# מחקר 1: עונת החלוקה

## משימה א

[לפניכם סרט](https://vimeo.com/user35493206) שבו נראה תא ריאה של סלמנדרה (מין של דו-חי) בחלוקה.
התבוננו בו היטב ונסו לחלק את הסרט למספר חלקים שונים.

בכדי לראות בבירור את היפרדות הכרומטידות האחיות בחלוקת מיטוזה בתא צמחי צפו גם בסרט המופיע ב"מדוע תא מתחלק?"

תארו בקצרה מה מתרחש בכל חלק ומדוע חילקתם את הסרט באופן שבחרתם?

הקלידו את תשובתכם כאן:

|  |
| --- |

## משימה ב

### שלב א

במשימה זו ישנן תמונות של תא אפיתל מריאה של סלמנדרה (מין של דו-חי) בשלבים שונים של חלוקה. התמונות צולמו מבעד למיקרוסקופ אור ומזכירות מאוד את הנראה בסרט במשימה הקודמת. בכל אחת מהתמונות הצבע מסמן את מיקום הכרומוזומים.

המשימה היא לסדר את התמונות לפי סדר האירועים שאתם סבורים שמתקיים בתא במציאות.

### שלב ב

במשימה זו יש להתאים את המשפטים הבאים לתמונות:

* היפרדות והתרחקות של הכרומוזים
* דחיסת הכרומוזומים והעלמות מעטפת הגרעין
* חלוקת הציטופלסמה ובניית קרומים לתא
* קישור הכרומוזומים לקינטוכור ותחילת תנועתם
* תנועת הכרומוזומים למרכז
* פרישת הכרומוזומים ובניית מעטפות לגרעינים שנוצרו

לאחר שביצעתם את שני השלבים במשימה זו, העזרו במאגר (2n, 2n + 2n, 4n) ורשמו מהי כמות ה- DNA בתא בכל אחת מהשלבים ביחידות של n. קראו על סימון כמות ה- DNA באות n ב"[כרומוזומים](https://stwww1.weizmann.ac.il/cell/?p=60)". זכרו את תשובתכם להמשך עבודתכם.

| שלב | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| כמות כרומוזומים ביחידות של n |  |  |  |  |  |  |

## משימה ג

בסרט שראיתם במשימה א' נראים מבעד למיקרוסקופ השלבים השונים של המיטוזה.
ביתר השלבים במחזור התא לא נצפים שינויים חיצוניים משמעותיים מבעד למיקרוסקופ ולכן לא מראים אותם בסרט זה.

על פי החלוקות של [הסרט שבצעתם במשימה א'](https://stwww1.weizmann.ac.il/cell/?p=17) ובהסתמך על הידע שלכם לגבי שלבי מחזור התא השלימו את הטבלה הבאה, כך שלכל שלב במחזור התא יותאמו מספר כרומוזומים וכמות DNA. להזכירכם, מספר הכרומוזומים באדם הוא 46 (23 זוגות).

 (כאמור מסמנים את כמות ה- DNA בתא באות n, סמנו כמה מנות של DNA (כפולות של n) נמצאות בתא בשלבים השונים במחזור התא).

להסבר קראו ב[פעילות 2](https://stwww1.weizmann.ac.il/cell/?p=145) בכפתורי הרקע ובהרחבה.

היעזרו במאגר (46, 46 + 46, 92, אין)

| השלב במחזור התא | מספר כרומוזומים בתא | מספר הכרומטידות בתא | כמות ה- DNA (ביחידות של מ) |
| --- | --- | --- | --- |
| שלב גידול 1 (G1) | 46 | אין | n2 |
| בתחילת שלב הכפלת ה- DNA (S) |  |  |  |
| תוך כדי שלב הכפלת ה- DNA (S) | 46 | בין 46 לבין 92 | כל ערך בין n2 לבין n4 |
| בסיום שלב הכפלת ה- DNA (S) |  |  |  |
| שלב גידול 2 (2G) |  |  |  |
| דחיסת הכרומוזומים והעלמות מעטפת הגרעין |  |  |  |
| קישור הכרומוזומים לקינטוכור ותחילת תנועתם |  |  |  |
| תנועת הכרומוזומים למרכז |  |  |  |
| היפרדות והתרחקות של הכרומוזומים | 46 | 46 + 46 | n2 + n2 |
| פרישת הכרומוזומים ובניית מעטפות לגרעינים שנוצרו |  |  |  |
| חלוקת הציטופלסמה ובניית קרומים לתא |  |  |  |

## משימה ד

בכדי לענות על משימה זו קראו מראש בכפתור "[שיטות](https://stwww1.weizmann.ac.il/cell/?p=62)" על המכשיר למדידת תאים בזרימה והבהירו לעצמכם מה אפשר למדוד בשיטה זו.

כעת ניגש לביצוע המשימה:

לפניכם תיאורים של ניסויי מעבדה שבוצעו בתרביות תאים. בתיאורים רשמנו מה היה אופן הטיפול בתרבית התאים, ומהן ההשלכות של טיפול זה.
בתחתית העמוד מצויים פלטי המחשב (בצורה גרפית) שנתקבלו לאחר כל ניסויי.

במשימה זו יש להתאים בין תיאורי הניסיונות לגרפים. היעזרו ברמזים תוך כדי עבודתכם.

להזכירכם, בשיטת FACS ניתן למדוד את תכולת ה- DNA בתאים, על סמך צביעת התאים בצבע זורח החודר לתא, נצמד אל ה- DNA וצובע אותו. לפי עוצמת הצבע המתקבלת מהתאים ניתן לשער מהו השלב במחזור התא שבו הם נמצאים.

### תיאור מקרה א':

תאים גודלו בתרבית תאים במעבדה. בתרבית זו ניתן למצוא בכל זמן נתון תאים בשלבים שונים של מחזור התא. בדרך כלל, כ-60% מהתאים נמצאים במהלך שלב G1, כ-25% מהתאים נמצאים במהלך שלב S, ויתרת התאים נמצאים במהלך השלבים G2 ו-M. פירוט לגבי אופן גדילת תאים בתרבית תמצאו בכפתור מדידת תכולת DNA.

התאים מהתרבית נצבעו בצבע פרופידיום יודיד והועברו לבדיקה במכשיר FACS. בגרף זה ניתן לראות את סיכום המדידות שנקלטו במכשיר. ניתן להבחין בשלוש תת-אוכלוסיות של תאים, כל אחת מתת האוכלוסיות מכילה תאים הנמצאים בשלב דומה במחזור התא.

רמז: האם כל התאים בתרבית גדלים בתזמון (נמצאים באותו השלב במחזור התא)?

### תיאור מקרה ב':

גרף זה מתאר תרבית תאים שגודלה במעבדה וטופלה בתמיסה שחסרים בה מרכיבים חשובים לחיי התאים. מחסור זה גרם לכך שהתאים לא יכולים להתחיל במחזור תא חדש. משום כך, חלה הצטברות של מספר רב של תאים בשלב G1 של מחזור התא. התאים נצבעו בפרופידיום יודיד והועברו לבדיקה במכשיר FACS. למעשה נראית בגרף תת-אוכלוסיה אחת של תאים שנמצאים במהלך שלב G1.

רמז: מניעה של חומרי הזנה גורמת לתא מצב של רעב. במצב זה אין התא עובר לשלבים דורשי אנרגיה כדוגמת הכפלת החומר הגנטי. בהרעבה ממושכת התאים פשוט עצורים מבחינת מחזור התא אך הם עדיין חיים.

### תיאור מקרה ג':

תאים גודלו בתרבית רקמה במעבדה. הוסיפו לתרבית התאים חומר כימי שגורם לעצירתם בשלב גידול S. כתוצאה מכך הצטברו תאים רבים מתרבית זו שהגיעו לשלב זה ובגרף מתקבלת תת-אוכלוסיה אחת. התאים הודגרו מעל ל- 24 שעות בנוכחות החומר המעכב ונצבעו בצבע פרופידיום יודיד. לאחר מכן הועברו התאים לבדיקה במכשיר FACS.

רמז: עצירת מחזור התא בשלב S יכולה להיות מלאה (כל התאים ספגו את החומר הכימי והושפעו ממנו) לעומת עצירה חלקית בשלב S של מחזור התא (רק חלק מהתאים ספגו את החומר הכימי או הושפעו ממנו).

### תיאור מקרה ד':

גרף זה התקבל ממכשיר FACS כתוצאה מטיפול דומה לזה הנעשה בתיאור מקרה ג', אם כי למשך זמן קצר יותר (טיפול למשך חצי שעה עד שעה). טיפול בחומר המעכב את התאים בשלב S למשך זמן קצר גורם רק לחלק מהתאים בתרבית לקלוט את החומר ולהגיב בהתאם. מהנתונים שנקלטו במכשיר ניתן לראות כי מתקבלות שתי תת-אוכלוסיות תאים (שתי גבעות בגרף). אוכלוסייה אחת של תאים עדיין לא הגיעה לשלב S ומצויה עדיין במהלך שלב G1. יתר התאים בתרבית הושפעו מאותו חומר כימי שמנע מהם התקדמות במחזור התא מעבר לשלב S. התאים נצבעו בצבע פרופידיום יודיד ולאחר מכן הועברו לבדיקה במכשיר FACS.

רמז: עצירת מחזור התא בשלב S יכולה להיות מלאה (כל התאים ספגו את החומר הכימי והושפעו ממנו) לעומת עצירה חלקית בשלב S של מחזור התא (רק חלק מהתאים ספגו את החומר הכימי או הושפעו ממנו).

הבהירו לעצמכם מדוע ההסבר שבחרתם מתאים לתוצאת ה- FACS שנבחרה.

הקלידו את תשובתכם כאן:

|  |
| --- |

# פתרונות

## משימה ב**שלב ב:**

| שלב 1 | דחיסת הכרומוזומים והעלמות מעטפת הגרעין.התא במצב זה מכיל 4n כרומוזומים. |
| --- | --- |
| שלב 2 | קישור הכרומוזומים לקינטוכור ותחילת תנועתם.התא במצב זה מכיל 4n כרומוזומים. |
| שלב 3 | תנועת הכרומוזומים למרכז.התא במצב זה מכיל 4n כרומוזומים. |
| שלב 4 | היפרדות והתרחקות של הכרומוזומים.התא במצב זה מכיל 2n + 2n כרומוזומים. |
| שלב 5 | פרישת הכרומוזומים ובניית מעטפות לגרעינים שנוצרו.התא במצב זה מכיל 2n + 2n כרומוזומים. |
| שלב 6 | חלוקת הציטופלסמה ובניית קרומים לתא .בכל אחד מגרעיני התאים שנוצרו יש 2n כרומוזומים. |

## משימה ג

פתרון הטבלה:

שימו לב, כפי שרואים בטבלה המלאה, התייחסנו למספר כרומטידות כאל תופעה המתרחשת לקראת החלוקה, כלומר באירועי הכפלת ה-DNA בשלב S. בשלבים הבאים של מחזור התא הכרומטידות עדיין קיימות ולאחר המיטוזה (החלוקה עצמה) הן הופכות להיקרא כרומוזומים. לצורך הנוחות ציינו את מספר הכרומטידות (שבתום החלוקה יכונו כרומוזומים) הממוקמות באותו שלב, בשני קצות אותו התא העומד להתחלק, ואת כמות ה-DNA בתא בשלב זה רשמו בצורה של סכום שתי מנות: (אחת + אחת).

| השלב במחזור התא | מספר כרומוזומים בתא | מספר הכרומטידות בתא | כמות ה- DNA (ביחידות של מ) |
| --- | --- | --- | --- |
| שלב גידול 1 (G1) | 46 | אין | n2 |
| בתחילת שלב הכפלת ה- DNA (S) | 46 | אין | n2 |
| תוך כדי שלב הכפלת ה- DNA (S) | 46 | בין 46 לבין 92 | כל ערך בין n2 לבין n4 |
| בסיום שלב הכפלת ה- DNA (S) | 46 | 92 | n4 |
| שלב גידול 2 (2G) | 46 | 92 | n4 |
| דחיסת הכרומוזומים והעלמות מעטפת הגרעין | 46 | 92 | n4 |
| קישור הכרומוזומים לקינטוכור ותחילת תנועתם | 46 | 92 | n4 |
| תנועת הכרומוזומים למרכז | 46 | 92 | n4 |
| היפרדות והתרחקות של הכרומוזומים | 46 | 46 + 46 | n2 + n2 |
| פרישת הכרומוזומים ובניית מעטפות לגרעינים שנוצרו | 46 | 46 + 46 | n2 + n2 |
| חלוקת הציטופלסמה ובניית קרומים לתא | 46 | אין | n2 |

### משימה ד

| תיאור מקרה א': | בתמונות גודלו תאים בתרבית תאים במעבדה, נצבעו בצבע פרופידיום יודיד והועברו לבדיקה במכשיר FACS. |
| --- | --- |
| תיאור מקרה ב': | למעלה: התאים גודלו בתרבית רקמה במעבדה. הרעיבו את התאים על ידי כך שמנעו מהם חומרי הזנה לפרק זמן ממושך וצבעו בצבע פרופידיום יודיד. לאחר מכן הועברו התאים לבדיקה במכשיר FACS. |
| תיאור מקרה ג': | התאים גודלו בתרבית רקמה במעבדה. הוסיפו לתרבית התאים חומר כימי שעוצר את התאים בשלב גידול S והמתינו מעל ל- 24 שעות. צבעו בצבע פרופידיום יודיד, לאחר מכן הועברו התאים לבדיקה במכשיר FACS. |
| תיאור מקרה ד': | התאים גודלו בתרבית רקמה במעבדה. הוסיפו לתרבית התאים חומר כימי שעוצר את התאים בשלב גידול S אך המתינו בין חצי שעה לשעה. צבעו בצבע פרופידיום יודיד, לאחר מכן הועברו התאים לבדיקה במכשיר FACS. |
| תמונה מסכמת: | בתמונה זו ניתן לצפות בכל אחת מהתמונות של מקרים א', ג' ו-ד', האחת על גבי השנייה. שימו לב, ניתן להסיק מתיאורי המקרה, כי ככל שמדגירים את התאים בנוכחות החומר המעכב לזמן ממושך יותר, כך יותר תאים מעוכבים בשלב ה-S. |