

GENETICS

נקודות ציון הסטוריות

מאות 17-18 מיון וסיווג בעלי חיים וצמחים והדמיון והשונה ביניהם

Lamarck 1809

תורשה של תכונות וטרנסמוטציות של חיים מתולעים קדומות שמצא במאובנים

Nasse's law 1820

תורשה של **המופיליה** בבתי מלוכה רק במלכים אך מועברת ע"י מלכות

J. L Prevost and J. B. Dumas 1824

הזרע אינו פרזיט וגורם להפריית הביצית

Theodor Schwann 1836

פפסין – אנזים החותך חלבונים בבטן

Matthias Schleiden & Theodor Schwann 1838-9

תורת התא: חי בנוי מתאים. תאים גדלים בתוך תאים (כמו לידת יונקים)

Robert Remark – 1852 **Rudolf Virchow 1821-1902**

חלוקת תאים. מקור תא הוא רק תא אם [מיצירת רימות בבשר רקוב חשבו שתאים נבראים]

Martin Barry 1843

מתאר כניסת זרע לביצית של ארנבת בתהליך ההפריה

Louis Pasteur 1856

תסיסה נעשית על ידי מיקרואורגניזמים (שמרים)

Charles Lyell 1797-1875

גיאולוג שחקר מאובנים, הרי געש וקרחונים והסיק שגיל הארץ 300 מליון שנים

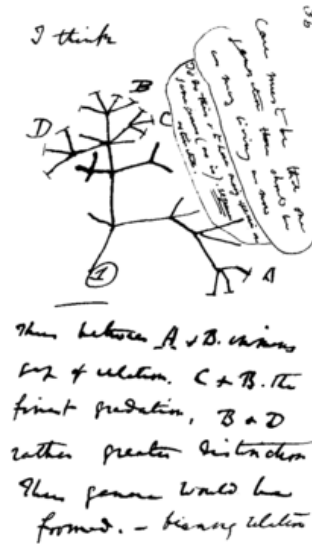
Charles R. Darwin & Alfred Wallace 1858

תורת האבולוציה (הוצעה בנפרד ע"י שני החוקרים)

מה אנו יודעים עד פסטר:
מאובנים - חיים קדומים – התפתחו למגוון החי והצומח
תסיסה ומחלות קשורים בשמרים ובקטריות
חיים לא נוצרים באופן ספונטאני
בעלי חיים מתפתחים מבצית וזרע
התא הוא המרכיב הבסיסי של כל החיים
תכונות עוברות בירושה
אנזימים הם פרוטאינים

Charles Darwin 1809-1882

החל בלימודי רפואה ועבר לחקר חיות ימיות
הצטרף בשנים 1831-1836 למסע של האניה Beagle מסביב לעולם, ופירסם ספר המסע



המיוחד בגלפגוס - הרבה איים בגדלים שונים שנוצרו מהתפרצות הרי
געש לפני 5 מליון שנים, מכילים סוגי הביטאט שונים: חופים, יערות,
ערבות קקטוסים, וסלעים חשופים, והיו בבידוד מאוכלוסיות טורפים.

מוצא המינים 1859 "On the Origin of Species"

1. כל החיים מוצאם משותף common ancestors

2. הסתעפות ענפי עץ המינים נובע מברירה טבעית natural selection

בה שורד המתאים ביותר survival of the fittest

ההתנגדות לתורת האבולוציה באה בעיקר מהכנסיה
שלא קיבלה את מוצא האדם מהקוף

הוכחות של דארווין נבעו מתיאור מינים המצויים בטבע והדמיון ביניהם:
למשל סוגי המקורים של פרושים (Finch) וההתאמה למזונם



מה היתרון האבולוציוני לצבע הרגלים?



דארוין הציע כי מוצא כל החיים משותף ואבולוציה יצרה את מגוון המינים במשך מליוני שנים מצד אחד רביה ושימור המינים על ידי תורשה קיבל תמיכה למשל ע"י תורשת המופיליה אך מצד שני לא היה הסבר למנגנון המביא לגיוון ולאבולוציה

השלב הבא היה ביסוס התהליך של תורשת תכונות איסוף נתונים מאנשים לא היה מעשי, אך מאחר והתא משותף לכל החיים – צמחים

Gregor Mendel 1865

בדק אלפי צמחי אפונה שהירבה מפרחים ואבקנים של כמה זנים באופן מבוקר בכמה דורות ותיעד כמה תכונות של הגבעול, הפרח והפרי. הדיאגרמות של אילן היוחסין של האפונה ביססו את חוקי העברת התכונות

1865

Mendel's Peas

Seed shape



Spherical



Dented

Seed color



Yellow



Green

Flower color

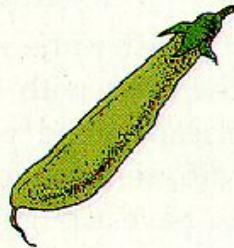


Purple

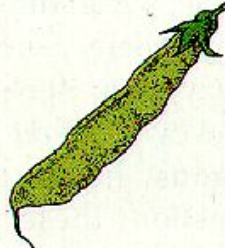


White

Pod shape

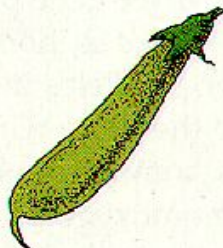


Inflated

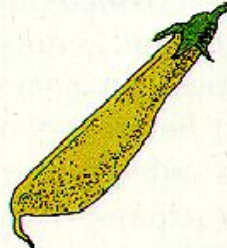


Constricted

Pod color



Green

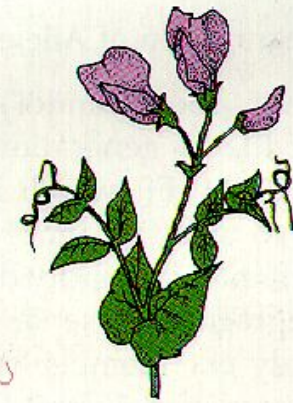


Yellow

Flower position



Axial



Terminal

Stem height

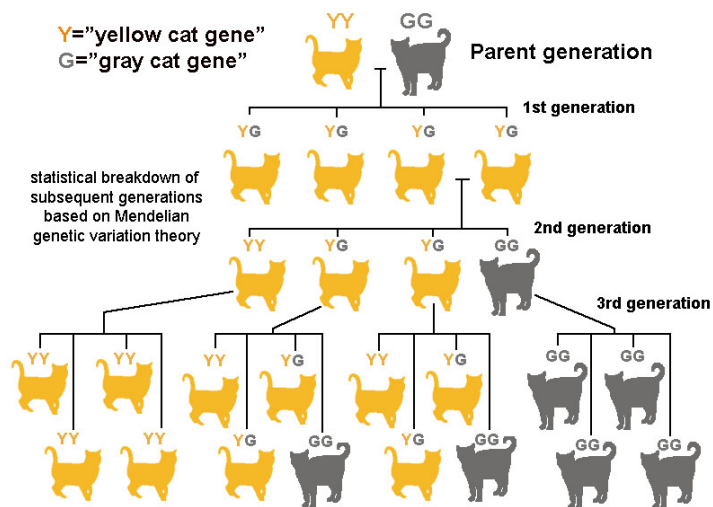
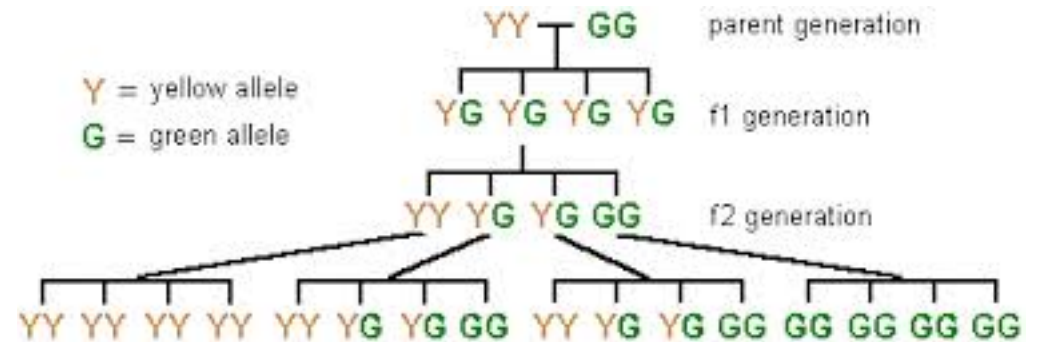
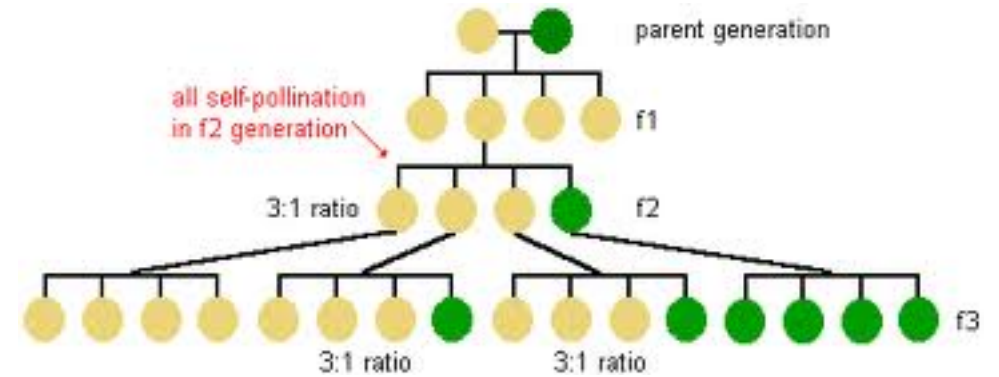
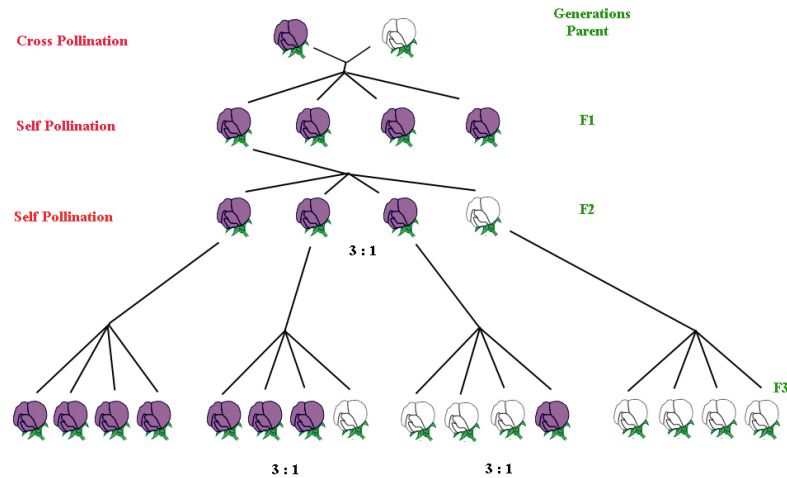


Tall



Dwarf

דיאגרמות של אילן יוחסין – Genetic pedigree



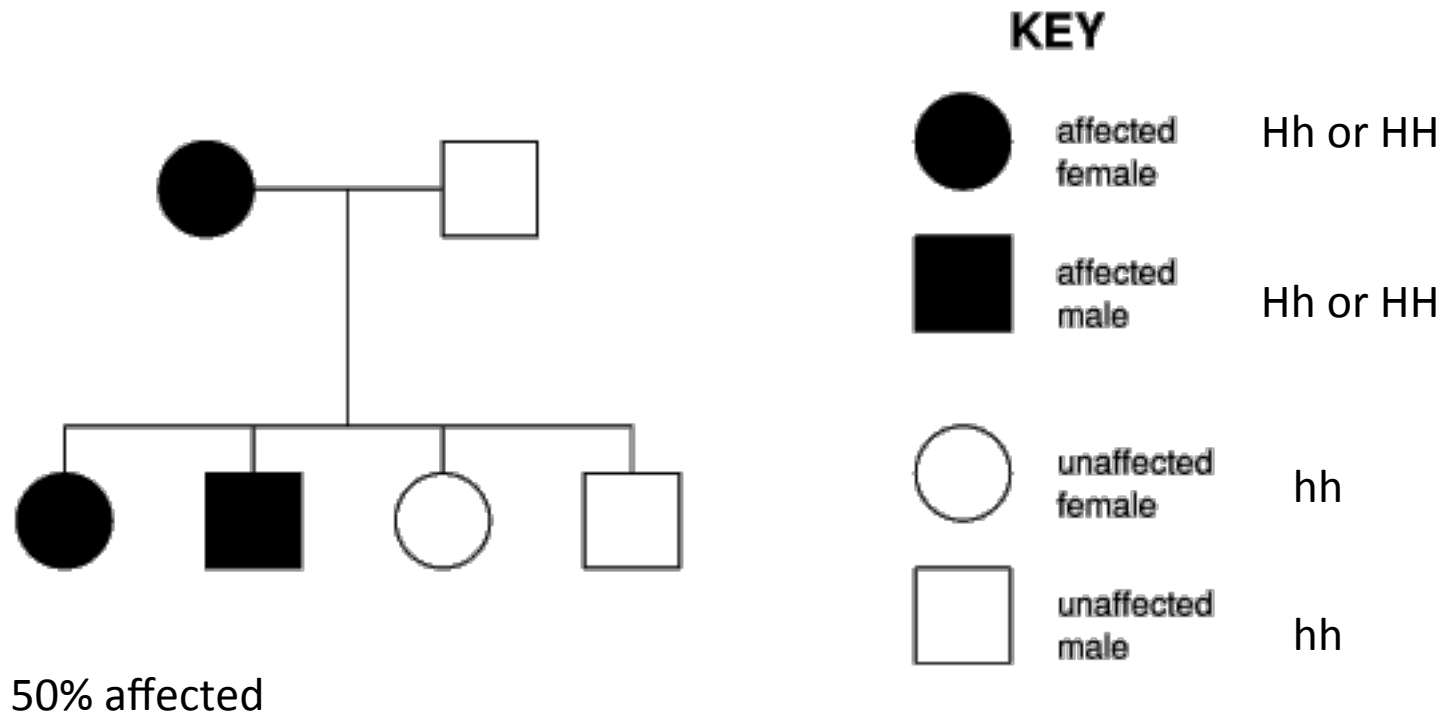
Genetic Pedigrees

Dominant allele, e.g. Huntington's disease (Huntington's chorea)

Since the condition is shown in some of the first generation offspring but not in some others, this is not a simple cross between 2 different homozygotes. One parent must be heterozygous, and the allele for the condition must be dominant to the allele for absence of the condition. The dominant allele is denoted by an upper case letter e.g. H as distinct from the lower case version of the same letter h for the normal allele (recessive, in this case).

Note also that in this case the appearance of the condition is independent of the sex of the individual.

family tree



Genetic Pedigrees

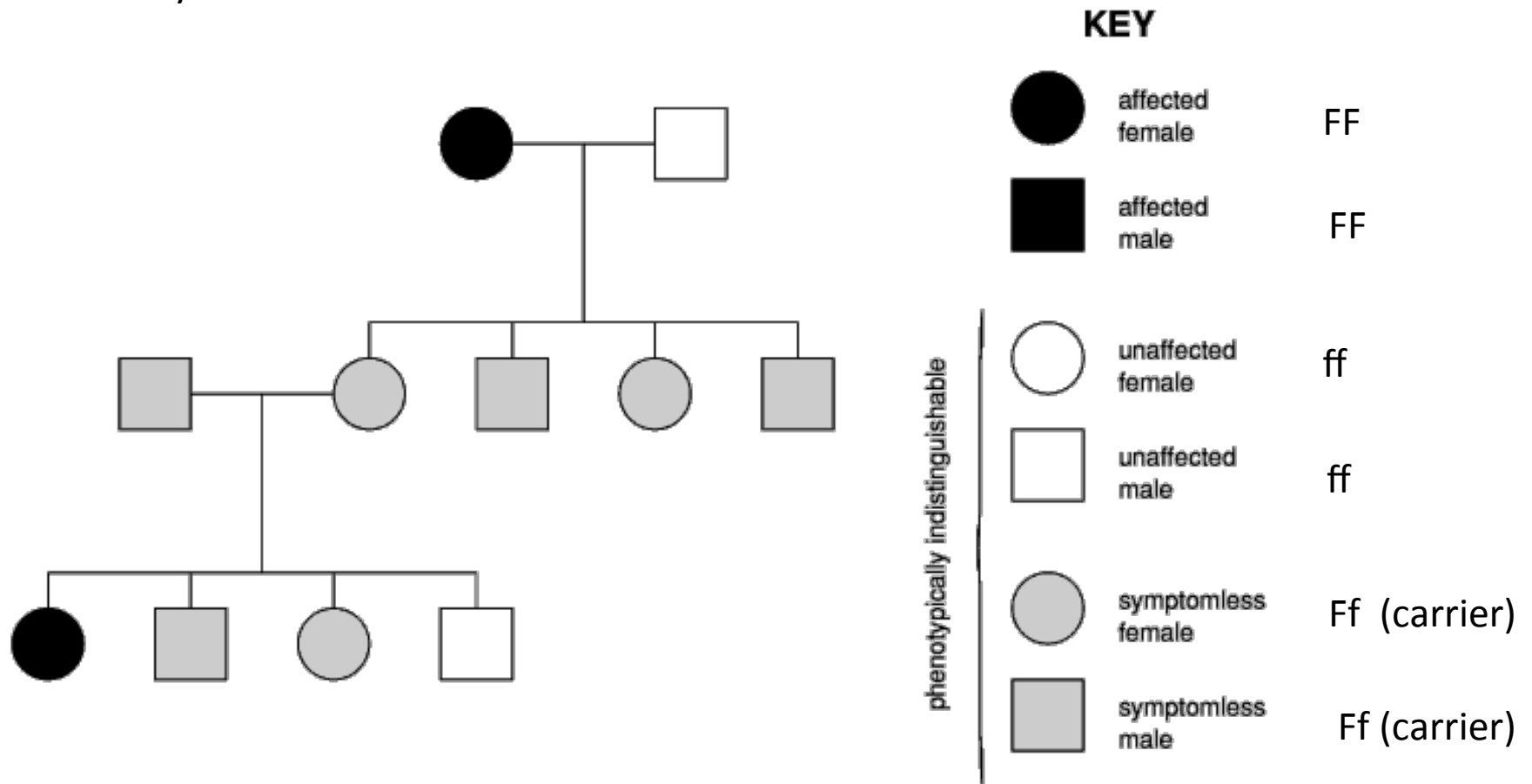
Recessive allele, e.g Cystic fibrosis

Since the condition is not shown in any of the offspring in the first generation but it reappears in the second generation, it must be caused by a recessive allele. The recessive allele is denoted by a lower case letter e.g.

f as distinct from the upper case version of the same letter F for the normal allele (dominant, in this case).

Once again, in this case the appearance of the condition is independent of the sex of the individual.

family tree



25% affected

Genetic Pedigrees

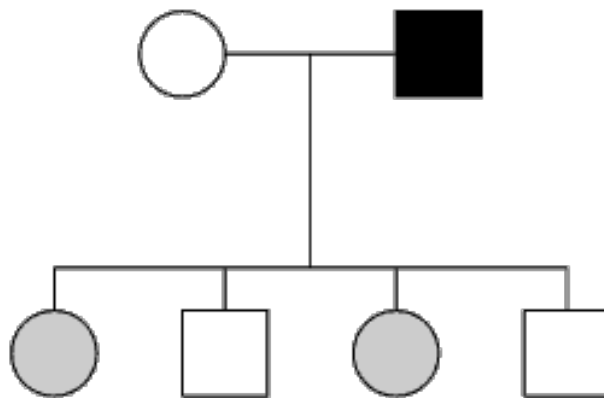
Sex-linked recessive allele, e.g haemophilia

(also applies to red-green colour blindness) example 1: Affected male

Since there are different results depending on the sex of the parents in these 2 examples, this allele must be sex-linked, and carried on the X chromosome. Females (genotype XX) have 2 copies of this chromosome so dominance can occur, resulting in symptomless carriers. Males (genotype XY) have only one X chromosome so they are either affected or unaffected. There are no carrier males.

The recessive allele on the X chromosome is denoted by a superscript lower case letter e.g. Xh as distinct from the upper case version of the same letter XH for the normal allele (dominant, in this case). In males, a Y chromosome, not carrying an equivalent gene, is also present.

family tree



KEY



affected
female

FF

xx



affected
male

xY



unaffected
female

XX



unaffected
male

XY



symptomless
female - carrier

xX (carrier)

All females are carriers all males are unaffected

Genetic Pedigrees

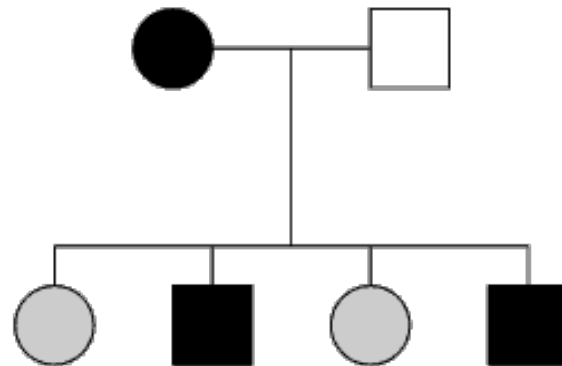
Sex-linked recessive allele, e.g haemophilia

(also applies to red-green colour blindness) example 2: affected female

Since there are different results depending on the sex of the parents in these 2 examples, this allele must be sex-linked, and carried on the X chromosome. Females (genotype XX) have 2 copies of this chromosome so dominance can occur, resulting in symptomless carriers. Males (genotype XY) have only one X chromosome so they are either affected or unaffected. There are no carrier males.

The recessive allele on the X chromosome is denoted by a superscript lower case letter e.g. Xh as distinct from the upper case version of the same letter XH for the normal allele (dominant, in this case). In males, a Y chromosome, not carrying an equivalent gene, is also present.

family tree



KEY



affected
female



affected
male



unaffected
female



unaffected
male



symptomless
female - carrier

FF

xx

xY

XX

XY

xX (carrier)

All females are carriers all males are affected

Genetic Pedigrees

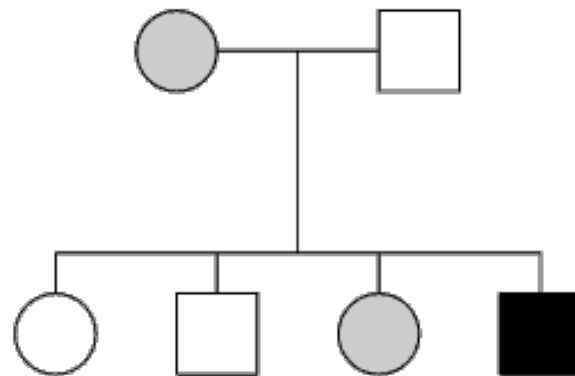
Sex-linked recessive allele, e.g haemophilia

(also applies to red-green colour blindness) example 3: affected female

Since there are different results depending on the sex of the parents in these 2 examples, this allele must be sex-linked, and carried on the X chromosome. Females (genotype XX) have 2 copies of this chromosome so dominance can occur, resulting in symptomless carriers. Males (genotype XY) have only one X chromosome so they are either affected or unaffected. There are no carrier males.

The recessive allele on the X chromosome is denoted by a superscript lower case letter e.g. X^h as distinct from the upper case version of the same letter X^H for the normal allele (dominant, in this case). In males, a Y chromosome, not carrying an equivalent gene, is also present.

family tree



KEY



affected
female

FF



affected
male

xx



unaffected
female

xY



unaffected
male

XX



symptomless
female - carrier

XY

xX (carrier)

50% females are carriers 50% males are affected

בשלב זה אנו מבינים שתאים נושאים את התכונות התורשתיות.
מה בתא נושא את התכונות, ואיך הן עוברות בתורשה?

1871 — Miescher JF

בודד חומצות גרעין מגרעינים ממוגלה (המכילה תאי דם לבנים שגרעיניהם תופסים את רוב נפחם) שאסף בתחבושות של פצועים וטיפל בפפסין. כשחזר לבזל מצא מקור טוב יותר בזרעים של סלמון (שאז עוד גדל בריין) 1889 תלמידו Richard Altmann טבע את השם "חומצות גרעין. הם גם איפיינו את ההרכב מסוכר ריבוז, פוספט ובסיס (Nucleotide ביחד)

יש חמישה סוגי בסיסים: גואנין, אדנין, ציטוזין, טיימין ויורסיל G A C T U

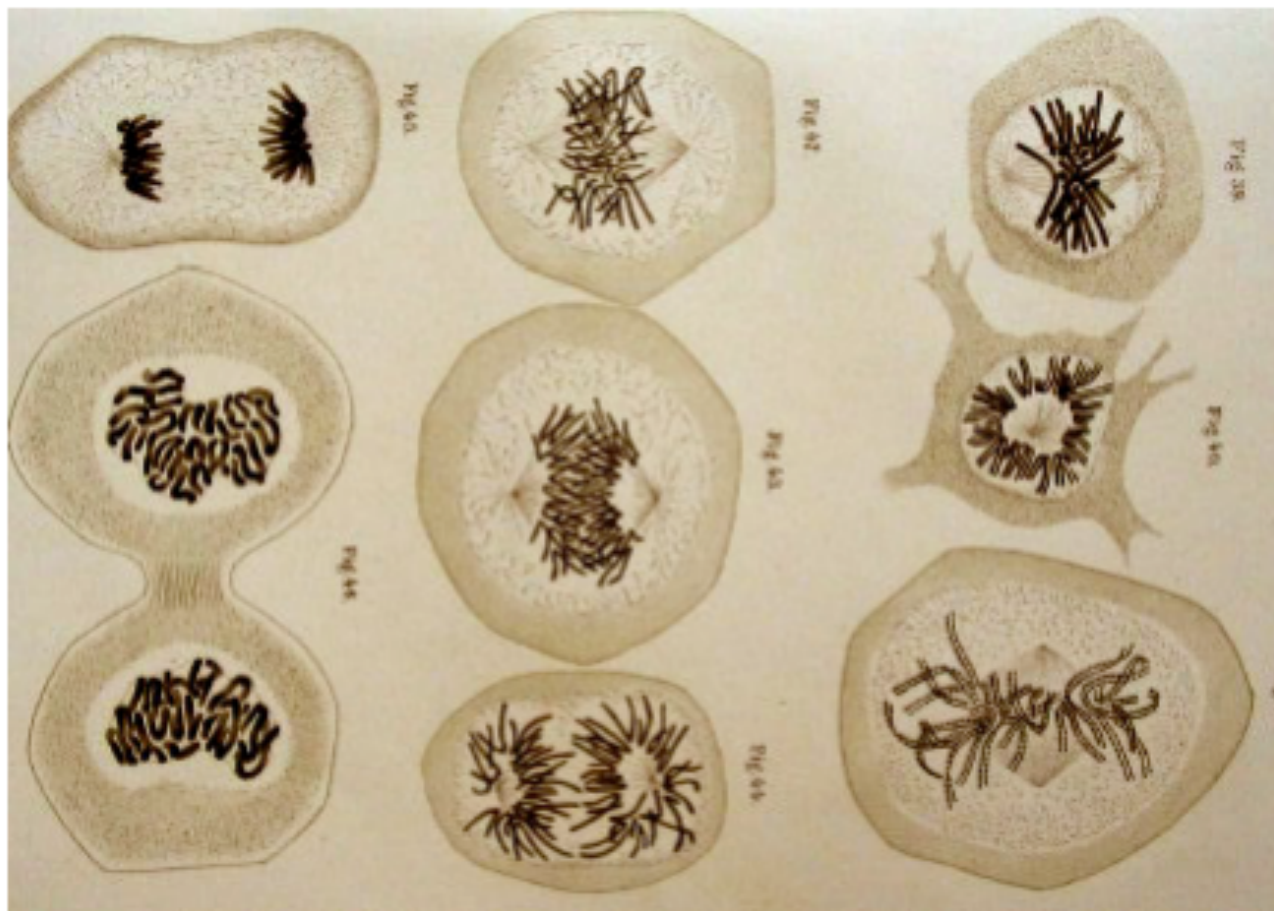
1884 גואנין בודד מחירוני ציפרים. גבישונים שלו הם הברק בקשקשים.
1885 אדנין בודד מפנקריאס של שור ונמצא דיכומה לגואנין, שניהם נקראו פורינים
1893, 1894, 1900 בודדו ציטוזין, טיימין ויורסיל – פירמידינים
1920 הפרדה בין RNA המכיל GACU לבין DNA המכיל GACT וחשבו שהראשון בצמחים והשני בחיות
1930 גם RNA וגם DNA אוניברסאליים וידעו ש DNA עשיר בגרעין אך לא ייחסו לו חשיבות תיפקודית כי שיערו שמבנהו שרשרת חוזרת של ארבעת הנוקליאוטידים (טטרדות).

1876 — Oskar Hertwig and Hermann Fol

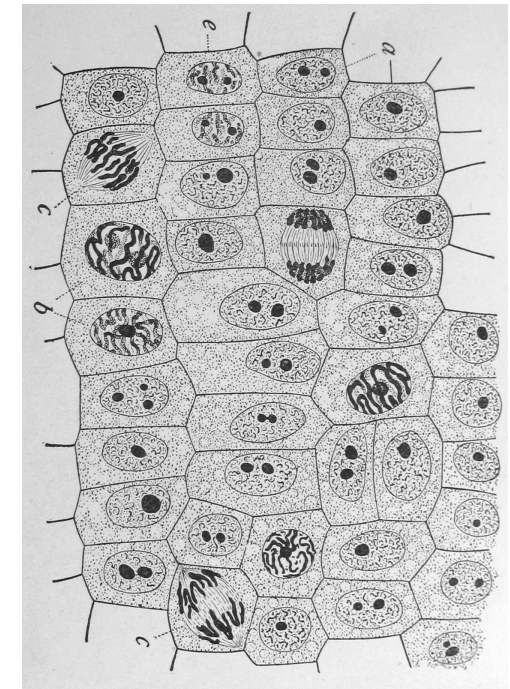
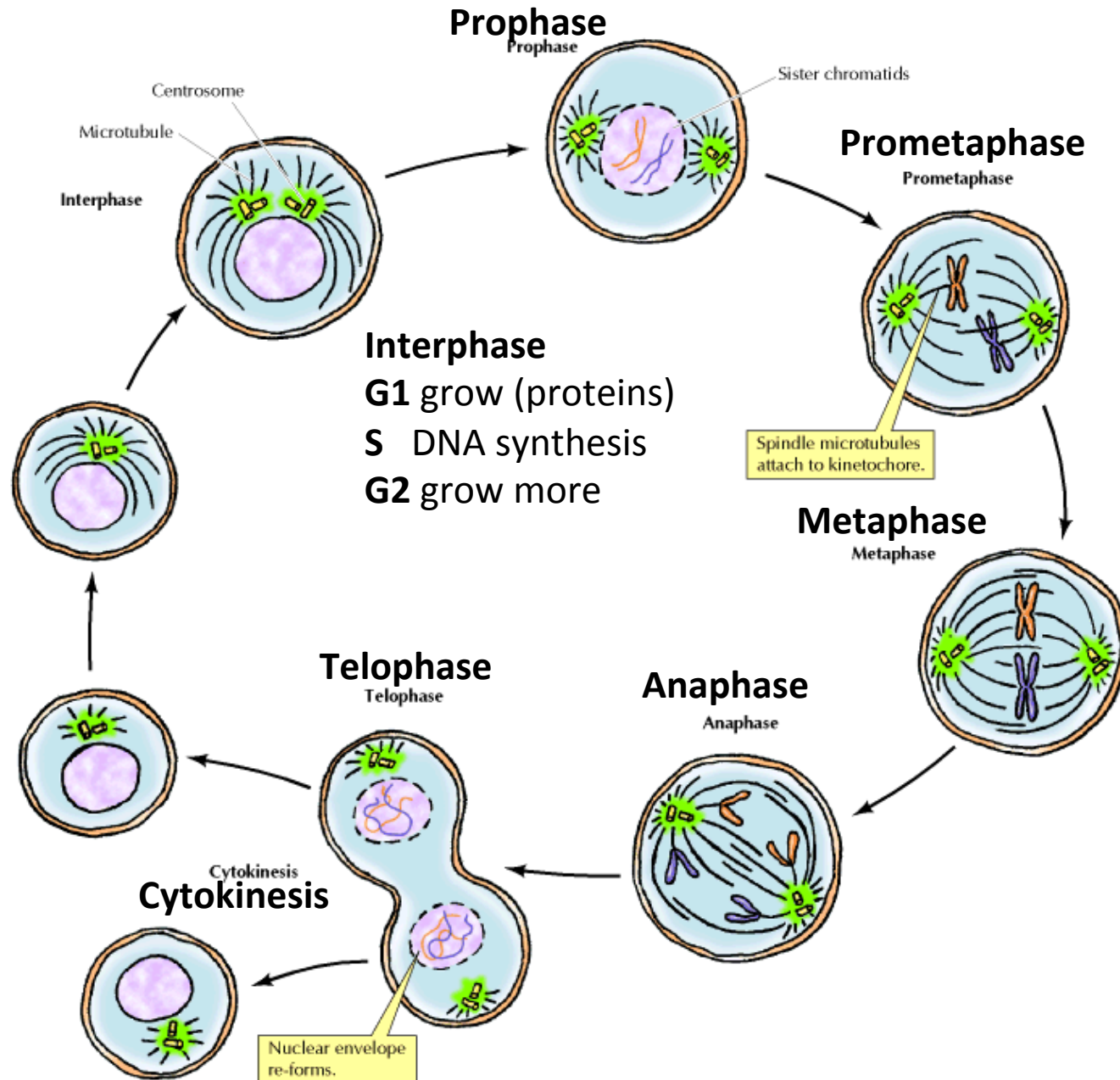
מתארים הפריה **בקיפודים**, איחוד גרעיני הזרע והביצית, והחלוקה

1880: Walther Flemming, Eduard Strasburger, and Edouard van Beneden

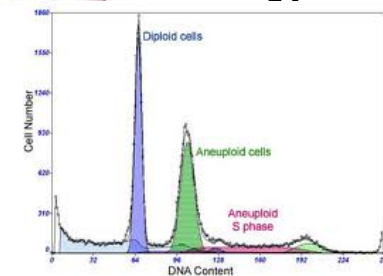
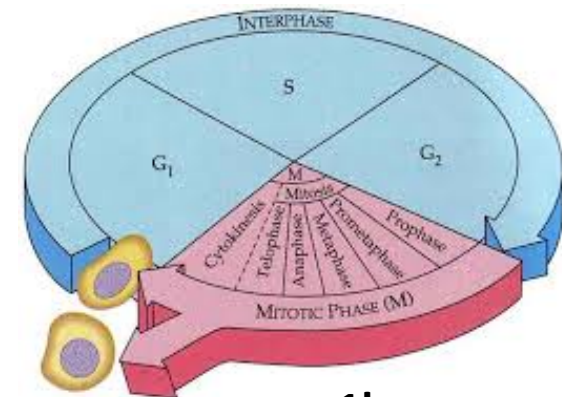
מגלים חלוקת הכרומוזומים לשתי קבוצות בחלוקת התא



Cell cycle



23h



Wilhelm Gottfried Waldeyer (1836-1921)

מציע שם "כרומוזומים"

Theodor Boveri (1862-1915)

מציע שחלוקה לא נכונה של כרומוזומים מביא לתאים סרטניים.

הבחנות דומות ע"י David Hanseemann (1858-1920)

1889: Hugo de Vries

מציע שירות תכונות באה בחלקיקים שקורא להם "גנים"

1892 — Hans Driesch

מראה שהפרדת שני התאים אחרי חלוקה ראשונה של קיפוד ים נותנת שני עוברים שלמים

1897 — Eduard Buchner

מיצוי משמרים יכול להתסיס בלי שמרים חיים

1898 — Martinus Beijerinck

מיצוי מעלי טבק שנדבקו במחלה הועבר בפילטרים דקים שעוצרים בקטריות והידביק צמחי

טבק – קורא לגורם המדביק "וירוס"

1902 — Walter Sutton and Theodor Boveri

גילו מחדש את עבודת מנדל, ומציעים שהכרומוזומים

נושאים את התורשה (הגנים)

הראו שהוצאת כרומוזום אחד מקיפוד ים עוצר התפתחות

העובר, ושהפרדת הכרומוזומים בחרגול לשתי קבוצות שוות

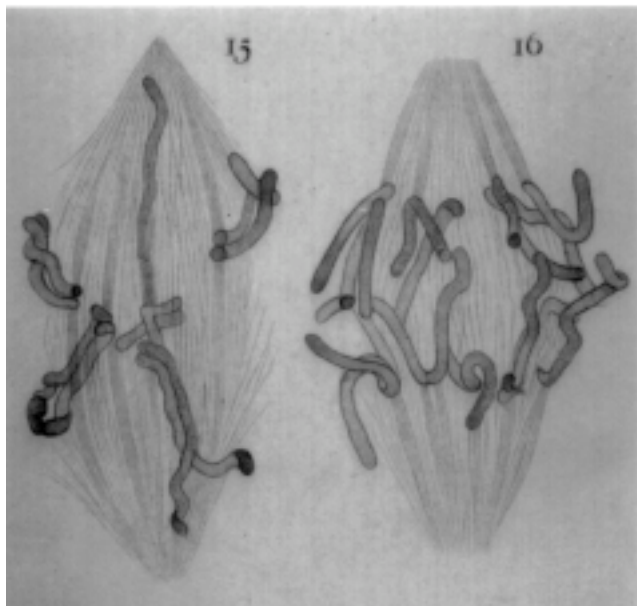
Metzner (1894)

קינטוכור

1903 David Mottier

כיפוף הכרומוזומים בשושנת מים נובע ממשיכה של

חוטי הקישור

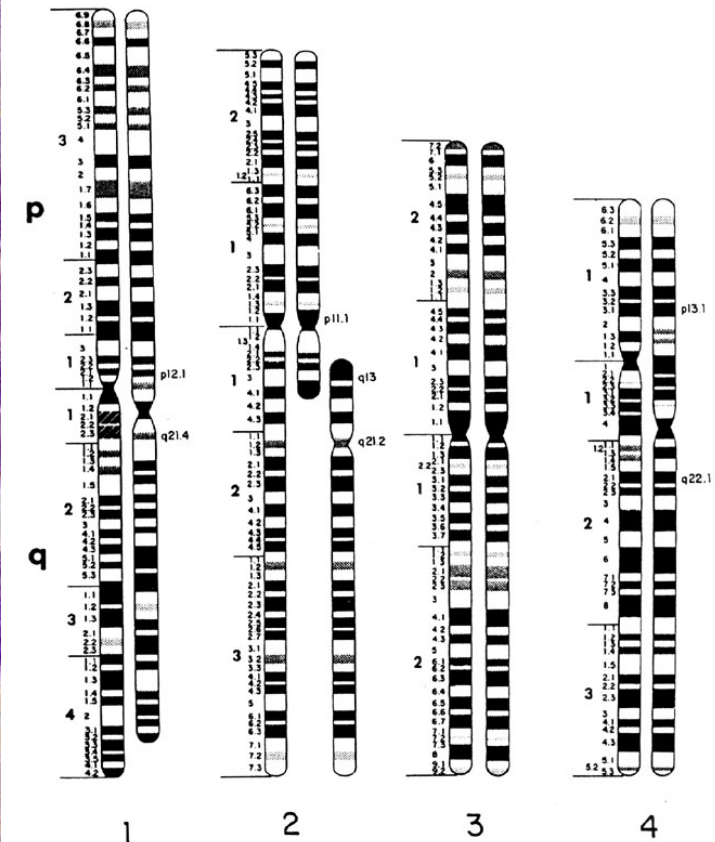
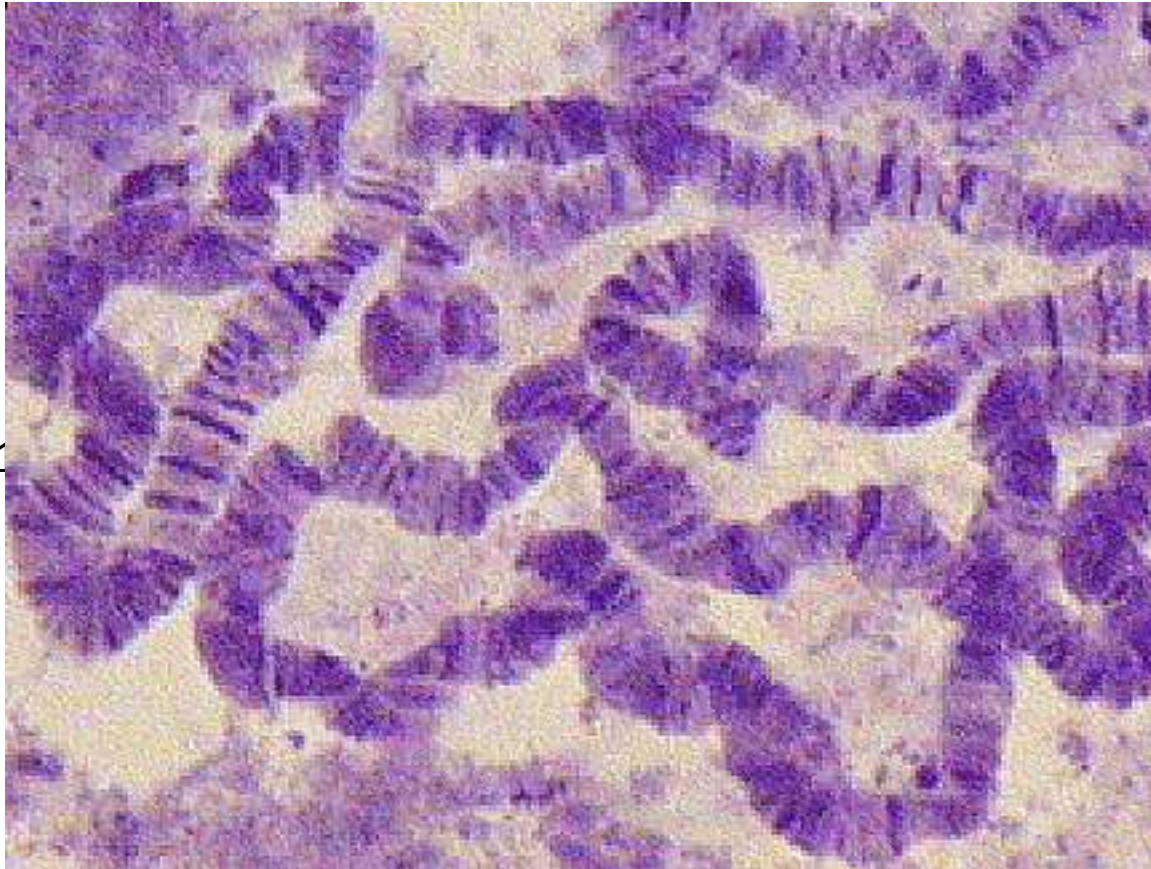


1908 — Hardy-Weinberg law

תדירות אללים של גנים נשמרת באוכלוסיה (אם אין אבולוציה)

1910 — Thomas Morgan

תכונות צמודות מין בזבוב הפירות (*Drosophila*) - צבע עין לבן
הגנים מסודרים לאורך הכרומוזומים



משילוב המידע עד כה: לכל תכונה שני גנים על שני כרומוזומים הומולוגיים

1913 — Alfred Sturtevant

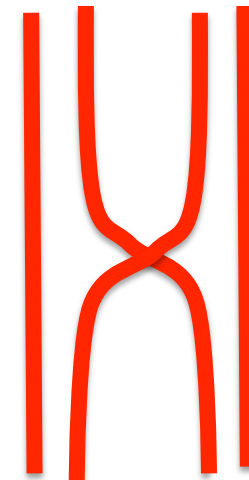
מפת כרומוזומים בזבוב הפירות

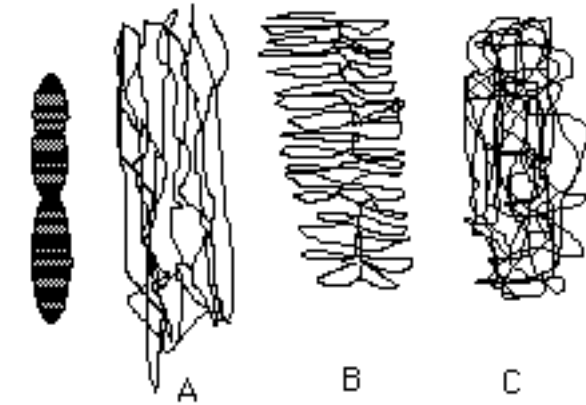
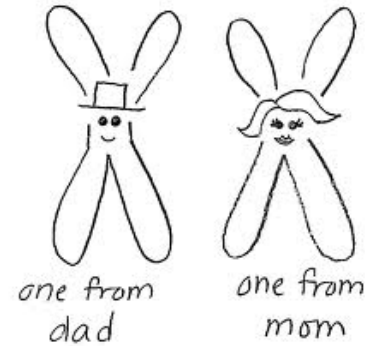
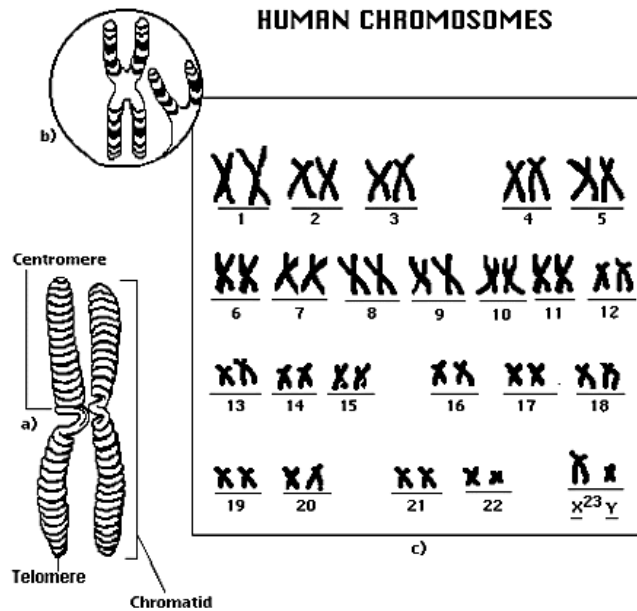
מיפוי הכרומוזום ע"י 3 point segregation

מורגן בדק את הקשר בין תורשה של שתי תכונות בזבוב.
הוא גילה שיש ארבע קבוצות של תכונות הנוטות להיות מורשות ביחד
עם זאת, בתדירות נמוכה גם בתוך הקבוצות היו מיקרים של שינוי.
הוא הניח שיש שבירת הכרומוזום וחציה בין שני הכרומוזומים האנלוגיים cross-over
בהנחה שהסיכוי יחסי לאורך ייצר מפה של התכונות הגנטיות לאורך הכרומוזום לפי הסיכוי
של שני גנים להיות מורשים ביחד:

A-B 2% crosses B-C 5% crosses
A ---2%----- B ----- 5% ----- C
C -----3%-----A ---2%----B

מאחר ויש שתי אפשרויות, Sturterant עשה מדידה שלישית על סכוי AC
A-C 7% or 3%





Heterochromatin
Euchromatin – dark

Interphase nucleus –
chromatin open for
gene expression
Metaphase chromatin –
condensation for
segregation into two
daughter cells



מה אנו יודעים בסוף המאה ה-19?
התא מכיל אנזימים
חלוקת כרומוזומים בחלוקת התא - מיטוזה
תכונות באות מהאב ומהאם
העובר מתפתח מתא בודד
וירוסים עוברים דרך פילטר דק ונושאים תכונות גנטיות
אפשר לשחזר תסיסה בלי בקטריות חיות
חסר הקשר בין מיקרוסקופיה של התא לגנטיקה

התוכנית כבקשתכם לגנטיקה

תורת האבולוציה של דארוין – שינויי תכונות
גילוי חוקי התורשה של מנדל – שימור תכונות

זיהוי תורשה של מחלות של זכרים בלבד (sex linked)
הבנה שהתכונות נתרמות משני ההורים

זיהוי חלוקת הכרומוזומים בתאים במיקרוסקופ
מיפוי מקום התכונות לאורך הכרומוזום בזבוב הפירות

אחידות הגנטיקה בכל עולם החי והצומח
המחקר: וירוסים, בקטריות, שמרים, צמחים ובעלי חיים מזבוב עד לאדם

היום: זהו ה-DNA כנושא התכונות הגנטיות בכל עולם החי
והשימוש בוירוסים בבקטריות ובשמרים למחקר הגנטי

מצד אחד תכונות קשורות באנזימים שהם חלבונים
מצד שני תורשה קשורה בכרומוזומים
האלגברה של התורשה לפי מנדל – שני אללים לתכונה

עד כה: הכרומוזומים והגרעין הם נושאי התורשה של תכונות,
והתכונות ערוכות לאורך הכרומוזומים, ונקבעות ע"י שני
כרומוזומים אחד מהאם ואחד מהאב.
השאלה מה החמר שנושא את הגנים?

וחלבונים נמצאים בגרעין ובציטופלזמה של התא. לכן היה מקובל
שהם נושאי הגנים.
מאחר ואבני הבניין שוים לחיות, צמחים ובקטריות – מחקר
בבקטריות ובשמרים
מחקרים אלה מיקדו את התשובה ל-DNA וגם היבהירו את
המנגנונים למוטציות

1915 Frederick Twort

חומר העובר דרך פילטרים (בניגוד לבקטריות) ומדביק צמחים ובקטריות – וירוסים

1915 Felix d'Herelle

בקטריופאגים (חקר בפריז ובקנדה על גנים העוברים דרך פילטרים)

1928: Frederick Griffith

מגלה שאפשר להעביר תכונות ממיצוי של בקטריות מתות לבקטריות חיות
רופא שזיהה מוטציה של בקטריות הגורמת להם להמית עכברים (Rough & Smooth)
גם יצר נוגדנים למעטפת הסוכרית של Rough – הנוגדן הראשון שלא נגד חלבון.

1933 — Jean Brachet

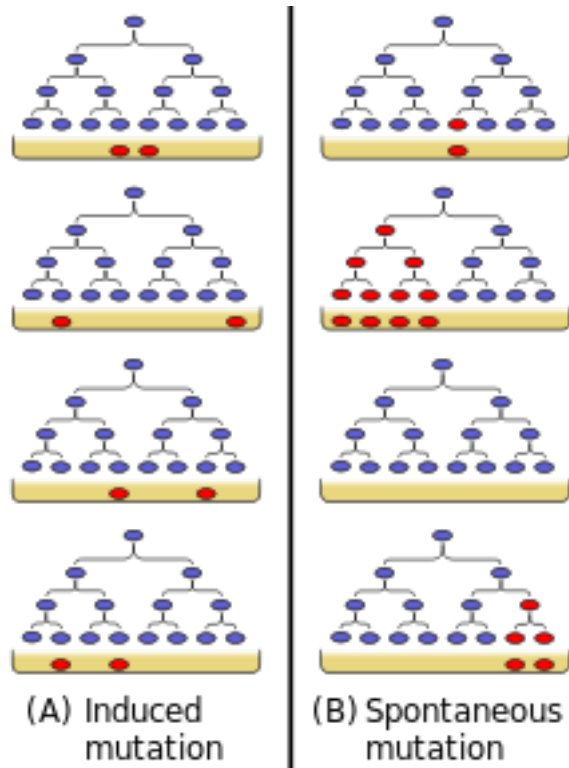
ה-DNA נמצא בגרעין

1939 מיקרוסקופ אלקטרוני מצלם וירוסים

1941 — Edward Tatum and George Beadle

גנים מקודדים חלבונים : הקרין עובש לחם (ניאוספורה) בקרני x והראה שנגרמו מוטציות
ששינו את האנזימים המטבוליים, כך שבמדיום הגידול נדרשו חומצות אמינו כדי שהעובש
יגדל – מוטציות חסר או ליקוי

"גן אחד לאנזים אחד"



מוטציות – כלי לחקר מהות הגנים:

1942 — Max Delbrück and Salvador Luria Fluctuation test

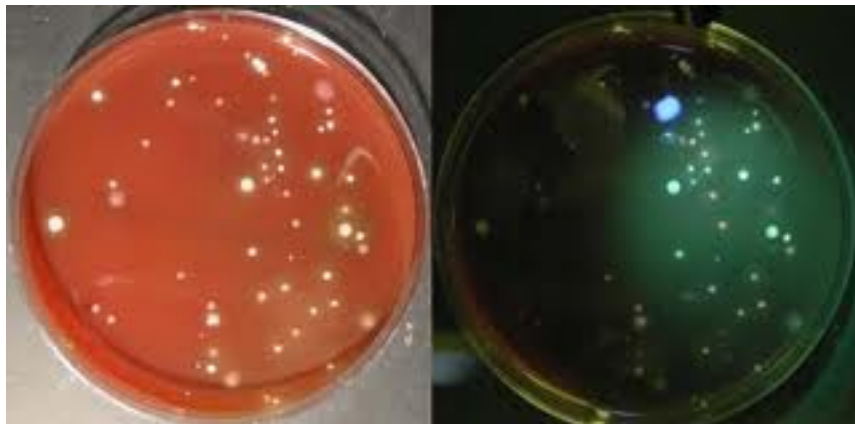
מוטציות בבקטריות קורות באופן אקראי

(ללא "לחץ אבולוציוני סביבתי")

מבחן הסטיות בפילוג התוצאות

מדדו את פילוג מספר הבקטריות שפתחו עמידות לוירוס T1
התחילו ממספר קטן של בקטריות שחולקו לשתי מבחינות
כמה פעמים, ולבסוף פוזרו על צלחת אגר והודבקו בוירוס
רוב הבקטריות מתו, מלבד כמה "שבטים" או קולוניות
כל שבט נולד מבקטריה בודדת שעברה מוטציה

אם המוטציות נוצרו בגלל ה"לחץ" מול הוירוס – סטית התקן של בממוצע 100 שבטים
לצלחת היתה $10^{\pm 1}$



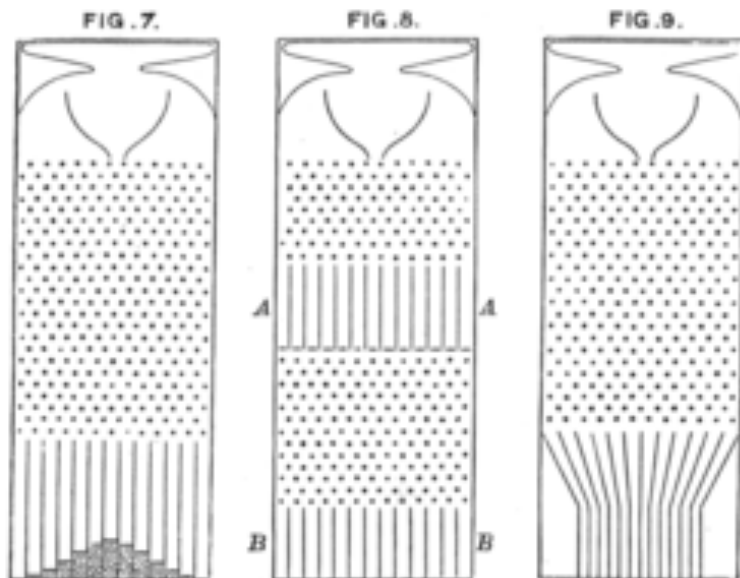
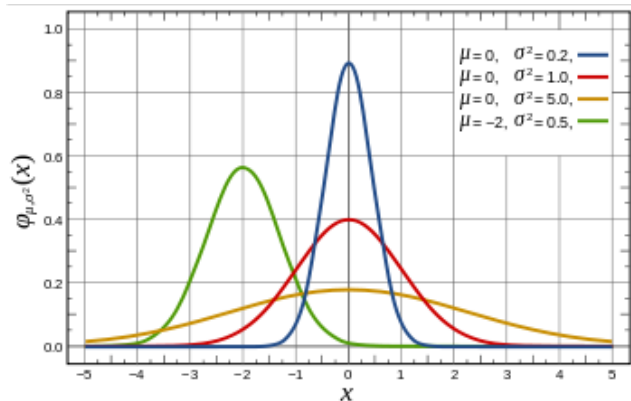
אבל אם המוטציות נוצרו באופן ספונטאני
במשך כל זמן הגידול של הבקטריות
סטית התקן היתה גדולה בהרבה –
כי כל מוטציה הספיקה לעבור בתורשה
כמה פעמים למספר רב של בקטריות.
(מספר דרגות החפש קטן)

מספרים אקרעיים – התפלגות נורמאלית (גאוסית)

$$f(x; \mu, \sigma^2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2}$$

זריקת כדורים דרך "שדה" מסמרים – התפלגות גאוסית
 סכום (אינטגרל) ההסתברויות = 1
 μ = ממוצע ההתפלגות
 σ = רוחב ההתפלגות

אם עושים n נסיונות (n גדול) רוחב ההתפלגות $\sigma \sim \sqrt{n}$

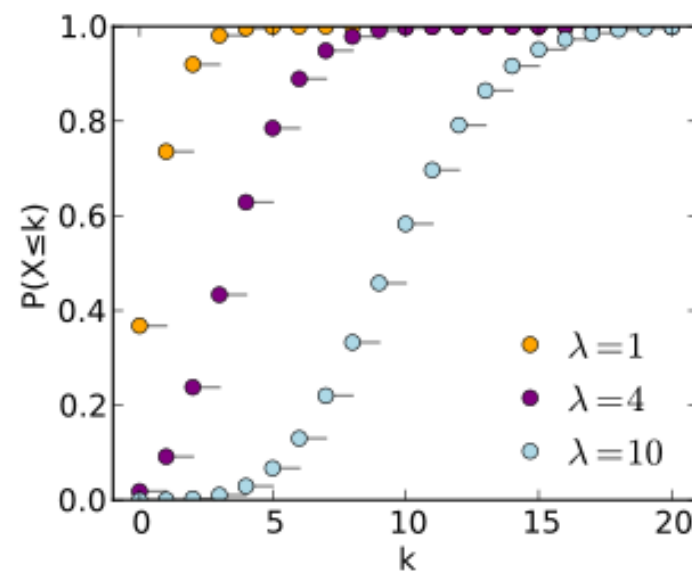
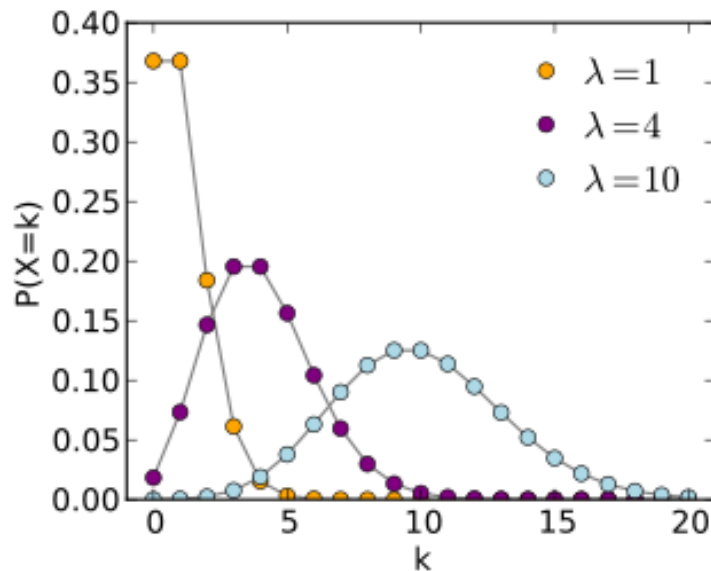


התפלגות פואסון-Poisson

בממוצע מספר האירועים האקראיים לפרק הזמן של המדידה λ
הסיכוי שנמדוד k אירועים הוא:

$$f(k; \lambda) = \Pr(X = k) = \frac{\lambda^k e^{-\lambda}}{k!},$$

למשל: נטיל מטבע 8 פעמים. בממוצע נקבל 4 פעמים עץ $\lambda=4$
מה הסיכוי שנקבל 7 פעמים עץ: לפי הגרף $\sim 5\%$
המענין הוא שלמספרים קטנים רוחב פונקצית הפילוג λ כמו הממוצע
בעוד שלמספרים גדולים ההתנהגות שואפת לפילוג נורמאלי עם רוחב $\lambda \sim$
 $p(x) = \exp[-(x-\lambda)^2/(2\lambda)] / \sqrt{2\pi\lambda}$



1944 — Oswald Avery, MacLeod & McCarty

הראו שנושא התורשה הוא ה-DNA. נסיון המשך לזה של Griffith מ-1923

הדביקו עכברים בבקטריה pneumococci שלה שתי מוטציות: הצורה הטיבעית R-rough שקליפת התא שלה מחוספסת, (בגלל פוליסכרידים עליה) וצורה מוטנטית S-smooth שבה האנזים האחראי לפוליסוכרים אינו מתפקד. R מוכר על ידי המערכת החיסונית של העכבר. S- אינו גורם לתגובה חיסונית, והבקטריה מתרבה והורגת את העכבר.

הראו כשמוסיפים ל-R מיצוי של S העכבר מת: בידוד הגן

בעבודה ביוכימית קפדנית של כמה שנים בודדו את ה-DNA כחומר נושא הגן של-R

פיתחו שיטות ביוכימיות של בידוד

מבקטריות של DNA, פיצוץ אוסמוטי

שימוש ביונים דו-ערכיים Ca, Mg

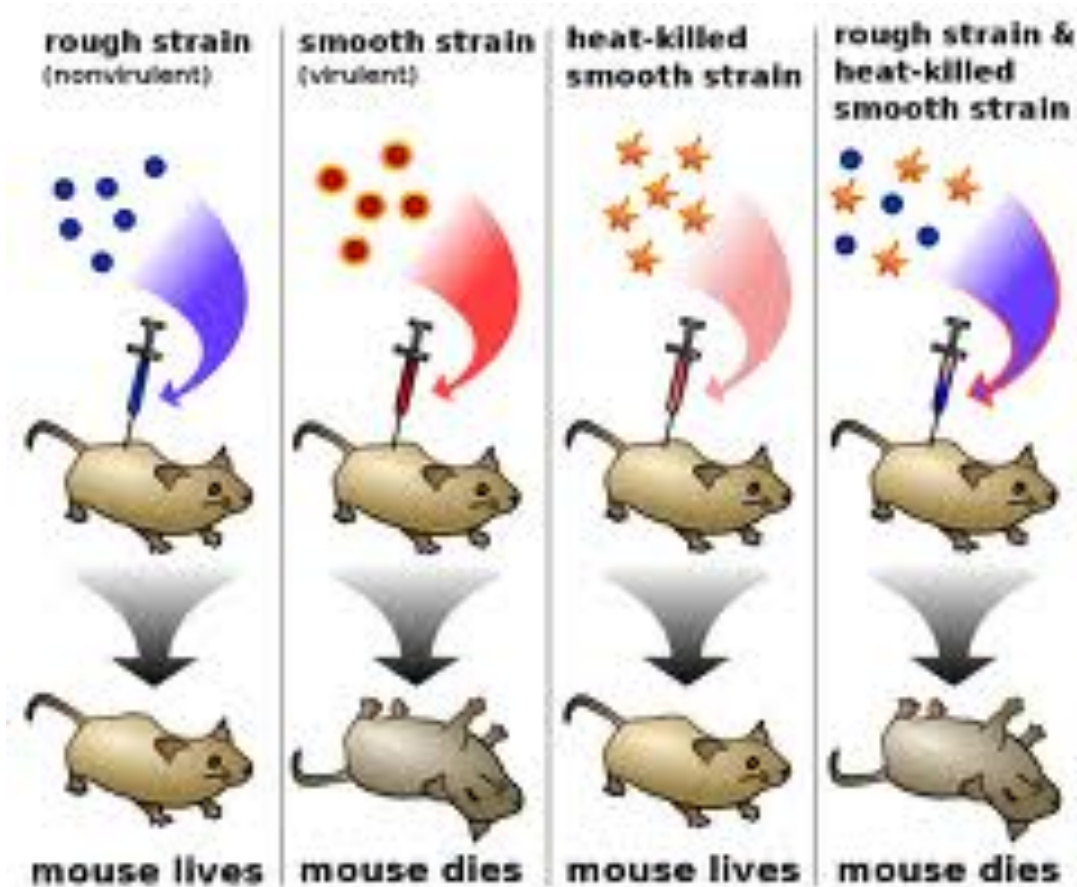
שימוש בדטרגנטים להמסת ממברנה

שימוש באנזימים לעיכול, פילטרציה

לניקוי מבקטריות (אך לא מוירוסים)

השקעת חלבונים בכלורופורם

והשקעת DNA בפנול וזיהוי מהצמיגות



העבודה התקבלה בספקנות בטענה שנשארו מעט חלבונים שיכלו להסביר את התופעה ואברי לא קיבל פרס נובל עד מותו למרות שבדיעבד עבודתו הובילה לשיטות מיצוי DNA נקי ולפענוח מבנה ה-DNA

הביוכימיה של חלבונים וחומצות גרעין מתקדמת:

רקומבינציה גנטית בבקטריות – מעין מין 1945 Lederberg

1948 — Erwin Chargaff

הראה שב-DNA יש וריאציות בכמות ארבע החומצות האמיניות, אבל יש זוגות בכמות שווה:

Pyrimidines(Thymine = Adenine) purines (Cytosine = Guanine)

1951 — Fred Sanger, Hans Tuppy, and Ted Thompson

פיתחו שיטות (כרומטוגרפיה) לקביעת רצף החומצות אמינו בחלבונים (הראשון-אינסולין)

1952 — Alfred Hershey and Martha Chase

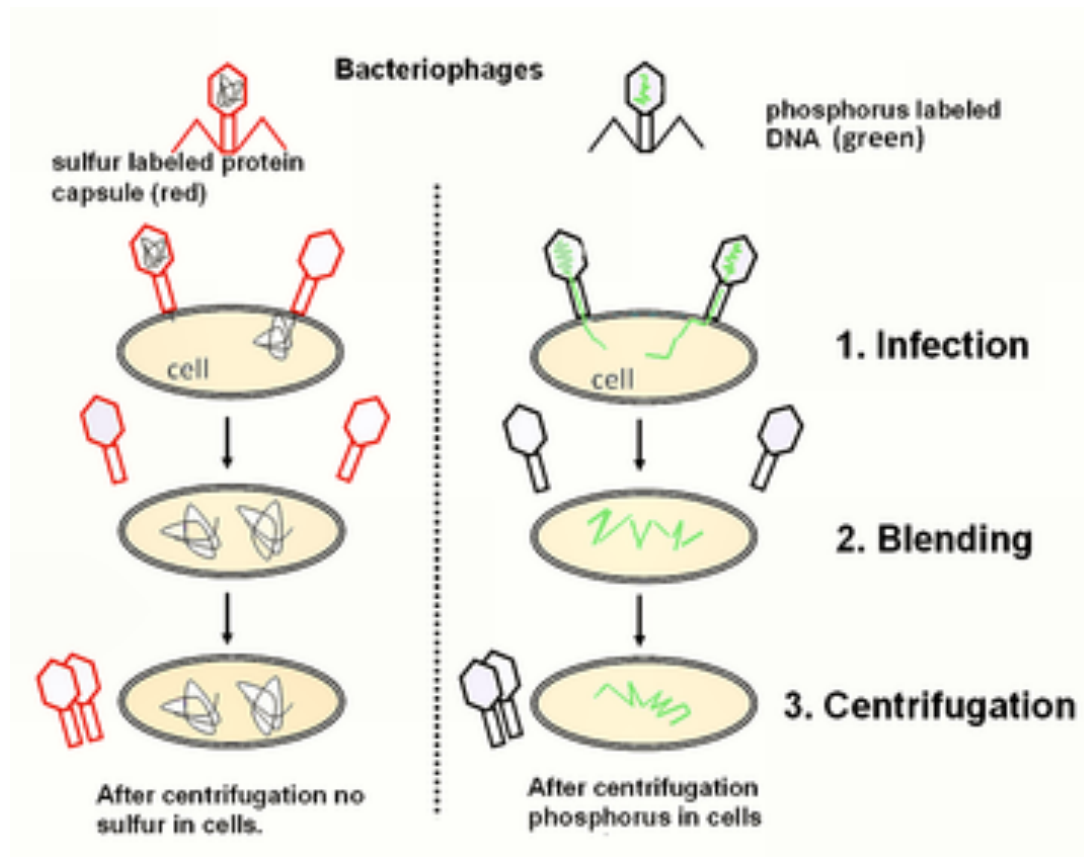
הראו שה-DNA נושא את הגנים בוירוסים: הירבו וירוסים במדיום עשיר S^{35} suflur (המסמן חלבונים) ובמדיום עשיר P^{32} phosphorus (המסמן חומצות גרעין) והוכיחו שרדיואקטיביות של P ולא S נמצאה בבקטריות

משנות ה-40 שימוש באנטיביוטיקה
זיהוי בקטריות עמידות לפניצילין
וטטרציקלין – הבסיס לגידול סלקטיבי
של בקטריות המהונדסות גנטית.

André Boivin, ~1950

Roger & Colette Vendrely

כמות ה-DNA בזרע ובבצית, במגוון
סוגי חי, חצי מזו שבתא רגיל



Linus Pauling

מפענח מבנה של סלילי אלפה ובטה של חלבונים כקולגן, קרטין, שער וצמר.

1952 — Rosalind Franklin

ערכה נסיונות של דיפרקצית קרני רנטגן מסיבי DNA

חשיבות לאפשרות "למשוך" סיבים כאלה ממיצוי של תימוס של עגל

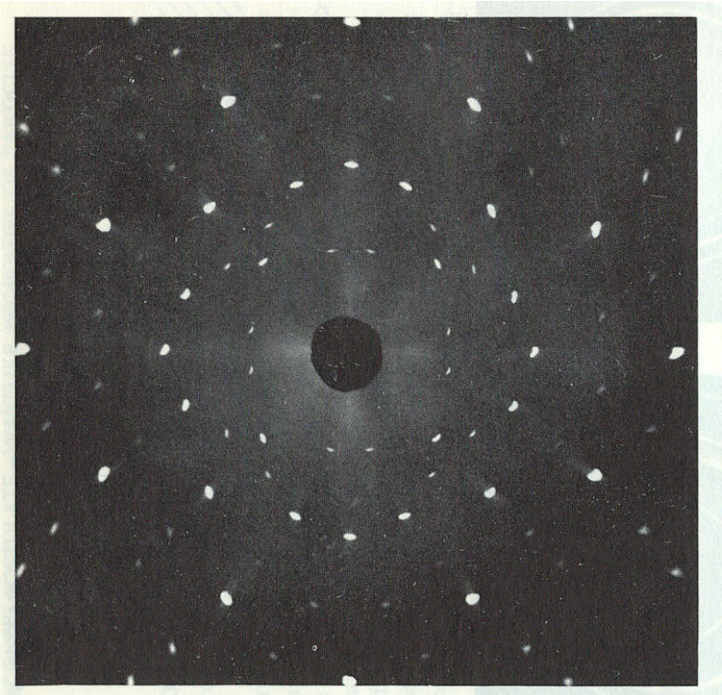
התימוס מייצר תאי D של המערכת האימונית

למרות פירסום Pauling & Corey's 1953 שהציע מבנה של סליל משולש ל-DNA

היא רשמה במחברתה שהסליל כפול אך לא פירסמה את תוצאותיה

הדגמה של תמונת התאבכות משריג

תמונת התאבכות מגביש מלח בישול

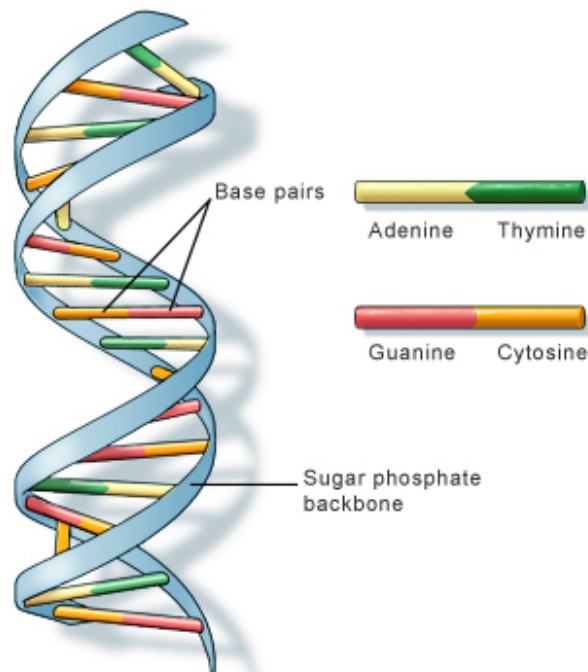


תמונת התאבכות מסיב DNA

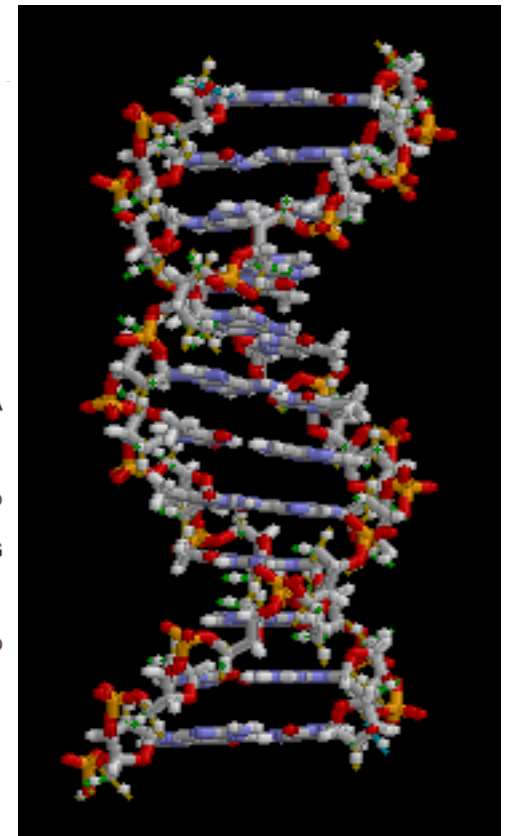
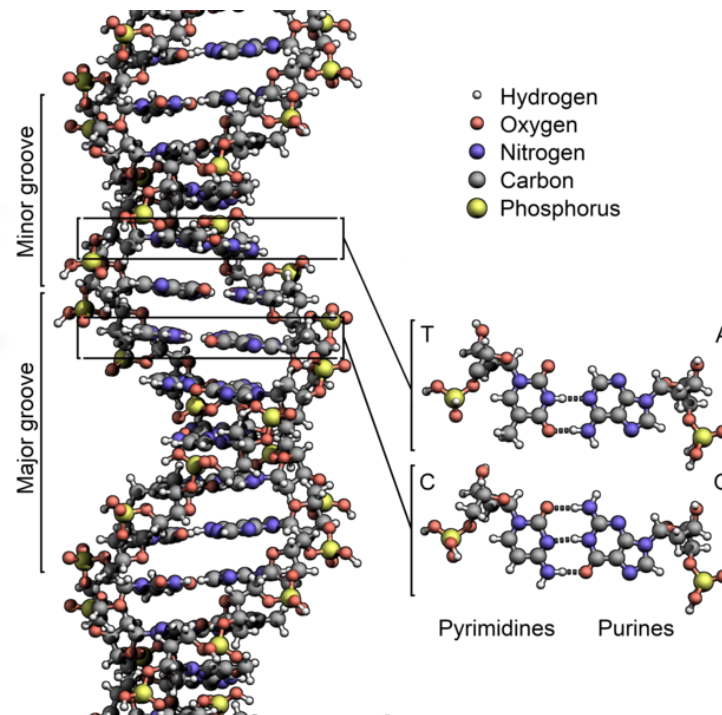


1953, James D. Watson and Francis Crick

מפרסמים על סמך תמונות ההתאבכות של פרנקלין, הנתונים הביוכימיים של Chargaff ונתונים הפונקציונאליים של **Hershey & Chase** את המבנה התלת ממדי של הסליל הכפול של DNA. מסביר את שמירת האינפורמציה הגנטית הקווית ושכפולה בחלוקה, את האפשרות של מוטציות, ואת הקשר (עדין בתיאוריה בלי מנגנונים) לחלבונים הבנויים משרשרת ליניארית לפי הריצוף של Sanger.



U.S. National Library of Medicine



בפעם האחרונה התוכנית כבקשתכם

זהו מבנה ה-DNA מדיפרקציה של קרני x
הקשר האמיץ בין מבנה לפונקציה
אינפורמציה ליניארית ב-DNA עוברת לאינפורמציה ליניארית של שרשרת חלבונית

היום –

איך עוברת האינפורמציה מדור לדור ומ-DNA לחלבונים

1955 — Marianne Grunberg-Manago and Severo Ochoa

גילוי האנזים polynucleotide phosphorylase שאח"כ גילו שתפקידו לפרק RNA

1955 — Arthur Kornberg & Severo Ochoa

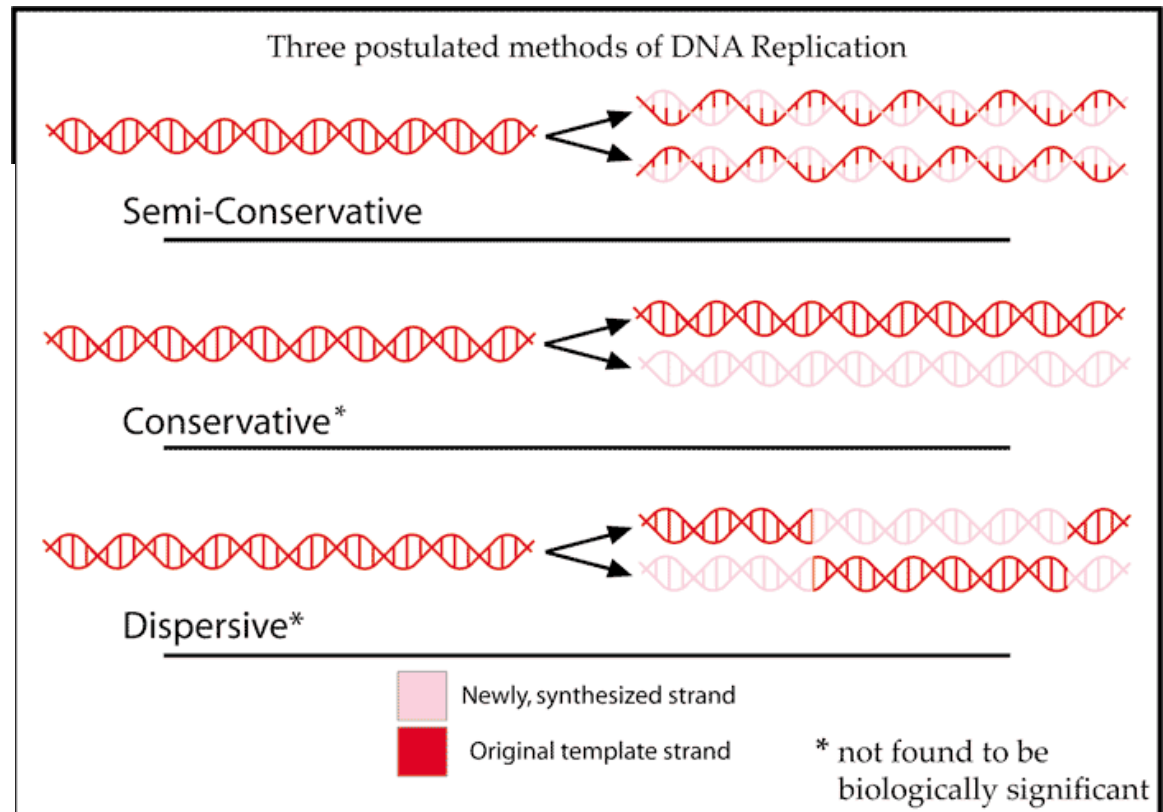
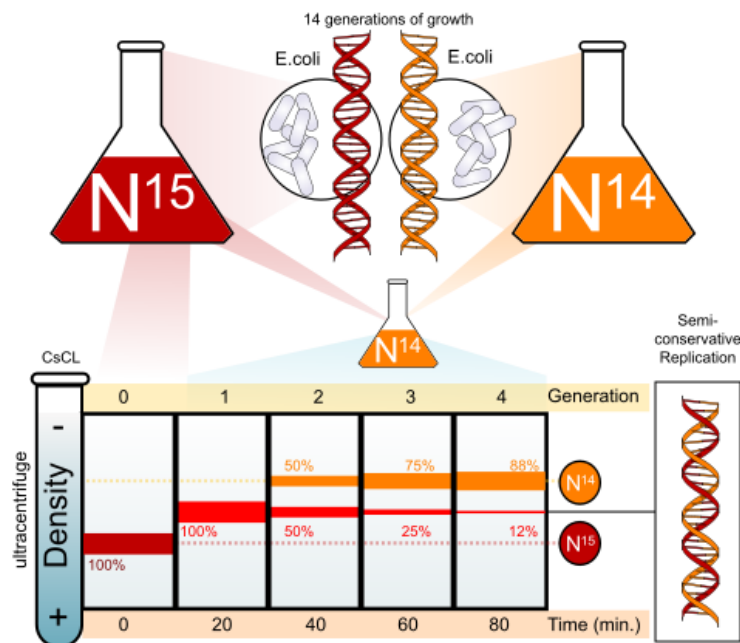
סינטזה במבחינה DNA polymerase enzyme

1958 — Matthew Stanley Meselson and Franklin W. Stahl

שכפול DNA הוא סמי-קונסרבטיבי

גידלו בקטריות על ^{15}N והעבירו ל- ^{14}N

ואז מודדים צפיפות בצנטרפוגה - (חוק ארכימדס בגרדיאנט CsCl) ואחרי חלוקה רואים שכל ה-DNA פחות צפוף, (ולא חצי כבד וחצי צפוף) אחרי חלוקות נוספות-הולך ופוחת DNA חצי צפוף.



mRNA

Francis Crick 1950

DNA->RNA->Proteins : הדוגמה המרכזית בביולוגיה

Lester Goldstein and Walter Plaut 1955

העבירו גרעינים מסומנים רדיואקטיבית בין אמבות והראו ש-RNA נוצר בגרעין ויוצא לציטופלזמה.

1955 Paul Zamecnik & Hoagland

מיקרוזומים מייצרים חלבונים בציטופלזמה. החלבון משתחרר מ-RNA. פרנסיס קריק הציע שהם דומים לוירוסים המכילים RNA המקביל ל-DNA בגרעין, וחלבונים

1956 Ken Volkin and Larry Astrachan

אינפקציה של בקטריית קולי בורוס T4 משעבדת את מנגנוני הבקטריה לייצר את חלבוני הוירוס מה-DNA שהוא מזריק. זה נעשה ע"י ייצור mRNA מה-DNA של הוירוס, השונה בתכולת הבסיסים). האינפקציה אינה מגדילה משמעותית את כמות RNA בבקטריה – בניגוד להיפוטזה שהריבוזום מ-RNA אחד יוצר חלבון אחד.

David Baltimore, Renato Dulbecco and Howard Temin 1970s

retroviruses and reverse transcriptase

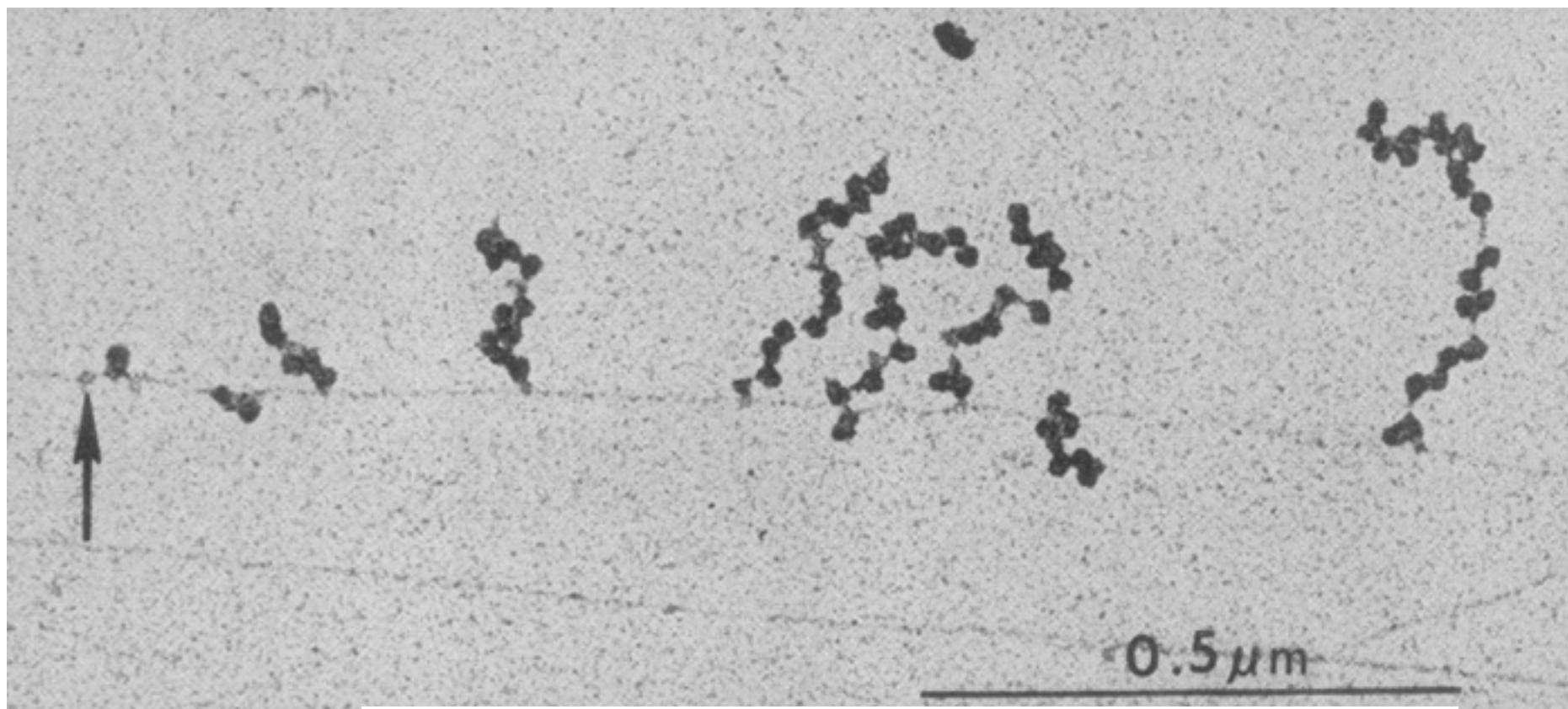
אנזימים המשכפלים DNA מ-RNA – מבלבל את הדוגמה המרכזית

Philip Sharp and Richard Roberts 1977

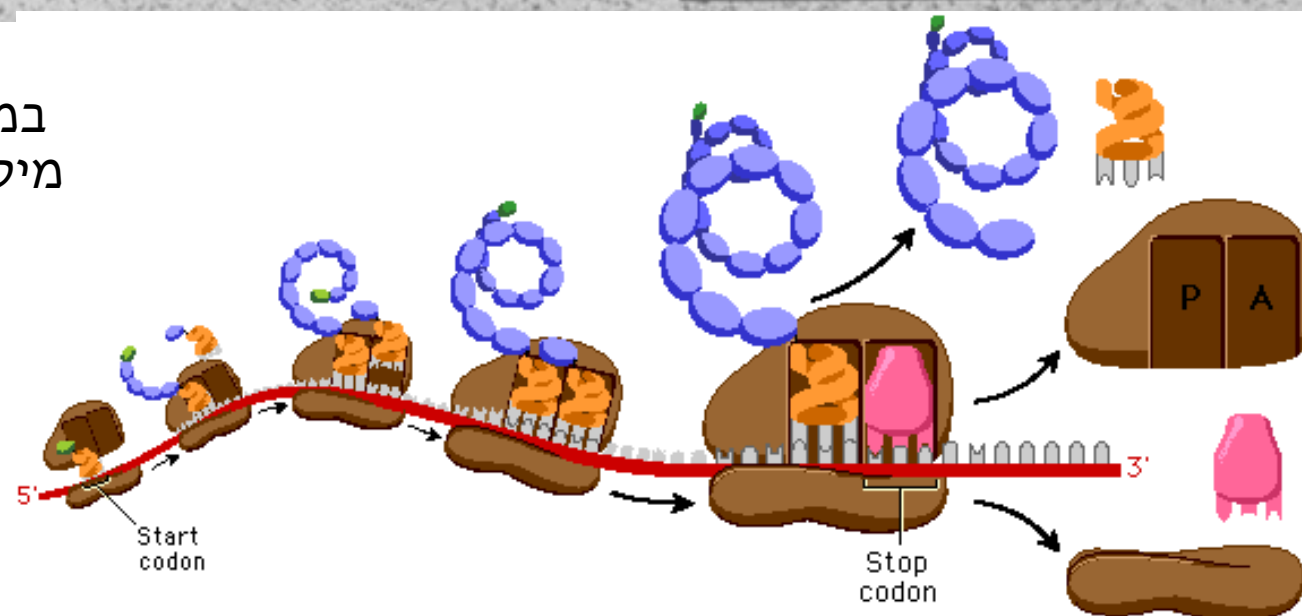
אינטרונים ואקסונים: מ-pre-mRNA ל-mRNA, שחבור (Splicing)

Thomas Cech and Sidney Altman 1990, Andrew Fire and Craig Mello, 2006

Interference RNA



במיקרוסקופ אלקטרוני
מיקרוזומים (ריבוזומים)
ופוליזומים



הקוד הגנטי

מה חסר עכשיו? פיענוח הקוד הגנטי שמעביר DNA לשרשרת חומצות אמיניות
הכלים שפותחו בבקטריות משמשים בפיצוח

קוד מ-4 בסיסים ל-20 חומצות אמינו דורש לפחות 3 אותיות אבל $4^3 = 64 > 20$
האם הקוד חופף? רצפים של חלבונים הראו שלא תיתכן חופפות (Sydney Brenner)
אך לא היו מספיק רצפים של חלבונים ו-DNA כדי לפצח את הקוד
הפתרון - שימוש בבקטריות.

Grunberg-Manago's 1955

אנזימים לייצור DNA

Charles Loe, Audrey Stevens, and Jerard Hurwitz , 1960

מעתיק RNA מ-DNA: פולימרז RNA

Severo Ochoa 1961

פיתח תרחיף ללא בקטריות לפילמור פולי-ליזין שנוצר מ-AAA... ופולי-פרולין מ-CCC...

Marshall Nirenberg and Heinrich J. Matthaei , 1961

שימוש בתרחיף ללא בקטריות חיות ...UUU יצר שרשרת בה אלנין חוזר על עצמו

1961 — J. Heinrich Matthaei

זיהוי הקודון של פנילאלנין (UUU) ע"י שימוש באנזימים מבקטריה ליצור DNA ברצף רצוי

Har Gobind Khorana , 1961

סרין-לוסין חוזרים מ-UCUCUCU

שלש חומצות אמינו חוזרות מ-UACUACUA

קודונים לסיום - UAG, UAA & UGA

עדין אין הוכחה ברורה שהקוד לא חופף

Francis Crick, Sydney Brenner, Leslie Barnett and R.J. Watts-Tobin, 1961

השתמשו בבקטריופאז' (וירוס בקטריאלי) T4 שהגן rII^B בו בודד ורוצף
ע"י הוספת provlavin שגורם להכנסת בסיסים לתוך הגן גילו שתוספת בסיס בודד שניים או ארבע
אינה מייצרת חלבון פעיל, אך כשנוספים שלשה בסיסים נוצר חלבון פעיל והוירוס משתכפל
כרגיל

המושג של מוטצית "הזזת מסגרת" frame-shift

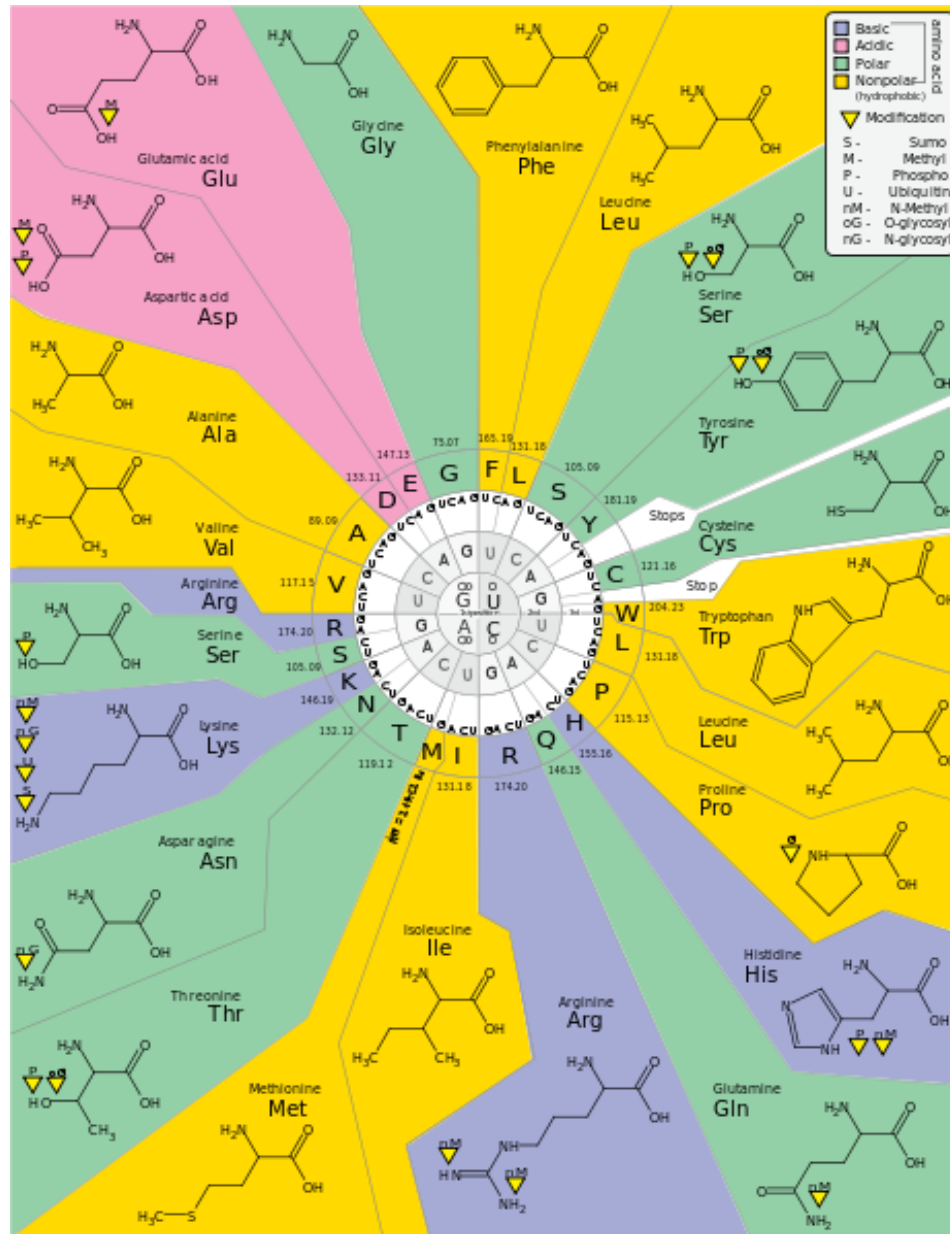
1961 Marshall Nirenberg, Philip Leder, Har Gobind Khorana, Sydney Brenner & Francis Crick

פיענוח כל הטריפלטים של הקוד הגנטי

1972 — Walter Fiers and his team

רצף הגן הראשון של חלבון המעטפת של וירוס ורצף החלבון

1962 הקוד מנוון אך חד ערכי



First base

		Second base				
		U	C	A	G	
U	UUU	Phe	UCU	UAU	UGU	U
	UUC		UCC	UAC	UGC	C
	UUA	Leu	UCA	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG		UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
C	CUU		CCU	CAU	CGU	U
	CUC	Leu	CCC	CAC	CGC	C
	CUA		CCA	CAA Gln	CGA	A
	CUG		CCG	CAG	CGG	G
A	AUU	Ile	ACU	AAU	AGU	U
	AUC		ACC	AAC	AGC	C
	AUA		ACA	AAA Lys	AGA	A
	AUG	Met	ACG	AAG	AGG	G
G	GUU		GCU	GAU	GGU	U
	GUC	Val	GCC	GAC	GGC	C
	GUA		GCA	GAA Glu	GGA	A
	GUG		GCG	GAG	GGG	G

Third base

tRNA

הנחה תיאורטית של פרנסיס קריק שקיימת מולקולת ביניים המתווכת בין ה-DNA לחלבונים סיבות להנחה:

כשלון נסיונות תיאורטיים שונים להתאים שרשרת חומצות אמינו ישירות לסליל הכפול של ה-DNA

1955, Robert W. Holley

זיהה קומפלקס של חומצות אמינו ו-RNA

1960s by Alex Rich and Don Caspar, Jacques Fresco

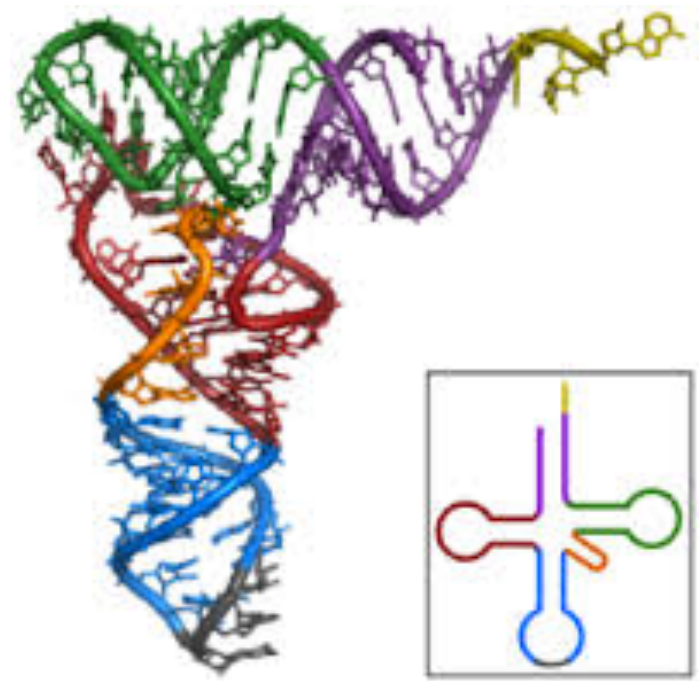
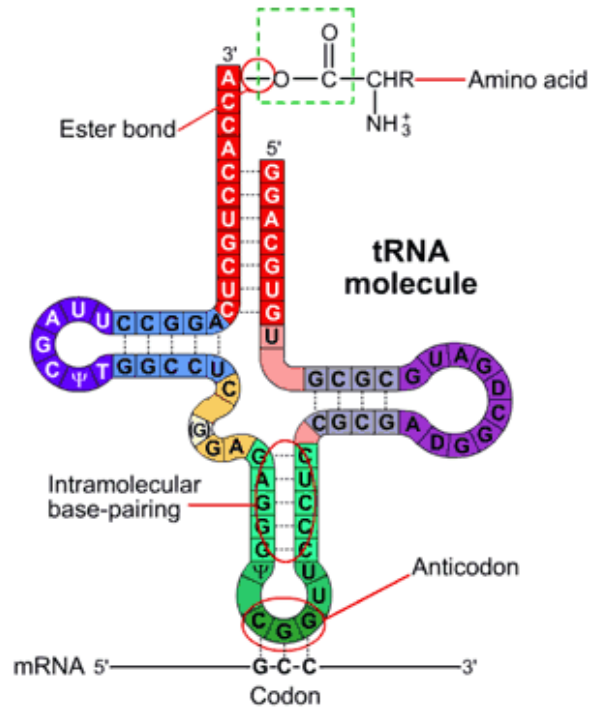
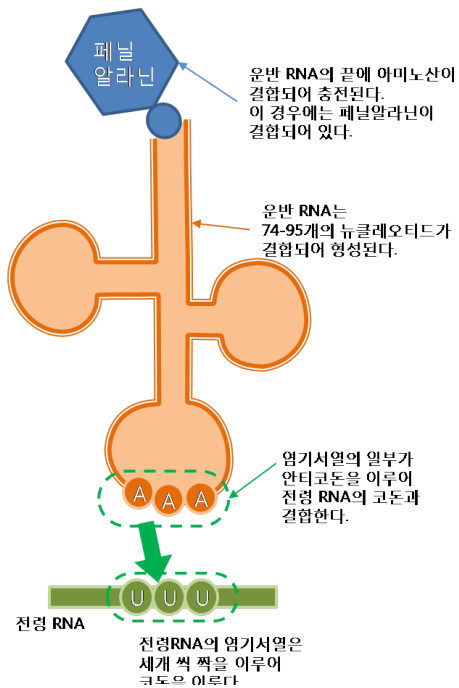
חקר המבנה של tRNA

1965, Robert W. Holley

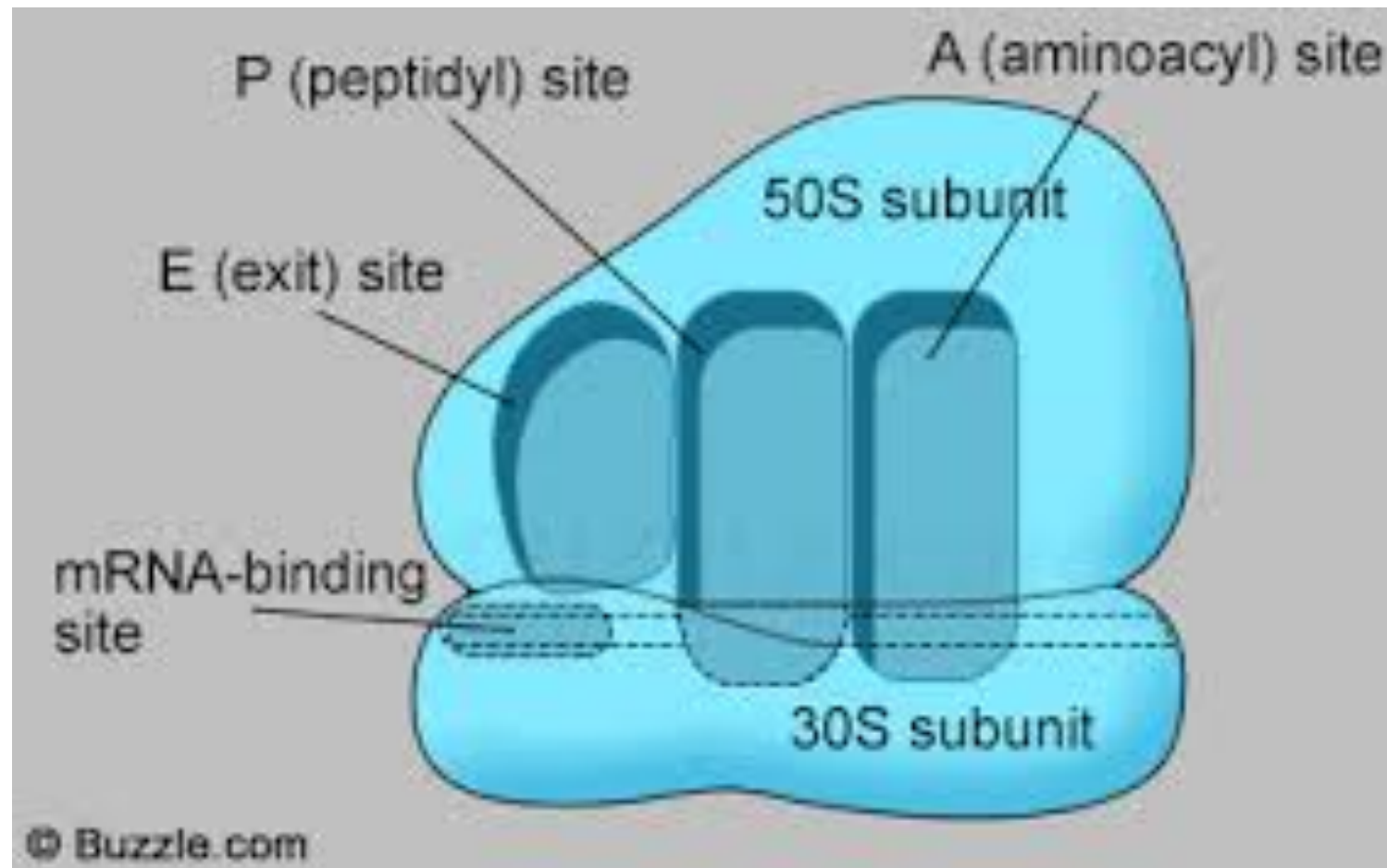
מצא את רצף חומצות הגרעין ב-tRNA והניח את המבנה השלישוני

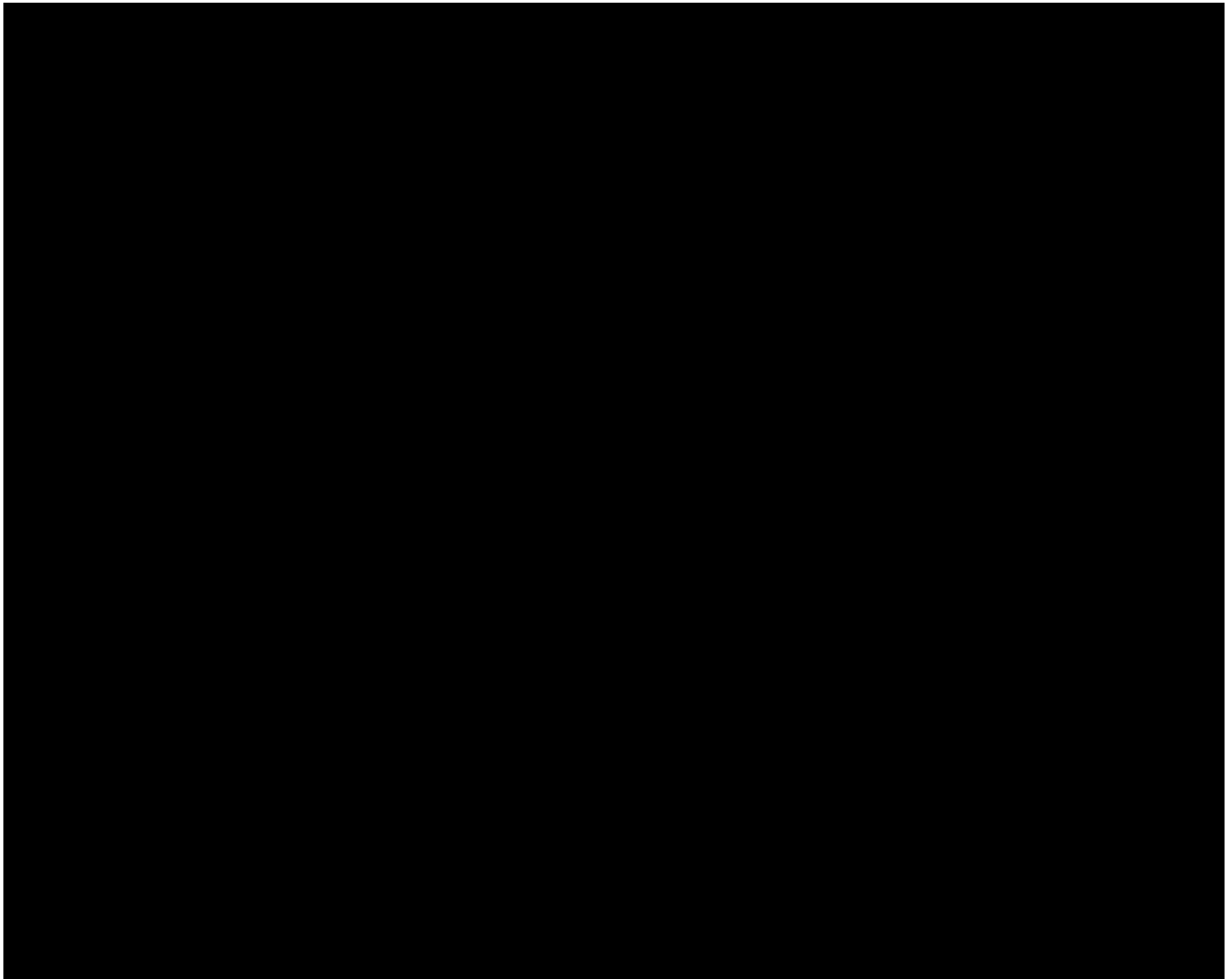
1974 Aaron Klug & Alex Rich

באופן בלתי תלוי גיבשו ופתרו את מבנה עלה התלתן ל-tRNA



הריבוזום





איך להשתמש בידע כדי לייצר גנים כרצוננו?

1970 — Hamilton Smith and Daniel Nathans

אנזימי חיתוך (restriction) של DNA החותכים רק ברצף מסויים

1970 — Howard Temin and David Baltimore

אנזימים המעתיקים RNA אל DNA הבסיס להכפלת רצפים

1977 — Walter Gilbert and Allan Maxam

שיטה לקביעת רצפי DNA ע"י אלקטרופורזה

1977 — Frederick Sanger et al.

רצף הגנום של וירוסים

1984 — Alec Jeffreys

טביעת אצבעות גנטית לשימוש זיהוי בפשעים

1990 — French Anderson et al.

טרפיה גנטית אושרה באדם, אך הופסקה לאחר שפציאנט נפטר

1990 — Napoli, Lemieux and Jorgensen

גילוי iRNA בכוון הפוך הגורם לחיתוך RNA טבעי וכך ירידת ביטוי של חלבון

1996 — Dolly the sheep

שיבוט של יונק - הכנסת גנום לביצית ללא DNA

2003 (April 14)

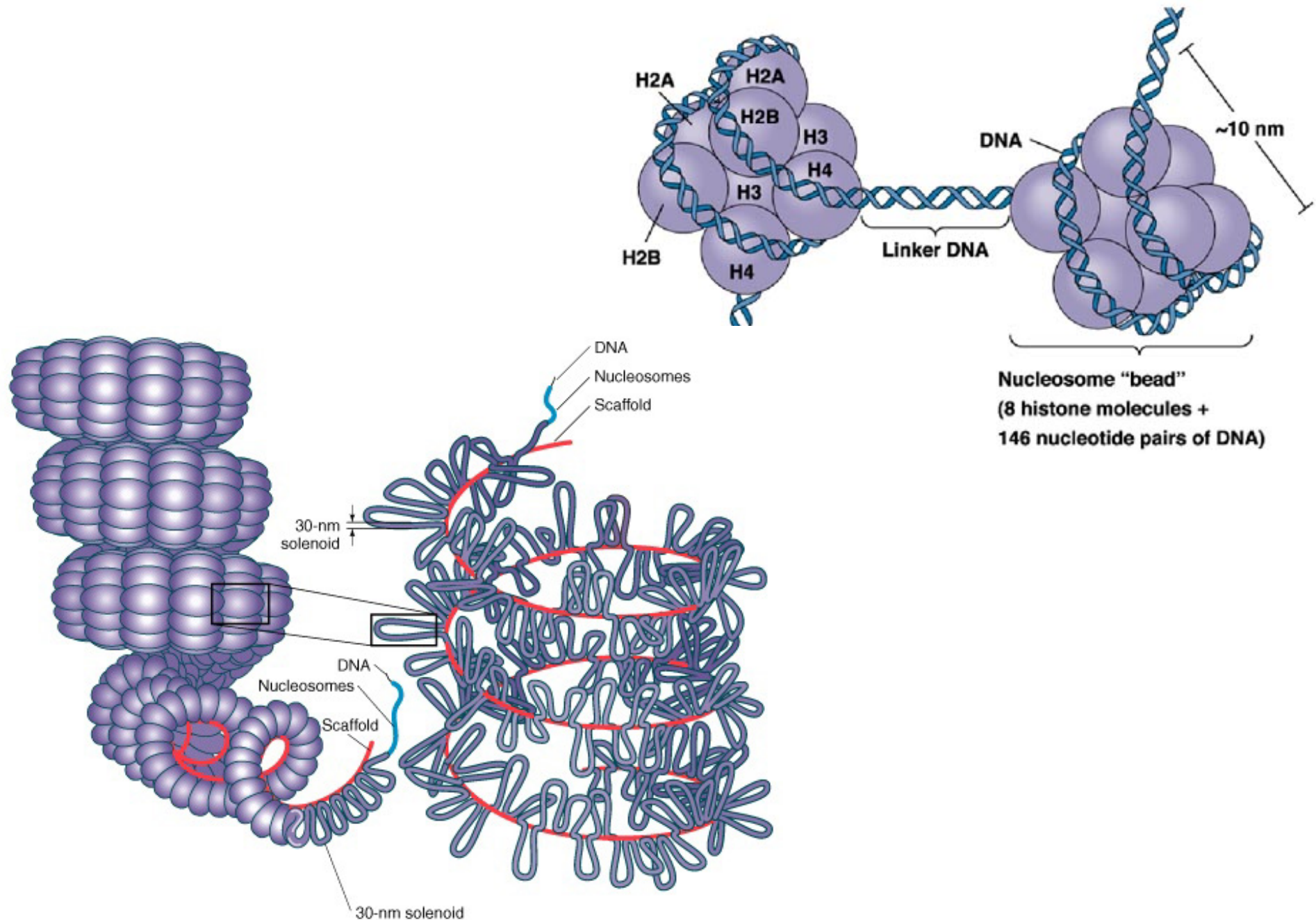
סיום שיבוט הגן האנושי בדיוק 99.99%

טכניקות בשימוש הביולוגיה המולקולארית

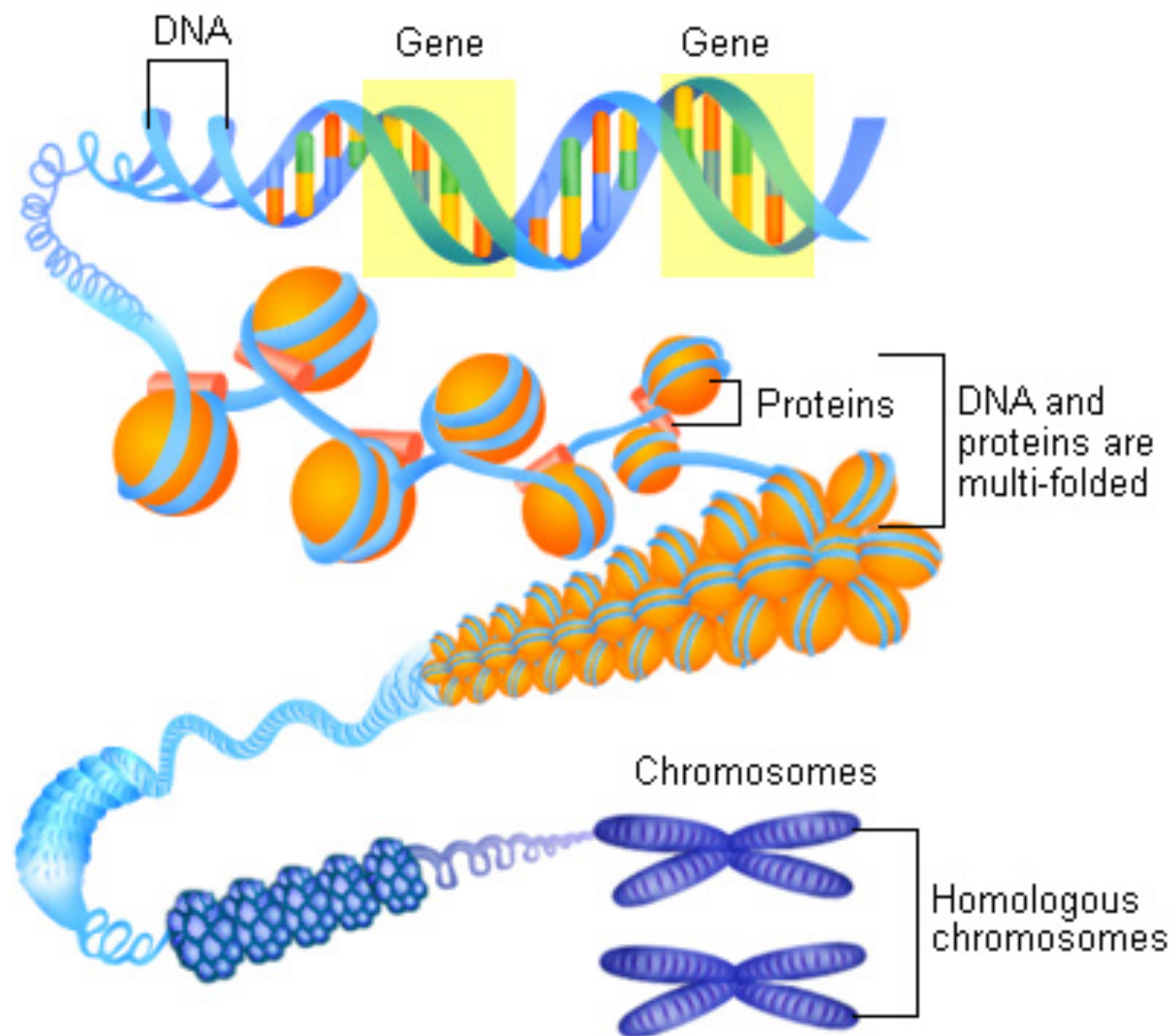
צנטרפוגה – הפרדת מולקולות לפי גדלן וצפיפותן (בשוי משקל בגרדיאנט סוכרוז)
כרומטוגרפיה (ניר, ג'ל, חד ודו ממדי –טביעת אצבעות)
קרני- x ואולטרה-סגול ליצירת מוטציות
ספקטרוסקופיה לקביעת ריכוזי חלבונים וחומצות גרעין
קביעת מבנה תלת ממדי מקריסטלוגרפיה
מיצוי והכפלת DNA למשל PCR ושיבוט
ביטוי חלבונים בבקטריות מגן מהונדס
ריצוף חלבונים ו-DNA
סינטז רצף מהונדס של DNA ושילובו בגנום של תאים

כמה שקפים לסיכום הידע:

איך מתקפלים 200 מטרים של אורך ה-DNA בכרומוזומים ובגרעין

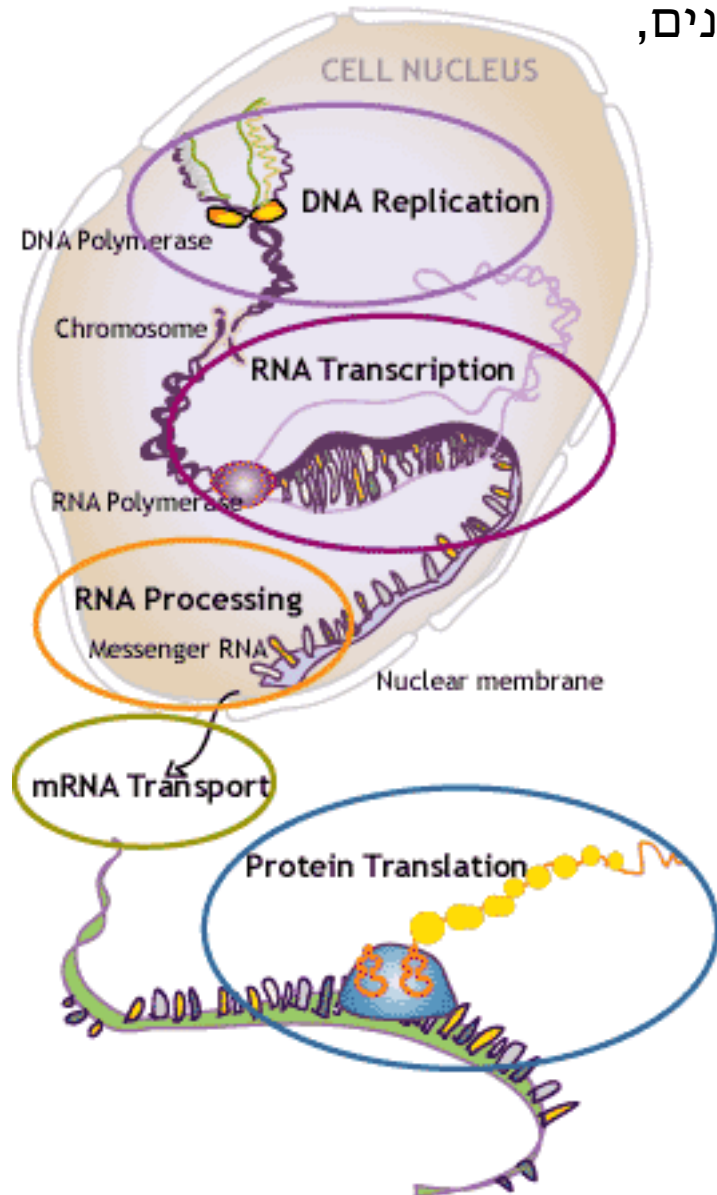


a



זרימת האינפורמציה מ-DNA ל-mRNA לחלבונים.
בתאים איוקריוטיים – גרעין וציטופלזמה:

שעתוק ושחבור DNA→mRNA בגרעין, יוצא מהגרעין לציטופלזמה ומשכפל חלבונים.
הקשר בין רצף חומצות בסיס ב-DNA, וחומצות אמינו בחלבונים,



באינטרפאזה DNA פתוח לשעתוק
Transcription by **RNA-Polymerase**

pre-mRNA

שחבור

m-RNA



ציטופלזמה

ריבוזום+mRNA+tRNA

Translation



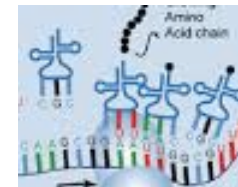
שרשרת פפטידים
לחלבון מתקפלת

לפני חלוקה
שיכפל DNA

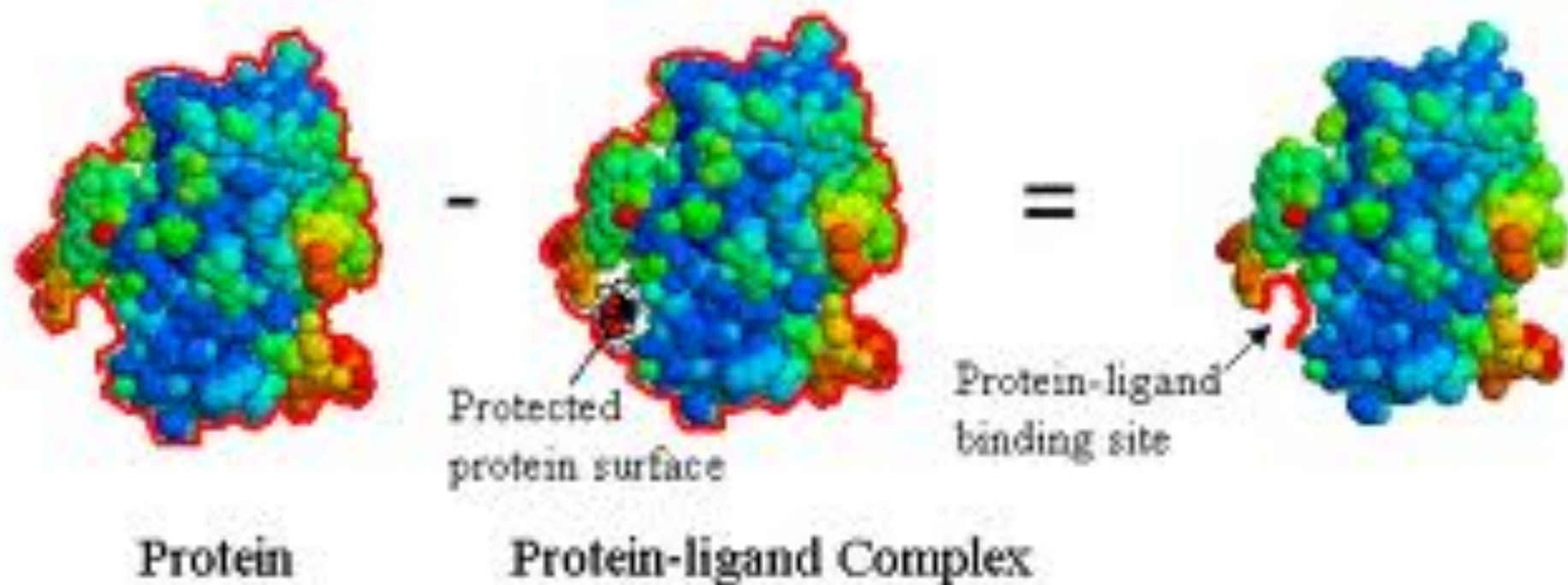
Replication

By **DNA-Polymerase**

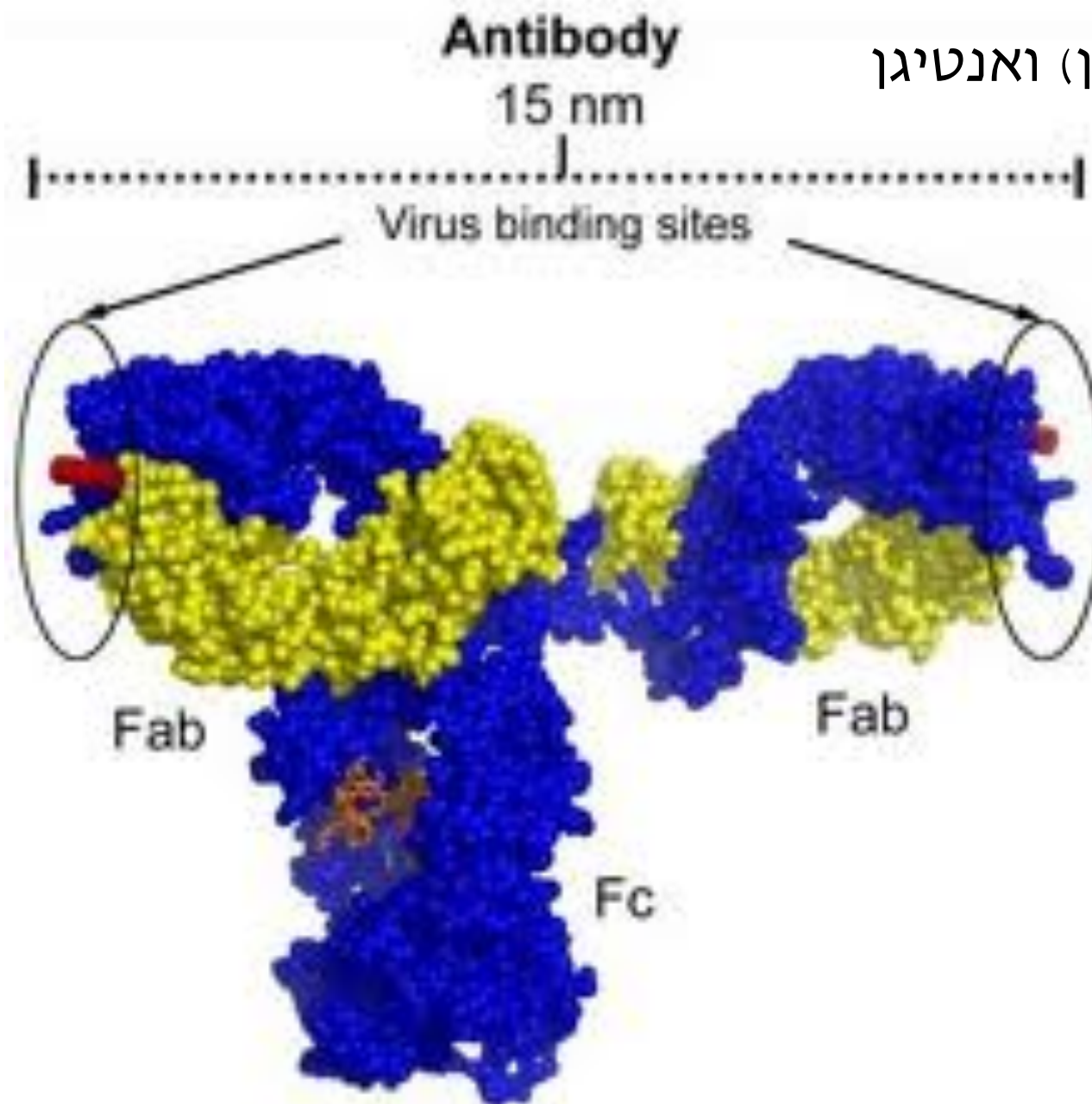
אריזה בכרומוזומים
בחלוקה



מבנה תלת ממדי ופונקציה לחלבונים: מפתח ומנעול - אנזים
וסובסטרט (מצע?) - דוגמא: תגובה אנזימטית של ליזוזים
ופוליסוכר



אנטיבודי (נוגדן) ואנטיגן



למדנו איך בקטריות ווירוסים עזרו לקדם גנטיקה של אדם
ראינו איך פיתוח שיטות בבקטריות ווירוסים הביאה לרצוף הגן האנושי
אנו מבינים את הפוטנציאל של ריפוי מחלות על ידי גנטיקה
ואת הסכנות הטמונות במניפולציות גנטיות

כיום ניתן לקבל כל גן רצוי, טיבעי או מוטציה,
ולהכניס אותו לתאים כדי שיבטא חלבון
ניתן גם לקבל שרשרת הפוכה של RNA
שמנטרלת את הגן הטיבעי שבתא ומורידה את ביטוי

נושאים חשובים שלא כיסינו

תיקון DNA ואיכות בשיכפול ובשעתוק
טופולוגיה של פתיחת ופיתול סליל DNA בשיכפולו

לא דיברנו על השליטה בביטוי גנים – הבסיס להתמיינות תאים
תאי גזע

קודונים לתחילת וסוף שעתוק, והוצאת קטעים שלא משתכפלים מתוך ה-mRNA
מה יש ב-DNA מלבד גנים (junk DNA)

הביצה והתרנגולת: מה קדם-DNA או חלבונים

בפעמים הבאות:

חורים שחורים
הדגמות נסיונות במעבדה ממוחשבת
הפרית קיפודים

Historical Landmarks

- c. 520 BC — Alcmaeon of Croton distinguished veins from arteries and discovered the optic nerve.
- c. 450 BC — Sushruta wrote the Sushruta Samhita, describing over 120 surgical instruments and 300 surgical procedures, classifying human surgery into eight categories, and introducing cosmetic and plastic surgery.[1]
- c. 450 BC — Xenophanes examined fossils and speculated on the evolution of life.
- c. 350 BC — Aristotle attempted a comprehensive classification of animals. His written works include *Historion Animalium*, a general biology of animals, *De Partibus Animalium*, a comparative anatomy and physiology of animals, and *De Generatione Animalium*, on developmental biology.
- c. 300 BC — Theophrastos (or Theophrastus) began the systematic study of botany.
- c. 300 BC — Herophilos dissected the human body.
- c. 100 BC — Diocles wrote the oldest known anatomy book and was the first to use the term anatomy.
- c. 50-70 AD — *Historia Naturalis* by Pliny the Elder (Gaius Plinius Secundus) was published in 37 volumes.
- 130-200 — Claudius Galen wrote numerous treatises on human anatomy.
- c. 800 — Al-Jahiz describes the struggle for existence,[2][3] introduces the idea of a food chain,[4] and adheres to environmental determinism.[5]
- c. 850 — Al-Dinawari is considered the founder of Arabic botany for his *Book of Plants*, in which he describes at least 637 plants and discussed plant evolution from its birth to its death, describing the phases of plant growth and the production of flowers and fruit.[6]
- c. 900 — Rhazes (865-925) distinguishes smallpox from measles, and compiles a casebook of his experiences as a physician, *al-Hawi*.
- c. 1010 — Avicenna (Abu Ali al Hussein ibn Abdallah ibn Sina) published *The Canon of Medicine* (*Kitab al-Qanun fi al-tibb*), in which he introduces clinical trials and clinical pharmacology,[7] and which remains an authoritative text in European medical education up until the 17th century.[8][9]
- c. 1150 — Avenzoar adheres to experimental dissection and autopsy, which he carries out to prove that the skin disease scabies is caused by a parasite, a discovery which upsets the theory of humorism;[10] and he also introduces experimental surgery,[11] where animal testing is used to experiment with surgical techniques prior to using them on humans.[12]
- 1200 — Abd-el-latif observes and examines a large number of skeletons during a famine in Egypt and he discovers that Galen was incorrect regarding the formation of the bones of the lower jaw and sacrum.[13]

c. 1200 — The Andalusian-Arabian biologist Abu al-Abbas al-Nabati develops an early scientific method for botany, introducing empirical and experimental techniques in the testing, description and identification of numerous *materia medica*, and separating unverified reports from those supported by actual tests and observations.[14]

c. 1225 — Ibn al-Baitar, al-Nabati's student, writes his *Kitab al-Jami fi al-Adwiya al-Mufrada*, a botanical and pharmaceutical encyclopedia describing 1,400 plants, foods, and drugs, 300 of which are his own original discoveries; a later Latin translation of his work is useful to European biologists and pharmacists in the 18th and 19th centuries.[15]

1242 — Ibn al-Nafis publishes his *Commentary on Anatomy in Avicenna's Canon*, in which he discovers the pulmonary circulation[16] and coronary circulation,[17][18] which form the basis of the circulatory system.[19]

1543 — Andreas Vesalius publishes the anatomy treatise *De humani corporis fabrica*.

?? — Jan Baptist van Helmont performed his famous tree plant experiment in which he shows that the substance of a plant derives from water, a forerunner of the discovery of photosynthesis.

1614 — Santorio Santorio weighed himself before and after eating, sleeping, working, sex, fasting, drinking, and excreting. He found that most of the food he took in was lost through what he called "insensible perspiration".

1628 — William Harvey published *An Anatomical Exercise on the Motion of the Heart and Blood in Animals*

1651 — William Harvey concluded that all animals, including mammals, develop from eggs, and spontaneous generation of any animal from mud or excrement was an impossibility.

1658 — Jan Swammerdam observed red blood cells under a microscope.

1663 — Robert Hooke saw cells in cork using a microscope.

1668 — Francesco Redi disproved spontaneous generation by showing that fly maggots only appear on pieces of meat in jars if the jars are open to the air. Jars covered with cheesecloth contained no flies.

1672 — Marcello Malpighi published the first description of chick development, including the formation of muscle somites, circulation, and nervous system.

1676 — Anton van Leeuwenhoek observed protozoa and calls them *animalcules*.

1677 — Anton van Leeuwenhoek observed spermatozoa.

1683 — Anton van Leeuwenhoek observed bacteria. Leeuwenhoek's discoveries renew the question of spontaneous generation in microorganisms.

1767 — Kaspar Friedrich Wolff argued that the tissues of a developing chick form from nothing and are not simply elaborations of already-present structures in the egg.

1768 — Lazzaro Spallanzani again disproved spontaneous generation by showing that no organisms grow in a rich broth if it is first heated (to kill any organisms) and allowed to cool in a stoppered flask. He also showed that fertilization in mammals requires an egg and semen.

1771 — Joseph Priestley demonstrated that plants produce a gas that animals and flames consume. Those two gases are carbon dioxide and oxygen.

1798 — Thomas Malthus discussed human population growth and food production in An Essay on the Principle of Population.

Henri Dutrochet (1776–1847) and François Raspail (1794–1878) cells - the basic unit of life but thought new cells are created within old cells

1832 Barthelemy Dumortier (1797–1878) detected cell division in plants

1802 Franz Bauer describe nucleus, named in 1831 by Robert Brown (1773–1858) [of the Brownian motion]

Jan Purkyňe (1787–1869), or Purkinje – cells build plants AND animals

Read more: <http://www.biologyreference.com/Gr-Hi/History-of-Biology-Cell-Theory-and-Cell-Structure.html#ixzz2qkmOnKC8>

1801 — Jean-Baptiste Lamarck began the detailed study of invertebrate taxonomy.

1802 — The term biology in its modern sense was propounded independently by Gottfried Reinhold Treviranus (Biologie oder Philosophie der lebenden Natur) and Lamarck (Hydrogéologie). The word was coined in 1800 by Karl Friedrich Burdach.

1809 — Lamarck proposed a modern theory of evolution based on the **inheritance** of acquired characteristics.

1817 — Pierre-Joseph Pelletier and Joseph Bienaimé Caventou isolated chlorophyll.

1820 — Christian Friedrich Nasse formulated Nasse's law: **hemophilia** occurs only in males and is passed on by unaffected females.

1824 — J. L Prevost and J. B. Dumas showed that the **sperm** in semen were not parasites, as previously thought, but, instead, the agents of fertilization.

1826 — Karl von Baer showed that the eggs of mammals are in the ovaries, ending a 200-year search for the mammalian egg.

1828 — Friedrich Woehler synthesized urea; first synthesis of an organic compound from inorganic starting materials.

1836 — Theodor Schwann discovered pepsin in extracts from the stomach lining; first isolation of an animal enzyme.

1837 — Theodor Schwann showed that heating air will prevent it from causing putrefaction.

1838 — Matthias Schleiden proposed that all plants are composed of **cells**.

1839 — Theodor Schwann proposed that all animal tissues are composed of cells. Schwann and Schleiden argued that **cells are the elementary particles of life**.

1815-1865 Robert Brown — 1852- cell division, not “crystallization” suggested by Schleiden

1821-1902 Rudolf Virchow — “Omnis cellula e cellula” cell only come from cells. No credit Brown...

1817-1905 Albert von Kölliker — tissue embedding, sectioning and staining

1843 — Martin Barry reported the **fusion of a sperm and an egg** for rabbits in a 1-page paper in the Philosophical Transactions of the Royal Society of London

1856 — Louis Pasteur stated that **microorganisms produce fermentation** (of sugar to alcohol by yeast).

1858 — Charles R. Darwin and Alfred Wallace independently proposed a theory of biological evolution ("descent through modification") by means of natural selection. Only in later editions of his works did Darwin use the term "evolution."

1858 — Rudolf Virchow proposed that cells can only arise from pre-existing cells; "Omnis cellula e celula," **all cell from cells**. The **Cell Theory** states that all organisms are composed of cells (Schleiden and Schwann), and cells can only come from other cells (Virchow).

1864 — Louis Pasteur disproved the spontaneous generation of cellular life.
Showed that boiled broth covered by filter is not fermented (germ theory)
Helped cure silkworm disease by sterilization
Immunization by killed bacteria.

1865 — Gregor Mendel demonstrated in pea plants that inheritance follows definite rules. The Principle of Segregation states that each organism has two genes per trait, which segregate when the organism makes eggs or sperm. The Principle of Independent Assortment states that each gene in a pair is distributed independently during the formation of eggs or sperm. Mendel's trailblazing foundation for the science of genetics went unnoticed, to his lasting disappointment.

1865 — Friedrich August Kekulé von Stradonitz realized that benzene is composed of carbon and hydrogen atoms in a hexagonal ring.

1869 — Friedrich Miescher discovered nucleic acids in the nuclei of cells.

1871 — Miescher JF **isolated cell nuclei** from bandages, treated with pepsin

1874 — Jacobus van 't Hoff and Joseph-Achille Le Bel advanced a three-dimensional stereochemical representation of organic molecules and propose a tetrahedral carbon atom.

1876 — Oskar Hertwig and Hermann Fol independently described (in sea urchin eggs) the **entry of sperm into the egg** and the subsequent fusion of the egg and sperm nuclei to form a single new nucleus.

1878 — Wilhelm Kühne (1837–1900) coined the term enzyme.

1880 - 1890: Walther Flemming, Eduard Strasburger, and Edouard van Beneden elucidate **chromosome distribution during cell division**

1884 — Emil Fischer began his detailed analysis of the compositions and structures of sugars.

1889 — Richard Altmann purified DNA (later found to be contaminated with proteins)

1889: Hugo de Vries postulates that "**inheritance** of specific traits in organisms comes in particles", naming such particles "**(pan)genes**"

1892 — Hans Driesch separated the individual cells of a 2-cell sea urchin embryo and shows that **each cell develops into a complete individual**, thus disproving the theory of preformation and showing that each cell is "totipotent," containing all the hereditary information necessary to form an individual.

1897 — Eduard Buchner began to study the ability of yeast extracts to ferment sugar despite the absence of living yeast cells.

1898 — Martinus Beijerinck used filtering experiments to show that tobacco mosaic disease is caused by something smaller than a bacterium, which he names a **virus**.

1900 — Two biologists independently rediscovered Mendel's paper on heredity.

1902 — Walter Sutton and Theodor Boveri, independently proposed that the **chromosomes, which segregate in a Mendelian fashion**, carry the hereditary information. (see urchin- all chromosomes needed for development, grasshoppers-equal segregation in meiosis)

1902 — Archibald Garrod – alkaptonuria abundant in children of family-related parents

1905 — William Bateson coined the term "genetics" to describe the study of biological inheritance.

1906 — Mikhail Tsvet discovered the chromatography technique for organic compound separation.

1906 — Hardy GH & Weinberg W – equilibrium frequency of alleles in populations

1907 — Ivan Pavlov demonstrated conditioned responses with salivating dogs.

1907 — Hermann Emil Fischer artificially synthesized peptide amino acid chains and thereby shows that amino acids in proteins are connected by amino group-acid group bonds.

1908 — Hardy-Weinberg law derived: **allele and genotype frequencies in a population** will remain constant from generation to generation in the absence of other evolutionary influences. These influences include non-random mating, mutation, selection, genetic drift, gene flow and meiotic drive. Because one or more of these influences are typically present in real populations, the Hardy–Weinberg principle describes an ideal condition against which the effects of these influences can be analyzed.

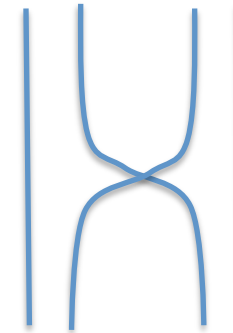
1909 — Wilhelm Johannsen coined the word "gene."

1910 — Thomas Morgan – **sex-linked traits – white eyed Drosophila**

1911 — Thomas Hunt Morgan proposed that **genes are arranged in a line** on the chromosomes.

1913 — Alfred Sturtevant makes the first chromosome map of a chromosome: show chromosomes containing linear arranged genes.

1910-1915 Morgan work on fruit fly
 Independent assortment of two genes on two chromosomes –
 linkage if on same chromosome
 4 linkage groups = 4 chromosomes



Ruptured linkage – cross over. Frequency proportional to distance

A-B 2% crosses

B-C 5% crosses

A ----2%----- B ----- 5% ----- C

C -----3%-----A ---2%----B

A-C 7% or 3% - Sturtevant 3 point segregation -> chromosome maps

1918 — Ronald Fisher publishes "The Correlation Between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance" the modern synthesis of genetics and evolutionary biology starts.

1922 — Aleksandr Oparin proposed that the Earth's early atmosphere contained methane, ammonia, hydrogen, and water vapor: the raw materials for the origin of life.

1923 — Frederick Griffith – DNA carries genes responsible for bacteria pathogenicity

1926 — James B. Sumner showed that the urease **enzyme is a protein**.

1928 — Otto Diels and Kurt Alder discovered the Diels-Alder cycloaddition reaction for forming ring molecules.

1928: Frederick Griffith discovers that **hereditary material from dead bacteria** can be incorporated into live bacteria.

1928 — Alexander Fleming discovered the first antibiotic, penicillin

1929 — Phoebus Levene discovered the sugar deoxyribose in nucleic acids.

1929 — Edward Doisy and Adolf Butenandt independently discovered estrone.

1930 — John Howard Northrop showed that the pepsin enzyme is a protein. Later also for trypsin and chymotrypsin.

1931 — Adolf Butenandt discovered androsterone.

1931 — Crossing over is identified as the cause of recombination

1932 — Krebs, Sir Hans Adolf: metabolism. identifies the Urea cycle 1937-citric acid cycle

1933 — Jean Brachet is able to show that **DNA is found in chromosomes** and that **RNA is present in the cytoplasm** of all cells.

1933 — Tadeus Reichstein artificially synthesized vitamin C; first vitamin synthesis.

1934 James Sumner crystallized Urea and show it is a protein

1935 — Rudolf Schoenheimer used deuterium as a tracer to examine the fat storage system of rats.

1935 — Wendell Stanley crystallized the tobacco mosaic virus.

1935 — Konrad Lorenz described the imprinting behavior of young birds.

1937 - James B. Sumner showed further that the enzyme catalase is a pure protein.

1937 — Dorothy Crowfoot Hodgkin discovered the three-dimensional structure of cholesterol.

1937 — Krebs, Hans Adolf discovered the tricarboxylic acid cycle.

??? - Gustav Embden, Otto Meyerhof, and Jakob Karol Parnas discovered that glycolysis is a strongly determinant process for the efficiency and production of the human body.

1937 — Theodosius Dobzhansky In Genetics and the Origin of Species, applies the chromosome theory and population genetics to natural populations in the first mature work of neo-Darwinism, also called the modern synthesis, a term coined by Julian Huxley.

1938 — Marjorie Courtenay-Latimer discovered a living coelacanth off the coast of southern Africa.

1940 — Donald Griffin and Robert Galambos announced their discovery of echo-location by bats.

1941 — Edward Tatum and George Beadle show that **genes code for proteins** (neurospora)

1942 — Max Delbrück and Salvador Luria demonstrated that bacterial resistance to virus infection is caused by random mutation and not adaptive change.

1942 - Salvador Luria- Max Delbrueck experiment – Fluctuation test.

Measured the statistics of **bacteria raising resistance to T1 phage**.

Inoculated a small number of bacteria into many tubes.

Dilute and transfer to new tubes.

Following growth plated onto agar plates with T1 viruses

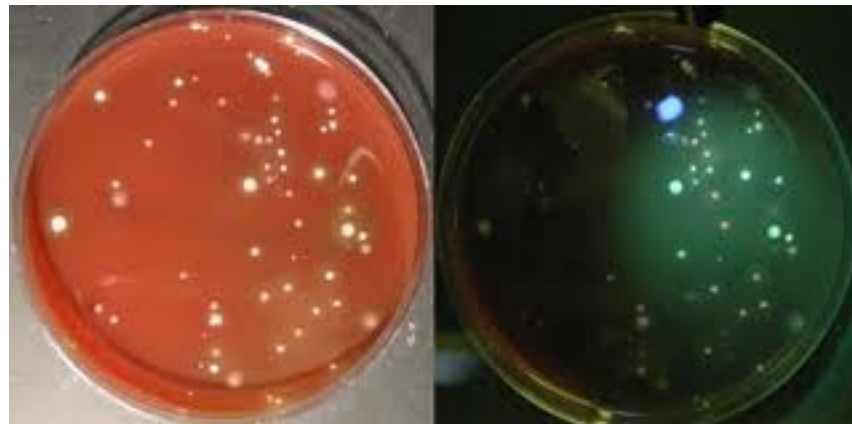
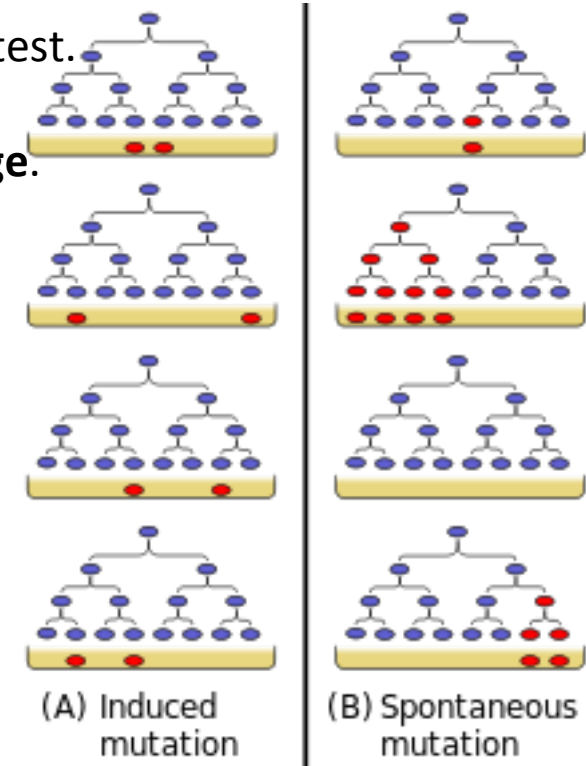
If induced mutations at constant rate

-> number of resistant colonies has Poisson distribution
mean=variance

If spontaneous random mutations

-> Variance >> mean

Mutations occur spontaneously, in absence of selection.

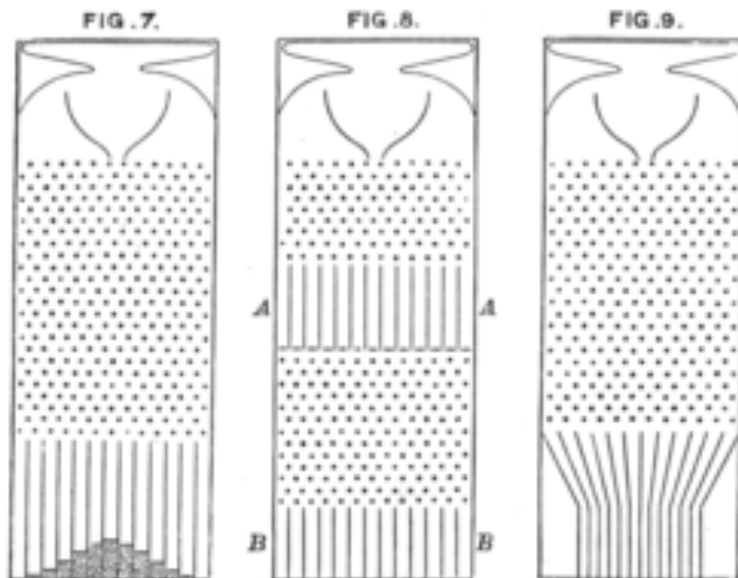
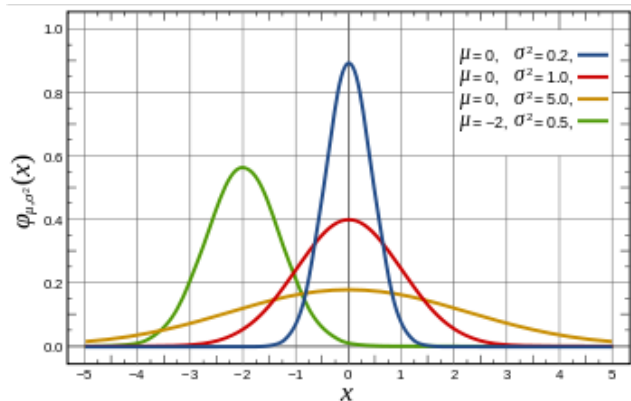


מספרים אקרעיים – התפלגות נורמאלית (גאוסית)

$$f(x; \mu, \sigma^2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2}$$

זריקת כדורים דרך "שדה" מסמרים – התפלגות גאוסית
 סכום (אינטגרל) ההסתברויות = 1
 μ = ממוצע ההתפלגות
 σ = רוחב ההתפלגות

אם עושים n נסיונות (n גדול) רוחב ההתפלגות $\sigma \sim \sqrt{n}$

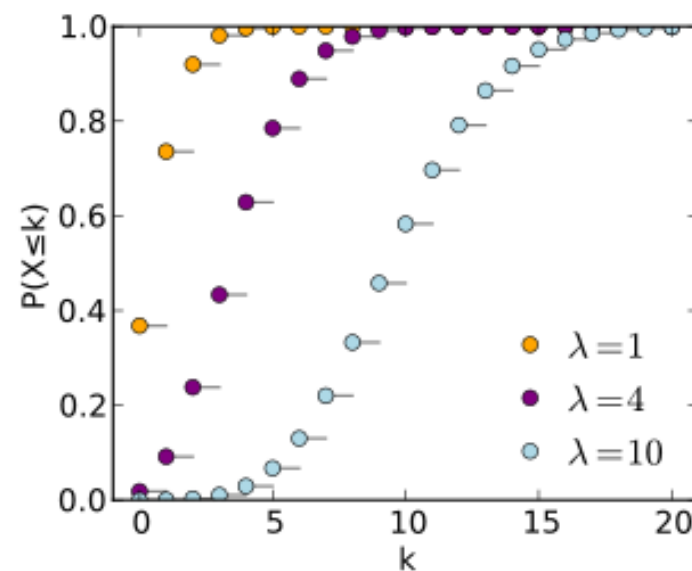
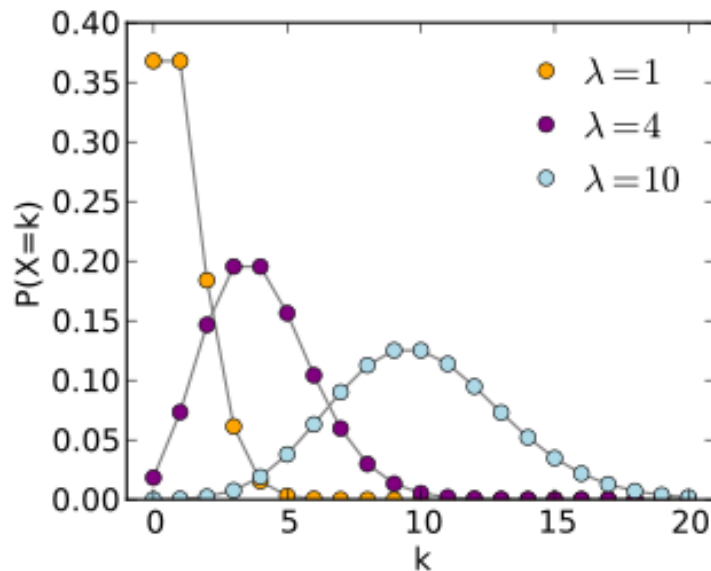


התפלגות פואסון-Poisson

בממוצע מספר האירועים האקראיים לפרק הזמן של המדידה λ
הסיכוי שנמדוד k אירועים הוא:

$$f(k; \lambda) = \Pr(X = k) = \frac{\lambda^k e^{-\lambda}}{k!},$$

למשל: נטיל מטבע 8 פעמים. בממוצע נקבל 4 פעמים עץ $\lambda=4$
מה הסיכוי שנקבל 7 פעמים עץ: לפי הגרף $\sim 5\%$
המענין הוא שלמספרים קטנים רוחב פונקצית הפילוג λ כמו הממוצע
בעוד שלמספרים גדולים ההתנהגות שואפת לפילוג נורמאלי עם רוחב $\lambda \sim$
 $p(x) = \exp[-(x-\lambda)^2/(2\lambda)] / \sqrt{2\pi\lambda}$



1944 — Robert Burns Woodward and William von Eggers Doering synthesized quinine.

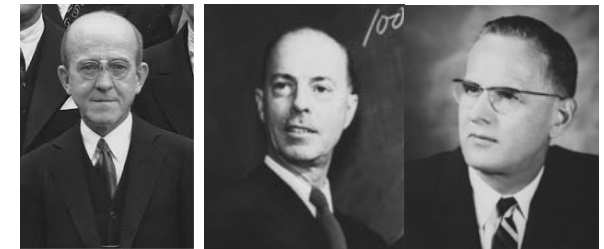
1944 — Oswald Avery shows that DNA carried the hereditary information in pneumococcus bacteria. The Avery–MacLeod–McCarty experiment **isolates DNA as the genetic material** (at that time called transforming principle).

[Refined Griffith experiment from 1923, “transforming principle” $S \leftrightarrow R$]

DNA was known to consist of 4 repeating units

Proteins were much more complex

Therefore – Proteins were believed to carry inheritance



Two kind of pneumococci bacteria – **S-smooth and R-rough**

Smooth kill infected mice (capsule has no polysaccharides recognized by immune system)

Rough do not (immune system kills bacteria)

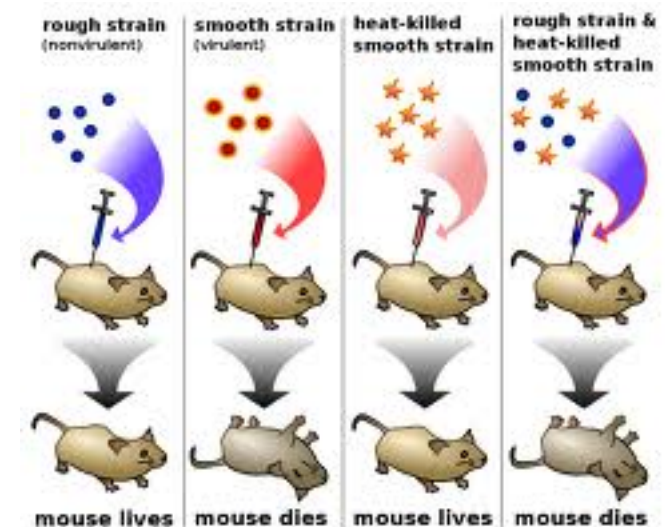
Showed that Smooth bacteria appear by spontaneous mutation.

Extracted DNA from Rough bacteria, added the soup to Smooth bacteria and recovered capability to kill mice.

Elaborately purified DNA from all remaining proteins.

Yet largely accepted skeptically, and did not get Nobel price

Till he died!!!



1945 — Dorothy Crowfoot Hodgkin discovered the three-dimensional structure of penicillin.

1948 — Erwin Chargaff showed **that in DNA the number of guanine units equals the number of cytosine units and the number of adenine units equals the number of thymine units.** Pyrimidines(Thymine = Adenine) purines (Cytosine = Guanine)

1948 — Barbara McClintock discovers transposons in maize, later found in bacteria & flies

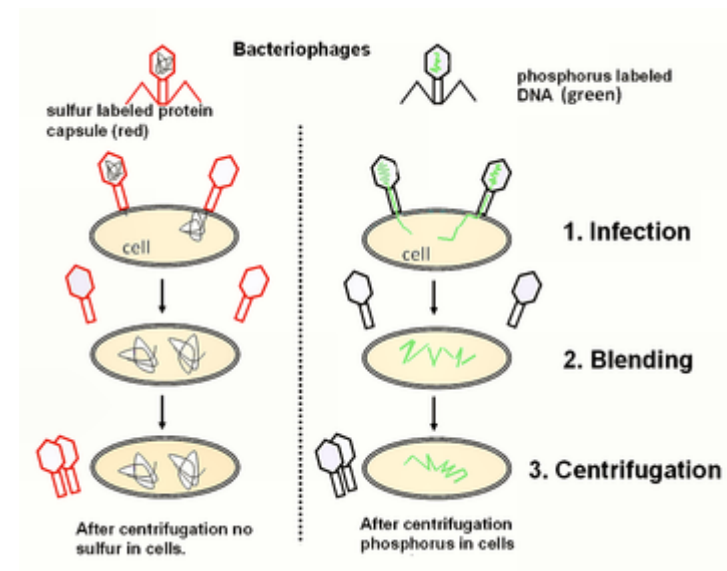
1951 — The research group of Robert Robinson with John Cornforth (Oxford University) publishes their synthesis of cholesterol, while Robert Woodward (Harvard University) publishes his synthesis of cortisone.

1951 — Fred Sanger, Hans Tuppy, and Ted Thompson completed their chromatographic analysis of the **insulin amino acid sequence**.

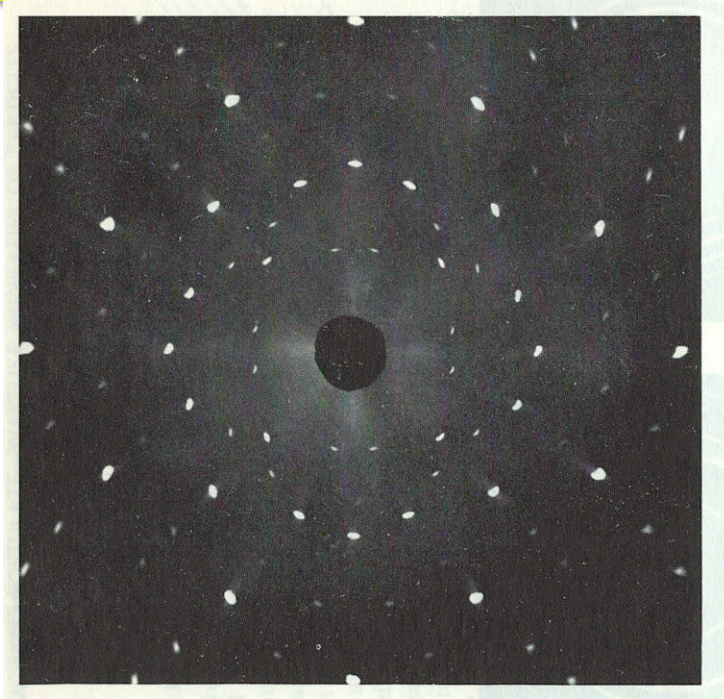
1952 — American developmental biologists Robert Briggs and Thomas King cloned the first vertebrate by transplanting nuclei from leopard frogs embryos into enucleated eggs. More differentiated cells were the less able they are to direct development in the enucleated egg.

1952 — Alfred Hershey and Martha Chase showed that **DNA is the genetic material** in bacteriophage viruses.

Labeled phage coat with sulfur S^{35} and the DNA with phosphorus P^{32}
And showed P radioactivity, not S inside infected bacteria



1952 — Rosalind Franklin concluded that DNA is a double helix with a diameter of 2 nm and the sugar-phosphate backbones on the outside of the helix, based on x ray diffraction studies. She suspected the two sugar-phosphate backbones have a peculiar relationship to each other. This was despite the Pauling & Corey's 1953 Nature paper that DNA is tripple-helix

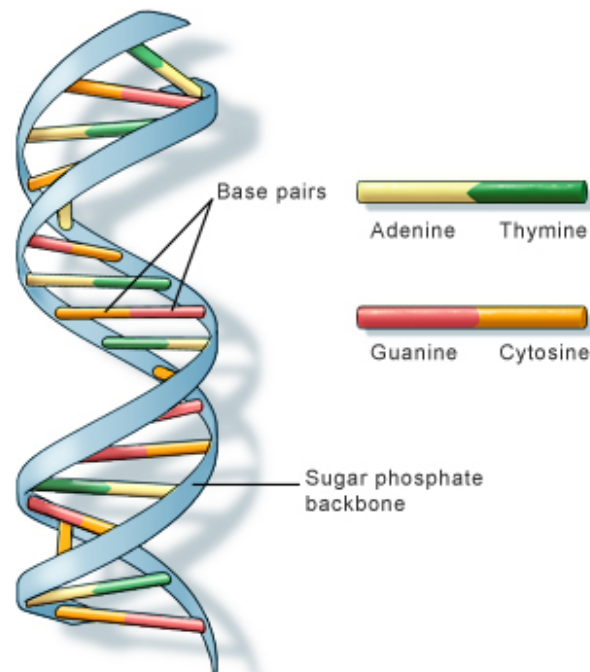


Diffraction from NaCl crystal

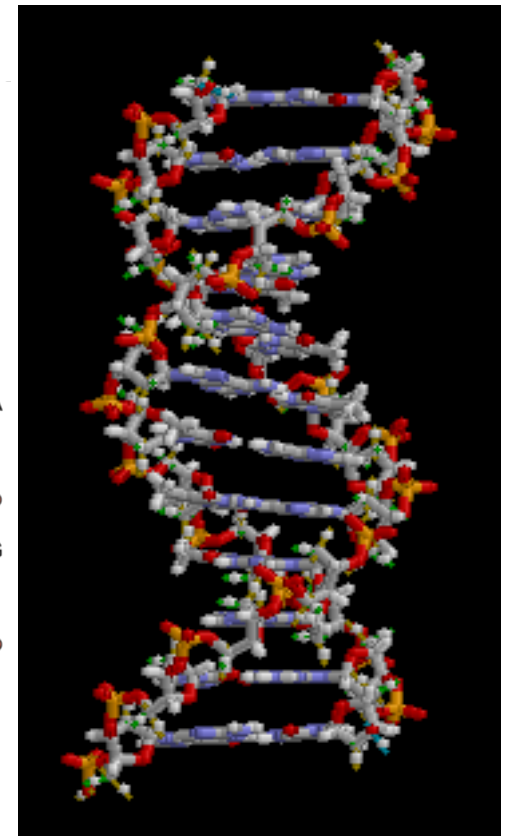
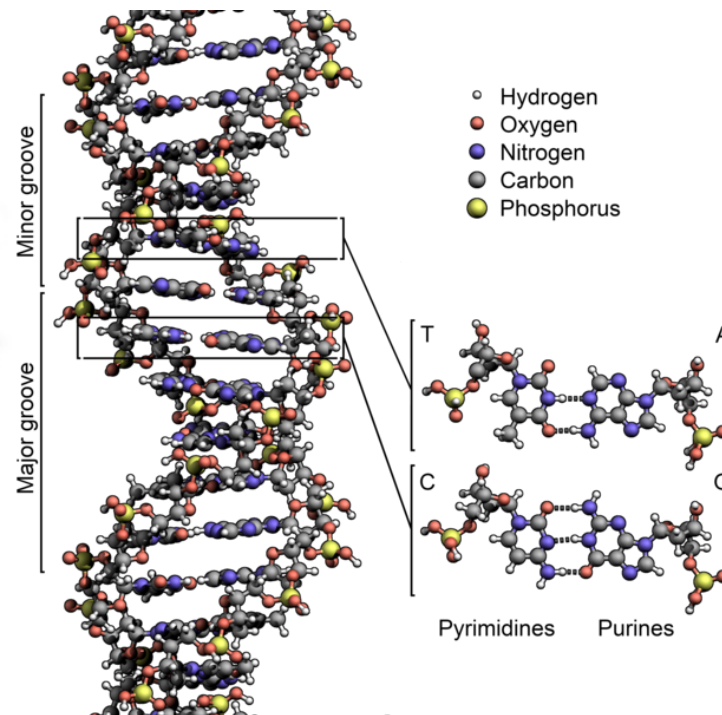
DNA fiber diffraction



1953 — After examining **Franklin's unpublished data**, James D. Watson and Francis Crick published a double-helix structure for DNA, with one sugar-phosphate backbone running in the opposite direction to the other. They further suggested a mechanism by which the molecule can replicate itself and serve to transmit genetic information. Their paper, combined with the Hershey-Chase experiment and **Chargaff's data** on nucleotides, finally persuaded biologists that DNA is the genetic material, not protein.



U.S. National Library of Medicine

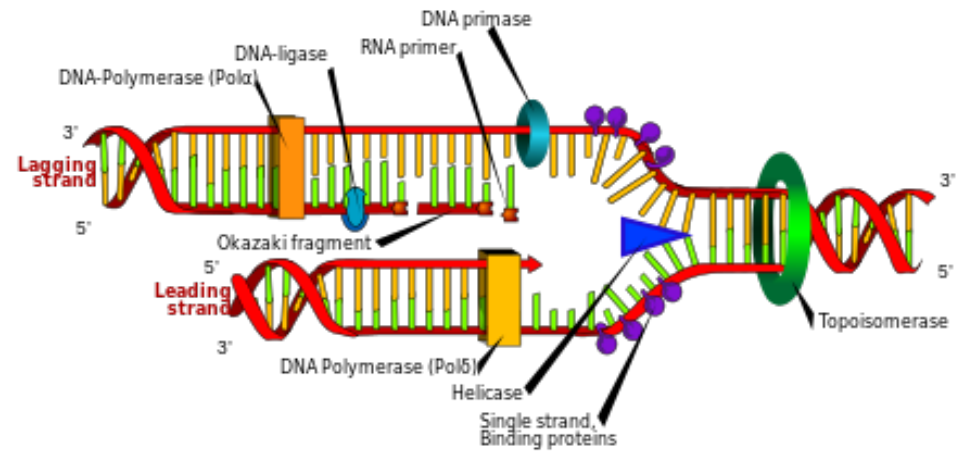


Double helix explains:

Replication and division of genetic information and heredity

Linear information for making proteins

Mutations by breaking the bases



1953 — Stanley Miller showed that amino acids can be formed when simulated lightning is passed through vessels containing water, methane, ammonia, and hydrogen

1954 — Dorothy Crowfoot Hodgkin discovered the three-dimensional structure of vitamin B12.

1955 — Alexander R. Todd – Adenine three phosphate - ATP, Flavin Adenine Dinucleotide-FAD

1955 — Marianne Grunberg-Manago and Severo Ochoa discovered the first nucleic-acid-synthesizing enzyme (polynucleotide phosphorylase), which links nucleotides together into polynucleotides.

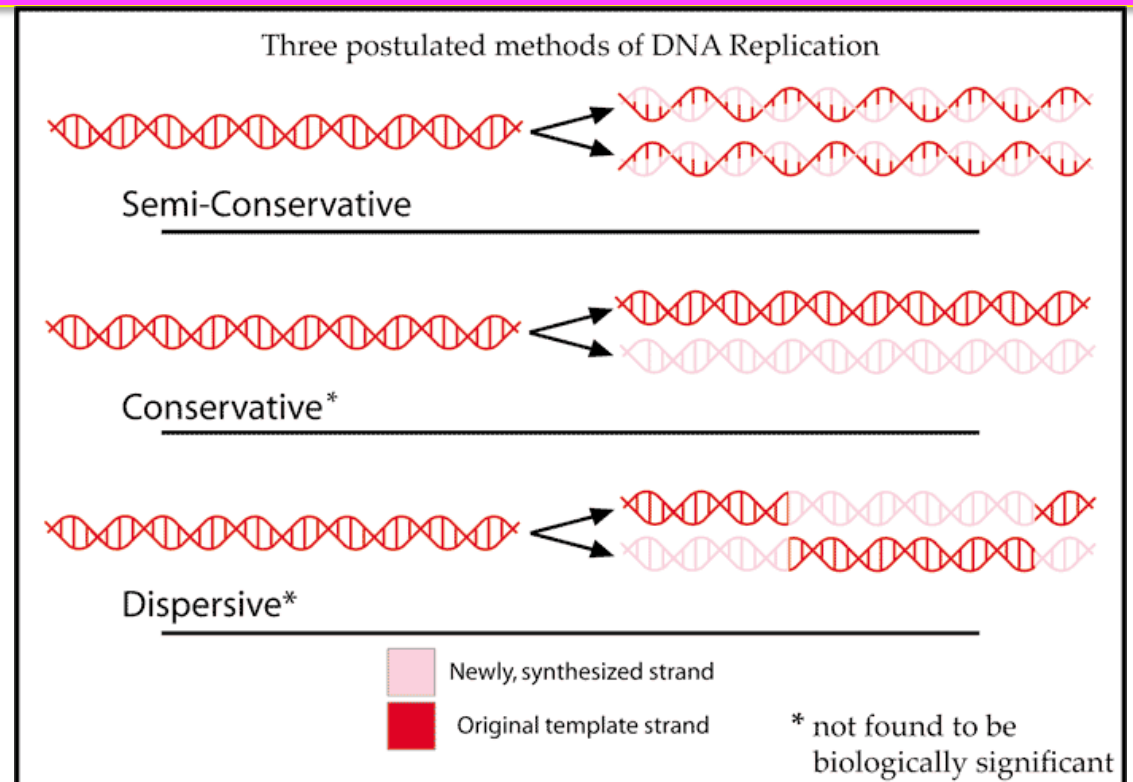
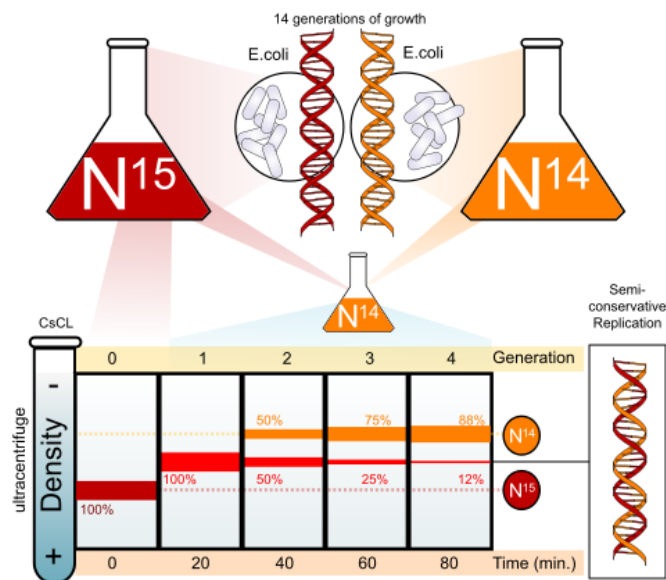
1955 — Arthur Kornberg & Severo Ochoa - DNA polymerase enzymes – test tube synthesis

1956 — Joe Hin Tjio, while working in Albert Levan's lab, established the correct chromosome number in humans to be 46

1958 — John Gurdon used nuclear transplantation to clone an African Clawed Frog; first cloning of a vertebrate using a nucleus from a fully differentiated adult cell.

1958 — Matthew Stanley Meselson and Franklin W. Stahl proved that DNA replication is semiconservative in the Meselson-Stahl experiment

Grew bacteria on ^{15}N isotope
Then turned to regular ^{14}N medium



1957-8 — R.W. Holley M. Nirenberg H.G. Khorana – tRNA sequence – RNA codon->amino acid
 1959 — Max Perutz comes up with a model for the structure of oxygenated hemoglobin.
 1959 — Severo Ochoa and Arthur Kornberg received the Nobel Prize for their work.
 1960 — John Kendrew described the structure of myoglobin, the oxygen-carrying protein in muscle.

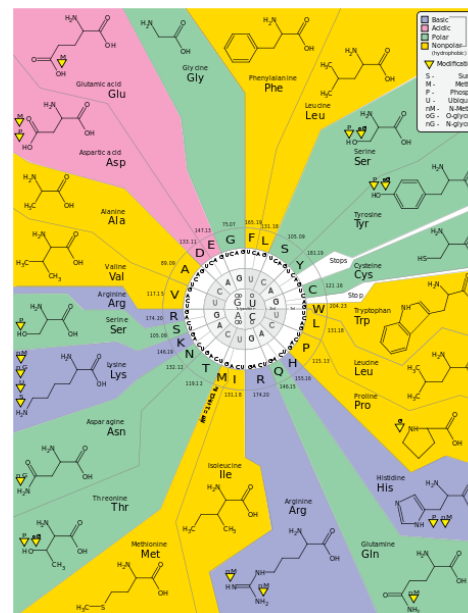
1960 — Four separate researchers (S. Weiss, J. Hurwitz, Audrey Stevens and J. Bonner) discovered bacterial RNA polymerase, which polymerizes nucleotides under the direction of DNA.

1960 — Robert Woodward synthesized chlorophyll.

1960 — Robert K. Crane revealed his discovery of the sodium-glucose cotransport as the mechanism for intestinal glucose absorption.

1961 — J. Heinrich Matthaei cracked the first codon of the genetic code (the codon for the amino acid phenylalanine) using Grunberg-Manago's 1955 enzyme system for making polynucleotides.

Degeneracy (but not ambiguity)
 Mutations (change, insert, delete)



		Second base				
		U	C	A	G	
First base	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp	U C A G
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G
	A	AUU Ile AUC AUA AUG Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GGA GGG	U C A G

1961 — Joan Oró found that concentrated solutions of ammonium cyanide in water can produce the nucleotide adenine, a discovery that opened the way for theories on the origin of life.

1961 . Crick & Sydney Brenner – Shift mutation. Brenner, Jacob & Meselson- mRNA

1961 – 1967 — Combined efforts of scientists "crack" the triplet genetic code, including Marshall Nirenberg, Philip Leder, Har Gobind Khorana, Sydney Brenner & Francis Crick: homo&hetero RNA

1962 — Max Perutz and John Kendrew shared the Nobel prize for their work on the structure of hemoglobin and myoglobin.

1964 — Howard Temin showed using RNA viruses that the direction of DNA to RNA transcription can be reversed

1965 — David Chilton Phillips solved the 3D structure of the enzyme lysozyme by crystallization and x-ray: beginning of the field of structural biology.

1966 — Kimishige Ishizaka discovered a new type of immunoglobulin, IgE, that develops allergy and explains the mechanisms of allergy at molecular and cellular levels.

1966 — Lynn Margulis proposed the endosymbiotic theory, that the eukaryotic cell is a symbiotic union of primitive prokaryotic cells. Richard Dawkins called the theory "one of the great achievements of twentieth-century evolutionary biology."

1968 — Fred Sanger used radioactive phosphorus as a tracer to chromatographically decipher a 120 base long RNA sequence.

1969 — Dorothy Crowfoot Hodgkin deciphered the three-dimensional structure of insulin.

1970 — Hamilton Smith and Daniel Nathans discovered DNA restriction enzymes.

1970 — Howard Temin and David Baltimore independently discovered reverse transcriptase enzymes.

1972 — Albert Eschenmoser and Robert Woodward synthesized vitamin B12.

1972 Stanley Norman Cohen & Herbert Boyer – restriction endonucleases + DNA ligase -> **recombinant DNA**. 1980-patent for gene cloning -> Genentech

1972 — Paul Berg – “cloned” phage lambda gene into circular DNA

1972 — Stephen Jay Gould and Niles Eldredge proposed an idea they call "punctuated equilibrium", which states that the fossil record is an accurate depiction of the pace of evolution, with long periods of "stasis" (little change) punctuated by brief periods of rapid change and species formation (within a lineage).

1972 — Jonathan Singer and Garth L. Nicholson developed the fluid mosaic model, which deals with the make-up of the membrane of all cells.

1972 — Walter Fiers and his team at the Laboratory of Molecular Biology of the University of Ghent (Ghent, Belgium) were the first to determine the **sequence of a gene**: the gene for bacteriophage MS2-RNA coat protein.[14]

1974 — Manfred Eigen and Manfred Sumper showed that mixtures of nucleotide monomers and RNA replicase will give rise to RNA molecules which replicate, mutate, and evolve.

1976 — Kevin Struhl : yeast genes expressed in bacteria

1974 — Leslie Orgel showed that RNA can replicate without RNA-replicase and that zinc aids this replication.

1977 — John Corliss and ten coauthors discovered chemosynthetically based animal communities located around submarine hydrothermal vents on the Galapagos Rift.

1977 — Walter Gilbert and Allan Maxam present a rapid DNA sequencing technique which uses cloning, base destroying chemicals, and gel electrophoresis.

1977 — Frederick Sanger and Alan Coulson presented a rapid gene sequencing technique - which uses dideoxynucleotides and gel electrophoresis [PAGE]. DNA is sequenced for the first time by Fred Sanger, Walter Gilbert, and Allan Maxam working independently. Sanger's lab sequence the entire genome of bacteriophage Φ -X174.

1978 — Frederick Sanger presented the 5,386 base sequence for the virus PhiX174; first sequencing of an entire genome.

1982 — Stanley B. Prusiner proposed the existence of infectious proteins, or **prions**. His idea is widely derided in the scientific community, but he wins a Nobel Prize in 1997, following the burst of the mad cow disease.

1982 — FDA approves Genentech's recombinant insulin.

1983 — Kary Mullis invented "**PCR**" (**polymerase chain reaction**), an automated method for rapidly copying sequences of DNA.

1984 — Alec Jeffreys devised a genetic fingerprinting method of digested DNA

1985 — Harry Kroto, J.R. Heath, S.C. O'Brien, R.F. Curl, and Richard Smalley discovered the unusual stability of the buckminsterfullerene molecule C_{60} and deduce its structure (Fuller's geodesic dome)



1986 — Alexander Klivanov demonstrated that enzymes can function in non-aqueous environments.

1986 — Rita Levi-Montalcini and Stanley Cohen received the Nobel Prize in Physiology or Medicine for their discovery of **Nerve growth factor (NGF)**.

1986 — Jeremy Nathans -**color blindness sex-linked genes**.

1989 — The human gene that encodes the CFTR protein was sequenced by Francis Collins and Lap-Chee Tsui. Defects in this gene cause cystic fibrosis.

1989 — Thomas Cech – RNA can catalyze chemical reactions

1990 — French Anderson et al. performed the first approved **gene therapy** on a human patient

1990 — Napoli, Lemieux and Jorgensen discovered **RNA interference** (1990) during experiments aimed at the color of petunias.

1990 — Wolfgang Krätschmer, Lowell Lamb, Konstantinos Fostiropoulos, and Donald Huffman discovered that **Buckminsterfullerene** can be separated from soot because it is soluble in benzene.

1992 — techniques for testing embryos genetic abnormalities – **amniocentesis** **מי שפיר**

1993 — Phillip Sharp & Richard Roberts: introns and exons, **RNA splicing** - nobel

1994 — Michael Stratton & Richard Wooster – **BRCA I & II genes** in breast cancer

1996 Alex Rich Z-DNA

1995 — Publication of the first complete genome of a free-living organism: bacterium Haemophilus influenzae.

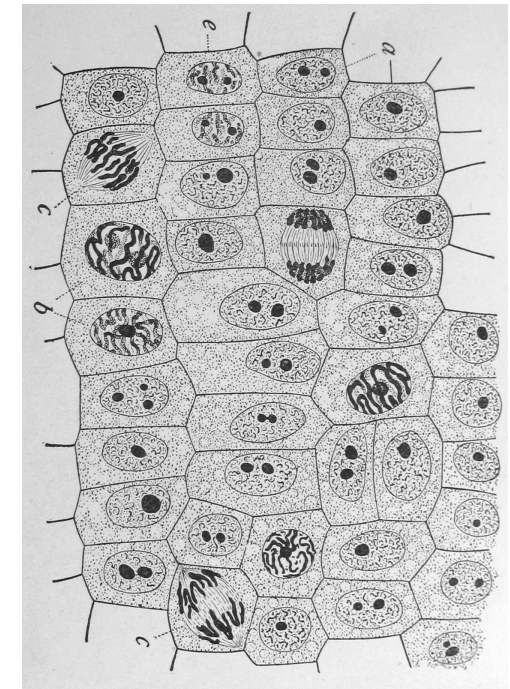
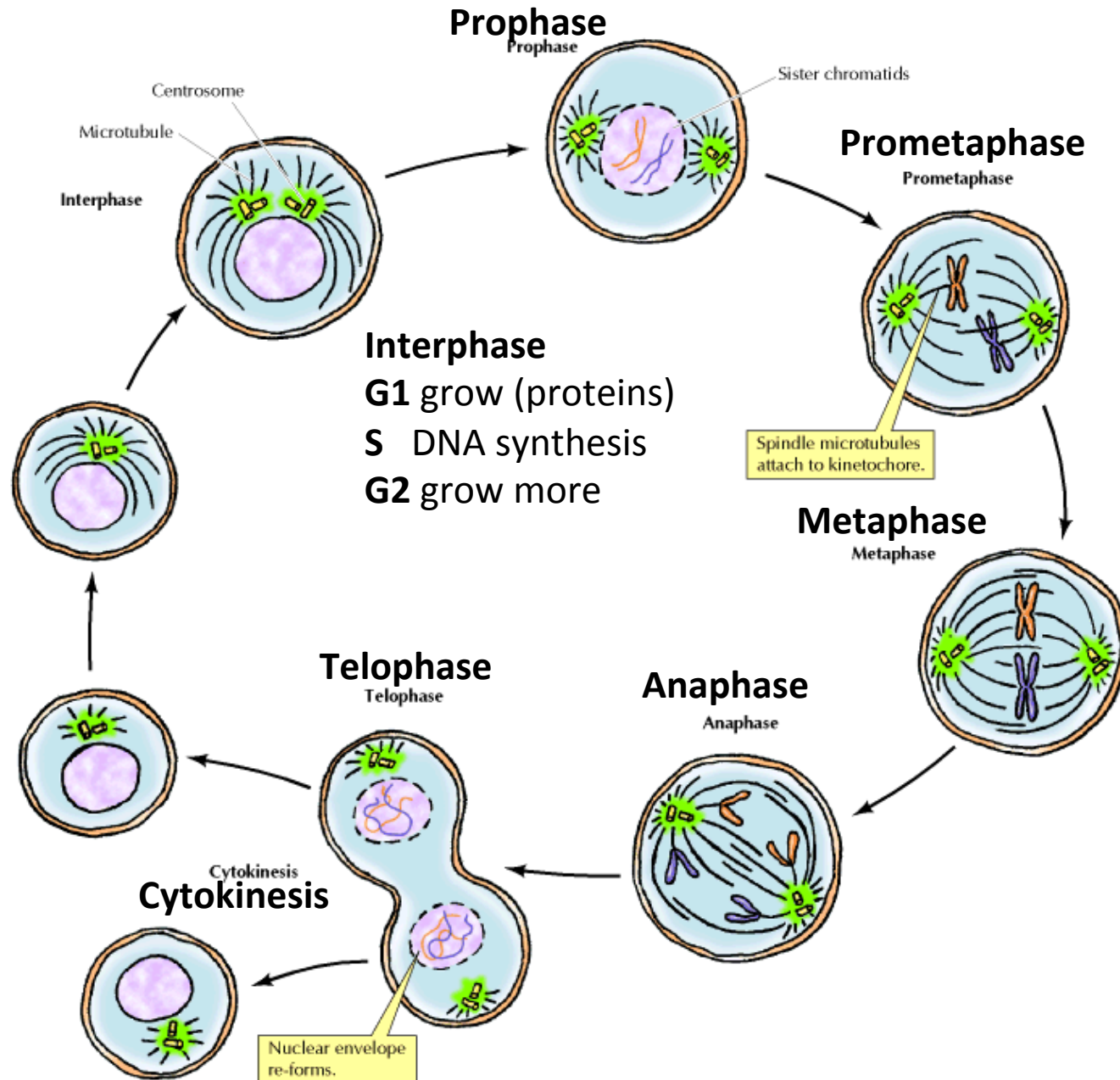
1996 — Saccharomyces cerevisiae , a yeast species, is the first eukaryote genome sequence to be released

1996 — **Dolly the sheep** was first clone of an adult mammal.

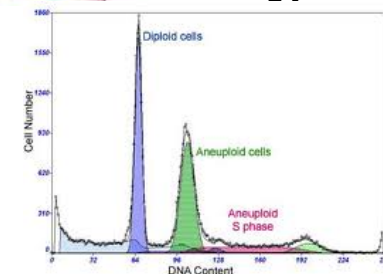
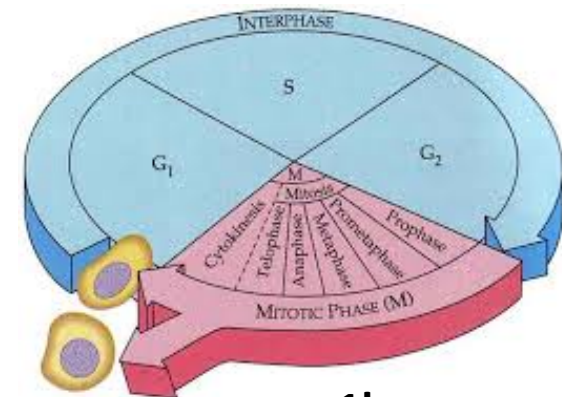
1998 — The first genome sequence for a multicellular eukaryote, Caenorhabditis elegans, is released

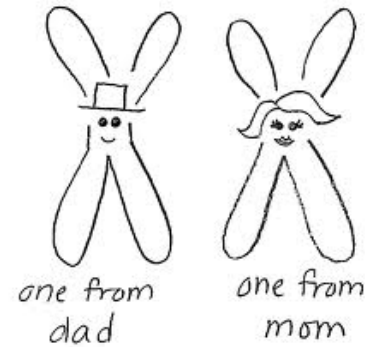
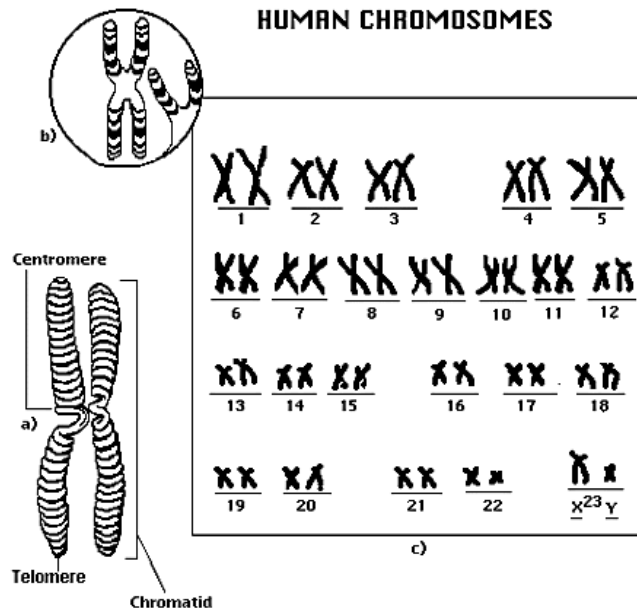
- 1999 — Researchers at the Institute for Human Gene Therapy at the University of Pennsylvania accidentally kill Jesse Gelsinger during a clinical trial of a gene therapy technique, leading the FDA to halt further gene therapy trials at the Institute.
- 2000 — full genome sequence of *Drosophila melanogaster*
- 2001 — Publication of the first drafts of the **complete human genome**.
- 2002 — First virus produced 'from scratch', an artificial polio virus that paralyzes and kills mice.
- 2003 (14 April) — Successful completion of Human Genome Project with 99% of the genome sequenced to a 99.99% accuracy
- 2004 — Merck **vaccine for Human papillomavirus** causing cervical cancer
- 2007 — Michael Worobey – evolution of AIDS
- 2008 — Introgen develops first **gene therapy replacement for P53**

Cell cycle



23h

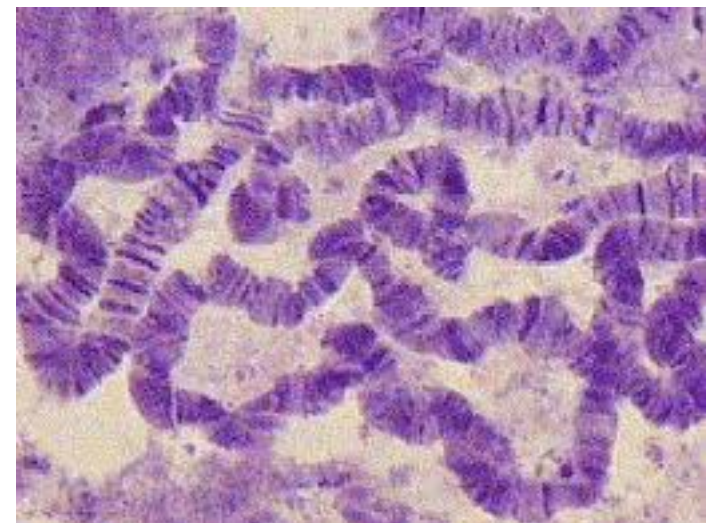
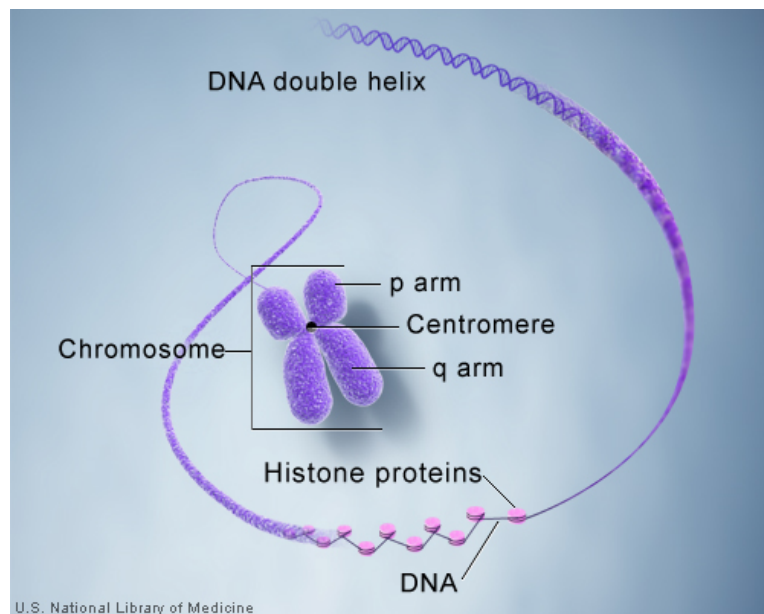
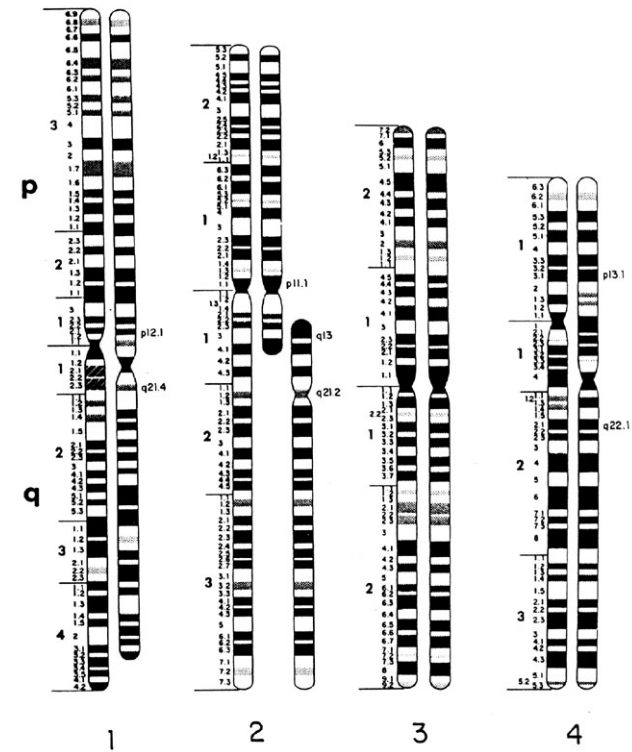
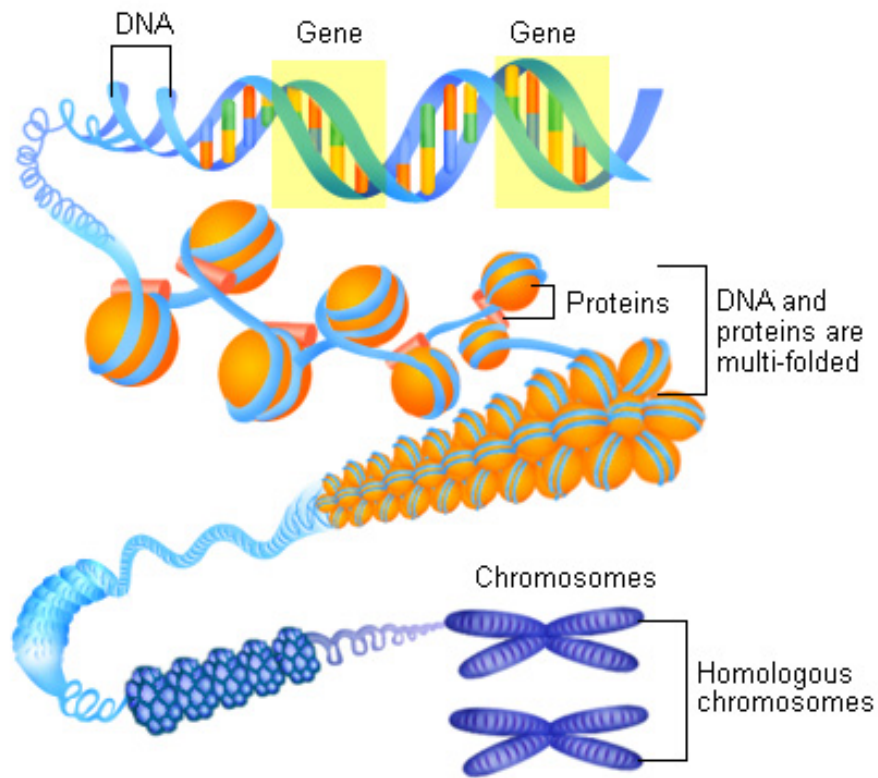




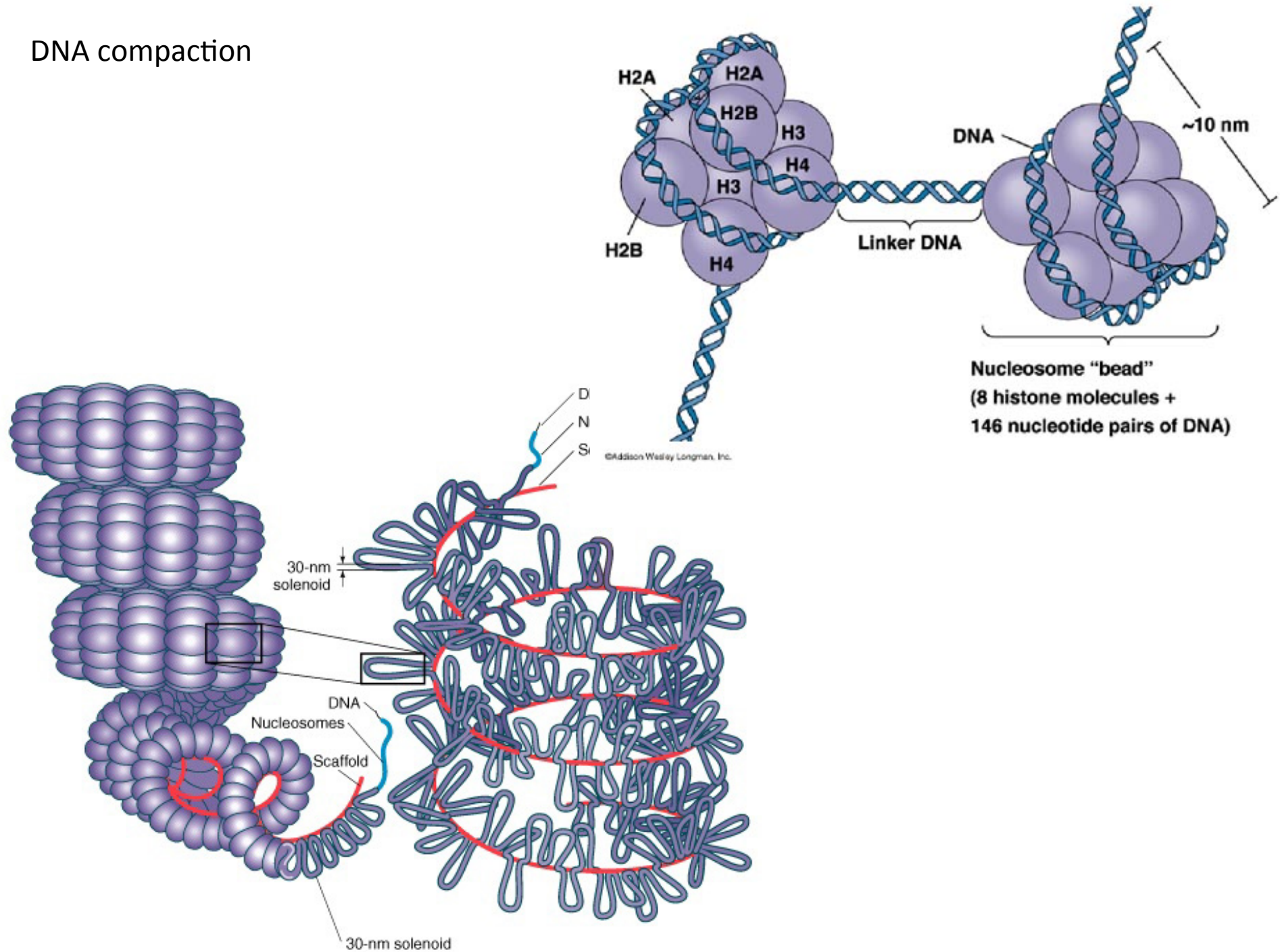
Heterochromatin
Euchromatin – dark

Interphase nucleus –
chromatin open for
gene expression
Metaphase chromatin –
condensation for
segregation into two
daughter cells

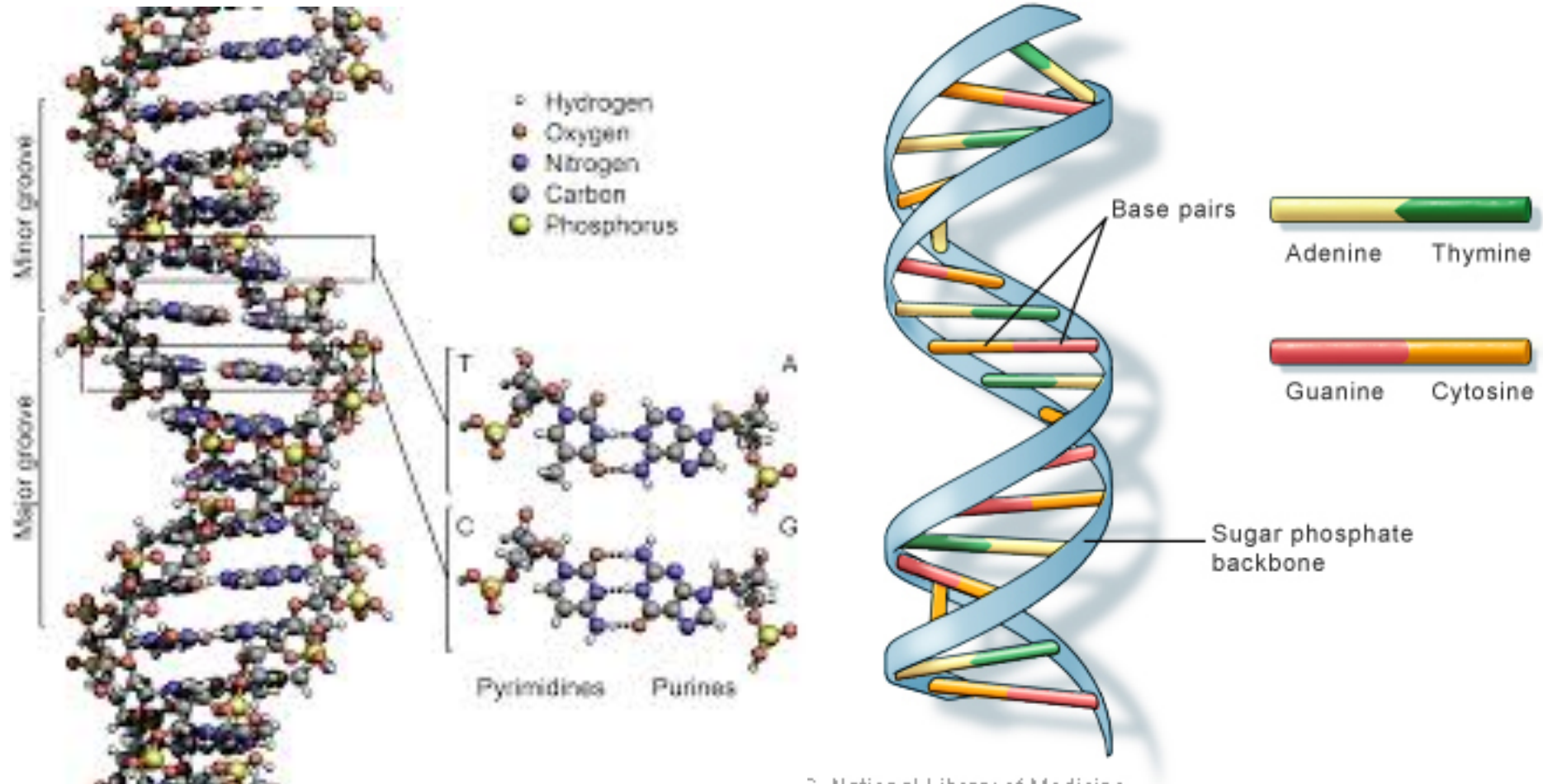




DNA compaction



2 meters long chain, 3 billion base pairs, 46 molecules -> chromosomes 23x2
20-25,000 genes that code for proteins



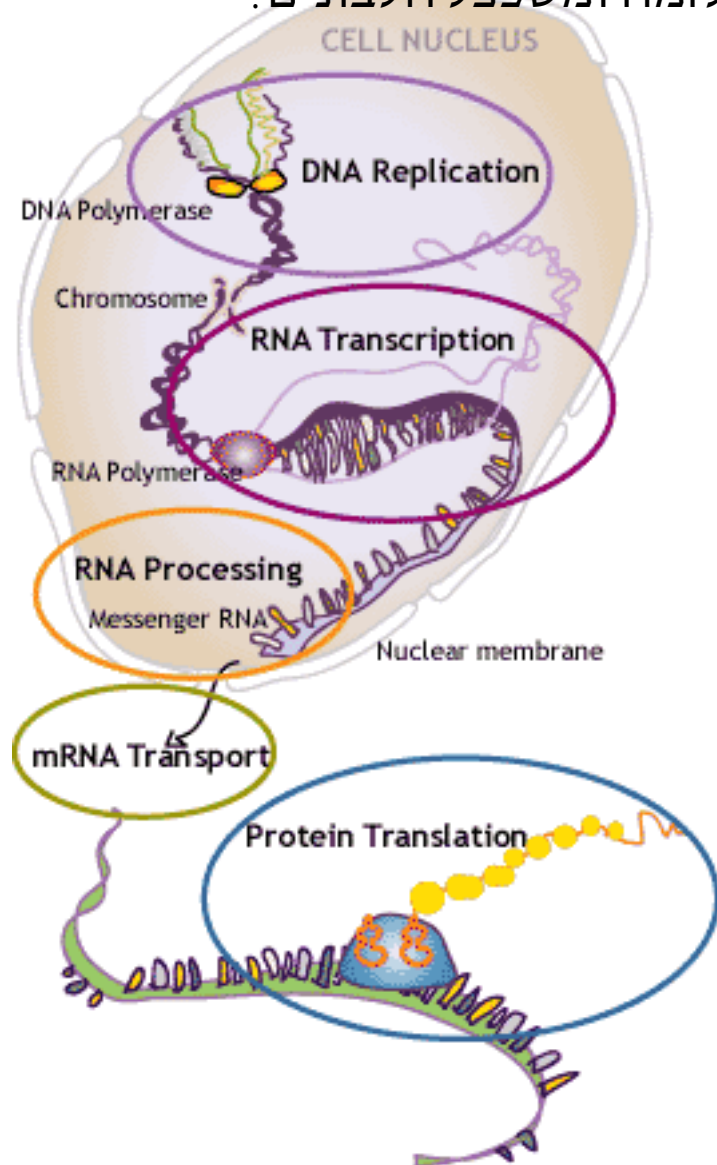
U.S. National Library of Medicine

שנות ה-50 – ביולוגיה מולקולארית – פיענוח מבנה ה-DNA ומבנה כמה חלבונים
 הבנת זרימת האינפורמציה מ-DNA ל-mRNA לחלבונים.

בתאים איוקריוטיים – גרעין וציטופלזמה:

שעתוק ושחבור DNA → mRNA בגרעין, יוצא מהגרעין לציטופלזמה ומשכפל חלבונים.

חשיבות הקשר בין רצף חומצות בסיס, חומצות אמינו,
 מבנה הסליל הכפול, (חלוקת החמר הגנטי),
 ומבנה תלת ממדי ופונקציה לחלבונים (מפתח ומנעול)



באינטרפאזה DNA פתוח לשעתוק
 Transcription by **RNA-Polymerase**

pre-mRNA

שחבור

m-RNA



ציטופלזמה

ריבוזום+mRNA+tRNA

Translation



שרשרת פפטידים
לחלבון מתקפלת

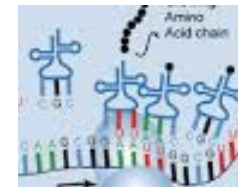
לפני חלוקה

שיכפול DNA

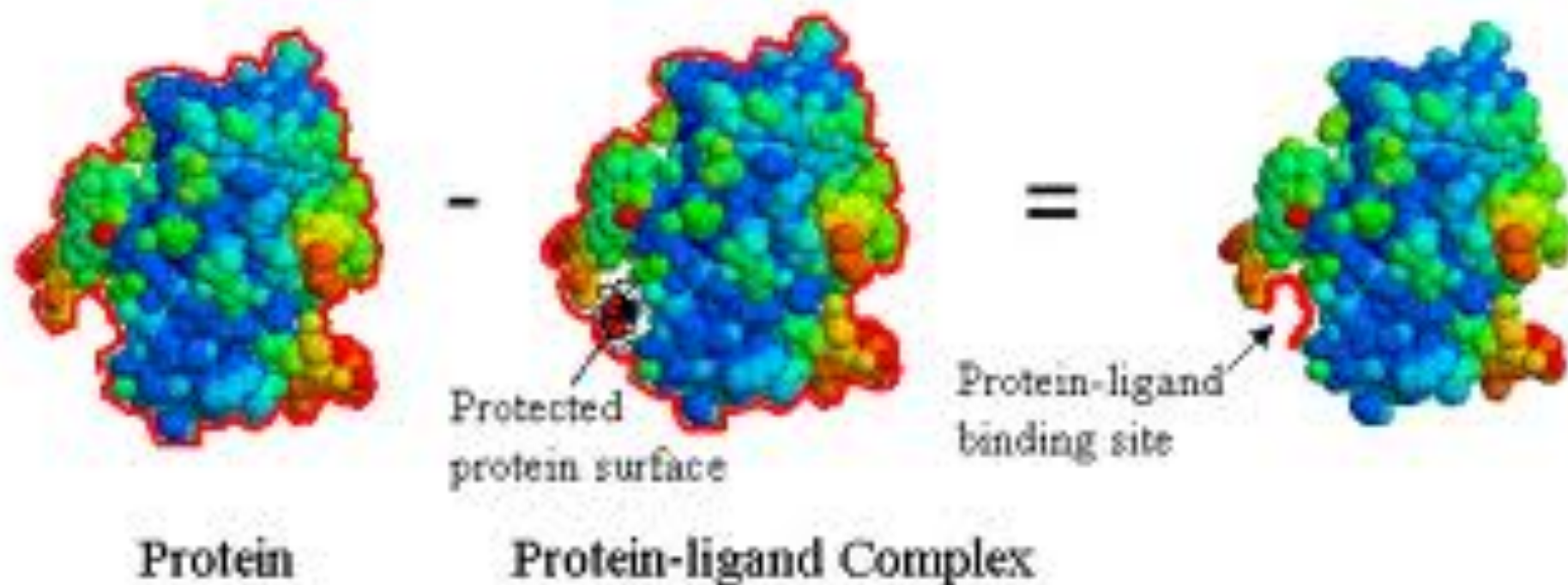
Replication

By **DNA-Polymerase**

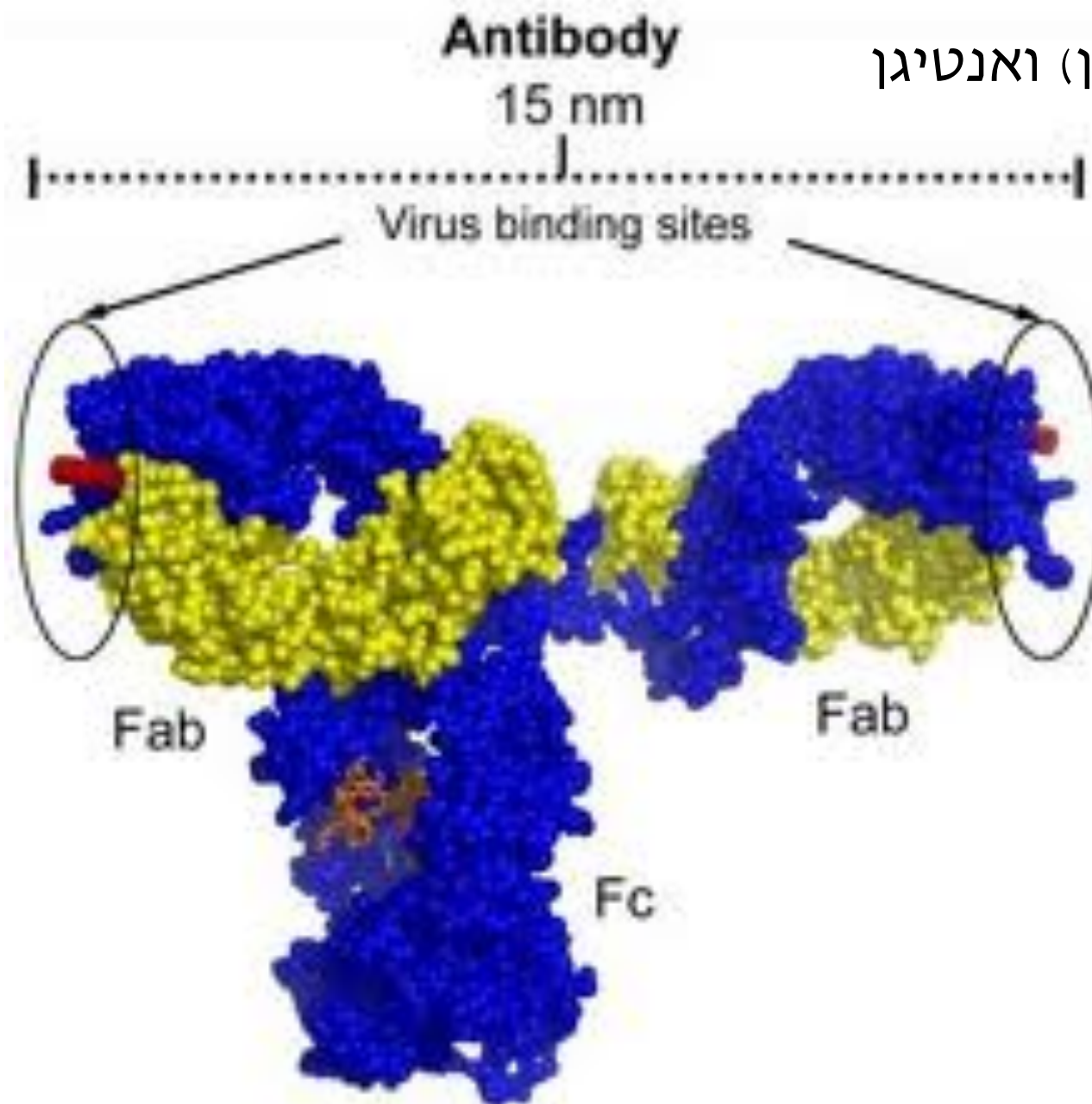
אריזה בכרומוזומים
 בחלוקה



אנזים וסובסטרט (מצע?) - דוגמא: תגובה אנזימטית ליזוזים
ופוליסוכר



אנטיבודי (נוגדן) ואנטיגן



DNA repair
DNA unwinding
DNA
DNA unpairing in replication fork
DNA transcription fidelity – proof reading
DNA mutations on one chain – mostly corrected
Mutation and evolution.

Promoter regions on DNA bind to several specific transcription factor proteins (with activator and suppressor regions) and initiate transcription of mRNA

Termination codon – ends mRNA translation to amino-acid chain

mRNA is spliced, intron regions extruded.

Protein folding is carried during translation, aided by chaperons.

Differentiation:

HOW ALL CELLS THAT HAVE SAME DNA ARE DIFFERENT ?

Stem cells – pluripotent.

חשיבות ה-RNA מעבר להיותו שליח מהגרעין לציטופלזמה

דרך כמותית לבקרה על רמת ביטוי החלבונים (הרבה שרשרות מגן אחד)
דרך מהירה להפסקת ביטוי ע"י דגדגה ולקבלת ביטוי זמני ע"י זמן חיים קצר או ארוך ל-RNA
דרך לייצר כמה חלבונים מאותו המסר ע"י חיתוכי אקסונים שונים Alternative Splicing

תפקידי 98% של ה-DNA שאינם מקודדים גנים שחלק משועתק ל-lincRNA ארוכים לא ידוע
מלבד השתקת אחד מגני X של נונקים (הגורם למוזאיקה של כתמי צבעים בחתול)
וגם התפקידים של האינטרונים (בין האקסונים-הרצפים המקודדים חלבונים) לא ידוע
הקושי - אי שימור אבולוציוני נגד מוטציות בדומה לגנים, בהם מוטציות גורמות למות או מחלות.

חשיבות שרשרות RNA קצרות (~20 בסיסים)

התחברות ספציפית ל m-RNA היוצרת גדילי RNA כפולים שהתא יודע לקצוץ
(שאריות מנגנון לחימה בוירוסים)

יורגנסון - נסיון לפתח פרחי פטוניה סגולים ע"י ביטוי יתר של הגן הסגול, אך מצא שדווקא
ביטוי יתר גרם לפרחים לבנים "הפרעת RNA interference"
1995 נמטודות מראות תופעה דומה, וגדיל משלים גורם להשתקת הגן.
1998 קרג מללו ואנדרו פייל - ה-RNA הכיל מקטעים קצרים של גדיל משלים שגורם
להשתקה: RNA דו גדילי מושמד כמנגנון הגנה נגד וירוסים. ביונקים פותח מנגנון הגנה אחרים
נגד וירוסים, אבל מקטעים קצרים מוכרים ע"י מנגנון תאי המחפש RNA משלים ומשמיד אותו.
שיטה לרפוי ממוקד להשמדת חלבונים שמעורבים במחלות (הפתוח הראשון לאבולה, ומחקר
במחלות כבד שקל "להטעין" אותו בתרופות, כגון צהבת C, ולצמחים עמידים)

ההיסטוריה של החיים על פני כדור הארץ

כדור הארץ בן 4.5 מליארד שנים
מאובנים דומים לחיידקים 3.5–3 מליארד שנים
הצטברות חמצן באטמוספירה 2.5 מליארד שנים
פרוקריוטים: ארכיבקטריות לפני 3.5 מליארד שנים
ובקטריות
איוקריוטים: לפני 1.7 מליון שנים – צמחים,

Alexandr Oparin 1938

Urey & Miller 1953

ניצוצות (ברקים) באטמוספירת מיתאן, מים, מימן ואמוניה – יוצרת חומצות אמינו
היום חושבים שקדמו לחלבונים מולקולות כגון RNA מאחר ויש להם אפשרות שיכפול ויכולת
אנזימטית. גם הריבוזום כנראה התפתח מריבוזיים – שהכיל רק RNA בלי חלבונים.

1982 טום ז"ף מחקר בטטרהיימנה – טפיל של דגי גופי – קטליזה של RNA נקי
סידני אלטמן ביצע זאת בחיידקים (RNA שחותך RNA אחר)
פרס נובל על רייבוזיים ~1996

"אבוליציה" של בחירת רצפי RNA המשכפלים עצמם

תא"קדמון" Bartel & Unrau 1999

אך מאחר וחלבונים הם אנזימים הרבה יותר אפקטיבים – החיים התפתחו להתבסס על
חלבונים לאנזימים ושמר DNA ו-RNA להעברת האינפורמציה התורשתית