. בבדיקות שנערכו באזורי גנום שונים של בני אדם נמצא ש-99.5% מהגנום של כל תושבי העולם זהה; השוואת קיימת רק בכחצי אחוז מהגנום. כדי לאפיין פרט, נחוץ מידע על סמנים גנטיים הייחודיים ל-DNA שלו.

ה-DNA אינו אחיד לכל אורכו ברגישותו למוטציות. יש ב-DNA אזורים "שמורים", שבהם רצף הבסיסים מגלה אחדות רבה באוכלוסייה. האזורים האלה אחראים לתכונות החיוניות של החיים; שינויים באזורים האלה עלולים לבוא לידי ביטוי במחלות תורשתיות. לעומתם, יש ב-DNA אזורים שמצטיינים בשונות רבה בקרב האוכלוסייה, והם נקראים אזורים פולימורפיים (רב-צורניים). רוב השונות נמצאת באזורי ה-DNA אשר אינם מקודדים לחלבון. לאזורי ה-DNA הפולימורפיים אין כל תפקיד ידוע והם אינם משפיעים על התכונות התורשתיות, או שהתכונות שהם מכתיבים באות לידי ביטוי שונה באוכלוסייה. למשל: סוגי הדם השונים בבני אדם (A, B, O). לכל פרט יש שוני אחר, ולכן רצף הבסיסים של ה-DNA שלו יהיה שונה מן ה-DNA של כל פרט אחר באוכלוסייה. הואיל ולכל פרט יש DNA ייחודי לו, ה-DNA יכול לשמש לזיהוי ולאבחנה ודאיים בין פרטים שונים. הסיכוי שלשני אנשים יהיה רצף בסיסים זהה ב-DNA לכל אורכו הוא אחד לעשרה מיליון. השוואת הזאת בקרב האוכלוסייה משמשת כלי לזיהוי פרטים וקרובי משפחה בבני אדם ובאורגניזמים אחרים. אזורים פולימורפיים נמצאים הן ב-DNA הגרעיני והן ב-DNA המיטוכונדריוני (ראו הסבר בעמ' 87).

חשיבות הזיהוי הגנטי

בנובמבר 1987 היה האנס הסדרתי, טומי לי אנדרוס מבריטניה האדם הראשון שהורשע על סמך בדיקות DNA. זיהוי האנס על פי ה-DNA שלו התאפשר הודות לפיתוח שיטה שמאפשרת לבנות פרופיל גנטי ייחודי לכל אדם. מאז שפותחה השיטה, משתמשים בארצות רבות בפרופיל הגנטי כדי לבדוק התאמה בין סימנים שנמצאו במקום הפשע (שערות, זרע, כתמי דם) לבין ה-DNA של חשודים. הצורך בזיהוי גנטי מדויק של פושעים תרם רבות לפיתוח שיטות לאיתור ההבדלים ב-DNA של אנשים שונים.

הזיהוי הגנטי המדויק חשוב גם לקביעת הורות בבני אדם. בבדיקת אבהות, למשל, בודקים את האם ואת הצאצא, ובמקביל בודקים את הגבר שאמור להיות אבי הילד, ומשווים אזורים פולימורפיים ב-DNA הגרעיני של כל הנבדקים. כדי לקבוע קרבה אמהית, משווים את רצף הבקרה של ה-DNA המיטוכונדריוני של הנבדק (ראו עמ' 87) עם רצף ה-DNA של האנשים שיש להם מקור אמהי משותף (אם, סבתא, אחים, ילדים).

בדיקת DNA מסייעת גם לזיהוי גופות שאי אפשר לזהותן באמצעים אחרים. שרידי גופות, ואפילו פיסה קטנה של רקמה, מאפשרים כיום זיהוי מוחלט של האדם. לשם כך, בודקים DNA מהגופה של האלמוני, ובמקביל בודקים אנשים שאמורים להיות קרובי משפחה שלו מדרגה ראשונה (הורים, אחים או צאצאים). בבדיקה, לוקחים אזורים פולימורפיים מתוך ה-DNA הגרעיני של האלמוני ומשווים אותם עם אזורים אלה אצל מי שנחשבים בני משפחה שלו.

כדי לזהות פושעים, עושים בדיקת התאמה בין ה-DNA שמוצאים בזירת הפשע – בשערות, בזרע או בכתמי דם – לבין ה-DNA של חשודים שמופק מתאי דם לבנים. הזיהוי הפלילי מתבצע על סמך השוואת אזורים פולימורפיים של ה-DNA הגרעיני. בבתי משפט קבילות כיום בבדיקות גנטיות רבות, המזהות קרבה משפחתית או מזהות חשודים בפשע, ויש בהן כדי לקבוע גורלות.

בדיקת ה-DNA מסייעת גם בחקר השונות בין בני אדם, אפיון ההבדלים בין אוכלוסיות שונות וחקר מוצאן. לשם כך, אוספים דוגמאות DNA מאוכלוסיות שונות ברחבי העולם, ובודקים את מאפייניה של כל אחת מן הדוגמאות בכמה נקודות ספציפיות ב-DNA. הבדיקות מאפשרות לקבוע את מידת הקרבה הגנטית בין האוכלוסיות השונות ולחקור את מוצאן.

הצורך לזהות את מוצאו של פרט מסוים קיים גם במקרים שמגדלי כלבים או סוסים למרוץ צריכים להציג מגילות יוחסין מהימנות; או כאשר בעלי עדרים שכנים של צאן או בקר רבים על בהמה תועה; וכן במקרים שיש חשד שבעל חיים מסוים הוא גנוב.

הזיהוי הגנטי חשוב גם למטרות טיפוח והשבחה של עופות ושל בקר לבשר ולחלב. גם מטפחי צמחים צריכים לפעמים לברר את מוצאו של פרט מסוים; היכולת לזהות את ההורים חשובה במיוחד בזני מכלוא, הנוצרים מהכלאה מכוונת של שני זנים במטרה ליצור את הקומבינציה הגנטית המיטבית לצמח. בדרך כלל זני מכלוא חזקים יותר ומניבים יותר יבול מאשר כל אחד מהוריהם. בחקלאות, יש צורך בזיהוי הגנטי גם לשם הגנה על זכויותיהם של מטפחים. חשיבות הנושא הולכת וגדלה, מאחר שהשוני בין זנים הולך ומצטמצם.

תעודת זהות גנטית

הגנטיקאי הבריטי אלק ג'פריז (Alec Jeffreys) פיתח בשנת 1984 שיטה לקביעת הפרופיל הגנטי של כל פרט – תעודת זהות גנטית – שמכונה גם טביעת האצבעות של ה-DNA. ג'פריז גילה סמנים גנטיים שהם מקטעים קצרים ב-DNA הגרעיני הבנויים מיחידות קצרות נשנות ועוקבות, Short Tandem Repeats - STR. מקטעים אלה נקראים גם **מיני-לופינים**, ואינם תורמים לתפקוד של הגנים.

היחידה הנשנית בכל מיני-לופיין חוזרת זו אחר זו פעמים מספר. מספר החזרות של רצף היחידה הנשנית שונה מאתר לאתר, והשוני הזה יוצר את הפולימורפיזם של האתרים. מיני-לופינים הם סמנים גנטיים טובים הודות למספרם הגדול בגנום והודות לשונות הרבה שלהם. השונות באוכלוסייה היא בגלל מספר החזרות של היחידות הנשנות. מקובל להשתמש היום ברצפים חוזרים בני ארבעה נוקלאוטידים כדוגמת הרצף ATGA החוזר שש פעמים במקטע זה.

TTCCATTTGGA**ATGAATGAATGAATGAATGAATGATGAGTTTCAA**

בני אדם נבדלים זה מזה במספר החזרות. כאשר רוצים לדייק בזיהוי הגנטי של פרט כלשהו, מכינים פרופיל גנטי מכמה אזורים פולימורפיים ב-DNA שלו. נדיר ביותר למצוא שני אנשים בעלי אותה תבנית DNA בארבעה אזורים שונים, אלא אם מדובר בתאומים זהים. אם בודקים שישה אזורים מתוך DNA של אדם מסוים, מקבלים פרופיל גנטי ייחודי לאותו אדם בדיוק כמו שטביעת האצבעות שלו ייחודית רק לו.

שלבים בהכנת הפרופיל הגנטי

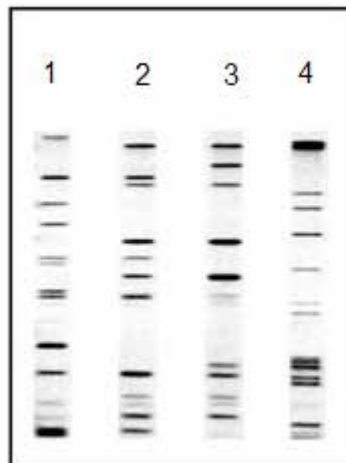
1. ממצים ומבודדים DNA מגרעיני תאים המכילים DNA, כמו תאי עור, תאי דם לבנים או שערות.
2. חותכים את ה-DNA באזורים מסוימים בעזרת אנזימי הגבלה, ומקבלים מקטעים דו-גדיליים באורכים שונים (ראו עמ' 97).
3. מרבים את מקטעי ה-DNA בשיטת PCR (ראו עמ' 65).

4. מפרידים את המקטעים לפי אורכם על ידי אלקטרופורזה בג'ל (ראו עמ' 82).

5. מזהים את המקטעים המכילים מיני-לוקיינים בעזרת גלאים מתאימים (ראו עמ' 83).

6. חושפים את המקטעים עם המיני-לוקיינים בתדפיס הנקרא אוטורדיוגרם. כל מקטע שנקשר אליו גלאי רדיואקטיבי נראה כפס שחור בתדפיס.

לכל אורגניזם יש דגם ייחודי של אוטורדיוגרם. הדגם הייחודי של הפסים השחורים, דומה לברקוד. אם משוויים את דגמי הפסים של פרטים שונים, אפשר לראות שחלק מדגם הפסים זהה, אך יש פסים שהם ייחודיים ל-DNA של כל פרט (איור ב-13).



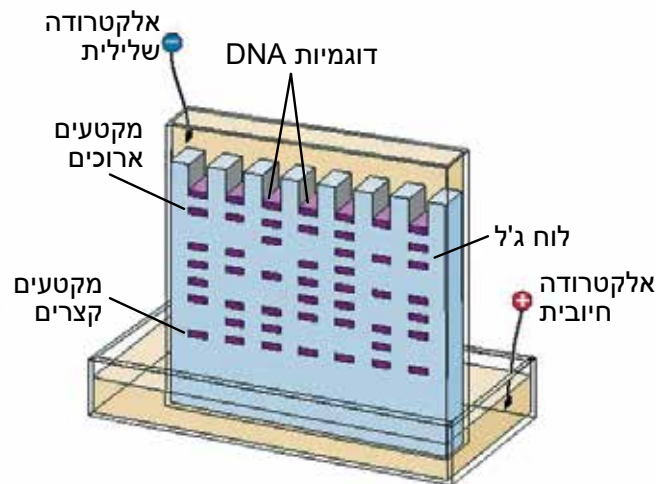
איור ב-13: תדפיס אוטורדיוגרם לזיהוי גנטי של 4 פרטים

הפרדת מקטעי DNA על ידי אלקטרופורזה בג'ל

כאשר צריך לבדוד מקטעי DNA לאחר חיתוךם, או לבדוד מולקולת DNA מתוך תערובת, הדרך המקובלת ביותר היא להפריד את המולקולות בג'ל לאורך שדה חשמלי בשיטה שנקראת **אלקטרופורזה בג'ל** (איור ב-14).

האלקטרופורזה מפרידה בין מקטעי DNA בשדה חשמלי הודות לשוני בגודלם. ליד הקוטב השלילי בקצה לוח דק של ג'ל פוליאקרילאמיד (או של אגרוז) שמים תערובת של מקטעי DNA ומעבירים דרך הלוח זרם חשמלי. ה-DNA טעון במטען חשמלי שלילי. כתוצאה מכך, מקטעי ה-DNA נודדים לאורך לוח הג'ל אל הקוטב החיובי. מהירות התנועה של מקטעי ה-DNA תלויה באורכם; ככל שהמקטע קצר יותר, תנועתו בג'ל מהירה יותר. המקטעים הקצרים נעים מהר, ולמרחק רב יותר מהמקטעים הארוכים. כל מקטע נע לפי גודלו למרחק אחר, וכך נוצרת הפרדה בין המקטעים.

בגמר תהליך ההפרדה יש בג'ל מעין פסים, וכל פס הוא אוסף של מקטעי DNA בעלי אורך מסוים. ואולם, מולקולות ה-DNA אינן נראות לעין, וכדי להבחין בדגם הפסים שהתקבל באלקטרופורזה מעבירים את הג'ל לתמיסה של חומר הצבע אתידיום ברומיד. מולקולות הצבע חודרות לתוך מולקולות ה-DNA, נקשרות בין הבסיסים ומצטברות בהן. את הג'ל הצבוע מניחים על רקע כהה וחושפים אותו לקרינה על-סגולה. אתידיום ברומיד זוהר בחשיפה לקרינה על-סגולה. הג'ל זוהר, ומתקבל דגם של פסים זוהרים. כל פס מייצג מולקולות DNA באורך מסוים.



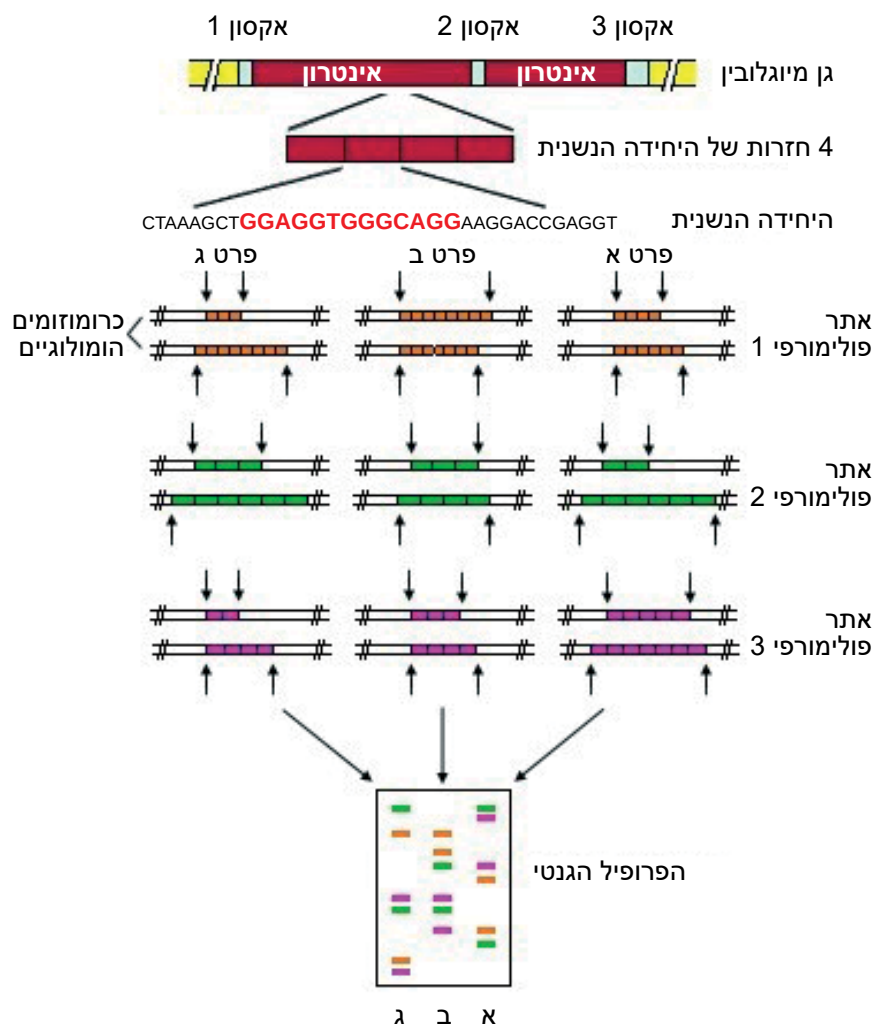
איור ב-14: הפרדת מקטעי DNA בעזרת אלקטרופורזה בג'ל

הגלאי שמאתר לוויינים זעירים ב-DNA

כאשר חותכים DNA בעזרת אנזים הגבלה אחד (ראו עמ' 97), מתקבלים מאות אלפי מקטעים או אף מיליוני מקטעים. כדי לאתר מביניהם רק את המקטעים המכילים מיני-לוויינים, נעזרים בגלאי: מולקולה מסומנת בסימון רדיואקטיבי או פלואורסצנטי, המשמשת לאיתור מולקולה אחרת. הגלאי משמש לגילוי רצפים משלימים. קטעי ה-DNA שהופרדו בשיטת האלקטרופורזה בג'ל הם דו-גדיליים. הפרדה של קשרי המימן שבקטעים האלה תהפוך אותם לקטעים חד-גדיליים. אם מוסיפים לקטעים החד-גדיליים קטעי DNA חד-גדילי עם רצפים משלימים המסומנים בחומר רדיואקטיבי או פלואורסצנטי, יתקבל DNA דו-גדילי מסומן. יוצרים גלאי שרצף הבסיסים שלו זהה לרצף הבסיסים במיני-לוויינים המבוקשים. מולקולות הגלאי מתקשרות רק למקטעים המכילים מיני-לוויינים. גלאי שמקורו במיני-לוויין יוצר דגמי פסים, והם ייחודיים לכל פרט.

בגן המקודד את החלבון מיוגלובין באדם יש מיני-לוויין בעל יחידה נשנית של 33 בסיסים. מספר החזרות של היחידה הנשנית שונה מאוד מאדם לאדם. הרצף הזה של היחידה הנשנית מזהה אתרים רבים בכרומוזומים של כל היונקים שנבדקו, והוא גלאי מקובל מאוד בשימוש לצורך זיהוי משפטי. באיור ב-15 מתואר השימוש בגלאי הלקוח מן הגן למיוגלובין כדי ליצור פרופיל גנטי של שלושה פרטים.

באינטרון הראשון של הגן יש 4 חזרות של רצף היחידה הנשנית בת 33 בסיסים. ברצף הזה יש רצף ליבה בן 13 בסיסים (האותיות האדומות). רצף ליבה כזה מופיע ב-3 אתרים פולימורפיים, המשמשים לחשיפת השונות בין הפרטים. מולקולות גלאי רדיואקטיביות עם רצף של 33 הבסיסים של היחידה הנשנית מגלות וחושפות את האזורים הפולימורפיים המבוקשים. בסכמה של דגם הפסים של כל פרט נראים 6 פסים. מכל זוג כרומוזומים מתקבלים שני פסים. פס אחד מקורו באב ופס אחר מקורו באם.

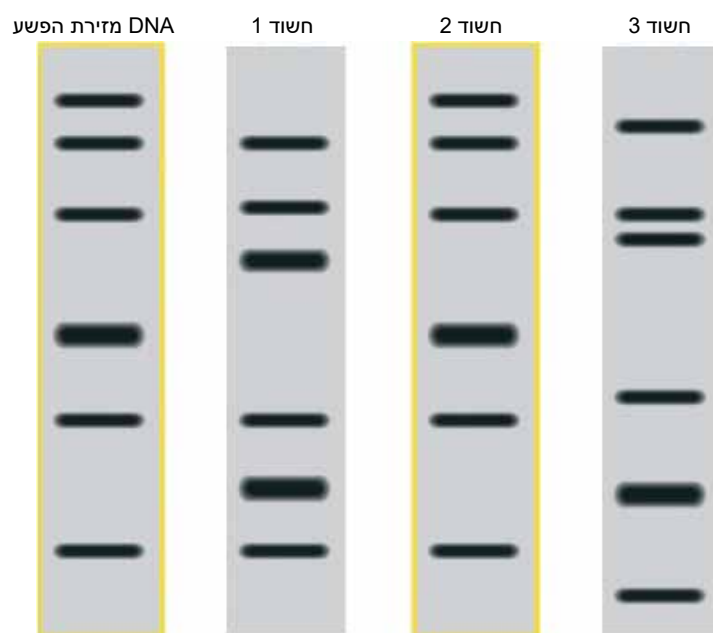


איור ב-15: קביעת פרופיל גנטי של שלושה פרטים בעזרת מיני-לוויין מן הגן מיוגלובין

DNA בזירת הפשע

הפקת ה-DNA מתבצעת בזירת הפשע כמעט בכל מקרה שיש מגע בין תוקף למותקף. ברוב המקרים, התוקף משאיר חומר ביולוגי כלשהו – שערות, רוק, או תאי עור בודדים. דגימות קטנות ביותר, שאינן נראות לעין, מאפשרות להפיק פרופיל גנטי של התוקף. משתמשים בשיטת תגובת השרשרת (PCR), המכפילה כמויות זעירות של DNA אלפי מונים בזמן קצר, כדי להגיע לכמות DNA שתספיק לביצוע הבדיקות (עמ' 65). כדי לשלול אפשרות שהשרידים שייכים לקורבן, מופק במקביל גם פרופיל גנטי מדגימת הדם של הקורבן.

כשנעצר חשוד במעשה, משווים את הפרופיל הגנטי שלו עם הפרופיל שהופק מחומר ביולוגי של התוקף שנמצא בזירת הפשע. התאמה בין שני הפרופילים מלמדת על ודאות כמעט מוחלטת שהעצור הוא התוקף. ממצאי הבדיקה הגנטית משמשים ראיה קבילה בבתי המשפט. באיור ב-16 מודגם הפרופיל הגנטי של שלושה חשודים ושל DNA מזירת הפשע. לפי דגם הפסים אפשר להוכיח שחשוד 2 ביצע את הפשע.



איור ב-16: השוואת DNA של שלושה חשודים ל-DNA שהופק בזירת הפשע

מאגר דגימות ה-DNA של משטרת ישראל

במשטרת ישראל מנוהל מאגר של דגימות DNA שנלקחו מחשודים, נאשמים ומורשעים במעשי עבירה או שנמצאו בזירת פשע. על פי חוק סדר הדין הפלילי שתוקן בשנת 2005, המשטרה רשאית ליטול מחשודים, נאשמים ומורשעים דגימות ביולוגיות (דגימת שיער, דגימת תאים מחלקה הפנימי של הלחי ודגימת דם מזערית), לאחסן אותם ולנהל מאגר של דגימות לשם זיהוי חשודים והשוואה עם ממצאים מזירות פשע.

כך פענחו חוקרי המשטרה את הרצח של עורכת הדין ענת פלינר

עורכת הדין ענת פלינר, בת 42 במותה, נדקרה למוות על סף דלת ביתה ברמת השרון באפריל 2006. פלינר פתחה את הדלת והופתעה על ידי אלמוני שדקר אותה בבטנה. מד"א פינה אותה לבית חולים, ושם מתה מפצעים.

הרצח המסתורי של עורכת הדין ענת פלינר לא היה מגיע לעולם לכדי פענוח אלמלא שכח התוקף את הנדן שבו נשא את הסכין שלו. למעשה השאיר הרוצח לשוטרים דגימת DNA שלו. בליל הרצח הגיעו חוקרי הזיהוי הפלילי אל זירת הרצח – ביתה של עורכת הדין. הנדן שנמצא בזירת הרצח נשלח לבדיקת מעבדה לצורך איסוף ראיות. החוקרים הצליחו להפיק מהנדן דגימת DNA.

כעבור שנתיים נעצר נער בזמן נסיעה על גבי אופנוע גנוב. היה זה מעצרו השלישי של הנער לאחר ביצוע עבירות שונות. במסגרת מבצע לאיסוף דגימות DNA מאסירים שהורשעו, נלקחה ממנו דגימה שהתאימה לדגימה במאגר של המשטרה. תחילה הכחיש הנער את החשדות המיוחסים לו, ולאחר מספר שעות נשבר וסיפר לחוקרים: "רציתי להשיג כסף, ראיתי בית יפה והחלטתי לפרוץ". הנער נתקל בהתנגדות עורכת הדין ודקר אותה פעמיים בבטנה.

הגנה על מידע גנטי

האגודה לזכויות האזרח רואה בהקמת מאגר מידע גנטי מקיף, שאינו מסתפק בדגימת חשודים בעברות חמורות, מהלך מנוגד לחוק יסוד כבוד האדם וחירותו, שאושר בכנסת בשנת 1992. לפי טענת האגודה, איסוף הדגימות פוגע בזכויות היסוד של הפרט. בתגובה טענה המשטרה שבמעבדה הביולוגית שלה בודקים רק אזורים מצומצמים ב-DNA, אותם אזורים שבאמצעותם אפשר להבחין בשוני בין אדם לאדם, ואין חשש שיתגלו פרטים אישיים של הנבדקים; הבדיקות של המשטרה אינן מנבאות דבר על סיכוייו של אדם לחלות במחלה מסוימת, ואין בהן מידע שעלול להזיק לנבדקים בתחומים אחרים שאינם רלוונטיים לסוגיה הפלילית.

ועדת החוקה של הכנסת דנה גם בסוגיית השמירה על מאגר הדגימות, לאחר שמפיקים מהן את הפרופיל הגנטי. המשטרה סבורה כי יש לשמור על הדגימות, כדי שיהיה אפשר להשתמש בהן אם תשתנה שיטת הניתוח של הדגימות. עם זאת מציינים במשטרה כי אם תהיה התנגדות נמרצת לשמירת הדגימות, הם יסכימו לוותר עליהן, אף על פי שידוע להם כי בארצות אחרות, כמו אנגליה וארצות הברית, הדגימות נשמרות גם לאחר שמפיקים מהן את הפרופיל הגנטי.

זיהוי קרבה משפחתית

השונות באזורים פולימורפיים בקרב האוכלוסייה משמשת גם כלי לזיהוי קרבה משפחתית בבני אדם ובאורגניזמים אחרים. אזורים פולימורפיים נמצאים הן ב-DNA הגרעיני והן ב-DNA המיטוכונדריאלי. מאחר שה-DNA הגרעיני מועבר מהורים לצאצאיהם, שיוך משפחתי מבוסס על ההתאמה בין ה-DNA של הנבדק לבין ה-DNA של האנשים שאמורים להיות הוריו או צאצאיו. כל אחד יורש אלל אחד של אתר פולימורפי מהאב ואלל שני מהאם. לכן, כשהתוצאה היא שחצי מהמאפיינים זהים, אפשר להבין שאותן דגימות DNA נלקחו מקרובי משפחה מדרגה ראשונה (כמו ילד וההורה שלו או שני אחים). אם רק רבע מהסמנים זהים, אפשר להבין כי הדגימות נלקחו מקרובי משפחה מדרגה שנייה (בני דודים, או סב ונכד או נכדתו).

בדוגמה באיור ב-17 מובא אוטורדיוגרם של פרופיל גנטי שנעשה לאם, לילד ולשני גברים הטוענים לאבהות. לפי השוואת הפסים אפשר לקבוע שאב 2 הוא האבא של הילד. מחצית מהפסים של אב 2 מופיעים אצל הילד לעומת פס אחד של אב 1.

אב 1 אב 2
ילד אם



איור ב-17: קביעת אבהות בעזרת פרופיל גנטי

זיהוי קרבה אמהית בעזרת המיטוכונדריה

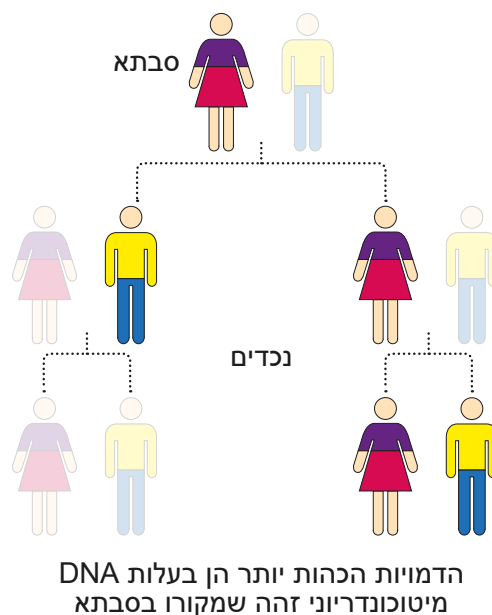
ב-1991 זוהו ברוסיה עצמותיו של הצאר האחרון, ניקולאי השני. הצאר ניקולאי ואשתו הוצאו להורג ב-1918 עם בנם, ארבע בנותיהם, שלושה משרתים ורופא ונטמנו בקבר אחד. בעזרת בדיקת ה-DNA של המיטוכונדריה שהפיקו משרידי תאי מוח העצם, הצליחו החוקרים לזהות את השרידים של הצאר ושל אשתו. זיהוי האישה נעשה על סמך השוואה עם ה-DNA של הנסיך פיליפ (הדוכס של אדינבורג), שהוא קרוב משפחה של הצארית; והפרופיל הגנטי של המיטוכונדריה של הצאר התברר כזהה לזה של אחיו.

בעזרת בדיקת ה-DNA המיטוכונדריוני זוהו גם אנשים שנרצחו בארצות שונות – בגואטמלה, בארגנטינה, בבוסניה ובקואטיה – ונקברו בקברי אחים. כך גם הצליחו לזהות חללים ממלחמת קוריאה וממלחמת וייטנאם.

מהו DNA מיטוכונדריוני? מתי משתמשים בו לצורך זיהוי?

ביצורים אאוקריוטים ה-DNA מצוי בגרעין התא, ונקרא DNA גנומי. נוסף על כך יש DNA מחוץ לגרעין התא, בתוך אברונים שנקראים מיטוכונדריה (וביחיד – מיטוכונדריון). ה-DNA המיטוכונדריוני עובר בתורשה רק מאם לצאצאיה. האב אינו תורם DNA מיטוכונדריוני לצאצאיו. בתהליך הפריית הביצית חודר תא הזרע מבעד לקרום העוטף את הביצית, והגרעין המכיל את ה-DNA הגרעיני הזכרי נכנס פנימה לתוך הביצית. הציטופלסמה של תא הזרע, שבה נמצאים המיטוכונדריה, נשארת בחוץ.

כאשר בודקים שיוך של אם לצאצאיה, השיטה המקובלת היא לבדוק את ה-DNA המיטוכונדריוני. הסיבה לכך היא, שכל מה שנמצא ב-DNA המיטוכונדריוני של הצאצאים הוא חומר גנטי שהגיע מן האם בלבד. עובדה זו תורמת לדיוק תוצאות הבדיקה. אם סדר הבסיסים ב-DNA המיטוכונדריוני של אישה זהה לזה של נבדק אחר, אפשר לומר שיש קרבה ביניהם (איור ב-18). לעומת זאת, אם מוצאים שוני בכמה מקומות ברצף, אפשר לשלול בוודאות קרבת משפחה. בדיקה זו מתאימה רק לאם וצאצאים או בין אחים, אך לא בין אב לצאצאיו.



איור ב-18: הורשה אמהית של ה-DNA המיטוכונדריוני

בשנת 1981 קבע הביוכימאי הבריטי אנדרסון (Anderson) את רצף הבסיסים ב-DNA המיטוכונדריוני של האדם. בשנת 1990 הראה פאלקה (Palca) כי באזור מסוים ב-DNA המיטוכונדריוני יש שונות גבוהה מאוד בין פרטים באוכלוסייה. האזור הזה הוא אזור בקרה של גן, ויש בו כ-800 בסיסים. מדענים חישבו כי שינוי ברצף של אזור הבקרה ב-DNA המיטוכונדריוני צפוי שיתרחש פעם ב-33 דורות או יותר, כלומר, פעם בכמה מאות שנים. האזור הפולימורפי הזה משמש היום לצורכי בדיקות משפטיות.

הבדיקות של DNA מיטוכונדריוני חשובות במיוחד במקרים שבהם ה-DNA הגרעיני אינו מספק תשובה מלאה, או שאינו מספק תשובה כלל, כמו במקרים האלה: (א) חומר הראיות הוא בן שנים רבות. ה-DNA המיטוכונדריוני עמיד לאורך זמן מאחר שהוא קצר פי 100,000 מן ה-DNA הגרעיני, וגם בזכות המבנה המעגלי שלו. זאת ועוד, בכל תא יש מאות עותקים של DNA מיטוכונדריוני, ולכן רב הסיכוי שגם לאחר שנים יימצא משהו ממנו, גם אם רוב ה-DNA של התא התפרק; (ב) הממצא מכיל כמות זעומה של חומר ביולוגי. גם במקרה כזה יש יתרון ל-DNA המיטוכונדריוני, כי בתא יש מאות ואף אלפים עותקי DNA מיטוכונדריוני, לעומת עותק אחד של DNA גרעיני; (ג) לנבדק אין קרובי משפחה מדרגה ראשונה – הורים, אחים או צאצאים – אך יש לו קרוב משפחה בעל מקור אמהי משותף (למשל, סבתא); (ד) המובהקות הסטטיסטית המתקבלת בבדיקת ה-DNA הגרעיני אינה מספקת זיהוי חד-משמעי.

חשיבות השכיחות של מוטציות באוכלוסייה

כאשר נעזרים בסמנים גנטיים כדי לזהות בעזרתם אדם, יש לזכור את ההיבט ההסתברותי; אם סמן מסוים רווח מאוד באוכלוסייה – יש הסתברות גבוהה למצאו בפרט שנדגם באקראי. הדבר נכון לגבי כל סמן, ולגבי מיני-לויינים בכלל זה. שכיחות אלל מסוים יכולה להיות גבוהה באוכלוסייה אחת, ונמוכה באוכלוסייה אחרת.

האם צילה לוין היא הבת של מרגלית עומייסי?

בקיץ 1997 התפרסם בעיתונים סיפורה של צילה לוין, אשר החליטה לחפש את הוריה הביולוגיים. צילה לוין סיפרה שבהיותה תינוקת היא נמסרה לאימוץ, ומאז אין היא יודעת מי הם הוריה הביולוגיים. כבר למחרת התקשרה מרגלית עומייסי וטענה שהיא האם הביולוגית של צילה לוין. לפי דבריה, לפני 50 שנה גנבו את הבת שלה, ומאז היא מחפשת אותה. על סמך התמונה שהתפרסמה בעיתון היא חושבת שצילה היא הבת שלה. כדי לבדוק את טענתה של מרגלית עומייסי, פנו השתיים למומחה לגנטיקה, וביקשו ממנו לבדוק אם יש קרבה משפחתית ביניהן. הקרבה המשפחתית בין מרגלית עומייסי לצילה לוין נבדקה בשתי מעבדות שונות, והתשובות שהתקבלו משתי המעבדות היו מנוגדות זו לזו.

במעבדת האוניברסיטה העברית ביצעו רק את הבדיקה של ה-DNA הגנומי. הם בדקו 15 אתרים פולימורפיים, שבדרך כלל אינם זהים אצל שני אנשים, ובכולם מצאו זהות בין עומייסי ללוין. הבודקים הסבירו לשתי הנשים כי "הסיכוי שלשני אנשים יהיה אותו פרופיל גנטי, כאשר אין ביניהם קרבה משפחתית, הוא אפסי."

בבדיקה של המכון לרפואה משפטית, לעומת זאת, לא נמצאה קרבה משפחתית בין עומייסי ללוין. הבודקים במכון טענו כי לא בדקו את האתרים שנבדקו במעבדת האוניברסיטה, אלא אתרים אחרים, ואולי זוהי הסיבה שתוצאות בדיקתם הובילו למסקנה אחרת. ואולם לדבריהם, הם בדקו את האתרים שמקובל לבדוק בכל המרכזים העולמיים שעוסקים ברפואה משפטית. זאת ועוד, במכון לרפואה משפטית ביצעו גם בדיקות DNA מיטוכונדריוני. ולבדיקה הזאת, לטענתם, חשיבות רבה במקרה של עומייסי ולוין, שכן לא היה בידי הבודקים חומר גנטי שמוצאו מן האב. לדבריהם, גם בבדיקת ה-DNA המיטוכונדריוני לא נמצאה התאמה בין עומייסי ללוין. בבדיקות נוספות שנערכו באוניברסיטה העברית, נמצאו סימנים ששללו באופן שאינו

משתמע לשתי פנים את האפשרות, שצילה היא בתה של מרגלית.



איור ב-19

כיצד תיתכן סתירה כזאת?

מוצאן של שתי הנשים מאוכלוסייה קטנה, שהיגרה והשתלבה באוכלוסייה אחרת, גדולה יותר. במעבדה שאישרה את הקשר המשפחתי בדקו סמנים ששכיחותם גבוהה באוכלוסיית המוצא הקטנה, וההתאמה בין הסמנים של שתי הנשים נבעה מעובדה זו, ולא מהקשר הישיר של אם ובת. מכאן, שלצורך עריכת בדיקות מעבדה גנטיות נדרש לעיתים לדעת גנטיקה של אוכלוסיות. במעבדות המשרתות את המערכת המשפטית נשמרים נתונים לגבי שכיחויות אללים באוכלוסיות רבות, ונתונים אלה מנוצלים בהתאם למקרה הנבדק.

מן הרשת

[רצח נועה אייל פוענח בזכות יריקה](#)

גבר בן 38 מירושלים, שגר אז לא הרחק מנועה אייל, הוא החשוד באונס וברצח של בת ה-17 שגופתה נמצאה ב-1998 ביער רמות. הוא נעצר על ידי ימ"ר ירושלים בזכות דגימת DNA.

[כך פענחו חוקרי המשטרה את הרצח של עוה"ד ענת פלינר](#)

פריצת דרך מדעית משנת 1984, נדן שנשכח בזירת הפשע בשנת 2006 ויוזמה של המשטרה משנת 2008 חברו יחד להפללתו של מי שרצח את עורכת הדין ענת פלינר בתום שנתיים של חקירה. במסגרת מבצע לאיסוף DNA מאסירים נלקחה דגימה גם מהנער שרצח את עורכת הדין. החוקרים השוו אותה עם ה-DNA שנלקח מנדן הסכין – והרצח פוענח.

[הסניגוריה הציבורית מתנגדת להרחבת מאגר ה-DNA המשטרה](#)

הסניגוריה מתנגדת להרחבת רשימת העבירות הפליליות שבהן רשאית המשטרה ליטול דגימת DNA מחשודים.

[זהירות: DNA עלול להפיל חפים מפשע](#)

מתברר ש-DNA, כמו ראיות אחרות המשמשות לזיהוי פלילי, עלול להטעות.

עדר בקר שנגנב זוהה בעזרת הצלבת נתוני DNA

בעזרת בדיקות DNA הוכחה קרבה משפחתית בין העגלים שנמצאו בדרום הארץ לבין הוריהם שנותרו בעדר ברמת הגולן.

שיטה לזיהוי גנטי הנהוגה בצבא ארצות הברית ובצה"ל עכשיו גם ברפת

זה זמן מה נעשה שימוש בסמנים גנטיים לזיהוי בני אדם לצרכים שונים, ובהם פענוח מקרים פליליים, קביעת אבהות וגם זיהוי אחרי אסונות ופיגועים. במחלקה לגנטיקה של מנהל המחקר החקלאי משתמשים בטכנולוגיה זוהי לזיהוי גנטי של פרים ופרות. הזיהוי הגנטי דרוש לזיהוי עגלים גנובים והחזרתם לבעליהם, וגם על מנת לאמת את השושלת המשפחתית של כל פרה ופרה על מנת לקבוע את ייחוסה המשפחתי.

טביעת אצבע של דג

במשך מאות שנים התבססו זיהוי המינים וסיווגם הטקסונומי על מאפיינים פיזיים כגון צורה, מבנה או ספירת רכיבים כמו עלי כותרת בפרח או קוצים בסנפירי דגים. בתחילת שנות האלפיים החלה להתפתח שיטה חדשה המבוססת על מידע גנטי. איך זה עובד וכיצד זה מסייע לזיהוי ולשימור מיני דגים בישראל?

המדור הגנטי לחיפוש קרובים

הוחלט להקים מאגר שירכו מידע גנטי של קורבנות שואה, ניצולים וצאצאיהם בני הדור השני והשלישי. התקווה היא שמאגר נתונים גנטי זה יאפשר בעתיד לקשר בין שרידים הנחשפים ברחבי אירופה, לסייע במציאת קרובי משפחה בין מספר רב של יתומים החיים כיום בישראל וארצות הברית, וכן לסייע לניצולים שמקום קבורת יקירם לא נודע.

שאלות

1. באיור ב-20 מתואר זוג כרומוזומים מספר 3 וה-DNA המיטוכונדריאלי שהופקו מתא עור של זכר ושל נקבה.



איור ב-20

בחרו בתשובה הנכונה: בתאי הגוף של צאצא שיוולד לזוג זה יהיה ההרכב המוצג באיור ב-21:

- א. 1
- ב. 2
- ג. 3
- ד. 4

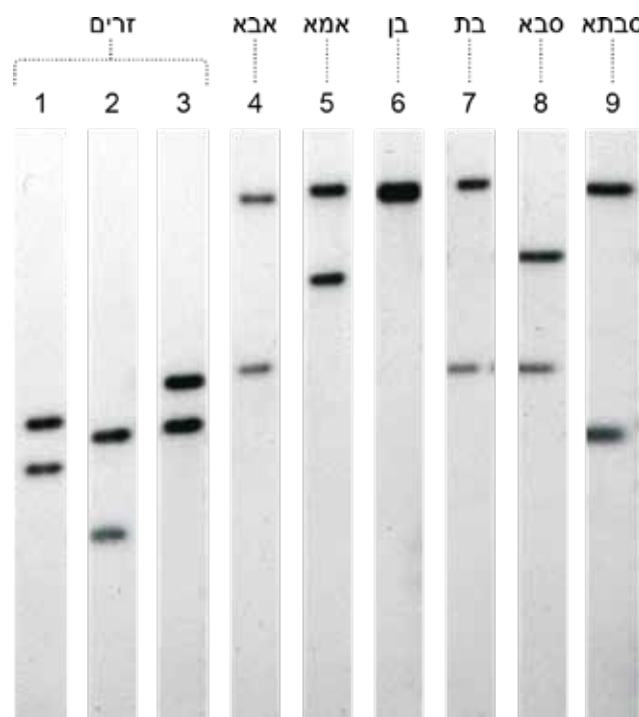


איור ב-21

2. כאשר מכינים פרופיל גנטי מזהים את המקטעים המכילים מיני-לוקיינים בעזרת גלאים מתאימים. הסבירו מה הם גלאים וכיצד הם מסייעים באיתור המיני-לוקיינים.

3. סבא וסבתא ממשפחת דנון הורישו את כל רכושם לצאצאיהם בעודם בחיים. שלושה אנשים זרים למשפחת דנון טענו שהם קרובי משפחה, וגם להם חלק בירושה. כדי לבדוק טענה זו פנו הסבא והסבתא למעבדה לבדיקות גנטיות כדי להכין פרופיל גנטי של המשפחה ושל שלושת הטוענים לקרבה משפחתית. חלק מדגם הפסים שהתקבל במעבדה מוצג באוטורדיוגרמה באיור ב-22.

- בעמודות 8 ו-9 נבדק ה-DNA של הסבא ושל הסבתא.
 - בעמודות 6 ו-7 נבדק ה-DNA של שני הנכדים – בן ובת.
 - בעמודות 4 ו-5 נבדק ה-DNA של האב והאם של האם.
 - בעמודות 1, 2 ו-3 נבדק ה-DNA של שלושה פרטים שטענו כי הם קרובי משפחה.
- שימו לב: לכל אחד מן הנבדקים יש שני פסים בעמודה שלו; אחד שקיבל מן האב ואחד מן האם. התבוננו בתמונת האוטורדיוגרמה של משפחת דנון וענו על השאלות.



איור ב-22: חלק מדגם הפסים שהתקבל בבדיקת DNA של בני משפחת דנון

- כמה אזורים פולימורפיים מוצגים באיור ב-22? הסבירו.
- הסבירו מדוע דגם הפסים של הסבא והסבתא אינו זהה.
- האם הסבא והסבתא הם ההורים של האבא או של האימא? הסבירו.
- האם הבן והבת הם נכדים של משפחת דנון? הסבירו.
- האם על פי בדיקה זו אחד מהזרים זכאי לחלק בירושה? הסבירו את תשובתכם.

4. התבוננו באיור ב-16 וענו על השאלות האלה:

א. מכמה אתרים של מיני-לוויינים נערכה הבדיקה? הסבירו.

ב. מדוע התקבלו 6 פסים בכל עמודה?

ג. מדוע כל פס נמצא בגובה שונה?

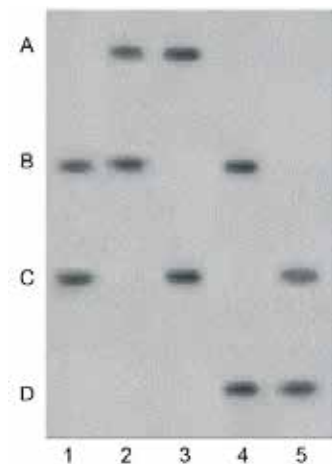
ד. מה מייצג כל פס באוטורדיוגרם?

ה. כיצד נקבע שחשוד 2 ביצע את הפשע?

5. במעבדה לזיהוי גנטי התבקשו לקבוע פרופיל גנטי של אם לפי הפרופיל הגנטי של האב ושל 4 ילדיהם. לרוע

המזל שכחו החוקרים לסמן את העמודה שבה נבדק ה-DNA של האב.

התבוננו באוטורדיוגרם שהתקבל (איור ב-23) והשיבו על השאלות האלה:



איור ב-23: קביעת פרופיל גנטי של האם

א. באיזו עמודה מתוך 5 העמודות נבדק ה-DNA של האב? הסבירו.

ב. בקביעת הפרופיל הגנטי נבדקו 4 אללים: A, B, C, D. אילו שני אללים יש לאם? הסבירו כיצד קבעתם זאת.

פרק ג: הנדסה גנטית

יש עזים שמייצרות חלב שמכיל אנזים אנושי, חיוני להצלת חיי אדם; ויש תותים שהחדירו לתוכם גן מתוך דג הסנדל, והגן הזה מגן עליהם מפני טמפרטורות קרות. התופעות האלה נשמעות כאילו הן ציטוטים מספרי מדע בדיוני, אלא שהן גילויים ממעבדות מחקר בארץ ובעולם. הודות לחידושים מהפכניים בתחומי הגנטיקה והביוטכנולוגיה ובאמצעות טכנולוגיה שנקראת הנדסה גנטית מצליחים המדענים לרתום לצרכינו תהליכים המתרחשים בטבע.

הנדסה גנטית היא תהליך של שינוי גנים ביצורים חיים באופן מלאכותי כדי לשנות תכונות באורגניזם. לאחר שהוכיחו שה-DNA הוא החומר התורשתי, שהקוד הגנטי הוא אוניברסלי וכך גם מנגנוני התעתוק והתרגום, היה ברור לחוקרים שאפשר להעביר גנים מאורגניזם לאורגניזם, ועל ידי כך לשנות תכונות של האורגניזם "מושתל הגנים" ואת התכונות של צאצאיו אחריו. ואולם, רק בשנות השבעים של המאה ה-20 פותחו שיטות שאפשרו ליישם את ההנדסה הגנטית.

ההנדסה הגנטית מאפשרת לבדד גן שמקודד תכונה רצויה, להוציא אותו מאורגניזם אחד ולהחדיר אותו אל תוך ה-DNA של אורגניזם אחר, ועל ידי כך ליצור אורגניזם מהונדס משופר. האורגניזם המהונדס נקרא יצור טרנסגני. מולקולות ה-DNA שנוצרות על ידי חיבור מלאכותי במבחנה נקראות "מולקולות DNA רקומביננטיות", משום שהן מהוות צירוף חדש, שלא היה קודם לכן. הטכנולוגיה של ההנדסה הגנטית נקראת אפוא טכנולוגיה של DNA רקומביננטי. אפשר ליצור DNA רקומביננטי ממקורות שונים: נגיפים, חיידקים, צמחים ובעלי חיים. למעשה, כל האורגניזמים בטבע מהווים מאגר ענק של תכונות תורשתיות, והיכולת ליצור DNA רקומביננטי ממקורות שונים פותחת את השער למגוון עצום של אפשרויות.

עד עידן ההנדסה הגנטית, השבחת צמחים ובעלי חיים נעשתה ברובה על ידי הכלאות. להנדסה הגנטית שני יתרונות בולטים על פני הדרכים הקלאסיות של השבחה:

מהירות – הנדסה גנטית הוא תהליך קצר בהרבה מתהליך ההשבחה המבוסס על הכלאות ועל הכלאות חוזרות הנחוצות כדי להעביר את התכונה הרצויה לזן שרוצים להשביח.

שחרור ממגבלות של קרבה אבולוציונית (שבירת מחסום המינים) – בהנדסה גנטית יכול החוקר לצרף גנים ממקורות רחוקים שהכלאה ביניהם אינה אפשרית.

תהליך ההנדסה הגנטית

תהליך ההנדסה הגנטית דומה בכל היצורים ומורכב מ-3 שלבים עיקריים:

א. בידוד הגן המבוקש – מפיקים את ה-DNA מן האורגניזם "התורם" ומבודדים מקטעים, שאחד מהם מכיל את הגן המבוקש, או שיוצרים את הגן מ-RNA-שליח.

ב. קישור הגן לנשא – מחברים את הגן המבודד לנשא (וקטור), בדרך כלל, לפלסמיד או לנגיף עם אתר בקרה האחראי לביטוי של הגן.

ג. החדרת הגן לאורגניזם – מחדירים את הנשא עם הגן המבוקש אל האורגניזם המקבל, ושם הגן הזר מתבטא בתכונה החדשה.

נדון בהנדסה הגנטית של הגן אינסולין כדוגמה לשלבים העיקריים בתהליך ההנדסה הגנטית ביצורים שונים.

הנדסה גנטית של הגן אינסולין בחיידק אי קולי

חוקרים גילו שאם נוציא גן של חלבון רצוי כלשהו ממולקולת ה-DNA שבה הוא מצוי ונעביר אותו לתוך ה-DNA של תא חיידק, יוכל תא החיידק לייצר את החלבון הרצוי. הוא יוכל גם לשכפל את הגן החדש שהוחדר אליו ולהעביר אותו לדורות הבאים. היישום הראשון של הממצא הזה היה ייצור של חלבונים נדירים רצויים (בדרך כלל תרופות), והוא נעשה בקנה מידה גדול על ידי שימוש בחיידקים. הפיכת החיידקים ל"בתי-חרושת" התגלתה כדבר קל, יחסית. מלכתחילה היו החיידקים מועמדים טבעיים לתפקיד הזה, כי החיידק הוא יצור חד-תאי פשוט יחסית, והוא מתרבה במהירות ונושא פלסמידים (ראו עמ' 95).

לקראת סוף שנות השבעים של המאה ה-20 החל ייצור התרופה הראשונה – אינסולין – בשיטות של הנדסה גנטית. חולי הסוכרת, שזקוקים להזרקה יומית של אינסולין לדמם, נעזרו עד אז באינסולין שהופק מבלוטת הבלבל של בקר; התהליך היה יקר, והכמויות שהופקו היו קטנות. גם השוני בין האינסולין של הבקר ובין זה של האדם גרם קשיים. חוקרים מחברת Genetech הצליחו להנדס את הגן בחיידק ולהפיק את התרופה לשימוש החולים.

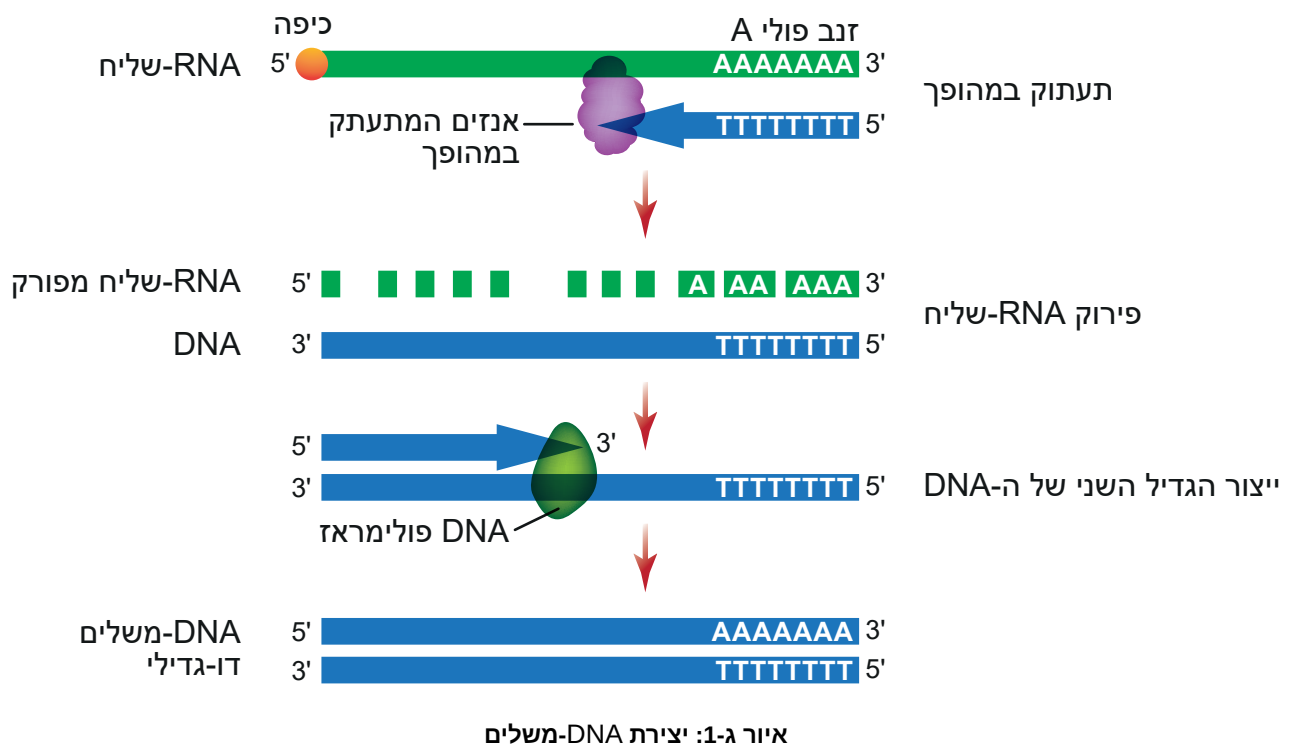
חשוב לזכור כי לחיידק עצמו אין כל צורך באינסולין; ולמרות זאת, אם מהנדסים את הגן כראוי, החיידק מייצר אותו. האפשרות שהמידע הצפון ב-DNA האנושי אכן ישמש לייצור חלבונים בחיידקים נובעת מהעובדה שתהליכי הגנטיקה המולקולרית הבסיסיים (כמו תעתוק ותרגום) דומים בעולם החי כולו: בחיידקים, בצמחים ובבעלי חיים, כולל האדם.

בידוד גן האינסולין

בתהליך ההנדסה הגנטית צריך תחילה לבודד את הגן שמעוניינים להעביר ליצור אחר. מפיקים את ה-DNA מן האורגניזם "התורם" ומבודדים מקטעים, שאחד מהם מכיל את הגן המבוקש. כאשר מפיקים גן מיצור אאוקריוטי ורוצים שהגן יתבטא בחיידקים, יוצרים את הגן מ-RNA-שליח. הגן המקודד לאינסולין באדם, כמו רוב הגנים ביצורים אאוקריוטיים, עובר בגרעין התא לאחר התעתוק תהליכי עיבוד ושחבור (ראו עמודים 27-29). היות שאנחנו מעוניינים שהגן יתבטא בחיידקים, שבהם אין תהליכים אלה מתבצעים, עלינו להכניס לחיידקים רק את קטעי הגן שעברו כבר תהליכי עיבוד ושחבור – קטעי ה-RNA-שליח.

יצירת DNA-משלים

ואולם, בהנדסה גנטית מעבירים מולקולת DNA שמשתלבת במולקולת DNA של האורגניזם המקבל. מולקולות RNA-שליח אינן משתלבות במולקולות DNA. תחילה, יש ליצור DNA שישקף נאמנה את מולקולות ה-RNA שרוצים לשלב. עם זאת, המידע התורשתי עובר בדרך כלל במסלול חד-כיווני: מן ה-DNA אל ה-RNA-שליח, וממנו לחלבון, ואילו אנו מבקשים לבצע העברת מידע בכיוון ההפוך: מ-RNA ל-DNA. מתברר, כי בטבע אכן קיימת אפשרות למעבר הפוך של מידע, והיא קיימת בקבוצת נגיפים שהגנום שלהם בנוי ממולקולות RNA. הנגיפים האלה, שנקראים רטרו-וירוסים, נושאים עמם אנזים ייחודי להם, והוא מסוגל לבצע פעולת תעתוק במהופך. האנזים הזה משתמש ב-RNA כתבנית ליצירת גדיל של DNA שמשלים אותו על פי עקרון זיווג הבסיסים, כלומר: האנזים מבצע פעולה הפוכה מן התעתוק הרגיל; בדרך כלל, התעתוק מבוצע מגדיל של DNA, המשמש כתבנית, לגדיל של RNA. לאנזים הזה קוראים "מתעתק במהופך" (רברס טרנסקריפטאז), וגילויו זיכה את החוקרים טמין (Temin) ובלטימור (Baltimore) בפרס נובל לרפואה לשנת 1975. התוצרים של התעתוק המהופך הם מולקולות כלאיים RNA-DNA. בהמשך התהליך, מסלקים מן המולקולות האלה את גדיל ה-RNA ששימש כתבנית, וגדיל ה-DNA שנשאר משמש כתבנית לייצור גדיל DNA-משלים, בדרך הרגילה להכפלתו של כל DNA. בסוף התהליך מתקבלת מולקולת DNA דו-גדילית שמקורה בתבנית של RNA-שליח (איור ג-1). ל-DNA כזה קוראים DNA-משלים (באנגלית: complementary DNA, ובקיצור cDNA).



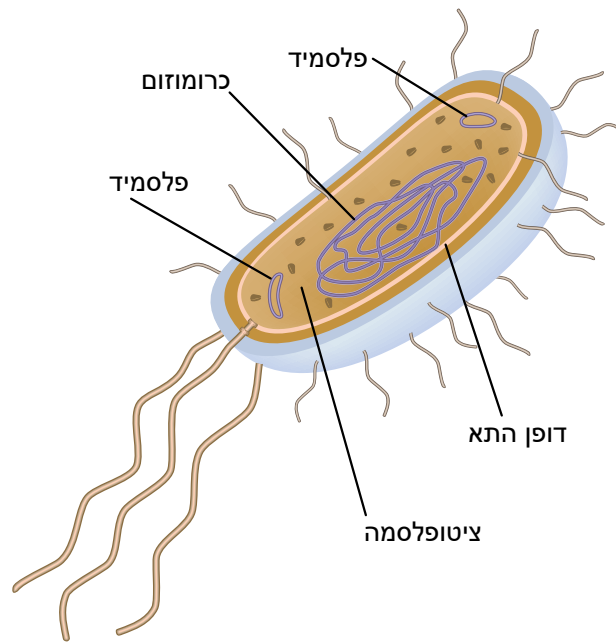
לצורך הפקת כמות גדולה של RNA-שליח השתמשו בתאים המייצרים אינסולין – תאי בטא של הבלבל. בודדו מהציטופלסמה של התאים האלה מולקולות RNA-שליח שמקודדות לאינסולין. בעזרת האנזים המתעתק במהופך יצרו במבחנה מולקולות DNA-משלים לפי התבנית של ה-RNA-שליח. ה-DNA המשלים הכיל את כל הרצפים שמתורגמים לאינסולין.

נשאים להחדרת הגן

שלב חיוני בתהליך ההנדסה הגנטית הוא החדרת הגן לאורגניזם שבו רוצים שיתבטא ויצירת עותקים רבים של הגן המהונדס, פעולה שנקראת **שיבוט**; שיבוט הוא תהליך שמשכפל רצפי DNA, תאים, רקמות ויצורים חיים, כך שמבחינה גנטית הם זהים לחלוטין למקור. המונח נגזר מהמילה "שבט", משום שבעזרתו אפשר ליצור "שבט" של אורגניזמים או תאים בעלי מאפיינים גנטיים זהים. אם ננסה להכניס לחיידקים את הגן המקודד לאינסולין כמות שהוא, הוא לא יעבור שכפול, לא יתבטא, וכנראה גם יפורק על ידי אנזימי החיידק. כדי לשבט גן מסוים יש לחבר אותו אל מולקולת DNA אחרת, מולקולה שיש לה יכולת שכפול עצמי. על ידי חיתוך והדבקה מחברים למולקולה כזאת את הגן, והיא משכפלת את הגן יחד עם השכפול שלה. למולקולת DNA בעלת יכולת שכפול, המסוגלת לשאת בתוכה מקטע של DNA זר, קוראים **נשא** (vector), והוא "כלי התחבורה" שבעזרתו עובר הגן הרצוי לתוך תא פונדקאי ומשתכפל בתוכו. יש שתי קבוצות של מולקולות DNA שמסוגלות לחדור לתא ולהתרבות בתוכו: האחת – פלסמידים; והאחרת – DNA נגיפי.

נשאים פלסמידיים

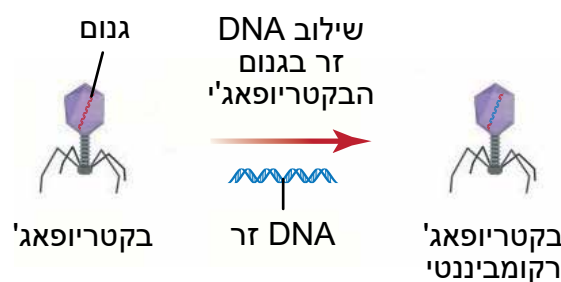
הנשאים הראשונים ששימשו לשיבוט מלאכותי של מקטעי DNA היו **פלסמידים**: מקטעים מעגליים של DNA הנמצאים בחיידקים, ויש להם יכולת חדירה ויכולת התרבות עצמית (איור ג-2). הפלסמידים מתרבים במהירות בתוך תא החיידק, ויכולים להיות אף מאות עותקים של פלסמיד מסוים בתוך תא חיידק בודד. התכונות האלה מאפשרות להצמיד לפלסמידים גנים זרים, ולהביא לידי שיבוט של הגנים הזרים בחיידקים.



איור ג-2: פלסמידים בחיידק

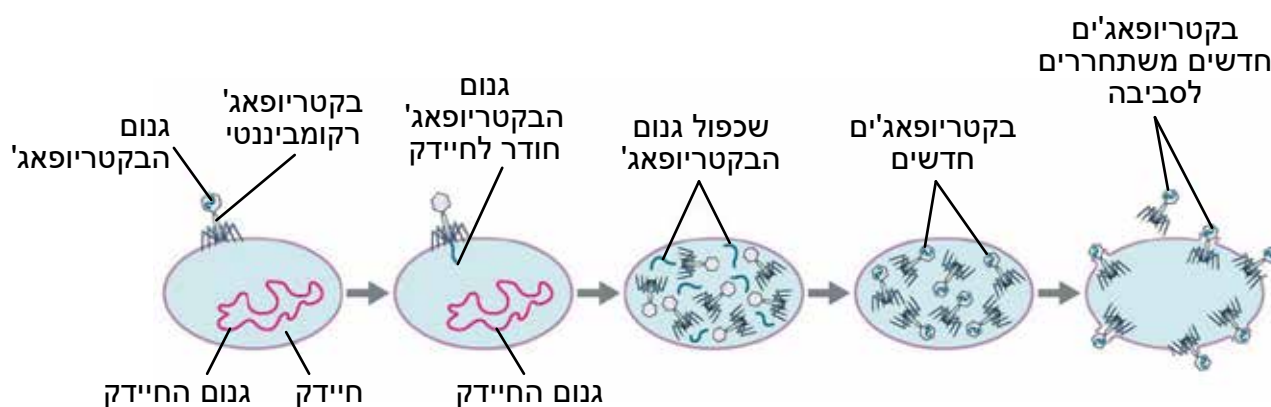
נשאים נגיפיים

במרוצת השנים הוכנסו לשימוש עוד נשאים, מלבד הפלסמידים. כל מולקולת DNA שמוכפלת באופן טבעי בתאי חיידקים יכולה לשמש נשא. חומצת הגרעין של נגיף היא דוגמה למולקולה כזאת. הנגיפים הם חלקיקים הבנויים ממולקולה של חומצת גרעין עטופה במעטה חלבוני. עם חדירת הנגיף לתוך התא, נחלצת מולקולת חומצת הגרעין מן המעטה החלבוני ומשכפלת את עצמה בתאים. כל עותק נעטף במעטה חלבוני ונעשה לנגיף חדש. הנגיפים החדשים יוצאים מן התא ומדביקים תאים אחרים, וחוזר חלילה. אצל נגיפים רבים חומצת הגרעין היא DNA, ומולקולת DNA כזאת יכולה לשמש נשא מכיוון שהיא יכולה להשתכפל באופן עצמאי בתוך התא המאכסן. בטבע קיימת קבוצה מיוחדת של נגיפים, בקטריופאג'ים, שתוקפים את תאי החיידקים (איור ג-3). כבר בתחילת השימוש בהנדסה הגנטית עמדו החוקרים על האפשרויות הגלומות בבקטריופאג'ים כנשאים פוטנציאליים. התברר שבעזרת אנזימי הגבלה שחותכים DNA והאנזים ליגאז שמחבר קטעי DNA זה לזה אפשר לשלב DNA ממקור זר בגנום של הבקטריופאג' וליצור בקטריופאג' רקומביננטי (איור ג-3).



איור ג-3: יצירת בקטריופאג' רקומביננטי

הבקטריופאג' הרקומביננטי תוקף את תא החיידק, מתרבה בתוכו, ובה בעת משכפל את המקטע הזר. הבקטריופאג'ים החדשים "מפוצצים" את מעטפת החיידק ומשתחררים אל הסביבה (איור ג-4). לאחר כמה מחזורי התרבות אפשר לאסוף את הבקטריופאג'ים ולהפיק מהם את מקטעי ה-DNA המשובטים.

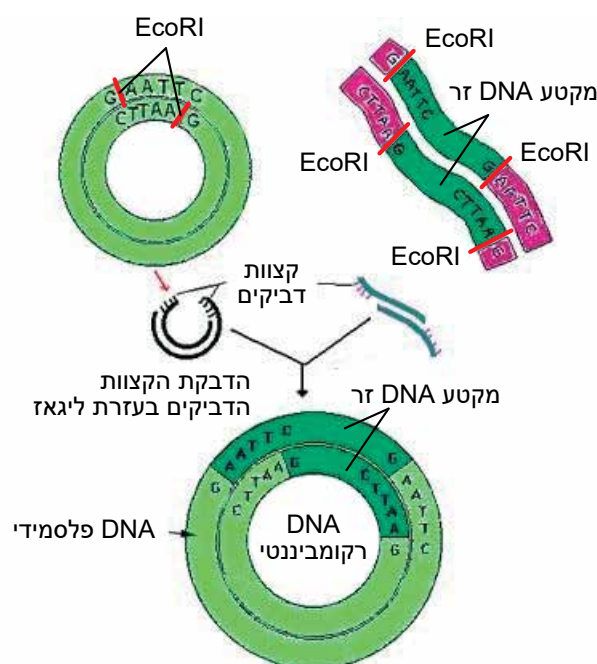


קישור הגן לנשא

יכולת ההכלאה של הקצוות הדביקים עם כל DNA בעל רצף משלים היא שמאפשרת את הטכנולוגיה של ההנדסה הגנטית. אם שתי מולקולות שונות של DNA, ממקורות שונים, נחתכות בעזרת אותו אנזים הגבלה, ייווצרו בשני המקרים מקטעים בעלי אותם קצוות דביקים. הקצוות הדביקים הזהים מאפשרים חיבור בין המקטעים המשלימים של שתי המולקולות השונות.

כדי להשלים את חיבורם של הקצוות זה לזה אפשר להוסיף אנזים שבונה מחדש את הקשר הכימי בין שני נוקלאוטידים סמוכים. זה הקשר שבין הזרחה לסוכר, אותו קשר כימי שאנזים ההגבלה ניתק בעת פעולתו על מולקולת ה-DNA. לאנזים הזה קוראים **ליגאז**.

כאשר רוצים לשבט גן, מבודדים פלסמיד מתא חיידק וחותכים אותו בעזרת אנזים הגבלה. בעזרת אותו אנזים הגבלה חותכים את ה-DNA של האורגניזם התורם, שממנו רוצים לבדוד את הגן שנועד לשיבוט. את המקטעים שמתקבלים מוסיפים לתמיסה שבה מצויים הפלסמידים שנקטעו. כאשר מוסיפים את האנזים ליגאז, שמדביק את הקצוות הדביקים, מקבלים בתמיסה פלסמידים רקומביננטיים ובהם משולב הקטע של ה-DNA הזר (איור 6-ג).

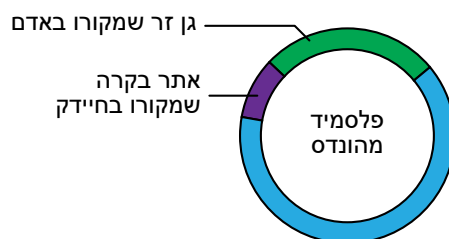


איור 6-ג: יצירת פלסמיד רקומביננטי בעזרת חיתוך עם אנזים ההגבלה EcoRI

חיבור הגן לאתר בקרה מתאים

כשרוצים להנדס גנטית אורגניזם מסוים, צריך לדאוג לבקרה של ביטוי הגן, להפסקה נכונה של התעתוק וגם לרמה מספיקה של תרגום. לעיתים צריך גם לדאוג לעיבוד של החלבון ולהובלה שלו לאתר המתאים בתוך התא. על כל התהליכים האלה אפשר להשפיע על ידי חיבור הגן המוחדר לרצפי בקרה מיוחדים של ה-DNA. את החיבור יש לבצע במהלך הכנת הגן ולפני החדרתו. אתר הבקרה הוא זה שקובע היכן, מתי ובאיזו מידה הגן יתבטא (ראו עמודים 21 ו-51). כדי לקבל התבטאות של תכונה חדשה רצויה ברקמה מסוימת באורגניזם המהונדס, ובעיתוי הרצוי, יש להצמיד לגן המוחדר אתר בקרה שמתאים להפעלת הגן ברקמה המסוימת באורגניזם. בחרים באתר בקרה שקובע באיזו רקמה יתבטא הגן המוחדר וקובעים את העיתוי ואת העוצמה של התבטאות הגן. אל אתר הבקרה מצמידים את החלקים המבניים של הגן, שהם הרצפים המקודדים את החלבון הרצוי.

על מנת שגן שמקורו באדם יוכל להתבטא בחיידקים, הפלסמיד צריך להכיל אתר בקרה שאותו מכירים האנזים המתעתק (ה-RNA-פולימראז) וגם חלבוני הבקרה של החיידק. לכן נחבר לפלסמיד המשמש נשא אתר בקרה, שמקורו בחיידק ושיאפשר את תעתוק הגן בחיידקים. נוצר גן חדש, מהונדס, המורכב מהאתר המבני של הגן של האדם ומאתר בקרה שמקורו בחיידקים (איור ג-7).



איור ג-7: הוספה לפלסמיד אתר בקרה שמקורו בחיידקים לביטוי גן זר שמקורו באדם

כיום יש מגוון גדול של פלסמידים שמכילים אתרי בקרה שונים שנוצרו בעזרת הנדסה גנטית. כל מה שנותר לעשות הוא לבחור את הפלסמידים המכילים את אתר הבקרה המתאים ולחבר לאותם פלסמידים את האתר המבני של הגן הרצוי ליד אתר הבקרה.

הכול בזכות אתר הבקרה

חברת אקוה-באוני ממצ'וסטס פיתחה דג סלמון מזן לְכִיס שהונדס גנטית כך שיגדל במהירות כפולה מדג סלמון רגיל שגדל בחוות דגים (איור ג-8). הדג המהונדס מגיע לגודל המתאים לשיווק בתוך שנה וחצי במקום כשלוש שנים. כדי ליצור את הדג המהונדס החדירו לסלמון לְכִיס גן המקודד להורמון גדילה, שנלקח מדג סלמון אחר: אֶלְתִּית גִּמְלוֹנִית, שגם היא דג מאכל דומה לסלמון לְכִיס, אך גדולה ממנו בהרבה ומשקלה הממוצע קרוב ל-25 קילוגרם. לשם השוואה, משקלו הממוצע של סלמון לכיס הוא כ-6 ק"ג. נוסף על כך הוצמד לגן המקודד להורמון הגדילה אתר בקרה שנלקח מהגן המקודד לחלבון נוגד קיפאון של מין של דג פוטית. הסלמון המהונדס לא כולל את הגן של דג הפוטית אלא רק את אתר הבקרה של אחד מהגנים שלו.

באופן רגיל הגן המקודד להורמון גדילה בדגי סלמון פעיל רק בעונות החמות, אך בזכות אתר הבקרה של דג הפוטית גן זה מופעל במשך כל השנה. כתוצאה מכך הדג המהונדס גדל מהר יותר מסלמון רגיל וכן מנצל את מזונו בצורה טובה יותר – לכל קילוגרם מזון שהדג המהונדס אוכל משקלו עולה בקילוגרם, בעוד שבסלמון רגיל דרושים 1.2 קילוגרמים של מזון כדי שמשקל גופו יעלה בקילוגרם אחד.

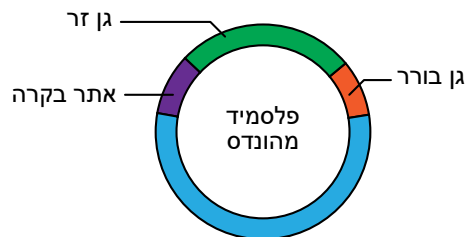
דג הלכיס המהונדס הוא מוצר המזון הראשון בין בעלי החיים שהושבב באמצעות הנדסה גנטית. לאחר כמעט 20 שנים של בדיקות בטיחות והליכים אחרים הצליחו בחברת אקוה-באוני להתגבר על הביורוקרטיה בנובמבר 2015, ולקבל ממנהל המזון והתרופות האמריקאי (ה-FDA) את האישורים הדרושים לשיווק הסלמון המהונדס שלה.



איור ג-8: דג סלמון מהונדס (עליון) ודג סלמון רגיל (תחתון)

חיבור לגן בורר

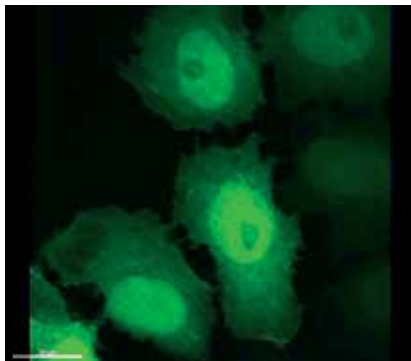
כאשר מחדירים גן לתאים, רק חלק זעום מן התאים קולטים את הגן הזר. כאשר רוצים להפריד בין התאים שקלטו את הגן הזר ובין תאים שלא קלטו אותו, מחדירים יחד עם הגן הזר גן שמאפשר רק לתאים שקולטים אותו לגדול. לגן כזה קוראים **גן בורר**. בנוכחות גן בורר מתאים, התאים שקלטו את הגן הזר יתפתחו, ואילו התאים שלא קלטו את הגן הזר יפסיקו להתפתח. בהנדסה גנטית של חיידקים, שיטת הברירה המקובלת היא להשתמש בגן המקודד לעמידות לחומר אנטיביוטי (איור ג-9).



איור ג-9: הוספה לפלסמיד גן בורר המקודד לעמידות לאנטיביוטיקה

אם מגדלים את התאים על פני מצע שמכיל את החומר האנטיביוטי, רק התאים המהונדסים שורדים (גן העמידות מקנה להם עמידות לאנטיביוטיקה). תאים שלא קלטו את הגן לא יישרדו במצע עם האנטיביוטיקה. במקרה הזה משמשת תכונת העמידות כאמצעי לברירת התאים המהונדסים.

חיבור לגן מדווח



איור ג-10: תאים שקלטו גן זר זוהרים באור ירוק
הודות לגן המדווח GFP

דרך נוספת לברור חיידקים שקלטו את הגן המוחדר היא בעזרת **גן מדווח**, שהוא גן בעל תוצר שקל לזהות אותו, כמו צבע או זהירה. את הגן המדווח מחברים לגן המוחדר, וכאשר התאים קולטים את הגן המוחדר הם קולטים גם את הגן המדווח. רק חיידקים שמכילים את הנשא המהונדס יהיו זוהרים או בעלי צבע. גן מדווח נפוץ הוא גן המקודד חלבון פלואורסצנטי ירוק (Green fluorescent protein - GFP) מהמדוזה *Aequorea Victoria*. בחשיפה לאור כחול פולט החלבון אור ירוק (איור ג-10). דוגמה נוספת לגן מדווח הוא גן מגחילית שמקודד לאנזים שנקרא לוציפראז. בנוכחות מצע מתאים, האנזים הזה מוזר תגובה שמשחררת אור, ורק תאים שקלטו את הגן הזר יזהרו באור.

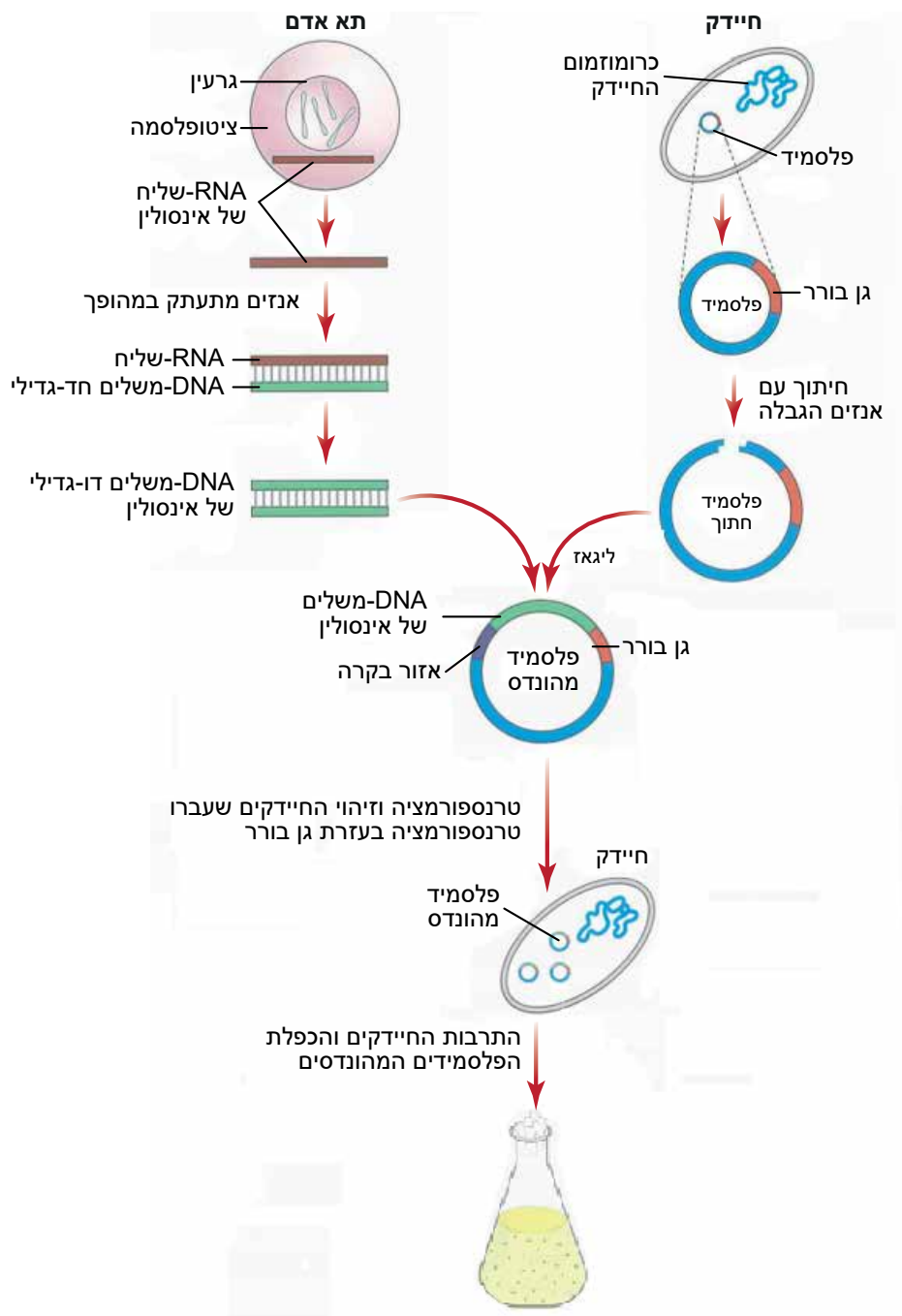
הכנסת הנשאים לחיידקים

את הפלסמידים המהונדסים, עם המקטעים החדשים מחדירים לתאי חיידקים (איור ג-11). תהליך הקליטה של DNA לתא חי והתבטאותו בתא נקרא טרנספורמציה. יש שיטות שונות לטרנספורמציה. בטבע, מתרחשת הטרנספורמציה בתדירות נמוכה ביותר, אולם במעבדה אפשר להכשיר תאים לקליטת DNA באמצעות טיפול כימי ופיסיקלי שמשנה את חדירותו של קרום החיידק. הכנסת תאים של חיידקי אי קולי, למשל, לתמיסת מלח קרה כקרח, וחשיפתם להלם חום קצר בנוכחות DNA, משפרת את כושרם של התאים לקלוט את הגן. גם חשיפה להלם חשמלי משפרת את הקליטה, כי ההלם יוצר נקבים זעירים בקרום התא.

גידול חיידקים בכמויות גדולות

החיידקים פועלים כמכונת שכפול. בתנאים מיטביים מתחלקים חיידקי אי קולי מדי 20 דקות, והפלסמידים המשתכפלים בתוכם מתרבים באותו הקצב. בסיום התהליך, שנמשך שעות אחדות, אפשר להפיק מן החיידקים כמות גדולה של פלסמידים ובהם המקטעים המבוקשים. מחיידק בודד שקלט מולקולה אחת של פלסמיד מהונדס עם הגן לאינסולין אפשר לקבל בתוך שעות מספר מיליוני עותקים זהים של הגן. את המקטעים המשובטים אפשר להפריד ולבודד בשיטות של אלקטרופורזה בג'ל (עמ' 82).

לסיכום התהליך התבוננו באיור ג-11 המתאר את שלבי ההנדסה הגנטית של גן האינסולין האנושי בחיידק אי קולי.



איור ג-11: שלבי תהליך ההנדסה הגנטית של גן האינסולין של אדם בחיידק אי קולי



שיבוט גן בפלסמיד

סרטון אנימציה (1:25 דקות) מדגים שיבוט גן בחיידקים בעזרת פלסמיד (דיבוב וכתוביות באנגלית).

הפלסמיד כאמצעי להנדסה גנטית

סרטון (4:14 דקות) מדגים כיצד פלסמיד משמש נשא בהנדסה גנטית להתבטאות גנים זרים בחיידקים. הסרטון מלווה בתרגום לעברית.

יצירת DNA-משלים

סרטון אנימציה (1:25 דקות) מדגים יצירת DNA-משלים לצורך שיבוט גן באוקריוטי בחיידקים (דיבוב וכתוביות באנגלית).

יישומי ההנדסה הגנטית

ההנדסה הגנטית היא מהפיתוחים המדעיים החשובים ביותר במדעי החיים. יש לה השפעה על הרפואה, על החקלאות, על התעשייה ועל הסביבה, השפעה שחצתה זה מכבר את גבולות הדמיון. תועלתה הרבה לאדם ניכרת בשלושה תחומים עיקריים:

א. ייצור מסחרי של חלבונים נדירים רצויים, בדרך כלל תרופות, על ידי שימוש ביצורים חיים כבתי חרושת; בשנת 1982 היה האינסולין התרופה הראשונה שיוצרה בשיטות של הנדסה גנטית ובאמצעות חיידקים. היום מייצרים חלבונים ותרופות רבות באופן מסחרי בחיידקים ובתרבויות תאים של צמחים ובעלי חיים. כמו כן אפשר לייצר תרופות בגופם של עזים, של כבשים ושל עכברים, ואז למצות את התרופה מן החלב של הנקבות או מדמן.

ב. השבחת יצורים חיים על ידי הוספת גן ל-DNA שלהם, שיקנה ליצור תכונה רצויה; החדרת גנים לתוך תאים חיים פותחת אפשרויות רחבות טווח בחקלאות, החל מהנדסת צמחים לקבלת תכונות חדשות וכלה בהענקת תכונות משופרות לבעלי חיים. אפשר, למשל, ליצור פלפלים בעלי חיי מדף ארוכים, פירות אננס המבשילים בו-זמנית, קישואים ומלפפונים שצורכים פחות מים, קטניות שיש בהן יותר חלבונים ופחות שומנים רוויים, גרגרי קפה שמכילים פחות קפאין, פרחים בעלי מגוון רחב יותר של צבעים, וצמחים עמידים למזיקים.

ג. ריפוי גני, כולל החלפת גנים פגומים בגנים תקינים; הבנה של הגנום האנושי הובילה לעידן של רפואה מולקולרית, שבה מעריכים את הסיכוי לחלות על פי סדר הבסיסים ב-DNA, ובהתאם לכך יינתן הטיפול. זיהוי הגנים המעורבים במחלות וקביעת תפקודם פתחו אפשרויות חדשות להתערבות רפואית; הטיפול מתמקד בסיבות הבסיסיות של המחלה ולא בסימפטומים שלה. סריקת מערך הבסיסים ב-DNA מאפשר אבחון מוקדם של מחלות רבות ומניעתן, בין בשלבים עובריים ובין בגיל מבוגר יותר. מיפוי הגנום האנושי מאפשר אבחון של סוגי סרטן שונים. הטכנולוגיות החדשות שעומדות בפתח הן: ריפוי גני, התערבות בביטוי הטבעי של הגנים ופיתוח תרופות חדשות.

מחלות רבות נגרמות בגלל גן פגום. אם תימצא שיטה להחדיר לגוף גן תקין במקום הגן הפגום, הבעיה אולי תיפתר. כבר היום די פשוט לייצר במעבדה עותק תקין של גן; אלא שהעותק הפגום של הגן נמצא במיליארדי תאים בגוף, וצריך להבטיח שהגן המהונדס התקין יגיע לרקמה הנכונה ויוחדר לתאים בכמות כזאת שתוכל לבטל את ההשפעה המזיקה של הגן הפגום. הניסויים הקליניים להחדיר גן תקין בעזרת נגיפים הצליחו רק באופן חלקי, והחוקרים מחפשים שיטות חדשות להחדרת גנים תקינים.

יישומים בחקלאות

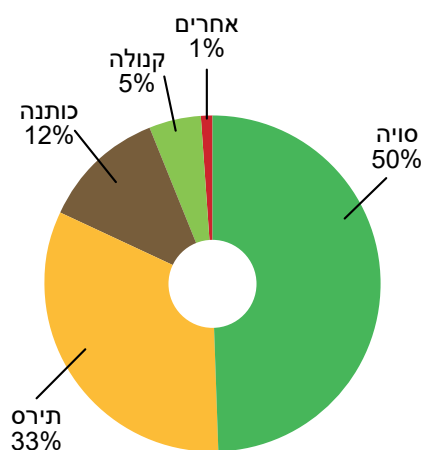
השימוש בצמחים מהונדסים צובר תאוצה בשנים האחרונות ברחבי העולם. גידולים מהונדסים כמו סויה, כותנה ותירס משווקים ברחבי העולם בצורות עיבוד שונות זה למעלה מ-25 שנה. בארץ נמצא הנושא בתהליכי פיתוח במעבדות ובמספר ניסויי שדה, אולם עדיין לא באופן מסחרי.

מגדלים היום בעולם באופן מסחרי כ-15 גידולים חקלאיים מהונדסים על פני כ-200 מיליון דונם קרקע. כמעט כל הגידולים הונדסו להכנסת גנים שמטרתם לייצר צמחים עמידים לקוטלי עשבים או לחרקים. יישומים נוספים הם בתחומים האלה: עמידות לנגיפים, שינוי הערך התזונתי, עמידות ליובש והארכת חיי מדף (טבלה ג-1).

טבלה ג-1: גידולים חקלאיים עיקריים שהונדסו והתכונה שהוחדרה

שם הצמח	עמידות לקוטלי עשבים	עמידות לחרקים	עמידות לנגיפים	שינוי הרכב המזון
סויה	+			+
תירס	+	+		+
כותנה	+	+		
קנולה	+			+
סלק סוכר	+			
פפאיה			+	
דלעת			+	
חציל		+		
תפוז			+	+

99% מהצמחים המהונדסים שמגדלים כיום בעולם הם: סויה, תירס, כותנה וקנולה (איור ג-12).



איור ג-12: צמחים מהונדסים עיקריים שמגדלים בעולם

צמחים עמידים לחרקים מזיקים

חרקים מזיקים ממשיכים לפגוע בגידולים חקלאיים רבים, למרות השימוש בחומרי הדברה – הכרוך בעלויות גבוהות, מזהם את הסביבה ואת מי התהום ועלול להזיק לבני האדם. הזיהום פוגע באורגניזמים שונים, במגוון המינים ובאיזון האקולוגי, ובאופן עקיף – בכל שרשרת המזון. פיתוח צמחים עמידים לחרקים מזיקים מאפשר לצמצם את ההפסדים של היבול, לחסוך בהוצאות על הדברה ולהפחית את סכנת הזיהום.

ביטוי הרעלן של החיידק Bt

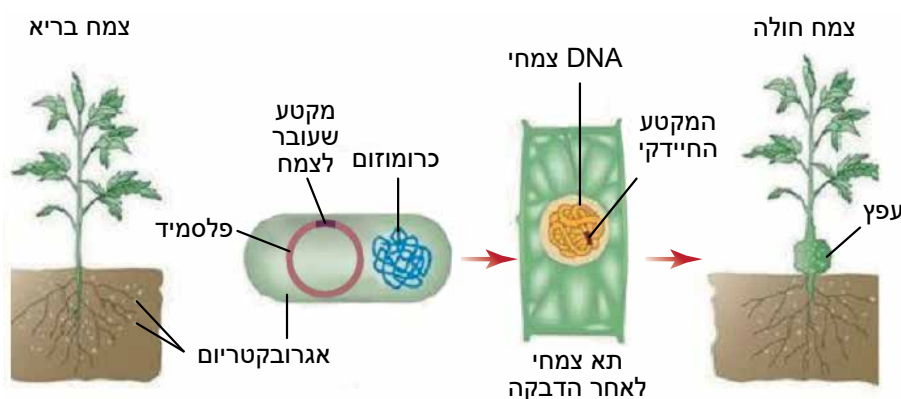
השימוש בגנים של החיידק שנקרא בצילוס (*Bacillus thuringiensis*) או בקיצור Bt היא הדוגמה המוצלחת ביותר להקניית עמידות לצמחים נגד חרקים מזיקים באמצעות הנדסה גנטית. החיידק Bt מייצר באופן טבעי חלבונים שהם רעלנים שפוגעים בחרקים. בחלבונים האלה משתמשים מאז 1948 כחומרי ריסוס להדברה של מזיקים מסוימים. כל אחד מהרעלנים האלה פעיל רק נגד מספר קטן של חרקים, ולכן השימוש בהם אינו מסכן חרקים אחרים ואינו מסכן חיות או בני אדם.

לשימוש ברעלני ה-Bt כחומרי ריסוס יש כמה מגבלות. עלות הייצור שלהם גבוהה; אורך החיים שלהם קצר (ולכן דרושים במשך תקופת הגידול כמה ריסוסים חוזרים) והם אינם יעילים נגד חרקים שמצויים בתוך הצמח, מתחת לעלים או בתוך האדמה. על המגבלות האלה אפשר להתגבר אם משתמשים בצמחים מהונדסים שמייצרים בעצמם את רעלני ה-Bt ופוגעים בחרקים שמזיקים להם. לצמחים כאלה החדירו את הגנים לרעלנים מן החיידק. צמחים מהונדסים של כותנה, תירס ותפוח אדמה, שמייצרים את אחד מרעלני ה-Bt, היו בין הצמחים המהונדסים הראשונים שהגיעו לשוק באמריקה בשנת 1995, והתקבלו לשימוש על ידי מגדלים רבים. בשנת 2013 עיבדו למעלה מ-200 מיליון דונם של כותנה ותירס עמידים לחרקים ב-20 מדינות בעולם.

הכנסת גן הרעלן לתאי הצמח באמצעות חיידקי אגרובקטריום

השיטה הנפוצה ביותר להחדיר גנים לצמחים היא באמצעות חיידק שנקרא אגרובקטריום טומפציאנס (*Agrobacterium tumefaciens*). אגרובקטריום הוא חיידק קרקע שיכול לתקוף באופן טבעי יותר ממאה מינים שונים של צמחים דו-פסיגיים.

מחזור ההדבקה הטבעי של חיידקי אגרובקטריום מתחיל כאשר רקמה צמחית פצועה מפרישה חומרים שמושכים את החיידקים. האגרובקטריום מעביר קטע של DNA, הנמצא בתוך פלסמיד שבתאיו, אל גרעיני תאי הצמח שהוא תוקף. הגנים שעל גבי ה-DNA החיידקי עוברים תעתוק ותרגום, יחד עם התעתוק והתרגום של הגנים המקוריים של הצמח (איור ג-13).



איור ג-13: מעבר מקטע ה-DNA מאגרובקטריום לצמח

החלבונים שנוצרים כתוצאה מכך אחראיים על יצירת חומרי המזון לחיידקים ויצירת מווסתי צמיחה. מווסתי הצמיחה משבשים את המאזן ההורמונלי בתאים הצמחיים וגורמים לחלוקה נמרצת ובלתי מבוקרת (סרטנית) של התאים וליצירת **עפצים** (איורים ג-13, ג-14). ה-DNA שחדר לגנום הצמחי משתכפל ועובר, יחד עם כל הגנום הצמחי, לתאים החדשים שנוצרים בעפץ.

בעפץ כזה נמצאים מיליארדי חיידקי אגרובקטריום הנהנים מאספקה סדירה של חומרי מזון שהתאים הסרטניים של הצמח מייצרים. התפתחות עפצים פוגעת בצמיחתו הטבעית של הצמח, פוגעת בכמות היבול ובאיכותו, ולעיתים אף גורמת למות הצמח.



איור ג-14: עפצים בעץ מנגו

הכנת הפלסמיד

הפלסמיד של האגרובקטריום מהווה מערכת טבעית להנדסה גנטית בצמחים מאחר שיש בו מקטע DNA שעובר מן החיידק אל התאים הצמחיים. אפשר לשנות את הפלסמיד הזה ולהשתמש בו למחקר ולפיתוח צמחים מהונדסים. מרחיקים את הגנים שאחראיים לייצור מווסתי הצמיחה, ומקבלים פלסמיד שמתאים להנדסה גנטית אבל אינו גורם יצירת עפצים. במקום הגנים שמוציאים, מחדירים גנים אחרים שמעוניינים להעביר לצמח ובהם גן הרעל Bt. כדי להבטיח שיתבטא בתאי הצמח, יש לחבר לגן הרעל אתר בקרה של גן הפועל בתאי הצמח. הגן עם אתר הבקרה יעברו וישתלבו בתוך הגנום הצמחי, וכך יתקבל צמח מהונדס ללא עפצים שייצר רעלן נגד חרקים מזיקים.

כאשר מהנדסים צמחים עמידים לחרקים, רצוי שכל חלקי הצמח שיכולים לשמש מזון לחרקים יבטאו את הרעלן. ביטוי החלבון הרצוי בתאים יתאפשר בתיווךם של אתר הבקרה ושל גורמי תעתוק תאיים הנקשרים אליו. מקום הביטוי וזמן הביטוי תלויים באתר הבקרה שהחוקרים חיברו לגן המוחדר. אתרים אלה מוכנסים לפלסמיד יחד עם הגן ל-Bt.

לרוב היישומים הראשונים של ההנדסה הגנטית בצמחים השתמשו החוקרים באתרי בקרה שגורמים לביטוי מוגבר בכל הרקמות של הצמח המהונדס. אתרי בקרה כאלה אינם תלויים בשלב ההתפתחות של הצמח או בגורמים סביבתיים, והם מתאימים כאשר אין צורך להגביל את הביטוי של הגן המוחדר לתאים מסוימים או לזמן מסוים. כיום נמצאים בשימוש סוגים רבים נוספים של אתרי בקרה, למשל כאלה שגורמים לביטוי רק ברקמה מסוימת, לביטוי רק בשלב התפתחותי מסוים או לביטוי רק בהשראה של תנאים חיצוניים מסוימים.

נוסף על אתר הבקרה יש להוסיף לפלסמיד גן בורר. לאחר החדרת גן זר, יש הרבה יותר תאים שלא קיבלו את ה-DNA הזר מהתאים המהונדסים (שקיבלו אותו). כדי לא לגדל אלפי צמחים ולברור ביניהם את המהונדסים,

מוסיפים לפלסמיד הנושא את גן המטרה גן המקנה לתאי הצמח המהונדסים עמידות לאנטיביוטיקה. ברוב המקרים מוסיפים את הגן לעמידות נגד קאנאמיצין, חומר הפוגע ביכולת הצמח ליצור שורשים כבר בתרבויות הרקמה (איור ג-15). בדרך זו אפשר לברור את הצמחים המהונדסים. אם נכניס את האנטיביוטיקה למצע הגידול, ישרדו רק תאים עמידים – אלה הנושאים את גן המטרה המלווה בגן עמידות לקאנאמיצין; השאר ימותו.

הדבקת הצמח

מגדלים אוכלוסייה של אגרובקטריום עם הפלסמידים המהונדסים. חושפים לאגרובקטריום רקמה צמחית פצועה (חתיכות עלים). החיידקים חודרים לרקמה הפצועה ו"מדביקים" אותה. הדבקת הצמחים באגרובקטריום יכולה להתבצע בדרכים שונות; השיטה הנפוצה ביותר היא לטבול את מקטעי הרקמה בתמיסת חיידקים שנמצאת בתוך צלחות פטרי, ולפי שיטה אחרת טובלים את תפרחות הצמח השלם בתמיסת החיידקים.

רגנרציה של הצמחים המהונדסים

אחרי הטרנספורמציה, ואחרי ברירת התאים שמכילים את הגן המהונדס, יוצרים מתאים אלה צמחים חדשים. ייצור הצמחים מן התאים המהונדסים מתבצע באמצעות **רגנרציה** – יצירת צמח שלם מתא בודד או מרקמה. בבני אדם, מרגע שתא עבר תהליך התמיינות והפך לבעל תפקיד מסוים (תא שריר, תא עצב וכו') קשה מאוד לגרום לו "ללכת אחורה" ולהפוך חזרה לתא גזע. בצמחים המעבר חזרה קל בהרבה, ואפשר לגרום לו על ידי חשיפת התא למווסתים צמחיים. כל תא צמח יכול להפוך לצמח חדש בפני עצמו. אם נשתמש ביכולת הזאת, נוכל ליצור מכל תא שעבר טרנספורמציה צמח מהונדס חדש. מעבירים את התאים המהונדסים לצלחת פטרי עם מצע שמכיל ריכוזים מתאימים של מווסתים צמחיים. התאים מאבדים את התכונות הייחודיות שלהם והופכים לתאים לא ממוינים, הממשיכים להתחלק וליצור גוש של תאים לא ממוינים הנקרא **קאלוס**. הוספת מווסתים מתאימים גורמת להתמיינות הדרגתית של קאלוס מהונדס לצמח שלם (איור ג-15).



איור ג-15: ברירה ורגנרציה של צמחים מהונדסים

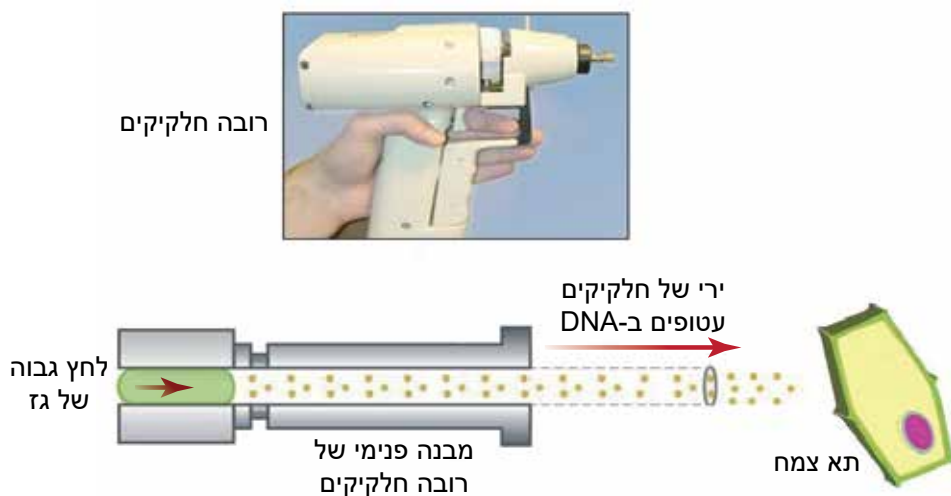
הודות לאפשרות הרגנרציה, בצמחים קל יותר לבצע מניפולציות גנטיות משום שקל יחסית לשבט צמח מתא בודד. אם לתא זה מוחדר גן מיצור אחר, עובר הגן במהלך ההתחלקות לכל תאי הצמח המתפתח, וכך נוצר צמח המצטיין בתכונות נוספות שהושתלו לתוכו בדרך מלאכותית. בבעלי חיים זה קצת יותר מסובך מאחר שצריך לעשות זאת בביצית המופרית, וגם אז שיעור ההצלחה נמוך יחסית. זו הסיבה שיש מעט מאוד בעלי חיים מהונדסים לצרכים חקלאיים. עד כה (2018) אושר לצרכנים רק דג סלמון מהונדס (ראו קטע הרחבה בעמ' 99).

החדרה ישירה של הגן לצמחים

רוב ההנדסה הגנטית בצמחים התבצעה עד ראשית שנות ה-90 באמצעות אגרובקטריום. החדרת ה-DNA באמצעות אגרובקטריום יעילה מאוד בצמחים דו-פסיגיים. ואולם בחד-פסיגיים היא אינה יעילה, ברוב המקרים. חלק גדול מן הגידולים החקלאיים החשובים ביותר – אורז, חיטה ותרס – הם חד-פסיגיים. לכן, הושקעו מאמצים רבים בפיתוח טכנולוגיות החדרה שיתאימו לגידולים האלה. המאמצים התמקדו בעיקר בהחדרה ישירה: החדרה של DNA ללא אורגניזם מתווך (כמו נגיף או חיידק). החדרה ישירה של DNA יכולה להתבצע לתוך צמחים שלמים או לתוך רקמות שלמות, כגון: דיסקיות עלים או מקטעי שורש; לתוך רקמת קאלוס או לתוך זרעים, עוברים, גרגרי אבקה, ואפילו לתוך תאים בודדים. שתי שיטות להחדרה ישירה נעשו יותר ויותר פופולריות מאז שנות ה-90; אחת בעזרת פלסמידים והשנייה בעזרת ירי חלקיקים.

בהחדרה בעזרת פלסמידים משלבים את הגן הרצוי בתוך פלסמיד שמחדירים ישירות לתוך התאים הצמחיים. חלק מהפלסמידים חודר לתוך גרעין התא הצמחי, ושם הגן הרצוי יכול להיחתך מתוך הפלסמיד ולהשתלב אקראית בתוך הגנום הצמחי. באירוע כזה מתקבל ביטוי יציב של הגן המוחדר. אך בדרך כלל ה-DNA המוחדר נשאר בשיטות האלה פלסמיד עצמאי בתוך גרעין התא הצמחי, והוא מתבטא רק באופן זמני. התבטאות זמנית של הגן המוחדר אינה מספיקה ליצירת צמחים מהונדסים, אם כי היא יכולה לפעמים להתאים לצורכי מחקר.

השיטה הנפוצה ביותר להחדרה ישירה של DNA היא באמצעות רובה חלקיקים (איור ג-16). השיטה הזאת מבוססת על "הפגזה" של תאים צמחיים שלמים במולקולות DNA. רובה החלקיקים יורה חלקיקים זעירים העשויים ממתכת בעזרת לחץ גז גבוה. החלקיקים עטופים במולקולות של DNA, וכשהם חודרים דרך דופנות התאים הצמחיים – ה-DNA יכול להשתלב בגנום הצמחי. השימוש בירי החלקיקים אינו יעיל כמו השימוש באגרובקטריום, אבל הוא מתאים לחד-פסיגיים ולכן משתמשים בו להחדרת DNA במספר גידולים בעלי חשיבות חקלאית. אחד היתרונות של השיטה הזאת הוא שאפשר ליישם אותה על כל רקמה צמחית – מתאים ועד עלים שלמים, כולל מקטעי שורש ואפילו זרעים או עוברים.



איור ג-16: רובה חלקיקים להחדרת גנים לתאי צמחים

צמחים עמידים לקוטלי עשבים

מניעת צמיחה של עשבי בר היא משימה קשה ויקרה ומהבעיות המרכזיות בחקלאות המודרנית, שכן עשבי בר עשויים להזיק לא רק לצמחי התרבות, אלא גם לבעלי חיים. קוטלי עשבים משמשים להדברת עשבי בר בחלקות חקלאיות, אבל השימוש בהם מוגבל, משום שבמקרים רבים הם עשויים לפגוע גם בגידול החקלאי. פיתוח גידולים בעלי עמידות לקוטלי עשבים מאפשר להשתמש בקוטלי העשבים ללא חשש שייגרם נזק לגידול עצמו. ואולי יהיה אפשר להשתמש בקוטלי עשבים חדשים שיהיו יותר יעילים ופחות מזיקים לבעלי החיים ולסביבה.

יש שתי דרכים עיקריות להקנות עמידות לצמחים נגד קוטלי עשבים באמצעות הנדסה גנטית. אפשרות אחת היא להחדיר לצמחים גנים מחיידקים שיכולים לנטרל את קוטל העשבים. לדוגמה: ברומוקסיניל (Bromoxynil) הוא קוטל עשבים שפוגע במערכת הפוטוסינתטית ויעיל נגד עשבים רחבי עלים. כל מיני מיקרואורגניזמים מפרקים את החומר הזה בקרקע במהירות; למשל, חיידקים. מחיידק כזה בודדו את הגן שאחראי לפירוק החומר, והחדירו את הגן לצמחי טבק ולכותנה. התקבלו צמחים עמידים לקוטל העשבים ברומוקסיניל.

אפשרות אחרת היא לשנות את אתר המטרה של קוטל העשבים באמצעות גנים מצמחים אחרים, מפטריות או מחיידקים. לדוגמה: גליפוסט (ראונדאפ) הוא קוטל עשבים שפוגע בפעילות אנזים המעורב ביצירה של כמה חומצות אמיניות בצמחים (טריפטופן, טירוזין ופנילאלנין). הקוטל הזה יכול להדביר כמעט כל עשב, אינו רעיל לבעלי חיים ומתפרק במהירות בקרקע, אך הוא פוגע בגידולים רבים. בניסיון לפתח גידולים עמידים לגליפוסט, לקחו חיידקים ובודדו מהם גן מוטנטי שמקודד לאנזים המטרה של הקוטל. מכיוון שהאנזים בחיידקים האלה הוא מוטנטי, הקוטל אינו "מכיר" אותו ואינו פוגע בפעילותו. החדירו את הגן המוטנטי הזה לצמחים כמו סויה, עגבנייה וכותנה, והתקבלו צמחים עמידים לקוטל העשבים גליפוסט. כיום, רוב גידולי הסויה, התירס והכותנה בארצות הברית מהונדסים ועמידים לגליפוסט.

צמחים עמידים למחלות נגיפים

נגיפים גורמים נזקים כבדים ליבול ואי אפשר להדביר אותם באמצעות חומרים כימיים. הדרך העיקרית להילחם בנגיפים היא להדביר את האורגניזמים שנושאים את הנגיפים. האורגניזמים האלה הם בעיקר חרקים, ואותם אפשר להדביר באמצעות חומרים כימיים. היעילות של ההדברה הכימית מוגבלת, ולכן הנדסה גנטית, שמקנה לצמחים עמידות נגד נגיפים, מספקת פתרון יעיל יותר.

כבר בשנת 1985 הצליחו להקנות עמידות לצמחי טבק כנגד נגיף מוזאיקת הטבק. העמידות מתבססת על גנים של נגיפים שהוחדרו אל תוך הגנום הצמחי; תוצרי הגנים המוחדרים פוגעים בשלבים מסוימים של מחזור ההדבקה של הנגיף, למשל: פוגעים בשכפול או בהפצה שלו. הדרך המקובלת היא להחדיר גן המבטא את חלבון המעטפת של הנגיף בתוך הצמח. חלבון המעטפת של הנגיף משמש לעטיפת החומר הגנטי הנגיפי במהלך ההתרבות של הנגיף בצמח. חלבון המעטפת מקנה עמידות לצמחים הודות למנגנון השתקת גנים באמצעות מולקולות RNA קטנות (ראו עמ' 35-36).

נגיף בשם רינגספוט (ringspot) כמעט וחסל את כל עצי הפפאיה באיי הוואי בשנת 1990. בעזרת החדרת הגן המקודד את חלבון מעטפת הנגיף הצליחו מדענים להציל את גידול הפפאיה. החל משנת 1998 מגדלים בהוואי פפאיה מהונדסת העמידה לנגיף. על ידי חיבור שלושה גנים של מעטפת משלושה נגיפי מוזאיקת טבק שונים הצליחו מדענים לפתח צמחי דלעת עמידים למחלות הנגרמות על ידי נגיפים אלה. צמחי הדלעת המהונדסים נמכרים מסחרית החל משנת 1994.

הודות לגילוי המנגנון להשתקת גנים באמצעות מולקולות RNA קטנות (עמ' 35), חלה בעשור האחרון התקדמות גדולה בהקניית עמידות לצמחים נגד נגיפים (עמ' 36). מנגנון זה הוא כנראה מנגנון הגנה טבעי בצמחים ובבעלי חיים נגד זיהום על ידי נגיפי RNA. אז איך בכל זאת קיימות מחלות נגיפיות רבות בצמחים? כמו בכל מירוצ

חימוש, מתברר שבמהלך האבולוציה פיתחו רבים מהנגיפים המדביקים צמחים דרכים לעיכוב מנגנון ההשתקה. חוקרים הצליחו להשתיק בצמחים פגועים את הגן המקודד את חלבון המעטפת, ובכך מנעו את התרבות הנגיף המזיק בצמח. השתקת הגן נעשתה על ידי החדרת מולקולות RNA קטנות דו-גדיליות עם רצף משלים לגן או לקטע מהגן המקודד את חלבון המעטפת. בעשור האחרון הצליחו כך לפתח עמידות בצמחים רבים וביניהם צמחי מאכל ובהם סויה, תפוחי אדמה, שעורה, אורז, עגבניות, תירס וקנה סוכר.

עמידות לעקת יובש

הגורם העיקרי שמגביל את כמות היבולים בעולם הוא זמינות המים. עקת יובש יכולה לנבוע ממחסור במי גשמים ובמי השקיה או ממליחות גבוהה בקרקע. המלחת קרקעות נפוצה בעיקר באזורים שחונים יחסית, וכן באזורים שמרבים להשקות בהם. בגלל מליחות הקרקע, נאלצים מגדלים רבים לבחור בגידולים פחות רווחיים אך עמידים יותר למליחות (למשל, לגדל ארטישוק במקום תות). במקרים קיצוניים הם אף נאלצים לנטוש שטחים חקלאיים.

בשנת 2013, לאחר מאמצים ממושכים, הוכנסו לראשונה לשימוש מסחרי צמחים עמידים ליובש. חוקרים הצליחו להחדיר לצמחי תירס הרגישים ליובש את הגן *cspB* מחיידק הקרקע באצילוס סובטיליס (*Bacillus subtilis*) ולהופכם לצמחים עמידים ליובש (איור ג-17). כתגובה לעקת שונות (קור, יובש, מליחות, חומציות, אתנול) מתקפלות מולקולות RNA-שליח בתאי אורגניזמים שונים (חיידקים, פטריות וצמחים) – ונפסק תרגום חלבונים הנחוצים לחיי התא. אורגניזמים מסוימים מפעילים גנים המקודדים חלבונים שמקנים עמידות לתאים בתנאי עקה. החלבונים שנוצרים גורמים ליישור מולקולות RNA-שליח שנפגעו ומאפשרים את התרגום שלהם לחלבונים ואת המשך חיי התא. הכנסת הגן מהחיידק אפשרה לתאי צמח התירס, שחסרים מנגנון זה של עמידות, להמשיך ולתפקד בתנאי יובש.



איור ג-17: צמחי תירס מהונדסים עמידים ליובש

שיפור הערך התזונתי של היבול

הצמחים הם מקור המזון העיקרי של האדם ושל חיות המשק. להרכב החומרים בצמחים יש חשיבות רבה מבחינה תזונתית ומבחינה בריאותית. שינוי הרכב החלבונים, השומנים והוויטמינים בצמחים באמצעות הנדסה גנטית אפשר לשפר את הערך התזונתי והבריאותי של המזונות שמקורם מן הצומח. בשנים האחרונות, עם עליית המודעות בציבור לחשיבותם של מרכיבים "בריאותיים" במזון, החלו להנדס צמחים מועשרים בחומרים כאלה. תשומת הלב העיקרית מופנית לחומרים נוגדי חמצון (Antioxidants) ולוויטמינים.

שינוי הרכב הוויטמינים

הוויטמינים חיוניים למהלך התקין של תהליכים רבים בגוף האדם. מציאותם במזון הכרחית, מכיוון שהגוף אינו מסוגל לייצר אותם בעצמו. אחת הדוגמאות הבולטות ביותר להצלחת שיפור הרכב הוויטמינים במזון בעזרת הנדסה גנטית היא יצירתו של אורז עתיר בבטא-קרופן, הידוע בכינוי "האורז הזהוב". בטא-קרופן הוא פיגמנט (צבען) כתום שמצוי במזון הצמחי והופך בגופנו לוויטמין A. הוא מצוי בשפע בצמחים מסוימים, למשל: בגזר, ואינו קיים בצמחים אחרים, למשל: בגרגרי אורז. בבני אדם גורם מחסור בוויטמין A עיוורון חלקי או מלא, פוגע במערכת החיסון, פוגע בהתפתחות וגורם פיגור שכלי. ארגון הבריאות העולמי מעריך שבכל שנה סובלים כמיליון ילדים מליקויי ראייה עקב מחסור בבטא-קרופן, וכ-250 אלף מהם מאבדים לגמרי את מאור עיניהם. מכיוון שהאורז הוא מרכיב מרכזי בתזונה של כמחצית מאוכלוסיית העולם, נוכחות בטא-קרופן באורז יכולה למנוע הרבה מן התופעות האלה.

כדי לפתור בעיה זו, ולו באופן חלקי, יצרו פרופ' אינגו פוטריקוס וצוותו משווייץ אורז מהונדס הצובר בטא-קרופן בגרגר (איור ג-18). אורז זה גדל כיום בפיליפינים ובסין ומהווה דוגמה נפלאה לשיפור תזונתו ובריאותו של האדם באמצעות השימוש בהנדסה גנטית.



איור ג-18: אורז מזהב מהונדס ואורז לבן שאינו מהונדס

יצירת זן אורז המייצר כמויות גדולות של בטא-קרופן בזרעים התאפשרה בזכות הבנת מסלול הסינתזה שלו בצמחים, שפִּעֲנָחו בישראל פרופ' יוסי הירשברג וקבוצתו מהאוניברסיטה העברית בירושלים. בזכות התגלית הזאת, הצליחו להחדיר לאורז שלושה גנים שאחראים לייצור האנזימים שמשתתפים ביצירת הבטא-קרופן. שני גנים נלקחו מצמח הנרקיס, וגן שלישי – מחיידק. משילוב הגנים עם אתר בקרה מתאים התקבלו צמחים שבהם לגרגרי האורז יש צבע זהוב, המעיד על תכולה גבוהה של בטא-קרופן. 300 גרם של אורז זהוב כזה, כמות יומית שנוהגים לאכול אנשים באסיה, מספקים את כל הכמות היומית של ויטמין A הדרושה לאדם.

בעד ונגד הנדסה גנטית בצמחים

בקשת הדעות על הסיכונים מול היתרונות של השימוש במוצרים מהונדסים מיוצגים תומכים נלהבים, מצדדים התומכים בהטלת פיקוח ומגבלות וגם בעלי עמדה קיצונית השוללת את השימוש מכול וכול. המצדדים מסבירים כי בעוד שנים אחדות זו תהיה הדרך היחידה להאכיל את אוכלוסיית העולם. ברמת הייצור החקלאי הנוכחית יש די מזון להאכיל את כולם. אולם עד שנת 2050 צפויה אוכלוסיית העולם להגיע ליותר מתשעה מיליארדים. להערכת ארגון המזון והחקלאות של האו"ם, העולם יהיה חייב להגדיל את ייצור המזון ב-70% רק כדי להתמודד

עם הגידול באוכלוסייה. על מנת להאכיל אוכלוסייה הולכת וגדלה בארצות המתפתחות והמפותחות נחוצים צמחים יעילים יותר וחסונים יותר, שהותאמו באופן גנטי, אשר יניבו יותר יבול, ויהיו חסינים בפני חרקים, מחלות וקוטלי עשבים.

המצדדים טוענים כי נוסף על הגדלת כמות המזון יכולה ההנדסה הגנטית בצמחים לשפר גם את איכות המזון. אפשר להשתמש בהנדסה גנטית לשינוי הרכב החלבונים, השומנים והוויטמינים בצמחים – ומכאן לשיפור הערך התזונתי והבריאותי של מזונות שמקורם בצומח. אפשר לשפר גם תכונות אחרות של מוצרי מזון חקלאיים, כמו טעם, ריח, גודל, מרקם ואורך חיי המדף. מהצמחים המהונדסים אפשר לייצר חומרים לתעשיית המזון, ובהם חומרי צבע, טעם וריח, או ממתקים דיאטטיים טבעיים. צמחים דורשים לגידול רק אור, מים ומינרלים, ולכן יכולים צמחים מהונדסים להוות אמצעי פשוט וזול לייצור חומרים כאלה.

נוסף על גידול האוכלוסייה מתחוללים בעולם שינויים אקלימיים, בעיקר המדבור ההולך ומתפשט וההתחממות הגלובלית – שתביא לשינויים קיצוניים באקלים, ואלה ישפיעו במיוחד על הצמחים באזורים חקלאיים רבים בעולם. המחסור במים הוגדר כבר כאחת הסכנות הגדולות ביותר שאתן נצטרך להתמודד בעשורים הקרובים. אנו זקוקים לצמחים שיוכלו לצמוח ולשגשג בסביבות גידול קשות. צמחים מהונדסים יוכלו לצמוח באדמה יבשה ומלוחה, ולהיות עמידים בטמפרטורות גבוהות או נמוכות.

לעיתים מתרחשים שינויים מהירים במזג האוויר. הרמה המרכזית של מקסיקו, לדוגמה, עברה בזו אחר זו את השנה היבשה ביותר שלה והשנה הלחה ביותר שלה ב-2011 ו-2012. אחד היתרונות של השימוש בהנדסה גנטית הוא לעזור לגידולים להסתגל לשינויים הפתאומיים במזג האוויר על ידי ייצור זנים חדשים במהירות. יצירת זן חדש של תפוח אדמה בשיטות השבחה מקובלות, למשל, דורשת 15 שנים לפחות; ייצור תפוח אדמה מהונדס דורש פחות משישה חודשים.

למרות התועלת המרובה שהאנושות יכולה להפיק ממנה, החדרת מוצרים מהונדסים לשוק מעוררת התנגדות רבה. באירופה, ובמידה פחותה גם בארצות הברית, מתנהל פולמוס ציבורי סביב השאלה אם השימוש בגידולים מהונדסים בטוח ורצוי. את המאבק נגד ההנדסה הגנטית מובילים בעיקר גופים "ירוקים", הדורשים לסמן את התוצרת המהונדסת בסימון מיוחד שיבדיל אותה מן התוצרת הרגילה, כדי שהצרכן יוכל להחליט בעצמו מה הוא רוצה לאכול. בחלק מן המדינות דרישה זו כבר קיבלה תוקף חוקי. יש אפילו כמה חברות מזון גדולות, כמו: גרבר ונסטלה, שהפסיקו להשתמש במזון מהונדס בגלל לחץ כבד של צרכנים. ההתנגדות לשימוש בגידולים מהונדסים מתבססת על שלושה טיעונים עיקריים: הטיעון הסביבתי, הטיעון הבריאותי והטיעון המוסרי.

הטיעון הסביבתי. המתנגדים להפצה של מוצרים מהונדסים טוענים שחשיפת הסביבה למינים חדשים, מהונדסים גנטית, תגרום הפרה של שיווי המשקל שקיים בטבע, באופן שאינו ניתן לצפייה מראש. הם חוששים שגנים זרים, שיחדרו לגידולים מהונדסים, יעברו גם לצמחי בר ויקנו להם תכונות חדשות – כמו עמידות לחרקים מזיקים או לקוטלי עשבים. בדרך זו יתפתחו "עשבי-על" שיתפשטו במהירות, וההתמודדות עם העשבים האלה תהיה קשה ויקרה. המתנגדים גם חוששים שהגידול המהונדס עצמו יתרבה בקצב בלתי מרוסן ויהפוך לעשב רע שפוגע באוכלוסיות צמחים אחרות מסביבו. קיים חשש, לפי המתנגדים, שזנים בעלי גן שמגן עליהם מפני מזיק חקלאי יגרמו בעקיפין להתרבות של חרקים שיהיו עמידים לאותו מנגנון הגנה. ייווצר מצב שיתפתחו "חרקי-על" שיפגעו באוכלוסיות של חרקים אחרים, וההדברה שלהם תהיה קשה עוד יותר. נוסף לכל אלה חוששים המתנגדים מפני פגיעות בלתי צפויות; למשל: רעל שמיצור בצמח מהונדס, ואמור לפגוע רק בחרקים מזיקים, יפגע גם בחרקים אחרים, בלתי מזיקים.

התומכים בגידולים מהונדסים עונים לכל הטענות האלה שהחקלאות, מעצם הגדרתה, פוגעת בסביבה; דווקא השינויים שההנדסה הגנטית מציעה יכולים להפחית את הנזק הזה. רוב הפעולות של האדם המודרני כרוכות בהפרה מתמדת של האיזון בטבע, וההנדסה הגנטית אינה שונה מבחינה זו משימוש בחומרי הדברה, מכריתת

יערות, מסלילת כבישים ועוד. התומכים בגידולים מהונדסים כופרים בחשש שגידול חקלאי יהפוך לעשב רע; כדי שדבר כזה יקרה דרוש שינוי בתכונות רבות, ולא סביר ששינוי בגן בודד יוכל לגרום תהליך כזה. את הסיכויים להתרחשותם של חששות אחרים אפשר להקטין. למשל, אפשר למנוע העברה של תכונות מהונדסות לצמחי בר, אם מוודאים שלצמח המהונדס אין קרובי משפחה בין צמחי הבר והוא אינו יכול להכליא אתם באופן טבעי. יצירת צמח מהונדס שיש לו כמה מנגנוני הגנה שונים יקטין את הסיכוי שיתפתחו חרקים שיהיו עמידים למנגנון ההגנה המהונדס.

הטיעון הבריאותי. המתנגדים לשימוש במוצרי מזון מהונדסים טוענים שהמוצרים האלה מסכנים את בריאות הציבור. לדעתם, קיים חשש שבמזון המהונדס תעלה רמת הרעלנים הטבעיים או ייווצרו חומרים בלתי צפויים שעלולים לגרום אלרגיות. לעומתם, טוענים המצדדים בהנדסה גנטית שעד היום שום בדיקה מדעית אמינה לא הוכיחה שקיימת רעילות כלשהיא באחד המזונות המהונדסים. ארגון הבריאות האמריקאי והאקדמיה האירופית למדעים אף מצהירים שהשיטה בטוחה לשימוש וכי אין כל סיכון מיוחד בצריכת מוצרים מהונדסים לעומת מוצרי מזון אחרים.

אחד החששות הבריאותיים המרכזיים מפני גידולים מהונדסים נובע מן הגן שמקנה לרוב הגידולים המהונדסים עמידות לאנטיביוטיקה. הגן הזה מוחדר לצמח כחלק מהתהליך (כדי לברור את הדור הראשון של הצמחים המהונדסים), ולמעשה אין לו תפקיד בהתבטאות התכונה המהונדסת. המתנגדים למוצרי מזון מהונדסים חוששים שגנים כאלה יגיעו למעיים של בני אדם, ומהם יעברו לחיידקים ויפגעו ביעילות הטיפול של האנטיביוטיקה. בתגובה לכך טוענים המצדדים בהנדסה גנטית שעד היום, מאז הגל הראשון של מוצרים מהונדסים, לא דווח על שום מקרה של העברת עמידויות לחיידקים. עוד הם טוענים, שגם אם יש סיכוי תיאורטי לכך, הוא קלוש לעומת השיעור הספונטני של פיתוח עמידויות בטבע. צריך גם לזכור שהגן לעמידות נלקח מלכתחילה מן הטבע, מתוך מיקרואורגניזמים שיש להם יכולת הגנה מפני חיידקים. יתרה מזו, כיום כמעט לא משתמשים ברפואה באותן תרופות אנטיביוטיות שמשמשות בתהליך ההנדסה הגנטית. נוסף לכל אלה, החוקרים עוסקים כיום בפיתוח שיטה שתאפשר להוציא את הגנים האלה מן הצמח המהונדס בסוף תהליך פיתוחו, ונראה שהדור הבא של המוצרים המהונדסים יהיה נקי מעמידות לאנטיביוטיקה.

הטיעון המוסרי. המתנגדים לגידולים מהונדסים שואלים עד כמה מותר לאדם, מבחינה מוסרית, להתערב בתהליכי הטבע ולשנות את המבנה התורשתי של אורגניזמים שונים. יש בהם שטוענים כי ההנדסה הגנטית היא ניסיון של האדם לחדור לתחום השייך לאלוהים לבדו. השאלה שעומדת מנגד היא: האם כל הספקות האלה אינם נכונים לגבי כל פיתוח טכנולוגי חקלאי ובייחוד לגבי ההשבחה המסורתית? הרי כל מוצרי המזון שאנו צורכים הם תוצאת השבחה ונוצרו בדרך של הכלאה בין מינים שונים בצורה מכוונת ו"לא טבעית". גם במזונות האלה שינה האדם את המבנה התורשתי לתועלתו, אלא שהשינוי היה פחות מדויק.

הבעיה המרכזית של חלק ממיצגי העמדות המנוגדות היא התעלמות מהידע הקיים, כך שבהרבה מקרים העמדות אינן מתבססות על ממצאים בדוקים אלא משקפות אמונה או רגש. חמור מכך, פורסמו מחקרים מדעיים, לכאורה, שהצביעו על התפשטות לא מבוקרת של צמחים מהונדסים לסביבה, אך בהמשך התברר שלא היה ביסוס מדעי לדיווחים שזרעו בהלה בציבור.

עם זאת, מסקירת הספרות המדעית הדנה בסיכונים וביתרונות של צמחים מהונדסים ומוצריהם אין לשלול באופן מוחלט, בשלב זה, כל חשש לסיכון. הדבר נובע ממורכבות המערכות האקולוגיות המציאות אתגר מסובך בפני הערכת השפעות ארוכות הטווח של הצמחים המהונדסים.

בשל הסכנות והתנגדות הציבור, רוב מדינות העולם קבעו הוראות חוק לפיקוח על הטיפול, הגידול, והשיווק של צמחים וזרעים מהונדסים וכן על ייצור מזון מהונדס. מטרת התקנות לאפשר שימוש בטכנולוגיות של הנדסה גנטית לקידום החקלאות, בהקפדה על שמירת בריאות האדם ומניעת סכנות לסביבה או לשונות הגנטית הטבעית.

במרבית מדינות העולם דורשות הרשויות עוד ועוד בדיקות לפני קבלת אישור לגדל צמחים מהונדסים, בפרט צמחים למאכל. באיחוד האירופי המדיניות שמרנית מאוד, והאישור לגדל צמחים מהונדסים ניתן במשורה, ובעיקר לצמחים שאינם מיועדים למאכל (טבק, כותנה ופרחי-נוי). שמונה אומות החברות באיחוד האירופי מחרימות לגמרי יבולים מהונדסים. החוק באיחוד האירופי דורש מחברה להוכיח כי המזון אינו מסוכן לבני אדם, לבעלי חיים או לסביבה, ולקבל אישור מראש הרשות האירופית לבטיחות במזון – וגם אז עליה לוודא שכל מוצר מזון המכיל יותר מ-0.9% של רכיבים שהונדסו גנטית יסומן כמכיל מוצרים מהונדסים-גנטית כדי ליידע את הצרכנים ולאפשר להם לקנות מזון באופן מושכל.

הסרת החרם מהשוקולד

בשווייץ נאלצו יצרני השוקולד בשנת 1997 להסיר מהמדפים 500 טון שוקולד ולהשמידו משום שהכיל מוצר שהופק מסויה שטופחה בשיטות ההנדסה הגנטית. האירוע גרם ליצרנים להעביר את תעשיית השוקולד מאירופה לארצות אחרות. בשנת 1998 נערך משאל עם, ואזרחי שווייץ התבקשו להביע דעתם בעניין השימוש במוצרי צמחים מהונדסים, וכמעט 70% מהם תמכו בהסרת החרם מעל מוצרים "מהונדסים".

מחלקת החקלאות ומנהל התרופות והמזון בארצות הברית (FDA) נוקטים בעמדה הפוכה לחלוטין מזו של האיחוד האירופי לגבי סיכון מזון שמכיל רכיבים שהונדסו גנטית. על פי המדיניות האמריקאית אין לסמן מזונות מהונדסים, כדי לא לעורר חשש לא מבוסס אצל הצרכנים וכדי לא לעודד באופן עקיף צריכה של מוצר חלופי על פני מוצר שסומן כמהונדס. ברחבי אסיה, ובכלל זה בהודו ובסין, הממשלות עדיין לא אישרו את רוב סוגי היבולים האלה. באפריקה, אף על פי שרבים מתושביה סובלים רעב, מחרימים לגמרי את הגידולים המהונדסים. מנהיגי זמביה וזימבבואה, שמיליונים מאזרחיהן מתים ברעב, דחו תרומה של אלפי טונות גרעיני תירס מהונדסים מחשש לבריאות התושבים.

ישראל נחשבת למדינה מובילה בפיתוח טכנולוגי חקלאי בתחום ההנדסה הגנטית, אך הוא רק למטרות מחקר. בישראל אין גידולים מהונדסים באופן מסחרי, בעיקר משום שהשוק העיקרי למוצרי החקלאות הישראלים הוא באירופה, ושם מזון מהונדס אסור. החקלאים הישראלים רוכשים זרעים בחברות מקומיות, שאינן מייצרות רק לשוק המקומי הקטן אלא גם לאירופה, והאיסורים חלים גם עליהן. לעומת זאת, מאושרים לייבוא מוצרים שונים המיוצרים בעולם וגם בארץ, המכילים חומרי גלם מהונדסים כמו תירס, סויה וקנולה.

תכנון לעתיד

היום מגדלים צמחים מהונדסים רק בעשירית משטחי החקלאות בעולם. 90% מהם גדלים בארבע מדינות, ארצות הברית, קנדה, ברזיל וארגנטינה. הרשימה המצומצמת של גידולים מהונדסים שמשמשים לייצור מזון כוללת פפאיה עמידה לנגיפים שגדלה בהוואי, תירס מתוק עם עמידות לחרקים, וכמה זנים של דלעת בעלי עמידות לנגיפי צמחים. אפילו בארצות הברית הקולות נגד מזונות שעברו שינוי גנטי נעשים רמים יותר.

הביקורת המשכנעת ביותר אומרת כי לנוכח שינוי האקלים וצמיחת האוכלוסייה הגידולים המהונדסים לא עזרו רבות למעשה להבטחת אספקת המזון בעולם, ומרבית הגידולים המהונדסים נוצרו למען החקלאים והחברות המייצרות אותם, ולכן אין לצרכנים מוטיבציה לעבור למוצרים מהונדסים. חוקרים מבינים היום שעליהם לשנות את הגישה ולהשתמש בהנדסה גנטית לשיפור האיכות התזונתית של המזון. אפשר יהיה להקטין את שטח השדות ולהגדיל את הערך התזונתי המופק מהם, וכך ישתפר הביטחון התזונתי ואספקת המזון. הקטנת עלות המזון והגדלת התועלת שהגוף האנושי יכול להפיק ממנו עשויה להועיל לצרכנים במדינות מתקדמות ובמדינות מתפתחות. החוקרים סבורים כי כמו המזון האורגני – שנחשב בריא יותר וצרכנים מוכנים לשלם עליו יותר – כך יקרה למזון המהונדס, אם יובלטו התכונות הבריאותיות שלו.

ייצור תרופות בבעלי חיים מהונדסים

יש מחלות בבני אדם הנובעות ממחסור במולקולת חלבון מסוימת או משינוי במולקולה כזאת. בחלק מן המקרים אספקת החלבון החסר עשויה לאפשר את תיקון הפגם. לדוגמה: לחולי סוכרת נותנים אינסולין ולחולי המופיליה – גורמי קרישת דם. בעבר הופקו החלבונים מרקמות של בני אדם או של בעלי חיים. אך כדי להפיק חלבונים בכמות מספקת, יש צורך בכמות עצומה של רקמות. זאת ועוד, תכשיר שמקורו ברקמה של בעלי חיים עלול להיות מזוהם (למשל, על ידי נגיפים).

ההנדסה הגנטית בחיידקים פתרה באופן חלקי את הבעיות האלה. לקראת סוף שנות השבעים של המאה ה-20 החלו לייצר את התרופה הראשונה – אינסולין – בשיטות של הנדסה גנטית (עמ' 94). באמצעות הפקת החלבון המבוקש מתאי החיידקים המהונדסים התגברו על בעיית הכמות ועל בעיית הזיהום. אולם בניגוד לאינסולין, שמופק כיום מחיידקים מהונדסים, עדיין לא נמצאה דרך לייצר בחיידקים חלבונים אחרים, כגון: גורמי קרישה של דם אדם. הסיבה לכך היא שפעילותם של גורמי קרישת הדם מותנית בשיירים שמתחברים למולקולות החלבון לאחר שהן נוצרות. החיידקים אינם מסוגלים להוסיף את השיירים האלה, ולכן החלבון שנוצר אינו פעיל. מקור ההספקה היחיד של החומרים לקרישת הדם הוא תרומות דם, שעלות הפקתם גבוהה במיוחד.

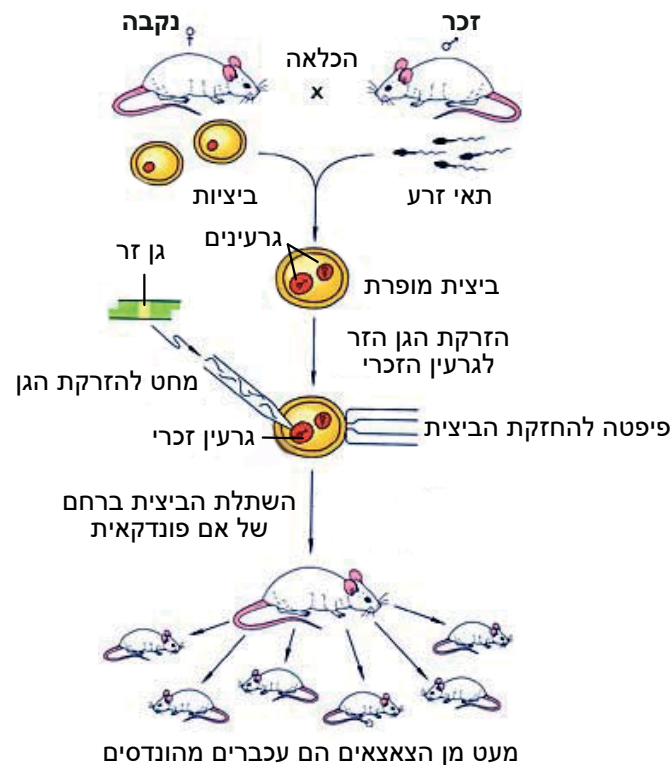
ייצור חלבונים תרופתיים בחלב או בשתן של בעלי חיים מהונדסים יכול להיות חלופה זולה יותר. אפשר לייצר חלבונים רפואיים גם בצמחים, אולם לייצורם בבעלי חיים יש שני יתרונות:

- בתאי בעלי החיים יכול החלבון הנוצר לעבור שינויים לאחר שלב התרגום בדרך דומה לזו של תא האדם.
 - יונקים יכולים להפריש את החלבון המהונדס אל מחוץ לתאים, לחלב, דבר שיכול להקל מאוד את תהליך הפקתו. זאת, בניגוד לצמחים שבהם יש בדרך כלל צורך לשבור את דפנות התאים כדי להפיק את החלבון.
- יונקים מהונדסים מפרישים כמויות גדולות של חלבונים תרופתיים בחלב שלהם. החלב נאסף, ובשיטות שונות אפשר להפריד את החלבון המבוקש. יש יתרון נוסף לייצור חלבונים על ידי בעלי חיים מהונדסים המפרישים את החלבון בחלב: בחלבונים תרופתיים שמופקים מדם יש סכנת זיהום נגיפית (למשל, נגיפי צהבת ונגיפי איידס). בחלבונים המופקים מן החלב סכנה זו אינה קיימת. החלב בעיקרו סטרילי, וסביבתו החומצית ומליחותו מסייעים בשימור המוצר.

החדרת הגן הזר לבעלי חיים

באופן עקרוני תהליך ההחדרה של גן זר לתוך תאים של בעלי חיים דומה לתהליך המתבצע בתאי צמח. עם זאת קיים הבדל מהותי בין צמחים ובעלי חיים: במצע בעל הרכב מתאים תא צמח יכול להתפתח לצמח שלם, לא כן תא בעלי חיים. רק הזיגוטה, או התאים המתקבלים בחלוקות הראשונות של הזיגוטה, יכולים ליצור יצור שלם.

השיטה המקובלת ביותר ביצירת בעל חיים מהונדס היא הזרקת הגן הרצוי לאחד הגרעינים של ביצית מופרית. למטרת ההזרקה בוחרים בעלי חיים שעברו טיפולים הורמונליים להגדלת מספר הביצים ולתזמון מועד החריגה של הביציות מן השחלות. הביציות נאספות לאחר ההפריה, בשלב שבו שני הגרעינים – גרעין תא הביצית וגרעין תא הזרע – מגיעים לנפח המרבי שלהם. באמצעות מחט עדינה מאוד מזריקים את הגן, בדרך כלל לגרעין שמקורו בתא הזרע (איור ג-19). כדי לקבל התבטאות של תכונה חדשה רצויה ברקמה מסוימת של בעל החיים המהונדס, ובעיתוי הרצוי, יש להצמיד לגן המוחדר אתר בקרה שמתאים להפעלת הגן בבעל החיים. בוחרים באתר בקרה שקובע באיזו רקמה יתבטא הגן המוחדר, וקובעים את העיתוי ואת העוצמה של התבטאות הגן. אל אתר הבקרה מצמידים את החלקים המבניים של הגן, שהם הרצפים המקודדים את החלבון הרצוי.



איור ג-19: ייצור עכברים מהונדסים על ידי הזרקת גן זר לגרעין הזכרי של ביצית מופרית

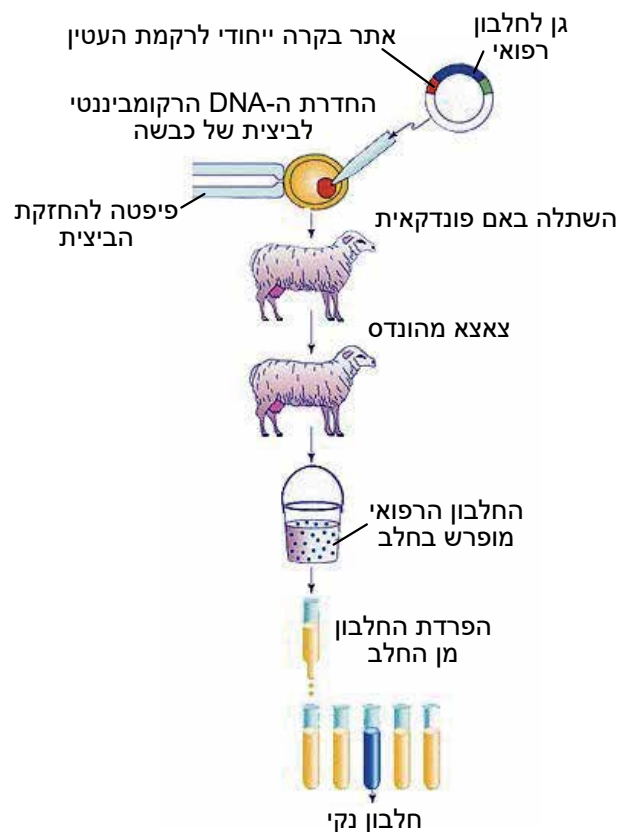
הגן הקשור לאתר הבקרה המתאים מוזרק לגרעין הזכרי של הביצית המופרית מתחת למיקרוסקופ. כדי להבטיח חדירה של הגן הזר, מזריקים מאות או אף אלפי עותקים של הגן לכל ביצית מופרית. על סמך ניסיונות רבים נמצא שעותקים רבים של הגן המוזרק חודרים לאתר אקראי בכרומוזום, וכל העותקים מגיעים בדרך כלל, לאותו אתר כשהם סמוכים זה לזה.

לאחר ההזרקה שותלים את הביציות בצינור הביציות של אמהות פונדקאיות המוכנות הורמונלית לקליטת העוברים. מהצאצאים שמתפתחים לוקחים דגימת רקמה, וממנה מפיקים DNA. בבדיקת הרקמה מבררים אם הגן שהוזרק אכן נקלט בחומר התורשתי. רק אחוז קטן של הביציות המוזרקות מתפתחות לבעלי חיים מהונדסים, אך אותה תכונה שעברה לצאצאים מצויה בכל תאי הגוף שלהם, כולל תאי המין, ולכן היא תעבור בתורשה. כדי לקבוע באיזו מידה הגן שנקלט עובר בתורשה גם לצאצאים מכליאים את הצאצאים המהונדסים עם פרטים שלא הוחדר להם הגן. לפי חוקי מנדל, בערך חצי מצאצאי ההכלאות האלה יהיו מהונדסים.

היעילות של יצירת בעלי חיים מהונדסים נמוכה מאוד. בבקר, למשל, מתוך 11,206 הזרקות התקבלו רק 7 בעלי חיים מהונדסים (0.06% בלבד). יש כמה סיבות לכישלונות ביצירת בעלי חיים מהונדסים: (א) תמותה גדולה של עוברים; רוב העוברים אינם שורדים את שלב ההזרקה וההעברה לאם הפונדקאית; (ב) רק אחוז קטן של העוברים קולטים את הגן הזר. בחיות משק, קשה מאוד לאתר את הגרעינים בביצית המופרית, ובהזרקות רבות לא מצליחים להחדיר את החומר הגנטי לגרעין. גם לעיתוי המדויק של ההזרקה יש חשיבות רבה. כדי ש-DNA זר ישתלב בגנום, ה-DNA צריך לעבור שכפול. אם ההזרקה נעשתה לאחר השכפול, הגן הזר לא ייקלט בגנום. (ג) פגיעה בהתבטאות הגן: העובדה שהגן הזר נקלט בתוך הגנום של תאי העובר באופן אקראי יכולה לגרום השלכות לא רצויות, כמו מוטציות או חוסר בקרה על ההתבטאות הכמותית של הגן. סיבה אחרת היא מספר העותקים של הגן הזר שנקלטים בגנום המאכסן. אם מספר רב של עותקים נקלט באתר אחד, יכולים להתרחש שינויים משמעותיים בארגון של אותו אזור כרומוזומי, ותהיה הפרעה בתפקודו.

פריצת דרך חלה כאשר מדענים הצליחו להפעיל גנים זרים באופן סלקטיבי, רק בתאי בלוטת השד של עכברים מהונדסים. כדי להשיג זאת הצמידו את הגן הזר לאתר בקרה המפעיל את ההתבטאות של גן החלבון בחלב העכבר. כך הובטח שהחלבון יופרש רק מרקמת העטין, שבה קיימת בקרה על תהליך הפרשת החלב בכל היונקים.

מאחר שעכברים אינם יכולים להפיק כמות גדולה של חלב, אימצו את השיטות האלה בהצלחה ליצירת כבשים מהונדסים וכן עזים ופרות מהונדסות, כולן חיות המייצרות כמויות ניכרות של חלב שאפשר להפיק אותו בנקל. אם לוקחים גנים מהונדסים שמורכבים מרצפים המקודדים את החלבונים האנושיים שברצוננו לייצר, ומזריקים אותם לביציות מופרות של חיות משק יחד עם אתרי הבקרה של הגנים המקודדים את חלבוני החלב העיקריים, אפשר לקבל נקבות מהונדסות שמפרישות בחלב כמויות גדולות של חלבונים בעלי ערך כלכלי רב (איור ג-20).



איור ג-20: ייצור חלבון רפואי בחלב של כבשה מהונדסת

הגדי המהונדס הישראלי שמייצר אלבומין של אדם

בפברואר 1995 פרסמו מדענים במנהל המחקר החקלאי (מכון וולקני בבית דגן) את דבר הולדתו של הגדי המהונדס הראשון, ובו הגן האנושי לייצור החלבון אלבומין. הוא היה היונק הגדול הראשון בישראל שבמטען הגנטי שלו היה גם גן אנושי.

אלבומין הוא חלבון שנמצא בדם בכמות גדולה, והוא שמייצב את לחץ הדם. במצבים שונים, כאשר לחץ הדם מתערער (למשל, בגלל איבוד דם כתוצאה מתאונות או מניתוחים, או כתוצאה מאיבוד נוזלים בגלל כוויות), צריך להוסיף אלבומין לדם. בדרך כלל האלבומין מופק ממנות דם, אבל יש חשש שיימצאו בו נגיפים שונים, כגון: נגיפי איידס או נגיפי צהבת.

מדענים במכון וולקני בודדו מתוך הגנום האנושי את הגן שמקודד את ייצור האלבומין. הקושי העיקרי בהמשך התהליך היה לגרום לכך שהגן יתבטא בבלוטות העטין של בעל החיים, ולא בכבד (באופן טבעי, האלבומין מיוצר בכבד של האדם). המדענים הצליחו לבדד את אתר הבקרה שאחראי להפרשת החלב בעז, והצמידו אותו לגן של האלבומין. הגן המהונדס הוזרק לתוך ביצית מופרית, שהושתלה בשחלה של אם פונדקאית. היה צריך להשתיל ביציות רבות, כי רק אחוז אחד או שניים מן הצאצאים שנולדו מן הביציות המופרות האלה אכן נשאו את הגן הזה. מאז הגדי המהונדס הראשון נולדו גדיים מהונדסים נוספים שנשאו בתאיהם את הגן לאלבומין, אבל רק עז אחת הניבה חלב שמכיל אלבומין ברמה סבירה. בתקופת ההנקה הפיקה העז 2-3 גרם אלבומין בליטר חלב.

על סמך ניסיון השיבוט של הכבשה דולי, מקווים היום להגדיל באופן משמעותי את מספר בעלי החיים המהונדסים שאפשר לייצר. היכולת לשבט פרטים נוספים מבעל חיים בוגר שתכונותיו ידועות מהווה יתרון משמעותי.

ברוב המקרים החלבונים הזרים מופרשים בחלב בכמויות קטנות, ואין הצדקה להפיק אותם מבחינה כלכלית. היום מפיקים באופן מסחרי מחלב חיות משק רק שני חלבונים: אנטיטרומבין ומעכב C1. אנטיטרומבין היא מולקולה חלבונית קטנה אשר מעכבת את פעילותם של מספר אנזימים במערכת קרישת הדם. בשל תכונותיו כנוגד קרישה משמש אנטיטרומבין תרופה במצבים שבהם קריש דם סותם כלי דם בגוף. מדענים יצרו זן של עז מהונדסת שהחלב שלה מכיל כמות גבוהה של חלבון אנטיטרומבין. מעכב C1 הוא אנזים המעורב בתפקוד מערכת החיסון (בפעולת מערכת המשלים). רמה נמוכה וירידה בפעילות האנזים מביאה להתקפים נשנים של תגובות אלרגיות המתבטאות בבצקות באיברים שונים. המחלה נדירה, ומספר החולים יחסית קטן (נחשבת כ"מחלה יתומה"). תוצאותיה גורמות למבוגרים וילדים למצוקה יומיומית עקב התקפים המשבשים את חייהם ומאיימים עליהם.

החדרת גנים גורמת למוטציות

כל החדרה של גן זר לגנום התא בתהליך של שבירה ואיחוי של ה-DNA גורמת מוטציות שיכולות להפעיל גנים שאינם אמורים לבוא לידי ביטוי, או לשתק גנים שאמורים לבוא לידי ביטוי. כאשר מוטציות כאלה מתרחשות בביציות מופרות, הן יימצאו בכל תאי הגוף שיתפתחו מן הביציות המופרות ויעברו אף לצאצאיהן. מאחר שרוב הגנום אינו מקודד לחלבונים, הרי שברוב המקרים לא תתגלה מוטציה מזיקה. אם קליטת הגן הזה תיעשה באתר המקודד לתכונה חיונית, היא תשבש את פעילותו של הגן הזה ויתקבל זן מוטנטי. מוטציה כזאת יכולה לעיתים להמית, או לגרום שינויים מורפולוגיים. במסגרת השיקולים בעד ונגד הנדסה גנטית בבעלי חיים יש לכלול את העובדה החשובה הזאת.



הנדסה גנטית בצמחים בעזרת חיידקי אגרובקטריום

סרטון אנימציה (1:40 דקות) מדגים החדרת גן לתאי צמח בעזרת פלסמיד של חיידקי אגרובקטריום (דיבוב וכתוביות באנגלית).

משפר החיטה זכה בפרס וולף לחקלאות

אחד מהזוכים בפרס וולף לחקלאות לשנת 2014 הוא פרופ' חורחה דובכובסקי מאוניברסיטת דיוויס, קליפורניה, ארצות הברית. פרופ' דובכובסקי השתמש בכלי מחקר גנומיים מתקדמים על-מנת לשבט גנים חיוניים בחיטה, ללמוד את המגוון האללי שלהם ולהחדיר את האללים הטובים ביותר לצמחי החיטה הטובים ביותר. גישה זו הביאה לשינוי דרמטי בערך התזונתי של החיטה, שינוי שהתעצם כאשר הועמד לרשות הקהילה המדעית.

שיטה משופרת להנדסה גנטית של צמחים לביו-דלק

חוקרים פיתחו כלי מדעי חדש שיוכל לסייע בהנדסה הגנטית של יבולים המשמשים להכנת דלקים במסגרת ביו-אנרגיה נקייה, "ירוקה" ומתחדשת. המערכת שפותחה תאפשר למדענים לזהות ולאפיין את תפקידם של חומרים המעבירים סוכרים בתוך התאים, חומרים המהווים מרכיבים חיוניים בביוסינתזה של דופנות התאים בצמחים. הסוכרים הנמצאים בדפנות תאים של צמחים מהווים מקור בעל פוטנציאל גדול לפיתוחה של אנרגיה ידידותית לסביבה – אם אפשר יהיה להמיר אותם ביעילות לדלקים לתחבורה (בנזין, דיזל ודלק סילוני) באופן שיהיה תחרותי מבחינה כלכלית ביחס לדלקים מבוססי פטרול.

הפתרון המלוח: השקיה במי ים מדוללים

כרבע מהאדמות החקלאיות בעולם סובלות מעלייה מתמדת במליחות הקרקע, שממיתה את הצמחייה. גנטיקאים מצאו שיטות להנדסה גנטית של אורז ועגבניות באמצעות גנים המגבירים את עמידות הצמחים למלח. צמחים כאלה יוכלו להזין מיליונים ולהציל חוות חקלאיות מהרס. המתנגדים חוששים מתופעות לוואי לא ידועות.

הפקת ביו-דלק מתאי שמרים

חוקרים מאוניברסיטת טקסס הצליחו לפתח מתוך תאי שמרים שעברו הנדסה גנטית וסוכר שולחן רגיל – מקור חדש של אנרגיה מתחדשת בצורת ביו-דלק. השמרים מייצרים שמנים ושומנים הידועים בשם ליפידים, שבהם אפשר להשתמש כתחליף למוצרים המופקים מנפט.

מי הנדס את המזון שלי?

מה הם מזונות מהונדסים, מדוע יש הקוראים לפיקוח בתחום והאם מדובר בחשש לא מבוסס ממזון שאמור להיטיב עמנו? כל מה שכדאי לדעת על המזון שכבר עכשיו מעורר סערה בעולם המדע.

האם מזונות שעברו הנדסה גנטית הם דבר רע?

רוב המחקרים שבדקו יבולים שעברו שינוי גנטי (GM) מראים שהם בטוחים לאכילה ויש בהם להאכיל מיליוני בני אדם ברחבי העולם הסובלים עכשיו מרעב. ברור שיש לבחון את הביקורת נגד השימוש ביבולים אלה, אלא שמדענים תומכי GM נוטים לעיתים לזלזל בראיות הנגדיות ואפילו להגיב להן באופן בלתי מדעי. ניתוח זהיר של הסיכונים ושל התועלת מראה שיש להרחיב הן את השימוש ביבולים והן את בדיקות הבטיחות.

האם צמחים מהונדסים-גנטית רעילים?

במאמר מובאות תוצאות סקירה שהתפרסמה בשנת 2011 בכתב העת המדעי International Environment, הכותבים סוקרים עשרות מחקרים שבדקו את רעילותם הפוטנציאלית של צמחים מהונדסים ומתמקדים בשלושה סוגי צמחים שעליהם נעשה רוב המחקר: תירס, סויה ואורז. רוב המחקרים הנסקרים בוצעו באמצעות האכלת חולדות במזון מהונדס, ומעקב במשך תשעים ימים אחר בריאותם הכללית.

אל תפחדו מהצמחים המהונדסים

האם צמחים מהונדסים גנטית מביאים בשורות חדשות לרפואה המודרנית, או שהנדסה גנטית טומנת בחובה בעיות חדשות שלא הכרנו בעבר?

לא לפחד, זה רק מזון מהונדס גנטית

האם טיפוח חקלאי מתקדם הוא הימור מסוכן, או דרך סלולה להשגת ביטחון תזונתי? ד"ר שי פליישון מסביר מדוע הנדסה גנטית היא הבחירה הטובה ביותר מבין החלופות האחרות.

חתולים זוהרים יסייעו למצוא תרופה לאיידס?

חוקרים בארצות הברית השתילו לחתולים גן של מדוזה, הגורם להם לזהור כפלואורסצנט ירוק. הטכניקה הזאת אמורה לסייע במעקב אחר פעולת גנים שונים, ובמקרה של חתולים – לסייע בחקר נגיף ה-HIV.

סלמון על מצע גנטיקה

הדג של חברת אקווא-באונוטי, סלמון AquAdvantage, הוא סלמון לְכִיס שהונדס גנטית כך שיגדל במהירות כפולה מסלמון רגיל שגדל בחוות דגים. לאחר כמעט 20 שנים של בדיקות בטיחות והליכים אחרים הצליחה החברה לקבל ממנהל המזון והתרופות האמריקאי (ה-FDA) את האישורים הדרושים לשיווק הסלמון המושבח שלה. ההמתנה הארוכה וההשקעה הכספית העצומה בדגים המושבחים הביאו את החברה לסף פשיטת רגל, אך היא הצליחה להישאר עם הראש מעל המים וכעת אולי תתחיל להרוויח מהפיתוח שלה.

אל-יתוש

חוקרים פיתחו יתושים מהונדסים למלחמה בקדחת דנגי.

היתושים יצילו אותנו מפני... היתושים

עשרות ניסויים עם יתושים שעברו שינוי גנטי נערכו ברחבי העולם בחמש השנים האחרונות בניסיון לבלום את התפשטותן של מחלות הקשורות ביתושים. ניסויי שדה הפחיתו בהצלחה את אוכלוסיות היתושים המקומיות ביותר מ-90% בלי שום סימן לתופעות לוואי מדאגות.

חרקים ישמשו "בתי חרושת" לחלבונים אנושיים

זחלי עש הכרוב קנו להם שם רע בשל הרגלי האכילה ההרסניים שלהם, אולם מחקר חדש של מדעני מכון ויצמן מראה כי ייתכן שאפשר יהיה לנצל אותם כבית חרושת שימושי ויעיל לייצור חלבונים אנושיים.

ריפוי גני

גן שהתרחשה בו מוטציה אינו יכול לייצר את החלבון שהוא אחראי לייצורו, או שהוא מייצר חלבון שפעילותו פגומה. מוטציות בגנים, שמועברות מדור לדור, הן הסיבה למחלות תורשתיות. במקרים רבים הטיפול במחלות האלה מתמקד בהקלת תסמיני המחלה ולא במה שגורם לה. לדוגמה, הצטברות של פנילאלנין וחומצה פנילפירובית בגוף גורמת למחלת הפנילקטנוריה, שבאה לידי ביטוי בפיגור שכלי. הצטברות הפנילאלנין בגוף באה כתוצאה ממוטציה שגורמת חסר באנזים פניל אלנין הידרוקסילאז, אבל הטיפול במחלה אינו מתקן את השיבוש – אלא עוקף את הגורם למחלה על ידי דיאטה של מזון שאין בו פנילאלנין. במחלה אחרת, מחלת

הגושה, מטפלים בחולה על ידי אספקת החלבון החסר, ולא בגורם המחלה. ואולם יש מחלות ששיטות הטיפול האלה אינן אפשריות כלל. במחלת הסיסטיק פיברוזיס, למשל, אין אפשרות לספק לחולה את החלבון התקין שחסר לו, באופן שהחלבון יכנס לתאי הריאה ויתפקד שם. במקרים כאלה מנסים למצוא פתרון אחר – לתקן את השיבוש הגנטי. הטיפול המוצע למחלות כאלה הוא הריפוי הגני.

ריפוי גני הוא למעשה שימוש בחומר הגנטי כתרופה למחלה. בריפוי גני מחדירים לגוף גן תקין שמחליף את פעולתו של הגן הפגום, או מוסיפים עותק תקין של הגן לתאים בלי לגעת בגן הפגום. הגן התקין מייצר את החלבון החסר בתאים, והחלבון מתפקד בהתאם לדרישות התא. באמצעות שיטות ההנדסה הגנטית נפרצו דרכים חדשות להכרת הגנום של האדם ולהבנת דרך פעולתם של הגנים. השאלה היא אם אפשר לנצל את הידע כדי לרפא מחלות תורשתיות; האם אפשר לתקן את הגן הפגוע?

לאחר שהצליחו ליצור עכברים מהונדסים, שבהם הושתל הגן להורמון הגדילה של אדם, החליטו המדענים לנסות לרפא פגם תורשתי של עכברים שלוקים בגידולם בגלל מוטציה בגן המקודד להורמון הגדילה. לשם כך לקחו עכברים ננסיים, שהיה חסר להם הורמון הגדילה, והזריקו להם גן אנושי שמקודד להורמון הגדילה. את הגן הזריקו לביציות מופרות שנלקחו מעכברים ננסיים. ואכן הגן המושתל התבטא בעכברים שהתפתחו מן הביציות האלה, ואף בצאצאיהם. בניסוי הזה התערבו המדענים בהרכב הגנום של העכברים הננסיים כדי לתקן באמצעות גן תקין את הפגם בגן להורמון הגדילה. לכן קראו לתהליך הזה ריפוי גני.

ריפוי גני - בתאים עובריים או בתאים סומטיים?

אם הריפוי הגני מתבצע בתאי הרבייה או בעובר בשלבי התפתחותו המוקדמים, הגן שמוחדר עובר שכפול, יחד עם הגנים המקוריים, ומגיע לכל תא בגוף, כולל לתאי הרבייה. כל טיפול גנטי ברמת תאי הרבייה או בתאים עובריים יכול לבוא לידי ביטוי גם בדורות הבאים. אדם שחולה במחלה תורשתית בוודאי ישמח לחסוך את הסבל מצאצאיו ויבקש לבצע ריפוי גני בתאים העובריים שלהם. ובכל זאת גורסים המתנגדים כי מלבד האפשרות להשפעות בלתי ידועות על התפתחות העובר – קיימת גם סוגיה אתית מוסיפה: האם הטכניקה הזאת תשמש רק למטרה שלשמה נועדה, רק לריפוי מחלות גנטיות? חששם המובן הוא שאם ייפרץ המחסום האתי, המונע כיום ניסויים מעין אלה בבני אדם, עלולות להיות לכך תוצאות הרסניות. נוכח שאלות מוסריות כאלה אין היום ריפוי גני בתאים עובריים, אבל נערכים ניסויים בריפוי גני בתאים סומטיים (כל תאי הגוף באדם שאינם תאי רבייה).

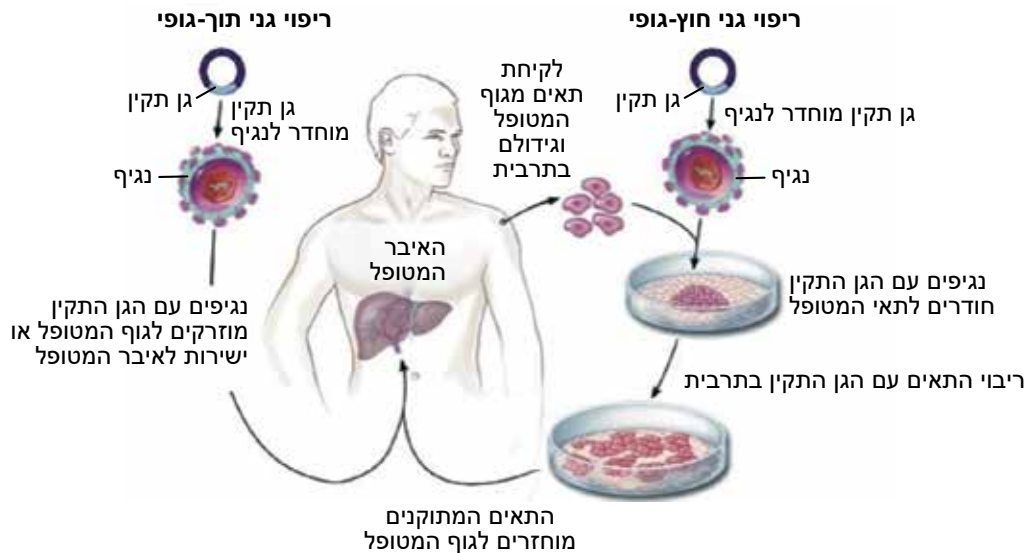
הריפוי הגני באמצעות החדרת גן תקין לתאים סומטיים נעשה אפשרי רק לאחר שפותחה הטכנולוגיה ליצירת בעלי חיים מהונדסים ולאחר שפותחו שיטות ההפריה החוץ-גופית באדם. תיקון שנעשה בתאים סומטיים אינו עובר בתורשה, ומתבטא רק בפרט שבו התבצע התיקון. שיטת הריפוי הזאת אינה מעוררת התנגדות רבה, שכן היא מהווה חיזוק והרחבה של דרכי הרפואה המסורתית.

ריפוי גני של תאים סומטיים מוגבל לכמה מחלות תורשתיות; רק במקרים שהאתרים שנפגעו הם רקמות שיש אליהן גישה אפשרית, ורק אם הבסיס הביוכימי של המחלה מוכר היטב, ואם הגן המקודד לחלבון הפגוע כבר בודד ושובט בעבר. מכיוון שעיקר הניסיונות מתמקדים בהוספת גן תקין לתאים, ולא בהחלפת הגן הפגום, המחלות האלה חייבות להיות רצסיביות: רק במחלה רצסיבית די בהוספת הגן התקין כדי לגרום את השינוי הרצוי. דוגמאות למחלות כאלה, שמתקיימים בהן שלושת התנאים, הן מחלת הכשל החיסוני המשולב החמור (ראו עמ' 123, הצלחה ראשונה בריפוי גני) ומחלת הפנילקטנוריה (חסר באנזים שאחראי לפירוק החומצה האמינית פניל אלנין לטירוקסין; החולים סובלים מפגיור שכלי). בריפוי הגני של המחלות האלה מוציאים דגימה של רקמה מן החולה, מגדלים אותה בתרבית רקמה, "משתילים" גן תקין בתאי הרקמה ומחזירים אותה לגוף החולה. מכיוון שאת התאים הוציאו מגוף החולה עצמו, סביר להניח שהגוף לא ידחה את התאים המושתלים. תאי השתל אמורים להתרבות ולהתחיל לספק לרקמה כולה את התוצר של הגן שהיה חסר.

החדרת הגן התקין

שתי שיטות עיקריות משמשות בריפוי גני:

- **שיטה חוץ-גופית** – מוציאים מן הגוף את התאים שאליהם רוצים להחדיר את הגן, מחדירים לתוכם את הגן ומחזירים את התאים ה"מתוקנים" לגוף (איור ג-21).
- **שיטה תוך-גופית** – את הגן התקין מחדירים לתאים בהיותם בתוך הגוף, בדרך כלל, ישירות אל תוך הרקמה שבה רוצים לטפל (איור ג-21).



איור ג-21: ריפוי גני באמצעות נגיף בשיטה חוץ-גופית (ימין) ובשיטה תוך-גופית (שמאל)

הבחירה בין שתי השיטות תלויה באופייה של המחלה. כך או כך, בשתי השיטות הבעיה העיקרית היא: כיצד להחדיר את הגן התקין לתוך התא, ואיך להבטיח שהגן ישתלב ב-DNA המקורי שבתא ויתחיל לתפקד כמו יתר הגנים לאורך זמן. יש כמה דרכים להחדיר את הגנים לתאים – למשל: הזרקת נגיפים, הזרקת ישירה של פלסמיד, והחדרת ליפוזומים.

החדרת הגן בעזרת נגיפים

כדי שגן ישתלב ב-DNA של תא ויתפקד כהלכה, הוא צריך לחדור דרך קרום התא ודרך קרום הגרעין אל תוך הגרעין. לשם כך צריך להרכיב את הגן על "כלי רכב" מתאים, שיכול לחדור ביעילות אל התאים. כלי רכב כאלה הם הנשאים. בטבע יש נשאים ביולוגיים "שמתמחים" בהחדרת הגנים שלהם לתאים וגורמים לתאים לבטא את הגנים. הנשאים האלה הם הנגיפים (ראו עמ' 96).

לכל נגיף יש ליבה שבתוכה החומר התורשתי (DNA או RNA) ומעטפת חלבונית. התכונה המובהקת של הנגיפים היא היותם טפילים מוחלטים. אין להם יכולת לשכפל את עצמם ולייצר חלבונים, ועל כן הם פיתחו את היכולת לחדור לתא של אורגניזם אחר (מאכסן). הנגיפים משתכפלים בעזרת המנגנונים של תאי המאכסן, ובשלב מסוים הם פורצים את קרום התא, מתפזרים בדם וחוזרים לתאים אחרים.

העיקרון של הריפוי הגני מתבסס על האפשרות להדביק תאים של אדם חולה בנגיף שנושא עותק תקין של הגן הרצוי, ועל ידי כך לרפא אותם. הבעיה המרכזית היא שברוב המקרים הנגיפים חוזרים לתאים ספציפיים; כל נגיף ותאי המטרה שלו. נגיפים מסוימים פוגעים רק בתאי מערכת העצבים, ונגיפים אחרים, כמו: נגיף HIV (נגיף

האיידס), מדביקים רק תאים של המערכת החיסונית מסוג T. יתרה מזו, ידועים מקרים רבים שהנגיף שחודר לתא מצרף את הגנים שלו לתוך הגנום של התא המודבק, וכך הנגיף נעשה חלק בלתי נפרד מהגנום של התא. נגיף שמשמש כנשא בריפוי גני חייב לעבור טיפול מיוחד כדי למנוע נזק אפשרי לתא המאכסן. בשלב הראשון מסלקים מהגנום של הנגיף את הגנים שאחראיים לאלימותו, ומחדירים לתוכו את הגן התקין. בשלב השני, מחדירים את הנגיף ומנצלים את יכולתו הטבעית של הנגיף להחדיר את החומר התורשתי שלו, לרבות הגן התקין, לתוך הגרעין של התאים ואף לכרומוזומים שלהם. הגן התקין משתלב בגנום של התאים, והחלבון מתחיל לבוא לידי ביטוי. הנגיף עצמו אינו מסוגל להשתכפל, והוא נעלם – ומשאיר אחריו רק את הגן התקין. כך יכולים הנגיפים להחדיר לתאי המטרה את הגן המתאים בלי לגרום כל מחלה.

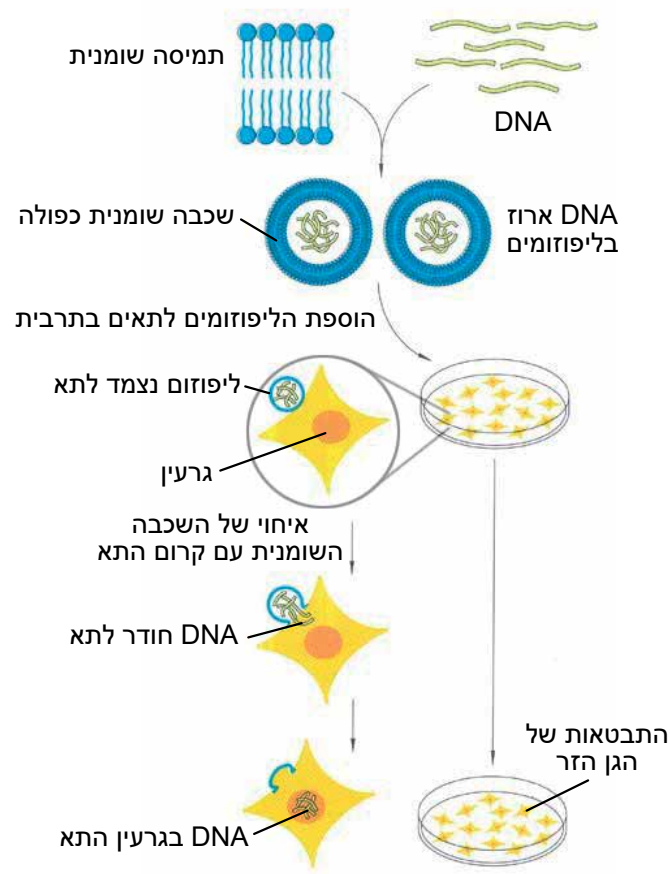
משלל הנגיפים הקיימים, שני סוגי נגיפים משמשים בריפוי גני: נגיפי רטרו (רטרו-וירוסים) ונגיפי אֶדְנו (אדנו-וירוסים).

נגיפי רטרו – נגיפי ה-RNA מקבוצת הרטרו – שימושיים ביותר בהעברת גנים בשל שתי תכונות: (א) הגנום של הנגיף (שמתועתק במהופך ל-DNA) משתלב בכרומוזום של התא ביעילות ונשאר בתוכו בצורה יציבה; (ב) נגיפי רטרו מסוגלים לחדור לסוגי תאים רבים. עם זאת, לשימוש בנגיפי רטרו גם כמה חסרונות: (א) נגיף רטרו משלב את הגנום שלו במקומות אקראיים בכרומוזום, ולכן עלול לפגוע בפעילותם של גנים מסוימים או להפעיל גנים בלתי רצויים; (ב) הגן התקין נוסף על הגן הפגום, ולא מתרחש תיקון ממשי. הריפוי הגני מתרחש ברמה של התוצר החלבוני, אבל הגן הפגום נשאר כמות שהיה. אילו אפשר היה להחדיר את הגן התקין, בצורה מכוונת, אל מיקומו הכרומוזומי הנכון, ובתוך כך להחליף את העותק הפגום, היה בכך תיקון מלא של הפגם הגנטי; (ג) נגיפי רטרו אינם יכולים לחדור דרך קרום הגרעין, ויכולים לחדור לגרעין רק בשלב של חלוקת הגרעין, כשקרום הגרעין נעלם. הם יעילים אפוא רק בעיתוי מסוים במחזור החיים של התאים, ורק בתאים שמתרבים באורח סדיר.

נגיפי אדנו – משמשים גם הם נשאים של גנים בריפוי גני. הם יעילים במיוחד משום שהם חודרים בנקל לכל תא. נגיפי אדנו אינם מחדירים את המטען התורשתי שלהם למטען התורשתי התאי, והוא נשאר כיחידה עצמאית. השימוש בנגיפי אדנו מונע אפוא את הסיכון של החדרת גנים אקראית לתוך גנים חיוניים של התא. אולם זהו גם חסרונו, שכן הגנים שהוחדרו אינם משוכפלים עם כרומוזומי התא ולכן הביטוי שלהם זמני בלבד. עם זאת, בטיפולים מסוימים דרוש רק ביטוי זמני. יתרון נוסף של נגיפי אדנו הוא יכולתם להחדיר את המטען הגנטי שלהם גם לתאים שאינם מתחלקים. אלא שנגיפי אדנו מעוררים בגוף תגובה חיסונית חריפה נגד התאים המטופלים, וזהו חיסרון ניכר.

נשאים אחרים להחדרת הגן

למרות היתרונות של הנגיפים כנשאי גנים לצורכי ריפוי, מנסים החוקרים לפתח נשאים שאינם נגיפיים, משום שאי אפשר לחזות באופן מלא את התנהגותם של הנגיפים. פיתוח נשאים שאינם נגיפים מתמקד בפלסמידים. את הגן שמבקשים להחדיר לתאים מחדירים לפלסמיד באתר מיוחד. אולם הפלסמיד, כמו כל מולקולת DNA, עובר בקושי דרך קרום התא, וכדי לאפשר לו לחדור לתא "כולאים" אותו בתוך בועית סינתטית זעירה שנקראת **ליפוזום**. הליפוזום בנוי ממולקולות שומניות ומסוגל לחדור מבעד לקרום השומניים של התא (איור ג-22). ברוב המקרים גנים שמוחדרים על ידי ליפוזומים אינם מתחברים למטען התורשתי של התא, וחודרים לתאים ביעילות נמוכה בהרבה מזו של נגיפים. למרות זאת, בשל בטיחותם, הליפוזומים מהווים אמצעי החדרה מקובל בריפוי הגני לא פחות מאשר הנגיפים.



איור ג-22: החדרת גן בעזרת ליפוזומים

הצלחה ראשונה בריפוי גני – פריצת הבועה הסטרילית

הניסוי הראשון בריפוי גני בבני אדם בוצע בשנת 1990 בזוג תאומות מאוהיו. שתי הילדות נולדו עם גן פגום שהרס את המערכת החיסונית שלהן, וחלו במחלה שנקראת SCID – כשל חיסוני משולב חמור. בעבר גידלו תינוקות כאלה בתוך בועה פלסטית סטרילית שמנעה מהם מגע עם סביבתם, ולכן הם נקראו "ילדי בועה". ללא הגנה מתאימה, תינוקות כאלה עלולים למות מזיהום, גם הקל ביותר. כ-25% ממקרי המחלה הזאת נגרמים כתוצאה ממוטציה בגן המקודד לאנזים אדנוזין דה-אמינאז (ADA). לאנזים הזה יש תפקיד מפתח ביצירת תאי דם לבנים מסוג T – התאים המרכזיים במערכת החיסון שמשתתפים בהגנה מפני זיהומים. ללא האנזים, מתים תאי T עם היווצרותם במוח העצם, והגוף נשאר ללא "לוחמים" נגד זיהומים.

יש שלוש גישות מקובלות לטיפול במחלה, והן: השתלת מוח עצם, ובו תאי גזע תקינים של תאי הדם; עירוי של תאי דם תקינים; והזרקה של האנזים עצמו. כדי להשתמש בשיטת הטיפול הראשונה דרוש תורם מתאים; לשתי השיטות האחרות יש השפעה קצרת מועד, ועל כן יש לחזור עליהן פעם כפעם. בשל מגבלותיהם של הטיפולים המקובלים, ומכיוון שהמחלה נגרמת על ידי גן יחיד ובאה לידי ביטוי בתאים נגישים, היא היוותה מטרה ראשונה להתמודדות באמצעות ריפוי גני.

הריפוי כלל שלושה שלבים:

- א. נטילת דגימה של תאי T מן החולה
- ב. החדרת גן תקין המקודד לאנזים ADA לתאי ה-T
- ג. החזרת התאים המתוקנים לגוף החולה.

לתאי T שנלקחו מגופן של התאומות הוחדר גן תקין באמצעות רטרו-וירוס. תאי ה-T המהונדסים גודלו במעבדה והוחזרו לגופן של הילדות באמצעות עירוי (איור ג-21, ריפוי חוץ-גופי). התאים שקלטו את הגן התקין התחילו לייצר את האנזים החסר, ולאחר כמה טיפולים התחזקה המערכת החיסונית של הילדות, מצבן השתפר והן יצאו מן הבועה והחלו לחיות חיים רגילים. לא לאורך זמן: משך החיים של תאי T הוא חודשים ספורים, ויש לחזור על התהליך מדי כמה חודשים.

בשנת 1995 הושגה התקדמות נוספת. החוקרים לקחו דגימות דם ממוח עצם של שלושה תינוקות חולים ובודדו מהם את תאי הגזע. מתאי הגזע האלה מתמיינים כל תאי הדם, בכללם תאי T. את תאי הגזע הם הרבו במעבדה וחשפו אותם לרטרו-וירוס, שהושתל בו עותק תקין של הגן האנושי לאנזים ADA. את התאים בעלי הגן התקין הזריקו למחזור הדם של התינוקות החולים. החדרה של הגן התקין לתאי הגזע יצרה מאגר קבוע ומתחדש של תאים שנושאים את הגן התקין. התאים המהונדסים התרבו, ובסופו של דבר החליפו את התאים בעלי הגן הפגום.

במקביל לטיפול הגני קיבלו הילדים גם טיפולים אחרים, שבהם הוזרק להם האנזים ADA. הודות לטיפול הגני יכלו הרופאים להפחית במשך הזמן את מינון האנזים המוזרק עד למחצית הכמות. לאחר שנתיים של טיפול נמצאה עלייה במספר התאים שנשארו את הגן התקין, וניכרה התאוששות של מערכת החיסון.

כישלונות בריפוי גני

הריפוי הגני נחל גם כמה כישלונות. בספטמבר 1999 מת חולה שסבל מבעיית כבד נדירה והשתתף בניסוי שנועד להחדיר לגופו גן תקין. מצבו של ג'סי ג'לסינגר בן 18 מאריזונה, ארצות הברית, לפני הטיפול הגני לא היה קשה במיוחד: הכבד שלו לא פירק אמוניה, אבל רמות האמוניה היו בשליטה באמצעות תזונה ותרופות. שעות ספורות לאחר אחד הטיפולים מת ג'סי פתאום.

כשג'סי התנדב לניסוי הקליני, מערכת העברת הגנים הנפוצה הייתה אֶדְנו-וירוס, נגיף שבמצבו הטבעי יכול לגרום לזיהומים קלים בדרכי הנשימה העליונות של בני אדם. מדענים באוניברסיטת פנסילבניה קבעו אז שלהזרקה הנגיף לכבד, שבו מצויים התאים האמורים לייצר את האנזים החסר אצל ג'סי, היה הסיכוי הגבוה ביותר להצלחה. הם החדירו העתק פעיל של הגן המקודד את האנזים לתוך אדנו-וירוס, שחלק מן הגנים שלו הוסרו, והזריקו טריליון נגיפים, שכל אחד מהם נושא את המטען המיועד, היישר לכבד.

כמה מן הנגיפים נכנסו לכבד כמתוכנן, אבל נגיפים רבים הדביקו מספר עצום של תאי מערכת החיסון. מערכת החיסון הגיבה בהשמדת כל התאים המודבקים. תהליך אלים זה הרס, בסופו של דבר, את גופו של ג'סי. התגובה הפראית של מערכת החיסון הפתיעה את החוקרים. תופעות לוואי חמורות כאלה לא היו לאיש מ-17 המתנדבים שקיבלו טיפול כזה לאותה הפרעה. החוקרים ידעו שאדנו-וירוס יכול לעורר תגובה חיסונית, אבל לא שיערו כמה מסוכנת היא יכולה להיות. בדיעבד נראה שהיה נכון להזריק פחות נגיפים הנושאים את הגן לגופו, מיליארדים במקום טריליון.

מותו של ג'סי לא היה האירוע הטרגי היחיד בריפוי הגני. טיפול ב-SCID (כשל חיסוני משולב חמור) גרם מייד אחר כך לחמישה מתוך 20 ילדים לחלות בלויקמיה, שאף הביאה לידי מותו של אחד מהם. שוב התברר שהאשם היה במערכת העברת הגנים. במקרה זה רטרו-וירוס. הדבר נגרם משום שמקום החדרת הגן המרפא ל-DNA אקראי, קורה לעיתים שהרטרו-וירוס מחדיר את המטען לתוך גן שבנסיבות מסוימות עלול לגרום לסרטן.

כישלונות אלה הבהירו עד כמה ההצלחות המוקדמות של ריפוי גני בשנות ה-90 של המאה ה-20 עוררו ציפיות גבוהות מדי בקרב רופאים וחוקרים (עד כדי ביטחון עצמי מופרז). מייד כשנודע על מותו של ג'סי הורה מנהל המזון והתרופות האמריקאי (ה-FDA) להפסיק את הניסויים בריפוי גני בבני אדם, והחוקרים נדרשו להסביר למטופלים את הסיכונים הכרוכים בניסוי. המתנגדים לריפוי הגני ראו בכך הוכחה ניצחת לצדקת הביקורת

שלהם, והקימו קול מחאה. המקרים האלה ומכשולים אחרים גרמו להפסקת הטיפול הגני למשך 15 שנים. בשנים אלה המדענים חשבו מחדש על כמה מגישותיהם וחיפשו דרכים פחות מסוכנות לריפוי גני. החוקרים ריסנו את תקוותיהם וחזרו למחקר הבסיסי. הם בחנו תופעות לוואי קטלניות אפשריות ולמדו כיצד למנוע אותן. והם ייחדו תשומת לב רבה לפיתוח נגיפים יעילים ואמינים לנשיאת הגנים.

דור שני של ריפוי גני

בשבע השנים האחרונות טיפול גני השיב את הראייה ל-40 אנשים שסבלו מסוג מסוים של עיוורון תורשתי. רופאים קיבלו תוצאות חסרות תקדים בטיפולים ביותר מ-120 חולים בסוגים שונים של סרטן דם הודות לטיפול גני, ומקצת החולים נשארו נקיים מסרטן שלוש שנים לאחר הטיפול. ריפוי גני עדיין אינו זמין בבתי חולים ובמרפאות, אבל מצב זה עומד להשתנות בעשור הקרוב. הריפוי הגני מתחיל סוף-סוף, אחרי השנים האבודות, למלא את ייעודו כטיפול רפואי מהפכני.

כשהכירו החוקרים את נטייתו של אדנו-וירוס לעורר תגובות חיסוניות קטלניות ואת נטייתו של רטרו-וירוס לעורר סרטן, הם החלו לבחון אם נגיפים אחרים מקנים תוצאות טובות יותר. עד מהרה הם התמקדו בשני מועמדים נפוצים מתאימים.

האחד הוא נגיף AAV (Adeno-associated Virus) הקשור לנגיף האדנו, נגיף שאינו גורם מחלות לבני אדם וגורם לתגובות חיסוניות מזעריות. AAV מחדיר את החומר הגנטי בלי לשלב אותו בגנום של התא המאכסן. ה-DNA של הנגיף נכנס לגרעין התא, שם הוא יוצר אפיזום (מולקולת DNA מעגלית קטנה) הפועל ככרומוזום קטן נפרד. חדירה כאפיזום מונעת היווצרות מוטציות המתרחשות כאשר חומר גנטי משתלב בגנום באזור שמפעיל התבטאות מחלה, כמו למשל הפעלת אונקוגן במחלות סרטן. אולם יש לכך גם חיסרון. האפיזום לא עובר חלוקות עם התא המתחלק ונעלם במשך הזמן. נשא נגיפי זה מתאים לכן רק לטיפולים בתאים שאינם מתחלקים – למשל תאי רשתית העין או תאי מערכת העצבים המרכזית. חוקרים זיהו סוגים שונים של הנגיף שמתאימים לתאי גוף שונים. כעת נערכים מחקרים על ריפוי גני באמצעות AAV של כמה מחלות הפוגעות במוח, בהן פרקינסון ואלצהיימר, וכן של המופיליה, ניוון שרירים, כשל לבבי ועיוורון הנגרם כתוצאה מפגיעה ברשתית.

מערכת העברת הגנים השנייה מתבססת על גרסה של HIV, הנגיף הגורם לאיידס, שמקצת הגנים שלו סולקו. HIV שייך למשפחה של רטרו-וירוסים הקרויה לנטי-וירוסים (lentivirus), המסוגלת להתחמק ממערכת החיסון. אחרי שמרחיקים את הגנים שעושים את HIV קטלני, נותרת מעטפת נגיפית בעלת קיבול גדול. שלא כמו AAV שהוא נגיף קטן, ה-HIV גדול דיו לשאת גנים רבים או גן אחד גדול. הוא אינו רעיל ואינו יוצר תגובת נגד חיסונית.

לנטי-וירוסים משלבים את ה-DNA שלהם בגנום תא המאכסן. לאחר שהנגיף מתעתק במהופך את ה-RNA ל-DNA, ה-DNA נכנס לגרעין התא ומשתלב בגנום התא. שילוב זה מבטיח את העברת הגן שהשתלב לתאי הבת. לנטי-וירוס מתאים לכן גם לריפוי רקמות שבהן התאים מתחלקים. את הנגיף המהונדס אפשר להזריק ישירות למטופל, או לחילופין – לתאים שהוצאו ממנו, ואת התאים שקלטו את הנגיף המהונדס מזריקים למטופל (איור ג-21). הסיכון שהמטופל יחלה כתוצאה ממוטציה באזור השתלבות ה-DNA קטנה, מאחר שלנטי-וירוסים, שלא כמו הרטרו-וירוסים, אינם נוטים להשתלב באונקוגנים או בגנים אחרים הגורמים סרטן.

ריפוי גני של מחלת הסרטן

מעודדים מן ההצלחות, עברו החוקרים מעיסוק במחלות תורשתיות לניסיונות לתקן נזקים גנטיים בתאים סומטיים, נזקים שקורים באופן טבעי עם הזמן, ובמיוחד בחולי סרטן. למרות שהריפוי הגני נועד בעצם לטיפול במחלות תורשתיות, רוב היישומים כיום (90%) הם דווקא בחולי סרטן.

טיפול מהפכני לחולי לוקמיה הציל את אמילי

ביולי 2017 המליצו מומחי ה-FDA לאשר טיפול פורץ דרך שמהנדס גנטית תאים שהוצאו מגופו של המטופל. אמילי וייטהד הייתה בת חמש במאי 2010, כשאובחנה כחולת לוקמיה לימפובלסטית חריפה (ALL). לוקמיה היא קבוצה של מחלות ממאירות המתפתחות בתאים הלבנים של מערכת החיסון. בלוקמיה מסוג ALL נפגעים התאים הלבנים מסוג B. שתי סדרות של טיפולים כימותרפיים לא הועילו, ובאביב 2012 אמילי עברה סדרה שלישית. "היא קיבלה מנת כימותרפיה שהייתה הורגת מבוגר, אבל עדיין סבלה מגרורות בכליות, בכבד ובטחול," אמר ברוס לוין, אחד הרופאים שטיפלו בה. הילדה הייתה על סף מוות.

הרופאים בבית החולים לילדים של פילדלפיה, שבו טופלה, בשיתוף חוקרים מאוניברסיטת פילדלפיה, החליטו לנסות ולהעניק לאמילי טיפול חדשני. התהליך התחיל באיסוף תאי T הורגים של אמילי. לתאים אלה תפקיד חיוני בהשמדת תאים סרטניים, אך תאי ה-T של אמילי לא זיהו את תאי ה-B הסרטניים שבגופה כפגועים, ולכן תאי ה-B יכלו להמשיך ולשגשג. תאי ה-T שהוצאו מגופה הונדסו בעזרת נגיף מסוג לנטי-וירוס, כך שיזהו את התאים הנגועים במחלה הסרטנית. התאים המהונדסים הוחזרו לגופה של אמילי.

תופעות לוואי חמורות, ובהן חום גבוה, צניחה פתאומית בלחץ הדם וגודש בריאות, כמעט הרגו את אמילי. אחרי התחלה כה קשה, למרבה המזל, הגיבה אמילי לטיפול ומצבה השתפר במהירות. שלושה שבועות אחרי הטיפול נשאו רבע מתאי ה-T במוח העצם שלה את התיקון הגנטי. תאי ה-T שלה התבייתו על תאי הסרטן, שעד מהרה נעלמו. "באפריל היא הייתה קירחת," מזכר הרופא שטיפל בה, "ובאוגוסט הלכה ליומה הראשון בכיתה ב'". היום, חמש שנים וחצי אחרי הטיפול, אמילי מוגדרת כנקייה מסרטן. במערכת החיסון שלה יש עדיין צאצאים של תאי ה-T המהונדסים, המסוגלים להשמיד כל תא B סרטני אם יופיע בגופה.

אמילי וייטהד, כיום (2017) בת 12, הגיעה עם הוריה לפגישת פאנל המומחים של ה-FDA כדי לנסות ולשכנע אותם בצדקת הטיפול. פאנל המומחים לא פקפק בשאלת הצלת החיים הפוטנציאלית של הטיפול החדש, ועם זאת עלו תהיות בגלל תופעות הלוואי הקשות, כמו אלו שחוותה אמילי, ובגלל ההשלכות ארוכות הטווח של התאים המוזרקים לגוף, שאולי יגרמו לגידולים סרטניים או למחלות אחרות. עד כה התבדו החששות הללו, ואף אחד מהחולים שעברו את הטיפול החדשני לא סבל ממחלות נוספות.

את הטיפול הגנטי פיתחו חוקרים מאוניברסיטת פנסילבניה והוא רשום כפטנט על שם חברת נובארטיס, אחת מחברות התרופות הגדולות בעולם. פיתוח ויישום הטיפול בסרטן באמצעות התערבות בתאי מערכת החיסון – שדורש משאבים כספיים ומחקריים רבים – הוא כיום בעיקר נחלתם של יצרניות התרופות הגדולות. אבל את השיטה פיתחו במקור חוקרים ישראלים במכון ויצמן ברחובות: פרופ' זליג אשחר, חוקר מהמחלקה לאימונולוגיה במכון ויצמן למדע וחתן פרס ישראל, ופרופ' גידי גרוס, דיקן הפקולטה למדעים וטכנולוגיה במכללה האקדמית תל חי ובעבר דוקטורנט של אשחר. כבר בסוף שנות ה-80 פיתחו השניים שיטה חדשנית לטיפול בסרטן שהתבססה על תאי T שבאמצעות הנדסה גנטית צוידו בקולטנים בעלי יכולת לזהות תאים סרטניים והפעלת מערכת החיסון כדי להילחם בהם.

הטיפול המהפכני, שבו מושתלים גנים ישירות לתוך תאי הדם של החולה והופכים אותם לאלימים כך שהם מצליחים לחסל לגמרי את הסרטן, מתבצע כבר כשנה גם במרכז הרפואי שיבא בישראל. עד יולי 2017 קיבלו אותו 17 חולים במחלות סרטן של תאי דם לבנים מסוג B, ושיעור ההצלחה הדהים את המומחים: 75% מהחולים שהיו במצב אנוש וכבר לא הגיבו לכל טיפול – הצליחו להתגבר על המחלה. במסגרת הניסוי בשיבא, הטיפול בישראל מתבצע גם במטופלים עד גיל 50 הסובלים מסרטני הדם של תאי B.

סוגי סרטן רבים מתפתחים כתוצאה ממוטציות המתרחשות בתאים הסומטיים של הגוף במהלך החיים של הפרט. במקרים רבים, הגן הפגום שייך לקבוצת "גנים מדכאי סרטן", והוא מקודד לחלבון p53, שנקרא "שומר

הגנום". החלבון הזה מאתר טעויות ברצפי ה-DNA ומפעיל את מנגנוני התיקון. אבל במקרה שהגן פגום, מצטברות מוטציות שעלולות לפגוע במנגנון החלוקה של התא ולהפוך את התא לסרטני. החדרת גן p53 תקין לגופו של חולה יכולה לעכב גידולים סרטניים. חברת התרופות הצרפתית RPR Gencell השתמשה ברטרו-וירוסים לטיפול בחולי סרטן ריאות. אחרי הזרקת של הגן p53 נרשמה עצירה בגידול, והגוף פירק אותו.

סוגי סרטן שונים מתפתחים כתוצאה ממוטציות המשבשות את מנגנון הבקרה על חלוקת התא. הריפוי הגני למחלות סרטן מסוג זה אינו מתמקד בהחדרת גן תקין לתאי סרטן, אלא בהחדרת גנים שיגרמו לתאים הסרטניים להיות פגיעים לטיפולים הכימותרפיים.

מנ הרשת



מתג לכיבוי ולהדלקה של גנים

הניסיונות המוקדמים בטיפול גני נתקלו בבעיות, בין השאר משום שחוקרים לא יכלו לשלוט במידת הפעילות של הגנים שאך זה הוחדרו. חוקרים מנסים להתגבר על הבעיה באמצעות פיתוח מתגים מולקולריים שיוכלו לווסת באמינות מרבית את תפקוד הגן המושלל בשליטה מרחוק. כמה מן המתגים הגניים האלה כבר שולבו בניסויים קליניים בבני אדם עם טיפולים חיסוניים ניסיוניים נגד סרטן.

המערכה השנייה של הריפוי הגני

התרגשות מוקדמת לגבי ניסויים בריפוי גני בשנות ה-90 עוררה ציפיות בלתי מציאותיות בדבר פוטנציאל השימוש בטכנולוגיה בבני אדם. אחרי כמה כישלונות טרגיים ייחדו החוקרים כמה שנים לשיפור הבנת הביולוגיה הבסיסית והטכניקות הכלולות בתחום. טיפולים חדשים ובטוחים יותר עומדים להיכנס לקליניקה. אירופה אישרה את השימוש בריפוי גני ב-2012. ארצות הברית הייתה אמורה ללכת בעקבותיה ב-2016.

ריפוי גנטי של בטא תלסמיה

P2 הוא בן 18 שקיבל עירוי דם חודשי עקב מחלת בטא תלסמיה מאז שהיה בן 3. אך במשך 21 החודשים האחרונים הוא לא היה זקוק להם. צוות בין לאומי של מדענים הצליח לתקן באופן חלקי את הפגם הגנטי, ולאפשר לו עצמאות. זהו ניצחון גדול לריפוי הגנטי, הפעולה של עריכת גנים פגומים בתוך התאים החיים במטרה לטפל במחלות.

בפעם הראשונה: תרופה גנטית מסחרית

בימים אלה נשלם הייצור של התרופה הגנטית הראשונה – גליברה (Glybera) – המיועדת לטיפול במחלה גנטית נדירה יחסית (LPLD). אצל החולים במחלה זו יש פגם בגן שאמור לייצר אנזים (ליפאז), המפרק מולקולות שומן בדם אחרי ארוחה. התרופה היא עותק תקין של הגן הפגום אצל החולים. כדי להחדירו למטרה, הונדס הגן לתוך ה-DNA של נגיף בעל יכולת להיכנס לתאי השריר ולבטא שם את הגנים שלו. הנגיף גם הונדס כך שהוא עצמו לא יתרבה (בניגוד לנגיף הטבעי), כדי למנוע מצב של אובדן שליטה עליו.

גם בישראל: מהו הטיפול הגנטי שמרפא מסרטן ואושר על ידי ה-FDA?

יממה לאחר הכרזת מומחי ה-FDA על כוונתם לאשר את הטיפול הראשון בעולם בהנדסה גנטית שהביא לריפוי חולי הסרטן שהיו במצב אנוש, ועולם הרפואה כמרקחה. עוד ועוד עדויות מצביעות על כך שהטיפול פורץ הדרך עשוי לחולל שינוי של ממש במלחמה במחלת הסרטן.

העור המהונדס שהציל חיים

טיפול חדשני בהנדסה גנטית של תאי עור הציל ילד שהיה על סף מוות ממחלה גנטית נדירה וקטלנית ונותן תקווה לחולים נוספים.

בשאלות 1-7 בחרו בתשובה אחת נכונה.

1. איזה מהמשפטים הבאים אינו נכון לגבי אנזימי הגבלה:
 - א. משמשים מנגנון הגנה בפני בקטריופאגים
 - ב. יוצרים תמיד קצוות דביקים לאחר חיתוך ה-DNA
 - ג. שימושיים בהנדסה גנטית
 - ד. מזהים רצפים ייחודיים ב-DNA
 - ה. מצויים בחיידקים
2. כדי ליצור אורגניזם מהונדס צריך:
 - א. ליצור DNA-משלים ממולקולת RNA-שליח של האורגניזם התורם
 - ב. למצוא נגיף שיכול לשמש כנשא להעברת המקטע הזר
 - ג. לבדוק שה-DNA של התורם ושל המקבל מתאימים
 - ד. לחתוך את ה-DNA של התורם ושל המקבל עם אותו אנזים הגבלה
 - ה. לבדוק שה-DNA של התורם ושל המקבל הם מאותו סוג: של פרוקריוטים או של אאוקריוטים
3. בריפוי גני, הגן התקין שמוחדר לתא המטרה צריך:
 - א. להרוס את הגן הפגום בתא המטרה
 - ב. לחדור למיטוכונדריה
 - ג. ליצור כמות מספקת של החלבון הדרוש
 - ד. לחדור באמצעות נגיף
4. האנזים רברס-טרנסקריפטאז מאפשר לחוקרים לייצר:
 - א. אנזימי הגבלה
 - ב. תעתיקים של RNA-שליח
 - ג. DNA-משלים
 - ד. מקטעי DNA עם קצוות דביקים
 - ה. פלסמיד רקומביננטי
5. ריפוי גני הנעשה בתאי רבייה של זוג לפני הפריית הביצית והחדרתה לאם יכול לתקן פגם גנטי:
 - א. בעובר שיתפתח בלבד
 - ב. בעובר שיתפתח ובילדיו בלבד
 - ג. בעובר שיתפתח ובכל צאצאיו העתידיים
 - ד. באם העובר
6. תרסיס לאף המכיל אדנו-וירוס הנושא את הגן התקין CFTR הוא טיפול במחלת סיסטיק פיברוזיס. איזה סוג של ריפוי גני מודגם בטיפול זה?
 - א. החדרה ישירה של הגן התקין לתאים עם המוטציה
 - ב. טיפול תוך-גופי
 - ג. טיפול באמצעות ליפוזומים
 - ד. טיפול חוץ-גופי

7. איזה מהמשפטים הבאים אינו נכון לגבי החומר הגנטי הזר המוחדר לצמחים מהונדסים?

- א. הוא צריך להיות מוחדר בכל דור מחדש
- ב. הוא משנה את הפנוטיפ של הצמח המהונדס
- ג. הוא יכול לעבור לצמחי בר בסביבת הגידול
- ד. הוא מוחדר באמצעות נשא

8. בתיאור שלבי ההנדסה הגנטית של אינסולין הובאו חמש דוגמאות לתרומת חיידקים לתהליך. תארו לפחות שלוש דוגמאות של תרומת חיידקים בייצור האינסולין המהונדס.

9. סדרו בסדר הנכון את השלבים הבאים המתארים יצירת אורגניזם מהונדס.

- א. בידוד הגן המבוקש
- ב. חיתוך גנום של תורם על ידי אנזים הגבלה
- ג. ברירת האורגניזמים שקלטו את הגן המבוקש
- ד. החדרת הפלסמיד הרקומביננטי לאורגניזם המקבל
- ה. שילוב הגן המבוקש בפלסמיד

10. חוקר רצה להעביר גן לייצור חלבון בעל סגולות רפואיות המיוצר בצמחים מסוג מסוים בכמות קטנה. כדי להזיל את החומר הוא העביר את הגן לחיידקים כדי שהחיידקים המהונדסים ייצרו את החלבון המבוקש. החוקר בודד את הגן לחלבון הרפואי מהצמח, קשר אותו לאתר בקרה ממקור חיידקי בפלסמיד, והחדיר את הפלסמיד המהונדס לתאי החיידק אי קולי. להפתעתו הרבה הוא גילה שהחלבון המבוקש לא נוצר בחיידקים.

- א. הסבירו מדוע נכשל החוקר ביצירת החיידקים המהונדסים.
- ב. מדוע החוקר קשר את הגן המבוקש לאתר בקרה ממקור חיידקי?
- ג. מדוע החוקר בחר בחיידקי אי קולי ליצירת החלבון הזר?

11. איך אפשר להגביר את תכולת הבטא-קרופן בזרעי אורז בלי להשפיע על התכולה של בטא-קרופן בעלים, או באיברים אחרים בצמח?

12. חוקרים בודדו את הגן המקודד לצבע כתום בתירס והחדירו אותו לצמחי פטוניה. בעקבות ההחדרה התקבלו פרחי פטוניה כתומים.

- א. ציינו שלושה אזורים שחייבים להיות בנשא המהונדס, כדי שהגן לצבע כתום יתבטא בפרחי הפטוניה.
- ב. כתבו מהו המקור של כל אחד מהאזורים האלה.

13. 82% מצמחי הסויה בעולם הם צמחים מהונדסים. חלקם הגדול הפכו לצמחים עמידים נגד קוטל העשבים גליפוסט (ראונדאפ) הודות להנדסה הגנטית. ציינו את השלבים העיקריים בתהליך הפיכתו של צמח הסויה לצמח מהונדס עמיד בפני גליפוסט.

14. ציינו טיעונים בעד השימוש בצמחים מהונדסים וטיעונים נגד השימוש בצמחים מהונדסים.

15. קראו את הקטע הבא וענו על השאלות.

לבעלי חיים ממשפחת החתוליים (חתולי בר, חתולי בית, נמרים, אריות, טיגריסים) יש נגיף דומה מאוד ל-HIV (נגיף הגורם לאיידס אצל בני האדם) והוא נקרא FIV. ההדבקה בנגיף ומהלך המחלה שהוא גורם לה מזכירים מאוד את מחלת האיידס באדם, ולפיכך משמשים חתולי הבית מודל מחקרי לנגיף האיידס באדם. חוקרים אמריקאים ויפנים גילו כי אפשר להחדיר לגנום של חתולים גן המקודד חלבון TRIM שיכול להגן מפני איידס אצל חתולים. חלבון ה-TRIM המצוי בקופי מקוק תוקף את נגיף ה-FIV ברגע שהוא מנסה לחדור לתא ומנטרל אותו. חלבוני TRIM של אדם ושל חתול אינם מנטרלים את נגיפי האיידס (ה-HIV וה-FIV בהתאמה) מאחר שהנגיפים פיתחו עמידות נגדם.

החוקרים בודדו את הגן שמקודד את החלבון TRIM מקוף המקוק והחדירו אותו לנגיף לנטי-וירוס (lntivirus) לאחר שהוצאו מהנגיף גנים אלימים הגורמים למחלות. נוסף על כך הם החדירו לנגיף המנטרל את הגן GFP ממדוזה זוהרת. הגן GFP מקודד חלבון ירוק פלואורסצנטי, אשר פולט אור ירוק בחשיפה לאור כחול (ראו עמ' 100). את הנגיפים עם הגנים הזרים הזריקו החוקרים לביציות בלתי מופרות של חתולות. לאחר ההפריה שתלו החוקרים את הביציות המופרות לצינור הביציות של אמא פונדקאית. בסיום ההיריון נולדו שלושה גורים שפרוותם זהרה באור ירוק.

אריק פושלה, ראש צוות המחקר, תיאר את הממצאים כפריצת דרך מבחינת החדרת גנים זרים לחתולים. בעבר הצליחו חוקרים להחדיר את הגן הזוהר וליצור חתולים ירוקים, אולם היעילות הייתה נמוכה מאוד והתהליך היה מורכב וממושך. בניסוי זה הצליחו לראשונה, בעזרת נגיפים, להחדיר גנים זרים לביציות של בעל חיים מסדרת הטורפים. השיטה פועלת ביעילות רבה, ורוב הצאצאים קולטים את הגנים הזרים בתהליך מהיר ופשוט, יחסית.

בשלב זה בדקו החוקרים תאי דם שבודדו מהחתולים הזוהרים ומצאו במעבדה שהם עמידים לנגיף ה-FIV. בשלב הבא מתכננים החוקרים לחשוף את החתולים המהונדסים ל-FIV ולבדוק אם החתולים מוגנים מפני הנגיף. החוקרים מקוים שהמחקר יסייע לפתח הגנה בבני אדם מפני נגיף ה-HIV, ויסייע לחתולי הבר ולבעלי חיים ממשפחת החתוליים שנפגעים מנגיף ה-FIV.

א. מדוע הוחדר הגן GFP? הסבירו את תשובתכם.

ב. תארו איזה טיפול מקדים עבר הנשא ששימש בניסוי והסבירו מדוע.

ג. מדוע לדעתכם בחרו החוקרים בנשא זה?

ד. אילו מקטעים של DNA הוסיפו לדעתכם החוקרים ל-DNA של הנשא כדי להבטיח התבטאות של הגנים הזרים בחתולות?

ה. האם החתולים הזוהרים באור ירוק הם חתולים מהונדסים? הסבירו.

ו. האם הגורים הזוהרים באור ירוק יורישו את הגן המקודד לחלבון ה-TRIM לצאצאים שלהם? הסבירו את תשובתכם.

ז. מהי חייית מודל? מדוע חתולת הבית התאימה לשמש חייית מודל בניסוי זה?

ח. הסבירו מדוע ריפוי גני מתאים למחלה רצסיבית ואינו מתאים למחלה דומיננטית.

עריכת גנים

הנדסה גנטית מוסיפה גנים לאתרים בלתי צפויים, וזו אחת הבעיות העיקריות בה. בצמחים הגן הרצוי מוחדר לתא המטרה בצלחת פטרי בעזרת חיידקי צמחים או "אקדח גנים" שיורה חלקיק קטן המכוסה ב-DNA. ברגע שהמולקולות נמצאות בתא, הגן החדש מוחדר לכרומוזום באופן אקראי. אי אפשר לשלוט במקום המדויק שבו הגנים נוספים אליו; לפעמים הם מגיעים לנקודה שהם מתבטאים בה ביעילות, ולפעמים לא.

כל החדרה של גן זר לגנום התא בבעלי חיים, בתהליך של שבירה ואיחוי של ה-DNA, גורמת מוטציות. המוטציות האלה יכולות להפעיל גנים שאינם אמורים להתבטא, או לשחק גנים שאמורים להתבטא. אם קליטת הגן הזר תיעשה באתר המקודד לתכונה חיונית, היא תשבש את פעילותו של הגן הזה ויתקבל זן מוטנטי; מוטציה כזאת יכולה לעיתים להמית, או לגרום שינויים מורפולוגיים.

שאיפת החוקרים במשך שנים הייתה לפתח יכולת לכוון את הגן המוחדר לאזורים מדויקים בכרומוזום הצמח או בעל החיים. לחסל גן קיים או לשנותו, או להוסיף גן חדש בדיוק במקום שאנו רוצים שיהיה בו, וכל זאת על-ידי החלפת כמה נוקלאוטידים.

כלי חדש שפותח בשנים האחרונות מאפשר למדענים לעשות את כל אלה. ביולוגים מולקולריים מסוגלים לשנות כמה נוקלאוטידים או להכניס ולמחוק גן בדיוק במקום הרצוי להם בכרומוזום בעזרת מערכת קריספר-קאס (Crispr-cas). כך נעשה השינוי צפוי ויעיל הרבה יותר. אחת ההשלכות שמערכת קריספר מאפשרת היא לערוך שינויים גנטיים בלי להוסיף גנים זרים. אף על פי שעדיין מוקדם מדי לקבוע אם יכולת זו תשנה את הדיון הציבורי בנוגע לאורגניזמים מהונדסים, הרשויות שמאשרות את השימוש בארצות הברית רומזות שגידולים חקלאיים שטופלו ללא גנים זרים לא יצטרכו לעבור בדיקה מקיפה כמו הגידולים המהונדסים. זה יפחית משמעותית את הזמן וסכומי הכסף המושקעים בהשקת זנים חדשים של מזון מהונדס.

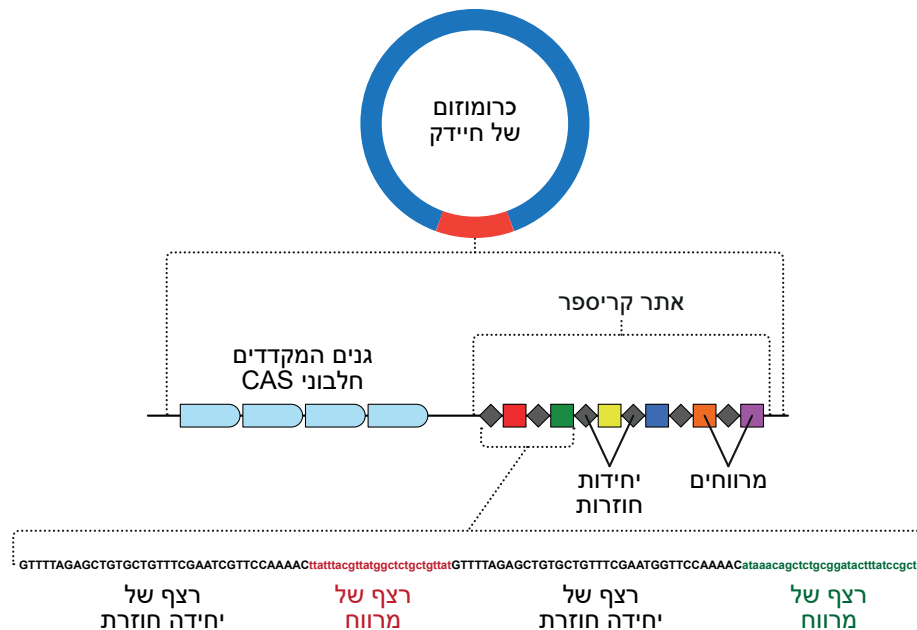
מערכת קריספר-קאס מקנה הגנה לחיידקים מפני נגיפים

מערכת קריספר-קאס היא מערכת הגנה מפני נגיפים הקיימת בכ-50% ממיני החיידקים. בשנת 1987 זיהו חוקרים מאוניברסיטת אוסקה ביפן קבוצה של רצפים קצרים החוזרים על עצמם ברצף ה-DNA של החיידק אי קולי. במהלך שנות התשעים של המאה שעברה התגלו רצפים דומים ב-DNA של חיידקים רבים נוספים. בשנת 2002 איחדו חוקרים ספרדים והולנדים את הידע על רצפים דומים מחיידקים שונים וטבעו את המונח קריספר *clustered regularly interspaced short palindromic repeats - CRISPR*, ובעברית: חזרות קטעי פלינדרום קצרים מקובצים. פלינדרום הוא רצף של סימנים שיכול להיקרא באותה צורה משמאל לימין או מימין לשמאל, כמו אמא או אבא. החוקרים אִפיינו גם את האזורים הסמוכים לרצפים החוזרים, וגילו שבקרבת מקטעי הקריספר תמיד יש קבוצת גנים שמכונה כיום *Cas genes*; היה ברור שלאחר זה על רצף ה-DNA של החיידק יש תפקיד, אבל לא היה ברור מהו.

בשנת 2005, בהסתמך על מאגרי מידע של רצפי גנומים של נגיפים וחיידקים ובעזרת שיטות של ביולוגיה חישובית, גילו שלוש קבוצות מחקר שונות שהרצפים הנמצאים במרווחים בין הרצפים החוזרים מתאימים במקרים רבים לרצפים מקבילים של נגיפים התוקפים חיידקים (בקטריופאגים). מכאן הסיקו החוקרים כי מערכת הקריספר משמשת מנגנון הגנה בפני נגיפים, והמסקנה התחזקה כשהתברר שחיידקים בעלי רצף המתאים לנגיף מסוים עמידים (בין היתר) לסוג זה של הנגיף. רק בשנת 2007 התקבל אישוש ניסויי לתיאוריה: התברר שאם בוררים חיידקים שמשמשים ליצירת יוגורט כך שיהיו עמידים לנגיפים מסוימים, הם רוכשים רצף חדש באתר הקריספר שלהם הזהה לרצף של הנגיף שכלפיו הפכו חסינים. יתר על כן, אם מוסיפים רצף מתאים מתוך נגיף לאתר הקריספר של חיידק בעזרת הנדסה גנטית, הוא הופך חסין לנגיף.

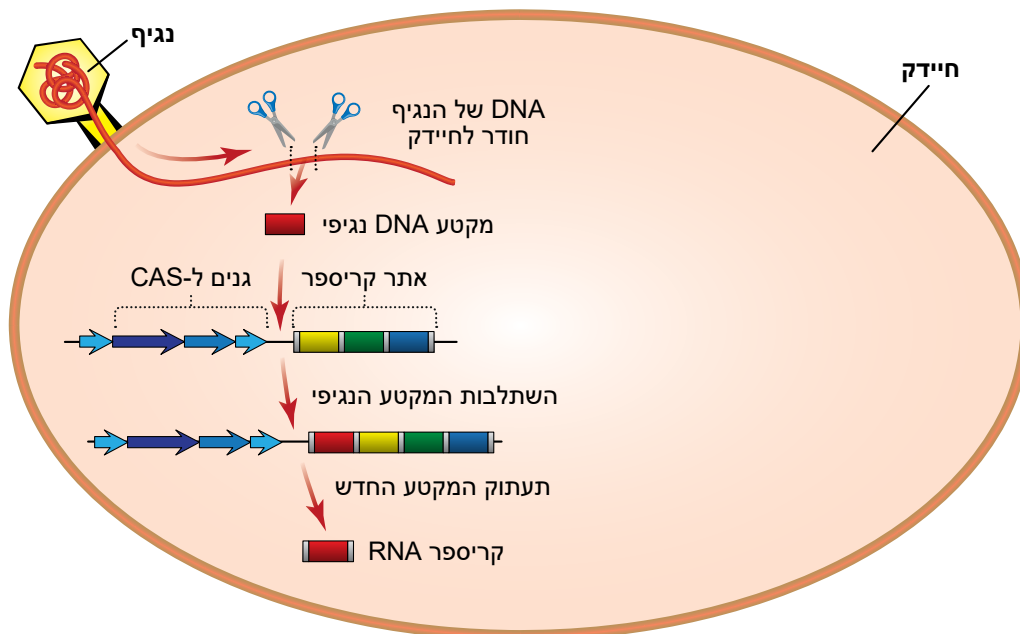
מנגנון ההגנה

אתר הקריספר המשולב בכרומוזום החיידק בנוי מרצפים קצרים החוזרים זה אחר זה, וביניהם ממוקמים רצפים ייחודיים המכונים מרווחים (איור ג-23). האורך הממוצע של היחידות החוזרות ושל המרווחים הוא עשרות נוקליאוטידים. סמוך לאתר הקריספר נמצאים גנים המקדדים את חלבוני CAS, אנזימים החותכים מולקולות DNA.



איור ג-23: אתר קריספר עם אזור הגנים המקודדים חלבוני CAS משולבים בכרומוזום החיידק

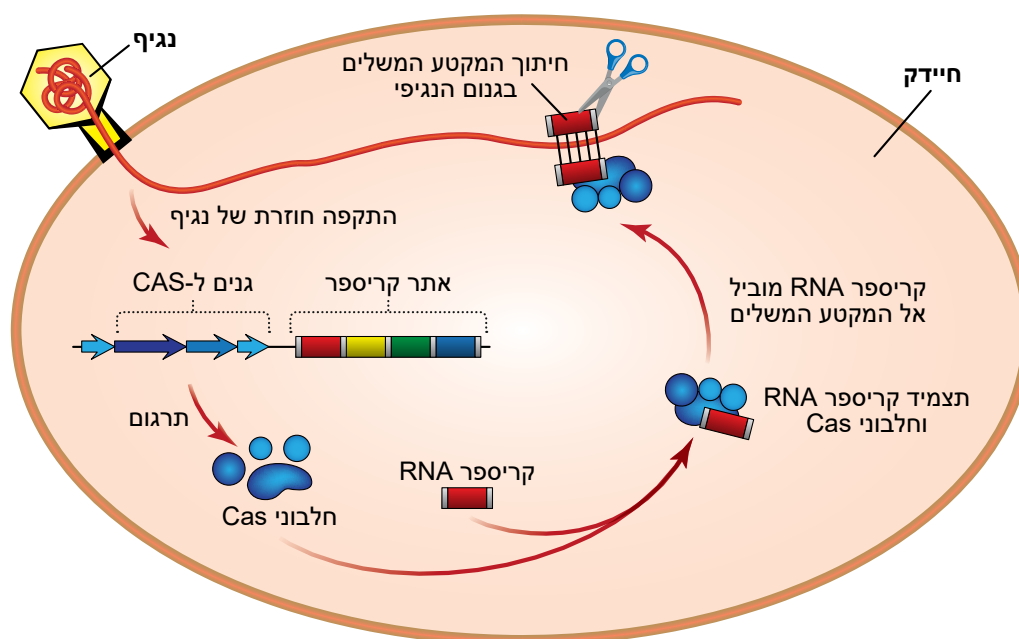
חיידקים המצוידים במערכת קריספר מסוגלים לשמור מקטעים של DNA מנגיפים שתקפו אותם ולהכניס אותם לתוך אתר הקריספר. כאשר גנום הנגיף חודר לתא החיידק, מקטע מה-DNA הנגיפי נחתך ומשולב באתר קריספר. מקטע ה-DNA הנגיפי החדש מוכנס במרווחים בין המקטעים החוזרים בקצה אתר הקריספר (איור ג-24). הקריספר הוא מעין ספרייה של מקטעי DNA נגיפי, שנחתכו מנגיפים פולשים שונים ושובצו בתוך ה-DNA של החיידק כחלק מהמערכת ההגנה שלו.



איור ג-24: השתלבות מקטע מה-DNA של הנגיף התוקף (מרווח חדש) באתר קריספר ותעתוק שלו

מתוך מקטע ה-DNA שהשתלב באתר הקריספר החיידק מתעתק מולקולות של RNA שנקראות קריספר RNA (איור ג-24). מולקולות הקריספר RNA שתועתקו יודעות למצוא את רצף ה-DNA הדומה להן אצל הנגיף בפעם הבאה שהוא תוקף את החיידק. מולקולות ה-RNA הן מדריכות המובילות אנזימים לחיתוך הנגיף.

כאשר נגיף שב ותוקף חיידק, תא החיידק מתרגם את הגנים CAS הנמצאים ליד המקטעים החוזרים באתר הקריספר (איור ג-25). גנים אלה מקודדים אנזימים החותכים מולקולות DNA. האנזימים נצמדים ל-RNA שתועתק מהקריספר ומשתמשים בו כמדריך שמוביל אותם למטרה ב-DNA בתא. בחפשו את המטרה, התצמיד של האנזימים עם ה-RNA המוביל מחפש רצף משלים בתא, עד שהוא מוצא מטרה מתאימה ב-DNA של הנגיף. שפלש. התצמיד נצמד לרצף הזה, פותח את הסליל הכפול ובודק אם הגדילים שבו מתאימים ל-RNA המדריך. רק כשה-DNA מתאים ל-RNA המדריך, האנזימים יחתכו אותו (איור ג-25). כך מערכת קריספר-קאס מונעת את פעולת הנגיף שחדר לחיידק ומקנה לו "זיכרון חיסוני" בכל מקרה של התקפה חוזרת.



איור ג-25: מערכת קריספר בחיידק מגנה בפני התקפה חוזרת של נגיף

מערכת קריספר-קאס לעריכת גנים

בשנת 2013 חלו פריצות דרך משמעותיות כאשר קבוצות מחקר שונות הצליחו לנצל את מערכת הקריספר לעריכת DNA בתרבויות של תאי יונקים, ובהמשך גם בבעלי חיים שלמים ומתפקדים. השיטה המקובלת ביותר לנטרול או לשנוי גן עד לשנת 2013 דרשה להתאים לכל מקרה ומקרה את האנזים שיוכל למצוא ולחתוך את רצף המטרה ב-DNA. במילים אחרות, המדענים היו צריכים לתפור לכל שינוי גנטי אנזים חדש שיכון לרצף ה-DNA הרצוי.

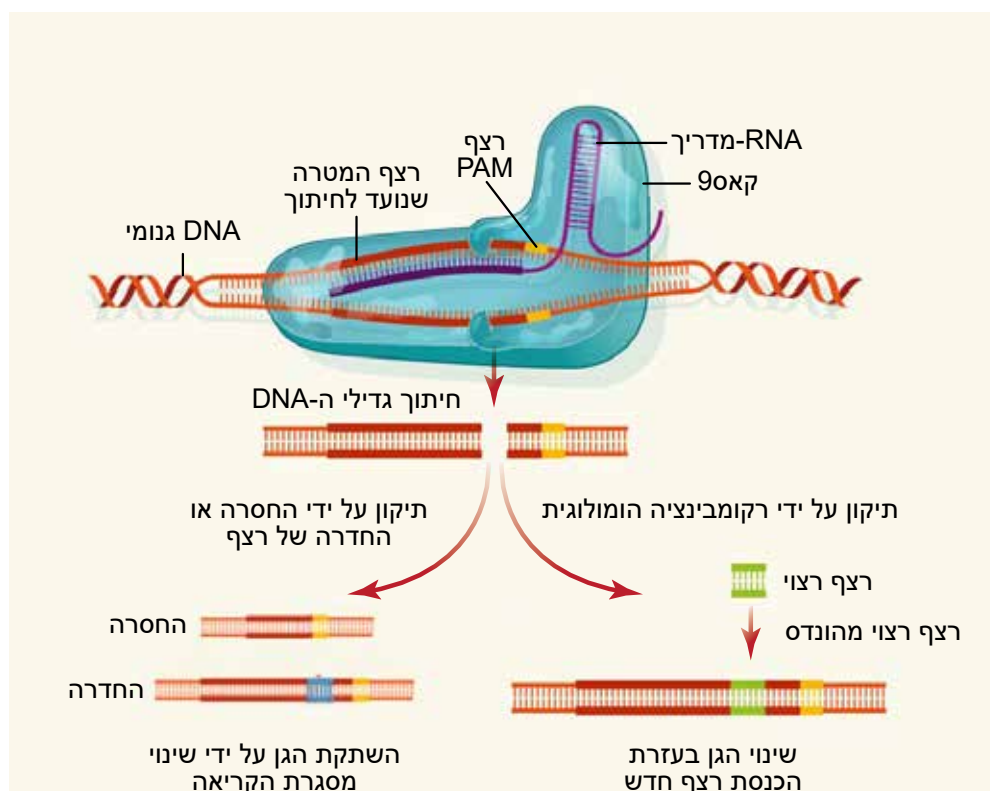
בשיטת קריספר משתמשים לכל מטרות החיתוכים באנזים יחיד, קאס9 (Cas9). האנזים קאס9 בודד מחיידקי סטרפטוקוקוס פיוג'נס (*Streptococcus pyogenes*), שגורמים למחלות עור ודלקות אוזניים. אנזים קאס9 מתווכח בהרבה מאנזימי ההגבלה ששימשו בהנדסה גנטית עד כה. האנזים, מנווט בידי RNA, יכול לחתוך כל רצף DNA שנבחר, גם אם אינו נגיפי. כל מה שצריך זה לספק לאנזים ה-קאס9 גדיל RNA עם הרצף המשלים לרצף ה-DNA שרוצים לחתוך. החוקרים הבינו שהם יכולים לבחור מקטע DNA מסוים, למשל גן שיש בו מוטציה, ליצור רצף RNA תואם לו ולהחדיר אותו לתרבית תאים יחד עם האנזים קאס9 שמופק מחיידק הסטרפטוקוקוס. קל יותר לאין שיעור לסנתז RNA כזה מאשר לסנתז אנזימים. רצף ה-RNA מוביל את האנזים אל מקטע ה-DNA התואם,

והאנזים חותך אותו. האנזים חותך את ה-DNA הנגיפי. כדי שקאס9 יפעל צריך רצף מסוים של כשלושה נוקלאוטידים להימצא מייד אחרי רצף המטרה על ה-DNA הנגיפי. רצף קצר זה נקרא PAM (protospacer adjacent motifs) (איור ג-26). רצף PAM אינו מצוי ברצף הנגיפי ששולב באתר קריספר ב-DNA של החיידק, וכך מוגן החיידק מפני חיתוך ה-DNA שלו על ידי קאס9.

לאחר יצירת שברים ב-DNA במיקום ממוקד, עריכת הגנים מתבססת על הפעלת מנגנוני הריפוי והתיקון של התאים. תאים מאתרים פגיעות ב-DNA ומתקנים אותן בעצמם. כאשר נוצר שבר בשני הגדילים של מולקולת ה-DNA, חלבוני התיקון יתקנו לרוב את הנזק באמצעות איחוי הקצוות החתוכים. תהליך הדבקת הקצוות החתוכים אינו מושלם וגורם למוטציה. באזור החיתוך מוחדר רצף קצר של נוקלאוטידים או מורחק רצף קצר. ההחסרה או ההחדרה של הרצפים משנות את מסגרת הקריאה, והגן באזור החיתוך לא יתבטא. כך אפשר בנקל ובאופן מדויק לגרום למוטציה שתשתיק כל גן רצוי (איור ג-26).

מנגנון תיקון נוסף הקיים בתאים קרוי רקומבינציה הומולוגית. מנגנון זה מנצל את העובדה שבכל תא יש זוגות כרומוזומים – אחד מכל הורה (כרומוזומים הומולוגיים). בתהליך זה אנזימי התיקון משלימים את החתיכה החסרה בנקודת השבר בעזרת העתקה של מקטע DNA תקין מהכרומוזום השלם לכרומוזום השבור. על מנת לקבל תכונה רצויה או שילוב תכונות בצמח בצורה מדויקת, די לבחור הורים נכונים, להכליא ביניהם, ולשבור את ה-DNA בצמח-הכלאיים בגנים הרצויים. בהמשך אפשר לסמוך על מנגנוני התיקון הטבעיים של הצמח שיעתיקו את הגן הרצוי מהכרומוזום השלם לכרומוזום השבור.

דרך נוספת לשינוי הגן היא על ידי השלמה בעזרת קטע הכולל מידע גנטי חדש. אם יוצרים חתכים נקיים ב-DNA במיקומים מדויקים, אפשר לגרום לתא לרפא את החתך אגב הכללת המידע הגנטי החדש. מוסיפים לתרבית התאים מקטע DNA רצוי, ומערכות תיקון ה-DNA התאיות יכניסו את המקטע הרצוי במקום החתוך והגנום יישאר ערוך לתמיד.



איור ג-26: שינוי גן והשתקת גן באמצעות מערכת קריספר-קאס9

שלבי העריכה הגנטית יהיו אלה (איור ג-26):

1. יוצרים RNA-מדריך הכולל חלק שמתאים לרצף ה-DNA שנועד לחיתוך.
2. מחברים את ה-RNA-מדריך לאנזים החותך כל מטרה, קאס9, וכך יוצרים את הכלי קריספר.
3. מחדירים את קריספר לתא המטרה. ה-RNA-מדריך מוצא את ה-DNA המתאים בגנום.
4. האנזים קאס9 חותך את שני גדילי ה-DNA.
5. החסרה או החדרה של רצף גורמת לשינוי מסגרת הקריאה ולהשתקת הגן.
6. כאשר התיקון נעשה על ידי רקומבינציה הומולוגית, אפשר להכניס באזור החיתוך מקטע של DNA חדש, והגן ישתנה.

ריפוי מחלות גנטיות

נניח שלאדם מסוים יש מחלה גנטית שמקורה בגן פגום. מערכת קריספר-קאס9 תאפשר לחתוך החוצה את הגן הפגום ולהחליף אותו ברצף התקין. כדי לטפל במחלת דם תורשתית, למשל, נוכל לקחת מהמטופל דגימת דם, לגדל את התאים בצלחת פטרי, להוסיף את הקריספר-קאס9 ואת המקטע הגנטי התקין של המוטציה, והמערכת תתקן את התאים בתוך הצלוחית. ואז אפשר יהיה להחזיר את התאים לגוף החולה.

ריפוי מחלה גנטית בעכברים באמצעות הזרקה של קריספר

ביוני 2014 דיווחו חוקרים ב-MIT על ריפוי עכברים מבוגרים מטירוזינמיה, הפרעת כבד נדירה שנגרמת בגלל מוטציה באחד האנזימים. הריפוי נעשה באמצעות הזרקה של קריספר היישר דרך הזנב. באמצעות שלושה גדילים של RNA-מדריך עם קאס9 והרצף הנכון של DNA לגן שעבר מוטציה הצליחו החוקרים להחדיר את הגן הנכון לאחד מתוך 250 תאים בכבדי העכברים. חודש לאחר הטיפול שגשגו תאי הכבד הבריאים, ובסופו של דבר החליפו שליש מתאי הכבד הפגועים. היה די בכך כדי להתגבר על המחלה.

באוקטובר 2015, בכנס של האקדמיה הלאומית למדעים בארצות הברית, הציג הגנטיקאי הנודע פרופ' ג'ורג' צ'רץ' מאוניברסיטת הרווארד תוצאות ניסוי שבו נטרל בעוברי חזירים 62 גנים מחוללי מחלות בעזרת מערכת קריספר. נוסף על ההשלכה על בריאות תינוקות בעתיד ציין צ'רץ' שהממצא יסייע לרפואה כבר בימינו: במדינות רבות איברים פנימיים של חזירים משמשים לעיתים להשתלה בבני אדם.

כל חקר המחלות התורשתיות התקדם מאוד הודות למערכת קריספר. אחד הכלים שנחוצים במחקרים במחלות תורשתיות הוא שני עכברי מעבדה זהים, אחד עם המוטציה ואחד בלעדיה. כך אפשר לערוך ניסויים עד שמגלים איך לרפא את העכבר הפגום. לפני הקריספר-קאס9, "ייצור" עכברי מעבדה עם חוסרים גנטיים היה עניין מסובך שארך כתשעה חודשים. כעת אפשר לבצע שינוי מדויק בתא אחד של עובר בזמן קצר.

עריכת גנים בחקלאות

הטכנולוגיה של עריכת גנים בעזרת מערכת קריספר-קאס9 משנה כבר כיום את תעשיית המזון העולמית, מהווה את אחת הטכנולוגיות החדשניות המתפתחות במהירות רבה, וזוכה לגישה מקלה אצל הרשויות העולמיות שמאשרות את השימוש בה. העריכה הגנומית מאפשרת יכולות חדשות שלא היו אפשריות באמצעות טכנולוגיות קודמות, וצוברת תאוצה במגוון תחומי מחקר ופיתוח הן בתעשיית התרופות והן בתעשייה החקלאית.

קול קורא לעריכה גנומית בחקלאות ישראל

המדען הראשי במשרד החקלאות פרסם בפברואר 2017 קול קורא למחקרים בתחום העריכה הגנומית בבעלי חיים, צמחים, פטריות ואצות. המחקרים יתמקדו בפיתוח מוצרים חקלאיים בעלי תכונות משופרות. מחקרים שיקבלו מימון כוללים: טכנולוגיה לשיפור ערך תזונתי בפירות וירקות, הארכת חיי מדף של מוצרים מובילים מהחי והצומח כמו בשר, ביצים, מוצרי חלב, פירות וירקות, עמידות לפתוגנים (חיידקים מחוללי מחלות) הגורמים לקלקול מזון, עופות עמידים לסלמונלה וקמפילובקטר, שיפור איכות טעם ומרקם של בשר בקר, עמידות למחלת שפעת עופות, הקטנת השימוש בחומרי הדברה, אפרסמון נטול עלי גביע שנשארים צמודים לפרי, כך שיקטין נגיעות ומקום מסתור למזיקים ומחלות, עצי אורן שאינם דליקים ונטולי שרף באצטרובלים.

הצפי לסיום הליך הבחינה והמימון למחקרים שייבחרו היה המחצית השנייה של 2017.

שלמה בן-אליהו, מנכ"ל משרד החקלאות, אמר כי "הצעד נעשה מתוך מגמה לשנות את מדיניות המחקר והפיתוח החקלאי כך שתוצאותיו יהיו ישימות למטרת השבחת התוצרת החקלאית הן באיכות והן בכמות, ומתוך התייחסות לשוקי היעד במדינות היצוא שבהן נמנעים לעיתים מצריכת מוצרים שנעשתה בהם הנדסה גנטית, אך מוכנים לקלוט מוצרים שתיעשה בהם עריכת גנים. מוצרים אלה יהיו עמידים יותר לחלק מהמזיקים בשדה, ובכך גם נקטין את כמות ההדברה ונשפר את בריאות הציבור".

היבטים אתיים

אבל עם כל היופי שמציע הפלא המדעי הזה, אי אפשר להתעלם מהסכנות הטמונות בו: הפשטות שבה נוכל בעתיד לשנות את הקוד הגנטי עלולה כנראה לשמש לא רק לריפוי מחלות ולהצלת חיים, אלא גם לניצול פחות מוסרי של המדע. הורים יוכלו לשנות תכונות בלתי רצויות של הילדים שלהם; צבאות יוכלו להעצים תכונות של ילדים ולגדל חיילים יותר ממושמצים או אגרסיביים; תאגידי ענק ישווקו "תכונות טובות" בסכומי עתק, שישאירו את העניים בעמדת נחיתות לא רק כלכלית אלא גם גנטית.

המדע לא התפתח בינתיים די הצורך להשתמש בפועל במערכת הקריספר-קאס9 ולשנות גנים של בני אדם, אבל הוא בהחלט מתקדם לשם. מעבדות מחקר רבות כבר הצליחו לייצר זני עכברים שהגנום שלהם "טופל" בשיטת הקריספר-קאס9. חוץ מזה, ניסיונות לשנות את הגנום של עוברים אנושיים כבר מתחילים לשאת פרי. תהליך עריכת גנים בעוברים הוא הישג טכנולוגי מרשים, שגם מעמיד בפנינו סוגיות אתיות: למי מותר לערוך גנים בעוברים? אילו גנים מותר לערוך? האם עלינו להגביל את הטכנולוגיה רק לריפוי מחלות? ואולי רק למחלות קטלניות? היכן יעבור הגבול? אלה סוגיות שהעולם יהיה חייב להתמודד אתן עם התקדמות הטכנולוגיה.



עריכה גנומית עם RPSIRC-קאס9

סרטון אנימציה (4:12 דקות) מסביר את העריכה הגנומית בעזרת קריספר-קאס9. ללא תרגום לעברית.

מה אתם צריכים לדעת על קריספר?

סרטון TED עם תרגום לעברית (9:40 דקות). האם כדאי להחזיר את הממותה הצמרית? או לערוך עובר אנושי? או למחוק זנים שלמים שאותם אנו מחשיבים כמסוכנים? טכנולוגיית העריכה הגנומית של קריספר הפכה שאלות יוצאות דופן אלה ללגיטימיות – אך כיצד זה עובד? המדענית ומנהלת המעבדה הקהילתית אלן יורגנסן מסבירה את המיתוסים והמציאות של קריספר.

מנורת קסמים לתיקון גנים

חוקרים כבר עובדים על טיפולים מבוססי-קריספר במחלות ובכללן HIV וסכיזופרניה. אך היות שקריספר מאפשר ביצוע שינויים בגנום של יצורים חיים בקלות רבה כל כך, חוקרי אתיקה חוששים מהשלכות שליליות.

מי יפקח על הטכנולוגיה שעורכת מחדש את הגנום האנושי?

טכנולוגיה חדשה בשם CRISPR מאפשרת למדענים לערוך את הגנום של בני אדם וחיות בצורה יעילה יותר מאי פעם. ההמצאה הזאת מסוגלת להציל ולהאריך חיים – אך עם האפשרות לבחור תכונות מסוימות על פני אחרות מגיע הצורך ברגולציה עדכנית.

הנדסת אנוש

עריכת הגנים בבני אדם חיים נהפכה לאפשרות מעשית וקלה. טכנולוגיה חדשה מאפשרת להנדס תינוקות עמידים למחלות, בעלי חיים מסוגים חדשים וחיידיקים שייכנעו לכל אנטיביוטיקה. זה יכול להוביל את האנושות לעידן חדש. או לאסון.

חוקרים הסירו פגם גנטי הגורם למחלת לב קטלנית בעזרת מערכת חדשנית לעריכת גנים

חוקרים מארצות הברית, סין וקוריאה הדרומית הראו במחקר חדש כי בשיטות הנדסה גנטית חדשות אפשר לתקן את המוטציה בעוברי אדם צעירים ולהגדיל בהרבה את הסיכוי ללידת ילדים בריאים. המחקר מקדם אותנו לעבר תיקון גנטי בבני אדם, אך הדרך לשם עדיין ארוכה.

לערוך את הפטרייה

הכלי לעריכת גנים הקרוי קריספר מאפשר למדענים לשנות את הגנום של אורגניזם כלשהו ברמת דיוק חסרת תקדים. השיטה קלה וזולה לשימוש, ולכן קריספר עשוי להניח יכולות רבות עוצמה לשינויים גנטיים בידי חברות חקלאיות קטנות, במקום בידי תאגידי ענק. תומכים אומרים שהשיטה פחות מזיקה מבחינה ביולוגית מאשר שיטות מסורתיות להשבחת צמחים שמצויות בשימוש אלפי שנים. רגולטורים נוטים להסכים. קריספר עשוי לחולל מהפך בדיון על מזון מהונדס בהנדסה גנטית, או לחלופין להיחשב ל"פרנקשטיין" החדש של עולם המזון.

האם זה הניסוי הרפואי שישנה את פני האנושות?

הצלחה בניסוי בתיקון גנים בחולים סופניים, פירושה לא רק שיטת ריפוי חדשה, אלא בעיקר פתיחת נתיב מהיר ומפחיד לעריכה גנטית של תכונות בבני אדם.

מה זה אדום מבחץ וטעים מבפנים?

איך אפשר לייצר פירות וירקות המשלבים בין טעם משובח למראה נהדר? הבשורות הטובות בהקשר זה מגיעות ממכון ויצמן למדע: מדעניו הראו כי אפשר להשיג מטרה זו בדיוק רב באמצעות שבירת ה-DNA של הצמח במקומות ייעודיים. "גישה זו מאפשרת לא רק לערוך, אלא אף לשכתב את הגנום של הצמח על מנת לערבב ולשלב לפי הצורך תכונות שונות משני ה'הורים', כולל טעם, גודל, יכול ועמידות למחלות."

שאלות לעתיד האנושות: האם נשלט בגורל שמכתיבה הגנטיקה שלנו?

ייתכן שבקרוב יישמשו שיטות חדשות לעריכת גנים בטיפולים בעקרות זכרית הכרוכים בהכנסת שינויים בקוד הגנטי של תאי זרע. שינויים כאלה יועברו לדורות הבאים, והם יהיו שינוי נצחי בגנום האנושי. מדענים השואפים להרגיע את חששות הציבור מכך שצעד כזה יעבור את הקו האדום של ציווי האתיקה טוענים שעדיין אין טכנולוגיה המאפשרת זאת, אבל אחרים סבורים שהקו האדום ייחצה במהרה. הדרישה לטיפולים בעקרות דחפה במרוצת עשרות שנים אימוץ שיטות ביוטכנולוגיות, לטוב ולרע.

תחיית מתים גנטית

במאמץ להגביר את השונות הגנטית של החמוסים ואת סיכויי ההישרדות שלהם בטווח הארוך שוקלים בשירות הדגה וחיות הבר של ארצות הברית (FWS) רעיון קיצוני: תוכנית להכניס מחדש DNA שאבד באוכלוסייה העכשווית אך עדיין מצוי בפרטים שמתו מזמן ומאוחסנים בגני חיות ובמוזיאונים. ייתכן שהמאמץ אינו נשמע מוזר כמו החלום להחיות מחדש את הממותה הצמרית, אבל בהחלט דורש לעורר גנים שמתו עם מאכסניהם בעזרת עריכת גנים באוכלוסייה העכשווית – משימה לא קלה.

פריצת דרך עולמית: חולי סרטן יטופלו בתאים מהונדסים גנטית

אונקולוגים מאוניברסיטת סצ'ואן קיבלו בחודש שעבר את האישורים הנדרשים כדי להחדיר לחולי סרטן ראות גרורתי, שכל טיפול אחר לא עזר להם, תאי T (תאי מערכת החיסון) שנלקחו מדמם והונדסו גנטית בשיטת קריספר – שמהווה תקווה חדשה בעולם הרפואה.

לא לבידוד: המספריים שיעניקו לילדי הבועה חיים חדשים

תינוקות שנולדים ללא מערכת חיסונית מתפקדת מוכנסים לבידוד קפדני במתחם סטרילי עד שיימצא להם תורם מוח עצם. ד"ר איל הנדל מאוניברסיטת בר-אילן מביא להם בשורה חדשה בדמות ה"קריספר": ננו-מספריים שיכולים לגזור גן פגום ולשתול במקומו גן תקין.

התקווה הגדולה: ניסויים בעריכת גנים של בני אדם מנסים לחסל את הסרטן

חוקרים סיניים ישתמשו בטכנולוגיית קריספר-קאס9 החדשנית כדי לנסות ולרפא סרטן ראות.

העתיד כאן: תוכנה לעריכת גנים תחסל מחלות גנטיות

לאחר שהתוכנה לעריכת גנים הצליחה לסלק מחלות גנטיות משורה ארוכה של בעלי חיים, אישרה בריטניה לערוך ניסויים ראשונים בעוברי אדם. אבל האם האדם יידע לעצור ולא לשחק את אלוהים?

מדוע עוברים אינם צריכים להיות מחוץ לחוק?

כדי לפטור משפחות מן הקללה של מחלות תורשתיות, גנטיקאים רפואיים חולמים על שינוי ה-DNA האנושי לפני הלידה. אבל החלום הוא גם סיוט משום שהוא מעלה את האפשרות של תינוקות בהזמנה או יצירת מוטציות מזיקות. יכולת הדיוק של שיטה חדשה לעריכת הגנום הקרויה קריספר-קאס9 מביאה כעת, הן את החלום והן את הסיוט אל שולי המציאות.

מערכת קריספר יכולה כיום לשנות מין שלם לנצח

סרטון TED עם תרגום לעברית (12 דקות). מערכת קריספר מאפשרת למדענים לשנות רצפי DNA ולהבטיח שהתכונה הגנטית שתתקבל תעבור בתורשה לדורות הבאים, מה שמאפשר לשנות מין שלם לנצח. הטכנולוגיה החדשה מעוררת בעיקר שאלות: איך ישפיע הכוח החדש הזה על האנושות? מה אנחנו עתידים לשנות בעזרתו? האם הפכנו לאלים? העיתונאית ג'ניפר קאהן מתעמקת בשאלות אלה וחושפת יישום רב-עוצמה של עריכה גנטית בעזרת קריספר: פיתוחם של יתושים עמידים למחלות שבכוחם לחסל את מחלות המלריה והזיקה.

האם להתיר ניסויים בעריכת גנים בעוברי אדם? – דמותו של ויכוח אתי

חוקרים הצליחו לבצע עריכת גנים בעוברים של אדם מייד לאחר ההפריה במערכת Cas9/CRISPR ובעזרתה שינו בעוברים את האלל הנורמלי של הגן המקודד ל-CCR5 – קולטן המאפיין תאי דם לבנים מסוג T. המחקר עורר ויכוח אתי בנוגע לשאלה אם מוסרי לבצע עריכת גנים בעוברי אדם. שני מאמרי עמדה המסבירים שתי דעות מנוגדות בהכרעה אם להתיר ניסויים של עריכת גנים בעוברי אדם. המאמרים מאפשרים להבין מהו ויכוח ביו-אתי, וכיצד נבנים טיעונים בעד או נגד הכרעה בדילמה מוסרית. שני מאמרי החוקרים מציגים דעות מנוגדות ומאפשרים הצצה אל מאפייניו של ויכוח אתי.

פריצת דרך מדעית: בדרך לעתיד ללא מחלות גנטיות?

מדענים בארצות הברית הודיעו שלראשונה בתולדות המדע הצליחו לערוך את הגנים בזרע שנושא מחלה תורשתית, כך שהעוברים שנוצרו היו בריאים. מדובר במהפכה בעולם הרפואה, אך הנושא יעורר מחלוקות אתיות רבות: האם הדבר ישמש גם לבחירת תכונות בתינוק?

טכנולוגיית הפלא שעשויה לשנות תכונות עוברים עולה מדרגה

טכנולוגיית ה-CRISPR הפכה לשיטת הנדסה גנטית מקובלת במעבדות ברחבי העולם. כבר היום עובדים חוקרים על יישומים שעשויים לפתור בעיות קריטיות ברפואה: מהשבחת איברי חזיר להשתלה ומתן פתרון לחולי סרטן, דרך הפיכת חיידקים לרגישים לאנטיביוטיקה.

שאלות

בשאלות 1-3 בחרו את התשובה הנכונה.

1. מהו קאס9?

- א. מולקולת RNA שנקשרת ל-DNA מטרה על ידי זיווג בסיסים משלימים
- ב. היחידות החוזרות באתר קריספר
- ג. חלבון נגיפי שהורס את קרום תא החיידק
- ד. אנזים שחותך את שני גדילי ה-DNA באתרים שאותרו על ידי RNA-מדריך

2. איזו תגובה לא תתרחש לאחר חיתוך DNA על ידי קאס9?

- א. הפרעה לפעילות גן
- ב. תיקון הגן על ידי חיבור הקצוות החתוכים
- ג. נטרול כרומוזום
- ד. תיקון ה-DNA על ידי הכנסת רצף תקין מהכרומוזום ההומולוגי

3. אתר קריספר נמצא ב:

- א. DNA נגיפי
- ב. DNA של חיידק
- ג. DNA של פטרייה
- ד. RNA נגיפי

4. במה דומה ובמה שונה קאס9 לאנזימי הגבלה?

5. קראו את הקטע הבא וענו על השאלות.

בכנס שעסק בדילמות אתיות של השימוש בעריכת גנים למטרות ריפוי גני נשמעה הטענה: "כיום ידועות למעלה מ-4,000 מחלות גנטיות שהגורם להן הוא גן יחיד. שיטות מתקדמות לעריכת גנים כמו קריספר-קאס9 יכולות להפחית מחלות מסוג זה ולהיטיב עם מיליוני אנשים ברחבי העולם. יעבור עוד זמן עד שנגיע למחקרים קליניים, שבהם העוברים שהגן שלהם תוקן יושתלו ברחם וייוולדו כתינוקות בריאים, אולם מחקר מסוג זה בתאי הרבייה או בעובר בשלבי התפתחותו המוקדמים הוא חובה מוסרית. אמנם הוא מעלה שאלות אתיות, ואולם ההכרעה האתית צריכה להוביל לחקיקה מתאימה שתמנע ניצול לרעה ושימוש בטרם עת בטכנולוגיה המבטיחה של עריכת גנים."

א. תארו כיצד עריכת גנים בעזרת קריספר-קאס9 עשויה להפחית משמעותית את מספר החולים במחלה גנטית.

ב. אילו יתרונות יש לריפוי הגני בשיטת קריספר-קאס9 על פני הריפוי הגני הקונבנציונאלי?

ג. אילו דילמות אתיות מעורר השימוש בקריספר-קאס9 לצרכי ריפוי גני בעוברים?

6. משרד החקלאות האמריקאי, הבודק מוצרים חקלאיים מהונדסים, אינו סבור שהגידולים שעברו עריכת גנים צריכים לקבל אותה תשומת לב רגולטורית כמו אורגניזמים שעברו הנדסה גנטית "מסורתית".

א. הסבירו במה שונה עריכה גנטית מהנדסה גנטית מסורתית.

ב. באילו מקרים של עריכה גנטית יש לראות שינוי גנטי כהנדסה גנטית?

12-א, 13-א:

Download for free at <http://cnx.org/contents/185cbf87-c72e-48f5-b51e-f14f21b5eabd@10.137>

18-א:

By P99am [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>) or GFDL (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>)], from Wikimedia Commons

25-א:

By OpenStax [CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)], via Wikimedia Commons

26-א:

By National Human Genome Research Institute (http://www.genome.gov/Images/EdKit/bio2j_large.gif) [Public domain], via Wikimedia Commons

35-א:

By Photograph by Avi Blizovsky [GFDL (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>) or CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)], from Wikimedia Commons

ב-5:

By Wikipedia:Moving files to Commons GFDL (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>) or CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)

ב-9:

By Estevezj [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)], from Wikimedia Commons

ב-12:

By Sjef [Public domain], from Wikimedia Commons

ב-14:

Article Gel Electrophoresis People Studying Molecule Separation (G.E.P.S.M.S) at regentsgenetictechnology[CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)]

א-1:

Article REcombinant DNA at Biology 1510 Biological Principles[CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)]

א-8:

By J LEVIN W [CC BY-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>)], from Wikimedia Commons

א-10:

Article Proof of concept in mammalian cells at DTU-Denmark-2[CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)]

:14-λ

By Scot Nelson [Public domain], via FLICKR

:16-λ

credit a, b: modification of work by JA O'Brien, SC Lummis . Article 12.1: Microbes and the Tools of Genetic Engineering at Biology LibreTexts Library[CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)]

:17-λ

Photo credit: Anne Wangalachi/CIMMYT

:18-λ

By International Rice Research Institute (IRRI) [CC BY 2.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>)], via Wikimedia Commons