مقدمة فى

علم الوراثة والهندسة الوراثية

لطلاب كلية الزراعة والطب البيطرى

(الجزء النظرى)

مدونة الزراعة

إعداد

قسم الوراثة

كلية الزراعة - جامعة القاهرة

zera3h

www.zera3h.com

مقدمة

نبذة عن علم الوراثة وتطوره

يعتبر علم الوراثة العصب الرئيسى لعلوم الحياة حيث أن اتجاهات علوم الحياة المختلفة تشتمل على دراسة الخصائص الفيزيائية والسلوك وكفاءة أو قدرة الكائنات الحية وكل هذه الخصائص تورث (أى تنتقل عبر الأجيال) ومن ثم فلكى نتفهم أى كائن حى باستفاضة فلابد أن نتفهم كيفية توارثه فلا عجب إذن أن يصبح علم الوراثة بحق هو علم دراسة أسرار الحياة.

وكلمة وراثة Genetics جاءت من الكلمة اللاتينية Genesis والتى تعنى الميلاد وعلى ذلك فإن الوراثة بمفهوم أشمل تعنى دراسة التوارث Heredity.

ولقد بدأت الدراسات الوراثية بما يمكن أن نسميه بالوراثة الانتقالية Transmission Genetics (أو الكلاسيكية أو الوصفية أو المندلية) بواسطة Gregor Mendel عام ١٨٦٥ والتى بنيت على متابعة نقل العوامل التى تتحكم فى الصفات المختلفة فى نبات البسلة عبر الأجيال وتوصل إلى قانونية الأساسيين (الإنعزال والتوزيع الحر لهذه العوامل) الذى أعيد اكتشافهما عام ١٩٠٠ بواسطة ثلاثة من علماء النبات Hugs de Vries, Carl Correns, Erickvon Tsschermark الذين توصلوا كل بمفرده إلى ما استنتجه مندل من قوانين، ثم بدأ مجال الوراثة فى الإزدهار وخاصة بعد التفهم المتزايد لطبيعة الكروموسومات – والتى بدأت فى النصف الثانى من القرن العشرين – وقد توقع مندل أن الجاميطات تحمل أليل واحد من كل عامل وعليه فلو أن الكروموسومات تحمل العوامل الوراثية فإن عددها لابد وأن يختزل إلى النصف فى الجاميطات وقد كانت كذلك

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

ومن ثم بدت الكروموسومات أنها هى الوحدات المحددة التى تحمل العوامل الوراثية.

وفى عام ١٩١٠ قدم Thomas Morgan "نظرية الكروموسومات للوراثة" بأكتشافه للصفات المرتبطة – بالجنس أى التى توجد عواملها الوراثية والتى (سماها بالجينات) – على كرموسوم الجنس (مثل صفات لون العين، لون الجسم، فى حشرة الدروسوفيلا ميلانوجاستر) وقد تبع ذلك عام ١٩٣١ أكتشاف الاتحادات الجديدة بواسطة Harriet Creighton & BarbaaMC Clintock على كروموسومات الذرة ميكروسكوبيا ووراثياً وبعدها بقليل لاحظ Stern هذه الظاهرة فى الدروسوفيلا، وقد قام A. H. Sturvant عام ١٩١٣ بعمل الخريطة الجينية.

وقد بدأت الوراثة الحديثة بالبحث عن ما هية الجين كيميائياً وفيزيائياً باكتشاف الأحماض النووية كمادة وراثية (DNA, RNA) وعلى الرغم من أن Fridrich Meischer قد أكتشف فى نواة الخلية عام ١٨٦٩ خليط من المركبات أسماه النيوكليين وأن المكون الأعظم من النيوكليين عبارة عن د ن أ إلا أنه فى نهاية القرن التاسع عشر بدأ التفكير فى أن الكروموسوم لابد وأن يحتوى على أحد الجزيئات الكبيرة حتى تمكن Oswald Avery, Colin Mcleod and Maclyn MCCarly عام ١٩٤٤ عند استكمالهم ما بدأه Fridrick Grffith عام ١٩٢٨ من أكتشاف أن المادة الوراثية (الجين) عبارة عن DNA وتجدر الإشارة إلى أنه فى عام ١٩٠٢ أوضح Archibold Garrod أن مرض "الكابتون يوريا" (أسوداد البول) صفة متنحية يحكمها جين ناقص أو طافر، وأعتقد جارود أن تكون الصبغة السوداء فى البول تنتج من تكون غير طبيعى لمركب وسطى فى الممر التصنيعى الحيوى نتيجة لأن الأنزيم الذى يحول هذه المادة الوسيطة إلى الخطوة التالية فى الممر ناقصا ومنها يمكن استنتاج أن الجين مسئول عن انتاج الإنزيم، ومن دراسات George Beadle and E. Tatum عام ١٩٤٠ على فطر النيروسبورا

ودراسة العلاقة بين الجين والإنزيم وضعا النظرية الفرضية "جين لكل إنزيم" والتى عدلت فيما بعد إلى جين لكل سلسلة ببتيدية والتى كانت أول مؤشر لعملية كيفية عمل الجين. ثم قدم James Watson & Francis Crick عام ١٩٥٣ نموذجاً لتركيب الـ DNA وهو الحلزون المزدوج الذى يسمح بتناسخه بالطريقة شبه المحافظة كما يسمح بظهور الطفرات وكان ذلك بداية بارزة لتطور المرحلة الحديثة إلى المرحلة الجزيئية وأثبت Marshall Nirenberg & Har Gobinok Khorana فى أوائل الستينات أن الشفرة الوراثية ثلاثية أى أن كل ثلاثة قواعد نيتروجينية تصنع حمضاً أمينياً معيناً وتمت معرفة كيفية تصنيع الشفرة الوراثية للأنزيمات (البروتينات) على الريبوسومات) (مصانع تصنيع البروتين) والتى تقود العمليات الحيوية فى كافة الكائنات الحية.

وفى أوائل السبعينات أتخذت الدراسات الوراثية مساراً جديداً لكلونة الجين وتداوله بين الكائنات الحية المختلفة بما عرف بأسم الهندسة الوراثية أستفادة مما تقدم ومما قدمته وراثة الكائنات الدقيقة التى ظهرت فى الأربعينات ووصلت إلى عصرها الذهبى فى الخمسينات وتطورت تطوراً مذهلاً منذ أكتشاف المادة الوراثية وتناسخها وقيامها بوظائفها وطريقة تغييرها إلى دراسة محتوى الجين من القواعد النيتروجينية وكيفية عمله وتنظيم أدائه ومن ثم فإن الإنسان قد تمكن من تغيير طبيعة الأشياء فبدلاً من أن يقوم بدور المشاهد لعملية التطور تمكن من إحداثه عن طريق الهندسة الوراثية والتى سبق وذكرنا بداية ظهورها فى أوائل السبعينيات من القرن العشرين كتطبيق لعلم الوراثة الجزيئية، باستخدام تقنية تداول وكلونة الجينات Gene Manipulation and Cloning ويعزى الفضل الأول فى أمكان كلونة الجينات ما قدمته الكائنات الدقيقة من إنزيمات معينة "إنزيمات محددة Restriction enzymes والتى تتخصص فى قطع الـ د ن أ عند مقاطع محددة بحيث يمكن الحصول على الجينات المرغوبة فى عملية معينة، كما قدمت أيضا

www.zera3h.com
zera3h

الكائنات الدقيقة البلازميدات Plasmids التى تحمل المقاطع الجينية من كائن لنقلها إلى كائن آخر "Gene Vectors".

وقد فتحت هذه التقنية آمالاً واسعة للتغلب على مشاكل رئيسية مثل النقص العالمى فى الغذاء والطاقة وتوفير قدرات أعظم لعلاج الأمراض والمحافظة على صحة الإنسان والقضاء على تلوث البيئة مما يترتب عليه زيادة حتمية فى رفاهية الجنس البشرى. ولكنه قد أرتبطت بها من الوهلة الأولى مخاوف من الكوارث والنكبات التى قد تنجم عن هذه التقنية نتيجة لأنها تجعل المحتوى الوراثى لكافة كائنات كوكب الأرض فى متناول البشر، ويعاد ترتيبها وتركيبها وتجميعها بالكيفية التى تتراءى للباحثين فى هذا المجال مما سوف ينجم عنه، بالضرورة، تغيرات إجتماعية فى حياة الجيل الحالى والأجيال القادمة من الصعب توقع مداها. ومن ذلك نرى أن البعض قد صوروا الهندسة الوراثية، منذ مهدها، على أنها نعمة للجنس البشرى ولكنها، فى ذات الوقت نعمة مشوبة بالنقمة، لأنها قد تجرنا إلى فجر المتاعب مثلما جرنا العصر النووى ونظراً لأن المجتمع هو الذى سيجنى ثمار هذه التقنية وهو أيضاً الذى سوف يدفع ثمن مخاطرها، كان لابد أن ترتدى التقنية ثوب المشكلة الاخلاقية الاجتماعية المطرز بمدى مشروعيتها ومن ثم فإنها تشكل حدثاً فريداً يمكن اعتباره نقطة تحول فى تاريخ العلم فلأول مرة فى التاريخ الحديث تدور مناقشات عامة، على مستوى الهيئات والمنظمات والحكومات تتركز فى كيف وإلى أى مدى يمكن الإستمرار فى بحوث مبنية على أفكار مجدية ورائعة لها تطبيقات مفيدة رغم المخاطر المتوقعة فى بعض مجالاتها. وهذا ما سوف نوضحه لاحقاً.

الباب الأول

المادة الوراثية

The Genetic Material

أن الوحدة الأساسية فى تكوين الكائن الحى هى الخلية وقد تكون هى كائناً بذاته، وتتميز الخلية بقدرتها على الأنقسام لإنتاج خلايا مطابقة لها مما يعنى بالضرورة أن تحتوى بداخلها على نوع من المعلومات المسجلة ذات القدرة على التناسخ الذاتى والانتقال بصدق خلال الإنقسام الخلوى إلى خلايا النسل الناتجة منها عبر الأجيال.

وأوضحت دراسة الانقسام الميتوزى للخلايا، أن الخلية الأمية تعطى خليتين كل منها بها مجموعة كروموسومية كاملة مشابهة لها تماماً، ومن ناحية أخرى فإن الإنقسام الميوزى – الذى يكون الجاميطات التناسلية– يعطى أربعة خلايا كل منها بها نصف عدد الكروموسومات الموجود فى الخلية الأمية الذى يصبح ثنائياً بعد عملية التلقيح والإخصاب، وهذا ينطبق مع ما توقعه مندل من أن اليلى كل عامل وراثى تنعزل عن بعضها عند تكوين الجاميطات ومن ثم تحتوى الجاميطة العدد الأحادى للعوامل الوراثية والذى يعود ثنائياً عند التزاوج بين الجاميطة المؤنثة والجاميطة المذكرة لإنتاج النسل مرة أخرى ومن هنا ومع تطابق سلوك الكروموسومات مع سلوك العوامل المندلية بدت الكروموسومات أنها هى الوحدات المحددة التى تحمل هذه العوامل. هذا إلى جانب أن العبور الوراثى أثناء الإنقسام الميوزى يتكون عنه تبادل بين قطع كروموسومية تعطى تباينات على صفات الأفراد الناتجة كما وأن أى شذوذ فى سلوك الكروموسوم يؤدى إلى ظهور صفات تعكس هذا الشذوذ ومن ثم فإن فصل وتمييز المادة الوراثية لابد وأن يرتبط

zera3h
www.zera3h.com

بالكروموسومات وهويتها الكيماوية والبحث عن المركب الذى يحقق المتطلبات التى يجب توافرها فيه ليمكن القول أنه هو المادة الوراثية ثم نبحث بعد ذلك عن الأدلة التجريبية التى تثبته فعلاً وهذه المتطلبات هى:

١- قدرة هذه المادة على التناسخ (التكرر) بصدق خلال الأجيال المتتالية.

٢- يمكنها قبول التغيرات الطارئة أو الطفرات فى حدود نادرة.

٣- أن يكون مستودعاً لكافة أنواع المعلومات البيولوجية الضرورية للكائن الحى أثناء حياته.

٤- أن تستطيع نقل هذه المعلومات لترجمتها حتى يمكن تصنيع المادة البيولوجية التى تؤدى وظيفة مطلوبة للكائن الحى وقت ما يريدها.

الهوية الكيميائية للمادة الوراثية

يعتبر فردريك ميتشر Friedrick Miescher عام ١٨٦٩ أول من فكر فى البحث عن البناء الكيميائى للمادة الوراثية فى نواة الخلية التى فصلها عن السيتوبلازم واستطاع أن يستخلص منها خليط من المركبات أسماه النيوكليين Nuclein وأن المكون الأعظم من النيوكليين يحتوى على كمية كبيرة من الفسفور ولهذا أطلق عليه فيما بعد الحامض النووى Nucleic acid ووجد أنه يرتبط بالعديد من البروتينات سميت البروتينات النووية Nucleo-proteins ومن الشق البروتينى ووجد أن هناك نوعان من البروتين يظهران بكميات عالية هما البروتامين Protamine الذى يتكون من مجموعات من الأرجنين Arginine كما فى نواة اسبرم السمكة، والهيستون Histone المعقد التركيب الذى يوجد فى أنوية خلايا الكثير من الكائنات الحية. وتساءل البعض عن إمكانية أن يكون أحد هذين

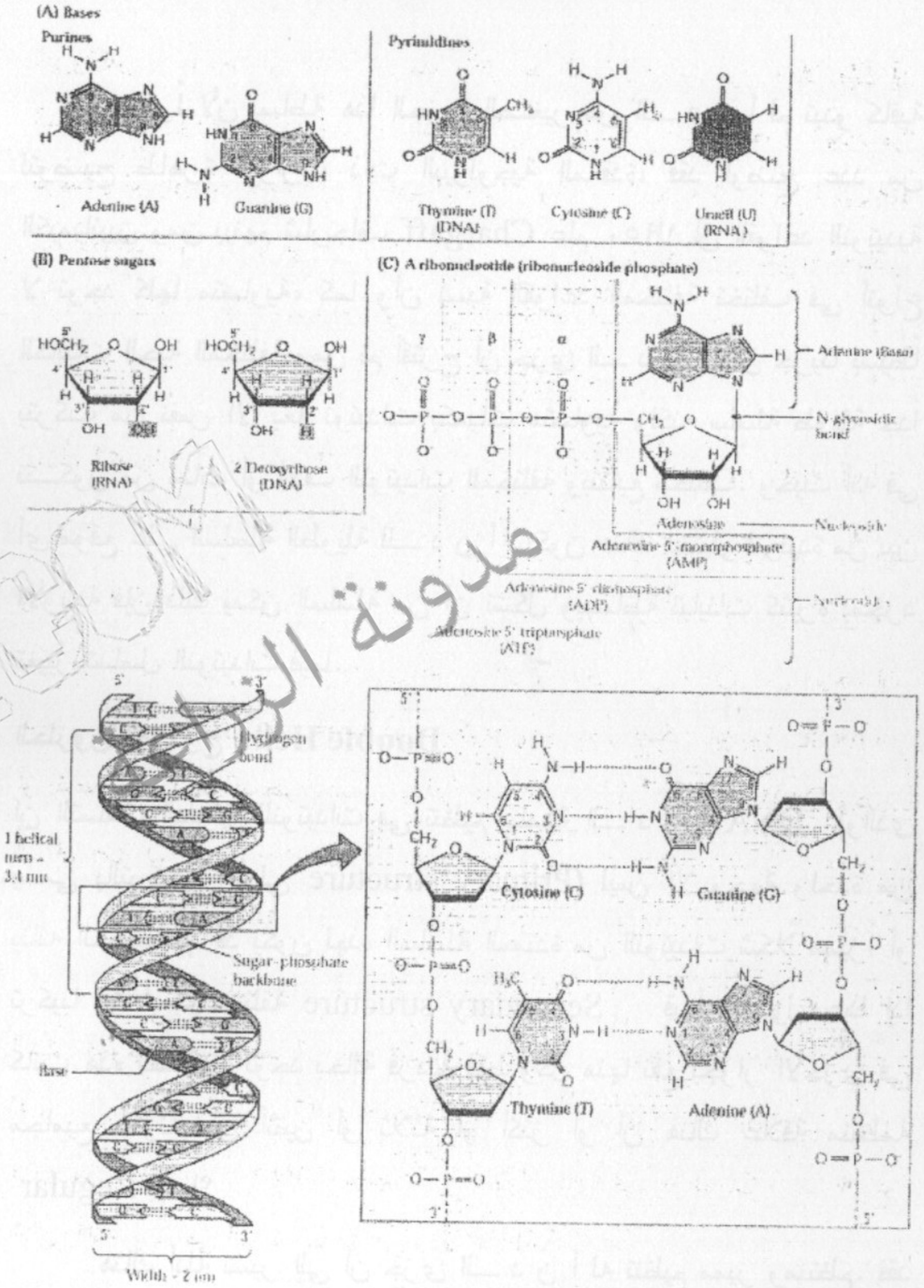
البروتينين أو كليهما هو المادة الوراثية ولكن هذا التساؤل لم يستمر طويلاً حيث أن السلسلة الببتيدية للبروتين غير ملائمة لتعطى التباينات المطلوبة لحمل العديد من الرسائل البيولوجية المعقدة إلى جانب عدم ثباته واختلاف كميته فى الخلايا المختلفة مما لايؤهله لأن يكون هو المادة الوراثية ومن ثم تكثفت الدراسات على الأحماض النووية بإعتبارها أكثر ملاءمة لتكون هى المادة الوراثية.

البناء الكيميائى للأحماض النووية Chemical structure of nucleic acids

أوضحت الدراسات الأولية على الأحماض النووية أنه يمكن تجزئتها إلى وحدات أساسية بالنوتيدات Nucleotides، وقد وجد أن النوتيدة الواحدة تتكون من سكر ومجموعة فوسفات إضافة إلى جزء آخر يحتوى على النيتروجين ووجد أن السكر إما أن يحتوى على خمسة ذرات كربون، ويسمى بسكر الريبوز Ribose، أو ينقص عنه ذرة أكسجين ويسمى بسكر الديوكسى ريبوز Deoxyribose وعلى الرغم من أن هذين السكرين هما النوعين الأساسين الموجودين فى الأحماض النووية، إلا أن أى حمض نووى لا يحتويهما معاً.

وبناء على ذلك سنجد أن هناك نوعين من الأحماض النووية بناء على نوع السكر الموجود بهما، هما الحمض النووى الريبوزى Ribonucleic acid ويرمز له ر ن أ RNA والحمض النووى الديوكس ريبوزى Deoxyribonucleic acid ، ويرمز له د ن أ DNA ويوجد النوع الأول عادة فى السيتوبلازم أما النوع الثانى فإنه يوجد فى النواة فقط إلا فى حالات قليلة.

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com



شكل (١-١):البناء الكيميائى للأحماض النووية

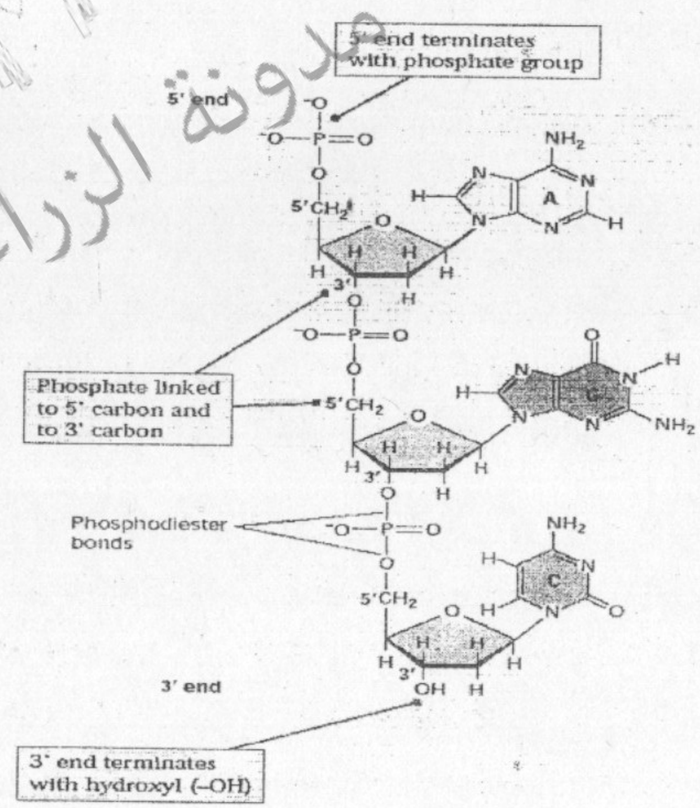
وترتبط مجموعة الفوسفات بالسكر فى كل نوتيدة عند ذرة الكربون (٥´) والتى تسمى بالموقع (Five prime)، ويمكن تسمية ذلك بالفوسفات السكرى أو السكر المفسفر Phosphorylated Sugar. كما هو موضح فى شكل (١-١)

أما المجموعة التى تحتوى على النيتروجين، فإنها ترتبط بالسكر عند ذرة الكربون رقم (١´) به. والوحدة النيتروجينية إما ذات حلقة بنزين واحدة أو ذات حلقتين، ويمكنها أن تعمل كقاعدة Base (أى كمستقبل لأيون النيتروجين ولهذا تسمى بالقاعدة النيتروجينية) على العكس من الطبيعة الحامضية Acidic لمجموعة الفوسفات. وتسمى القواعد ذات الحلقة الواحدة باسم البيريميدينات Pyrimidines مثل الثيمين Thymine (ث أو T) والسيتوزين Cytosine (س أو C) واليوراسيل Uracil (ى أو U)، بينما تسمى القواعد ذات الحلقتين باسم البيورينات Purines مثل الأدينين (أ أو A) والجوانين Guanine (ج أوG).

وقد وجد أن نوعى البيريميدينات فى الـ دن أ هما الثيمين والسيتوزين بينما يوجد السيتوزين واليوراسيل فى الـ ر ن أ ويوجد فى كل من الـ د ن أ و الـ ر ن أ نوعان من البيورينات هما الأدنين والجوانين وتميز النوتيدة طبقاً للقاعدة النيتروجينية الموجودة بها، ولذلك نجد أن هناك أربع أنواع من النوتيدات الديوكسى ريبوزية فى الـ د ن أ ، وأربعة أنواع من النوتيدات الريبوزية فى الـ ر ن أ. وتجدر ملاحظة أن ارتباط السكر بالقاعدة النيتروجينية دون وجود مجموعة الفوسفات يسمى بالنوسيدة Nucleoside وعليه فإنه توجد أربعة نوسيدات ديوكسى ريبوزيه، وأربعة نوسيدات ريبوزيه ومن ثم يمكن وصف النوتيدة على أنها نوسيدة

www.zera3h.com
zera3h

مفسفرة Phosphorylated nucleoside وإضافة إلى الدراسات التى مكنت من تجزئة الحمض النووى إلى نوتيدات فقد أمكن أيضا ربط النوتيدات الديوكسى ريبوزية معا من خلال روابط أستيرية بين الفوسفات والسكر، وبناء على ذلك فقد أفترض أن الــ د ن أ يتكون من سلاسل قصيرة بكل منها أربعة نوتيدات مختلفة مرتبطة معاً، وتمثل كل نوتيدة بكمية مساوية للنوتيدات الأخرى ويسمى ذلك تسلسل أو تتابع رباعى النيوتيدات ويوضح شكل (١-٢) سلسلة متعددة النوتيدات.



شكل (١-٢): سلسلة متعددة النوتيدات، أو خيوط مفردة من الــ د ن أ.

ونظراً لأن بساطة هذا الجزئ الصغير من الــ د ن أ لم تبدو كافية لتوضيح ظاهرة التوارث ذات البيولوجية المعقدة، فقد أوضح عدد من الكيميائيين ومن بينهم شارجاف Chargaff عام ١٩٥٠ أن القواعد النوتيدية لا توجد كلها متساوية، كما وأن نسبة القواعد المختلفة تختلف فى أنواع الكائنات الحية المختلفة ومن ثم أقترح أن جزئ الــ د ن أ ليس جزيئا بسيطاً يتركب من نفس الأربعة نوتيدات بكميات متساوية ولكنه سلسلة طويلة جداً تتــكون من مئات أو آلاف النوتيدات المختلفة وبتتابع مختلف. وحيث أنه فى أى موقع على السلسلة الطويلة للــ د ن أ سيكون هناك اختيار لنوتيدة من بين الأربعة فإن ذلك يمكن السلسلة من أن تشكل وببساطة تباينات كثيرة بمجرد تغيير تسلسل النوتيدات فيها.

الحلزون المزدوج Double Helix

إن التسلسل الطولى للنوتيدات فى تنظيم سلسلة الــ د ن أ DNA (والذى يسمى بالتركيب الأولى Primary structure) ليس إلا وجهة واحدة من بنائه الجزيئى إذ قد يكون لهذه السلسلة الممتدة من النوتيدات شكلاً مميزاً أو تركيبا ذو أبعاد مختلفة Secondary structure فبدأ التساؤل عما إذا كانت هذه السلاسل توجد بحالة فردية فقط وكل منها تقع بجوار الأخرى فى مجاميع مكونة من أثنين أو ثلاثة أو أكثر أو أن هناك علاقة منتظمة Regular بينها؟

هناك أدلة تشير إلى أن جزئ الــ د ن أ له تنظيم مميز ومنتظم. فقد أوضح شارجاف Chargaff أنه كقاعدة عامة فإن عدد القواعد البيوريتية

www.zera3h.com
zera3h

(أدنين + جوانين) (A+G) تساوى عدد القواعد البيريميدينية (ثيمين + سيتوزين) (C+T) وهناك تساو بين القواعد التى تحمل مجموعة الأمين فى الموقع رقم ٦ أو الموقع رقم ٤ (أدينين + سيتوزين) (A+C)، والقواعد التى تحمل مجموعة الكيتون فى الموقع رقم ٦ أو الموقع رقم ٤ (ثيمين +جوانين) (T+G) إضافة إلى ذلك فإن النسبة بين الأدينين إلى الثيمين A:T والجوانين إلى السيتوزين G:C تقرب من الواحد الصحيح فى الكائنات مميزة النواة Eucaryotes الأمر الذى يشير بوضوح إلى وجود علاقة تناسقية بين القواعد النوتيدية ويوضحها الجدول (١-١).

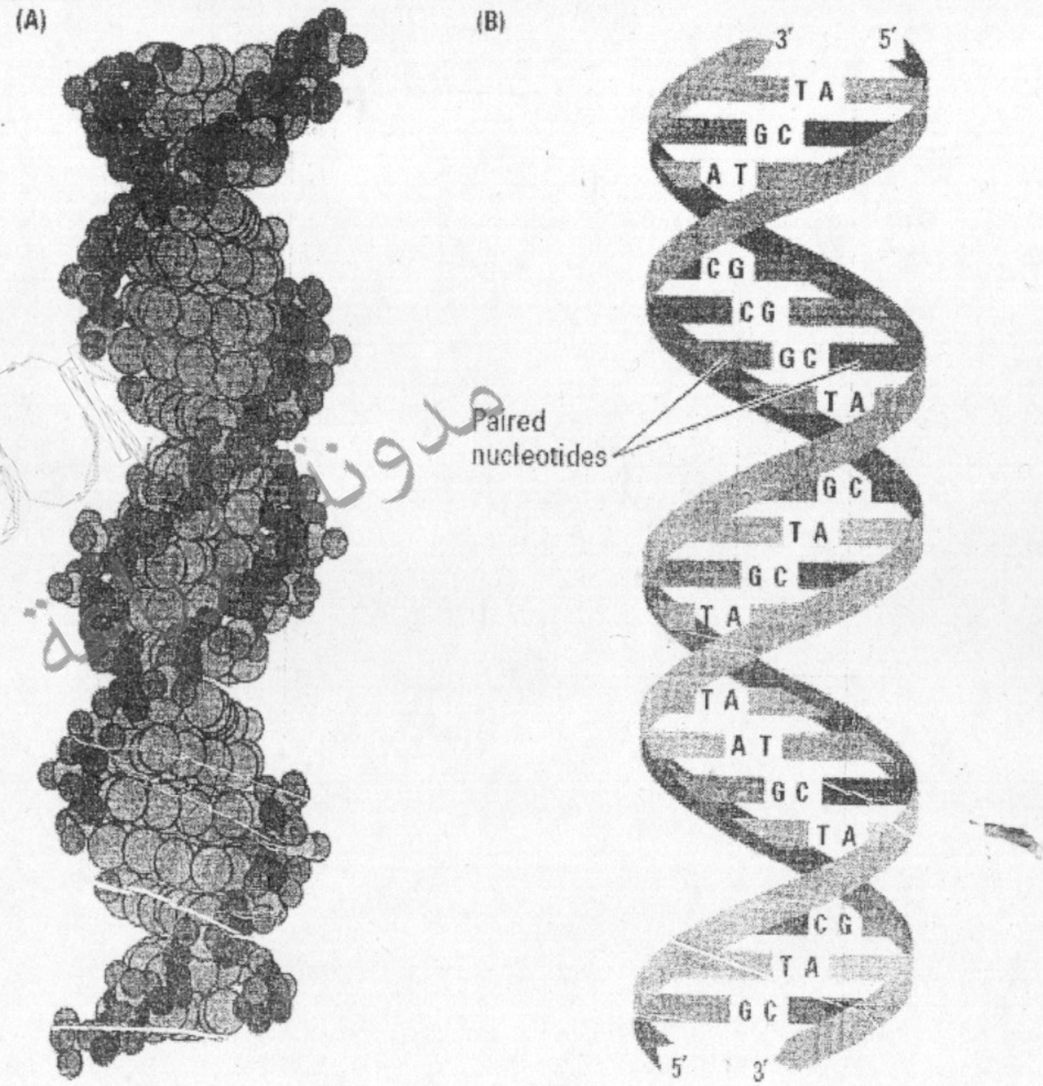
كما أن دراسات ولكنز Wilkins وفرانكلين Franklin وآخرون عام ١٩٥٣ باستخدام انكسارات الأشعة السينية X-rays على الـــ د ن أ أشارت إلى أنه يوجد فى سلسلة شعرية متعددة دقيقة التنظيم قطرها حوالى ٢٠ أنجستروم تتميز بوجود مجموعات متباعدة من بعضها على طول الشعرة بحوالى ٣,٤ أنجستروم وبوحدة تتكرر كل ٣٤ أنجستروم.

وقد أخذ واطسون وكريك Watson and Crick عام ١٩٥٣ المعلومات المتوفرة عن الـــ د ن أ حتى ذلك الوقت والتى سبق الإشارة إليها وافترضا نموذجا لجزئ الـــ د ن أ يتركب من خلزون مزدوج سرعان ما أكتسب تأييداً واسعا (شكل ١-٣).

جدول رقم (١-١): كمية الأحماض النووية ومحتواها من القواعد فى الكائنات المختلفة

الكائنات المختلفة	الـــ د ن أ فى المجموعات الآحادية من الكروموسوم	بيورينات		بيرميدينات			$\frac{A+T}{G+C}$
		أدينين	جوانين	سيتوزين	ثيمين	يوراسيل	
الأنسان	٣,٢	٣١,٠	١٩,١	١٨,٤	٣١,٥	–	١,٠
الماشية	٢,٨	٢٨,٧	٢٢,٣	٢٢,٠	٢٧,٢	–	١,٠٣
الفأر	٣,١	٢٩,٧	٢٠,٣	٢٠,٩	٢٩,١	–	١,٠٠
الدجاج	١,٣	٢٨,٠	٢٢,٠	٢١,٦	٢٨,٤	–	١,٠٠
الدروسوفلا	٠,٧٩	٢٩,٩	٢٠,٩	١٩,١	٣٠,١	–	١,٠٣
الذرة	٧,٥	٢٥,٦	٢٤,٥	٢٤,٦	٢٥,٣	–	١,٠٠
الخميرة	٠,٠١٨	٣١,٣	١٨,٧	١٧,١	٣٢,٩	–	١,٠٠
بكتيريا	٠,٠٠٤٧	٢٤,٦	٢٥,٥	٢٥,٦	٢٤,٣	–	١,٠٠
بكتريوفاج	٠,٠٠٠٢	٣٢,٦	١٨,٢	١٦,٦	٣٢,٦	–	١,٠٣
~	٠,٠٠٠٠٢٦	٢٤,٧	٢٤,١	١٨,٥	٣٢,٧	–	٠,٩٥
فيروس تبرقش الدخان	٠,٠٠٠٠٣٣	٢٩,٣	٢٥,٨	١٨,١	–	٢٦,٨	١,٢٣
فيروس الأنفلونزا	٠,٠٠٠٠٣٤	٢٣,٠	٢٠,٠	٢٤,٥	–	٣٢,٥	٠,٧٥
فيروس ريو	٠,٠٠٠٠١٧	٢٨,٠	٢٢,٠	٢٢,٠	–	٢٨,٠	١,٠٠

www.zera3h.com
zera3h



شكل (١-٣): نموذج تفصيلى لجزئ د ن أ مزدوج الحلزون طبقاً لنظام واطسون وكريك

وبناء على هذا فإن جزئ الـــ د ن أ يتكون من سلسلة مزدوجة وتلتف السلسلتان داخليا حول بعضهما مكونة حلزوناً مزدوجا. وكل سلسلة أو شطرة عبارة عن خيط من النوتيدات الديوكسى ريبوزية متجمعة معا وكل نوتيدة تتكون من قاعدة بيورين أو بيريميدين مرتبطة بجزئ سكر ديوكسى ريبوزى (وهذا يسمى نوسيدة ديوكسية)، ترتبط بدورها مع أورثوفوسفات. ولسكر الديوكسى ريبوز القدرة على تكوين رابطة أستيرية مع الفوسفات من خلال مجاميع الهيدروكسيل الموجودة على ذرة الكربون رقم ٣ وذرة الكربون رقم ٥ (اللذان يسميان ٣′ ، ٥′ فى النوتيدة). وللفوسفات نفسه القدرة على أن يرتبط بالسكر الديوكسى ريبوزى من خلال أى ذرة أوكسجين فيه والعمود الفقرى للسلسة المتعددة النوتيدات عبارة عن قناطر من السكر الديوكسى والفوسفات متتالية ويكون الترتيب على التوالى كالآتى: فوسفات ٥′ ديوكسى ريبوز ٣′ فوسفات ٥′ ديوكسى ريبوز ٣′... وهكذا.

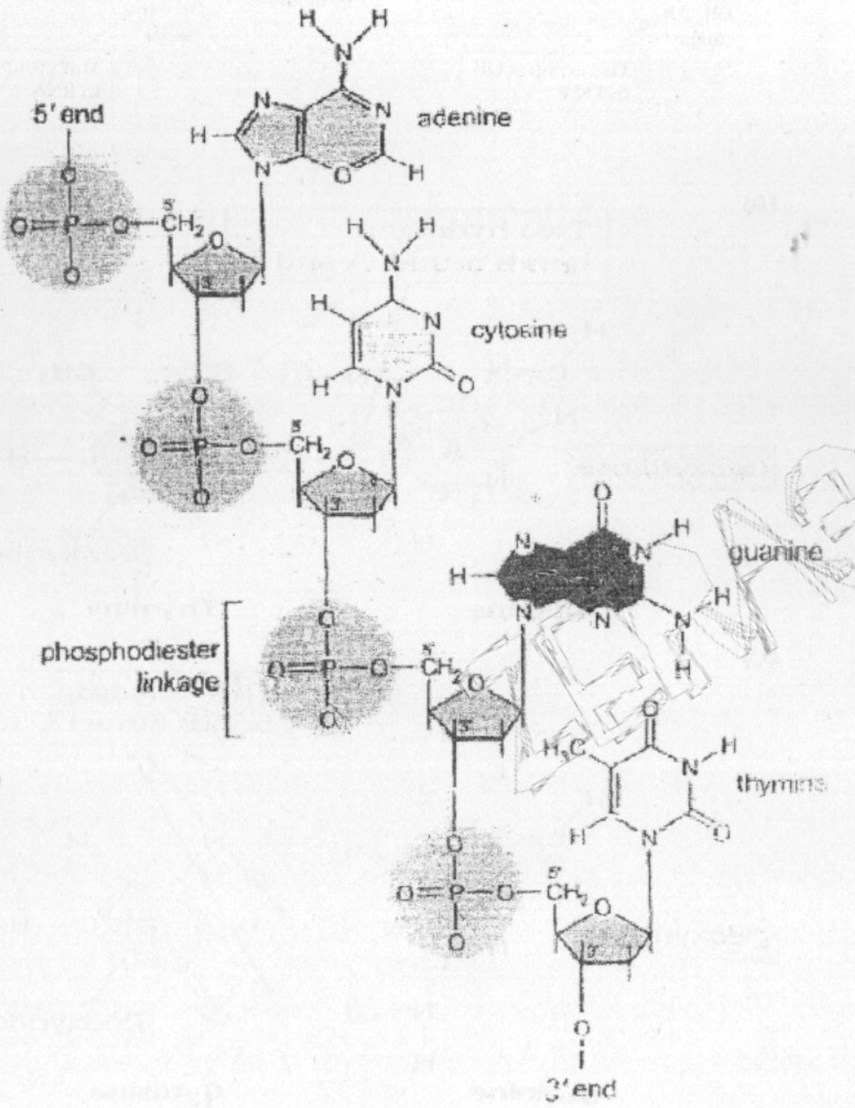
وبالتالى فإن طرف السلسلة يكون منتهيا بـــ ٣′-هيدروكسيل (مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة فى الطرف ٣′). وترتبط القواعد بذرة الكربون رقم ١ فى كل سكر ريبوزى كسلسلة جانبية. ومن المعروف أن هناك أربعة أنواع من القواعد فى الـــ د ن أ إثنان منهما بيوزينات هما الأدنين (A أو أ) والجوانين (G أو ج) وإثنان منها بيريميدينات هما الثيمين (T أو ث) والسيتوزين (C أو س). وبداخل كل سلسلة نوتيدية يمكن أن توجد الأربعة قواعد بأية نسبة وبأى ترتيب وهذا بالطبع مع الطول الكبير للسلاسل يوضح كيف أن جزيئات الـــ د ن أ مناسبة تماماً لحمل كميات ضخمة من المعلومات الوراثية. ويتوقف انتقال هذه المعلومات خلال الأنقسامات الخلوية المتتالية على خاصية الـــ د ن أ وهى قدرته على التناسخ الذاتى وهى خاصية كامنة فى تركيبه وطريقة تكونه أو تصنيعه (شكل ١-٤).

www.zera3h.com
zera3h

وفى حلزون الـــ د ن أ تكون القواعد موجهة داخليا فى كلا السلسلتين مما يجعل كل قاعدة فى سلسلة ما تزدوج أو تتقابل مع القاعدة فى السلسلة المقابلة وذلك من خلال روابط هيدروجينية ضعيفة. وتكون نهايات أو أطراف السلسلتين موجهتان تعاكسياً بمعنى أن اتجاه إحدى السلسلتين يكون ٣′ ← ٥′ والسلسلة الأخرى يكون إتجاهها ٥′ ←٣′ وتكمن قدرة التناسخ الذاتى فى الـــ د ن أ فى الحقيقة التى هى أن إزدواج القواعد محدد ومميز. إن اختلاف الحجم بين البيورينات والبيريميدينات يعنى أن البيورين لابد وأن يزدوج مع بيريميدين فلا يوجد مجال لازدواج بيورين مع بيورين، كما وأن ازدواج بيريميدين مع بيريميدين سيشغل حيزا محدودا بالنسبة للمساحة المتاحة بين العمودين الفقريين للسلسلتين. إضافة إلى ذلك فإن الأوضاع التبادلية فى القواعد المانحة للهيدروجين (>NH and $-NH_2$) والذرات المستقبلة للهيدروجين (>C=O and ≥ N) تكون بالصورة التى تحدد أن الإزدواج يكون بين بيورين وبيريميدين وعلى صورتين فقط ألا وهما ازدواج الأدينين والثيمين (A-T) وازدواج الجوانين مع السيتوزين (G-C) وهذان هما فعلا الازدواجين اللذين وجدا فى كل الحلزونات المزدوجة الطبيعية للـــ د ن أ.

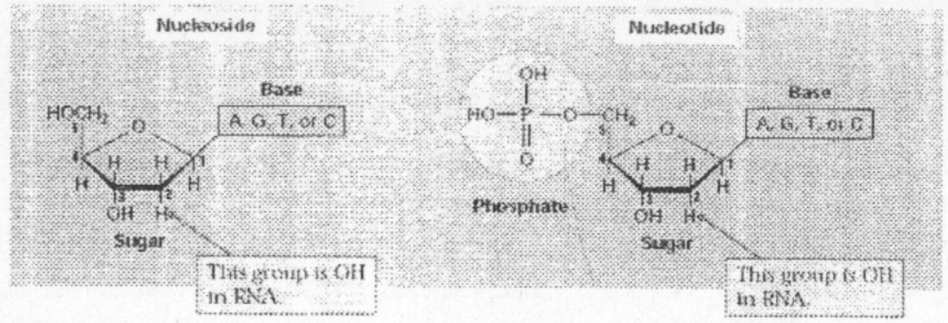
ويتم الازدواج بين A-T عن طريق رابطتين من الهيدروجين أما بين G-C فيتم ذلك عن طريق ثلاثة روابط هيدروجينية. والحلزونات المزدوجة الغنية فى G-C أكثر ثباتا عن تلك الغنية فى A-T ويمكن استخدام درجة الحرارة التى يتفكك أو يتحلل عندها جزئ الـــ د ن أ إلى سلسلتين مفردتين كدليل على مدى محتواه من القواعد فكلما زادت درجة الحرارة اللازمة كلما دل ذلك على زيادة نسبة محتوى الـــ د ن أ من (G-C) كما أن قاعدة ازدواج القواعد تعنى أن تتابع قواعد معين فى إحدى سلسلتى الـــ د ن أ يعنى أن هناك تتابعاً مكملا له فى

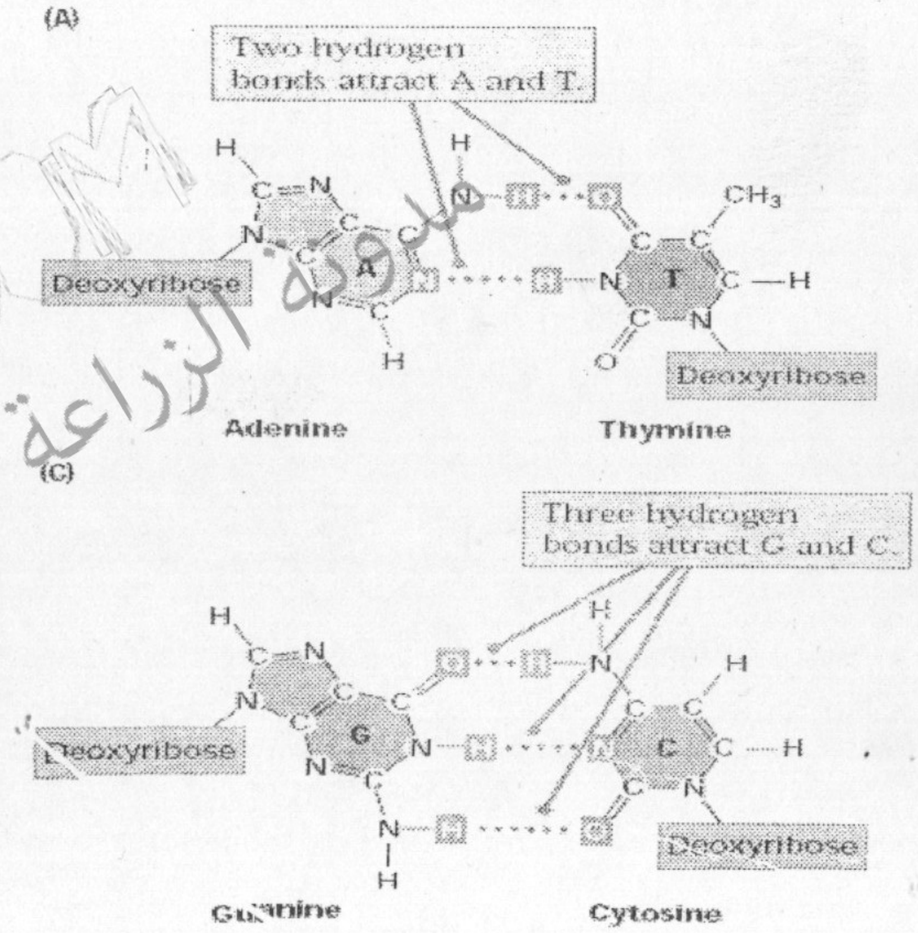
السلسلة الأخرى. ويوضح شكل (١-٥) ازدواج القواعد كما يوضح شكل (١-٦) تخطيطاً مبسطاً لبناء السلسلة المزدوجة لـــ د ن أ.



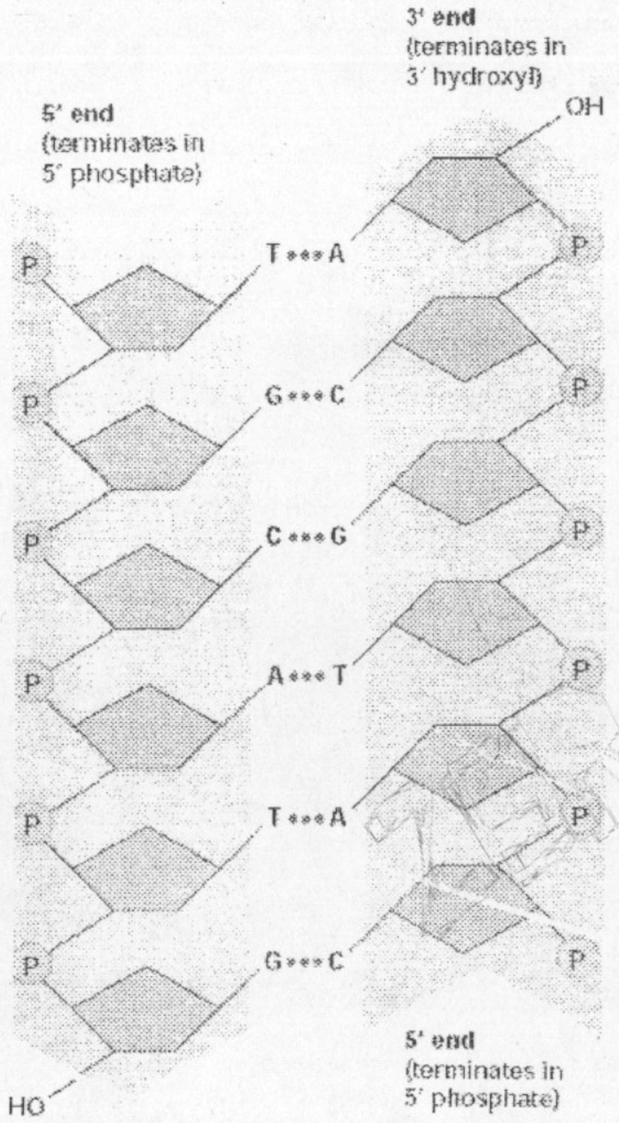
شكل (١-٤) يوضح تركيب سلسلة الـــ د ن أ

www.zera3h.com
zera3h





شكل (١–٥) ازدواج القواعد



شكل (١–٦) رسم تخطيطى مبسط لتركيب سلسلتين مزدوجتين من د ن أ

www.zera3h.com
zera3h

ويتميز هذا النموذج بأنه يقدم تفسيراً للكيفية التى يمكن بها للجزئ عند تكاثره من أن يكون نسخة طبق الأصل لنفسه، فلكى يتكاثر الـــ د ن أ نسخيا فما على الحلزون المزدوج إلا أن يفصل سلسلتيه عن بعضهما وتجذب كل سلسلة النوتيدات السابحة فى البيئة المحيطة فى اتجاه قواعدها النيتروجينية وترتبط بها بروابط هيدروجينية ثم تعمل الأنزيمات المناسبة على ربط هذه النوتيدات ببعضها مكونة سلسلة جديدة لكل سلسلة أصلية من السلسلتين الأبويتين. وكما هو معروف من أن الأدينين يزدوج مع الثيمين فنجد أن السلسلة المنفصلة (الأبوية) تجذب نوتيدات الثيمين فقط من البيئة فى مواجهة مواقع الأدينين بها وكذلك الحال بالنسبة للسيتوزين مع الجوانين . أى أن الجزئ إذا يمكنه مضاعفة نفسه تماماً ومن ثم ينقل تركيبه بالتساوى لكل نواتج الانقسام الخلوى.

وهناك ميزة أخرى لنموذج واطسون وكريك فى تفسير كيفية حدوث التغيرات (الطفرات) فى المادة الوراثية وبطريقة بسيطة، فمما لاشك فيه أن هناك احتمال لحدوث خطأ بالصدفة أثناء ازدواج القواعد خلال عملية التكاثر النسخى، إذ يمكن لنوتيدة ما أن تستبدل أو يحل محلها نوتيدة أخرى غير تلك المفروض تواجدها فى ذات المكان. فمثلا إذا كان هناك تتابعا للقواعد على صورة ATCGAA وأثناء التكاثر حدث خطأ أدى إلى أن يتغير التتابع إلى ATTGAA، فإن ذلك سيؤدى إلى أن الجزيئات المتكونة فى النسل الناتج سوف تحمل هنا التتابع الجديد الذى يشتمل على التغيير الوراثى فى الموقع الثالث من التركيب واحتمال حدوث هذا الخطأ نادر تحت الظروف العادية (حوالى واحد فى المليون أو فى البليون لكل نوتيدة)، ولكنه نظراً لأن الظروف وقت تناسخ الجزئ ربما لا تكون مثالية ونظرا لأن جزيئات الـــ د ن أ عليها مواقع تحمل العديد من

النوتيدات التى يمكن أن يحدث فيها خطأ بالصدفة، فإن السلسلة الطويلة للـــ د ن أ قد يحدث فيها تغيير فى نوتيدة أو أكثر فى كل تكاثر نسخى.

أى أنه يمكننا القول أن هناك سبعة خصائص لهذا الحلزون:

١- الحلزون المزدوج يتكون من سلسلتين من النيوتيدات.

٢- القواعد النيتروجينية مرتبة فى الحلزون من الداخل بينما الهيكل المكون من السكر والفوسفات فيوجد فى المحيط الخارجى للحلزون.

٣- القواعد الموجودة فى السلسلتين ترتبط ببعضها عن طريق روابط هيدروجينية وهذا هو تفسير قاعدة شارجاف، فجزئ الأدينين الموجود فى سلسلة يرتبط دائما بجزئ ثيمين فى الخيط الآخر وكذلك الجوانين يرتبط بالسيتوزين وتتكون روابط هيدروجينية بين هذه الأزواج، رابطتين بين T&A وثلاث روابط بين C & G. $(A=T)$; $(G \equiv C)$ هذه الروابط هى القوى الجاذبة الوحيدة بين السلسلتين المكونتين للحلزون المزدوج.

٤- لفة الحلزون المزدوج تتكون من عشرة أزواج من القواعد، وحيث أن وحدة الحلزون تساوى ٣٤ أنجستروم فإن المسافة الطولية بين كل زوجين من القواعد تساوى ٣,٤ أنجستروم، وقطر الحلزون ٢٠ أنجستروم.

٥- خيطى الحلزون المزدوج متضادى الاتجاه: فإحدى السلسلتين تكون فى الاتجاه ٣′ ← ٥′ والأخرى فى الاتجاه ٥′ ← ٣′ وهذا يؤدى إلى ثبات الحلزون.

٦- يوجد تجويفين مختلفين فى الحلزون المزدوج فالحلزون ليس منتظماً تماماً بل يمكن تمييز تجويف أعظم وآخر أدنى. وهذه الخاصية هامة لحدوث التفاعل بين الحلزون المزدوج والبروتينات التى تشترك فى عملية تناسخ الـــ د ن أ وفى التعبير عن المعلومات الوراثية.

www.zera3h.com
zera3h

٧- الحلزون المزدوج يكون فى الاتجاه الايمن، وهذا يعنى أننا لو تخيلنا أن الحلزون عبارة عن سلم نتسلقه فيكون الهيكل المكون من السكر والفوسفات إلى جهة اليمين.

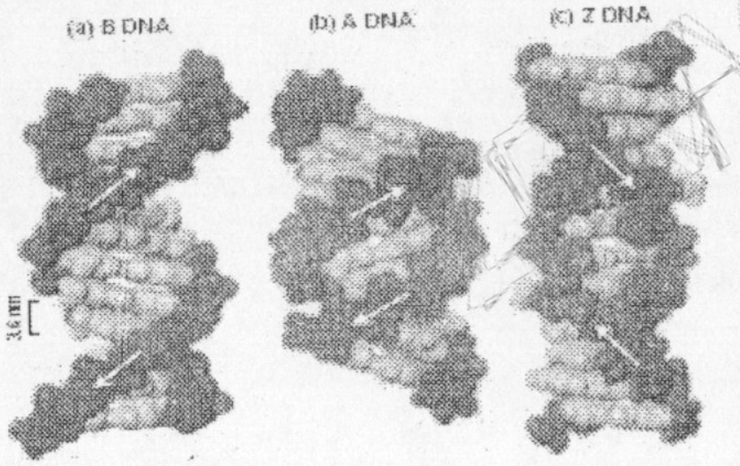
الحلزون المزدوج يمكن أن يتواجد بصور مختلفة:

عندما وضع واطسون وكريك نموذج الحلزون المزدوج كانت فرانكلين قد أوضحت أنه توجد صورتين مختلفتين للـــ د ن أ المبلور. الصورة أو الشكل (أ) (A-from) والصورة (ب) (B-from) وهذه الأشكال المختلفة تتوقف على كمية الماء الموجود فى محلول الـــ د ن أ الذى تصنع منه البللورات. ونموذج واطسون وكريك يشير إلى الصورة (ب) (B-from) وهوفى الحقيقة الشكل أو التركيب الذى يوجد عليه الـــ د ن أ فى خلايا غالبية الكائنات. والصورة (أ) A-form تختلف عن الصورة (ب) B-from فى بعض النقاط القليلة الهامة: فالـــ د ن أ فى الصورة (أ) A-from يأخذ أيضا شكل الحلزون المزدوج ولكنه يكون أكثر انضغاطا من الصورة (ب) B-from حيث يوجد إحدى عشر زوجا من القاعدة النيتروجينية فى كل لفة 11bp/turn من الحلزون ويكون قطر الحلزون٢٠ إنجستروم، ومنذ عام ١٩٥٣ اكتشفت أربعة صور أخرى للـــ د ن أ هى Z- & E- & D- & C- كل صورة من هذه الصور تظهر اختلافا طفيفا فى الحلزون المزدوج. والصورة Z-DNA هى أكثرها اختلافا لأن فى هذا التركيب يكون الحلزون فى اتجاه اليسار Left-handed وليس فى اتجاه Right-handed هو الحال فى الصور الأخرى شكل (١-٧).

هذه الصور المختلفة من الـــ د ن أ لاقت اهتماما متزايدا فى السنوات الأخيرة حيث وجد أن تتابع النوتيدات هو أحد العوامل التى تؤثر على الشكل الذى توجد عليه الأجزاء المختلفة من الحلزون المزدوج. وحديثا اكتشفت فى

الكروموسومات مناطق من الـــ د ن أ مهيأة عن طريق تتابع نوتيداتها إلى أن تأخذ شكل أو صورة معينة من صور الحلزون المزدوج الغير قياسى (مثلا Z-DNA regions Z) والجدول التالى يبين بعض خصائص الصور المختلفة من الـــ د ن أ.

صورة الـــ د ن أ	اتجاه الحلزون	عدد أزواج القواعد فى كل لفة	المسافة بين أزواج القواعد (Å)	قطر الحلزون (Å)
A	يمينى	١١	٢,٦	٢٠
B	يمينى	١٠	٣,٤	١٩
C	يمينى	٩,٣	٣,٣	١٩
Z	شمالى	١٢	٣,٧	١٨



شكل (١-٧) الصور المختلفة للحلزون المزدوج من DNA

www.zera3h.com
zera3h

الأدلة على الأحماض النووية هى المادة الوراثية

١- التحول فى البكتيريا: Bacterial transformation

تغطى جدر خلايا بعض سلالات بكتيريا الالتهاب الرئوى *Diplococcus pneumoniae* بأغلفة (كبسولات) جيلاتينية من طرز مختلفة وتتكون من سكريات معقدة. ويمكن تمييز السلالات عن بعضها على أساس نوع السكر المعقد الذى تحتويه والذى له أنتيجين Antigen معين ويميز بالأرقام اللاتينية مثل Type I, II, III ..... etc. وهذه الطرز لها خاصية مميزة للسلالة فمثلا الطرز II يكون فى دم الأرنب بعد حقنه به أجساماً مضادة Antibodies تختلف عما يكونه الطراز III. كما يتسبب عن وجود هذه الكبسولات أن تظهر المستعمرات النامية على الاجار بمظهر أملس ناعم shiny smooth ويرمز لها بالرمز (S) وهذ البكتيريا ممرضة (Virulent) تسبب مرض الالتهاب الرئوى الذى يؤدى بالحياة.

وتوجد صورة أخرى لسلالات من ذات النوع تتميز خلاياها بعدم وجود كبسولات مما يكسبها مظهرا معتما وخشنا (Dull rough) أثناء نموها على بيئة الأجار، وهذه السلالات غير ممرضة (Non virulent) لا تسبب مرضا ينتهى بالوفاة ومن خشونة مظهرها يرمز لها بالرمز (R).

وخاصية شكل المستعمرة ملساء ناعمة (S) أو خشنة معتمة (R) خاصية وراثية إذ ينتج عن تنمية أى من السلالاتين مستقلا أنه سوف ينقل خاصيته إلى الاجيال التالية.

وقد أوضح فردريك جريفث Frederick Griffth عام ١٩٢٨ فى سلسلة من تجاربه فى مجال الوراثة أن طراز من البكتريا مقتول بالحرارة يستطيع أن يكون له تأثير وراثى على بكتيريا من طراز آخر. فعندما حقن فيرانا بسلالة RII غير ممرضة وجد أن ذلك لم يسبب موتا للفيران وأنه لم يعزل منها أى بكتيريا، بينما عندما حقن فيرانا بسلالة من طراز (SIII) الضارة ولكن بعد قتلها بالمعاملة الحرارية، فإن ذلك لا يسبب موت الفيران كما ولم يعزل منها أى بكتيريا. ولكن عندما حقن الفيران بمخلوط من سلالة حية من طراز RII وأخرى مقتولة بالمعاملة الحرارية من طراز SIII وجد أن الفيران قد ماتت وتمكن من أن يعزل منها سلالات حية من الطراز SIII.

واعتقد جريفيث أن SIII المقتولة بالمعاملة الحرارية لسبب أو لآخر أعيدت اليها الحياة ولكن هذا لم يكون مقنعاً ثم فكر فى أنها قد تكون نتيجة لحدوث طفرة، ولكن معدل ظهور أفراد SIII كان أعلى بكثير عما هو معروف عن معدل الطفور. وهكذا ظلت الفكرة على أنه بطريقة ما فإن الخلايا المقتولة بالمعاملة الحرارية أعطت خاصية المرض أو التضرر Virulence للسلالة غير الممرضة أو بمعنى آخر فإن الخلايا من طراز RII قد تحولت Transformed ربما من خلال بعض المواد النشطة إلى الطراز SIII ومن ثم فإن تأثير جريفيث Griffith effect أصبح تدريجياً يعرف بالتحول Transformation وتعتبر أول خطوة لتمييز المادة الوراثية.

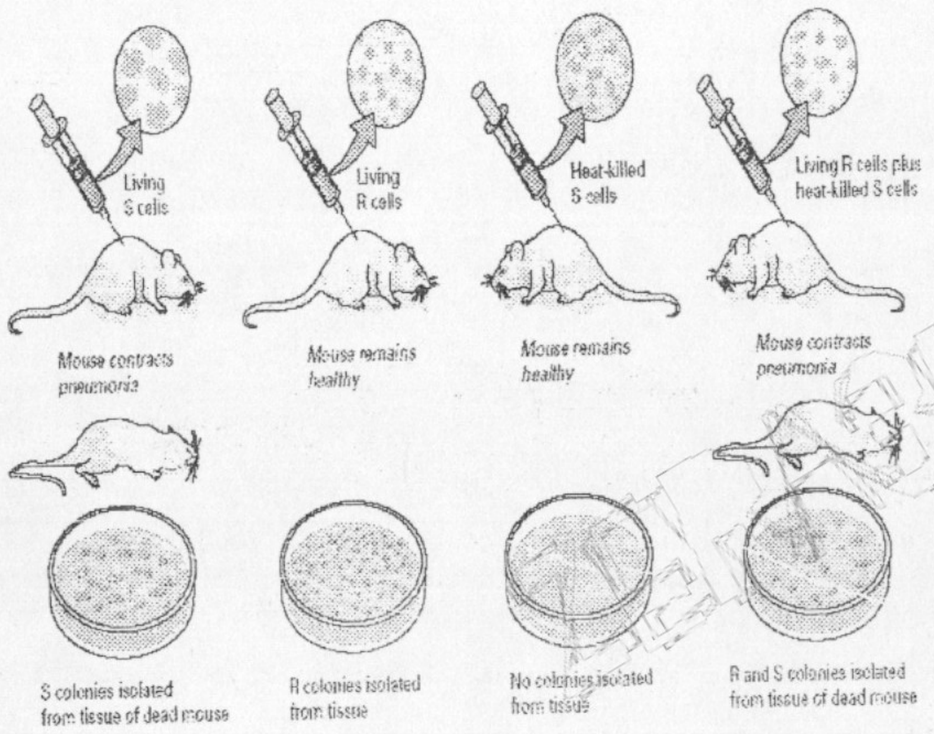
تمييز العنصر المحول : Identification of Transforming Agent

بعد جريفيث بستة عشر عاما تمكن آفرى وماكلويد ومكارتى Avery, McLeod and McCarty عام ١٩٤٤ من تكرار نتائجه بنجاح ولكنهم اجروا تجاربهم فى أنابيب اختبار (*In vitro*) وأمكنهم تمييز العنصر المسئول عن عملية

www.zera3h.com
zera3h

التحول وإثبات أنه د ن أ. وقد أجروا تجاربهم باختبار تأثير الأجزاء المختلفة لمستخلصات من الخلايا طراز SIII المقتولة بالمعاملة الحرارية والمحتوية على سكريات معقدة أو بروتينات أو ر ن أ – أو د ن أ وإضافتها إلى مزارع عليها بكتيريا حية من طراز RII . وبعد إضافة مصل به أجسام مضادة تتفاعل مع بكتيريا الطراز وجدوا أنه عند استعمال الـ د ن أ فقط المستخلص من SIII المقتولة بالمعاملة الحرارية وإضافته إلى RII حية ثم إضافة مصل مضاد لترسيبه من المخلوط تظهر مستعمرات حية اى متحولة من طراز SIII شكل رقم (١-٨ و ٩).

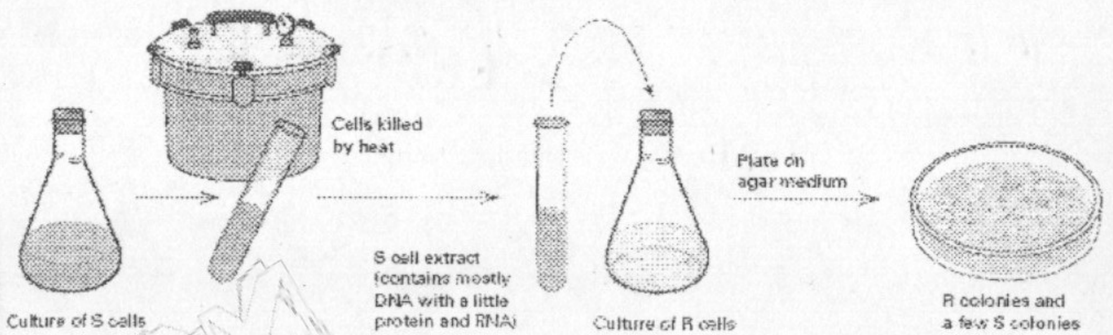
ومنذ عام ١٩٤٤ أجريت الكثير من تجارب التحول على مختلف السلالات وفى جميع الحالات أمكن تمييز العنصر المحول على أنه د ن أ . إضافة إلى ذلك فإن هذا العنصر – مثله مثل الـ د ن أ – تقف كفاءته البيولوجية بالمعاملة بإنزيم الدينيز (Dnase). و لا يتأثر بإنزيم الرينيز (Rnase) أو الإنزيمات الهاضمة للبروتين. وهكذا ثبت دون أى شك أن الـ د ن أ يجب أن يكون هو المادة الوراثية.



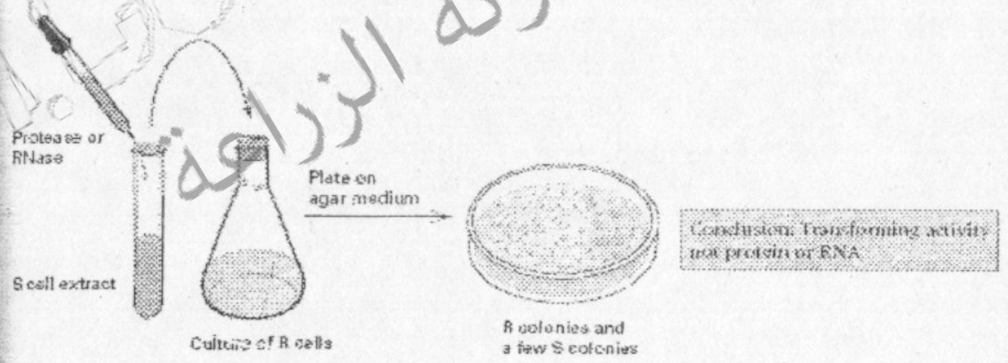
شكل رقم (١-٨): تجارب فردريك و جريفث

www.zera3h.com
zera3h

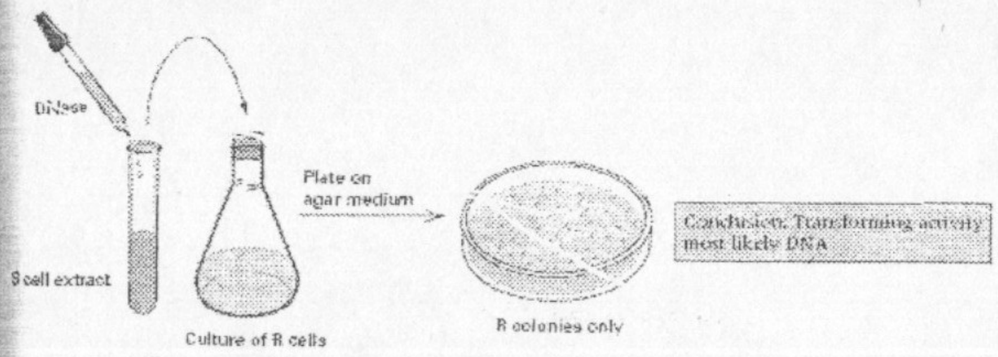
(A) The transforming activity in S cells is not destroyed by heat



(B) The transforming activity is not destroyed by either protease or RNase.



(C) The transforming activity is destroyed by DNase.



شكل رقم (١-٩):آفرى وماكلويد ومكارتى

٢- العدوى بالبكتريوفاج Bacteriophage infection

كان الاعتقاد حتى عام ١٩٢٠ أن العلاقة بين البكتيريا والفيروسات التى تعديها (بكتريوفاج) علاقة بين عائل وطفيل يقوم فيها الطفيل (الفاج) بالتكاثر داخل العائل أو المضيف (البكتيريا) عن طريق تحطيمهاوتحليلها ولكن وجدت علاقة تعاونية نسبياً بين بعض البكتيريا وبعض الفاجات بمعنى أن الفاج قد يوجد داخل البكتيريا دون أن يسبب لها تحللاً مباشراً ويتكاثراً سويا وتسمى هذه بالبكتيريا الليسوجينية Lysogenic، إلا أنه فى بعض الأحيان تنتهى العلاقة التعاونية ويحطم الفاج البكتيريا التى تحمله فى داخلها ويسبب تحللها وينتج نسلا جديداً. وذلك على العكس من البكتيريا غير الليسوجينية Non-lysogenic التى لا تحمل فيروسات بداخلها والتى تتحطم وتتحلل مباشرة إذا حدثت عدوى بالفاج.

وتسمى الفاجات التى تكون علاقة ليسوجينية مع البكتيريا بالفاجات المعتدلة Temperate phage بينما تسمى الفاجات التى تسبب عدوى للبكتيريا تؤدى إلى تحللها ولا تحدث علاقة ليسوجينية بالفاجات المعدية أو القاتلة Virulent وقد وجد فى البكتيريا الليسوجينية أن عملية التحلل تنشأ نتيجة لتغيير الفاج من الحالة التعاونية او الـ Prophage إلى الحالة الخضرية أو ما تسمى Vegetative state والتى ينجم عنها تحطيم خلايا البكتيريا. ووجد أنه يمكن استحداث الحالة الخضرية بالمعاملة بجرعات بسيطة من الأشعة فوق البنفسجية. إضافة إلى أن المعاملة بجرعات كبيرة من الأشعة قد يشفى البكتيريا من البروفاج الذى تحمله وتصبح غير ليسوجينية.

ووجد أن الخاصية الليسوجينية تعطى ميزة للبكتيريا. إذ أن وجود البروفاج بداخلها يجعلها تقاوم أى عدوى أخرى وتمنع النمو الخضرى لجسيمات فيروسية من نفس صنف البروفاج فمثلاً بكتيريا إ.كولاى *E. coli* والتى بداخلها بروفاج

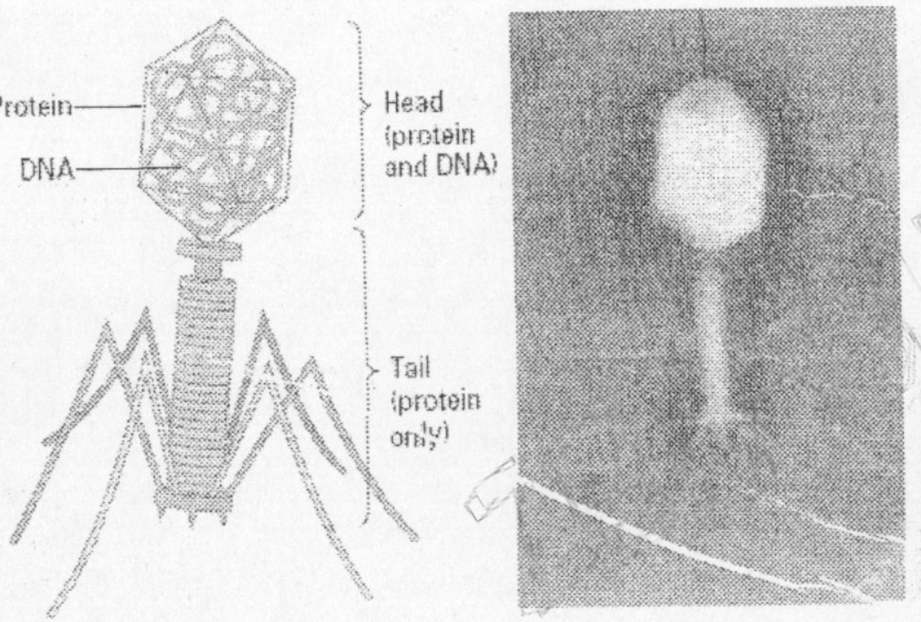
مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

(لامبدا) يمكنها أن تعيش فى بيئة تحتوى جسيمات فاج لامبدا (شكل رقم ١-١٠) Lambda (λ) دون أن تتحطم. كما وجد أيضا أن بعض البكتيريا غير الليسوجينية قد تهرب من التحلل تحت نفس الظروف ولكن بسبب أنها قد أصبحت ليسوجينية، أى أصبحت تحمل البروفاج (λ) وتنتج مستعمرات ليسوجينية منيعة لأى تحلل قد يحدث مستقبلاً نتيجة لعدوى جديدة بالفاج.

ويوجد للفاج رأس تغلف من الخارج بغلاف بروتينى وتحتوى بداخلها على د ن أ الفاج. وقد وجد أن معاملة البكتيروفاج بإنزيم الدينيز لا يؤثر على د ن أ الفيروس، لكن بعد تمزيق الغلاف البروتينى بصدمة أسموزية مثلا ثم المعاملة بالإنزيم يؤدى إلى الحصول على محلول يحتوى على حبيبات صغيرة من الـــ د ن أ... إضافة إلى الغلاف البروتينى الممزق والذى يسمى بالشبح البروتينى. وقد أثبت هيرشى و تشيز Hereshey and Chase عام ١٩٥٢ بوضوح أن إنتاج جسيمات جديدة من الفيروس يظهر فقط إذا ما غذيت البكتيريا بـــ د ن أ الفيروس وترك الغلاف البروتينى خارجها.

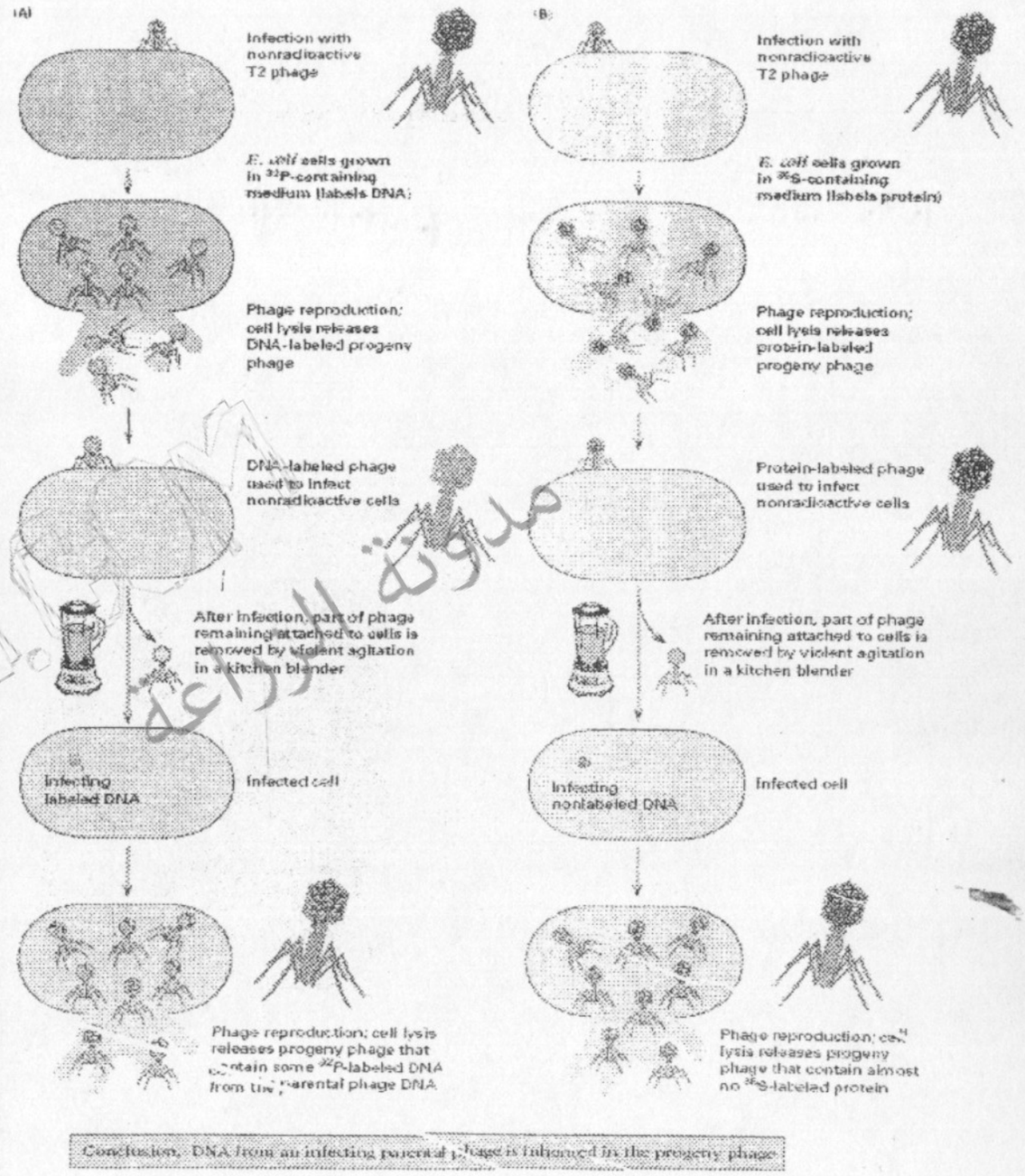
قام هيرشى وتشيز أولا بوسم مزارع البكتريوفاج المعدية بالفوسفور المشع ^{32}P والكبريت المشع ^{35}S وذلك بتربيتها على بكتريا نامية فى بيئة تحتوى على كل من العنصرين المشعين ثم عزلوا الفاج الناتج بعد تحلل البكتيريا ومزقوا غلافه البروتينى فى وجود إنزيم الدينيز فوجدوا أن الـــ د ن أ الناتج يحتوى على الفوسفور المشع، أما الأشباح البروتينية فإنها احتوت على الكبريت المشع. وكانت الخطوة التالية هى إجراء تجارب على عدوى البكتيريا النامية فى بيئة عادية (غير مشعة) بهذا الفاج الموسوم. وبعد إجراء العدوى أزيلت رؤوس الفاجات المستعملة ووجد أن الفاجات الجديدة المتكونة بعد تحلل البكتيريا تحتوى فقط على الفوسفور

المشع أى أن د ن أ الفاجات الأبوية فقط هو الذى انتقل إلى النسل الناتج ويوضح الشكل رقم (١-١١) تجارب هيرشى وتشيز.



شكل رقم (١-١٠): **البكتريوفاج** Lambda (λ)

www.zera3h.com
zera3h



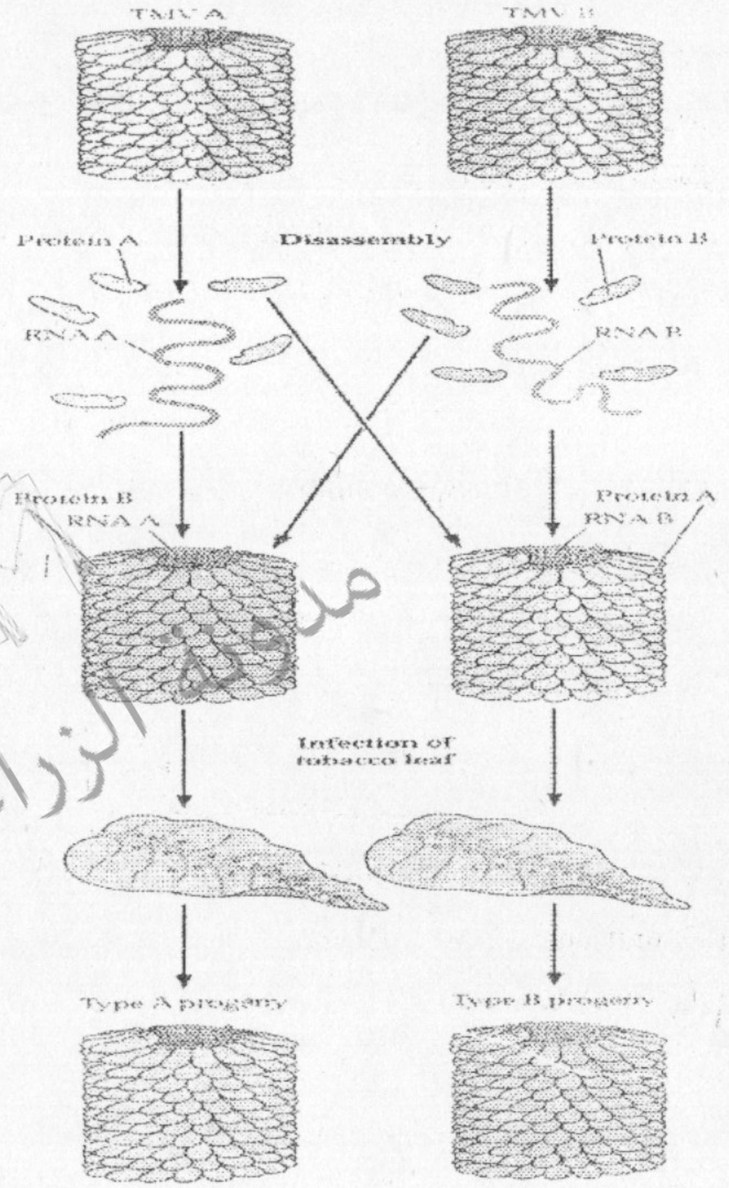
شكل رقم (١-١١) : تجارب هيرشي وتشيز.

٣- العدوى بفيروس تبرقش الدخان *Tobacco mosaic virus* (TMV) infection

يتميز هذا الفيروس الذى يصيب أوراق الدخان ويسبب له المرض المعروف بالتبرقش بأن الحمض النووى فيه هو الــ ر ن أ وليس الــ د ن أ الذى يوجد فى سلسلة مغلفة بغطاء بروتينى يساعد الفيروس على إحداث العدوى كما وأنه يحمى الــ ر ن أ من الإنزيمات التى تهضمه مثل إنزيم رينيز. إلى جانب ذلك فإن كل سلاله من سلالات الفيروس لها غلاف بروتينى خاص بها ولكنه يختلف من سلاله إلى أخرى.

وقد تمكن فرانكل- كونرات Frankel-Conrat بإستخدام طرق بيوكيماوية من فصل البروتين عن الــ ر ن أ ووجد أن البروتين بمفرده لا يستطيع إحداث العدوى المرضية للنبات ولكن خلطه مع الــ ر ن أ المفصول عنه يمكنه من إحداث العدوى وإنتاج جسيمات جديدة من الفيروس. واستطاع جيرير وشرام Gierrer and Schramm عام ١٩٥٦ من إحداث الإصابة لأوراق الدخان وتكوين نسل جديد من الفيروس بحك مستخلص نقى من ر ن أ الفيروس على أوراق النبات، كما وأن معاملة المستخلص النقى بإنزيم الرينيز أفقده خاصية إحداث العدوى. وقد أوضح فرانكل-كونرات وسينجر Frankel-Conrat and Singer عام ١٩٥٧ أنه بتركيب فيروس ر ن أ لسلالة ما (مثلا A) مع بروتين من سلالة أخرى (مثلا B) وإحداث الإصابة يتكون نسل من الفيروس بروتينة من النوع (A)، أى يتحدد نوع البروتين فى النسل حسب نوع الــ ر ن أ فى الأب وليس حسب بروتين الأب كما يوضح ذلك شكل رقم (١-١٢) وهذا يثبت أن الــ ر ن أ فى الفيروس هو المادة الوراثية.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (١-١٢): تجربة فرانكل – كونرات

الاستنقال (النقل الوراثى بالفاج) Transduction

تعتبر ظاهرة الاستنقال Transduction من البراهين المباشرة على أن الـــ د ن أ هو المادة الوراثية. وقد اكتشفها زندر وليدربرج عام ١٩٥٣ فى بكتيريا تيفوئيد الفيران *Sallmonella typhimurium* . وظاهرة الاستنقال تحدث بين سلالتين من البكتيريا عن طريق وسيط ثالث هو الفاج وتتلخص هذه الظاهرة فى أن بعض الفاجات يمكنها أن تستقطع مقاطع من د ن أ خلية بكتيرية تسمى الخلية الواهبة إلى خلية بكتيرية أخرى تسمى الخلية المستقبلة مما يترتب عليه أن الأخيرة تنتقل إليها بعض صفات الخلية الأولى. فيمكن لبعض سلالات الفاج أن تدخل إلى بكتريا وتعيش فيها دون أن تسبب له أى ضرر. وفى هذه الحالة يندمج د ن أ الفيروس فى د ن أ الخلية البكتيرية العائلة ويصبح جزءاً منه يتكاثر معه بنفس المعدل ونفس السرعة وينتقل معه إلى نسل الخلية فى الأجيال المتعاقبة. وتسمى الفاجات التى تكون مثل هذه العلاقة بالفاجات المعتدلة (Temperate phage) كما سبق الذكر، ويعرف د ن أ الفيروس المستنسخ باسم سلف الفاج (أو البروفاج Prophage). وقد تنقلب الفيروسات المعتدلة وتصبح شرسة، وتبدأ فى التكاثر مستقلة عن تكاثر د ن أ الخلية بسرعة هائلة وتكون عددا كبيرا من النسل الفيروسى الجديد وتقتل الخلية ثم تتحلل وتنطلق منها الفيروسات الجديدة، وقد تهاجم هذه الفيروسات الناتجة خلايا بكتيرية جديدة وتعيش معها مرة أخرى. وقد وجد فى بعض الاحيان – عند حدوث هذا التبدل فى سلوك الفاج المعتدل – أن تستقطع هذه الفاجات مقاطع قصيرة من د ن أ الخلية البكتيرية المصابة وتنقلها إلى الخلية الجديدة التى تهاجمها، وتندمج هذه المقاطع فى د ن أ الخلايا الجديدة. وعند حدوث ذلك، فإن هذه الخلايا البكتيرية المنقول إليها المادة الوراثية بواسطة الفاج تظهر عليها بعض الصفات الوراثية التى كانت موجودة فى الخلايا البكتيرية المصابة.

www.zera3h.com
zera3h

وقد تكون المادة الوراثية التى تنتقل عن طريق الفاج المعتدل المنطلق مقاطع من جينات مرتبطة، مما يدل على أن الفاج يستقطع وينقل مقاطع من كروموسوم الخلية البكتيرية الواهبة Donor تتزاوج مع الجزء المناظر لها فى كروموسوم الخلية البكتيرية المستقبلة Recipient.

وفى التجارب التى أجراها زندر وليدربرج، استخدمت سلالات بكتيرية طافرة تكميلية الاغتذاء Auxotrophic (وهى طوافر لا يمكنها تخليق واحد أو أكثر من المواد الغذائية الضرورية لنموها، بل يلزم استكمالها فى البيئة المغذية حتى يمكنها النمو) من تيفوئيد الفئران. فكانت إحدى السلالتين تكميلية الاغتذاء Autotroph . للحمض الأمينى " ميثيونين Methionine (me^- thr^+) " والأخرى تكميلية الاغتذاء للحمض الأمينى ثريونين Thrionine (me^+ thr^-)" وكلتا السلالتين – كل بمفرده – لا يمكنه النمو على البيئة الدنيا Minimal medium. ولكن عند خلط السلالتين معا وزراعتهما على بيئة ينقصها كل من الحمضين، الميثيونين والثريونين، تظهر بعض الافراد البرية وتتكون مستعمرات ذاتية الاغتذاء Prototrophs.

وقد فسر ظهور هذه المستعمرات ذاتية الاغتذاء على أساس تكون اتحادات وراثية جديدة، وتبادل للد ن أ بين السلالتين تكميليتى الاغتذاء Auxotrophs وأن هذا التبادل قد تم عن طريق الفيروس Salmonella phage P_{22} والذى كان يعيش داخل أحد الأبوين البكتيريين.

وعموما يعتقد أن الجسيمة الفيروسية تستقطع مقطعا كروموسوميا من الخلية البكتيرية الواهبة والتى كانت تعيش فيها، وتنقلها إلى الخلية البكتيرية المستقبلة (التى دخلتها)؛ وهذا المقطع الكروموسومى المستقل قد يتزاوج مع الجزء المناظر له فى الكروموسوم البكتيرى للخلية المستقبلة وتشترك معه فى عملية

التناسخ الكروموسومى، ويحدث العبور بين المقطع الكروموسومى المستقل والمقطع المناظر له فى الخلية المستقبلة، مما يؤدى إلى حدوث اتحادات وراثية جديدة بالنسبة للجينات المتناظرة.

ولقد أثبتت التحليلات الوراثية لعمليات العبور هذه بطريقة مماثلة لما هو متبع فى بعض الكائنات الراقية ، مثل الدروسوفيلا والذرة وغيرهما أنه يمكن رسم خرائط وراثية فى الكائنات البكتيرية باستخدام ظاهرة الاستقلال الوراثى.

الأهمية البيولوجية للـــ د ن أ:

(أ) الـــ د ن أ كجزئ حامل للشفرة الوراثية DNA as a coded molecule:

يجب أن تحمل المادة الوراثية معلومات – وهذه هى الخاصية الأولى فى قائمة خصائصه – فمجرد أقتراح التركيب البنائى للـــ د ن أ، فإن الطريقة العامة لقدرته على حمل الشفرة لمعلومات وراثية أصبحت واضحة، بمعنى أن تتابع القواعد على سلسلة متعددة النوتيدات يحتوى على هذه المعلومات. ومن ثم فإن السلسلة الواحدة تقرأ أأأأ ث ث ....، وثانية ج أأأ ث ث .. ، وثالثة ج ث أ أ ث ث ... وهكذا إلى مالا نهاية من احتمالات السلاسل. ويمكننا أن نتصور وكما فعل كثير من علماء الوراثة فى حقبة الخمسينات أن تتابعا معينا من النوتيدات يحدد نوعية معينة من معلومات وراثية، وتتابعا آخر يحدد نوعية أخرى.

ووجود معظم الـــ د ن أ فى صورة مزدوجة لا يناقض إطلاقا هذه النظرية الفرضية. فببساطة نحن نعرض الفكرة ونقترح أن المعلومات الوراثية بجزئ مزدوج من الـــ د ن أ موجودة على شكل شفرة من تتابع النوتيدات على طول السلسلتين متعددتى النوتيدات.

www.zera3h.com
zera3h

لو أن الشفرة الوراثية منبثقة بالفعل من ترتيب النوتيدات فى جزئ الـــ د ن أ لأستطعنا أن نتنبأ أن الأنواع المختلفة من الكائنات الحية المحتوية على معلومات وراثية مختلفة ستحتوى جزيئاتها من الـــ د ن أ على تتابعات مختلفة للنوتيدات، فى حين أن جميع جزيئات الـــ د ن أ من نفس النوع ستكون متطابقة وبالرغم من أن الطرق الكيموحيوية لم تتمكن خلال حقبة الخمسينات من تعيين تتابع قواعد الـــ د ن أ، إلا أن البناء الخاص بها ارتكز بالتأكيد على تجارب شارجاف السابق ذكرها وقد رأينا من قبل أن تجارب شارجاف قد وطدت شمولية القاعدة التى هى أن " أ = ث ، ج ≡ س" . وعلاوة على ذلك فقد أوضحت بياناته أنه ليس ثمة ضرورة للتشابه بين التركيب الكلى للنوتيدات الـــ د ن أ المستخلصة من نوع ما، والـــ د ن أ المستخلص من نوع آخر من الكائنات الحية. ولو عبرنا عن التركيب الكلى للنوتيدات كنسبة $\frac{ا + ث}{ج + س}$ لوجدنا أن هذه النسبة تكون ١ فى حالة بكتيريا القولون آ. كولاى ، وتكون ١,٥٧ فى بكتيريا د. نيمونيا *D. pneumonia* ، وهلم جرا وهذه هى النتيجة التى يمكن توضيحها بسهولة بإفتراض أن الأنواع المختلفة تحتوى على د ن أ مختلف فى تتابع نويتيداته. ومن ناحية أخرى، فعندما نقارن خلايا مختلفة تابعة لنفس النوع كخلايا الغدد الثيموسية والكبد والحيوان المنوى فى الأنسان نجد أن جميعها يحتوى تقريبا على نسب متشابهة $\frac{ا + ث}{ج + س}$ كما لو كانت جميعها مهيأة بنفس المعلومات الوراثية. وكما أوضحنا فإن كلا من تتابع النوتيدات وبنائها هما خاصيتين مميزتين لجزئ الـــ د ن أ وفى أجزاء لاحقة سوف نوضح كيف يمكن نسخ وترجمة الشفرة الوراثية.

(ب) تناسخ الـــ د ن أ DNA Replication

لقد أوحى نموذج الحلزون المزدوج الـــ د ن أ طريقة دقيقة لتناسخه ذاتيا Self-replication. وهذه هى الخاصية الثانية فى قائمة خواص المادة الوراثية.

وقد رأى واطسون وكريك أنه بمجرد أن يتحدد تتابع معين للنوتيدات فى خيط من الحلزون، فإن التتابع على الخيط الآخر سيكون بالضرورة متكاملا معه ويمكن على الفور التنبؤ به.

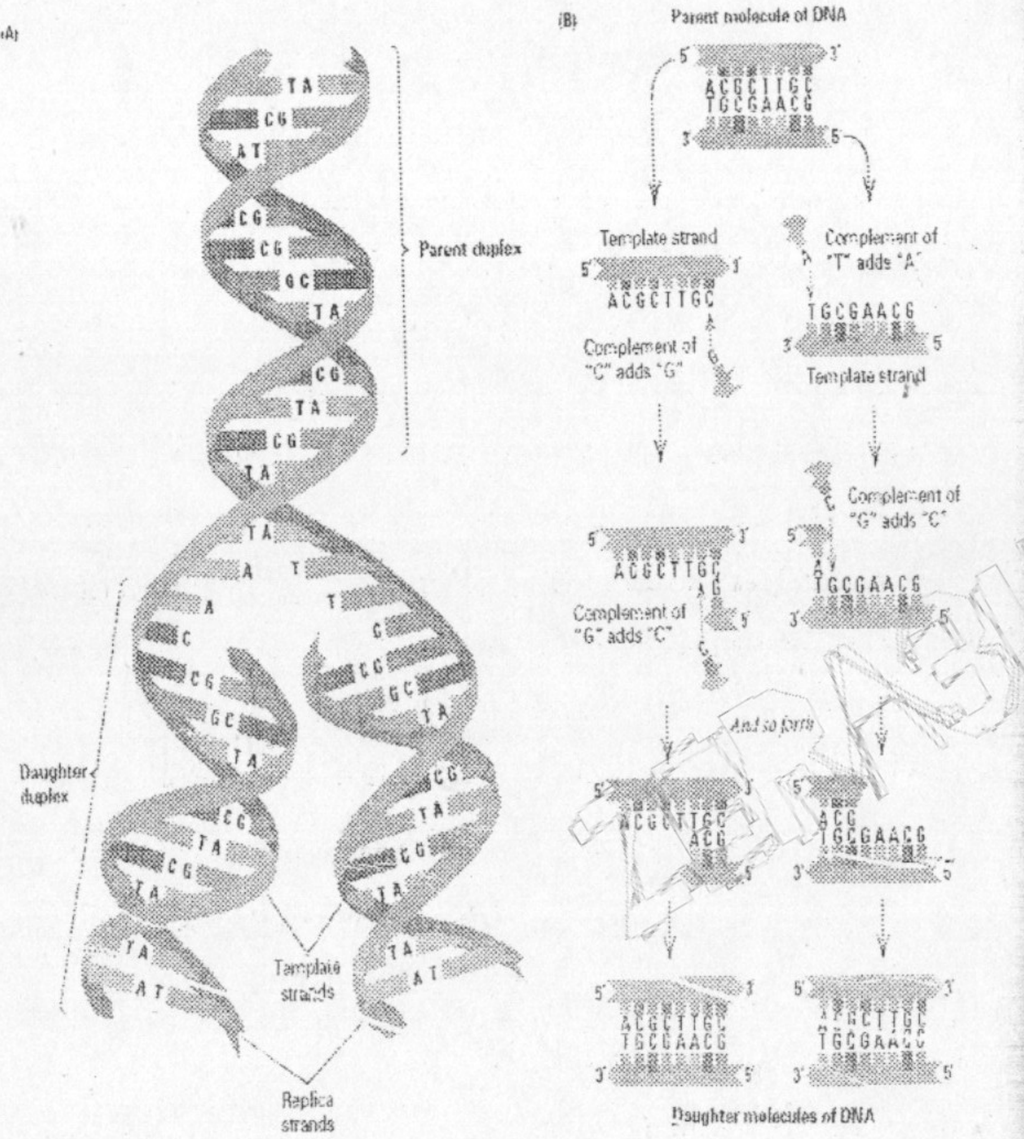
وكمثال : بمعرفة أن خيطا ما يقرأ ٥' ... أ س ج أ .... ٣' فإن الخيط الآخر متوخيا نظم ارتباط القواعد سوف يقرأ ٣' ... ث ج س ث ...٥' ومن ثم فقد اقترح واطسون وكريك أنه بفرض أن خيطى حلزون ما سينفصلان بطريقة كسر الروابط الهيدروجينية وفك الحلزنة وبذلك يكونان معرضين لمحلول يحتوى على نوتيدات، فإن كلا من الخيطين سيعمل كقالب Template لتكوين خيوط جديدة متعددة النوتيدات، وبالطبع ستكون تتابعات القواعد فى الخيوط الإبنية الجديدة مكملة لتتابعات القواعد فى الخيوط الإبوية طبقا لنظم اتحاد القواعد. كما هو موضح فى الشكل (١-١٣)، وسيتكون عند نهاية هذه الجولة من التناسخ حلزونان جديدان كل منهما يحتوى على خيط أبوى وآخر إبنى. وكل من الحلزونين الجديدين سيكون نسخة طبق الأصل من الحلزون الأصلى.

ويتميز هذا النموذج بأنه يقدم تفسيرا للكيفية التى يمكن بها للجزئ عند تناسخه من أن يكون نسخة طبق الأصل لنفسه (الشكل ١-١٤). فلكى يتكاثر الـــ د ن أ نسخيا فما على الحلزون المزدوج إلا أن يفصل سلسلتيه عن بعضهما، وتجذب كل سلسلة النوتيدات السابحة من البيئة المحيطة فى اتجاه قواعدها النيتروجينية وترتبط بها بروابـــط هيـــدروجينية ثم تعمل الإنزيمات المناسبة على ربط هذه النوتيدات ببعضها مكونة سلسلة جديدة لكل سلسلة أصلية من السلسلتين الأبويتين وكما هو معروف من أن الإدينين يتزاوج مع الثيمين، فنجد أن السلسلة المنفصلة (الأبوية) تجذب نوتيدات الثيمين فقط من البيئة فى مواجهة موقع الأدينين بها. وكذلك الحال بالنسبة للسيتوسين مع الجوانين، ومن ثم يمكن لأى

zera3h
www.zera3h.com

سلسلة منفصلة أن تكون سلسلة مماثلة تماما للسلسلة المكملة لها والتى انفصلت عنها. أى أن الجزئ إذن يمكنه نسخ نفسه تماما. ومن ثم ينقل تركيبه بالتساوى لكل نواتج الانقسام الخلوى.

مدونة الزراعة
AGRI.COM



شكل (١-١٣): تناسخ الـــ د ن أ : على أساس فك الحلزنة وإزدواج النوتيدات المكملة الموجودة فى الخلية مع تلك الموجودة فى السلاسل الأبوية

www.zera3h.com
zera3h

(ج) أسلوب تعبير الـــ د ن أ DNA expression

كانت الخاصية الثالثة التى اشترطناها للمادة الوراثية هى أن تتمكن المعلومات الشفرية فيها (المسجلة بطريقة الشفرة) من التعبير عن نفسها بأسلوب ما، بمعنى أن تترجم إلى عمليات كالنمو والتكشف. ولم يكن واضحا عند ظهور نموذج واطسون وكريك كيف أن شفرة وراثية مكونة من تتابع لقواعد يمكنها أن تكون ذات أثر حيوى، لكن قد تطور المفهوم بسرعة وهو أن تتابع النوتيدات فى جزئ الـــ د ن أ قد يترجم Translated إلى تتابع للأحماض الأمينية فى سلسلة فردية متعددة الببتيدات فشفرة كهذه يمكن اعتبارها "جينا". كما وقد أصبح واضحا أن الجينات لا تشترك فى تصنيع متعددة الببتيدات ولكن يحدث أولا عملية نسخ Transcription متطابق لتتابع نوتيداتها إلى التتابع المتكامل معها لنوتيدات الـــ ر ن أ المعروف باسم الـــ ر ن أ حامل الرسالة RNA (mRNA) Messenger وتقوم جزيئات الـــ ر ن أ حاملة الرسالة هذه بعدئذ بالاشتراك فى تصنيع متعددة الببتيدات. وسوف نناقش عمليات النسخ المتطابق والترجمة شئ من التفصيل عندما نستعرض موضوع التصنيع الحيوى للبروتين فى باب لاحق.

(د) تباين الـــ د ن أ DNA variation

من وقت لآخر كانت القدرة على التباين عن طريق الطفور وظهور تراكيب جديدة هى الخاصية الرابعة للمادة الوراثية. ومن أول وهلة يمكن أن تتصور حدوث عملية الطفور فى نموذج واطسون وكريك لأن أى تبديل فى تتابع النوتيدات سواء كان فيزيقيا أو كيميائيا سينتج عنه تغيير فى المعلومات المحتواه بجزئ الـــ د ن أ وبالتالى ستكون المحصلة تعديل فى تكوين الخلية. وفى الحقيقة فإن الأساس الفيزيائى والكيماوى للطفرة أمكن كشف خباياها فقط بعد اكتشاف بناء المادة الوراثية.

ومن الجدير بالذكر أن نموذج واطسون وكريك لم يقترح مباشرة ميكانيكية لتفسير الاتحادات الوراثية الجديدة. ومازال حتى الآن الأساس الفيزيائى للاتحادات الجديدة غير مفهوم جزيئيا.

أما كيفية حدوث الطفور الذى يؤدى إلى تباين فى المادة الوراثية، فمما لاشك فيه أن هناك احتمالا لحدوث خطأ بالصدفة أثناء تزاوج القواعد أثناء عملية التكاثر النسخى، إذ يمكن لنوتيدة ما أن تستبدل أو يحل محلها نوتيدة أخرى غير تلك المفروض تواجدها فى ذات المكان. فمثلا إذا كان هناك تسلسل على صورة ATCGAA وأثناء التناسخ حدث خطأ أدى إلى أن يتغير التسلسل إلى ATTGAA فإن ذلك سيؤدى إلى أن الجزيئات المتكونة فى النسل الناتج سوف تحمل هذا التسلسل الجديد مشتملا على التغير الوراثى. واحتمال حدوث هذا الخطأ نادر جدا تحت الظروف العادية (حوالى ١ فى المليون أو فى البليون لكل نوتيدة) ولكنه نظرا لأن الظروف وقت تناسخ الجزئ ربما لا تكون مثالية، ونظرا لأن جزيئات الـــ د ن أ عليها مواقع تحمل العديد من النوتيدات التى يمكن أن يحدث فيها خطأ بالصدفة فإن السلسلة الطويلة للـــ د ن أ قد يحدث فيها تغيير فى نوتيدة أو أكثر فى كل تكاثر نسخى.

وتجدر ملاحظة أنه عندما لا يوجد تساو بين نسبة القواعد النيتروجينية المتكاملة بمعنى أن الجوانين لا يساوى السيتوسين، والأدينين لا يساوى الثيمين كما فى حالة البكتريوفاج ϕ X170 فإن ذلك يستخدم كدليل على وجود الـــ د ن أ فى سلسلة فردية غير تكاملية Non-complementary ومثل هذه السلاسل تسمى بالسلاسل الموجبة (+) Plus والتى يمكنها بالرغم من ذلك إنتاج سلاسل سالبة (-) Minus مكملة لها خلال التكاثر النسخى والتى بالتبعية تعمل على انتاج سلاسل موجبة أكثر وأكثر خلال التزاوج المنتظم للقواعد. وعليه فإنه على الرغم

zera3h
www.zera3h.com

من وجود سلاسل فردية فإن نظام تكاثرها يتوقع له أن يكون مبينا أيضا على التزاوج التكاملى التام للقواعد.

التكاثر النسخى وتصنيع الأحماض النووية

Replication and Synthesis of Nucleic Acids

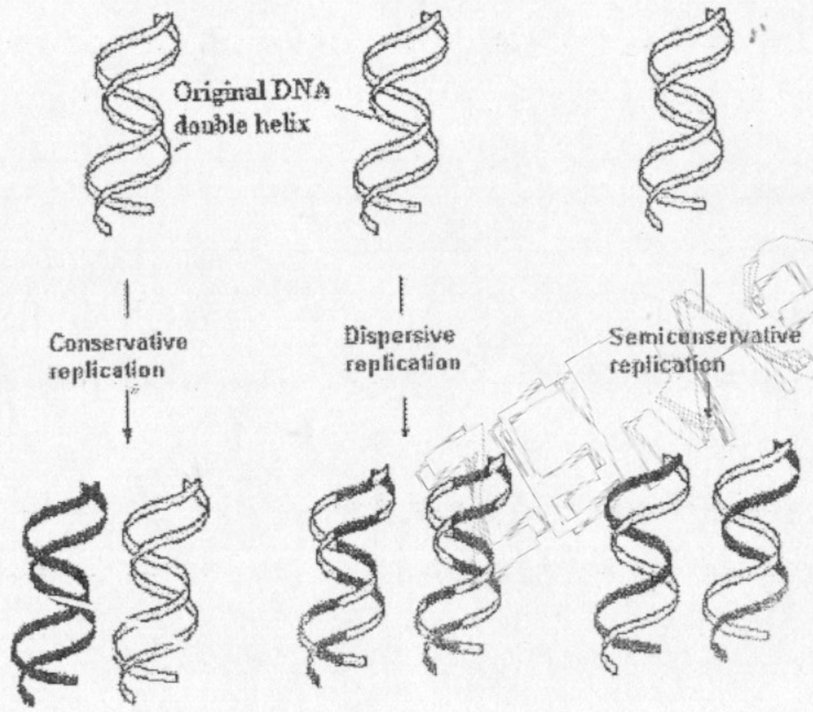
طريقة تناسخ الـــ د ن أ:

اقترح واطسون وكريك طريقة تناسخ الـــ د ن أ وذلك عن طريق فك الحلزنة ثم قيام كل سلسلة فردية بالعمل كدليل أو كقالب لتكوين سلسلة مكملة له وبذلك نجد أن الحلزون المزدوج الناتج تكون به سلسلتان أحدهما أبوية أو قديمة والأخرى مخلقة حديثا أو جديدة ويسمى هذا التناسخ بالطريقة شبه المحافظة Semi-conservative Replication . ولكن هناك احتمال آخر وهو أن يتكاثر الحلزون المزدوج معطيا حلزونا آخر كلا من سلسلتيه جديدتان تماما ويبقى الحلزون الأصلى محتفظا بسلسلتيه القديمتين وهذا الاحتمال يفترض حدوثه دون فك الحلزنة ويسمى هذا التناسخ بالطريقة المافظة Conservative Replication أما الاحتمال الأخير فهو أن يتم تناسخ الـــ د ن أ من خلال تكسير فى السلاسل الحلزونية المزدوجة على كل طولها إلى أجزاء صغيرة. وبعد أن تتناسخ كل قطعة يعاد وصلها عشوائيا مع القطع المخلقة حديثا لتكون خيطا من قطع من السلسلة القديمة وقطع جديدة الصنع ويسمى التناسخ بالطريقة التشتتية Dispersive Replication ويوضح شكل رقم (١-١٤) الفرق بين هذه الطرق الثلاث.

وقد أجريت العديد من التجارب لتحديد بأى من هذه الطرق الثلاث يمكن أن يتناسخ الـــ د ن أ وذلك بتنمية الجزئ فى وجود مواد كيميائية مشعة يمكن

متابعتها فى الجزئ الناتج من التكاثر. وبناء عليه إذا تم التناسخ بالطريقة المحافظة فإن سلسلتى الحلزون الجديد المتكون ستكونان موسومتين بينما يبقى الحلزون المزدوج الأصلى دون أى وسم.

أما إذا كان التناسخ بالطريقة شبه المحافظة فإن الحلزون الجديد الناتج من السلسلتين هو الذى يظهر موسوما.



شكل (١-١٤): الطرق المحتملة لتناسخ الـــ د ن أ

ومن ناحية أخرى إذا نمينا حلزونا موسوما فى بيئة غير مشعة فإن الحلزون المزدوج الناتج عن التناسخ سوف تكون سلسلتيه غير موسومتين إذا ما تكاثر

www.zera3h.com
zera3h

بالطريقة المحافظة بينما سيكون الحلزون موسوما جزئيا أو هجينا Hybrid إذا كان التناسخ بالطريقة شبه المحافظة. ويمكن بترك الجزئ الهجين يتكاثر فى البيئة غير المشعة وملاحظة ظهور وسم عشوائى تقدير ما إذا كان التكاثر يتم بالطريقة التشتتية أم لا.

قام ميسلسون وشتال Meselson and Stahl عام ١٩٥٨ بتنمية بكتيريا إ. كولاى على بيئة تحتوى النيتروجين الثقيل (^{15}N) كمصدر وحيد للنيتروجين ولأجيال متعددة ثم استخلاص الـ د ن أ من الخلايا النامية فوجد أنه موسوم بـ ^{15}N . وبأخذ هذه الخلايا الموسومة الـ د ن أ وتنميتها على بيئة غير مشعة واستخلاص د ن أ خلايا الجيل التالى، ظهر أنها تحمل كل من ^{15}N و ^{14}N (النظير العادى) فى نفس الوقت بمعنى أنه هجين Hybrid وهذا يعنى أن د ن أ لم يتناسخ بالطريقة المحافظة.

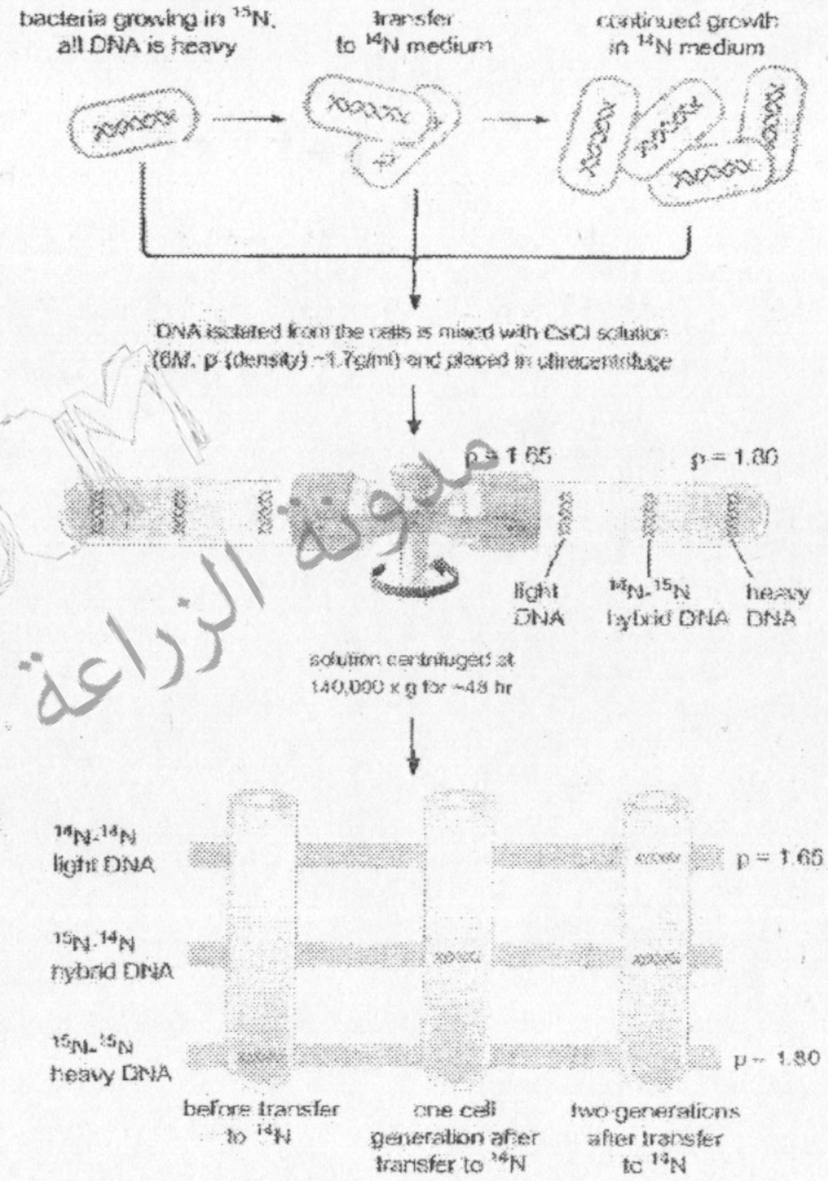
ولتحديد ما إذا كان التناسخ يتم بالطريقة شبه المحافظة أو الطريقة التشتتية تركت الخلايا لتتكاثر جيلا آخر على البيئة غير المشعة ثم استخلاص الـ د ن أ منها فوجد أن كمية الـ د ن أ غير الموسومة قد تكونت بكمية مساوية لكمية الـ د ن أ الهجين. إضافة إلى ذلك فقد أوضح النمو لأجيال إضافية زيادة نسبية فى كمية الـ د ن أ غير الموسوم.

وهذا يدل على أن الـ د ن أ المتكون حديثا لا يشتمل على توسيم بطريقة عشوائية وأنه يتكون دائما بغض النظر عن وجود د ن أ هجين وبهذا استبعد أن يكون التكاثر بالطريقة التشتتية وأنه يتم بالطريقة شبه المحافظة.

إضافة إلى ذلك فتعريض الـ د ن أ الهجين للطرد المركزى ذو السرعة العالية Ultracentrifugation لمدة ٢٠-٥٠ ساعة بعد إضافة كلوريد السيزيوم CsCl له وجد أنه يتخذ مكانا فى المنتصف تماما بين المكان الذى يتخذه ^{15}N والمكان

الذى يتخذه ^{14}N . وعلى أساس التكاثر بالطريقة شبه المحافظة، فبعد الجيل الثانى أى فى الوقت الذى تكاثر فيه الـ د ن أ مرة ثانية يجب أن يكون نصفه محتويا على ^{14}N والنصف الآخر هجينى وعليه ففى أنبوبة الطرد المركزى يجب مشاهدة شريطين من الـ د ن أ أحدهما يقع فى الموقع الوسطى (أى فى المكان بين الـ ^{15}N-DNA ، ^{14}N-DNA) والآخر تأخذ المكان المحدد للـ د ن أ (^{14}N-DNA) وهذا ما أثبتته التجربة فعلا مما يؤيد أن التكاثر يتم بالطريقة شبه المحافظة. ويمكن التعبير عن ذلك بالشكل التخطيطى التالى (١-١٥).

ZERA3H.COM مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

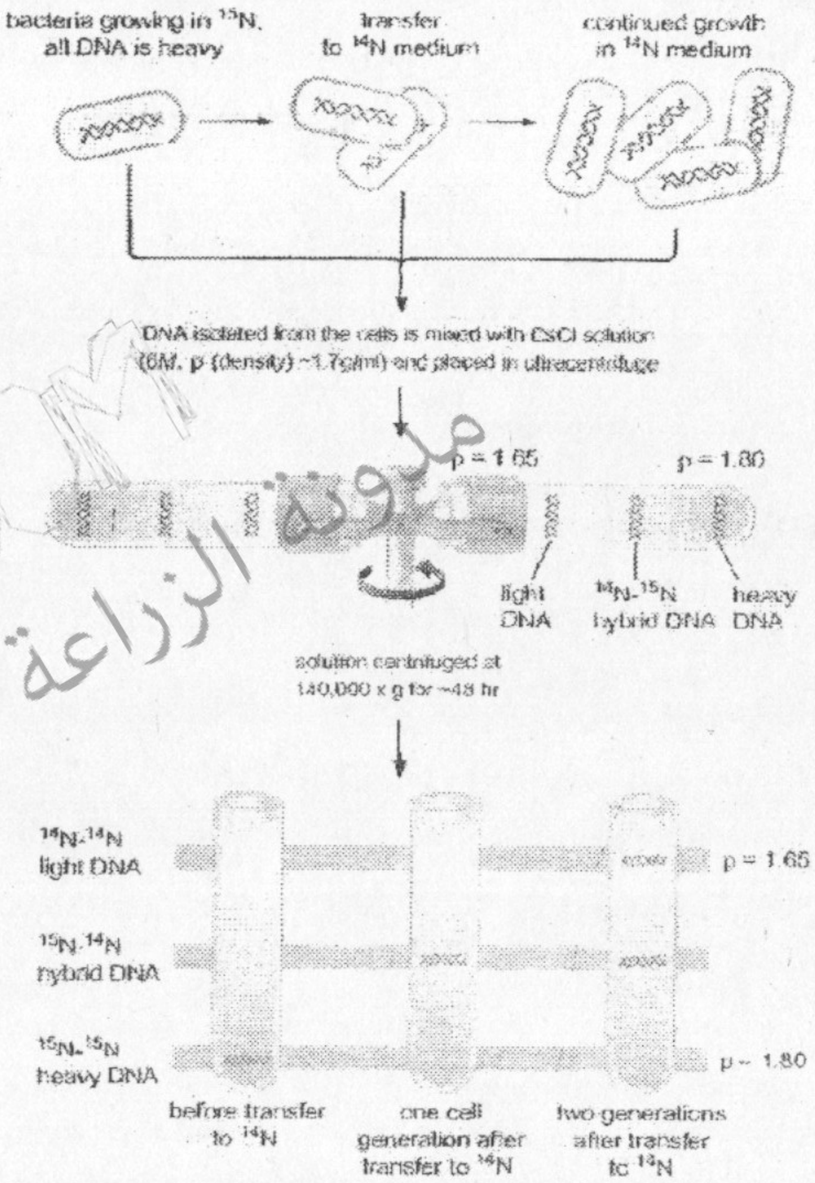


شكل (١-١٥) : رسم تخطيطى لتجربة ميسلسون وشتال

وقد أوضح تيلور Taylor وزملاؤه عام ١٩٥٧ أن كروموسومات نبات الفول تتكاثر مثلها مثل جزيئات الـــ د ن أ بالطريقة شبه المحافظة، وقد كانت وسيلتهم فى ذلك زراعة بادرات الفول فى بيئة تحتوى على الثيميدين المشع ^{3}H-Thymidine وبذلك يمكن وسم كروموسومات خلايا القمة النامية بالعنصر المشع. ثم بالسماح لهذه الكروموسومات الموسومة بالانقسام فى وجود مادة الكولشيسين (التى لا تمنع تكاثر الكروموسوم ولكن تمنع تكوين خيوط المغزل ومن ثم تمنع انفصال السنترومير وبالتالى تبقى نواتج تكاثر الكروموسوم ملتصقة عند السنترومير ولا تنفصل عن بعضها)، بزراعة البادرات الموسومة كروموسوماتها لفترة تسمح بتكاثرها لمرة واحدة فى بيئة تحتوى العنصر المشع أو بيئة لا تحتويه ومتابعة درجة الوسم فيها بواسطة التصوير الإشعاعى الذاتى، وجدوا أن السماح بالانقسام فى بيئة مشعة ينتج كروموسومات مشعة كلها موسومة أما السماح بالانقسام فى بيئة غير مشعة فينتج عنه أن نصف الكروموسومات الناتجة كانت موسومة أما النصف الآخر فلم يكن موسوما. وفى حالة ما إذا تركت الكروموسومات لتنقسم انقسامين متتاليين فى بيئة غير مشعة فإن ربع الكروموسومات الناتجة فقط كان موسوما والباقى غير موسوم وهذا دليل قاطع على أن الكروموسومات تتكاثر بالطريقة شبه المحافظة فقط وتبدو أيضا على أنها توجد فى تركيب مزدوج كالحلزون المزدوج للـــ د ن أ.

وقدمت تجارب كيرنز Cairns عام ١٩٦٣ دليلا على أن التكاثر النسخى يتم بالطريقة شبه المحافظة فى كل من سلسلتى د ن أ كروموسوم بكتريا إ. كولاى عن طريق فك الحلزنة. ومن المعروف أن هذه البكتريا تحتوى على كروموسوم واحد دائرى الشكل وذو حلزون مزدوج . وأوضح كيرنز باستعمال العناصر

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h



شكل (١-١٥) : رسم تخطيطى لتجربة ميسلسون وشتال

مدونة الزراعة

وقد أوضح تيلور Taylor وزملاؤه عام ١٩٥٧ أن كروموسومات نبات الفول تتكاثر مثلها مثل جزيئات الـــ د ن أ بالطريقة شبه المحافظة، وقد كانت وسيلتهم فى ذلك زراعة بادرات الفول فى بيئة تحتوى على الثيميدين المشع ^{3}H-Thymidine وبذلك يمكن وسم كروموسومات خلايا القمة النامية بالعنصر المشع. ثم بالسماح لهذه الكروموسومات الموسومة بالانقسام فى وجود مادة الكولشيسين (التى لا تمنع تكاثر الكروموسوم ولكن تمنع تكوين خيوط المغزل ومن ثم تمنع انفصال السنترومير وبالتالى تبقى نواتج تكاثر الكروموسوم ملتصقة عند السنترومير ولا تنفصل عن بعضها)، بزراعة البادرات الموسومة كروموسوماتها لفترة تسمح بتكاثرها لمرة واحدة فى بيئة تحتوى العنصر المشع أو بيئة لا تحتويه ومتابعة درجة الوسم فيها بواسطة التصوير الإشعاعى الذاتى، وجدوا أن السماح بالانقسام فى بيئة مشعة ينتج كروموسومات مشعة كلها موسومة أما السماح بالانقسام فى بيئة غير مشعة فينتج عنه أن نصف الكروموسومات الناتجة كانت موسومة أما النصف الآخر فلم يكن موسوما. وفى حالة ما إذا تركت الكروموسومات لتنقسم انقسامين متتاليين فى بيئة غير مشعة فإن ربع الكروموسومات الناتجة فقط كان موسوما والباقى غير موسوم وهذا دليل قاطع على أن الكروموسومات تتكاثر بالطريقة شبه المحافظة فقط وتبدو أيضا على أنها توجد فى تركيب مزدوج كالحلزون المزدوج للـــ د ن أ.

وقدمت تجارب كيرنز Cairns عام ١٩٦٣ دليلا على أن التكاثر النسخى يتم بالطريقة شبه المحافظة فى كل من سلسلتى د ن أ كروموسوم بكتريا إ. كولاى عن طريق فك الحلزنة. ومن المعروف أن هذه البكتريا تحتوى على كروموسوم واحد دائرى الشكل وذو حلزون مزدوج . وأوضح كيرنز باستعمال العناصر

www.zera3h.com
zera3h

عملية التصنيع كما أنهم أثبتوا أن الأنزيم يعمل على تجميع وحدات النوتيدات الحرة المضافة لتتحد فى سلسلة الـــ د ن أ. وبإستعمال إنزيمات مختلفة من الـــ Phosphodiesterases تؤدى إلى روابط الاستربين الفوسفات والسكر فى سلسلة الـــ د ن أ عند الموقع ٥′ أو ٣′ وأوضحوا أن الجزئ الجديد ينمو بإضافة نوتيدات إلى مجموعة الهيدروكسيل عند موقع ذرة الكربون رقم ٣′ فى السكر عند أحد أطراف السلسلة.

وبطرق مشابهة أوضح جوسى وكيرز وكورنبرج Josse, Kaiser and Kornberg عام ١٩٦١ أن هناك فرق فى التوجيه بين السلسلتين المكملتين فى حلزون الـــ د ن أ تكون من نتيجة أن السكر فى سلسلة يكون موجها فى اتجاه معاكس للسكر فى السلسلة الأخرى. وذلك بوسم الأربعة نوتيدات بالفسفور المشع وتحضين كل واحدة موسومة مرة فى المخلوط الذى يتكون من نفس القالب مع الثلاثة نوتيدات الأخرى الثلاثية الفوسفور الغير موسوم ثم تكسير الـــ د ن أ الناتج بإنزيمات الـــ Diesterases وأوضحت النتائج أن تكرار قاعدتين متتاليتين من الثيمين two Consecutive T خلال سلسلة فردية من د ن أ يكون مصحوبا بتكرار مماثل لقاعدتين متتاليتين من (A) والعكس صحيح. ووجدت نفس العلاقة بين G, C مما يدل على التكامل بين القواعد فى سلسلتى د ن أ. وتشير نتائج التجارب المختلفة فى الأنبوب أيضا إلى أن قالب الـــ د ن أ يقوم بقيادة عملية التصنيع Master copy ليكون صورة طبق الأصل له فقد وجد ارتباط بين نسبة القواعد فى النوتيدات المصنعة حديثاً مع تلك الموجودة فى القالب المستعمل للتصنيع مما يؤيد ازدواج القواعد Base pairing وكذلك وجد أن غياب أحد النوتيدات من بيئة التصنيع يؤدى إلى وقف عملية التصنيع، دلالة على أن

الاستنساخ يتم دون فواصل مع ضرورة ازدواج القواعد وضرورة وجود كل من الأربعة نوتيدات.

كذلك اتضح أن الاستعمال سلاسل فردية ناتج من المعاملة الحرارية للحلزون المزدوج كقالب تكون أكثر كفاءة فى عملية التصنيع عن استعمال الحلزون المزدوج، وهذا يعنى أن تصنيع الـــ د ن أ يتم من خلال الازدواج المباشر للقواعد. وقد نجحت عملية تصنيع الـــ د ن أ باستعمال مثيلات القواعد Base analogues بدلاً من القواعد ذاتها فى محلول التصنيع مثل (5-bromouracil, 5-methyl cytosine) حيث أن الـــ 5-bromouracil يحل محل اليوراسيل، والـــ 5-fluorouracil يحل محل الثيمين، ولكن استعمال هذه المثيلات بدلاً من قواعد لا تقابلها (أى ليست مثيلتها). مثل إحلال خماسى البروموبوراسيل محل الأدنين أو السيتوسين يمنع من عملية التصنيع. وتشير هذه النتائج إلى أن الرابطة الهيدروجينية بين القالب والنوتيدة المكملة المضافة يضع قيودا على المثيل الذى يمكن أن يحل محل القاعدة الأصلية وأن القالب وهو على صورته المفردة يدخل فى محلول التصنيع.

ومن النتائج المثيرة للدهشة أنه أمكن فى غياب القالب وبعد فترة خمسة ساعات من بدء تصنيع سلاسل متعددة من النوتيدات من الـــ د ن أ والتى تبدو وكأنها حلزون مزدوج عادى وأمكن تصنيع د ن أ لا يوجد له مقابل فعلى فى الكائنات الحية وهناك مثالين على هذه البوليمرات الصناعية هما DNA polymers of adenine-thymine ويرمز له بالرمز dAT و DNA polymers of adenine bromouracil ويرمز له بالرمز dABU يبدو تسلسل القواعد فى كل من السلسلتين المزدوجتين فى هذه البوليميرات تبادلياً أى ATA ABU ABUA وأوضحت تجارب ويك وبلدوين Wake and Baldwin

www.zera3h.com
zera3h

عام ١٩٦٢ أنه باستعمال dABU كقالب. فى محلول التصنيع يحتوى على نوتيدات من الأدينين والثيمين لإنتاج جزيئات هجينة التسلسل فى سلسلة منها dABU وتسلسل السلسلة الأخرى المتكونة حديثا هو dAT.

وأوضحت الدراسات باستعمال انزيم كورنبرج والذى يسمى أيضا Polymerase I أنه يصنع الـــ د ن أ من الموقع ٥′ وفى اتجاه ٣′ ويوضح شكل رقم (١-١٧) تتالى فك الحلزنة لقالبين A,B والذى فيه يتم تصنيع أجزاء ٣′ → ٥′ مكملة للسلسلة الأبوية A التى إتجاها ٥′ → ٣′ ومن ناحية أخرى نجد أن أنزيم البلمرة يمكنه أن يصنع على السلسلة A سلسلة مكملة غير مكسرة بغض النظر عن مدى فك الحلزنة فى الحلزون المزدوج.

مدونة الزراعة

جهاز التناسخ (التكرار) المعقد

The Complex "Replication" Apparatus

لقد أوضحت دراسات ميكانيكية تناسخ المادة الوراثية (د ن أ) أنها عملية معقدة، ما زال العلماء حتى الآن يحاولون التوصل إلى تفاصيل هذه الميكانيكية التى تتم بواسطة معقد متعدد الانزيمات والذى يسمى جهاز أو ماكينة التناسخ أو الريبليسوم Replication apparatus or Replisome ، وقد ابتدأ حديثاً فى التعرف على مكونات ماكينة التناسخ فى الكائنات مميزة النوى بعد أن وجد أنه فى بكتيريا القولون يحتاج تناسخ الـــ د ن أ إلى نواتج ١٢ جيناً على الأقل، أمكن عزل وتنقية نواتج الكثير منها. كما سبق ذكره، فإن خيطى الـــ د ن أ لهما قطبية متعاكسة أى أن أحدهما فى الاتجاه ٥′ → ٣′ والآخر فى اتجاه ٣′ → ٥′ كما أن كل انزيمات بلمرة الـــ د ن أ المعروفة تتطلب لعملها وجود مجموعة ٣′ هيدروكسيل (3-OH) حرة وهى تقوم بالبناء فى اتجاه واحد فقد هو ٣′ → ٥′ وكذلك تجمعت الأدلة القوية التى تؤكد أن جميع البناء تم فى أتجاه ٣′ → ٥′ ولتوضيح كيفية حدوث ذلك اتضح ان بناء أحد خيوط الـــ د ن أ (المتلكئ) يكون متقطعا أو غير مستمر Lagging Strand بينما الخيط الأخر يكون بناؤه مستمراً ويسمى بالقائد Leading Strand. فالخيط الممتد فى الاتجاه ٥′ → ٣′ ينمو بواسطة بناء قطع قصيرة مبنية فى الاتجاه ٣′ → ٥′ وبعد ذلك يحدث ربط هذه الاجزاء الصغيرة بأنزيم الليجيز ٣′ → ٥′ وهذه القطع تسمى بشظايا أوكازاكى Okazaki fragments وطولها فى الكائنات غير مميزة النوى يتراوح ما بين ١٠٠٠-٢٠٠٠ نوتيدة بينما فى الكائنات مميزة النوى فهو يتراوح ما بين ١٠٠-٢٠٠ نوتيدة.

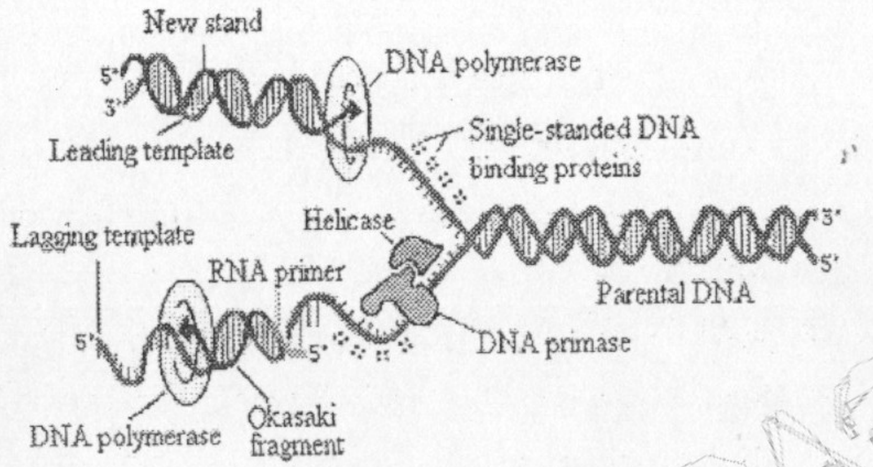
www.zera3h.com
zera3h

وحيث أن أنزيمات بلمرة الـــ د ن أ التى تحتاج فى عملها إلى مجموعة OH حرة يلزمها بادئ من الـــ د ن أ وكذلك خيط الـــ د ن أ يعمل كقالب وحيث أنه لا يوجد أنزيم لبلمرة الـــ د ن أ يستطيع أن يبدأ عملية البناء لخيط جديد ولما كان أنزيم RNA polymerase يمكنه بناء جزيئات ر ن أ من قوالب الـــ د ن أ على مواقع محددة لذلك فإن عملية بناء الـــ د ن أ تبدأ بواسطة بوادئ RNA قصيرة يتم التخلص منها فيما بعد بواسطة نشاط أنزيم إكسونيوكليز ٣` ← ٥` ويحل محلها الـــ د ن أ بواسطة نشاط أنزيم البلمرة ويساعد فى تخليق بادئ الـــ ر ن أ إنزيمات تسمى باسم بريميز Primases التى تنتج فى إ. كولاى بواسطة الموقع الجينى *dna*-G ووجد أن طول بادئ الـــ ر ن أ فى الكائنات غير مميزة النوى بين ١٠-٦٠ نوتيدة بينما فى الكائنات مميزة النوى فإنه يكون قصيرا جدا حوالى ١٠ نوتيدات فقط. وبذلك نرى أن عملية التناسخ تحتاج إلى نواتج مجموعة من الجينات ضرورية لبناء د ن أ مثل *dna* A و *dna* B ... إلخ فمثلا *dna* Z ، *dna* X ، *dna* N ، *dna* E تشفر لأربعة وحدات (عديدة الببتيدات) لأنزيم DNA polymerase III.

ميكانيكية تناسخ الـــ د ن أ فى بكتيريا إ. كولاى

عند تناسخ أى جزئ من الـــ د ن أ فإن منطقة محددة فيه هى التى تكون فى حالة عدم تزاوج. وفك أو تكسير الروابط بين القواعد يبدأ عند منطقة معينة تسمى منشأ التناسخ Origin of Replication ثم يستمر تدريجيا على طول الجزئ ربما فى الاتجاهين وتصنع السلاسل الجديدة بمجرد فك سلسلتى الحلزون المزدوج.

والمنطقة الهامة التى تنكسر عندها الروابط الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية فى جزئ الـــ د ن أ الأبوى أو الأصلى والتى عندها يبدأ تكوين السلاسل الجديدة تسمى بـــ شوكة التناسخ Replication fork .



شكل (١-١٧) : يوضح الإنزيمات التى تشترك فى تناسخ

إنزيم بلمرة الـــ د ن أ :

إن أى أنزيم له القدرة على تكوين سلسلة نوتيدات جديدة من الـــ د ن أ يسمى بإنزيم بلمرة الـــ د ن أ وذلك عن طريق ربط النوتيدات بروابط كيماوية وإضافتها إلى سلاسل د ن أ سابقة التكوين. وأثناء البلمرة فإن مجموعة الهيدروكسيل (3`-OH group) الموجودة عند ذرة الكربون رقم ٣` فى السكر لنوتيدة تتفاعل مع مجموعة الفوسفات الموجودة عند ذرة الكربون رقم ٥` 5`-P group للنوتيدة الثانية لتكون رابطة فوسفات ثنائية الأستر

www.zera3h.com
zera3h

phosphodiester وينتج عن ذلك فقدان جزئ Pyrophosphate لكل رابطة وعلى ذلك فإتجاه البلمرة يكون ٣' ← ٥' ويتحدد تتابع النوتيدات فى السلسلة الجديدة تبعا للتتابع الموجود فى خيط القالب وبحيث تكون القواعد مكملة لبعضها.

إنزيمات بلمرة الـــ د ن أ I, III :

DNA polymerase I and DNA polymerase III

فى عام ١٩٥٧ تمكن آرثر كورنبرج Arther Kornburg وزملاؤه من عزل إنزيم من بكتريا *E. coli* قادر على تخليق خيط د ن أ مكمل لقالب من الـــ د ن أ وعلى هذا فقد اعتقد أن هذا الانزيم هو انزيم بلمرة الـــ د ن أ المسئول عن تناسخ الـــ د ن أ فى الخلايا البكتيرية. ولكن الدراسات على هذا الانزيم أظهرت حقائق لا تتفق مع هذا الاعتقاد، وكان أكثر هذه الحقائق وضوحا ما تم اكتشافه فى عام ١٩٦٩ إن طفرت إ. كولاى تحتوى على الجين الخاص بهذا الانزيم والذى يسمى انزيم بلمرة د ن أ (I) فى صورة غير فعالة ولكن هذه الخلايا الطافرة لم تفقد قدرتها على تناسخ الـــ د ن أ . وبالرغم من ذلك فإنزيم بلمرة الـــ د ن أ (I) يشترك فى عملية تناسخ الـــ د ن أ إلا أنه ليس الانزيم الأساسى فى عملية التناسخ. وقد اكتشف الانزيم الاساسى المسئول عن عملية تناسخ الـــ د ن أ فى إ. كولاى وتم عزله عام ١٩٧٢ وسمى انزيم بلمرة الـــ د ن أ DNA polymerase (III) ووجد أن هذا الانزيم ضخم ويتكون من عدد من الوحدات يتراوح ما بين ١٠-٢٠ ، ووزنه الجزئى يفوق ٢٥٠٠٠٠ دالتون. وعموما فإنه يعرف الآن فى بكتيريا إ. كولاى ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة الـــ د ن أ وهى:

أ- DNA polymerase I ووزنه الجزئى ١٠٩٠٠٠ دالتون ويبلغ عدد جزيئاته فى الخلية ٤٠٠ تقريبا ويقوم بتناسخ الـــ د ن أ وكذلك إصلاح الجين الطافر.

ب- DNA polymerase II ووزنه الجزئى ١٢٠٠٠ دالتون ولا يعرف للآن عدد جزيئاته فى الخلية أو وظيفة محددة له.

ج- DNA polymerase III ووزنه الجزيئى أكثر من ٢٥٠٠٠٠ دالتون ويتراوح عدد جزيئاته فى الخلية بين ١٠ و ٢٠ جزئ ووظيفته القيام بعملية تناسخ الـــ د ن أ.

خطوات عملية التناسخ:

كان لتضافر مجهودات العديد من علماء الوراثة الجزيئية والكيمياء الحيوية فى جميع أنحاء العالم خلال سنوات عديدة الفضل فى توضيح الميكانيكية المعقدة لعملية التناسخ التى تشترك فيها عدد من الانزيمات والبروتينات الاخرى على النحو التالى:

أ- تكسير الروابط وفك الحلزون المزدوج الأبوى:

أثناء عملية التناسخ يكون هناك احتياج مستمر لتكسير الروابط التى تربط القواعد الموجودة بين الخيطين المتكاملين فى جزئ الـــ د ن أ الأبوى. ويقوم بهذه العملية إنزيم يعرف بالهليكيز Helicase ويعمل بالتعاون مع بروتينات تسمى Single-strand binding proteins وهذه البروتينات ترتبط بسلسلة الـــ د ن أ الفردية الناتجة عن تأثير إنزيم الـــ Helicase وتمنع السلسلتين من التزاوج مرة أخرى وبذلك تنتج شوكة التزاوج Replication fork التى توفر القالب الذى يمكن انزيم DNA polymerase III من القيام بعمله.

www.zera3h.com
zera3h

ب- تناسخ سلسلة الخيط القائد Leading strand وسلسلة الخيط المتلكئ Lagging strand:

إن الخيطين والسلسلتين المنفصلتين من الجزئ الأبوى لا يمكن التعامل معهما بنفس الطريقة وهذا يرجع إلى أن أنزيم بلمرة د ن أ (III) لا يمكنه تكوين د ن أ إلا فى الاتجاه ٣` → ٥` وهذا يعنى أن سلسلة أو خيط القالب يجب أن يقرأ ٣` ←٥` وعليه فإن ذلك لا يسبب أى مشكلة بالنسبة لأحد خيطى الـــ د ن أ الأبوى المسمى بالخيط القائد لأن سلسلة النوتيدة الجديدة يمكن أن تكون مستمرة اما بالنسبة إلى الخيط الثانى أو ما يسمى بالخيط المتلكئ فلا يمكن له أن يتناسخ بطريقة مستمرة إذ أن ذلك يستلزم التخليق فى الاتجاه ٣` ← ٥` وعليه فإن الخيط التابع يجب أن يتناسخ فى صورة مقاطع حيث تنفرج سلسلتى الـــ د ن أ الأبوى فى منطقة معينة وتتناسخ قطعا صغيرة من الخيط المتلكئ ثم ينفصل أو ينفرج جزء آخر من الحلزون وتتناسخ كما فى شكل (١-١٧).

الـــ DNA فى إ. كولاى

وقد تأكدت صحة هذه الطريقة التى كانت مجرد نظرية عندما تمكن Reiji Okazaki عام ١٩٦٨ من عزل قطع صغيرة من الـــ د ن أ طولها يتراوح بين ١٠٠-١٠٠٠ نوتيدة يرتبط وجودها بتناسخ الـــ د ن أ.

ج- البادئ ووصل قطع أوكازاكى ببعضها:

انزيم بلمرة الـــ د ن أ (III) لا يستطيع أن يبدأ تصنيع الـــ د ن أ فى عدم وجود بادئ Primer أى قطعة صغيرة من الـــ د ن أ المزدوج ويختلف فى ذلك عن انزيم بلمرة الـــ ر ن أ فكيف إذن يمكن أن يبدأ عملية تكوين الخيط الجديد من الـــ د ن أ أثناء عملية التناسخ؟

يبدو أن النوتيدات الأولى سواء فى الخيط القائد أو الخيط المتلكئ لا تكون ديوكسيه Deoxribonucleotides ولكنها تكون ريبوكسيه ويساعد فى ذلك انزيم بلمرة ر ن أ وبمجرد أن يتكون عدد قليل يتراوح بين ٦ ~ ٣٠ ريبونوتيده (البادئ) يبتعد انزيم بلمرة الـــ ر ن أ وتستكمل بلمرة الـــ د ن أ بواسطة أنزيم DNA polymerase III ويسمى أنزيم بلمرة الـــ ر ن أ الذى يقوم بتكوين البادئ بالبريميز Primase ويتكون فى إ. كولاى من جزئ متعدد الببتيدات ووزنه الجزئ ٦٠٠٠٠ دالتون وبذلك يكون مختلفا عن إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ الذى يعمل فى عملية النسخ Transcription ويعمل انزيم الـــ Primase بالتعاون مع عدد من البروتينات الأخرى (٦ أو أكثر) مكونا مركبا يسمى الـــ Primosome فى الخيط المتلكئ ويستمر إنزيم بلمرة الـــ د ن أ (III) فى تكوين الـــ د ن أ لمسافة قصيرة فقط حتى يصل إلى بادئ الـــ ر ن أ عند الطرف الـــ ٥` لقطعة أوكازاكى التالية وهنا يتوقف إنزيم بلمرة الـــ د ن أ (III) ويبدأ إنزيم بلمرة الـــ د ن أ (I)

www.zera3h.com
zera3h

فى العمل لتكملة تناسخ الـــ د ن أ وذلك بإزالة نوتيدات البادئ من قطعة أوكازاكى التالية وإضافة دى أوكسى نوتيدات محلها وهنا يقف عمل انزيم بلمرة الـــ د ن أ (I) وينفصل عن الحلزون المزدوج ويكتمل تناسخ الخيط المتلكئ بوصل قطع أو شظايا أوكازاكى ببعضها عن طريق رابطة فوسفات ثنائى الايستر بمساعدة انزيم DNA ligase.

د- فك الألتفاف للحلزون الأبوى :

إن النظام السابق ذكره لعملية التناسخ يفسر تناسخ الخيط القائد والخيط المتلكئ لجزئ الـــ د ن أ الأبوى وينتج عنه حلزونين مزدوجين ولكن نظرا لأن الخيطين المكونين للحلزون الأبوى يكونان ملتفين حول بعضهما مما يعنى أن تقدم شوكة التناسخ على طول الجزئ الابوى يحتاج إلى أن ينفصل الخيطين عن بعضهما وكذلك أيضا أن يفك الالتفاف فكيف يتم ذلك خاصة إذا علمنا أن طول جزئ الـــ د ن أ فى بكتيريا إ. كولاى يبلغ ٤٠٠٠ كيلو قاعدة أو ٤٠٠٠٠ لفة فى الحلزون وهذا الجزئ يتناسخ فى فترة ٢٠ دقيقة فقط أى أن الحلزون المزدوج يلف بمعدل ٢٠٠٠٠ لفة فى الدقيقة ولكن اكتشاف مجموعة انزيمات د ن أ Topoisomerases أدى إلى تفسير هذه المشكلة.

تعرف انزيمات DNA Topoisomerases بأنها الانزيمات التى تعمل على فك إلتفاف خيطى الحلزون المزدوج بدون دوران الحلزون. وتتم هذه العملية عن طريق إحداث كسر مؤقت فى السلسلة عديدة النوتيدات ويوجد من هذه الانزيمات نوعين:

١- Topoisomerases (Type I) وهى تقوم بكسر سلسلة واحدة عديدة النوتيدات وتمرر الخيط الآخر من الفجوة قبل أن تعيد الالتحام.

٢- Topoisomerases (Type II) وتشمل إنزيم الـــ DNA gyrase وتسبب كسراً فى السلسلتين متعددة النوتيدات فى أماكن متجاورة.

أى أن كلا النوعين من الـــ Topoisomerases يؤدوا إلى نفس النتيجة وهى فك الألتفاف فى أجزاء الـــ د ن أ التى تسبق شوكة التناسخ لتسمح لها أن تتقدم على طول جزئ الـــ د ن أ . ومن مميزات إنزيمات DNA Topoisomerases أنه يمكنها ايضا أن تقوم بتفاعل عكسى أى أن تزيد عدد اللفات فى جزئ الـــ د ن أ لتنتج الحلزنة الفائقة Supercoiling.

تناسخ الـــ د ن أ فى الكائنات مميزة النوى:

يتم تناسخ الـــ د ن أ بطريقة متماثلة فى كل الكائنات والأحداث التى وصفت فى حالة البكتيريا إ. كولاى تحدث أيضا فى الكائنات مميزة النوى إلا أن خلايا الثدييات تحتوى على خمسة أنواع مختلفة من انزيمات بلمرة الـــ د ن أ DNA Polymerases وهى ε و δ و8 و β و α .

انزيمات بلمرة د ن أ δ و α يختصان بتناسخ الـــ د ن أ النووى ولكن دورهم غير معروف حتى الآن بالضبط. ويرجح أن إنزيم δ يعمل على تناسخ الخيط القائد أما إنزيم α فيقوم بتناسخ الخيط المتلكئ.

وإنزيم بلمرة الـــ د ن أ α له فاعلية أخرى تماثل عمل الـــ Primase وتؤدى إلى تكوين بادئ الـــ RNA لكل قطعة أوكازاكى وهذا يشير إلى أن الـــ Primosome إما أن يكون غائبا فى مميزات النوى أو أنه يقوم بتأدية وظيفة مختلفة.

كما يوجد أيضا إختلاف آخر وهو أن إنزيمات بلمرة د ن أ δ و α لا يملكان خاصية الـــ الأكسونيوكلييز ٥' ← ٣' المطلوبة لإزالة بادئات الـــ ر ن أ من الخيط المتلكئ.

www.zera3h.com
zera3h

وفيما يلى أنواع إنزيمات بلمرة د ن أ فى خلايا الثدييات ووزنها الجزيئى ووظيفتها:

إنزيم بلمرة الـ د ن أ	الوزن الجزيئى (دالتون)	الوظيفة
α	<٥٠٠,٠٠٠	تناسخ الـ د ن أ النووى
β	٤٠,٠٠٠	إصلاح الـ د ن أ
8	١٤٠,٠٠٠	تناسخ د ن أ الميتوكوندريا
δ	١٧٣,٠٠٠	تناسخ الـ د ن أ النووى
ε	٢١٥,٠٠٠	إصلاح الـ د ن أ ؟

مدونة الزراعة ZERA3H.COM

ويوضح الجدول التالى بعض الفروق فى تناسخ د ن أ بين الكائنات غير مميزة النوى والكائنات مميزة النوى.

وجه المقارنة	غير مميزة النوى	مميزة النوى
طول بادئ ر ن أ	~ ٦-٣٠ نيوتيدة	~ ٩-١٠ نيوتيدة
طول شظايا أوكازاكى فى الخيط التابع	~ ١٠٠٠-٢٠٠٠ نيوتيدة	~ ٢٠٠ نيوتيدة
معدل سرعة تحرك شوك التناسخ	٥٠٠ نيوتيدة فى الثانية	٥٠ نيوتيدة فى الثانية
عدد مناشئ التناسخ	واحد فقط	عدة آلاف
ميكانيكية منع إعادة بدء التناسخ فى نفس دورة الخلية	لا توجد	توجد

وقد أمكن إثبات وجود بدايات Origin متعددة للتناسخ فى كل جزئ من الـ د ن أ فى مميزة النوى بطريقة وسم الـ د ن أ فى كروموسومات هذه الكائنات بالثيميدين المشع لفترة وجيزة ثم استخلاصه من الكروموسومات وتعريضه للتصوير الاشعاعى الذاتى الذى أوضح ظهور مجاميع مترادفة فى النشاط الاشعاعى مؤكدا تعدد بدايات التناسخ فى كل جزئ ومفسرا للتوقع النظرى لوجود ٧٠٠٠ شوكة تناسخ موزعة على مسافات متساوية على طول جزئ الـ د ن أ فى الكروموسوم الأكبر فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر ليفسر التناسخ فى أجنة الدروسوفلا خلال من ٣-٤ دقائق (جزئ الـ د ن أ فى هذا الكروموسوم طوله ٧,٥ × ١٠^٧ زوج من النوتيدات ومعدل التناسخ ٢٦٠٠ زوج من النوتيدات فى الدقيقة مما يستلزم وجود ٧٠٠٠ شوكة تناسخ).

www.zera3h.com
zera3h

التنظيم البنائى للمادة الوراثية داخل الكروموسوم

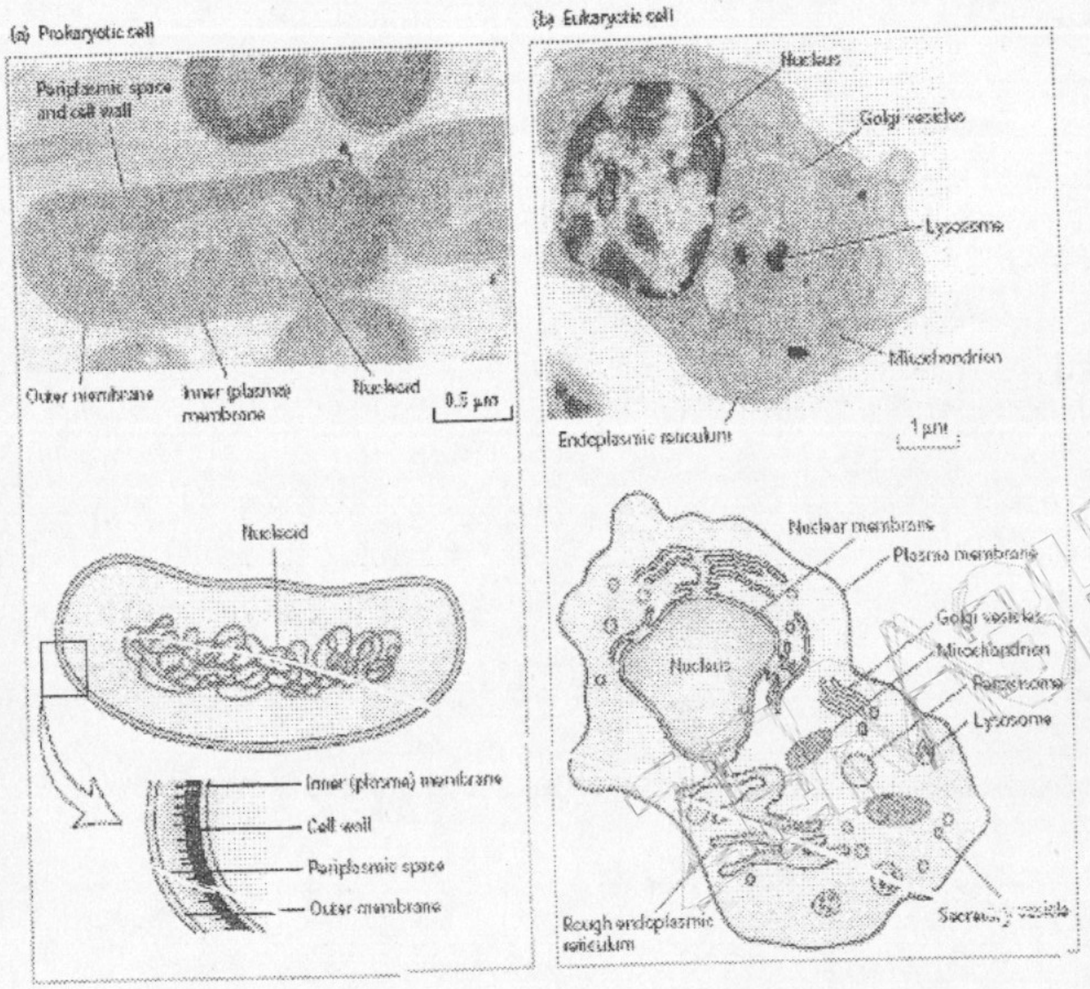
Structural Organization of the Genetic Material in the Chromosomes

إن الفرق المميز بين الكائنات غير مميزة النوى كالبكتريا وغيرها والكائنات مميزة النوى كالإنسان مثلا، يرجع أساساً إلى الإختلاف فى التركيب الداخلى للخلية. فالخلية فى الكائنات مميزة النوى تكون معقدة التركيب بها نوى لها غشاء نووى يفصل محتوياتها عن السيتوبلازم – وهذه النوى تحتوى على المادة الوراثية. أما الخلية فى الكائنات غير مميزة النوى فلا يوجد بها نوى مميزة أى لا يوجد غشاء نووى يُفصل المادة الوراثية عن باقى مكونات الخلية ولذلك يفضل إستخدام لفظ نيوكلويد Nucleoid لوصف المنطقة المحتوية على المادة الوراثية أى الـ د ن أ فى الكائنات الغير مميزة النوى.

تركيب نيوكلويد البكتريا (غير مميزة النوى):

أظهرت صور الميكروسكوب الألكترونى أن خلية بكتريا إ.كولاى تحتوى على منطقتين مميزتين: منطقة وسطية تسمى نيوكلويد (تحتل حوالى ثلث الخلية) ويحيط بالنيوكلويد منطقة السيتوبلازم شكل (٢–١). ولقد كانت معظم مراجع البيولوجيا حتى وقت قريب تعطى صورة خاطئة لكروموسوم الكائنات غير مميزة النوى، فهى تصف هذه الكروموسومات كجزئيات د ن أ معراة (Nacked molecule of DNA) على العكس من كروموسومات الكائنات مميزة النوى التى ترتبط ببروتينات وتتميز بتركيب مورفولوجى معقد. إلا أنه قد ثبت حديثاً أن النيوكلويد nucleoid مكون من د ن أ وبروتينات والـ د ن أ عبارة عن جزئ واحد حلقى ويحتوى على ٩٩- ١٠٠% من جينات الخلية البكتيرية. ويبلغ محيط جزئ الـ د ن أ فى بكتريا الـ إ.كولاى حوالى ١ ملليمتر أو ١١٠٠ميكرون وحيث أن الخلية الـ إ. كولاى قطرها ١–٢ ميكرون فإنه من الواضح أن الكروموسوم أو الـ د ن أ لابد وأن يوجد فى شكل شديد الطى أو التحلزن داخل الخلية. وهذا ليس مستحيلاً لأن جزئ الـ د ن أ رقيق جداً ولن يأخذ حيز كبير إذا طوى جيداً عن طريق الحلزنة الفائقة Supercoiling . ولكن يجب أن يسمح هذا الطى لجزئ الـ د ن أ بأن يتناسخ وينفصل الجزيئين الناتجين عن التناسخ بصورة صحيحة. وكذلك يجب أن يسمح بنسخ الجينات بدون مشاكل. وهذا يعنى أن جزئ الـ

د ن أ يجب أن ينطوى بطريقة دقيقة جداً ومحددة وقد إقترح أن وظيفة البروتين الموجود فى النيوكلويد هى المساعدة فى بناء هذا التركيب المحدد والحفاظ عليه.



شكل (٢–١): يوضح (أ) قطاع عرضى فى خلية حيوانية (ب) خلية بكتيرية

إن التنظيم المحدد أو الصحيح للنيوكلويد غير معروف بالضبط حتى الآن إلا إنه من الواضح أنه يوجد جسم مركزى مكون من ر ن أ وبروتين – Central RNA-Protein Core – يخرج من هذا الجسم المركزى حوالى ٥٠–١٠٠ عروة من الـ د ن أ فائقة التحلزن شكل (٢–١) هذا وقد أمكن عزل العديد من البروتينات التى ترتبط بالـ د ن أ – DNA

www.zera3h.com
zera3h
مدونة الزراعة

binding proteins من نيوكلويد بكتريا إ.كولاى ويعتقد أن هذه البروتينات تلعب دوراً هاماً فى طى جزئ الـ د ن أ ولكن الوظيفة المحددة لكل من هذه البروتينات غير معروفة على وجه التحديد حتى الآن. ويعتقد أن هذه البروتينات قد تكون أحد مكونات الجسم المركزى أو تكون مسئولة عن المحافظة على الحلزنة الفائقة داخل عروات الـ د ن أ ومن هذه البروتينات H_1, H, HLP_1, HU ووجد أن هذه البروتينات شبيهة بالبروتينات الهستونية المسئولة عن طى الـ د ن أ فى كروموسومات الكائنات المميزة النوى.

جدول يوضح خصائص البروتينات شبيهة الهستونات فى بكتريا إ. كولاى

البروتين	الوزن الجزيئى (دالتون)	عدد النسخ فى الخلية
HU	٩٠٠٠	٦٠٠٠٠
HLP_1	١٧٠٠٠	١٠٠٠٠٠-٢٠٠٠٠
H	٢٨٠٠٠	٣٠٠٠٠
H_1	٦٠٠٠٠	٢٠٠٠٠

وقد وجد أن ٩٩-١٠٠% من جينات البكتريا توجد فى جزئ الـ د ن أ المكون للنيوكلويد وقد تبين أن جزئ الـ د ن أ فى بكتريا إ. كولاى يبلغ طوله حوالى ٤٠٠٠ كيلو قاعدة (Kb) ويحتوى على حوالى ٢٨٠٠ جين، أمكن تحديد المواقع النسبية لحوالى ١٠٠٠ منها فقط بإستخدام طرق رسم الخرائط الوراثية والتطعيم الجينى ومن هذه الجينات التى تحدد موقعها يوجد ٢٦٠ جين منظمة فى ٧٥ أبرون مختلف بينما الـ ٧٤٠ جين الباقية موزعة عشوائياً على باقى الجزئ. ومعظم الجينات توجد فى صورة نسخة واحدة Single copy sequences فيما عدا مجموعة جينات الـ ر ن أ الريبوسومى (rRNA) التى يوجد منها سبعة نسخ وقد وجد أن الـ ٢٨٠٠ جين تحتل حوالى ٧٥% من جزئ الـ د ن أ بينما الـ (١٠٠٠كيلو قاعدة) 1000 kb الباقية تمثل فواصل بين الجينات كما وجد أن بعض هذه المناطق الفاصلة بين الجينات intergenic regions لها وظائف هامة مثل منطقة منشأ التناسخ origin of replication التى تحتل حوالى ١ كيلو قاعدة وبعض المناطق الأخرى التى تحتوى على تتابعات تتفاعل مع البروتينات التى ترتبط بالـ د ن أ لتساعد على طيه فى النيوكلويد.

تنظيم جينوم الكائنات مميزة النوى داخل الكروموسومات:

تختلف خصائص جينوم الكائنات مميزة النوى عن نظيره فى غير مميزة النوى حيث أنه يكون مقسماً إلى عدد من جزيئات الـ د ن أ الطويلة والتى يوجد كل منها فى كروموسوم معين ويوجد فى معظم الكائنات مميزة النوى نسختان من كل كروموسوم وبالتالى نسختين من كل جين وهذا مايسمى ثنائى العدد الكروموسومى Diploid بينما لفظ إحادى العدد الكروموسومى Haploid فإنه يشير عادة إلى الحالة الموجودة فى الخلايا التناسلية التى تحتوى ذاتها على نسخة واحدة من كل كروموسوم. وقد يعزى وجود أكثر من كروموسوم فى الكائنات مميزة النوى إلى أن الجينيوم فيها أكبر بكثير من جينيوم الكائنات بدائية النوى كما يوضح الجدول التالى:

إسم الكائن	طول الجينوم (kb)	عدد الكروموسومات (ن١)	متوسط كمية الـ د ن أ فى الكروموسوم (kb)
بدائيات النوى			
إ. كولاى	٤٠٠٠	١	٤٠٠٠
مميزة النوى			
خميرة الخباز	٢٠٠٠٠	١٦	١٢٥٠
ذبابة الفاكهة	١٦٥٠٠٠	٤	٤١٢٥٠
الإنسان	٣٠٠٠٠٠٠	٢٣	١٣٠٠٠٠
الذرة	١٥٠٠٠٠٠٠	١٠	١٥٠٠٠٠٠

وعلى الرغم من ذلك فإنه يتضح من الجدول السابق أنه لا توجد علاقة مباشرة بين طول الجينوم وعدد الكروموسومات. فمثلا خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* تحتوى على جينوم صغير نسبياً (٢٠٠٠٠ كيلو قاعدة) وموزع على ١٦ كروموسوم بينما خلايا الإنسان تحتوى على كمية كبيرة من الـ د ن أ تفوق تلك الموجودة فى الخميرة بحوالى ١٥٠ مرة وعلى الرغم من ذلك تتوزع على ٢٣ كروموسوم. ونظراً لأن طول جينوم الخميرة يبلغ خمسة أضعاف جينوم بكتريا إ.كولاى ولهذا نجد أن كل كروموسوم من كروموسومات الخميرة يحتوى على جزئ من الـ د ن أ أصغر من ذلك الموجود فى نيوكلويد الـ إ. كولاى.

من هذا يتضح التباين الكبير فى طول الجينوم بين الكائنات المختلفة فى سلم التطور من البكتريا إلى الخميرة إلى الإنسان، وهذا يدعونا إلى التساؤل هل الإنسان يحتاج فعلاً إلى

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

عدد أكبر من الجينات فى خلاياه عما تحتاجه خلية الخميرة مثلاً؟ إن الإجابة نعم، ولكن عدد الجينات هذا ليس العامل الوحيد الذى يؤثر على طول الجينوم. فجينوم الإنسان لا يعتبر أطول جينوم فى الوجود حيث أن بعض البرمائيات وبعض النباتات الزهرية تحتوى على كمية أكبر من الـــ د ن أ تبلغ ما بين ١٠-١٠٠ ضعف الموجود فى الإنسان.

الـــ د ن أ فى الكائنات مميزة النواة يحتوى على تتابعات متكررة:

يتراوح طول الجين فى الكائنات مميزة النواة من ألف زوج من القواعد (زوج) إلى أكثر من مليون زوج من القواعد. وإذا اعتبرنا أن متوسط طول الجين هو ٨٠٠٠ (زوج) فيمكن بقسمة العدد الكلى لأزواج القواعد (٣×١٠^{٩}) الموجودة فى جينيوم الإنسان على ٨٠٠٠ نجد أن المفروض أن يمتلك الإنسان حوالى ٣٧٥٠٠٠ جين إلا أنه قد ثبت أن عدد الجينات التى تسفر لبروتينات فى خلايا الإنسان يبلغ حوالى ٣٥٠٠٠-٤٠٠٠٠٠ جين. فكيف يمكن تفسير هذا الإختلاف الكبير بين عدد الجينات المحسوبة والواقعية فى الجينوم؟

أظهرت الدراسات الكيموحيوية المتواصلة على د ن أ الكائنات مميزة النوى فى أواخر الستينات وأوائل السبعينات أن كمية كبيرة من الجينوم فى هذه الكائنات يحتوى على د ن أ متكرر Repetitive DNA وهو عبارة عن مناطق من الـــ د ن أ تحتوى على تتابعات تتكرر مرات عديدة وتكون التتابعات إما متتالية أو موزعة فى المجموعة الكروموسومية، الـــ د ن أ يمكن أن يكون:

١- د ن أ عالى التكرر Highly repetitive DNA وهو يشمل تتابعات متكررة تتراوح بين بضع مئات إلى بضع ملايين المرات فى الجينوم.

٢- د ن أ متوسط التكرر Moderately repetitive DNA وتشمل تتابعات تتكرر بدرجة أقل من السابقة أى عشرات أو مئات المرات.

٣- د ن أ وحيد التكرر Sinle repetitive DNA وتشمل تتابعات تتكرر مرة واحدة فقط.

ومن هذا يتضح أن الـــ د ن أ المتكرر يعتبر من العوامل الأساسية التى تحدد طول الجينوم فى أى كائن فمثلاً فى الإنسان وجد أن كمية الـــ د ن أ المتكرر تمثل ٢٠% من الجينوم أما فى البرمائيات والنباتات فكمية الـــ د ن أ المتكرر تكون أكبر من ذلك بكثير ففى جنس الضفدع *Bufo bufo* يبلغ الجينوم ٦٦٠٠٠٠٠ كيلو قاعدة ولكن أكثر من ٨٠% منه د ن أ متكرراً. ومن ذلك يتضح أنه على الرغم من أن جينوم الكائنات مميزة النواة تحتوى على

كمية كبيرة من الـــ د ن أ المتكرر إلا أنه يبقى قدر من التابعات وحيدة النسخة يفوق كمية الـــ د ن أ اللازمة للجينات مما يدل على أن ليس كل الـــ د ن أ ذو التتابعات وحيدة النسخة لازما لقيام الكائن بوظائفه.

الكروموسوم فى الكائنات مميزة النوى يكون شديد الطى:

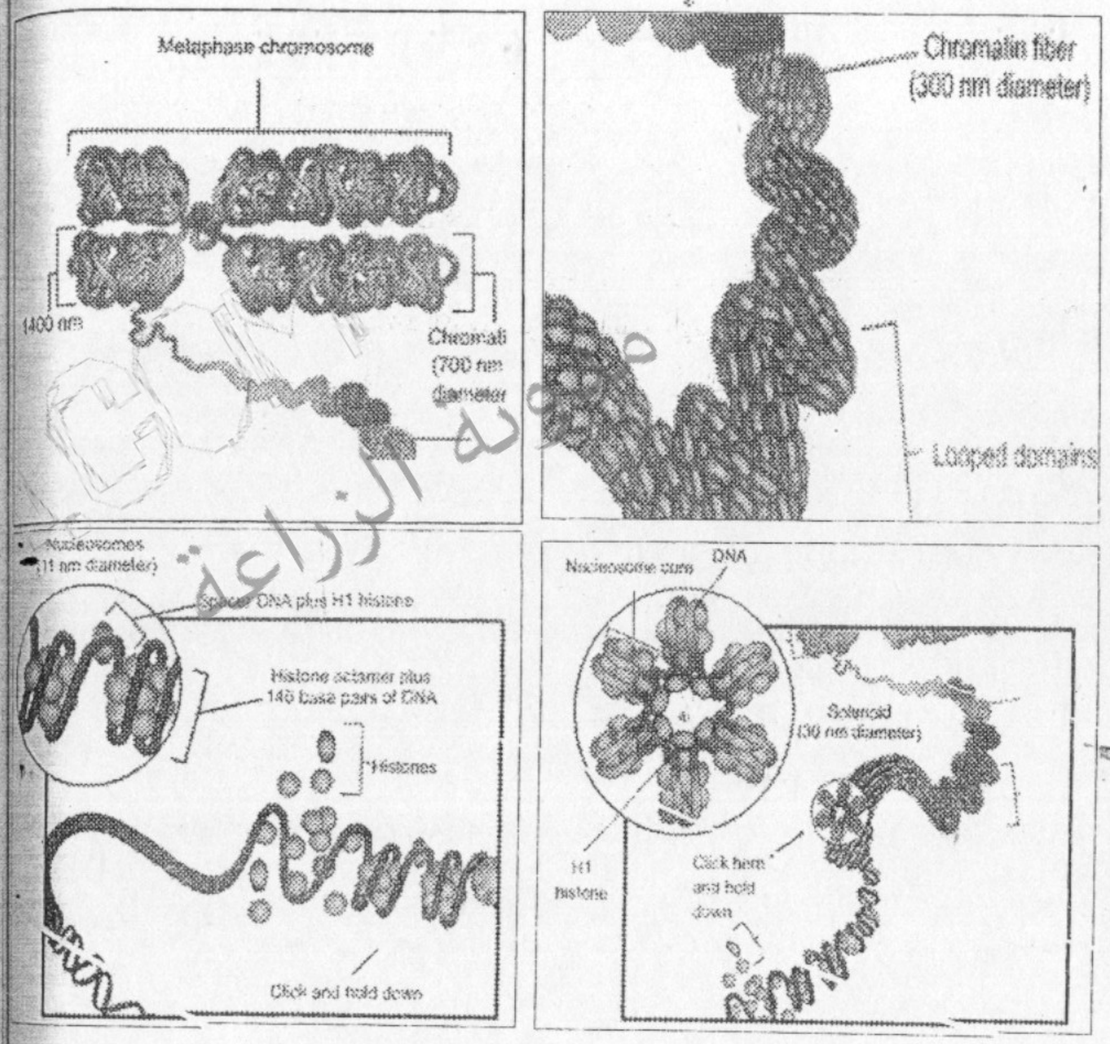
فى الطور الإستوائى من الإنقسام الميتوزى نرى الكروموسوم فى حالة حلزنة شديدة، ولكن فى الأطوار الأخرى من دورة الخلية تكون الكروموسومات أقل حلزنة مما يؤدى إلى عدم إمكانية دراسة تفاصيل تركيب الكروموسوم بالميكروسكوب الضوئى. والحلزنة الفائقة التى تظهر التركيب المنضغط للكروموسوم فى الطور الإستوائى تكون ضرورية لتعبئة الكمية الهائلة من الـــ د ن أ داخل الكروموسوم. وهذا الطى الشديد الدقيق يكون هاماً جداً لقيام الجينات بوظائفها فى الأطوار المختلفة من دورة الخلية ويوضح الشكل (٢-٢) المستويات المختلفة لطى الكروموسومات. حيث يظهر أن الـــ د ن أ يطوى أولاً فى صورة خيط قطره ١١ نانوميتر، ثم يطوى هذا الخيط فى صورة ملف لولبى قطره ٣٠ نانوميتر والأخير يكون عروات فى خيط قطره ٣٠٠ نانوميتر محلزنا فى صورة لولب.

الكروموسومات تحتوى على مجموعتين رئيسيتين من البروتينات:

تحتوى كروموسومات مميزة النواة على كمية من البروتين تفوق كمية الـــ د ن أ . وهذه البروتينات الموجودة فى الكروماتين تساعد فى طى الـــ د ن أ الهائل الطول داخل الكروموسوم. وتقسم البروتينات الموجودة فى الكروماتين إلى مجموعتين رئيسيتين هى البروتينات الهستونية والبروتينات الغير هستونية. ويوجد خمسة أنواع من البروتينات الهستونية: $H_4, H_3, H_2B, H_2A, H_1$ والبروتينات الهستونية عبارة عن بروتينات صغيرة تحتوى على نسبة عالية من الأحماض الأمينية موجبة الشحنة مثل الليسين والأرجنينين التى تساعد فى الإرتباط بالـــ د ن أ السالب الشحنة. وتتابع الأحماض الأمينية ثابت فى البروتينات الهستونية للأنواع المختلفة مما يشير إلى أن هذا التتابع ذو أهمية كبيرة لقيام الهستون بوظيفته. أما البروتينات الغير هستونية فهى مجموعة من البروتينات الغير متجانسة وتعمل بعض هذه البروتينات الغير هستونية فى الحفاظ على التركيب الحلزونى للكروموسوم فى حين يشترك البعض الآخر فى تنظيم التعبير الجينى وتناسخ الـــ د ن أ ومثال ذلك أنزيمات بلمرة الـــ د ن أ ، وأنزيم اللحام، وبروتينات الارتباط بالخيط المفرد من الـــ د ن أ وأنزيم بلمرة الـــ

www.zera3h.com
zera3h

ر ن أ. ويختلف محتوى الخلية من البروتينات الغير هستونية تبعاً لنوع الخلية ونوع الكائن مما يشير إلى أن هذه البروتينات تلعب دوراً هاماً فى تعبير جينات معينة أثناء مراحل تطور الكائن المختلفة.



شكل (٢-٢) نموذج لطى الكروموسوم: يوضح هذا النموذج كيف يمكن أن يطوى الجزئ الطويل للكروموسوم ليشغل حيزاً محدوداً

المستوى الأول لطى الـــ د ن أ يؤدى إلى تكوين خيط من النيوكلوسومات قطره ١١ نانوميتر:

الكروماتين ذو تركيب معقد ولكن منتظم لدرجة كبيرة. فهو يتكون من وحدات متكررة من البروتين المرتبط بالـــ د ن أ المعبأ بمستويات عديدة من الحلزنة. والمستوى الأول من الطى يؤدى إلى تكوين خيط قطره ١١ نانوميتر. وينشأ هذا الخيط من التفاف ٢٠٠ زوج من الـــ د ن أ حول جسم مركزى من البروتين مكون من جزئيين من كل من الهستونات H_4, H_3, H_2B, H_2A وتسمى هذه الوحدة نيوكليوسوم nucleosome . ويظهر الكروماتين فى هذه الحالة بالميكرسكوب الألكترونى فى صورة خيط رفيع يحتوى على حبيبات قطره ١١ نانوميتر، ووجد أنه عند معاملة خيط النيوكلوسومات بإنزيم خاص لهضم الـــ د ن أ (DNase) مستخلص من بكتريا *Staphylococcus aureus* ينتج مقاطع من الـــ د ن أ طولها حوالى ٢٠٠٠ زوج معظمها ملتف حول الهستونات وعند زيادة الهضم يتم حذف من ٥٠-٦٠ زوج ويبقى ١٤٦ زوج تمثل الـــ د ن أ الملتف حول الهستونات. وهذا الـــ د ن أ يكون غير قابل للهضم بإنزيمات هضم الأحماض النووية لإرتباطه بالهستونات. ومن ذلك يتضح أن الـــ د ن أ الفاصل بين النيوكلوموسومات يمثل ٥٠-٦٠ زوج والـــ د ن أ الذى يحيط بالهستونات طوله حوالى ١٤٦ زوج وهذا المستوى الأول من الحلزنة يقلل طول الـــ د ن أ الكروموسومى حوالى ٥ مرات أى أن قطعة من الـــ د ن أ طولها ٥٠ نانميتر سوف يصبح طولها ١٠ نانوميتر فى خيط النيوكليوسوم.

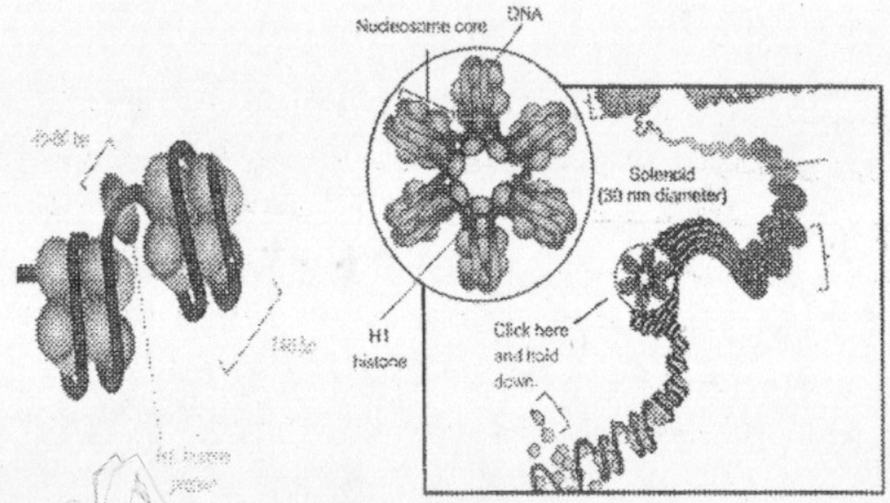
المستوى الثانى من حلونة الـــ د ن أ ينتج ملف لولبى قطره ٣٠ نانوميتر:

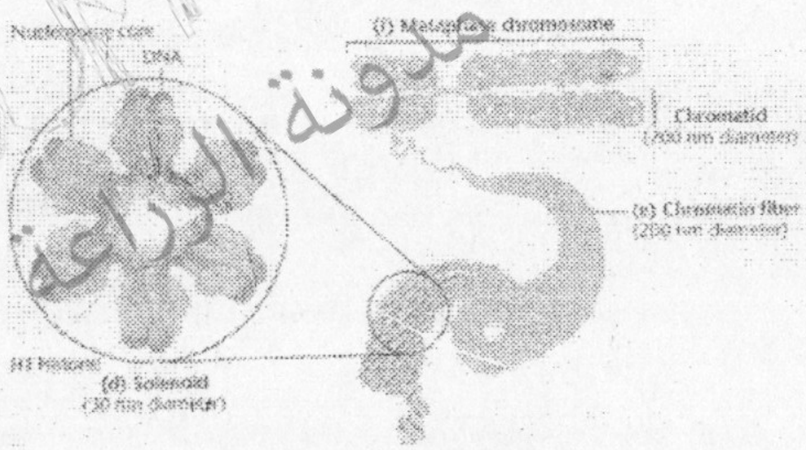
طور ما بين الإنقسامين نجد أن النواة لا تحتوى على الكروماتين فى صورة خيط يحتوى على حبيبات كما ذكرنا بل تحتوى على خيط قطره ٣٠ نانوميتر يعرف بالملف اللولبى وهذا يمثل مستوى ثانى من الحلزنة. وكل لفة من الملف اللولبى تحتوى على ٦ نيوكلوسومات ووجد أن هستون H_1 يلعب دوراً هاماً فى طى الخيط ١١ نانميتر ليكون الملف اللولبى ٣٠ نانوميتر، وهستون H_1 عبارة عن جزئ يعمل على إحكام لفات الـــ د ن أ حول الهستونات.

الكروماتين يتكون من مجالات محلزنة قطرها ٢٠٠ نانوميتر:

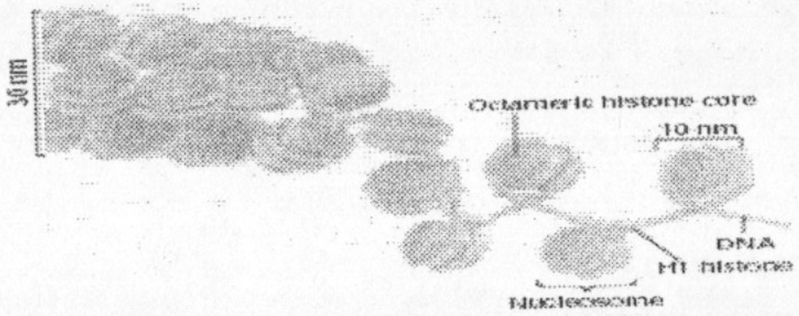
كما ذكرنا فإن كروموسوم بكتريا أ. كولاى E.coli ينظم فى مجموعة من عروات الـــ د ن أ عددها حوالى ٥٠ عروة مما يؤدى إلى طيه طياً شديداً منظماً، بالمثل فإن كروموسوم الكائنات مميزة النواة يتكون من مجالات. وأشكال (٢-٢، ٢-٣، ٢-٤) توضح الطريقة التى تحدث بها الحلزنة. فالـــ د ن أ ينقســم إلى عروات ترتبط ببروتين واصل Protein linker

www.zera3h.com
zera3h





شكل (٢-٣): تركيب النيوكليوسوم وخيط النيوكليوسومات



شكل (٢-٤): نموذج الملف اللولبى لليفة الكروماتينية (٣٠ نانوميتر)

كل ٢٠٠٠٠ إلى ١٠٠٠٠٠ زوج من قواعد الـ د ن أ المزدوج ، وتطلق على البروتينات الوصلة والقاعدة التى ترتبط بها أسم السكافولد Scaffold ويمثل هذا السكافولد حوالى ٨% من مجموع البروتينات الموجودة فى الكروموسوم ويمكن رؤيته بالميكرسكوب الالكترونى كمادة داكنة الصبغ (شكل ٢-٥) وفى الشكل تم إزالة الهستونات أثناء عزل الكروموسوم وبالتالى لا يرى المستوى الأول من حلزنة الكروموسوم فى صورة الخيط ذو القطر ١١ نانوميتر. وكذلك يلاحظ أن طول السكافولد يعادل تقريباً طول الكروموسوم فى الطور الإستوائى مما يشير إلى أن السكافولد هو بالفعل التركيب الأولى الذى يظهر الكروموسوم فى الطور الإستوائى فى صورة وحدة شديدة الإنضغاط وباستخدام طرق أكثر دقة أمكن عزل خيوط كروموسومية قطرها ٣٠ و ٢٠٠ نانوميتر (شكل ٢-٦) ويعتقد أن هذه التراكيب تكون محصورة بوجود بروتينات غير هستونية لاصقة ولكن خصائصها غير معروفة على وجه الدقة. والنتيجة النهائية هى الحصول على تركيب شديد الطى ليقلل طول جزئ الـ د ن أ عدة آلاف من المرات. وعند عزل الكروموسومات فى الطور الاستوائى وفحصها بالميكرسكوب الالكترونى الماسح Sacanning electron microscope، أمكن مشاهدة مستويات من الحلزنة الإضافية، فالخيوط ذات القطر ٢٠٠ نانوميتر يحدث لها حلزنة إضافية داخل الكروموسوم لتعطى الشكل النهائى لحلزنة الكروموسوم حيث يكون قطر الكروماتيدة حوالى ٧٠٠ نانومتر. (شكل ٢-٧)

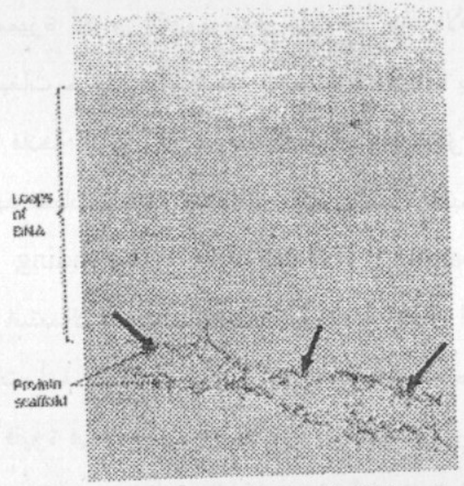
التركيب المورفولوجى للكروموسوم:

بالرجوع إلى أشكال الكروموسومات المبينة فى الجزء العملى للكتاب نود أن نوضح التفسيرات الجزيئية والوظيفية لمكونات هذه الانماط:

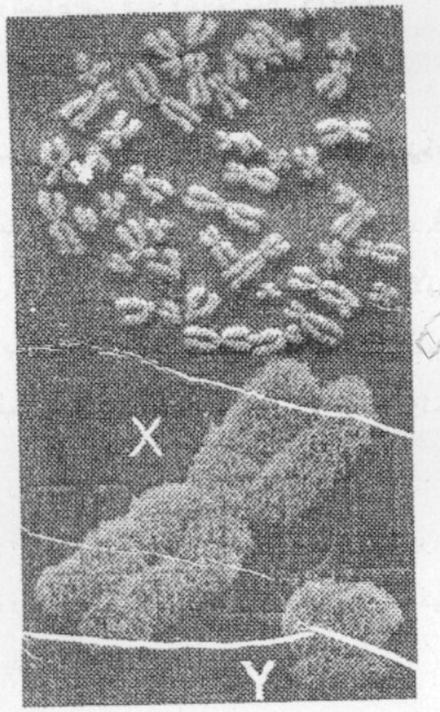
مدونة الدراعة
www.zera3h.com
zera3h

- كل كروموسوم يحتوى على جزئ واحد من الـ د ن أ.
- ويظهر الكروموسوم فى الطور الاستوائى مكونا من شقين (كروماتيدين) وهذا فى الواقع يمثل كروموسومين مرتبطين ببعضهما البعض لأن فى هذه المرحلة من دورة الخلية Cell cycle يكون تناسخ الـ د ن أ قد تم وبذلك فإن الكروموسومات فى الطور الإستوائى تحتوى على جزيئين من الـ د ن أ مرتبطين ببعض بواسطة تركيب معين يسمى السنترومير Centromere.
- وموقع السنترومير خاصية مميزة لكل كروموسوم وهو أحد الخصائص التى تستخدم للتمييز بين الكروموسومات المختلفة فى الهيئة الكروموسومية Karyotype.

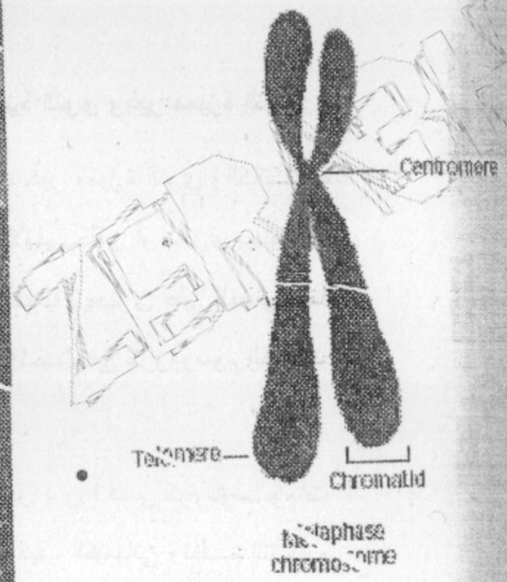
مدونة الزراعة



شكل (٢-٥): يوضح شكل السكافولد Scaffold بالميكروسكوب اللكترونى



شكل (٢-٦): يوضح شكل الكروموسوم المنضغط فى مستويات مختلفة من الطى وبعض أجزاء الكروموسوم



شكل (٢-٧): صورة الكروموسوم فى الطور الإستوا
كما تظهر بالميكروسكوب الالكترو
الماسح

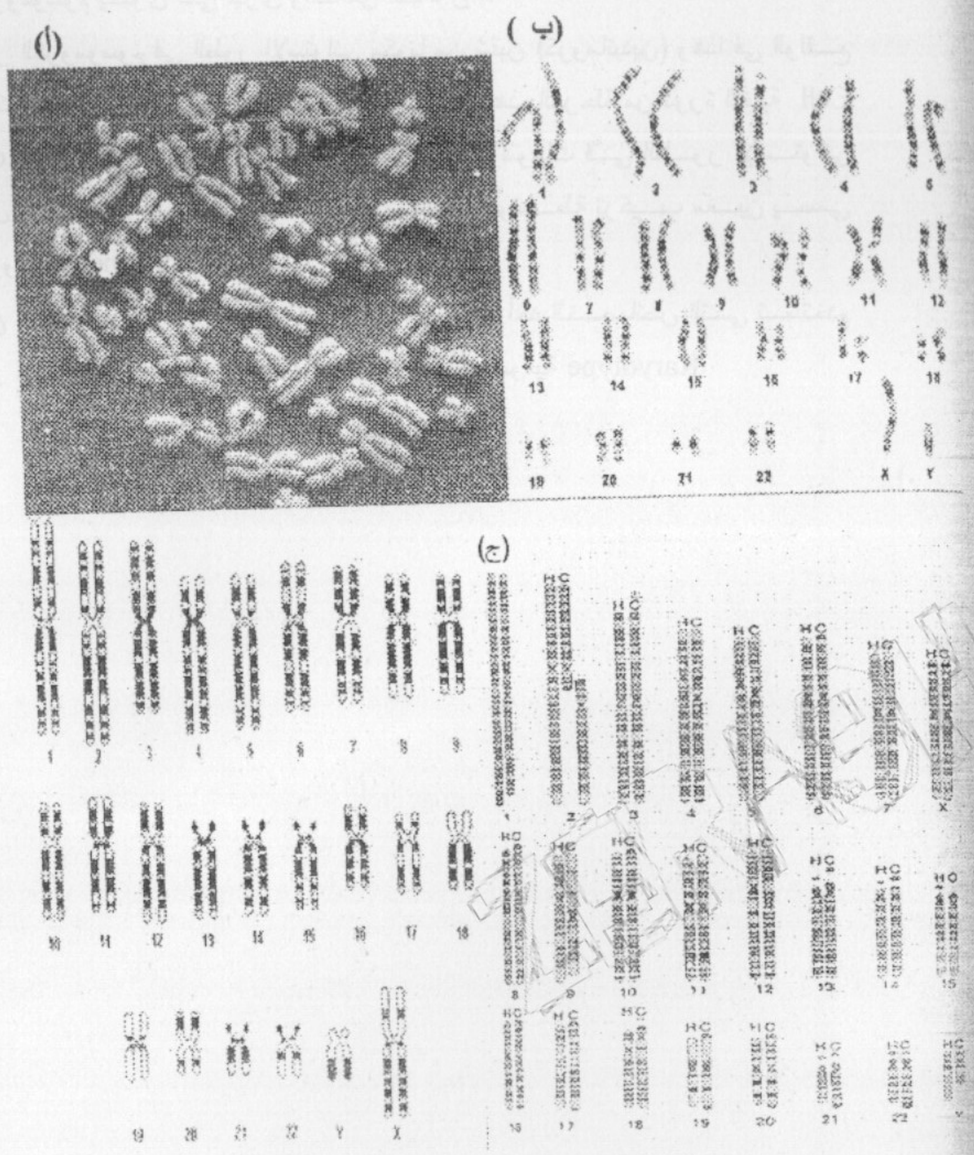
www.zera3h.com
zera3h

أذرع الكروموسومات تعطى خاصية مميزة أخرى للكروموسوم حيث أن هذه الأذرع لا تصبغ بدرجة متجانسة عند صبغها بصبغات خاصة مثل صبغة الجيمسا Giemsa بل على العكس من ذلك نجد أنماط من شرائط فاتحة اللون وأخرى داكنة على طول الأذرع وكل كروموسوم يظهر نمط خاص به. وتوجد تقنيات مختلفة تؤدى إلى ظهور أنماط متباينة من شرائط الكروموسومات مثل تقنيات : R-banding ، N-banding ، G-banding ، C-banding والتى من أهمها وأكثرها استعمالا الـ G-banding ويعتقد أنه تمثل المناطق من الكروموسومات الغنية فى النويتيدات أ ، ث وبذلك يكون لها أهمية خاصة حيث أن المناطق الغنية فى ث ، أ تكون غالباً فقيرة فى الجينات ولذلك فإن المناطق التى لاتظهر شرائط G (G-bands) يمكن أن تحتوى على مجموعة من الجينات، ولو أن هذه النظرية ما زالت تحت الاختبار وتحتاج إلى أدلة لإثباتها شكل (٢-٨).

مقارنة جزيئية بين الـ د ن أ الكروموسومى فى الكائنات مميزة النوى وغير مميزة النوى:

مما سبق يتضح أن الاختلاف بين كروموسوم الكائنات غير مميزة النوى والكائنات مميزة النوى يكمن فى شكل وتركيب الكروموسوم إذ أنه فى الأولى حلقى أو دائرى يحتوى على بروتينات شبيهة بالهستونات بينما فى الحالة الثانية يكون طوليا ويحتوى على الهستونات. إضافة إلى ذلك فإن الحلزنة وفك الحلزنة خلال دورة الخلية لا تحدث فى كروموسوم الكائنات غير مميزة النوى.

وتجدر الإشارة إلى أن هناك أيضا فروق جزيئية بين د ن أ فى كروموسومات الكائنات مميزة النوى وغير مميزة النواة من ناحية الكمية والتركيب الكيميائى ونظم التتابع ويمكن تلخيصها فيما يلى:



شكل (٢-٨) يوضح الشكل المورفولوجى لكروموسومات

أ- فى الطور الاستوائى ب- كروموسومات الانسان

ج- كروموسومات الانسان بعد صبغها بصبغة الجيمسا

www.zera3h.com
zera3h

أ- كمية الـ د ن أ:

سبق أن ذكرنا أن نواة نموذجية مميزة تحتوى على كمية من الـ د ن أ تبلغ حوالى ألف ضعف كميته فى البكتريا (وحوالى مائة ألف ضعف كميته فى الفيروس). وبالرغم من ذلك فإن مميزات النوى تختلف بصورة واضحة فيما بينها فى كمية الـ د ن أ التى تحتويها إذ نجد مثلا أن نوى البرمائيات تحتوى على كمية أكبر من الـ د ن أ الموجودة فى خلايا الانسان.

ب- التركيب الكيميائى (كمية ج-س G-C content):

تختلف جزيئات الـ د ن أ الخاصة بغير مميزة النوى عن مميزات النوى فى تركيبها الكيميائى فقد استطاع العالم شارجاف Chargaff أن يقدم الدليل على أن للـ د ن أ الخاص بنوع ما نسبة مميزة من $\left\{\frac{ث + أ}{س + ج}\right\}$ والتى يمكن أن يعبر عنها أيضا كنسبة مئوية من (ج+س) أو بصورة أقل دقة كنسبة مئوية للـ ج س (GC%) أو كمية الـ ج س. وبذلك فعندما يقال أن كائنا ما يتميز بقيمة ج س = ٣٠% فهذا يعنى أن كمية ج = ١٥%، كمية س = ١٥%، كمية أ = ٣٥% وأن كمية ث = ٣٥% من قيمة الـ د ن أ الكلية.

وعند مقارنة أنواع مختلفة من البكتريا نجد أن النسبة المئوية لـ ج س تتراوح بين ٢٤-٧٥% وعندما نتحرك إلى درجات أعلى من سلم التطور نجد أن الكمية الكلية للـ ج س تصبح أقل تباينا لدرجة أنها تصل إلى متوسط يقرب من ٤٠% ج س فى الثدييات وسبب هذا الثبات غير معروف حتى الآن.

ويمكن تحديد النسبة المئوية للـ ج س GC بطرق مختلفة أهمها طريقة الطرد المركزى فى محلول تفريد يحتوى كلوريد السيزيوم. فقد أتضح أن شظية أو قطعة د ن أ غنية فى الـ GC ستظهر في مواقع أعمق من محلول كلوريد السيزيوم عن مثيلتها الفقيرة فى الـ GC أى الغنية فى الـ AT. وعند تعريض شظايا كروموسومات الخلايا البكتيرية إلى الطرد المركزى فى كلوريد السيزيوم يتكون شريط مفرد فقط وهذا يعنى أن الهيئة الجينية للـ إ. كولاى، ككل لها تركيب موحد للقواعد بينما عندما يعرض الـ د ن أ من معظم خلايا الثدييات لنفس التحليل فنجد أن القدر الأكبر من شظايا الـ د ن أ يتزن عند موقع فريد فى محلول كلوريد السيزيوم مواز للنسبة المئوية للـ ج س (٤٠%) وعلاوة على الشريط الرئيسى فطالما نجد شرائط توابع (ولو أنها ليست دائمة الوجود) تتميز بكثافات طفو تشير إلى كميات أعلى أو أقل من ج س عما بالشريط الرئيسى. أى أن وجود الـ د ن أ التابع يميز مميزات النوى عن غير مميزة النوى.

ج- نظم التتابع للـ د ن أ:

إن معظم تتابعات الـ د ن أ فى الكائنات غير مميزة النوى من نوع تتابع النسخة الواحدة Single copy sequences بينما فى الكائنات مميزة النوى فيوجد نظم مختلفة من تتابعات الـ د ن أ وهى : تتابعات النسخة الواحدة وتبلغ حوالى ٧٠% من الـ د ن أ الكروموسومى، تتابعات عالية التكرار Highly repetitive sequences وقيمتها ٥-١٠%. وتتابعات متوسطة التكرار Moderately repetitive sequences وتبلغ نسبتها من ١-٣٠% إلى جانب الـ د ن أ ذو الإلتفاف الخلفى أو ذو التكرار المعكوس.

ويمكن التعرف على هذه التتابعات عن طريق تحليل حركية إعادة التحام الـ د ن أ إذ أنه عند تعريض محلول يحتوى على شظايا من الـ د ن أ إلى درجة حرارة مرتفعة (٩٠-٩٥°) ينفصل خيطى الـ د ن أ عن بعضهما وعند خفض درجة حرارة التحضين لهذا الـ د ن أ يمكن إعادة التحام السلسلتين فى الجزيئات المختلفة ويمكن التعرف على نظم تتابع الـ د ن أ بقياس الوقت الذى تستغرقه عملية إعادة الالتحام. ففى تتابعات الـ د ن أ ذات النسخة الواحدة يلزم وقتا طويلا نسبيا لإتمام تفاعل إعادة الالتحام ويتميز الـ د ن أ عالى التكرار بسرعة فى إعادة الالتحام ويأخذ الـ د ن أ متوسط التكرار وقتا وسطا بين الـ د ن أ ذى النسخة الواحدة وبين الـ د ن أ ذو التتابعات عالية التكرار بينما إعادة الإلتحام فى الـ د ن أ ذو الالتفاف المعكوس فيحدث بسرعة متناهية.

www.zera3h.com
zera3h

الباب الثالث

مصادر التباين فى الكائنات الحية

يهتم علم الوراثة ببحث أسباب التشابه بين الأفراد وكذلك أسباب الأختلاف أو التباين. وحقيقة الأمر أنه لا يوجد فردان متشابهان تشابهاً تاماً إلا فى حالة التوائم الصنوية الناشئة عن إنقسام ميتوزى للزيجوت وكذلك الأفراد الصنوية الناشئة عن تكاثر خضرى من فرد معين. وتقسم مصادر التباين أو الإختلافات داخل النوع الواحد إلى:

أ- **إختلافات بيئية Environmental variations**

وتعزى إلى تأثير البيئة الداخلية والبيئة الخارجية.

ب- **إختلافات وراثية Genetic variations**

وهذه ترجع أساساً إلى إختلافات نتيجة لإعادة ترتيب المادة الوراثية Genetic recombination إلى جانب اختلافات تنجم عن تأثير الطفرات Mutations ، التغيرات التى تحدث على مستوى الكروموسومات اللذان يؤديا إلى ظهور توافيق جينية جديدة New gene combinations.

التباين فى الكائنات غير مميزة النواه

يشير عدد من الأدلة الغير مباشرة أن د ن أ يحتوى على المعلومات الوراثية للكائنات الحية ومن أهم هذه الأدلة تلك النتائج التى أظهرت أن معظم الـ د ن أ يوجد فى الكروموسومات بينما يوجد الـ ر ن أ والبروتينات فى السيتوبلازم. هذا بالإضافة إلى العلاقة الدقيقة الموجودة بين كمية د ن أ فى كل خلية وعدد المجاميع الكروموسومية بها. فعلى سبيل المثال، معظم الخلايا الجسمية

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

فى الكائنات الثنائية تحتوى على كمية من د ن أ ضعف الموجودة فى جاميطات نفس النوع. فضلاً عن أن التركيب الجزيئى لحمض الـــ د ن أ متشابهة فى كل أنواع خلايا الكائن الحى (بخلاف بعض الاستثناءات) بينما يختلف تركيب حمض الـــ ر ن أ والبروتينات كمياً ووصفياً فى طرز الخلايا المختلفة.

ومن المعروف أنه يتم تخزين المعلومات الوراثية فى الكائنات الدقيقة وخصوصاً البكتريا فى:

١- كروموسوم رئيسى مفرد يحمل الجينات.

٢- عصيبات صغيرة تسمى بالابيسومات إلى جانب البلازميدات التى قد تصل إلى ١١ بلازميداً مختلفاً فى بعض الخلايا البكتيرية.

وهناك ثلاث عمليات رئيسية لنقل المادة الوراثية فى البكتريا تجعل إحداث الاتحادات الوراثية الجديدة ممكنة كما هو موضح فى الشكل (١-٣). هذه العمليات الثلاث هى:

(١) التحول الوراثى Transformation

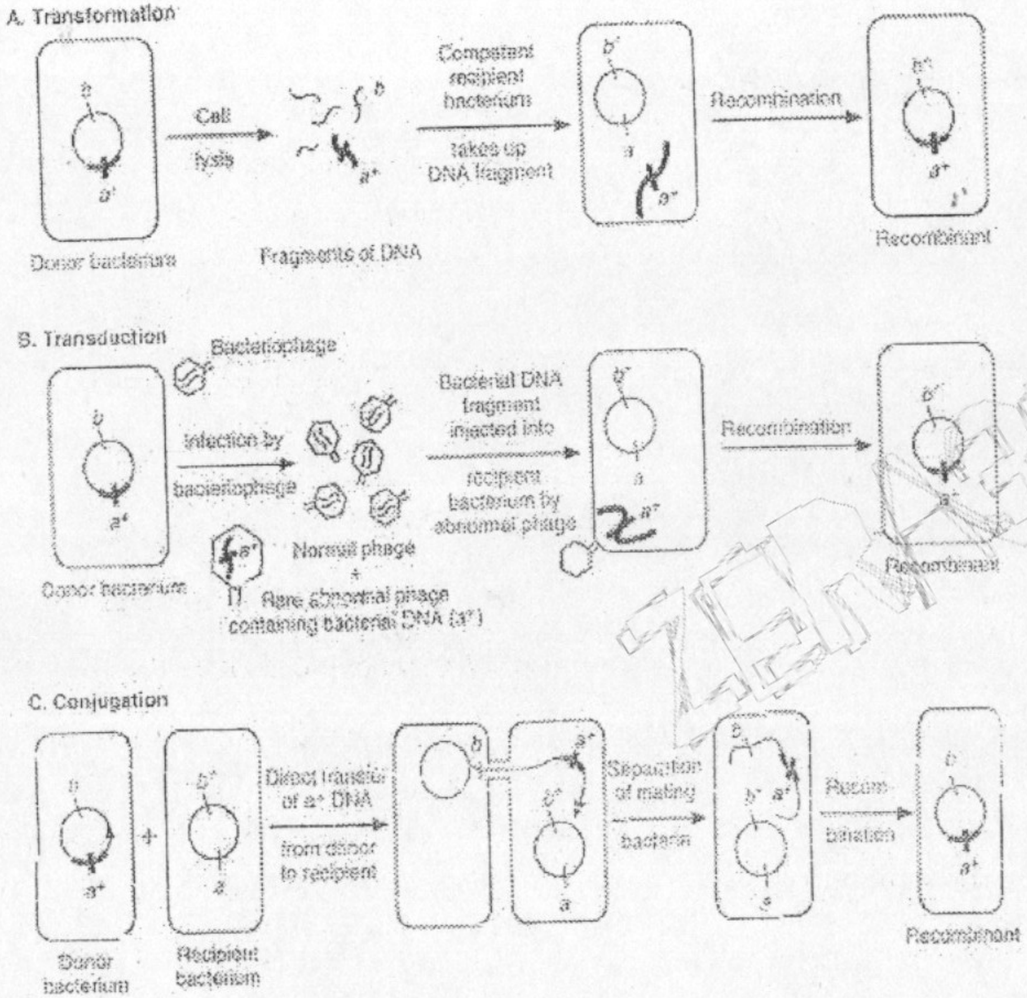
ويتضمن نقل جزيئات د ن أ المجردة من الخلايا الواهبة Donor إلى الخلايا المستقبلة Recepient أو المتلقية .

(٢) الاستقال الفاجى Transduction

ويحدث عندما يستخدم وسيط فاجى لنقل جينات خلية الواهب إلى خلية المستقبل.

(٣) الاقتران أو التزاوج Conjugation

وفى هذه العملية ينتقل د ن أ من الخلية الواهبة أو المذكرة F^+ (التى تحتوى عامل الجنس $\overline{F}$ For sex factor) إلى الخلية الملتقية أو المؤنثة $\overline{F}$ (والتى لا تحتوى هذا العامل) من خلال أنبوب الاقتران أو التزاوج Conjugation tube.



الشكل (٣-١) ثلاث عمليات رئيسية لنقل المادة الوراثية فى البكتريا (A)التحول الوراثى Transformation, (B)الاستقال الفاجى Transduction, (C)الاقتران أو التزاوج Conjugation

www.zera3h.com
zera3h

(١) التحول Transformation

يعتبر التحول أول دليل مباشر أثبت أن المادة الوراثية هى الـــ د ن أ وليست البروتينات أو RNA قدمه كل من آفرى ومكلويد ومكارتى عام ١٩٤٤ حيث أوضحوا أن المكون الخلوى المسئول عن ظاهرة التحول فى البكتريا هو الحمض النووى الـــ د ن أ.

والتحول هو نظام يؤدى إلى تكوين الاتحادات الجديدة(وأصبح ليس قاصراً على البكتريا الآن فيمكن استخدامه لاستحداث تبادل أو انتقال معلومات وراثية بين الكائنات أو من كائن إلى آخر) والتحول لا يتضمن الاتصال المباشر بين الخلايا.

ويتم إجراء التحول فى عدة خطوات هى:

١- تنمية البكتريا الواهبة المطلوب نقل الجينات المرغوبة منها تحت أحسن الظروف الملائمة لنموها.

٢- استخلاص الـــ د ن أ منها والتأكد من نقائه.

٣- تنمية البكتريا المستقبلة فى بيئة تحتوى كل متطلباتها الغذائية إلى أن تصل مرحلة التأهل competences لاستيعاب د ن أ المستخلص من الواهب (والتى يمكن معرفتها تجريبياً إذا لم تكن معروفة من قبل)

٤- إمزج (أخلط) د ن أ الواهب مع الخلايا المستقبلة.

٥- نسحب عينات على فترات لانتخاب المتحولات Transformants ويتأثر معدل التحول بمرحلة التأهل، تركيز د ن أ المستعمل،مدة التعريض للـــ د ن أ.

و فى أغلب تجارب التحول فإن أجزاء د ن أ المعطى تكون حوالى ٢٠,٠٠٠ نوتيدة (أو حوالى ١/٢٠٠ من الكروموسوم) فى الطول. وهذا يعنى أن تجارب

رسم الخريطة يمكن عملها باستعمال التحول فى حالة ما إذا كانت الجينات المعلمة المستعملة تقع متجاورة معاً على كروموسوم العائل.

إذا ما كان الجنيان بعيدين على الكروموسوم فهذا يعنى أنهما لن يحملا معا على نفس الجزئ المنتقل من الـــ د ن أ، وعلى ذلك فالتحول المزدوج للجينين (مثلاً a لـــ a^+ و b لـــ b^+ وباستعمال $a^+ b^+$ كمعطى و ab كمستقبل) سوف يحتاج إلى عمليتى تحول مستقلتين (الامتصاص والدمج فى خيط من الـــ د ن أ يحمل a^+ وجزئ آخر يحمل b^+). واحتمال حدوث مثل هذين الحدثين المستقلين معاً سوف يساوى ناتج ضرب احتمالات حدوث كل بمفرده، حيث يحدث تحول لكل جين معلم بتكرار منخفض والتحول الحر لكلاهما بحدثين مستقلين يكون نادراً بدرجة كبيرة. ومن ناحية أخرى إذا كان الجينان مرتبطين بدرجة كبيرة فإنه يمكن أن يحملا على جزئ واحد من الـــ د ن أ وفى هذه الحالة فإنه التحول المزدوج double transformants يمكن أن يتكون بعملية استيعاب uptake ودمج integeration لجزئ واحد من د ن أ المعطى حاملاً كلا الجينين معاً. وعلى ذلك إذا كان الجينان أو المعلمان الوراثيان مرتبطين بدرجة كبيرة فإن التحول المزدوج يمكن أن يتكون بتكرار يقترب من تكرار التحول الفردى. فى المقارنة بين تجارب الجين المعلم الفردى. وتكرار التحول لجينين (علامتين) وراثيين معاً يمكن أن تستعمل كتقدير بسيط لمسافات الارتباط بينهما.

وقد سبق وصف التحول فى بكتريا د. نيمونيا *D. pneumoniae* (نيموكوكس)، حيث التقط الـــ د ن أ المعزول من خلايا ملساء (شرسة) بواسطة خلايا خشنة (غير شرسة) واندمج بطريقة ما لدرجة أن معلومات خاصة بتكوين الغلاف الأملس قد انتقلت إلى نسل البكتريا. وظاهريا، يتشابه التحول وظيفيا مع التزاوج ففى كلتا الحالتين، ينتقل د ن أ من واهب إلى خلية مستقبلة أو مضيفة

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

حيث ينخرط فى تبادل وراثى مع كروموسوم المضيف ليعطى بكتريم باتحاد جديد. وبالرغم من ذلك، تختلف العمليتان فى أن الـــ د ن أ – فى التحول – يمر من واهب إلى مستقبل فى حالة حرة عارية بدلا من خلال غلاف أنبوب التزاوج. وعلاوة على ذلك، ففى التحولـــ عادة تتسلم الخلية المستقبلة شظايا عشوائية من كروموسوم الواهب، هذا بالمقارنة بالانتقال المنظم لتتابع جينى ثابت خلال التزاوج.

تكون الـــ د ن أ الهجين أثناء تكوين الاتحادات الجديدة:

ويمكن التنبؤ بأن جزيئات الـــ د ن أ ذات الاتحادات الجديدة يجب أن تكون هجينة أى أنها، يجب أن تحظى بسلاسل متعددة النوتيدات مشتقة من كلا الأبوين، كما هو موضح فى الشكل (٣–2). والتجارب التى تبين الكروموسومات ذات الاتحادات الجديدة الهجينة ماديا قد أجريت فى عدد من الفاجات، وفى هذا المجال دعنا نصف تجارب جورنى وفوكس. ففى البداية نمى جورنى وفوكس خلايا د. نيمونيا (*D. pneumenia*) (نيموكوكس) فى بيئة محتوية ن^{15} ويد^{3} (هيدروجين ثقيل) كى يكون د ن أ الخلايا ثقيلا، مثلما فى تجارب ميسلسون وستال. وهذه السلالة ثقيلة الـــ د ن أ حملت واسماً وراثيا ery^r للمقاومة للمضاد الحيوى اريثرومايسين، وواسما str^s للحساسية للمضاد الحيوى استريبتومايسين. ومن ثم يمكن كتابة التركيب الوراثى للسلالة "الثقيلة" $\frac{ery^r str^s}{ery^r str^s}$ حيث الخطوط الغامقة ترمز للنظير المشع الثقيل المعلم.

ولقد عزل الـــ د ن أ من خلايا هذه السلالة، وفى أثناء عملية العزل أصبح الـــ د ن أ مقطعا إلى قطع كانت مناسبة لعملية التحول. وفى هذا الحشد كانت توجد شظايا من النوع $\frac{ery^r}{ery^r}$ ومن $\frac{str^s}{str^s}$ والشظايا الحاملة لكل من $ery^r\ str^s$ لم تكن موجودة. حيث أن الجينين بعيدان عن بعضهما بدرجة كافية فى الكروموسوم

لدرجة لا تسمح بأن يشتملا سويا فى منطقة من الـــ د ن أ فى المجال من ٠,٣ إلى ٨ × ١٠$^{-6}$ دالتون. وبعد ذلك عرضت الشظايا لخلايا كفوءة ذات كروموسومات خفيفة (ن^{14}، يد١) تحظى بالتركيب الوراثى $\frac{ery^s str^r}{ery^s str^r}$ وبمعنى آخر، كانت الخلايا المستقبلة حساسة للاريثرومايسين (ery^s) لكن مقاومة للاستريبتومايسين (Str^r) (الشكل ٣–3).

وبعد ذلك عزلت الشظايا من المستويين واختبر كل جزء لمقدرته على أن يحول سلالة ثالثة من النيموكوكس، وهى سلالة حساسة لكل من الاستريبتومايسين والاريثرومايسين ومن ثم تحظى بالتراكيب $\frac{ery^r}{ery^r}$ $\frac{str^s}{str^s}$ ولقد وجد أنه عندما استعملت شظايا خفيفة كـــ د ن أ واهب فقد أمكن لفئة واحدة فقط من الخلايا المتحولة أن تتكون، كانت جميعها مقاومة للاستريبتومايسين. وبمعنى آخر، وكما كان متوقعاً فإن شظايا د ن أ الخفيف كانت مشتقة كلية من كروموسومات الخلايا المستقبلة الاصلية، أى الخلايا المقاومة للاستريبتومايسين. وعلى النقيض عندما استعملت الشظايا الهجينة كـــ د ن أ واهب، فقد وجدت فئتان من الخلايا المحولة بتكرار متساو: فئة مقاومة للاستريبتومايسين والأخرى للاريثرومايسين. ومن ثم فالمقطع من الـــ د ن أ الهجين ماديا كان من الواضح أنه يحمل معلومات من كل من الواهب الأصلى (ers^s) والمستقبل الأصلى (str^s) وبناء على ذلك من الممكن التكهن بأن الـــ د ن أ فى هذا المقطع قد حظى بالتركيب $\frac{ery^r}{str^s}$ و $\frac{str^s}{str^s}$ حيث يكون هجينا فى كل من الكثافة وفى الجينات التى يحملها على خيطية. وباختصار فقد ظهر أن د ن أ الهجين هو نتيجة لتحول ناجح.

وربما قد تندهش لماذا أن الخلايا التى ظهرت فى هذه التجارب كانت مقاومة لواحد فقط أو لآخر من المضادات الحيوية وليس للأثنين سوياً. ويفترض أن هذا ينتج من الحقيقة التى هى أن تحولا ناجحا فى منطقة كروموسومية واحدة يكون حدثا نادرا.

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

والفرصة لأن يقع هذان الحدثان النادران فى نفس الكروموسوم تكون غير محتملة لدرجة أن خلايا مزدوجة المقاومة فد تنتج بدرجة نادرة للغاية فى التجارب التى وصفناها.

(٢) النقل الفاجى أو الاستنفال Transduction

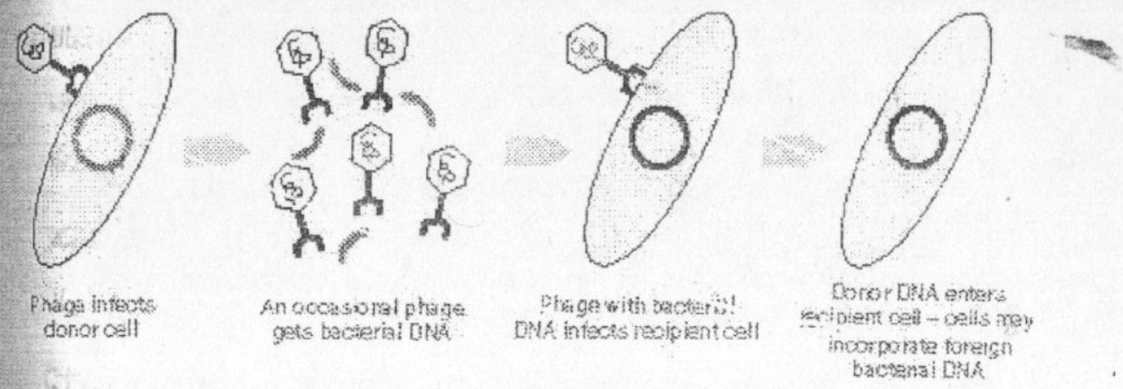
ويوجد عندما يحمل الفيروس البكتيرى مقطع من الكروموسوم من بكتريا المعطى (Donor) إلى بكتريا المتلقى (Recipient) مما يسهل الاتحادات بين الجينات المعلمة لكلتا الخليتين.

وهناك ثلاثة أنواع مختلفة للاستنقال:

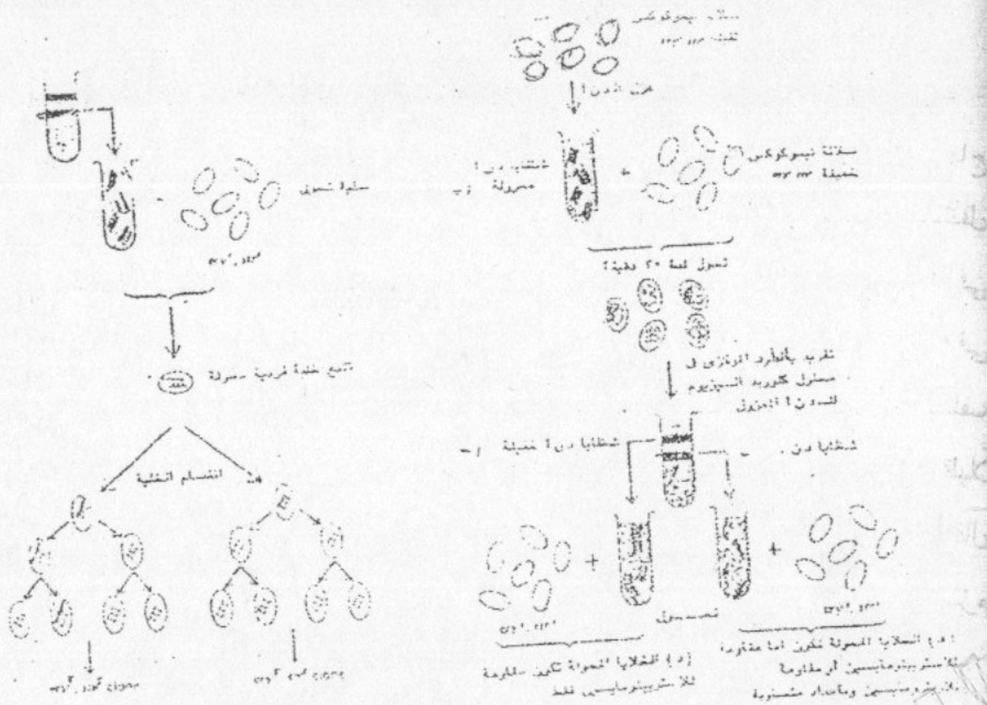
١- الاستنقال العام Generalized transduction

٢- الاستنقال الخاص Specialized transduction ويسمى أيضا الاستنقال Restricted transduction.

٣- الاستنقال الناقص أو المجهض Abortive Transduction.



الاستنقال العام



شكل (٣-2): تجارب جورنى وفوكس للتحول الوراثى

شكل (٣-3): عرض للتخالف الوراثى لـــ د ن أ هجين ناتج من التحول (جورنى وفوكس)

(١) الاستنقال العام:

ففى هذا النوع من الاستنقال ينقل مقطع عشوائى أو غير محدد من الـــ د ن أ البكتيرى أثناء نضج الفاج أو مع كروموسوم الفاج. وبذلك تعتبر طريقة يمكنها نقل أى جين من خلية المعطى لخلية المستقبل وبذلك تسمى الأستنقال العام – وفى بعض الحالات تحتوى الجسيمات المستقطعة على د ن أ بكتيرى فقط وفى حالات أخرى تحتوى على كل من الفاج والـــ د ن أ البكتيرى.

وتتم عملية الاستنقال العام بواسطة الفاج P_1 الخاص بالبكتريا إ. كولاى والفاج P_{22} الخاص بالسالمونيلا. وبينما تكون كروموسومات الفاجات منهمكة فى عملية

www.zera3h.com
zera3h

الحزم بداخل أغلفة البروتين. وبينما يكون كروموسوم المضيف جاريا تجريده - تحزم خطأ عن طريق الصدفة، قطعة من د ن أ المضيف وتحزم بداخل غلاف فاج ما لتتحرر من الفاجات الأخرى من نسل الفاج أثناء الإنطلاق. والجسيم المستقل بإمكانه على التو أن يعدى خلية بكتيرية ثانية وجزئ الـــ د ن أ الذى يشترك فى تتابع نظير مع جزء من كروموسوم الخلية المصابة، يمكن أن يندمج فى الكروموسوم. وعندما يكون الـــ د ن أ المولج حاملاً لجينات من الواهب مختلف عن واسمات المستقبل فلسوف تنتج اتحادات جديدة وهنا يجب أن نتوقف قليلاً لنسأل لماذا لاتكون الفاجات الشرسة جميعاً قادرة على التوسط فى عملية الاستنقال العام. أو بطريقة أخرى لماذا يكون الـ د ن أ البكتيرى دون الفاج هو الذى يحزم خطأ بداخل أغلفة الفيروسات.

يبدو أن الإجابة فسيولوجية فعملية الحزم لبعض الفاجات المتخصصة فى الاستنقال العام يبدو أنها أقل تشدداً فى اختبار الـــ د ن أ المندمج عن نفس العملية فى الفاجات غير القادرة على الإستنقال. ومن المحتمل أن د ن أ المضيف يتكسر إلى شظايا بالحجم المناسب وعند الوقت الملائم بواسطة أنزيم الاندونيوكليز المسئول عن قطع السلاسل المتبلمرة للفاج أثناء نضج الفيريون (هو البروتين الذى يبدو أنه يتعرف كذلك على إشارات معينة فى كروموسوم البكتريا)

وعموماً تقسم البكتريوفاجات على أساس تفاعلها مع الخلية البكتيرية إلى نوعين : الفاجات الفعالة أو الشرسة virulent وهى دائماً تتضاعف وتحلل خلية العائل بعد العدوى. الفاجات المعتدلة temperate ولها الاختيار بين أسلوبين بعد العدوى :

(I) الدخول فى دورة تحلل lysis .

(II) الدخول فى المسار المعتدل lysogenic .

وغالباً يحدث الاستنقال العام بواسطة البكتريوفاجات الفعالة وبواسطة بكتريوفاجات معتدلة محددة وهى التى لا يندمج كروموسومها فى مواقع اتصال كما فى الشكل (٣-4) .

بعد حقن الفاج المستنقل لقطعة د ن أ العائل فى الخلية المستقبلة فإنها إما أن تدخل فى كروموسوم العائل بطريقة مماثلة لدخول الـــ د ن أ المتحول transforming باستثناء أن المقاطع المتداخلة مزدوجة الخيط أو تظل حرة فى السيتوبلازم وفى حالة عدم دخولها فإنها لاتتكرر وتنتقل لخلية واحدة فقط من خلايا النسل فى كل إنقسام خلوى .

(٢) الاستنقال الخاص Specialized Transduction

يحدث الاستنقال الخاص Specialized Transduction بواسطة البكتريوفاجات المعتدلة والتى تكون كروموسوماتها قادرة على الاندماج فى واحد أو قليل من مواقع الاتصال الخاصة few specified attachment sites على كروموسوم العائل فكروموسومات الفاجات المعتدلة من هذا الطراز قادرة على كل من (١) التكرار الذاتى autonomous replication (يتكرر مستقلاً عن تكرر كروموسوم العائل) و (٢) التكرار المندمج integrated replication (التكرار كقطعة من كروموسوم العائل) تماماً كمثال الوحدات الوراثية g-elements والمسماة أبيسومات episomes.

إندماج كروموسوم فاج الاستنقال الخاص مثل فاج بكتريا القولون لا مبدا lambda coliphage يتضمن الاتحاد بين الكروموسوم الحلقى للكبتريوفاج داخل الخلية والكروموسوم البكتيرى الحلقى فى مواضع خاصة للاتصال specific

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

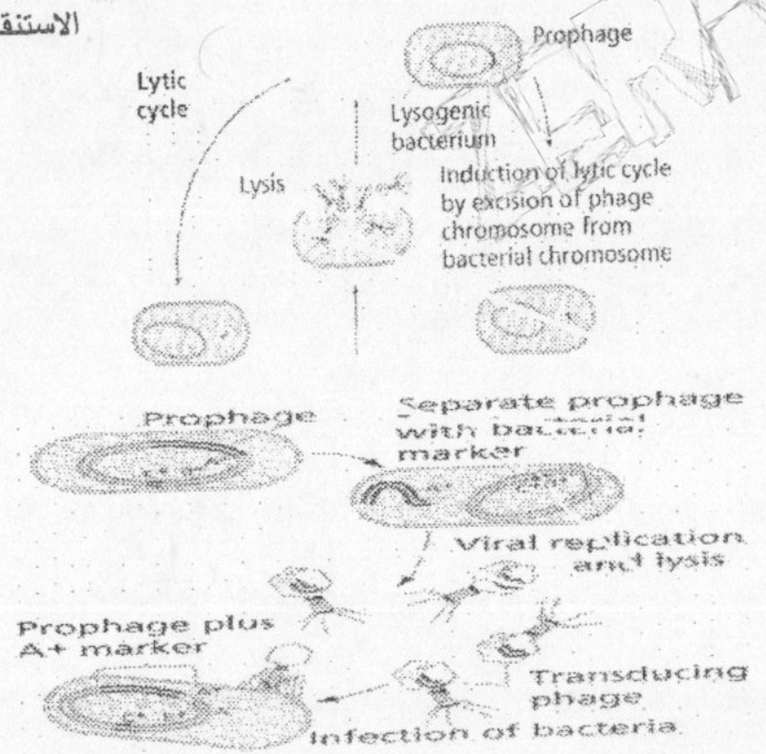
attachment sites على الكروموسومين ينتج عنها اندماج طولى لكروموسوم الفاج فى كروموسوم البكتريا. وفى الحالة التى يحدث فيها اندماج يسمى كروموسوم الفاج بالفاج الأولى prophage ويثبط repressed فى هذه الحالة جينات الفيروس المحللة، تلك الإنزيمات التى تحلل خلايا العائل فى دورة تكاثر الفيروس والبكتريا المحتوية على الفاج الأولى prophage يقال لها مهادنة ليسوجينك lysogenic، والعلاقة بين البروفاج والعائل تسمى ليسوجينى lysogeny وتكون الخلية المهادنة منيعة immune للإصابة الثانية بنفس الفيروس (مثيل البروفاج) وذلك لأن الجينات المحللة الخاصة بالعدوى الفيروسية سوف تثبط تماماً كما ثبطت فى بروفاج .

هناك تحول تلقائى بدرجة قليلة جداً (تقريباً خلية واحدة فى كل 10 خلية منقسمة) من حالة الليسوجينك أو حالة البروفاج لحالة التحلل. ومثل هذا التحول يمكن أيضاً استحداثه induced على سبيل المثال بواسطة الاشعاع بالأشعة فوق البنفسجية وأثناء التحول من الحالة الليسوجينك لدورة التحلل يتحرر البروفاج excised من كروموسوم العائل ويبدأ فى التكرر الذاتى . عمليات التحرر أو الإزالة excision لها مواضع متخصصة site-specific مثل عملية الاندماج .

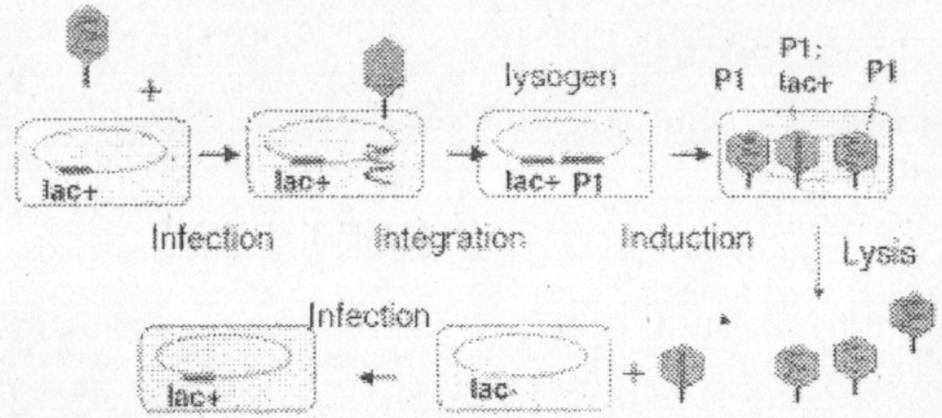
وعمليات الاندماج والتحرر محكومة بإنزيمات تُشفر بواسطة جينات الفاج عملية التحرر عادة تكون بقطع دقيق جداً خارج كروموسوم الفاج بالضبط ليكون كما كان قبل عملية الاندماج؛ وعلى الرغم من ذلك فأحياناً يحدث التحرر فى موقع آخر غير موقع الالتحام. وعندما يحدث ذلك فإن جزءاً من كروموسومات الفاج يترك فى كروموسوم العائل وجزءاً من الكروموسوم البكتيرى يوجد مع د ن أ الفاج. مثل هذه الأخطاء أثناء تحرر البروفاج تكون مسئولة عن تكوين جسيمات الاستقال الخاص. والجينات المجاورة تماماً لموقع اندماج الفاج هى فقط التى يمكن

أن تعبأ فى جسيمات الفاج. وعلى ذلك فالاستقال الخاص يكون محدوداً فى نقل الجينات الموجودة فى حيز صغير على جانبى موقع التحام البروفاج. ففاج لامبدا يندمج بين جينات gal (يحتاج إليه لاستعمال الجلاكتوز كمصدر للطاقة) وجينات البيوتين bio (أساس لتخليق البيوتين) على كروموسم بكتريا القولون إ. كولاى. شكل (٣-5).

تركيب كروموسومات المتلقيات transductants الناتجة بواسطة النقل الخاص sp-transduction يختلف تماماً عن تركيب كروموسوم الناقلات الناتجة من النقل العام general transduction وفى الحالات الأخيرة الاتحاد يستبدل مقطع من كروموسوم المستقبل بمقطع من كروموسوم المعطى. وفى الإستقال الخاص مقطع د ن أ المعطى كروموسوم الفاج المندمج معه يضاف added لكروموسوم المستقبل منتجا ناقل ثنائى جزئياً partially diploid transduction (شكل ٣-6) .



www.zera3h.com
zera3h

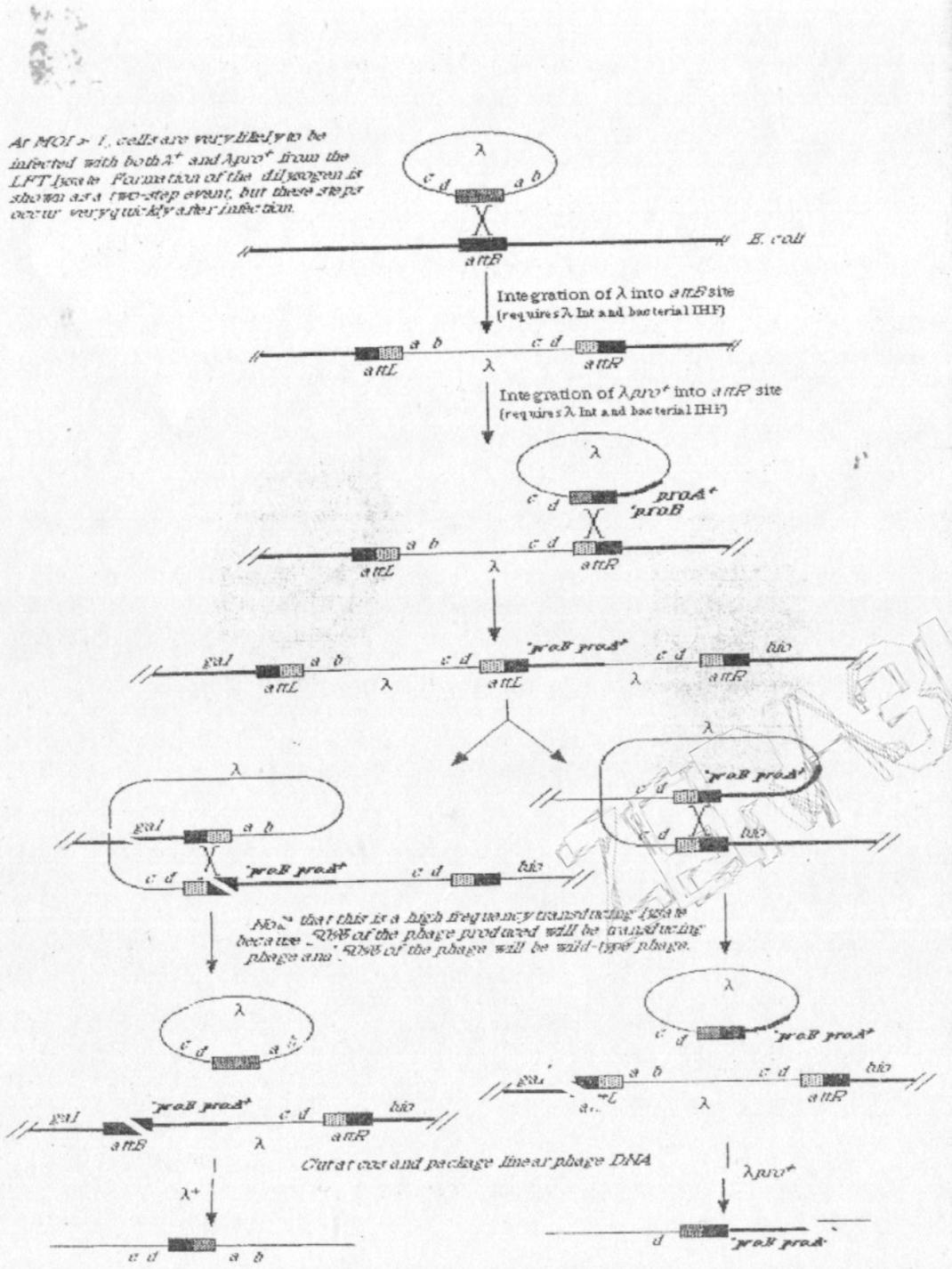


شكل (٣-4) : يوضح الإستنقال العام بواسطة البكتريوفاجات الفعالة والمعتدلة

شكل (٣-5) : يوضح الإستنقال الخاص لنقل الجينات الموجودة فى حيز صغير

(٣)الاستنقال الناقص أو المجهض Abortive transduction

ويختلف هذا الاستنقال فى أن الجين المستنقل ينتقل فقط عند أنقسام الخلية المنقول إليها إلى إحدى الخليتين الشقيقيتين فقط دون الأخرى ولهذا يسمى بالإستنقال الناقص كما وأن عدد المستنقلات لا يزيد مع الوقت كما هى العادة فى الاستنقال العام حيث أن الجين المستنقل لا يندمج integerate أو يكون اتحادات جديدة، ومثال على ذلك استنقال جين الحركة motility gene الذى يتحكم فى صفة تكوين الأهداب flagella فى بكتيريا السالمونيلا.



شكل (٣-6) : يوضح الإستنقال الخاص منتجا كروموسوم ثنائى الليسوجينية

www.zera3h.com
zera3h

(الاستنقال الإجهاضى أو **Abortive Transduction**)

(٤) الاقتران Conjugatin

إكتشف الاقتران عام ١٩٤٦ كل من ليدربرج وتاتم (Lederberg and Tatum) بانتقال د ن أ أثناء التزاوج بين المعطى إلى المستقبل عن طريق اتصال بين الخلايا أو أنبوب الاقتران التى يتكون بينهما. وعلى ذلك فانتقال المعلومات الوراثية أثناء الاقتران انتقال فى اتجاه واحد تماماً كما فى التحول والنقل أكثر من

الاقتران أو التزاوج

كونه انتقال متبادل للمادة الوراثية، وتتميز الخلايا القادرة على العمل كمعطى فى الاقتران بوجود زوائد خاصة على سطح الخلية تسمى نتوءات الجنس F-pilii وتخليق هذه النتوءات محكوم بالعديد من الجينات (تسعة جينات) والتى تحمل على جزئيات دائرية صغيرة من د ن أ أو كروموسوم صغير minichromosome (طولها حوالى ٩٤,٥٠٠ زوج من النيكلوتيدات تسمى عامل F (F-factor) .

وتكون الخلايا الحاملة لعامل F (Donor F^+) أنبوبة اقتران – و تبدأ عملية أنتقال المادة الوراثية د ن أ بعد التلامس مع الخلايا التى لا تحمل عامل F وتسمى F^- (المستقبلية) recipeint.

وعموماً عامل F يمكن أن يوجد فى حالتين :

(١) الحالة المستقلة autonomous state وفيها يتكرر مستقلاً عن كروموسوم العائل.

(٢) الحالة المندمجة integrated state والتى يدخل فيها إلى الكروموسوم البكتيرى ويتكرر معه مثل أى من الجينات الأخرى على الكرومسوم وعامل F يماثل كروموسومات فاجات النقل الخاص مثل العناصر الوراثية التى تسمى episomes .

وتسمى الخلية المعطية التى بها العامل F فى الحالة الذاتية autonomous خلية F^+ وعندما تقترن خلية F^+ مع خلية F المستقبلة فإن العامل F الذاتى ينقل وحده كلتا الخليتان المقترنتان exoconjugants (الخلايا المتضمنة فى عملية الإقتران) تصبح F^+ لأن العامل F يتكرر أثناء الانتقال وعلى ذلك الخلط بين مزرعيتن F^+ ، F ينتج فى الواقع جميع الخلايا الجديدة من الطراز F^+ .

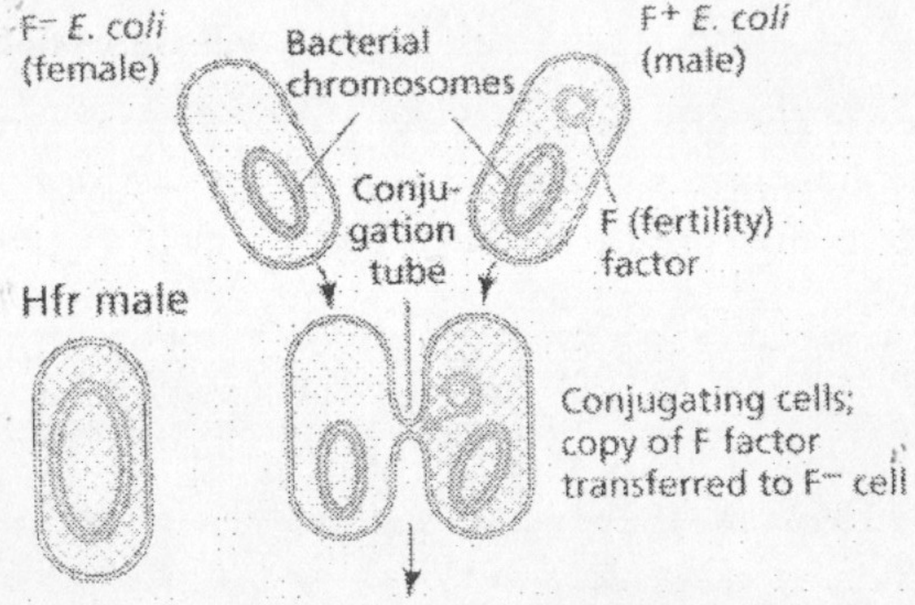
يمكن أن يندمج العامل F فى كروموسوم العائل فى أحد المواقع العديدة بواسطة ميكانيكية مماثلة تماماً لإندماج كروموسوم الفاج فى النقل الخاص بمعنى حدوث الاتحاد فى الموضع المخصص (شكل ٣-7) واندماج العامل F يعتقد أن يتم بواسطة مقاطع من د ن أ متكررة يطلق عليها اسم تتابعات الاندماج وتسمى الخلية الحاملة للعامل F المندمج Hfr (عاليه التكرار للاتحادات الجديدة high

www.zera3h.com
zera3h

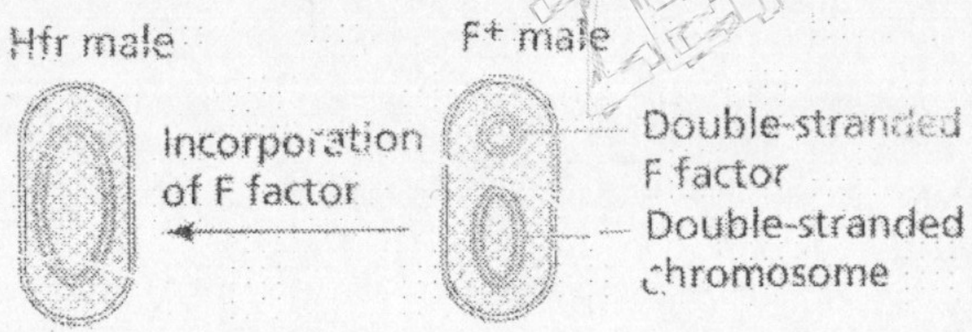
frequency recombiantion) وفى الحالة المندمجة العامل F يعمل على نقل الكروموسوم من خلية Hfr لخلية المستقبلة (F^-).

وعادة ما ينتقل جزء فقط من كروموسوم Hfr قبل انفصال الخلايا وينكسر الكروموسوم ونادراً ما ينتقل من Hfr كروموسوماً كاملاً .

ميكانيكية انتقال الـــ د ن أ من خلية المعطى إلى خلية المستقبل أثناء الاقتران هى نفسها تماماً فى حالة انتقال العامل F كما فى F^+ بتزاوجها مع F^- وانتقال الكروموسوم كما فى Hfr بتزاوجها مع F^-. والانتقال يعتقد أنه يبدأ بواسطة كسر إنزيمى endonuclealytic nick فى أحد الخيطين فى موقع خاص (أصل الانتقال the origin of transfer) بالعامل F وعندئذ ينتقل الخيط من الطرف ٥ من خلال أنبوبة الاقتران للنهاية المستقبلة. ويعتقد أن الانتقال يزدوج تبعاً لدورة التكرر الحلقى rolling cycle replication فالخيط الدائرى السليم يتكرر فى خلية المعطى والخيط المنتقل يتكرر بمجرد إنتقاله لخلية المستقبل (شكل ٣-8) ، وبسبب كون أصل الانتقال origin داخل العامل F فإن جزءاً واحداً من العامل F ينتقل من خلية Hfr لخلية F قبل الانتقال التدريجى لجينات الكروموسوم والجزء المتبقى من العامل F يكون آخر مقطع ينتقل من الـــ د ن أ و على ذلك ففى تزاوج Hfr مع F^- فالخلايا المستقبلة تكتسب عامل F^+ كاملاً (وعلى ذلك تصبح Hfr معطية) فى الحالات القليلة النادرة التى تنتقل فيها كروموسوم Hfr مع العامل F المندمج معه.



شكل (٣-7) : يوضح الحالات الثلاثة لخلية بكتريا القولون تبعاً لعامل الجنس : I- خلية مستقبلة (F^-) ، II- خلية معطية (F^+)، III- خلية معطية من النوع Hfr.



شكل (٣-8) : يوضح تحول خلية مذكرة F^+ إلى خلية عالية التزاوج Hfr

www.zera3h.com
zera3h

قد بينا فيما سبق أن نواة كل خلية من خلايا الفرد تحتوى على جهاز وراثى كامل حيث أن الجينات المحمولة فى الكروموسومات موجودة داخل النواة، وبديهى أن أى تغيير يطرأ على الكروموسومات الموجودة فى أى نواة يصحبه تغيير فى الجهاز الوراثى الموجود بهذه النواة. وقد يحدث التغيير فى نواة أى خلية من خلايا الجسم، وفى أى طور من أطوار نمو الأنسجة الجسمية أو الأنسجة التوالدية .

فإذا ما حدث تغيير فى الجهاز الوراثى الموجود بنواة أى خلية، فإن جميع الخلايا الناشئة من هذه الخلية، لابد وأن تحمل نواتها هذا التغير، فإذا حدث هذا التغير فى نواة جامطية، فإنها والفرد الذى ستشترك فى تكوينه سيحملان هذا التغير

وإذا حدث فى الخلايا التى تنشأ منها الجاميطات فإن عدد من هذه الجاميطات سيحوى هذا التغير وكذلك الأفراد التى تشترك هذه الجاميطات فى تكوينها .

وقد يحصل التغير فى الأنسجة الجسمية فى أى طور من أطوار التكوين والنمو، فإذا حدث فى طور الزيجوت مثلاً، فإن جميع خلايا الفرد ستحوى هذا التغير، وإذا حدث فى إحدى الخليتين الناتجتين من الانقسام الأول للزيجوت، فإن نصف خلايا الفرد ستحوى هذا التغير أما إذا حدث فى طور متأخر من نمو الفرد أو نمو أى جزء من أجزائه فإن الخلايا الناتجة فقط من إنقسام الخلية التى حدث بها التغير هى التى تحويه. كما قد يحدث فى النسيج المرستيمى للبرعم، إما فى أول أطواره وينتج عن ذلك أن جميع خلايا الجزء الخضرى الناتج من البرعم تحوى هذا التغير، وإما فى طور متأخر فتحويه بعض الخلايا فقط، وتكون الخلايا فى هذا الجزء من نوعين، ويعرف مثل هذا النمو المكون من نوعين أو أكثر من الأنسجة المختلفة فى التركيب العاملى بالكيميرا Chimera. وفى جميع الحالات السابقة

يظهر التغير الوراثى مباشرة إذا كان له أثر سائد ، أم إذا لم يكن له أثر سائد فلا يمكن أن يكتشف مباشرة طالما كان الكروموسوم المماثل يحمل أليات عادية تغطى الأثار المتنحيةة للتغير .

وتُفقد التغيرات التى تحدث فى الأنسجة الجسمية فى الحيوان بمجرد موت الفرد الذى حدثت فيه، ولكن فى كثير من النباتات يمكن الاحتفاظ بها إلى مالا نهاية عن طريق التكاثر الخضرى بكافة أنواعه، وفى بعض الأحيان عن طريق البذور التى تنتج عن الفرد الذى حدث به التغير.

- أنواع التغيرات فى الجهاز الوراثى :

تحتوى عادة الخلايا المختلفة لنفس الجسم وكذلك الأفراد المختلفة للنوع الواحد، على أعداد متساوية من الكروموسومات، وتوجد الجينات فى هذه الكروموسومات فى سلاسل طولية كالمبينة فى الخرائط الكروموسومية. فيحتوى الجهاز الوراثى الموجود فى نواة أى خلية جسمية عادة على مجموعتين كروموسومتين نظيرتين (٢ن) Diploid، كما أن عدد الكروموسومات يكون ثابتاً فى النوع الواحد، ولكنه يختلف باختلاف الأنواع، ففى الدروسوفلا ميلانوجاستر يوجد أربعة أزواج، وفى نبات البسلة سبعة أزواج، وفى الذرة عشرة أزواج، وفى الأنسان يوجد ثلاثة وعشرون زوجاً من الكروموسومات وهكذا.

إذا فرضنا أن مجموعة كروموسومية مكونة من أربعة كروموسومات، ورمزنا لكروموسوماتها بالحروف A, B, C, D فإن الهيئة الكروموسومية Chromosome complement لمثل هذه النواة تمثل كالآتى AA, BB, CC,

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

DD وكما هو الحال فى الجينات إذ تتكاثر طبيعياً وتكون نسخاً طبق الأصل لنفسها، فإن الكروموسومات تحذو نفس الطريق، وكذلك كما تطفر أحياناً الجينات فإن الكروموسومات قد تعطى تراكيب غير طبيعية أى شواذ يمكن التمييز بينها . وقد حصلنا من دراسة أنواع الشذوذ الكروموسومى المختلفة على نتائج هامة أدت إلى تقدم علم الوراثة، ويمكن تقسيم التغيرات الوراثية إلى ما يلى (شكل ٣-9):

أولاً : تغيرات فى عدد الكروموسومات :

(I) تغيرات مجموعية Euploidy

١- وحيدة المجموعة الكروموسومية Haploidy

٢- تعدد المجموعة الكروموسومية polyploidy

* تعدد المجموعات الذاتى Autopolyploidy

* تعدد المجموعات الخلطى Allopolyloidy

(II) تغيرات كروموسومية عددية Aneuploidy

ثانياً : تغيرات كروموسومية داخلية : Homosomal changes

١- النقص أو الاقتضاب deficiency or deletion

٢- التكرار Duplication

٣- الإنقلاب Inversion

ثالثاً : تغيرات كروموسومية مشتركة Heterosomal changes

الإنتقال Translocation

رابعاً : تغيرات موقعية أو جينية Point or gene mutations

وفيما يلى شرح موجز لكل منها :

أولاً : تغيرات فى عدد الكروموسومات :

(I) تغيرات مجموعية

وهى التغيرات التى تشمل نقص أو زيادة مجموعات كروموسومية كاملة للهيئة الكروموسومية الثنائية العادية :

١- وحيدة المجموعة الكروموسومية .

وهى عبارة عن نقص عدد المجموعات الكروموسومية فى الهيئة عن اثنتين، فالكائنات الأحادية تحوى مجموعة كروموسومية واحدة A, B, C, D أى تحتوى على (ن). وقد تكون حالة طبيعية فى بعض الكائنات بينما تعتبر شاذة فى البعض الآخر. فالطور الجاميطى فى النباتات الدنيئة مثل الثالوسية Thallophytes والحزازيات Bryophytes أحادية المجموعة، كما يعرف فى كثير من النباتات الراقية أطوار أسبوروفايتيه أحادية ولكنها تعتبر حالات شاذة كما توجد الأفراد وحيدة المجموعة الكروموسومية فى عدد من الحيوانات مثل ذكور الحشرات غشائية الأجنحة وبعض الحشرات والحيوانات الأخرى.

ويكون الانقسام الميوزى فى الأفراد أحادية المجموعة الشاذة غير منتظم لعدم تزاوج الكروموسومات، إذ يكون كل كروموسوم ممثلاً مرة واحدة، وبالتالى لا تتكون وحدات ثنائية والكروموسومات الأحادية تتوزع إلى القطبين توزيعاً إعتباطياً، وينتج عن ذلك أن معظم الأبواغ أو الجاميطات ينقصها عدة كروموسومات – ولكن قد تتكون بعض الجاميطات الحية، فى الذرة الأحادية يتكون بوغ واحد ذو عشرة كروموسومات فى كل ١٠٢٤ إنقساماً أى واحد فى 2^{10} نتيجة للتوزيع الإعتباطى للوحدات الكروموسومية الأحادية – ونتيجة لهذا التوزيع

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

والسلوك الشاذ للكروموسومات تتميز الكائنات الأحادية بدرجة عالية من العقم. وقد أمكن العثور على نباتات أحادية فى الذرة والشوفان والدتورا وغيرها من النباتات، ويمكن التعرف على النباتات الأحادية بأنها تكون عادة أصغر من النباتات الثنائية المجموعة المقابلة لها، ولو أنه قد وجد فى بعض الحالات أنه لا توجد فروق فى الحجم بين النباتات الثنائية والأحادية كما فى الفلفل. ويمكن الحصول على طرز ثنائية متماثلة العوامل بمعاملة نباتات أحادية المجموعة بمادة الكولشيسين Colchicine أو بالتلقيح الذاتى، وتكون متماثلة التركيب العاملى تماماً، فالمجموعتين المتماثلتين من الكروموسومات تنتجان من مجموعة واحد، وهذا يوفر أجيالاً ووقتاً ومجهوداً كبيراً للحصول عليها عما لو اتبعت تربية الأقارب.

٢- تعدد المجموعة الكروموسومية

وهى عبارة عن زيادة عدد المجموعات الكروموسومية فى الهيئة عن اثنتين، وتعدد المجموعات من نوعين:

I- تعدد المجموعات الذاتى

يؤدى التضاعف الكروموسومى الذى يليه فشل انقسام النواة والخلية إلى إنتاج خلايا فيها كل من كروموسومات الخلية الأصلية ممثلاً مرتين، وبذلك تحتوى هذه الخلايا على ضعف عدد الكروموسومات فى الخلايا الأصلية وتكوين مثل هذه الخلايا المتعددة الكروموسومات يحدث تلقائياً كما قد يستحدث صناعياً. ومن بين متعددات المجموعة الكروموسومية الذاتى Autopolyploid نجد ثلاثى المجموعة الكروموسومية الذاتى Autotriploid وفيه تحتوى الهيئة الكروموسومية على ثلاثة مجموعات من نوع واحد AAA, BBB, CCC, DDD ورباعى المجموعة الكروموسومية الذاتى Autotetraploid وفيه كل كروموسوم ممثل أربع مرات، كما يمثل كل كروموسوم فى الخماسى Autopentaploid والسداسى

Autohexaploid خمسة أو ستة مرات وهكذا. وتنشأ المتعددات الكروموسومية الذاتية من تضاعف كروموسومات سلالة من السلالات أو اتحاد جاميطتين تحتوى كل منهما أو إحداهما على أكثر من مجموعة كروموسومية.

II- تعدد المجموعات الخلطى

وفيها تكون واحدة أو أكثر من المجموعات المتعددة الموجودة فى الهيئة الكروموسومية للنواة غير منتظمة، وتنتج هذه الحالات نتيجة تهجين طبيعى أو صناعى بين نوعين أو جنسين متقاربين، فتكون الهيئة الكروموسومية لهذا الهجين خليطاً للمجموعات الكروموسومية المختلفة الواردة من الأبوين، فمثلاً إذا فرض وجود نوعين مختلفين بينهما صلة وبكل منهما أربعة أزواج من الكروموسومات.

P1 AA BB CC DD X A′A′B′B′C′C′D′D′

F1 ABCD A′B′C′D′

مثل هذه الهجن تكون عادة عقيمة مالم يحدث فيها تضاعف صناعى أو طبيعى وذلك نتيجة لسوء توزيع الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى بسبب فشلها فى التزاوج لعدم تناظرها. أما إذا حدث فيها تضاعف، أعطت فرداً بالتركيب الكروموسومى AABBCCDD A'A'B'B'C'C'D'D' ومثل هذا الفرد يكون فى العادة خصبا لاستتباب النظام فى توزيع الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى، حيث أصبح لكل كروموسوم قرين يتزاوج معه. وبالرغم من أن هذا الفرد رباعى، فإن وجود كل مجموعة بحالة مزدوجة مع عدم تماثل كروموسومات كل منها لكروموسومات المجموعة الأخرى، فلا تكون الكروموسومات إلا وحدات ثنائية أثناء الميوزى، مما يجعل أى فاحص سيتولوجى لا يعرف نشأة هذا الفرد، أن

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

يعتبره ثنائى المجموعة ذو ثمانية أزواج من الكروموسومات. وتعرف مثل هذه الأفراد بالمتعددات الخلطية للمجموعات الكروموسومية Allopolyploids والتى تبدو كالثنائية فى سلوكها السيتولوجى، بشبيهة ثنائى المجموعة Amphidiploid ويعتبر نبات الرافانوبراسيكا Raphanobrassica مثالاً تقليدياً للرباعى الخليط للمجموعات الكروموسومية وقد أمكن الحصول عليه من تهجين:

الفجل (A) *Raphanus sativus* وبه ٢ ن = ١٨،

والكرنب (B) *Brassica oleracea* وبه ٢ ن = ١٨ أيضاً .

ويمكن إجراء التهجين بين هذين الجنسين بصعوبة، ويحتوى الجيل الأول على ١٨ كروموسوم، تسعة منها من الفجل وتسعة من الكرنب (9A + 9B) وفى الانقسام الميوزى للهجين يفشل غالباً التزاوج بين كروموسومات الفجل والكرنب ، وتكون الانقسامات الميوزية على درجة عالية من الشذوذ وتضمحل عادة الأبواغ مما يجعل الهجن عقيمة تماماً تقريباً، وهذا المثال يعتبر حالة نموذجية للعقم فى الهجن بين الأجناس المختلفة غير أنه قد يحدث تضاعف للهيئة الكروموسومية فى بعض الخلايا وتتكون بذور نتيجة إخصاب بويضات غير مختزلة العدد الكروموسومى بحبوب اللقاح غير مختزلة أيضاً. وعند زراعة هذه البذور تنتج نباتات تحتوى على ٣٦ كروموسوم وهو مجموع أعداد كروموسومات الأبوين (تسعة أزواج من الفجل وتسعة أزواج من الكرنب) ويمتاز هذا الهجين الرباعى المجموعة بضخامة الحجم وبخصوبته التامة تقريباً وتوالده الصادق، وقد أطلق عليه اسم رافانو براسيكا Raphanobrassica لأن صفاته الموفولوجية وسط بين الفجل والكرنب.

وكثيراً من الأنواع النباتية ذات الأهمية الاقتصادية مثل القمح والقطن والدخان هى عبارة عن نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية الخلطية أى شبيهة الثنائى. فمثلاً تقع الأنواع المعروفة للقمح فى ثلاثة أقسام :

الأول : ذو سبعة أزواج من الكروموسومات ومنه قمح وحيد الحبة

T. monococum

الثانى : ذو أربعة عشر زوجاً من الكروموسومات ومنه ثنائى الحبة

T. dicoccum والأقماح المصرية البلدية *T. turgidum*

الثالث : ذو احدى وعشرون زوجاً ومنه قمح الخبز *T. aestivum* ومنه الأقماح المعروفة فى مصر بالهندى .

وبتحليل هذه الحالة وجد أن العدد الأساسى Basic number لعدد الكروموسومات فى المجموعة الكروموسومية فى القمح هو سبعة وأن تعدد المجموعات ليس من النوع الذاتى بل الخلطى والقسم الأول به مجموعتين متشابهتين كل منها سبعة كروموسومات والقسم الثانى به أربع مجموعات كل منها سباعى الكروموسوم ولكنها من نوعية A&B والقسم الثالث به ست مجموعات كل منها سباعى الكروموسوم ولكنها من ثلاثة أنواع A, B & D . وتعتبر اقماح القسم الثانى والثالث خلطية التعدد المجموعى من النوع المعروف بشبيه الثنائى Amphdiploid .

(II) تغيرات كروموسومية عددية Aneuploidy

www.zera3h.com
zera3h

فى الأفراد الثنائية المجموعة ينفصل فردى كل زوج من الكروموسومات المتناظرة أثناء الأنقسام الميوزى ، وتعطى مجموعة أحادية من الكروموسومات فى كل جاميطة وقد تحدث حالات شاذة ينتج عنها نقص أو تكرار لكروموسوم معين . وقد أوضح بريدجز Bridges أن ذلك ينشأ عن عدم الأنفصال Non-disjunction بمعنى أن فردى زوج من الكروموسومات يفشلان فى الأنفصال عن بعضهما فى الأنقسام الميوزى وبذلك يتجه الكروموسومان المتناظران معاً فى الطور الأنفصالى إلى أحد النواتين ، فينشأ عن ذلك جاميطتان إحداهما (ن+١) والأخرى (ن-١) وعند الأخصاب بجاميطة عادية نحصل على أفراد تركيبها (٢ن+١) أو (٢ن-١) وتعرف أفراد المجموعة الأولى بثلاثية الكروموسوم Trisomic والثانية بأحادية الكروموسوم Monosomic ويوجد هذا الكروموسوم المعين ممثلاً ثلاث مرات فى أفراد المجموعة الأولى ، ومرة فى أفراد المجموعة الثانية .

وقد حصل بريدجز على أفراد من الدروسوفلا ميلانوجاستر وكان بعضها يحتوى على ثلاثة من الكروموسوم الرابع الشبيه بالنقطة Triplo-IV والآخر يحتوى على واحد فقط Haplo-IV بدلاً من اثنين وهو العدد الطبيعى .

وفى الإنسان توجد إناث أحادية كروموسوم X أى XO وهذا هو التركيب الأحادى الوحيد الذى يمكن بقاءه فى الإنسان . وتتميز هذه الإناث بأنها تفشل فى أن تكون امرأة ناضجة ، وتكون قصيرة القامة ولا يكون لها ثدى ولا تحيض وهذه الحالة تعرف بتناذر تزنر Turner's syndrome وترجع هذه التسمية نسبة إلى مكتشفها . وكذلك توجد إناث ثلاثية الكروموسوم x أى تكون xxx وهذه تكون متخلفة عقلياً كما توجد ذكور ثلاثية كروموسوم الجنس تركيبها xxy ، وتتميز هذه الأفراد بالعقم وصغر حجم أعضائها التناسلية عن المعتاد ، وقد تشتمل على بعض

الصفات الأنثية الثانوية . ويكون بعض هذه الأفراد متخلفاً عقلياً وتعرف هذه الحالة بتناذر كلينفلتر Kleinfelter's syndrome . كما يوجد أشخاص آخرين ثلاثية كروموسوم الجنس تركيبها xyy تتميز بأنها منفردة بعيدة عن الصفات الإجتماعية المرغوبة فتكون شرسة .

وقد أكتشفت بعض حالات أخرى لأفراد ثنائية المجموعة الأوتوسومية وعديدة لكروموسومات الجنس وهى xxxx ، xxxxx وتكون هذه الأفراد إناث ، كما توجد أفراد تركيبها xxxyy ، xxxxy ، xxyy ، xxxy وتكون هذه الأفراد ذكور . أى أن وجود كروموسوم y أساسى ليصبح الفرد ذكراً . وتستخدم أحاديات وثلاثيات وعديمة الكروموسوم فى تحديد مواقع الجينات على الكروموسومات .

ثانياً : تغيرات كروموسومية داخلية Homosomal changes:

وهى عبارة عن جميع التغيرات التى تتصل بكروموسوم واحد فقط ، وقد تكون هذه التغيرات نتيجة لفقد منطقة من الكروموسوم تحمل بعض الجينات (النقص أو الأقتضاب) Deficiency أو تكرارها (التكرار) Duplication أو تغيير وضعها بالنسبة للجينات الأخرى (الأنقلاب) Inversion ويتفاوت عادة طول المنطقة التى يشملها التغير .

(أ) النقص أو الإقتضاب

معناه غياب مقطع من أى كروموسوم ، وقد يكون هذا النقص طرفياً ، وقد يحدث فى أى جزء آخر من الكروموسوم ويعرف بالنقص البينى (شكل ٣ - 10)

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

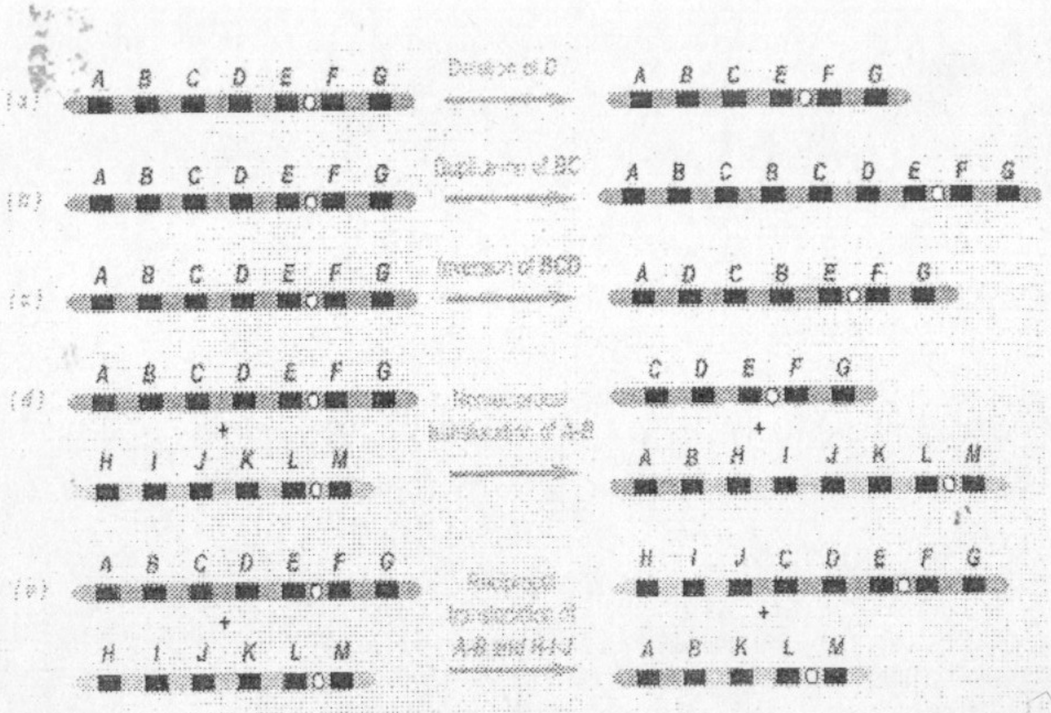
وحدوث النقص البينى يكون إما نتيجة لكسرين والتخلص من الجزء المكسور أو نتيجة لكسرين فى منطقتين ملتفتين ويتبع ذلك إلتحام الأطراف ، وقد ينشأ نتيجة لعبور غير مشروع بين مقطعين غير متناظرين .

ويتوقف مصير الجزء المكسور على ما إذا كان يحتوى على السنترومير Centric fragment ويكون سلوكه ككروموسوم عادى . وأما الجزء المتبقى من الكروموسوم الذى لا يحتوى على السنترومير Acentric fragment فيفقد بسرعة أما النقص الطرفى فيحدث نتيجة لكسر بسيط للكروموسوم وفقد مقطع عديم السنترومير .

ويمكن ملاحظة النقص سيتولوجيا فى الكروموسومات العملاقية بسهولة فى طور الزيجوتين وقد يكون النقص فى الحالة الخليطة غير مميت ، وفى هذه الحالة يكون له تحورات مظهرية ملحوظة مثل قضم حافة الجناح Notch في حالة النقص فى كروموسوم X فى حشرة الدروسوفلا . ويلاحظ أن الأفراد الأصلية للنقص – فيما عدا بعض إستثناءات قليلة جداً تموت .

وقد وجد إرتباط بين وجود نقص فى الذراع القصير للكروموسوم الخامس فى الإنسان وتناظر عواء القط Cri du chat حيث يشمل ذلك تخلفاً عقلياً وصراخاً يشبه عواء القطط فى الأطفال حديثى الولادة .

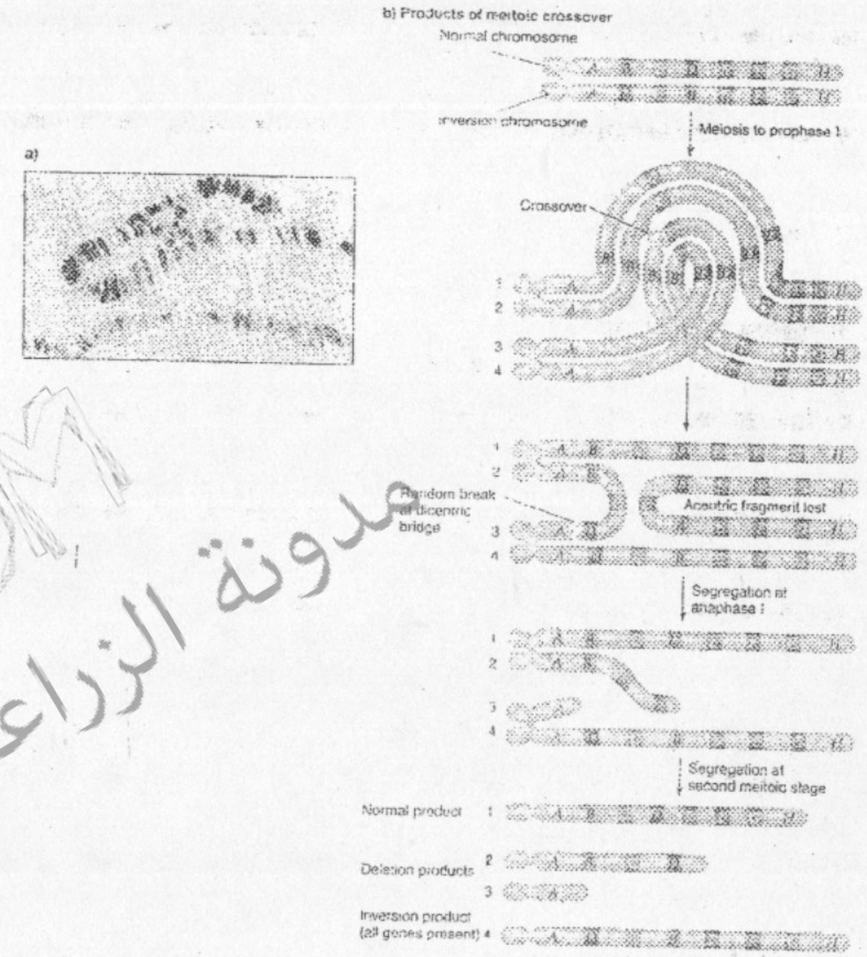
وتوجد أحياناً خلايا سرطانية خبيثة تحتوى على خليط من إقتضابات أو تكرارات . فخلايا الدم البيضاء لمرضى لوكيما النخاع الشوكى المزمنة غالباً ما تحمل نقصاً على الذراع الطويل للكروموسوم رقم ٢٢ (مكوناً ما يعرف بكروموسوم فلاديلفيا) .



شكل (٣-9): أ- نقص ب- تكرار ح- انقلاب أصيل

د- انتقال خليط هـ- انتقال أصل و- انتقال أصل

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٣-10) : يبين النقص الطرفى (إلى اليمين) والنقص البينى (إلى اليسار)

كذلك يوضح مظهرها فى الدور الضام عند التزاوج فى الحالة الخلطية

(ب) التكرار

وجد فى الدروسوفلا ميلانوجاستر أن بعض الأفراد التى لابد وأن تكون أصيلة لجينات متنحية معينة فشلت فى إظهار تأثيرات هذه الجينات .

وبالتحليل تبين وجود الأليلات السائدة لهذه الجينات فى موضع آخر من الكروموسوم علاوة على الأليلات المتنحية ، أى أن مثل هذه الحشرات إحتوت علاوة على الهيئة الكروموسومية الثنائية الكاملة على قطعة إضافية من كروموسوم

هذا وقد تكون الكسرة الكروموسومية المكررة تشمل السنترومير وفى هذه الحالة تظهر كما لو كانت كروموسوماً صغيراً مضافاً إلى الهيئة الكرموسومية العادية ، وتأثير التكرار على الحيوية أقل ضرراً من تأثير النقص ، ويؤدى التكرار إلى ظهور أنواع شتى فى الصفات الجسيمة لحشرة الدروسوفلا مثل خشونة العين ، وتغير فى شكل الأجنحة وتحورات فى الشعور الشوكية . وقد يتكرر أحياناً مقطع صغير فى الكروموسوم نتيجة لعبور غير متساوى وتسمى هذه التكرارات Repeat .

كما هو الحال فى طفرة عودى العين Bar eye فى الدروسوفلا التى هى نتيجة لتكرار مقطع صغير فى كروموسوم X (شكل ٣-13) . وفى الإنسان وجد أن تكرار بعض الشرائط فى الذراع الطويلة لكروموسوم ١٤ يؤدى إلى وجود أورام ليمفاوية .

شكل ٣- 13 فى طفرة عودى العين Bar eye فى الدروسوفلا التى هى نتيجة لتكرار مقطع صغير فى كروموسوم

(ج) الإنقلاب Inversion

هو عبارة عن إنعكاس وضع قطعة من الكروسوم بأن تدور حول نفسها ١٨٠° وينتج عنه تغير فى أجزاء الكروموسوم بالنسبة لبعضها الآخر . وقد يكون هذا الإنعكاس بعيداً عن منطقة السنترومير Paracentric inversion أو يشمل السنترومير Pericentric inversion من هذا يتضح أن الإنقلاب إذا كان مشتملاً على السنترومير فإنه قد يغير من شكل الكروموسوم الأصلى . فمثلاً كروموسوم

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

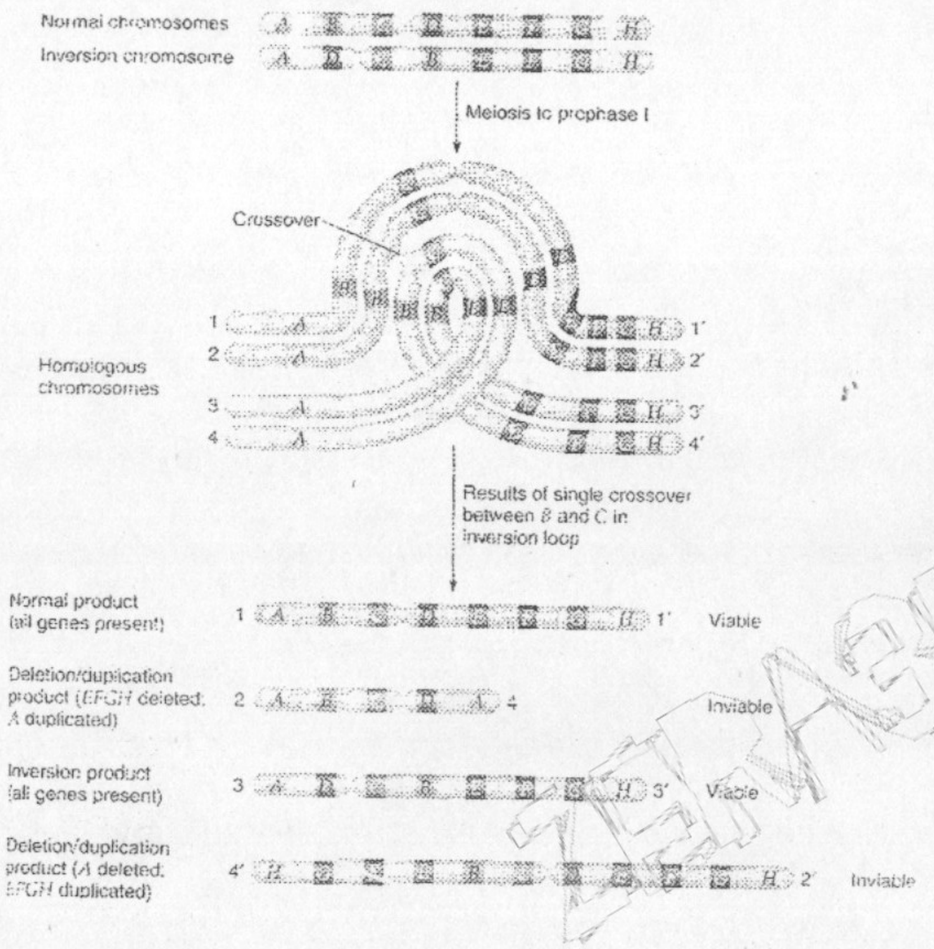
وسطى السنترومير يصبح طرفى السنترومير بواسطة إنقلاب شامل السنترومير متضمناً أطوالاً غير متساوية من الكروموسوم عن يمين ويسار السنترومير كما هو موضح بالشكل الآتى :

كروموسوم وسطى السنترومير ١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧ ٨

كروموسوم به سنترومير قريب من الطرف ١ ٥ ٤ ٣ ٢ ٦ ٧ ٨

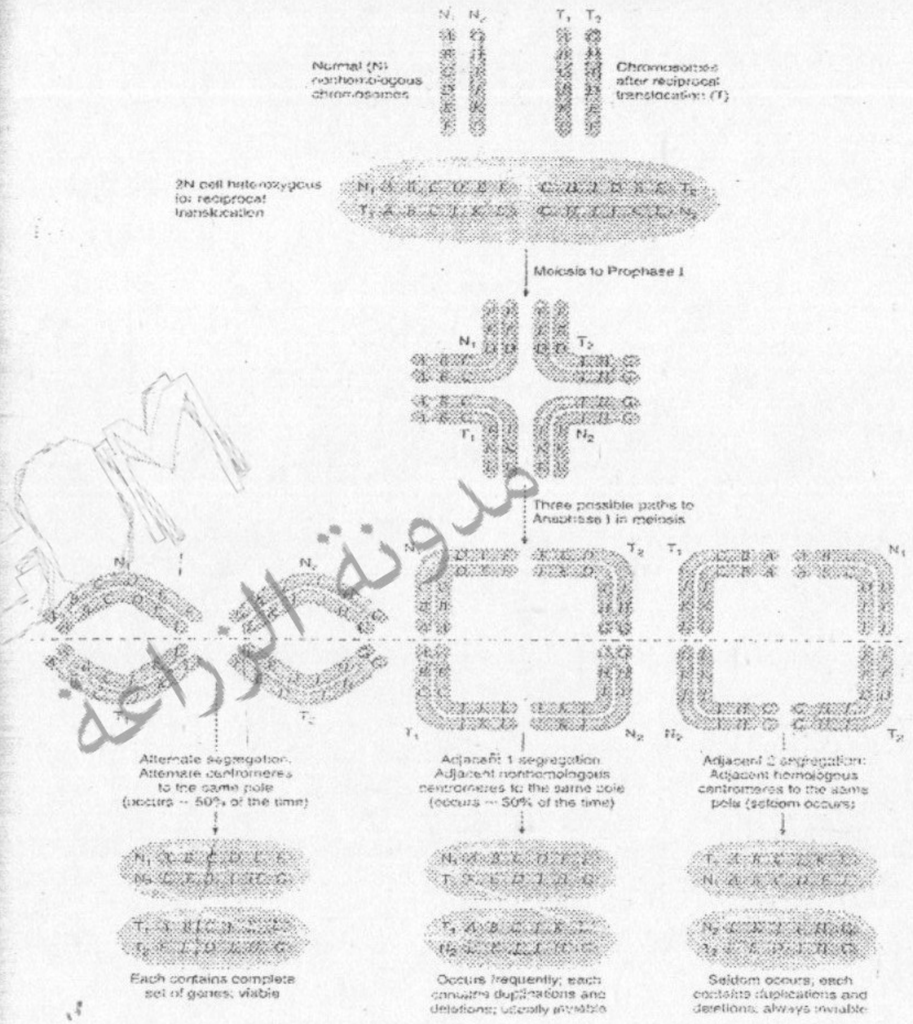
وقد حدث تطوراً كبيراً للطراز الكروموسومى عن طريق مثل هذه التغيرات الكروموسومية ومن السهل تمييز الإنقلاب الخليط فى الكروموسومات العملاقية ، أما فى الكائنات التى لا يوجد بها غدد لعابية فيمكن إكتشاف الإنقلاب الذى لا يشتمل على السنترومير أثناء الإنقسام الميوزى (فى الطور الإنفصالى الأولى) بملاحظة الجسور الكروماتيدية Chromatid bridges وما يصحبها من شظايا Acentric fragments شكل (٣ – ١١)

أما الإنقلاب الذى يحتوى على السنترومير فقد يؤدى إلى تغير شكل الكروموسوم بالنسبة لموضع السنترومير . كما أنه يؤدى إلى تكوين جاميطات تحتوى على نقص وتكرار (شكل ٣ – ١٢) .



شكل (٣ – 11) : نتيجة الإنقسام الميوزى فى حالة الإنقلاب الذى لا يشمل السنترومير ووجود كيازما واحدة ويتضح فيه تكوين جسر كروماتيدى به سنتروميرين وشظية عديمة السنترومير بجانب كروماتيدة عادية وأخرى بها إنقلاب .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٣ – 12) : نتيجة الإنقسام الميوزى فى حالة الإنقلاب الذى يشمل السنترومير ووجود كيازما واحدة ويتضح فيه تكوين كروماتيدتين بهما نقص وتكرار وكروماتيدة عادية وأخرى بها إنقلاب ومن هذا يتضح أن الإنقلاب يؤدى إلى نقص كبير فى معدل العبور كما أنه يسبب إقلال الخصوبة .

مدونة الزراعة

ثالثاً : تغيرات كروموسومية مشتركة :

الإنتقال :

عبارة عن تبادل أجزاء بين كروموسومين غير نظيرين ليكونا كروموسومين جديدين ، وليس من الضرورى أن تكون الأجزاء المتبادلة ذات طول واحد . وهذا التغير يمكن أن يحدث تلقائياً كما أنه يمكن زيادة تكرار حدوثه بإستعمال المطفرات المختلفة . ولا يغير الإنتقال أو الإنقلاب نوع أو كمية الجينات فى الكروسومات ولكنها تغير ترتيب الجينات . وينبغى أن تكون الأفراد التى تحمل مثل هذه الترتيبات الجديدة عادية المظهر تماماً إلا فى حالة ما إذا كانت العلاقات بين الجين أو الجينات وما يجاورها من جينات ذات تأثير على التعبير المظهرى كما فى حالة تأثيرات الموضع Position effect .

ويكون الإنتقال أما أصيلاً أو خليطاً ، وفى الحالة الأخيرة يتكون فى الإنقسام الميوزى تشكيلاً تزاوجياً للكروموسومات على هيئة صليب ، وينشأ ذلك نتيجة لجاذبية نوعية بين المقاطع المتناظرة . وقد تتكون كيازما فى كل ذراع من أذرع الصليب، فتتكون وحدات رباعية الكروموسوم مكونة من أربعة كروموسومات منفردة ، كل كروموسوم منها يناظر جزئياً كروموسومين آخرين من المجموعة (شكل ٣ – ١٢) ، ونتيجة لذلك تتكون نسبة من الجاميطات بها نقص وتكرار ، لذلك تكون الأفراد التى بها إنتقال خليط قليلة الخصوبة كما فى الذرة .

www.zera3h.com
zera3h

تأثيرات الموضع Position effect:

اتضح لنا أن الانقلاب والانتقال لا يغير من كمية أو نوعية الجينات ولكنه يغير من جيرة الجينات بالنسبة لبعضها، وقد يكون لهذا التغيير تأثير على التعبير المظهرى للجين نفسه . ويمكن تقسيم تأثيرات الموضع إلى نوعين أساسيين :

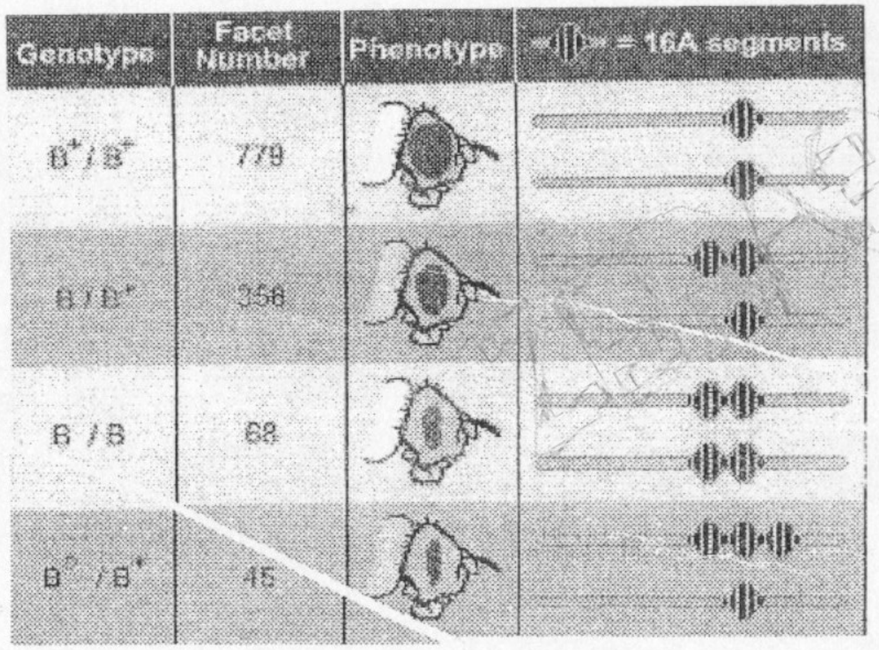
(أ) النوع الثابت Stable or S-type :

ويعرف هذا النوع فى عدد قليل من الحالات، وينشأ نتيجة لتنظيم كروموسومى جديد يشمل المناطق اليوكرماتينيه، ويمتاز هذا النوع بتجانس وثبات الفعل الجينى. ومثال ذلك طفرة عودى العين Bar-eye فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر (شكل ٣-١٣) والتى تسبب نقص عدد العديسات، وقد نشأت نتيجة لتكرار المنطقة 16A فى كروموسوم X فيصبح الكروموسوم محتوياً على منطقتين. وقد وجد أن زيادة التكرار على ذلك – أى يصبح ثلاثا – يسبب زيادة الأثر وينتج عنه طفرة أخرى تعرف بالعودى المزدوج أو الفائق Double bar وينتج عن ذلك زيادة نقص عدد العديسات عن العودى. فالإناث الأصيلة لعودى العين وكذلك الخليطة التى تحتوى على العودى المزدوج والكروموسوم العادى، كل منهما يحتوى على أربعة مناطق 16A ولكن نجد أن العديسات فى الحشرة الأخيرة " الخليطة" أقل منه فى الحشرة الأولى الأصيلة ، ويرجع هذه الفرق إلى فعل الجين أو الجينات الواقعة بالقرب من المنطقة التى حدث عندها هذا التكرار. ووجود تكرار أكثر على نفس الكروموسوم يكون تأثيره أشد عما لو كان على كروموسومين مختلفين .

(ب) النوع الغير الثابت Variegated or V-type :

ويشمل هذا النوع معظم أنواع تأثيرات الموضع المعروفة ، ونجد فى هذه الحالة أن تغير أثر الجين المرتبط بتغير موضعه عرضه لتذبذبات واسعة وكثيرة، وغالباً تكون فى خلايا نفس الفرد، وبذا ينشأ عنها نوع من البرقشة الجسمية ، ويلاحظ أن التنظيم الكروموسومى الجديد فى مثل هذه الحالات يشمل دائماً المناطق

اليوكروماتينيه – والهتروكروماتينيه الموجودة فى الكروموسوم فتنشأ عن إنتقال الجين من موضع قريب من منطقة يوكرماتينيه إلى قرب منطقة هتروكروماتينيه . ومثال ذلك أنثى حشرة دروسوفلا ميلا نوجاستر خليطة لصفة لون العين تركيبها $X^{+}X^{w}$ فقد يكون الجين w فى وضعه الطبيعة فى كروموسوم X بينما يكون موضع الاليل فى الكروموسوم النظير مختلفاً نتيجة لترتيب جديد للجينات . ففى مثل هذه الحشرة نجد برقشة فى فى لون العين الفاتح أو مناطق فاتحة تظهر فى اللون الأحمر أو اختلافات أخرى وكلها تظهر نتيجة لإختلاف التركيب العاملى والبيئة .



شكل (٣-13) : طفرتى العين العودية والعودية الفائقة في حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر

www.zera3h.com
zera3h

رابعاً : التغيرات الموقعية أو الجينية Point or gene mutations

من المعروف أن التوارث يعتمد على إنتقال الجينات المحمولة بمنتهى الدقة من الأباء إلى النسل أثناء عملية التكاثر جيلاً بعد جيل . وأصبح معروف أيضاً أن الجينات تتكون من د ن أ. ويتمثل محتواها الشفرى فى تتابعات من أزواج القواعد التى تتكرر بدقة خلال عملية التناسخ (بالطريقة شبه المحافظة) وتشتمل أنزيمات بلمرة الـ د ن أ التى تساعد فى عملية تكرره (أو تناسخه) على نشاط الأكسونيوكلييز التى تحلل الـ د ن أ من طرفه فى الإتجاه ٣′ ← ٥′ مما يمكنها مراجعة جزئيات الـ د ن أ الناتجة وتصحيح الأخطاء الناتجة خلال تفاعل البلمرة. أى أن هناك ميكانيكيات قد نشأت لتسهيل النقل السريع للمعلومات الوراثية من جيل لآخر ومع ذلك تحدث بعض الأخطاء أو التغيرات. وهذه الأخطاء المفاجئة والمتوارثة تسمى بالطفرات Mutation.

ومصطلح طفرة يشير إلى كل من التغيرات الحادثة فى مادة الوراثة والعملية التى يحدث عن طريقها هذا التغير . والكائن الذى يبدى شكلاً مظهرياً جديداً نتيجة لوجود الطفرة يسمى بالطافر Mutant.

فالطفرة Mutation إذن هى تغير فجائى مستمر فى التركيب الوراثى لا يرجع سببه إلى الانعزال أو الإتحادات الجديدة (وينشأ عنه آليل جديد والذى يختلف عن الآليل الأصلى فى مدى فعله وتأثيره على التعبير المظهرى لصفة معينة) وهى تورث من جيل إلى جيل آخر.

وعادة يستعمل مصطلح طفره للدلالة على التغيرات الجينية أى داخل الجين نفسه .

وعادة نستطيع أن نميز التغيرات الكروموسومية باستخدام الميكروسكوب، أما الطفرات الجينية فمن الصعب رؤيتها ولكن من الممكن تتبعها بالتجارب الوراثية .

والطفرة هى المصدر الأساسى لجميع الاختلافات الوراثية أى أنها توفر المادة الخام لحدوث التطور وأنها مصدر الحصول على اليلات متعددة للجين . فمثلاً الاتحادات الجديدة (الناتجة عن العبور) تقوم بإعادة ترتيب التباين الوراثى فى تباديل وتوافيق جديدة . والانتخاب الطبيعى أو الصناعى يحافظ على التركيب الأكثر تكيفاً مع الظروف البيئية الموجودة أو المرغوبة.

وقد شوهدت الطفرات فى جميع الكائنات مثل عفن الخبز، الذرة، الفيران، الإنسان، البكتريا.. الخ. فأينما توجد المادة الوراثية توجد الطفرة. والطفرة لا تنشأ بالتدرج بل تظهر فجأة والفرد الطافر تُورث عوامل صفاته إلى نسله بنفس الكفاءة التى يورث بها الفرد العادى عوامل صفاته الوراثية .

ويمكن تقسيم الطفرات إلى نوعين :

* تلقائية Spontaneous * أو مستحدثة Induced

والطفرة التلقائية هى التى تظهر على شكل تغيرات فجائية وراثية طبيعياً وتعاود الظهور بين الحين والآخر ومعدل حدوثها ضئيل جداً. ويتراوح بين واحد فى المائة ألف إلى واحد فى العشرة مليون. وتختلف من جيل إلى آخر. ويعتمد معدل حدوث الطفرة التلقائية على الحالة الفسيولوجية والكيموحيوية للخلية .

فمثلاً وجد أن البيورينات Purines ومشتقاتها Derivatives يزيد من معدل حدوث الطفرات التلقائية بينما البيريميدنات Pyrimidnes ومشتقاتها لا تقوم بذلك .

www.zera3h.com
zera3h

كما أثبتت التجارب أن Purine ribosides يقلل من حدوث الطفرة أى أنه مثبط لها Antimutagen وهذه المواد من المنتجات التى توجد فى الخلية نتيجة لعملية الهدم .

ومنذ اكتشاف الطفرة دأب المشتغلون بالوراثة على دراسة كيفية التحكم فيها حتى يمكن استحداث صفات وراثية جديدة حسب الحاجة. وقد تحقق جزء من هذا الأمل وأصبح من الممكن استخدام مؤثرات خارجية تسرع من معدل حدوث الطفرة وهذه تسمى بالطفرة المستحدثة .

والطفرة المستحدثة : هى الطفرة التى تنجم صناعياً من المعاملة بالمواد المطفرة .

وقد كان العالم مولر Muller عام ١٩٢٠ الفضل فى اكتشاف أثر الأشعة السينية فى استحداث الطفرات فى الدروسوفيلا. وكان للعالمة أورباخ Auerbach عام ١٩٤٣ فى اكتشاف أن المواد الكيماوية لها أثر فعال فى زيادة معدل الطفور .

وأصبح معروفاً أن آشعة ألفا، بيتا، وجاما من أقوى المؤثرات أيضاً على استحداث الطفرات ومن خصائصها أنها عندما تمر من خلال المادة الوراثية تسبب تاينا لبعض جزيئاتها وتدخل فى تفاعلات من بنائها وتركيبها ووجد أن معدل الطفرة يتناسب طردياً مع كمية الأشعة المستخدمة .

وتجدر الملاحظة أن الطفرات التلقائية أو المستحدثة فى الوقت الحالى غالبيتها غير مرغوب فيها أو حتى تسبب ضرراً للكائن ويعزى ذلك إلى أن الأنواع المختلفة فى الكائنات الحية قد وصلت إلى ما هى عليه الآن نتيجة الانتخاب الطبيعى المستمر لفترات طويلة ولا بد أنه خلال هذه الفترات قد انتخب من الطفرات وما هو ذو ميزة لهذه الأنواع . والطفرات المستحدثة قد تكون مفيدة

لمربى النباتات وقد استغلت فعلاً فى كثير من التجارب. أما فى تربية الحيوان فاستعمالاتها محدودة للغاية .

الأساس الجزيئى للطفور The Molecular Basis of Mutation

عندما وصف واطسون وكريك تركيب سلسلة الـــ د ن أ المزدوجة وافترضنا التناسخ بالطريقة شبه المحافظة المبنى على التزاوج الخاص بالقواعد كان ذلك لتوضيح الانتقال الدقيق للمعلومات الوراثية من جيل لآخر كما أنهما افترضا أيضاً تفسير ميكانيكية الطفور التلقائى .

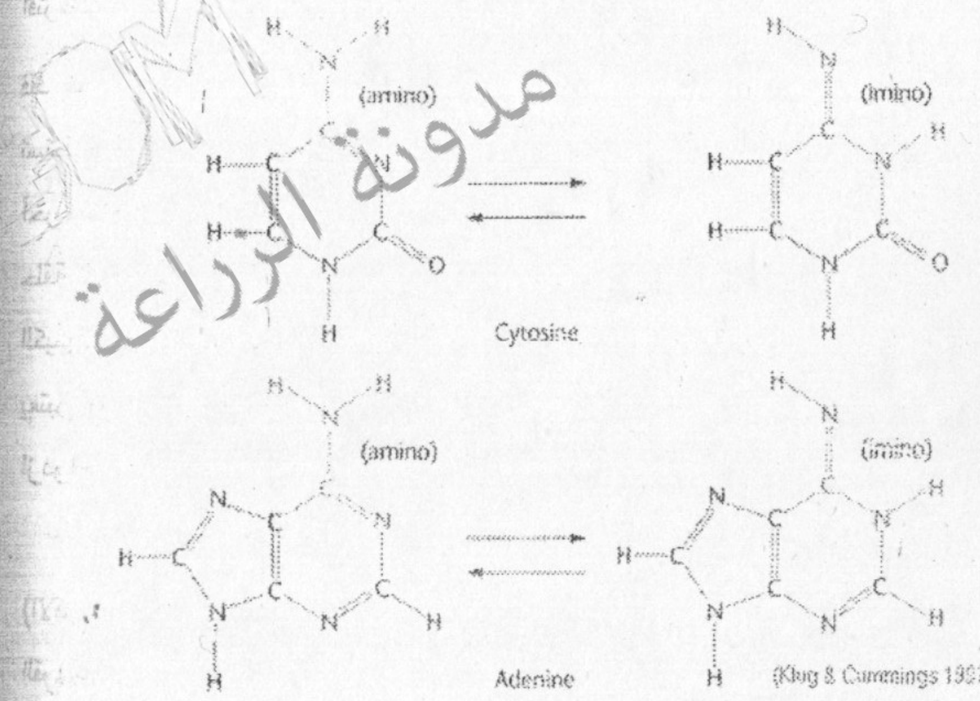
فقد استنتج واطسون وكريك أن تركيب القواعد ليس ثابتاً، فذرات الأيدروجين تستطيع التحرك من وضع أو مكان معين فى البيورين أو البيريميدين إلى مكان آخر، مثلاً من مجموعة الأمين إلى حلقة النيتروجين (السيتوزين والأدينين) أو من حلقة النيتروجين إلى مجموعة الكيتون (ثيامين – جوانين) . وهذا التغير أو التردد الكيميائى يسمى التبادل المشابه التردد Tautomeric shifts ورغم أن هذا النظام يعتبر نادراً إلا أنه يعتبر مهماً فى بناء الـــ د ن أ حيث أنه يغير أو يبدل نظام ازدواج القواعد المحتمل الحدوث .

إن شكل أو حالة الأينول (الأقل ثباتاً) للثيمين والجوانين وحالة إمينو (الأقل ثباتاً) السيتوزين والأدنين وكلاهما تنتج من تحرك ذرة الأيدروجين خلال القواعد النيتروجينية (شكل ٣-١٤) تؤدى عادة إلى الشكل النادر (اينول أو إمينو) فى اللحظة التى يحدث فيها تناسخ أو اتحاد لسلسلة الـــ د ن أ القديمة والنتيجة حدوث طفور. وعندما توجد القواعد فى حالتها النادرة الأمينو Imino أو الإينول Enol يمكن أن يحدث إزدواج G-T، A-C والتأثير الحقيقى لهذا الحدث بعد عمليات التناسخ المطلوبة هو انعزال القواعد ذات الازدواج الخاطئ Mismatched ويؤدى ذلك إلى استبدال قواعد AT ← GC ← , GC ← AT

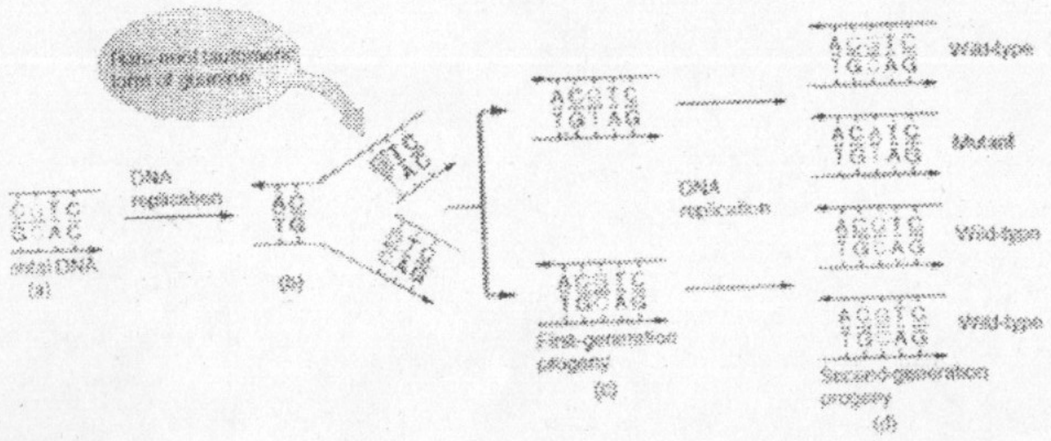
مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

شكل (٣-١٥) . يحدث الطفور نتيجة التبادل المشابه التردد فى قواعد الـ د ن أ عن طريق احلال أو استبدال البيورين فى شريط واحد للـ د ن أ بالبيورين الأخر واحلال البيريميدين فى شريط واحد للـ د ن أ بالبيريميدين الآخر والاستبدال فى مثل هذه الحالة يسمى استبدال أو إحلال متكافئ Transition.

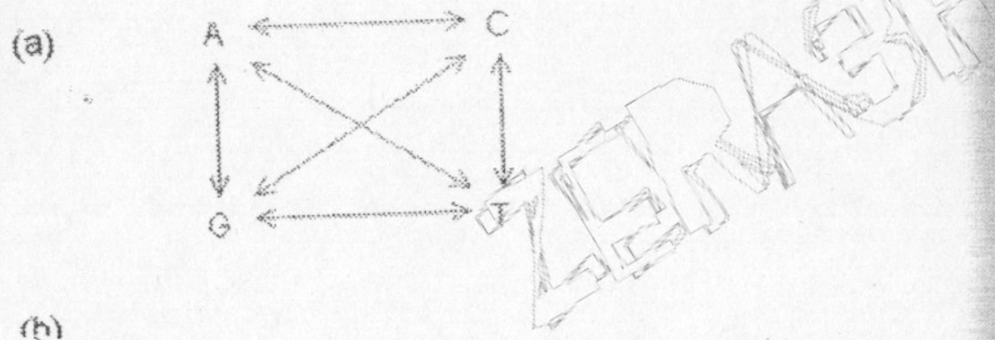
وإحلال قاعدة من البيورين بالبيرميدين أو العكس يسمى استبدال أو إحلال متعاكس أو غير متكافئ Transversion.



شكل (٣-١٤) : النظام المتوتر للأربع قواعد الأساسية في الـ د ن أ يرجع إلى التبديل في ذرات الأيدروجين بين الموقع ٣ والموقع ٤ للبيريميدينات وبين الموقع ١ والموقع ٦ للبيورينات الذى يغير التزاوج المنتظر للقواعد .



شكل (٣-١٥) : يوضح الطفور عن طريق التبادل المتوتر فى قواعد الـ د ن أ



شكل (٣-١٦) : رسم تخطيطى يوضح مدى إمكانية تبادل القواعد فى الـ د ن أ يتضمن ذلك أربع حالات انتقال (بيورين للبيورين أو البريميدين للبريميدين، السهم

مدونة الزراعة
ZERA3H
www.zera3h.com
zera3h

المتصل) وثمانى حالات انتقال متعاكس (بيورين للبريميدين أو البريميدين للبيورين ، السهم المنقط) . ثيمين = T جوانين = G سيتوزين = C أدنين = A .

وتوجد أربعة احتمالات للاستبدال المتكافئ ، ثمانى حالات للاستبدال المتعاكس أو غير المتكافئ (شكل ٣-١٦) . **مثال** : للهيموجلوبين الطافر Mutant Hemoglobin يوضح استبدال متكافئ لزوج واحد من القواعد .

يوجد الهيموجلوبين فى كرات الدم الحمراء وهو المسئول عن نقل الأكسجين من الرئة لأنسجة الجسم المختلفة والهيموجلوبين بروتين معقد يتكون من ٤ سلاسل ببتيدية مرتبطة بمجموعة الهيم (المحتوية على الحديد)

ويوجد طرازان مختلفان من الهيموجلوبين فى مراحل النمو المختلفة :

أ – الهيموجلوبين الجنينى (هيموجلوبين F) ويتكون من :

٢ سلسلة الفا (المتماثلة) + ٢ سلسلة جاما (المتماثلة)

ب– الهيموجلوبين البالغ (هيموجلوبين A) ويتكون من :

٢ سلسلة الفا (المتماثلة) + ٢ سلسلة بيتا (المتماثلة)

وكل سلسلة من الفا ، بيتا ، وجاما يتحكم فيها جين معين وتحتوى سلسلة الفا على ١٤١ حمض أمينى بينما تحتوى كل سلسلة من بيتا أو جاما على ١٤٦ حمض أمينى . والهيموجلوبين الجنينى (F) يوجد فى مراحل العمر الأولى وبعد ستة أشهر يحل محله هيموجلوبين A .

وقد أمكن التعرف على كثير من التباينات فى هيموجلوبين الإنسان كان معظمهما فى هيموجلوبين A وبعضهما شديد التأثير على الشكل المظهرى

والبعض ضعيف التأثير وأمكن اكتشافها مبدئياً عن طريق تغير سلوكها أثناء عملية التفريد الكهربى والتى تعزى لاختلافات الشحنة الكهربية والوزن الجزيئى .

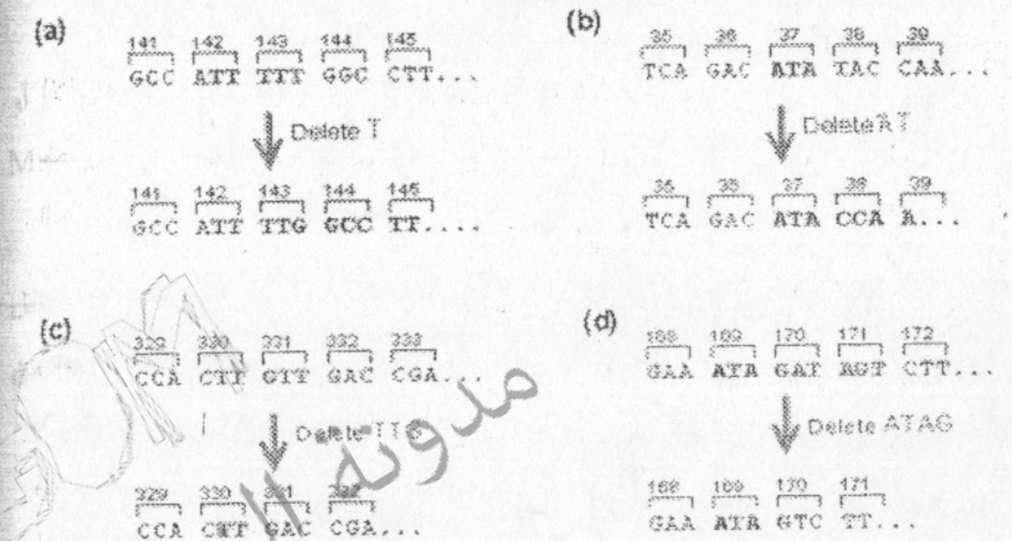
وقد وجد أن هيموجلوبين الخلايا المنجلية (هيموجلوبين S) أنه يتكون فى الأفراد الأصلية من $Hb^S\beta$ $Hb^S\beta$ وأن هذه الأفراد تعانى من أنيميا تحللية خطيرة تؤدى للموت فى بعض الحالات لأنها توقف نقل الأكسجين لبقية أعضاء الجسم .

وعند دراسة تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة بيتا لكل من هيموجلوبين A وهيموجلوبين S وجد أن سلسلة بيتا تختلف فى حمض أمينى واحد فى الموقع رقم ٦ فى هيموجلوبين A (يوجد حمض الجلوتاميك السالب) أما فى هيموجلوبين S فيوجد حمض الفالين المتعادل وأن السلسة ألفا متماثلة تماماً أى أن تغير فى حمض أمينى واحد يحدث تغيير فى الشكل المظهرى وهذا التغير أمكن تفسيره على أنه استبدال لزوج من القواعد حيث AT قد حل محلها TA .

وتجدر الإشارة بأنه قد أصبح معروفاً الآن أكثر من ٧٥ نوع مختلف من الهيموجلوبين نتيجة حدوث تغير فى الأحماض الأمينية ومن هنا فإنه يمكن القول بأن الطفرة تسبب تغيراً فى تركيب الجين على مستوى زوج واحد من القواعد ، أو عدد قليل من الأزواج مما يؤدى إلى تغير فى تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيدات للجين المطفر مسبباً تغيراً فى الشكل المظهرى والذى يعرف بالشكل الطفرى .

وهناك طرز آخر للطفرة الموضعية يتضمن اضافة أو فقد واحد أو عدد قليل من أزواج القواعد فإضافة أو فقد قاعدة تشير إلى طفرات تغيير الإطار Frameshift mutations . شكل (٣-١٧) .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٣-١٧) : رسم تخطيطى للطفور عن طريق فقد قاعدة واحدة أو أكثر لتركيب الجين

وقد وجد أن نسبة كبيرة من الطفرات التلقائية المدروسة فى الخلايا بدائية النواة Prokaryotes يرجع إلى إضافة أو فقد قاعدة واحدة أو أكثر من رجوعها إلى إحلال القواعد. وتكرار كل من الطرز المختلفة للطفور التلقائى يعتمد على :

١- دقة جهاز تكرار أو تناسخ الـــ د ن أ .

٢- مدى كفاية الميكانيكيات المختلفة التى تتضمن اصلاح الـــ د ن أ التالف .

٣- درجة التعرض للمواد المطفرة فى البيئة .

٤- ميكانيكيات إصلاح الـــ د ن أ

DNA repair mechanisms

يعتبر تعدد ميكانيكيات الإصلاح فى الكائنات ابتداء من الفيروسات حتى الإنسان مؤشراً لأهمية حفظ الطفرات فى كل من الخلايا الجسيمة والجنسية على مستوى معتدل وميكانيكية إصلاح الـــ د ن أ شائعة فعلى سبيل المثال يوجد ثلاثة أنواع على الأقل من ميكانيكيات إصلاح أضرار الـــ د ن أ المحتوى على ثنائيات الثيمين فى بكتريا إ . كولاى هى :

١- التفاعل التنشيطى الضوئى Photoreactivation

٢- الإصلاح الأستئصالى أو الإزالة Excision repair

٣- إصلاح ما بعد تناسخ الاتحادات الجديدة Postreplication recombination repair

بتضمن التفاعل التنشيطى الضوئى : وجود انزيم يقوم بكسر أو بشق ثنائيات الثيمين مباشرة دون استبعاد أى من النيوتيدات. وهذا الإنزيم يعمل على فصل ثنائيات الثيمين فى الـــ د ن أ فى الظلام ولكنه لا يستطيع أن يحدث انشطاراً للروابط التى توصل بين جزئيات الثيمين بدون طاقة ضوئية خاصة الضوء المحتوى على الطيف الأزرق. ولهذا الإنزيم نشاط على ثنائيات السيتوزين وكذلك ثنائيات سيتوزين - ثيمين لذلك فإنه عند استخدام الـــ UV كمطفر تجريبى لابد من إجراء المعاملة فى الظلام حتى تزداد فرص الحصول على طفرات (شكل ٣-١٨) .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

يتضمن الإصلاح الاستئصالى أو بالإزالة: عدة خطوات متتالية من العمل الإنزيمى يتم خلالها استبعاد ثنائيات الثيمين من جزئ الـــ د ن أ وتخليق قطعة جديدة من الـــ د ن أ – ويحدث التفاعل الاستئصالى بفاعلية فى الظلام كما يحدث فى وجود الضوء الأزرق. ويحدث بتتابع الخطوات التالية :

أ – حدوث فصل بواسطة انزيم اندونيوكليز Endonuclease حيث يتوصل إلى ثنائيات الثيمين أو إلى التلف فى الخيط المزدوج الذى تحدثه الثنائيات ويكسر رابطة الفوسفودای استر فى العمود الفقرى لخيط الـــ د ن أ المحتوى على ثنائيات الثيمين بالقرب من التلف .

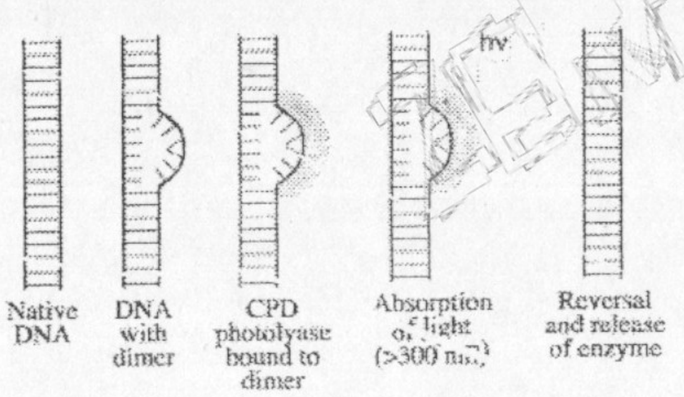
ب– يأتى بعد ذلك دور انزيم الأكسونيوكليز Exonuclease ويحتمل أن يكون مسئولاً عن النشاط الأكسونيكليزى ٣´ ← ٥´ لإنزيم د ن أ بوليميريز I (حيث يعمل على استبعاد ثنائيات الثيمين) ويقوم باستبعاد قطعة أخرى مجاورة لمكان الكسر الذى تم بواسطة الأندونيوكليز .

ج– بعد ذلك يعمل انزيم د ن أ بوليميريز I الأكثر احتمالاً بسد الفجوة المتكونة مستخدماً الخيط المكمل كقالب ناسخ .

د – يقوم انزيم الليجيز Ligase بعمل الروابط المشتركة حيث تتكون الرابطة الفوسفودای إستر بين النيوكلوتيدات المتجاورة .

هذا وقد ظهر أن وجود انزيم د ن أ بوليميريز I ضرورى حيث أن الطفرات التى ينقصها هذا الانزيم يكون بها قصور فى عملية الاصلاح (شكل ٣-١٩) .

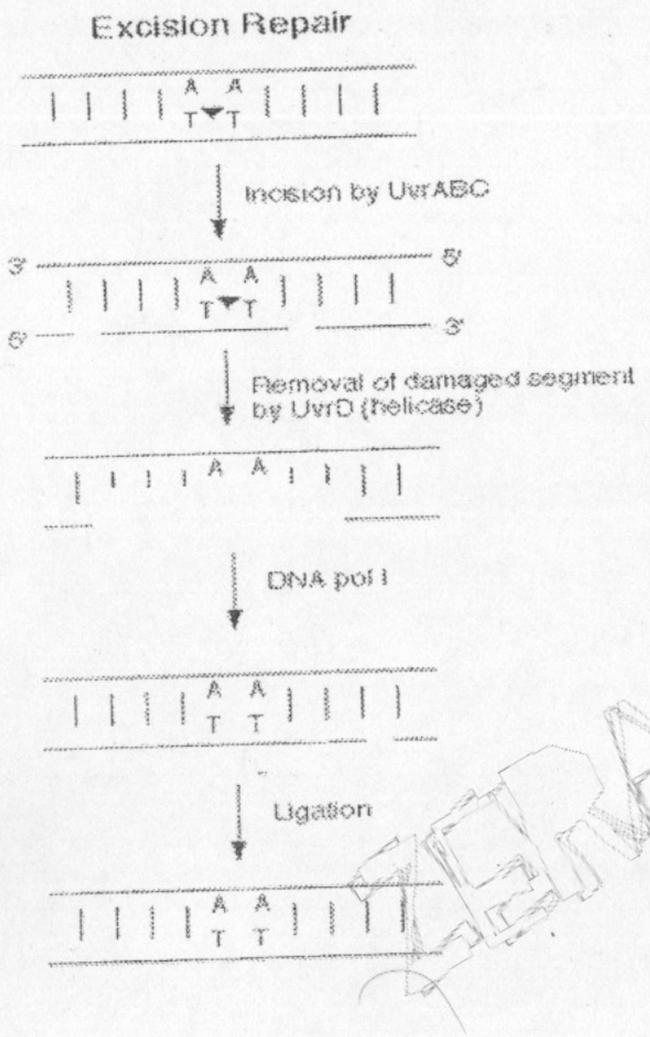
وقد اكتشف حديثاً انزيم جديد لإصلاح الـــ د ن أ فى بكتريا إ. كولاى يعرف باسم يوراسيل د ن أ جليكوسيليز Uracil DNA glycosylase . هذا الأنزيم يقوم باستبعاد اليوراسيل بكفاءة عالية من الـــ د ن أ ولهذا أطلق عليه هذه التسمية أكثر من اعتباره من أنواع النيوكليز لأنه يستبعد اليوراسيل عن طريق كسر الرابطة الجليكوسيدية بين القاعدة والسكر وليس كسر روابط الفوسفودای استر فى سلسلة الـــ د ن أ . وعلى هذا فإن هذا الإنزيم ينتج مواضع تحتوى على قواعد غير بيريميدينية Apyrimidinic sites . مثل هذه المواضع شوهدت تمر فى ميكانيكية اصلاح استئصالى. وينتج اليوراسيل فى الـــ د ن أ بإزالة مجموعة الأمينو من السيتوزين (بواسطة حامض النيتروز) . فطفرات بكتريا إ . كولاى التى ينقصها انزيم يوراسيل د ن أ جليكوسيليز تظهر حساسية للمواد التى تزيل مجموعة الأمينو ، مثل حامض النيتروز ، مشيرة إلى أهمية الأنزيم فى إصلاح هذا النوع من الضرر فى الـــ د ن أ .



شكل (٣-١٨) : يوضح إنشطار تنائيات الثيمين بواسطة التفاعل التنشيطى الضوئى .

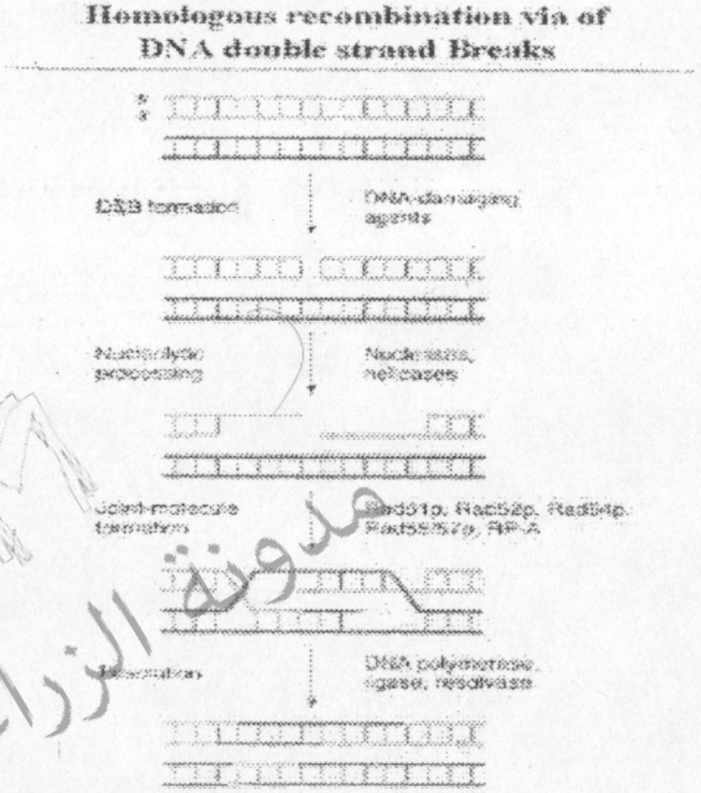
www.zera3h.com
zera3h

أما إصلاح ما بعد تناسخ الاتحادات الجديدة Postreplication recombination repair : والتفاصيل الكاملة لهذه العملية غير مؤكدة حتى الآن ولكنها تتضمن بوضوح حدوث تناسخ الكروموسوم التالف ثم يتبع ذلك تكوين تراكيب جديدة . ويظهر شكل (٣-٢٠) نموذج مبسط لعملية إصلاح ما بعد تناسخ التراكيب الجديدة. حيث أنه عندما يتضاعف جزئ الـ د ن أ المحتوى على ثنائيات الثيمين فإنه تتكون فجوات فى الخيط المكمل الناشئ مقابل الثنائيات حيث أن انزيم د ن أ بوليميريز لا يمكنه أن يستخدم الخيط التالف كقالب. وبعد فترة تلكؤ ناتجة عن قفل ثنائيات الثيمين يبدأ التكرار مرة أخرى فى جانب ثانوى خلف الثنائيات . ينتج عن هذه العملية تكوين خيط مزدوج فى أحد خيوطه ثنائيات الثيمين وفى الخيط المكمل توجد فجوة. فإذا تداخل الكروموسومان الشقيقان من جديد Recombine فإن مثل هذه الثنائيات والفجوات تكون فى إحدى الكروموسومين والقطعة السليمة غير التالفة تكون فى الكروموسوم الآخر والذى سوف يكون فعالاً وظيفياً وينتج خلية حية .



شكل (٣-١٩) : رسم تخطيطى لخطوات الإصلاح الاستئصالى باستبعاد ثنائيات الثيمين من الـ د ن أ .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٣-٢٠) : رؤية مبسطة للإصلاح التكرارى المتقدم – للتراكيب الجديدة لأضرار الـ د ن أ الناتجة عن UV (أ) قطعة من جزئ د ن أ محتوية على قاعدتين متجاورتين من الثيمين (ب) تكوين ثنائيات الثيمين أثناء التعرض لأشعة UV (جـ) تكرار د ن أ المحتوى على الثنائى. توجد فجوات فى الخيط الناشئ لعدم قابلية المنطقة المحتوية على الثنائى فى الخيط الأبوى أن تعمل كقالب ناسخ إنزيم د ن أ بوليميريز. بعد فترة طويلة بدأ التمثيل مرة أخرى تاركاً فجوات واضحة. (د) إنتاج تراكيب جديدة بين الكروموسومات الشقيقة أحدهما به جزيئات د ن أ غير تالفة والآخر جزئ د ن أ تالف والنتيجة النهائية إنتاج كروموسوم غير تالف ناتج من كروموسومين تالفين أو ناتج فعال من ناتجين غير فعالين . تفاصيل عملية التراكيب الجديدة أهملت حيث أنها غير واضحة حتى الآن. إنزيمات النيوكليز، إنزيم د ن أ بوليميريز ، وإنزيم د ن أ ليجيز تكون بدون شك قد تضمنت .

الوراثة والبيئة كمصدر للتباين
فى الكائنات الحية

لا توجد علاقات مباشرة بين الجينات وتأثيرها على مظهر الكائن، ولايعنى مجرد وجود اليل معين ضرورة وجود تأثير مباشر له، وكان ذلك واضح من علاقات السيادة بين الاليلات – حيث لا يظهر تأثير الاليل المتنحى بالرغم من وجوده وهو فى الحالة الخليطة. وكما هو متوقع فهناك أنواع مختلفة من التفاعلات. وكما رأينا فى الأبواب السابقة، تتكون المادة الوراثية أساساً من كمية ضئيلة للغاية من الـ DNA تنتقل عبر الأجيال وبالرغم من ذلك فإن كتلة أى كائن ناضج تمثل بلايين الصفات من كتلة الهيئة الوراثية الثنائية الأصلية عند الأخصاب.

ولكى ينمو الكائن الحى، يجب عليه الحصول على كميات هائلة نسبياً من المواد المحيطة فى بيئته ومن المعروف أن المادة الوراثية هى التى تساهم بالإمكانيات. إذاً فالتركيب الوراثى هو الذى يحدد الامكانيات والبيئة هى التى تظهر مدى قدرة هذه الامكانيات على تكوين الشكل المظهرى للكائن خلال فترة حياته – فعلى سبيل المثال لا يوجد جين قائم بذاته يحدد لون العين الأزرق أو آخر يحدد لون الشعر البنى – ولكن هناك جينات، إذا توفرت لها ظروف بيئية خاصة وتركيب وراثى معين، تؤثر فى عملية النمو بحيث تجعله يكون عيوناً زرقا أو شعر بنى وهذا التمييز الدقيق هام جداً لأنه يوضح الحقيقة التى تقول إن مظهر الفرد يتكون نتيجة للتفاعل المطلق بين مجموعة كبيرة من العوامل على كل مستويات النمو الخاصة به أثناء حياته نستنتج مما سبق أن مظهر الفرد هو المحصلة النهائية بين تركيبه الوراثى والبيئة التى يعيش فيها. فالوراثة لا تنقل

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

الصفات بل تنقل أستجابة الجينات ويمكن تشبيه الجينات بالأدوات والبيئة بالمواد التى تشكلها هذه الأدوات.

يتطلب لظهور الصفة توفر كل من التركيب الوراثى المناسب والبيئة المناسبة ولكل جين مجال محدد من الأحوال البيئية يمكن أن يعمل فى حدودها فبعض الجينات يكون لها مجال واسع وتنتج نفس الأثر فى كل البيئات التى يمكن أن يعيش فيها الفرد. فمثلاً لايعرف عامل بيئى يؤثر على مجاميع الدم فى الأنسان، فالأشخاص من المجموعة A يستمرون كما هم حيثما يعيشون وما يأكلون ولا يتأثرون بالعوامل البيئية الأخرى، بينما وزن الجسم مثلا، يتأثر كثيرا باظروف البيئية.

ومن القواعد الأساسية لتفاعل الجين – إن التركيب الوراثية المتشابهة لا تكون متماثلة فى التعبير عن نفسها فى البيئات المختلفة، هذا لا يعنى أن الجين نفسه قد تغير ولكن التفاعلات التى يحكمها هذا الجين تتأثر بالبيئة. بمعنى آخر أن التركيب الوراثى يحدد امكانيات ظهور الصفة بينما تحدد البيئة مدى إظهار هذه الأمكانيات.

اذا حددنا الدور الذى تلعبه البيئة فيمكننا أن نحدد الدور الذى تلعبه الوراثة وعلى العموم يمكن تقسيم المؤثرات البيئية إلى:

- بيئة خارجية
- بيئة داخلية

أولاً: البيئة الخارجية External environment

١- الحرارة:

كثير من الجينات يتأثر تعبيرها بدرجة الحرارة خصوصاً وأن بين الجين والصفة سلسلة من التفاعلات الكيماوية. وهناك بعض الجينات أكثر حساسية لدرجة الحرارة. وهناك أمثلة عديدة منها:

أ- فى سلالة من نبات زهرة الربيع Primrose يلاحظ اللون الأحمر للزهرة فى درجة حرارة الغرفة واللون الأبيض عند درجات أعلى من ٨٦ فهرنهيت فى هذه الحالة يتوقف اللون النهائى للزهرة على درجة الحرارة السائدة خلال فترة حرجة فى التكوين المبكر للزهرة لدرجة أنه بتغير موضع النبات من حجرات حارة إلى أخرى باردة، فإنه من الممكن الحصول على زهور حمراء وبيضاء على نبات واحد.

ب-فى أرانب الهيمالايا – وفيها لون العين قرنفلى ولون الجسم أبيض فيما عدا الأطراف (الأذن والأقدام والذيل ومقدم الرأس) فإنها ملونة – وقد وجد أنه اذا ازيل الشعر الأبيض من أى جزء من الجسم ثم حفظ الحيوان فى مكان منخفض الحرارة إلى أن ينمو الشعر الجديد فإن لون هذا الشعر النامى يكون ملون بلون الأطراف – كما أنه إذا أزيل شعر ملون من الأطراف وحفظ الحيوان فى مكان دافئ نما شعر جديد أبيض اللون بدلاً من الشعر الملون المزال. وقد دعا هذا الاعتقاد بأن ظهور الأجزاء الملونة فى هذه السلالة هو نتيجة مباشرة لإنخفاض درجة حرارة الأطراف فى الحيوان عن بقية أجزاء جسمه. وذلك نتيجة لأن الجين الخاص بمظهر الشعر فى أرانب الهيمالايا يتسبب فى تكوين أنزيم ضرورى لتكوين الصبغة السوداء فى جميع أجزاء الجلد. هذا الأنزيم لا يتكون على درجات حرارة أعلاه من ٩٢ فهرنهيت، ولكن درجات حرارة أقل من ذلك يكون الأنزيم حراً فى إنتاج الصبغة

www.zera3h.com
zera3h

السوداء. من هذا يمكن القول – أن الذى يورث فعلا هو مقدرة الحيوان على تكوين الصبغة إذا توفرت البيئة المناسبة.

ج- فى حشرة الدروسوفلا – يمكن قياس تأثير جين ما كميا ، مثل عدد العديسات فى طفرة العين العودية Bar، وفيها يمكن تقدير تأثيرات درجات الحرارة بدقة – فمثلا إذا ما زادت درجة الحرارة من ١٥-٣١°م فإن عدد العديسات ينقص فى طفرة العين العودية. ومن ناحية أخرى – فإن الوضع ينعكس بالنسبة للجين Infra-bar فإذا ما زادت الحرارة فإن عدد العديسات يزداد أيضا – من ذلك نرى أن تأثير تفاعل الجين مع البيئة يمكن عكسه ببساطة بمجرد احلال جين محل الآخر ولكن التفاعلات مع ذلك تبقى. وكذلك فإن الجين المعروف بأسم Tetraptera الذى يحول دبوس التوازن الى أنسجة ويظهر تأثيره فى درجة ٢٥°م أما فى درجة ١٧°م فإن الحشرات تكون عادية.

٢- الضوء:

يلعب الضوء دوراً هاماً فى تعبير كثير من الجينات ففى الذرة يوجد جين يتسبب فى انتاج حبوب بيضاء إذا لم يصلها الضوء وحمراء إذا ما تعرضت للضوء. فطالما بقيت قشورالكوز سليمة تكون الحبوب بيضاء، بينما تصبح حمراء براقة Sunred إذا قشر الغلاف وعرضت لضوء الشمس. كما أن هذا التأثير من الممكن منعه وذلك بحجب الطرف البنفسجى الأزرق للطيف الخفيف ولف الكيزان بورق السيلوفان الأحمر (حتى ينفذ الضوء الأحمر فقط) فان صفة Sunred لا تظهر.

كذلك يحدث الضوء تأثيرات غير عادية، مثل نمش الوجه فى الأنسان Preckling الذى يظهر فى أفراد ذات تراكيب وراثية معينة عندما تعرض لضوء الشمس.

كما أن الضوء يهيئ الطاقة اللازمة للنمو والتكوين فى معظم النباتات فالبادرات النامية فى الظلام، ولو أنها تعيش لفترة قصيرة، لا يمكنها تكوين الكلوروفيل بالرغم من أنها تحمل الجينات الخاصة بإنتاج الكلوروفيل ولذلك تظهر بيضاء. وكذلك نجد أن أجزاء النبات المغمورة فى التربة خالية من الكلوروفيل الذى يتحكم فيه العوامل الوراثية إلا أنه لا يتكون ألا فى وجود الضوء.

٣- الغذاء:

يخدم الغذاء وظائف عدة تشمل توفير الطاقة اللازمة للعمليات الضرورية وكذلك الأمداد بالمواد اللازمة لنمو الأنسجة المختلفة لجسم الكائن الحى.

ومن الممكن أن تؤدى تغييرات غذائية بسيطة إلى نتائج هامة للكائن معتمدا على تركيبه الوراثى: ففى الأرانب مثلاً – يتوقف ظهور الدهن الأصفر على عاملين – وجود الجين المتنحى y فى حالة أصلية – ووجود نباتات خضراء فى الغذاء لأنها تحتوى على صبغة Xanthophyll فى أوراقها وبإزالة المادة الخضراء من غذاء الأرانب لا يظهر اللون الأصفر. ويمكن تفسير ذلك إلى أن وجود الجين المتنحى لا يؤدى إلى أكسدة الصبغة الصفراء وحيث أنها قابلة للذوبان فى الدهون فإنها تجتمع فى الأنسجة الدهنية فى الجسم كما أن وجود الجين السائد فإنه يعمل على أكسدة الصبغة الصفراء.

كما توجد أمثلة أخرى عديدة تبين العلاقة بين الجين والغذاء كما فى الدجاج بالنسبة لظهور الساق الصفراء الذى يحكمه الجين Yellow shanks ولايظهر تأثيره إلا أذا توفرت المادة الخضراء فى عليقة الدجاج. وفى الأنسان فإن العلاقة الوطيدة بين الغذاء ومرض البول السكرى معروفة منذ سنوات عديدة. ومرض البول السكرى

www.zera3h.com
zera3h

سببه الأساسى وراثى ومع ذلك فإن عدد من الأفراد الذين يرثون المرض ليس من الضرورى أن يظهروا أعراضه إذا مانظمت أغذيتهم بدقة. ويظهر تأثير الجين المسئول عند زيادة استعمال السكريات والنشويات.

٤- الرطوبة:

فى الدروسوفيلا طفرة تعرف باسم البطن الشاذة تتميز بحلقات غير منتظمة تظهر كنموات شاذة. ويتوقف ظهور هذه الصفة على وجود الجين A وتظهر هذه الصفة فى الحشرات التى تفقس أولا عندما تكون البيئة الغذائية فى زجاجات التربية رطبة ولكن الحشرات التى تخرج متأخرة أو المرباة فى بيئة درجة رطوبتها قليلة فلا تظهر عليها هذه الصفة بالرغم من وجود الجين المسئول وتسبب الرطوبة تغييرات واضحة فى الشكل المظهرى فالصور الغامقة فى الحشرات Melanic forms تزداد فى السنوات الممطرة وعندما عوملت عذارى الفراشة الصينية بالرطوبة كانت الفراشات الكاملة أغمق فى اللون.

ثانياً: البيئة الداخلية Internal environment

لا تقتصر التأثيرات البيئية على تأثير التركيب الوراثى على الأحداث الخارجية فحسب. ولكنها قد تشمل تغييرات داخلية أقل وضوحا – ومع ذلك ليس من السهل دائما ادراك الفرق بين التاثيرات التى تسببها البيئات الداخلية والخارجية للكائن. ومن أمثلة تأثيرات البيئة الداخلية: العمر والجنس ووجود أو عدم وجود المواد اللازمة لعمل الجين Substrates والتغييرات فى أى منها قد يؤثر على تعبير أى تركيب وراثى معين.

١- العمر Age

بصورة عامة يمكن اعتبار أن عمر الكائن يبدأ من الإخصاب وفى كل فترة من فترات العمر تحدث تغييرات مظهرية تسمح لتأثيرات تراكيب وراثية أخرى للتعبير عن نفسها إذ أن الجينات لا تعمل جميعها فى وقت واحد فبعضها يعمل فى مرحلة مبكرة والبعض الآخر فى مرحلة متأخرة من عمر الفرد.

ففى الأنسان نجد أن بعض الصفات مثل انتيجينات مجاميع الدم قد عبرت عن نفسها فى الحياة الجنينية المبكرة (قبل الولادة). بينما البعض الآخر يمتد على مدى أكبر من العمر مثل مرض البول السكرى الذى يظهر تأثيره عادة فى عمر الأربعين والصلع ابتداء من عمر الخامسة والعشرين. بينما الكساح المسئول عنه الجين الخاص بنقص فيتامين D يظهر تأثيره فى عمر سنة واحدة. على كل فإن الجينات المسئولة عن تأثير جينى معين تكون موجودة عند الأخصاب ولكن فقط مظهر التاثير هو الذى يتوقف على العمر.

٢- الجنس Sex

لاشك أن الجنس يؤثر على تعبير الجينات فقد يختلف التعبير من الذكور إلى الأناث وتنشأ مثل هذه الأختلافات إلى حد كبير من جينات موجودة فى جنس وغائبه فى جنس آخر (جينات محددة بالجنس) ومع ذلك يحدث العديد من الإختلافات المظهرية بين الجنسين والتى يمكن إرجاعها إلى جينات موجودة بالتساوى فى كلا الجنسين. مثل هذه الجينات تلك التى تؤثر على كمية انتاج اللبن فى الماشية – ولو أن كلا الجنسين يحمل نفس الجينات فان تعبيرها محدد بجنس واحد فقط (صفات محددة بالجنس).

بعض الصفات الوراثية الشائعة فى الجنس، مع ذلك تظهر أيضا فى الجنس الآخر بتكرار أقل نسبيا، وحيث أن هذه الصفات غير محددة لجنس دون الآخر –

www.zera3h.com
zera3h

فإنه يطلق عليها (صفات متأثرة بالجنس)، ومن أمثلتها الشفة المشقوقة، الصلع، النقرس (تجمع حامض اليوريك فى الأنسجة) وهذه تظهر تكرار أكبر فى الذكور عن الأناث ويكون العكس بالنسبة لصفات أخرى.

ويتبع أثر الجنس على فعل الجين أثر البيئة الداخلية – لأن اختلاف الذكر عن الأنثى ينتج عنه اختلاف فى البيئة الداخلية التى تحيط بالجينات فتتأثر هذه الجينات فى اداء عملها.

٣- وجود أو غياب مواد التفاعل Substrates اللازمة لعمل الجين

تتوقف أنواع التفاعلات التى تحدث فى الكائن الحى إلى درجة كبيرة على المواد الموجودة داخله. هذه المواد تصنع فى حالات كثيرة بتفاعلات أيضية للكائن، وأن وجودها أو غيابها يعزى باستمرار لفعل الجينات. فمثلا Phenyl ketonuria مرض البول الأسود (بله الفينيل كيتون يوريا) مرض وراثى نادر فى الإنسان – يشخص بوجود حمض الفينيل بيروفيك Phenylpyruvic acid فى البول وهو يتسبب عن وجود جين متنحى وهو مسئول أيضا عن ظهور أعراض أخرى كالعته المبكر – تنشأ أعراض المرض من تجمع الحامض الأمينى Phenylalanine وهى مادة مشتقة من تحلل البروتينات وتستعمل فى بناء مركبات أخرى ويتجمع الـ Phenylalanine لعدم نشاط انزيم خاص بالكبد Phenylalanine hydroxylase يمنع تحول الـ Phenylalanine إلى الـ Tyrosine وبمعرفة ضرورة وجود هذه المادة أمكن علاج المرض بنجاح فى كثير من الحالات، وذلك بتحديد نوعية الوجبات حيث تكون هذه الوجبات فقيرة نسبيا فى الفينيل الانين.

كذلك مرض السكر الوراثى Diabetes mellitus وهو أكثر انتشارا بكثير فى الأنسان عن المرض السابق وتكراره حوالى ٢-٥% ومن حسن الحظ – بمعرفة المواد الداخلية المؤثرة مكنت معظم مرضى السكر أن يعيشوا حياة طبيعية.

مستويات السكر العالية فى الدم وافرازه فى البول من بين الأعراض التى قد تؤدى فى آخر الأمر فى تغيير أيض الجسم من استعمال السكر فى الطاقة إلى الاستعمال المتزايد للأحماض الدهنية وقد تحدث الغيبوبة والوفاة نتيجة لذلك وعليه فان علاج السكر يشمل كلا من قيود فى استعمال السكر والكربوهيدرات واذا تطلب الأمر يستعمل الأنسولين.

ويبين المثالان السابقان أنه عند تمييز المواد المتداخلة مع فعل الجينات فإنه يمكن التأثير على تعبيرها – أى أننا اقتربنا من البيئة الكيميائية المباشرة للجينات – ومن ذلك نرى وجود صورتين لهذه العلاقة البيئية – فالجينات تساهم فى خلق هذه البيئات كما أنها تتأثر بها.

المظاهر النسخية Phenocopies

أن مظهر الفرد يتحدد نتيجة للتجاوب أو التفاعل بين التركيب الوراثى والظروف البيئية. لذلك فإنه ليس من الغريب أن نجد أن بعض الصفات يتغير مظهرها لتغير ظروف البيئة المحيطة بها. لتعطى مظهرا مماثلا لطفرة معروفة يعرف هذا المثيل بأنه نسخة مظهرية Phenocopy لهذه الطفرة، ويجب ملاحظة أن هذه المظاهر النسخية لا تورث وتعطى أفرادها نسلا طبيعيا، بخلاف الطفرة فأنها تورث.

ومن الأمثلة المعروفة للمظاهر النسخية:

١- فى الدروسوفيلا ميلانوجاستر إذا أضيف قليل من نترات الفضة إلى غذاء اليرقات البرية فإن الحشرات الناتجة تكون صفراء الجسم بدلا من اللون الرمادى أى أنها تنسخ الطفرة أصفر الجسم فتكون نسخية المظهر Phenocopy لهذه الصفة. كذلك فى الدروسوفيلا إذا ربيت يرقات

www.zera3h.com
zera3h

السلالة "مختزل الجناح" تحت درجات حرارة عالية فان حجم الجناح يزيد بما يقرب حجم الجناح الطبيعى إذا ما حفظت على درجة حرارة حوالى ٣٤°م. أما إذا قلت درجة الحرارة عن الدرجة العادية ٢٥°م فان اختزال الجناح يزداد.

٢- فى الدجاج تعرف طفرة متنحية تتسبب تحت ظروف معينة فى التأثير على تكوين العجز وريش الذيل فتعطل تكوينها وقد أمكن احداث نفس الصفة (عديم العجز) كمظهر نسخى عن طريق حقن البيض العادى (لا يحوى الأليل عديم العجز) بالأنسولين قبل التفريخ - وقد أمكن أيضا احداث نسخ مظهرية لهذه الطفرة (عديم العجز) بطريقة بيئية اخرى.

٣- وفى الانسان - فان الأفراد المصابين بمرض السكر والذين يعتمدون على الأنسولين هم نسخ مظهرية لأفراد طبيعين بمعنى أن الدواء يمنع تأثيرات المرض - ولكن نسل هؤلاء يرثون المرض. كذلك فان ازالة أو اصابة أو عدوى البنكرياس فى الأنسان يكون مصحوبا باعراض مرض السكر. وفى حيوانات التجارب امكن احداثه بطرق كيميائية بتقديم اجسام مضادة لأنسولين بتقديم اجسام مضادة لأنسولين الفرد نفسه - ومثل هذه التغييرات لا توارث.

٤- اضافة كلوريد المغنسيوم إلى قليل من ماء البحر الذى ينمى فيه السمك من نوع *Fundulus heteroclitus* يؤدى إلى تكشف سمك ذو عين واحدة إلا أن هذه الصفة لا تنتقل إلى النسل فيما بعد.

التأثير النسبى لكل من البيئة والوراثة:

وهذه يمكن التعبير عنها بأسلوب رياضى:

$$V_P = V_G + V_E + V_{GE}$$

حيث أن: V_P التباين المظهرى الكلى المشاهد لصفة ما فى العشيرة وهذا بدوره يتكون من ثلاث عوامل تجمعية Additive وهى التباين المشترك بين الوراثة والبيئة (V_{GE})، التباين الوراثى (V_G)، والتباين البيئى (V_E) وعند تقدير تأثير البيئة على صفة ما تدرس سلالات شديدة التربية الداخلية أو توائم أحادية الزيجوت وهنا يفترض أن التباين الوراثى والتباين نتيجة التفاعل بين البيئة والوراثة يمكن اهمالهما أو تساوى صفرا. وهنا يمكن للفرد أن يقدر العمق أى المكافئ الوراثى Heritability (h^2) وهو يساوى $\frac{V_G}{V_P}$ وعندما يكون المكافئ الوراثى مساويا للواحد الصحيح فهذا يعنى أن الصفة تحت الدراسة يعبر عنها دون تأثير بيئيا. وعندما يكون مساويا ٠,٥ فان نصف تباين العشيرة (من فرد لفرد) محدد بعوامل بيئية والأمثلة على ذلك كثيرة فمثلا كمية اللبن فى الماشية الأيرشاير ٠,٤٣ مقارنة بلون الجلد الأبقع فى الفريزيان ٠,٩٥ وزن البيض فى دجاج لوجهورن ابيض ٠,٦٠ وطول قصبة الرجل فى دجاج نيوهامبشير ٠,٥٠ وبالرغم من انها قيم تقريبية إلا أنها مفيدة جدا لمربى النبات والحيوان. اجريت تجارب فى الولايات المتحدة لدراسة هذا الموضوع تتلخص فى الآتى:

- إقار غير محسنة تامة النضج متوسط ادرارها من اللبن فى الموسم ٣١٦٩ رطلا.
- عجلات اشترتيت وربيت متوسط ادرارها من اللبن فى الموسم ٣١٦٩ رطلا.
- عجلات ولدت وربيت فى محطة الأبحاث حيث الغذاء المتوازن والعناية التامة، كان متوسط ادرارها السنوى من اللبن ٤٠٣٦ رطلا.

www.zera3h.com
zera3h

بعد التحسين الناتج من الإنتخاب واستعمال طلائق ممتازة كان متوسط ادرار اللبن ٥٥٥٦ رطلا والحفيدات متوسط ادرارها ٨٠٤٢ رطلا.

الوراثة والبيئة فى الإنسان:

ظل نصيب كل من الوراثة والبيئة فى احداث التباين فى بعض صفات الإنسان الكبيرة الأهمية كالذكاء والمزاج والكفاءات الخاصة والسلوك والاستعداد للإصابة بالأمراض موضوع مناقشة لمدة طويلة. فبينما اعتبر البعض أن هذه الصفات ترجع اساسا إلى التركيب العاملى اعتبرها البعض الاخر انها نتيجة البيئة. وقد استعمل جالتون Galton للدلالة على هذين النوعين من التأثيرات التعبيرين الوراثة والبيئة وادى هذا إلى الأعتقاد بأن التغيير الذى يمكن احداثه فى الصفات بالطرق البيئية لا يمكن احداثة ايضا نتيجة للفروق الوراثية، وقد أدى هذا الخلط إلى صعوبة ادراك كثير من الناس أن الصفات البشرية التى تتأثر بالبيئات الاجتماعية والثقافية يمكن مع ذلك ان تحكم بالوراثة.

من الممكن والمفيد تقسيم صفات الفرد إلى ثلاث مجاميع:

١- تلك التى يتشابه أو يختلف فيها الأفراد عن بعضهم بالنسبة لاختلافات فى العوامل الموروثة: مثل صفة لون العين ومجاميع الدم وليس هناك عوامل بيئية من المعروف أنها تؤثر على تلك الصفات بدرجة يمكن ادراكها.

٢- تلك التى يتشابه أو يختلف فيها الأفراد عن بعضهم نتيجة لتغيرات البيئة مثل اللغة.

٣- تلك التى يتشابه أو يختلف فيها الناس عن بعضهم نتيجة لاختلافات فى كل من الوراثة والبيئة، مثل صفات طول القامة ونتائج اختبارات الذكاء أثناء

سن الدراسة. وبهذه المناسبة فقد وجد ان اختبار الذكاء Intelligence Quotient IQ يتأثر بحجم العائلة والثقافة والتغذية.

والصفات التى تتبع المجموعتين الأولى والثانية قليلة نوعا بمقارنتها بتلك التى تتبع المجموعة الثالثة المختلطة.

وفى المجموعة الثالثة، فان الأهمية النسبية للاختلافات الوراثية والبيئية تكون متغيرة- فمثلا مجموعة من الأطفال الأصحاء الذين غذوا تغذية صحيحة طيلة حياتهم. فإن الاختلافات فى الطول بينهم غالبا ما تكون نتيجة لتغييرات فى الوراثة، وفى مجموعة أخرى غذى بعض أفرادها تغذية صحيحة بينما تعرض الأخرون لسوء تغذية مستمر – فان الاختلافات فى الطول بين أفراد المجموعة قد تكون غالبا نتيجة لهذه الاختلافات فى التغذية عن الاختلافات الوراثية، وبنفس الطريقة، مجموعة من الأطفال تتبع نظام دراسى موحد ومتشابهين كثيرا فى بيئتهم المنزلية، فانه من المحتمل أن الاختلافات الوراثية هى المسئولة عن معظم الاختلافات فى نتائج اختبارات الذكاء هذا هو الحال بالضبط فى العائلة الواحدة.

من الممكن فى تجارب الحيوان عمل التحليلات الأكثر دقة وذلك بالحد كثيرا من الاختلافات البيئية، وبذلك تكون الاختلافات التى تلاحظ ناتجة عن الوراثة فقط، كذلك من الممكن دراسة تأثير البيئات المختلفة على سلالات من الحيوان ربيت داخليا لدرجة كبيرة وذلك للحد من التغيرات الوراثية إلى درجة كبيرة.

أما بالنسبة للإنسان، فانه من غير الممكن وجود مجموعة من الأفراد تحت ظروف بيئية واحدة تماما – ولكن دراسة التوائم Twins فى الأنسان القت ضوءاً ساطعاً وهيأت مادة تجريبية طبيعية لدراسة التأثير النسبى لكل من الوراثة والبيئة على الصفات – ويوجد فى الأنسان نوعان من التوائم:

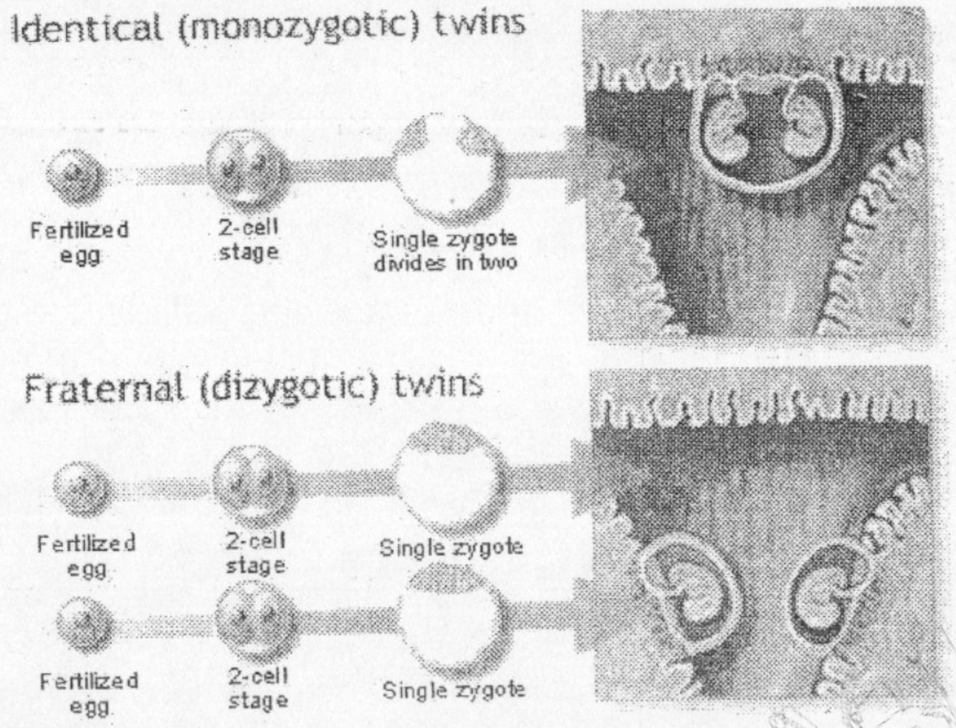
www.zera3h.com
zera3h

الأول: توائم صنوية Indetical Twins أو أحادية الزيجوت Monozygous وتنشأ من زيجوت مفرد نتج من أخصاب بيضة واحدة باسبرم واحد. ثم تنقسم البيضة المخصبة – نتيجة لشذوذ تكوينى أثناء انقساماتها الأولى فتكون جنينين منفصلين بدلا من الجين المفرد العادى – وتكون التوائم الناتجة بهذه الطريقة ذات تركيب عاملى واحد من جنس واحد. نادراً ما يحدث عدم انفصال كلى للزيجوت المنقسم مما ينتج عنه توأمان متصلان يعرفان بأسم التوائم السيامية Siamese Twins.

الثانى: توائم غير صنوية Fraternal Twins أو ثنائية الزيجوت Dizygous وفيها ينشأ الزوج التوأمى من بيضتين مختلفتين يخصب كل منهما باسبرم مختلف ولذلك فإن التوأمين غير الصنويين يكونان مختلفين فى التركيب العاملى – و لايزيد أو يقل الاختلاف فيما بينهما عن الاختلاف بين تراكيب الأخوة الأشقاء غير التوائم ويبين الشكل التخطيطى (٣-٢١) منشأ كل من النوعين من التوائم.

التوافق وعدم التوافق:

يقال عن فردى الزوج التوأمى أنهما متوافقان Concordance إذا أظهرا أو لم يظهرا معا الصفة موضع الدراسة – ويشار إلى ذلك بالرمز (++، --) أما إذا أظهر أحدهما الصفة دون الآخر فيقال عنهما غير متوافقان Discordance ويشار اليهما بالرمز (+ -) والتوائم الصنوية تكون دائما متوافقة فى جميع الصفات الوراثية التامة النفاذ فى حين التوائم غير الصنوية تكون أحيانا غير متوافقة لمثل هذه الصفات – وتستعمل هذه الطريقة فى تمييز التوائم الصنوية من غير الصنوية – فإذا كان التباين بين الصفات يرجع كلية إلى البيئة، نجد أن حالات التوافق وعدم التوافق يتقارب فى كلا النوعين من التوائم – مثال ذلك حالات الأصابة



زيجوتان متطابقان وراثيا، ينموان إلى توأمين صنوين	زيجوتان غير متطابقان وراثيا، ينموان إلى توأمين غير صنوين

شكل (٣-٢١): طريقة نشأة التوائم فى الأنسان

بمرض السل، فقد وجد التوافق التوأمى بين التوائم الصنوية يزيد معنويا عنه بين التوائم غير الصنوية، ويدل ذلك على أن هناك استعداداً وراثياً للإصابة بهذا المرض، بمعنى أن الأفراد التى تحمل بعض التراكيب العاملية المعينة أكثر استعداداً للإصابة بالسل عن غيرهم. وكذلك فى حالة مرض البول السكرى والضعف العقلى فالتوافق التوأمى تكون نسبته أعلا بكثير فى التوائم الصنوية عن غير الصنوية مما يوضح أن هاتين الصفتين تتوقفان بدرجة كبيرة على

www.zera3h.com
zera3h

التركيب العاملى، وبالرغم من ذلك فقد ظهر عدم التوافق بين بعض التوائم الصنوية مما يوضح أن تعبير التراكيب الوراثية المسئولة عن هذه الأمراض ليست تامة النفاذ إذ أنها تتأثر بالبيئة والجدول التالى (جدول ٣-١) يمثل، مجموعة من نسب التوافق لمجموعة من الحالات.

(جدول ٣-١): النسبة المئوية للتوافق بين أنواع التوائم وعدد الأزواج التى درست

الصفات	توائم صنوية		توائم غير صنوية	
	عدد الأزواج المسجلة	نسبة التوافق %	عدد الأزواج المسجلة	نسبة التوافق %
لون العين	٢٥٦	٩٩,٦	١٩٤	٢٧
ضغط الدم	٦٣	٦٣	٨٠	٣٦
البول السكرى	٦٣	٨٤	٧٠	٣٧
سرطان المعدة	١١	٢٧	٢٤	٤
سرطان الثدى	١٨	٦	٣٧	٣
الضعف العقلى	٢١٧	٩٤	٢٦٠	٤٧
الزيجات الشخصية	٣٩٥	٨٠	٩٨٩	١٣
الجريمة	١٤٣	٦٨	١٤٢	٢٨

وتعتبر دراسة الصفات الوراثية فى التوائم أفضل طريقة لمعرفة تأثير كل من البيئة والعوامل الوراثية على الصفات المختلفة فى الأنسان والحالات القليلة التى يفصل فيها التوأمان قبل مضى أشهر أو سنوات قليلة من الولادة ويربى كل منهما على حدة بعيدا عن الآخر تهئ فرصة لمثل هذه الدراسات، وقد قام فريق من علماء الوراثة وعلم النفس وعلم الإحصاء بنشر بيانات عن تسعة عشر زوجا أمثال

هذه التوائم ومقارنتها بأزواج من توائم وأشقاء ربى فردا كل منهما معا أو منفصلين (جدول ٣-٢).

جدول (٣-٢): متوسط الفرق بين التوائم الصنوية وغير الصنوية والأشقاء فى بعض الصفات

الصفة	صنوية ربيا معا	صنوية ربيا منفصلين	غيرصنوية تربيا معا	أشقا غير توأمين ربيا معا
طول الجسم (سم)	١,٧	١,٨	٤,٤	٤,٥
وزن الجسم (رطل)	٤,١	٩,٩	١٠,٠	١٠,٤
طول الرأس (سم)	٢,٩	٢,٢	٦,٢	–
عرض الرأس (سم)	٢,٨	٢,٩	٤,٢	–
مكافئ الذكاء IQ	٥,٩	٨,٢	٩,٩	٩,٨

من هذا الجدول يتضح أن التوأمين الصنوبين يشابه كل منهما الآخر بدرجة أكبر كثيراً من التوائم غير الصنوية فى بعض الصفات المميزة لشكل الأنسان كطول القامة وطول وعرض الرأس، وبذلك بغض النظر عما إذا كان التوأمان الصنويان قد ربيا معا أو منفصلين، وهذا يدل على أن هذه الصفات تتأثر بالاختلافات الوراثية بدرجة أكبر من تأثرها بالأختلافات البيئية، أما بالنسبة لوزن الجسم فإن التوأمين الصنويين اللذين ربيا معا يشبه أحدهما الآخر بدرجة أكبر كثيراً من توأمين مثيلين ربيا منفصلين، وقد يكون الفرق بين فردى الزوج الأخير نفس الدرجة التى يبلغها توأمان غير صنويين ربيا معا أو شقيقان غير توأمين وهذا يوضح تأثير البيئة.

أما مكافئ الذكاء Intelligence Quotient ويرمز له بالرمز (IQ) فيظهر تأثير كل من التغيرات الوراثية والبيئية، فيبدو أن متوسط مكافئات الذكاء

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

تكون أكثر تطابقا بين فردى ازواج التوائم الصنوية إذا تمت تربيتهما معاً عنها بين فردى نفس النوع من التوائم عند تربيتهما منفصلين.

المجال التجاوبى: Norm of Reaction

أدت المناقشات للآن إلى مفهومين بسيطين وهامين:

١- أن التراكيب الوراثية المختلفة قد تتفاعل باختلاف فى البيئة الواحدة.

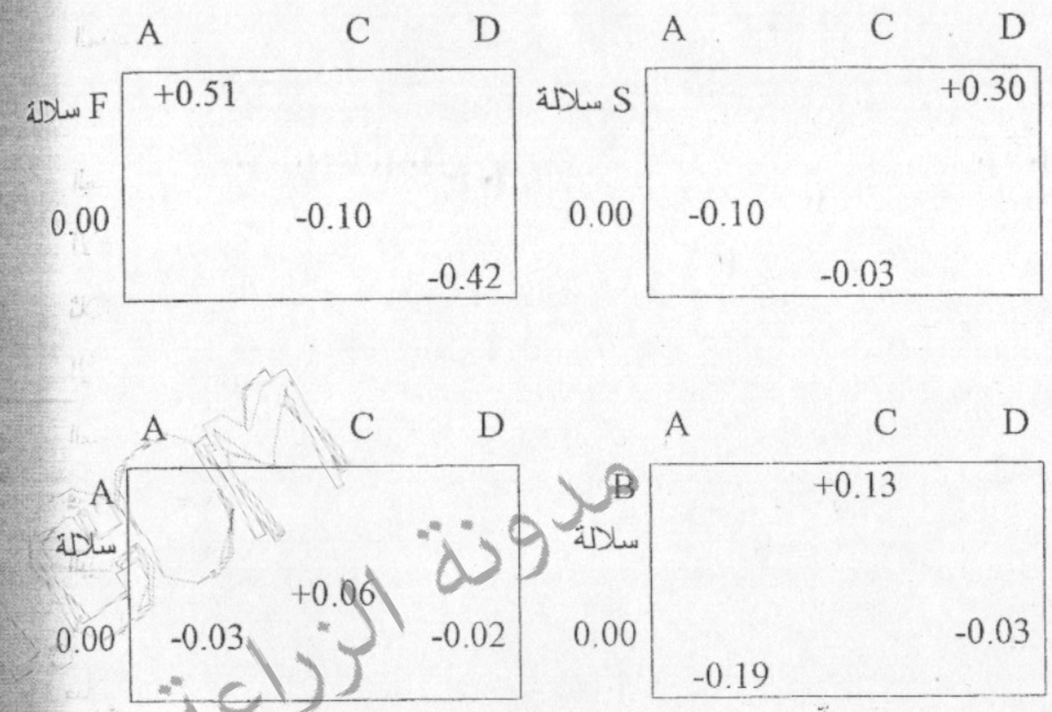
٢- أن البيئات المختلفة قد تؤثر على التراكيب الوراثية المتماثلة بطرق مختلفة

أول هذين المفهومين، وهو أن التراكيب الوراثية المختلفة تختلف مظهريا فى بيئة معينة هو الدعامة الأساسية لكل التحاليل الوراثية، والمفهوم الثانى، وهو تأثير الأختلاف البيئى – وعرفنا أن بيئة الكائنات الحية ليست دائما متماثلة. وكما رأينا ، لا ينتج فعل الجين مظهرا معينا تحت كل الظروف، ولكن ينتج هذا المظهر نتيجة للتفاعل مع بيئة معينة وحيث أن المظاهر قد تتغير فى البيئات المختلفة، فان مقارنة تامة بين التراكيب الوراثية المختلفة لابد أن تشمل قياسات فى عدة بيئات مختلفة، وتبعاً للمصطلح الذى استعمله جولدشمت Goldschmidt وآخرون، فان مثل هذه المقارنات تعين "مجال التجاوب" لتراكيب وراثية فردية أو المدى الذى يتأثر به التركيب الوراثى مظهريا بتغير البيئات. ويكون المجال التجاوبى لبعض التراكيب الوراثية ثابتا نسبيا. وللبعض قد يكون متغير بدرجة كبيرة، فمثلا طرز الدم يظهر أنها لا تتأثر نسبياً بالتغييرات البيئية. وإذا ما حددت مرة فإنها تستمر دون تغير مدى الحياة، بينما بعض التراكيب الوراثية الأخرى، مثل مرض البول السكرى، فقد ينتج مظاهر حساسة للتغيرات البيئية (مثل الغذاء والإنسولين). ومن هذا يتضح لنا أنه لا يمكن معرفة مجال التجاوب الكامل لأى تركيب عاملى فلمعرفته يجب

قطعا أن نعرض أفراد مختلفة لها نفس هذا التركيب العاملى لكل البيئات، ودراسة المظاهر الناتجة عنها، وهذا مستحيل لأن عدد البيئات غير محدود.

وقد أجرى Dunlop مقارنة كمية عن المجالات التجاوبية للتراكيب الوراثية المختلفة لبعض الصفات الخاصة المتعلقة بإنتاج الصوف فى عدة سلالات من الأغنام الأسترالية ولعدة سنوات (١٩٤٧-١٩٥٥) ربيت عينات من كل سلالة فى ثلاث بيئات مختلفة A, C and D ذات طبيعة موسمية مختلفة من حيث سقوط الأمطار، توقفت كمية الصوف الناتجة على كل من البيئة الخاصة التى تربت فيها السلالة وعلى السلالة الخاصة نفسها، فالبيئة A مثلا انتجت كمية أكبر نسبيا من فروة الصوف فى السلالة F عن الآخرين ولكن هذه العلاقة انعكست بعد ذلك فى البيئة D. السلالة B انتجت جيدا فى البيئة C ولكن بقلة فى البيئة A، فقط السلالة A ظهرت بأنها تنتج كمية متماثلة نسبيا فى كل البيئات، وعلى ذلك إذا انتخبنا سلالة تعمل احسن فى البيئة A فأننا مما لا شك فيه سننتخب التركيب الوراثى F ومع ذلك قد ننتخب التركيب الوراثى A أو B للعمل فى كل البيئات.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٣-٢٢): يوضح كميات الصوف الناتجة من أربع سلالات مختلفة من أغنام المورينو الأسترالية فى ثلاث بيئات مختلفة. العلامة 0.00 على اليسار لكل سلالة تمثل متوسط وزن الصوف لثلاث بيئات المختلفة.

Genetic and Environmental Interaction in Dogs

تختلف الكلاب فيما بين أفرادها حتى داخل السلالة الواحدة. فقد يكون أحدهما جبانا والآخر شجاعاً، وقد يكون هادئاً أو عدوانياً. والكلاب التى يسمح لها بالتعامل مع الإنسان مبكراً منذ صغرها (تدريبها اجتماعياً Socialized) تصير صديقة ومتفاهمة، بينما يصير من لم يتعرض لهذه الخبرات من نفس السلالة مخيفاً، بل معادياً للإنسان، حتى ولوكان من نفس الخلفة التى أتى منها من تم تدريبه.

قام العالمان سكوت وفولر Scott and Fuller بدراسات مكثفة على عوامل الوراثة والبيئة المتضمنة فى بناء الطرز فى الكلاب. فى بعض أعمالهما، سجلا الملاحظات اليومية حتى عمر ١٦ أسبوع للكلاب. بذلك كل المحاولات لملاحظة الاختلافات الموروثة التى تسبق اكتساب الخبرات. وبالطبع، فى الأيام الأولى بعد الولادة، كان السلوك الملاحظ قليلاً جداً بالكلاب الصغيرة.

بمجرد تميز السلوك، اتضح تأثيرات التفاعل بين الوراثة والبيئة. فمن يوم إلى آخر، اختلفت الكلاب الصغيرة فى مدى استجابتها لعملية التعليم وللزيادة فى حجم الجسم والقوى العقلية. والظروف البيئية لها تأثيرها الفعال فى عملية التعلم والقدرات الفطرية للحيوان ويظهر ذلك عند أدوار النمو المتتالية. بينما يظهر التحكم الوراثى فى الاختلافات الشديدة بالحيوان التى تظهر عند كل دور نمو جديد، وكذلك فالتأثير البيئى يكون جلياً.

كانت النتائج التى تحصل عليها العالمان سكوت وفولر غير متوقعة وهامة تماماً. أثناء المراحل المبكرة جداً من النمو فيكون السلوك فى أقل درجاته، لهذا لا

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

تجد الاختلافات الوراثية مجالاً لها للتعبير، وعندما تبدأ الخصائص السلوكية فى الظهور، فإن الاختلافات الوراثية لا تظهر مرة واحدة فى المراحل المبكرة من النمو، ثم تتحور بواسطة الخبرات التالية التى يكتسبها الحيوان. ثم بعد ذلك تتكشف هذه الاختلافات تحت تأثير العوامل البيئية. واستنتج سكوت وفولر أن ارتفاع وانخفاض معدل الاستجابة والتى تعتبر من أهم مسارات السلوك فى الكلاب تتأثر بالوراثة. هذه الدراسات أوضحت أنه رغم أن الوراثة لها دور هام فى سلوك الكلاب، ففى بعض الأحيان الظهور الحقيقى لبعض الصفات المتخصصة للسلوك تعتمد على درجات الاختلاف بين الحيوانات فى اكتساب الخبرات. علاوة على ذلك، فقد استطاعا على الأقل قياس ومقارنة بعض الإختلافات الوراثية فى السلوك كما سبق عمله بالنسبة للاختلافات الوراثية فى صفات الجسم.

تحتفظ سلالات الكلاب المروضة بكثير من المرونة الوراثية، رغم الانتخاب الشديد الذى قام به الإنسان طوال الوقت. هذه الحقيقة اتضحت من دراسات سكوت وفولر لـ ٥٠ صفة فى خمسة سلالات نقية من الكلاب. وقد وجدا إختلافات معنوية بين السلالات الخمسة فى كل الصفات المدروسة ولكن القليل جدا منها وجد أنه صادق التربية. كما يتوقع إذا ما كانت هذه الصفات يتحكم فيها زوج واحد من العوامل الأصيلة. بالإضافة إلى ذلك فقد انعدم التلازم بين السلوك والشكل الخارجى (الطراز) داخل كل سلالة. فى تهجينهم بين سلالة الكلاب الأسبانية كوكر (Coker) والسلالة الإفريقية باسينجى (Basenji) ، كانت شخصية الباسينجى تظهر فى النسل الذى يبدو من طراز كوكر كثيراً، وبالعكس. وعموماً أدى الانتخاب إلى الأقتراب من التركيب الوراثى الأصيل فى بعض الصفات فى سلالات معينة، كمثال السلوك القتالى أو الهجومى للكلاب فنادراً ما يوجد فى كلاب

الصيد الكبيرة (hound) ولكن يوجد فى كلاب الصيد الصغيرة. لكن مثل هذه الأمثلة دالة على الأقتراب من التاصل تعد نادرة.

وخلال الانتخاب للنوعية الوراثية والتدريب، تمت إتاحة العديد من الطرز السلوكية المتميزة فى بعض سلالات الكلاب وكمثال، السلالة Basenji والمعروفة كأحد كلاب الصيد الأفريقية التى لا تعوى وتمتاز بقوة الشم، هذا الكلب يستخدم فى أفريقيا ليكتشف ويحضر الصيد البرى وهو عامة كلب ذكى ويستطيع تعلم الأعمال كما فى برنامج نادى كينل Kennel الأمريكى للتطويع والذى يشتمل على استرجاع دمبل حديدى بقفزة عالية. فى هذا الاستعراض استخدم الذكاء المتوارث فى هذه السلالة استخداماً مصطنعاً.

انتخبت الكلاب القناصة وتدربت منذ أكثر من مائة عام فى أنجلترا بواسطة تحسين للعبة سباحة الكلاب فى الماء. بعض السلالات أظهرت بعض الخصائص الضرورية لكى يكون الكلب قناص ممتاز، مثل القوة، الحجم المتوسط، قوة التحمل، الحماسة، إجادة الألعاب المائية، قدرة الشم الحادة، الشجاعة، امتلاكه الحالة المزاجية المرغوبة واستجابته للتدريب. بعمل التهجينات بين السلالات المرغوبة وهى نيوفوندلاند وسيتر، سبانيل Newfoundland, Setter, Spaniel ومن بين النسل تم انتخاب أربعة كلاب صغيرة تجمع بين الصفات المرغوبة وذلك فى عام ١٨٦٨. هذه البداية كانت أصل الكلاب القناصة الذهبية. هذه الكلاب تكون ذات لون أصفر فاتح للفراء وأيضا تتميز بقدرتها على السباحة فى الماء والمزاج وصفة الشم حادة وكذلك قدرتها على التسلق والتمسك بالصيد رغم تعرضها لظروف بيئية صعبة. ويؤدى التدريب الأمثل إلى مجرد صقل وتهذيب إمكانيات هذا الحيوان.

www.zera3h.com
zera3h

واختلافات السلوك داخل السلالة تكون حقيقية وهامة. معظم الاختلافات الموجودة فى الكلاب يمكن تغييرها أو تحويرها بالانتخاب خلال عدة أجيال قليلة بواسطة التهجين، التربية يمكن الحصول على توافيق جديدة تماماً للصفات السلوكية المرغوبة ودراستها.

مدونة الزراعة

zera3h

الباب الرابع

وظيفة المادة الوراثية

تمارس الجينات تأثيراتها على الشكل المظهرى من خلال البروتينات ذات التركيبات الخاصةحيث تتدخل كعامل وسيط فى التفاعلات الكيميائية فى الخلية وتقوم بنقل الجزيئات داخل الخلايا ومهمة الأتصال بين الخلايا وتتحكم فى نفاذية الأغشية الخلوية وكذلك حماية الخلية من الإصابة بالأعداء الحيوية والسموم إلى جانب دورها فى تنظيم إيقاع عمل الجينات الأخرى.

الجينات وتركيبها:

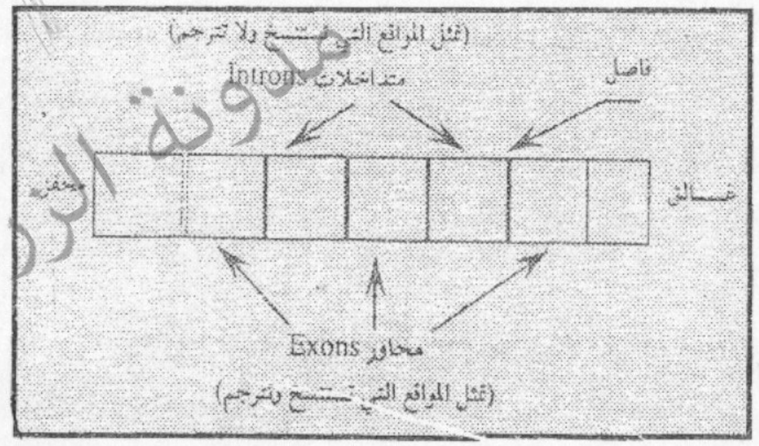
الجين عبارة عن تتابعات من النيكلوتيدات تتراوح بين ٥٠٠ - ١٠٠٠ أو أكثر زوج قاعدة.

ويتألف الجين من عدد من المناطق مختلفة الوظيفة، وتوجد منطقة المحفز Promoter فى الطرف `5والذى يتكون من تتابعات معينة تمثل شفرة خاصة تسهل تعرف إنزيمات بلمرة الحامض النووى RNA والاستقرار عليه لبدء عملية بناء شريط الحامض النووى m RNA

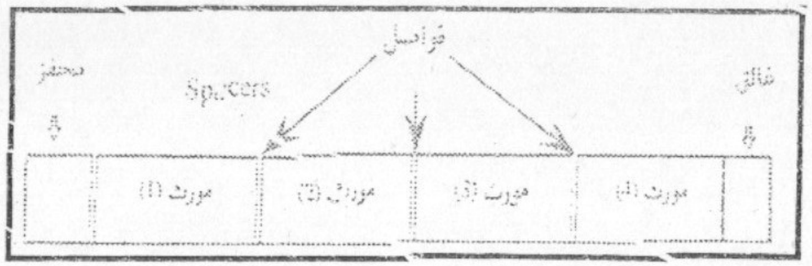
وهناك عدد من الاختلافات الجوهرية فى تركيب الجينات فى الكائنات الحية إذ تمثل المنطقة المشفرة فى جينات الكائنات بدائية أو غير مميزة النواة منطقة واحدة مستمرة بينما تحتوى الجينات فى الكائنات مميزة النواة على مناطق مشفرة تسمى بالأكسونات Exons ومناطق غير مشفرة تدعى الانترونات Introns

www.zera3h.com

وتترتب هذه المناطق بطريقة متوالية إذ يتبع كل إكسون إنترون كما يختلف عدد المحاور والمتداخلات (شكل ٤-١) لكل جين واستنادا على ذلك فإن المنطقة الوسطية المشفرة لجينات الكائنات غير مميزة النوى هى فى الحقيقة محور مفرد فقط أما الأختلاف الآخر فهو أن العديد من جينات الكائنات غير مميزة النوى تشترك فى محفز واحد وهو ما يعرف باسم نظام الأوبرون (شكل ٤-٢) حيث يتم نسخ هذه الجينات مرة واحدة لانتاج جزيئات حامض نووى mRNA طويل جداً فى حين أن لكل جين فى الكائنات المميزة النوى محفزاً وغالقا خاص به.



شكل (٤-١): تركيب الجينات فى الكائنات مميزة النوى



شكل (٤-٢): نظام الأوبرون فى الكائنات غير مميزة النوى

وتجدر الإشارة إلى أن جميع جينات البكتريا ومعظم الكائنات الغير مميزة النوى تكون إحادية النسخة Single copy gene بينما يمكن وجود جينات أحادية وثنائية ومتعددة النسخ فى الكائنات مميزة النوى.

أما فى النهاية الثالثة فى الجين فتقع منطقة الإيقاف Terminator التى لها دور فى إيقاف عملية النسخ حيث تحتوى على تتابعات نيكلوتيدية خاصة تتعاكس مع التتابعات التالية لها أو أنها مؤلفة من تتابعات الجوانين والسيتوزين متبوعة بثيمين وأدنين ثم جوانين وسيتوزين ثم ثيمين وادنين تمثل شفرات وراثية خاصة تعمل على إيقاف عمل انزيم النسخ عند هذه الشفرات. فى الكائنات بدائية النوى فإن هذه الشفرات تمثل مواقع لإرتباط بروتينات معينة تعمل على إيقاف عملية النسخ. وقبل أن نوضح عملية بناء البروتين نود أن نلقى الضوء على الدراسات التى أدت إليها ونوجزها فيما يلى:

نظرية جين واحد لكل أنزيم One gene- one enzyme hypothesis

قام العالمان بيدل وتاتم عام ١٩٤٠ بمعاملة جراثيم لاجنسية (conidia) للطراز البرى من النيروسبورا كراسا (*N. crassa*) بواسطة الأشعة السينية X-ray، وذلك لاستحداث الطفرات ثم اختبرت بعد ذلك المستعمرات الناتجة من الجراثيم المعاملة بالإشعاع من حيث مقدرتها على النمو على بيئة الكفاف minimal medium (بيئة تحتوى على املاح غير عضوية - سكر بسيط - فيتامين واحد هو البيوتين).

وحيث أن الطراز البرى فى فطر النيروسبورا يمكنه النمو على بيئة الكفاف بينما السلالات المطفرة لا يمكنها النمو على هذه البيئة ولكنها تنمو على

www.zera3h.com
zera3h

بيئة مضاف إليها بعض المواد الكيماوية الخاصة (مثل الاحماض الامينية أو الفيتامينات) ولذلك تسمى طفرات العوز الغذائى Auxotrophs وقد وجد العالمان بيدل وتاتم أن بعض هذه السلالات تمت عند إضافة الارجنين وبعضها نمى عند إضافة البيرودوكسين. ووجد أن طريقة توارث هذه الطفرات تتبع نظام الجين الواحد أى يتحكم جين واحد فى كل طفرة حيث اعطت النسبة المندلية (١ برى: ١ طفرة) عند تهجينها بالطراز البرى (نسبة التلقيح الاختبارى لزوج واحد من الجينات).

وبدراسة مجموعة الطفرات التى تحتاج إلى إضافة الحمض الأمينى الارجنين إلى بيئة الكفاف، تبين أن هذه الطفرات تنتج فى الواقع من طفور ثلاثة جينات مختلفة تقع على كروموسومات مختلفة وسميت هذه الجينات arg_1, arg_2 , arg_3، وأن الطفرات الخاصة بكل جين تختلف فى استجابتها لكل من المادتان الكيماويتان الـ ornithine والـ citrulline واللتين لهما علاقة بتصنيع الارجينين.

فقد وجد أن طفرات الـ arg_1 تنمو إذا اضيف إلى البيئة أى من الـ ornithine أو citrulline أو arginine وطفرات arg_2 تنمو إذا أضيف citrulline أو الـ arginine ولكنها لا تنمو على الـ ornithine. بينما طفرات الـ arg_3 تنمو فقط عند إضافة arginine ونظراً لما هو معروف من أن المواد ذات الصلة الكيماوية ببعضها يمكنها أن تتحول من صورة إلى أخرى داخل الخلايا عن طريق الانزيمات. وضع العالمان بيدل وتاتم ومساعدوهم نموذجاً بيوكيميائياً للمسار التخليقى الحيوى للارجنين على الوجه الآتى:

enzyme z ← enzyme y ← Enzyme x

Arginine Citrulline ornithine البادئ

فإذا فرضنا أن طفرات arg_1 لا تنتج انزيم X فإنها لا تستطيع تحويل الحمض الأمينى البادئ إلى ornithine وبالتالى لا ينتج الحمض الأمينى arginine وعليه فلابد من إضافته إلى بيئة الكفاف لتتمكن هذه الطفرات من النمو ولكن بما أنها تحتوى على انزيمات y,z فعالة ولذلك فإنه عند امدادها بالحمض الأمينى ornithine أو citrulline فسوف تتمكن من انتاج الحمض الأمينى الـ arginine.

وبنفس الفكرة يمكن أن نستنتج أن طفرات arg_2 بها قصور فى انزيم y وطفرات arg_3 بها قصور فى أنزيم z أنه إذا حدثت طفرة فى جين معين يؤدى ذلك لعدم انتاج انزيم معين وبالتالى فالانزيم الناقص سوف يؤدى إلى إيقاف المسار التخليقى أو الأيض. ولكن يمكن تخطى هذا الإيقاف بإمداد الخلية التى بها طفرة بأى مركب يلى هذه الخطوة التى يوقفها هذا الأنزيم فى المسار الأيضى.

ومن ثم اتضح أن الجينات هى المسئولة عن عمل الانزيمات وأن كل جين يقوم بتنظيم عمل انزيم معين (جين واحد لكل انزيم). وبعد تأكيد صحة هذه النظرية فى العديد من الدراسات أخذت هذه النظرية رواجا كبيرا فى العلوم البيولوجية.

ويمكن تلخيص مفهوم هذه النظرية بأنه تتم التفاعلات البيوكيميائية فى الكائنات الحية على شكل سلسلة من الخطوات وكل خطوة ينظمها انزيم معين وكل انزيم يحكمه جين واحد.

وجد أنه إذا حدث تغييراً طفرياً فى سلسلة ببتيدية واحدة يؤدى ذلك إلى تغيير كبير فى مظهر الفرد. وقد أدى ذلك إلى تغيير مفهوم جين واحد لكل انزيم إلى جين واحد لكل عديد ببتيد واحد One gene polypeptide chain نظراً لأن

www.zera3h.com
zera3h
مدونة الزراعة

غالبية الجينات تمارس تأثيرها على الشكل المظهرى عن طريق البيتيدات التى تشفر لها.

الأنواع المختلفة للحمض النووى ر ن أ

سبق وأن أشرنا إلى الفروق الأساسية فى تركيب الـ د ن أ والـ ر ن أ وسنستعرض فيما يلى تركيب ووظيفة الثلاثة أنواع من الـ ر ن أ وهى الـ ر ن أ الرسول mRNA، الـ ر ن أ الناقل tRNA، ر ن أ الريبوسومى rRNA.

أولاً: حمض ر ن أ الرسول mRNA

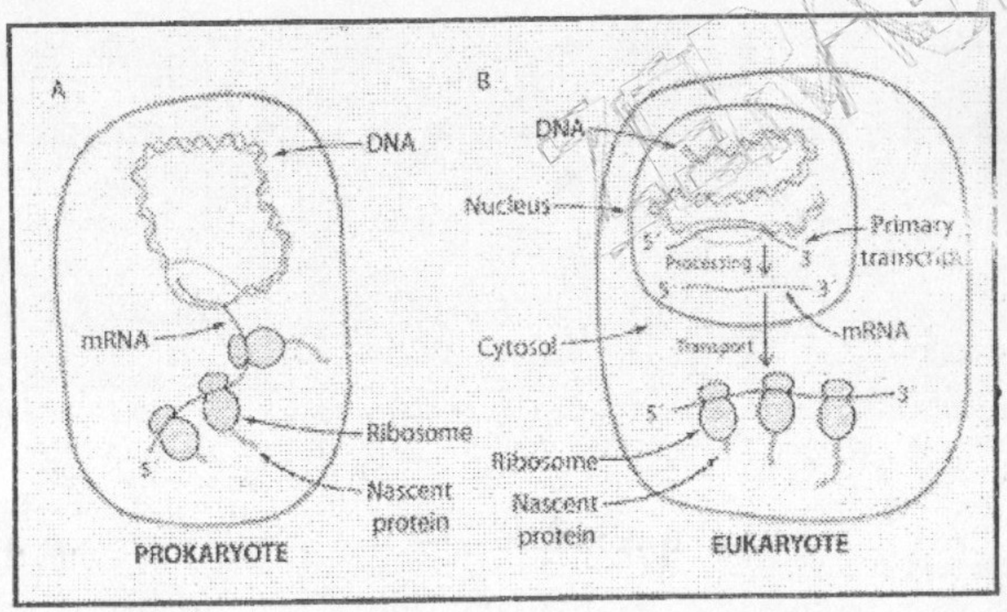
تحتوى جزئيات هذا النوع على المعلومات الوراثية فى صورة تتابعات من النوتيدات والتى يكون لها علاقة بتتابعات الأحماض الأمينية فى السلسلة الببتيدية للبروتين. وكل حمض أمينى يكون ممثلاً فى المادة الوراثية بتتابع من ثلاثة نوتيدات تعرف بالشفرة الوراثية التى سيأتى ذكرها فيما بعد.

ونشير هنا إلى أن ترجمة حمض ر ن أ الرسول تكون من بداية ٥′ إلى الطرف ٣′ ويطلق على المنطقة التى تحتوى على التتابع الشفرى الذى يكون له مقابل حمض أمينى إسم الإطار المترجم Translation reading frame وهذا الإطار المترجم يكون مسبوقاً بعدد متغير من النوتيدات والتى يختلف طولها من حمض ر ن أ رسول إلى آخر.

وتسمى البداية ٥′ باسم منطقة البداية أو القائدة Leader region والتى تبدأ بمنطقة الكودون البادئ Start codon التى تحتوى على نوتيدات البداية. ويطلق على المنطقة ٣′ منطقة النهاية (نهاية الترجمة) Stop region والتى تنتهى

بشفرات الايقاف وهى ثلاثة UGA, UAG, UAA. ويوضح شكل (٤-٣) تركيب حمض ر ن أ الرسول فى الكائنات مميزة النوى وغير مميزة النوى.

ويحتوى حمض ر ن أ الرسول فى الكائنات مميزة النوى على أكثر من إطار مترجم Open reading frame وكل إطار له شفرة البداية والنهاية الخاصة به ويحدث إستنساخ للـ ر ن أ الرسول من الـ د ن أ عن طريق إنزيم بلمرة الـ ر ن أ وتحتوى تتابعات ر ن أ الرسول الناتجة على تتابعات الأحماض الأمينية فى البروتين الناتج، وتنتج أنواع ر ن أ الرسول على حسب طبيعة الخلية ووظيفتها وبالتالى فإن الخلية تستطيع أن تتحكم فى نوعية البروتين الناتج. ويكون ر ن أ الرسول فى الكائنات غير مميزة النوى غير ثابت لأنه يتم تخليقه بسرعة تخليقه بسرعة ومتوسط فترة النشاط الحيوى له من دقيقة إلى ثلاثة دقائق. أما فى الكائنات مميزة النوى فإنه أكثر ثباتا.



شكل (٤-٣): يبين تركيب حمض ر ن أ الرسول فى الكائنات مميزة النوى وغير مميزة النوى.

www.zera3h.com
zera3h

ثانياً: حمض ر ن أ الريبوسومى rRNA

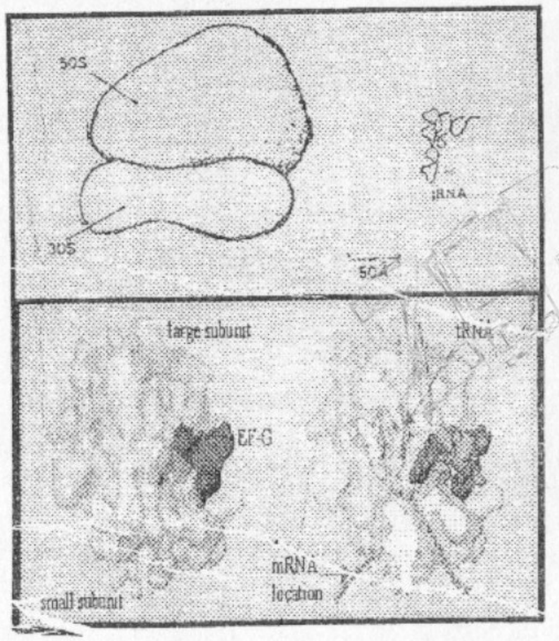
ثبت من التجارب المعملية أن عملية تكوين الرابطة الببتيدية تتم على الريبوسومات والريبوسومات هى تلك الحبيبات الكروية التى تعد بمثابة السطح الذى يتم عليه البناء البروتينى فى السيتوبلازم (شكل ٤-٤).

وتتكون الريبوسومات من معقدات كبيرة الحجم نسبياً من حمض الـــ ر ن أ والبروتين ويتشابه تنظيم ووظيفة الريبوسومات فى الكائنات غير مميـزة النـوى والكائنات مميزة النوى بصفة عامة فى إحتواء كل منها على تحت وحـدة كبيـرة large subunit وأخرى تحت وحدة صغيرة ترتبطان مع بعضهما لتكون معقـدة ذو وزن جزيئى مرتفع. وتقوم تحت الوحدة الصغيرة فى الريبوسوم بـالربط بـين حمض ر ن أ الرسول (mRNA) والحمض ر ن أ والناقل (t RNA) فـى حـين تقوم تحت الوحدة الكبيرة بالمساعدة فى تكوين الرابطة الببتيدية بـين الأحمـاض الأمينية فى سلسلة متعدد الببتيـد. ووجـد أن حـوالى أكثـر مـن نـصف وزن الريبوسومات مكونة من ر ن أ ريبوسومى ويحتوى على عدد كبير من البروتينات ويرجح أن هذه البروتينات تقوم أساساً بتنشيط أو تحفيز التفاعلات الأنزيمية التـى تحدث على الريبوسوم.

يقدر حجم الريبوسوم عن طريق سرعة التُرسيب ومعامل الترسيب يمكن أن يعبر عنه بحرف S وتعزى إلى العالم Svedberg. وقد قيست قيم (s) للكائنـات غير مميزة النوى ووجد أنها تحتوى على 70S وهى صغيرة نسبياً عن الكائنـات مميزة النوى والتى تكون قيمتها 80S ويلخص شكل (٤-٥) المقارنة بين تركيـب الريبوسومات فى الكائنات غير مميزة النوى والكائنات مميزة النوى.

ثالثاً: ر ن أ الناقل (t-RNA)

يلعب حمض ر ن أ الناقل دوراً فى تخليق البروتين ولكن دوره فـى هـذه الحالة مختلف تماماً عن دور حمض ر ن أ الريبوسومى. وفى الواقع فان حمـض ر ن أ الناقل يعتبر كجزيئات مكيفة adaptor لها القدرة علـى قـراءة تتابعـات النوتيدات الموجودة على ر ن أ الرسول المستنسخ وتحول هذه النوتيدات إلى مـا يقابلها من أحماض أمينية وقد تم أكتشاف حمض ر ن أ الناقـل بواسـطة العـالم كريك عام ١٩٥٠ وعزلت جزيئاته لأول مرة عام ١٩٥٩ بواسطة العالم روبـرت هوللى والذى إستطاع أن يقدم نسخة كاملة من تتابعات النوتيـدات لواحـدة مـن الحمض الـ ر ن أ الناقل.

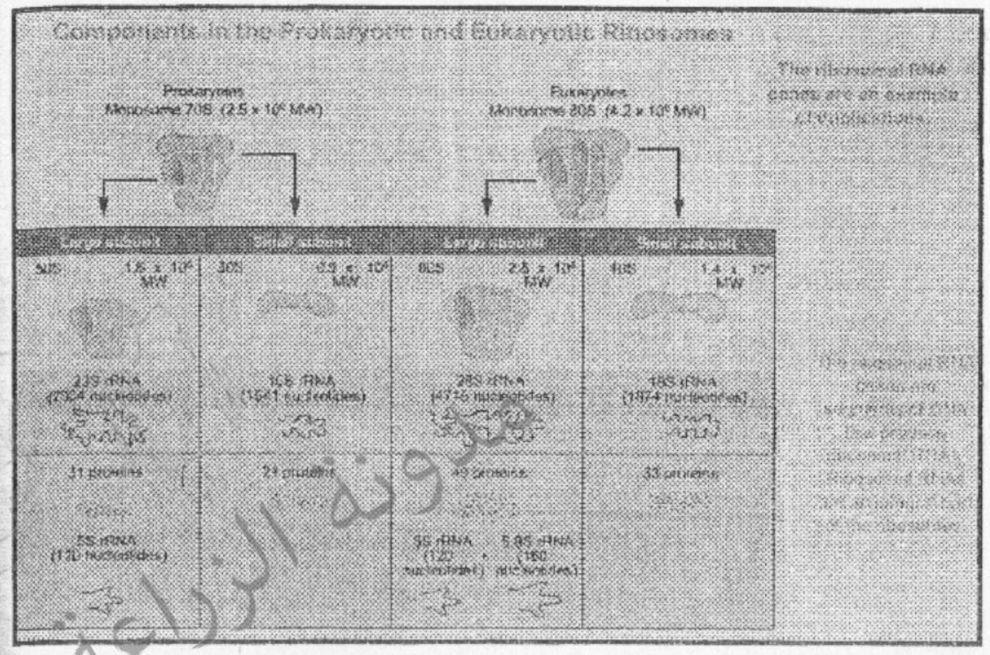


شكل (٤-٤) : التركيب ثلاثى الأبعاد لـ يبوسوم بكتريا إ.كولاى

أ- صورة بالميكرسكوب الالكترونى

ب- صورة بالأشعة السينية لتحت الوحدة الريبوسومية (50S)

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٤-٥): مقارنة بين تركيب ريبوسومات فى الكائنات غير مميزة النوى ومميزة النوى.

تركيب الحمض ر ن أ الناقل (t-RNA)

جزيئات الحمض الناقل (tRNA) عموماً صغيرة ما بين ٧٤-٩٥ من أزواج النوتيدات فى الأنواع المختلفة من الكائنات وكل كائن يقوم بتخليق العديد من هذه الجزيئات وكل منها ينسخ نسخ مكررة من أزواج القواعد والذى فى النهاية يكون فى شكل ورقة البرسيم كما فى الشكل (شكل ٤-٦) وهذا الشكل يتركب من المكونات التالية:

(١) ذراع المستقبل The acceptor

ويتكون من مجموعة متتالية من النوتيدات عادة سبعة نوتيدات عند الإتجاه ٥′ ، وفى أثناء عملية تخليق البروتين فإن الحمض الأمينى يكون متصلا بهذا الذراع من الحمض الناقل (tRNA) ونهاية هذا الذراع هى 5`-CCA-3` فى كل أنواع الأحماض الناقلة t-RNA.

(٢) ذراع الـ D أو DHU

يوجد عروة فى هذا الذراع تحتوى على نوع من النوتيدات وسمى بهذه التسمية لأن نهاية هذا الذراع تحتوى على بيرميدين وداى هيدرويوراسيل غير معتاد فى التركيب.

(٣) ذراع مضاد الشفرة The anticodon arm

وهو يلعب دور رئيسى فى ترجمة الشفرة الوراثية الموجودة فى تركيب حمض ر ن أ الرسول.

(٤) الذراع الإضافى الاختيارى أو المتغير

The extra, optional or variable arm

وهو عبارة عن عروة مكونة من حوالى ٣-٥ نوتيدة كما فى حالة Class A أو يتراوح حجمها ما بين ١٢-١٣ نوتيدة.

(٥) الذراع TψC

وتحتوى العروة على TψC حيث أن ψ عبارة عن نوتيدة تحتوى على سبيه اليوراسيل وهى عبارة عن قاعدة بيرميدنية غير عادية.

www.zera3h.com
zera3h

بالإضافة إلى هذا الشكل الثانوى العام فتوجد أنواع من حمض ر ن أ المراسل تظهر بعض التحفظ فى كمية النوتيدات وفيها بعض المواقع فى التركيب غير متغيرة تكون مشغولة بنفس أنواع النوتيدات.

كيفية عمل ر ن أ الناقل

ترتبط الأحماض الأمينية مع جزيئات حمض ر ن أ الناقل بروابط ذات طاقة عالية بين مجموعة الكربوكسيل فى الحمض الأمينى ومجموعة الهيدروكسيل فى الطرف ٣′ فى جزيئات حمض ر ن أ الناقل مكونة مركب نشط المسمى أمينوأسيل tRNA سينسيسيز ويوجد من هذا المركب النشط على الأقل واحد لكل حمض من الأحماض الأمينية العشرون.

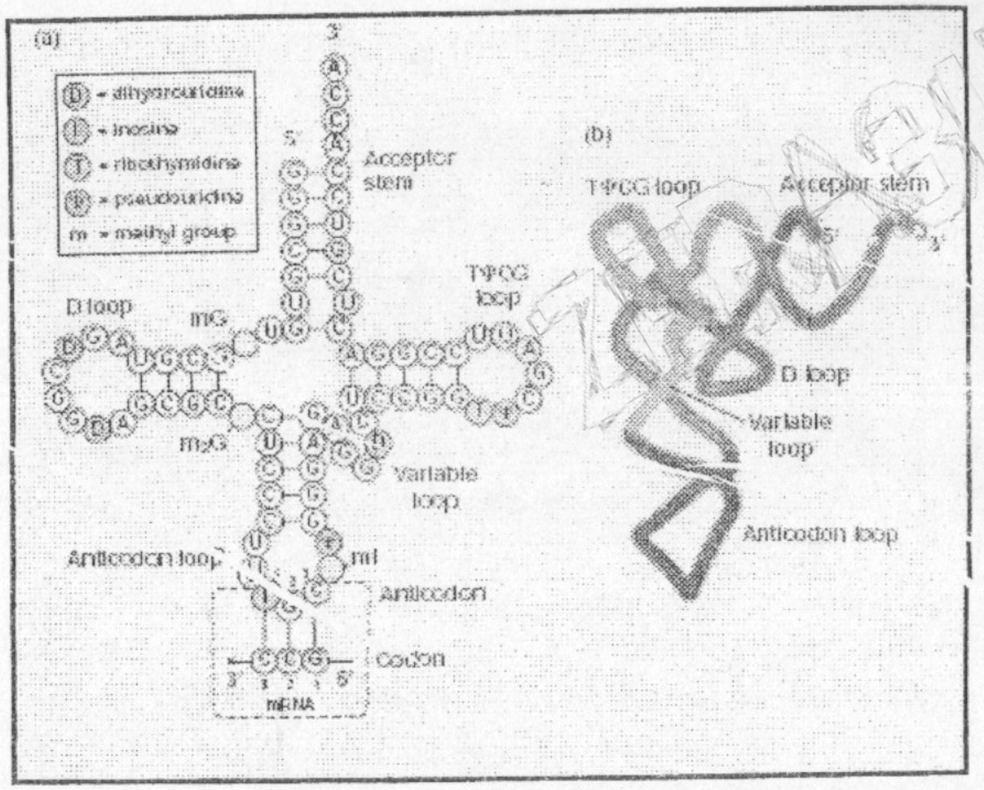
الشفرة الوراثية Genetic Code

سبق وأن أوضحنا أن البروتينات أو متعددات الببتيدات هى النواتج النهائية لوظيفة الجينات، وأن تخليق ببتيدة متعددة يتضمن تراكيب مختلفة من الأحماض الأمينية بتتابع محدد، وأن هذه الببتيدات تكون شفرتها مخزنة عن طريق تتابع النوتيدات فى جين ما.

وكما سبق ذكره، توجد المعلومات الوراثية مخزنة فىالمادة الوراثية الـــد ن أ – على شكل شفرات، حروفها الأساسية هى القواعد النيتروجينية الأربع: (أ، ث، س، ج) . أو A, T, C, G.

ومن المعروف أنه يوجد عشرون حمضا أمينيا تدخل فى تركيب البروتينات فكيف تسيطر هذه النوتيدات الأربعة على شفرات هذه الأحماض العشرين السابقة.

وإذا نظرنا إلى الشفرات الوراثية (أو الكودونات) على أنها نظام تتابع النوتيدات التى تحدد تخلق حمض أمينى معين، فلو فرضنا أن الكودون يتكون من نوتيدة واحدة أى أن قاعدة واحدة من الأربعة قواعد تحدد حمضا أمينيا واحد معينا فى بروتين ما، فعليه فإن محتوى أى بروتين لن يزيد عن أربعة أحماض أمينة. ولو فرضنا أن الشفرة الواحدة تتكون من نوتيدة واحدة وهذه النوتيدة تنتج أحماضا أمينية مختلفة تحت ظروف مختلفة حتى يمكن للأربعة كودونات (والتى كل منها عبارة عن نوتيدة واحدة) تغطية تخليق العشرين حمضا أمينيا، فإننا يمكن أن نتصور كيف ستكون عملية تخليق البروتين عشوائية وغير منتظمة عكس ما هو معروف ومؤكد عنها.



شكل (٤-٦): يوضح تركيب حمض ر ن أ الناقل

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

وبالمثل فإن فرض أن الشفرة ثنائية أى أن أى نوتيدتين من الأربع نوتيدات تكون شفرة حمض أمينى معين وعليه فعدد الشفرات الثنائية الناتجة ستكون ($٤^{٢}$) أى ستة عشر، وهذه بدورها غير كافية لتغطية العشرين حمضا أمينياً، ومن ثم أبسط الشفرات التى يمكن تصورها هى الشفرة الثلاثية Triplet code أى التى تتكون من ثلاثة نوتيدات، وعليه نجد أن التوافيق الثلاثية المرجحة الأربع نوتيدات ($٤^{٣}$) أى التى تعطى ٦٤ شفرة، وهذه تزيد بكثير عن عدد العشرين حمضاً، مما يتيح الفرصة بأن يوجد أكثر من شفرة أو كودون للحمض الأمينى الواحد، ومن ثم فإن الشفرة الثلاثية ستسمح نظرياً بوجود كودونات أو شفرات تخلق الأحماض الأمينية المعينة أى أنها ذات معنى Sense codons وأخرى عديمة المعنى Nonsense وهذه ربما يكون لها دور فى بدأ وانتهاء عملية تخليق البروتين.

وقد أكدت التجارب الكيموحيوية أن الكودون أو الشفرة الوراثية ثلاثيـة، أى تتكون من ثلاثة نوتيدات وتتوالى الشفرات بترتيب طولى كما وأنهـا متصلة أى ليس بينها فواصل ولا تتداخل مع بعضها.

وقد أتى تأكيد النسبة الشفرية (النوتيدات إلى الأحماض الأمينية) فى الحقيقـة من مصادر متعددة وقد قدمت الدراسات المعملية الخاصة بعملية الترجمـة دلـيلا هاما على ثلاثية الشفرة.

وتتميز الشفرات الوراثية بما يلى:

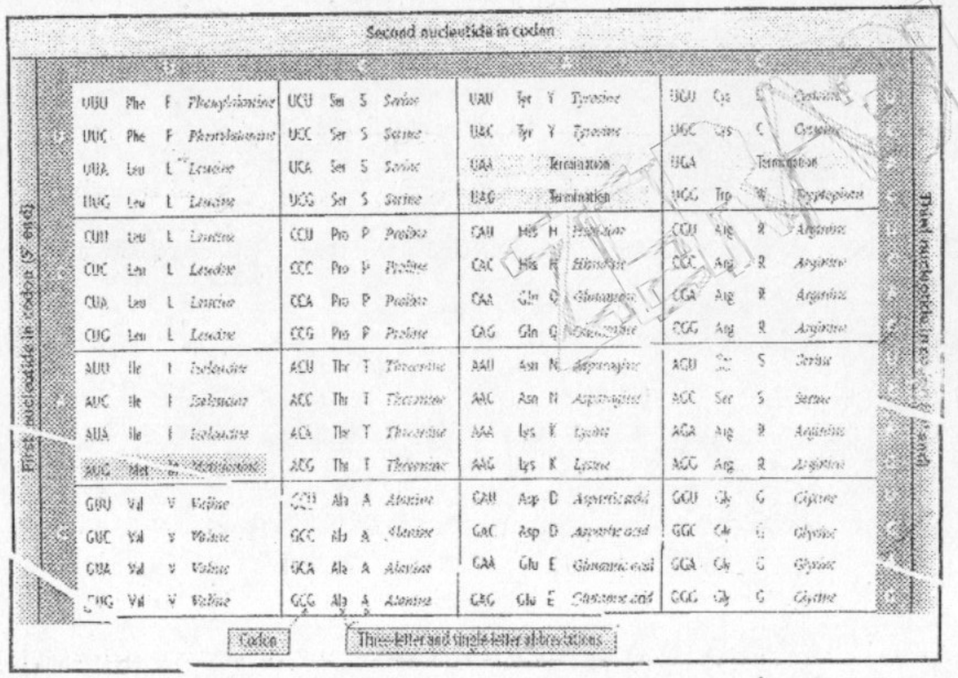
١ – ترادف الشفرة Degeneracy of the code

وجد أن جميع الاحماض الامينية ما عـدا الميثـونين AUG، التربتوفـان UGG لها أكثر من كودون (٢، ٣، ٤، ٦) شكل (٤–٧) ووجود أكثر من شـفرة لكل حمض أمينى يسمى ترادف الشفرة degeneracy of the code وعادة فـإن

الشفرات المتعددة التى تختص بحمض أمينى معين تختلف فى نوتيدة واحدة (وهى القاعدة الثالثة من الشفرة)

شمولية الشفرة Universily of the code

إقترح أن الشفرة تتماثل فى الكائنات المميزة وغير المميزة النوى بمعنـى أن شفرة ثلاثية ما تقوم بتخليق نفس الحمض الأمينى فى مدى واسع مـن الكائنـات الحية فقد اتضح بالتجربة أن التتابع النوتيدى فى شفرة ما والـذى يوجـه حمـضا امينيا معينا لبروتين البكتريوفاج هو نفس التتابع النوتيدى الذى يوجه ذات الحمض الأمينى فى بروتين الانسان. والأمثلة على ذلك كثيرة.



شكل (٤–٧): الأحماض الأمينية وشفراتها الوراثية ويلاحظ وجود أكثر من شفرة لبعض الأحماض وكذلك شفرات الإبتداء والإنتهاء.

www.zera3h.com
zera3h

(١) متعددة من (UC) مصنعة معملياً استطاعت أن تحدد الحمض الأمينى سيرين serine فى مستخلص غير خلوى لتخليق البروتين مأخوذ من بكتريا القولون، الكلاميدوموناس وكبد الفأر.

(٢) أما التجربة التى تذكر فى هذا المجال والتى تشير دون شك إلى شمولية الشفرة الوراثية فهى تلك التى أجراها العالمان ايرنستين وليبمان (١٩٦١)، وحيث قاما بخلط جزيئات من حمض ر ن أ الناقل tRNA المشحونة بالاحماض الامينية والمستخلصة من بكتيريا إ.كولاى مع جزيئات حمض ر ن أ الرسول وريبوسومات متحصل عليها من خلايا كرات الدم الحمراء للأرانب. وكان الناتج النهائى وهو "هيموجلوبين". وزيادة على ذلك فقد اتضح ان الهيموجلوبين المصنع فى الانبوب بإستعمال هذا الأسلوب البارع مشابه فى بنائه الأولى للهيموجلوبين الطبيعى للارانب، مما لايدع مجالا للشك فى أن جزءا من نظام التخليق للبروتين الممثل فى حمض ر ن أ الناقل فى البكتريا استطاع أن يعمل فى تناسق تام مع الجزء الآخر الممثل بحمض ر ن أ وريبوسومات الأرنب.

(٣) ولكن هناك استثناء محدود من شمولية الشفرة يكمن فقط فى ميتوكوندريا الموجودة فى خلايا الأنسان والخميرة والعديد من الأنواع الأخرى حيث الشفرة UGA تشفر للحمض الأمينى للتربتوفان بينما الشفرة UGA تكون شفرة نهاية التخليق فى الأنظمة اللاميتوكونديرية. إضافة إلى ذلك نجد فى ميتوكوندريا الخميرة أن CUA يشفر للحمض الأمينى للثربونين بدلا من الحمض الأمينى الليوسين كالمعتاد وفى ميتوكوندريا الثدييات نجد AUA يشفر للميثيونين بدلا من الايسيولين كالمعتاد.

بناء البروتين Protein Synthesis

أثبتت التجارب أن بناء البروتينات يتم فى السيتوبلازم عن طريق الحمض ر ن أ والذى يعمل كوسيط بين الجين والبروتين وبناء عليه يتسلسل نقل المعلومات الوراثية فى الـ د ن أ الموجود فى النواة عن ر ن أ الموجود فى السيتوبلازم ليتم بناء أو تخليق البروتينات فى السيتوبلازم والذى يقوم عندئذ بالعمليات الحيوية فى الكائن الحى ووجد أن إنتقال المعلومات الوراثية لتخليق البروتينات تتم على مرحلتين:

١- النسخ Transcription:

وهى إنتقال المعلومات الوراثية من الـ د ن أ إلى ر ن أ الرسول mRNA

٢- عملية الترجمة Translation:

وهى إنتقال المعلومات الوراثية من الـ ر ن أ الرسول mRNA إلى البروتين.

أولاً: النسخ Transcription

نظراً لوجود الجينات التى تتكون من الـ د ن أ فى الكائنات مميزة النوى على الكروموسومات داخل أنوية الخلايا فى حين أن البروتينات يتم بناؤها فى السيتوبلازم فإن الـ د ن أ لا يمكنه العمل مباشرة بل يستخدم أحد خيطيه (sense strand) وهو الخيط المعنى كقالب لبناء سلسلة من الـ ر ن أ تسمى ر ن أ الرسول.

www.zera3h.com
zera3h

ويتم تخليق حمض ر ن أ الرسول (mRNA) فى النواة ويسمى فى هذه المرحلة بما قبل حمض ر ن أ الرسول pre-messenger RNA حيث يحدث له بعض التحورات (حتى لا يتعرف عليه إنزيم هضم الـ ر ن أ إنزيم Rnase الموجود فى السيتوبلازم) والذى بعد تلك المرحلة يسمى بالرسول الناضج mature mRNA الذى ينتقل إلى السيتوبلازم لبدأ عملية الترجمة.

وبذلك نجد أن إتجاه التناسخ يكون دائماً فى الإتجاه ٣′← ٥′ ويسمى الإنزيم المسئول عن التناسخ بإنزيم بلمرة حمض ر ن أ DNA dependent RNA polymerase.

إنزيم بلمرة الـ ر ن أ

وهو الإنزيم الذى يحفز تخليق حمض ر ن أ الرسول mRNA أثناء عملية النسخ وقد اكتشف لأول مرة عام ١٩٥٨ فى بكتريا القولون إ.كولاى وهو إنزيم معقد التركيب يتكون من بروتينات متعددة الخيط.

أ- إنزيم بلمرة ر ن أ فى بكتيريا إ.كولاى

يتركب هذا الإنزيم من ٥ تحت وحدات (5 subunits) توصف بـ $\alpha_2 \beta\beta'\sigma$ أى أن كل إنزيم به تكرار من وحدتى ألفا α، وحدة من β، وحدة β′، وحدة من σ ويسمى الإنزيم بهذا التركيب بالإنزيم الكامل holoenzyme عن الصورة الثانية له والتى تسمى الإنزيم المركزى core-enzyme والذى ينقصه وحدة σ ويحتوى فقط على ٤ وحدات هى $\alpha_2 \beta\beta'$.

ب- إنزيمات بلمرة ر ن أ فى الكائنات مميزة النوى

فى الكائنات مميزات النوى تحتوى على ثلاثة أنواع مختلفة من إنزيمات بلمرة الحمض ر ن أ mRNA وتسمى RNA polymerase I, II and III كل إنزيم واحد ينسخ مجموعة مختلفة من الجينات.

أولاً: نسخ المادة الوراثية فى بكتريا إ.كولاى

تقسم عملية نسخ المعلومات الوراثية الموجودة فى حمض الـ د ن أ إلى ما يقابلها من حمض ر ن أ الرسول mRNA إلى ثلاث مراحل وهى البدأ initation والإستطالة elongation والإنتهاء termination.

أ) البدأ Initation

ينسخ إنزيم بلمرة الـ ر ن أ جينات وليست أجزاء عشوائية من جزئ الـ د ن أ وأن الإرتباط الأولى للإنزيم بجزئ الـ د ن أ يتم فى منطقة معينة تسبق مباشرة الجين المراد نسخة (upstream) وموقع بدأ النسخ الذى يتعرف عليه إنزيم بلمرة الـ ر ن أ كنقطة لبدأ الإرتباط بالـ د ن أ بغرض بدأ النسخ تسمى بالبادئ أو المحفز Promoter. وهى تقع قبل الـ upstream للجين مباشرة. (شكل ٤-٨)

ومن الواضح أن كل المحفزات يجب أن تحتوى على تتابعات نوتيدية متماثلة أو متشابهة إذا كان إنزيم واحد معين من انزيمات بلمرة الـ ر ن أ يتعرف عليها كلها.

ففى بكتريا إ.كولاى تم دراسة منطقة المحفز ووجد أنه يحتوى على تتابعين قصيرين متشابهين فى جميع المحفزات أى فى موقع ما قبل بداية النسخ بما بين ١٠ نوتيدات أو ٣٥ نوتيدة لذلك أطلق عليهما صندوق - ١٠، صندوق - ٣٥ -

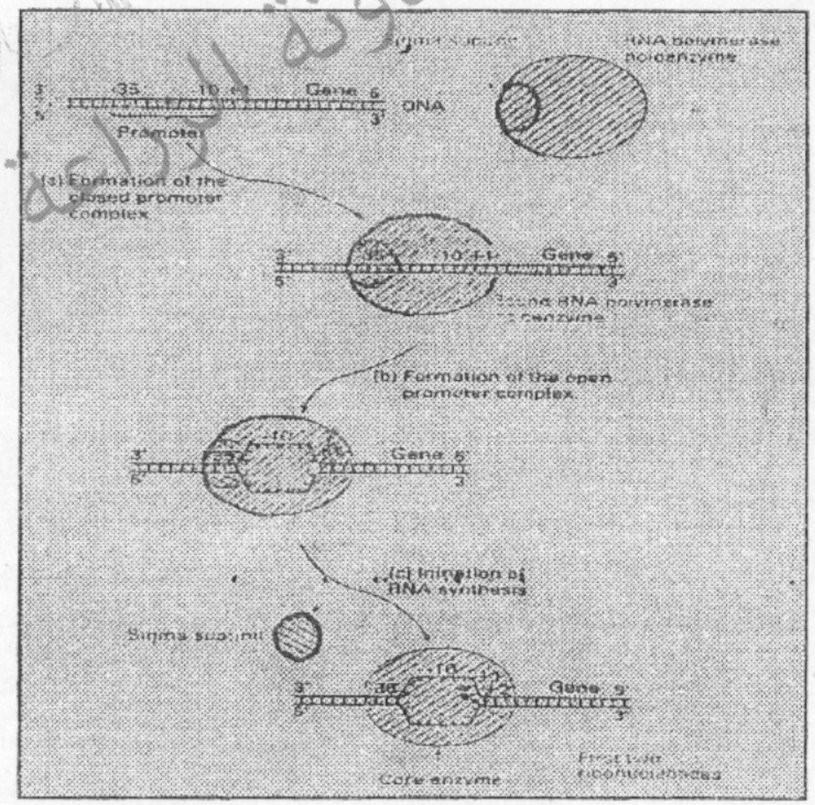
مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

[10 box] -35 box (شكل ٤-٩)] ويسمى الأخير أحياناً بصندوق بريبنو Pribnow box (على إسم الباحث الذى إستطاع التعرف على هذا التتابع). وبذلك نجد أن الإسم يشير إلى الموقع فى بدأ التناسخ، ويحتوى هذين الصندوقين على تتابعين مميزين هما

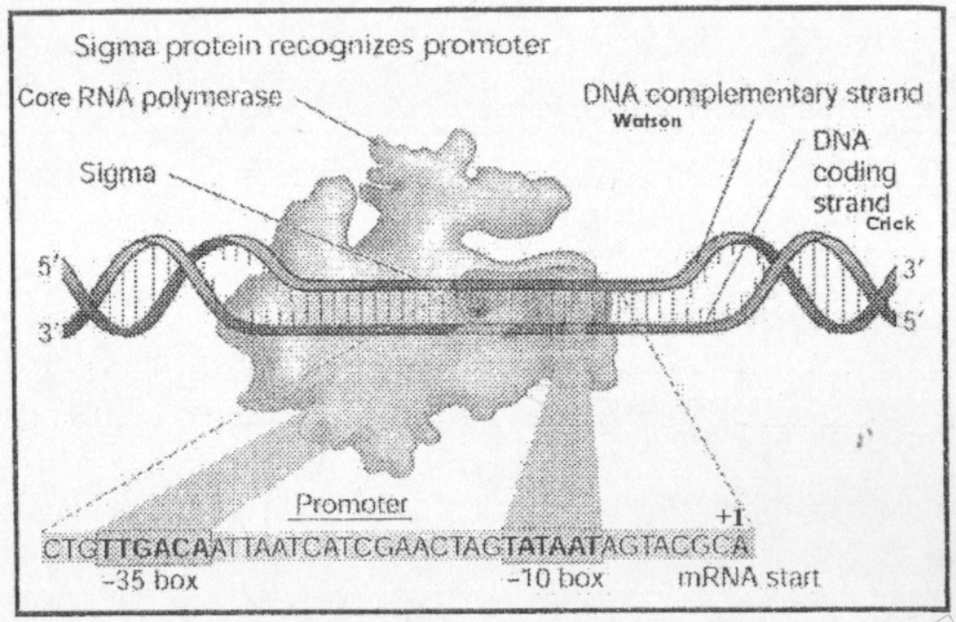
-35 box ⟶ 5`- TTGACA - 3`

-10 box ⟶ 5`- TATAAT - 3`

ويختلف التتابع الحقيقى للمحفز من جين إلى آخر ولكنها جميعا تحتوى على التتابع المتماثل السابق الإشارة إليه consensus sequences .



شكل (٤-٨): بدأ النسخ فى بكتريا إ.كولاى



شكل (٤-٩): موقع البادئ السابق للجين فى بكتريا إ.كولاى يبدأ النسخ عند نقطة تسمة (+١).

فى بداية عملية النسخ فإن وحدة σ لإنزيم بلمرة الـــ ر ن أ تتعرف على منطقة المحفز promoter لذلك يجب أن يتواجد إنزيم البلمرة فى صورة الإنزيم الكامل holoenzyme ($\alpha_2\ \beta\beta'\sigma$) (شكل ٤-١٠). وفى حالة غياب عامل σ يستطيع الإنزيم أن يرتبط بالـ د ن أ ولكن بطريقة عشوائية فى مناطق مختلفة وليس متخصصا بمنطقة المحفز promoter.

ب) الإستطالة Elongation

أثناء عملية إستطالة الحمض ر ن أ الرسول mRNA نجد أن أنزيم بلمرة الـ ر ن أ يتحرك على طول حمض الـ د ن أ مع إستمرار عمليات فك الحلزنة لخيط الـ د ن أ المزدوج وفى نفس الوقت يتم إضافة ريبونيوتيدات إلى النهاية ٣′

www.zera3h.com
zera3h

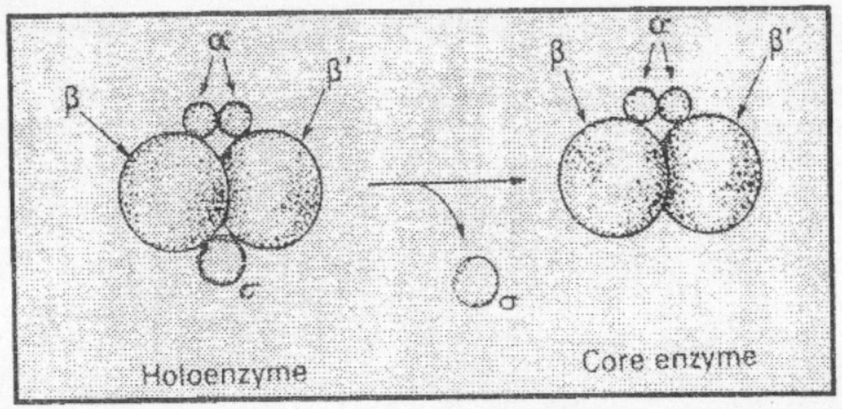
للحمض الـــ ر ن أ بعد ربطها بروابط هيدروجينية لقالب متعدد النوتيدات للجـين المراد نسخه شكل (٤-١١).

(ج) عملية إنتهاء نسخ المادة الوراثية Termination

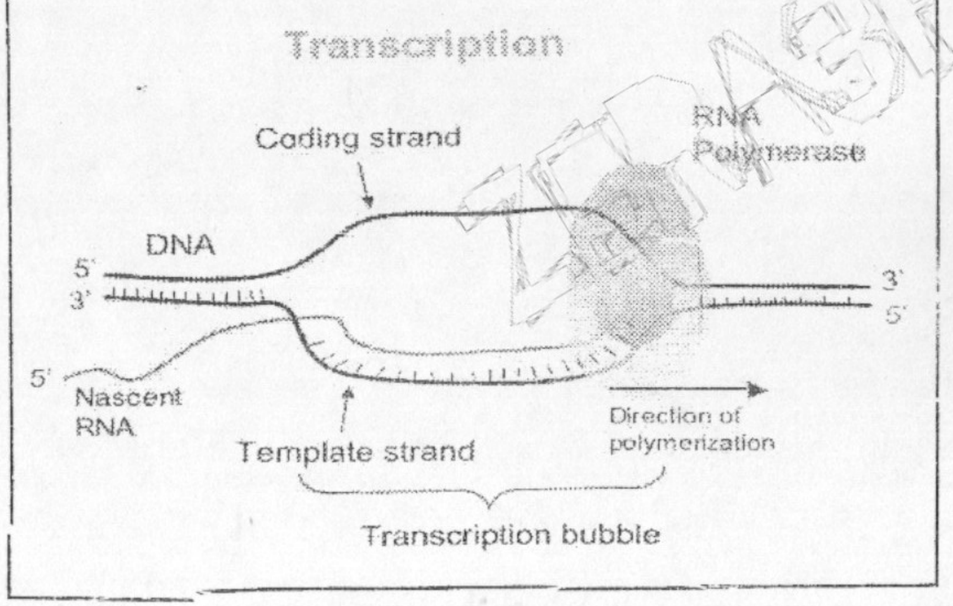
إنتهاء عملية النسخ لا تتم عشوائياً ولكن تتم فى مكان مناسب بعد إنتهاء حيز الجين ومنطقة الإنتهاء لاتحتوى تتابعا معينا كما فى حالة المحفز ولكـن تحتـوى إشارة معقدة complex single ونجد أن منطقة إنتهـاء النـسخ رغـم إخـتلاف التتابعات النوتيدية بها تتميز بـصفة البالنـدروم التكـاملى Complementary palindromes (شكل (٤-١٢). وهذا يعنى النوتيدات داخل نفس السلسلة وأيـضا حمض جزئ الـــ ر ن أ الرسول المنسوخ.

ويؤثر تكوين البالندروم التكاملى على عملية التناسخ إذ انه يـسمح بتكـوين stem-loop المسئولة عن إنتهاء عملية التناسخ يتبعه بتسلسل من ٩-١١ نوتيدات من النوع الإدنين A فى جزئ الـــ د ن أ القالب الذى ينسخ إلى تتابعـات مـن U فى حمض الـــ ر ن أ الرسول وتكون الرابطة بين A-U والتـى تكـون ضـعيفة وتسمح بأنفصال detaches لجزئ الـــ ر ن أ من سلسلة القالب.

وتجدر ملاحظة أن بعض الناهيات terminators لا تحتوى التتابعـات المتتاليـة من الإدنين A ولكن عملية الإنتهاء تتم بطريقة مختلفة وتـسمى هـذه الناهيـات Rho-dependent terminators حيث أنهم يعملون فقط فى وجود إنزيم يـسمى Rho وهو إنزيم كبير وليس من الوحدات التى تدخل تركيب إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ. يتصل أو يمسك الإنزيم Rho بالسلسلة النامية وعندما يكون إنزيم البلمرة منطقة الـــ stem loop ينشط الإنزيم Rho ويبدأ فى كسر الروابط الهيدروجينيـة بـين أزواج الـــ د ن أ القالب مع ر ن أ الرسول المستنسخ.



شكل (٤-١٠): يوضح العلاقة بين الإنـزيم الكامـل **Holoenzyme** والإنـزيم القالب **Core-enzyme** لانزيم بلمرة الـــ ر ن أ لبكتريا إ.كولاى



شكل (٤-١١): عملية الإستطالة لنسخ الحمض الـــ ر ن أ

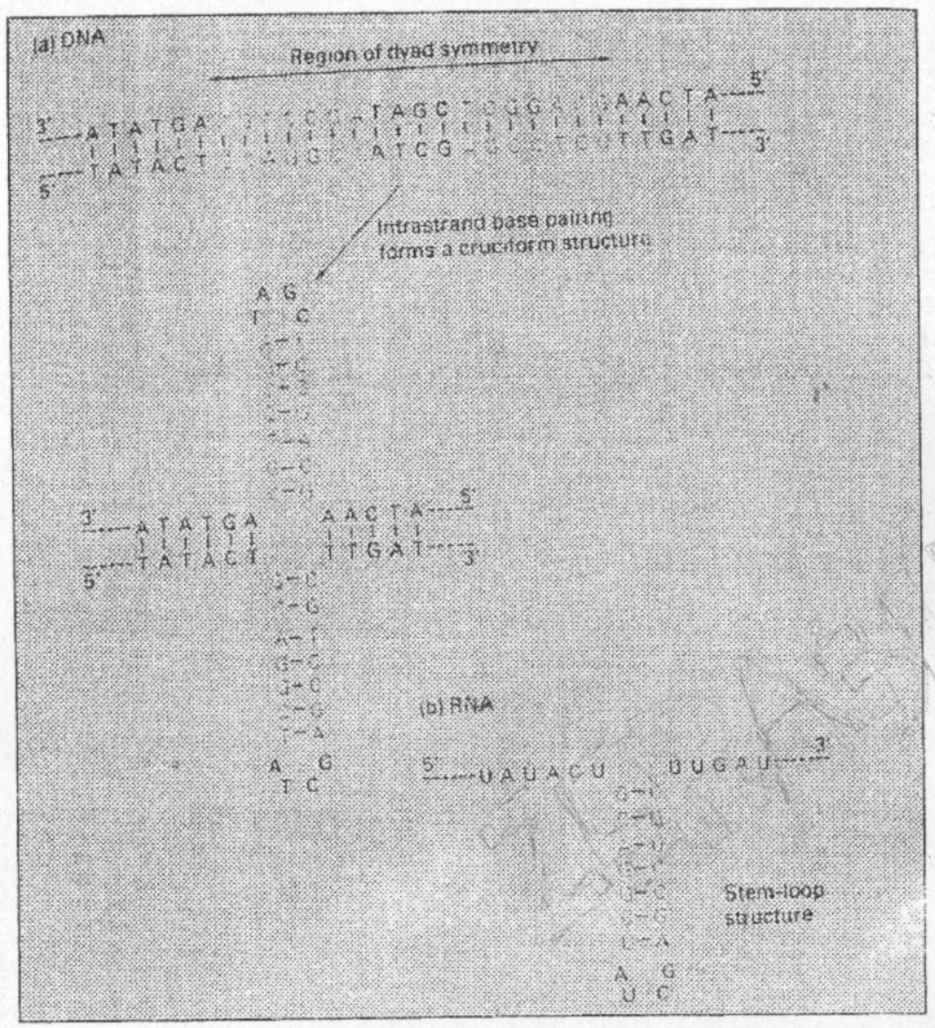
www.zera3h.com
zera3h

إنتهاء عملية النسخ يؤدى إلى فصل إنزيم بلمرة الــ ر ن أ من جزئ الــ د ن أ ويحرر جزئ الــ ر ن أ المنسوخ وبذلك يصبح الأنزيم المركزى core enzyme قادراً على إعادة الإتحاد بالعامل سيجما ويبدأ عملية نسخ جديدة فى نفس الجين أو جين مختلف.

ويصبح جزئ الــ ر ن أ المنسوخ جاهزاً ليلعب دوره سواء أكان ناتج نهائى (ريبوسومى، ناقل...) أو كرسول لتخليق سلسلة ببتيدية بواسطة عملية الترجمة.

ثانياً: عملية النسخ فى الكائنات مميزات النوى

تتم عملية النسخ فى الكائنات مميزات النوى بواسطة عمليه مشابهة لعملية النسخ التى تتم فى البكتريا إ.كولاى والإختلافات المهمة هى أنه فى الكائنات مميزة النوى تكون بداية عملية النسخ أكثر تعقيداً وأن عملية الإنتهاء لا يدخل فيها التركيب stem loop.



شكل (٤-١٢): يوضح الاشكال المختلفة التى يمكن أن تتكون نتيجة وجود بالندروم تكميلى فى (أ) سلسلة د ن أ مزدوجة الحلزون، (ب) جزئ ر ن أ المنسوخ. وترجع هذه الأشكال إلى تكوين روابط هيدروجينية لنيكليوتيدات تقع على نفس سلسلة الجزئ.

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

بدأ النسخ بواسطة إنزيم بلمرة ر ن أ رقم II فى الكائنات مميزة النوى

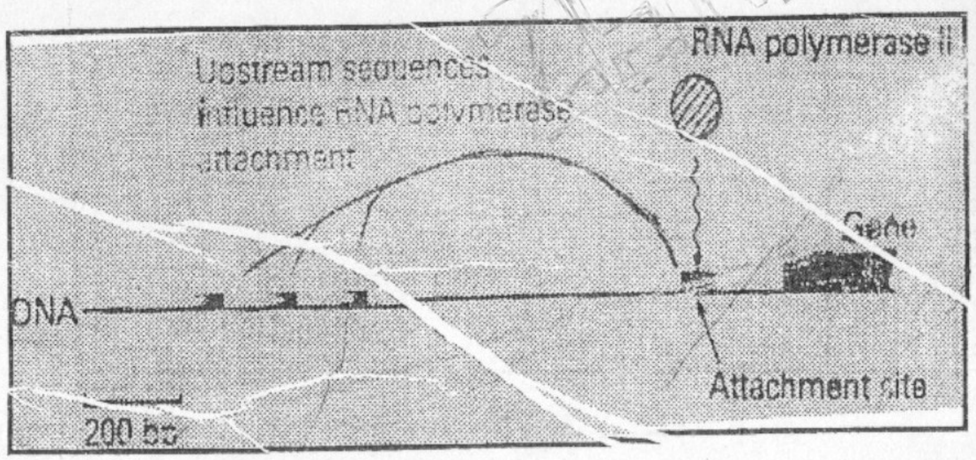
تعتمد عملية بدأ النسخ على تعرف إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ لتتـابع المحفـز والإرتباط به، وتحتوى الكائنات مميزة النوى على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمـرة الـــ ر ن أ كل منها له مجموعة جينات تعمل عليه. وعملية بدأ النسخ تعتمد علـى عدد من أنواع مختلفة من تتابع النوتيدات. وأهمها هو موقع أو مكان إرتباط إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ للجين المراد نسخه مباشرة وهذا يماثل نظيره فى بـادئ عمليـة النسخ فى بكتريا القولون إ.كولاى هذا بالإضافة إلى تتابعات أخرى فـى مميـزة النوى موزعة على بعد مئات من أزواج النوتيدات من موقع بدأ الجـين تـشترك أيضا فى تسهيل إرتباط إنزيم بلمرة ر ن أ مع سلسلة د ن أ القالب (شـكل ٤-١٣). ومكان إتـصال إنـزيم بلمـرة الـــ ر ن أ يحتـوى التتـابع التـالى 5` - TATAAAT-3` ويسمى TATA box ويقع TATA box قبل موقع بـدأ النسخ عادة بحوالى ٢٥ نوتيده ولذلك يسمى أيـضاً 25- box وإتـصال الإنـزيم بمنطقة TATA box ليس مباشراً حيث يتوسط الإتصال مجموعة مـن عوامـل النسخ trascription factors تسمى حسب نوع إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ فمـثلاً عوامل النسخ الخاصة بإنزيم البلمرة II تسمى عوامل النـسخ TF II A, TF II B... فى حين تسمى عوامل النسخ الخاصة بإنزيم البلمرة I، III، بـ TF I، TF III وتتلخص خطوات إتصال إنزيم بلمرة ر ن أ II بجزئ د ن أ القالـب فـى أن عامل النسخ D (TF II D) يرتبط بـ TATA box بمساعدة عامل النسخ (TF II A)A ويبدأ تكوين معقد النـسخ Transcription complex حيـث يـرتبط عامل النسخ B (TF II B) بمعقد النسخ ويتبعه فى الإرتباط إنزيم بلمرة ر ن أ II عوامل النسخ هما TF II E + TF II F ويصبح معقد النسخ حينئذ جـاهزاً لبـدأ تخليق الـــ ر ن أ الرسول شكل (٤-١٤).

عملية إنتهاء النسخ بواسطة إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ II

اقترح أنه لا يوجد نقطة محددة بعد الجين لإنهاء تناسخ إنزيم بلمـرة ر ن أ II وإحتمال أن أحد عوامل النسخ تسقط من معقد النسخ فى نهاية الجين مما يعطى عدم ثبات للمعقد ويؤدى ذلك إلى أن يترك المعقد جزئ الـــ د ن أ القالب ومن ثـم ينتهى النسخ.

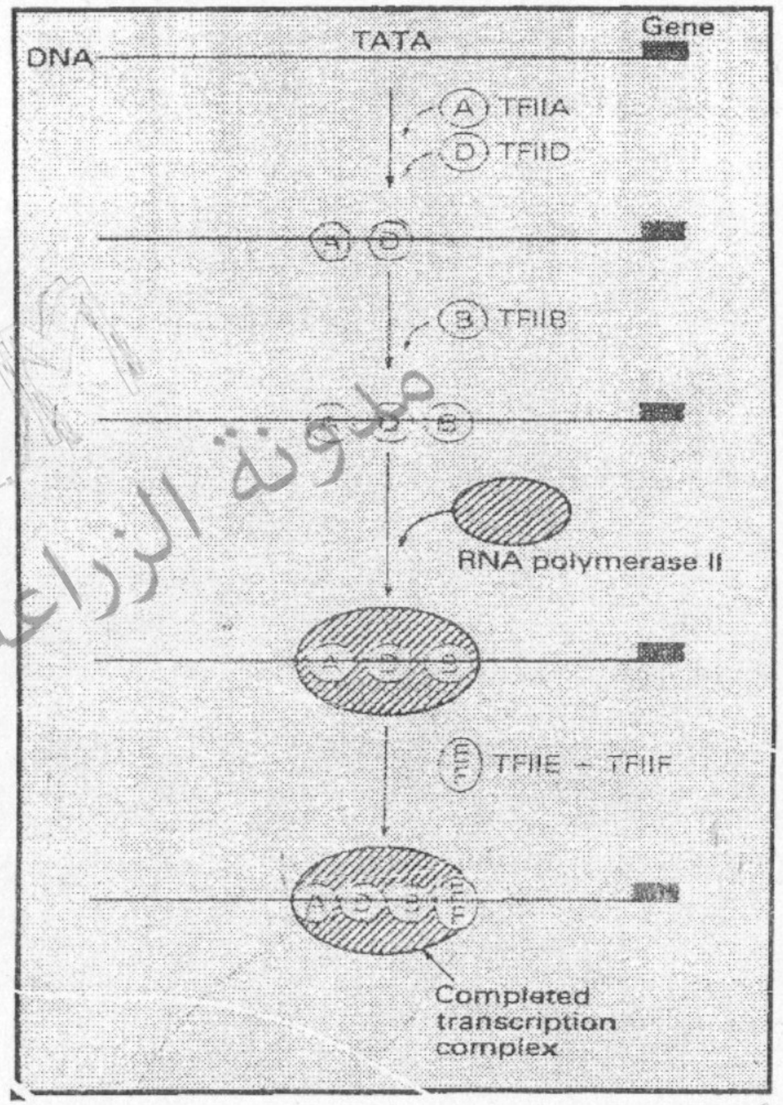
ثانياً عملية الترجمة Translation فى الكائنات مميزة النوى

إن الأساس فى عملية ترجمة الـــ د ن أ إلى بروتين هو أن تتابع الأحمـاض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد التى تخلق يحدده تتابع النيوتيدات فى جـزئ ر ن أ الرسول الذى يترجم وأنه من القواعد الأساسية أيضاً أن تتابع معين من النيوتيدات يختص بتتابع مقابل من الأحماض الأمينية وأن هذه القواعد تكمـن فـى الـشفرة الوراثية.



شكل (٤-١٣): التتابع النيكليوتيدى السابق لمنطقة اتصال انزيم بلمرة الـــ ر ن أ بجزئ الـــ د ن أ التى يمكن أن تؤثر على ارتباط الأنزيم بجزئ الـــ د ن أ القالب.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٤-١٤): يوضح تتابع اتحاد عوامل النسخ وانزيم بلمرة الـ ر ن أ عند منطقة TATA box فى الكائنات مميزة النوى.

فالشفرة الوراثية تستعمل فى المرحلة النهائية من التعبير الجينى عند ترجمة جزيئات ر ن أ الرسول إلى سلاسل عديدة الببتيد.

وعملية الترجمة معقدة جداً وتحتاج إلى توظيف عدد كبير من الجزيئات وإشتراك عدد من مكونات الخلية. والأساس فى عملية الترجمة هو خضوعها فى جميع مراحلها إلى الشفرة الوراثية. والمسئول عن إحكام هذه العملية هو جزيئات ر ن أ الناقل التى تعمل كجزيئات مكيفة أو مهيأة Adaptors حيث تعمل كروابط فيزيقية ومعلوماتية بين تتابع النيوتيدات فى ر ن أ الرسول وتتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديدة الببتيد.

ومن المعروف أن كل خلية تحتوى على عدد من الأنواع المختلفة من الـ ر ن أ الناقل التى يتميز كل منها بتتابعات خاصة. وكل ر ن أ ناقل يتميز من الناحية الوظيفية بتخصصه للتعرف والإرتباط بحمض أمينى واحد من العشرين حمضاً التى تدخل فى تركيب البروتين، فمثلاً ر ن أ الناقل المسمى $tRNA^{try}$ يختص بحمل الحمض الأمينى تيروسين tyrosine بينما ر ن أ الناقل المسمى $tRNA^{gly}$ يختص بحمل الحمض الأمينى جليسين Glycine. ويرتبط جزئ ر ن أ الناقل مع الحمض الأمينى الخاص به برابطة ذات طاقة عالية covalent linkage. ويمكن أيضا أن يتعرف ويرتبط بالشفرة الخاصة بهذا الحمض الأمينى على الـ ر ن أ الرسول. ويجب ملاحظة أنه يوجد أكثر من نوع واحد (من ١ إلى ٤) من ر ن أ الناقل للحمض الأمينى الواحد وذلك لأن الشفرة الوراثية مترادفة وأن معظم الأحماض الأمينية تشفر لها عن طريق أكثر من شفرة واحدة وتسمى

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

جزيئات الـ ر ن أ الناقل التى ترتبط بحمض أمينى واحد (نفس الحمض الأمينى) المستقبلات المتشابهة Isoacceptors.

وأن عملية إرتباط جزئ ر ن أ الناقل بالحمض الأمينى الخاص به وتكوين رابطة ذات طاقة عالية تسمى "عملية الشحن أو التحميل Charging or aminoacylation" يساعد فى عملية الشحن مجموعة إنزيمات تسمى Amino acyl. tRNA synthetases لكل حمض أمينى بمعنى أنه يمكن لإنزيم واحد أن يقوم بشحن سلسلة من الـ ر ن أ الناقلة المستقبلة المتشابهة Isoaccepting tRNAs.

وبعد إرتباط الحمض الأمينى المناسب بالذراع المستقبل فى الـ ر ن أ الناقل ويكمل هذا الجزئ الحلقة بين ر ن أ الرسول وسلسلة عديد الببتيد بأن يتعرف على الشفرة المناسبة ويرتبط بها أى يجب أن يتعرف على أحد الشفرات التى تشفر للحمض الأمينى الذى يحمله. والمسئول عن التعرف على الشفرة هى الشفرة المضادة أو المقابلة anticodon الموجود فى ذراع الأنتيكودون فى ر ن أ الناقل والذى يكون تتابعه الثلاثى مكملاً للكودون ومن ثم يمكنه الإرتباط به عن طريق تزاوج النوتيدات.

والأنتيكودونات يمكنها التأرجح wobble إذ أكدت الأدلة على أن هناك عدد أقل من ر ن أ الناقل عما هو متوقع على أساس نوع واحد من ر ن أ الناقل لكل شفرة يشفر حمض أمينى معين حيث وجد أن عدد ر ن أ الناقل يتراوح ما بين ٣١ إلى ٤٠ تبعاً لكائن. وثبت أن كل ر ن أ الناقل يمكنه أن يميز أو يتعرف على عدد من الكودونات المختلفة وتم تفسير ذلك على أساس

نظرية التأرجح wobble hypothesis التى أشار إليها العالم Crick عام ١٩٦٦ والتى بنيت على أساس وجود الأنتيكودون فى عروة الأنتيكودون يؤدى إلى أن القاعدة فى النهاية ٥′ غير ثابتة فى مكانها مثل القاعدتين الأخريتين مما يسمح بتكوين روابط هيدروجينية مع أى من عدة قواعد واقعة فى النهاية ٣′ فى الشفرة المقابلة وبالتالى فإن مضاد الشفرة الواحد يمكنه أن يتزاوج مع أكثر من شفرة. ولكن وجد أن التأرجح لا يشمل جميع التباديل الممكنة حيث وجد أن عدد قليل من أنواع التزاوجات الغير مألوفة هو المسموح به فقط مثل التزاوج بين G-C والتزاوج بين القاعدة الغير عادية أينوسين Inosine وقاعدة U أو C أو A.

عملية الترجمة فى إ. كولاى

يمكن تقسيم عملية الترجمة إلى ثلاث مراحل هى مرحلة الأبتداء Initiation، مرحلة الإستطالة Elongation ومرحلة الانتهاء Termination. وهذا التقسيم للتسهيل فقط ولكن فى الطبيعة تحدث عملية الترجمة فى خطوات متتالية ببعضها.

www.zera3h.com
zera3h

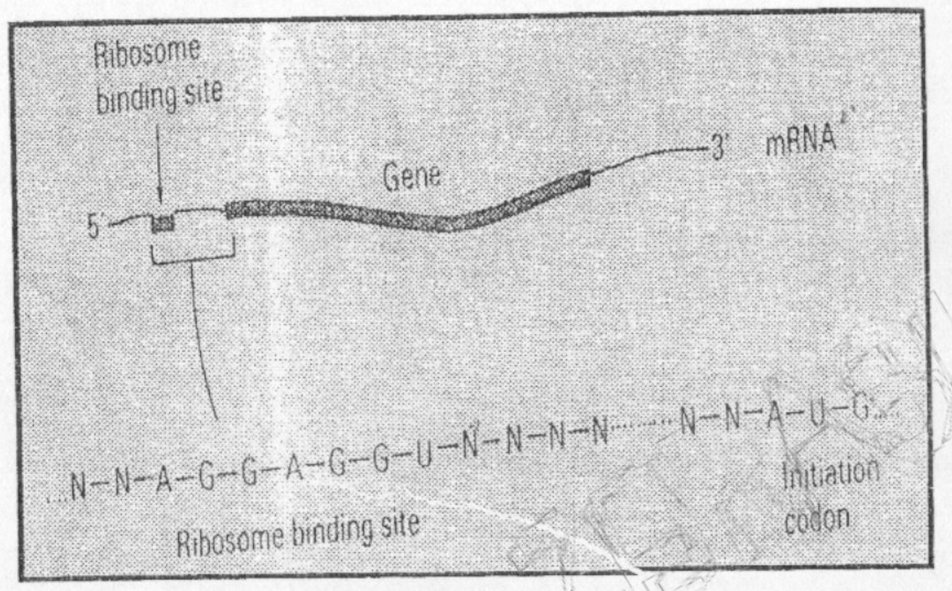
أولاً: مرحلة الأبتداء Initiation of translation

تبدأ عملية الترجمة فى الـ إ.كولاى بارتباط تحت الوحدة الصغيرة (30S) لريبوسوم ما بجزئ ر ن أ رسول حيث أنه عندما لا تكون الريبوسومات مشتركة فى تخليق البروتين تكون تحت الوحدات المكونة لها منفصلة عن بعضها وبذلك توجد فى الخلية على شكل عدد من تحت الوحدات 30S & 50S.

١- موقع ارتباط الريبوسوم Ribosome-binding-site يضمن أن عملية الترجمة تبدأ فى المكان الصحيح. فتحت الريبوسومية 30S يجب أن ترتبط بجزئ ر ن أ رسول بطريقة محددة وليست عشوائية. فترتبط عند نقطة محددة تسبق كودون الأبتداء مباشرة فى الجين وتسمى نقطة الأرتباط الصحيحة "موقع ارتباط الريبوسوم" وهذه تحدد بالتتابع التالى فى إ.كولاى 5`-AGGAGGU-3` ويسمى هذا التتابع بـ Shine-"Dalgarno sequence" شكل (٤-١٥). بمجرد تحديد موقع ارتباط الريبوسوم، تتحرك التحت وحدة الريبوسومية 30S حتى تقابل كودون AUG الذى يكون عادة على بعد ١٠ نوتيدات من موقع الأرتباط. هذا الـ AUG سوف يكون كودون الأبتداء للجين ويحدد المكان الذى تبدأ منه عمليات الترجمة.

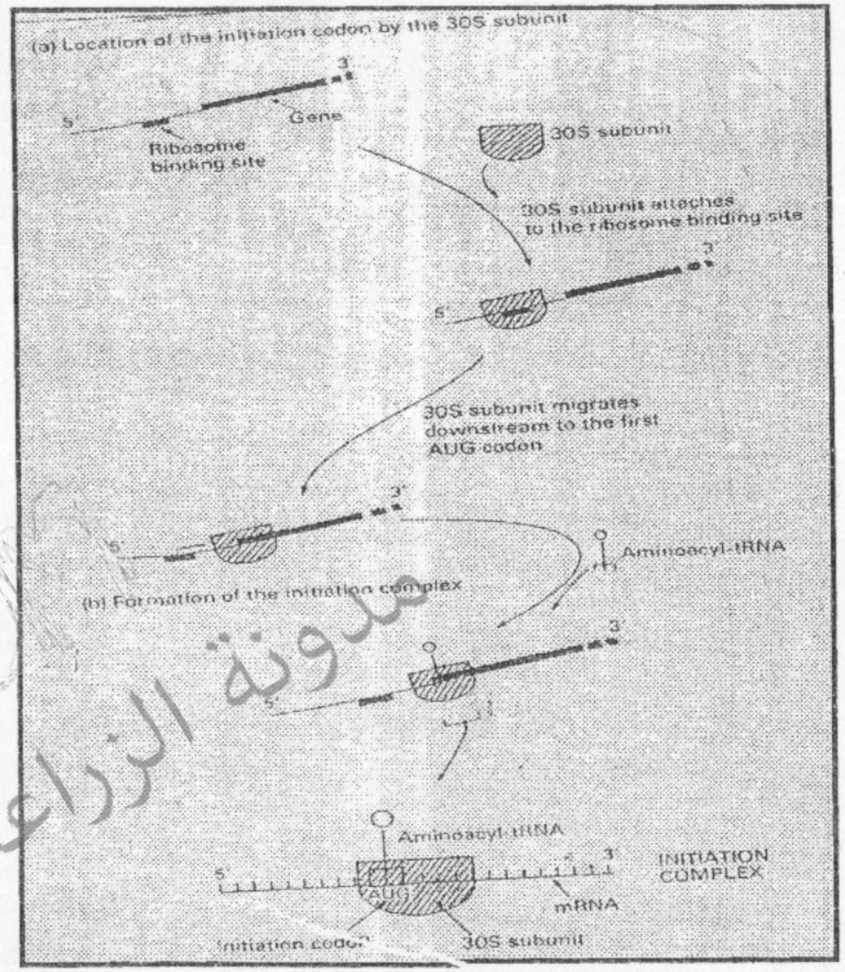
وفى البكتريا (على خلاف الكائنات مميزة النوى) يكون هذا الـ methionine محوراً بإحلال مجموعة Formyl (-CoH) محل احد ذرات الهيدروجين لمجموعة الأمين لإنتاج N-formylmethionine (F

والتركيب الناتج من ارتباط ر ن أ الرسول مع تحت الوحدة الريبوسومية 30S+ Aminoacylated tRNA (Fmet) يسمى "معقد الأبتداء Initiation complex. وتكوينه يشير إلى نهاية مرحلة الأبتداء فى عملية الترجمة.



شكل (٤-١٥): يوضح ارتباط الريبوسوم فى إ.كولاى بالنسبة لكودون الابتداء فى جين ما.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٤-١٦): يوضح عملية ابتداء الترجمة وتكوين معقد الابتداء (Initiation complex).

ثانياً: مرحلة استطالة السلسلة عديدة الببتيدات

Elongation of the polypeptide chain

ويبدأ ارتباط التحت وحدة الريبوسومية الكبيرة بعد تكوين معقد الأبتداء (شكل ٤-١٦) وهذه العملية تحتاج إلى طاقة تنتج من تحليل جزئ الـ GTP المرتبط بمعقد الأبتداء تحللاً مائياً ويتكون نتيجة لذلك موقعين مميزين ومنفصلين يمكن أن يرتبط بهما جزيئات الـ ر ن أ الناقل المختلفة.

ويسمى أحد هذين الموقعين بلموقع الببتيدى aminocyl – or P-site ويكون فى ذلك الوقت مشغولاً بـ aminocylated tRNA fmet المرتبط بكودون الأبتداء. أما الموقع الثانى فهو موقع ارتباط امينوسيل aminocyl- or A-site الواقع عند الشفرة الثانية للجين ويكون فارغاً فى البداية.

وتبدأ عملية الأستطالة عندما يدخل الـ ر ن أ الناقل المحمل بالحمض الأمينى aminocylated tRNA الصحيح موقع ارتباط امينوسيل (Aminoacylated t-RNA(A-site ويحدث تزاوج بين أزواج النوتيدات فى مضاد الشفرة والشفرة الثانية. وتحتاج هذه العملية إلى نوعين من عوامل الأستطالة Elongation factors هما EF-Tu, Ts. والعامل EF-Tu يشترك فى عملية دخول ر ن أ الناقل المحمل بالحمض الأمينى إلى موقع الأرتباط A وتشمل هذه العملية تحلل جزئ آخر من الـ GTP لتوفير الطاقة اللازمة. وبعد اشتراك الـ EF-Tu فى هذه العملية يتحول إلى صورة غير نشطة ولذلك يحتاج إلى تنشيط مرة أخرى لكى يستطيع الأشتراك فى دورة أخرى من دورات الأستطالة وهذا التنشيط يتم عن طريق العامل EF-Ts.

حيث أن الموقعين A, P من الريبوسوم أصبحا مشغولين بالـ ر ن أ المحمل كل منهما بالحمض الأمينى الخاص به والحمضين الأمينيين موجودين بالقرب من بعضهما فتكون الخطوة التالية هى تكوين الرابطة الببتيدية بين مجموعة الكربوكسيل للحمض الأمينى الأول (Fmet) ومجموعة الأمين فى الحمض الأمينى الثانى.

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

ويحفز هذا التفاعل انزيم معقد يسمى Peptidyl transferase الذى سيعمل بالتعاون مع انزيم آخر هو tRNA deacylase والأخير يقوم بكسر الرابطة بين Fmet و (Fmet- tRNA link) tRNA لينتج عن ذلك ثنائى ببتيد مرتبط بـ ر ن أ الناقل الموجود فى A-site وبعد ذلك ينزلق الريبوسوم على الرسول مسافة ٣ نوتيدات فيدخل الـ ر ن أ المحمل بثنائى الببتيد (aa-aa-tRNA) إلى الـ P-site وذلك يزيح الـ ر ن أ الناقل الذى كان محملا بـ Fmet (الذى ارتبط بالحمض الأمينى الثانى) ليصبح الـ A-site خاليا مرة أخرى. ثم يدخل الـ ر ن أ الناقل المحمل بالحمض الأمينى الثالث إلى الـ A-site وتكرار دورة الأستطالة مرة اخرى. وكل دورة تحتاج إلى تحلل جزئ GTP ويقوم بتنظيم عملية الأنتقال عامل استطالة ثالث هو EF-G.

ويجدر ملاحظة أن ر ن أ الرسول يمكنه أن يترجم بأكثر من ريبوسوم نفس الوقت فبعد عدة دورات من الأستطالة تصبح بداية جزئ الرسول غير مرتبط بريبوسوم ولذلك يمكن أن تبدأ دورة أخرى من الترجمة. فيمكن أن ترتبط تحت وحدة ريبوسومية (30S) ثانية بموقع ارتباط الريبوسوم الحالى وتكون معقد ابتداء جديد وهكذا.

والنتيجة النهائية تسمى Polysome أو mRNA تحت الترجمة بواسطة العديد من الريبوسومات فى وقت واحد. وقد تم مشاهدة البوليسومات بالميكرسكوب الألكترونى فى كل من الكائنات المميزة والغير مميزة النوى على حد سواء.

ثالثاً: مرحلة إنتهاء الترجمة

يحدث إنتهاء عملية الترجمة عند دخول أحد كودونات الإنتهاء (UAA, UAG or UGA) موقع A-site حيث لا يوجد أى جزئ ر ن أ ناقل يحتوى على شفرات مضادة يمكنها أن ترتبط بأى من شفرات الأنتهاء، ولذلك يدخل أحد عوامل الفصل (release factors) RF1 أو RFF2 موقع A-site ويفصل السلسلة الببتيدية من ر ن أ الناقل النهائى.

ويلعب عامل فصل ثالث RF3 دوراً مساعداً فى هذه العملية فتنفصل السلسلة الببتيدية لتأخذ التركيب الثالوثى المميز لها وتبدأ وظيفتها فى الخلية.

جدول يلخص العوامل المساعدة فى الترجمة فى إ.كولاى.

العامل	الوظيفة
عوامل الأبتداء:	
IF1	فصل أو تحليل الريبوسوم إلى تحت الوحدات المكونة له.
IF2	ارتباط الـ tRNA fmet بمعقد الأبتداء.
IF3	فصل تحت وحدات الريبوسوم وارتباط الريبوسوم بموقع الارتباط.
عوامل الاستطالة:	
EF-Tu	دخول ر ن أ الناقل المحمل بالحمض الأمينى إلى موقع الارتباط A
EF-Ts	تنشيط EF-Tu
EF-G	الانتقال
عوامل الأنتهاء:	
RF1	فصل السلسلة الببتيدية عند كودونات الأنتهاء UAA, UAGG
RF2	فصل السلسلة الببتيدية عند كودونات الأنتهاء UAA, UGA
RF3	يعاون مع RF1, RF2

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

تتم عملية الترجمة فى الكائنات مميزة النوى بطريقة مشابهة لما يحدث فى بكتيريا إ. كولاى والأختلاف الأساسى يتمثل فى الطريقة التى ترتبط بها التحت وحدة الريبوسومية الصغيرة (40S) بالرسول وطريقة تحديد كودون الأبتداء AUG. فحمض ر ن أ الرسول فى الكائنات مميزة النوى لا يحتوى على موقع لإرتباط الريبوسوم يوازى تتابع Shine-Dalgarno الموجود فى الـ إ. كولاى. وعلى العكس من ذلك فتحت الوحدة الريبوسومية الصغيرة تتعرف على القلنسوة أو الغطاء وترتبط به وبذلك ترتبط بالنهاية ٥´ لحمض ر ن أ الرسول.

ثم تتحرك تحت الوحدة الريبوسومية على ر ن أ الرسول حتى تصل إلى كودون إبتداء حيث تبدأ عملية الترجمة. وعادة ما يكون أول كودون AUG هو نقطة بداية الأول وتفسيره أن تتابع النوتيدات المحيطة بـ AUG قد تلعب دوراً هاماً فى تحديد ما إذا كان AUG سوف يستخدم ككودون إبتداء أم لا.

ومن الأختلافات الأخرى المميزة للترجمة فى الكائنات مميزة النوى:

١- ر ن أ الناقل البادئ فى الكائنات مميزة النوى يحمل حمض أمينى ميثيونين غير محور Unmodified methionone.

٢- بداية الترجمة فى الكائنات مميزة النوى تحتاج إلى عدد أكبر من عوامل الأبتداء وليس فقط كما فى الـ إ. كولاى.

٣- بداية الترجمة فى الكائنات مميزة النوى تحتاج إلى تحلل جزئ ATP لتوفير الطاقة اللازمة لتكوين معقد الأبتداء.

٤- انتهاء الترجمة فى الكائنات مميزة النواة تحتاج إلى تحلل جزئ GTP بينما فى الـ إ.كولاى لا تحتاج إلى ذلك

الباب الخامس

تنظيم وضبط الإيقاع أو التعبير الجينى

ضبط الإيقاع الجينى فى الكائنات غير مميزة النوى

إن كل خلية فى كل عضو أو نسيج فى الكائن الحى تختلف فى الشكل المظهرى فإذا اختبرنا مثلاً الخلايا العصبية أو خلايا الدم أو الشعر أو الكبد أو الجلد أو أى خلايا أخرى تابعة لكائن واحد فإننا نجد اختلافات شديدة فى كل من الأشكال المظهرية لهذه الخلايا فبعضها يكون قصيراً أو ممتلئ أو رفيعة. وبالرغم من هذه الاختلافات فى الخلايا التى تتبع نفس الكائن والتى تحتوى على مجموعة الجينات فمن المعروف أنها نتجت أساساً من خلية واحدة هى الزيجوت فى الأنواع التى تتكاثر جنسياً - فكيف يمكن أن نفسر هذه الاختلافات المظهرية فى الخلايا ؟ فالإجابة على هذا التساؤل ترجع إلى أن الاختلافات الموجودة لا يتم التعبير عنها كلها فى نفس الوقت بل وأكثر من ذلك فى خلايا الكائنات الراقية والتى تسمى بالكائنات مميزة النوى - يتم التعبير عن نسبة محدودة فقط قد لا تزيد عن ١٠% .

فتوجد بعض الجينات التى تؤدى عملها فى وقت معين ومحدد فى جميع الخلايا مثل الجينات التى تتحكم فى تخليق الأنزيمات والتى تعمل على الـ د ن أ الريبوسومى والبروتين الريبوسومى والأنزيمات التى تعمل على الـ ر ن أ . إذن هناك ميكانيكات للتنظيم على مستويات عديدة والتى لها تأثير على الشكل المظهرى وهذا التنظيم هو ما يسمى بالتعبير الجينى ويمكن له أن ينظم على مستويات عديدة مختلفة بدأ من مستوى نسخ المادة الوراثية .

www.zera3h.com
zera3h

وعموماً فإن تنظيم النسخ فى كل من الكائنات غير مميزة النوى والكائنات المميزة النوى تبدو ميكانيكيات مختلفة تقع بصفة عامة فى مجموعتين ، المجموعة الأولى تقوم بعملية فتح أو إغلاق التعبير الجينى كإستجابة للتغييرات البيئة ، وهذه الميكانيكية هامة جداً فى الكائنات غير مميزة النوى. والمجموعة الثانية من ميكانيكية التنظيم وتسمى " بدوائر التعبير الجينى سابقة الأعداد " فإنه إذا حدث إصابة بالفيروس أو افراز لبعض الهرمونات فى مجرى الدم فينطلق التعبير لمجموعة من الجينات، وقد يعمل جين من هذه الجينات على إغلاق النسخ من المجموعة الأولى للجينات مع فتح النسخ للمجموعة الثانية من الجينات وهكذا تستمر عملية فتح وإغلاق الجينات. اى أن هناك تتابع متتالى لمجموعات الجينات للتعبير الجينى فى عملية التحكم فى تمايز الخلايا فى مميزة النوى .

التركيب الدقيق للجين :

تركزت الدراسات على التركيب الدقيق للجين باعتباره وحدة التوارث التى تتحكم فى مظهر صفة معينة ووجد أن هذه الجينات قد تحدث لها بعض التغيرات أو أنها تطفر لتعطى أشكل عديدة (اليلات). ولم يعتقد فى فترة سابقة أن عملية الاتحادات الجديدة يمكنها أن تحدث داخل الخلايا وقد شبهت الجينات على الكروموسوم حينئذ بالعقد على الخيط (المسبحة) وأن الاتحادات الجديدة تحدث فقط بين هذه العقد ولم يعتبر الجين أنه وحدة قابلة للتقسيم إلى وحدات أصغر. وحيث أن معدلات حدوث الاتحادات الجديدة مرتبط بالمسافات الطبيعية التى تفصل مواقع المعلمات الوراثية على الكروموسومات، فإنه ليس من المستغرب عملية تحديد الاتحادات الجديدة بين هذه المواقع داخل الجين الواحد. ومثل هذه الاتحادات الجديدة نادراً ما تحدث وتشمل عملية اكتشافها فحص مئات الآلاف من النسل فى النباتات الراقية (مميزة النوى). وحتى فى حشرات الدروسوفيلا تعتبر عملية فحص

هذه الأعداد من النسل لاكتشاف هذه الاتحادات الجديدة من المهام الصعبة. ولكن الدراسات الحديثة على الأحياء الدقيقة وباستخدام الطرق الانتخابية يمكن فحص الملايين بل البلايين من النسل فى يوم واحد وبذلك أمكن التوصل إلى صورة واضحة عن التركيب الدقيق للجين .

المفهوم الكلاسيكى مقابل المفهوم الجزيئ للجين :

كان يفترض أن الجين هو الوحدة الأساسية للتوارث، والذى يتميز بثلاث خصائص هى الوظيفة الفسيولوجية وتكوين الاتحادات الجديدة والطفور . وبطريقة أكثر تحديداً كان الجين يعتبر أنه وحدة الوظيفة أى وحدة المادة الوراثية التى تتحكم فى توارث صفة واحدة أو شكل مظهرى. والوحدة التركيبية أمكن تعريفها من الناحية الأدائية عن طريق الاتحادات الجديدة وأنها وحدة التوارث التى لا تتجزأ فى عملية الاتحادات الجديدة. والوحدة التى يمكن تغييرها بالتطفر أى أن النظرية الكلاسيكية كانت تعتبر الخصائص الثلاث تشير إلى نفس الوحدة الأساسية للتوارث ألا وهى الجين.

وبالنسبة إلى التصور المعاصر من الناحية الجزيئية فإن الجين هو الوحدة الوظيفية وهى وحدة التوارث التى تشفر لسلسة واحدة من عديد الببتيدات ويمكن تميزها بواسطة عديد من الاختبارات أهمها إختبار التجاذب والتنافر واختبار التكامل. أن خاصيتى الاتحادات الجديدة والطفرة يميزان الوحدة التركيبية والتى تماثل زوج نيوتيدى بالجين – وهذا يحول الاهتمام بالتعريف الأصلى للجين وهو الوحدة الوظيفية. وهذا التعريف بغض النظر عن خاصيتى الاتحادات الجديدة والطفور يعتبر على ما يبدو أنه الحل الأمثل للمشكلة الناشئة من اعتبار أن الخصائص الثلاثة تحدد وحدتى توارث مختلفتين .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

إن التقدم الحديث فى البيولوجيا الجزئية أدى إلى تعريف الجين على أساس الوظيفة التى يؤديها فمثلاً يتحدد التركيب الكلى لإنزيم معين بواسطة مقطع الـ د ن أ . ونشأت نظرية جين واحد لكل إنزيم والتى تصلح لبعض وليس كل الإنزيمات مثل إنزيم تخليق التربتوفان الذى يتكون من سلسلتى بروتين مختلفتين فى التركيب وكل سلسلة نتجت عن مقطع من د ن أ مجاور للأخر ثم تطورت نظرية جين لكل إنزيم إلى نظرية جين لكل سلسلة بيتيدية وهذا المقطع من الـ د ن أ الذى يحدد شفرياً سلسلة بيتيدية فردية يطلق عليه لفظ سيسترون (Cistron) ويتكون الجين الواحد من أكثر من سيسترون واحد ويوجد داخل كل سيسترون مواقع عديدة يمكن أن تحدث بها الطفرات ويسمى كل موقع باسم الميوتون (Muton) وهى أصغر وحدة قابلة للطفور ويشمل الميوتون على نوتيدية واحدة أو عدد قليل من النوتيدات . ويعتقد أن أصغر وحدة للمادة الوراثية قابلة لإعادة الترتيب (الأتحادات الجديدة) والتى تسمى بالريكون (Recon) تشمل اثنين من النوتيدات المتجاورة.

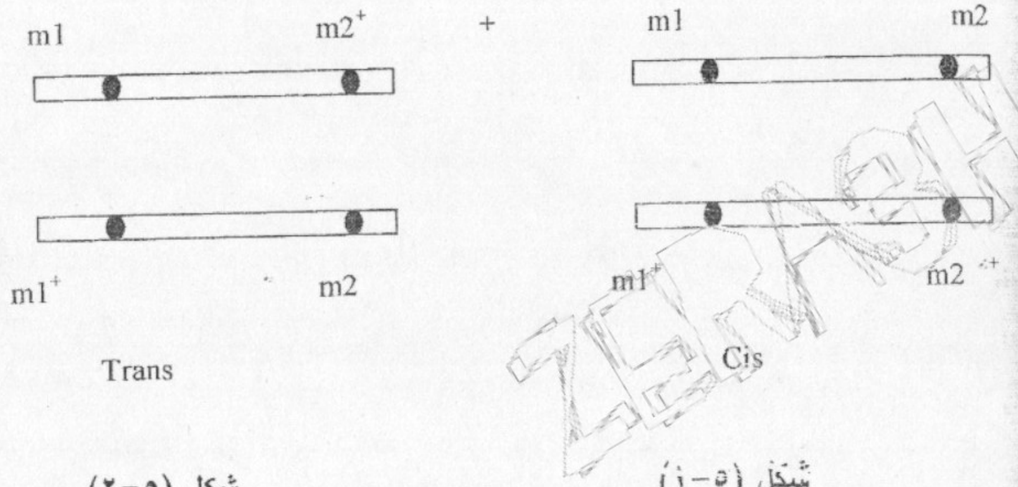
اختبار التجاذب والتنافر أو التكامل للأليلية الوظيفية

The cis-trans or complementation test for functional allelism

يمكن تحديد الأليلية الوظيفية تجريبياً لأى طفرتين متنحيتين وذلك عن طريق اختبار التجاذب والتنافر أو التكامل الذى يوضح عمل الجين كوحدة وظيفية – أى الوحدة التى تحكم تمثيل سلسلة بيتيدية واحدة .

ويشتمل هذا الاختبار على وضع الطفرتين المختبرتين فى بروتوبلازم مناسب فى ترتيب تجاذبى . والكائن أو الخلية التى تحتوى على الطفرتين فى الوضع التجاذبى تسمى تجاذب خليط Cis-heterozygote وهذا الزيجوت الخليط يجب أن يظهر الطراز البرى (شكل ٥–١) . واختبار التنافر Trans test يطلق

عليه اختبار التكامل – ويشتمل على وضع الطفرتين المختبرتين فى بروتوبلازم فى تركيب تنافرى على الكروموسومات منفصلة. ويمكن انجازه عن طريق اجراء تهجين بين فردين أصيلى التركيب الوراثى – أحدهما أصيل لإحدى الطفرتين والثانى أصيل للطفرة الثانية وهذا كما فى حالة نبات الذرة أو ذبابة الفاكهة. أما فى حالة البكتريوفاج فأنه يشتمل على حفن خلايا العائل بطفرتين مختلفتين فى نفس الوقت – ويسمى الكائن أو الخلايا التى تحتوى على الطفرتين فى الوضع التنافرى بالتنافر الخليط Trans heterozygote (الشكل ٥–٢).



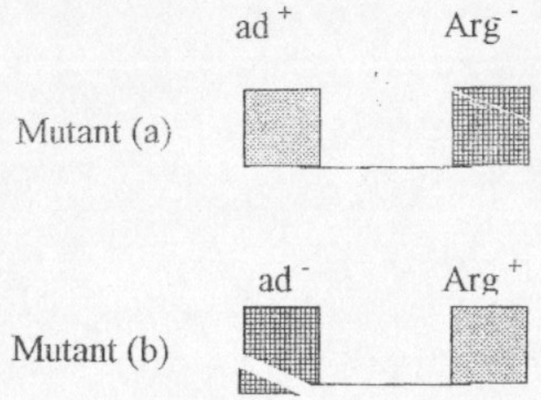
شكل (٥–١)

شكل (٥–٢)

وإذا كان التركيب التنافرى الخليط يظهر الشكل الظاهرى الطافر عندئذ تكون كلا الطفرتين فى نفس الوحدة الوظيفية أى فى نفس الجين – بينما إذا كان التركيب التنافرى الخليط يظهر الطراز البرى الظاهرى ففى هذه الحالة كلا الطفرتين تقع فى وظيفتين مختلفتين أى فى جين مختلفين وفى هذه الحالة يقال أن الطفرتان تكملان بعضهما.

www.zera3h.com
zera3h

واختبار التكامل هو نتيجة تفاعل بين نواتج جينية تنتج بواسطة كروموسومات تحمل طفرتين مختلفتين عند وجودهما فى بروتوبلازم مناسب ولا يعتمد على تبادل أو توافيق كروموسومية وكذلك لا يشتمل على أى تفاعل مباشر بين الكروموسومات . ومعنى التكامل Complementation أنه إذا أعطيت طفرتان تختلفان فى العوز الغذائى (مثل طفرة a تحتاج الأرجينين (Arg^-) وفى نفس الوقت تحمل ad^+ ، طفرة b تحتاج الأدينين (ad^-) وفى نفس الوقت تحمل (Arg^+) المظهر البرى لكلا الطفرتين فى الفرد الثنائى عند تنميته على بيئة الكفاف أى كملت كل منهما الأخرى بما تحتاجه فهذا يعنى أن الطفرتان تقعان فى جينين مختلفتين كما يوضح ذلك الشكل (٥-٣) . وتجدر الإشارة إلى أنه إذا لم تكمل كل منهما ما تحتاجه الأخرى وأظهر الفرد الثنائى المظهر الطفرى لكلا الطفرتين عند تنميته على بيئة الكفاف فيعنى هذا أن الطفرتان تقعان داخل نفس الوحدة الوظيفية أو جين واحد وأنهما اليلات لنفس الجين .



شكل (٥-٣) : توضح التكامل بين طفرتين فى جينين مختلفتين جمعا معاً فى سيتوبلازم واحد . وأظهر الفرد الثنائى التركيب الطراز البرى لكلا الطفرتين .

ضبط الإيقاع الجينى

تمثل مجموعة الجينات الموجودة بداخل الخلية مجموعة هائلة من المعلومات البيولوجية التى تحتاجها الخلية فى كل الأوقات وتسمى مجموعة الجينات هذه بـ House keeping genes مثل مجموعة rRNA genes و RNA polymerase ، وعندما تحتاج الخلية لبعض المعلومات البيولوجية وتحت ظروف معينة فقط يحدث ضبط إيقاع لهذه الجينات ويقف عملها إذا لم تحتاجها الخلية .

وعملية ضبط الإيقاع الجينى تجعل الخلية البكترية قابلة للمواءمة مع تغير البيئة فمثلاً فى الجينات البكتيرية المسئولة عن الإستفادة من أنواع السكر المختلفة كمصدر للكربون والطاقة ، هناك مجموعات من الجينات مسئولة عن نسخ انزيمات تجعل الخلية قادرة على تحليل أنواع مختلفة من السكر وهذا يتوقف على نوعية السكر الموجود فى البيئة ليحدث تعبير للمجموعة الجينية الخاصة بنسخ الإنزيم المناسب لهذا السكر . وفى حالة إختفاء أو إنخفاض هذه النوعية من السكر ووجود نوع آخر فى البيئة فإنه يقف عمل هذه المجموعة من الجينات وتبدأ مجموعة أخرى من الجينات لها ارتباط بهذا النوع الآخر فى عملها لتحليله .

التحكم فى التعبير الجينى هو عبارة عن التحكم فى كمية الناتج الجينى الموجود فى الخلية . وهذه الكمية تتوقف على عاملين أساسيين هما معدل التخليق ومعدل التحلل أو التكسير وغالباً ما يكون العامل الأخير ثابتاً فى الخلية . ويحدث التحكم الجينى على عدة مستويات منها النسخ فإذا حدث نقص أو انخفاض فى تخليق الجزيئات المنسوخة بالنسبة لوحدة الوقت تكون المحصلة النهائية نقصاً فى كمية الناتج الجينى . وإذا حدث تكسير لجزئ ر ن أ قبل الترجمة يحدث تحديد

www.zera3h.com
zera3h

للناتج الجينى وإذا انخفضت عملية Copying ، Splicing يفشل تكوين الناتج الجينى . كما يحدث أيضاً التحكم الجينى على مستوى الترجمة .

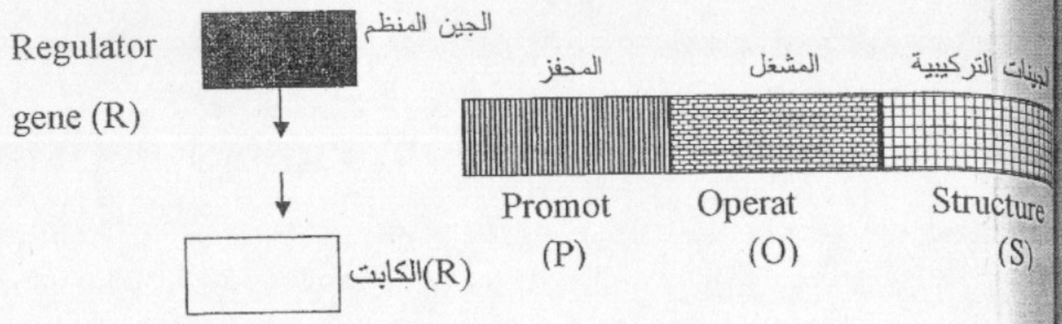
أمثلة لتفسير تنظيم عمل الجينات

أولاً : نموذج الأوبرون The Operon Model

وضعت هذه الميكانيكية لأول مرة عام ١٩٦١ بواسطة (جاكوب ومونود) Jacob and Monod لتفسير تنظيم عمل الجينات التى تشفر للأنزيمات التى تحتاجها بكتيريا القولون لتكسير سكر اللاكتوز وقد افترضا أن نسخة من جين واحد أو مجموعة متلاصقة من الجينات التركيبية (S) (وهى الجينات التى تشفر لسلاسل عديدة البيتيد) يحدث له تنظيم بعاملين أساسيين أحدهما يسمى الجين المنظم Regulator وهو يشفر تحت ظروف معينة لبروتين يسمى الكابت Repressor . ويرتبط هذا البروتين الكابت مع العامل الثانى فى عملية التنظيم وهو المشغل (O) Operator (أو التتابع المشغل Operator sequence) . ويكون التتابع المشغل أو الـ Operator دائماً ملاصقاً للجين أو الجينات التركيبية التى تشترك فى تنظيم تعبيرها . وعندما يكون البروتين الكابت مرتبطاً مع التتابع المشغل (O) فإن نسخ الجينات التركيبية لا يمكن أن يحدث ، وهذا راجع إلى عدم ارتباط إنزيم بلمرة الـ ر ن أ مع المحفز (P) Promoter site وهو موقع ارتباط الإنزيم والذى يوجد دائماً ملاصقاً للتتابع (O) .

وعادة ، يوجد المشغل Operator بين موقع الأبتداء والجينات التركيبية . ولم يكن المحفز (P) معروفاً عند وضع جاكوب ومونود فرض الأوبرون وتسمى هذه المجموعة المتلاصقة الكاملة بما فيها الجينات التركيبية .

أى الجينات التركيبية (S) + المشغل (O) + المحفز (P) بالأوبرون (Operon) . ويوضح الشكل (٥-٤) نموذج الأوبرون .



شكل (٥-٤) نموذج الأوبرون

ويوضح الشكل السابق أن نموذج الأوبرون يتكون من واحد أو أكثر من الجينات التركيبية مثل (SG3 ، SG2 ، SG1) والتتابع المشغل (O) والتتابع المحفز (P) . والتتابع المحفز للأوبرون Promoter هو الموقع الذى يتحد فيه إنزيم بلمرة الـ ر ن أ ليبدأ النسخ Transcription للجينات التركيبية . بينما التتابع المشغل Operator فهو الموقع الذى يتحد فيه كابت البروتين لمنع عملية النسخ . ويتوقف ارتباط البروتين الكابت بالتتابع المشغل (O) وإيقاف نسخ الجينات التركيبية فى الأوبرون على وجود بعض الجزئيات المؤثرة effector فى البيئة (جزئيات صغيرة مثل الأحماض الأمينية والسكريات) .

وفى حالة الأوبرونات القابلة للأستحثاث فإن هذه الجزئيات المؤثرة تسمى المستحثات Inducers وتسمى الجزئيات المؤثرة فى الأوبرونات القابلة للكابت بقرين الكابت Co-repressors وتؤدى هذه الجزيئات عملها بارتباطها مع البروتين الكابت .

والاختلاف الرئيسى بين الأوبرونات القابلة للأستحثاث وتلك القابلة للكبت يكمن فى قابلية البروتين الكابت للارتباط مع التتابع المشغل (O) أى أنه :-

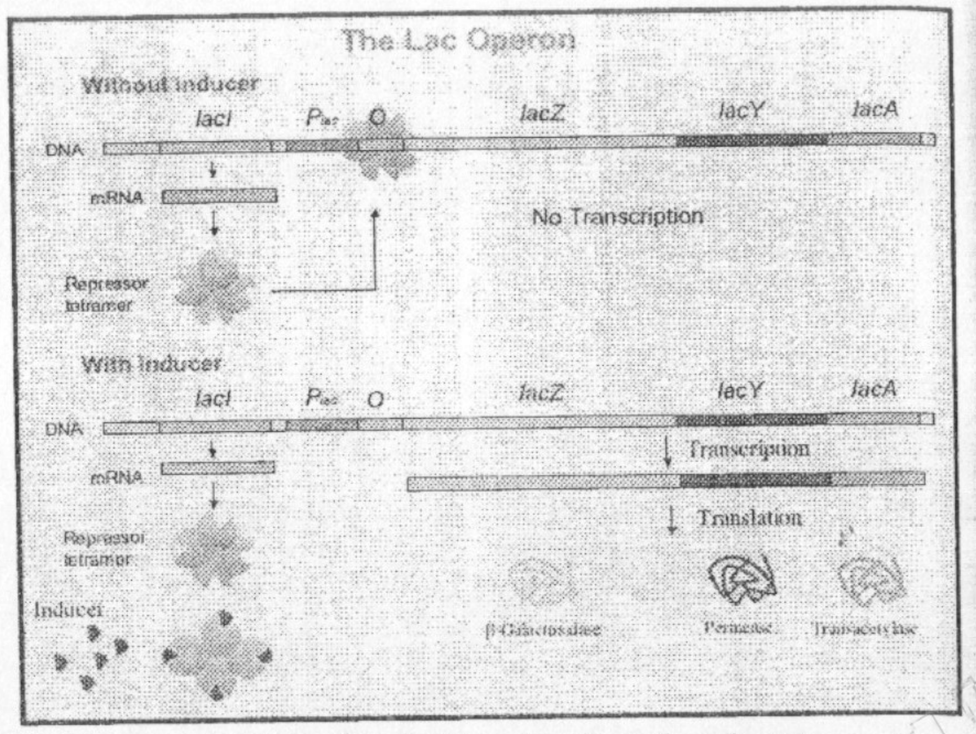
١- فى حالة الأوبرون القابل للأستحثاث: فإن البروتين الكابت عندما يكون حراً فإنه يرتبط مع المشغل (O) ويوقف عملية النسخ ، بينما إذا ارتبط المؤثر مع

مدونة الدراعة
zera3h
www.zera3h.com

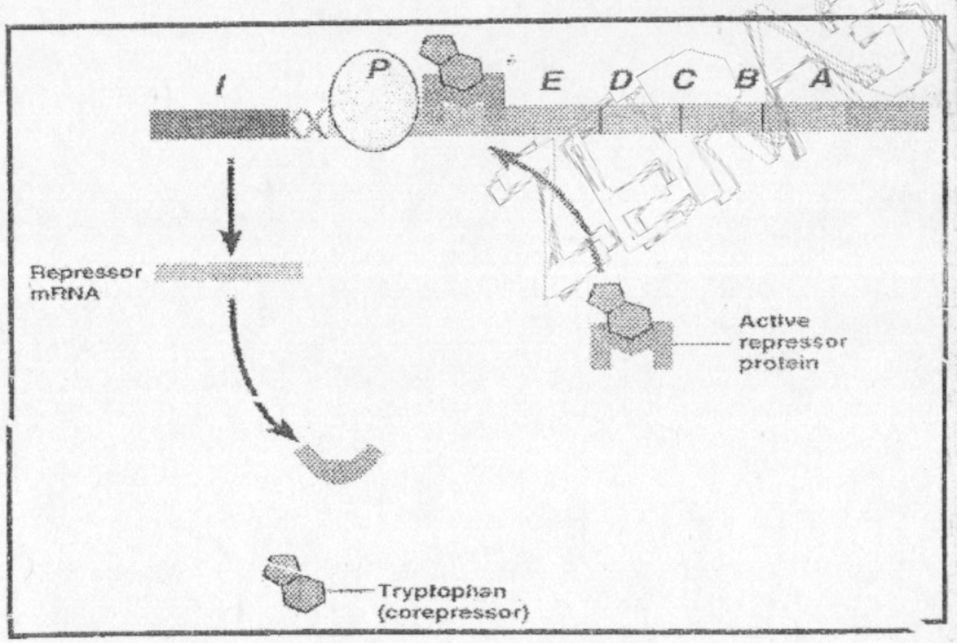
الكابت فحرره من الارتباط مع المشغل (O) فإنه يحدث النسخ للجينات التركيبية كما يوضح ذلك نموذج الاستحثاث التالى . شكل (٥-٥)

وتنظيم تعبير الجين لأوبرون مستحث (Inducable) يتم إما بإتحاد ناتج الجين المنظم R والكابت فى غياب الجزئ المؤثر (Inducer) بالتتابع الحاكم مانعاً إنزيم بلمرة ر ن أ من الاتحاد بمحفز الأوبرون (P) وبذلك لا يمكن حدوث نسخ للجينات التركيبية . أما عند إضافة المستحث فإنه يتحد بالكابت مسبباً انفصاله عن التتابع المشغل (O) وهذايسمح بدوره للإنزيم من الاتحاد مع المحفز (P) ويبدأ نسخ الجينات التركيبية .

٢- أما فى حالة الأوبرون القابل للكبت؛ فإن الوضع يكون معكوساً حيث لا يستطيع البروتين الكابت عندما يكون حراً أن يرتبط مع المشغل (O) - إلا أنه يستطيع ذلك عندما يكون مركباً مع الجزئ المؤثر Corepressor على ذلك فإن نسخ الجينات التركيبية فى الأوبرون القابل للكبت يتم فى غياب المؤثر . بينما يتم إيقاف النسخ عند وجود هذا الجزئ. ويوضح ذلك نموذج الكبت التالى شكل (٥-٦)



شكل (٥-٥): نموذج الاستحثاث فى الأوبرون

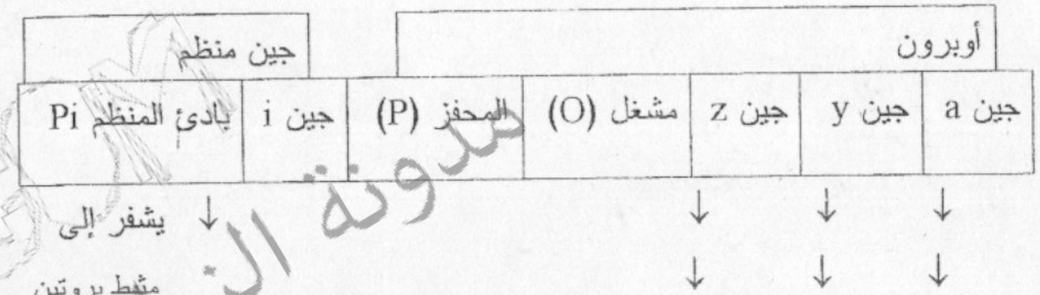


شكل (٥-٦): نموذج لأبرون التثبيط (الكبت)

www.zera3h.com
zera3h

- فى حالة وجود مثبط غير نشط فإنه لا يستطيع أن يرتبط مع (O) ومن ثم تتم عملية النسخ .
- فى حالة إضافة معقد المثبط النشط فإنه يرتبط مع (O) وبالتالى لا يحدث نسخاً إذ أن هنا يؤدى إلى منع ارتباط إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ مع (P) .

ثانياً : أوبرون اللاكتوز Lac-Operon



شكل (٥-٧): تركيب أبرون اللاكتوز

يتكون أوبرون Lac من ٣ جينات تركيبية وهى :

z, y, a + المحفز (P) + المشغل (O) المجاور للجين z

ويتلامس المنظم (i) مع الأوبرون فى حالة lac بينما تتواجد الجينات المنظمة للأوبرونات الأخرى عادة على مسافة كبيرة من الأوبرون.

يرتبط مثبط البروتين (طوله ٣٦٠ح. أمينى) مع المشغل (o) مما يمنع انزيم بلمرة حمض الـــ ر ن أ من الارتباط مع المحفز (p) ونسخة للجينات التركيبية . وفى حالة وجود مادة ترتبط مع البروتين الكابت محررة من الارتباط مع (O) فإنه يسمح بارتباط انزيم بلمرة الـــ ر ن أ مع (P) وبالتالى تنسخ الجينات التركيبية الثلاث z, y, a .

ويحتوى المحفز (P) فى الأوبرون lac فى الواقع على مكونين محورين وظيفياً :

١- موضع ارتباط الأنزيم بلمرة الـــ ر ن أ

٢- موضع ارتباط بروتين آخر يسمى بروتين تنشيط الهدم (CAP) ويعمل هذا البروتين على عدم نسخ الأوبرون lac فى وجود الجلوكوز بتركيزات كافية لتأمين نمو متوسط للخلايا .

اقترح كل من جاكوب ومونود نموذج الأوبرون لتوضيح كيفية استحثاث الابتناء الحيوى للأنزيمات التى تشترك فى استخدام اللاكتوز عندما يضاف هذا السكر فى البيئة التى تنمو عليها خلايا البكتريا. ولكن وجود الجلوكوز يمنع استحثاث الأوبرون lac وتسمى هذه الظاهرة بالكبت الهدمى. والكبت الهدمى لأوبرون lac يحدث له تحور خلال التحكم الموجب فى النسخ بواسطة بروتين منظم يسمى بروتين تنشيط الهدم (CAP) وجزئ مؤثر يسمى فوسفات الأدينوسين الحلقى cAMP . وللتحكم فى الاستفادة من اللاكتوز Lactose – سكر ثنائى يتكون من جلوكوز مرتبط بجزئ جلاكتوز – كمصدر وحيد للسكر فى الخلية يجب على الخلية البكتيرية أن تنقل اللاكتوز من البيئة الخارجية إلى البيئة الداخلية للخلية ثم تشطره إلى جلوكوز وجلاكتوز. وتتحكم فى هذه التفاعلات ثلاث انزيمات رئيسية هى :

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

- انزيم Lactose permease الذى ينقل اللاكتوز إلى داخل الخلية.
- انزيم β-glactosidase المسئول عن انشطار اللاكتوز .
- انزيم β - glactosidase transacetylase وله دور ثانوى فى هدرجة (التحلل المائى) اللاكتوز.

وفى حالة غياب اللاكتوز من البيئة فإنه سوف يتكون كميات قليلة من كل الأنزيمات فى الخلية بعكس تواجده الذى يؤدى إلى استحداث الأنزيمات بسرعة هائلة تصل إلى خمسة آلاف جزئ من كل أنزيم لكل خلية. ولذلك يقال أن جينات الاستفادة من اللاكتوز تكون أوبرون والتى تشترك فى الاستفادة من ذلك تسمى Lac z (β - glactosidase) ، lac y (Permease) (transacetylase) lac a والتى تسمى بالجينات التركيبية Structural genes حيث أن نواتج هذه الجينات تلعب دوراً انزيمياً بنائياً فى الخلية . وعندما تنتقل الخلية الى بيئة تحتوى على لاكتوز كمصدر للسكر يسمح لدخول بعض الجزئيات من اللاكتوز إلى داخل الخلية وتحول إلى اللولاكتوز Allolactose الذى بالتالى يرتبط بالمثبط مسبباً تغيراً فى الشكل البنائى للبروتين بحيث لا يصبح المثبط قادراً على الارتباط بالـ Operator . وينفصل معقد المثبط اللولاكتوز عن جزئ الـ د ن أ ويسمح لإنزيم بلمرة الـ ر ن أ أن يحدد موقع المحفز وتبدأ عملية النسخ وهكذا. ويعمل الـ allolactose كمستحث (Inducer) أو مؤثر. وعلى هذا الأساس فإن وجود اللاكتوز يسبب نسخاً لأوبرون اللاكتوز لأن معقد المثبط والمؤثر لا يرتبطا بالمشغل (Operator) .

الجلوكوز يثبط أوبرون اللاكتوز :

إن وجود أو غياب اللاكتوز ليس العامل الوحيد الذى يؤثر فى تعبير اللاكتوز - فإذا احتوت الخلية على كمية كافية من الجلوكوز كمصدر للطاقة فلن تحتاج إلى تكسير اللاكتوز حتى لو كان المصدر الوحيد للكربون فى البيئة ، لذا يلعب الجلوكوز دوراً هاماً للتحكم فى تعبير اوبرون اللاكتوز يطلق عليه اسم Catabolite repressor .

وملخص القول لتنظيم فعل الجين فى اوبرون اللاكتوز، توجد منطقتين تنظيميتين تشملان منطقة المشغل Operator ومنطقة CAP site وهما مناطق ارتباط لبروتينات تنظيمية – فالمشغل منطقة ارتباط الكابت Repressor فى حين أن CAP-site منطقة إرتباط معقد CAP-cAMP وكابت الـ lac عند ارتباطه بالمشغل يمنع نسخ عن طريق حجب وصول انزيم بلمرة الـ ر ن أ إلى المحفز Promoter ومعقد CAP-cAMP وعندما يرتبط بمنطقة CAP-site ينشط النسخ عن طريق تحفيز ارتباط انزيم بلمرة الـ ر ن أ بالمحفز .

ثالثاً : اوبرون التربتوفان Tryptophan Operon

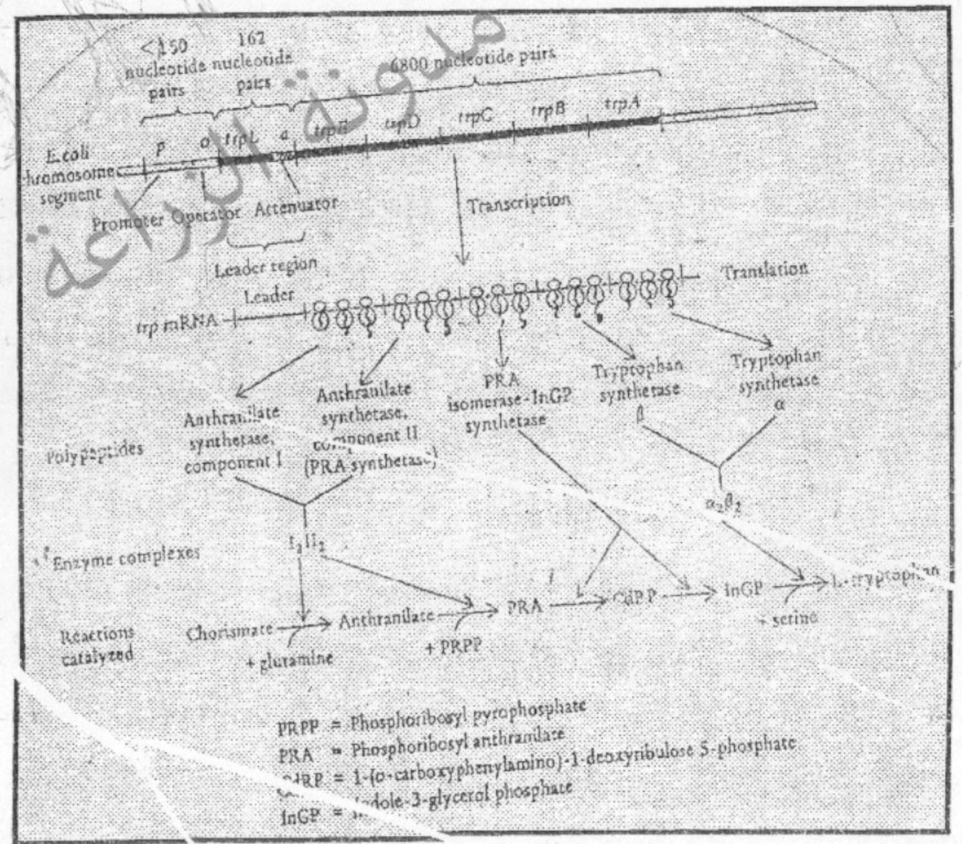
وجد أن هذا الأوبرون يتكون من خمسة جينات يشفرون إلى خمس انزيمات تشترك فى تخليق الحمض الأمينى تربتوفان. وتعبير الأوبرون يتحكم فيه كابت التربتوفان trp-repressor الذى يتحد بالمشغل ويمنع النسخ ولا يستطيع الكابت أن يتحد بالمشغل إلا بعد اتحاده بجزئ من التربتوفان وعند وجود التربتوفان يرتبط الكابت مع التربتوفان ويتحدا مع المشغل، وبالتالى لا يحدث نسخ للأوبرون.

شكل (٥-٨).

www.zera3h.com
zera3h

ضبط الإيقاع الجينى فى الكائنات مميزة النوى

كلما زاد عزل وتوصيف عديد من الكائنات مميزة النوى وكذلك معرفة ترتيب تركيبها على مستوى النوتيدات كلما زاد الاتجاه إلى معرفة المزيد عن نظامها المعقد للتعبير الجينى. وفى الكائنات متعددة الخلايا كل خلية تعبر فيها مجموعة من الجينات مستقلة ومعتمدة فى تعبيرها على حالتها الفسيولوجية ومعدل نموها وهذا النظام من التعبير الوراثى يكون مميز لكل خلية ويورث من جيل لآخر وكل خلية تحمل بالإضافة إلى جيناتها التركيبية أيضاً معلومات عن تنظيم التعبير الجينى على حسب حاجة الخلية كما سيتم توضيحه.

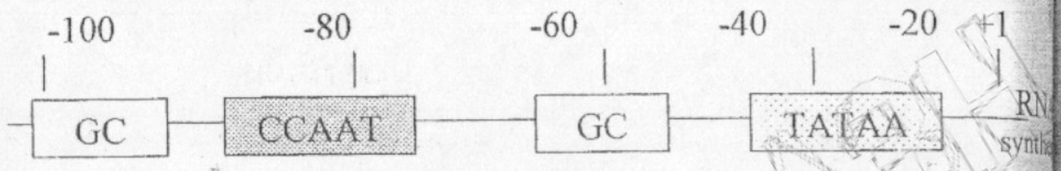


شكل (٥-٨): أوبرون التربتوفان

تتابعات عامة (موتيف) موجودة عند الطرف `5

سبق أن أوضحنا أن التتابعات المسئولة عن التعبير الجينى ويطلق عليها المحفز Promoter فى الكائنات غير مميزة النوى موجودة عند الطرف `5 لكل جين وكذلك وجد أن الكائنات مميزة النوى تشاركها فى تتابعات متماثلة (موتيف) عند الطرف `5 .

ومثال لذلك التتابع (موتيف) TATAA والذى يقع على بعد ٢٥-٣٠ قاعدة من نقطة بداية الاستنساخ وهذا التتابع يشابه الموجود فى منطقة -١٠ فى محفز البكتريات (شكل ٥-٩).



شكل (٥-٩): تركيب المحفز فى الكائنات مميزة النوى

وتشمل التتابعات الأخرى GGGCG و CCAAT (وتسمى GC-boxes) وقد تتغير مواقعها بالنسبة لبعضها البعض وقد يفسر وجود هذه التتابعات فى الكائنات غير مميزة النوى على أن التحكم فى التعبير الجينى واحد فى مميزة وغير مميزة النوى ولكن وجد أن هناك اختلاف بين النظامين حيث أنه خلافاً عما عليه الحال فى محفز البكتريا هذه التتابعات (موتيف) ليست موجودة فى كل جينات الكائنات مميزة النوى .

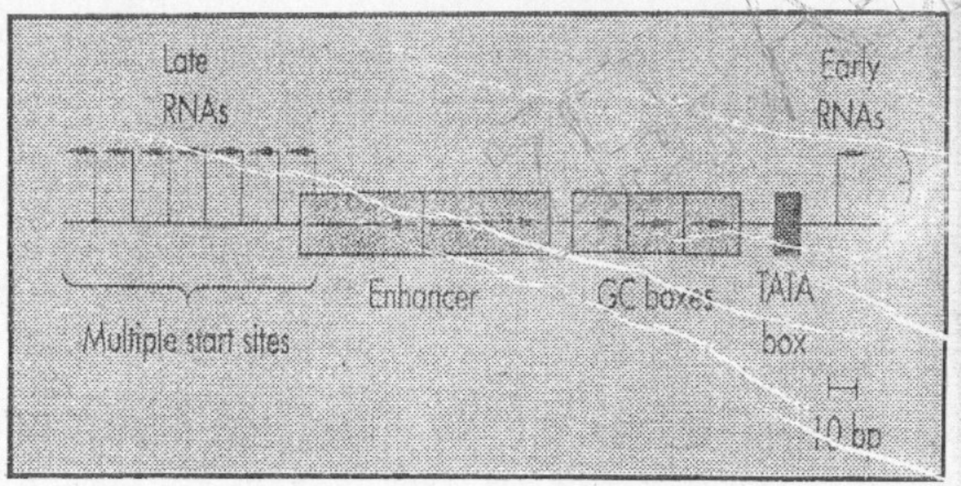
www.zera3h.com
zera3h

المعزز Enhancer :

نتيجة للدراسات التى أجريت على الفيروسات التى تصيب خلايا الكائنات مميزة النوى ظهرت نتائج ملفته للنظر إذ وجد من الدراسة فى البداية أن محفز الفيروس SV40 يبدو بسيطاً من أول وهله عند الطرف `5 حتى بداية موقع نسخ توجد منطقة TATAA موتيف وبعدها على بعد من ٥٠-١٠٠ قاعدة من بداية النسخ يوجد GC-boxes . ومن الدراسات على نظام تعبير هذا الفيروس وجد أن من أهم التتابعات التى يكون لها دوراً فى عملية النسخ تكون موجودة فى منطقة أبعد من هذا وهى تحتوى على تتابع مزدوج متتالى مكون من ٧٢ قاعدة وأن نقص هذه المنطقة يؤدى إلى إنقاص التعبير الجينى بنسبة ١٠٠% ويطلق على هذه المنطقة اسم enhancer (معزز) أى أن المعزز يقوم بالتنشيط الجينى. (شكل ٥-١٠) وتمتاز هذه المنطقة بأنه يمكن فصلها من محفز الفيروس SV40 ولحمها مع محفز آخر وهى مازالت محتفظة بتأثيرها وهى تعمل من خلال الاتجاهين سواء كان تقدمى أو تأخرى وكذلك فهى تعمل من على بعد (شكل ٥-١٠). و يمتاز المعزز بأن تتابعاته أكبر من ٥٠-١٠٠ قاعدة. والمعزز يمكن أن يكون تعبيره الجينى متخصص فى أنسجة وخلايا معينة فقد أثبتت التجارب أن المعزز ممكن أن يعمل فى خلايا معينة فقد أثبتت التجارب أن المعزز ممكن أن يعمل فى خلايا معينة دون غيرها مثل جينات الأمينوجلوبيولين Ig أو جينات الأجسام المضادة فإن تعبيرها الجينى يكون بنسبة عالية فى خلايا B دون غيرها حيث أن جيناتها تحتوى على تتابعات لمعزز معين تعمل فى خلايا B دون غيرها حيث أن الطفرات فى منطقة المعزز يفقد عملية التعبير الجينى فى خلايا B .

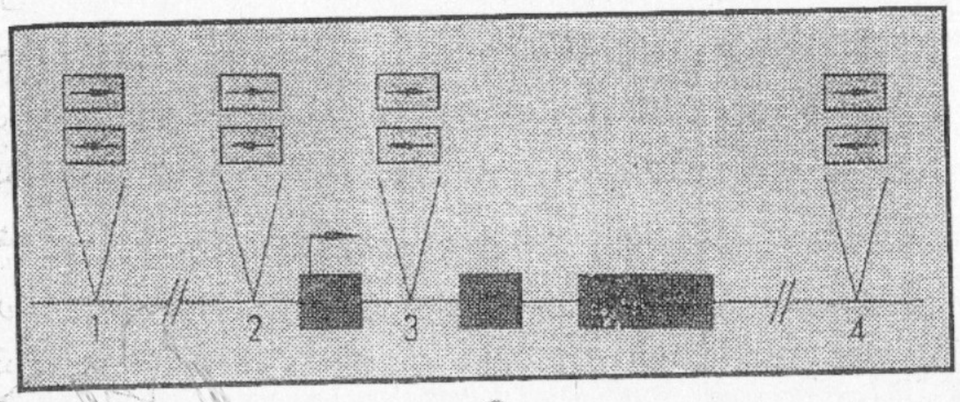
تنظيم التعبير الجينى على مستوى النسخ :

يصنف الـ mRNA فى مميزة النوى عادة إلى مجاميع حسب عدد النسخ الموجودة من جزيئاته فى كل خلية إلى وحيدة النسخة (وهو مصطلح يستخدم لكل من النسخة الوحيدة أو لعدد قليل من النسخ لكل جينوم عادى) ومتوسط التكرار (عدة مئات من النسخ لكل خلية) وعالى التكرار (عدة آلاف من النسخ لكل خلية) ويشفر ر ن أ الرسول وحيد النسخة ومتوسط التكرار عادة للأنزيمات والبروتينات التركيبية على الترتيب أما جزئيات ر ن أ الرسول عالية التكرار فيتم نسخها من عدد قليل من الجينات الموجودة فى مميزة النوى ويكون انتاجها عادة مرتبط بتغير يحدث فى مرحلة تمايز معينة ويفيد المثال التالى فى توضيح هذه العملية .



شكل (٥-١٠): يوضح منطقة المعزز فى محفز الفيروس SV40 وهى تحتوى على تتابع مزدوج متتالى .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٥-١١): يوضح أن منطقة المعزز ممكن أن تعمل على بعد من منطقة المحفز .

تعتبر الهرمونات من أهم منظمات النسخ فى خلايا مميزة النوى وقد وجد أن عدد من هرمونات الجنس تعمل عن طريق تنشيط عملية النسخ ولكى يكون للهرمون دور فى تنظيم عملية النسخ فإنه لابد أن يكون بمقدوره إعطاء إشارة إلى الـ د ن أ . وقد وجد أن الهرمونات الأستيرودية الكارهة للماء يمكنها المرور من خلال الغشاء البلازمى. تحتوى الخلية المستهدفة Target cell على مستقبل نوعى فى السيتوبلازم الذى يشترك فى تكوين معقد مع الهرمون (H+R) بحيث يتحور المستقبل فى هذا المعقد فيصبح (H-R) كما فى الشكل التالى (شكل ٥-١٢). ثم يمر المعقد (H-R) بعد ذلك من خلال الغلاف النووى ويدخل إلى النواة ومن

المرجح أنه فى النواة إما أن يشارك المعقد (H-R) بأكمله أو الهرمون بمفرده فى إحدى هذه البدائل.

- الارتباط المباشر بجزئ الـ د ن أ .
- وقف نشاط أحد المثبطات .
- تنشيط جزئ مرتبط بجزئ الـ د ن أ .
- الارتباط الجزيئى ببروتين مؤثر.

تنظيم التجهيز Regulation of Processing

غالباً ما ينتج نوعان مختلفان من الخلايا نفس نوع البروتين ولكن بكميات مختلفة على الرغم من وجود نفس الجين فى كلا النوعين وحدوث عملية النسخ فيهما. وترتبط هذه الظاهرة كثيراً بوجود جزئيات مختلفة من ر ن أ الرسول لا يتم ترجمتها بنفس الكفاءة .

ومثال ذلك أن الغدد اللعابية تنتج كمية أكبر من الأنزيم عما تنتجه خلايا الكبد فى الفأر وعلى الرغم من نسخ نفس التتابعات الشفرية فى كلا النوعين من الخلايا إلا انه يتم استخدام ميكانيكيتين مختلفتين لاستبعاد الأنترونات Splicing (شكل ٥-١٣) . الشكل يبين القسم الأول من النسخة الأولية لجزئ من ر ن أ الرسول . يبدأ التتابع الشفرى بعد حوالى ٥٠ زوج من القواعد داخل الأكسون رقم ٢ وتتكون المنطقة الشفرية من التحام الأكسون رقم ٣ مع الأكسونات التالية له .

فى حالة خلايا الغدد اللعابية يتم تجهيز النسخة الأولية بحيث يتم ربط الأكسون S بالأكسون ٢ (بمعنى أنه يتم حذف واستبعاد الأكسون L كجزئ من الأنترون ١ و٢) . ومن ناحية أخرى يتم فى خلايا الكبد ربط الأكسون L

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

بالأكسون ٢ وبذلك تعمل الأكسونات S و L كقائدين بديلين لجزئ m-RNA ر ن أ الرسول النوعى للاميليز مما يؤدى بطريقة ما إلى حدوث عملية النسخ بمعدلات مختلفة .

تنظيم الترجمة

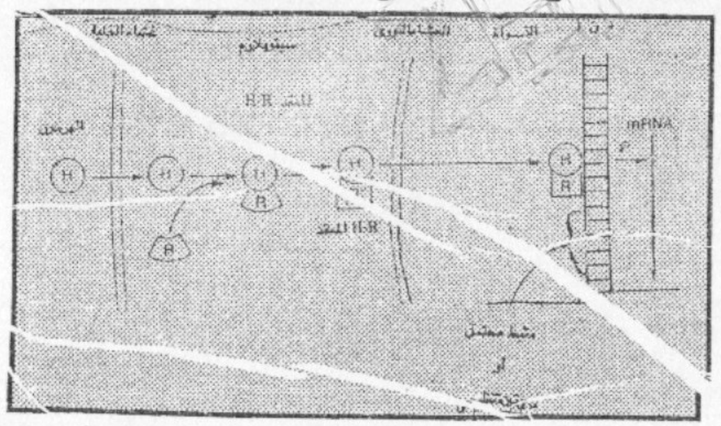
فى مميزة النوى نجد ان عملية الترجمة يحدث فيها نوع من التنظيم للتحكم فى بناء البروتينات المختلفة من حيث الكم أو الكيف ويمكن تلخيص أهم أنواع التنظيم كما يلى :

- ضرورة استقبال إشارة نوعية قبل أن تبدأ عملية الترجمة لجزئ من ر ن أ الرسول النوعى .
- تحديد فترة عمر جزئى معين من ر ن أ الرسول .
- التحكم فى معدل البناء العام للبروتين النوعى .

دور عوامل النسخ فى تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النوى

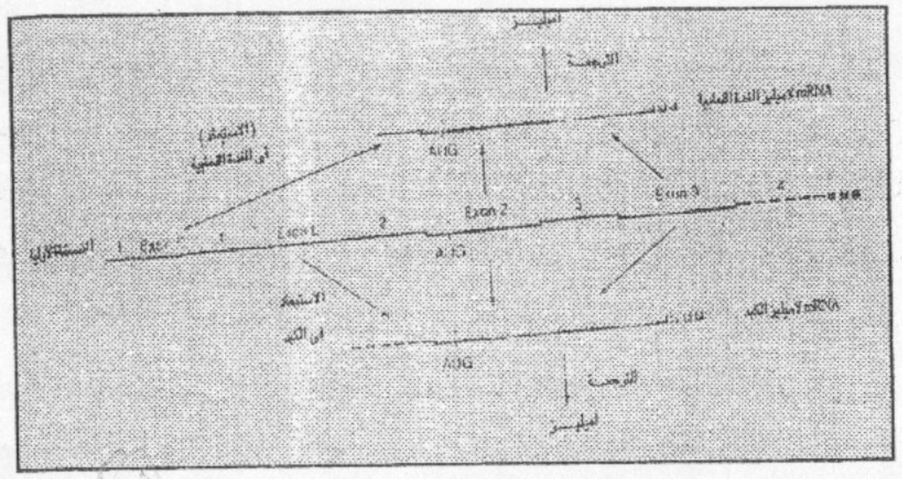
تتميز عملية النسخ فى مميزة النوى بأنها أكثر تعقيداً عما هى عليه فى غير مميزة النوى. وعلى الرغم من أن الأنواع الثلاثة من أنزيمات بلمرة الـ ر ن أ (I, II, III) تعتبر متقاربة تطورياً مع الأنزيم البكتيرى إلا أنها تتكون من تحت وحدات أكثر كما سبق القول . وفى حين نجد أن أنزيم بلمرة الـ ر ن أ فى البكتيريا يتعرف مباشرة على تتابع معين من د ن أ (محفز) ليبدأ عملية النسخ نجد أن الأنزيم المقابل فى مميزة النوى لا يتعرف على هذا التتابع النوعى إلا بعد أن يتكون معقد من د ن أ وعدد من البروتينات النوعية والتى تعرف بعوامل النسخ (TF) Transcription Factors . وفى مميزة النوى وجد أن أنزيم البلمرة II

يتعرف على منطقة هامة فى هذا المعقد المكون من د ن أ وعوامل النسخ TATA والمعروف أيضاً بعامل النسخ (TFIID) وهو البروتين الذى يرتبط بالتتابع المحفوظ فى صندوق TATA (TATA box) وهذه المنطقة تحتوى على التابع TATAAA والذى يقع عادة عند الموقع –٢٥ إلى –٣٥ بالنسبة لموقع بدأ النسخ . ويتكون العامل TATA من بروتين يرتبط نوعياً مع منطقة نوعية من د ن أ وهو عامل ضرورى لنسخ معظم – إن لم يكن جميع – الجينات التى يتم نسخها بأنزيم البلمرة II ولذلك فإنه يعتبر جزء أساسى فى الميكانيكية العامة للنسخ وليس مجرد جزئ منظم للبروتين . وقد أظهرت التجارب المعملية أنه بمجرد ارتباط العامل TATA بجزئ الـ د ن أ (TATA box) عند منطقة المحفز فإنها تميل للبقاء فى معقد نسخ مستقر يمكنه أن يساعد فى حدوث عدة دورات من النسخ بواسطة الأنزيم المختص . وأن هذا المعقد يضيف بعداً إضافياً وتعقيدات أكثر لميكانيكيات التنظيم فى مميزة النوى وقد بينت التجارب المعملية أيضاً أن الوظيفة الرئيسية لبعض البروتينات المنشطة للجينات فى مميزة النوى هى المساعدة فى وضع عامل TATA على الـ د ن أ فى منطقة المحفز .



شكل (٥-١٢) : شكل تخطيطى يبين كيف يصل الهرمون (H) إلى جزئ الـ د ن أ ليحفز عملية النسخ عن طريق الارتباط بمستقبل سيتوبلازمى . قد يمنع البروتين المنظم وصول المعقد H-R' إلى منطقة المحفز P أو قد يساعد على الارتباط به .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com



شكل (٥-١٣) : إنتاج جزئيات نوعية من ر ن أ الرسول للاميليز من خلال عمليات الاستبعاد والربط المختلفة فى خلايا الغدد اللعابية وخلايا الكبد فى الفأر . تلون منطقة القيادة L والأكسونات باللون الداكن والأكسونات باللون الباهت . وتبدأ التتابعات الشفرية بالكودون AUG فى أكسون ٢ .

أمثلة لتنظيم التعبير الجينى فى الكائنات مميزة النوى

١- تنظيم التعبير الجينى أثناء تمايز الخلايا

Regulation of Gene Expression during Differentiation

الواضح أن تنوع الخلايا أثناء التمايز يتضمن ، فى جزء منه ، التعبير السابق البرمجة عن مجموعات من الجينات ، فى وجود أنواع مختلفة من الإشارات (جزيئات سيتوبلازمية متنوعة ، هرمونات ، منبهات بيئية ... الخ) . وهذه الإشارات تنبه إلى بدء قراءة البرامج المختلفة فى الوقت والمكان المناسبين أثناء التمايز . ويتأتى الدليل القوى على هذا النوع من التنظيم من حدوث الطفرات حيث قد تؤدى إلى تغيرات درامية فى التتابع الطبيعى لتنوع الخلايا أثناء التكوين .

أثناء تكوين مميزة النوى الراقية فإن خلية واحدة (وهى الزيجوت) تعطى بإنقسامها ميتوزيا تنوعاً سريعاً من طراز الخلايا (فى الحيوانات خلايا الجلد وخلايا

الأعصاب وخلايا العظام وخلايا الدم ... الخ) مع ما يصاحب ذلك من اختلاف كبير فى الشكل المورفولوجى للخلايا وفى محتواها من الجزئيات الكبيرة . وغالباً ما تكون طرز الخلايا المختلفة عالية التخصص ، بحيث تجرى فى كل طراز عدداً محدوداً من عمليات الأيض المتخصصة ، وعلى سبيل المثال ، فإن خلايا الدم الحمراء شديدة التخصص فى إبتناء وتخزين الهيموجلوبين . حيث تمثل سلاسل الهيموجلوبين أكثر من ١٠% من جزئيات البروتين التى تبتنى فى خلايا الدم الحمراء خلال الفترة التى تكون فيها الخلايا فى أقصى نشاط لها من حيث الأبتناء الحيوى .

إن التحكم فى التعبير عن هذه الجينات ، على الأقل جزئياً ، يكون على مستوى النسخ وعلى مستوى تجهيز المنسوخ . فجزئيات ر ن أ الرسول الخاصة بالهيموجلوبين تتواجد فى خلايا الدم الحمراء ، بينما تغيب عن الطرز الأخرى من الخلايا التى لا تبتنى الهيموجلوبين .

ويعزى حدوث تمايز الخلايا إلى تنظيم التعبير الجينى أكثر مما يعزى إلى حدوث تغيرات فى محتوى الجينوم ، وقد أمكن تفسير ذلك بطرق متعددة فى كائنات كثيرة مختلفة . وعلى سبيل المثال فقد وجد فى الأمفيبيا أن الأنوية المأخوذة من الخلايا التى تنوعت يمكن زراعتها فى خلايا البيضة المنزوعة النواة (وهى خلايا الجاميطات الحيوانية التى نزعت منها أنويتها الأصلية) ووجد أن هذه الأنوية توجه تكوين أجنة طبيعية من هذه الخلايا . وعلى ذلك فلم تفقد أى من المعلومات الوراثية اللازمة للتكوين الطبيعى أثناء تمايز أنوية الأمفيبيا المأخوذة من الخلايا المعطية . وبالإضافة إلى ذلك فقد أظهر التحليل البيوكيماوى لـ ر ن أ المأخوذ من خلايا متمايزة عديدة أن الجينوم فى معظم الحالات يحتوى على نفس المجموعة من تتابع أزواج النوتيدات .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

ويمثل جزء صغير من الجينوم فى مميزة النوى العليا فى صورة جزئيات ر ن أ الرسول فى أى طراز من طرز الخلايا . وقد تم التعرف على ذلك من خلال تجارب الهجن المشبعة بين د ن أ و ر ن أ حيث يستخلص ر ن أ من خلايا طراز معين ثم يسمح له بتكوين هجين مع كل كمية د ن أ الموجودة فى نواة الخلية (فى صورة مفردة) . ويضاف ر ن أ إلى المحلول الذى تجرى فيه عملية التهجين بكميات كبيرة (بالنسبة إلى تركيز د ن أ) وبذلك فإن كل تتابعات د ن أ التى لها تكامل مع التتابعات الموجودة فى ر ن أ سوف تكون هجن ر ن أ – د ن أ . ومن ثم يمكن تحديد الجزء من د ن أ الكلى (مجمل د ن أ الموجود فى الجينوم) والذى يشترك فى الهجن ر ن أ – د ن أ . مما يوفر تقديراً للجزء من الجينوم الذى يمثل فى صورة تتابعات ر ن أ الرسول فى طراز معين من الخلايا .

وقد أجريت تجارب الهجن ر ن أ – د ن أ المشبعة على عدد من أنواع مميزة النوى باستخدام جزئيات ر ن أ من أنواع متعددة من طرز الخلايا . وقد أظهرت نتائج هذه التجارب أن أقل من ١٠% من كمية د ن أ الموجودة فى الجينوم تمثل بواسطة جزئيات ر ن أ الرسول فى سيتوبلازم أى من طرز الخلايا . وعلى سبيل المثال ، ففى خلايا الكبد فى الفأر تمثل حوالى ٢–٥% من تتابعات د ن أ فى جزئيات ر ن أ الرسول . ويبدو أن خلايا المخ تحتوى على أقصى نسبة من منسوخ الـ ر ن أ . ففى خلايا مخ الضفدع Xenonpus تمثل ٨% من تتابعات الـ د ن أ بجزئيات ر ن أ . ومن ناحية أخرى ، فإن الخلايا البيضية للضفدع تحتوى على تتابعات قرينة لأقل من ١% من تتابعات د ن أ الموجود فى الجينوم . وعلى ذلك فمن الواضح أن غالبية تتابعات الـ د ن أ الموجودة فى خلايا النوى العليا لا تمثل فى جزئيات ر ن أ الرسول لأى نسيج أو لأى طراز من طرز الخلايا .

وتنسخ مجموعات مختلفة من الجينات فى الخلايا المتنوعة ويجهز المنسوخ الأولى لنفس الجين بطرق مختلفة ليعطى طرز متنوعة من الـ ر ن أ الرسول. وعادة ما يكون بعض الجينات التى تنسخ من الأنسجة المختلفة متشابهاً والآخر غير متشابه . ويمكن التعرف على ذلك من تجارب التهجين المتنافس بين الـ د ن أ و الـ ر ن أ وفى هذه التجارب تقدر كمية جزئيات الـ ر ن أ المعلمة بالنظائر المشعة والمأخوذة من أحد طرز الخلايا . والتى تكون هجن من مجمل الـ د ن أ الموجود فى الجينوم وذلك فى وجود وفى غياب جزئيات الـ ر ن أ منافسة مأخوذة من طراز آخر من الخلايا وغير معلمة بالنظائر المشعة . فإذا كان هذين الطرازين من الخلايا يحتويان على جزئيات الـ ر ن أ مختلفة تماماً وغير متداخلة فإن نفس الكمية من جزئيات الـ ر ن أ المعلمة بالنظائر المشعة سوف تكون هجناً مع الـ د ن أ متداخلان (أى يوجد بها تتابعات مشتركة) ، فإن كمية الـ ر ن أ المعلمة بالنظائر المعلمة والتى تكون هجناً مع الـ د ن أ سوف تنقص بنسبة درجة التداخل (أى تنقص بنفس نسبة تتابعات ر ن أ المشتركة بين الطرازين) .

وقد دلت هذه النوعية من تجارب التهجين المتنافس بين ر ن أ – د ن أ على أن تتابعات القواعد فى جزئيات ر ن أ المأخوذة من أنسجة مختلفة أو من طرز مختلفة من الخلايا تختلف عن بعضها بنسبة تتراوح من ١٠ إلى ١٠٠% . وقد أوضح أ. دافيدسون E. Davidson وزملاءه أنه لا توجد تتابعات من جزئيات ر ن أ الرسول فى كل الخلايا البيضية وخلايا البلاستولا فى الضفدع Xenonpus laevis . كما قدرت درجة الاختلاف بين تتابعات القواعد فى جزئيات ر ن أ الرسول المأخوذة من خلايا الكبد والأمعاء والكلية فى الفأر بحوالى ١٥ إلى ٧٠% . وعلى الرغم من أن هذه التقديرات غير دقيقة نسبياً فإنها تدل

www.zera3h.com
zera3h

على أن هناك مجموعات مختلفة من الجينات ومنسوخات مختلفة تجهز إلى جزئيات ر ن أ الرسول فى الطرز المختلفة من الخلايا (شكل ٥-١٤) .

وحيث أن أكثر من ٩٠% من تتابعات د ن أ فى الجينوم لا تمثل فى جزئيات ر ن أ الرسول فى أى طراز من الخلايا ، فقد افترضنا أن الجينات تكون مطمورة فى الكروماتين فى حالة كبت دون تخصص ما ، وأن هناك تنظيماً لنسخ أو تجهيز منسوخات الجينات أو كلاهما يحدث بميكانيكية موجبة تتضمن جينات منشطة متخصصة . ويفترض أن هذه الجينات المنشطة تعمل بكيفية ما على فتح (أو تنشيط) نسخ جينات معينة أو مجموعات من الجينات فى وقت معين فى الخلايا المعنية . ومازالت طبيعة هذه الجينات المنشطة وكيفية قيامها بمثل هذا التنشيط غير معروفة فى الوقت الحاضر (إذا ما كان هذا الافتراض صحيحاً بالمرة) . وهناك بعض الدلائل تشير إلى وجود بروتينات كروموسومية غير هستونية تعمل كمنشطات خاصة فى عملية النسخ ، ومع ذلك فمازالت هناك حاجة إلى أدلة جديدة . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن هناك أدلة حديثة تقترح تنظيم تجهيز منسوخات ر ن أ قد تكون فى غاية الأهمية فى مميزة النوى .

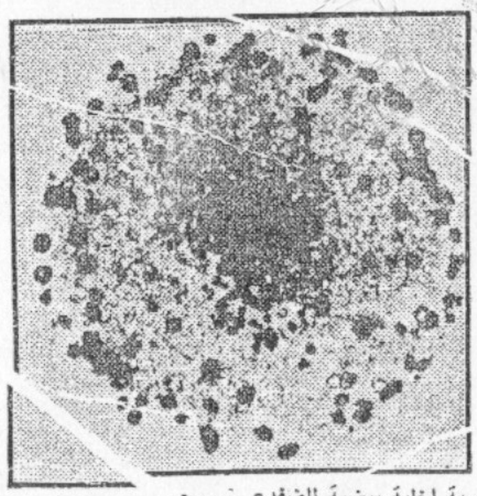
ويفترض أن الهستونات مسئولة ، جزئياً على الأقل ، عن الكبت غير المتخصص للجينات فى مميزة النوى . وقد وجد أن الهستونات حوفظ عليها بدرجة كبيرة أثناء تطور الكائنات مميزة النوى ، كما أنه من المعروف أن هذه الهستونات توجد مرتبطة بالـ د ن أ على النيوكليوسومات ، وبالإضافة إلى ذلك فقد وجد أن د ن أ الموجود فى مركب مع الهستون ينسخ بدرجة أقل بكثير فى تجارب النسخ المعملية من نفس د ن أ بعد إزالة الهستونات .

وعادة ما توجد نفس الهستونات فى كروماتين الطرز المختلفة من الخلايا المتنوعة . وعلى ذلك يعتقد كثير من العلماء أن الهستونات لا تعمل ككابتات أو

منشطات متخصصة فى عملية النسخ . وأن هناك علماء آخرون يعتقدون أن تحورات معينة تطرأ على الهستونات ، مثل عمليات الفسفرة أو إضافة مجموعة الأستيل للأحماض الأمينية الهامة ، تدخل فى تنظيم النسخ . ومن الواضح أن الدور الذى يمكن أن تلعبه الهستونات فى تنظيم عملية النسخ يجب أن ينتظر توفر أدلة جديدة .

٣- التحكم الهرمونى فى النسخ Hormonal Control of Transcription

تعتبر الاتصالات بين الخلايا أحد الظواهر الهامة فى النباتات والحيوانات الراقية. حيث يمكن لبعض الإشارات التى تنشأ فى الغدد المختلفة وفى خلايا الأفراد أو كلاهما أن تنبه الأنسجة أو الخلايا المستهدفة بطريقة ما لتمضى فى تغيرات حادة فى المعطيات الأيضية. وعادة ما تتضمن هذه التغيرات تحوراً فى معطيات التنوع والتى تعتمد فى بعض الحالات على الأقل على التحور الذى يلحق بالتعبير الجينى.



شكل (٥-١٤) : صورة مجهرية لخلية بيضية المضفدع *Xenonpus laevis* تظهر عدد كبير من النويات التى تحتوى على أشكال دائرية من جزئيات الـ د ن أ الحاملة لتكرارات متجاورة من جينات ر ن أ الريبوسومى .

www.zera3h.com
zera3h

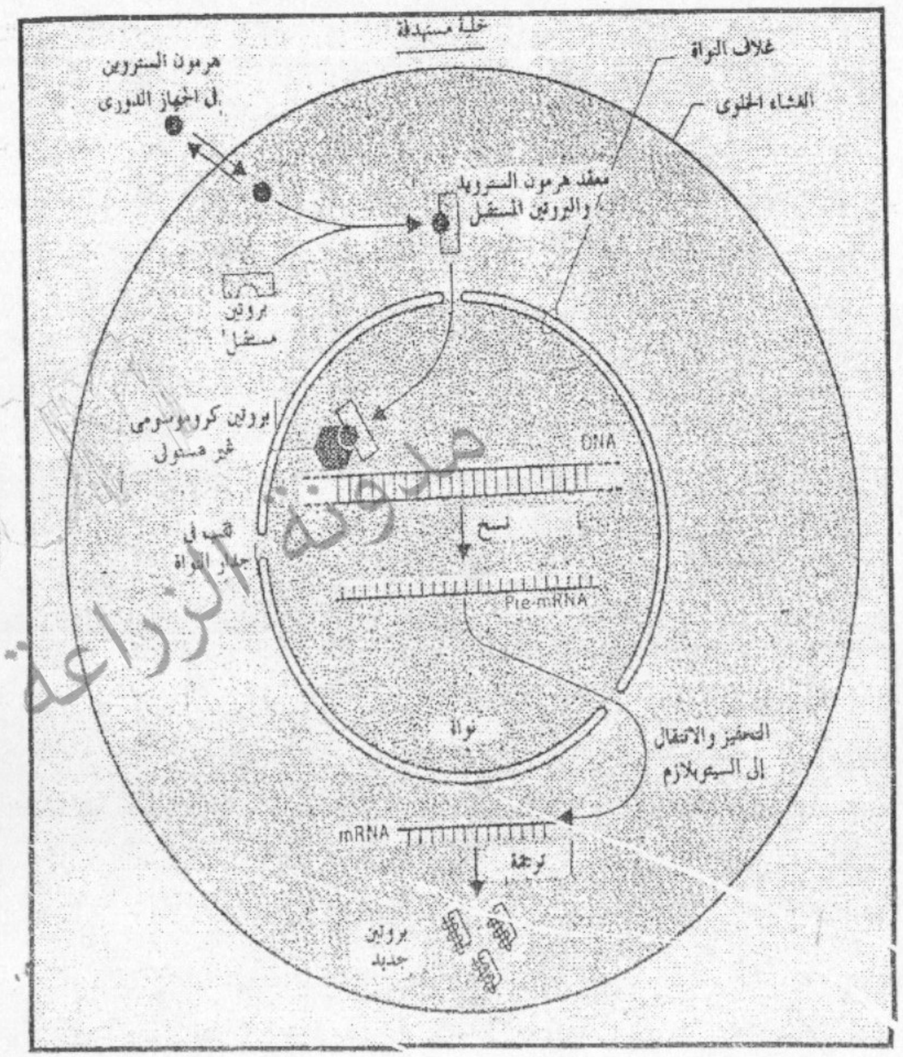
وتعتبر الهرمونات الببتيدية مثل الأنسولين والهرمونات الأستيرودية مثل الأستروجين مثالاً لطراز من نظم الإشارات التى تستخدم فى الإتصال بين الخلايا. وتبتنى الهرمونات فى الحيوانات الراقية فى خلايا إفرازية متخصصة ومتنوعة ثم تفرز فى مجرى الدم. وعادة لا تدخل الهرمونات الببتيدية فى الخلايا بسبب حجمها الكبير نسبياً. ويبدو أن تأثيرها يحدث عن طريق تواجد بروتينات مستقبلة فى أغشية الخلايا المستهدفة وعن طريق مركب Cyclic AMP (cAMP) الدائرى الموجود داخل الخلايا. وعلى العكس من ذلك، فإن الهرمونات الأستيرودية ذات جزئيات صغيرة تستطيع دخول الخلايا خلال الأغشية البلازمية شكل (٥-١٥). وعندما تكون هذه الهرمونات داخل الخلايا فإنها ترتبط مباشرة وبإحكام مع البروتينات المستقبلة والمتخصصة. وتتواجد هذه البروتينات المستقبلة فقط فى سيتوبلازم الخلايا المستهدفة (ويعتبر ذلك مثالاً لكيفية تمايز الخلايا على المستوى الجزيئى).

هذه الهرمونات تبنى فى خلايا إفرازية متخصصة ويتم توزيعها فى الأنسجة المختلفة للكائنات من خلال الجهاز الدورى. حجمها الصغير يسمح لها بأن تكون جاهزة للانتقال بين الخلايا من خلال الغشاء البلازمى. الخلايا المستهدفة (هى الخلايا التى تستجيب لهرمون الأستروید المتخصص) تحتوى على البروتين المستقبل المتخصص للارتباط بجزئ الهرمون معقد هرمون الأستروید- مُستقبل البروتين يمر بعد ذلك من التقوب فى الغشاء النووى ويتجمع فى أنوية الخلايا المستهدفة- وتتابع الأحداث الموصف لهذه النقطة يظهر أنه مقدر تماماً. والكيفية التى يمكن بها لمعقدات الهرمون والبروتين المستقبل أن تستميل نسخ جينات معينة بعد تراكمها فى أنوية الخلايا المستهدفة تبدو أقل وضوحاً. ومن المفروض الجذابة، المؤيد بالأدلة إلى حد ما ، أن هذه المعقدات تتفاعل بشكل متخصص مع بعض بروتينات الكروموسومات غير الهستونية. هذه البروتينات الأخيرة قد تكون

مرتبطة مع منطقة البادئ فى جينات خاصة، وبالتالى قد يمكن للمعقدات بطريقة ما إستحالة نسخها بواسطة إنزيم بلمرة الـــ ر ن أ . والأمر فى حاجة إلى دليل أكثر تأكيداً قبل أن تعتبر هذه الميكانيكية وصفاً دقيقاً لتأثير هرمونات الأستروید على التعبير الجينى.

وفى الواقع فإن الدليل على أن البروتينات الكروموسومية غير الهستونية يمكنها التحكم فى نسخ جينات معينة قد تحصل عليه كل من شتاين T. Stein وشتاين G. Stein وكلاين سميث Klein Smith وتبتنى الهستونات أثناء الطور S (S-phase) من دورة حياة الخلية، مثلها فى ذلك مثل د ن أ . وعندما ينسخ كروماتين الخلايا الموجودة فى الطور S (طور ابتناء الـــ د ن أ) معملياً *In vitro*، فإنه يتم ابتناء ر ن أ الرسول الخاص بالهستون. وعند استخدام كروماتين من الطور G_1 (الفترة التى تلى اكتمال الميتوزى لكنها تسبق الطور S)، فإنه لا يبتنى ر ن أ الرسول الخاص بالهستون. وعندما تستبعد البروتينات غير الهستونية من كروماتين الطور G_1 وتستبدل ببروتينات كروموسومية غير هستونية من كروماتين الطور S ثم ينسخ هذا الكروماتين المعاد تشكيله معملياً، فإنه يتم ابتناء ر ن أ الرسول الخاص بالهستون. ومن ناحية أخرى فإنه عندما تكون البروتينات غير الهستونية فى الكروماتين المعاد تشكيله من خلايا الطور G_1 بينما الهستونات و د ن أ من خلايا الطور S، فإنه لا يبتنى ر ن أ الرسول الخاص بالهستون. وتدل هذه النتائج على أن البروتينات غير الهستونية الموجودة فى الكروماتين هى التى تحدد ما إذا كانت الجينات التى تشفر للهستونات هى التى تنسخ أم لا . وعلى ذلك فإنه يبدو أن البروتينات الكروموسومية غير الهستونية تلعب دوراً هاماً فى تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النوى، وإن كان ذلك ما زال يحتاج إلى برهان. ومن المؤكد أن هذا النوع من الأدلة لا يستبعد بداخل الهستونات فى تنظيم النسخ. وقد يتبين فيما بعد أن تنظيم النسخ فى مميزة النوى يتضمن تفاعلات خاصة بين د ن أ والهستونات والبروتينات الكروموسومية غير الهستونية .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٥-١٥): يوضح تخطيط التأثير الافتراضى لهرمونات الأستيرويد

الباب السادس

التوارث اللاكروموسومى

Extrachromosomal inheritance

يُغطى علم الوراثة أى وكل نظم التوارث فى الكائنات الحية، ولكن من الناحية التطبيقية فإنها محددة بدرجة كبيرة بدراسة الجينات المرتبة فى ترتيب طولى على الكروموسومات التى توجد فى نواة الخلية. والحقيقة، فإنه على الرغم من ذلك فإن هناك معلومات ليست بالقليلة تتعلق بتوارث الكائنات الحية بأكثر مما تحكمه الجينات الكروموسومية، تجمعت ببطء مع الزمن وتُوضح وجود نظم وراثية إضافية.

وأول مثال على التوارث اللاكروموسومى (الجين اللاكروموسومى) وصفة عالم النبات الألمانى Carl Correns عام ١٩٠٨ فى أوراق نبات الميرابليس *Mirabilis Japonica*، وهو أحد الثلاثة الذين أعادوا إكتشاف قوانين مندل والذى أعتقد أن كل الكائنات الحية تمتلك أكثر من نظام وراثى. فقام هو وطلابه بدراسة هذه الظاهرة فى عدد من أنواع النبات. ولكن التطور الانفجارى Explosive development فى الوراثة الكروموسومية ألقى بظلاله على الوراثة اللاكروموسومية فى هذا الوقت، فقد أدت التجارب التى أثبتت التلازم أو الأرتباط بين توزيع عوامل التوارث لمندل مع السلوك التفضيلى للكروموسوم إلى تركيز الاهتمام على الجينات الكروموسومية مستبعدة للظواهر التوارثية الأخرى. ونظراً إلى أنه لا يوجد شئ فى الطريقة المُرتبة للوراثة الكروموسومية توجه البيولوجية إلى نسيان وجود نظام وراثى إضافى وحتى أنه بالرغم من بعض مئات من الأمثلة التى أثبت صحتها على صفات لا كروموسومية وصفت فى

www.zera3h.com
zera3h

كائنات مختلفة مثل الحشرات والنباتات الزهرية والطحالب والخمائر إلا أن هذا الدليل أُغفِلَ فى المراجع والتيار الرئيسى لنظرية الوراثة. ولا يعنى هذا القول بأنه ليس من المفضل قطعاً التركيز على النظام الكروموسومى، أو لا يجب تفهمه فقط، بل وضعه أيضاً تحت السيطرة حتى يمكن القيام بتجارب تتعلق بالتوارث اللاكروموسومى. إن الدلائل على وجود نظم وراثية إضافية إلى جانب النظام الكروموسومى تجمعت ببطء مع الزمن وأدت إلى أكتشاف نظام وراثى آخر غير كروموسومى يتكون من مجموعة من المحددات الجينية Genetic determinants تقع فى مكان ما غير الكروموسوم، وهذه المحددات عبارة عن عناصر Partienlates تتميز بأنها تتناسخ بثبات وتنتقل من جيل إلى الجيل التالى ويمكنها أن توجد إما فى صورتها أو على صورة طفرة، وتؤثر على صفات مختلفة فى الخلية، وهى تتكون أيضا مثل الجينات الكروموسومية، من أحماض نووية، وتوجد فى منطقة معينة فى الخلية وعلى أساس التحليل الوراثى يمكن أن تستحق أن يطلق عليها إسم "جينات لا كروموسومية Non chromosomal genes" ومن الناحية الأساسية فإن الفرق بين نظام التوارث الكروموسومى ونظام التوارث اللاكروموسومى يعتبر إبتدائياً Elementary، فالحقيقة البارزة فى التوارث المندلى أو الكروموسومى أن جينات الأباء تضيف بالتساوى إلى المكون أما الجين اللاكروموسومى فيتميز بعدم إتباعه النظام المندلى، فبدلاً من ذلك نجد أن الجين الغير كروموسومى الداخل من الأم فإنه ينتقل أثناء الإنقسام الميوزى لكل النسل، بينما الجينات الغير كروموسومية التى مصدرها الأب فإنها لا تنتقل إلى النسل. ويسمى ذلك بالوراثة الأمية وقد يحدث ذلك أحياناً عن طريق الأب فقط أى uniparental. وعليه فإن لتوصيف صفة متوارثة بأنها كروموسومية أو غير كروموسومية فإننا نحتاج فقط لدراسة نمط أو أسلوب إنتقالها فى التلقيحات

الاختبارية. وعلى الرغم من ذلك فإن هناك صعوبتان أساسيتان يعزى إليهما تأخر تقدم دراسات الجينات اللاكروموسومية رغم سهولة التحليل الوراثى لها وهما:

١- الطفرة التلقائية فى الجينات اللاكروموسومية فى العشائر الطبيعية نادرة بالمقارنة بالطفرة فى الجينات الكروموسومية، بالإضافة إلى ذلك فإن الإشعاع والمطفرات الكيماوية التى تستخدم فى استحداث طفرات كروموسومية لم تكن فعالة فى إنتاج طفرات غير كروموسومية ومن ثم فإن المادة التى يمكن بها دراسة النظام الغير كروموسومى أو حتى تقرير أهميته فى التوارث الكلى لأى كائن يصعب الحصول عليها.

٢- الصعوبة الثانية فى دراسة التوارث اللاكروموسومى تكمن فى نمط الوراثة الأمية والتى تميز هذا النظام الوراثى، وطالما أن كل الجينات اللاكروموسومية غالباً مصدرها الأم ولا شئ منها ينتقل من الأب إلى النسل (ما عدا حالات قليلة) فإننا لا نستطيع مكابدة تكنيكات التحليل الوراثى التى تعتمد على أن جينات كلا الأبوين تتوزع وتعبر عن نفسها فى النسل.

وقد قامت Ruth sager ومدرستها فى التغلب على هاتين الصعوبتين بالتحليل الوراثى للطحلب الأخضر *Chlamydomonas* التابع لجنس phytoflagellates أحادية الكروموسومات والذى يتكاثر جنسياً فيوجد فيه طرازان جنسيان (mt^- وmt^+) يحكمها جين كروموسومى. وهذا الطحلب كائن وحيد الخلية ويوجد داخل خليته تكوينات بدائية primitive تقابل الأنسجة المتخصصة مثل العين والكلية والعضلات، وهذه العضويات أو الأعضاء تحت الخلوية تشبه أو تماثل تلك التى توجد فى خلايا الكائنات الراقية. فتوجد ميتوكوندريا لإنتاج الطاقة، وريبوسومات لتصنيع البروتين وكلوروبلاستة كبيرة للتمثيل الضوئى. كما أنه يحتوى على ثمانية كروموسومات تم تحديد مواقع

www.zera3h.com
zera3h

الجينات عليها. وقد حصلت Sager على سلالات مقاومة للاستربتومايسين بنسبة واحد فى المليون (str-ss→str-rs) وأوضحت التلقيحات أن أكثر هذه الطفرات كروموسومية ما عدا حوالى ١٠% أعطت وراثة أمية (أى أنها لا كروموسومية). كما أن الطفرات الكروموسومية وجد أنها توجد أصلا فى السلالة الحساسة من قبل تعريضها للاستربتومايسين أى أنها طفرات تلقائية عشوائية، أما الطفرات الجينية الغير كروموسومية فقد تكونت فقط بعد تنمية السلالة الحساسة على بيئة بها المضاد الحيوى ولكن بجرعات تحت مميتة sublethal أى أنها طفرات مستحدثة. ولإيضاح هل أن المضاد الحيوى يستحدث طفرات معينة مقاومة أو أنه يعمل كمطفر عام، بينت التجارب أن الاستربتومايسين عمله غير تخصصى وأنه يمكن استحداث طفرات فى عديد من الجينات اللاكروموسومية وتحت ظروف أستحداث خاصة وكل خلية معاملة تكاثرت وكونت مستعمرة، وفى كل مستعمرة كانت هناك طفرات من أنواع مختلفة. وهذا المستوى المرتفع الواضح لكفاءة الطفور مختلف تماماً عن ذلك الخاص بطفرات الجينات الكروموسومية التى تؤثر على جزء بسيط من العشيرة.

فهل الجينات اللاكروموسومية تتحكم فى فئة class خاصة من صفات الخلية تختلف عن الصفات التى تحكمها الجينات الكروموسومية، ربما لا يكون ذلك صحيحاً، فقد درست ٣٠ طفرة جينية لا كروموسومية ومعظمها تتشابه مع الطفرات الكروموسومية، وحتى عندما أثرا فى صفات مختلفة فإن النظامين الجينين يتداخلا بشدة فى تأثيرهما. فعلى سبيل المثال يوجد فى الكلاميدوموناس جين كروموسومى "A" (Amplifier) ليس له تأثير على الخلايا الحساسة للاستربتومايسين ولكنه فى الطفرات المقاومة يكبر أو يزيد من مستوى المقاومة، وهو فعال فى زيادة المقاومة فى كل من المقاومة الناشئة من جينات كروموسومية

أو جينات لا كروموسومية، وهذا التداخل فسيولوجى صرفٌ إذ أن جين "A" ليس له تأثير على توارث كلا النوعين من الطفرات المقاومة.

وهناك تداخلات مثيلة للجينات الكروموسومية واللاكروموسومية تم توضيحها فى الخميرة وفى الذرة. فنباتات الذرة خناث تحتوى على الأجزاء الزهرية الذكرية والأنثوية على التوالى The pollen bearing tassel and the ear ووجد فى الذرة العديد من طفرات الجينات الغير كروموسومية المختلفة التى تتداخل مع التكوين الطبيعى لحبة اللقاح تؤدى إلى أن يصبح النبات عقيم ذكرياً على الرغم من أنه ينتج كيزان طبيعية.

والعقم الذكرى له قيمة فى إنتاج بذور هجينة حيث أن النباتات العقيمة لا تخصب نفسها والاخصاب الخلطى يكون مؤكداً.

على الرغم من ذلك فإن العقم الذكرى يمكن تثبيطه بواحد من الكثير من الجينات الكروموسومية التى تسمى (Fertility restorers) جينات إعادة الخصوبة. وفى وجود جين إعادة الخصوبة المناسب فإن صفة العقم اللاكروموسومية لا يمكنها التعبير عن نفسها وينتج حبوب لقاح خصبة، وفى هذه الحالة نجد فى الجيل الثانى أن النباتات التى فقدت جين إعادة الخصوبة يعمل الجين اللاكروموسومى مرة ثانية وعلى هذا فتكوين حبوب اللقاح يحكمه أطقم من تداخلات الجينات الكروموسومية والغير كروموسومية بطريقة مناظرة لتلك الموجودة فى الكلاميدوموناس.

وللإجابة على التساؤل ما هى الجينات اللاكروموسومية وكيف تعمل؟ هل على أساس الانعزال والاتحادات الجديدة؟ على أساس الإنعزال، فإن الجينات الكروموسومية تتوزع ١:١ حيث أن نصف منتجات الانقسام الاختزالى تأتى من الأب والنصف الآخر من الكروموسومات الأمية. وهذا الإنعزال لا يوجد فى

www.zera3h.com
zera3h

الجينات اللاكروموسومية إذ أن جينات النسل تأتى من الأم. أما الاتحادات الجديدة فتتوقف على ما إذا كانت الجينات على نفس الكروموسوم (مرتبطة) أو على كروموسومات مختلفة. ويجب ملاحظة أن الاتحادات الجديدة ممكن أن تتم داخل الجين فبعض النسل يمكن أن يكون به جين على شكل اتحاد جديد من أجزاء من أليلين. وفى الكلاميدوموناس هناك طرازين تزاوجين mt^+ ، mt^- فنجد أن mt^+ تنقل بإنتظام جيناتها اللاكروموسومية إلى النسل وعليه فلا إنعزال ولا إتحادات جديدة. ولكن هناك فى كائنات أخرى نجد أن القاعدة الأمية لها إستثناءات. كذلك وجد فى الكلاميدوموناس أنه مرة من مرات كثيرة فإن الجينات اللاكروموسومية تأتى من الأبوين بدلاً من الأم فقط، وتنمية الزيجوت الاستثنائى الذى أعطى هذه النتيجة وانتخابه ومتابعة انعزاله واتحاداته الجديدة (أى للجينات اللاكروموسومية) أجرى تزاوج يشتمل على زوجين من الجينات اللاكروموسومية وثلاثة أزواج من الجينات الكروموسومية المرتبطة لتعمل كمعلمات أو واسمات.

♀ ac_1 sd act-r ms-r mt^+ X ♂ ac_2 sr act-s ms-s mt^-

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

x x xx xx x x xx xx

ac_1, ac_2 : acetate requering

sd : strep – dep.

Sr : strep – res

xx : chromosomal

x : non chromosomal

actr, acts : actidion res. & sen..

ms-r, ms-s: Res. and sens. to methionine sulfoximine

أكثر من ٩٩% من زيجوتات هذا التلقيح أعطت نسلاً ينعزل عادياً (طبيعيا) للثلاثة أزواج من الجينات الكروموسومية ولكنها تشبه الأم حيث أن كلها ac_1sd.

الـ ١% من الزيجوتات الاستثنائية والتى انتخبت على بيئة خالية من الاستربتومايسين فإن كل الجينات اللاكروموسومية احتفظ بها وانتقلت إلى النسل بحيث أصبح كل منهم يحتوى على طقم جينات كروموسومية + ٢ طقم جينات لا كروموسومية أما الثلاثة أزواج الكروموسومية فقد انعزلت طبيعيا واستخدمت فى تمييز الأربعة منتجات الميوزية.

كل من الأربعة أنواع من النسل بدأت فى الإنقسام بطريقة لا جنسية (ميتوزى) لتكون clone من الخلايا التى ظلت متطابقة وراثيا من ناحية طاقمها من الجينات الكروموسومية.

وبالرغم من ذلك فإن أليلات الجينات اللاكروموسومية بدأت فى الإنعزال. وفى كل أنقسام ظهرت بعض الخلايا الشقيقة التى تحتوى على واحد من كل زوج من الجينات اللاكروموسومية.

والخلايا هى: pure sd or sr, pure ac_1 or ac_2

وبعد تصنيف عينة من النسل بعد العديد من الأنقسامات الخلوية وتقدير التكرارات التى يظهر بها كل نوع بدأنا نفهم كيف أن الجينات اللاكروموسومية تنعزل وتكون إتحادات جديدة كما يأتى:

١- يبدأ الانعزال خلال التضاعفات القليلة بعد الإنقسام الميوزى، فبعد أربعة أوخمسة انقسامات خلوية يبقى من ٥٠-٦٠% من النسل خليط فى محتواه من الجينات اللاكروموسومية، ولكن الباقى يكون نقياً لواحد أو لأثنين من

www.zera3h.com
zera3h

الجينات. وظهور الانعزال مباشرة بعد الميوزى يدلنا على أنه فى هذا الدور stage كل جين لابد وأن يكون موجودا فى نسخة واحدة أو عدد قليل جدا من النسخ.

٢- الزوج ac_1/ac_2 ينعزل بنسبة متوسطة ١:١ مما يدل على أن عدداً متساوياً من النسخ لكلا الأليلين يكون موجودا فى الخلايا المختلطة. وعلى الرغم من ذلك تتفاوت المستعمرات الفردية individual clones بدرجة كبيرة من نسب ac_1 / ac_2 مما يقترح معه أن الانعزال قد لا يكون equational بمعنى أن الخلية المختلطة ربما تعطى خلية شقيقة نقية ac_1 أو نقية ac_2 بينما الخلية الشقيقة الأخرى تبقى مختلطة.

٣- الأزواج ac_1/ac_2 & sd/sr ينعزلان مستقلان عن بعضهما فى الوقت والمكان time & space فيعد عدة تضاعفات وجد فى المتوسط اعداد متساوية من التراكيب الأبوية ac_1 sd & ac_2 sr ومن التراكيب الجديدة ac_1 sr & ac_2 sd بمعنى آخر فإن زوجى الجينات اللاكروموسومية يسلكان كما لو كانا محمولين على جينات منفصلة.

٤- كل خلية شقيقة دائما ما تستقبل واحد أو الآخر من كل جين لاكروموسومى وبهذا المفهوم يمكن القول أن ac_1 & ac_2 اليلات وكذلك sd & sr.

* وتظهر النتائج أن الجينات اللاكروموسومية لا تتوزع اعتباطيا خلال انقسام الخلية ولكنها تتوزع بطرق تتميز بميكانيزم عالى التوجه وهذا يوضح:

أولاً: من الحقيقة القائلة أن كل جين لاكروموسومى، بالرغم من وجوده فى نسخة واحدة أو عدد قليل من النسخ، ينتقل بانتظام فى كل انقسام خلوى.

وثانياً: الشكل الطبيعى أو الطفرة لصور الجينات اللاكروموسومى تسلك كأنها اليلات عندما توجد معاً فى نفس الخلايا وتنعزل بحيث أن كل خلية شقيقة تأخذ واحداً منها على الأقل **وأخيراً** فإن الاتحادات الجديدة الـ intragenic بين أليلات الجينات اللاكروموسومية تستلزم بعض أنواع استمرارية الازدواج القريب لتركيبين حتى يمكن حدوث تبادل دقيق لمنطقة دقيقة من الجين.

وحدوث الأزدواج اللصيق close pairing يوضح أن المحتوى الكيماوى للجينات اللاكروموسومية. وفى الوقت الحالى فإن الأحماض النووية هى فقط عبارة عن الجزيئات الكبيرة المعروف بأن لها قدرة طبيعية وكيمائية على الإزدواج اللصيق والتبادل الداخلى الذى يستخلص من عملية الاتحادات الجديدة recombination process وعلى هذا فيمكن اعتبار نتائج Sager أو دليل على أن الجينات اللاكروموسومية تتكون من الاحماض النووية.

وفى معظم الكائنات فإن المادة الوراثية الابتدائية هى DNA ومعظمها فى نواة الخلية ولكن يبدو أنه ليس كلها، ففى كلوروبلاست الكلاميدوموناس يوجد جزء من الـ DNA له خواص كيماوية وفسيولوجية مميزة distinctive.

ويمكن التمييز بينها وبين DNA النواة لأن الأنواع المختلفة للـ DNA تختلف فى تركيبها من ناحية القواعد الأزوتية. جميع أنواع الـ DNA تحتوى على الأربعة قواعد فى زوجين مرتبطين، الأدنين يزدوج مع الثيامين، الجوانين مع السيتوسين والزوجين يظهران بنسب proportions مختلفة. بالرغم من ذلك فإن DNA من كائنات مختلفة وحتى من أجزاء مختلفة من نفس الخلية. والمحتوى القاعدى (الآزوتى) ينعكس على معدل الترسيب الذى تحدده كثافة (density) عينة الـ DNA ومن هنا يمكن فصل النوعين من DNA عن طريق جهاز طرد مركزى فائق السرعة. وعندما يحدث طرد مركزى للـ DNA فإختبار محتوياته

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

Fractions بامتصاص الـ UV عند ٢٦٠ مليميكرون فالكثافة الضوئية لكل جزء يوضح محتويات هذا الـ DNA.عند طرد مركزى لمستخلص DNA من كل خلايا الكلاميدوموناس وجد أثنان من DNA أحدهما جزء ضعيف يشكل ٥% من DNA الكلى تقريباً. فحص DNA من intact كلوروبلاست هذا الجزء الخفيف شكل حوالى ٤٠% من DNA الكلى مما يوضح أن DNA الكلوروبلاست خاص ومتميز وقد وجد DNA الكلوروبلاست فى كثير من الطحالب والنباتات الراقية و satellite bands شبيهة للـ DNA غير النووى شوهدت أيضا فى مستخلصات بعض الخلايا الحيوانية وقد أوضح Edward Reich, David Luck فى معهد روكفلر أن الـ DNA يقع فى الميتوكوندريا والتى توجد فى كل النباتات وخلايا الحيوانات.

ووجدوا كل من الجينات اللاكروموسومية والـ DNA اللاكروموسومى يشد الانتباه إلى صورة جديدة ويعاد فيها النظر من ناحية توارث الخلية.

فيبدو أن المعلومات الوراثية الابتدائية موزعة فى أجزاء (مواقع) مختلفة من الخلية إلى جانب مواقع على الكروموسومات النووية. ونظراً لأن كم لا يستهان به من الجينات اللاكروموسومية تؤثر فى الكلوربلاست والميتوكوندريا، يبدو أن هناك امكانية أن تحمل العضيات بعض الجينات اللاكروموسومية، مع العلم بأن بعض الجينات الكروموسومية تؤثر فى وظيفة الكلوروبلاست والميتوكوندريا أيضا.

ويبدو أن بعض الجينات اللاكروموسومية تؤثر على بعض النظم التحت خلوية الأخرى مثلما تؤثر فى الكلوروبلاست والميتوكوندريا. فمثلا جينات sr, sd فى الكلاميدوموناس على سبيل المثال تبدو أنها لا تؤثر على هذه العضيات الأخرى.

أمثلة على التوارث اللاكروموسومى

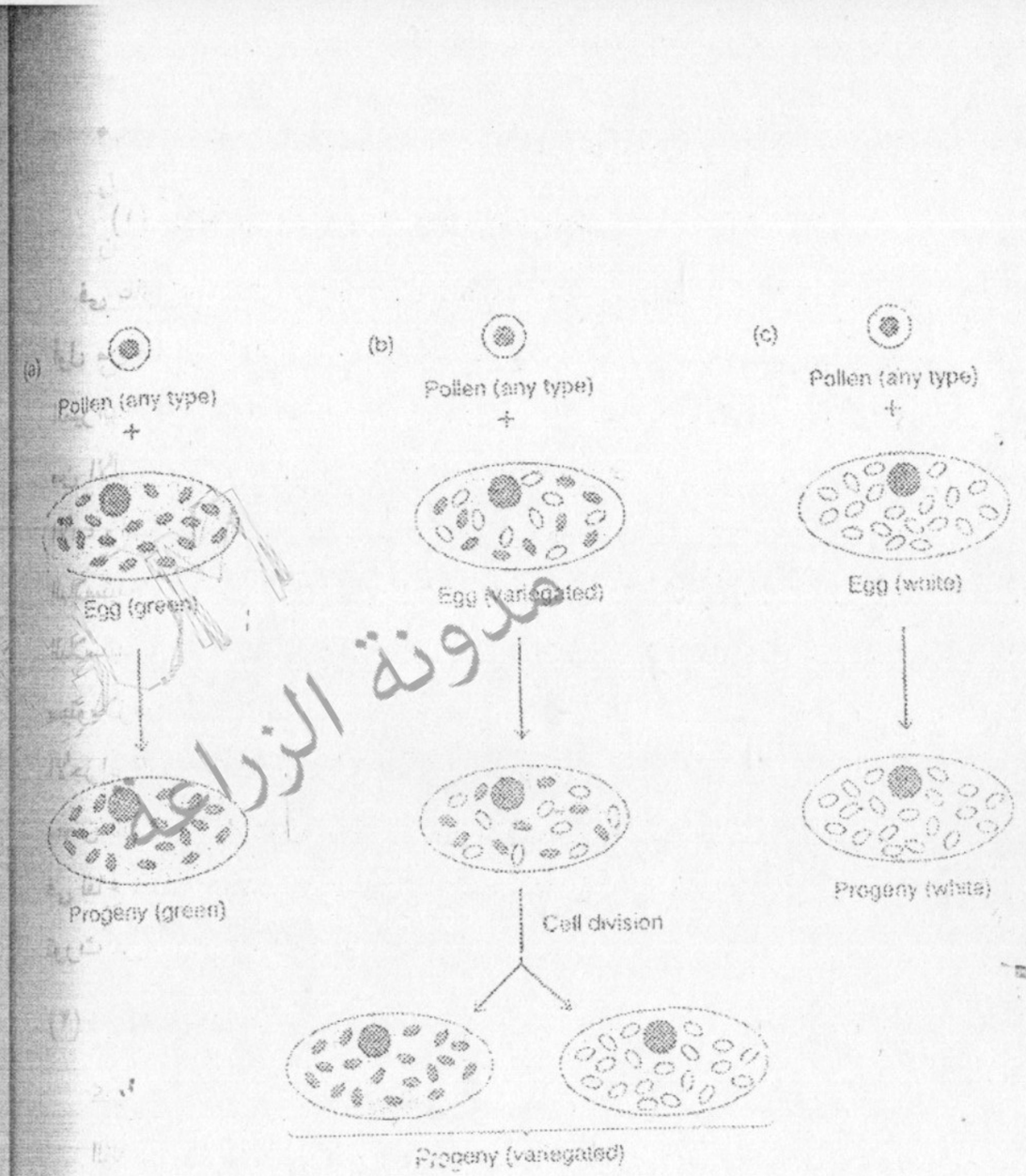
(١) وراثة لون الأوراق فى نبات الميرابليس

فى عام ١٩٠٨ شاهد Carl Correns إختلاف نتائج التلقيحات العكسية وهو أول من شرح الانحراف عن الوراثة المندلية. وقد وجد من دراسته على نبات الميرابيلس *Mirabilis japonica* أن توارث وجود مساحات مختلفة من الألوان يأتى كلية من نبات الأم وذلك بدلاً من المشاركة المتساوية لكل من الأب والأم. وهذا كما أوضح مندل، فإنه يرجع نسبة إختلافات الألوان إلى البلاستيدات الموجودة فى السيتوبلازم. وتعتبر البلاستيدات الخضراء هى أكثر البلاستيدات أهمية حيث تحمل الكلوروفيل. تنشأ البلاستيدات الخضراء من وحدات سيتوبلازمية تسمى بلاستيدات أولية تحتوى على DNA وتكرر نفسها مستقلة عن الأجزاء الأخرى فى الخلية وتتوزع بالتساوى تقريباً خلال إنقسام الخلية ولو أن بعض البلاستيدات الأولية تنتقل فى سيتوبلازم البيضة، قليل أو واحدة فقط تنتقل فى لقاح معظم النباتات. لذلك فإن بعض مميزات أو صفات البلاستيدات الخضراء تورث من سيتوبلازم نبات الأم.

(٢) الكلاميدوموناس

كما ذكر أن أحد الأدلة على وجود العوامل اللانووية عن طريق الإختلافات بين التلقيحات العكسية فى العديد من الكائنات – هذه الإختلافات العكسية قد تحدث حتى ولو كانت الجاميطتان المتحدتان مختلفتان بوضوح فى حجمهما – فمثلا فى الكلاميدوموناس الجاميطة المتحدة فى كل زيجوت تكون متماثلة ظاهرياً وقد يظهر كما لو كان آسهامها متساوياً، ومع

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٦-١): توضيح التوارث الأمى للبلاستيدات فى نبات الميرابيلس

ذلك فقد وجدت Sager ١٩٦٣ أن عاملا لا كروموسومياً يمنح المقاومة لعقار الإستربتوميسين يورث فقط عن طريق طراز تزاوجى خاص وليس عن طريق الآخر.

فقد لوحظ أن المقاومة للاستربتوميسين تختلف إلى حد كبير بين السلالات فبعض السلالات تكون مقاومة (Sr) والبعض الآخر حساس (Ss) وفى عدد من السلالات Sr ظهر أن المقاومة للأستربتوميسين تورث بطريقة مندلية منتظمة حتى أن التلقيحات بين السلالات الحساسة والمقاومة تنتج نسلاً بنسبة $Sr_1 : Ss_1$ ومع ذلك فإحدى السلالات المقاومة Sr-500 تسلك سلوكاً مختلفاً تماماً.

فإذا كان الأب Sr هو عبارة عن الطرز التزاوجى الموجب Sr^+ الأب Ss^- هو السالب فإن النسل الناتج كله يكون مقاوم (Sr) وفى التلقيح العكسى Ss^+ x Sr^- فإن النسل الناتج يكون حساس (Ss).هذا التأثير لا يبقى لجيل واحد فحسب ولكنه يستمر طالما كان الأب الموجب هو من الطراز المقاوم للاستربتوميسين حتى بعد أربعة أجيال من التلقيحات الرجعية بين Sr^+, Ss^- لا ينتج نسل Ss وحيث أن هذه النتائج لا يمكن تفسيرها على أساس الإنعزال الكروموسومى أى النسبة (١:١) فى كل جيل. فإنها تنسب إلى تأثير عامل لا كروموسومى ينتقل من خلال الطراز التزاوجى الموجب فقط – ويمكن إعتبار الطراز التزاوجى الموجب كالخلايا التى توفر السيتوبلازم (البيضات مثلاً) وأن عامل المقاومة للأستروبتومايسين sr-500 كجسيم حر له القدرة على مكاثرة نفسه فى السيتوبلازم. (شكل ٦-٢)

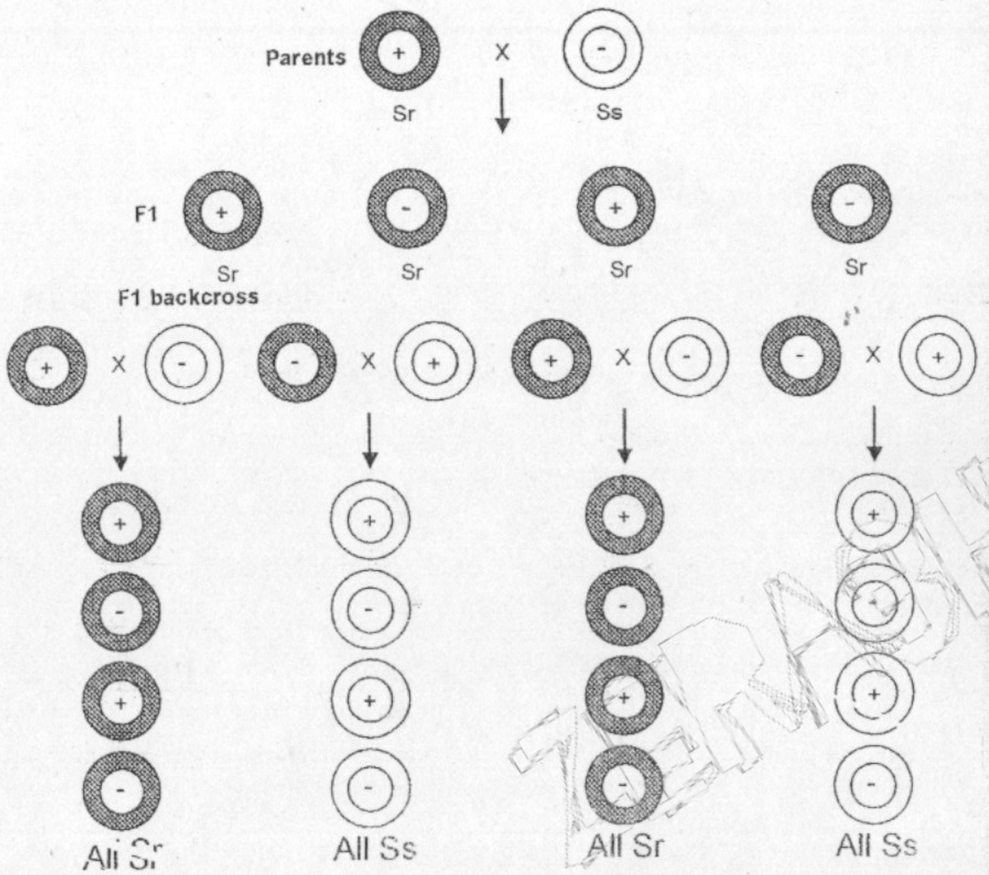
(٣) الخميرة

وجد Ephrussi (١٩٥٣) سلالة من خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiaea* ذات قدرة محدودة على استعمال الأكسجين فى تمثيل

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

الكربوهيدرات، ولذا تنمو بحجم ضئيل عندما تربى على سكر الجلوكوز ولهذا تسمى بصغيرة الحجم Petite، وقد وجد أن هذه الخميرة تنقصها المكونات الضرورية اللازمة للتنفس (مثل سيتوكروم b و c_1 وسيتوكروم a ,a-3) والتى ترتبط بالغشاء الداخلى للميتوكوندريات – وبتزاوجها مع خميرة عادية أمكن تمييز ثلاثة أنواع من الخميرة الصغيرة وهذه الأنواع هى الخميرة الإنعزالية الصغيرة أو النووية Nuclear Petite وهذه تعطى بتزاوجها مع سلالة برية إنعزالاً بنسبة ١ عادى: ١ صغير. والخميرة الصغيرة المحايدة Neutral petite وهذه تنتج جراثيم برية ومستعمرات برية فقط عند تزاوجها مع خميرة عادية ولا تظهر صفة الصغيرة إطلاقاً – أما الطراز الثالث فيسمى

مدونة الزراعة



شكل (٦-٢): توارث المقاومة للاستربتوميسين فى الكلاميدوموناس

www.zera3h.com
zera3h

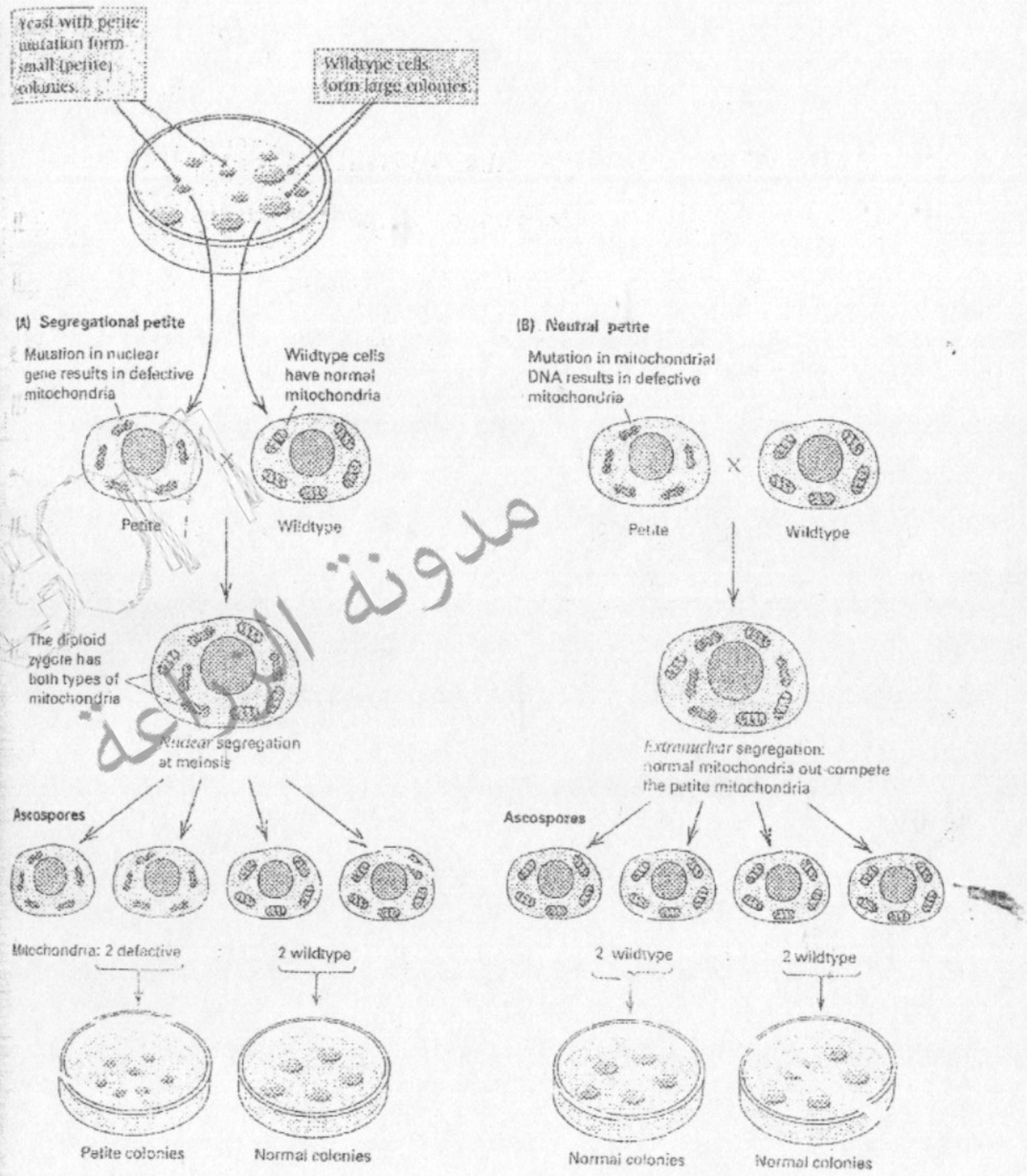
بالخميرة الصغيرة المثبطة Suppressive petite وفيها يبدو أن هذه الخميرة تثبط من التنفس العادى فى التلقيحات مع سلالات عادية، إذ نجد أن حوالى ٩٩% من الخلايا الثنائية عبارة عن خميرة صغيرة. كما وأنه عندما تتجرثم الزيجوتات الناتجة من تزاوج خميرة عادية مع مثبطة فإن معظمها يعطى كل الأربع جراثيم من النوع الصغير، وعليه فالعامل المثبط يبدو سائداً رغم أن النسبة داخل السلالات الثنائية الناتجة ليست مندلية وقد تتراوح بين ٩٩-١٠٠% صغيرة. وعليه فيمكن القول أن نقص القدرة على التنفس له سببين وراثيين مختلفين أحدهما نووى والآخر لا كروموسومى، ففى الأفراد المحايدة بالرغم من أنها متأثرة سيتوبلازمياً فربما يكون لها أيضا العوامل النووية للميتوكوندريا العادية، فالتزاوج بين الصغيرة النووية والصغيرة المحايدة يجب أن ينتج زيجوتات تستطيع الإستفادة من الجينات النووية التى دخلت فيها من الخميرة المحايدة وتتنفس تنفساً عادياً. وهذا ما وجد فعلاً، فالزيجوتات الثنائية وكذلك المستعمرات الثنائية الناتجة من هذه الزيجوتات تؤدى تنفسها طبيعياً وذات حجم عادى ولكن عندما تتجرثم هذه المستعمرات الثنائية فإن صفة الصغيرة تعود للظهور بنسبة ١:١ كما هو متوقع على الأساس المندلى. وحيث أن السلالات المحايدة تحمل العوامل الوراثية العادية لإنزيمات التنفس فإن العامل الستويلازمى الذى يسبب ظهور صفة "الصغيرة المحايدة" يبدو أنه مستقل نسبياً عن تحكم النواة.

وقد وجد أن معاملة السلالات العادية بجرعات قليلة من الاكريفلافين (الذى لا يؤثر على النواة) أدى إلى ظهور خميرة صغيرة بمعدل مرتفع مما يؤيد أنها تخضع لتأثير عوامل لا كروموسومية، ومن المعروف الآن أن االميتوكوندريا بها د ن أ خاص بها. ولوحظ أيضاً أنها تنقسم خلوياً وعليه فالإستمرارية الخلوية

للميتوكوندريا ووجود د ن أ بها يفسر الإستمرارية السيتوبلازمية للخميرة المحايدة والخميرة المثبطة.

وقد وجد أن د ن أ السيتوبلازم يختلف عن د ن أ النوى فى محتواه من الجوانين والسيتوزين وتسلسل القواعد، كما أنه أقل سمكا مما يؤيد أنه لا يحتوى الهستون. ويوجد د ن أ السيتوبلازم فى كلوروبلاستيدات النبات والطحالب وميتوكوندريا النبات والحيوان والكينيتوبلاست الشبيه بالميتوكندريا فى البروتوزوا الطفيلية، وفيما عدا بعض الإستثناءات فإن د ن أ السيتوبلازمى يشكل نسبة قليلة من د ن أ الخلية ويتكون من جزيئات حجمها بين ١٠×٧^{-١} وزن جزيئ فى الميتوكوندريا وإلى جزيئات أكبر مائة مرة كما فى الكلوربلاست. ويجب ملاحظة أن د ن أ الميتوكوندريا والكلوروبلاست ذو حلزون ويتكاثر بالطريقة شبه المحافظة.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٦-٣): رسم توضيحى للتلقيحات بين الخميرة العادية والصغيرة

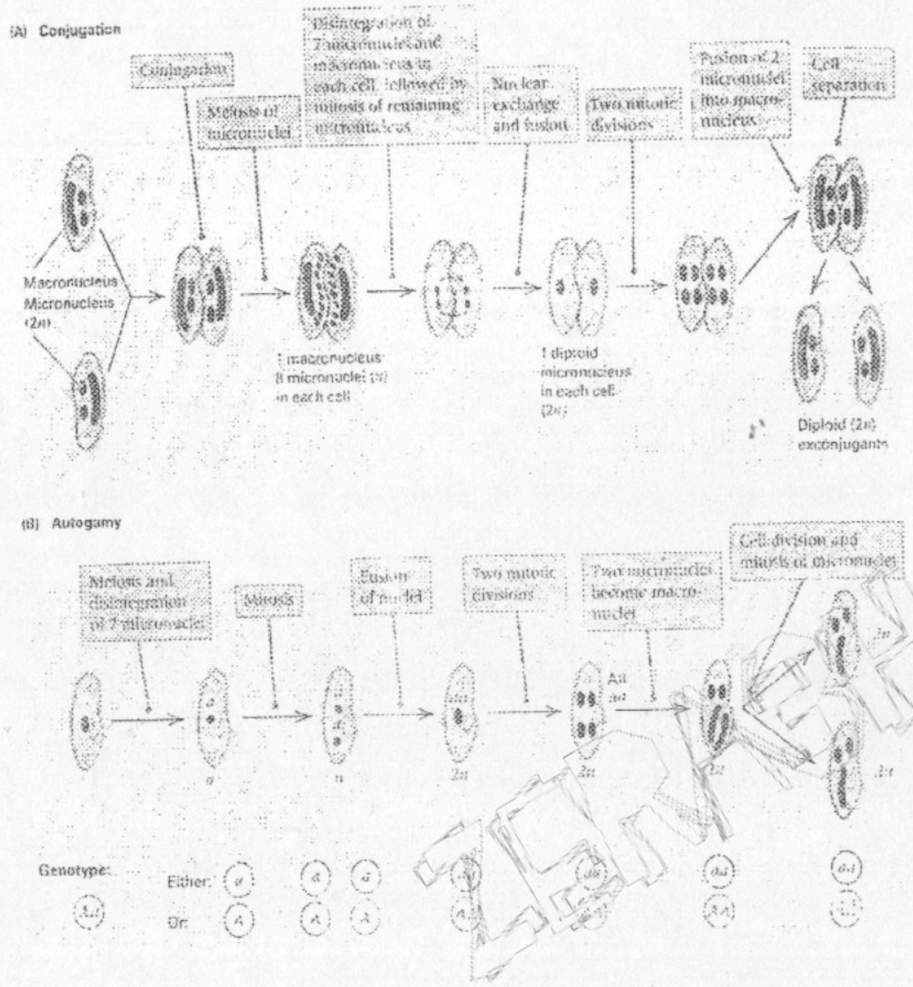
(٤) العلاقة بين توارث الجينات النووية واللانووية

قدمت الدراسات الوراثية التى اجريت على الحيوان الأولى وحيد الخلية المسمى براميسيوم اوريليا *Paramecium aurelia* الدليل على وجود علاقة بين العناصر الوراثية السيتوبلازمية و تلك الموجودة في الكروموسومات داخل النواه.

و البراميسيوم كائن اولي ثنائي المجموعة الكروموسومية (2n) والذي يقوم بعملية تكاثر جنسي من خلال ما يسمى عملية تزاوج متبادل conjugation (كما هو موضح في شكل ٦-٤ الشكل A) و فيه يتلاصق فردان من طرازين مختلفين كلا منهما 2n ثم تنقسم النواتين الصغيرتين الموجودتين في كل من الفردين المتزاوجين ميوزيا لتنتج عن ذلك ثمانية انويه تتلاشى سبعة انوية احاديه من الانويه الصغيره وكذلك الكبيره وتبقى نواه واحده و التي تنقسم بعد ذلك ميتوزيا لتنتج نواتين احاديتين 1n متماثلتين وراثيا. بعد ذلك يحدث تبادل لواحده من هاتين النواتين بين كل فرد من الفردين من خلال قناه سيتوبلازميه بين الفردين المتزاوجين ، وعقب التبادل تندمج كل نواتين احاديتين في كل فرد مع الاخرى مكونه نواه ثنائية المجموعه الكروموسوميه 2n ، تتمايز اثنتان من النوايات الاربعه الى نواتين صغيرتين والاثنتان الباقيتان تتمايزان الى نواتين كبيرتين وفي النهايه ينفصل الفردان المتزاوجان عن بعضهما البعض.

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

وهناك نوع اخر من التكاثر في البراميسيوم ويسمى تكاثر ذاتي ويطلق عليه اسم Autogamy (كما في شكل ٦-٤ الشكل B) وفيه يتم ايضا ان تنقسم النواتين الصغيرتين الموجودتين في كل من الفردين المتزاوجين ميوزيا لتنتج عن ذلك ثمانية انويه تتلاشى سبعة انوية احاديه من الانويه الصغيره وكذلك الكبيره وتبقى نواه واحده و التي تنقسم بعد ذلك ميتوزيا لتنتج نواتين احادتين 1n متماثلتين وراثيا ليندمجا معا لينتج نواه ثنائية العدد الكروموسومي 2n و التي بعد ذلك تنقس ميتوزيا لتعطي اربعة انويه وكذلك نواه كبيره من جديد والتي يحدث بها اختناق في المنتصف ثم بعد ذلك يحدث اختناق للخليه لتكون خليتين كلا منهما 2n وتكمن فائدة عمليه ال Autogamy انها تعطي أفراد متماثلةجنسيا homozygous حتى لو كانت الأفراد فى الأصل heterozygous وذلك لان الخليتين فى النهاية ناتجتين من نواة واحدة صغيرة حدث بها انقسام ميتوزى.



شكل (٦-٤): طرق تكاثر الجنسي والذاتي في البراميسيوم أوريليا

من اكثر الامثله التى توضح العلاقة مابين الجهاز الوراثى النووى والجينات اللانووية الموجودة فى السيتوبلازم هو توارث جسيمات كابا فى البراميسيوم

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

وجسيمات كابا هذه توجد فى السيتوبلازم ولها القدره على التكاثرالذاتى وهى تفرز فى المياه التى يعيش فيها البراميسيوم مادة تسمى البراميسين Paramecin والتى تسبب فى قتل اى افراد من سلاله اخرى خالية من جسيمات كابا وتسمى هذه الاقراد بالافراد الحساسه Sensitive اما الافراد الاخرى والتى بها جسيمات كابا تسمى بالقاتله Killer ، والمسئول عن توارث جسيمات كابا من جيل الى أخر هو الاليل السائد للجين النووي K الموجود فى النواة.

وعند حدوث عملية التكاثر الجنسى المتبادل Conjugation مابين افراد قاتلة ذات تركيب وراثى KK والتي يحتوي سيتوبلازمها على جسيمات كابا مع افراد حساسه ذات تركيب وراثى kk والتي لا يحتوي سيتوبلازمها على جسيمات كابا فإن نواتج هذا التزاوج يتوقف على حدوث او عدم حدوث تبادل سيتوبلازمي (كما هو موضح في شكل ٦-٥).

اولا) في حالة عدم حدوث تبادل سيتوبلازمي (الشكل A) تكون النسبة المتوقعه من هذا التزاوج هي ١ قاتل ذو تركيب Kk : ١ حساس ذو تركيب Kk ايضا ، وعند حدوث تكاثر لاجنسي Autogamy لكلا من الفردين فإن الفرد القاتل Kk ينتج فردين احدهما KK قاتل و ذلك لوجود الاليل السائد K المسئول عن توارث جسيمات كابا الموجوده في سيتوبلازم هذا الفرد والاخر فرد حساس kk (مع

ملاحظة ان هذا الفرد في البداية يكون قاتل ولكنه ما يلبث ان يكون حساس لعدم وجود الاليل السائد K) ، اما في حالة الفرد الاخر الحساس ذو التركيب Kk فإنه ايضا يعطي فرين كليهما حساس احدهما ذو تركيب kk و الاخر ذو تركيب KK (وعلى الرغم من وجود الاليل السائد K الا انه لعدم وجود جسيمات كابا في السيتوبلازم يكون الفرد حساس).

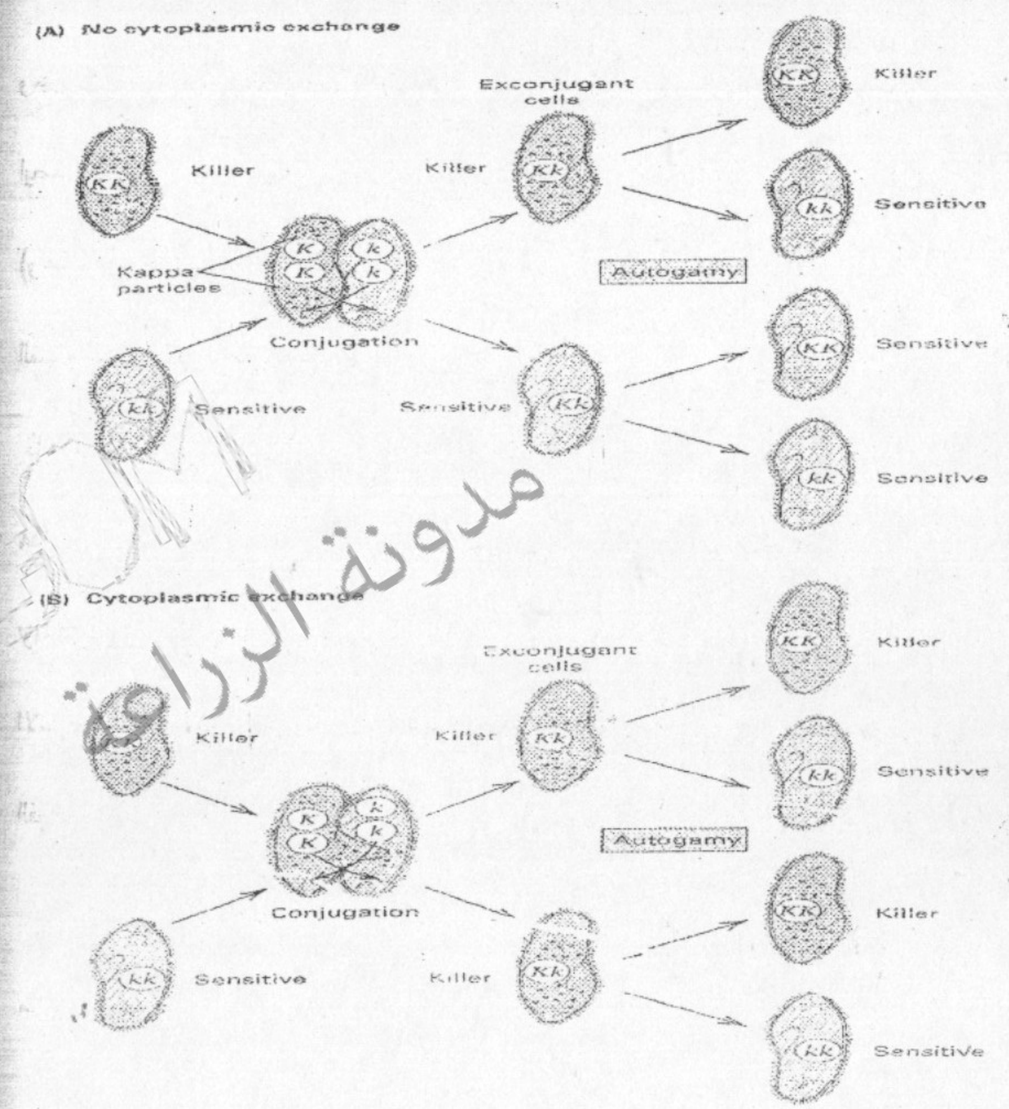
ثانيا) في حالة حدوث تبادل سيتوبلازمي (الشكل B)) تكون النسبة المتوقعه من هذا التزاوج هي ١ : ١ وكلها قاتلة ذو تركيب Kk ، وعند حدوث تكاثر لاجنسي Autogamy فإن الفردين يعطي كلا منهما فردين احدهما KK قاتل و ذلك لوجود الاليل السائد K المسئول عن توارث جسيمات كابا الموجوده في سيتوبلازم هذا الفرد والاخر فرد حساس kk و الذي يكون في البداية قاتل ولكنه ما يلبث ان يكون حساس لعدم وجود الاليل السائد K.

من هذا كله يتضح لنا الحقائق التاليه:

١- جسيمات كابا لا يمكنها التكاثر والانتقال من جيل الى أخر إلا في وجود الجين النووي K.

٢- الجين النووي K لا يمكنه تخليق جسيمات كابا جديده في افراد خاليه من هذه الجسيمات.

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com



شكل (٦–٥) توارث جسيمات كابا في البراميسيوم أوريليا في حالة فترة تزاوج لا تسمح بتبادل سيتوبلازمي (A) او فترة تزاوج تسمح بتبادل سيتوبلازمي (B)

تأثير الام Maternal Effect

على عكس الوراثة الامية أو الوراثة السيتوبلازمية والتى يتحكم فى ظهور الصفة عوامل وراثية مصدرها سيتوبلازم الام ، نجد ان فى حالات تأثير الأم مظهر الأفراد يتوقف على العوامل الوراثية التى مصدرها نواه (وليس سيتوبلازم) الأم وعليه فان الوراثة الأمية يكون مظهر الجيل الناتج دائما يحمل صفة الأم بينما فى حالات تأثير الأم فان الجيل الناتج دائما ما تظهر صفاته بناءاً على العوامل الوراثية الموجودة فى نواه الأم .

ومن أكثر الأمثله الداله على تأثير الأم هو صفة اتجاه الحلزنه فى صدفة قواقع الليمنيا *Limnaea peregra* والذى يتوقف على زوج واحد من الجينات وفيه الأليل السائد D للحلزنه اليمينيه (Dextral) أما الأليل المتنحى d للحلزنه اليسارية (Sinistral) ، وجد أن اتجاه الحلزنه للأجيال دائما تتوقف على التركيب الوراثى genotype للأم . كما هو مبين فى شكل (٦–٦) عند التلقيح ما بين أفراد ذات تركيب وراثى DD يمنية الحلزنه للأم و dd يسارى الحلزنه فان أفراد الجيل الأول F1 ذات تركيب وراثى Dd تكون يمينيه الحلزنه وذلك لان الأم كانت ذات تركيب DD ، وفى تلقيح أخر ما بين أفراد ذات تركيب وراثى dd يساريه الحلزنه للأم و DD يمنى الحلزنه للأب وعلى الرغم من أن أفراد الجيل الأول أيضا ذات

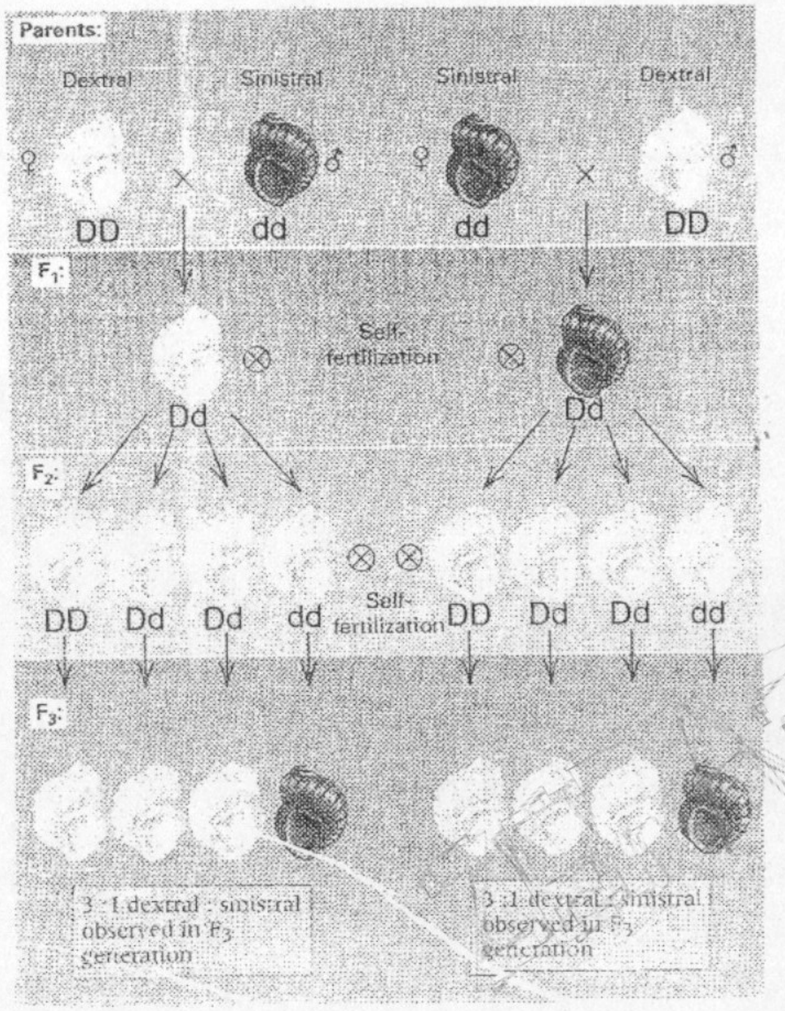
مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

تركيب وراثى Dd ولكنه فى هذه الحاله يكون يسارية الاتجاه وذلك لأن الأم كانت ذات تركيب وراثى dd .

وعند التلقيح الذاتى لأفراد الجيل الأول F1 ذات التركيب الوراثى Dd فان نـواتج التلقيح فى الجيل الثانى F_2 تعطى نـسبه 1 dd : 2 Dd : 1 DD وكـل هـذه الأفراد تكون يمنيه الحلزنه بالرغم من وجود افراد ذات تركيب dd وذلك لان الأم كان تركيبها الوراثى Dd وعليه فان اتجاه الحلزنه فى الأفراد ذات التركيب dd لا يعتمد على التركيب الوراثى للفرد وانما اعتمد على التركيب الوراثى للأم .

عند اجراء التلقيح الذاتى لافراد الجيل الثانى F2 يعطى افراد الجيـل الثالـث F3 والذى تكون نسبه الأجيال فيها ٣ منها يمنيه الحلزنه : ١ منها يسارية الحلزنه .

وعليه فان هذه الحالة التى لا يعتمد فيها مظهر الفرد على تركيبه الوراثى بل على التركيب الوراثى للأم التى نشأ تسمى بظاهرة سبق التعيـين Predetermination ولما كان الانعزال كما فى المثال السابق تم فى الجيل الثالث لذا تسمى هذه الحالـه بالانعزال المتأخر Delayed Segregation .



شكل (٦-٦): توارث صفة اتجاه الحلزنة في صدفة قواقع

الليمنيا *Limnaea peregra*

www.zera3h.com
zera3h

الباب السابع

التكشف والتمايز

Differentiation and Development

معنى التمايز Differentiation

يتكون جسم الكائن الحى من خلايا (وحيدة الخلية أو ملايين الخلايا). كل خلية لها وظائف محددة تساهم فى العمليات الحيوية اللازمة لحياة الكائن ونموه. وهذا التخصص الوظيفى يتوقف على موقع الخلية فى جسم الكائن. ومن ثم فإن دراسة التكشف أو التمايز هى محاولة لتفسير عملية التخصيص الوظيفى. ثم نمو الأعضاء المتكشفة لتكوين الكائن الكامل Development.

وتعد دراسة التكشف أو التكون من وجهة النظر الوراثية هى عبارة عن دراسة عمل الجين والتفاعلات بين الجينات وبعضها أثناء عملية التكون. ويعتمد عمل الجين على التفاعل بين تأثيرات كل من النواة والسيتوبلازم والعلاقات بين الخلايا. وكان أول إثبات لأثر الجينات فى التكون والتكشف (أو التمايز) هو تجربة Boveri (١٨٩٣) الذى لقح بويضات عادية وبويضات منزوعة النواة من أحد أصناف حيوان قنفذ البحر (sea urchin) بحيوان منوى من صنف آخر فكانت الهجن الناتجة فى الحالة الأخيرة أحادية (Haploid) تشبه تماماً الأب بينما الهجين الثنائى (Diploid) كان وسطاً بين الأبوين مما أثبت وجود العوامل المحددة للتكون فى النواة.

خطوات عملية التكشف :

يتم تكوين الكائن الحى على مرحلتين أساسيتين، الأولى هى الانقسام لانتاج خلايا جديدة تتخصص وظيفياً، والثانية هى نمو الأعضاء المتكشفة. وخطوات التكشف ليس من الضرورى أن تنفصل عن بعضها فى المكان أو الزمان. ولكن خطواتها تتسلسل كالآتى :

١- **الانقسام لإنتاج خلايا جديدة:** فى معظم الأحيان يتم الإنقسام فى النبات فى خلايا منطقة المرستيم .

٢- **النمو والتضخم :** حيث تكبر الخلايا الجديدة فى الحجم .

٣- **التكشف :** حيث تتخصص الخلايا فى وظائف معينة .

ويجب إدراك أن التكشف قد لا يكون نهائياً، بمعنى أن بعض الخلايا المتخصصة قد تتحول إلى مسار تخصص آخر. مثال ذلك طبقة البشرة الهوائية فى النبات تعتبر متخصصة، غير أن بعض خلاياها تتحول لتنتج الثغور Stomata والبعض الآخر يتحول لينتج الشعيرات الغدية. وعموماً فإنه ينتج عن التكشف تكوين خلية أو مجموعة خلايا لها تخصص معين .

أهمية التكشف :

ربما لا تكون هناك حاجة للتكشف والتمايز لو أن الكائن الحى يعيش كخلية واحدة أو مجموعة خلايا فى بيئة ثابتة لا يحدث فيها تغييرات فى درجة الحرارة والرطوبة مثلاً وبالتالى فليس هناك داع للتغير لموائمة البيئة، ولكن حقيقة الأمر أن البيئة تتغير باستمرار ولذا لزم للكائن الحى أن يتوافق مع هذه التغيرات البيئية ليحافظ على حياته والأمثلة على ذلك عديدة ومنها:

www.zera3h.com
zera3h

١- الاختلاف بين تركيب جذع الشجرة والجذر.

٢- تحوصل وجفاف الطحالب وحيدة الخلايا.

٣- التحول من النمو الخضرى إلى المراحل الجنسية.

مستويات التكشف والتمايز:

١- مستوى الـ د ن أ (DNA): كل خلية تحتوى على جميع المعلومات الوراثية ولكن جزء منه فقط هو الذى يتم التعبير عنه.

٢- مستوى الكيمياء الحيوية Biochemical: خلايا عضو معين تختص بإنتاج مواد كيماوية معينة كالإنزيمات والبروتينات والكربوهيدرات والصبغات وهكذا طبقاً لما تحتاجه وظائف الخلية.

٣- المستوى التركيبى Structural: حيث يتم تحديد التغيرات فى الشكل والمكان والتى تحدث أثناء التكشف على مستوى الخلية. وتفيد دراسة التركيب والتشريح فى فهم تعقيدات الخلية وسلوكها.

الخلايا غير المتكشفة Undifferentiated Cells:

يمكن اعتبار خلايا المرستيم فى النبات على أنها خلايا غير متكشفة حيث أنها تنتج باقى أعضاء النبات المتخصصة. فمرستيم الجذر ينتج الجذر والمرستيم القمى ينتج الأفرع والأزهار والأوراق. غير أنه يمكن اعتبار النشاط المرستيمى تخصص فى حد ذاته.

ويمكن عزل الخلايا النباتية وزراعتها على بيئات صناعية لتصبح غير متكشفة وتنتج Callus ثم يعاد تكشفه بمعاملات مختلفة مثل إضافة منظمات نمو نباتية مثل الأوكسينات Auxins والسيتوكينينات Cytokinins وتسمى هذه الظاهرة Totipotency .

أما الخلايا الحيوانية عامة فإن إستزراعها على بيئات صناعية لا يمكن من إعادة تكشفها إلى كائن كامل، وإن كانت هناك بعض الحالات أمكن فيها تكوين أعضاء أخرى ذات تخصصات مختلفة.

حديثاً كان لنجاح استنساخ الشاه دوللى فى عام (١٩٩٧) دور كبير فى إمكان إعادة تشكف الخلايا الحيوانية لإنتاج حيوان كامل التكوين. وتعتمد هذه التقنية على زراعة نواة خلية جسدية (٢ ن) فى بويضة منزوعة النواة، ثم استزراع هذه البويضة فى رحم شاه أخرى تستطيع الحمل حتى الولادة . وقد تطورت أبحاث الاستنساخ بسرعة كبيرة فى خلال السنوات القليلة الماضية لتشمل العديد من الحيوانات الأخرى وآخرها الأبقار والخنازير ثم القرود والإنسان (؟؟). وفى عام ٢٠٠٢ أمكن إنتاج نسيج كامل من بويضة غير مخصبة للفأر وأخيراً لحيوان بدائى هو Macaque، ثم زراعتها فى الأنبوب بعد معالجتها بمركب كيميائى يشبه مكونات الحيوان المنوى كيميائياً لتنتج خلايا جذعية (Stem cells) . هذا النجاح يشير إلى إمكانية تنمية خلايا باستطاعتها إنتاج أنسجة بدون اللجوء إلى عملية الكلونة والاستنساخ التى تتضمن تدميراً وقتل أجنة بشرية. وقد تفيد هذه الأنسجة مستقبلاً فى علاج العديد من الأمراض مثل خلايا البنكرياس المريضة والتى تؤدى إلى مرض السكر، أو خلايا الأعصاب. وهذه الخلايا والأنسجة تنمو بطريقة تشبه التوالد البكرى Parthenogenesis وتسمى فى هذه الحالة Parthenotes إلا أنه برغم نجاح هذه التقنية فى إنتاج بعض خلايا وأنسجة

www.zera3h.com
zera3h

الأعصاب معملياً، فإن نجاحها غير مضمون بصورة كاملة حتى هذه اللحظة نظراً لأنها تخلو من كروموسومات الذكورة التى لها تأثير هام فى عملية النمو والتكشف وهذا بالتالى قد يؤدى إلى عدم ضمان عمل هذه الأنسجة بصورة طبيعية عند استزراعها فى الحيوان أو الانسان المريض لعلاجه.

ونود أن نشير إلى أنه حتى الآن لم يتم تأكيد حقيقة استنساخ مولود بشرى. وحتى لم تم ، فإنه لمثل تلك الأبحاث يجب وضع بروتوكول دولى على مستوى العالم يوضح القواعد والأخلاقيات التى يجب أن تحكم هذه البحوث وآثارها الشرعية والدينية والاجتماعية على البشرية جمعاء ، والاجراءات والقواعد والقوانين التى تتخذ فى حق من يقوم بها. وهناك دول قد منعت هذه الأبحاث وقررت تجميعها!!.

العوامل التى تؤثر على التكشف والتمايز :

(١) فعل الجين : Gene Action

مازالت ميكانيكيات تنشيط عمل جين معين فى بعض النظم الخلوية المحددة غير واضحة وسبب ذلك هو كثرة عدد الجينات المؤثرة فى التكشف. ففى الإنسان والفقاريات الأخرى هناك حوالى ٣٢ ألف جين يشفرون لبروتينات فى الجينوم ، مما يوضح مدى صعوبة دراسة التحكم الوراثى فى عملية معقدة ومتعددة المراحل مثل دورة حياة الكائن Ontogenesis. ولقد كان الإنسان والفأر أكثر الفقاريات خضوعاً للدراسات الوراثية. حتى أوائل التسعينات من القرن الماضى تم دراسة ٢٨١١ صفة من صفات الإنسان، منها ١٣٦٤ صفة استكملت دراستها و١٤٤٧ صفة كانت مازالت تحت الدراسة.

ولكن مع قرب إنتهاء مشروع دراسة الجينوم البشرى تغير الوضع تماماً. إن تقديرات نسبة الجينات التى تعرف وظيفتها ، أو تم استنتاجها ، تعتمد على دراسة الجينات (التتابعات) الشبيهة فى الكائنات التى درست كنماذج (جدول رقم ٧-١) ومعظم هذه الجينات لم يتم دراستها بصورة مباشرة فى النظم الحية. ويجدر ملاحظة أن الطاقم الجينومى لكل من الإنسان ونبات الأرابيدوبسس (*Arabidopsis thaliana*) يشتركان فى الكثير من الخواص مع جينومات الكائنات الغير مميزة النواة (Prokaryotes)، لكن الفروق بين هذه الكائنات هى فى الحقيقة موضع الاهتمام وذلك لأسباب تطبيقية أهمها كشف الوظائف الحقيقية لبعض الجينات وخاصة تلك المسئولة عن عمليات التكوين والتكشف.

جدول رقم (٧-١)

الكائن الحى	عدد الجينات	نسبة الجينات ذات الوظيفة المستنتجة
بكتريا *E. colei*	٤,٢٨٨	٦٠
الخميرة *S. cerevisiae*	٦,٦٠٠	٤٠
نيما تودا *C. elegance*	١٩,٠٩٩	٤٠
الدروسوفلا *D. melanogaster*	١٣,٦٠١	٢٥
نبات الأرابيدوبسيس *Arabidopsisthaliana*	٢٥,٤٩٨	٤٠
الفأر *Mus musculus*	١٠٠,٠٠٠-٦٠,٠٠٠	١٠-١٠
الانسان *Homo sapenes*	١٠٠,٠٠٠-٦٠,٠٠٠	١٠-١٠

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

ولقد اتضح من نتائج دراسات مشروع الجينوم أن عدد جينات الكائن الحى ليس هو العامل الوحيد الذى يؤثر فى تكوينه لكن كيفية عمل هذه الجينات تلعب دوراً هاماً. وذلك لأنه ثبت أن الجين يوجد متقطعاً بفعل الإنترونات وأن هذا التقطع يسمح ببناء العديد من البروتينات من نفس الجين وذلك من خلال التوافيق والتباديل المختلفة بين الإكسونات . وبناء على ذلك فإنه يبدو حالياً أن حوالى ٣٥% من جينات الإنسان يمكن قراءتها بعدة طرق. وبذا فإن الجينوم البشرى قد يشفر إلى عدد من البروتينات يصل إلى خمسة أضعاف البروتينات فى الجينوم الأقل مرونة لكائنات مثل الدروسوفلا والنيماتودا.

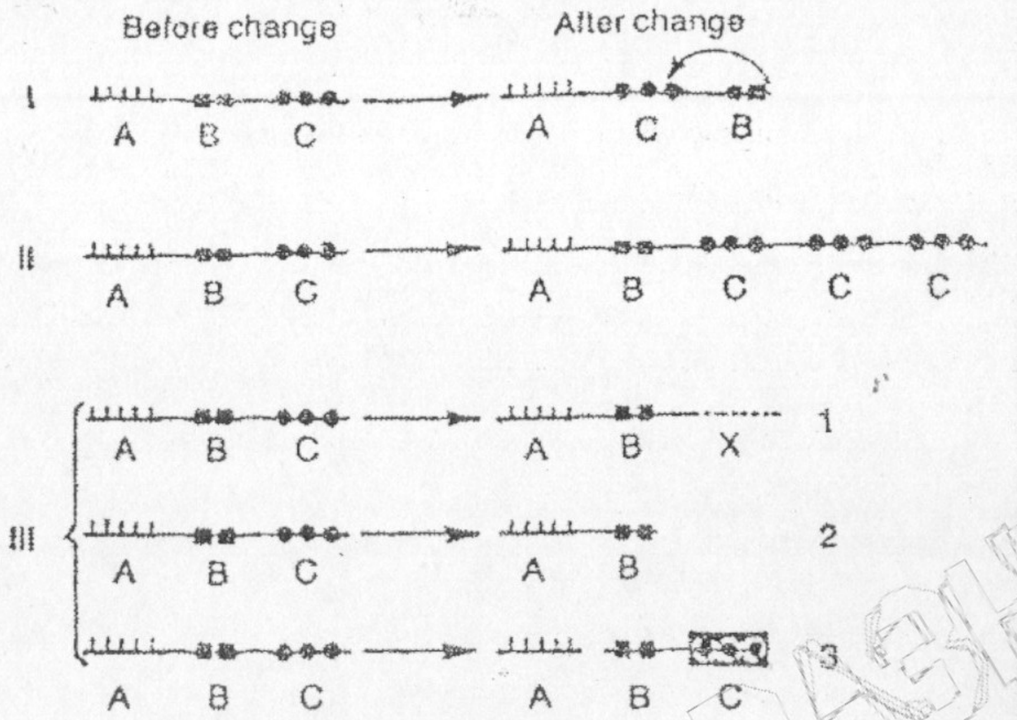
المعلومات المتوفرة حالياً تؤكد نسبة كبيرة من التشابه فى تأثير الجينات الشبيهة (Homologous genes) فى الإنسان والأنواع الأخرى من الفقاريات بل والكائنات الأخرى كالنبات مثلاً وهذا يؤكد قانون Vavilov (١٩٢٢) الذى ينص على أنه "كلما زادت درجة القرابة التطورية (Evolutionary) بين الأنواع، كلما زاد عدد جيناتها الشبيهة" وبناءاً عليه فإن دراسة أحد هذه الجينات فى أحد الأصناف أو الأنواع، تلقى الضوء على أثر هذا الجين فى الكائنات الأخرى وخاصة القريبة منه. ويزداد تأكيد هذا القانون بالتقدم المستمر والمتسارع فى علوم الجينوم مثل Genomics والـ Proteomics وغيرها.

بالإضافة فإن عمل الجين والتغيرات التى تؤثر على نشاطه تزيد الموقف وضوحاً. وهناك ثلاث أنواع من التغيرات الجينية (كما فى شكل ٧-١) هى :

أ- تغيرات فى موقع الجين .

ب- تغيرات فى عدد الجينات.

ج - تغيرات فى نوعية الجين (Qualitative) : ومنها الطفرة، والحذف، والتثبيط الغير رجعى (Irreversible inactivation)



شكل (٧-١) : أنواع التغيرات الجينية التى تؤثر على عمل الجين

ويوضح الشكل (٧-١) ثلاث أنواع من التغيرات المستديمة فى الـــد ن أ والتى تؤثر على نشاط الجين. جزء من الكروموسوم يحتوى على الجينات A ، B، C. النوع I – تغييرات فى موقع الجينات، II- تغييرات فى عدد نسخ جين معين (Amplification)، III- تغييرات نوعية فى تركيب الجين ذاته. التغير فى المعلومات المشفرة على الجينات: (1) طفرة (2) نقص (3) تثبيط غير مرتد. والتثبيط غير الرجعى للجينات لا يؤدى إلى تغييرات نوعية فى تركيب الجين.

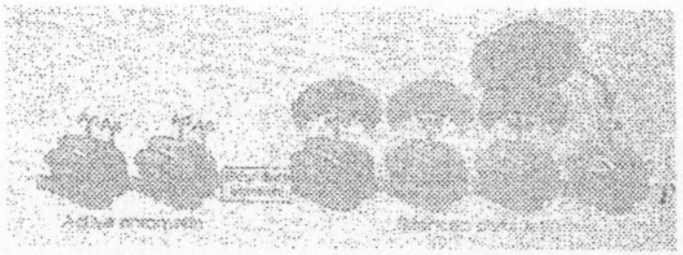
www.zera3h.com
zera3h

وهذا النوع من التغييرات تم توضيحه فى الشكل حيث أن نتائج تثبيط الجين لا يمكن التفريق بينها وبين الطفرات أو النقص فى داخل الخلايا الجسمية.

كما يتأثر فعل الجين بظاهرة الوراثة الفوقية Epigenetics. يمكن تعريف الوراثة الفوقية Epigenetics بأنها أى نشاط يتحكم فى تنظيم عمل الجين دون أى تغيير فى شفرة الدنا (DNA) والذى يستمر لجيل أو أكثر من جيل. ففى السنوات الأخيرة أثبت الباحثين أن عمل الجين يتأثر بالبروتينات التى تحيط بالدنا وتعبئة فى صورة كروماتين ، أى معقد البروتين + الدنا الذى يساعد المادة الوراثية الكبيرة (الجينوم) على الالتفاف داخل النواة، ويتم ذلك بتواسطة بعض الأنزيمات التى تحور كلاً من البروتينات والدنا نفسه ، بل أن الرنا (RNA) يلعب دوراً فى ذلك أيضاً. هذه البروتينات والرنا تتحكم فى نماذج التعبير الجينى التى تورث إلى الأجيال المتتالية . وبناء على ذلك فإن تعريف وحدة الوراثة (أى الجين) يمكن أن يمتد إلى ما وراء مجرد التتابع النيوكليوتيدى الى التحورات الفوق وراثية لهذه التتابعات. تعد ميثله الدنا (DNA methylation)، أى إضافة مجموعة ميثيل إلى نيوكليوتيدات السيتوزين، هى أحد هذه التحورات التى تؤدى إلى وقف التعبير الجينى. فقد ثبت أن الجين *P16* الذى يثبط تكوين السرطانات فى الإنسان لا يعمل عند وجود الكثير من مجموعات الميثيل مرتبطة به. وعند معاملة الخلايا السرطانية بمادة مزيلة لمجموعات الميثيل فإن الجين يعمل ويعبر عن نفسه مما يؤدى إلى وقف نمو الخلايا السرطانية . وقد وجد بعد ذلك أن ميثله الدنا قد تتم فى جينات المحفز القريبة من الجينات المثبطة للسرطان. وهذا يوضح أن هناك سبب آخر لنمو الخلايا السرطانية غير الطفرة.

وتحدث الميثلة أيضاً فى البروتينات الهستونية المكونة للجسم المركزى فى النيوكليوسوم. ويتم ذلك بواسطة أنزيم يقوم بإزالة مجموعة الاسيتيل من بروتين

الهستون وإحلال مجموعة ميثيل مكانها. وعندما يتم ذلك فى البروتين H_3 فإن بروتيناً آخر إسمه HP_1 يرتبط بمجموعة الميثيل فيمنع ارتباط عوامل النسخ مما يؤدى إلى عدم حدوث عملية النسخ فيتوقف التعبير الجينى . ويوضح الشكل (٧-٢) التغيرات الكميائية فى الكروماتين .



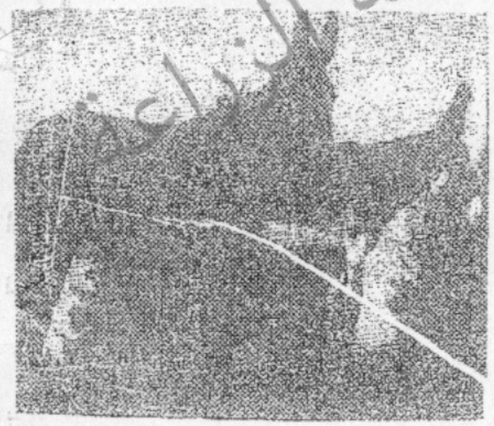
شكل (٧-٢) : كيمياء الكروماتين. التحورات الكيميائية؛ إضافة مجموعة أسيتيل (Ac) أو مثيل (Me) إلى البروتينات الهستونية تحدد ما إذا كانت الجينات على الـد نا المحيط بها نشطاً أم لا. بروتين Hp_1 هو بروتين يمنع النسخ

والسؤال الآن ما هو العامل الذى يحدد الموقع (الجين) الذى تتم فيه عملية الميثلة والمواقع التى لا تتم فيها الميثلة؟ والإجابة تكمن فى وجود إمتداد من تتابع نيوكليوتيدى متكرر مكون من السيتوزين والجوانين بالتبادل GpC . هذا الامتداد النوكليدى يحوى موقع إرتباط بروتين اسمه CTCF ويشكل حدود كروموسومية بين الجينات (Boundaries). عندما يرتبط CTCF بهذا التتابع فإنه يعزل الجينين المتجاورين على جانبيه ويمنع إرتباط الجين المنشط (Enhancer) بالجين المحفز (Promotor) مما يؤدى إلى وقف عمل الأخير وبالتالى عدم نسخ الجين التركيبى الخاص به. وفى نفس الوقت فإن الجين المنشط يستطيع أن يرتبط بمحفز الجين التركيبى الموجود على الجانب الآخر من منطقة الحدود (Boundary) المكونة من CpG مما يؤدى إلى عمل المحفز الثانى فيتم نسخ الجين التركيبى الخاص به (شكل ٧-٣). والحالة التى يكون عليها هذين الجنين الموجودين على جانبى منطقة

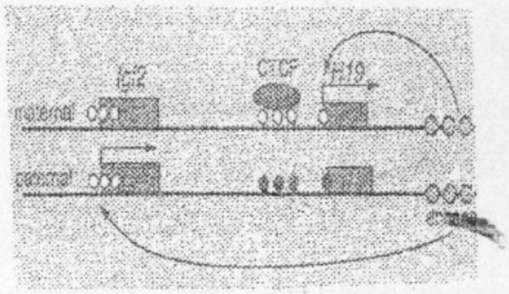
www.zera3h.com
zera3h

CpG تشكل بصمة أو طابع (imprint) خاص بأحد الأبوين ويتم توريثها من جيل إلى الآخر. هذا يفسر عدة ظواهر. أفضل مثال لإحدى هذه الظواهر هو الفرق بين البغل والسيسى رغم أنهما ينتجان من التهجين بين الحصان والحمار ولكن النوع الى يمثله أحد الأباء يحدد ، ما إذا كان الناتج بغل أم سيسى. فإذا تم التلقيح بين مهرة (أنثى الحصان) وذكر الحمار كان الناتج بغل. وإذا تم التلقيح بين ذكر الحصان وأنثى الحمار كان المولود سيسى بما يميزه من أذان أصغر وجسم وذيل أصغر (مضغوطين) وأرجل أقوى من البغل (شكل ٧-٤).

والجدير بالذكر أن ظاهرة الوراثة الفوقية Epigenetics تحدث فى المملكة الحيوانية والمملكة النباتية وفى الخلايا البدائية Protozoa.



شكل (٧-٣): الطابع الأبوى (Imprint)



شكل(٧-٤): مثال عملى لتأثير الطابع الأبوى (imprint) فى نتائج التهجين بين الحصان والحمار

(٢) إستبعاد الأليلات : Allelic Exclusion:

يتحكم فى استحثاث تخليق كل من السلسلتين الخفيفتين والسلسلتين الثقيلتين للجسم المضاد زوجين من الجينات ذات السيادة غير التامة (Codominant) لأن ناتج كل أليل يكون موجود فى الحالة الخليطة غير المرتبطة وعلى كروموسومات جسمية. وتؤكد المعلومات المتوفرة أن واحداً فقط من أليلات كل جين يتم تنشيطه فى كل خلية ليمفاوية ناضجة وتسمى هذه الظاهرة إستبعاد الأليلات. إلا أنه فى إحدى الخلايا الليمفاوية المزروعة فى الأنبوب (In vitro) لوحظ تخليق كلتا السلسلتين الثقيلتين . وأكد العلماء أنه فى مزارع الخلايا الليمفاوية أن الأليل الغير فعال فى خلايا جسم الكائن الحى (In vivo) يكون فعالاً فى مزرعة الخلايا.

وقد ثبت أيضاً أن الاستبعاد الأليلى لتعبير جينات الجلوبين التحصينية يكون غير مرتبط بإنعزال الكروموسومات. ويحدث استبعاد الأليلات على مستوى النسخ Transcription فى هذه الخلايا. كما وجد أن استبعاد الأليلات يظهر بوضوح فى الصفات المحمولة على كروموسومات الجنس (X) مثل صفة لون الشعر حيث فى الإناث (XX) يظهر أثر واحد فقط من الأليلات المحمولة على أحد كروموسومى (X).

(٣) تفاعل الجينات Interaction of Genes:

قوانين مندل تفسر المظهر الخارجى (Phenotype) على أنه ناتج عمل الجين. ولكن الأبحاث التالية لتلك الفترة تعمقت أكثر لتؤكد أن الشكل المظهرى للكائن الناضج لا يمثل مجموعة صفات يتحكم فيها جينات منفردة ولكنه يعتبر كناتج للتفاعل بين عدة جينات أثناء تطور الكائن وخلال دورة الحياة Ontogenesis. بل فى المراحل المتقدمة من النمو يصبح المظهر الخارجى نتيجة تفاعل بين أعضاء أو أجزاء متكشفة. ويجب ملاحظة أن السيادة (Dominance)

www.zera3h.com
zera3h

والتنحى (Recessiveness) لها معنى فقط عند دراسة صفة محددة أو مظهر محدد. التنحى لا يعنى غياب أو عدم فعالية الأليل ولكنه يعنى أن الناتج النهائى، بروتين مثلاً أو إنزيم، لا يعمل بنفس الكفاءة ففى حالة الأنيميا المنجلية فإن المرض يورث كصفة متنحية فى حين أن الصفة نفسها تورث كصفة سائدة حيث انها تظهر أيضاً فى الأفراد الخليطة.

(٤) تعدد أثر الجين الواحد Pleiotropy:

أحياناً يؤثر الجين الواحد فى أكثر من صفة. وعادة يكون الجين له أثر رئيسى وأثر ثانوى. مثال لذلك الجينين المتنحيين r ,x فى حيوان سمندل المكسيك (حيوان بحرى) ولهما تأثير متشابه حيث يؤثران بالذات على تكوين الخياشيم والأطراف وفى نفس الوقت يتحكمان فى موت الحيوان الأصيل (homozygoue) فى نفس مراحل النمو والتطور تقريباً. وقد سبق الإشارة ، عند الحديث عن عمل الجين ، إلى أن الجين الواحد قد يشفر لأكثر من بروتين. وهذا يقدم أحد التفسيرات لتعدد أثر الجين الواحد .

(٥) تنظيم عمل الجين Regulation of Gene Action

إن فك شفرة المعلومات الوراثية يمر بمراحل متتالية كالآتى :

Transcription → Processing of mRNA → Translation → Post Translation

فى المراحل الأولى من تطور ونمو الجنين (embryogenesis) يكون التنظيم على مستوى المرحلتين الأولتين، بينما فى المراحل المتأخرة يكون التنظيم على مستوى المرحلتين الأخيرتين. وتكون إعادة الترتيب فى المكونات الأساسية للخلية (النواة والسيتوبلازم) هى السمه الأساسية فى المراحل الأولى لنمو الجنين. وفى أثناء فترة تخصص الخلية وتكوين الأعضاء يلعب التفاعل بين الخلايا دوراً رئيسياً بينما يكون أثر الهرمونات (أو منظمات النمو) فى مراحل تالية. وبالتالى

فإن أهمية العوامل المختلفة المؤثرة فى تنظيم عمل الجين غير متشابهة فى المراحل المختلفة من التكشف ودورة الحياة .

(٦) التفاعل بين النواة والستوبلازم Nucleo-Cytoplasmic Interaction

ثبت من تجارب Boveri أن النواة (وبالتالى الكروموسومات) هى المسئولة عن نمو وتطور الكائن وتأكد ذلك من تجارب عديدة تم فيها زرع نواة ثنائية فى بيضة ذات نواة غير نشطة (تم قتلها بالحرارة أو طرق أخرى) أو منزوعة النواة حيث كان الفرد الناتج يشبه الأب الذى تم استخدام النواة الحية منه. السيتوبلازم عادة يأتى معظمه من خلية البيضة وقليل منه من الحيوان المنوى. يلعب السيتوبلازم دور هام فى النمو فى المراحل الأولى من تكوين الجنين (Embryogenesis) وفى تنشيط المجموعة الأولى من الجينات خلال هذه المراحل التكوينية. سيتوبلازم خلية البيضة يحتوى على أنواع من البروتينات والـ ر ن أ وجزيئات أخرى عديدة أكثر تبايناً مما فى الخلية الجسدية Somatic cell . هذه الجزيئات المتباينة يتم تكوينها أثناء تكوين البويضة ولذا فهى ناتجة من الأم . مع إنقسام خلية الزيجوت تتوزع مكونات السيتوبلازم بين الخلايا الناتجة مما يؤدى إلى تباين السيتوبلازم . ولذا فقد إفترض لوقت طويل أن نشاط أو عمل الجين يتم التحكم فيه بواسطة السيتوبلازم . وقد ثبت هذا بالفعل حيث التجارب على البرمائيات (Amphibia) بالذات أثبتت أن تخصص الخلايا البلاستوميرية (Blastomeres) هو نتيجة التنشيط الإنتخابى Selective activation تحت تأثير عوامل عديدة فى سيتوبلازم البيضة.

والحال فى النبات يبدو أنه يشبه الحال فى الفقاريات إلى حد بعيد حيث أثبتت التجارب المماثلة بإستخدام البروتوبلاستات (الخلايا منزوعة الجدار الخلوى) بدلاً من البيضة الحيوانية ، نفس النتائج . كما ثبت أيضاً إنعزال وتوزيع مكونات

مدونة الدراعة
zera3h
www.zera3h.com

السيتوبلازم مثل البلاستيدات والميتوكوندريات بين الخلايا الهجينية عند إنقسامها بعد الإندماج الخلوى Protoplast fusion . وخير مثال للتفاعل بين النواة الوسيتوبلازم فى خلايا النبات هو أنزيم Fraction-1-protein حيث يشفر له جينات فى النواة تكون جزءاً منه ، هو تحت الوحدة الكبيرة ، وجينات من الكلوروبلاستات تكون جزءاً آخر منه ، هو تحت الوحدة الصغيرة ، وبإتحاد الجزيئين يتكون البروتين الأنزيمى وهو مسئول عن التمثيل الضوئى ويمثل ٥٠% من بروتينات الخلية النباتية .

(٧) التفاعل بين الخلايا Cell to Cell Interaction:

حيث تنتقل مكونات كيميائية من بعض الخلايا إلى خلايا أخرى . هذا هو أساس نظرية تدرج التركيز تسلسلياً Concentration Gradients" والمستحثات الجينية التى تسمى Embryonic Inductors . بينما الهرمونات تنتمى إلى مجموعة المواد التى تنتشر لمسافات بعيدة حيث تؤثر على تطور ونمو الكائن على فترة طويلة. هناك مجموعة مركبات تسمى مستحثات Inductors وتؤثر على عملية التطور خلال فترة الحياة Ontogenesis فى نفس موقع تخليقها (Local) وتقوم بعملها فى مرحلة معينة من التكشف أثناء تكوين الجنين . وتظهر هذه الظاهرة (Embryonic Inductors) خاصة خلال نمو الأنبوبة العصبية (Neural tube) ، الوعاء العديسى (Lens vesicle) والبرعم الطرفى (Limb bud) حيث يعمل الكوردامیزودیرم، والوعاء النظرى Optic vesicle والطبقة الأبطية المتوسطى Lateral mesoderm كمستحثات Inductors ، على الترتيب . بعض الجينات الخاصة بأنسجة معينة يتم تنشيطها كنتيجة للإستحثات . والإستحثات الأولى يتم عادة بواسطة مركبات بروتينية كما فى حالة الشريحة العصبية

(Neural plate) حيث تهاجر البروتينات من الكوردامیزودیرم إلى خلايا طبقة Ectoderm . كذلك فإن التفاعل بين الخلايا أو الأنسجة يتم فى إتجاه تبادلى . ومن الطبيعى أن الإتصالات بين الخلايا تتم عن طريق الفتحات الموجودة فى الأغشية الخلوية فى الفقاريات وغشاء البلازما فى النبات .

(٨) تأثير الهرمونات

كما سبق ذكره بالنسبة لتأثير الهرمونات فى تنظيم التعبير الجينى فى الخلايا الحيوانية فإنه ليس من الضرورى أن يظهر أثر الهرمون فى نفس موقع تخليقه ولكن قد يظهر فى مكان بعيد عنه . وهناك نموذجين (Models) لعمل الهرمونات ، الأول يخص الهرمونات الحيوانية من نوع Steroids مثل الأستروجين والبروجسترون وتعد منظم قوى لعمل الجين فى الخلية المستهدفة (Target) . إذ تمر هذه الهرمونات من غشاء البلازما حيث ترتبط ببروتين مستقبل (Receptor) فى السيتوبلازم فيتم تنشيطها ونقلها إلى النواة حيث ترتبط بموقع معين فى الكروماتين مؤدياً إلى نسخ جين معين . كما سبق الذكر فإن الهرمون المرتبط بالمستقبل Receptor protein-Hormone complex ترتبط بدورها بالهستونات فى الكروماتين أو بالدن أ مباشرة مسببة حدوث النسخ .

عند زراعة الغدد اللبنية للفئران فى بيئة صناعية *(In vitro)* ، وجد أنه لإستحثاث تعبير جينات إنتاج الكازين Casein genes كانت هناك ضرورة لفعل كل من هرمونى Prolactin وglucocorticoid معاً بينما أى منهما منفرداً لم يستحث نسخ هذه الجينات .

www.zera3h.com
zera3h

النموذج الثانى من كيفية عمل الهرمونات يخص الهرمونات متعددة البيبتيدات (Polypeptide) مثل Neuro Transmitters والـ Proteohormones حيث ترتبط بمواقع مستقبلة (Receptor sites) خارج الخلية أى تتعرف على الخلية كهدف (Target) . وهذا الإرتباط ينشط إنزيم ما (Adenylate Cyclase) على الجانب الداخلى من غشاء الخلية فيكون Cyclic AMP (cAMP) من AMP . بالتالى يعمل cAMP كرسول ثانى Second messenger لإستحثاث عدد من العمليات الحيوية إما على مستوى النسخ أو الترجمة أو ما بعد الترجمة (أى تعمل على تنشيط الإنزيم الناتج من الترجمة) .

تلعب الهرمونات أيضاً فى النبات دوراً هاماً فى التكشف والتمايز . وتنقسم الهرمونات النباتية إلى خمسة مجموعات رئيسية هى : الأوكسينات (تسبب إنحناء السويقة وإستطالة الخلايا) ، السيتوكينينات (تسبب الإنقسام الخلوى) ، الجبيرالينات (تسبب إستطالة الخلايا) ، الإثيلين (يسبب النضج والموت أحياناً) ، حمض الأبسيسك (يسبب السكون وإنغلاق الثغور والتساقط) .

وتختلف الهرمونات النباتية عن الهرمونات الحيوانية فى أنه بينما الأخيرة تعمل فى موقع (أو خلايا) بعيدة عن مكان إنتاجها فإن الأولى تعمل فى مكان تخليقها وقد تظهر آثار مختلفة بإختلاف نوع الخلية وإختلاف التركيز .

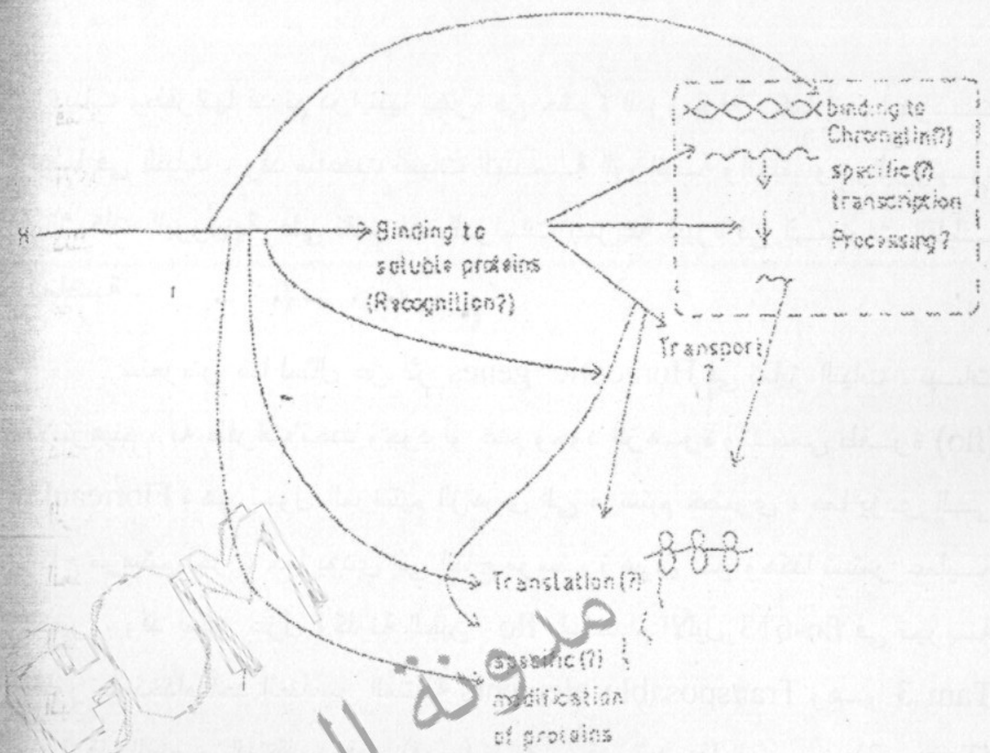
ويعتمد أثر الهرمونات النباتية ليس فقط على وجود أحدها منفرداً ولكن أيضاً على أثر وجود الهرمونات الأخرى أى على التفاعل بين آثارها المختلفة ولذلك فإن النسبة بين تركيز كل منهم والآخر تحدد تخصص وتكشف الخلايا . ولذا يفضل أن يطلق عليها منظمات نمو (Growth Regulators)

فمثلاً عندما ترتفع نسبة السيتوكينين/الأوكسين فى مزارع الأنسجة يؤدى هذا إلى الإنقسام وتكوين المجموع الخضرى . فإذا ما إرتفعت نسبة تركيز الأوكسين أدى ذلك إلى تكوين الجذور وهذا هو الأساس فى إعادة تكوين النباتات من خلايا معزولة فى مزارع الأنسجة لمعظم النباتات .

بالإضافة إلى أثر الهرمون فى التكشف النباتى فإن هناك عوامل أخرى ذات أهمية تختلف درجتها من نبات إلى آخر بل من عضو إلى آخر فى النبات الواحد وأهم هذه العوامل هى الضوء ودرجة الحرارة والمركبات عضوية والغير العضوية . وتشير الدراسات فى السنوات الأخيرة أن الميكانيكية الثانية لعمل الهرمونات فى الفقاريات والتى تعتمد على cAMP قد لا تستطيع تفسير عمل الهرمونات النباتية نظراً لعدم وجود كميات كافية منه أو من الإنزيم فى النبات .

أما الميكانيكية الأولى فإحتمال حدوثها أكثر نوعاً نظراً لتشابه بعض خطواتها بما يحدث فى النبات وإن كان هذا ليس أكيداً بعد . فقد أثبتت التجارب وجود مواقع إرتباط فى السيتوبلازم خاصة بالأوكسينات والسيتوكينينات والجيبرالينات والإثيلين . كما وجدت جزيئات كبيرة Macromolecules تؤثر فى تخليق الـ ر ن أ فى مزارع الخلايا . إلا أن الأدلة غير كافية (أو نادرة) لإثبات أن هذه الجزيئات ، والتى تم تعريفها كبروتينات ، لها وظيفة داخل الخلية فى جسم الكائن *(In vivo)* . بالإضافة إلى أن بعض الأوكسينات مثل 2,4-D يرتبط بالكروماتين مباشرة بدون وساطة الـ Receptor protein . ويوضح شكل (٧-٥) تفسيراً لميكانيكيات عمل الهرمونات النباتية .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com



شكل (٧-٥) : تفسير ميكانيكيات عمل الهرمونات النباتية

نظرية الكلونة Clonal Theory of Cell Differentiation:

تقوم هذه النظرية على أن المستعمرات الخلوية التى تنتج تركيبات أو أنسجة معينة ، يتم إنتخابها فى المراحل المبكرة من نمو الجنين . وبناء عليه فإنه فى حالة الخلايا الليمفاوية المنتجة للأجسام المضادة فإن إرتباط الأنتيجين بجسم مضاد على سطح الخلية الليمفاوية B يستحث الخلية للإنقسام منتجة عدداً كبيراً من الخلايا الليمفاوية B من طراز معين ، وعليه تنتج كمية كبيرة من الأجسام المضادة المعينة التى يمكنها التعارف على الأنتيجين الغريب . هذه النظرية أكثر

كفاءة فى تفسير العمليات المعقدة فى تطور الكائن أثناء دورة الحياة Ontogeny وليس لها تعقيدات أو نواقص كما فى النظريات الأخرى وخاصة نظرية النطاقات التركيبية Morphogenetic fields ونظرية تحديد المصير (Determination).

وفى النبات أيضاً تخضع الخلايا والأنسجة المكونة للنبات لنفس نظريات تحديد المصير إلى حد بعيد مع الوضع فى الإعتبار أن نتائج الأبحاث حتى الآن تعتبر أن تحديد المصير فى النبات يخضع لنظام تحكم غير متشدد أو أكثر مرونة (Coarse control) وقد ثبت ذلك من الدراسات على أثر الهرمونات (منظمات النمو) النباتية وخاصة فى مزارع الأنسجة حيث يمكن مثلاً إنتاج جذور من القمة المرستيمية للمجموع الخضرى Shoot tip .

أمثلة على التكشف والتمايز :

I- فى النبات :

أولا : تكشف العضيات الخلوية

١- البلاستيدات : تحتوى الخلية النباتية على بلاستيدات مختلفة فى الوظيفة فبعضها يقوم بتخزين الدهون والبعض الآخر مختص بتكوين الكلوروفيل وتسمى Chloroplast وكلهم ينشأ من بلاستيدة أولية Proplastid والتى تخضع لعملية تكشف تؤدى إلى إنتاج أحد الأنواع .

٢- الجدار الخلوى : ويوجد نوعين من الجدار الخلوى وهما الجدار الأولى Primary Cell Wall وهو مستمر فى النمو ورقيق ومرن (Elastic) وذات محتوى مائى عالى وتخترقه الـ Plasmodesmata . أما النوع الآخر فهو الجدار الثانوى Secondary Cell Wall وهو الجدار الذى توقف عن النمو ويعتبر متكشفة أو متخصص . وغنى عن الذكر أن التركيب الكيميائى من

www.zera3h.com
zera3h

حيث نوعية المكونات ونسبتها يختلف فى النوعين ، وكلا النوعين يمكن أن يتواجد فى خلية واحدة فى نفس الوقت ، حيث يكون الجدار الخلوى فى حالة نمو وتمدد فى جزء محدد منه وفى الجزء الآخر يكون الجدار كثيف . وخير مثال لذلك ما يحدث عند تكشف الأوعية الخشبية Xylem .

ثانياً : تكشف الأعضاء النباتية :

١- الجهاز الوعائى : ويراعى أن تكشف الجهاز الوعائى يختلف طبقاً للنسيج النباتى ففى الجذر يبدأ التكشف فى تتابع خطى رجعى من القمة . بينما فى الساق يكون التكشف إشعاعياً (Radial) ويعتمد على موقع الخلية فى القمة المرستيمية . الخلايا الداخلية تنتج الخشب والخلايا الخارجية تنتج اللحاء . وكذلك فإن هناك تباديل وتوافيق مختلفة لهذا النموذج .

٢- خلايا القلنسوة Root cap cells : وظيفتها حماية القمة النامية للجذر أثناء النمو وإختراق التربة .

٣- خلايا الغدد . ٤- الثغور . ٥- خلية حبة اللقاح . ٦- ظاهرة السكون .

ثالثاً : التكشف على المستوى الجينى

بالإضافة إلى ما سبق ذكره عن التعبير الجينى وأثره على التكشف والتمايز فإن الحديث هنا يتطرق إلى الـ Homeotic genes كمثال هام يوضح عملية التكشف . الـ Homeotic genes هى جينات تتحكم فى تمايز الأعضاء والكائنات (Morphogenesis) . والطفرات التى تحدث فى الـ Homeotic genes تسبب تحول تركيب تشريحى معين إلى تركيب تشريحى آخر. هذه

الجينات وطفراتها قد تم دراستها بكثرة فى حشرة الدروسوفلا، كما أنها درست أيضاً فى النبات . وقد ساعدت تقنيات الهندسة الوراثية والجينوم والبروتيوم والشبكات البروتينية على تقدم هذه الدراسات بسرعة كبيرة فى السنوات القليلة الماضية .

سنعرض هنا لمثال عن أثر Homeotic genes فى تمايز النبات . نبات الانترهينم به طفرات تحدد وجود أو عدم وجود الزهرة وتسمى طفرة (flo) Floricaula وهى تحول المرستيم الزهرى إلى مرستيم خضرى ، مما يؤدى إلى إنتاج مرستيم آخر ، مما يؤدى إلى إنتاج مرستيم زهرى آخر وهكذا تستمر عملية التغير . وقد أمكن عزل وكلونة الجين flo بإستخدام الأليل flo-613 فى تجربة طفور بإستخدام أحد العناصر المتنقلة Transposable elements وهو Tam 3 حيث قام العنصر المتنقل بحذف (قص) نفسه . وقد وجد هذا العنصر (Tam 3) مع جزيئات الحد نا النباتى المحيطة بالجزء المضاف (insertion) .

ب- فى الحيوان :

أولاً : Homeotic Genes

إن الدراسات الوراثية لحشرة الدروسوفلا ترجع إلى قرن مضى . أول طفرات التكشف والتمايز فى الدروسوفلا تم عزلها كحشرات لها تحورات فى الجسم . بعض هذه الطفرات قد سميت Homeotic وأدت إلى تحول كبير فى عضو من أعضاء الجسم إلى عضو آخر . فمثلاً طفرة Homeotic سائدة فى جين Antennapedia (Antp) سببت نشوء أرجل فى الرأس حيث كان يجب أن تتكون قرون إستشعار

www.zera3h.com
zera3h

معظم طفرات جينات التكشف والتمايز والتكون لا تسمح للحشرات ببلوغ مرحلة النضج. لذلك فإن سلسة من الدراسات الوراثية قد أجريت لتعريف الطفرات الجينية المميتة والتى عندما تكون فى حالة أصلية تؤدى إلى موت الجنين . وقد قسمت الدراسات الوراثية هذه الطفرات إلى ثلاث أنواع هى :

١- جينات التأثير الأمى Maternal Effect Genes : الطفرة تحدث فى أحد الجينات فى الحشرة الأم . هذا الجين يشفر لبروتين معين تنقله الأم إلى البيضة وهو يلزم لنمو الجنين . فإذا حدثت الطفرة فإن ناتج الجين لا ينتقل إلى البيضة فيؤدى إلى موت الجنين . هنا يجب ذكر أن الحشرة الأم لا تموت حتى إذا كان تركيبها الوراثى أصيل (homozygous) لأنها لا تحتاج إلى هذا البروتين وإنما الجنين فقط يحتاجه حتى ينمو

٢- جينات المقاطع Segmentation Genes : وتؤدى إلى تقسيم الجنين إلى ١٥ قطعة محددة كل منها تنمو إلى جزء مختلف من جسم الحشرة الناضجة

٣- Homeotic Genes : وقد سبق الحديث عنها .

ثانياً : تركيب الأجسام المضادة

يتحكم فى تركيب الأجسام المضادة عدد من الجينات قليل نسبياً بالمقارنة بعدد الأجسام المضادة المطلوب إنتاجها بواسطة جسم الإنسان أو الحيوان (أنظر الفصل السابق) . ولذا يلزم وجود ميكانيكية لتحقيق ذلك ويتم هذا بواسطة إعادة تنظيم وترتيب الجينوم التى تحدث أثناء تكوين الخلايا اللمفاوية B (كما سبق توضيحه فى الباب السابق) . كما يتأثر تكشف الخلايا الليمفاوية وتخصصها فى تكوين الأجسام المضادة بفعل كل من نظرية إستنساخ الأليلات ونظرية الكلونة .

ثالثاً : التحكم فى إنقسام الخلية

هناك نوعان من الخلايا الأول Proliferative ويستمر فى الإنقسام الميتوزى والثانى quantal وفيه تبدأ أولى مراحل التكشف . إنقسام الخلية يتم تحت تحكم وراثى إذ لابد أن بعض الجينات تنظم عملية إنقسام الخلية إستجابة لإشارات بينية . هذه الجينات تتعرض للطفور مما يؤدى إلى إنقسام خلوى غير طبيعى سواء عدم القدرة على الإنقسام أو عدم التوقف عن الإنقسام .

السرطانات هى مجموعة خلايا تنقسم بدون تحكم من العضو المحتوى عليها. الميكانيكيات الجزيئية للتكشف والسرطنة متشابهة مع فرق واحد هو أن فى التكشف يكون نشاط جينات معينة محدداً من حيث الزمن بينما فى السرطنة يكون هذا النشاط عشوائى.

لذلك يعتبر بعض العلماء أن السرطان هو مرض التكشف الخلوى حيث يؤدى إلى خلل التكشف وقد ثبت أن الخلفية الوراثية لها أثر معنوى فى تركيب السرطان كما فى حالة Teratocarcioma. وقد أثبتت دراسات زراعة الأنسجة فى الفأر أن بعض الخلايا السرطانية قد تنتج مستعمرات من خلايا طبيعية متكشفة. هذا يعنى غياب التغيرات الوراثية الغير رجعية فى الخلايا السرطانية. كما يعنى أن التغير إلى السرطنة سببه تغير فى التعبير الجينى يؤدى إلى إعادة برمجة الطاقم الوراثى العادى (Normal Genome) .

أدت الدراسات الحديثة للجينات الفيروسية وتسمى جينات السرطان Oncogenes وهى تسبب فقد فى التحكم الطبيعى فى إنقسام الخلية، إلى التعرف على مجموعة من الجينات المتماثلة تسمى جينات السرطان الأولية Proto-oncogenes يمكن أن تتحول إلى Oncogenes مسببة للورم بواسطة الطفرة أو بإرتباطها بتتابعات تنظيمية جديدة خلال عمليات الإتحادات الجديدة

www.zera3h.com
zera3h

Recombination. تدل هذه الملاحظات على أن الوظائف الخلوية الطبيعية للـ Proto-oncogenes تتضمن التحكم فى إنقسام الخلية.

بمقارنة تتابع ترتيب النوتيدات فى جين السرطان المأخوذ من خلايا سرطان المثانة البشرية Bladder Carcinoma مع تتابع قواعد نظيره من جين السرطان الأولى وجد أن قدرته على إحداث السرطان إنما تنتج من إحلال استبدال زوج مفرد غير متماثل من القواعد (جوانين سيتوزين ثيامين أدنيين). وتؤدى هذه الطفرات إلى إحلال الحمض الأمينى الفالين محل الجليسين وهو الحمض الأمينى الموجود بالموضع الثانى عشر (من جهة الطرف الأمينى) – فى بروتين إنزيم الكينيز العادى. ويشفر جين Scr من فيروس Rous Sarcoma Virus لإنزيم الكينيز وهو يعتبر مسئول مسئولية كاملة عن مقدرة الفيروس السابق ذكره على إحداث السرطان حيث أن نقص هذا الجين يعطى فيروس يعدى ويتكاثر تماماً مثل نظيره المحتوى على جين Scr ولكنه غير محدث كلية للسرطان. ويجدر هنا الإشارة إلى أثر الوراثة الفوقية Epigenetics (كما سبق ذكره) فى تنشيط وتثبيط عمل الجينات المسببة للسرطانات.

رابعاً : تخليق ذبابة لها ١٤ عيناً بالهندسة الوراثية

تمكن فريق بحثى بقيادة العالم السويسرى فالتر جيرينج (فى عام ١٩٩٥) من تخليق حشرة دروسوفلا لها ١٤ عيناً فى سابقة علمية هامة يمكن أن تؤدى ذات يوم إلى تخليق الأعضاء التعويضية اللازمة للعمليات الجراحية بدلاً من نقلها من كائنات حية أخرى. وأوضح فالتر جيرينج أن صناعة الأعضاء كتلك التى تتعلق بحاسة السمع مثلاً يمكن التحكم فيها بواسطة الطريقة نفسها التى إتبعها فريق العمل لجعل الجسم ينتج مزيداً من أعضاء الإبصار. إستغرق العمل فى هذا الإنجاز ٤

سنوات حتى نجح فريق العمل المكون من ثلاثة علماء من إدخال تعديلات على جينات الدروسوفلا (ذبابة الخل) بحيث تكونت أعين فى كل مكان من جسمها تقريباً. وكان الفريق قد بدأ عمله على جنين (Embryo) هذه الذبابة بعد تحديد الجين الذى تصل الأوامر من خلاله للتوقف على تكوين العيون. بعدها تمكن الفريق من تعطيل هذه الأوامر واستمر الجين فى عمله ليتجاوز صلاحياته ويصدر أوامر بتكوين عيون فى جناحى الذبابة وأطرافها وأماكن أخرى. تم إختبار هذه العيون بنجاح، وتبين أنها تعمل بدقة وتحول الأشعة إلى إشارات كهربية . ولكن لم يتمكن العلماء حينئذ من التأكد مما إذا كان العصب الذى ينقل الإشارات متصلاً بالدماغ الذى يحلل هذه الإشارات ويحولها إلى رموز مفهومة .

www.zera3h.com
zera3h

الباب الثامن

الهندسة الوراثية وتطبيقاتها

Genetic Engineering

تاريخ الهندسة الوراثية:

يمكننا القول أن التقدم السريع فى مجال الوراثة الجزيئية بوجه خاص، والبيولوجيا الجزيئية والكيمياء الحيوية بوجه عام، كان هو اللبنة التى قام على أساسياتها تقانات الهندسة الوراثية فى بداية السبعينات من هذا القرن. وقد بدأ هذا الفرع من العلوم الوراثية باكتشاف (عام ١٩٤٤ Oswald Avery, Colin Mcleod & Mclyn McCarty) أن الـ د ن أ DNA (الحامض النووى الديوكسى ريبوزى) هو المادة الوراثية. وفى عام ١٩٥٣ إفترض James Watson & Francis Crick نموذج الحلزون المزدوج لتركيب جزئ الـ د ن أ DNA الذى ساهم بشكل فعال فى تفسير كيفية التناسخ الذاتى لهذا الجزئ وكيفية حدوث الطفرات له. وفى عام ١٩٥٦ اكتشف Salvador Luria مع Jean Weigle, Mary Human, Giuseppe Bertani ظاهرة القصر "القطع أو التحديد" Restriction، والتحور Modification فى فيروسات البكتيرية bacteriophages والتى أدت إلى اكتشاف أنزيمات القصر Restriction Enzymes . وقد تمكن Hamilton Smith عام ١٩٧٠ من أكتشاف أول هذه الأنزيمات. وأثناء الدراسات على خصائص الشفرة الوراثية لمعرفة مدى شموليتها فى الكائنات الحية المختلفة، تمكن برنشتين وليبمان Brenshtine and Lipman سنة ١٩٦١ من خلط جزيئات حمض ر ن أ (الحمض النووى الريبوزى الناقل tRNA) المشحونة بالأحماض الأمينية

المستخلصة من بكتريا إى كولاى *E.coli* مع جزيئات حمض ر ن أ المرسال (mRNA) وريبوسومات متحصل عليها من خلايا غير ناضجة لكرات الدم الحمراء فى الأرانب وكان الناتج النهائى هيموجلوبين الأرانب. وقد تمكن S. Cohen & H. Boyer عام ١٩٧٣ من تصنيع أول حمض د ن أ مولف أو معاد الاتحاد أو هجين Recombinant ، كما كان كوهين سنة ١٩٧٤ أول من تمكن باستخدام انزيمات القصر فى عزل جين من ضفدع وادخاله فى بكتريا المعى *E. coli*.

ومما هو جدير بالذكر، أن عملية النقل الوراثى عملية تحدث طبيعيا فى الكائنات الدقيقة، فمثلا تعتبر بلازميدات F فى البكتريا مثالا على نقل تتابع متتالى من حمض الـ د ن أ (DNA) كما أن تكوين فيروس بكتيرى (فاج) مطعم بجزء من حمض د ن أ البكتيرى التى لقمها (حللها) مثال آخر لهذه العملية.

ومن ثم فقد ظهرت تقنية جديدة فى منتهى الأهمية فى العلوم البيولوجية حينما أمكن نقل أجزاء من المادة الوراثية (الـ د ن أ DNA) من كائن وادخالها فى كائن آخر، حيث تظهر هذه المادة المنقولة خصائصها والصفات المسئولة عنها إلى الكائن الذى أدخلت فيه، والذى لم تكن لديه القدرة على أظهارها قبل نقل عواملها اليه.

وفى هذا الوقت إتضح أن هذه التقنية الجديدة للـ د ن أ المكلون (أو معاد الاتحاد) Recombinant DNA تحقق آمالا كثيرة فى امكانية تحقيق فوائد جمة فى الطب والزراعة والصناعة. وفى نفس الوقت فإنه يحتمل أن تحدث مخاطر قد تنجم عن مثل هذا التداول الجينى بين الكائنات المختلفة قد يؤثر فى التوازن البيئى، أو ينتج عنها منتجات ضارة بالجنس البشرى، إما عن طريق سوء استغلال هذه التقنية، أو نتيجة لعدم أتخاذ الاحتياطات الواجبة لإجراء هذه التجارب مما حدا بعلماء بارزين إلى الدعوة إلى منع هذه التجارب فى مجالات معينة، وتحديد الضوابط اللازمة للمجالات الأخرى لإجرائها والتأكد من سلامة منتجاتها.

www.zera3h.com
zera3h

ووضعت إرشادات المجلس القومى الأمريكى للصحة عن بحوث الـــ د ن أ المكلون، ويعاد النظر فيها كل عشر سنوات. ثم عقدت جامعة متشجان فى مايو سنة ١٩٧٦ بالولايات المتحدة الأمريكية مـؤتمراً آخـر باسـم The Recombinant DNA Debate (محاورة عن د ن أ المكلون) وقد ناقش اعضاء المؤتمر قـرارات مؤتمر اسيلومار، وأضافو إليها ليتسع مجال البحث ويحقق منافع أكبر. ومما هـو جدير بالذكر، أن المؤتمر قد شارك فيه إلى جانب العلماء المؤيدين لاسـتخدام هـذه التقنية، والمعارضين لها، أهل الفكر والدين والسياسة وعلـم الاجتمـاع والقـانون والاعلام، وقد رفض المجتمعون السماح المطلق لهذه التقنية وكذلك المنع المطلـق لها وتقرر السماح بشروط مثل عدم استخدام الكائنـات الممرضـة Pathogenic Organisms مثل الفيروسـات الـشرسة Virulent Viruses، وكـذلك الخلايـا البشرية مع عدم إطلاق أى كـائن يحمـل جزيئـات د ن أ مولفـة فـى البيئـة المحيطة...الخ.

وفى عام ١٩٨٥ تمت تعديلات واضافات لما اتفق عليـه عـام ١٩٧٦، فـى اجتماع بجنوب أفريقيا وكان المفروض مراجعة الأمر عام ١٩٩٥، ولكن ذلك لم يتم مع أن المجلس القومى الأمريكى للصحة أدخل أضافات وتعديلات فى أعـوام ٩٢، ١٩٩٣م نتيجة للتقدم السريع فى هذه التقنيات وعدم الألتزام بقـرارات المـؤتمرات السابقة، وأقتحام الشركات لمجال هذه التقنية والتى أطلق عليها أسم الهندسة الوراثية Genetic Engineering، والتى أصبحت منجم ذهب لهذه الشركات. وساعد علـى ذلك تطورات علمية مثيرة منها استحداث طفرات فى المعمل ثم إدخالها مرة ثانيـة فى الكائن الحى (M. Smith 1987 والحائز علـى جـائزة نوبـل عـام ١٩٩٣) واكتشاف K. B. Mullis (الحائز على جائزة نوبل عام ١٩٩٣) تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (RCR) عام ١٩٨٣ والذى يمكن أن يضاعف من مقطـع د ن أ DNA

يعطى بلايين النسخ للجين. وغير ذلك من تيسيرات للأسراع مـن نتـائج الهندسـة الوراثية واقتحامها مجالات الخلية الحيوانية والبشرية. وتلا ذلك بـدأ العمـل فـى مشروع الجينوم البشرى عام ١٩٩٠، وما يحمله من مخاطر مخيفة وخـصص ٣% من قيمة تمويل المشروع لوضع الحلول لها وتقنينها، وما أعطته الهندسة الوراثيـة من قوة دافعة لبحوث الاستنـساخ Cloning والتخوفـات الدينيـة، والاجتماعيـة، والقانونية التى تصاحب استخدام هذا الأسلوب على بنى الأنسان.

ومما هو جدير بالذكر، أنه بالرغم مما أنجزته الهندسة الوراثية (ومازالت) من حل مشكلات لتحقيق أحلام الرفاهية للجنس البـشرى بتـوفير الغـذاء، والكـساء، والرعاية الصحية، والقضاء على الكثير من الملوثات البيئية، وتحويلهـا لمنتجـات نافعة، إلا أن التوسع غير المرشّد فى مجالاتها الذى نشاهده الآن، قد أعاد لأذهـان الناس الخوف من مخاطر بعض تقنياتها والتى قد سبق إثارة بعضها منذ الـسبعينات حيث اعتبرت حينذاك غير واردة، إلا أن تحديد مجالات استخدام تقنيـات الهندسـة الوراثية والضوابط والاحتياطات التى وضعت قد اعتبرت كافية للحـد مـن هـذه المخاوف.

أن المخـاوف المصـاحبة وتطبيقـات الهندسة الوراثية لا يمكن ولايجـب أنكارها، أو تجاهلها، كما أن ما يمكن أن تحققه من رفاهية للبشرية يستحيل غـض الطرف عنه مما يحتم دعم وتشجيع هذه الأبحاث والتطبيقات مع وضع الاحتياطيات اللازمة، ووسائل الأمان الحيـوى الكافيـة والـضوابط القانونيـة والاجتماعيـة، والاخلاقية، والدينية، وكذلك التشريعات والضوابط التى تحمى الكائنات الحيـة مـن أى ضرر من تطبيقاتها وتلك التى تواجه سوء استخدامها.

ومن الجدير بالذكر أن اصطلاح الهندسة الوراثية بدأ استخدامه وتداوله نتيجة لاقتحام الشركات مجال التصنيع التجارى للمادة الوراثية واستفادتها من نتائج بحوث

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

الوراثة الجزيئية فى مجالات الزراعة والصناعة والطب ، وعموماً فإن هذا المصطلح يعتبر بديلاً لمسميات علمية أخرى مثل د ن أ الهجين ، د ن أ المطعم ، د ن أ المتزاوج ، د ن أ المستزرع ، قطع وإعادة إلتحام الجين .

ويمكن تعريف أى من هذه المسميات على أنها تعنى نقل المادة الوراثية من كائن حى (الواهب) إلى كائن حى آخر (المضيف) وقدرة هذه المادة المنقولة على التعبير عن نفسها فى الكائن المضيف مما يجعله يؤدى وظيفة لم تكن به أصلاً ولكنه اكتسبها من د ن أ الواهب . فالهندسة الوراثية إذن يمكن أن تشتمل على تصميم جينات جديدة Designing New Genes مما تقدم يتضح أنه لإجراء هندسة وراثية لابد وأن تتوفر لدينا :

١- طريقة لإستخلاص الـ د ن أ من الكائنات المختلفة.

٢- طريقة لعزل مقطع الـ د ن أ المرغوب من الواهب ، وهذه تستلزم معرفة طرق كسر ووصل أو لحم جزئيات الـ د ن أ الناتجة من مصادر مختلفة.

٣- وسيلة لحمل هذا الـ د ن أ وإدخاله فى جينوم المضيف أى توفير ناقل ملائم للـ د ن أ المرغوب . وهذا يستلزم أن تشتمل وسيلة النقل أو الحمل أو الناقل على د ن أ يمكنه أن يستقبل د ن أ الواهب ، وهذا يستلزم معرفة طريقة لقطع د ن أ الخاص بالناقل ولصق أو التحام د ن أ الواهب فى منطقة القطع ليصبح جزءاً من د ن أ الناقل الذى يجب أن يكون له القدرة على التناسخ الذاتى حتى يمكن أن تتناسخ قطعة د ن أ التى يحملها .

٤- طريقة لإدخال الناقل بما يحتويه من الـ د ن أ الغريب داخل خلايا المضيف التى يجب أن تكون نشطة وفعالة ليتمكن الـ د ن أ المطعم من التعبير عن نفسه وإظهار خصائصه.

٥- وسيلة لانتخاب خلايا المضيف التى تحتوى على د ن أ المطعم المطلوب ، من بين ملايين خلايا النسل التى ينتجها المضيف .

إذن فالهندسة الوراثية أو التطعيم الجينى تشتمل على خليط من التقنيات بعضها قديم مستمد من فروع أخرى مثل الميكروبيولوجيا لتنمية المزارع البكتيرية مثلاً وبعضها حديث ومن أهم التقنيات الحديثة :

١- قطع الـ د ن أ المرغوب فى أماكن محددة باستخدام أنزيمات القطع المتخصصة أو المحددة وتسمى مجازاً أيضاً بالمقصات الكيماوية Restriction enzymes .

٢- تهجين الأحماض النووية Nucleic acid hybridization (الذى يمكن من التعرف على تتابع معين من الـ د ن أ ، أو الـ ر ن أ بدرجة كبيرة من الدقة).

٣- كلونة الـ د ن أ DNA cloning أى إدخال قطعة من الـ د ن أ فى ناقل يتكاثر بسرعة مثل البلازميد أو الفيروس وبالتالى يمكن إنتاج نسخ عديدة من قطعة الـ د ن أ المرغوبة عند إدخال الجزئ الناقل المطعم فى البكتريا .

٤- تحديد تتابع النوتيدات فى تتابعات الـ د ن أ DNA sequencing.

إنزيمات القطع المتخصصة Restriction enzymes

من أهم الاكتشافات التى أدت إلى ظهور وتطور كبير فى تقنية التطعيم الجينى هى اكتشاف وتنقية العديد من الإنزيمات التى من أهمها إنزيمات القطع المتخصصة (R.E.) فقد اكتشف ديفيز ومرتز Davis & Mertz عام (١٩٧٣) أن إنزيمات القطع المتخصصة يمكن أن تقطع جزيئات الـ د ن أ إلى أجزاء أو

مدونة الزراعة
www.zera3h.com
zera3h

شظايا بطريقة يمكنها من الإلتحام بأى تتابع مرغوب فيه ، أى يمكن تغييـر تتـابع النوتيدات فى جزئ الـ د ن أ عن طريق قطعه بإنزيم قطع ثم إعادة لصق الشظايا المقطوعة بطرق مختلفة وبذلك يمكن قص ولزق أجزاء من جينات مختلفة من نفس الكائن أو من كائنات مختلفة وكان كوهين Cohen(١٩٧٤) أول من استخدم هـذه التقنية فى نقل جين من ضفدع إلى بكتريا إ . كولاى. وإنزيم القطع المتخصص هو إنزيم يمكنه أن يتعرف على تتابع معين من النوتيدات فى جزئ مزدوج من الـ د ن أ ويقطع بداخل أو بالقرب من هذا الموقع بحيث يحدث قطع معين فى كل خيط من خيطى الـ د ن أ .

وعلى هذا فإن إنزيمات القطع المتخصصة تكتسب أهمية فائقة فـى توصـيف جزيئات الـ د ن أ وكلونة الجينات وفى تحديد تتابع القواعد فى جزئ الـ د ن أ إذ أنها تنتج قطعاً صغيرة ومحددة من الـ د ن أ يسهل تداولها ودراستها . وقد أمكـن حتى الآن عزل وتنقية ما يقرب من ١٠٠٠ نوع من إنزيمات القطع المتخصصة من أنواع مختلفة من الكائنات الحية وخاصة الكائنات الدقيقة .

والموقع الذى يتعرف عليه إنزيم القطع Recognition site عادة ما يتكـون من ٤-٦ أزواج من القواعد التى توجد فى صورة بالندروم palindrome مثلاً :

5' ________ 3'
A B C C'B'A'
A'B'C' C B A
3' ________ 5'

OR

A B B'A'
A'B B A

حيث يمثل كل حرف قاعدة من القواعد النيتروجينية والشرطة المائلـة فـوق الحرف تمثل القاعدة المكملة – والخط المقطع الرأسى يمثل محور التماثل . وبـذلك

فإن موقع تعرف إ نزيم القطع (R.E.) يكون عادة متماثل حـول محـور التماثـل ويقرأ بطريقة متماثلة من الجهتين .

ويجب أن ننوه أنه يوجد نوعين رئيسيين من إنزيمات القطع المتخصصة هما :

١- النوع الأول Type I:

وفيه يتعرف الإنزيم على تتابع معين ولكنه يقطع فى نقطة بالقرب من هذا التتابع .

٢- النوع الثانى Type II:

وفيه يتعرف الإنزيم على تتابع معين ويقطع بداخله

والنوع الأخير هو الأكثر أهمية واستعمالاً فى تقنية التطعيم الجينى .

أن بعضاً من هذه الإنزيمات تنتج قطعاً متماثلاً فى خيطى الـ د ن أ ينتج عنه نهايات متماثلة مزدوجة السلسلة Blunt ends مثل إنزيم *Sma I*

5' --- CCC ↓ GGG --- 3'

3' --- GGG ↑ CCC --- 5'

بينما البعض الآخر منها ينتج قطعاً غير متماثل فى خيطى الـ د ن أ ينتج عنه قطع من الـ د ن أ ذات نهايات متداخلة وحيدة السلسلة ممتدة إما عند الطرف 3' أو 5' وتسمى نهايات لزجة Sticky ends ومن أمثلتها إنزيم *Eco RI* الذى ينتج قطعاً من الـ د ن أ بها إمتدادات عند الطرف 5'

5' ___ GAATTC __ 3'   5' ___ G

www.zera3h.com
zera3h

3’ ___ CTTAAG __ 5’ ⟶ 3’ ___ CTTAA 5’ + 5’ AATTC __ 3’
G __ 5’

وكذلك إنزيم *Pst I* الذى يتعرف أيضاً على تتابع مكون مـن ٦ أزواج مـن القواعد النيتروجينية وينتج نهايات ممتدة لزجة عند الطرف 3` ويمكنها أن تتـزاوج من بعضها مرة أخرى .

5’ --- CTGCA↓ G --- 3’

3’ --- G ↑ ACGTC --- 5’

ويختلف تكرار وتوزيع المواقع التى يمكن أن يتعرف عليها إنزيم معين فى جزئيات الـد ن أ المختلفة وكل إنزيم معين ينتج مجموعة من قطع الـد ن أ المختلفة الأطوال وهذه يمكن فصلها بواسطة التفريد الكهربائى فى جيل الأجاروز تبعاً لطولها حيث أن القطع الكبيرة تكون أبطأ فى سرعة تحركها من القطع الصغيرة .

وفى حالة هضم أو قطع جينوم كبير مثل جينوم الكائنات الراقية بواسطة أحد أنزيمات القطع المتخصصة فإن ذلك سوف ينتج عنه عدد كبير جداً من مقاطع الـد ن أ المتباينة فى الطول وبالتالى عند فصلها بالتفريد الكهربائى سوف لا تظهر حزم منفصلة عن بعضها بل تظهر وكأنها شريط متصل Smear. وبناءاً على ذلك فلإكتشاف وجود تتابع معين من النوتيدات ضمن مجموعة كبيرة من قطع الـد ن أ تستعمل تقنية Southern blotting وفيها يستفاد من مميزات الـد ن أ كحلزون مزدوج وكذا خصائص التفريد الكهربائى . فمن خصائص الـد ن أ أنه عند درجات الحرارة العالية أو الـ pH القلوى يمكن أن ينفصل خيطى الحلزون المزدوج عن بعضهما Denaturation وعند خفض درجات الحرارة يمكن أن يعاد التزاوج بين القواعد المكملة سواء بين الخيطين الأصليين أو أى خيط مكمل آخر

Renaturation. وايضاً فإنه يمكن للخيط المفرد وليس الحلزون المزدوج من الـد ن أ أن يرتبط بغشاء من النيلون أو النيتروسليولوز Nylon or nitrocellulose filter . وعلى ذلك فإنه عند عمل التفريد الكهربائى لمستخلص د ن أ المهضوم بأحد إنزيمات القطع المتخصصة فإن المقاطع المختلفة من الـد ن أ سوف تتحرك على الجل إلى مسافات تتناسب مع طول كل منها. ويمكن نقل هذه المقاطع من على الجل إلى غشاء من النيلون باستعمال محلول ملحى بواسطة الخاصية الشعرية بعد إجراء عملية مسخ Denaturation أى فصل لسلسلتى الحلزون المزدوج وبالتالى يرتبط الـد ن أ فى صورة خيط مفرد بالغشاء النيلون بنفس النمط الذى كان موجود بالجل. وباستخدام مسبر أو منقب أى قطعة من الـد ن أ (سواء الجين أو قطعة منه) المعلم بأحد النظائر المشعة مثل ^{32}P أو ^{32}S يمكن عند توفير درجة الحرارة المناسبة أن يحدث تزاوج بين القواعد فى المسبر مع قطعة الـد ن أ ذات التتابع المكمل له والمرتبطة بالغشاء النيلون. وعند تعريض الغشاء النيلون إلى شريحة من أفلام الأشعة السينية X– ray film يظهر موقع مقطع الـد ن أ الذى يحتوى على تتابع النيوتيدات المكمل للتابع الموجود فى المسبر (Probe).

ويجب ملاحظة أن النهايات اللزجة التى تنتج عند قطع جزئيـات الـد ن أ بإنزيمات القطع المتخصصة تكون ذات أهمية كبيرة فى تقنية التطعيم الجينى فهـى تمكن من لصق أو لحم أى قطعتين ببعضهما على فرض أنهما ناتجتين من القطـع بنفس الإنزيم وبالتالى تحتويان على نهايات لزجة مكملة لبعضهما . وعنـد إرتبـاط نهايتى القطعتين عن طريق تزاوج القواعد فإنه يمكن لحامهما بواسطة إنـزيم هـام آخر يسمى DNA ligase أى إنزيم لحام الـد ن أ .

www.zera3h.com
zera3h

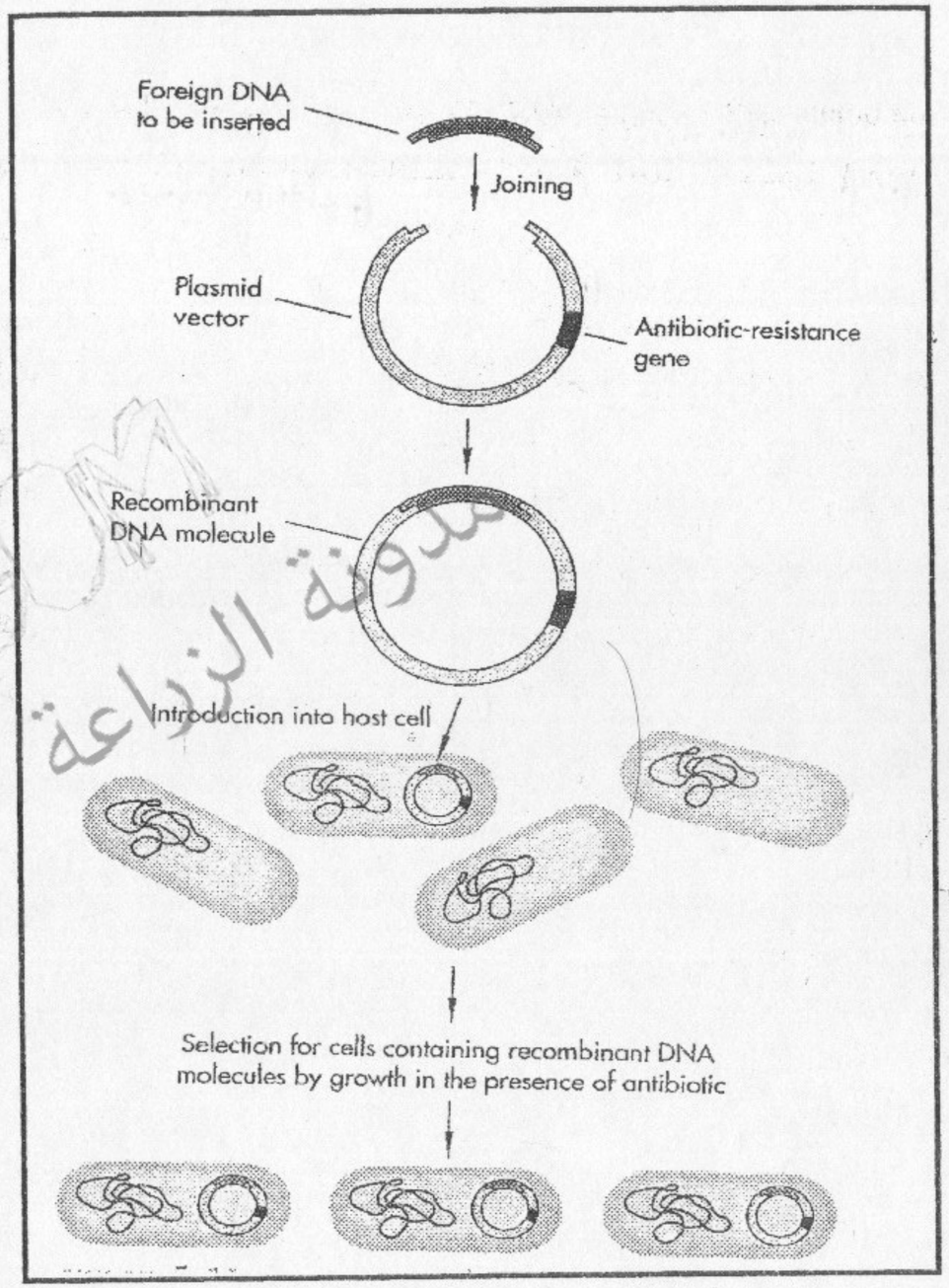
جدول (٩-١) بعض إنزيمات القطع الهامة ومواقع القطع المتخصصة .

Microorganism	Name of enzyme	Target Sequence and cleavage sites
Generates cohesive ends		
Escherichia coli RY13	EcoRI	G↓AA|TT C C TT|A A↑G
Bacillus amyloliquefaciens H	BamHI	G↓GA|TC C C CT|AG↑G
Bacillus globigii	Bgl II	A↓GA|TC T T CT|AG↑A
Haemophilus aegyptius	HaeII	Pu TC|GC↓Py Py↑CG|CG Pu
Haemophilus influenza R_d	HindIII	A↓AG|CT T T TC|GA↑A
Providencia stuartii	PstI	C TG|CA↓G G↑AC|GT C
Streptomyces albus G	SalI	G↓TC|GA C C A G|C T↑G
Xanthomonas badrii	XbaI	T↓CT|AG A A GA|TC↑T
Thermus aquaticus	TaqI	T↓C | G A A G | G↑T
Generates flush (Blunt) ends		
Brevibacterium albidum	BalI	TGG↓CCA ACC↑GGT
Haemophilus aegyptius	HaeI	AGG↓CCT TCC↑GGA
Serratia marcescens	SmaI	CCC↓GGG GGG↑CCC

أما فى حالة الإنزيمات المحددة التى تنتج نهايات غير لزجة blunt ends فإنه يمكن بطرق خاصة إضافة إمتدادات لتصبح لزجة . ويوضح جدول (٨-١) مصادر إنزيمات القطع المتخصصة ومواقع القطع .

وبتغيير الإنزيمات المحددة لقطع تتابعات معينة (جينات) من جزيئات الـــد ن أ المعقدة الموجودة فى الواهب واستعمال نفس الإنزيم لقطع وفتح البلازميد البكتيرى وبواسطة إنزيم الليجيز اللاحم أمكن للباحثين إدماج مقاطع الواهب داخل د ن أ البلازميد مثلاً ، نظراً لأن النهايات المقطوعة فى كل من البلازميد والجين تكون لزجة وبالتالى تلتصق ببعضها ويتكون بلازميد هجين يحمل جين الواهب وبالتالى يخلق الإنزيمات أو البروتينات التى يختص بها هذا الجين عند إدخال هذا البلازميد فى البكتريا عن طريق الكلونة (شكل ٨-١) .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٨-١): خطوات عملية الكلونة فى البلازميد

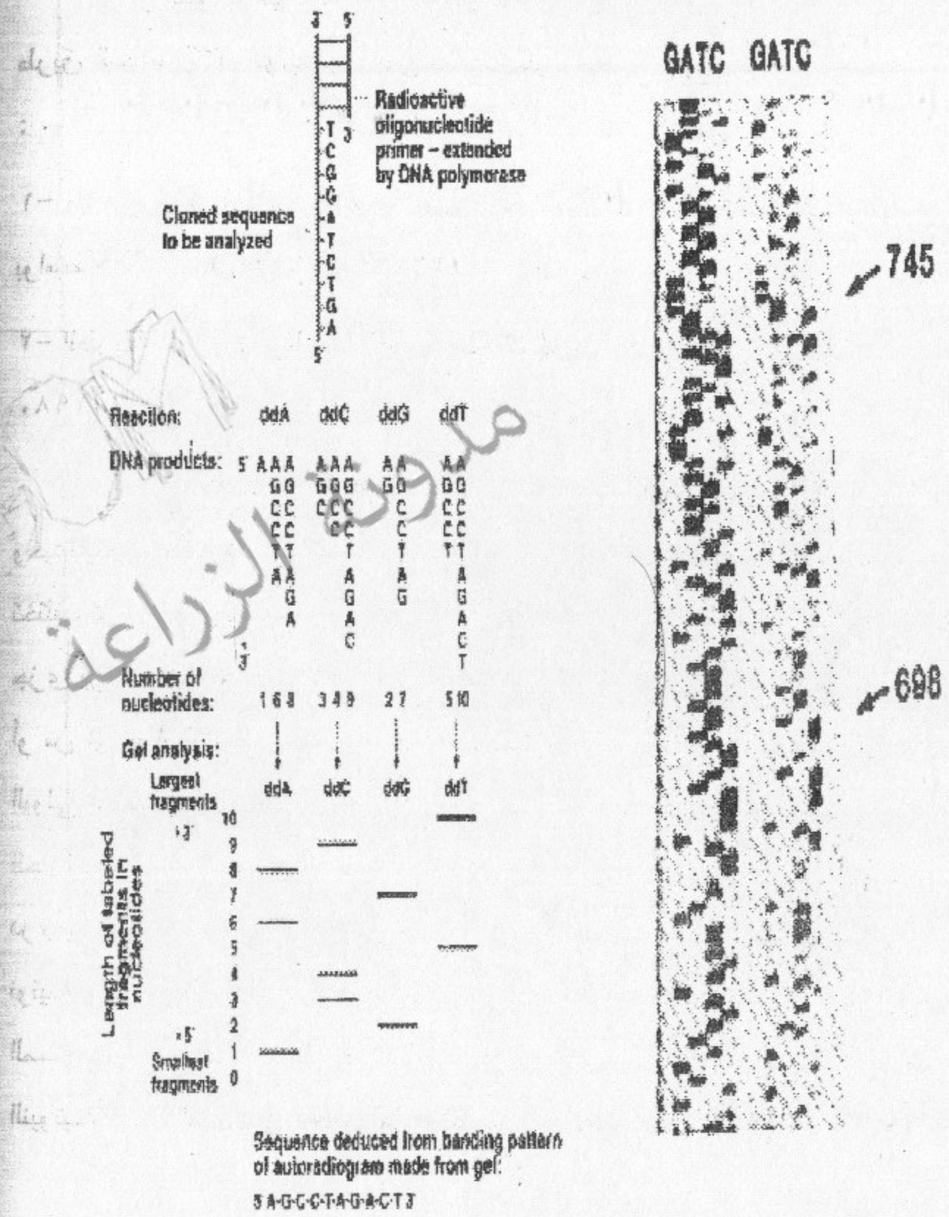
ومن تقنيات الهندسة الوراثية الهامة أيضاً هى تعريف شظايا الـ د ن أ عن طريق التحديد لتتابع نوتيداتها ، ويوجد طريقتين لتحديد تتابع القواعد فى الـ د ن أ :

١- طريقة النوتيدات الناهية للسلسلة أو طريقة الـ داى دى أوكسى والمصممة بواسطة العالم Sanger (عام ١٩٧٧) .

٢- الطريقة الكيماوية والمصممة بواسطة العالمان Maxam & Gilbert (عام ١٩٨٠) .

ويلاحظ أن كلا الطريقتين تعتمد على إنتاج سلسلة من شظايا الـ د ن أ وحيدة الخيط المعلمة أو الموسومة بالإشعاع والتى تبدأ عند نفس النوتيدة ولكنها تختلف فى الطول، حيث تتكون من أربعة مجموعات من شظايا الـ د ن أ من كل جزئ يراد تحديد تتابع قواعده وأن كل مجموعة منها تنتهى بأحد الأربع قواعد (أ أو س أو ج أو ث) . ثم تفصل هذه المجاميع الأربع بالتفريد الكهربائى فى جل من البولى أكريلاميد Polyacrylamide الرفيع جداً باستعمال فولت عالى ثم يعرض الجل على شريحة من صور الأشعة x-ray film فينتج صورة تشابه السلم كل درجة فيها تمثل قطعة أو شظية من الـ د ن أ تختلف فى طولها عن جارتها بطول نوتيدة واحدة . ويلاحظ أن القاعدة التى تنهى كل قطعة تتحدد تبعاً لظروف التفاعل المستعمل لإنتاج كل من الصفوف الأربعة فى الجل وبذلك يمكن قراءة تتابع النيوتيدات من الـ x-ray film من أسفل إلى أعلى . (شكل ٨-٢) .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٨-٢): طريقة تحديد تتابع النوتيدات فى الـــ د ن أ

ناقلات الكلونة Cloning Vectors

يوجد ثلاثة أنواع رئيسية من ناقلات الكلونة هى :

١- البلازميدات Plasmids

٢- الفاجات Phages

٣- الكوسميدات Cosmids

وتشترك جميعاً فى بعض الخصائص الهامة وهى :

١- أن كل منها عبارة عن جزئ صغير من الـــ د ن أ المعلوم تركيبه وخواصه .

٢- يحتوى هذا الجزئ على منشأ للتناسخ ليسمح بتناسخه بما يحمله من الـــــ د ن أ الغريب أو المنقول داخل الخلية .

٣- إحتوائها على جينات تمكن من سهولة التعرف على الجزيئات الهجينية .

أولاً : البلازميدات Plasmids

تستخدم كثيراً كناقلات كلونة وتتميز بأنها :

أ – عبارة عن ربليكونات replicons تتناسخ مستقلة عن كروموسوم الخلية

ب- جزيئات من الـــ د ن أ دائرية شديدة الإلتفاف (الحلزنة) توجد فى أغلب الكائنات الغير مميزة النواة (البكتيريا مثلاً) وتتراوح فى الحجم بين ٢٠٠ × 10^6 إلى ١ × 10^6 دالتون .

ج – تتميز بسهولة فصلها معملياً ودراسة تركيبها الوراثى وتتابع نوتيداتها .

www.zera3h.com
zera3h

د- يمكن أن تقسم حسب قدرتها على الإنتقال من خلية إلى أخرى إلى تزاوجية conjugative ولا تزاوجية non-conjugative نتيجة لإحتوائها على جينات الانتقال Transfer التى تسمى *tra* gene التى تحفز التزاوج فى البكتريا .

هـ- يمكن أن تقسم على حسب تعدادها داخل الخلية إلى ذات تكرار محدد فى الخلية Limited copies per cell أو عالية التكرار فى الخلية Multiple copies per cell.

ويمكن الإشارة إلى أن الجينات المحمولة على البلازميدات تتحكم فى كثير من الصفات مثل إنتاج المضادات الحيوية – مقاومة المضادات الحيوية – تفكيك المركبات العطرية – تخمر السكر – إنتاج الأنتروتوكسين – مقاومة المعادن الثقيلة – إنتاج البكترويوسين .

وبصفة عامة فإن البلازميدات التزاوجية تتميز بوزن جزيئى عالى وتتواجد بنسبة ١-٣ نسخة لكل كروموسوم فى حين أن البلازميدات اللاتزاوجية تتميز بوزن جزيئ منخفض وتتواجد بتكرارات عالية فى كل خلية إلا أن هناك بعض الحالات الشاذة مثل البلازميدات pR6K الذى يتميز بوزن جزيئ عالى وتكرار عالى فى الخلية كما فى الجدول التالى (جدول ٨-٢).

الجدول رقم (٨-٢): خصائص بعض البلازميدات التزاوجية واللا تزاوجية للبكتريا السالبة لصبغة جرام .

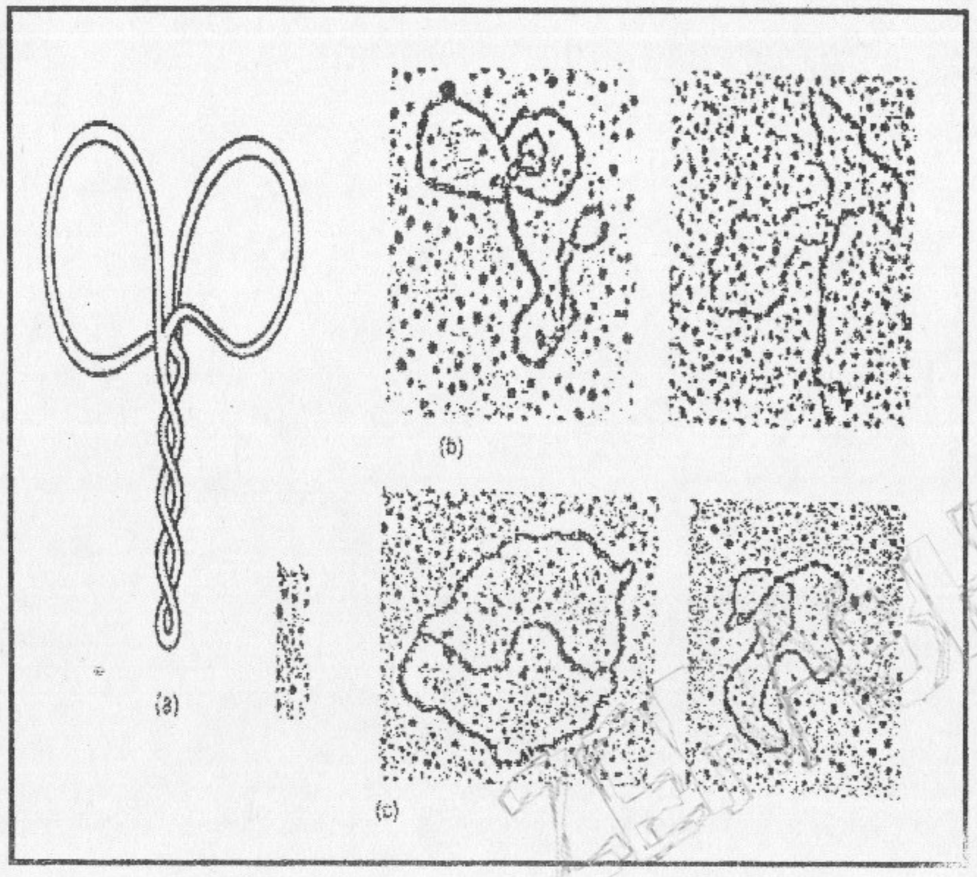
Plasmid	Siz (Mdal)	Conjugative	No. of plasmids / chromosome	Phenotype
Col EI	4.2	no	10-15	Colicin El production
RSEI 030	5.6	no	20.40	Ampicillin resistance
Clo DF13	6	no	10	Cloacin production
R6K	25	yes	13.38	Ampicillin and streptomycin production
F	62	yes	1.2	----------
RI	62.5	yes	3.6	Multiple drug resistance
Ent	65	yes	1-3	Enterotoxin production

www.zera3h.com
zera3h

تناسخ أو تضاعف البلازميدات Plasmid replication:

يستطيع البلازميد أن يتضاعف داخل خلية العائل فقط إذ أنه يعتمد فى تضاعفه على جهاز تضاعف العائل Host replication apparatus فمثلاً البلازميد Col El يمكن أن يتضاعف فى المعمل In vitro عن طريق إضافة Col El DNA نقى إلى مستخلص خلايا لا تحتوى فى الأصل على أى بلازميد وتتضاعف البلازميدات بالطريقة شبه المحافظة Semiconservative وتظل دائرية أثناء دورة التضاعف الذى قد يتم فى إتجاه أحادى أو ثنائى أو بهما معاً مثل ما يحدث فى البلازميد pR6K.

وينتهى التضاعف وحيد الاتجاه عند نقطة بدئه ، بينما ينتهى التضاعف ثنائى الإتجاه إما عند إلتقاء شوكتى التضاعف مع بعضهما أو عند نقطة محددة يتم عندها إنتهاء التضاعف ويأخذ البلازميد المتضاعف شكل الفراشة Butterfly mode عدا الجزء المتضاعف منه تتفكك حلزنته بينما الجزء الغير متضاعف تزداد حلزنته ، وعند إتمام التضاعف ينشق أحد البلازميدات بواسطة إنزيم DNA gyrase ثم يعاد إلتحام السلسلة (شكل ٨-٣) .



شكل (٨-٣) : تضاعف بلازميد Col E1

(I) رسم تخطيطى لجزئ فراشى الشكل يوضح تضاعف جزئ البلازميد .

(II) الشكل الفراشى للبلازميد أثناء التضاعف باستخدام الميكروسكوب الالكترونى بدون كسر فى أحد السلاسل

(ج) الشكل الفراشى مع كسر لأحد سلسلتى الجزئ معطياً شكل θ .

www.zera3h.com
zera3h

إكتشاف وجود البلازميدات فى الخلايا البكتيرية :

الخلية البكتيرية قد تحتوى على نوع واحد أو أكثر من نوع من البلازميدات ويمكن تحديد وجود البلازميد عن طريق عديد من الطرق .

(١) يتواجد البلازميد البكتيرى بصورة طبيعة على شكل دائرى من جزئ د ن أ (DNA) . ويوجد خارج الكروموسوم فى السيتوبلازم الخلية وتسمى ربليكونات ويتراوح طوله ما بين ٢-٢٠٠ كيلو من أزواج القواعد (Kbp) .

(٢) ويتميز بأنه متعدد النسخ فى الخلايا البكتيرية (يصنع إلى مئات من النسخ) ويمكن قصل البلازميد بسهولة بعد هضم الخلية .

(٣) وجود البلازميد يساعد الخلايا البكتيرية على تحمل الظروف البيئية المختلفة .

(٤) وتعتبر البلازميدات مسئولة عن صفة المقاومة العالية للمضادات الحيوية للبكتريا الممرضة نتيجة انتقال البلازميدات التى تحتوى على جينات مقاومة للمضادات الحيوية بين خلايا البكتريا .

(٥) تستطيع البكتريا تحمل التلوث عن طريق الجينات الخاصة المحمولة مع البلازميد وكذلك قدرة اجراء عملية العدوى فى بعض أنواع البكتريا مثل بكتريا التربة .

(٦) تحتوى البلازميدات على صفتين حيويتين :

أولاً : منشأ التناسخ الذى يسمح للبلازميد بالتناسخ مستقل عن كروموسوم البكتريا.

ثانياً : تحمل البلازميدات على جينات تستطيع انتخاب الخلايا البكتريا مثل الخلايا المقاومة للمضادات الحيوى أو إنتاج مواد سامة ..... الخ .

ومن المعروف أن تضاعف البلازميد يكون عبء بيولوجى على الخلية الحاملة ولذلك يفقد البلازميد تلقائياً عند عدم تواجد صفة الانتخاب التى تكتسب بوجود البلازميد فى الخلية . وأن منشأ التناسخ يحدد مجموعة التضاعف للبلازميدات حيث يمكن لمنشأ التناسخ أن يعمل على مستوى محدد أو مستوى واسع من أنواع البكتريا . ومنشأ التناسخ يحدد عدد نسخ البلازميد فى الخلية وينتقل البلازميد إلى النسل أثناء علمية التضاعف أو إنقسام البكتيريا .

ومن المعروف أنه يتواجد نوع واحد من البلازميدات ذات مجموعة تضاعف واحده replication group بثبات فى الخلية البكترية – رغم أنه يتواجد فى أكثر من نسخة من نفس البلازميد فى الخلية .

والبلازميدات التابعة لمجاميع تضاعفية مختلفة يمكن أن تتواجد بثبات فى الخلايا بالتوالى نتيجة انتخاب صفات مختلفة تحمل على البلازميدات .

ويمكن تنقية البلازميد من الخلايا البكترية وذلك بالاعتماد على الصفات الفيزيائية للبلازميد والتى تختلف عن الصفات الفيزيائية للـ د ن أ الجينومى ومن أهم هذه الصفات صفة اختلاف سرعة الترسيب فى محاليل متدرجة الكثافة وكذلك صفة سلوك عملية الهدرجة (مسخ) denaturation.

ويمكن إعادة إدخال البلازميد فى الخلية البكترية عن طريقة عملية التحول الوراثى transformation وذلك بعد معاملة الخلايا بمادة تسمح بالنفاذية مثل أيونات الكالسيوم . والخلايا الناتجة تسمى بخلايا الكفوء competent ويمكن زيادة التحول الوراثى وذلك بتعرض تلك الخلايا بصدمة حرارية .

أمثلة لبعض البلازميدات الطبيعية فى الخلايا البكتيرية

zera3h
www.zera3h.com

A- بلازميدات التزاوج F-plasmids

تم اكشافها فى بكتيريا الأمعاء المسماة إ. كولاى وينجم عن وجودها فى الخلايا البكتيرية بعض الصفات المظهرية الآتية :

I- تتكون على جدر الخلايا البكتيرية قنوات رفيعة وطويلة تعمل على نقل بلازميد من هذه الخلية إلى خلية أخرى ليس بها العامل F وتسمى هذه القنوات بقنوات التزاوج Sex pilus (شكل ٨-٤) .

II-الحساسية للعدوى بالفاجات من النوع ذو الخيط المفرد مثل ssDNA, ssRNA والتى تسمى الفاجات الخاصة بالذكور Male specific phages مثل R17 الذى يحيط بالـ Sex pilus.

ج- مقاومة الفاجات المختصة بالأنثى Female specific phages مثل T3, T7 .

د- إستبعاد أى عناصر من F إضافية عن طريق الاستبعاد السطحى بمنع دخولها خلال جدار الخلية البكتيرية أو عن طريق المناعة الميكانيكية الذاتية التى تمنع بقائها داخل الخلية إذا تمكنت من الدخول .

هـ- لها القدرة على الإندماج داخل كروموسوم البكتريا وتكوين إتحادات جديدة (شكل ٨-٥) .

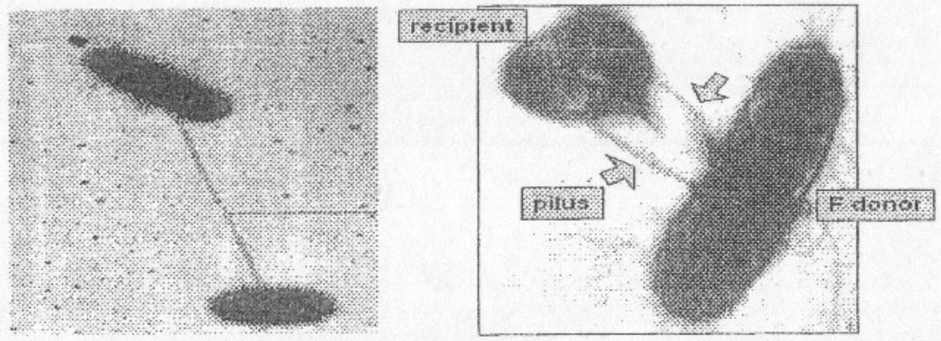
وقد قام Wilson & Clark بعمل خريطة وراثية لهذا البلازميد (شكل ٨-٦) وتوقيع بعض الجينات عليه ، والتى تتضمن:

- جينات مسئولة عن الإندماج والحركة مثل Is_2, Is_3,
- جينات مسئولة عن تكوين قنوات pili مثل *tra* A, B, C, E, ...

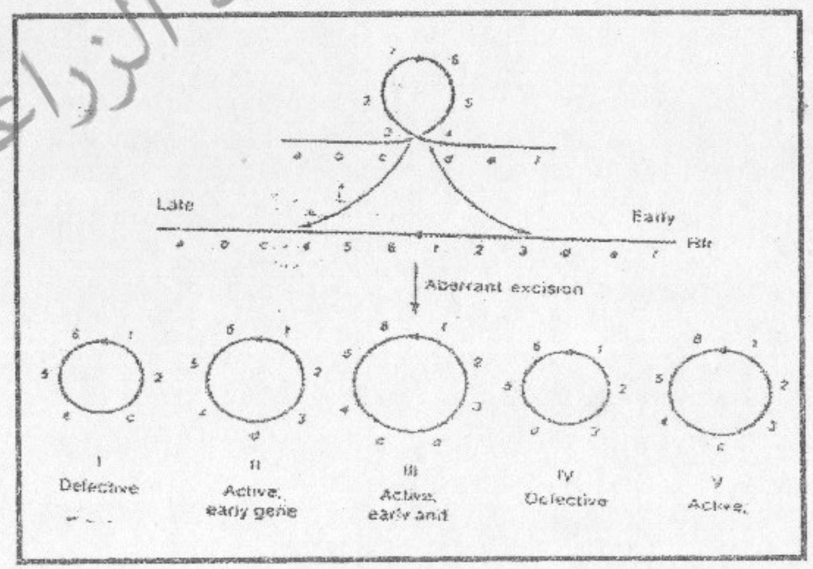
- جينات مسئولة عن التراكم التجمعى التزاوجى مثل *tra* G, tra N
- جينات مسئولة عن بدأ الانتقال مثل *tra* M, tra L
- جينات مسئولة عن الانتقال مثل *tra* O
- جينات مسئولة عن Endonuclease لعمل nick فى مكان بدأ الانتقال مثل *tra* Y, *tra* z
- جينات مسئولة عن تضاعف F مثل frp
- جينات مسئولة عن ظاهرة عدم التوافق الذاتى مثل inc F
- جينات سئولة عن تثبيط الخصوبة مثل Fino, Fin P

وهناك خاصية أخرى للبلازميد F وهى خاصية الاندماجية وتعرف بأنها قدرة البلازميد F على الاندماج فى كروموسوم الخلية البكتيرية وتحويلها إلى خلية Hfr (شكل ٨-٧) قادرة على تكوين اتحادات جديدة ذات تكرارات عالية . ويوجد حوالى ٢٠ موقع يمكن أن يحدث عندهم الاندماج مثل Is_3, IS_2 كما أنه يمكن للبلازميد F استبعاد بعض الجينات البكتيرية المجاورة لمكان دخولها فى الكروموسوم البكتيرى وهذه القدرة عكسية إذ يمكن للبلازميد أن ينفصل مرة أخرى عن كروموسوم البكتيريا .

مدونة الدراعة
zera3h
www.zera3h.com

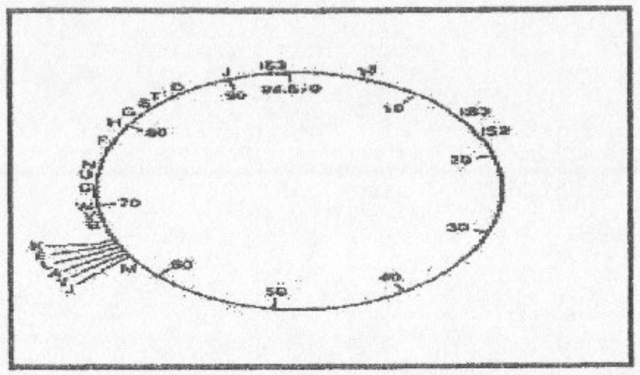


شكل (٨–٤) : خلية بكتيرية إ. كولاى بها قنــاة تــزاوج Sex pulis وصـــورة لميكروسكوب الكترونى أثناء التزاوج .

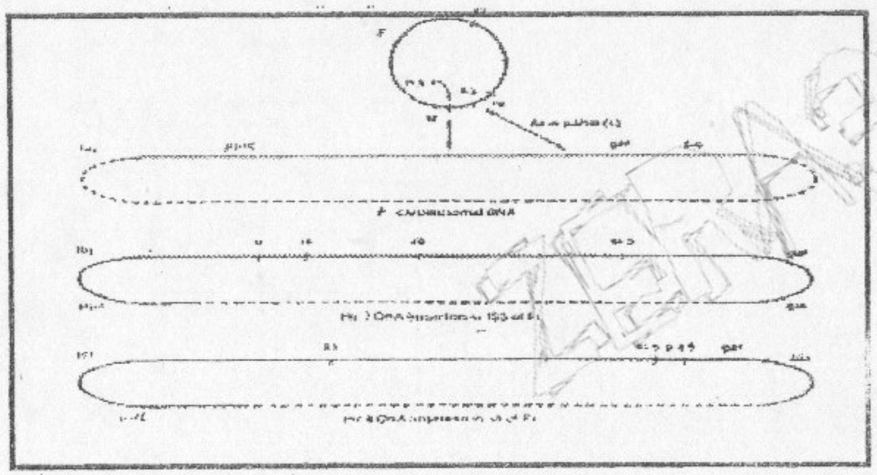


مدونة الزراعة
ZERA3H.COM

شكل (٨–٥) : عملية إدماج بلازميد F فى الكروموسوم البكتيرى ليكون ســلالة Hfr ثم خروجه (excision) من الكروموسوم بطرق مختلفة .



شكل (٨–٦) : خريطة لبلازميد F وفيه الأرقام تمثل عدد أزواج القواعد بـالكيلو. المواقع $\gamma\delta$, I_S3, IS_2 تمثل الاندماج فى كروموسوم البكتريا .



شكل (٨–٧) : يمثل تكوين سلالات Hfr بطريقتين مختلفتين (أ) كروموســـوم الخليـــة البكتيرية بدون اندماج والأسهم توضح الأماكن التى يمكن الاندماج بها (ب)، (جـ) طريقتين مختلفتين للاندماج .

II – بلازميدات المقاومة للعقاقير الطبية Drug resistance plasmids

www.zera3h.com
zera3h

إكتشفت هذه البلازميدات فى بكتيريا *Shigella dysentriae* المسببة لمرض الدوسنتاريا وتنقسم هذه البلازميدات إلى نوعين :

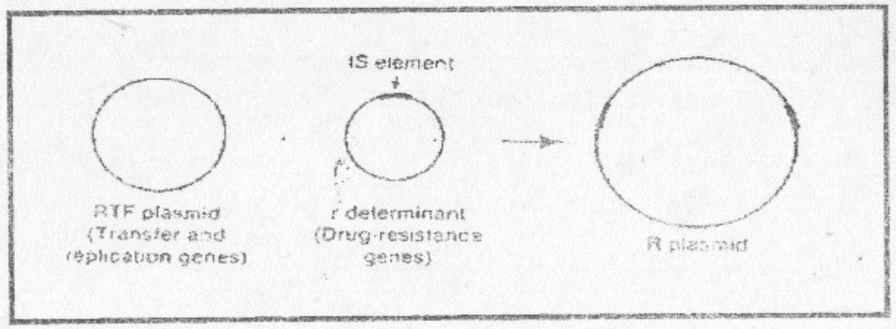
١- البلازميدات القابلة للانتقال وهى تحتوى على مجموعتين من الجينات (شكل ٨-٨) .

(أ) مجموعة جينات المقاومة للمضادات الحيوية وهى تتواجد فى صورة تجمع للجينات مختلفة الطول مثل Cm, Amp^r, Km^r, Tc^r أو تتواجد فى صورة توليفة بين واحد أو أكثر من هذه الجينات .

(ب) عامل النقل الذاتى Resistance Transfer Factor (RTF)

والتى تحمل جينات التحكم فى تناسخ الـ د ن أ وعدد وحدات البلازميد .

٢- البلازميدات الغير قابلة للإنتقال وهى تحمل جينات المقاومة للمضادات الحيوية وتفتقر إلى جينات النقل الذاتى ومن ثم لا تستطيع الانتقال من خلية إلى أخرى مثل بلازميد psc101.



شكل (٨-٨) : عملية إدماج بلازميد المقاومة للعقاقير (r) مع بلازميد الانتقال والتضاعف (RTF) لتكوين بلازميد المقاومة للعقاقير قادر على الانتقال من خلية إلى أخرى

III - بلازميدات الكوليسين (بلازميد كول)

Colicinogenic plasmids (Col plasmids)

هذه البلازميدات تكون مسئولة عن تخليق بروتينات تعرف باسم كوليسينات colicins التى تعمل على قتل البكتيريا الخالية من هذه البلازميدات وتخلق أيضاً بروتينات تكسب الخلية مناعة للبروتين القاتل colicins الذى تنتجه. وهناك أنواع منها متخصصة لقتل بكتيريا نفس النوع فقط مثل بلازميد $Col\ DF_3$ المتخصص فى قتل *Enterobacterium spp* . وأنواع واسعة المدى أخرى .

وتقسم هذه البلازميدات إلى كوليسينات حقيقية وجزيئات الفاج الناقص والتى تشبه أذيال الفاج يعتقد أنها نواتج جينات من بقايا الفاجات الكتيرية bacteriophage ومن أمثلة هذه البلازميدات التى تؤثر على الغشاء الخلوى والعمليات الفسيولوجية التى تنتج الطاقة ، $Col\ E_2$الذى ينتج إنزيم إندونيوكليز يكسر جزئ الـ د ن أ أو $col\ E_3$ الذى ينتج إنزيم إندونيوكليز المسئول عن تكسير الـ د ن أ .

IV - بلازميد Ti فى بكتيريا الأجروبكتريم *Agrobacterium* plasmids

عند إكتشاف مرض التدرن التاجى فى سيقان نباتات ذات فلقتين الذى تسببه بكتريا من نوع *Agrobacterium* وجد أنها تحتوى على بلازميد Ti إذ أنه عند جرح خلايا النبات تنشط الجينات المحمولة على Ti مما يؤدى إلى تضاعف وإدماج بعض الجينات المحمولة على هذه البلازميدات فى كروموسوم النبات. وقد وجد أن الجزء المندمج يحتوى على جينات مسئولة عن تكوين هرمونات للنمو والتى تسبب خللاً فى التنظيم الهرمونى للنبات ينتج عنه الإنقسام العشوائى الغير منتظم الذى يؤدى إلى تكوين الورم Tumor وقد إستغل هذا البلازميد فى عمليات تقنية الهندسة

www.zera3h.com
zera3h

الوراثية فى النباتات عن طريق نزع هذه الجينات السرطانية واستبدالها بالجين المراد إدخاله وإدماجه فى النبات .

بعض بلازميدات الكائنات مميزة النوى

يمكن تصنيف هذه البلازميدات إلى :

١- بلازميدات ذات منشأ نووى مثل :

أ – بلازميد 2μm الموجود فى خميرة الخباز *S. cerevisiae* والتى وجد أن طولها ٢ مللى ميكرون ويوجد منها ٦٠-١٠٠ نسخة تمثل ٣% من الـ د ن أ فى الخلية وتوجد داخل الغشاء النووى غالباً مستقلة عن الكروموسوم وأحياناً يندمج فى كروموسوم الخميرة فيؤدى إلى طهور إختلافات كروموسومية شديدة .

كما أنها توجد فى شكل نيوكليوسومات (تحتوى على هستون) وهذا يؤكد المنشأ النووى لها. ومن وظيفة هذا البلازميد مقاومة المضاد الخيوى Oligomycine وتكوين القطاعات المميتة فى مستعمرات الخميرة ، كما أنه يمكن إستخدامه كناقل لاستزراع الجينات .

ب- بلازميد مقاومة الكوبلت Cobalt resistance plasmid. وقد أكتشف فى فطر *Dictyostelen discoideum* وهو دائرى الشكل يتحمل تركيزات عالية من الكوبلت ويستعمل فى التخلص منه فى البيئة .

ج- عنصر أو بلازميد Capia والذى يوجد فى حشرة الدروسوفيلا ويأخذ شكلاً دائرياً خارج النطاق النووى وله صفة العناصر الوراثية المتنقلة Transposons.

٢- بلازميدات ذات منشأ ميتوكوندرى :

مثل بلازميد الشيخوخة الذى يسبب ذبول ميسليوم فطر *Pedespera anserine* وبلازميدات العقم الذكرى السيتوبلازمى فى الذرة الشامية وبلازميد Poky الذى يوقف نمو فطر النيوروسبورا .

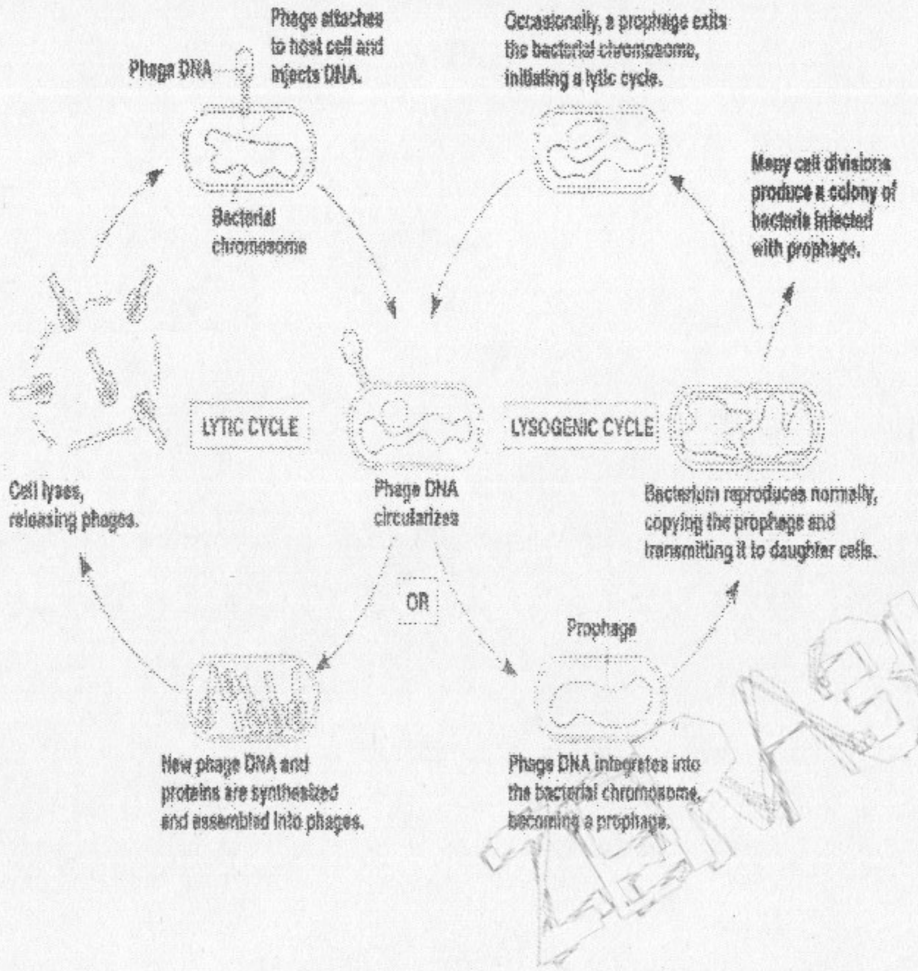
٣- بلازميدات مجهولة المنشأ :

مثلا البلازميد القاتل الذى يوجد فى البراميسيوم والذى هو عبارة عن جزئ مزدوج من الـ د ن أ يحتوى على حوالى ١٠ جينات ويخلق مادة الباراميسين القاتلة التى تشبه المادة السامة التى ينتجها بلازميد كول .

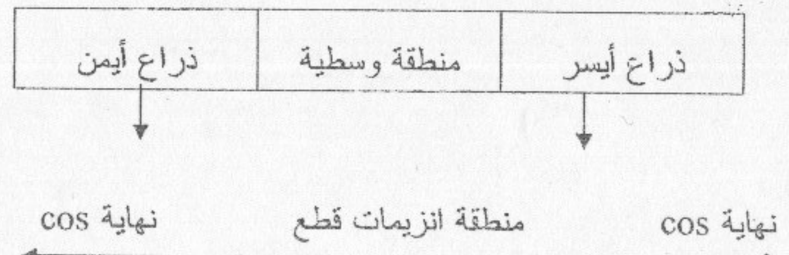
ثانياً : الفاجات البكتيرية Bacteriophages

تلعب الفاجات دوراً هاماً فى تطور البيولوجيا الجزيئية وتتميز الفاجات بأنها لا تستطيع أن تتضاعف إلا داخل الخلية البكتيرية للعائل (شكل ٨-٩) وتستخدم الفاجات الريبوسومات، عوامل التخليق البروتينى ، الأحماض الأمينية والطاقة من العائل لتتكاثر. ويتميز كل فاج بصفات ضرورية للإستمرارية فى التواجد وهى حماية الحامض النووى الذى يحتويه من الظروف البيئية التى قد تغير تركيبة وكذلك يوجد ذيل عبارة عن معقد من عديد من المركبات عادة ما ينتهى بوجود شعيرات tail fibers. ومن أهم الفاجات التى استخدمت فى الوراثة الجزيئية الفاج لامبدا (λ) الذى يتميز بأن الـ د ن أ المفصول منه يكون خيطياً ووزنه الجزيئ (٤٨,٥ كيلو قاعدة) وقد تم تحديد كل تتابعات النوتيدات به فى كل نهاية يحتوى على سلسلة مفردة بها ١٢ نوتيده مكملة للطرف الآخر تسمح بتكوين الشكل الدائرى للجزئ داخل خلية العائل ويسمى هذا التتابع بالـ coss site، والشكل (٨-١٠) يوضح تركيب جينوم فاج لامبدا λ phage .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٨-٩) : تضاعف فاج λ بالطريقة الشرسة (lytic) والطريقة المعتدلة (lysogenic)



٤٥-٥٣ كيلو زوج من القواعد

شكل (٨-١٠): تركيب جينوم فاج لامبدا λ phage

ويستخدم فاج لامبدا كناقل كلونة حيث يحتوى على منطقة وسطية تستخدم فى مرحلة الليسوجينيك lysogenic فى دورة الحياة للفاج وهذه المنطقة مسئولة عن إتمام دمج الفاج مع جينوم العائل ويمكن استبدال هذا الجزء الوسطى أثناء عملية الكلونة بقطعة (شظية) من الـ د ن أ المراد كلونتها . ودورة حياة الفاج المحور وراثياً يسلك سلوك تضاعفى فى السيتوبلازم فقط. ويتم إستبدال المنطقة الوسطية من جينوم الفاج بدون أن تتأثر باقى الجينات عن طريق القطع للمنطقة الوسطية باستخدام أنزيمات القطع المحددة، بشظية الـ د ن أ المراد كلونته بحيث تتراوح طولها من ١٢-٢٠ كيلو زوج من القواعد وذلك لتكوين فاج فعال قادر على عدوى الخلايا البكتيرية والتضاعف بداخل الخلية البكتيرية .

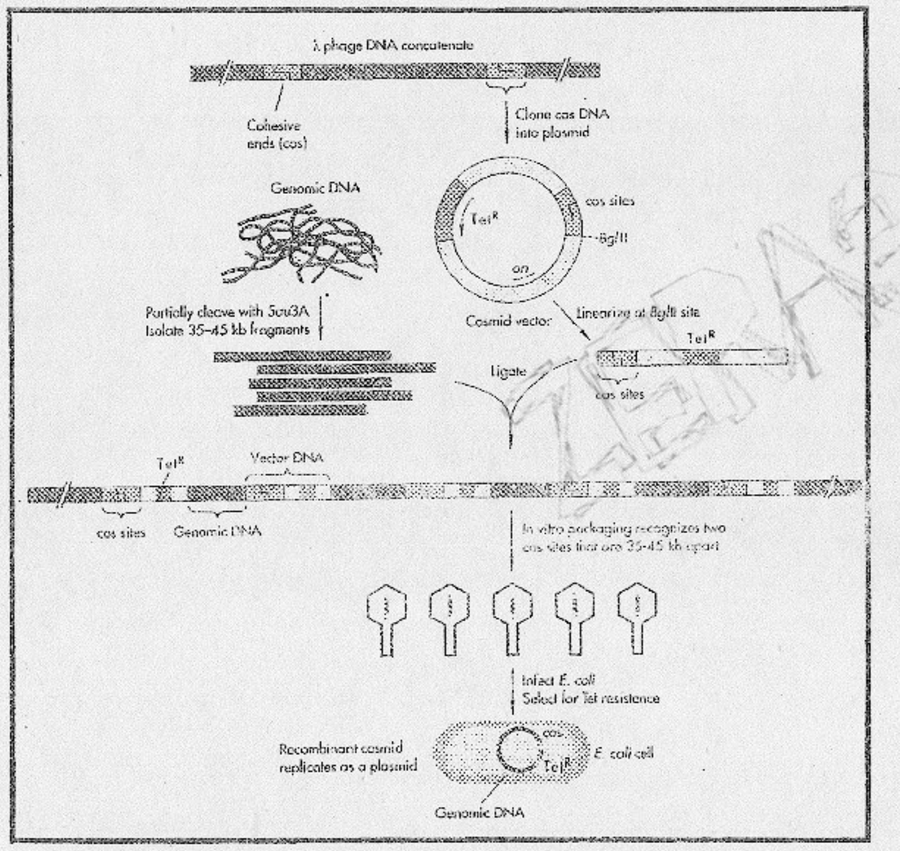
www.zera3h.com
zera3h

والجدول الآتى يوضح الفروق الأساسية بين ناقل الكلونة البلازميد ، والفاج

الفاج	البلازميد
١- د ن أ خيطى الشكل	د ن أ دائرى الشكل
٢- يستبدل الـد ن أ المراد كلونته بجزيئ من د ن أ الناقل	يتم إضافة الـد ن أ المراد كلونته فـى الناقل vector
٣- كفاءة عملية النقل تكون عالية مـع الشظايا فى حجم ١٢-٢٠ كيلو قاعدة .	يفضل كلونة شظايا صغيرة الطول أقـل من ٥ كيلو زوج قاعدة
٤- يفضل كلونة شظايا كبيرة الحجم .	تنخفض كفاءة عملية التحول الـوراثى بزيادة حجم الشظية المراد كلونتها .
٥- تستخدم مكتبات DNA الكبيرة	تستخدم مع مكتبـات DNA الـصغيرة وإعادة كلونة جين معين
٦- كثافة الخلايا المكلونة عالية (أكثـر من ١٠,٠٠٠ خلية مكلونة لكـل طبـق بترى) .	كثافة الخلايا المكلونة منخفضة (١٠٠٠ خلية مكلونة لكل طبق بترى)
٧- صعوبة فصل د ن أ الفاج	سهولة فصل د ن أ البلازميد

ثالثاً : الكوسميدات Cosmid vectors

تم تصنيع بلازميدات بحيث تحتوى على جزء من الـد ن أ يتضمن cos site وأطلق عليها إسم cosmids وأمكن استخدامها كناقل للكلونة ولها القدرة علـى التخليق فى المعمل مثل فاج λ (in vitro packaging system) ووجد أن ناقـل كلونة كوسميد وزنه الجزيئى 5 kpb يسمح بكلونة قطعة من د ن أ تتراوح من 32- 47 kbp أو أكثر مما يسمح به فاج λ . شكل (٨-١٠) .



شكل (٨-١٠): رسم تخطيطى للكلونة بإستخدام الكوزميد كناقل

www.zera3h.com
zera3h

الخطوات الأساسية لعملية الكلونة :

هناك ثلاثة خطوات أساسية لعملية كلونة أحد الجينات :

١- مصدر الـ د ن أ الذى سوف يستخدم فى عملية الكلونة حيث يمكن أن يكون د ن أ كروموسومى أو عبارة عن نسخة مكملة للـ ر ن أ الرسول وهو ما يعرف بالـ د ن أ المنسوخ cDNA. وإختيار المادة الوراثية يتوقف على الهدف من عملية الكلونة . إذا كان الهدف هو معرفة تتابعات الأحماض الأمينية للبروتين لأحد الجينات ففى هذه الحالة يستخدم cDNA ، ولكن إذا كان الهدف هو دراسة المناطق المسئولة عن التنظيم الجينى لأحد الجينات ومناطق الإكسونات والإنترونات ففى هذه الحالة يستخدم الـ د ن أ الكروموسومى .

٢-إنتاج شظايات من الـ د ن أ التى يمكن استخدامها فى الناقل المناسب والتى فى النهاية سوف يتم نقلها فى عشيرة من البكتيريا . وهذه الشظايا يتم تحضيرها من الـ د ن أ الكروموسومى عن طريق إنزيم النسخ العكسى كما سيأتى شرحه بالتفصيل . وبعد تكوين هجين من شظايا الـ د ن أ الملتحمة مع الناقل فإنه يتم نقلها إلى البكتيريا عن طريق التحول Transfomation والذى يعتمد على أن البكتيريا التى تحمل الكلونات (الـ د ن أ الهجين) هى التى تستطيع أن تعيش على أطباق آجار بها مضاد حيوى متخصص طبقاً للجين الذى يشفر للمضاد الحيوى الموجود على الناقل Vector . وكل بكتيريا تحمل كلون تستطيع أن تعيش ، ومجموع هذه البكتيريات الحاملة للكلونات تكون ما يعرف باسم المكتبة الجينية .

٣- عملية فحص كل الكلونات للجين بعد عمل المكتبة الجينية يمكن عمل الفحص مباشرة باستخدام مجس أو منقب من الأحماض النووية أو باستخدام الأجسام المضادة للبروتين .

www.zera3h.com
zera3h

١- مكتبة الـ DNA (بنك الجينات)

يمكن بإستخدام إنزيمات القطع المحددة والأنواع المختلفة لناقلات الكلونة تعبئة الجينوم الكامل لكائن ما فى ناقلات – يطلق على المجموعة المكونة من هذه الكلونات المعاد صياغتها إسم المكتبة ، ويمكن تكوين مكتبة جينوم من جميع قطع د ن أ المأخوذة من خط الخلايا أو نسيج معين ، كما يمكن إنتاج مكتبة الجينوم بإجراء عملية هضم جزئى للـ د ن أ بإنزيم قطع يتميز بإرتفاع معدل نشاطه القطعى مثل إنزيم *Sau IIIA* والغرض من هذا هو الحصول على شظايا د ن أ طويلة نسبياً مما يضمن أن معظم الجينات ستكون سليمة ولم يحدث لأى منها أى تجزئة نتيجة للقطع.

ويفضل بصفة عامة إستخدام الفاجات التى تتكون من جزئ خطى من د ن أ الذى يمكن فيه إدخال القطع المرغوبة من الـ د ن أ الجديدة فى عدة مواقع للقطع الإنزيمى المحدد .

ويجمع الـ د ن أ الهجينى بعد أن يستكمل الفاج دورة التحليل للبكتيريا Lytic cycle وينتج وحدات فاج ناضجة معدية – ويمكن للفاجات إستيعاب د ن أ جينى بطول يتراوح من ١٠ – ١٢ كيلو قاعدة فى مثل هذه المكتبات لأنها تسمح بإدخال شظايا د ن أ كبيرة نسبياً . وحيث أن الهدف هو الحصول على مكتبة كاملة فإن عدد الشظايا يكون متناسباً عكسياً مع حجم الشظية وطردياً مع حجم الجينوم كما فى الجدول التالى :

المصدر (بكتريا القولون)	عدد شظايا د ن أ فى المكتبة الكاملة
إ . كولاى	١٥٠٠ شظية
الخميرة	٤٥٠٠ شظية
الدروسوفيلا	٥٠٠٠٠ شظية
الثديات	٨٠٠٠٠٠ شظية

(تمثل الأعداد المذكورة فى الجدول عدد شظايا د ن أ (كلونات مستقلة) اللازمة إلى إحتمال ٩٩% لإمكان الحصول على تتابع معين من د ن أ فى مكتبة د ن أ المعاد صياغته بمتوسط طول الشظية المدخلة ٢ X ١٠ ^٤ نوتيدة . ويرجع الإختلاف فى العدد إلى إختلاف عدد الجينات التى يحملها كل كائن ممثل فى الجدول وتحسب عدد الكلونات اللازمة من المعادلة :

$$N = \frac{\ln(1-p)}{\ln(1-f)}$$

حيث p تمثل الإحتمال المطلوب، f تمثل الجزء من الجينوم الكامل فى الكلون الواحد

وعلى سبيل المثال فى حالة مكتبة جينوم الثدييات المذكورة فى الجدول وعلى إعتبار أن هناك ٣ X ١٠ ^٩ نوتيدة فى الجينوم الأحادى :

فتكون :

www.zera3h.com
zera3h

$$N = \frac{\ln(1-0.99)}{\ln\left(1-\frac{2\times10^4}{3\times10^9}\right)}$$

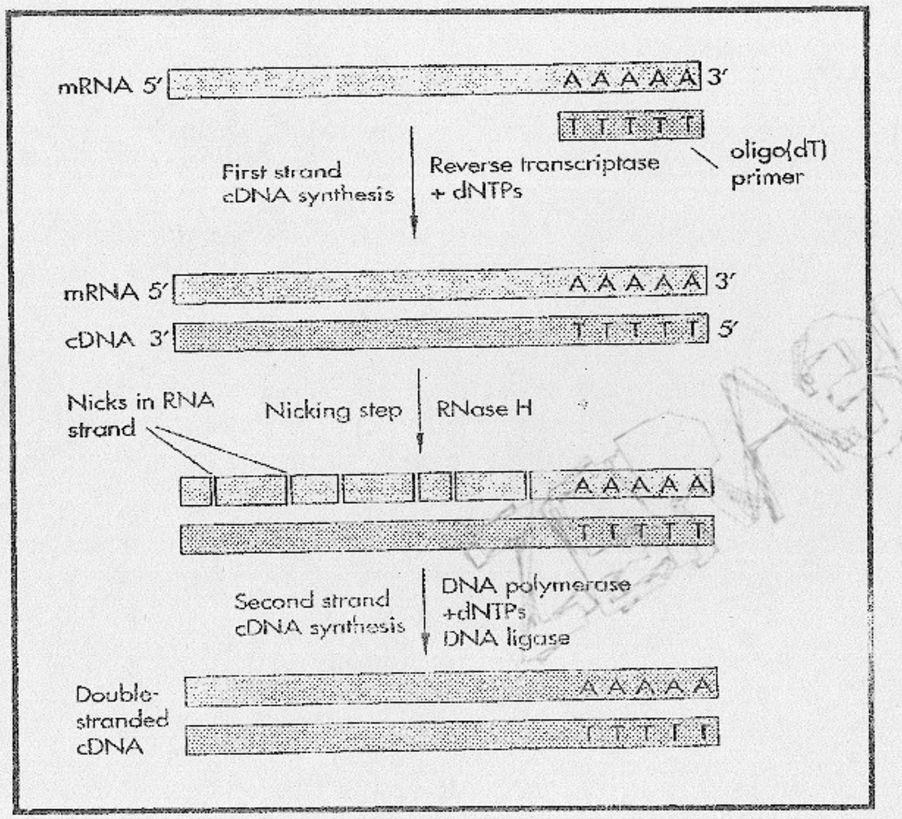
وأهمية تكوين مكتبة مكونة من شظايا د ن أ طويلة نسبياً تبدو واضحة إذا كانت المعادلة أعلاه تحتوى على شظايا أقل طولاً من ٥ × ١٠ ^٣ ، وعلى ذلك فإن مكتبة الجينوم البشرى المحتوية على ١٠ ^٦ شظية د ن أ معاد صياغتها بطول كبير نسبياً (٢ × ١٠ ^٤) ستصل فرصة الحصول عليها كاملة إلى ٩٩% وبالتالى فإن إحتمال الحصول على جين وحيد النسخة سيكون مرتفعاً .

ويطلق على هذه الطريقة إسم طريقة طلقات البندقية shot gun أى أننا نقوم بقطع جميع الجينوم بحثاً عن الجينات المرغوبة كمن يصوب بالبندقية على هدف غير معلوم ، وهذه التقنية تستغرق وقتاً طويلاً وعملاً متصلاً والنتيجة قد تكون غير مضمونة إذ قد نحصل على شظايا لا شفرية كثيرة ضمن الأعداد الهائلة من الشظايا الموجودة فى مكتبة الجينوم .

٢ - مكتبة د ن أ المنسوخ من ر ن أ الرسول cDNA

هناك تقنيات أخرى بديلة ومطلوبة وهى تعتمد على كلونة د ن أ المنسوخ حيث يقتصر الإختيار على تلك التتابعات من د ن أ التى يمكن نسخها إلى ر ن أ والتى يفترض أنها تمثل جينات هامة معينة . ويحدث ذلك عن طريق إستخلاص ر ن أ الرسول من الخلايا المتخصصة فى إنتاج بروتين معين بكميات كبيرة تزداد نسبة ر ن أ الرسول النوعى الذى يشفر لهذا البروتين . ثم يتم إنتاج نسخ من د ن أ

المنسوخ (cDNA) على قالب من ر ن أ الرسول بإستخدام إنزيم النسخ العكسى Reverse transcriptase ويتم تحويل جزيئات د ن أ الوحيدة السلسلة الناتجة إلى جزيئات مزدوجة بفعل إنزيم بلمرة د ن أ DNA polymerose (I) ثم يتم بعد ذلك إدخال هذه الجزيئات إلى البلازميد ثم تجرى عملية الكلونة كما فى الشكل التالى (شكل ٨ – ١١) .



شكل (٨ – ١١) : بناء الـ د ن أ المنسوخ cDNA حيث يتم تكوين نسخة من cDNA على قالب من ر ن أ بإستخدام إنزيم النسخ العكسى

www.zera3h.com
zera3h

وتوجد عدة مميزات إستخدام مكتبة د ن أ المنسوخ cDNA لكلونة الجينات :

١- إن كثير من البروتينات يتم إنتاجها بكميات كبيرة جداً بواسطة الخلايا المتخصصة مما يعنى أن ر ن أ الرسول الذى تنتجه هذه الخلايا للترجمة لهذه البروتينات سيكون وفيراً جداً لدرجة أن مكتبة د ن أ المنسوخ المحضرة من هذه الخلايا ستكون غنية جداً فى جزيئات د ن أ المنسوخ والذى يشفر للبروتينات النوعية .

٢- إن وفرة د ن أ المنسوخ المرغوب فيه فى المكتبة يقلل بشكل كبير مشكلة التعرف على الكلون المرغوب فى المكتبة .

ومثال ذلك نجد أن الهيموجلوبين ينتج بكميات كبيرة فى خلايا الدم الحمراء النامية ولهذا السبب فإن جينات الجلوبين كانت من أول الجينات التى تم كلونتها .

٣- إن كلونات د ن أ المنسوخ تحتوى على التتابعات الشفرية فقط أكسونات بدون الإنترونات وعلى ذلك فإذا كان الهدف من الكلونة هو التوصل إلى تتابع الأحماض الأمينية للبروتين من تتابع القواعد فى د ن أ الموازى أو لإنتاج البروتين بكميات كبيرة يدفع الجين المكلون إلى التعبير فى خلية البكتيريا أو الخميرة فمن الأفضل أن نبدأ بإستخدام الـ د ن أ المنسوخ .

وتعتبر مكتبات الجنيوم ومكتبات د ن أ المنسوخ مصادر لا حد لها للإستخدام فى البحوث ويتوفر العديد منها حالياً من مصادر تجارية .

تكوين مكتبة د ن أ المنسوخ من جزيئات منتخبة من ر ن أ الرسول

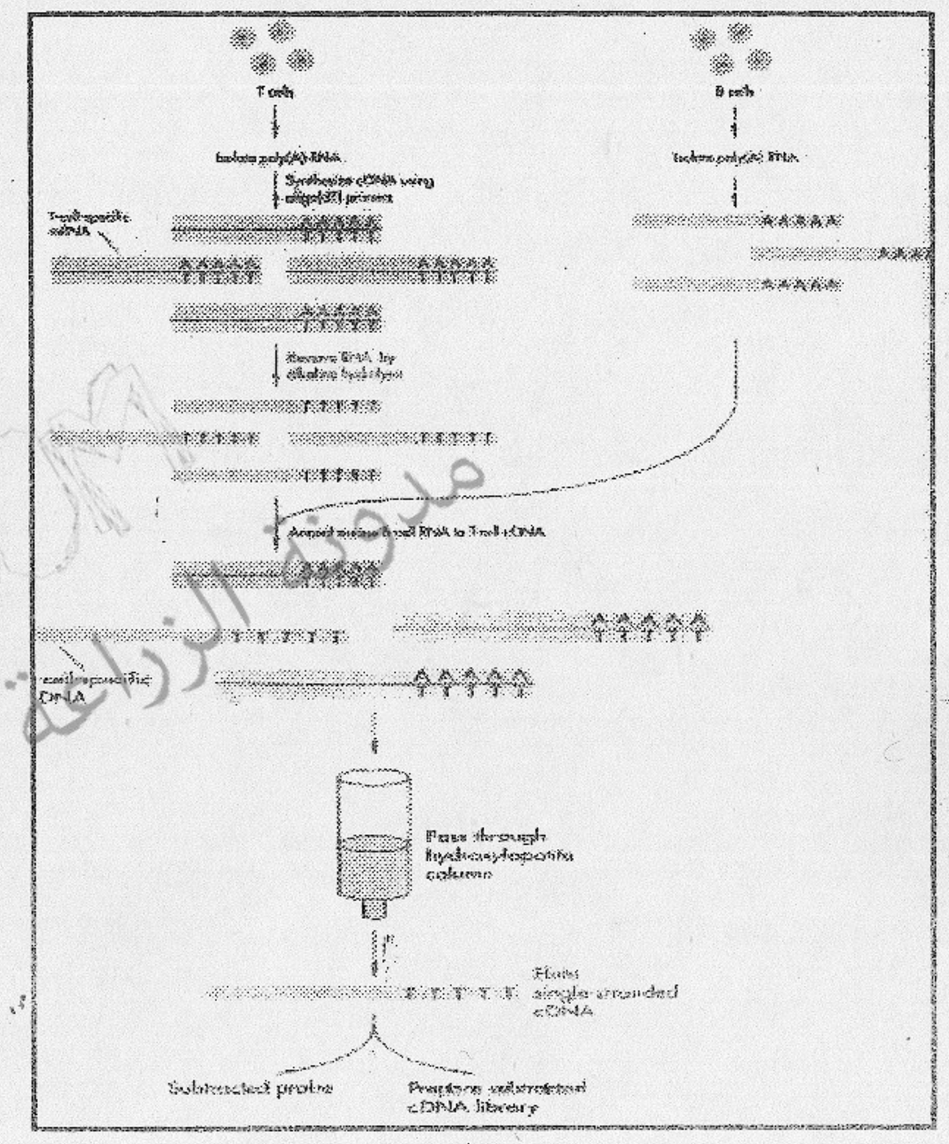
عندما يتم تحضير د ن أ المنسوخ من خلايا يكون فيها التعبير الجينى المرغوب عالياً جداً فإن غالبية كلونات هذا الـ د ن أ المنسوخ يتوقع أن تحتوى على تتابع

هذا الجين المرغوب مما يُعطى فرصة للحصول عليه بأقل جهد ممكن وبدرجة عالية من الكفاءة .

أما فى حالة الجينات الأقل درجة فى معد النسخ فتوجد عدة طرق يمكن إستخدامها للإكثار من جزيئات ر ن أ الرسول النوعى قبل تكوين مكتبة الـ د ن أ المنسوخ ، ومن هذه الطرق طريقة تسمى التهجين الطرحى Differential hybridization والتى يمكن إستخدامها إذا توفر نوعان متقاربان بشدة من طرز الخلايا من نفس الكائن ولكن أحد الطرازين فقط ينتج البروتين المرغوب .

ويجب التعرف على تلك التتابعات من د ن أ المنسوخ النادرة والتى تفشل فى العثور على جزئيات مكملة من ر ن أ الرسول للتزاوج معها والتى تمثل فى الغالب تتابعات ر ن أ الرسول الموجودة فقط فى الطراز الأول من الخلايا ، ويتم فصل هذه التتابعات غير المتزاوجة وتنقيتها بطرق بيوكيماوية سهلة تتضمن فصل الأحماض النووية وحيدة السلسلة عن مزدوجة السلسلة كما فى الشكل (٨ -١٢) .

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٨-١٢) : إستخدام طريقة التهجين الطرحي لتنقية الكلونات النادرة من د ن أ المنسوخ والتي يوجد لها ر ن أ الرسول فى الخلايا الليمفاوية من النوع T ولكن ليس فى النوع B .

الجدول الآتى يوضح الفروق بين مكتبات د ن أ

مكتبة cDNA	مكتبة الجينوم
كلونة الـ د ن أ المكمل لتتابع الر ن أ الرسول mRNA	١- كلونة الـ د ن أ مباشراً من جينوم الكائن .
تستخدم فى عمل مكتبة للكائنات مميزة النواة وبمقارنتها مع مكتبة الجينوم يمكن معرفة التركيب المعقد للـ د ن أ والمناطق الوسطية وصفات الجينات .	٢- المكتبة الوحيدة التى تستخدم فى الكائنات الغير مميزة النواة ويدرس فيها التتابع التعبيرى والمناطق المشفرة للبروتين .
يتم كلونة المناطق المشفرة (exons) فقط .	٣- يتم فيها كلونة شظايا تحتوى على كل من المناطق المشفرة والغير مشفرة (أى تتضمن المحفز والأكسونات والأنترونات) .
كلونة شظايا تحتوى على ذيل عديد الأدنين poly A	٤- يكلون شظايا لا تحتوى على ذيل عديد الأدنين poly A tail
المكتبات المكلونة من نسيج مختلف أو مراحل تطورية مختلفة تحمل جينات مختلفة تعتمد على نشاط نسخ الجين .	٥- يمكن عمل المكتبة من د ن أ معزول من أى نسيج أو أى مرحلة تطورية من الكائن .
تحتاج عدد أقل من الـ clones لتمثل mRNA الموجود فى نسيج معين. (أقل من ١٠ ^{٦} مزرعة مكلونة) .	٦- تحتاج لعديد من كلونات clones لتمثل جينوم الكائن بالكامل. (أكثر من ١٠ ^{٦} مزرعة مكلونة) .

www.zera3h.com
zera3h

التعرف على الكلونات المرغوبة فى مكتبة الجينات :

إن أهم مشكلة فى عملية كلونة الجين تتركز فى التعرف علـى المجموعـات النادرة من الكلونات التى تحتوى على شظية د ن أ المرغوبة. وتكون هذه المـشكلة أشد صعوبة بصفة خاصة فى مكتبة الجينوم حيث قد يتطلب الأمر ضرورة التعرف على خلية واحدة بكتيرية من مليون خلية تحتوى على جين بشرى مكلون مرغوب .

والتقنية الشائعة هى استخدام خاصية تزاوج القواعد المكملة فى جزيئات الأحماض النووية ويستخدم فى هذه التقنية منقب معلم بالإشعاع أو بطريقة كيميائية .

المنقبات أو المسبرات Probes

هى عبارة عن مجموعة من الجزيئات التى يمكن استخدامها لدراسة المكتبات الوراثية بحثاً عن جين نوعى أو جزئ د ن أ المنسوخ أو للتعرف على التقدير الكمى للتابعات من ر ن أ أو د ن أ المنسوخ التى يتم فصلها بطريقة التفريد الكهربائى على جل الأجاروز . والمنقب عبارة عن شظية من ر ن أ أو د ن أ معلمة بالفوسفور المشع ^{32}p ولكى يكون المنقب فعالاً يجب أن يتعرف على تتابع مكمل ويمكن استخدام الـ د ن أ المنسوخ الذى تم بناؤه على قالب نوعى من ر ن أ الرسول لمسح مكتبة د ن أ المنسوخ بحثاً عن قطع أكبر من الـ د ن أ المنسوخ أو لمسح مكتبة جينوم لاستكشاف والتعرف على تتابع مكمل فى المنطقة الشفرية للجين.

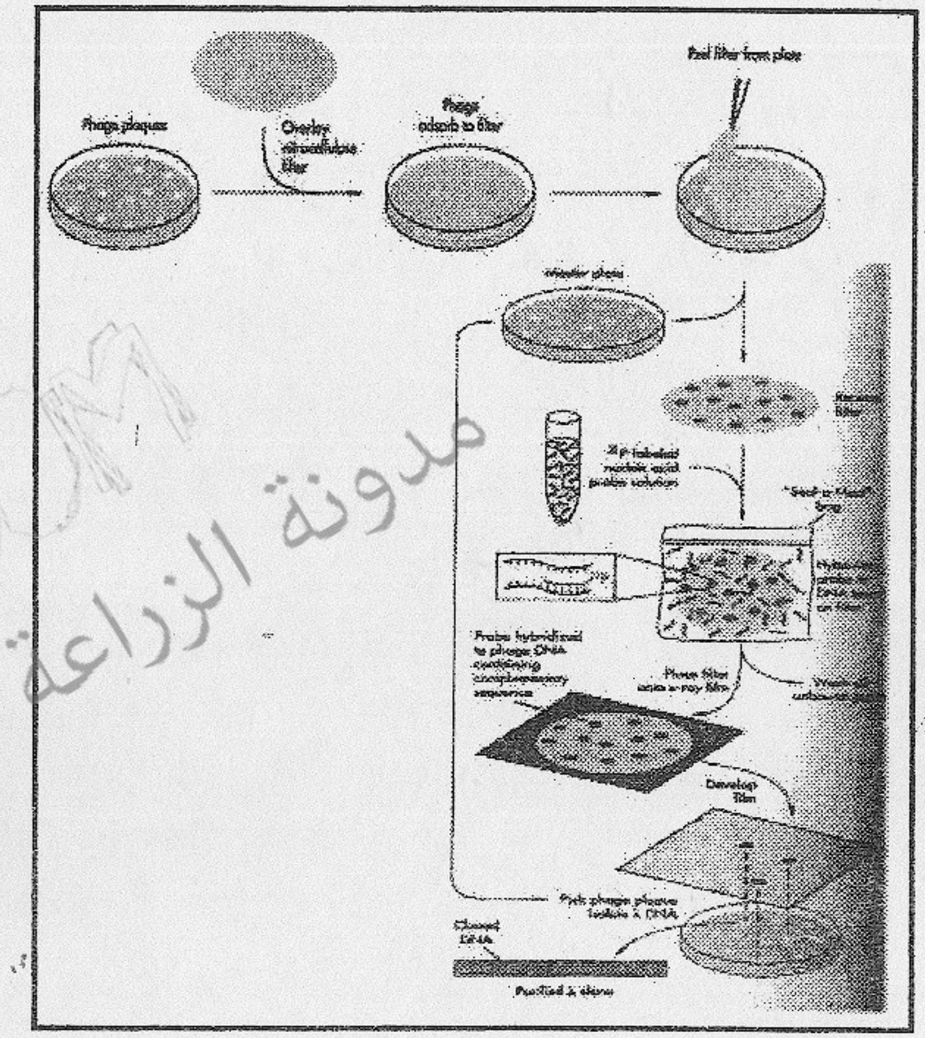
وللتعرف على الكلون المحتوى على الجين المرغوب يتم نقل blotting أطباق المزرعة المحتوية على المستعمرات البكتيرية النامية على قطعة من ورق

الترشيح التى يلتصق بها بعض المستعمرات البكتيرية وتتم معاملة المستعمرات الملتصقة والتى تعرف بالنسخ المطابقة Replicas بمحلول قلوى لفصل خيطى د ن أ فيها ثم يتم تحضينها مع منقب مشع يحتوى على جزء من تتابع الجين المستهدف ، وإذا استدعت الضرورة يمكن إجراء مسح لملايين المستعمرات البكتيرية بهذه الطريقة للتوصل إلى الكلون الذى يعمل هجيناً مع المنقب شكل (٨-١٣) .

الخرائط الوراثية أو الارتباطية

المقصود برسم الخرائط الوراثية هو تحديد المواقع النسبية لمقاطع المادة الوراثية المختلفة فى المحتوى الوراثى للكائن أى تعتبر الخرائط الوراثية طريقة لتقديم وتلخيص البيانات عن العلاقات الموضعية بين الجينات فى الكروموسومات أو المجاميع الإرتباطية المختلفة والمستخلصة من دراسات الارتباط والعبور .

مدونة الزراعة
ZERA3H.COM
zera3h
www.zera3h.com



شكل (٨-١٣) : طريقة نقل النسخة المطابقة للتعرف على عزل مستعمرة بكتيرية تحتوى على كلون د ن أ مرغوب . والتهجين مع منقب من د ن أ عالى الاشعاع حيث يتم تحديد المستعمرات التى استجابت للتهجين بالتصوير بالاشعاع الذاتى .

أو بمعنى آخر فإن الخرائط الوراثية تمثل وصفاً بيانياً مركزاً عن مواقع الجينات فى المجموعات الارتباطية المختلفة والمسافات النسبية التى بينها معبراً عنها بنسب مئوية للعبور الذى يحدث فيما بينها . ولذلك سميت الخرائط الوراثية Genetic maps أو خرائط الارتباط Linkage maps أو خرائط العبور Crossing over maps .

وعليه فإن الخرائط الوراثية تعتمد على دراسة الارتباط والعبور ومن الناحية التاريخية فإن دراسات Bateson & Punnet (١٩٠٦) على بسلة الزهور *Lathyrus odoratus* والتى أوضحت ظاهرة التجاذب والتنافر كنوع من الشذوذ لقانون التوزيع الحر لمندل وذلك بمشاهدة أن الاتحادات الأبوية تزيد على حساب الاتحادات الجديدة وكذلك دراسات مورجان Morgan (١٩١٠) على الدروسوفيلا ميلانوجاستر والتى أدت إلى ظهور نظرية الكروموسومات للوراثة بفحواها عن الارتباط الوراثى بين الجينات المحمولة على نفس الكروموسوم (المجموعة الارتباطية) .

وأنه يمكن تقدير المسافة بين الجينين عن طريق تقدير النسبة المئوية للعبور بينهما (أو النسبة المئوية للاتحادات الجديدة) ومن ثم تحديد التسلسل النسبى للجينات المختلفة المرتبطة متخذاً ١% عبور كوحدة للقياس . وتمكن بذلك من وضع خرائط كروسومية تمثل كل منها وصفاً بيانياً مركزاً عن مواقع جينات مجموعة ارتباطية واحدة. وأدى ذلك إلى الفكرة التقليدية عن إمكانية معرفة الترتيب الهندسى لمواقع الجينات والمسافة النسبية بينها بدراسة العوامل المتفارقة التى تتحكم فى الصفات النوعية أو المورفولوجية Polymorphic Genetic Markers (التفصيل يرجع إلى الكتاب العملى) .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

وحيث أن عدد هذه المعلومات محدود بالنسبة لكل كائن وهذه الصفات يمكنها أن تتأثر بالعوامل البيئية وكذلك يمكن أن تخضع للأثر المتعدد للجينات Pleiotropic effect وتحتاج إلى إجراء عدد كبير جداً من التهجينات (تهجين لكل زوجين من العوامل أو الصفات) مما أدى إلى إمكانية تكوين خرائط وراثية محدودة لعدد قليل من الكائنات فقط .

مع تطور العلم وظهور طرق التفريد الكهربائى للبروتينات توفر نوع جديد من الدلائل سمى بـ " مشابهات الإنزيم Isozymes" التى لعبت دوراً فى تطور الخرائط الوراثية لبعض الكائنات . ولكن الطفرة الحقيقية فى توقيع أو ترسيم الخرائط الوراثية بدأت أو نشأت مع ظهور تقنيات البيولوجيا الجزيئية حيث وفرت هذه التقنيات نوعين جديدين من الدلائل أو المعلمات الوراثية الجزيئية Molecular genetic markers التى تتميز بوفرة عددها وبذلك تغطى المحتوى الوراثى لجميع الكروموسومات .

النوع الأول RELPs or Restriction Fragment Length Polymorphism

وهذه عبارة عن معلمات أو دلائل تنتج من التباين أو الاختلافات فى أطوال شظايا الـ د ن أ الناتجة من هضم الـ د ن أ الجينومى بإنزيمات القطع المتخصصة والتى يمكن الاستدلال عليها باستخدام تقنية الـ Southen blotting باتباع الخطوات التالية :

١- عزل وتنقية الـ د ن أ الجينومى من الأفراد المختلفة .

٢- هضم الـ د ن أ بأحد إنزيمات القطع المتخصصة (فينتج مجموعة من شظايا الـ د ن أ مختلفة الأطوال وذلك تبعاً لاختلاف توزيع مواقع القطع فى جزئ الـ د ن أ) .

٢- فصل شظايا الـ د ن أ بواسطة التفريد الكهربائى فى جل من الأجاروز .

٣- نقل شظايا الـ د ن أ من الجل إلى غشاء من النيلون أو النيتروسليولوز بعد إجراء عملية مسخ للـ د ن أ DNA denaturtion .

٤- تحضين الغشاء مع منقب أو مسبر Probe من الـ د ن أ المعلم بأحد النظائر المشفرة حيث يحدث تزاوج بين القواعد الموجودة فى المسبر والقواعد المكملة لها فى أحد أو بعض الشظايا .

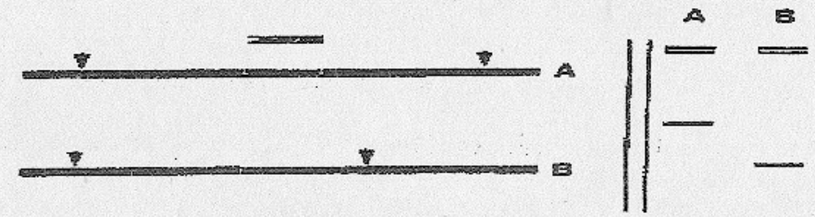
٥- يتم إكتشاف الشظايا التى هجنت مع المنقب عن طريق الاشعاع الذاتى باستخدام شريحة من الأفلام الحساسة (X-ray) حيث تظهر فى صورة حزم Bands ، وبالتالى بفرض أن فردين يختلفان عن بعضهما فى موقع القطع لإنزيم متخصص معين بحيث يؤثر ذلك على طول شظية معينة مكملة لـ د ن أ المنقب فإن ذلك سوف يؤدى إلى ظهور الحزمة الخاصة فى كل فرد فى مواقع مختلفة على الـ X-ray (شكل ٨-١٤) .

وبهذه الطريقة فإن التباين فى موقع قطع إنزيم معين على مستوى الـ د ن أ سوف يكشف فى صورة تباين فى أطوال شظايا الـ د ن أ على المستوى المظهرى (شكل ٨-١٥).

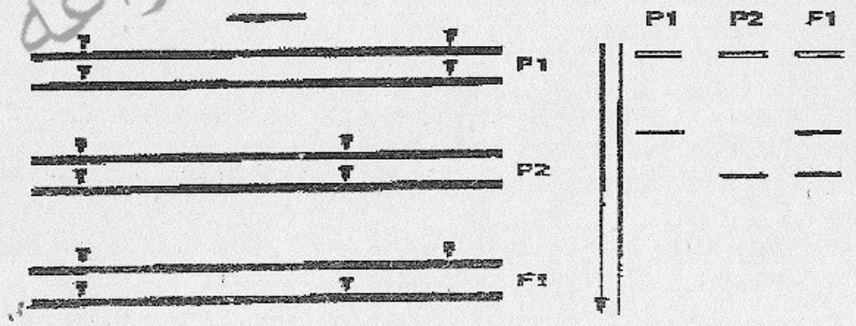
والـ د ن أ المنقب أو المسبر يمكن أن يكون أى شظية من الـ د ن أ الجينومى أو الـ د ن أ المكمل أو المنسوخ حيث يتم وسم هذه الشظايا بمادة مشعة مثل الفوسفور ^{32}p أو الكبريت المشع ^{35}s ز كما ظهرت حديثاً طريقة لوسم المسبر

www.zera3h.com
zera3h

باستخدام مواد غير مشعة تعتمد على إنبعاث وميض نتيجة لتفاعل كيمـاوى معـين Chemiluminscent والطريقة الأخيرة توفر الأمان للباحثين والبيئة المحيطة بهم.



شكل (٨-١٤) : رسم تخطيطى يوضح نمط ظهور شظايا الـــ د ن أ المتباينـة الأطوال على الأفلام الحساسة (x-ray film) .



شكل (٨-١٥) : التباين فى أطوال شظايا الـــ د ن أ بعد قطعها بأحـد إنزيمـات القطع المتخصصة فى فردين مختلفين وراثياً (P_2, P_1) والهجين بينهما (F_1) .

ويمكن استخدام كل منقب مع د ن أ مقطوع بأنواع مختلفة من إنزيمات القطع المتخصصة وبالتالى هذا ينتج عدد كبير جـداً مـن المعلمـات الوراثيـة RFLP markers.

وتتميز الـ RFLP's بخصائص عديدة تؤهلها لأن تكون من أفضل المعلمات الوراثية المفيدة لرسم الخرائط الوراثية المشبعة بالمعلمات، وأهم هذه المميزات:

١- عددها كبير جداً .

٢- ثابتة التوارث حيث لا تتأثر بالعوامل البيئية .

٣- تتبع فى توراثها نظام السيادة المشتركة Co-dominant أى تظهر على الأفراد الخليطة صفات كلا الأبوين .

٤- وجود العديد من الأليلات لكل RFLP.

٥- عدم وجود الأثر المتعدد للجينات .

٦- إمكانية إكتشافها باستخدام الـ د ن أ المعزول من أى نسيج .

٧- إمكانية اكتشافها باستخدام الـ د ن أ المعزول فى أى عمر من أعمار الفرد .

٨- إمكانية حفظ الـ د ن أ لفترات طويلة .

٩- تعطى فكرة عن طبيعة التباين بين الأفراد (نقص ، تكرار ، استبدال ، قواعـد .... الخ).

١٠- لا تحتاج إلى عدد كبير من الهجينات بل إنه فى معظم الحالات يكفى نتـائج تلقيح واحد لرسم خريطة وراثية .

وبالتالى أصبحت هذه الخرائط أكثر فائدة عن ذى قبل .

www.zera3h.com
zera3h

النوع الثانى RAPDs or Randomly Amplified Polymorphic DNA

إكتشف ويليامز عام ١٩٩٠ هذه المعلمات حيث تعتمد على استخدام كمية ضئيلة من الـ د ن أ الجينومى لإنتاج نسخ عديدة من قطع أو شظايا معينة بواسطة تقنية التفاعل السلسلى للبوليمرات Polymerase Chain Reaction والتى تعتمد على استعمال بادئات صغيرة من الـ د ن أ (يتراوح طولها من ٩-١٠ قواعد نيروجينية) للتعرف على مقطع أو مقاطع معينة من الـ د ن أ يتم تخليقها بصورة متكررة عن طريق إنزيم بلمرة خاص يسمى Taq polymerase عند وضع التفاعل تحت ظروف مبرمجة خاصة لدورات عديدة. كل دورة تتكون من ٣ مراحل هى مرحلة مسخ للـ د ن أ (Denaturation) ثم مرحلة تزاوج من البادئ primer annealing ثم مرحلة استطالة extension.

ويعتمد ظهور التباين بين جزيئات الـ د ن أ للأفراد المختلفة على تحليل الناتج من تفاعل الـPCR باستخدام التفريد الكهربائى فى جل من الأجاروز حيث تظهر حزم bands معينة تمثل قطع الـ د ن أ المكررة فتظهر فى بعض الأفراد ولا تظهر فى البعض الآخر .

ومميزات طريقة RAPDs هى نفس مميزات طريقة الـ RFLP's إلى جانب أنها أسهل منها إذ أنها لا تحتاج إلى Southern blotting .

ويمكن تلخيص خطوات رسم الخرائط الوراثية على المستوى الجزيئى كما يلى :

١- دراسة التباين بين الأفراد أو السلالات المختلفة لانتخاب الآباء المتوفرة لديهم أكبر قدر من التباين على المستوى الجزيئى .

٢- عمل التهجينات بين الآباء المنتخبة للحصول على الأجيال الإنعزالية .

٣- تحديد النسب الإنعزالية بالنسبة للدلائل أو المعلمات المختلفة وتقدير درجة الارتباط بينها والمسافات النسبية وتقسيمها إلى مجاميع إرتباطية وذلك باستخدام برامج خاصة للحاسب الآلى .

٤- تحديد المعلمات المرتبطة بالصفات الإقتصادية الهامة .

والخرائط الوراثية ذات أهمية كبيرة ليس فقط فى الدراسات الوراثية ولكن أيضاً فى تربية النبات والحيوان إذ أن:

١- الموقع النسبى للجينات يعطى فكرة عن تنظيم المحتوى الوراثى للكائن وتوزيع الجينات على الكروموسومات أو المجاميع الإرتباطية المختلفة، مما يسهل التعامل معها وتداولها .

٢- تمكن الخرائط الوراثية من تحديد مدى إرتباط المقاطع المختلفة من المادة الوراثية بالصفات الوراثية سواء الكمية (التى تعتمد فى توارثها على العديد من الجينات مثل كمية المحصول) أو النوعية (التى تعتمد فى توارثها على جين واحد أو عدد قليل من الجينات).

٣- تلعب الخرائط الوراثية دوراً بارزاً فى برامج التربية والتحسين الوراثى فهى تعتبر المرشد الذى عن طريقه يمكن أن يبدأ المربى برنامجه بخطى ثابتة آمنة حتى يصل إلى الهدف المنشود فى أقصر وقت ممكن، فبرسم هذه الخرائط يتوفر لدى المربى معلمات markers معينة ترتبط بظهور صفة وراثية معينة وبالتالى تسهل على المربى عملية الانتخاب للصفات المرغوبة والتى هى الأساس الذى تقوم عليه برامج التربية. فمثلاً إذا استطعنا أن نحدد مقطع أو مقاطع معينة من المادة الوراثية د ن أ يرتبط ظهوره بوجود صفة إقتصادية

www.zera3h.com
zera3h

هامة مثل المقاومة لمرض معين فيمكن عن طريق إجراء إختبارات باستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية إنتخاب النباتات الحاملة لهذه المقاطع والتى ترشد المربى على وجود الصفة المرغوبة مباشرة وبدقة مما يمكنه من الوصول إلى الهدف المنشود من برنامج التربية فى خلال جيلين أو ثلاثة بدلاً من ١٠ إلى ١٥ جيل باتباع الطرق التقليدية .

محاذير بعض تقنيات الهندسة الوراثية :

يرقب عالمنا المعاصر بعين القلق المخاطر الهائلة التى قد تنجم عن بعض تطبيقات الهندسة الوراثية، وما قد تتسبب فيه من كوارث يصعب السيطرة عليها بعد حدوثها وعلى سبيل المثال:

١- تمثل تقنيات نقل، وغرس الموروثات فى الفيروسات والبكتيريا تهديداً بإمكانية إنتاج أنواع من الكائنات الدقيقة شديدة الخطر يمكنها القضاء على ملايين من البشر والكائنات الحيوانية والنباتية. وعلى سبيل المثال : البكتيريا آكلة لحوم البشر وفيروسات نقص المناعة البيولوجية وغيرها من الكائنات التى يمكن استخدامها فى الحروب البيولوجية لتحقيق دمار شامل للإنسان ومحيطه الحيوى.

٢- إنتاج نباتات مهندسة وراثياً مقاومة لمبيدات الحشائش وادخالها إلى البيئة دون دراسة كافية يمكن أن يؤدى إلى انتقال جينات من هذه النباتات إلى نباتات برية عشبية ضارة ذات قرابة وراثية بالنباتات المهندسة وراثياً مما قد ينتج عنه نباتات عشبية مقاومة للمبيدات العشبية الضارة ويصعب مقاومتها .

٣- وفى حالة إنتاج سلالات نباتية محورة وراثياً للإنتاج العالى للبروتين ، فإنه ليس بالضرورة أن نقل جين لبروتين من نوع نباتى إلى نوع آخر يؤكل يكون آمناً تماماً، فقد يؤثر هذا الجين فى النباتات المهندسة وراثياً بطريقة غير متوقعة على البروتينات الأخرى فى النبات المنقول إليه . ومن الممكن أيضاً أن تغير جين أو اضافة جين قد يغير من التوازن فى الخلية بطريقة غير متوقعة . ولو أن احتمالات حدوث مثل هذه الأشياء تبدو غير محسوبة ، إلا أنه يجب اختبار النبات المهندس وراثياً بعناية كما لو كان نباتاً جديداً .

٤- المخاطر المتوقعة لتأثير المنتجات أو الكائنات المحورة وراثياً على القائمين بالعمل عليها فى مجالات الهندسة الوراثية وزراعة الأنسجة وغيرها من المجالات .

٥- الاتجاه نحو إنتاج تراكيب وراثية متجانسة ، والتوسع فى زراعة أنسجتها يؤدى إلى إنتاج كائنات متطابقة وراثياً تتناقص قدرتها على مقاومة الإصابة بالأمراض والآفات .

٦- إنتاج حشرات ، أو كائنات دقيقة ذات تراكيب وراثية محورة واطلاقها ، أو هروبها من المعمل إلى البيئة يمكن أن تتسبب فى أضرار بالغة ، واخلال بالنظام البيئى ، والتوازن البيولوجى نتيجة للتفاعل المتوقع بين المنتج المحور وراثياً وبين الكائنات الحية المحيطة به ، أو بينه وبين البيئة المتأثرة به .

٧- تناول بعض المأكولات المنتجة بتقنيات الهندسة الوراثية مثل: تلك المحتوية على التربتوفان قد تؤدى إلى أمراض الحساسية ، وتدنى كفاءة الجهاز المناعى ، والإصابة باختلال وظائف الكلية والطحال والامعاء .

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

٨- إنتاج كائنات مهندسة وراثياً لتنقية بقع الزيت المتسربة إلى مياه البحار ، قد يؤدى إلى أن تصبح هذه الكائنات سامة للأسماك مما يؤثر على الثروة السمكية.

٩- إمكانية إنتاج كائنات دقيقة مهندسة وراثياً تتغذى على البترول فتجف مصادره.

١٠- العلاج الجينى للأمراض ونقل الجينات بالفيروسات إلى الخلايا المريضة قد يؤدى إلى مضاعفات ضارة على الرغم من أن استخدام بروتينات فى التشخيص والعلاج وكذلك استخدام جينات أيضاً فى التشخيص يعد أكثر أماناً .

مخاطر يلزم تجنبها فى تقانات الهندسة الوراثية فى الإنسان :

١- مخاطر التحكم فى جنس المولود الأمر، الذى يهدد باختلال التوازن العددى بين الذكور والاناث بالمجتمعات الانسانية وما قد يترتب على ذلك من تأثيرات على الروابط الأسرية والاجتماعية والنفسية وعلى النمو والسلوك البشرى .

٢- مخاطر التحكم فى القدرات العقلية ومعدلات ظهور الشيخوخة والتحكم فى التركيب الظاهرى للإنسان من حيث طوله وشكله ولون جلده وشعره وعينيه وقدرته العضلية وتنمية بعض صفاته العدوانية .

٣- مخاطر التحوير الجينى للأمشاج (الجاميطات) التناسلية البشرية لما قد يترتب على ذلك من ظهور صفات يصعب إصلاحها أو تداركها مثل إنتاج مسوخ بشرية أو أفراد عديمى الأهلية .

٤- مخاطر اختلاط الأنساب .

٥- مخاطر نقل الجينات الحيوانية وما قد يترتب على ذلك من مشاكل غير محسوبة تهدد حياة الإنسان وأجياله القادمة .

الباب التاسع

الزراعة النسيجية Tissue Culture

وطرق نقل الجينات فى النبات

Gene Transfer in Plant

مقدمة ونظرة تاريخية:

تشير النظرة التقليدية للطفرات الجسدية فى مميزات النوى إلى أن حدوثها نادر حيث يبلغ تكرارها واحد فى كل مليون، مما يجعلها ذات أهمية متواضعة فى حركية العشائر. وطفرات كهذه تكون ذات أثر فعال عندما تحدث فى الخط الخلوى الجنسى لتزيد من التباين. وتقترح البحوث الحديثة أساليبا جديدة تستطيع بها الكائنات الحية أن تتغير وراثياً دون تدخل الجنس. وعلى سبيل المثال فإن الطفرات الجينية والكروموسومية توجد بتكرار أعلى مما هو متوقع فى خلايا أنسجة النباتات المزروعة فى مستنبت غذائى. وهذه الطفرات مجتمعة أطلق عليها اسم التباين السوماكلونى أو تباين الكلونات الجسدية بواسطة العالمين Larkin and Scowcroft (١٩٨١). لقد تم التعرف على التباين الكروموسومى منذ الثلاثينات من القرن العشرين فى خلايا الأورام التاجية Crown gall tumors وأوضح كل من Mitra and Steward (١٩٦١) وجود شذوذات كروموسومية عددية ومجموعية فى معلق خلايا الجزر *Dacus carota* المزروع فى الأنبوب، هذا بالإضافة إلى إنقسامات خلوية غير منتظمة. وأن كان التقدم فى مجال الزراعة النسيجية حثيثاً فى حقبة الستينات فإنه سار بخطى أوسع

www.zera3h.com
zera3h

فى منتصف السبعينات ثم لاقى رواجا أكبر فى السنين القليلة الماضية. ويرجع الفضل فى ذلك إلى التطور الهائل فى أساليب التقنية الحديثة.

وتستخدم الزراعة النسيجية كأداة أساسية لنجاح عمليات النقل الجينى فى الكائنات مميزة النواة.

النمو Growth:

يعنى التغيرات الكمية التى تحدث أثناء التطور ويعرف بأنه التغير الغير عكسى فى الحجم (الخلية – العضو – النبات).

التمايز أو التكشف Differentiation

يعنى التغيرات النوعية التى تحدث أثناء التكون على مستوى الخلية وهى التغيرات التى تحدث فى الخلايا الميرستمية وتحولها إلى خلايا متخصصة لأداء وظيفة محددة. حيث على مستوى العضو، فإن التغيرات النوعية تكون فى اللون والتركيب الكيماوى، بينما على مستوى النبات يكون التغير من الحالة الخضرية للحالة الزهرية.

وعلى ذلك يمكن القول أن النمو والتمايز هما أساس عملية التكون فى النبات (العمليتان التطوريتان الأساسيتان). وعادة يحدث كلا من النمو والتمايز فى وقت واحد أثناء التكون ولكنه أحياناً يمكن ملاحظة نمو بدون تمايز، مثال ذلك تكوين كتلة خلوية (الكالس Callus) غير متميزة. ودراسة عملية التطور فى النبات يمكن أن تجرى على ثلاث مستويات: مورفولوجية، فسيولوجية أو بيوكيماوية.

ويختص علم المورفولوجى الخارجى والتشريح النباتى بدراسة التطور من الناحية الظاهرية والتركيبية. أما دراسة النواحى الفسيولوجية والبيوكيماوية للتطور النباتى فوسائله عديدة والهدف منها هو تحديد العوامل الفسيولوجية والكيماوية التى تحدد التغيرات الشكلية فى عملية التطور، ويستعمل مصطلح Morphogenesis للدلالة على الشكل فى الكائنات الحية.

ويجب أن لا يقتصر فهم كلمة الشكل form على الشكل العام للنبات الكامل بل أنها تشمل التنظيم أو الترتيب على مستوى الخلية والنسيج والعضو أو النبات الكامل. وبالطبع فإن دراسة تخلق الشكل لا تعنى فقط دراسة التغيرات الشكلية بل دراسة العوامل المحددة سواء كانت فسيولوجية أو كيماوية.

وتعتبر طريقة الدراسة خلال مزارع الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية من أدق طرق دراسة تخلق الشكل والتطور فى جسم النبات. ولقد بدأت فكرة زراعة الخلية النباتية بعيداً عن جسم النبات عندما فكر العلماء فى الخلية على أنها الوحدة التركيبية والوظيفية فى جسم النبات أو ما يعرف بالنظرية الخلوية Cell theory والتى قدمها العالمان الألمانيان Schwann & Schleiden عام ١٨٣٨. ومفاد هذه النظرية أن جسم الكائن الحى يتركب من الخلايا وكل خلية هى وحدة مستقلة ذات مقدرة شاملة Totipotent على إعطاء نبات جديد، وأن الخلايا المتكشفة تحتفظ بتلك المعلومات التى توارثتها عن الخلية الأم (الزيجوت) وقد أعتمد العالمان فى ذلك على أن جميع الكائنات الحية رغما عن تباينها فى التركيب والشكل ودورة الحياة وطرق التكاثر إلا أنها تشترك جميعا فى أنها كانت ممثلة فى إحدى مراحل حياتها أو خلال تاريخها التطورى الطويل فى صورة خلية واحدة Totipotent وأن جميع ما يظهر بعد ذلك فى جسم النبات ونشاطاته المختلفة من

مدونة الزراعة
zera3h
www.zera3h.com

تعقد تركيبى أو وظيفى ينبع من تلك الخلية التى تحتوى على كل المعلومات أو التعليمات الضرورية للكائن حتى ينمو ويتكاثر بطريقة محددة.

وفى عام ١٩٠٢ كان هابرلاندت Haberlandt أول علماء النبات الذين حاولوا التحقق من صدق نظرية المقدرة الشاملة Totipotency للخلية النباتية وذلك بمحاولة زراعة الخلية الخضرية بعيداً عن جسم النبات الأم. وقد علق على ذلك بأنه لو أمكن زراعة الخلية الجسمية للنباتات الراقية فى محاليل مغذية بسيطة فإن ذلك سوف يوضح إمكانيات وقدرات تلك الخلية وسوف يمدنا ذلك أيضا بمعلومات عن العلاقات الداخلية والتأثيرات الفسيولوجية التى تتعرض لها الخلية داخل جسم النبات.

وأضاف أنه للتحقق من قدرات الخلية فانه يجب أن تتخلص الخلية من كل ما يحيط بها من مؤثرات بيئية أو وراثية داخل جسم النبات وأن تتاح لها الفرصة لتحاكى وتكرر تلك الأحداث التى تنتهى بتكوين النبات الكامل. وتنبأ هابرلاندت بأنه ليس مبالغاً إذا ما توقع الحصول على أجنة من خلايا جسمية أو خضرية Somatic.

ولقد مضى أكثر من نصف قرن قبل أن يتمكن العلماء من تحقيق ما توقع به هابرلاندت وأصبح مؤكداً أن بعض أنواع الخلايا النباتية Totipotent وإنها تحت الظروف الملائمة تنقسم لتعطى كاللس (حيث تتم أولاً عملية عكسية لعملية التميز وتسمى de-differentiation يزال فيها ما حدث من تثبيط repression كلى أو جزئى لبعض الإمكانيات الوراثية) يمكنه أن يتحول إلى تراكيب شبه جنينية تتطور لتعطى نبات كامل بعد أن تستعيد الخلية كل قدراتها الكامنة. وحقيقة الأمر أن توفر نظام معملى يمكن خلاله زراعة عدد كبير من الخلايا المتجانسة التى يمكنها أن تتحول بكثرة أو بكثافة عالية إلى أعضاء أو

تراكيب نباتية مثل الجذور أو السيقان أو تراكيب جنينية أو حتى لخلايا متخصصة من نوع معين، كل ذلك أو أى من ذلك يعد ذو قيمة بيولوجية كبيرة ويتيح فرصة نادرة لدراسة التغيرات البيوكيميائية والطبيعية والتركيبية خلال مراحل نمو وتطور النبات.

فى المعمل ويستعمل مصطلح زراعة الأنسجة Tissue culture للدلالة على زراعة أى جزء نباتى على بيئة صناعية فى المعمل تحت ظروف خالية من التلوث الميكروبى (شكل ٩-١) ولو أن الواقع أن هذه المزارع تتم على ٣ مستويات:

- زراعة الخلية أو النسج Cell and tissue culture
- ٢- زراعة الأعضاء أو أجزاءها Organ culture
- ٣- زراعة البروتوبلاست Protoplast culture

وبالإضافة للدراسات العلمية الفسيولوجية والبيولوجية بصفة عامة فإن هناك العديد من التطبيقات العملية فى المجالات الآتية:

١- إكثار النباتات التى يصعب إكثارها بالطرق المعتادة.

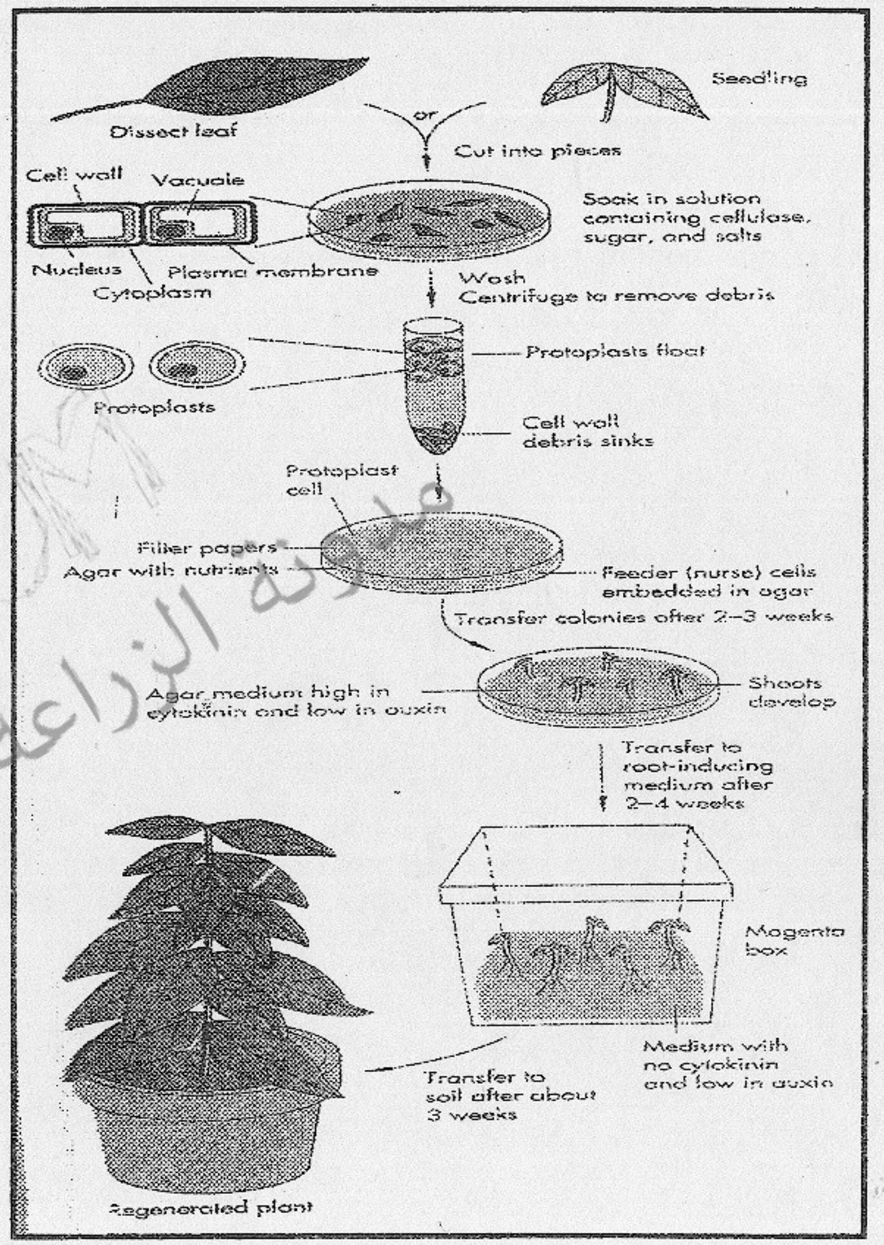
٢- تربية النباتات والحصول على طفرات أو هجن جديدة جيدة الصفات.

٣- أمراض النبات والحصول على سلالات خالية من الفيروس.

٤- الهندسة الوراثية بإدخال أو نقل صفات جديدة مرغوبة كمادة وراثية إلى نواة الخلية الأم.

٥- إنتاج المواد الطبية أو العطرية النادرة بطريقة إقتصادية فى المعمل.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٩-١) يوضح خطوات الزراعة النسيجية

مصادر وطرز التباين الكروموسومى فى الزراعة النسيجية

بالرغم من أن الخلايا المزروعة لا يمكن إعتبارها متكافئة فى كل الأنواع أو مختلف المستنبتات أو الأنشطة التكشفية، وبالرغم من أنه يصعب أن نستخلص أسساً عامة من الكم الهائل من البحوث فى هذا المجال، إلا أنه يمكن أن نستدل على أن التباين الكروموسومى قد شوهد تباعاً وبكثرة توحى بأنه متوقع فى جميع المستنبتات النسيجية. ويعتقد D'Amato (١٩٧٣) أن التباينات الكروموسومية فى نظام الزراعة النسيجية تستقى من أربع مصادر مختلفة ومتشابكة.

١- تباين كروموسومى مصاحب وملازم للنسيج المنزوع explant، وتشير الدراسات إلى أن ثمانين بالمائة من مغطاة البذور تتسم بحدوث تضاعف كروموسومى داخلى فى غياب الإنقسام الخلوى وهو ما يسمى endoreduplication ويعتقد أن هذه العملية لها دخل كبير فى عمليات التمايز الخلوى والنسيجى. وعندما تستقطع خلايا بهذه المواصفات لزراعتها أو تستحث للدخول فى إنقسام ميتوزى ينتج عنها خلايا متضاعفة المجموعة الكروموسومية ربما رباعية أو بمكررات أعلى.

٢- تباين كروموسومى نتيجة لإستجابة النواة لإستحثاث الكاللس. ويعتبر إستحثاث الكاللس فى حد ذاته عملية تشكل خلوى، فعلاوة على إحتمال تنشيط التضاعف الكروموسومى الداخلى للخلايا فى المستنبت فإن بعض الخلايا تستجيب بأسلوب التنشيط أو التجزئة النووية Nuclear fragmentation. وتتم هذه العملية عن طريق المغزل متعدد الأقطاب، الكروموسومات المتلكئة وما شابهها من شذوذات. وينتج عنها عادة خلايا ثنائية أو متعددة النواة. وبطبيعة

www.zera3h.com
zera3h

الحال فإن إنقسامات خلوية متعاقبة ستؤدى إلى تناقص فى العدد الكروموسومى من نوع التغيرات الكروموسومية العددية (Aneuploidy).

٣- تباين كروموسومى نتيجة لرد فعل النواة لظروف الزراعة الراسخة established cultures، وكثيراً ما ينشأ التباين مبكراً فى المزارع النسيجية ويزداد بمرور الوقت، ويعتقد أن إستمرارية التضاعف الداخلى تعطى مزيداً مستمراً من الخلايا ذات التضاعف الكروموسومى المجموعى (Polypolidy). وتشير الأبحاث أن ثمة عوامل متعددة تؤثر فى الثبات الكروموسومى لمزارع الأنبوب الراسخة، ومن بين هذه العوامل التوازن الهرمونى، والمكونات الغذائية نوعاً وكما فى المستنبت، والظروف الأسموزية وغيرها من العوامل الفيزيائية والطراز الوراثى.

٤- تباين كروموسومى نتيجة لإستجابة النواة لظروف التجدد regeneration فعندما يرغب الباحث فى الحصول على نمو إنبثاقى وإعادة تشكل الأنسجة المزروعة لتعطى نباتات فكثيراً ما يغير ويبدل فى البيئة من حيث المستوى الهرمونى والغذائى. وهذه التغيرات يمكن أن تعتبر سبباً فى إستحثاث التباين أو الإنتخاب التفضيلى لتباينات معينة موجودة أصلاً فى المزرعة النسيجية.

تقنية قياس التباين الكروموسومى فى الزراعة النسيجية

تعتبر زعزعة (عدم إستقرار) الأطقم الكروموسومية ظاهرة ملازمة لزراعة الأنسجة فى الأنبوب، فقد إتضح مما سبق أن معظم المزارع تحتوى على كتلة مختلطة غير متجانسة من الخلايا فى مراحل مختلفة من التمايز وإعادة التمايز.

وثمة معضلة رئيسية فى دراسة وقياس التباين الكروموسومى فى الأنبوب، ألا وهى النقص الواضح فى تقنية بسيطة يعتمد عليها لقياس هذا التباين. ويعتبر إختبار الخلايا الميتوزية أثناء الإنقسام لتحديد عدد الكروموسومات والإختلال الكروموسومى من أكثر الأساليب إستعمالاً. وبالرغم من ذلك فإن هذا الأسلوب قد لا يقدم عينة ممثلة للخلايا فى المزرعة نظراً لعدم التجانس الملاحظ للخلايا. وتتسم الخلايا شبه المرستيمية فى أغلب الحيان بالإنقسام وكذلك بكونها أكثر ثباتاً بمقارنتها بالخلايا الأكثر تمايزاً ولذا فيلزم عند الحديث عن قياس التباين الكروموسومى أن تصنف الخلايا. هذا وقد إستعملت فى السنوات القليلة الماضية تقنيات متطورة لتساعد، لا لتستبدل، الأسلوب التقليدى لتعدد الكروموسومات سابق الذكر.

يستعمل الآن المطياف الضوئى الخلوى Cytospectrophotometry فى قياس كم الـــ د ن أ كمعيار للمقارنة. ويبدو أن هذا الأسلوب كفء للتعرف على مستوى التضاعف الكروموسومى المجموعى، لكنه لن يكون بالضرورة حساساً ليختبر تعدداً كروموسومياً فردياً أو الإختلالات الكروموسومية التركيبية. وفى الأخيرة، تم بنجاح إستعمال تقنية صبغ الشرائط الكروماتينية بالأصباغ المتخصصة. ففى دراسة Ashmore and Gould (١٩٨٠) لتحليل الطرز الكروموسومية فى معلق خلوى لنبات *Crepis capillaris* (٢ن = ٦) تم الحصول على نبات (٢ن =٧) كروموسوماته تتسم بشرائط C المصبوغة بصبغة جيمسا Giemsa stain مختلفة من الكروموسومات الأصلية لخلايا القمم النامية للجذور. وعلاوة على ذلك فقد إتضح أن هذه تحتوى على كمية من د ن أ النووى أكبر بثلاثين فى المائة عن الطراز الثنائى فى طور G_1 ، وثلاثين فى المائة أكثر للهتروكروماتين. إن هذه المعلومة تثير تساؤلاً هاماً: هل تراكم وتجمع

www.zera3h.com
zera3h

الهتروكروماتين فى أشرطة الطراز الكروموسومى هذا نتيجة لتتابعات مكررة تضاعفت تفضيلياً؟! أم أنها نتيجة لإعادة تنظيم الهتروكروماتين اليوكرماتين. ويختتم أشمور وجولد دراستهما بأن التضاعف الكاذب pseudoploidy هذا قد يمر دون أن يكتشف فى المزارع النسيجية خصوصاً فى الأنواع ذات العدد الكروموسومى الكبير التى تتسم بكروموسومات صغيرة الحجم وغير مميزة. وفى دراسة أخرى إستعمل Gould (١٩٨٢) نبات *Brachycome dichromosomatica* (٢ن =٤) وهو ذو طاقم كروموسومى بسيط ويسهل فيه دراسة طرز شرائط C بإستعمال صبغة جيمسا. ولقد إتضح من فحص خلايا المعلق المأخوذة من الكاللس أن ثمة إعادة معنوية لصياغة الكروموسومات لدرجة قد تبتعد تماماً عن الشكل الأصلى. ويؤكد جولد إستعمال المصطلح طاقم كروموسومى ثنائى كاذب pseudoploidy ليصف زيادة فى شرائط الهتروكروماتين دون زيادة فى العدد الأساسى ويضيف أن زيادة الهتروكروماتين هذه قد يكون لها ميزة إنتخابية وأن العدد الكروموسومى فى مزارع الأنسجة قد أصبح مقياساً متواضعاً لتحديد الثبات الكروموسومى.

فى دراسة أخرى قام De Paepe وآخرون (١٩٨٣) بعقد مقارنة على المستوى الجزيئى بين نباتات من التبغ من نوع *N. sylvestris* تتسم بالتباين وأخرى عادية. ولقد أقاموا الدليل على أن المحتوى النووى للـ د ن أ للنباتات الأحادية المتضاعفة كان يزيد بمقدار يتراوح ما بين ١٠-٢٠% عن مثيلاتها فى النباتات الأصلية. وبالإضافة فقد بينت الدراسة الدقيقة لحركية إعادة إقتران سلاسل الـ د ن أ، ومعدل الترسيب ونمط التفريد الكهربى لجزيئات د ن أ المعاملة بأنزيمات التحديد أن ثمة زيادة فى التتابعات المكررة الغنية بـ أ-ث، س-ج، وكذلك المكررات المعكوسة. إن ملاحظات كهذه تمثل ظاهرة عامة على الأقل فى

العائلة الباذنجانية، – فثمة بيانات مماثلة فى كل من التبغ *Nicotiana tabacum* والداتورة *Datura innoxia*.

تباين كروموسومات عضيات السيتوبلازم فى المزارع النسيجية

ينظر عادة للمعلومات الوراثية بأنها توجد فى كروموسومات النواة بالمقام الأول. وبالرغم من ذلك فهناك مدلولات وراثية مشفرة فى كل من الكروموسومات الدقيقة المحمولة بالبلاستيدات والميتوكوندريات. ولقد إتضح مما سبق أن تكرار التباينات الكروموسومية بالنواة يزداد عندما تستزرع الخلايا الجسدية فى الأنبوب. هذا بالطبع بمقارنتها بالتباينات الناتجة من زراعة البذرة أو التكاثر الخضرى التقليدى. والسؤال الآن هو لأى مدى تتغير المعلومات الوراثية السيتوبلازمية فى المزارع النسيجية؟!

ثمة تقارير علمية تشير إلى أن طفرات المزارع النسيجية قد تكون سيتوبلازمية. ومن الأمثلة على ذلك العقم الذكرى السيتوبلازمى فى الذرة والذى يبدو ثابتاً راسخاً تحت ظروف التكاثر الجنسى إلا أنه يرتد للخصوبة فى بعض النباتات المتجددة من مزارع الكاللس (Pring وآخرون ١٩٨١). إن الإختبار المباشر للـ د ن أ الميتوكوندرى للعديد من النباتات المتجددة (regenerates) المرتدة ذات الخصوبة الذكرية أظهرت وجود عدد متباين من الشظايا المنقوصة، واحداً منها كان قاسما مشتركا لجميع السلالات المختبرة.

يتسم العقم الذكرى السيتوبلازمى فى الذرة من الطراز S بوجود جزيئان متميزان شبيهان بالبلازميدات ضمن المادة الوراثية للميتوكوندريا. وهذان الجزيئان تم تسميتهما S1 وS2 وتشير البحوث الحديثة إلى أن الطفرات السيتوبلازمية التى

www.zera3h.com
zera3h

تؤدى إلى إرتداد الخصوبة الذكرية فى هذه السلالات، العقيمة أصلاً، مصاحبة لإندماج شبيهات البلازميدات بكروموسومات الميتوكوندريا ذات الوزن الجزيئ العالى. وهذه الحالة تشابه لحد بعيد العناصر المتحركة Transposable elements . لقد درس Chourey and Kemble(١٩٨٢) هذا الموضوع بإستفاضة فى الكاللس النامى من زراعة أجنة غير ناضجة لسلالات ناتجة من تربية داخلية (Inbred lines) من الذرة، وإستطاعا أن يميزا طرازين مختلفين من الكاللس، الأول منظم مدمج والثانى هش. وفى الأخير إتضح أن شبيهات البلازميدات قد إندمجت فى كروموسومات الميتوكوندريا ويبدو أن تبدل الكاللس بين الطرازين ملازم لحدوث تغير موضع جزيئات Transposon S . وبفرض أن إستمرارية هذه الجزيئات يتحكم فيها الجينات النووية، فمن المحتمل إذاً أن فقدان أو عدم توازن أو طفرة فى كروموسومات نسيج الكاللس – تحت ظروف المستنبت قد أدت إلى التباين المذكور.

طرق نقل الجينات إلى النباتات

Gene Transfer in Plants

منذ مئات السنين وحتى وقتنا هذا يتم تحسين أصناف النباتات والحصول على الصفات المرغوبة فيها بإستخدام برامج التربية والإنتخاب والتى قد تصل مدة تنفيذها من ١٥ إلى عشرين عاماً وهذا يتطلب مجهوداً وتكاليفاً مادية كبيرة، وكذلك لابد وأن تكون المحاصيل المراد تحسينها تتكاثر جنسياً.

وبالتالى جاءت الهندسة الوراثية بأمل إمكانية تحسين الصفات الوراثية فى مدة قصيرة وتكاليف أقل وبرامج تربية أقصر. والنبات بصفة عامة له خصائص تجعل تطبيق التقنيات الحديثة أكثر يسراً عن باقى الكائنات الراقية وهى:

١- توفر معلومات غزيرة لدى مربى النبات عن السلالات الموجودة وتاريخها والطفرات المهمة التى قاموا بدراستها على المستوى الجزيئى.

٢- توفر نظم مختلفة من التلقيح فى النبات يعطى له أهمية فى إكتساب الصفات الجديدة ونقلها إلى سلالات أخرى.

٣- معظم السلالات النباتية لها القدرة على إعادة التمايز Regeneration من خلية واحدة (Totipotent)، وهذا له فائدة كبيرة فى الطرق التكنولوجية الحديثة.

وبالرغم من المزايا العديدة التى تمكننا من إستخدام النبات فى تجارب الهندسة الوراثية فإن هناك بعض الصعوبات مثل:

www.zera3h.com
zera3h

١- إحتواء بعض النباتات على جينوم كبير كما أن البعض قد يحتوى على أكثر من جينوم فى الخلية (التعدد المجموعى Polyploidy).

٢- أوضحت دراسات الزراعة النسيجية أن النبات الناتج فيها قد يكون غير ثابت وراثياً ويحتوى فى بعض الأحيان على طفرات نظراً لإحتواء البيئات المغذية على هرمونات ومواد كيماوية ونتيجة لهذا فإنها تحتوى على شذوذات كروموسومية.

إستخدام مزارع الأنسجة لإنتاج نباتات كاملة من خلية واحدة

وجد أنه عندما يجرح نبات طبيعياً أو ميكانيكياً ينتج مكان الجرح مجموعة من النموات يطلق عليها كاللس callus وبقطع بعض أجزاء من الكاللس وتنميته على بيئة غذائية صناعية تحتوى على الهرمونات وجميع العناصر الغذائية المطلوبة فإن الخلايا المتكونة (الكاللس) تستطيع أن تنمو وتنقسم ميتوزيا وبالتالى يزيد الكاللس من حجمه ويمكن أن يتكشف إلى أجزاء خضرية وجذرية بتغيير معدلات هرمونية معينة.

الطرق المختلفة لنقل الجينات إلى جينوم النبات

١- طريقة الأجرو باكتيريم Agrobacterium-mediated Transformation

الأجرو باكتيريم هى بكتيريا تتبع العائلة الريزوبية وتسبب مرض التورم التاجى لنباتات عائلات ذوات الفلقتين عن طريق البلازميد Tumor inducing (Ti) وهذا البلازميد كبير الحجم (أكثر من ٢٠٠ كيلو قاعدة) وجزء منه يطلق

عليه (T-DNA) وقد وجد أن DNA البكتيريا تحتوى على ثلاثة مناطق تلعب دوراً هاماً فى إنتاج التورم التاجى وهذه المناطق هى:

أ- منطقة T-DNA:

وهى منطقة فى Ti بلازميد يمكنها أن تنتقل من البكتيريا وتدخل جينوم الخلية النباتية وتبقى كجزء منه، ولذا يطلق عليها الـــ د ن أ المنتقل Transferred DNA أو T-DNA) يحتوى هذا المقطع على جينات لها القدرة على تخليق أحماض أمينية غير عادية مثل الأوبينات opins ويوجد بهذا المقطع أيضاً جنيان (iaaM & iaaH) يسببا النمو غير المنتظم للنبات حيث أنهما يشفران للإنزيمات التى تؤدى إلى تكوين الأوكسين .

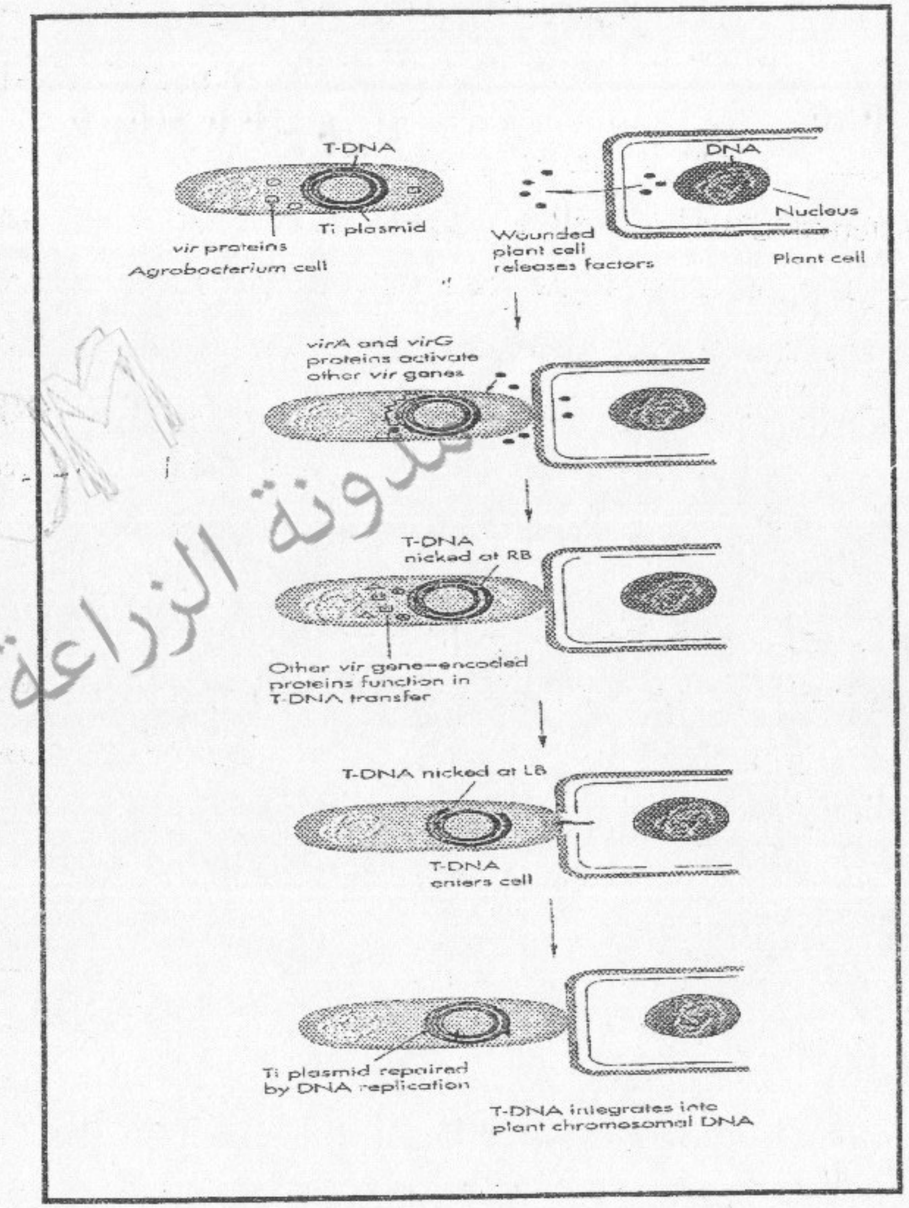
ب- منطقة Virulence (Vir)

وهى عبارة عن جينات يحدث لها إستحثاث نتيجة حدوث جرح فى النبات وإفرازه مادة فينولية (مادة الأسيتوسيرينجون) وتقوم بإفراز بروتينات يكون لها دور فى عملية العدوى.

ج- جينات كروموسومية

وهى جينات موجودة على كروموسوم البكتيريا ويكون لها دور غير مباشر فى حدوث العدوى عن طريق إرتباط البكتيريا بالنبات ويوضح شكل (٩-٢) خطوات عدوى الخلية النباتية ببكتيريا الأفروباكتيريم وانتقال T-DNA إلى النواة.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٩–٢): خطوات انتقال الـ T-DNA من الأجروباكتريم إلى جينوم النبات.

تحوير بلازميد Ti وإستخدامه كناقل

يتضح مما سبق أن أهم منطقة لنقل قطعة T-DNA هىمنطقتى الأطراف وتسميان الحدود اليمنى RB والحدود اليسرى LB وكذلك منطقة (Vir) ومن هنا كان الإتجاه إلى إستخدام البلازميد فى النقل الجينى على أساس كلونة منطقة (Vir) بمفردها وإستغلال منطقة T-DNA وهى حوالى ٢٤ زوج من القواعد. وقد تم تصميم ناقل Vector لجينات النباتات كما فى (شكل ٩–٣)

ويحتوى الناقل على:

١– كل من LB, RB

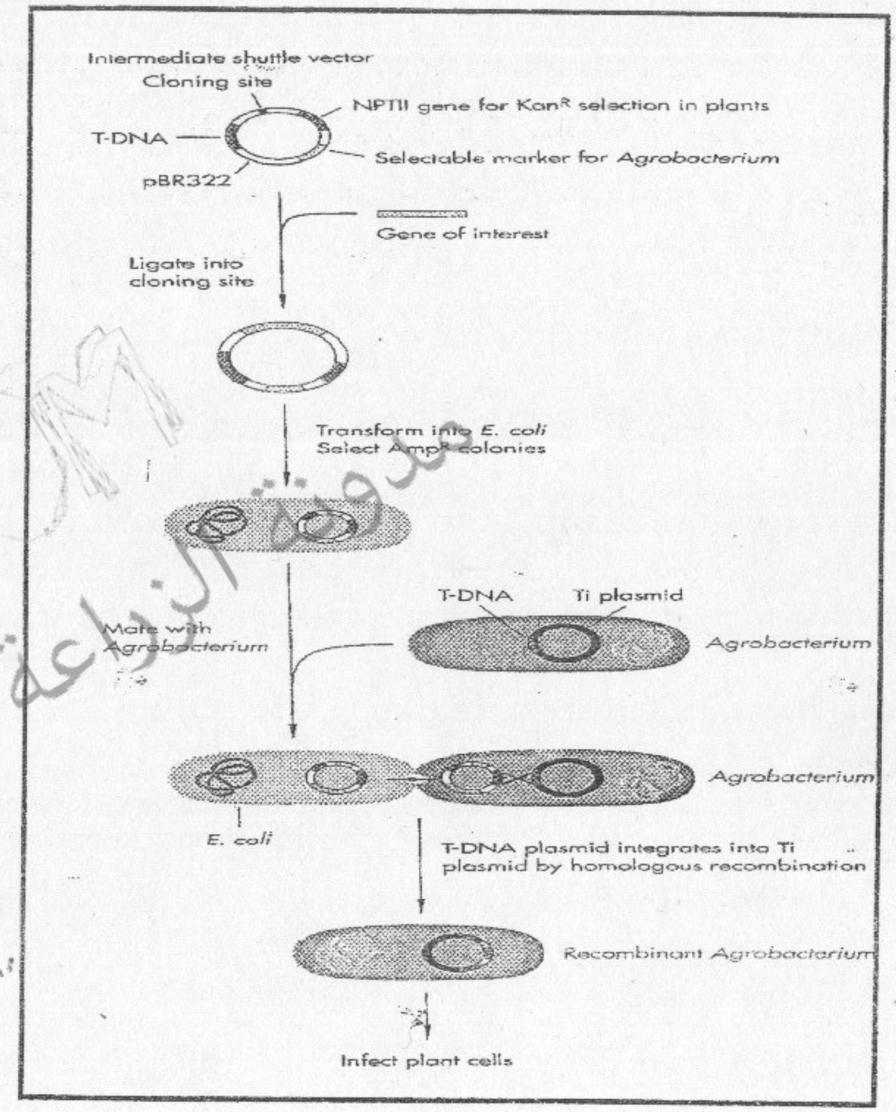
٢– منشأ التناسخ فى البكتيريا (ori)

٣– جين مقاوم للمضاد الحيوى ليسمح بنمو الخلايا البكتيرية المحتوية على الناقل.

٤– جين مقاوم لمضاد حيوى (مثل الكاناميسين) ليسمح بأنتخاب الخلايا النباتية التى تحتوى على الناقل للإنتخاب فى النبات.

مواقع لأنزيمات القطع المحددة لعمل الكلونة لأى جين موضع التجربة.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٩-٣): خطوات كلونة أحد الجينات فى ناقل خاص بالنبات ونقلها إلى الأجروباكتريم

كلونة جين بإستخدام الناقل النباتى ونظام التحول بإستخدام طريقة الأجروباكتيريم:

مثال كلونة الجين المسئول عن تخليق إنزيم B-glucuronidase (GUS) وتتم خطوات الكلونة كالتالى:

١- تحضير شظية الـــ د ن أ التى تحتوى على تتابعات جين GUS من 3` → 5` تحت تحكم المحفز CaMV.

٢- كلونة هذا الجين فى منطقة T-DNA (بين LB, RB) باستخدام أنزيمات التحديد لفتح البلازميد ثم الليجيز لربط الجين والمحفز معاً على البلاميد الذى يحتوى جين المقاومة لمضاد حيوى بكتيرى.

٣- نقل هذا البلازميد الجديد إلى بكتيريا *E.coli* لمضاعفته عددياً ثم إلى بكتيريا الأجروباكتيريم والتى تحتوى على (Vir) عن طريق عملية التحول أو التزاوج بين الثلاثة أباء Triparental mating.

٤- غمس الأجزاء النباتية المراد تحولها، بنقل الجين الجديد إليها فى بيئة أجروباكتيريم المحتوية على الكلون المرغوب. عند الغمس سوف تفرز الأجزاء النباتية مادة الأسيتوسيرنجون والتى تقوم بعمل إستحثاث لجينات (Vir) والتى بدورها تؤثر على LB, RB وينتج عن ذلك أن القطعة المحتوية على جينات GUS والكاناميسين (Km) سوف تتحرر من البلازميد وتدخل الخلية النباتية مسببة التحول.

www.zera3h.com
zera3h

٥- تنمية الأجزاء النباتية المعاملة على بيئات غذائية تشجع عملية إعادة الإكثار Regeneration وذلك لإنتاج نباتات جديدة محولة ويتم الكشف على التحول بطريقتين:

١) قدرة هذه الأجزاء النباتية على النمو على بيئات غذائية محتوية على المضاد الحيوى مثل الكاناميسين.

٢) الإختبار الإنزيمى لقدرة التعبير الجينى لإنزيم GUS وذلك بتنمية الأجزاء النباتية المحولة فى محلول منظم يحتوى على مادة X-Gluc والتى يحولها إنزيم GUS الذى تخلق، نتيجة لفعل الجين بعد دخوله النبات، إلى مادة ملونة زرقاء. وبالتالى فإن ظهور اللون الأزرق يكون دليلاً على تحول هذا النبات وبالتالى يسمى Transgenic plant.

هذا بالإضافة إلى إختبارات أخرى مهمة لا يسمح المجال بسردها.

نقل الـ DNA عن طريق (دفع الجينات بالكهرباء) وطريقة (قاذفة الجينات):

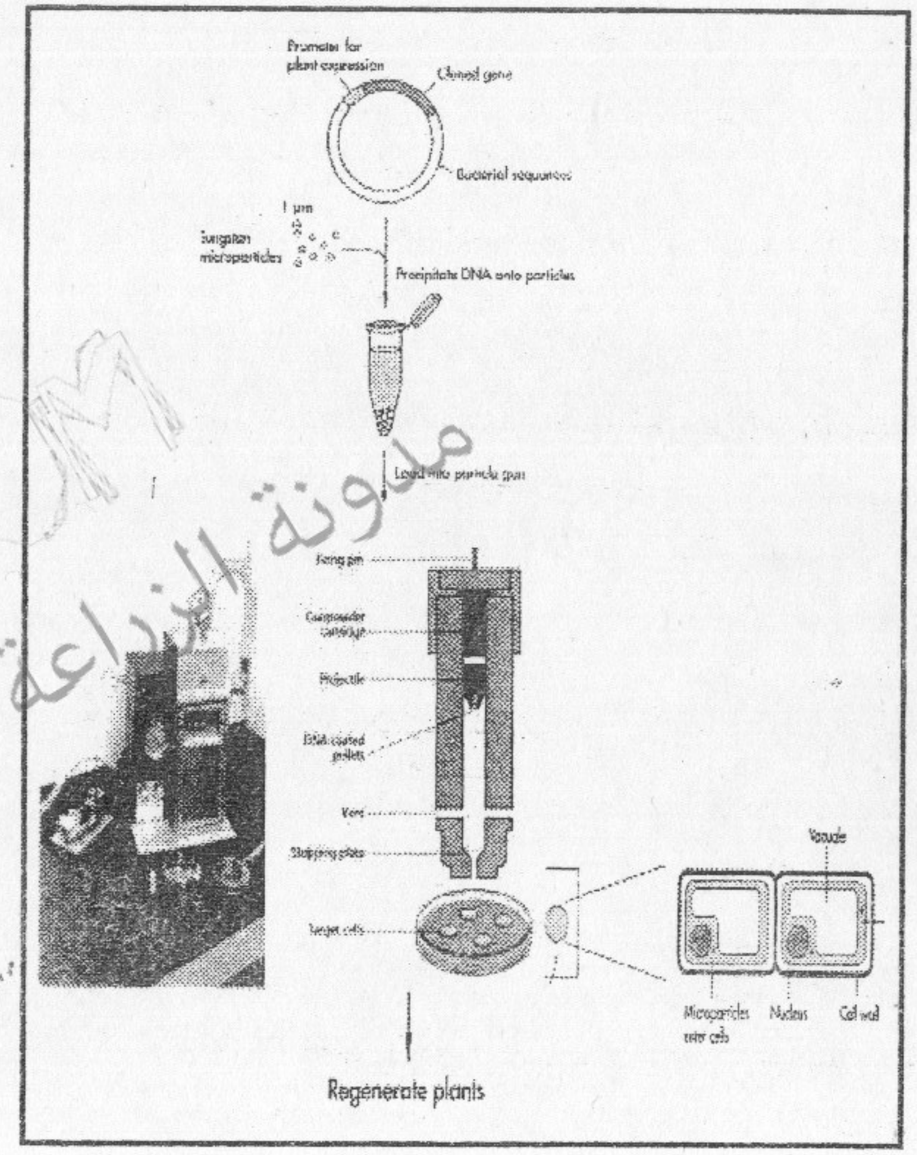
رغم أن نظام الأجروباكتيريم من الأنظمة التى تعمل بكفاءة وتعطى نسبة عالية من النباتات المحولة إلا أنه لا يمكن تطبيقه فى معظم النباتات ذات الفلقة الواحدة حيث وجد من التجارب أن نباتات ذات الفلقة الواحدة لا تتأثر بالأجروباكتيريم وبالتالى لا يمكن إستعمالها كناقل. وكحل لهذه المشكلة وكذلك ولتحسين صفات هذه النباتات كان الإتجاه إلى إستخدام طرق النقل المباشر للـ د ن أ للخلايا النباتية. ومن المعلومات السابقة فى طرق تحول البكتيريا نجد أن

الخلايا ممكن أن تستقبل د ن أ فى صورة ذائبة ومن هنا كان الإتجاه والتفكير فى إستغلال هذه الخاصية فى نقل الجينات إلى النبات.

ومن الطرق التى إستحدثت فى هذا الإتجاه طريقة النقل بإستخدام التيار الكهربائية التى تسبب حدوث ثقوب فى غشاء البروتوبلاستات Electroporation (طريقة دفع الجينات بالكهرباء). وفى هذه الطريقة يتم معاملة الخلايا النباتية بإنزيم سيليوليز cellulase وذلك لإزالة الجدار الخارجى المعقد ويطلق عليها فى هذه الحالة بروتوبلاست ثم وضعها فى أنبوبة يطلق عليها كيوفت cuvette فى محلول منظم معين قليل الأيونات ثم يضاف د ن أ بين قطبين كهربائيين ويتم ذلك بإستخدام جهاز كهربائى بعد توصيل تيار كهربائية (ما بين ٢٠٠-٦٠٠ فولت/سم) ينتج عنها ثقوب دقيقة تسمح بنفاذ الـ د ن أ داخل البروتوبلاست وبعد المعاملة بالشحنة الكهربائية ينقل البروتوبلاست المعامل إلى البيئات المغذية لكى يتم تكشفه إلى النباتات الكاملة وعمل كل الإختبارات اللازمة التى تدل على أن النباتات إكتسبت الـ د ن أ المراد نقله.

هذا بالإضافة إلى طريقة طلقات البندقية أو قاذفة الجينات (شكل ٩-٤) والتى تعتمد على دفع الـ د ن أ داخل الخلية عن طريق الضغط. وهذه الطريقة تعتمد على تغليف حبيبات التنجستين بالـ د ن أ المكلون ثم تحميلها على ناقل (أو حامل يشبه طلقة البندقية). وبإستعمال الضغط العالى يتم إطلاق هذه الطلقات التى تحجز على شبكة دقيقة من مادة لا تصدأ، فتنطلق منها الحبيبات لتخترق الأجزاء النباتية مسببة تحولها.

www.zera3h.com
zera3h



شكل (٩- ٤): النقل المباشر للـــ د ن أ داخل الخلايا النباتية بإستخدام طريقة طلقات البندقية.

أهمية الوراثة الحديثة فى المجالات المختلفة

أولاً: مجال الإنتاج الحيوانى:

١- بعد التعرف على الجين الخاص بإنتاج هرمون البرولاكتين Prolactin المؤثر فى إنتاج اللبن فى الماشية وعزله وإمكانية إستزراعه فى البكتيريا لإنتاجه على نطاق واسع أمكن الآن إستخدام هذا الهرمون لزيادة قدرة الماشية على إنتاج اللبن بسعر معقول ولايخفى علينا أهمية اللبن كغذاء وإستخدامه فى المنتجات اللبنية.

٢- أمكن بإستخدام التلقيح الصناعى ونقل الأجنة الإكثار من التراكيب الوراثية الجيدة الجديدة فى الحيوان كما قد يمكن مستقبلاً بإستخدام التقنيات الوراثية تحديد جنس الجنين سلفا وهذا مهم لحيوانات المزرعة حيث يرغب المربى فى الإحتفاظ بالإناث دون الذكور وبالمثل فى الطيور حيثُ أن الديوك أكثر شرها للغذاء وأقل قدرة على تمثيله وتحويله إلى لحم أو بيض.

٣- إن نجاح إنتاج التوائم الصناعية فى البرمائيات والفئران والتى تعتمد على أن أنوية الخلايا تتميز بإحتفاظها بكامل قدرتها الوراثية Totipotency مما يمكنها من التمايز والتكشف إلى أفراد عند توافر ظروف بيئية ملاءمة يمكن إستخدامه مستقبلاً فى الحيوانات المزرعة لإنتاج أعداد وفيرة من تراكيب وراثية متميزة ذات كفاءة إقتصادية عالية.

٤- نظراً للتركيز على السلالات المحسنة العالية الإنتاج وبأعداد كبيرة فلإن السلالات المحلية تتعرض لخطر الإنقراض، فعلى سبيل المثال يبلغ عدد ابقار الفريزيان المحسنة فى بريطانيا مليون ومائة ألف (١,١٠٠٠٠٠) وبالمثل فى كثير من دول العالم مما قد يؤدى إلى إنقراض ١١٥ سلالة محلية فى أوروبا

www.zera3h.com
zera3h

ودول البحر المتوسط بما قد تحتويه من جينات مميزة، مما دعا برنامج البيئة التابع للأمم المتحدة أن يأخذ على عاتقه حفظ الحيوانات المنوية المجمدة لهذه السلالات المهددة وأقاربها والحفظ الطويل الألمد للأجنة للمحافظة على أصولها الوراثية.

ثانياً: مجال الإنتاج النباتى:

١- يعتبر التباين الوراثى هو المعول الأساسى فى جميع برامج التربية لتحسين الأصناف المختلفة للنباتات. ولقد قدمت تقنيات زراعة الأنسجة والخلايا الكثير من التراكيب الوراثية التى لم تقدمها الطرق التقليدية للإنتخاب فى تربية النبات، إلى جانب إختصار طول الفترة الزمنية اللازمة لتحقيق هدف المربى. فقد أمكن:

- إستنبات بادرات عن طريق زراعة المتوك Anther culture أو حبوب اللقاح Pollen لأكثر من أربعين نوعاً من النباتات من بينها القمح والبرسيم والكتان والبرتقال والتفاح والعنب وتتميز هذه النباتات بأنها قد تكون أصلية فى تراكيبها الوراثية حيث تنتج من خلية آحادية. إلى جانب أن الصينيون أنتجوا صنفاً من الأرز عن طريق زراعة المتوط يزيد محصوله بنسبة ٢١% عن الصنف الأصلى الناتج عنه.
- أستخدام البروتوبلاست Protoplast (الخلايا المنزوعة الجدار) كوسيلة هامة لمساعدة المربى فى الحصول على هجن جسيمة Somatic hybrids وهذه توفر الوقت بمقارنتها بالتهجين الجنسى التقليدى كما وتسمح للمربى أن يمارس التهجين عن بعد بين الأنواع وبين الأجناس (Interspecific Hybridization) متخطياً عقبة عدم التوافق علاوة على الحصول على

متباينات كروموسومية عددية وتركيبية ذات أهمية بالغة فى الدراسات الوراثية النظرية من جهة بالإضافة إلى إستخدامها كمصدر للحصول على أصناف ولسلالات جديدة من جهة أخرى. وبالإضافة إلى ذلك فإن التهجين بين الخلوى يسمح بالحصول على هجن (سجن Cybrids) تجمع مكونات كل من سيتوبلازمى الأبوين بما فيهما من ميتاكوندريا وبلاستيدات تحمل المادة الوراثية.

- تتيح تقنية الزراعة النسيجية الحصول على نباتات مقاومة للظروف البيئية الغير ملائمة (الضغوط البيئية) Stress conditions وخاصة الملوحة والجفاف فقد تمكن نابور عام ١٩٨٣ من عزل مزارع خلوية للأرز والتبغ تستطيع مقاومة درجة ملوحة تبلغ ٢٥% من ملوحة مياه البحر عن طريق إنماء الخلايا على بيئات مغذية تحتوى على نسب متزايدة من كلوريد الصوديوم لمدة ١٥ إسبوع عند كل تركيز من الملح.
- إنتاج نباتات خالية من الفيروسات Virus free بإستزراع خلايا مرستيمية للقمم النامية للسيقان مما أدى إلى إنتاج نباتات مثل البطاطس والطماطم والدخان الخالية متن الفيروسات.

ويجرى الآن نقل الجين المتحكم فى تكوين بروتين غلاف فيروس تجعد الأوراق فى الطماطم Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) لإنتاج نباتات مقامة للفيروس.

٢- تتيح تكنولوجيا نقل الجين المتحكم فى تخليق إنزيم الكيتينيز Chitinase (الذى يحلل الفطريات التى تصيب النبات) من نباتات تنتج مستوى عال من هذا الإنزيم (مثل شجر الـ Elm) إلى نباتات تنتج مستوى منخفض مثل الأرز والفول والذرة – وبذلك يمكن إنتاج نباتات أرز مقاومة للفطريات.

www.zera3h.com
zera3h

٣- رسم الخرائط الوراثية المتناهية فى الدقة للعديد من النباتات ذات الأهمية الأقتصادية مثل الذرة والطماطم وفول الصويا والخس والشلجم والقمح والأرز... وغيرها. هذه الخرائط تسهل للمربى عملية الأنتخاب على أسس علمية سليمة وذلك بإستخدام أدبة ومعلمات جزيئية Molecular Markers مما يسرع من برامج التربية.

٤- فى ظل تطور علم الوراثة أصبح من الممكن الآن الاحتفاظ بحبوب اللقاح ومزارع نسيجية ومكتبات للجينات.

ثالثاً: المجال الطبى والرعاية الصحية للإنسان:

تقدم تقنيات الهندسة الوراثية وسائل جديدة للتشخيص والعلاج والوقاية من الأمراض والتخلص من الأمراض الوراثية نستعرضها فيما يلى:

١- بالرغم من أن الطرق التقليدية لإنتاج الفاكسينات قد وصلت إلى مراحل متقدمة من الأمان والكفاءة إلا أن هناك العديد من الحالات لم يتم لها النجاح فمن المعروف أن المصدر الطبيعى للحصول على أنتيجات مرض إلتهاب الكبد الوبائى Hepatities B. antigen هو الدم وهو مصدر خطير إلى جانب صعوبة تحضيره بكميات كافية فهو يعتمد على تنقية دماء المتبرعين بالدم. وقد أمكن تحضير هذا الأنتيجين صناعياً وبكميات كبيرة من قبل شركة Gene Tech بكاليفورنيا عن طريق زرع الجين الخاص ببروتين الفيروس فى خلايا الخميرة ولضمان نقائه فإن الفاكسين الناتج يختبر فى الفئران أولا قبل إستعماله فى الأنسان.

٢- تشير الإحصائيات إلى أنه يوجد ما يقرب من ستين مليون من بنى البشر يعانون من مرض البول السكرى الذى يتم علاجه بتعاطى هرمون الأنسولين

- الذى لا يسمح تركيبهم الوراثى بإفرازه - وحتى عهد قريب كان هذا الهرمون يستخلص من بنكرياس الحيوانات المذبوحة كالخنازير والأبقار بتكلفة عالية وبكميات لا تكفى علاج كل المرضى - أما الآن فقد تم تصنيع الجين الذى ينتج بادئ الأنسولين الآدمى Proinsulin ويتكون هذا الجين من ٢٥٨ زوج من النيوتيدات منظمة فى ٤١ قطعة تم إيصالها ببعضها طرفا إلى طرف لتعطى التتابع النهائى للجين وعندما أولج هذا الجين بطرق الهندسة الوراثية فى خلايا الخميرة أو بكتيريا القولون فإن هذه وتلك أنتجت مبادئ الأنسولين وبكميات وفيرة.

٣- إنتاج هرمون النمو الآدمى Human Growth Hormone (HGH) . يفرز هذا الهرمون من الغدة النخامية فى المخ ويتحكم فى النمو الطبيعى ويستعمل فى علاج بعض حالات التقزم والإسراع من إلتئام العظام والحروق والقرح - والطرق التقليدية للحصول على هذا الهرمون تعتمد على إستخلاصه من الحيوان لكن بكميات ضئيلة جداً (٠,٠٠٥ جم من نصف مليون مخ من الماشية)- وأمكن إنتاج هذا الهرمون بإستعمال أسلوب الهندسة الوراثية بكميات أكبر إلى درجة كبيرة (٠,٠٠٥ جم من ٩ لتر من المعلق البكتيرى المكلون).

٤- أمكن بالأساليب الحديثة مثل

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) رسم خرائط وراثية لكروموسومات الأنسان والتى كان من الصعب فى الماضى القريب القيام بها وذلك لأنها كانت تعتمد على بيانات مقتضبة مأخوذة من دراسة سجل نسب العائلات أو التهجين بين الخلوى بين خلايا أنواع مختلفة كالفأر والأنسان مثلا. ولهذه الخرائط فوائد جمة لمعرفة مكان وتأثير العوامل الوراثية الخاصة بالتحكم فى الأمراض الوراثية لمحاولة التخلص منها.

www.zera3h.com
zera3h

٥- إنتاج بروتين الأنتروفين البشرى Human interferon وهو عبارة عن جليكوبروتين فعال يستخدم لعلاج الأمراض الفيروسية. كما يفيد فى السيطرة على مرض السرطان حيث يثبط نم الخلايا السرطانية ويحفز الجهاز المناعى لإحتواء الخلايا السرطانية ومنع إنتشارها. وأمكن التغلب على ندرة إنتاج هذا الهرمون البشرى بالطرق التقليدية من الخلايا البشرية (يوجد معمل واحد فى فنلندا يقوم بإعداد كميات ضئيلة من هذه المادة لأماكن مختلفة من العالم). حيث أمكن بإستخدام الهندسة الوراثية إيلاج جين بشرى للأنترفيرون فى بلازميد وكلونته فى البكتريا بحيث أمكن إنتاج كميات لا بأس بها من هذا الأنتروفيرون البشرى.

٦- يمكن إستغلال العلوم الوراثية الحديثة لما يفيد الأنسان ولكن تتداخل هنا قضايا أخلاقية، اجتماعية، عرقية، دينية، وسياسية. أن التقنية الحيوية تشير إلى إمكانية الحفاظ على التراكيب الجينية للأنسان لسنوات طويلة فى صورة بويضات أو اسبرمات وخاصة تلك التى تحمل الصفات المتميزة وبذلك يمكن الإنتفاع بها عند الضرورة فيما لو دمر العالم بحرب نووية مثلا.

وهناك إعتقاد بأن الهندسة الوراثية (والتى تسمى هنا أحياناً بالجراحة الوراثية) سوف تمكن من نقل جينات فعالة إلى المصابين بأمراض وراثية يحكمها عامل وراثى واحد لتحل محل هذا العامل الذى يسبب الحالة المرضية، فمثلاً فى حالة أنيميا الخلية المنجلية قد يمكن إدخال جين فعال يخلق سلسلة البيتا فى الهيموجلوبين وذلك داخل خلايا النخاع Marro cells Boneبإستعمال ناقل مثل الأدينوفيرس أو السيميان فيرس. وقد تمكن معهد ماساشوتيس للتكنولوجيا من إجراء جراحة وراثية لمرضى السكر، ونقل جين تخليق الأنسولين لهم إلا أنها عملية باهظة التكاليف.

رابعاً: مجال تلوث البيئة واستغلال النفايات:

يمكن لتقنية د ن أ الهجين أن تقدم لنا أساليب جديدة لتنقية البيئة واستغلال النفايات المتخلفة عن الصناعات البترولية والمخلفات العضوية فى إنتاج مواد نافعة ومصادر للطاقة والوقود. فقد أمكن إنتاج سلالات ميكروبية محورة وراثياً لها القدرة على تحويل النفايات البترولية إلى بروتين أحادى Single Cell Proten (SCP) يمكن إستخدامه فى تغذية الحيوانات لتحسين انتاجيتها وهناك أمل فى إستخدامه أيضا للإنسان. وأمكن إنتاج سلالات ميكروبية بالهندسة الوراثية تسمى كائنات كانسة Sweeping لتنقية جو المناجم من الغازات السامة وقد يمكن إنتاج سلالات لتنقية أى تلوث بيئى فى أى حيز مكانى، إضافة إلى سلالات البكتريا المحورة وراثياً والتى تستخدم لحماية آبار البترول من التلوث.

ويمكن الأستفادة من المخلفات العضوية وتحويلها من مصادر للضرر إلى حماية للبيئة من التلوث واستغلالها فى انتاج مواد مفيدة مثل السكريات والكحول والميثان. فيمكن مثلا نقل جينات تكوين الميثان (من الكائنات الدقيقة التى لها هذه القدرة والمسماة Methane Forming والتى تحول ثانى أكسيد الكربون والهيدروجين واحياناً الأسيتات والفورمات إلى ميثان) إلى الميكروبات اللاهوائية التى تحلل السليولوز Anaerobes Cellulolyticمما يسهل من تحويل المخلفات النباتية إلى ميثان وإيثانول، وكذلك يمكن إنتاج الأحماض الأمينية والأسيتون والبيوتانول وحمض الخليك من المخلفات السليولوزية بالكائنات المحورة وراثياً.

www.zera3h.com
zera3h