# פעילות תחרותית בקבוצות בנושא של הנדסה גנטית - ביטוי של חלבון רקומביננטי בצמחים

מטרת הפעילות: במסגרת פעילות זו יתרגלו התלמידים את הנושא של הנדסה גנטית ובאופן ספציפי יותר יתנסו בשלבים הנדרשים לביטוי חלבון רקומביננטי בצמחים. כמו כן יתרגלו התלמידים את הנושא של תורשה מנדלית. פעילות זו מתאימה כתרגול חווייתי המסכם את הנושא לאחר שנלמד בכיתה.

 זמן דרוש: שיעור כפול של כ 90 דק'.

ציוד: דפים בהם ההוראות והחידות של השלבים השונים.

מהלך הפעילות:

פעילות זו היא חידון בשלבים הבנוי בהתאם לשלבים הנדרשים כדי לבטא חלבון רקומביננטי בתרבית תאי צמחים. על מנת לעבור כל שלב, חייבים לפתור נכונה את השלב הקודם. ניתן לבצע את הפעילות בקבוצות קטנות של 4-5 תלמידים המתחרות זו בזו, או בשתי קבוצות גדולות המתחרות זו בזו – כאשר מספר קטן של תלמידים מתוך כל קבוצה אחראי על שלב אחר בחידון, על מנת שכולם יוכלו להשתתף. הפעילות מתחילה בסיפור רקע שיקבלו התלמידים ומוביל אותם למשימה הראשונה. אחר–כך המשימות שיקבלו התלמידים לפי הסדר.

## הרקע

בתור חוקרים מתחילים, קיבלתם לידיכם דף מידע מפרופסור לגנטיקה שרוצה לקבל אתכם לעבודה. הפרופסור ציין שמדובר במשפחה שבאה אליו לייעוץ ולצערו אין לו זמן לטפל בנושא כך שהוא צריך את עזרתכם. במשפחה יש אבא ואמא בריאים לחלוטין להם 3 ילדים. בן אחד בריא לחלוטין, בת אחת בריאה לחלוטין ובן נוסף שלאחרונה התאשפז בבית החולים בגלל כאבים חזקים בבטן. בבית החולים התגלה כי הטחול והכבד שלו מוגדלים וכן ספירת הדם שלו נמוכה (מספר תאי הדם שלו נמוך מהנורמה). בבדיקה של שושלת המשפחה התברר שגם לסבתא (אם האב) יש תסמינים דומים, אך אלו הופיעו בשלב מאוחר יחסית בחייה, במקביל להופעת אלצהיימר, כך שמעולם לא נבדקה.

קיבלתם לידיכם את שושלת המשפחה כפי שצייר הפרופסור לאחר פגישתו עימם. הפרופסור ציין כי הוא רוצה שתגלו מהו הגן האחראי למחלה על מנת שבמידת האפשר יהיה ניתן לייצר חלבון רקומביננטי תקין במקום החלבון הפגום, אותו תזריקו לבן החולה וכן לשאר החולים שימצאו בעקבות החקירה שלכם וכך הם ירפאו. כדי לעשות זאת עליכם לעבור מספר שלבים, כאשר הצלחה בכל שלב חיונית למעבר לשלב הבא:
1. זיהוי דרך ההורשה של המחלה.

2. זיהוי הגן הגורם למחלה והמוטציה בגן.

3. יצירת דנ"א רקומביננטי – החדרת הגן התקין לפלסמיד.

4. הכנסת הפלסמיד לתאי חיידקים (טרנספורמציה).

5. הדבקת תאי צמח בחיידקים, ברירת התאים שקיבלו את הדנ"א הרצוי והפקת החלבון ממנו.

## שלב א' – זיהוי דרך ההורשה

התבוננו בשושלת המצורפת להלן והסיקו מהי דרך ההורשה של המחלה המתוארת .

1. אוטוזומלית דומיננטית.
2. אוטוזומלית רצסיבית.
3. הורשה בתאחיזה ל X.
4. הורשה בתאחיזה ל Y.

\*\* אוטוזום = כרומוזום שאינו כרומוזום מין.



הגישו את תשובתכם למורה בליווי הסבר קצר לתשובה. רק עם תשובה נכונה בליווי הסבר מתאים תוכלו להתקדם לשלב הבא.

## שלב ב' – זיהוי הגן הגורם למחלה והמוטציה בגן.

כל הכבוד! הפרופסור גאה בכם! מסתבר שהגיעו אליו לאחרונה מספר משפחות נוספות עם סיפור דומה וגם במשפחות אלו דגם ההורשה היה דומה. עכשיו, כשאין ספק שמדובר בהורשה גנטית, של אלל רצסיבי, צריך למצוא את הגן האחראי למחלה. הפרופסור לקח דגימות דם ממספר גדול של משפחות בהן היו פרטים חולים במחלה, הפיק מהדם דוגמאות של דנ"א ושלח אותן לריצוף. לאחר הריצוף, בעזרת הידע הנרחב שלו בגנום האדם, הצליח הפרופסור לצמצם את רשימת הגנים המועמדים לשניים. לפניכם מוצגים בטבלה שני הגנים הללו ורצף הבסיסים שלהם כפי שנמצא בפרטים בריאים ובפרטים חולים. שימו לב כי לא בכל הפרטים המשתייכים לאותה קבוצה רצף הבסיסים הוא בדיוק אותו דבר. עם זאת, שונות זו יכולה לנבוע משונות שקיימת בין בני האדם ואיננה קשורה למחלה. עליכם לזהות את השינויים המשותפים רק לקבוצת החולים ואשר יכולים לגרום למחלה. בנוסף, שימו לב כי בקבוצת החולים יכולות להיות מוטציות שונות בגן הגורמות כולן למחלה, במידה והן מביאות להשפעות דומות. \* יש לציין כי מדובר רק במקטע קצר מתוך כל גן בו אובחנו מספר שינויים. הקידוד לחומצות אמיניות של מקטעים אלו מתחיל מהבסיס הראשון. כלומר שלשת הבסיסים הראשונה משמאל היא זו שתקודד לחומצה האמינית הראשונה של המקטע. אתם יכולים להיעזר בטבלה הבאה של הקוד הגנטי.



| **הגן** | רצפים גנטיים אופייניים **בפרטים בריאים** | רצפים גנטיים אופייניים **בפרטים חולים** |
| --- | --- | --- |
| גן מס' 1 | ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTGACGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAG | ATGCTGCCTCATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTAATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTGCTGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAG |
| גן מס' 2 | ATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAAATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAGATGCCCTAGGGTCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAA | ATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCTATAGCTTAAATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAGATGCCCTAGGGACACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAA |

עליכם לבחור מבין האופציות הבאות את שילוב האופציות הנכון של:

 1. הגן הבעייתי הגורם למחלה.

 2. המוטציה בגן הגורמת למחלה.

 3. מספר חומצות האמינו המקודדות מהרצף התקין.

בכל עמודה רק אחת מהמשבצות נכונה. בכל משבצת ישנה אות. רק השילוב הנכון של 3 אותיות יוכל להביא אתכם לשלב הבא. (האות הראשונה היא של המשבצת הנבחרת בעמודה הכי ימנית אח"כ בעמודה האמצעית ולבסוף השמאלית). את הקוד שקיבלתם יש להציג למורה כדי לעבור לשלב הבא.

| **הגן הגורם למחלה** | **המוטציה הגורמת למחלה** | **מספר חומצות האמינו המקודדות מהרצף התקין** |
| --- | --- | --- |
| גן מס' 1 (G) | שינוי של קודון פסק לחומצה אמינית (A). | 11 (A) |
| גן מס' 2 (F) | שינוי של חומצה אספרטית לחומצה אמינית אחרת(B).  | 12 (D) |
|  | שינוי בסיסים בחומצה האמינית פרולין (C). | 10 (H) |

## שלב ג' - הכנסת הגן לווקטור

מזל טוב! הצלחתם למצוא את הגן האחראי למחלה – GBA. לאחר מחקר מעמיק גיליתם כי גן זה מקודד לאנזים הנקרא גלוקוסרברוזידאז. אנזים זה אחראי לפירוק שומנים כך שבמצב שהוא חסר או מתפקד בצורה לקויה, אותם שומנים שאמורים להתפרק ע"י האנזים, מצטברים באברים פנימיים כמו כבד, טחול, מח העצם ומערכת העצבים, נהיים רעילים וגורמים למחלות הקשורות לאברים אלו.

כעת משאתם יודעים שמדובר באנזים, התעודדתם כיוון שאולי ניתן להזריק את האנזים התקין לחולים וכך לרפא אותם!

לשם כך עליכם להפיק את החלבון. כדי לעשות זאת, בשלב הראשון עליכם להכניס את רצף הדנ"א המקודד לאנזים לתוך ווקטור, פלסמיד, ולפלסמיד זה לעשות טרנספורמציה לחיידק המתאים (הכנסה של הפלסמיד לתוך תאי החיידקים). הפלסמידים הם מולקולות מעגליות של דנ"א המשוכפלות בתא החיידק באופן עצמאי ומכילות בדרך כלל גנים המקנים יתרון חשוב לחיידק. יכולים להיות מאות עותקים של פלסמיד מסוים בתוך תא חיידק בודד המאפשרים רמת ביטוי גבוהה של הגנים הנמצאים בו.

להלן נתון רצף הדנ"א התקין המקודד לאנזים:

**ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAA**

Amp

Restriction

(יש לשמור רצף זה גם לשלבים מאוחרים יותר במשימה).

משמאל ניתן לראות איור סכמטי של הפלסמיד המסחרי בו אתם רוצים להשתמש.

מקרא:
Amp – גן המקנה עמידות לאנטיביוטיקה אמפיצילין.

Restriction – אתר המכיל מגוון אתרי חיתוך לאנזימי רסטריקציה.

להלן פירוט רצף הבסיסים באזור הרסטריקציה בפלסמיד:

ATGCCAGATCATGCGGCCGCTCTAGAGAATTCTTA – גדיל 1.

 TACGGTCTAGTACGCCGGCGAGATCTCTTAAGAAT – גדיל 2.

על מנת להכניס את מקטע הדנ"א שלכם לתוך הפלסמיד, עליכם למצוא אנזים רסטריקציה אחד שמתאים גם לחיתוך הפלסמיד באתר אחד וגם יכול לחתוך את מקטע הדנ"א משני צדדיו.

לשם כך נתון רצף הדנ"א התקין (והגדיל המשלים) המקודד לאנזים והבסיסים המקיפים אותו משני הצדדים – אשר שייכים לאזורי הבקרה של הגן אך אינם מקודדים לאנזים עצמו. בצהוב מסומן האזור המקודד לאנזים:

TCTAGAGAATTCATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAGAATTCGGATTC – גדיל 1

AGATCTCTTAAGTACGACGGACTACTCAAGCCTAGGGGGCCCGTCATTCTTAAGCCTAAG – גדיל 2

למטה תמצאו מספר אנזימי רסטריקציה. עבור כל אנזים רסטריקציה מצוין הרצף אותו הוא מכיר ואת אזור החיתוך, כאשר המקף מציין את אזור החיתוך המדויק. עליכם לבחור את האנזים המתאים לחיתוך הגן והפלסמיד.

שימו לב שכל רצפי החיתוך הנ"ל הם פלינדרומים. כלומר – הרצף בגדיל המשלים זהה כשקוראים אותו מימין לשמאל לרצף המקורי בקריאה משמאל לימין. ניקח למשל אנזים דמיוני החותך ברצף הפלינדרומי:
 GC-AATTGC. אם נסתכל על שני הגדילים, אנזים זה יבצע את החיתוך בשני מקומות:

GC-AATTGC – גדיל 1
CGTTAA-CG – גדיל 2

רצף זה הוא פלינדרומי ולכן הרצף של גדיל 1 בקריאה משמאל לימין זהה לרצף של גדיל 2 (הגדיל המשלים) בקריאה מימין לשמאל. על כן האנזים יבצע 2 חיתוכים, אחד בכל גדיל, עפ"י הרצף שהוא מכיר.

זכרו מידע זה בפתרונכם.
רשימת אנזימי הריסטריקציה:

BamHI: G-GATCC

SmaI: CCC-GGG

EcoRI: G-AATTC

NotI: GC-GGCCGC

XbaI: T-CTAGA

לאחר שזיהיתם את האנזים הדרוש לחיתוך, הכנסתם למבחנה אחת את רצף הדנ"א שלכם ואת אנזים הרסטריקציה, למבחנה אחרת את הפלסמיד עם אנזים הרסטריקציה, ושמתם את המבחנות בטמפ' המתאימה לפעולת האנזים. לאחר שהסתיימה פעולת החיתוך הכנסתם את רצף הדנ"א החתוך, המכיל את הגן התקין, ואת הפלסמיד החתוך למבחנה אחת ביחד עם האנזים ליגאז אשר יכול לחבר קצוות חתוכים של בסיסי דנ"א כאשר הבסיסים משלימים זה את זה. להלן נתון רצף הגן (גדיל 1) והגדיל המשלים שלו. עליכם להשלים רצף של 9 בסיסים בשני הגדילים, משני צידי המקטע, שיתקבלו לאחר הליגציה, כלומר לאחר הכנסת המקטע לפלסמיד. סמנו בצבע אחד בסיסים שמקורם במקטע הדנ"א שהכנסת (זה המכיל את הגן) ובצבע אחר את הבסיסים שמקורם מהפלסמיד.

ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAA - גדיל 1

TACGACGGACTACTCAAGCCTAGGGGGCCCGTCATT – גדיל 2.

על מנת לעבור לשלב הבא, עליכם לפענח את הקוד המורכב מחלק מהאותיות אותם השלמתם:

אות ראשונה – הבסיס הראשון שמקורו בפלסמיד, שהשלמתם מימין לרצף של גדיל 1 (ספרו את הבסיסים מהבסיס הראשון שאחרי סוף הרצף הנתון ימינה).

אות שניה – הבסיס השני שמקורו במקטע הדנ"א המכיל את הגן, שהשלמתם מימין לרצף של גדיל 2 (ספרו את הבסיסים מהבסיס הראשון שאחרי סוף הרצף הנתון ימינה).

אות שלישית – הבסיס השלישי שמקורו במקטע הדנ"א המכיל את הגן, שהשלמתם משמאל לרצף של גדיל 1 (ספרו את הבסיסים מהבסיס הראשון שלפני תחילת הרצף הנתון שמאלה).

אות רביעית – הבסיס החמישי שמקורו בפלסמיד, שהשלמתם משמאל לרצף של גדיל 2 (ספרו את הבסיסים מהבסיס הראשון שלפני תחילת הרצף הנתון שמאלה).

את הקוד שהתקבל הגישו למורה. במידה וקיבלתם את הקוד הנכון תקבלו את המידע להמשך המשימה.

## שלב ד' – טרנספורמציה לחיידקים

כל הכבוד! עוד רגע ותוכלו לרפא את החולים שלכם!

כעת כדי שתוכלו להפיק את החלבון, עליכם ראשית להכניס את הפלסמיד המהונדס לחיידק המתאים. חיידק זה הינו *אגרובקטריום*, אשר גורם לגידולים בצמחים. לחיידק זה יש יכולת להעביר דנ"א אל תאי הצמח, וכך הדנ"א שיעבור מהחיידק יבוטא בתא הצמחי ע"י שימוש במערכות התא של הצמח לתעתוק ותרגום. כדי להכניס את הפלסמיד לחיידק, יש ליצור חורים קטנים בקרום תא החיידק. אחת השיטות לעשות זאת היא ע"י heat-shock – העברת החיידקים לטמפ' גבוהה לזמן קצר ומיד לאחר מכן העברתם לקרח. באופן זה קרום החיידקים נפתח רק מעט, מספיק על מנת להכניס את הפלסמיד מצד אחד, ולא יותר מידי על מנת שהחיידקים יוכלו אח"כ להתאושש. כדי שיתאוששו יש לגדל את החיידקים במצע נוזלי מתאים ובטמפרטורה מתאימה.

\*שימו לב שחיידקים אלו גדלים בתאי צמחים. חשבו על סביבות הגידול של צמחים שאתם מכירים ועל תקופת הצמיחה והפריחה שלהם במהלך השנה ונסו לשער בהתאם מהי הטמפ' האופטימאלית.

פרוטוקול הגידול של החיידקים התערבב עם מסמכים אחרים וכעת עליכם למצוא מהטבלה הבאה את צירוף הנתונים הנכון שיביא לגידול מוצלח של החיידקים שקיבלו את הפלסמיד (בכל עמודה עליכם לבחור רק אופציה אחת הנכונה ביותר. עבור כל משבצת שתבחרו ישנה אות מייצגת, כך שבסופו של דבר יתקבל קוד בן 3 אותיות בו האות הראשונה היא מהעמודה הכי ימנית, השנייה מהאמצעית והשלישית מהשמאלית):

| **תכולת מצע נוזלי** | **טמפרטורה (מעלות צלזיוס)** | **PH** |
| --- | --- | --- |
| מים (H) | 28 (P) | 3 (B) |
| מים וסוכר (S) | 37 (H) | 7 (A) |
| מים, סוכר, ח.אמינו וויטמנים (C) | 5 (C) | 10 (C) |
| מים וויטמינים (B) | 43 (L) | 12 (D) |

הציגו למורה את הקוד שהתקבל על מנת להמשיך לשלב הבא והאחרון.

## שלב ה' – הדבקת תאי הצמח

כעת עליכם להדביק את תאי הצמח בחיידקים ולגדל את תאי הצמח בתרבית כך שתוכלו להפריד בין תאים שקיבלו את מקטע הדנ"א המבוקש לאלו שלא. שימו לב שהפרדה זו הינה חיונית כיוון שתהליך הטרנספורמציה לחיידקים כמו גם תהליך העברת הדנ"א מהחיידק לתא הצמח מתרחשים ביעילות נמוכה יחסית , ולכן מרבית התאים לא יקבלו את הפלסמיד. איזו מבחנה מהבאות מכילה את צירוף התנאים ההכרחי על מנת לקבל רק תאי צמח שמכילים את הדנ"א הרצוי? בתחתית כל מבחנה יש מילה בת 4 אותיות, רשמו את האותיות של המבחנה המתאימה ושמרו להמשך המשימה.

תיאור המבחנות המכילות את החלבונים

- מים וחומרי הזנה לצמח כמו תרכובות חנקן והורמונים.
- אמפיצילין

ELEL

- מים וחומרי הזנה לצמח כמו תרכובות חנקן והורמונים.
- אמפיצילין.

PROS

- מים וחומרי הזנה לצמח כמו תרכובות חנקן והורמונים.

ELAL

- מים וחומרי הזנה לצמח כמו תרכובות חנקן והורמונים.

PROT

לאחר שגידלתם את תאי הצמח במבחנה המתאימה, ביקשתם מהפרופסור לו אתם עוזרים להשתמש בציוד המשוכלל שלו, בעזרתו ניתן להפיק את החלבונים שיוצרו בתרבית תאי הצמח וכן לבודד את החלבון הרצוי, במקרה זה האנזים גלוקוסרברוזידאז. לצערכם הפרופסור ניצל את ההזדמנות כדי להפיק עוד כמה חלבונים וסימן את המבחנות בהם יש את החלבונים באותיות שאינכם יודעים מה משמעותן. מכיוון שהפרופסור בדיוק טס לחו"ל ואינו זמין, אתם צריכים למצוא את המבחנה המכילה את החלבון שלכם. לשם כך עליכם לתרגם את רצף הדנ"א של הגן לרצף ח. האמינו המתקבל ממנו, וכך תוכלו להשוות עם הרצפים של החלבונים במבחנות השונות. תוכלו להיעזר במפת הקוד הגנטי המצורפת. האות הראשונה של הקוד בעיגול הפנימי ביותר, אח"כ האות האמצעית ולבסוף האות השלישית. בעיגול הכי חיצוני רשומה החומצה האמינית המתקבלת ובסוגריים האות המייצגת חומצה אמינית זו:



| סימון המבחנה | רצף ח.האמינו של החלבון במבחנה |
| --- | --- |
| DSO | M-L-P-D-E-F-G-S-P-G-Q-Y |
| YSO | M-L-P-D-E-F-G-S-P-G-Q |
| YSD | L-P-D-E-F-G-S-P-G-Q |
| YFP | M-L-P-E-D-F-G-S-P-G-Q |

כדי לקבל את התשובה האחרונה עליכם לחבר את 4 האותיות מהשלב הראשון של המשימה עם 3 האותיות המסומנות על מבחנת החלבון שבחרתם. את המילה שהתקבלה הגישו למורה.

## סיכום - הצלחה במשימה

מצוין! הצלחתם להכין את התרופה **ELELYSO**!

תרופה זו מיוצרת כיום באופן מסחרי ע"י חברת פרוטליקס על בסיס מחקר פורץ דרך של ד"ר יוסף שאליתאל ומיוצרת, בדיוק כפי שאתם הכנתם, בתרביות תאי צמחים (תאי גזר). תרופה זו מחליפה כאמור את האנזים גלוקוסרברוזידאז (GCD) שהינו פגום אצל החולים במחלת גושה. מחלת הגושה הינה מחלה אוטוזומאלית רצסיבית בעלת אחוז נשאים גבוה באוכלוסייה היהודית אשכנזית (כ 1 ל 14).
ישנם 3 סוגים של מחלת הגושה הנבדלים ביניהם ברמת החומרה של המחלה וזמן הופעתה. בסוג 1 הנפוץ ביותר, אין פגיעה במערכת העצבים והוא יכול להופיע מוקדם בילדות או בחיים הבוגרים. סוגים 2 ו-3 הם חמורים יותר כיוון שהם פוגעים במערכת העצבים, אך הם גם פחות נפוצים. חלק מהתסמינים כוללים גם את התסמינים כפי שתוארו בחלק הראשון של המשימה – טחול וכבד מוגדלים וספירת דם נמוכה. בשנת 2012 אושרה לשימוש תרופת ה Elelyso ע"י מנהל המזון והתרופות האמריקאי (FDA), ומחקרים קליניים ראשונים כבר הראו את ההשפעות החיוביות של התרופה על מבוגרים החולים במחלה, כמו גם על ילדים: ירידה בגודל הממוצע של הטחול והכבד ועליה ברמות ההמוגלובין ומספר הטסיות. כלומר, מדדים אלו שבד"כ אינם תקינים בחולים בגושה מסוג 1, הראו שיפור ורמתם הייתה קרובה יותר לרמה התקינה.

## תשובון והערות למורה

**חלק א'** **–** תשובה: 2 – **אוטוזומלית רצסיבית**.

בשושלת ניתן לראות שהופעת המחלה מדלגת על דור – דבר האופייני לצורת הורשה רצסיבית. האלל הפגום חייב להיות גם בדור השני על מנת לעבור לנכד בדור השלישי. אם היה מדובר באלל דומיננטי – היינו רואים גם חולים בדור השני של ההורים. בנוסף, לא יכול להיות שמדובר בהורשה בתאחיזה ל Y כיוון שהסבתא, נקבה הייתה חולה גם כן. ניתן לשלול גם הורשה בתאחיזה ל X: אם זו הורשה דומיננטית בתאחיזה ל X גם כאן היינו מצפים למצוא חולה בדור השני מאותה סיבה ששללנו הורשה אוטוזומלית דומיננטית. אם מדובר בהורשה בתאחיזה ל X רצסיבית, זה אומר ששני כרומוזומי ה X הם בעלי אללים פגומים אצל הסבתא, ועל כן היינו מצפים לראות שגם בנה בדור השני חולה כיוון שיש לו רק כרומוזום X אחד אותו הוא קיבל מאמו.

**חלק ב' –** הקוד הנכון המתקבל: **GBA**. להלן מצורפת הטבלה שהוצגה לתלמידים כאשר שינויים שהוכנסו בין הרצפים השונים מודגשים. באדום מסומן הגן הגורם למחלה והשינויים הגורמים לשינוי בח. אמינית – ועל כן אלו הם השינויים הגורמים למחלה.

| **הגן** | רצפים גנטיים אופייניים **בפרטים בריאים** | רצפים גנטיים אופייניים **בפרטים חולים** |
| --- | --- | --- |
| **גן מס' 1** | ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTGA**C**GAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTA**G** | ATGCTGCCT**C**ATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCT**A**ATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAAATGCTGCCTG**C**TGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTA**G** |
| גן מס' 2 | ATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAAATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTA**G**ATGCCCTAGGG**T**CACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAA | ATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCC**T**ATAGCTTAAATGCCCTAGGGCCACTTCGGGTTTCCCATAGCTTA**G**ATGCCCTAGGG**A**CACTTCGGGTTTCCCATAGCTTAA |

**דגשים למורה:** יש לשים לב כי שלב זה יכול להיות מעט מאתגר וידרוש הכוונה.

* הגן האחראי למחלה הוא גן מס' 1. בגן זה ניתן לראות כי בכל הרצפים של הפרטים החולים ישנה מוטציה באותה חומצה אמינית (החומצה האמינית הרביעית, שבפרטים הבריאים היא חומצה אספרטית) הגורמת לשינוי של החומצה האמינית – כל פעם לחומצה אמינית אחרת.
* גם בגן מס' 1 וגם בגן מס' 2 בקבוצות הפרטים הבריאים יש הבדלים מודגשים בין הרצפים, אך מהסתכלות בקוד הגנטי, ניתן לראות ששינויים אלו אינם מביאים להחלפת החומצה האמינית. שינויים דומים יש גם בגן מס' 2 בקבוצת החולים – כלומר שינויים שאינם מביאים לשינוי בחומצה אמינית ולכן הם אינם הגורם למחלה.
* אם יש תלמידים מתקדמים, הם יכולים לטעון שגם גן מס' 2 יכול לגרום למחלה, במידה והשינוי בבסיסים שאמנם לא משפיע על רצף ח. האמינו ישירות עדיין ישפיע על החלבון הסופי במידה ולמשל הוא משפיע על אתרי שחבור. לחלופין יכולים לטעון שהוא יכול להשפיע על רמות ביטוי הגן על ידי שינוי באתר בקרה. אם עניין זה לא עלה במהלך המשימה אפשר לשקול להעלות אותו בדיון בסוף המשימה.
אם אכן הועלתה טענה כזו – הדבר אכן נכון, אך מה שעדיין מוכיח ללא צל של ספק שלא מדובר בגן 2 הוא שהרצף השני בפרטים הבריאים ובפרטים החולים הוא זהה לחלוטין. לא ייתכן שאותו רצף דנ"א בדיוק פעם אחת גורם למחלה ופעם אחת לא (בהנחה שהפגם מתרחש ברמת הבסיסים בדנ"א).
* אם התלמידים מתקשים יש לכוון אותם בשלבים: 1. האם יש שינויים שסביר יותר שיגרמו למחלה משינויים אחרים? (כן, שינויים המביאים לשינוי בח.אמינית). 2. איפה אתם רואים שינויים בח.אמינית? 3. האם השינויים הללו בעלי תוצאה דומה?

**שלב ג'**

1. האנזים החותך: **EcoRI: G-AATTC.**

אנזים זה הוא היחיד שקיים גם בפלסמיד וגם בגן משני צדדיו ולא בתוך הגן, כך שכל הגן יישאר שלם לאחר החיתוך.

1. הקוד המתקבל: **ATTC**

**AGAGAATTC**ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAA**GAATTCTTA** - גדיל 1

**TCTCTTAAG**TACGACGGACTACTCAAGCCTAGGGGGCCCGTCATT**CTTAAGAAT** – גדיל 2.

האותיות באדום וכחול הם מה שהתלמידים צריכים להשלים, כאשר באדום – אלו בסיסים שמגיעים ממקטע הדנ"א שהוכנס ומכיל את הגן ואילו בכחול אלו בסיסים שמגיעים מהפלסמיד. האותיות עם הקו מתחת הן אלו שעל התלמידים לבחור כדי להשלים את הקוד.

אם יש צורך, ניתן להציג לתלמידים על הלוח את הרצף של שני הגדילים שקיבלו ולהראות כ"מקומות ריקים" את המקומות של הבסיסים שהם צריכים להשלים. כלומר:

\_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ATGCTGCCTGATGAGTTCGGATCCCCCGGGCAGTAA\_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ - גדיל 1

\_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_TACGACGGACTACTCAAGCCTAGGGGGCCCGTCATT\_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ \_ – גדיל 2.

הקווים התחתונים מייצגים את המקומות הריקים שעליהם להשלים.

**שלב ד'**

הקוד המתקבל: **CPA.**

**שלב ה'**

1. המילה המתארת את המבחנה הנכונה: **ELEL.**

המבחנה הנכונה היא הימנית כיוון שגם מכילה את המים וחומרי ההזנה, גם אמפיצלין – שיברור תאים שקיבלו את הדנ"א וגם הפנס מראה שתאים אלו גודלו באור.

1. המבחנה המכילה את החלבון הנכון: **YSO.**
2. בחיבור 4 האותיות מחלק 1 עם 3 האותיות מחלק 2 מתקבלת המילה: **ELELYSO**.