# מחקר 4: תלוי על חוט הכישור

## משימה א

במשימה זו ישנו סרט שצולם תא בתרבית בשלב שבו חלה התארגנות הכרומוזומים בקו המשווה של התא לקראת חלוקת התא לשני תאי בת. אחריו באות מספר שאלות:

1. עקבו אחר הכרומוזומים. האם אתם יכולים להבחין בתקלות תוך כדי ההתארגנות לחלוקה? האם כל הכרומוזומים נראים מסודרים בקו המשווה של התא?
2. מה יכולה להיות המשמעות עבור התא אם חלק מן הכרומוזומים אינם מסודרים בקו המשווה של התא לקראת החלוקה?
3. מהי המשמעות עבור יצור רב תאי כאשר אין סידור תקין של כל הכרומוזומים בקו המשווה א. בתא כלשהו בגוף בתהליך המיטוזה ב. בתא מין בתהליך המיוזה?
4. לפניכם הסרט השלם שבו נראה התא מתחלק לשני תאי בת. לאחר צפייה בסרטון ישנן שאלות:
5. תארו מה קרה בהמשך הסרט לכרומוזומים שבתחילה לא היו מסודרים בקו המשווה של התא.
6. האם ההפרדה בפועל של הכרומטידות זו מזו חלה לפני או אחרי שכל הכרומוזומים הסתדרו בקו המשווה של התא?

## משימה ב

בסרט שבו צפיתם, המראה תא בתהליך החלוקה, נראים כרומוזומים שלא התארגנו בקו המשווה של התא יחד עם שאר הכרומוזומים. מסתבר, שכרומוזומים כאלה הם כרומוזומים שנקשרו רק מצידם האחד לחוט כישור, ועדיין לא נקשרו לחוט כישור בצידם השני.

כרומוזומים שנותרו קשורים רק בצד אחד לחוטי כישור מתקרבים לקוטב של התא שממנו יוצאים חוטי הכישור שנקשרו אליהם, ויש להם תנודות אופייניות ותזוזות. זאת בניגוד לכרומוזומים שקשורים לחוטי כישור משני צידי הכרומוזום, שמסודרים בקו המשווה של התא יחסית ללא תנועה.

בסרט שבו צפיתם אפשר לראות, שתהליך החלוקה התקדם רק כאשר נקשרו כל הכרומוזומים לחוטי כישור משני צידיהם. רק אז חלה ההפרדה של הכרומטידות לשני הקטבים המנוגדים של התא.

כפי שאתם עקבתם אחר הכרומוזומים בתהליך החלוקה, גם חוקרים ביצעו מעקב אחר חלוקה של תאים בתרבית באמצעות סרטי וידאו של תאים. הם בדקו את הזמן שעובר מהשלב שבו מעטפת הגרעין מתפרקת, ועד לשלב שבו הכרומוזומים נפרדים לשני הקטבים של התא. כפי שראיתם בסרט, לעיתים לא כל הכרומוזומים נקשרים לחוט כישור משני הקטבים של התא. במעקב של החוקרים הם התייחסו לנקודה זו גם כן: הם בדקו את הזמן שעובר משלב ההתפרקות של מעטפת הגרעין עד שאחרון הכרומוזומים נקשר לשני חוטי כישור (אחד מכל קוטב של התא), ועד להפרדת הכרומוזומים לשני קוטבי התא.

נתון גרף ונשאלות אחריו השאלות הבאות:

1. ציינו לפניכם אילו נתונים מתוארים על איזה ציר (x או y), מהו המשתנה התלוי ומהו הבלתי תלוי.
2. הנתון שנמדד בניסוי היה זמן. מדוע לדעתכם השתמשו החוקרים בגרף עמודות? האם קו רציף היה מתאים יותר בניסוי כזה?
3. נסו לחשב, עבור כל עמודה בגרף, כמה זמן עבר מהרגע שאחרון הכרומוזומים נקשר לחוטי כישור משני צידיו ועד להפרדת הכרומטידות לקטבים המנוגדים של התא (עבור העמודה האחרונה, התייחסו ל"מעל 40 דקות" כ-60 דקות בממוצע). האם פרק הזמן שחישבתם לעמודות השונות שונה או דומה בכל עמודה? (השלימו: לאחר קישור אחרון הכרומוסומים משני צדדיו לחוטי כישור, מתרחש שלב ההפרדה של הכרומטידות לשני קוטבי התא לאחר כ-\_\_\_\_\_\_ דקות או פחות).
4. השוו את פרק הזמן שחישבתם לכל עמודה לפרק הזמן שעבר משלב ההתפרקות של מעטפת הגרעין עד שאחרון הכרומוסומים נקשר לחוטי הכישור משני צידיו (לנתוני ציר ה-x). איזה מפרקי הזמן האלו קבוע פחות או יותר, ואיזה משתנה?
5. העובדה שפרקי הזמן של שלב אחד במיטוזה משתנים ופרקי הזמן של שלב אחר במיטוזה הם קבועים, יכולה להעיד על נקודת ביקורת שמתרחשת בתהליך המיטוזה: כל עוד לא התרחש שלב אחד במלואו - אין מעבר לשלב הבא. אולם, ברגע שהשלב הקודם הסתיים, ממשיך תהליך המיטוזה באופן בלתי תלוי בבקרה כלשהי, לאחר פרק זמן קבוע. על פי הנתונים שחישבתם ועל פי הגרף, איזה שלב במיטוזה נתון לבקרה של התא: קישור הכרומוזומים לחוטי הכישור או ההפרדה בין הכרומטידות לקטבים המנוגדים של התא?
6. לאור תשובתכם לשאלה 3 במשימה 1, מדוע בקרה כזאת חשובה, ואיזה מצב בלתי רצוי היא מונעת?
7. מה לדעתכם עשוי להשפיע בתהליך המיטוזה על המעבר משלב קישור הכרומוזומים לחוטי הכישור לשלב ההפרדה של הכרומוזומים לשני קוטבי התא?
8. האם הניסוי אכן מוכיח את הצעתכם, או שהוא רק מרמז עליה?
9. איזה ניסוי הייתם מבצעים כדי להוכיח חד משמעית את הצעתכם?

## משימה ג

העובדה שתהליך המיטוזה אינו ממשיך כל זמן שישנם כרומוזומים שלא נקשרו משני הצדדים לחוטי הכישור מעידה על כך, שבמצב כזה קיים בתא אות מעכב כלשהו. אות כזה מונע מצבים של הפרדה בלתי שווה של כרומטידות לשני תאי הבת כתוצאה מקישור בלתי שלם או העדר קישור כלל בין כרומוזומים לחוטי הכישור.

אחת ההשערות שהועלו לגבי אות כזה היא שצנטרומר והחלבונים שנקשרים אליו שנותרו ללא קישור לחוטי כישור הם המקור לאות שמעכב את המשך המיטוזה.

כדי לבדוק אם האות המעכב את המשך המיטוזה אכן נובע מצנטרומר שאינו קשור לחוטי כישור, עקבו חוקרים אחר תאים בתרבית שעוברים חלוקה מבעד למיקרוסקופ. כאשר נצפה תא, שבו נותר כרומוזום יחיד שטרם נקשר לחוטי כישור, הם צרבו את אזור הצנטרומר של כרומוזום זה על ידי קרן לייזר.

1. ניסוי הצריבה נועד לבדוק אם אזור הצנטרומר שלא נקשר לחוטי כישור מייצר אות המעכב את תהליך המיטוזה.
2. מהי התוצאה הצפויה של ניסוי הצריבה אם השערה זו נכונה? כדי להסביר את תשובתכם, תוכלו להשתמש בנתונים שחישבתם במשימה 2.
3. מהי התוצאה הצפויה של הניסוי אם ההשערה אינה נכונה?

לפניכם טבלה המציגה את תוצאות ניסוי הצריבה בלייזר.

|  | מספר התאים שנבדקו | ממוצע פרק הזמן שעבר (בדקות) מרגע הצריבה או מהרגע שאחרון הכרומוזומים נקשר לחוטי כישור משני צדדיו עד להפרדת הכרומטידות | טווח הזמנים שנמדדו |
| --- | --- | --- | --- |
| ללא צריבה | 126 | 23$\pm $1 | 48-9 |
| צריבה של הכרומוזום מחוץ לאזור הצנטרומר | 11 | 22$\pm $2 | 31-14 |
| צריבה של הצנטרומר של הכרומוזום האחרון שנותר קשור רק בצדו האחד לחוטי כישור | 11 | 17$\pm $1 | 22-11 |

1. הבהירו לעצמכם מהי הביקורת בניסוי ומה היא בודקת.
2. מהן תוצאות הניסוי, ומה אפשר להסיק מהן?
3. רשמו כל שאלה שמתעוררת בכם לגבי הניסוי, ונסו להעלות גם ביקורת עליו.
4. האם לדעתכם הניסוי מוכיח שצנטרומר שלא נקשר כראוי לחוטי כישור יכול להיות המקור לאות שמבקר את המשך תהליך המיטוזה?

## משימה ד

ניסויי הצריבה מרמזים על כך, שאזור הצנטרומר הוא המקור לגורם המעכב את המשך המיטוזה עד שכל הכרומוסומים מסתדרים בקו המשווה ונקשרים משני הצדדים לחוטי כישור. השאלה מהן המולקולות בצנטרומר המהוות את הגורם המעכב את המשך המיטוזה נשארת פתוחה עדיין: האם זהו הצנטרומר עצמו? האם אלה חלבונים הנקשרים לצנטרומר (לינק לקינטוכור)? אילו חלבונים אלה?

בשמרים התגלה חלבון בשם MAD2 שנקשר לאזור הצנטרומר. מוטציה בגן המקודד לחלבון זה גורמת לכך, שנפגעת הבקרה על המיטוזה, והתאים ממשיכים לשלב ההפרדה בין הכרומטידות למרות שלא כל הכרומוזומים נקשרו לחוטי הכישור משני הצדדים.

כאשר בדקו בתאים של בעלי חיים מפותחים יותר, כמו דו-חיים ויונקים, נמצא חלבון דומה לזה של השמרים, שקיבל את אותו השם - MAD2. חלבון זה נמצא באזור הצנטרומר בתאים שנמצאים בשלבי מיטוזה.

האם החלבון MAD2 קשור לבקרה על מיטוזה גם בתאי יונקים?

על מנת לענות על שאלה זו, השתמשו חוקרים בנוגדן ייחודי הנקשר לחלבון MAD2. קישור של הנוגדן לחלבון יכול למנוע את פעילותו התקינה של החלבון.

1. כיצד לדעתכם יכול קישור הנוגדן לחלבון MAD2 לענות על השאלה מהו תפקידו של חלבון זה בחלוקת התא?
לפניכם תוצאות ניסוי, שבו הוזרקו נוגדנים ל-MAD2 לשני סוגי תאים בתרבית: תאי כליה של חולדה ותאי עור של אדם (קרטינוציטים).

| סוג התאים שהוזרקו | הנוזל שהוזרק | מספר התאים שהוזרקו | מספר התאים שבהם חלה הפרדה מוקדמת של הכרומטידות | מספר התאים שבהם חלה הפרדת הכרומטידות רק אחרי שכל הכרומוסומים נקשרו משני הצדדים לחוטי כישור |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| תאי כליה מיונק | תמיסה שמכילה נוגדן ל-MAD2 |  |  |  |
| תאי כליה מיונק | תמיסת הנוגדן ללא הנוגדן |  |  |  |
| תאי עור מאדם | תמיסה שמכילה נוגדן ל-MAD2 |  |  |  |
| תאי עור מאדם | תמיסת הנוגדן ללא הנוגדן |  |  |  |

1. תארו את תוצאות הניסוי. הבהירו לעצמכם מהי הבקרה, ומה היא בודקת.
2. מה אפשר להסיק מהתוצאות שבטבלה?
3. מדוע חשוב לבדוק את השפעת ההזרקה של הנוגדן על שני סוגים של תאים?
4. רשמו כל שאלה שמתעוררת בכם לאור הניסוי. האם יש לכם ביקורת עליו?
5. בתאים ממאירים, שבהם השתבש המהלך התקין של חלוקות התא, נפוצה התופעה של כפילויות של כרומוסומים. כיצד יכול המחקר על MAD2 לסייע בהבנת המתרחש בתאים ממאירים?