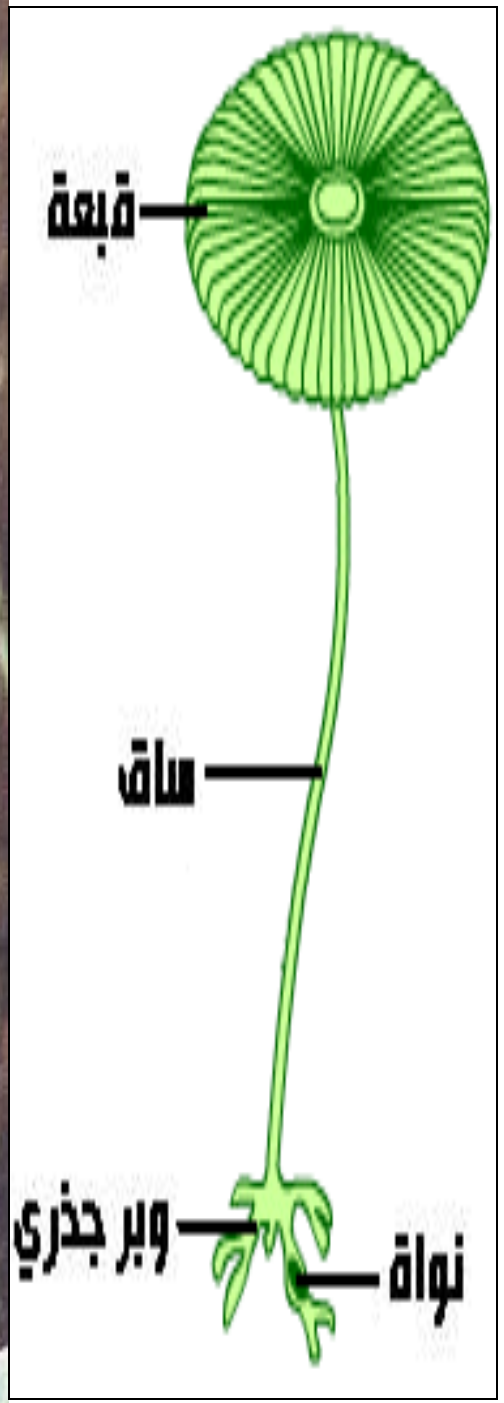
الوحدة2 : طبيعة الخبر الوراثي و آلية تعبيره – الهندسة الوراثية

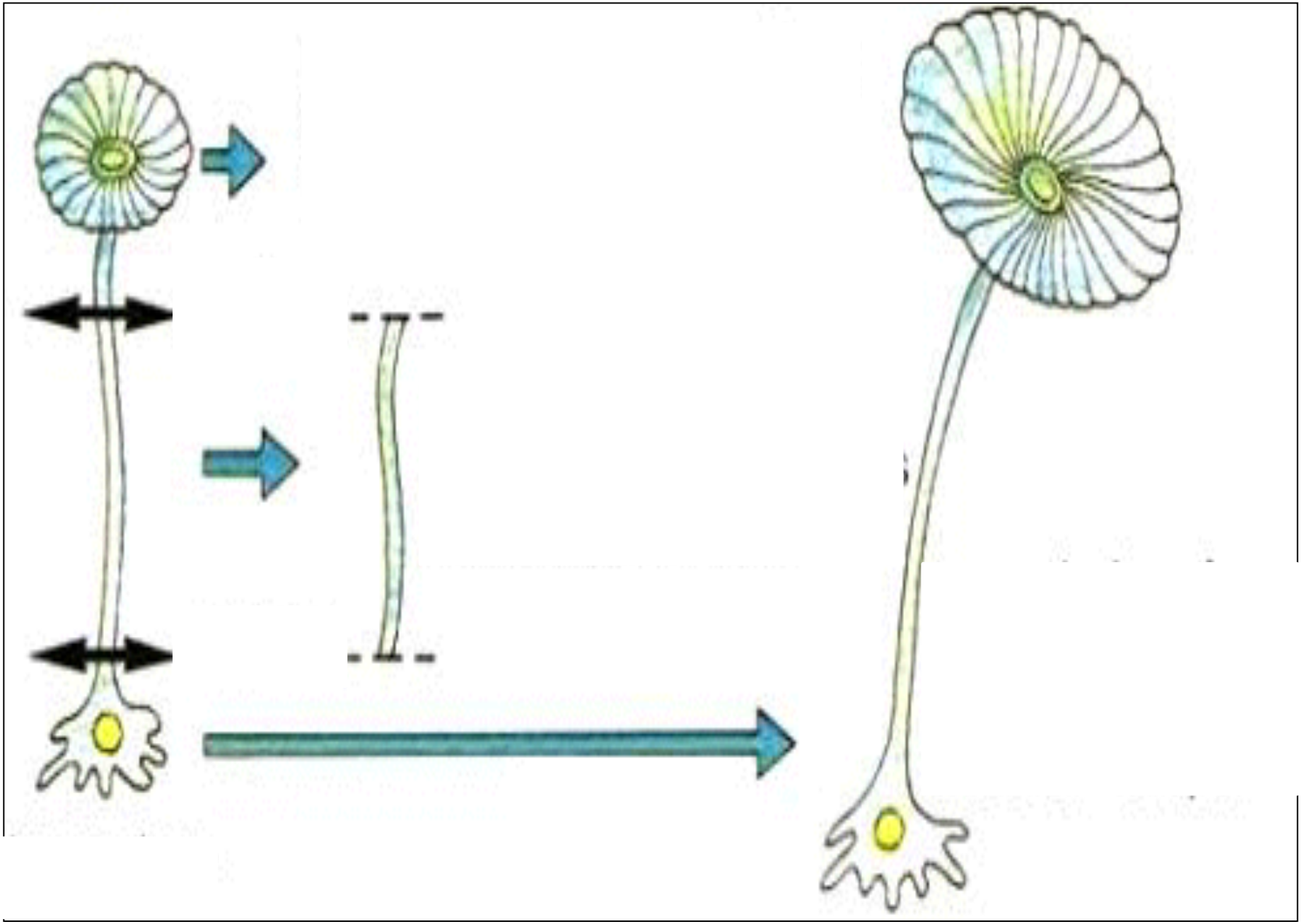
الفصل1 : مفهوم الخبر الوراثي

I- تموضع الخبر الوراثي

1- الكشف عن تموضع الخبر الوراثي داخل الخلية عند كائن حي وحيد الخلية

1-1تجربة القطع


قبعة
ساق
وبر جذري
نواة



الحالة1 : تبقى القبعة حية لبضع أسابيع و لكنها لا تجدد الجزء القاعدي

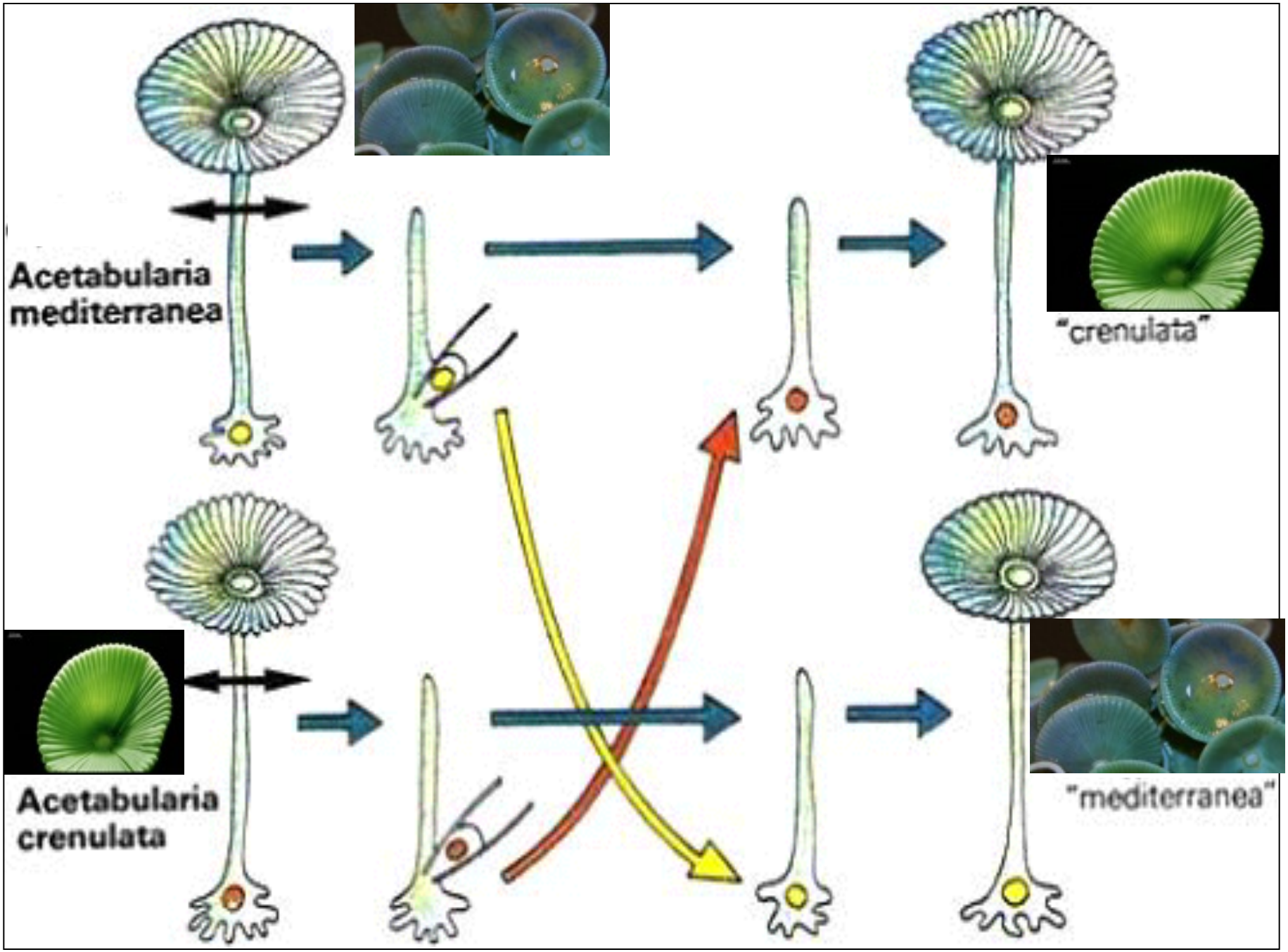
الحالة2 : الجزء الأوسط يبقى حيا لبضعة أسابيع و لكنه لا ينمو

الحالة3: الجزء القاعدي يعطي خلية بقبعتها

نلاحظ أن الجزء المنوى
وحده يبقى حيا و يجدد القبعة
و الساق أما باقي الأجزاء و
التي لا تتوفر على نواة تنحل
و تموت

1- 2 تجربة التطعيم المتقاطع

0.5 mm


Acetabularia mediterranea
"crenulata"
Acetabularia crenulata
"mediterranea"

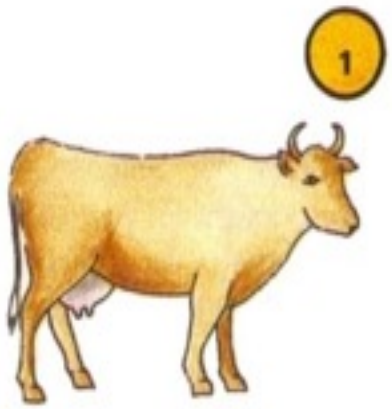
نلاحظ أن صفة شكل القبعة مرتبطة بنوع الطحلب الذي أخذت منه النواة و ليس بالطحلب الذي ينحدر منه الوبر الجذري .

استنتاج :

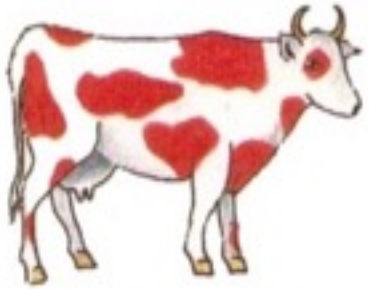
النواة هي المسؤولة عن حياة الطحلب و تجديد أجزائه و هي التي تتحكم في صفة شكل القبعة أي أنها تحمل الخبر الوراثي .

2- الكشف عن تموضع الخبر الوراثي داخل الخلية عند كائن حي متعدد الخلايا

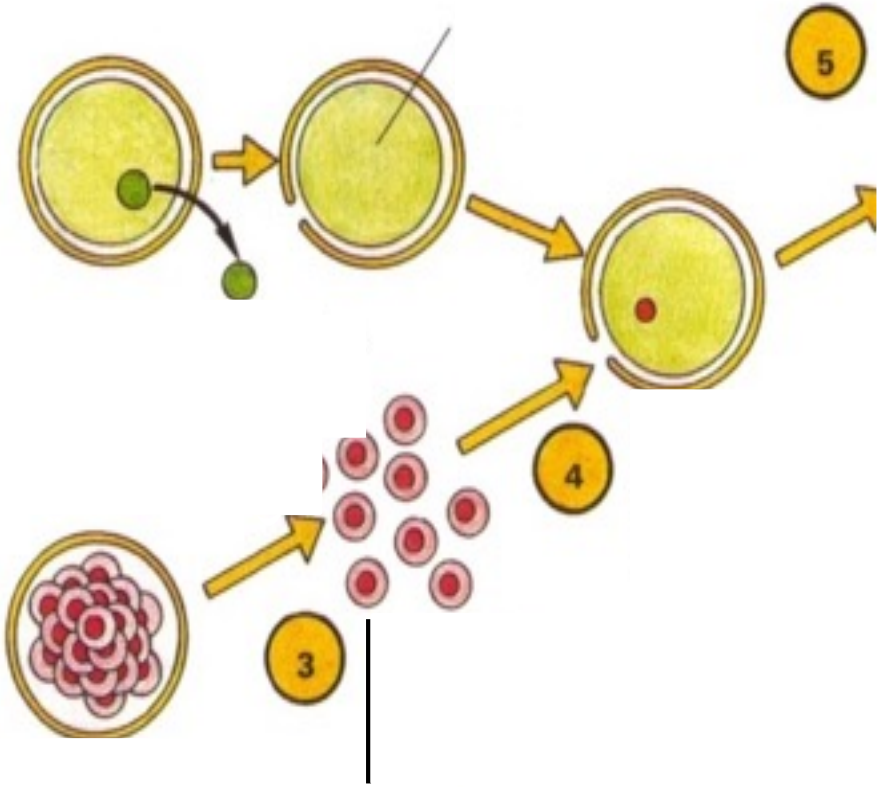
نحصل
على ثور
مبقع

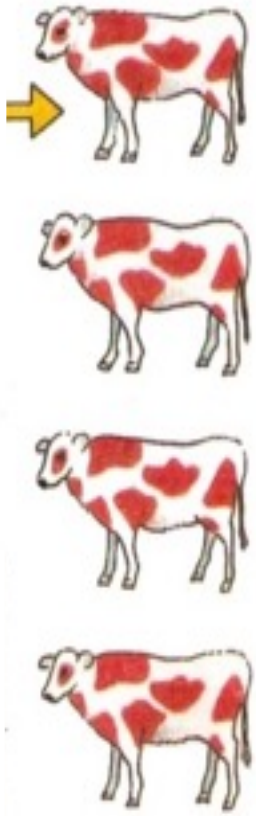


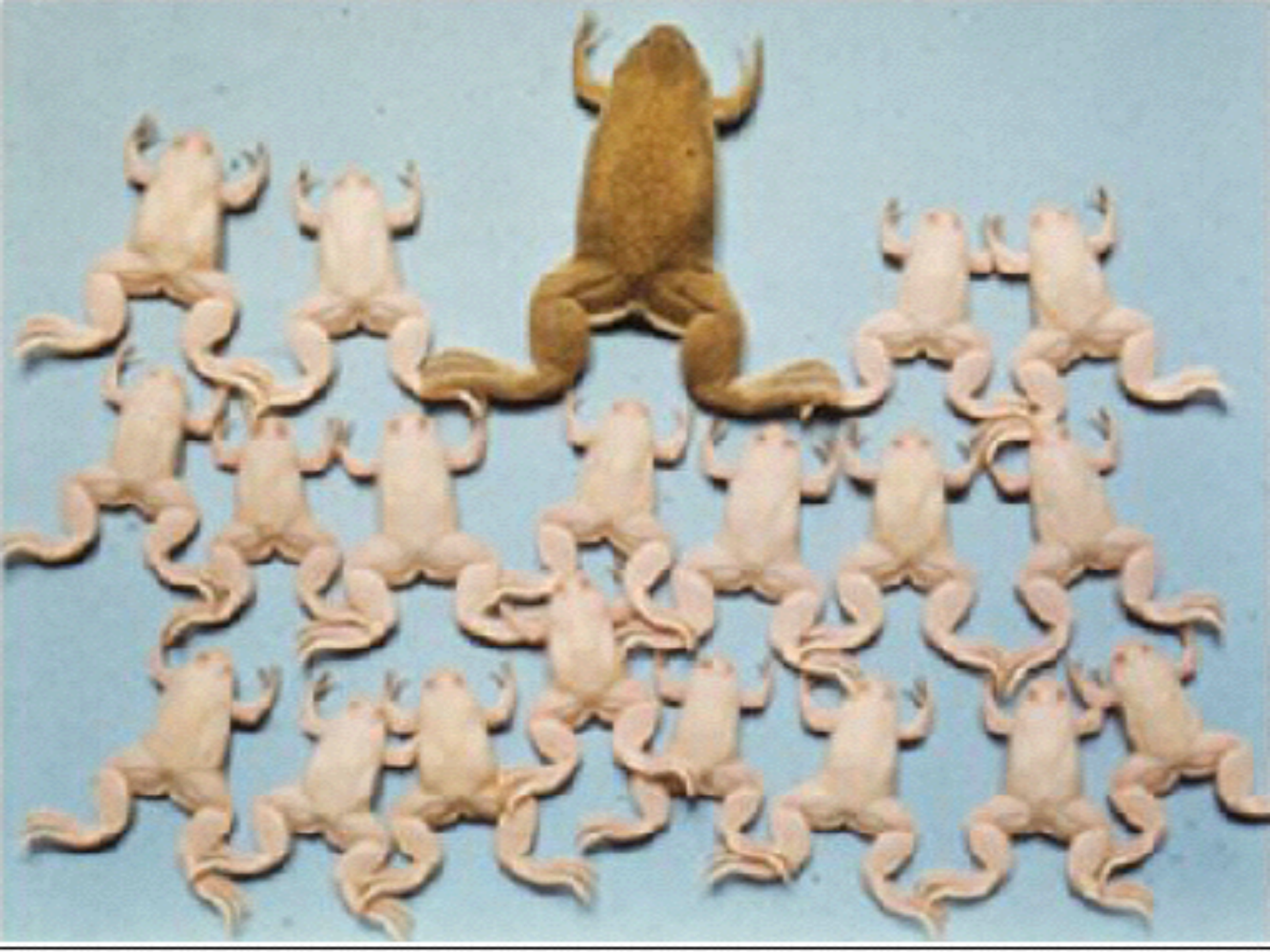
بقرة معطية
للبويضة



بقرة معطية
للجنين







تجربة Gurdon على العلاجم (1960)

علجوم عادي

بويضات

تشعيع بـ UV

اقتلاع وزرع النواة

خلايا معوية

شرغوف أمهق

بويضة تضم نواة
الشرغوف الأمهق

علاجم مهقاء

نلاحظ أن العجل المنحدر من الخلية المؤخوذة من البقرة الحمراء أخذ صفة البقرة المعطية للنواة (البقرة المبقعة) و لم يأخذ صفة البقرة التي حملت به

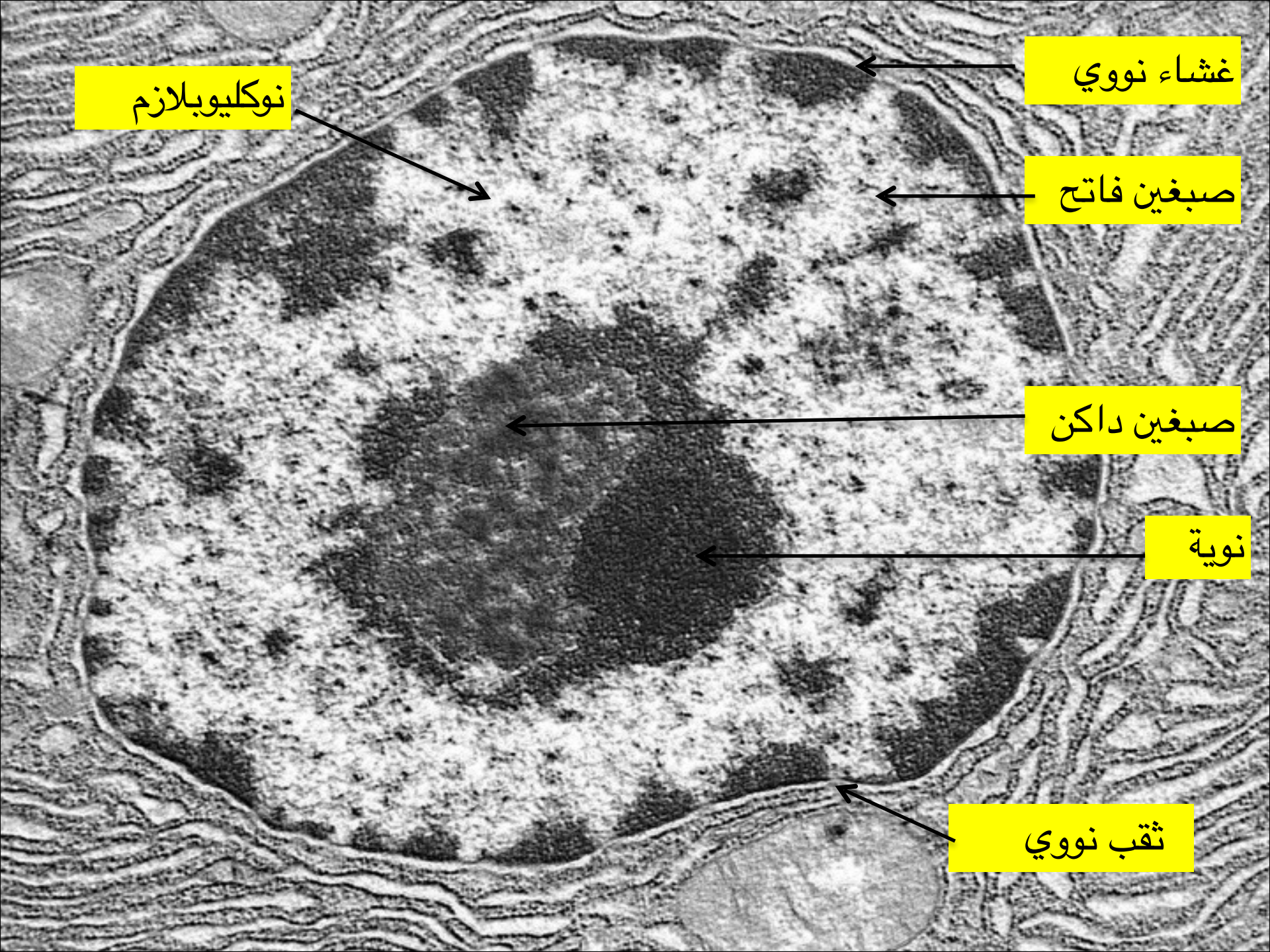
نستنتج إذن أن النواة هي المسؤولة عن المظهر الخارجي للحيوان (الصفة الوراثية) أي أنها تحمل الخبر الوراثي .

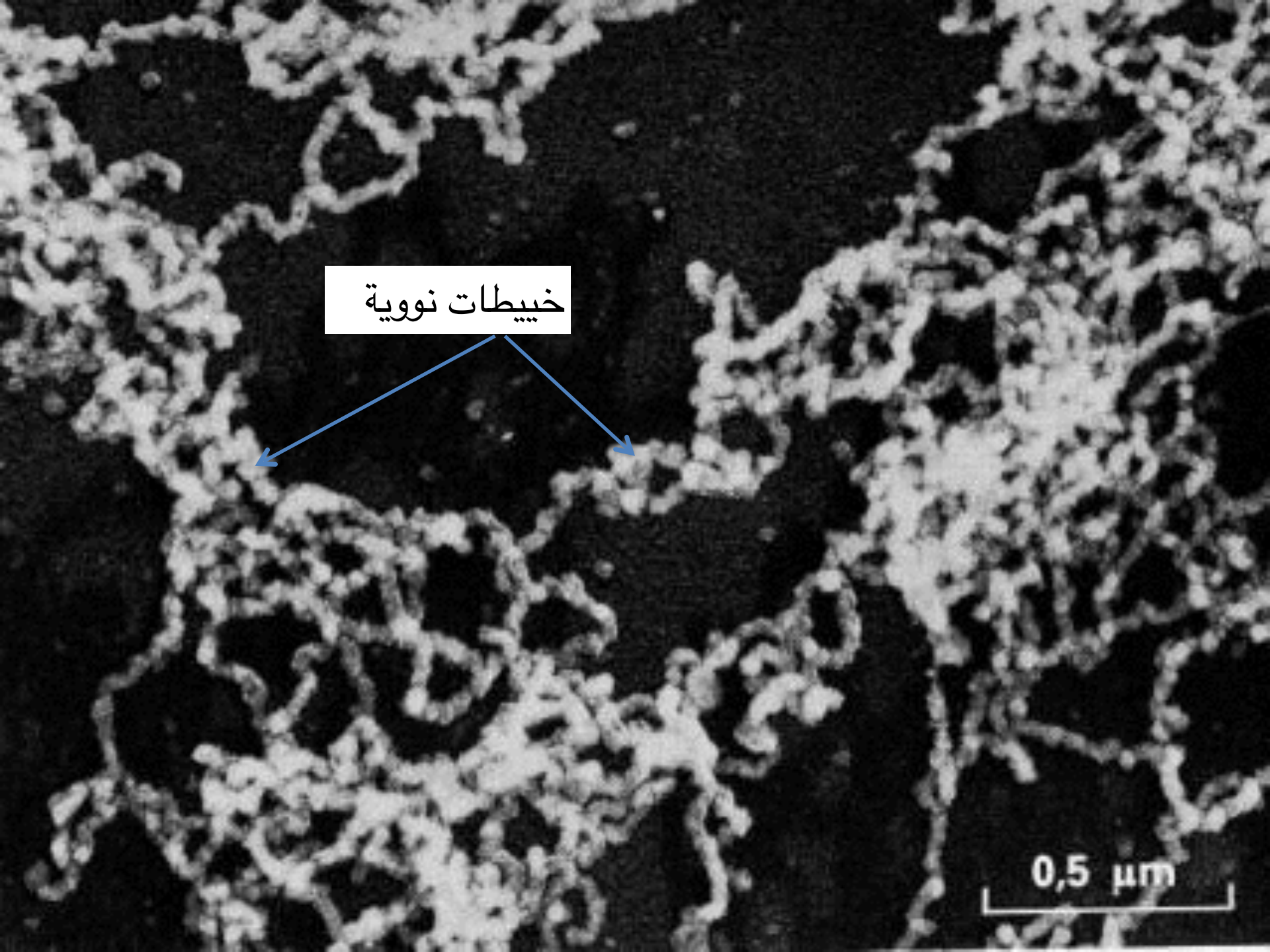
استنتاج عام :

يكون مجموع البرنامج الذي يحدد الصفات الوراثية عند الفرد ما يسمى بالخبر الوراثي

يتموضع الخبر الوراثي في نواة الخلية .

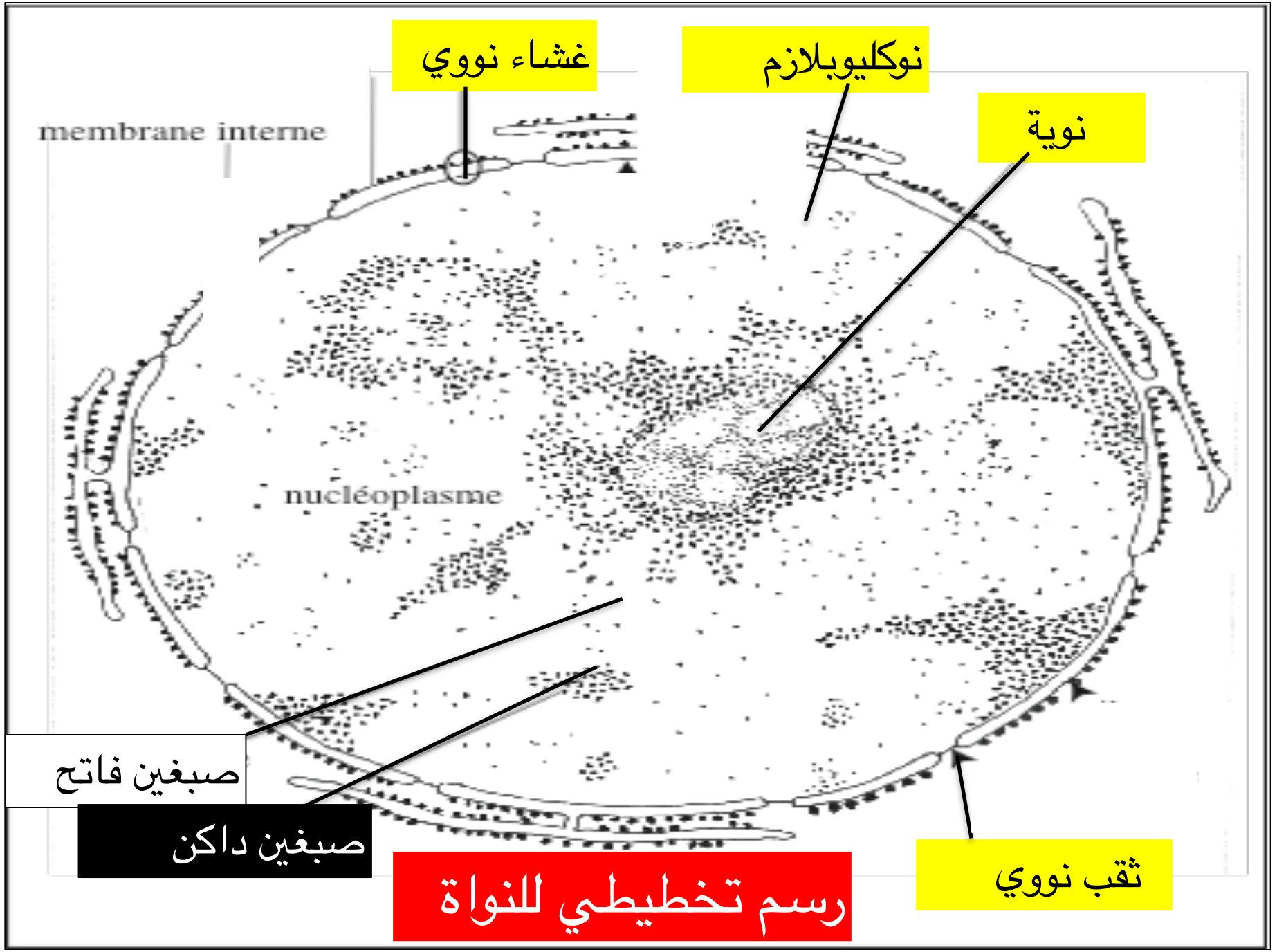
3- فوق بنية النواة


غشاء نووي
نوكليوبلازم
صبغين فاتح
صبغين داكن
نوية
ثقب نووي

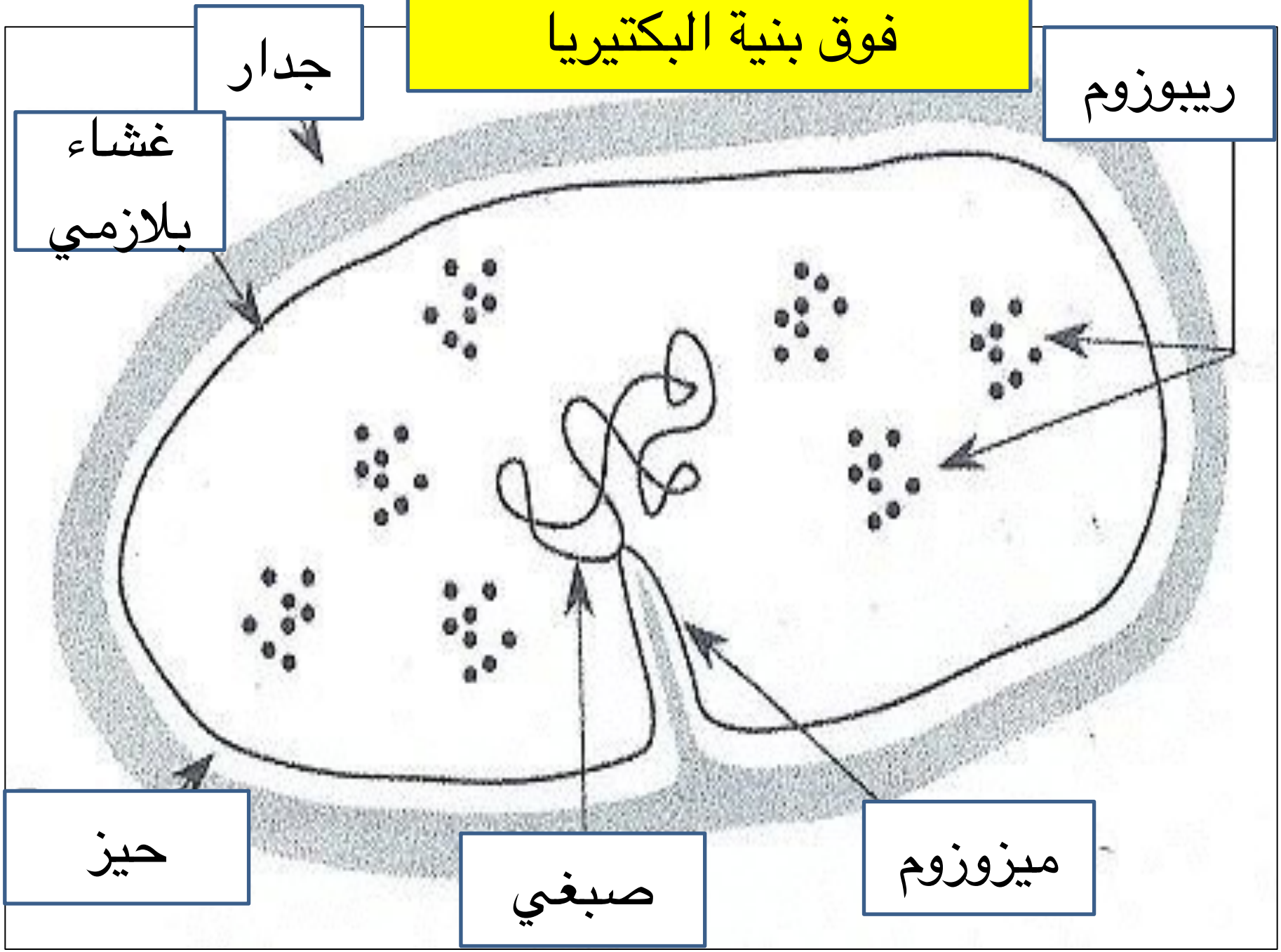

خييطات نووية
0,5 µm

وصف النواة الحقيقية في مرحلة السكون و هي الفترة الفاصلة بين انقسامين متتاليين:

- النواة الحقيقية عضي خلوي محاط بغشاء نووي به ثقوب
- تضم النواة على مستوى النوكليوبلازم نوية صبغين فاتح و صبغين داكن
- يتكون الصبغين من خييطات نووية

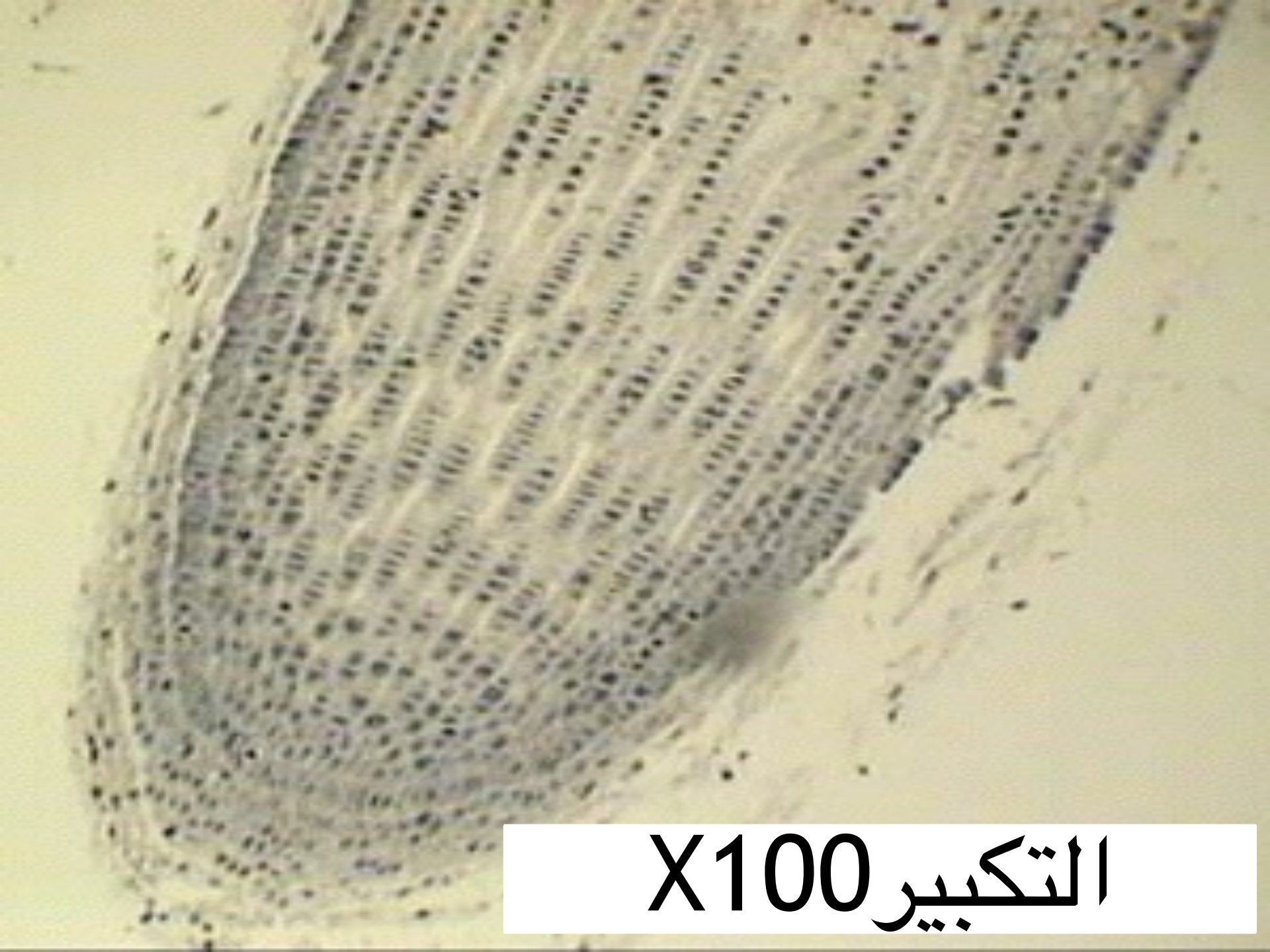

غشاء نووي
نوكليوبلازم
نوية
membrane interne
nucléoplasme
صبغين فاتح
صبغين داكن
ثقب نووي
رسم تخطيطي للنواة

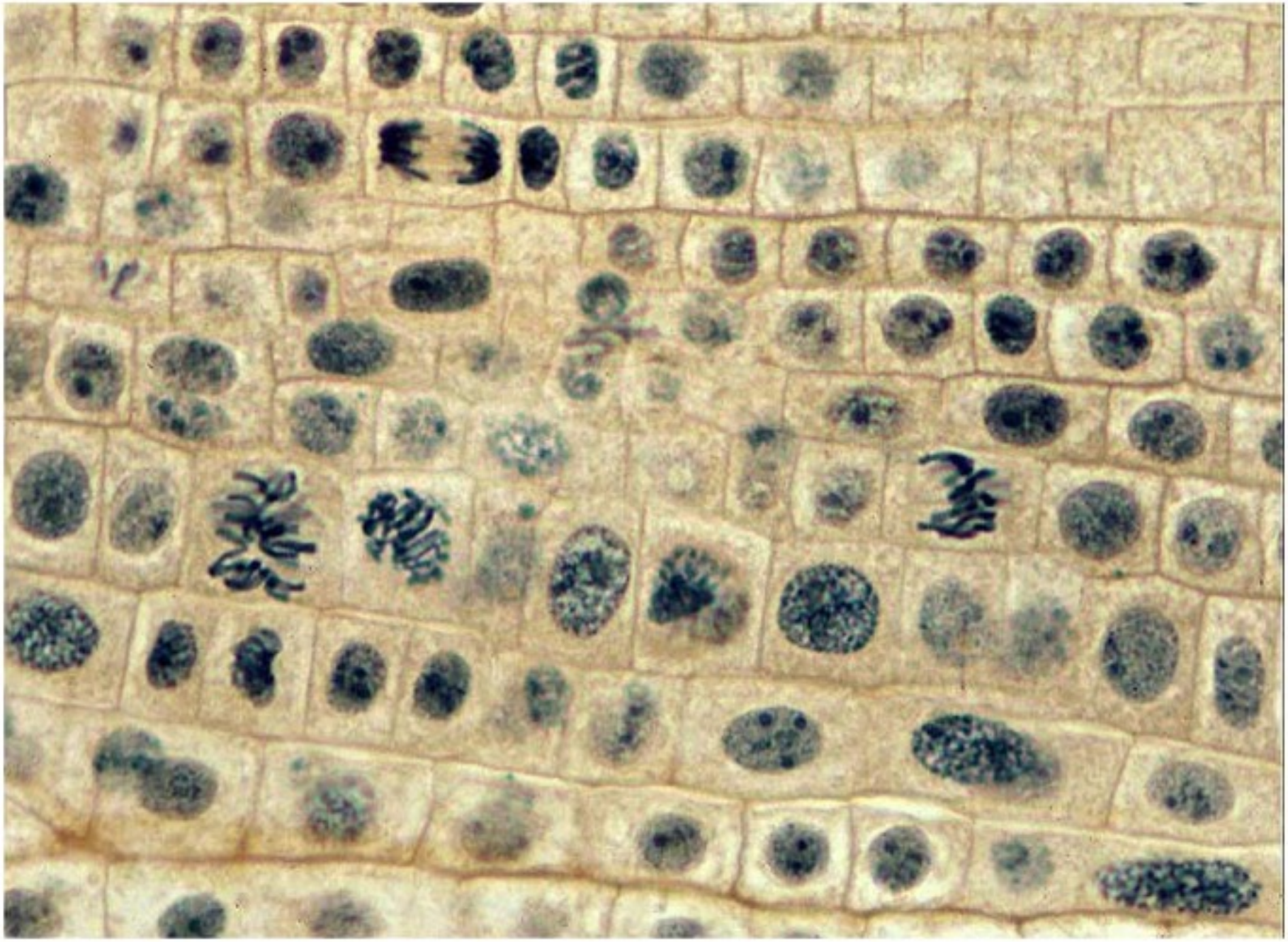
فوق بنية البكتيريا



II- دور الصبغيات في نقل الخبر الوراثي من خلية أم الى خلية بنت

1- ملاحظة خلايا نباتية في طور الإنقسام غير المباشر

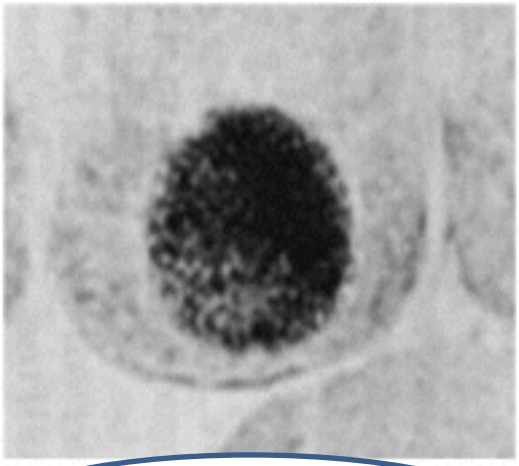

التكبير X100



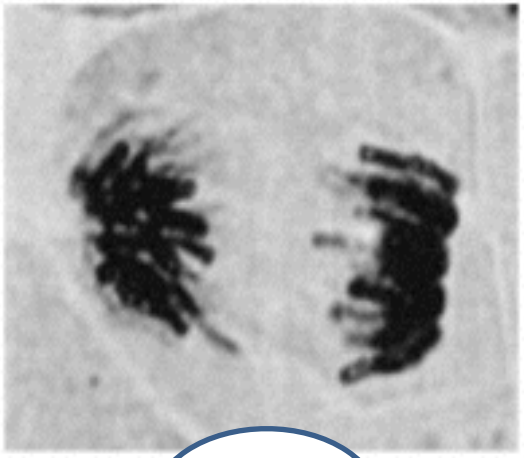
تبين الصورة أن الخلايا تبرز نوعين من النوى :

-نوى في حالة سكون (الفترة الفاصلة بين انقسامين متتاليين) و هي محاطة بغشاء نووي وفيها يظهر الصبغين الداكن و الفاتح و هو يضم خيطات نووية و تظهر النوية .

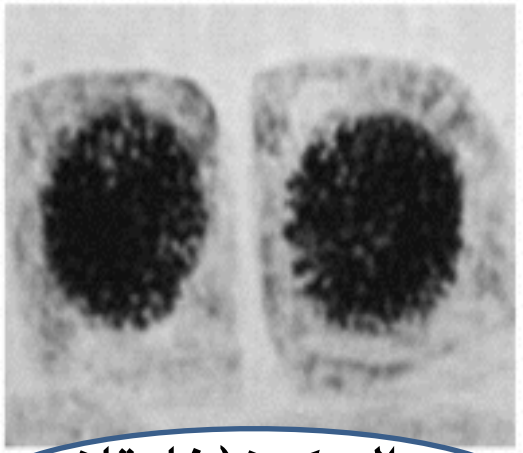
- نوى في حالة إنقسام غير مباشر و فيها أصبحت الخيطات النووية على شكل صبغيات واضحة



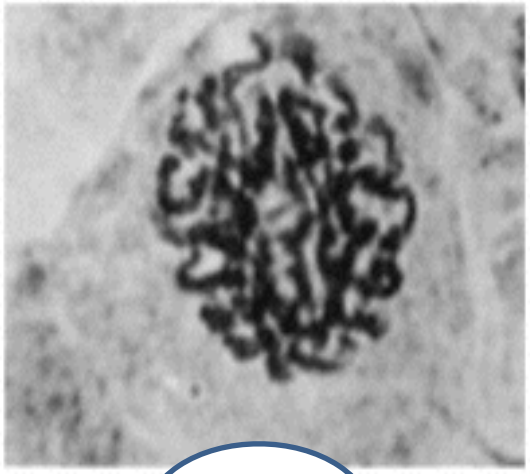
م.السكون(خلية أم)



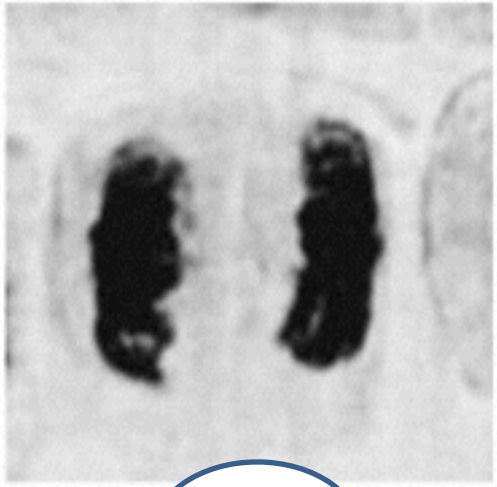
3



م.السكون(خليتان بنتان)



1



4

2

1 تمثل خلية أم في طور السكون .

2 خلية في بداية الإنقسام غير المباشر :

الطور التمهيدي

3 خلية بصبغيات مجتمعة في خط الإستواء

الطور الإستوائي

4 خلية بمجموعتين منفصلتين من الصبغيات

الطور الإنفصالي

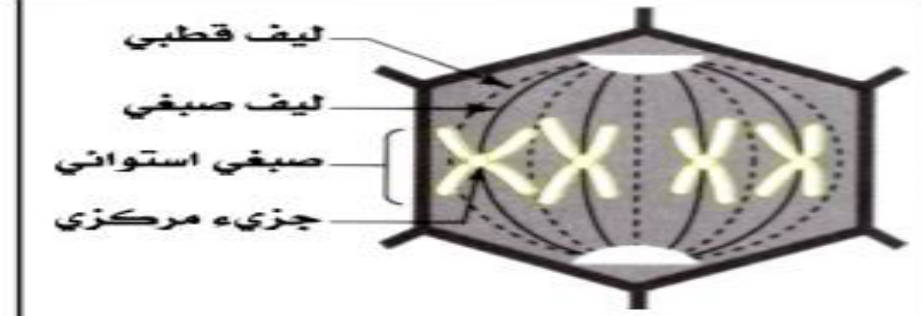
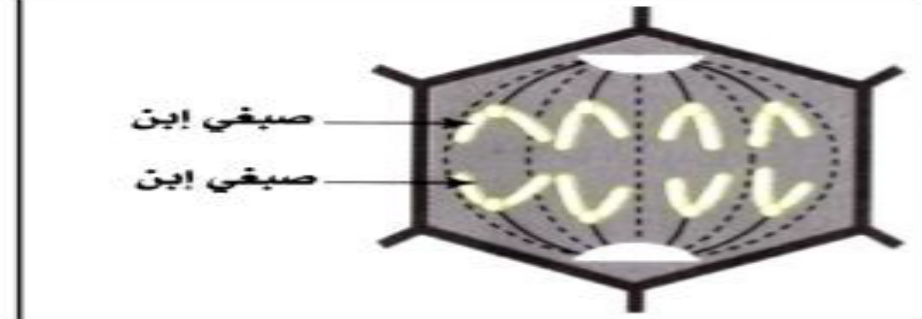
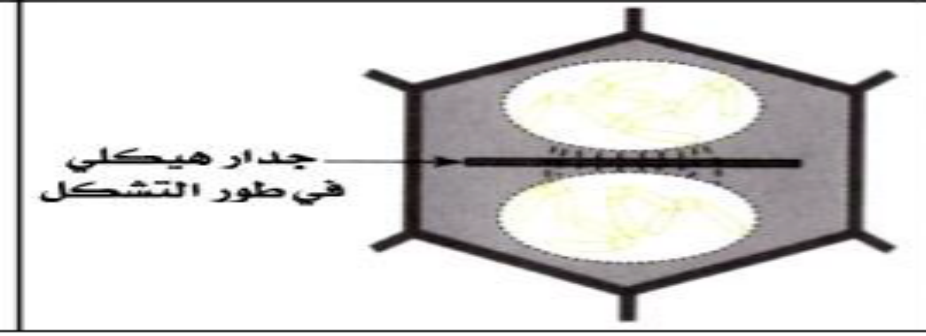
5 خلية في نهاية الإنقسام غير المباشر

الطور النهائي

6 تكون خليتان بنتان

2- مراحل الإنقسام غير المباشر عند خلية نباتية

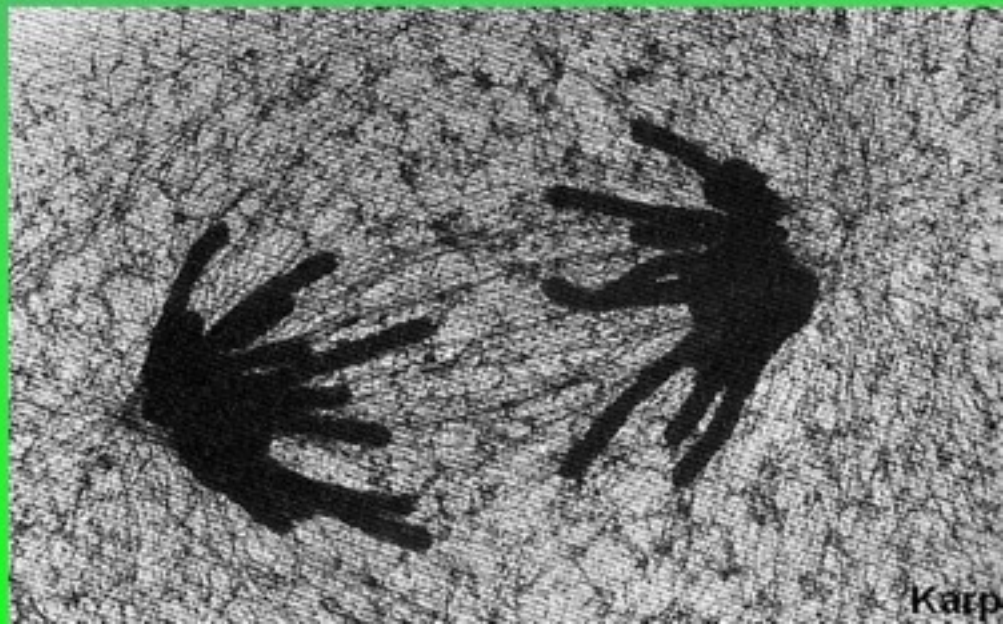
مراحل الانقسام غير المباشر

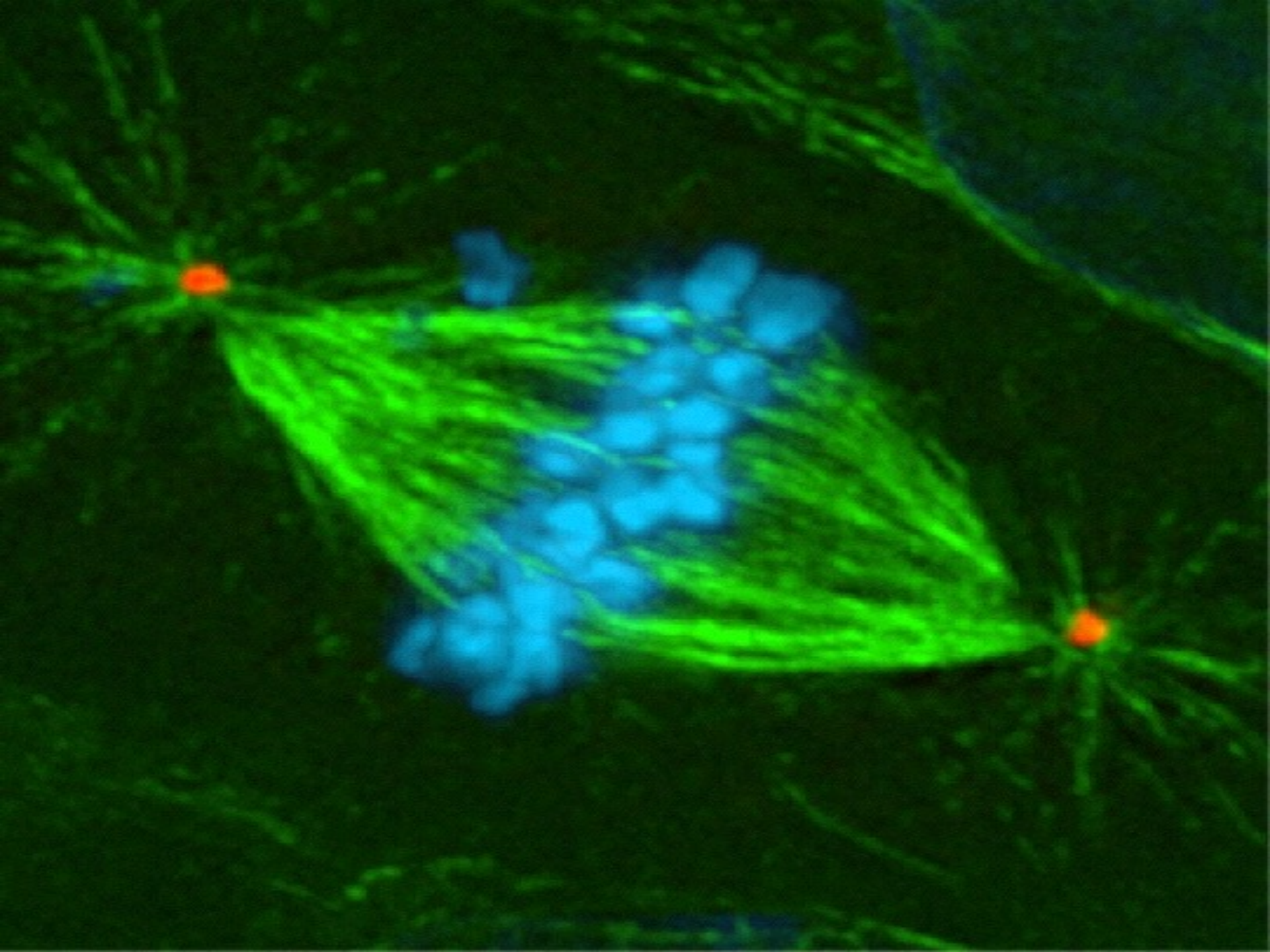
رسوم تخطيطية	صور مجهرية	
		الطور التمهيدي
		الطور الإستوائي
		الطور الإنفصالي
		الطور النهائي

Le fuseau mitotique mis en évidence par différentes techniques

par microscopie à contraste interférentiel différentiel (DIC)

Par des anticorps antitubulines marqués





ينتقل الخبر الوراثي خلال التكاثر من الخلية الأم الى الخليتين البنتين بواسطة ظاهرة متواصلة تسمى الإنقسام غير المباشر تقسم الى 4 أطوار :

أ- الطور التمهيدي

يتميز هذا الطور ب :

تكاثف الصبغين و انتظامه على شكل خيطات تسمى الصبغيات

- الصبغي مضاعف و مكون من صبيغيين مرتبطين على مستوى الجزيئ المركزي
- تلاشي و اختفاء الغشاء النووي و النوية
- تظهر منطقة فاتحة في قطبي الخلية هي عبارة عن كمنين قطبيتين يتكون بينهما مغزل لالوني أو مغزل الإنقسام .

ب-الطور الإستوائي

خلال هذ الطور :

- تصبح الصبغيات أكثر و ضوحا
- تكون الصبغيات صفيحة استوائية
- يكتمل تشكل المغزل اللالوني

ج- الطور الإنفصالي

خلال هذ الطور :

- ينشطر الجزيئ المركزي فيعطي كل صبغي صبيغيين اثنين
- تتكون مجموعتان متساويتان من حيث عدد الصبغيات
- تهاجر كل مجموعة نحو القطب (هجرة أو صعود قطبي) و ذلك نتيجة تقصير الألياف الصبغية

د- الطور النهائي

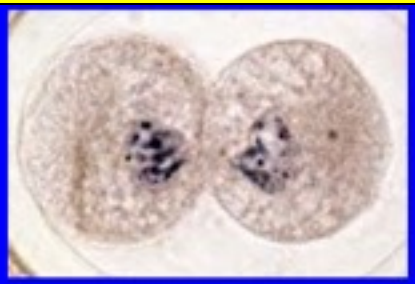
خلال هذ الطور :

- تفقد الصبغيات فرديتها و تتشابك ثم تتحول الى كتلة من الصبغين
- يتكون الغشاء النووي و تظهر النوية كما يختفي مغزل الإنقسام
- يظهر جدار فاصل بين خليتين بنتين تتوفران كل واحدة منهما على نفس عدد صبغيات الخلية الأم

يضمن الإنقسام غير المباشر ثبات عدد الصبغيات و صنف الصبغيات حيث تحتفظ الخليتان البنتان بنفس عدد صبغيات الخلية الأم و بنفس الخبر الوراثي لذا نتكلم عن النقل المطابق للخبر الوراثي .

تعد الصبغيات دعامة الخبر الوراثي لأنها تنقل الخبر الوراثي من الخلية الأم الى الخليتين البنتين

3- مراحل الإنقسام غير المباشر عند خلية حيوانية

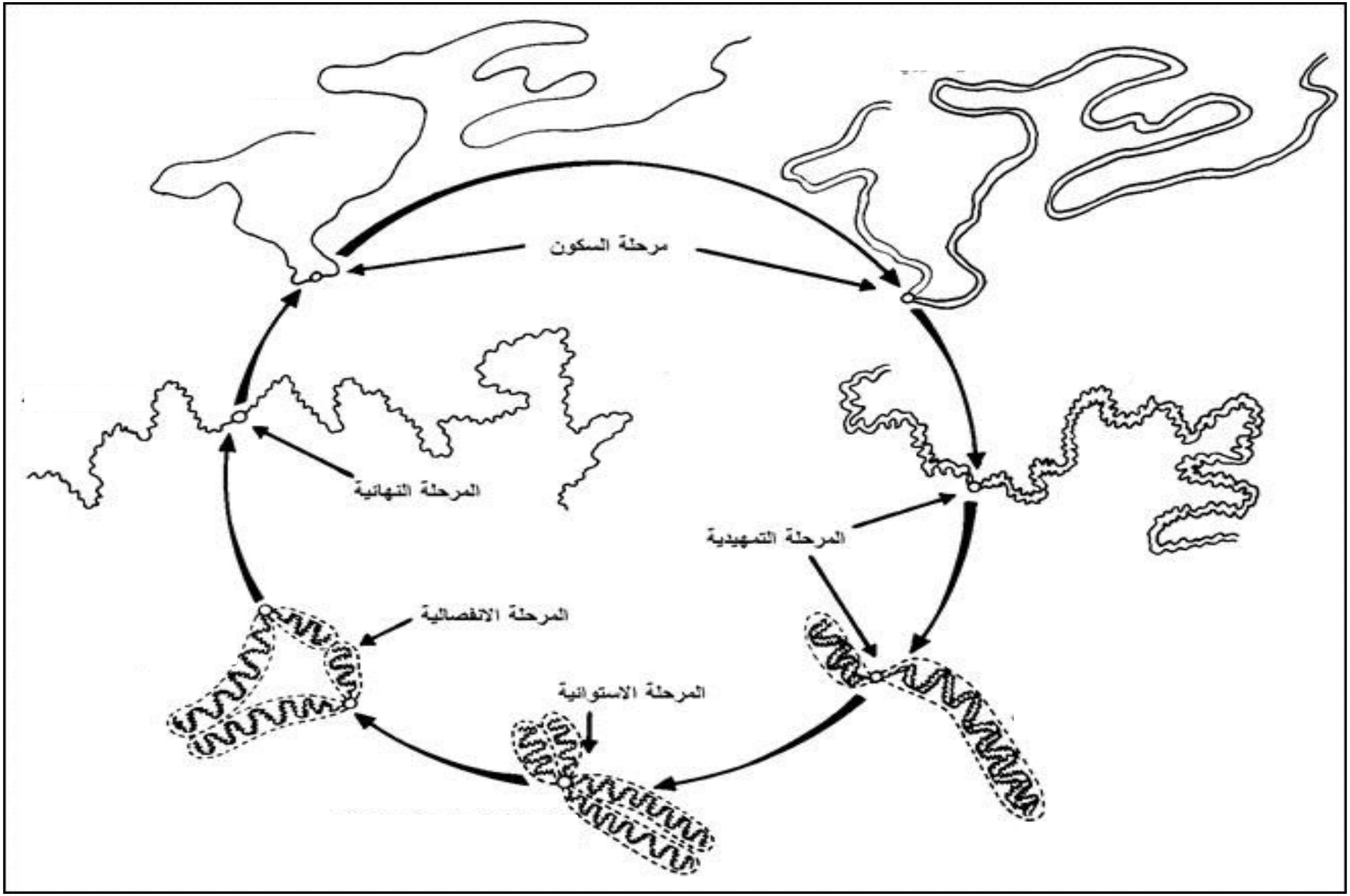
الطور التمهيدي	طور السكون : الخلية الأم
P	I
الطور الإنفصالي	الطور الإستوائي
A	M
طور السكون : خليتان بنتان	الطور النهائي
I 	T

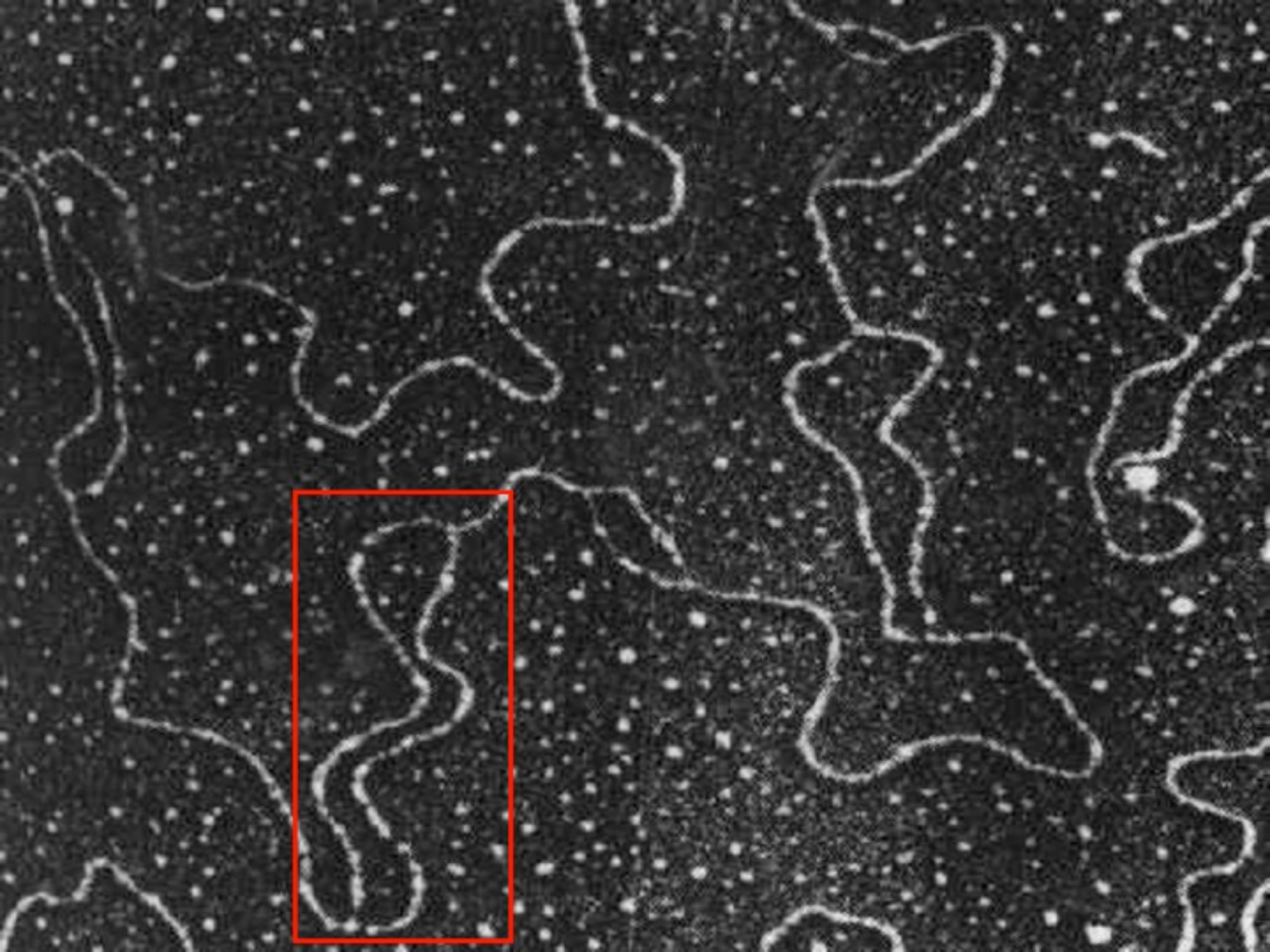
	الخلية النباتية	الخلية الحيوانية
أوجه التشابه	الإنقسام غير المباشر يضم الأطوار 4:تمهيدي استوائي-انفصالي-نهائي	الإنقسام غير المباشر يضم الأطوار4:تمهيدي استوائي-انفصالي-نهائي
عناصر الإختلاف	- كمتين قطبيتين - تكون جدار فاصل أثناء الطور النهائي	- نجميتين قطبيتين - ظهور اختناق استوائي في الطور النهائي

يتم الإنقسام غير المباشر عند كل من الخلية الحيوانية و الخلية النباتية في أربعة أطوار متواصلة تمهيدي-استوائي-انفصالي-نهائي مع وجود اختلافين اثنين :

- تشتمل الخلية الحيوانية اثناء الإنقسام غير المباشر على نجميتين قطبيتين (نجيمتين).
- خلال الطور النهائي تتكون حلقة قلوصة في مستوى خط إستواء الخلية و تمثل شق الإنقسام أو ما يسمى بالإختناق الإستوائي و الذي يجزئ الخلية الأم الى خليتين بنتين .

4- الدورة الخلوية


مرحلة السكون
المرحلة التمهيدية
المرحلة الاستوائية
المرحلة الانفصالية
المرحلة النهائية



1/ الإنقسام غير المباشر ظاهرة بيولوجية تمكن من نقل الخبر الوراثي من خلية أم الى خليتين بنتين عبر 4 أطوار:

تمهيدي- استوائي- انفصالي- نهائي .

و يسبق هذا الإنقسام مرحلة قبلية طويلة (3/4 من مدة الدورة الخلوية) تتم خلالها مضاعفة الخييطات النووية تدعى مرحلة السكون و تنقسم الى 3 فترات :

أو فترة النمو الأولى G1

- أو فترة التركيب S

- أو فترة النمو الثانية . G2

وتتناوب مر حلة السكون و مرحلة الإنقسام غير المباشرمكونة دورة خلوية .

2/ سلوك الصبغيات أثناء الدورة الخلوية:

خلال G1 أو فترة النمو الأولى تكون الخييطات النووية غير مضاعفة و غير ملولبة

خلال S أو فترة التركيب نسجل بداية تضاعف الخييطات النووية في مستوى عيون النسخ

خلال G2 أو فترة النمو الثانية يكتمل تضاعف الخييطات النووية.

في الطور التمهيدي يبدأ تلولب الصبغيات ليصل أقصاه خلال الطور الإستوا ئي مع انشطار طولي للصبغي حيث يتكون من صبيغيين اثنين . أثناء

الطور الإنفصالي ينفصل الصبيغيان بعد إنشطار الجزيئ المركزي لتتم إزالة التلولب تدريجيا أثناء الطور النهائي

3/ أثناء الطور الإنفصالي يتضاعف عدد الصبغيات وتتكون مجموعتان من الصبغيات مع نفس العدد لكل منهما(2n)وهو مماثل لعدد الصبغيات في الخلية الأم (2n)

4/ الإنقسام غير المباشر يعد توالدا مطابقا لكونه :

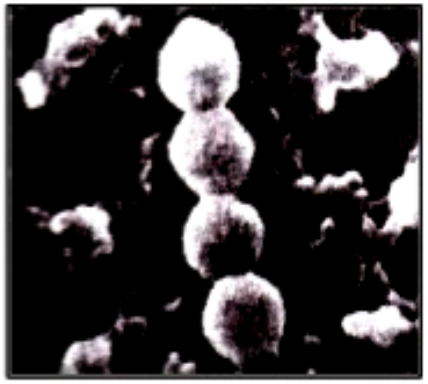
- يحافظ على نفس عدد الصبغيات في الخلية البنت مقارنة مع الخلية الأم

- يحافظ على نفس الخبر الوراثي للخلية الأم على مستوى الخلايا البنت حيث توزع الصبغيات بالتساوي.

- طبيعية الخبر الوراثيIII

1- الكشف عن الطبيعية الكيميائية للمادة الوراثية

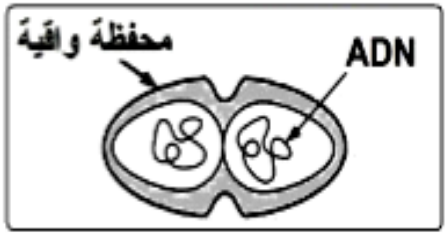
1-1 تجربة GRIFFITH



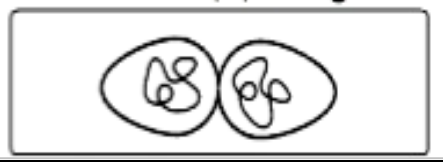
المكورات الثنائية الرئوية
Pneumocoques

تسبب مرض التهاب الرئة وتوجد على شكلين :

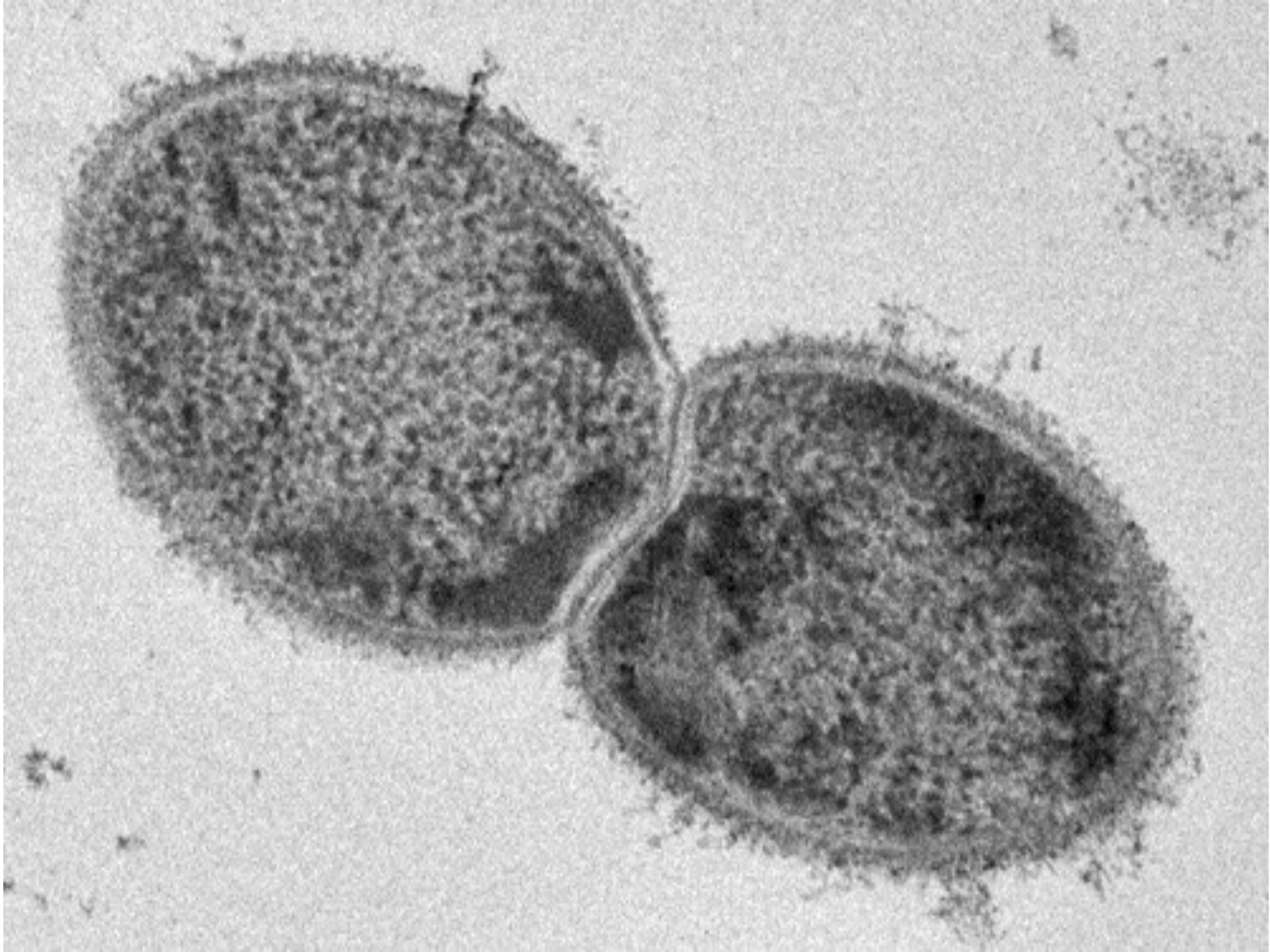
* **مكورات رئوية ملساء**
(S) Smooth



* **مكورات رئوية خشنة**
(R) Rough



	التجارب	النتائج	تحليل دم الفأر
1	مكورات S حية	موت الفأر	تواجد عدد كبير من المكورات S الحية
2	مكورات R حية	بقاء الفأر حيا	غياب المكورات الرئوية
3	مكورات S ميتة بفعل التسخين	بقاء الفأر حيا	غياب المكورات الرئوية
4	مكورات S ميتة + مكورات R حية	موت الفأر	تواجد مكورات S حية و R حية



التجربة 1: موت الفأر A1 ناتج عن حقنه بمكورات S حية فهي إذن ممرضة

التجربة2: عدم موت الفأر A2 ناتج عن حقنه بمكورات R حية فهي إذن غير ممرضة

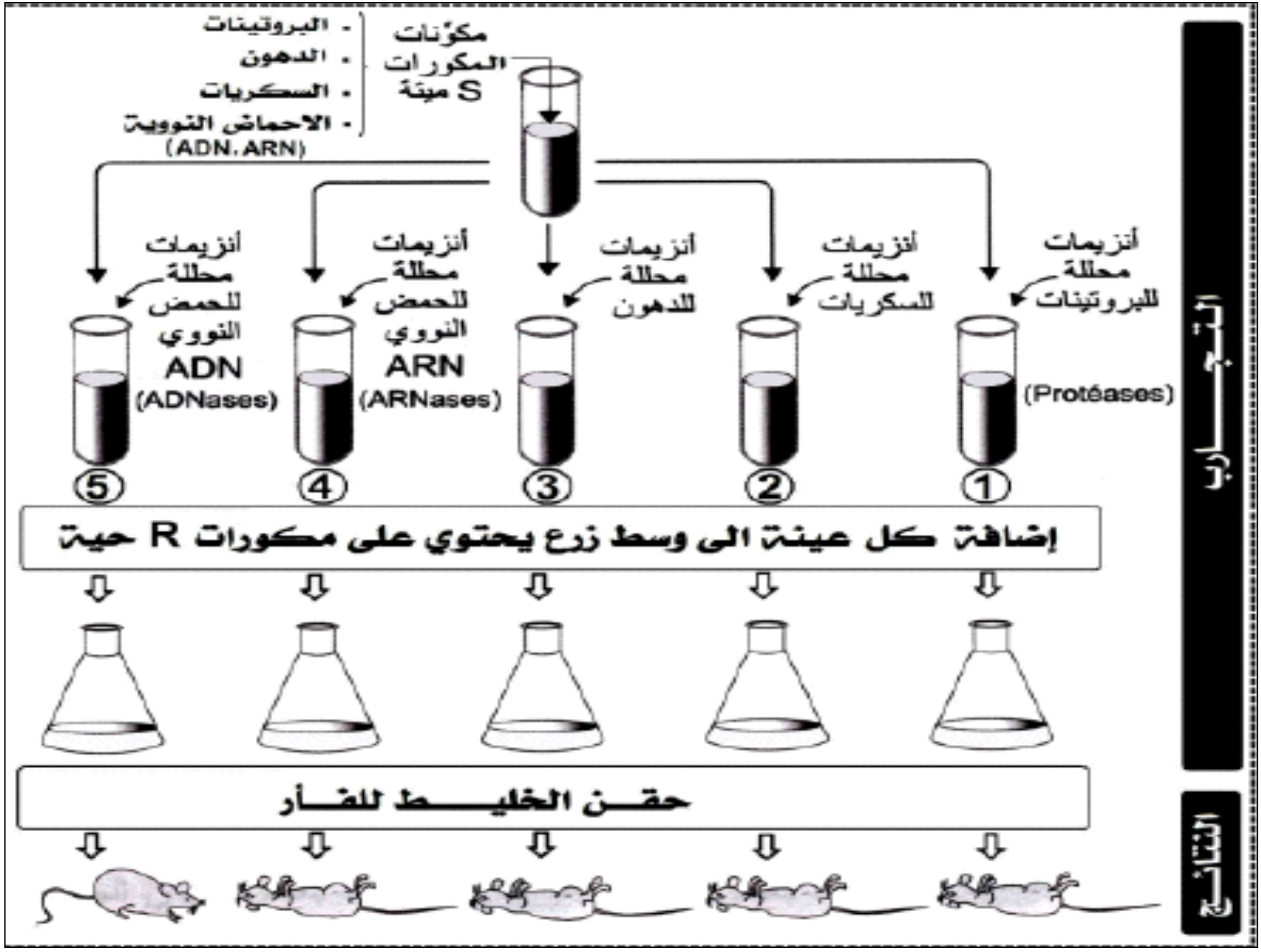
التجربة 3: لم يمت الفأرلكونه حقن بمكورات S ميتة غير ممرضة .

التجربة 4: موت الفأر ناتج عن حقنه بمكورات S ميتة و مكورات R حية فظهرت عنده مكورات S حية ممرضة .

استنتاج :

المكورات R حية تحولت الى مكورات S حية . وتم هذا التحول البكتيري بنقل مادة من البكتيريا S ميتة الى R حية سماها GRIFFITH بالعلة المحولة .

1-2 تجربة AVERY


التجارب
- البروتينات
- الدهون
- السكريات
- الاحماض النووية (ADN, ARN)
مكوّنات المكورات S ميتة
أنزيمات محللة للبروتينات
أنزيمات محللة للسكريات
أنزيمات محللة للدهون
أنزيمات محللة للحمض النووي ARN (ARNases)
أنزيمات محللة للحمض النووي ADN (ADNases)
(Protéases)
1
2
3
4
5
إضافة كل عينة الى وسط زرع يحتوي على مكورات R حية
حقن الخليط للفأر
النتائج

نلاحظ أن التحول البكتيري يحدث عند استعمال أنزيمات محللة للذهون ,للسكريات , للبروتينات أو محللة لجزيئة ARN .

نستنتج من هذه المعطيات أن الذهون ,السكريات ,البروتينات و ARN ليست هي العلة المحولة و لا

كما أن التحول البكتيري لا يحدث عند استعمال ADNase وهي أنزيمات محللة لجزيئة ADN أو الحمض النووي الريبوزي ناقص الأوكسجين .

نستنتج من هذه المعطيات أن ADN هو المسؤول عن تحول المكورات R حية الى مكورات S حية و بالتالي فالعلة المحولة هي جزيئة ADN وهي بالتالي الخبر الوراثي

آلية التحول البكتيري :

بعد موت المكورات S الحادة أو الممرضة يتجزأ ADN الى أجزاء

صغيرة فيدمج جزء من ADN المكورات S في ADN المكورات R الحية و التي تصبح لها القدرة على تركيب المحفظة المسؤولة عن المرض

و بالتالي تصبح مكورات S حية

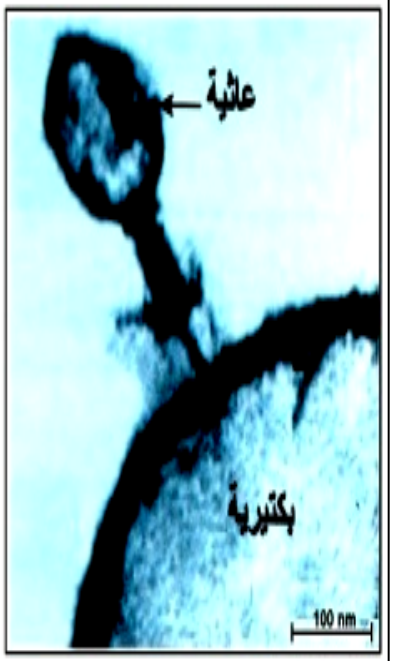
ADN هو الخبر الوراثي الذي يتحكم في تركيب المحفظة (صفة وراثية)

1-3 تكاثر العاثيات

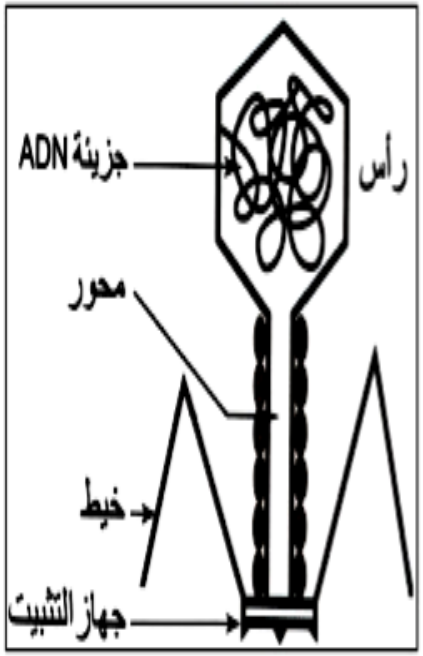
تعتبر الحمات Les Virus "نظام حي" ذات قد صغير، تتوفر على خبر وراثي على شكل ARN أو ADN، كلها طفيليات اجبارية

هناك حمات تتطفل على البكتريات تسمى :

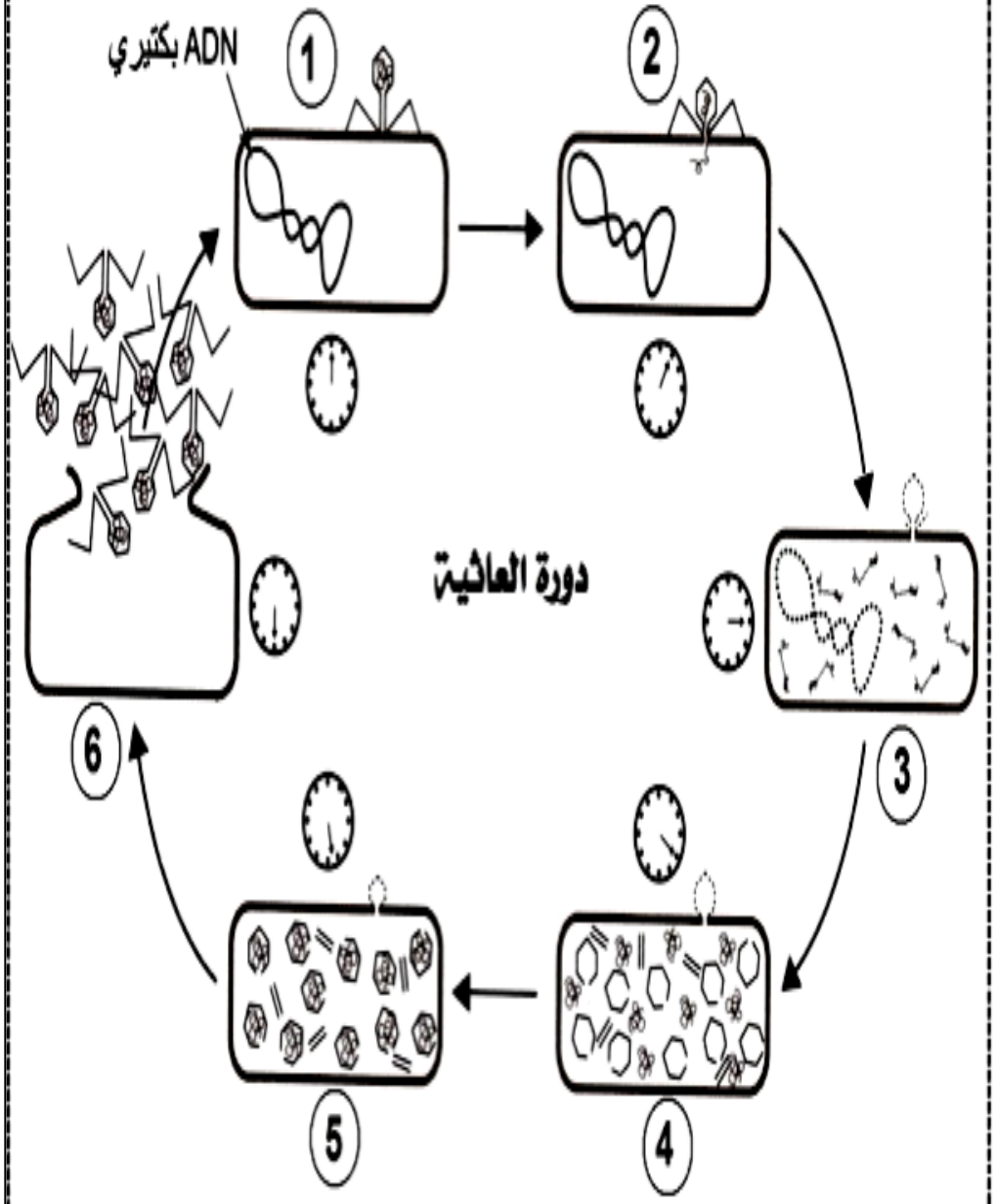
العاثيات Les bacteriophages



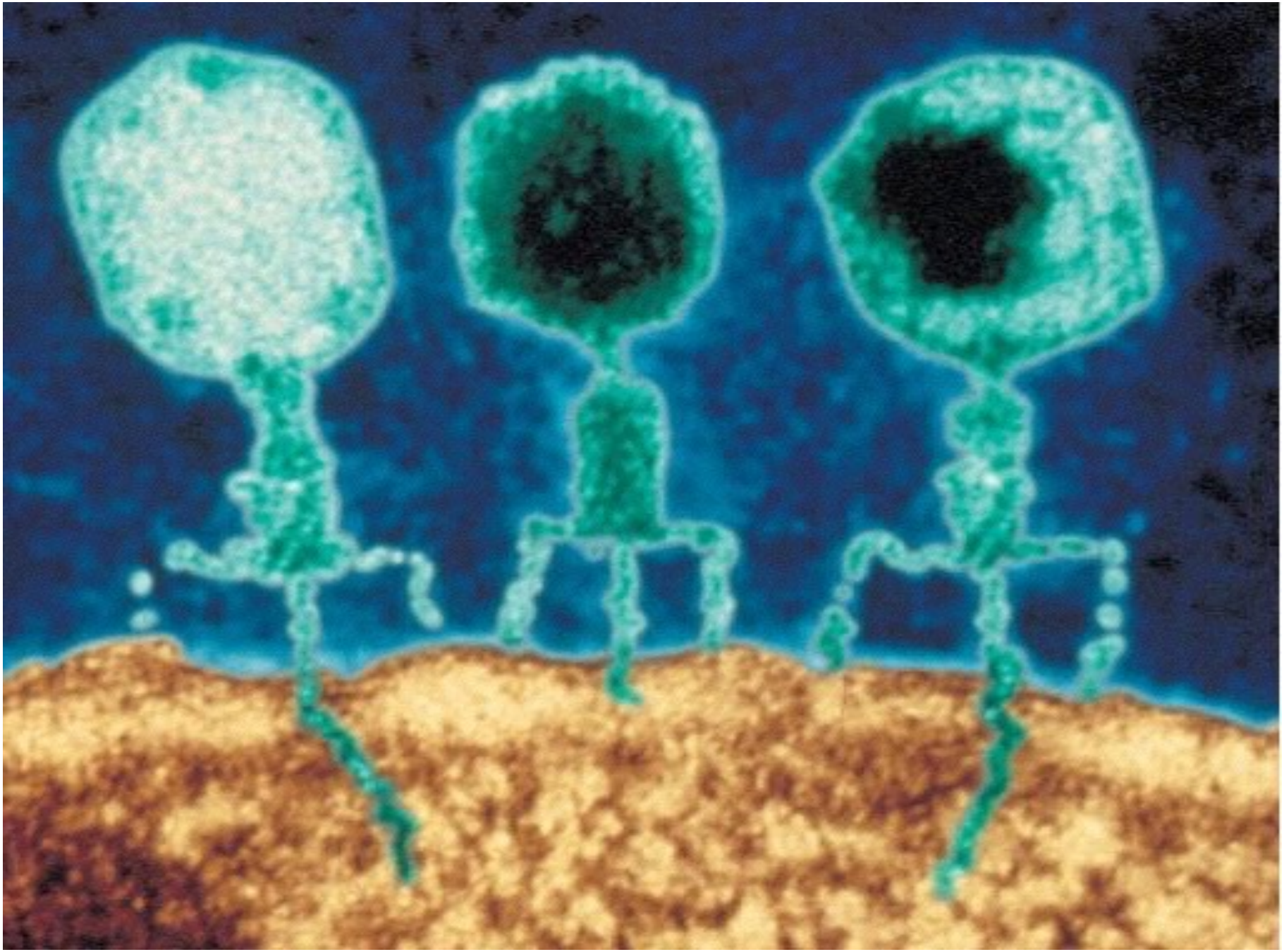
الشكل 1: ملاحظة مجهرية لعاثية متطفلة على بكتيرية



الشكل 2 : رسم تخطيطي لعاثية



الشكل 3 : آلية تكاثر حمة العاثية



تتكاثر العاثية عبر عدة مراحل وهي:

1تثبيت الحمة أو الفيروس على سطح البكتيرية

2حقن ADN الحمة في سيتوبلازم البكتيرية

3تكاثر ADN الحمة

4تركيب أجزاء من الفيروس

5تركيب حمات جديدة

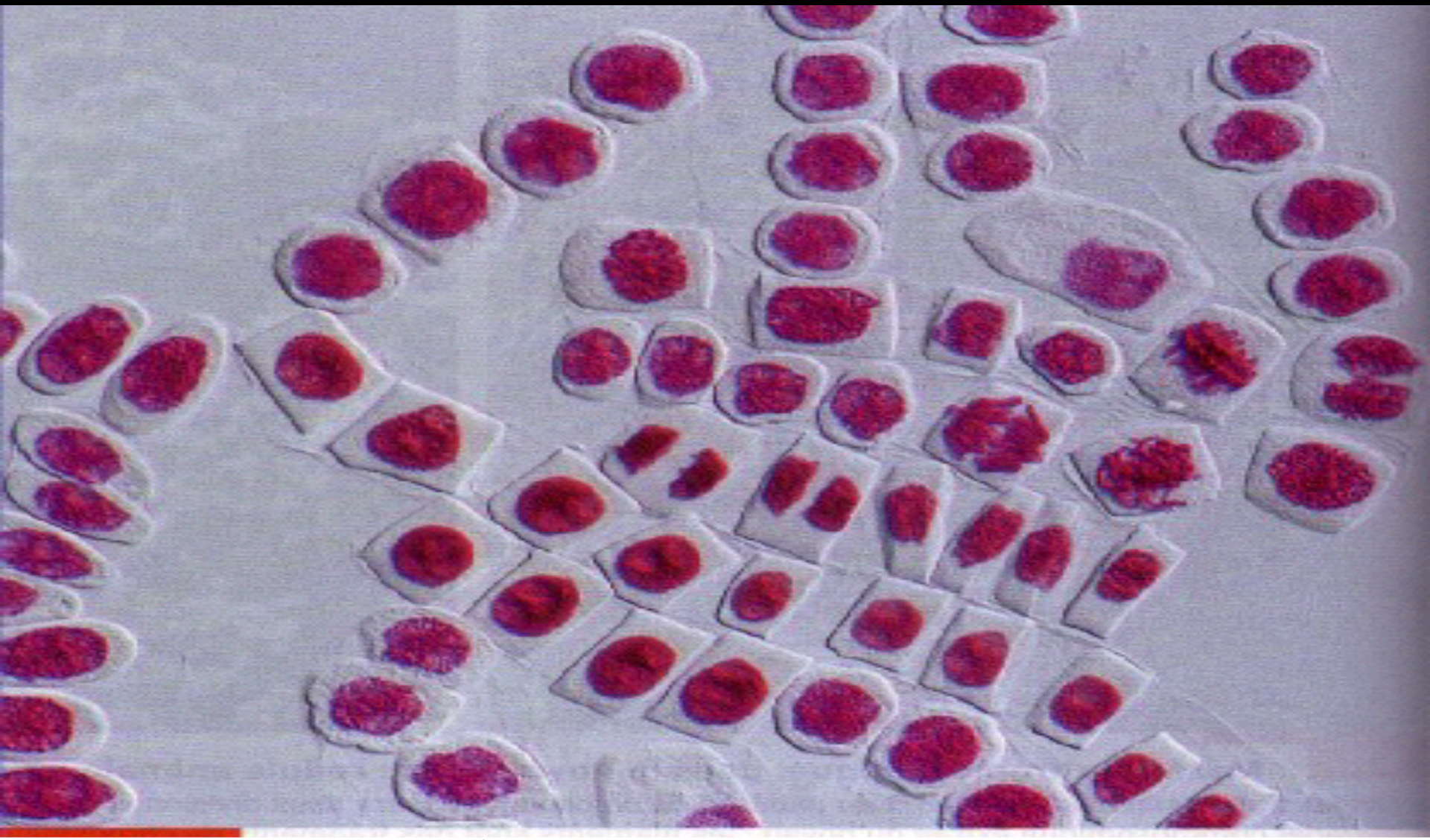
6انفجار البكتيرية و تحرير فيروسات جديدة شبيهة بالحمة الأصلية

استنتاج :

يتبين من دورة العاثية أن هذه الأخيرة تحقن فقط جزيئة ADN داخل البكتيرية لتركب بعد ذلك عاثيات جديدة . يمثل ADN إذن الخبر الوراثي المتحكم في الصفات الوراثية للعاثية

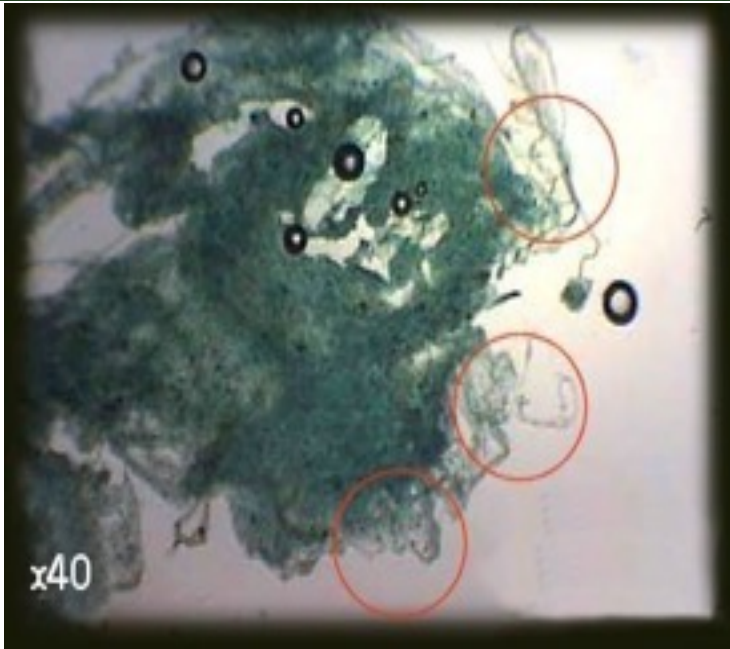
2- الكشف عن ADN
وكيفية استخلاصه من الخلايا

أ-طريقة **FEULGEN :** هي تقنية تعتمد استعمال كاشف SCHIFF
وهو مادة عديمة اللون تتلون بالأحمر عند اتصالها ب ADN



خلايا جذر النبات ملونة

ب - تجربة استخلاص ADN



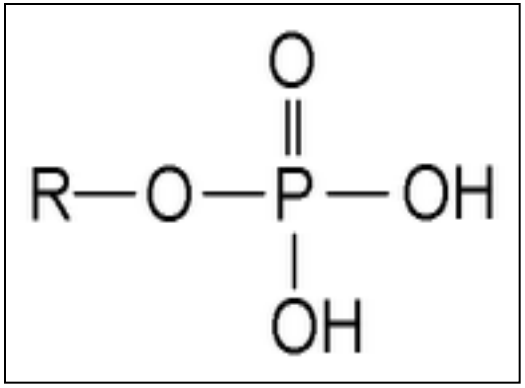
3- التركيب الكيميائي لجزيئة ADN و بنيتها و علاقتها بالصبغيات

3-1/ الكشف عن بنية جزيئة ADN

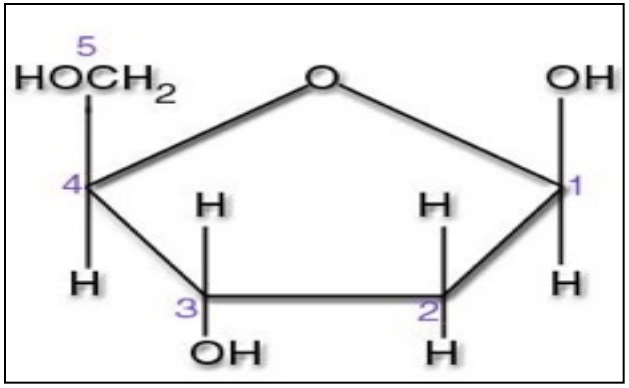
أ- المكونات الكيميائية لجزيئة ADN

مكنت الحلمأة الأنزيمية من عزل مختلف مكونات جزيئة ADN وهي:

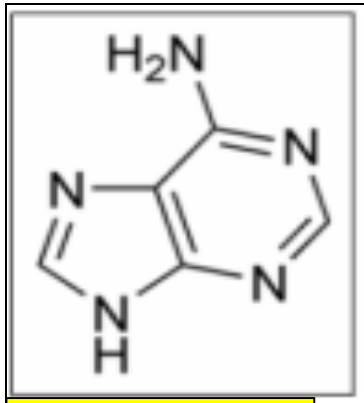
حمض فوسفوري P



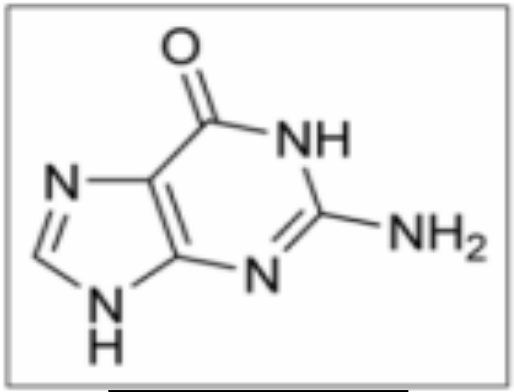
سكر ريبوزي ناقص الأوكسجين D



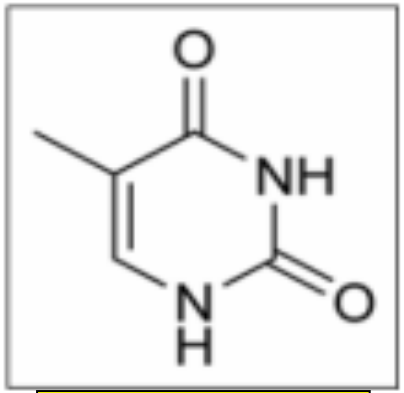
قواعد آزوتية



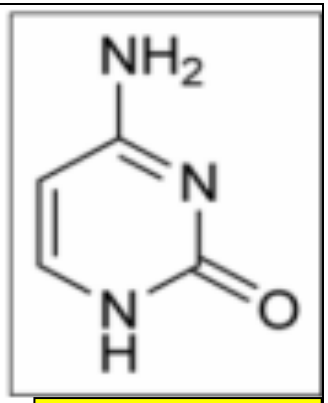
أدنين A



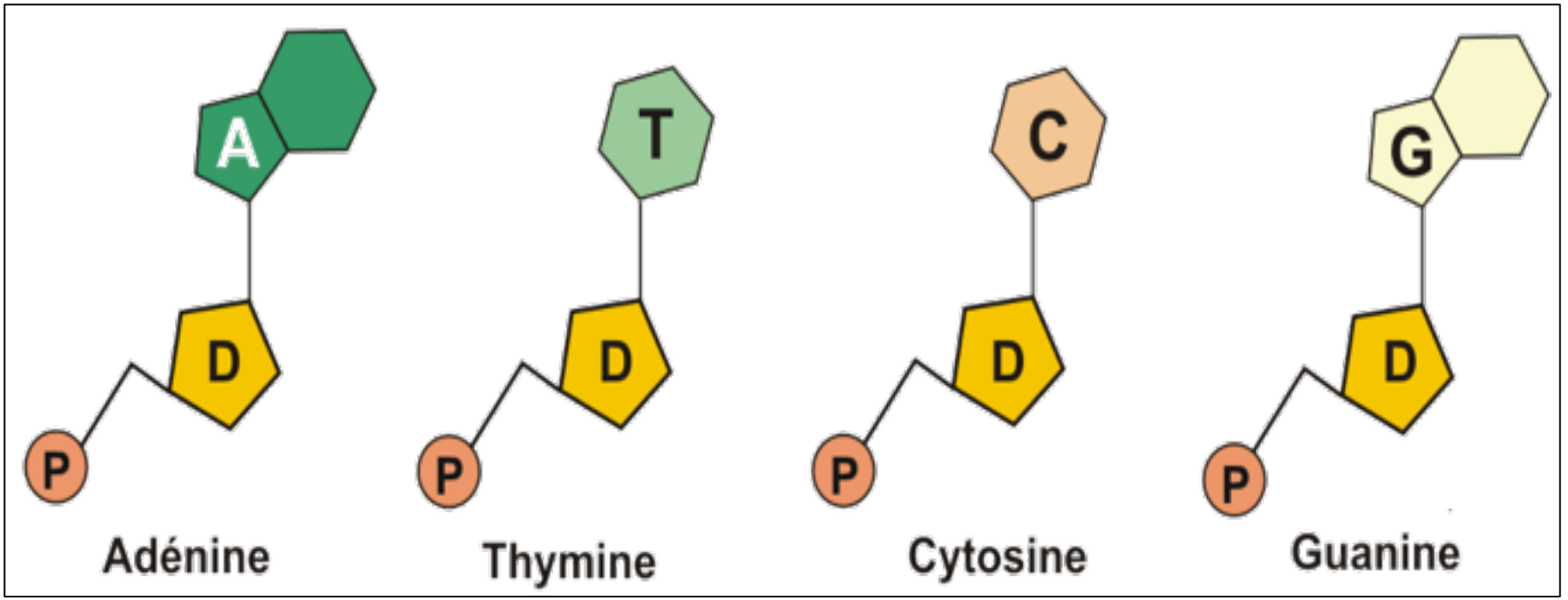
غوانين G

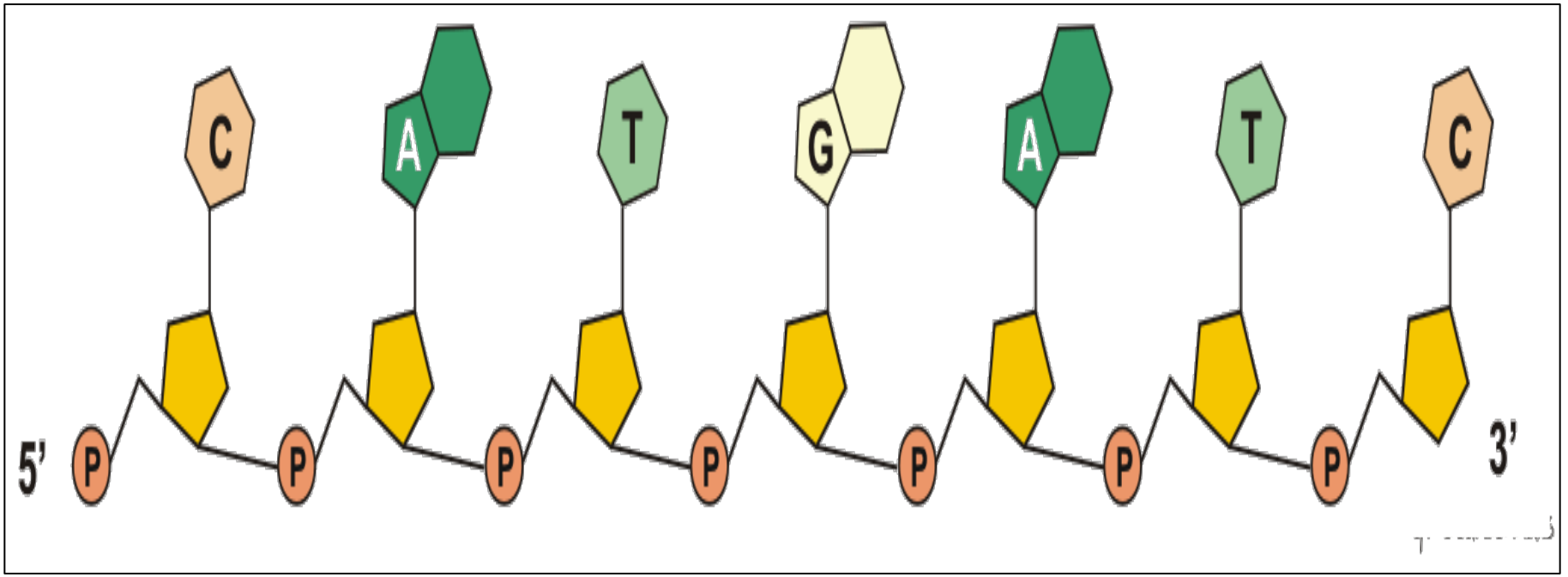


تيمين T



سيتوزين C


A
D
P
Adénine
T
D
P
Thymine
C
D
P
Cytosine
G
D
P
Guanine


C
A
T
G
A
T
C
5'
P
P
P
P
P
P
P
P
3'

النيكليوتيد هي الوحدة الأساسية لجزيئة ADN

وتتشكل عن ارتباط :

حمض فوسفوري و سكر ريبوزي ناقص الأوكسجين

و قاعدة آزوتية

هناك 4 أنواع من النيكليوتيدات و ذلك حسب القاعدة الآزوتية

تتحد النيكليوتيدات ببعضها البعض بواسطة السكر و الحمض الفوسفوري مشكلة شريطا

ب - نتائج CHARGAFF

♥ الوثيقة 2: تعطي الوثيقة التالية نسبة القواعد الازوتية في ADN عند بعض الأنواع من الكائنات :

الأجسام	التركيب من القواعد الازوتية ب % mol				نسبة القواعد الازوتية		
	A	G	C	T	A /T	G/C	A+G/C+T
الإنسان	30.9	19.9	19.8	29.4	1.05	1.01	1.03
الخروف	29.3	21.4	21.0	28.3	1.04	1.02	1.03
الدجاج	28.8	20.5	21.5	29.3	0.98	0.95	0.97

تمكن chargaffمن تحديد كمية القواعد الآزوتية بجزيئة ADNعند كائنات حية مختلفة و يتبين من خلال الجدول أن

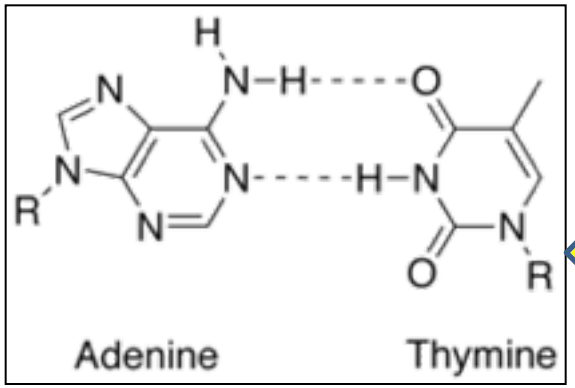
$$\frac{A}{T} = \frac{G}{C} = \frac{A+G}{T+C}$$

- **<u>عدد A = عدد T و عدد G=عدد C</u>**

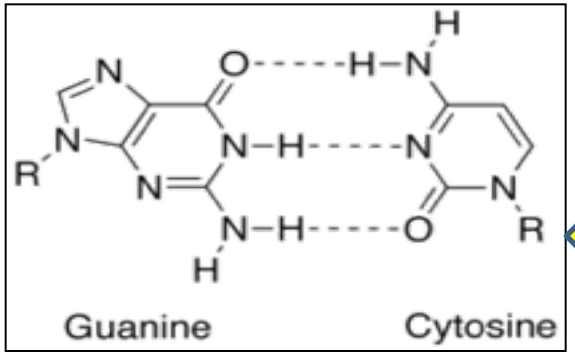
مما يمكننا من كتابة المعادلة التالية

واستنتاج أن جزيئة ADN عبارة عن شريطين

-مقدار A و T متساويين يدل على أنهما مرتبطتين داخل جزيئة ADN ويتم الإرتباط <u>برابطتين هيدروجينيتين</u> .

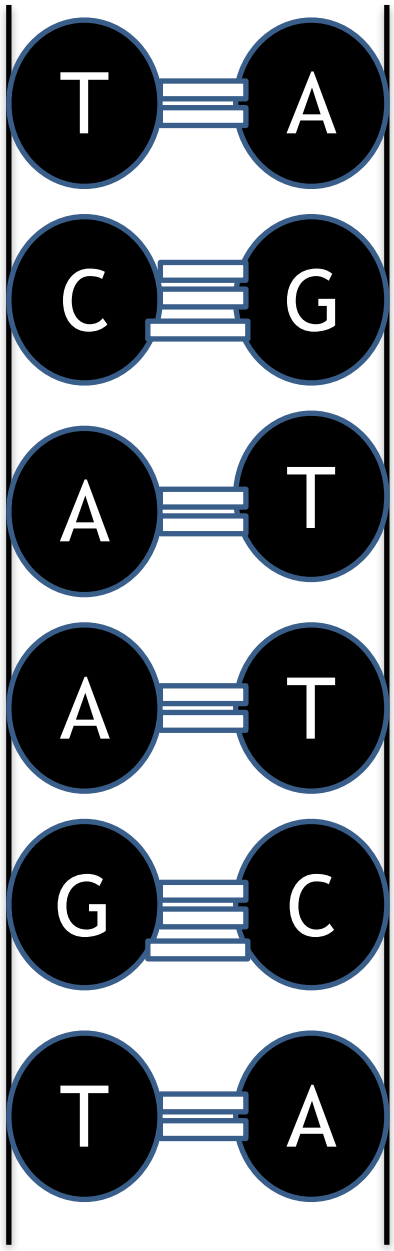


-مقدار C و G متساويين يدل على أنهما مرتبطتين داخل جزيئة ADN و يتم الإرتباط <u>ب3 روابط هيدروجينية</u> .



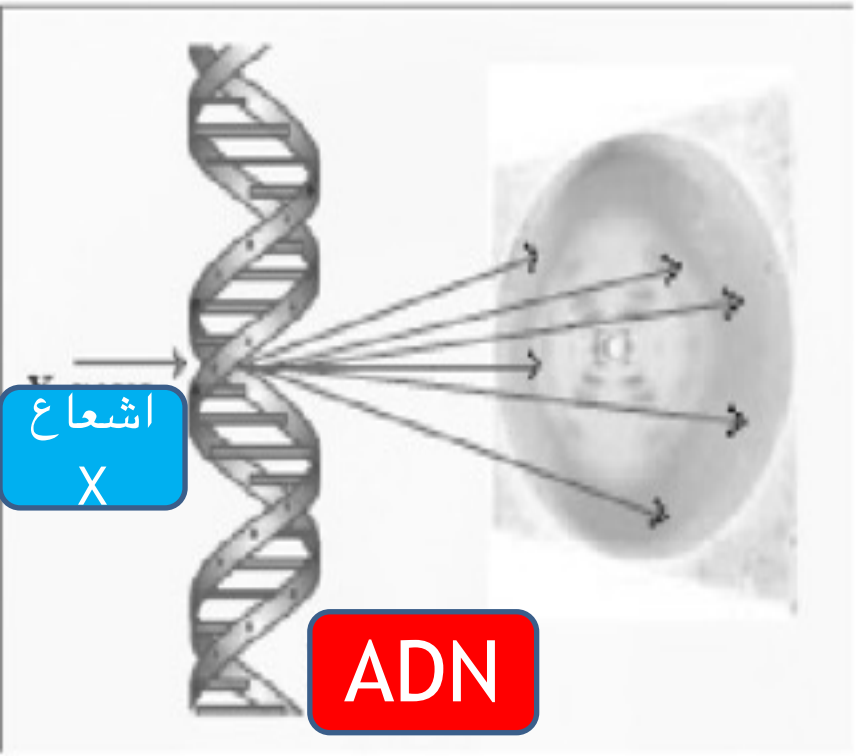
شريط 2

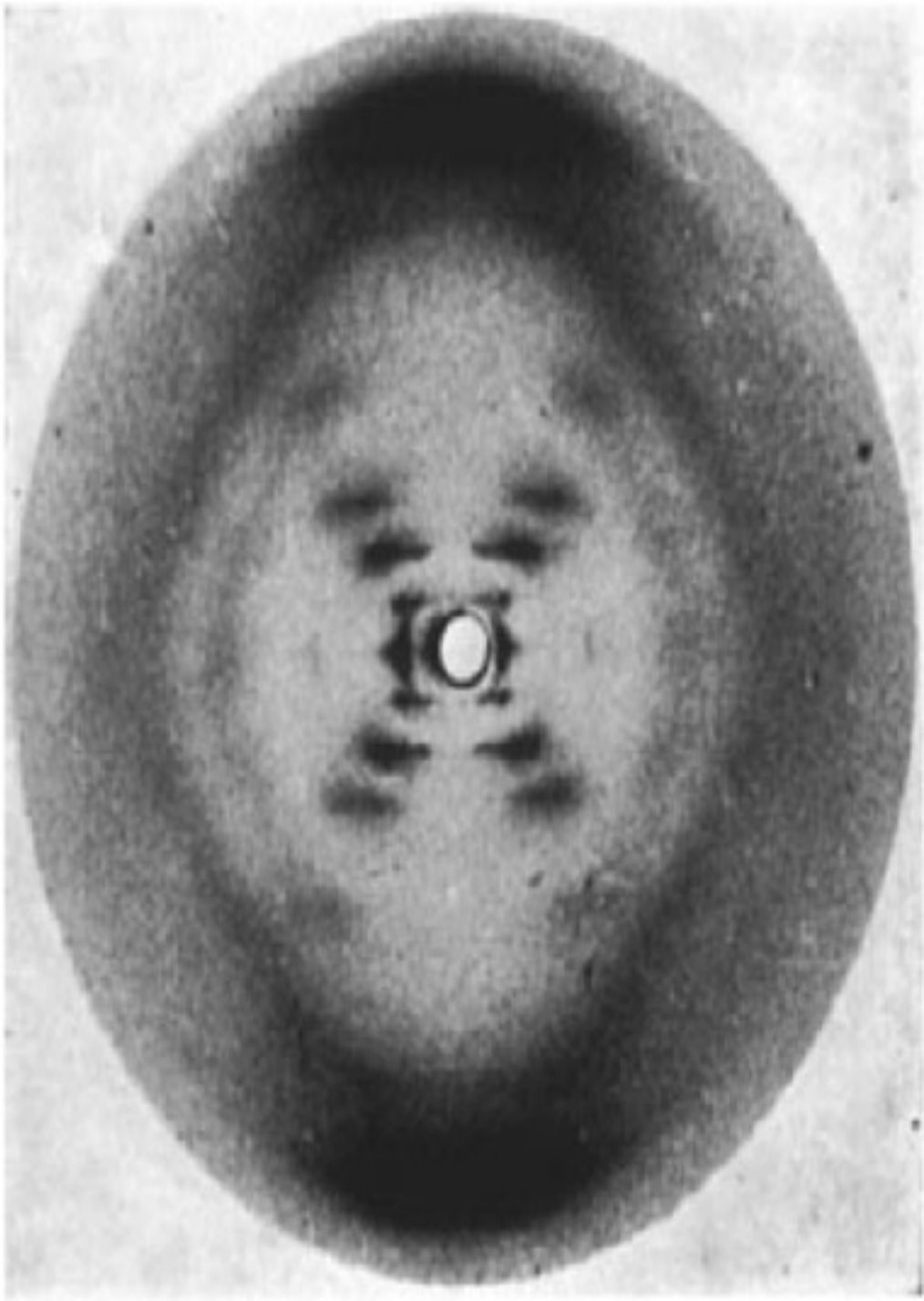
شريط 1



جزيئة ADN

ج - نتائج ملاحظات FRANKLIN

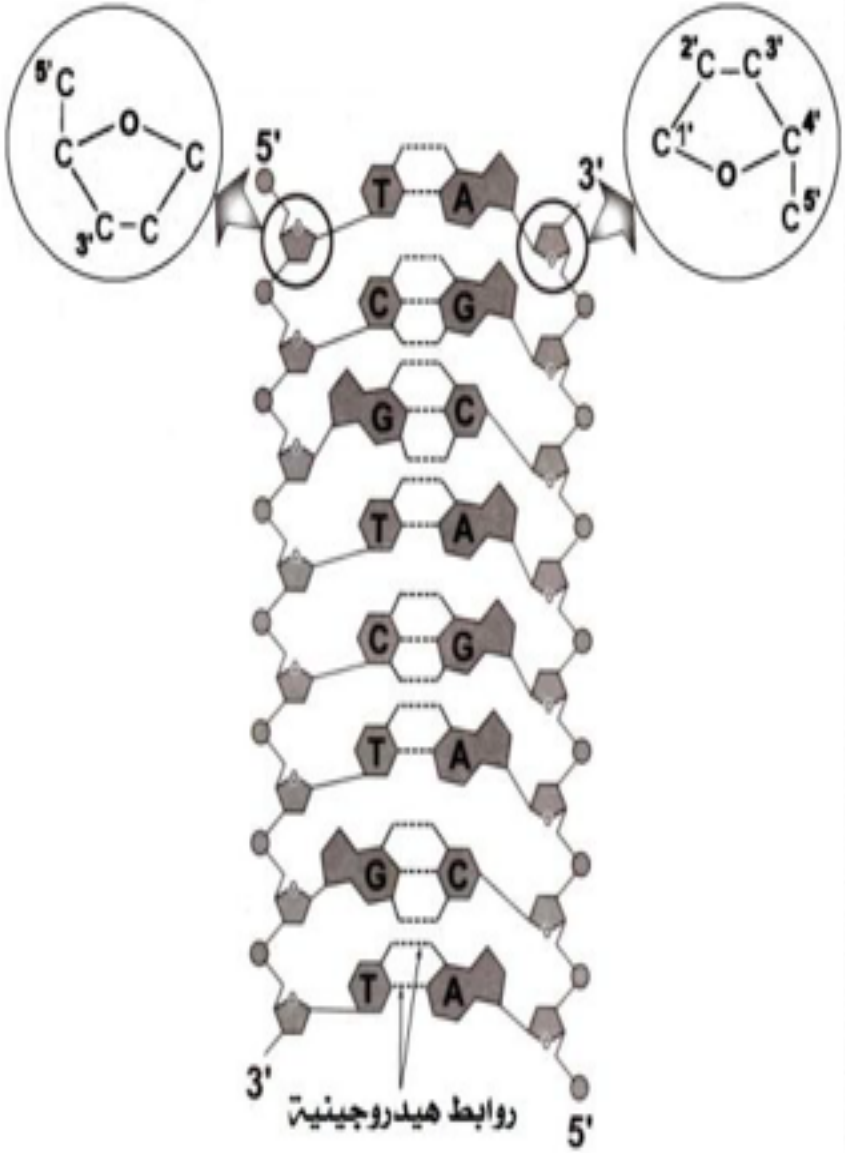

اشعاع
X
ADN



بعد نتائج الحلمأة الأنزيمية و أبحاث CHARGAFF و ملاحظة ADN بالأشعة X.

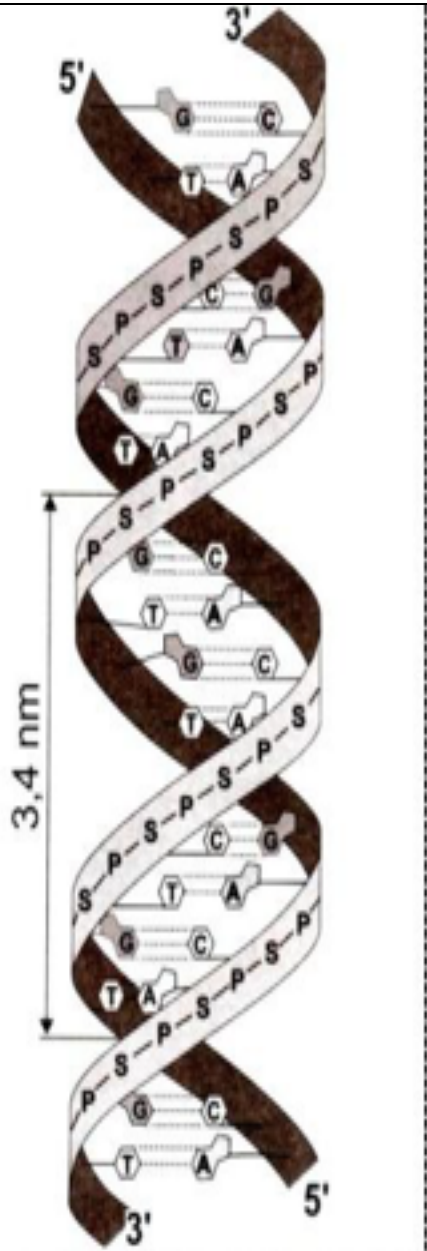
تمكن الباحثون من إثبات أن جزيئة ADN عبارة عن أسطوانة يبلغ قطرها 2nm و تظهر بنية لولبية أي أن جزيئة ADN مكونة من شريطين ملولبين .

د – نموذج جزيئة ADN



الشكل 2: بنية لولبي جزيئة ADN

الشكل 1: مكونات جزيئة ADN



الشكل 3: بنية جزيئة ADN حسب نموذج اللولب المضاعف

يمثل ADN أو الحمض النووي الريبوزي ناقص الأوكسجين الخبر الوراثي للخلية .
تتكون جزيئة ADN من شريطين ملولبين و يتألف كل لولب من متتالية من النيكليوتيدات و يتكون كل نيكليوتيد من ثلاثة عناصر وهي : الحمض الفوسفوري و الريبوز ناقص الأوكسجين و قاعدة آزوتية .

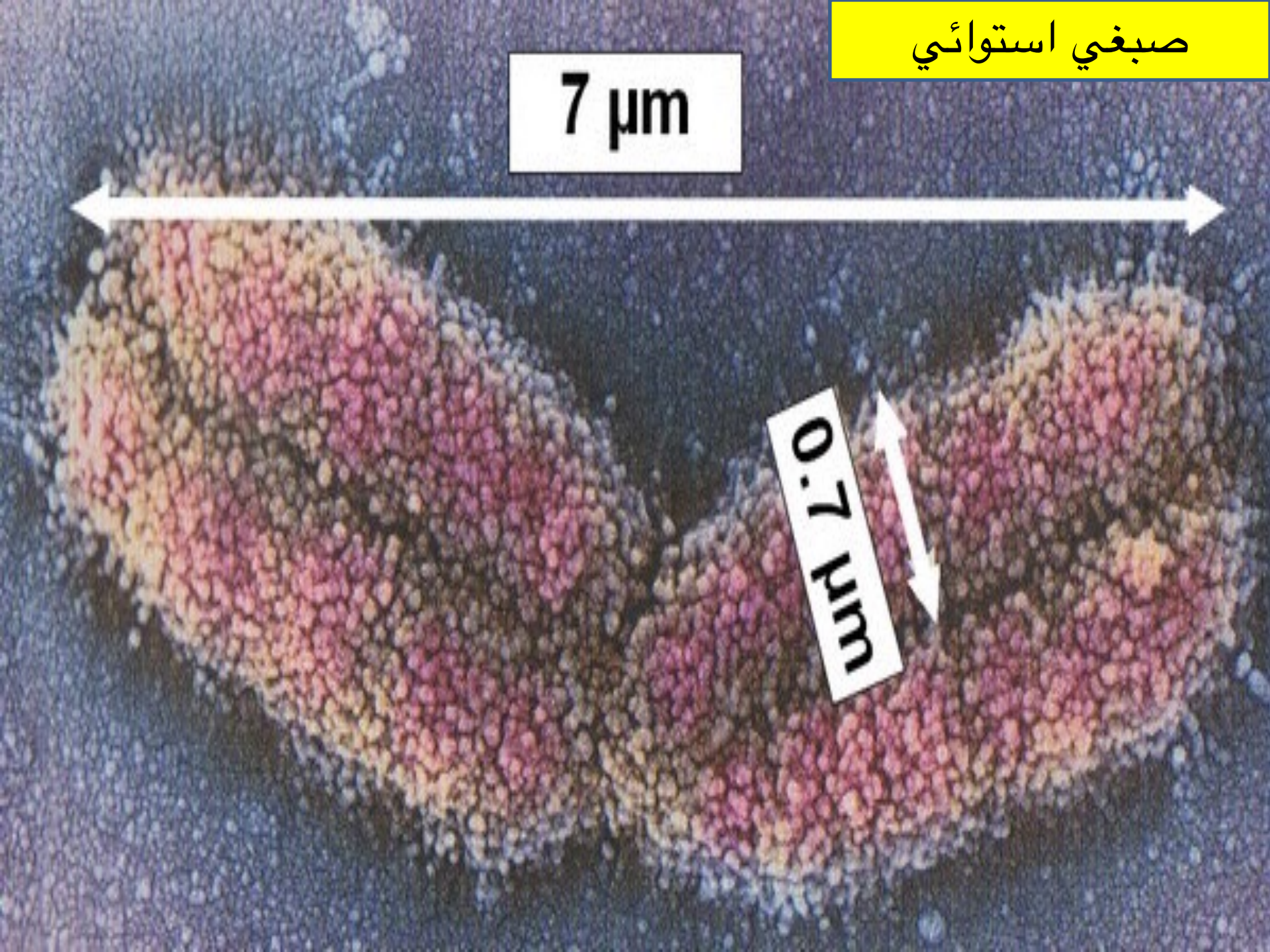
يتحد لولبا ADN بفضل روابط هيدروجينية تنشأ بين القواعد الآزوتية المتقابلة و المتكاملة بحيث ترتبطA دائما ب T برابطتين هيدروجينيتين و ترتبط C دائما ب G بثلاثة روابط هيدروجينية .

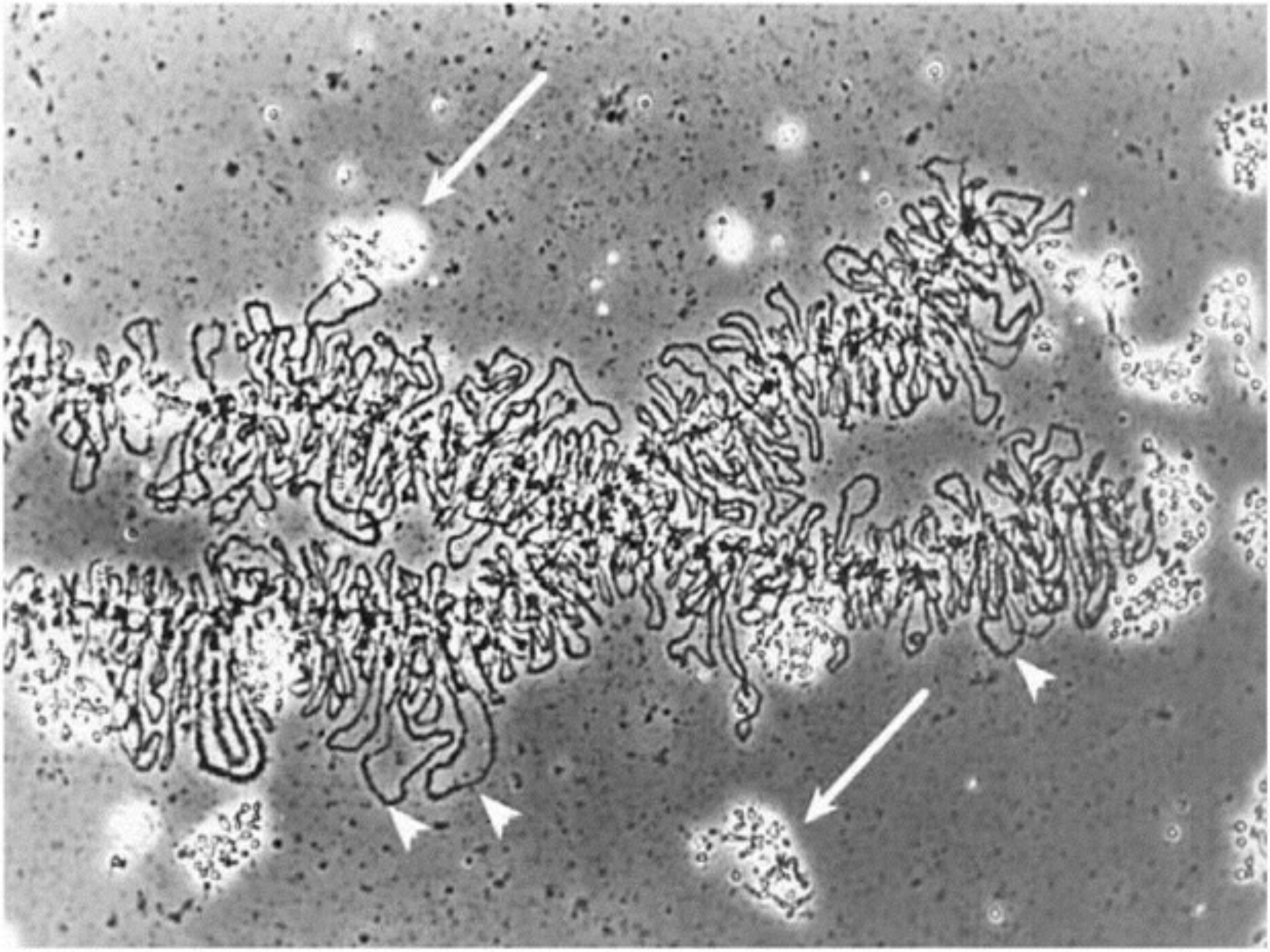
تتميز جزيئة ADN ببنية فضائية في شكل لولب مضاعف و لكل لولب قطبية تبعا للإتجاه 5’-3’ كما أن شريطي ADN المتجمعين لهما قطبية متضادة 5’-3’ مع 3’-5’ .

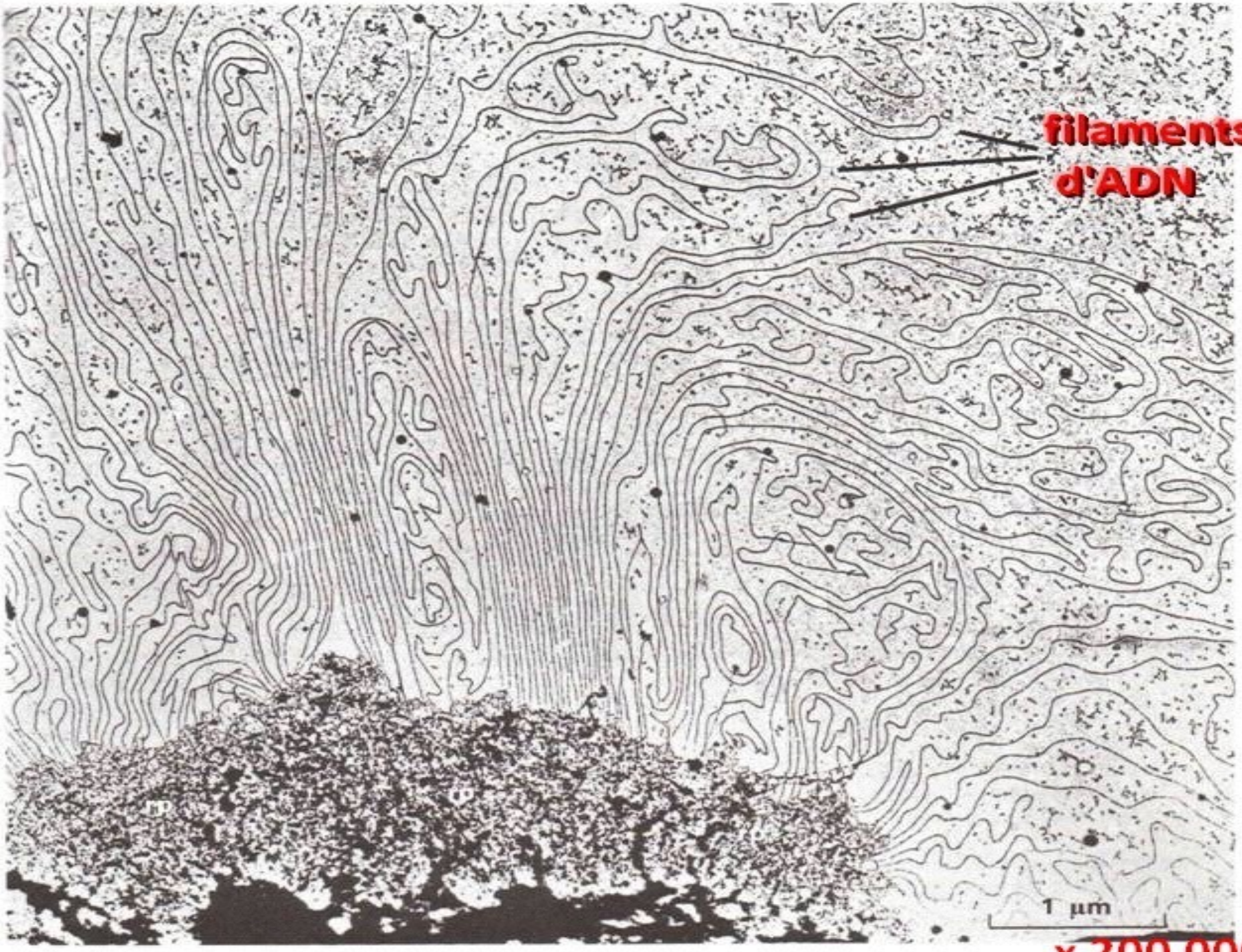
نقول أن شريطا ADN مضادا التوازي .

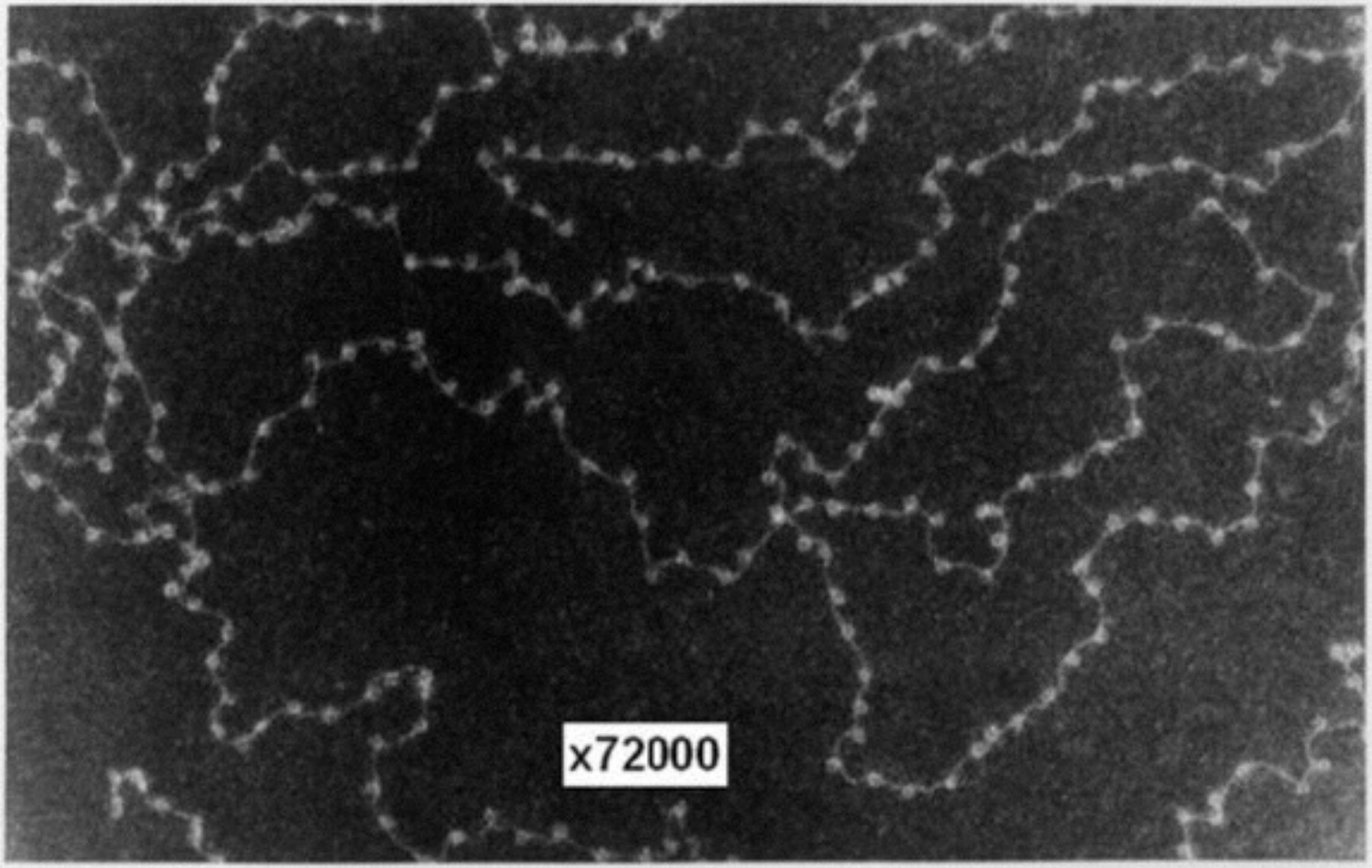
3- 2 / علاقة الصبغي بجزيئة ADN

Chromosome


صبغي استوائي
7 µm
0.7 µm



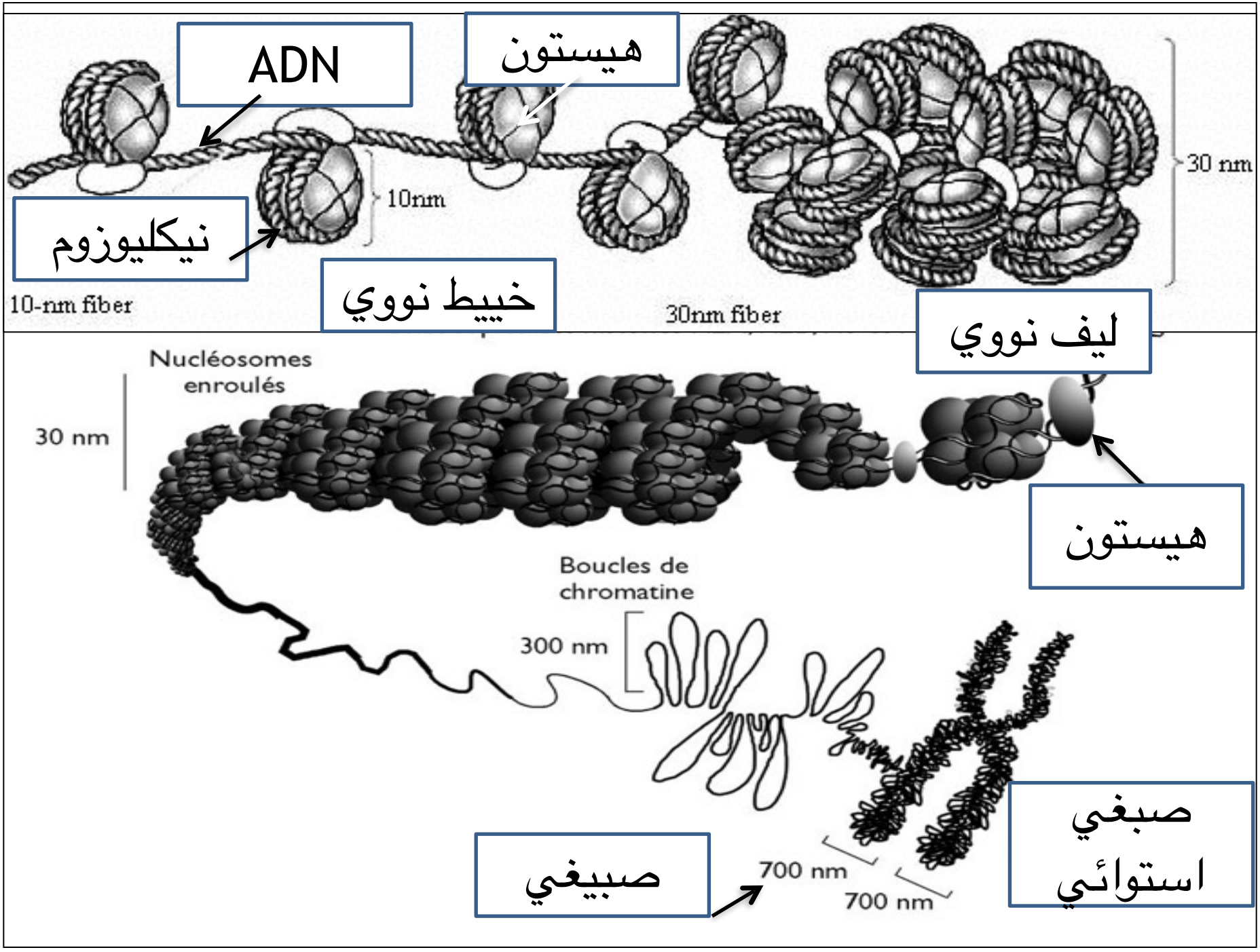

filaments
d'ADN
1 µm
x 200 000



ADN

ملاحظة بالمجهر الإلكتروني لخيطات [illegible] (خيطات أزيل تلولب بنيتها الأولي). تظهر الخيطات على شكل قلادة من اللآلئ .

G1


ADN
هيستون
نيكليوزوم
خييط نووي
10nm
30 nm
10-nm fiber
30nm fiber
ليف نووي
Nucléosomes enroulés
30 nm
هيستون
Boucles de chromatine
300 nm
صبغي استوائي
صبيغي
700 nm
700 nm

جزيئة ADN عبارة عن لولب مضاعف
قطره لا يتعدى 2 nm
لا توجد جزيئة ADN في حالة خالصة بل
هي دوما ملتفة عدة مرات حول بروتينات
تدعى هيستونات على شكل حبات متتالية
و مرتبطة تعطي "قلادة من اللآلئ"
تدعى نيكليوزومات و تكون خيطا نوويا
قطره 10nm .

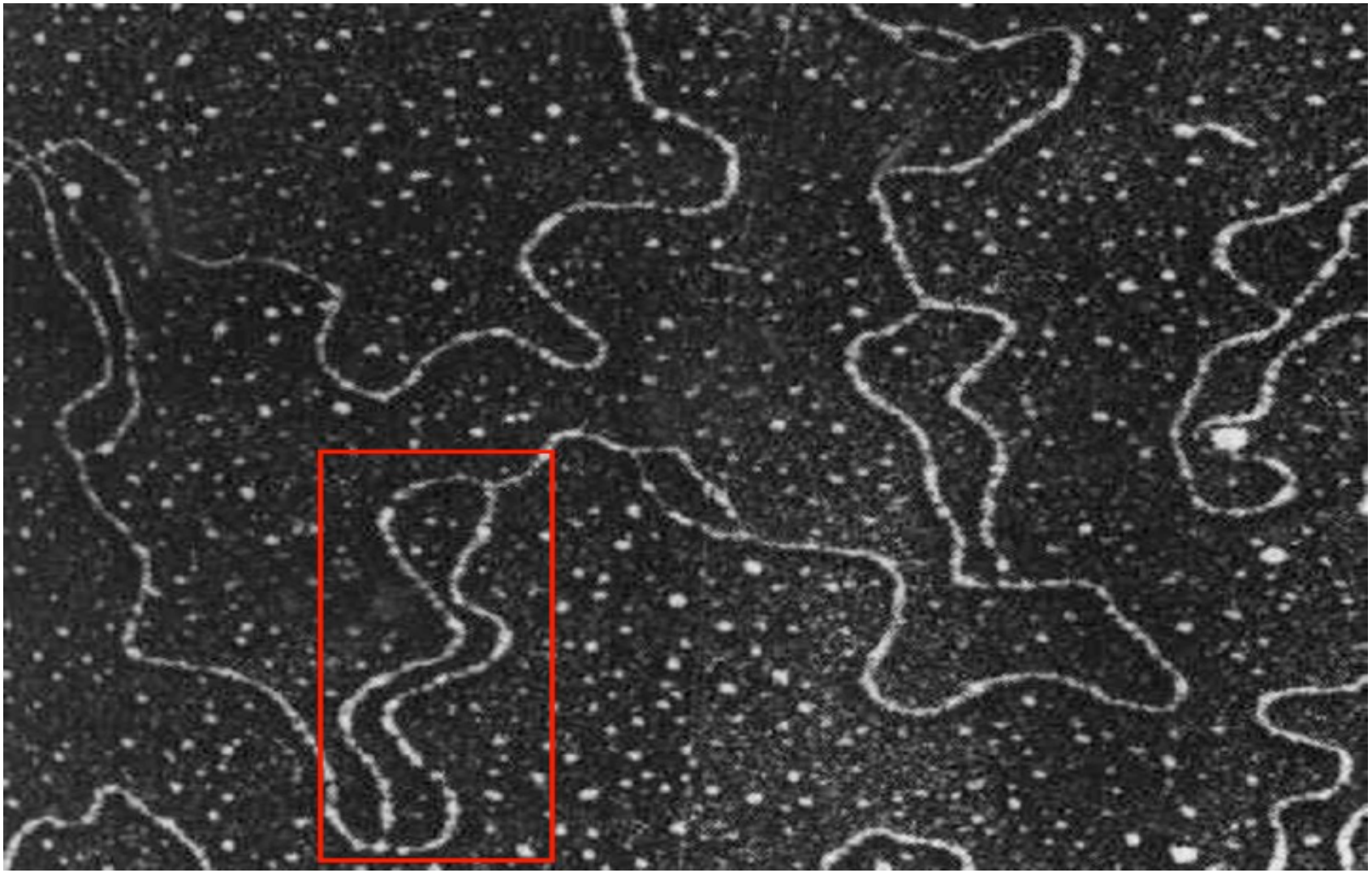
يتم التواء الخيط النووي على نفسه ليكون ليفا نوويا قطره 30nm يزداد تكدس الليف النووي على نفسه ليكون حلقات الصبغين (300nm) مجتمعة مكونة صبيغيا قطره 700nm .

في نهاية المرحلة الإستوائية يصل تكدس الصبيغيات مداه الأقصى حيث يتشكل كل صبغي من صبيغيين مرتبطين على مستوى الجزيئ المركزي. يصل قطر الصبغي في هذه

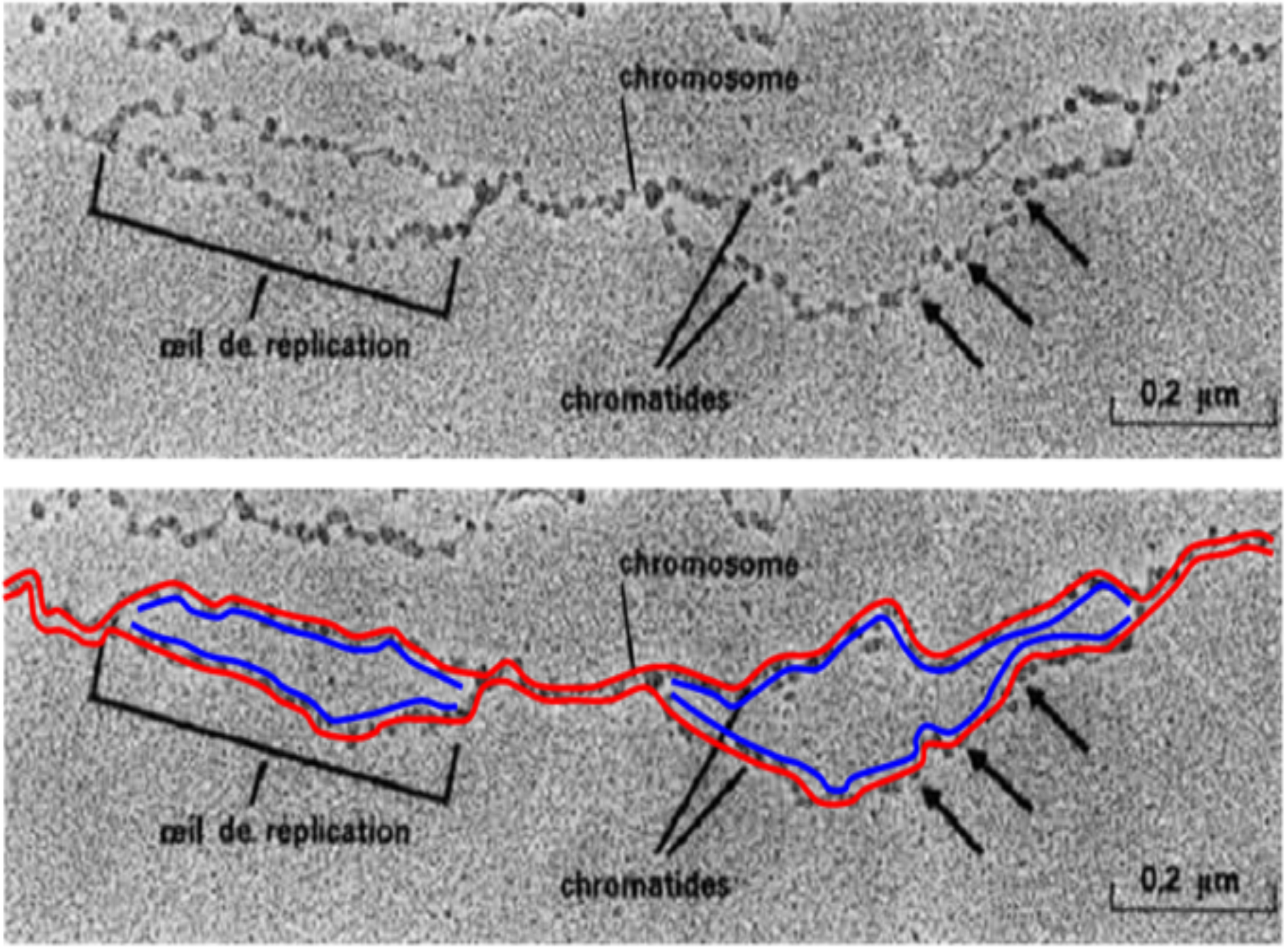
الصبغي :

الشكل الذي تأخذه الخيطات النووية (ADN و هيستونات) عندما تتلولب.

ADN - آلية مضاعفة جزيئةIII



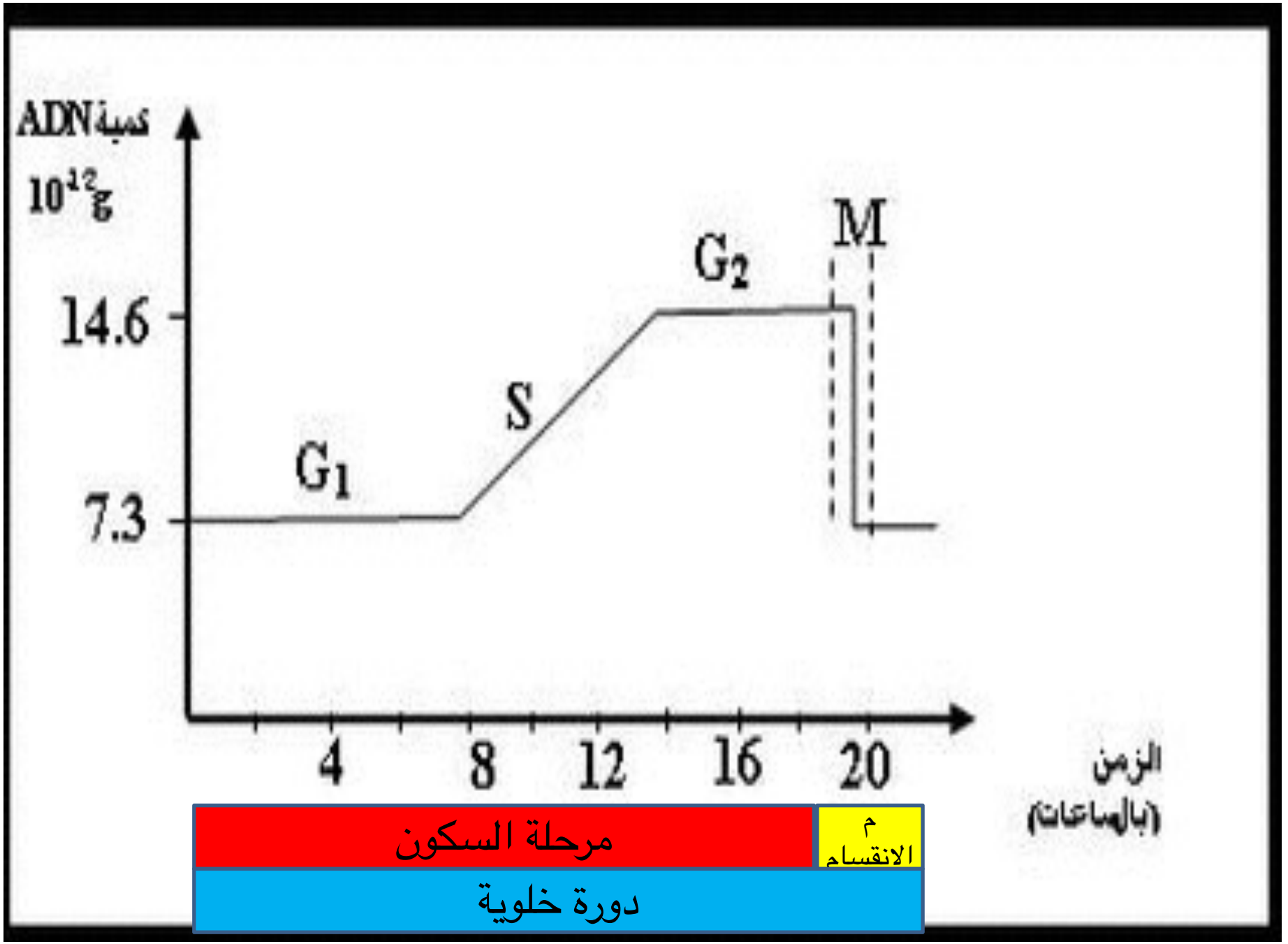
S


chromosome
œil de réplication
chromatides
0,2 µm
chromosome
œil de réplication
chromatides
0,2 µm

يخضع الخيط النووي للتضاعف في مستوى عيون النسخ و ذلك أثناء مرحلة السكون و بالضبط فترة التركيب S .

ينتج عن هذا التضاعف خيطان نوويان .

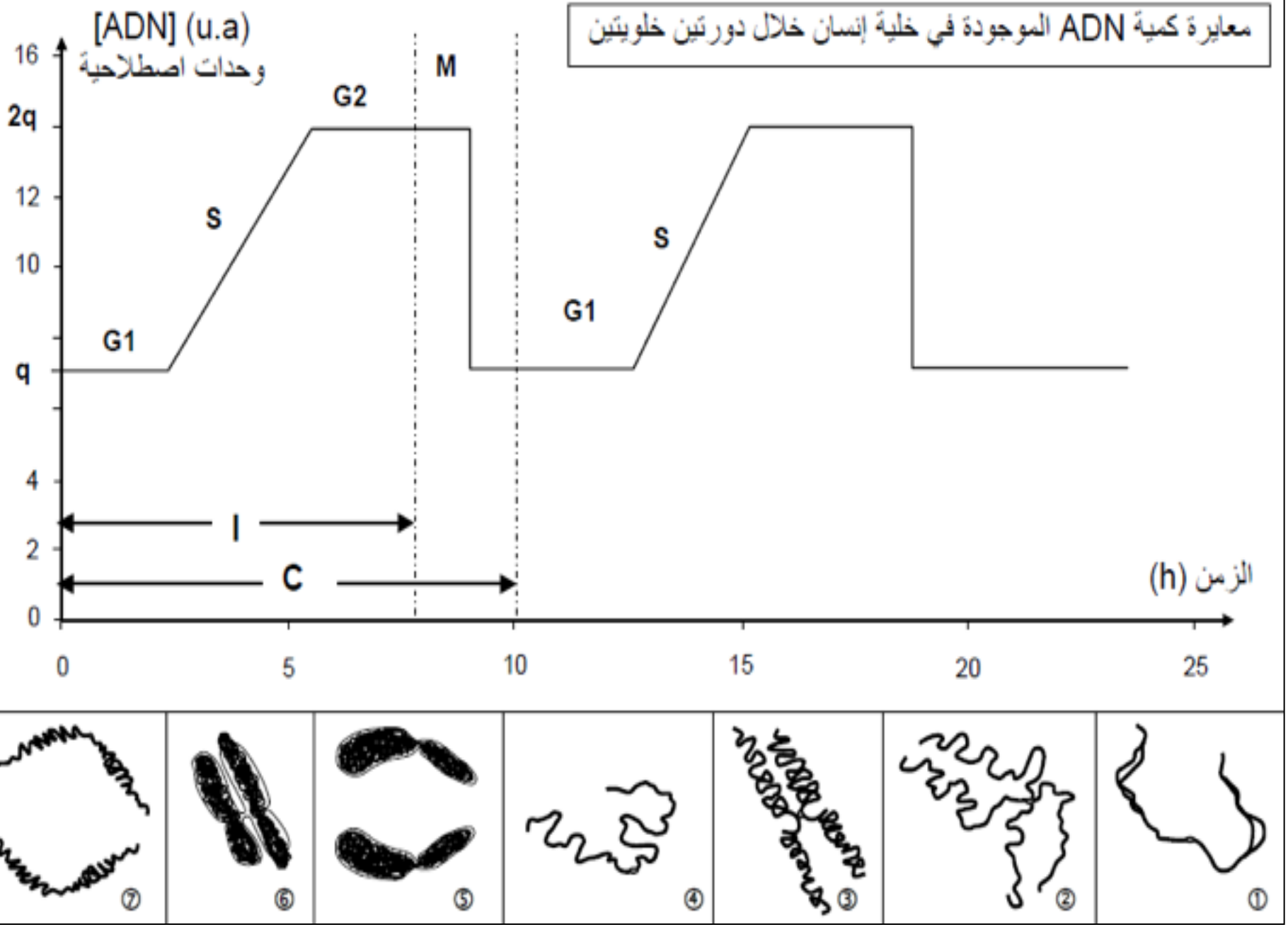
1 - تطور كمية ADN في نواة خلية خلال دورة خلوية


كمية ADN
10^{-12}g
14.6
7.3
G_1
S
G_2
M
4
8
12
16
20
الزمن
(بالساعات)
مرحلة السكون
م
الانقسام
دورة خلوية

خلال دورة خلوية تتطور كمية ADN كما يلي :

- خلال G1 تبقى كمية ADN تابثة في القيمة q
- خلال S تتضاعف كمية ADN بشكل تدريجي حيث تنتقل من q الى 2q
- خلال G2 تبقى كمية ADN تابثة في 2q
- خلال مرحلة الإنقسام غير المباشر و بالضبط أثناء الطور الإنفصالي تعود كمية ADN الى الكمية q بشكل سريع .

معايرة كمية ADN الموجودة في خلية إنسان خلال دورتين خلويتين



حصيلة:

خلال طور السكون تتضاعف كمية ADN ويتضاعف الخيط النووي.
خلال الإنقسام غير المباشر تتقلص كمية ADN بالنصف كما يعطي كل صبغي صبغيين ابنين بعد انشطار الجزيئ المركزي .

ملخص

الدورة الخلوية :

تطور كمية ADN وتغير شكل الصبغيات أثناء مرحلة السكون

الفترة G1 كمية ADN تابثة و خييطات نووية غير مضاعفة

الفترة S كمية ADN في تصاعد و ظهور عيون النسخ

الفترة G2 كمية ADN مضاعفة و خييطات نووية مضاعفة

أطوار الإنقسام غير المباشر و خصائصها

الطور التمهيدي : صبغيات مضاعفة مع تكون مغزل الإنقسام

الطور الإستوائي : تموضع الصبغيات في خط استواء الخلية

الطور الإنفصالي: انشطار الجزيئ المركزي و انفصال صبيغيي كل صبغي نتيجة الهجرة القطبية.

- الطور النهائي: تفقد الصبغيات تلولبها و تتحول الى صبغين مكون من خيطات نووية ويظهر الغشاء

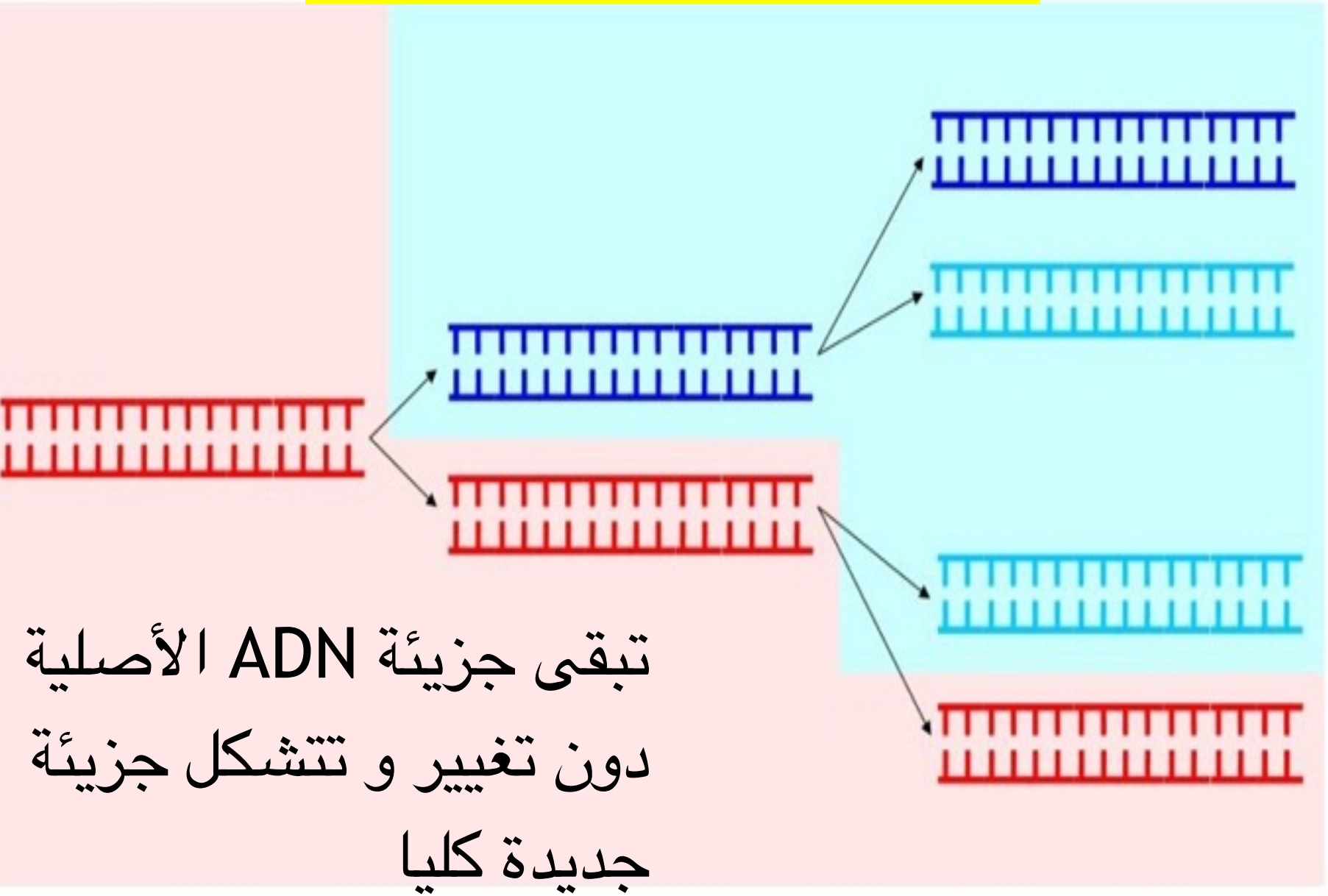
تباث عدد الصبغيات خلال تعاقب السكون و الإنقسام غير المباشر:

تمكن مرحلة السكون من تضاعف عدد الصبغيات الذي يصاحبه تضاعف كمية ADN.

و يمكن الإنقسام غير المباشر من توزيع الصبغيات بالتساوي على الخليتين البنتين بحيث تحتوي كل واحدة منهما على نفس

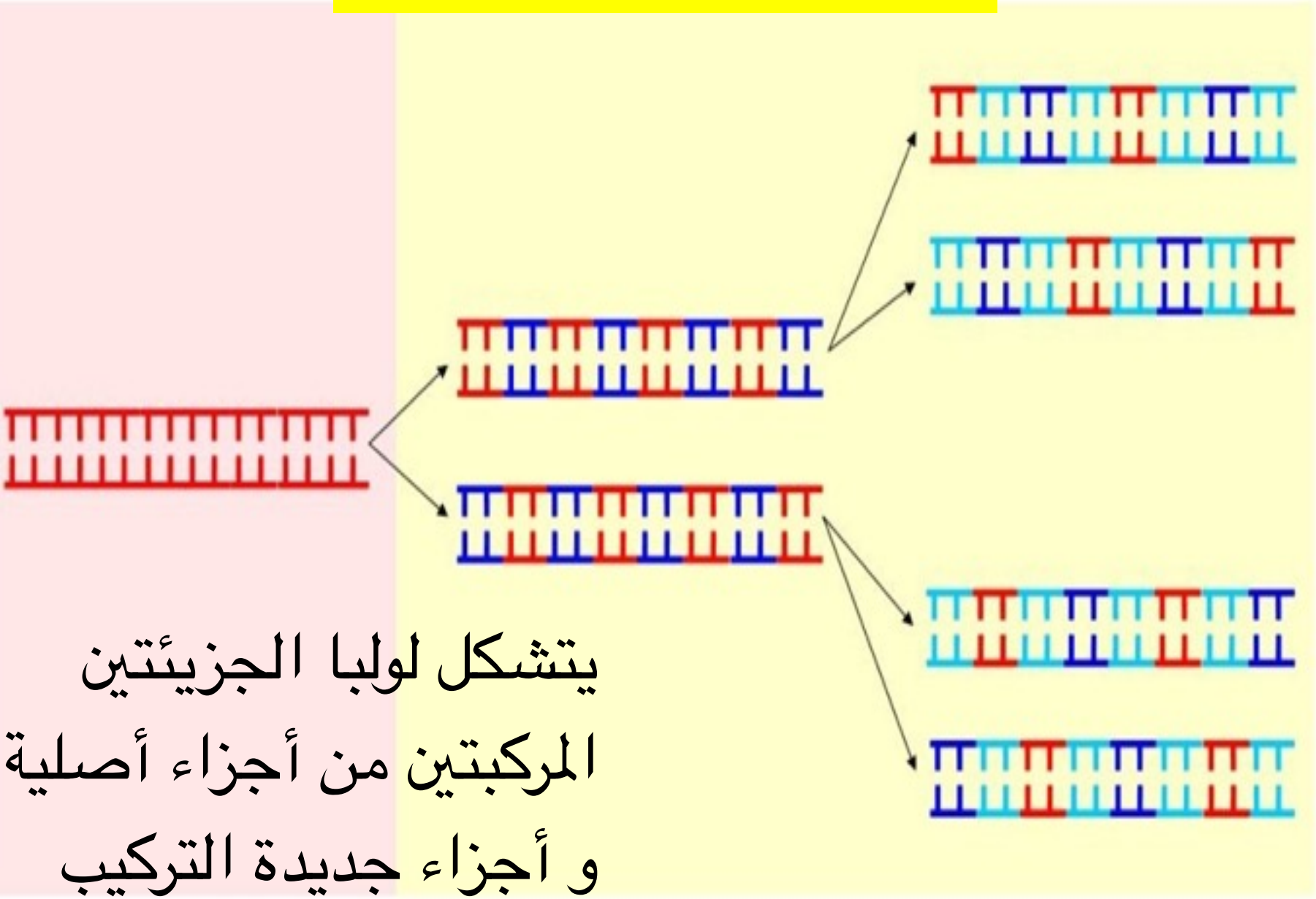
2 – مضاعفة ADN

الفرضية1: نموذج محافظ



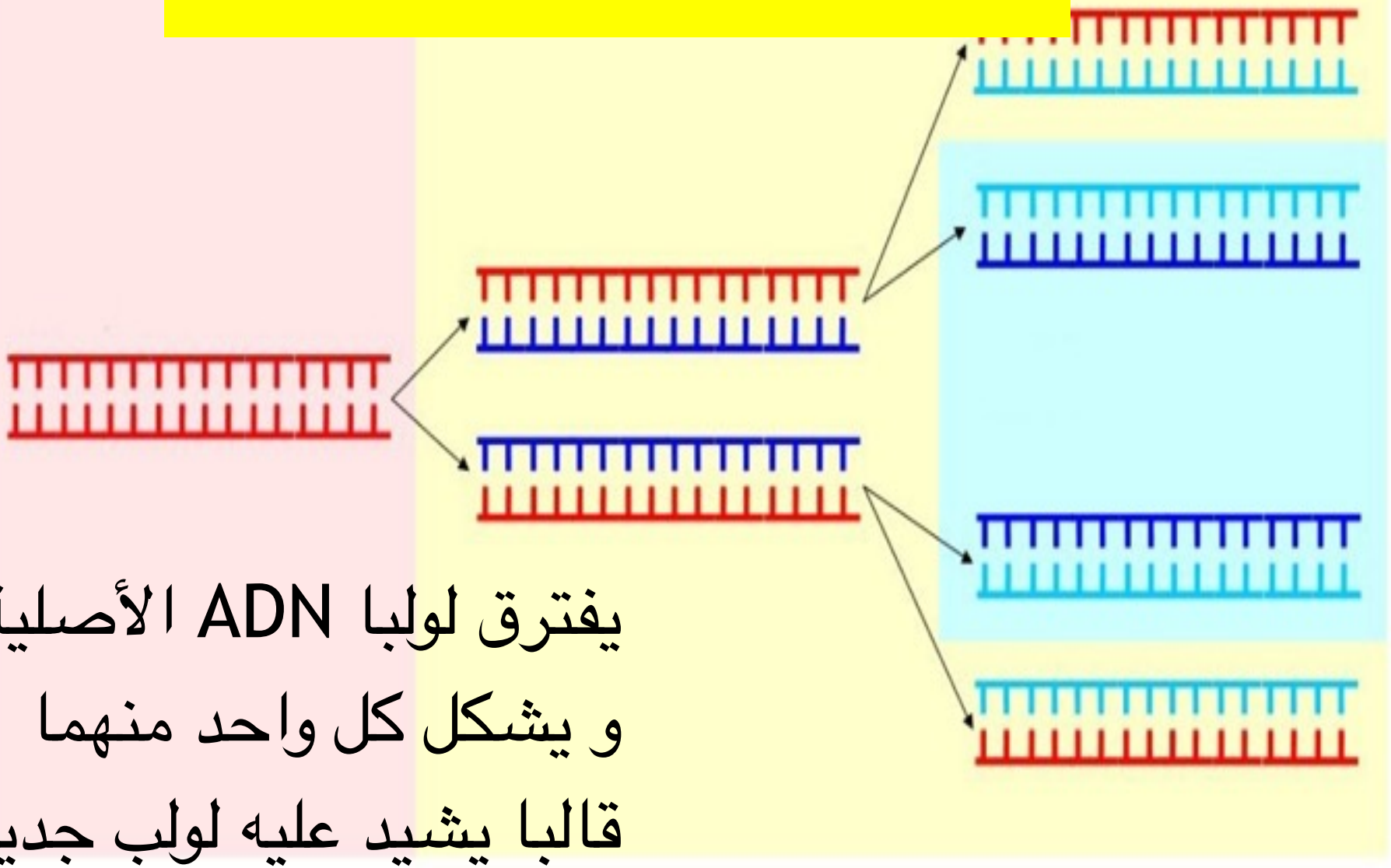
تبقى جزيئة ADN الأصلية
دون تغيير و تتشكل جزيئة
جديدة كليا

الفرضية2: نموذج تبددي



يتشكل لولبا الجزيئتين
المركبتين من أجزاء أصلية
و أجزاء جديدة التركيب

الفرضية3: نموذج نصف محافظ



يفترق لولبا ADN الأصلية
و يشكل كل واحد منهما
قالبا يشيد عليه لولب جديد

2-1 تجربة Meselson -sthal

(أ) مبدأ التجربة

1
زرع بكتيرية *E.coli*
في وسط به آزوت ثقيل ^{15}N
استخلاص ADN بواسطة النبذ السريع
رصد ADN بالأشعة فوق البنفسجية
كثافة ADN = 1.724

2
زرع بكتيرية *E.coli*
في وسط به آزوت خفيف ^{14}N
استخلاص ADN بواسطة النبذ السريع
رصد ADN بالأشعة فوق البنفسجية
كثافة ADN = 1.710

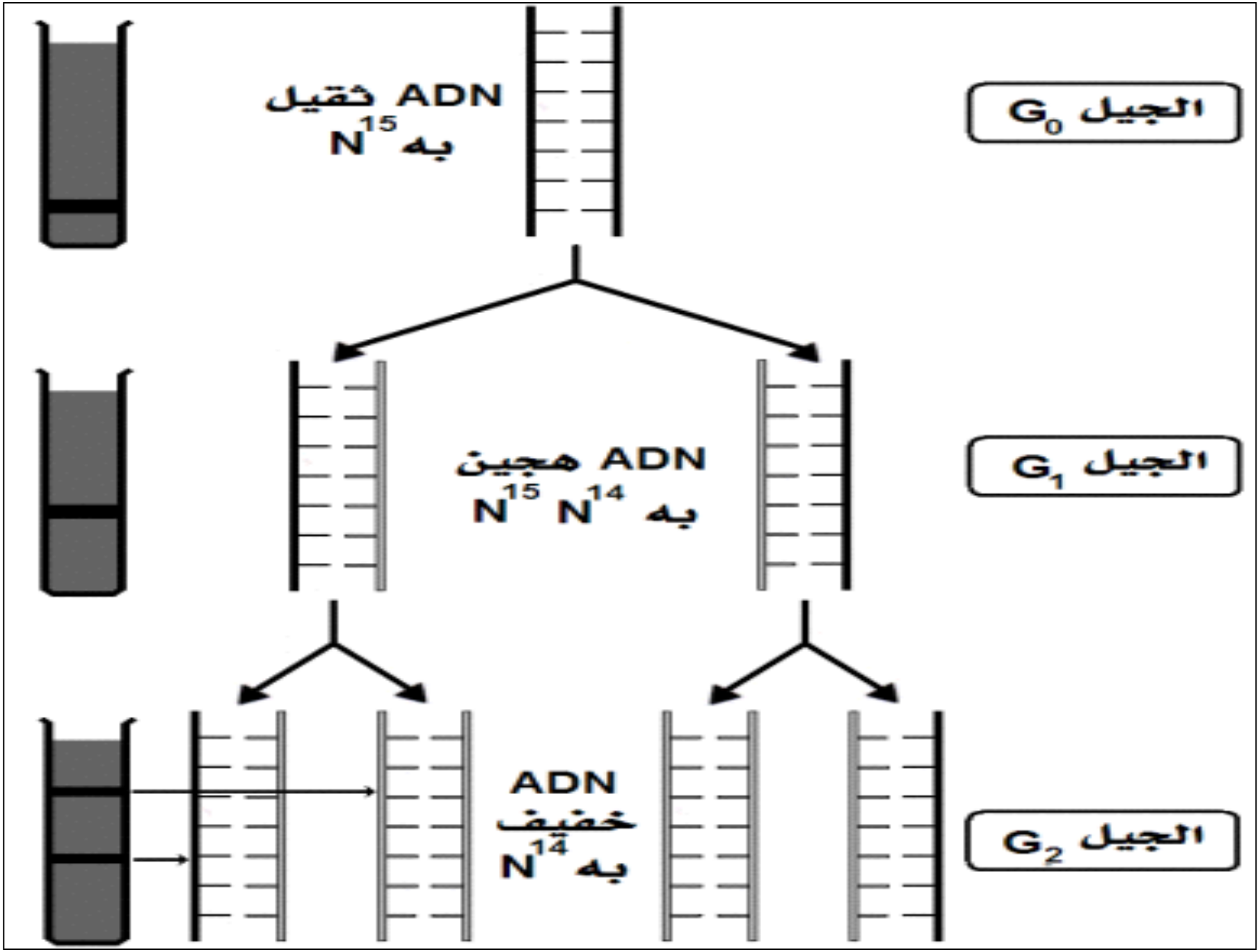
(ب) ظروف ونتائج تجربة

التجربة
بكتيريات في وسط
زرع به آزوت ثقيل ^{15}N
قياس كثافة ADN
نقل البكتيريات
وسط زرع به
آزوت خفيف ^{14}N
قياس كثافة ADN بعد دورة خلوية
قياس كثافة ADN بعد دورتين خلويتين

النتائج
الكثافة
1,710
1,717
1,724
كثافة ADN الجيل G_0
كثافة ADN الجيل G_1
كثافة ADN الجيل G_2

نلاحظ أن :

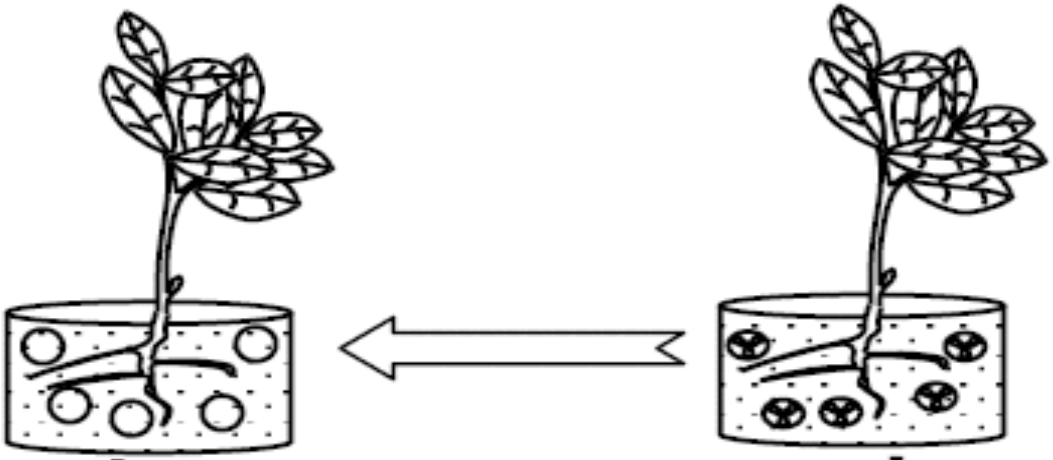
- خلايا الجيل G0 تتكون من ADN الثقيل N15
- خلايا الجيل G1 تتكون من ADN الهجين N15 - N14
- خلايا الجيل G2 تضم ADN الهجين و ADN الخفيف N14 - N14


ADN ثقيل
به N^{15}
الجيل G_0
ADN هجين
N^{15} N^{14} به
الجيل G_1
ADN
خفيف
به N^{14}
الجيل G_2

2-2 تجربة TAYLOR

نقل نبيتة فول من وسط عادي إلى وسط غني بالتيميدين (T) المشع لمدة دورة خلوية واحدة

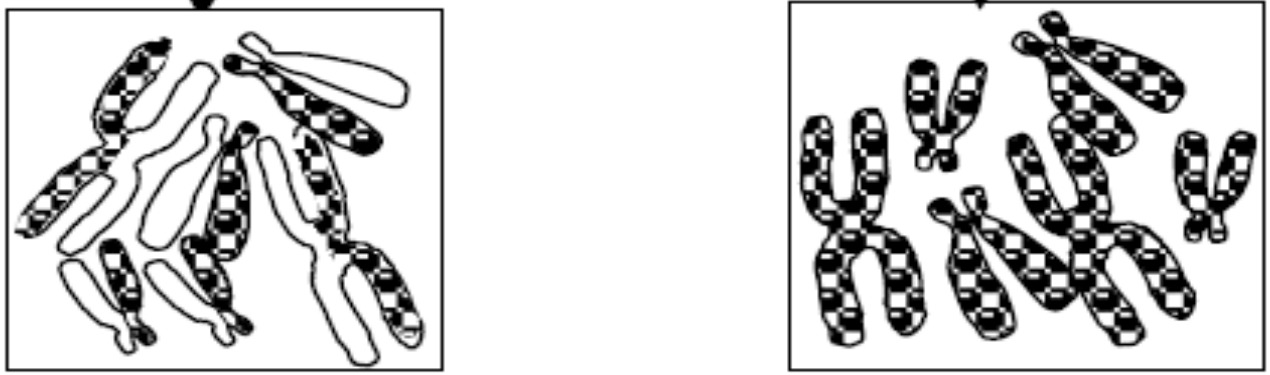
نقل نبيتة الفول من جديد إلى وسط غني بالتيميدين (T) غير المشع لمدة دورة خلوية واحدة



التيميدين المشع

التيميدين غير المشع

ملاحظة الصبغيات الاستوائية لخلايا الجذور



إشعاع

أثناء الدورة الخلوية الأولى

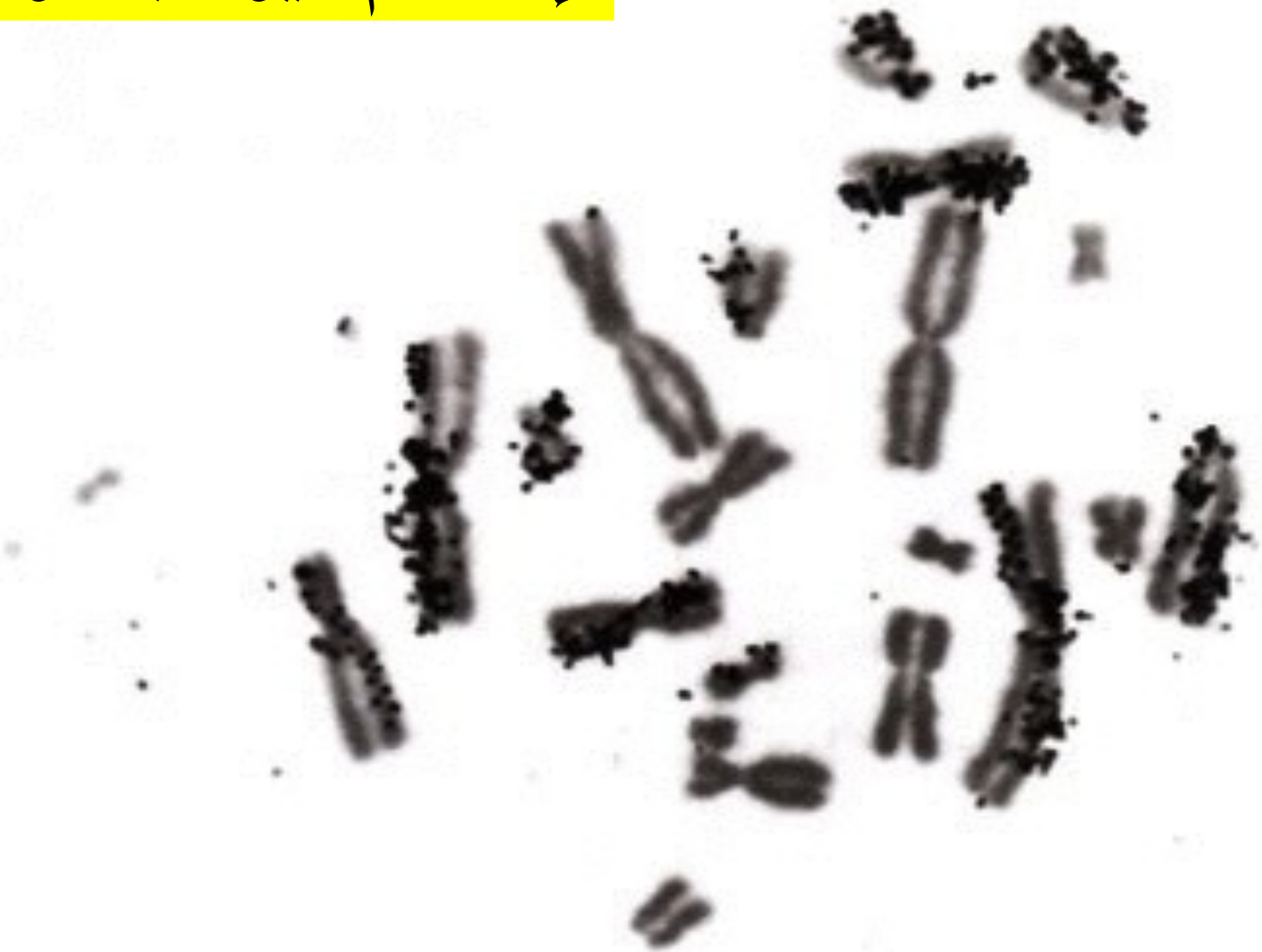
أثناء الدورة الخلوية الثانية

الوثيقة 1

الإنقسام غير المباشر1

الإنقسام غير المباشر2

الإنقسام غير المباشر3



- زرع نبتة عادية في وسط غني بالتيميدين مشع
- إدماج التيميدين مشع في ADN خلال مضاعفته
- يصبح نصف كل جزيئة ADN مشعا وتظهر الصبغيات مكونة من صبيغيين مشعين في الدورة الخلوية الأولى
- نقل النبتة الى وسط عادي ثم إدماج التيميدين غيرمشع خلال مضاعفة ADN في الدورة الخلوية الثانية وتشكل جزيئتين من ADN واحدة تتكون من لولبين غير مشعين و الثانية بها لولب عادي ولولب مشع : تظهر الصبغيات نصف مشعة

تفسر هذه النتائج بكون مضاعفة ADN تحدث من خلال افتراق اللولبين الأصليين ويتم بناء لولب جديد مقابل كل لولب قديم.

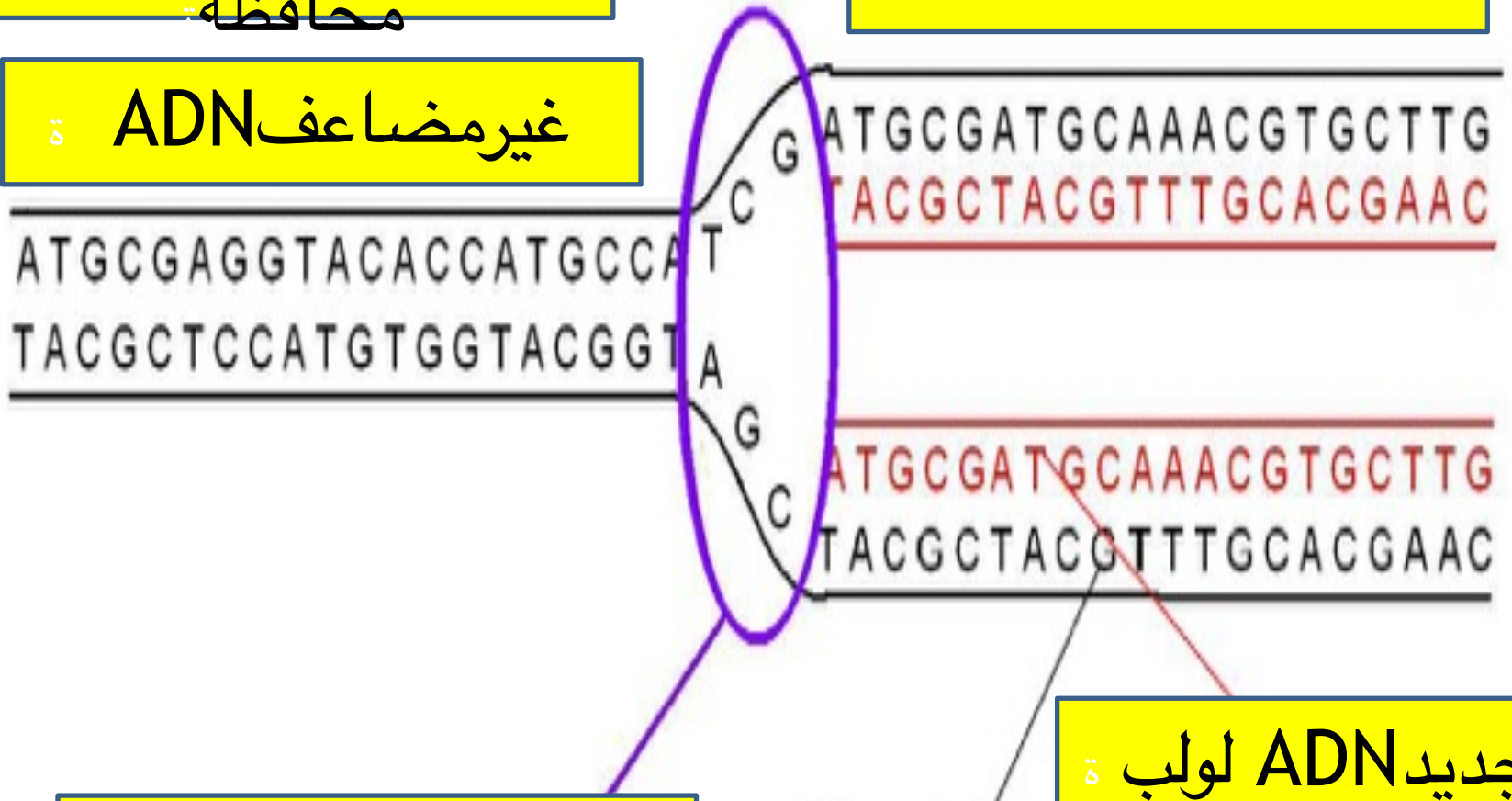
نتكلم عن مضاعفة نصف

3 - آلية مضاعفة ADN

مضاعفة نصف محافظة

مضاعفة ADN

غير مضاعفة ADN



جديد ADN لولب

بوليميراز ADN

قديم ADN لولب

250-1000 قاعدة في الثانية

تحت تأثير أنزيم يدعى هيليكاز يفترق لولبا جزيئة ADN و ذلك بقطع الروابط الهيدروجينية بين القواعد الآزوتية حيث تظهر مناطق افتراق اللولبين على شكل عيون النسخ.

بتدخل أنزيم يدعى ADN بوليميراز
تتم البلمرة التدريجية للنيكليوتيدات
حيث يستعمل كل شريط قديم لبناء
شريط جديد و ذلك مع احترام
تكامل القواعد الآزوتية مع تلك
المتواجدة في اللولب الأصلي .

بوليميراز: ADN

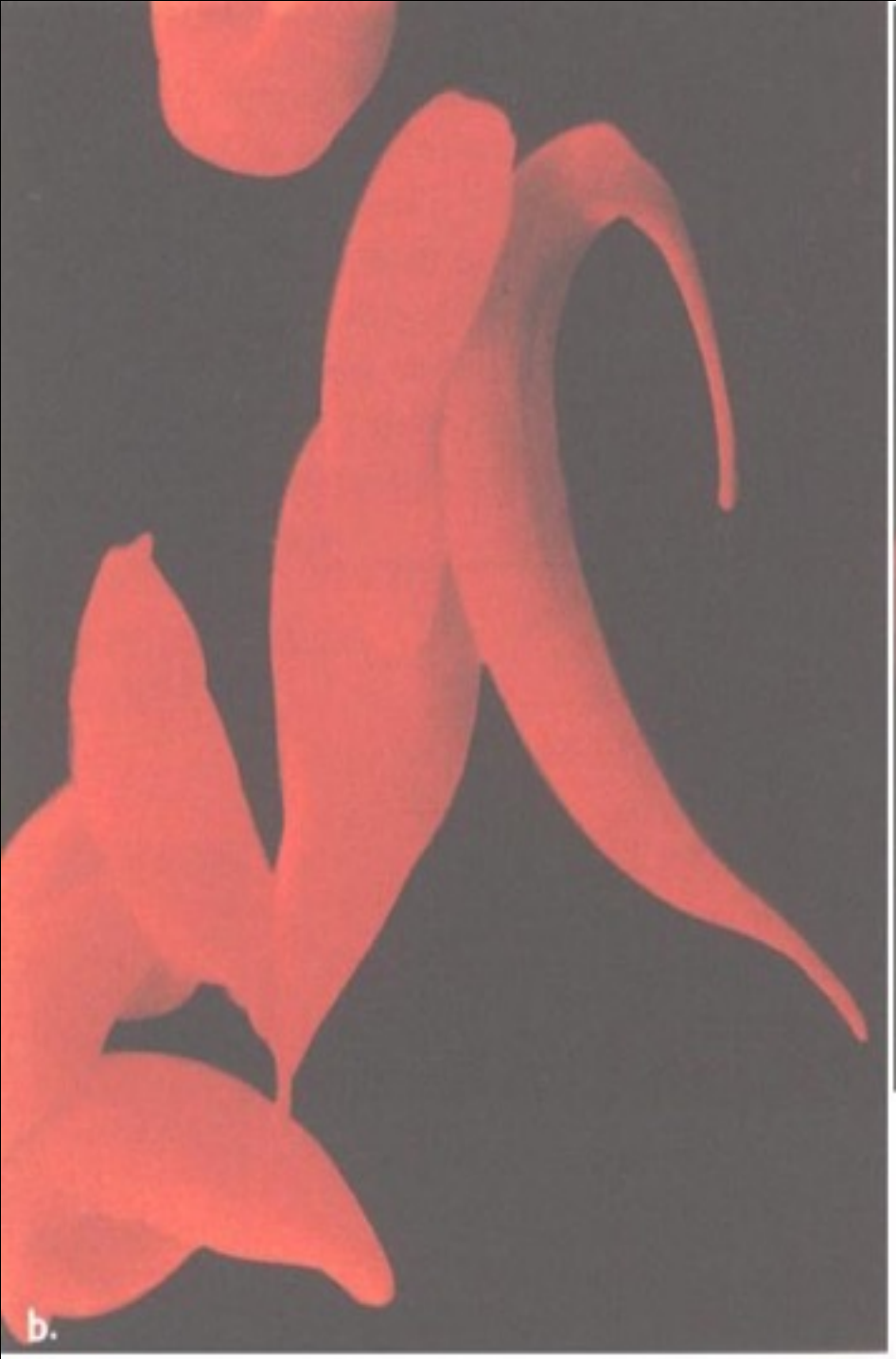
مركب أنزيمي يعمل على تركيب لولب جديد اعتمادا على اللولب القديم لجزيئة ADN دائما في الإتجاه 5’ 3’

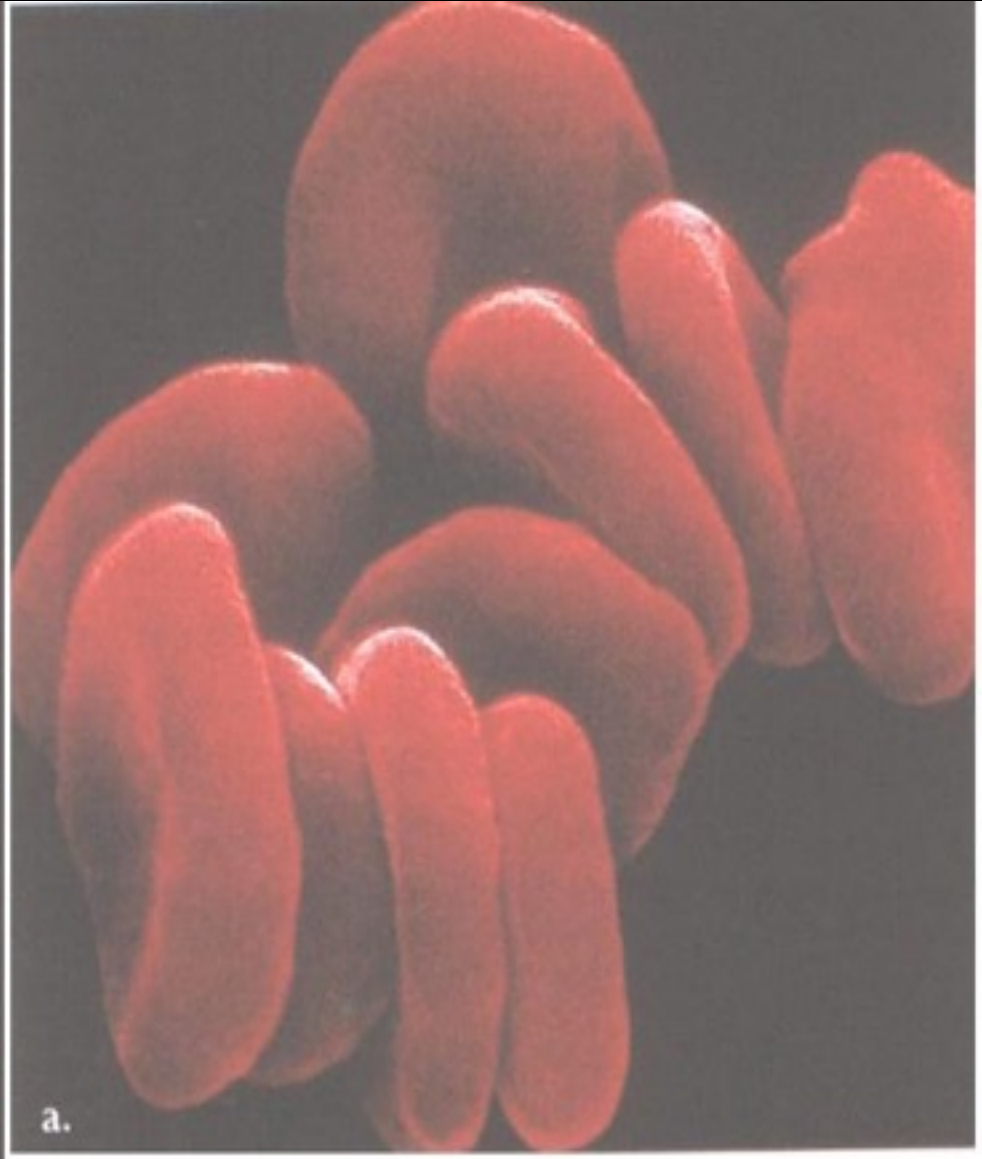
الفصل2 : تعبير الخبر الوراثي

I- العلاقة صفة - بروتين - مورثة

1- العلاقة صفة - بروتين

1-1 فقر الدم المنجلي



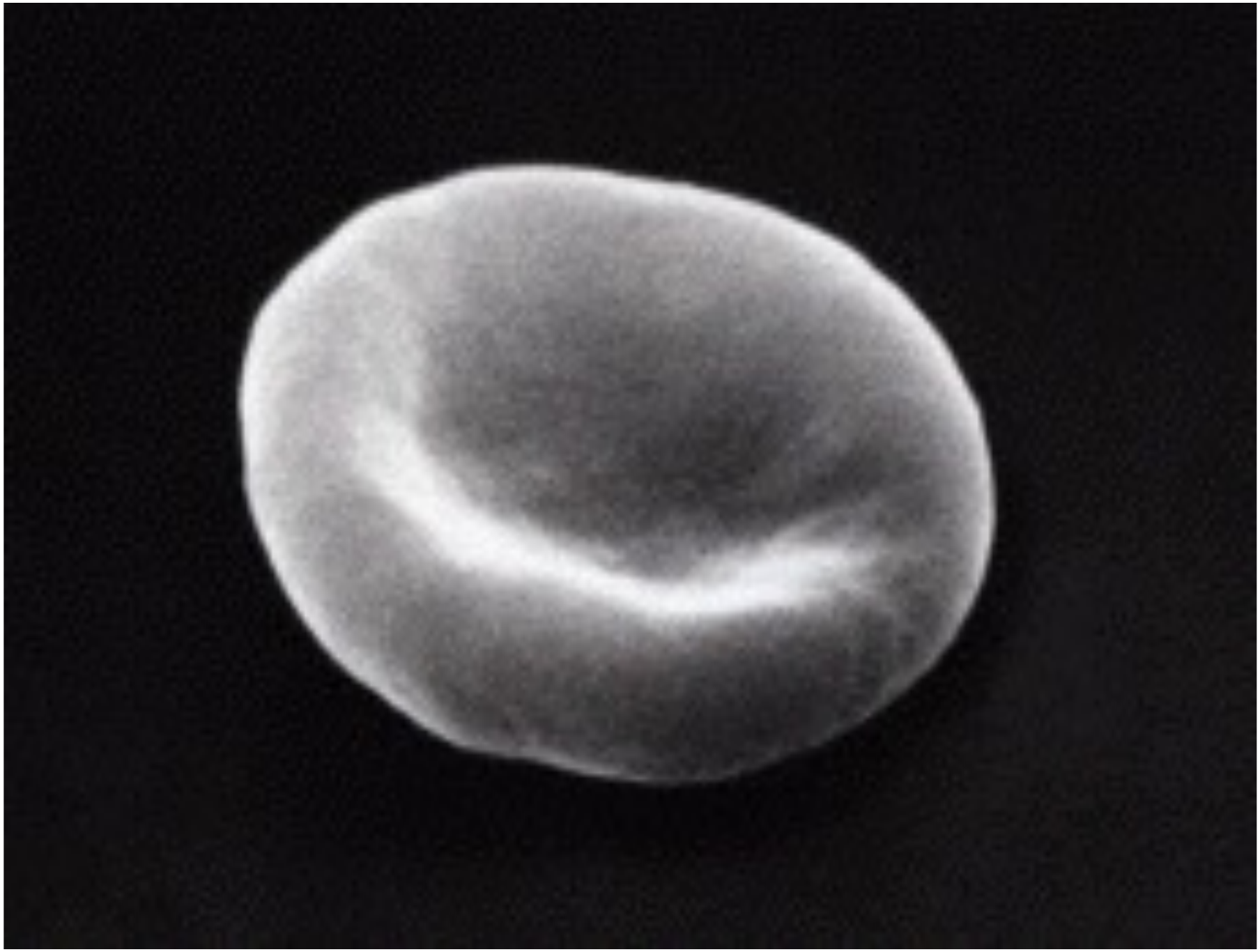


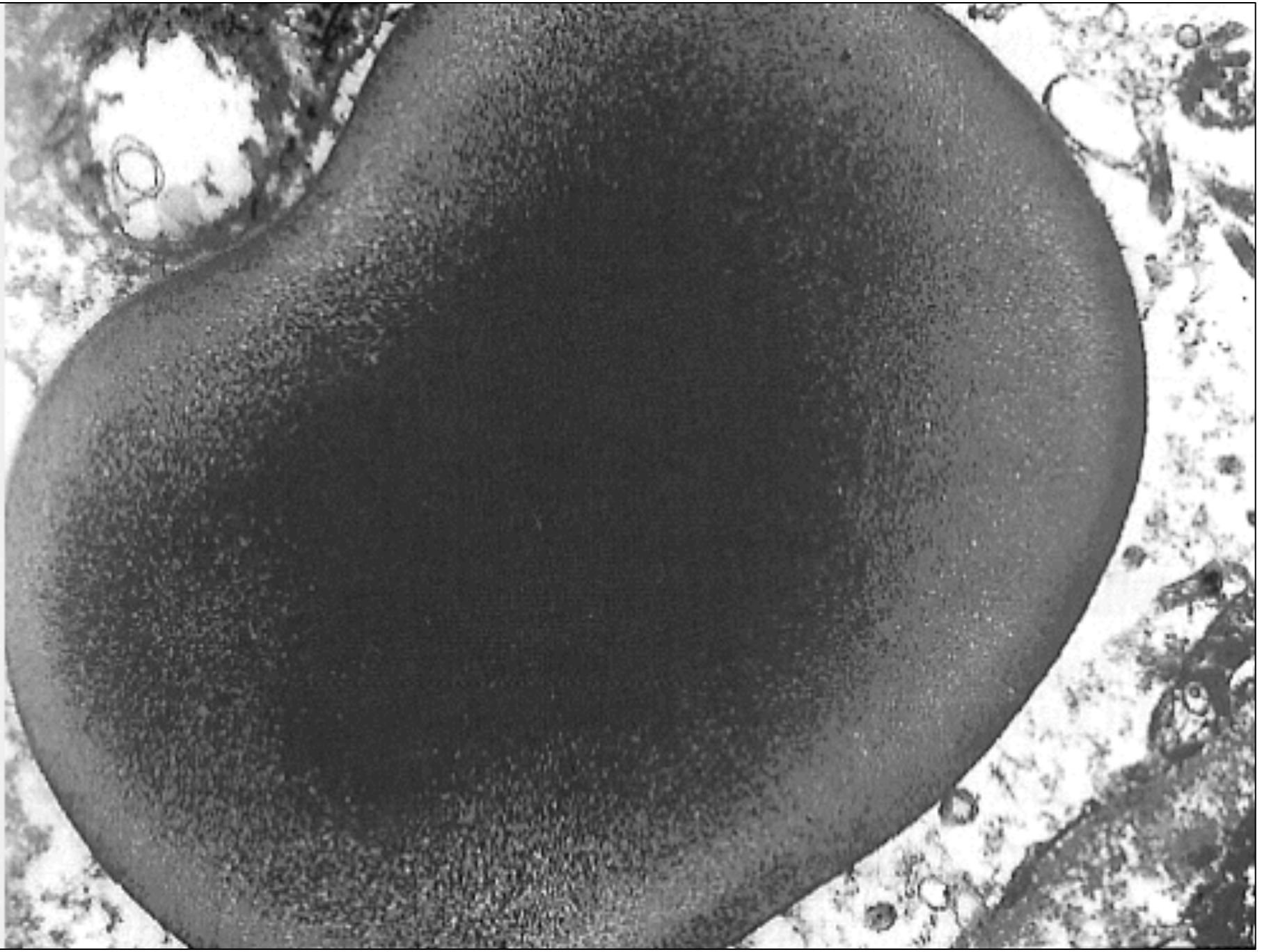
a كريات حمراء عادية

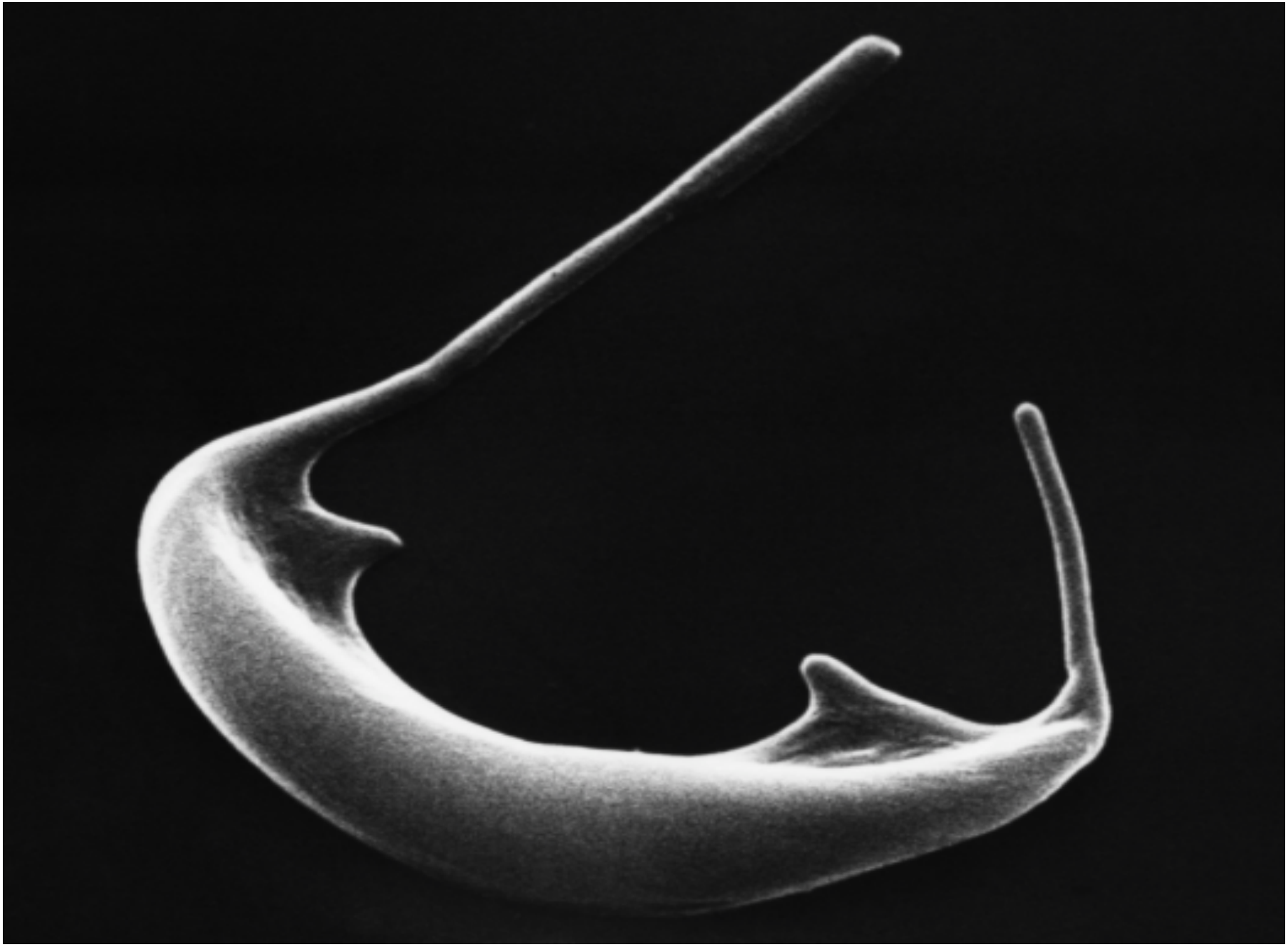
b كريات حمراء منجلية الشكل : فقر الدم المنجلي

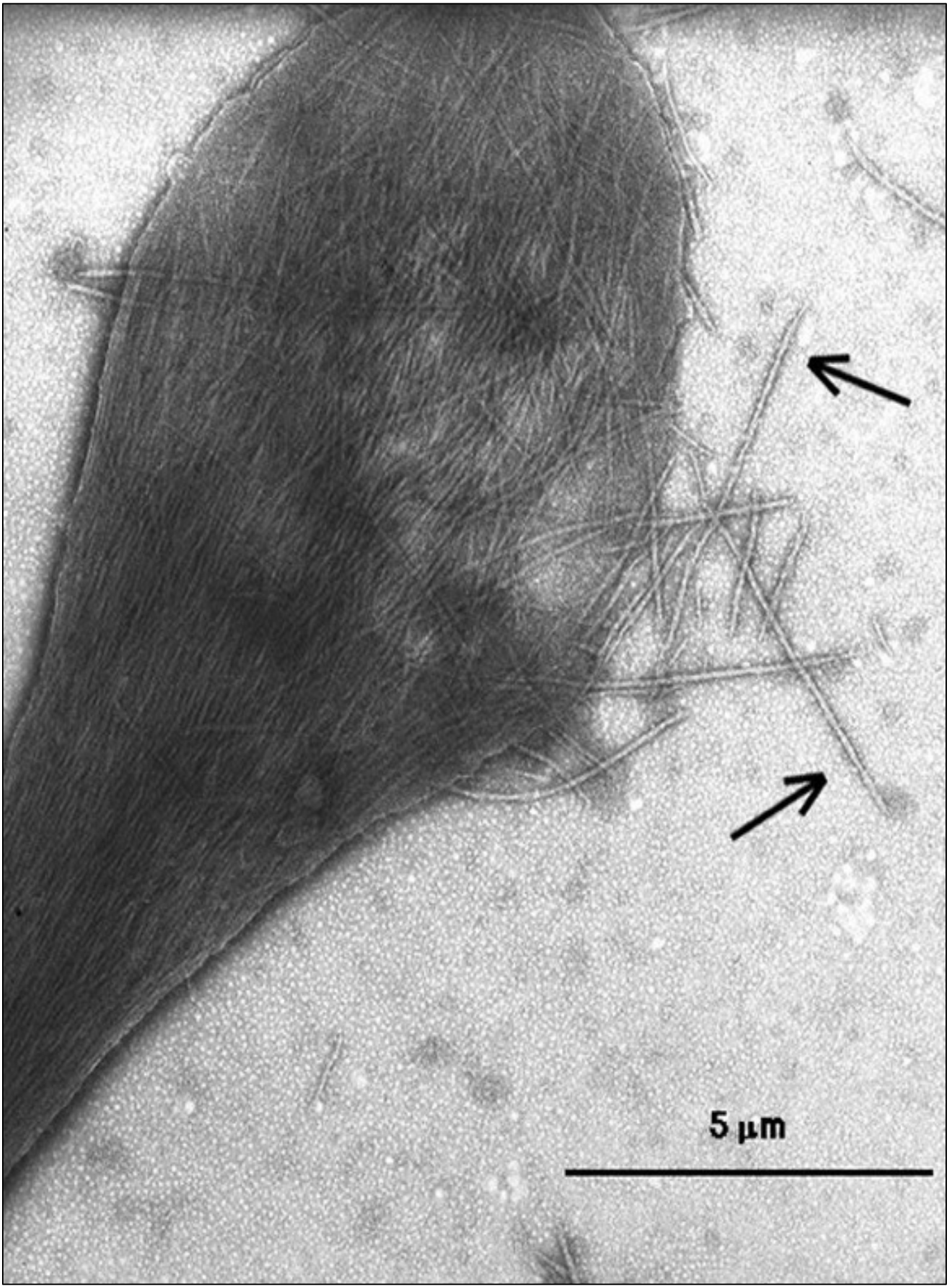
1- تتميز الكريات الحمراء عند شخص عادي بشكل كروي مما يسمح بعدم انسداد الشعيرات الدموية و نقل الدم بسهولة .

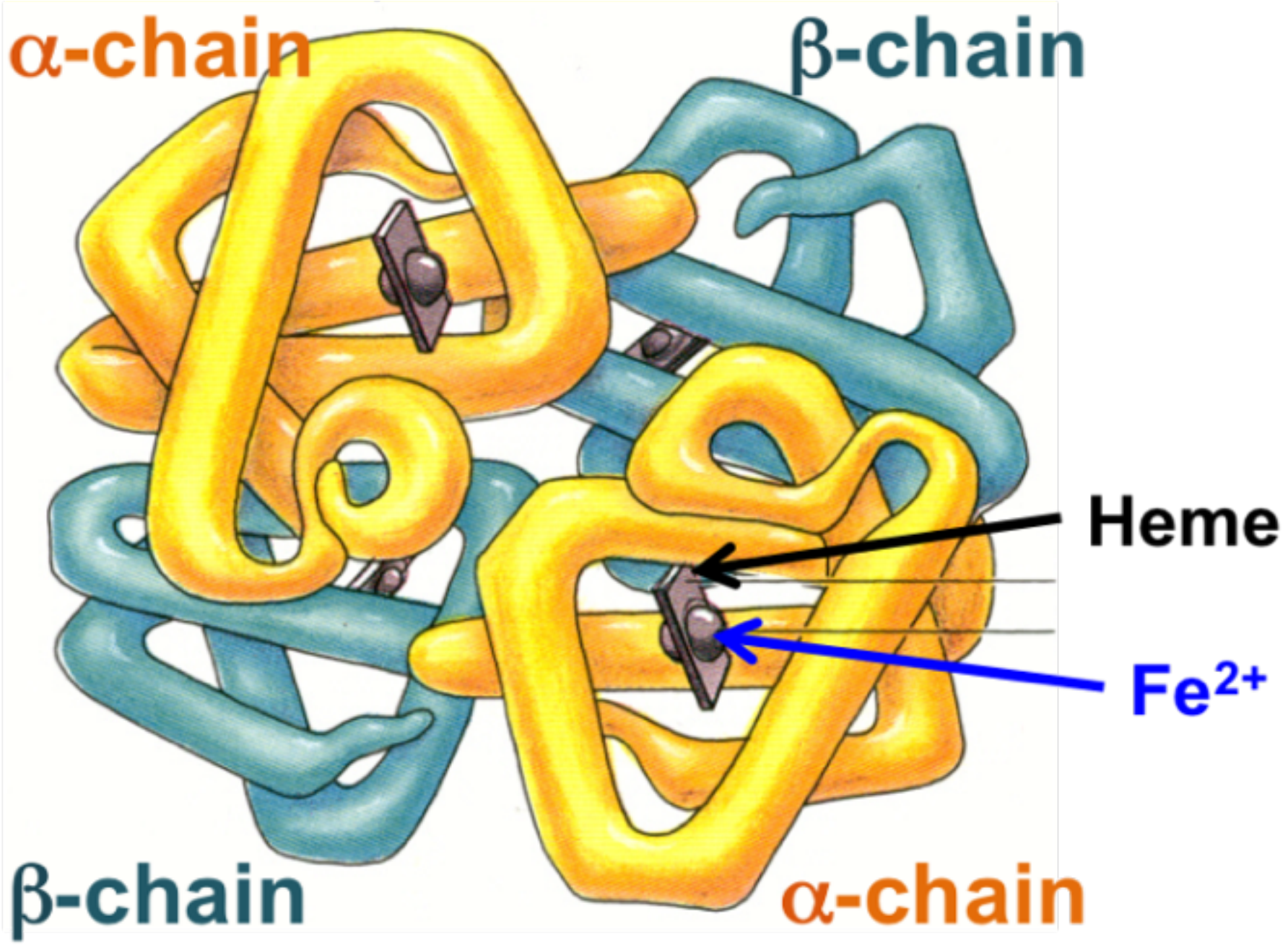
تتميز الكريات الحمراء عند شخص مصاب بفقر الدم المنجلي بشكل منجلي مما يسبب انسداد الشعيرات الدموية و نقل الدم بصعوبة .

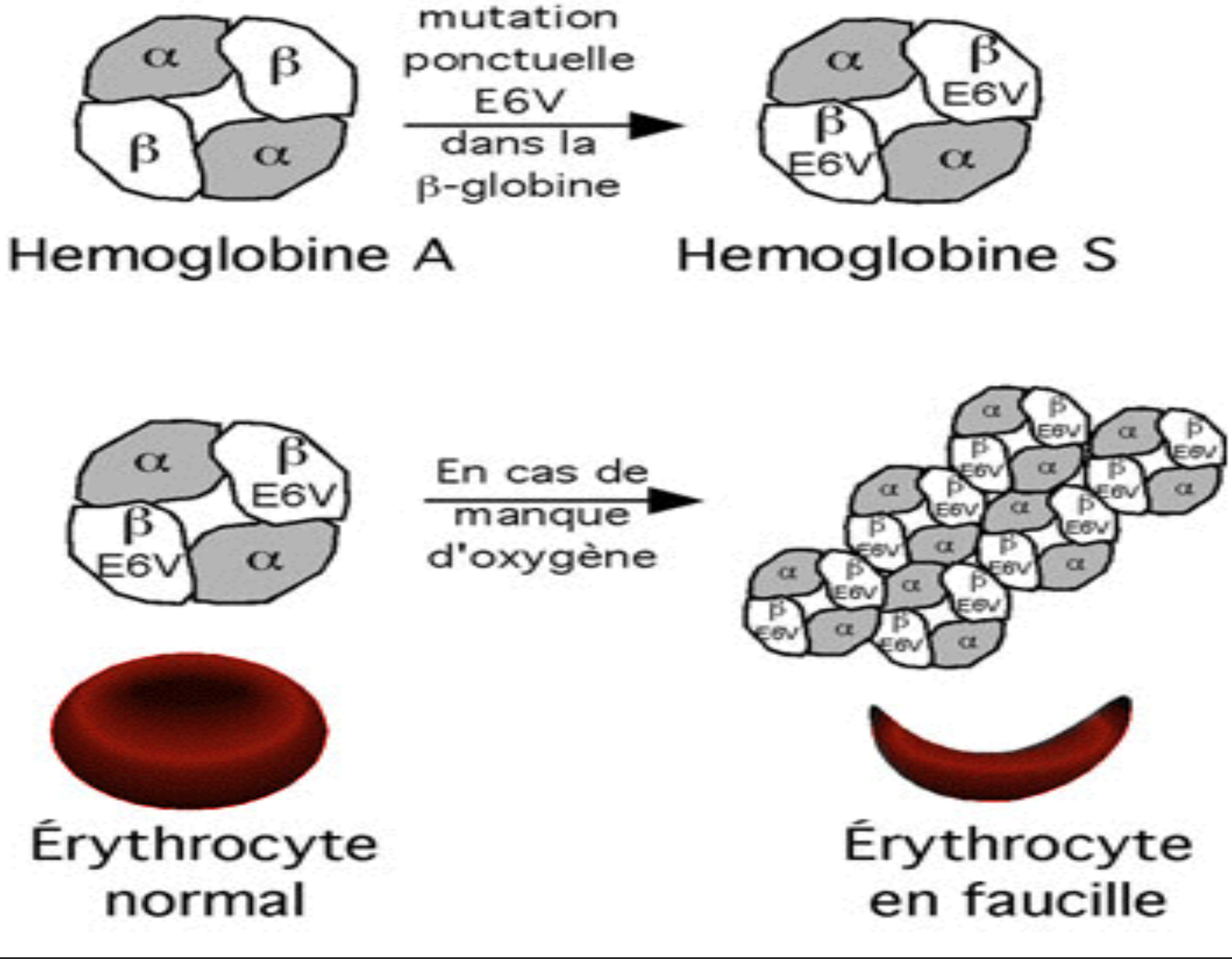







5 µm


α-chain
β-chain
Heme
Fe2+
β-chain
α-chain


α
β
β
α
mutation ponctuelle E6V dans la β-globine
α
β E6V
β E6V
α
Hemoglobine A
Hemoglobine S
α
β E6V
β E6V
α
En cas de manque d'oxygène
Érythrocyte normal
Érythrocyte en faucille

2-

تحتوي الكريات الحمراء على بروتين يتكون من سلسلتينα و β يدعى خضاب دموي:

-خضاب دموي HbA ذائب في سيتوبلازم الكريات الحمراء مما يعطيها شكلا كرويا .

- خضاب دموي HbS على شكل إبر في سيتوبلازم الكريات الحمراء مما يشوه شكلها فتصبح منجلية .

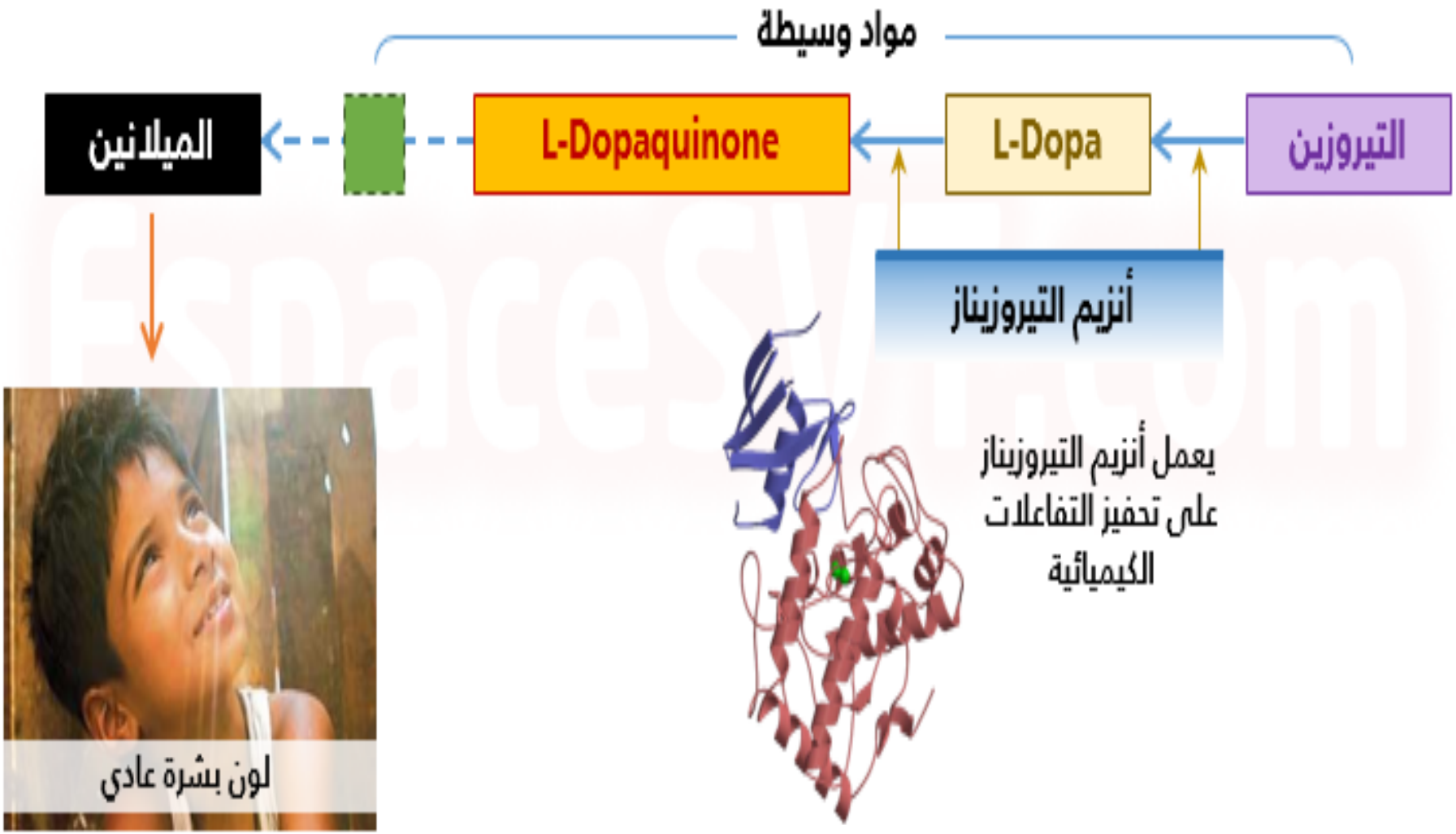
.

استنتاج:

هناك علاقة بين شكل الكريات الحمراء و هي صفة وراثية و البروتين و هو الخضاب الدموي

2-1 لون البشرة

رسم تفسيري يوضح العناصر المتدخلة في تركيب الميلانين



لون البشرة صفة وراثية مرتبطة بوجود صبغة الملانين في الجلد. في حالة المهق أي غياب اللون (صفة وراثية) تكون صبغة الميلانين منعدمة .

تركيب الملانين مرتبط بسلسلة من التفاعلات البيوكيميائية التي تحول التيروزين(حمض أميني) الى ميلانين بتدخل أنزيم يحفز التفاعلات و هو تيروزيناز(بروتين).

يتسبب غياب أو خلل في التيروزيناز الى الإصابة بالمهق: هناك علاقة بين الصفة و البروتين.

تعريف الصفة الوراثية :

هي ميزة نوعية أو كمية تنتقل عبر الأجيال و تميز فردا عن باقي أفراد نوعه .

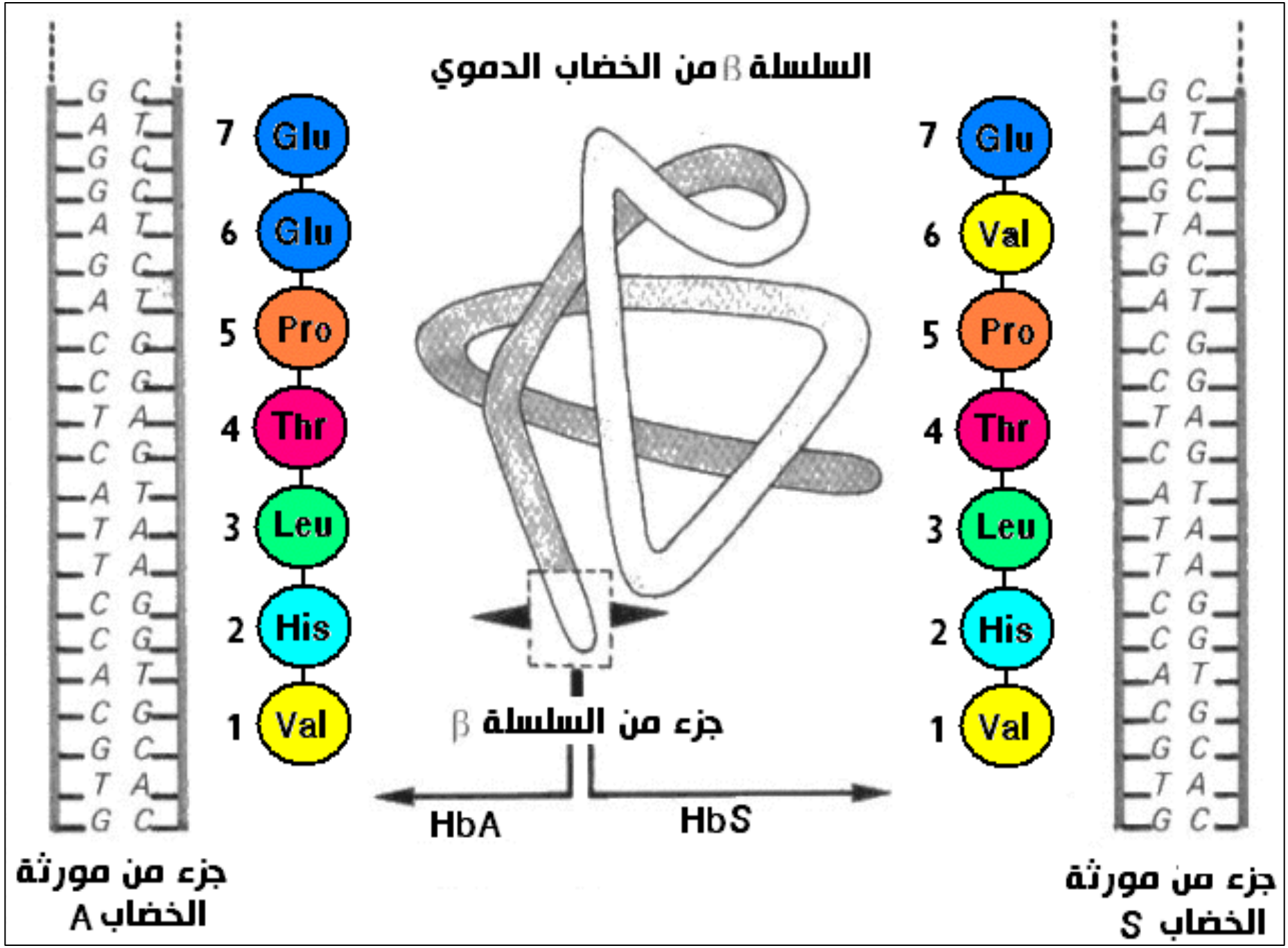
المظهر الخارجي هو:

مجموع صفات الفرد القابلة للملاحظة .

ملحوظة : تكون الصفات إما مورفولوجية (اللون) أو فيزيولوجية (الفصائل الدموية) .

2- العلاقة مورثة - بروتين

2-1 فقرالدم المنجلي


السلسلة β من الخضاب الدموي
7 Glu
6 Glu
5 Pro
4 Thr
3 Leu
2 His
1 Val
7 Glu
6 Val
5 Pro
4 Thr
3 Leu
2 His
1 Val
جزء من السلسلة β
HbA
HbS
جزء من مورثة الخضاب A
جزء من مورثة الخضاب S

4- يلاحظ أن الحمض الأميني Glu في جزء من السلسلة البروتينية للخضاب الدموي HbA قد تم تعويضه بالحمض الأميني Val في جزء من السلسلة البروتينية للخضاب الدموي HbS .

تعويض Glu ب Val في السلسلة البروتينية مرتبط بطفرة استبدال القاعدة الآزوتية T في مورثة HbA بالقاعدة الآزوتية A في مورثة HbS .

إذن كل تغيير على مستوى المورثة ينتج عنه تغيير في البروتين: علاقة مورثة - بروتين

5- إن حدوث طفرة استبدال قاعدة آزوتية بأخرى على مستوى قطعة ADN يؤدي الى تعويض حمض أميني بآخر على مستوى البروتين

إذن كل تغيير على مستوى المورثة ينتج عنه تغيير في البروتين:

<u>هناك علاقة مورثة - بروتين</u>

2-2 لون البشرة

جزء من شريط ADN المسؤول عن تركيب تيروزيناز عادي

GTC TCC CCT TGG TCG

جزء من السلسلة البروتينية

...Gln – Arg – Gly – Thr – Ser

جزء من شريط ADN المسؤول عن تركيب تيروزيناز غير عادي

جزء من السلسلة البروتينية

... Gln – Arg – ac.Glu – Thr – Ser

GTC TCC CCT TGG TCG

...Gln – Arg – Gly – Thr – Ser

أنزيم التيروزيناز العادي

التيروزين ← 1 L . dopa ← 2 L . dopaquinone ← 3 الميلانين

عدم الإصابة بالمهق

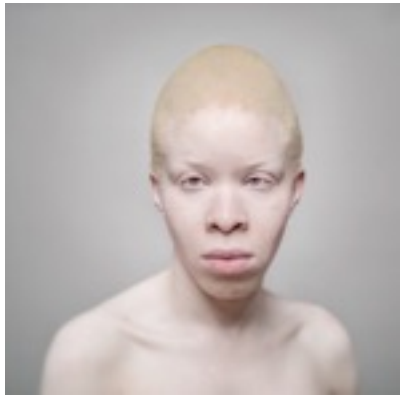
GTC TCC CTT TGG TCG

... Gln – Arg – ac.Glu – Thr – Ser

أنزيم التيروزيناز غير العادي

التيروزين ← (1) L . dopa ← (2) L . dopaquinone ← (3) الميلانين

الإصابة بالمهق

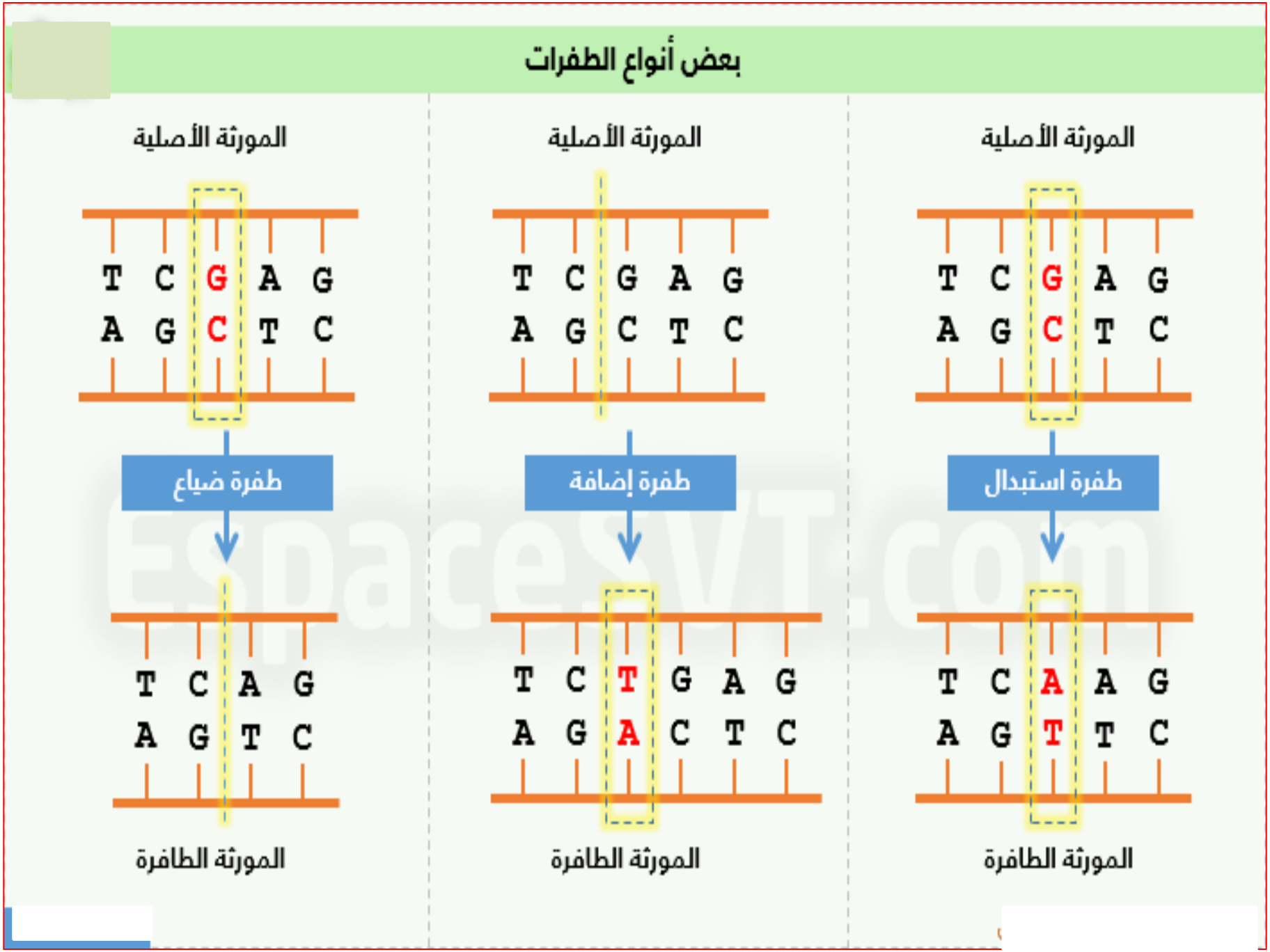


طفرة استبدال القاعدة الآزوتية C في المورثة بالقاعدة الآزوتية T.

تعويض الحمض الأميني Gly في جزء من السلسلة البروتينية للتيروزيناز العادي بالحمض الأميني Ac-Glu السلسلة البروتينية فتكون بالتالي تيروزيناز غير عادي وتظهر صفة المهق لغياب الميلانين .

هناك إذن علاقة مورثة - بروتين

بعض أنواع الطفرات



مورثة
حليل
بروتين
خلية
شخص
نمط وراثي
جزيئي
خلوي
مظهر خارجي
مورثة الخضاب الدموي
حالة فقر الدم المنجلي
مورثة انزيم تروزيناز
حالة المهق
Allèle HBA
Protéine globulaire
GR en forme de disque biconcave
[Sain]
Allèle HBS
Protéine fitreuse
GR en forme de faucille
[Drépanocytose]
Allèle sauvage
Enzyme fonctionelle
Cellule pigmentées
[Sain]
Allèle muté
Enzyme non fonctionnelle
Cellule non pigmentée
[Albinos]

مورثة: قطعة ADN تتحكم في صفة وراثية

الحليل: متتالية نيكليوتيدية تمثل شكلا من أشكال المورثة

الطفرة هي كل تغيير عشوائي و فجائي في المورثة الأصلية(التسلسل النيكليوتيدي لجزيئةADN

الطفرة 3 أنواع : استبدال – ضياع – إضافة

الصفة المتوحشة هي الصفة الأصلية

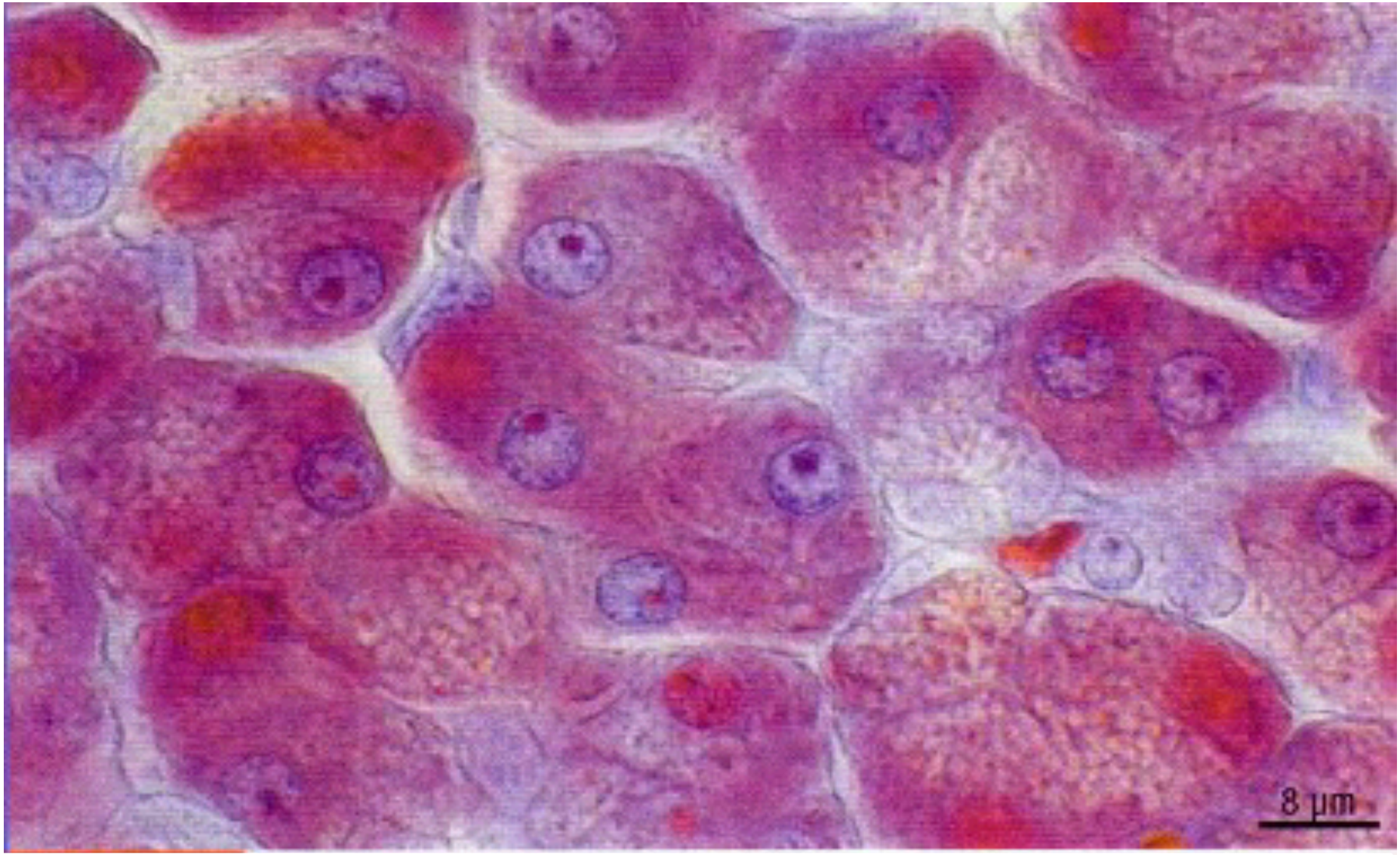
الصفة الطافرة هي الناتجة عن الطفرة

– آلية تعبير الخبر الوراثي II

1- دور ARNm و علاقته بالرمز الوراثي

1-1 مرحلة النسخ

أ- الكشف عن تموضع ADN و ARN



الكشف عن تموضع ADN-ARN في خلايا البنكرياس

تضم الخلايا جزيئات يقارب تركيبها الكيميائي تركيب ADN وتسمى أحماض نووية ريبوزية ARN .

نكشف عن تموضع الجزيئتين معا في خلايا البنكرياس التي تركب البروتينات باستعمال:

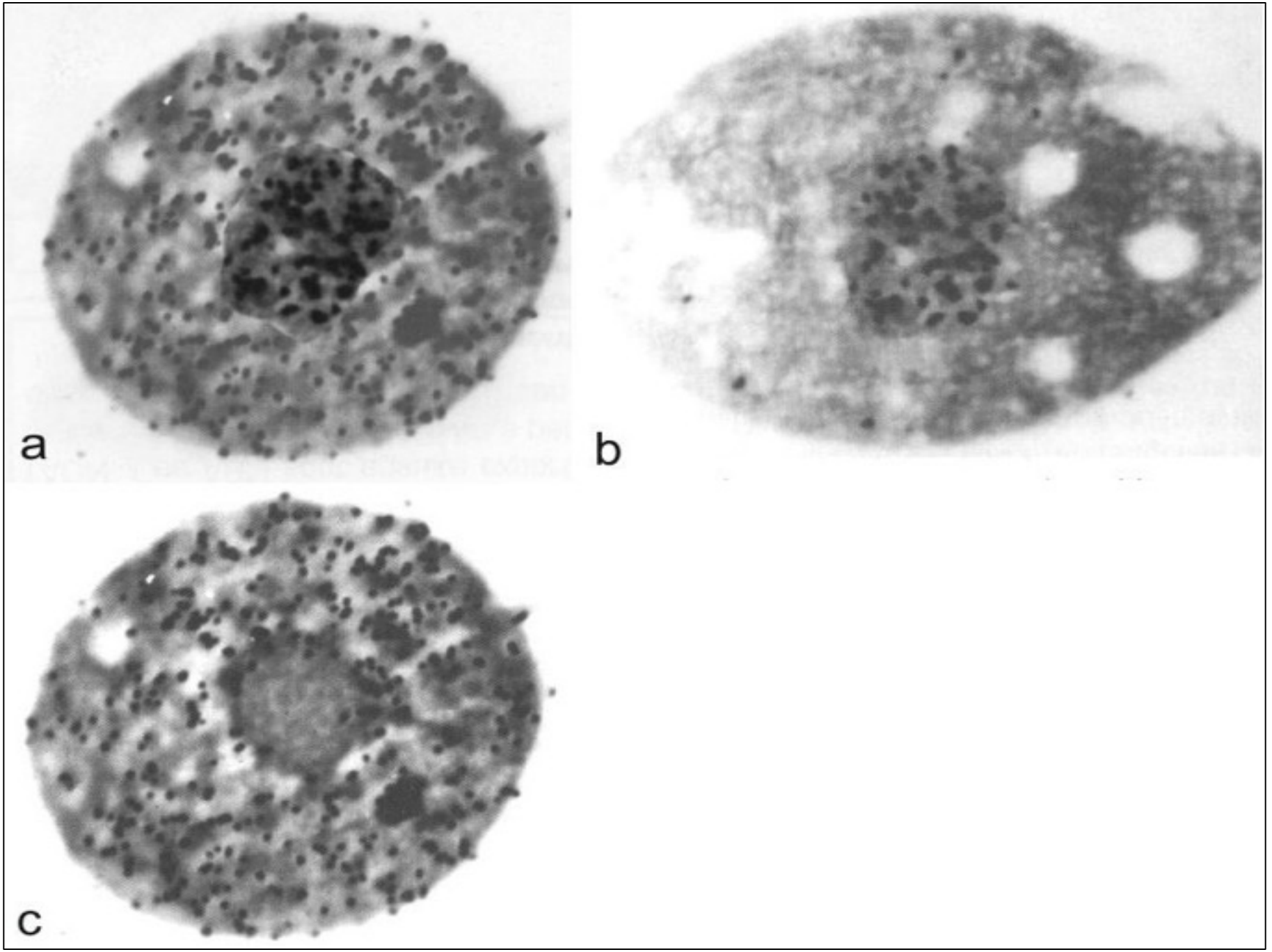
-أخضر الميتيل و يلون ADN بالأزرق المخضر

-البيرونين و يلون ARN بالوردي

يتموضع في النواة (الصبغين) ADN

يتموضع في النوية و السيتوبلازم ARN

ب- الوسيط بين النواة و السيتوبلازم :

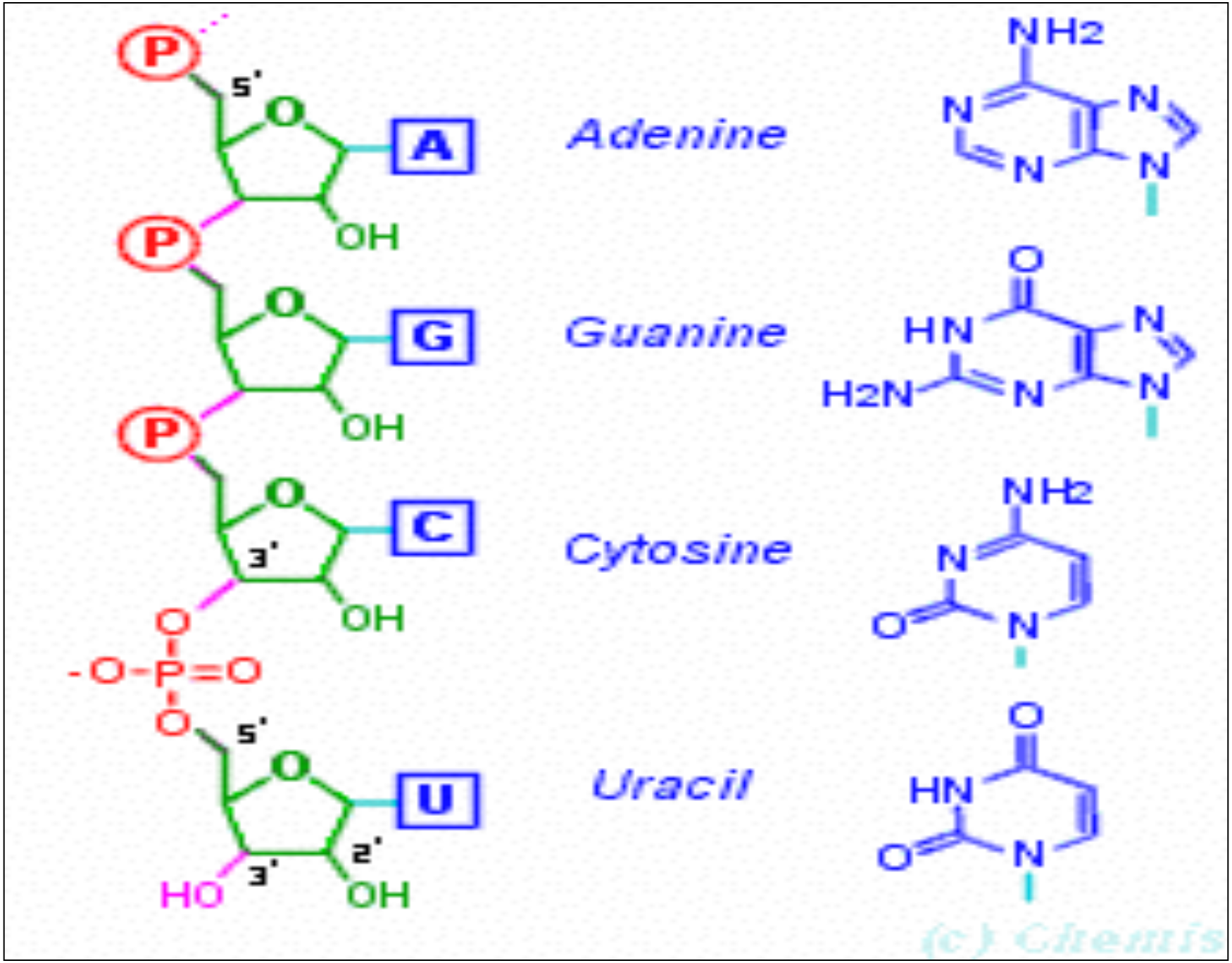

a
b
c

- ظهور الإشعاع في النواة بعد 5 دقائق يدل على أن جزيئات ARN يتم تركيبها داخل النواة .

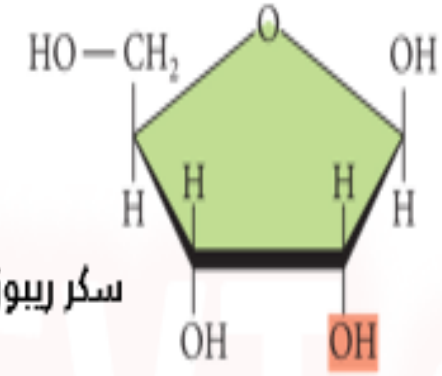
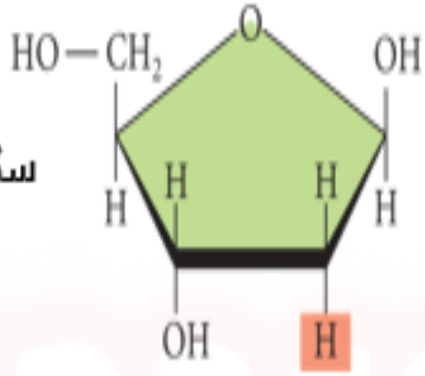
- انتقال الإشعاع الى السيتوبلازم بعد 15 دقيقة يدل على خروج ARN من النواة نحو السيتوبلازم .

جزيئات ARN يتم تركيبها داخل النواة عن طريق نسخ المورثات (قطع من ADN) ثم تنتقل

ج- بنية و مكونات ARNm


P
5'
O
A
OH
P
O
G
OH
P
O
C
3'
OH
O
-O-P=O
O
5'
O
U
HO
3'
2'
OH
Adenine
NH2
N
N
N
N
Guanine
O
HN
N
H2N
N
N
Cytosine
NH2
N
O
N
Uracil
O
HN
O
N
(c) Chemis

مقارنة بنية جزيئة الـ ARNm و جزيئة الـ ADN

	جزيئة الـ ARNm	جزيئة الـ ADN
السكر	 سكر ريبوزي	 سكر ريبوزي ناقص الأكسجين
القواعد الآزوتية	الغوانين (G) الأدينين (A) الأوراسيل (U) السيتوزين (C)	الغوانين (G) الأدينين (A) التيمين (T) السيتوزين (C)
البنية		

الحمض النووي الريبوزي المرسول أو ARNm يتكون من سلسلة من النيكليوتيدات على شكل لولب أو شريط واحد .

النيكليوتيد يتكون من حمض فوسفوري – سكر الريبوز و قاعدة آزوتية :الأدنين A السيتوزين C –الغوانين G –

يختلف ARNm عن ADN بثلاثة خصائص:

1- يتكون ARNm من لولب واحد

- يتكون ADN من لولبين

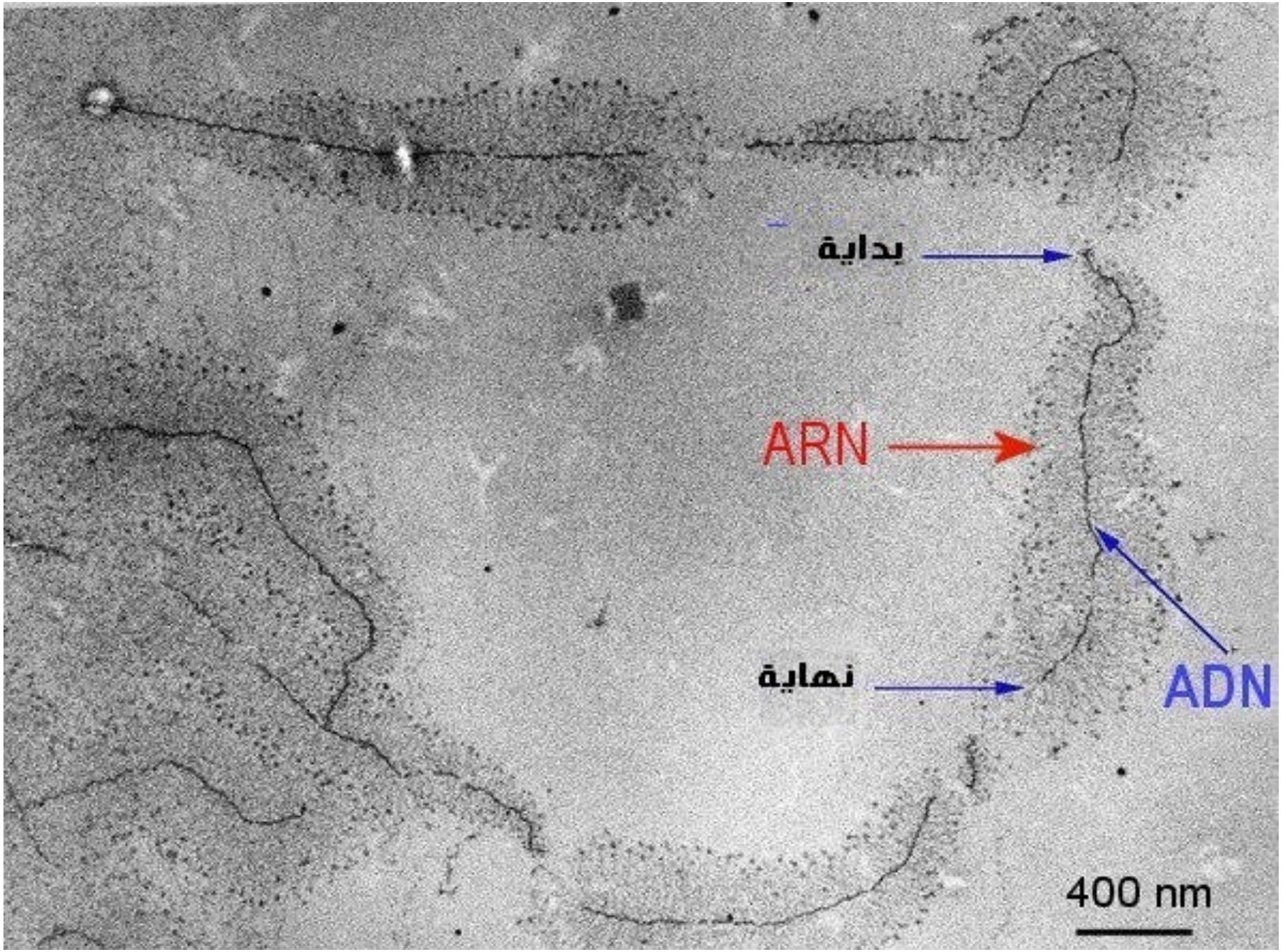
2- يضم ARNm سكر الريبوز

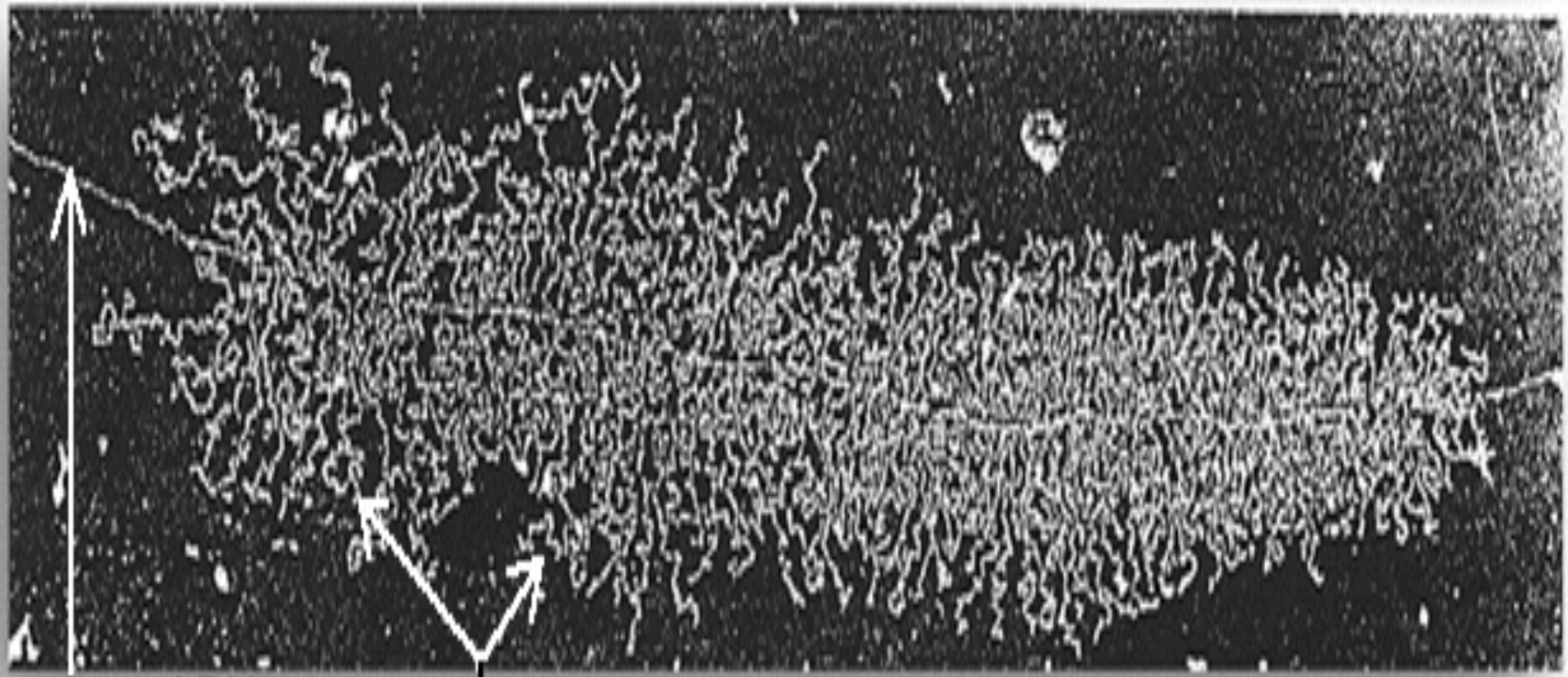
- يضم ADN سكر الريبوز ناقص الأوكسجين

3- يتميز ARNm بالقواعد الآزوتية:U-A-C-G

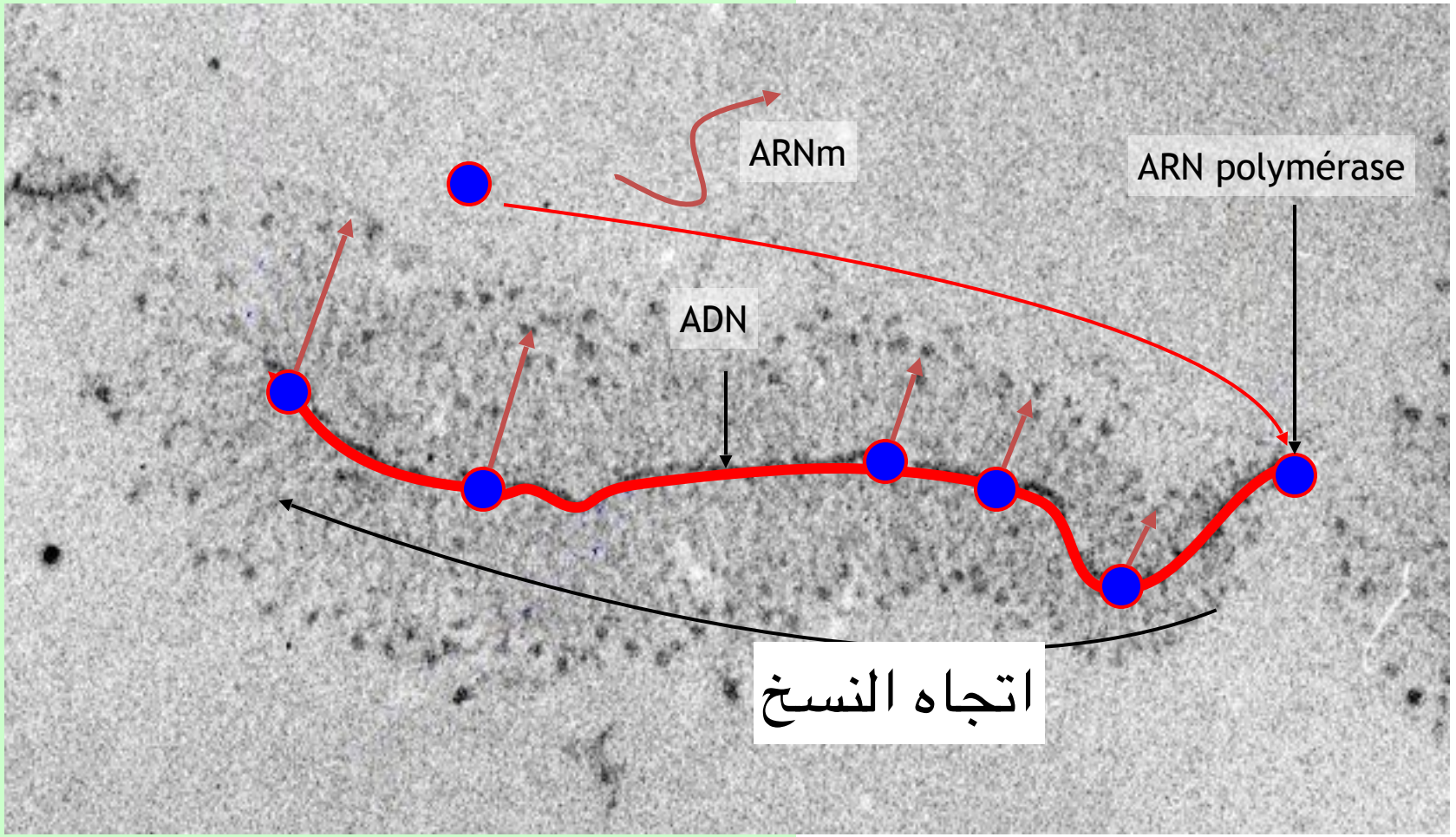
- يتميز ADN بالقواعد الآزوتية:G-C-A-T

د- آلية نسخ جزيئة ARNm

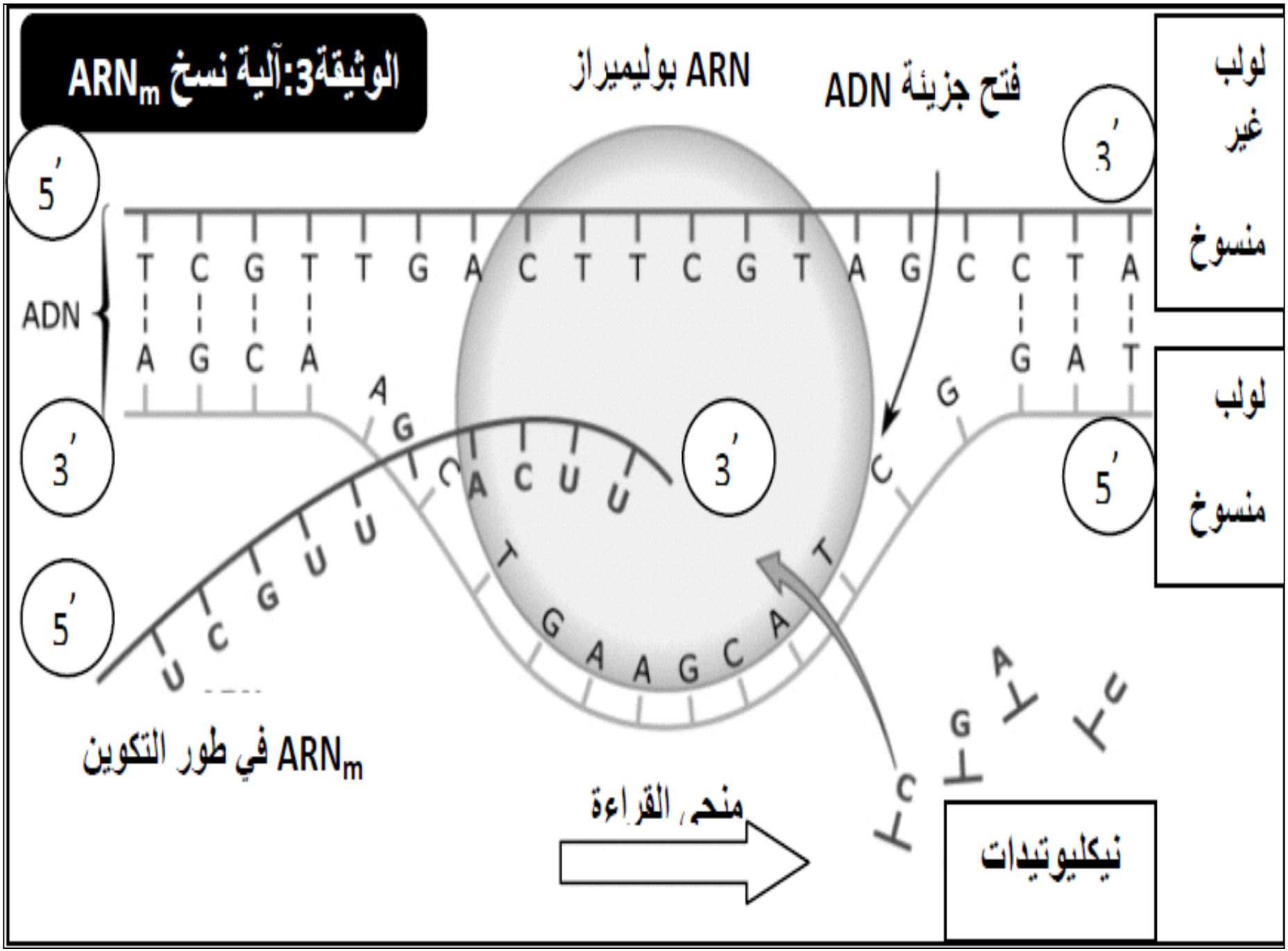

بداية
ARN
نهاية
ADN
400 nm



صورة الكترونغرافية لنواة خلية أثناء النسخ



ıome x40000


الوثيقة3:آلية نسخ ARN_m
ARN بوليميراز
فتح جزيئة ADN
لولب غير منسوخ
لولب منسوخ
5′
3′
ADN
T C G T T G A C T T C G T A G C C T A
A G C A G C A
3′
5′
U C G U U
A C U U
T G A A G C A T
منحى القراءة
نيكليوتيدات
في طور التكوين ARN_m

يفترق لولبا جزيئة ADN إثر انفصام الروابط الهيدروجينية التي تجمع القواعد الآزوتية المتكاملة فيما بينها . يحصل هذا الإفتراق بتدخل ARN بوليميراز و الذي يشرف أيضا على إدماج نوكليوتيدات ARN حسب تكامل القواعد الآزوتية :

المنسوخ ADNفي لولب A أمامARNmفي U

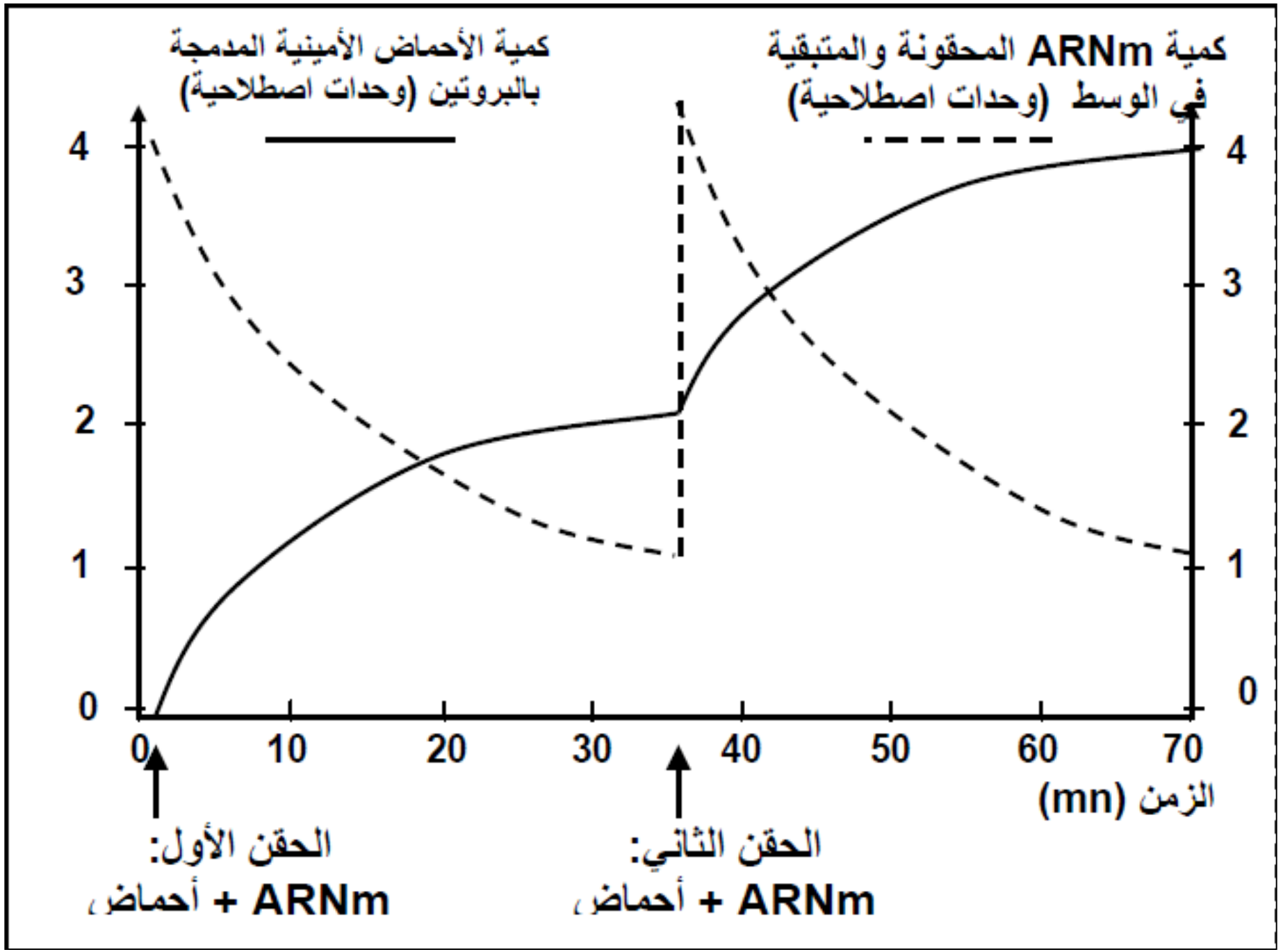
المنسوخ ADNفي لولب T أمامARNmفي A

بوليميراز: ARN

مجموعة بروتينية أنزيمية تمكن من نسخ ARNm انطلاقا من اللولب القابل للنسخ لجزيئة ADN في الإتجاه 5’ 3’

1-2 علاقة ARNm بالرمز الوراثي

أ- تجربة تركيب البروتينات في الزجاج


كمية الأحماض الأمينية المدمجة
بالبروتين (وحدات اصطلاحية)
كمية ARNm المحقونة والمتبقية
في الوسط (وحدات اصطلاحية)
4
3
2
1
0
0
10
20
30
40
50
60
70
الزمن (mn)
الحقن الأول:
أحماض + ARNm
الحقن الثاني:
أحماض + ARNm

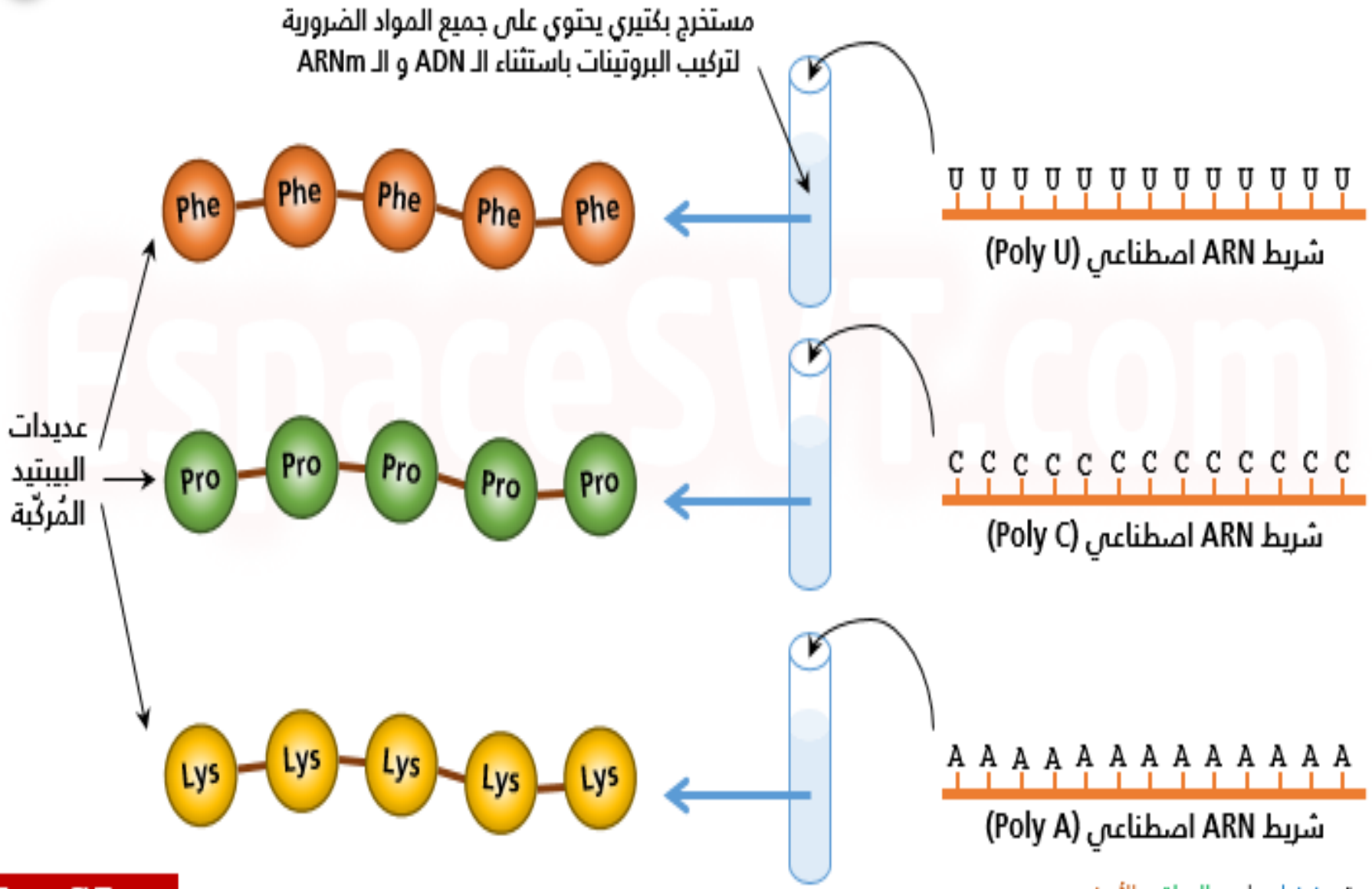
عند حقن ARNm ترتفع كمية الأحماض الأمينية المدمجة في البروتينات مما يدل على أن ARNm هو السؤول عن تركيب البروتينات من خلال تحفيز ارتباط الأحماض الأمينية فيما بينها بروابط ببتيدية:

تسمى هذه العملية ب الترجمة .

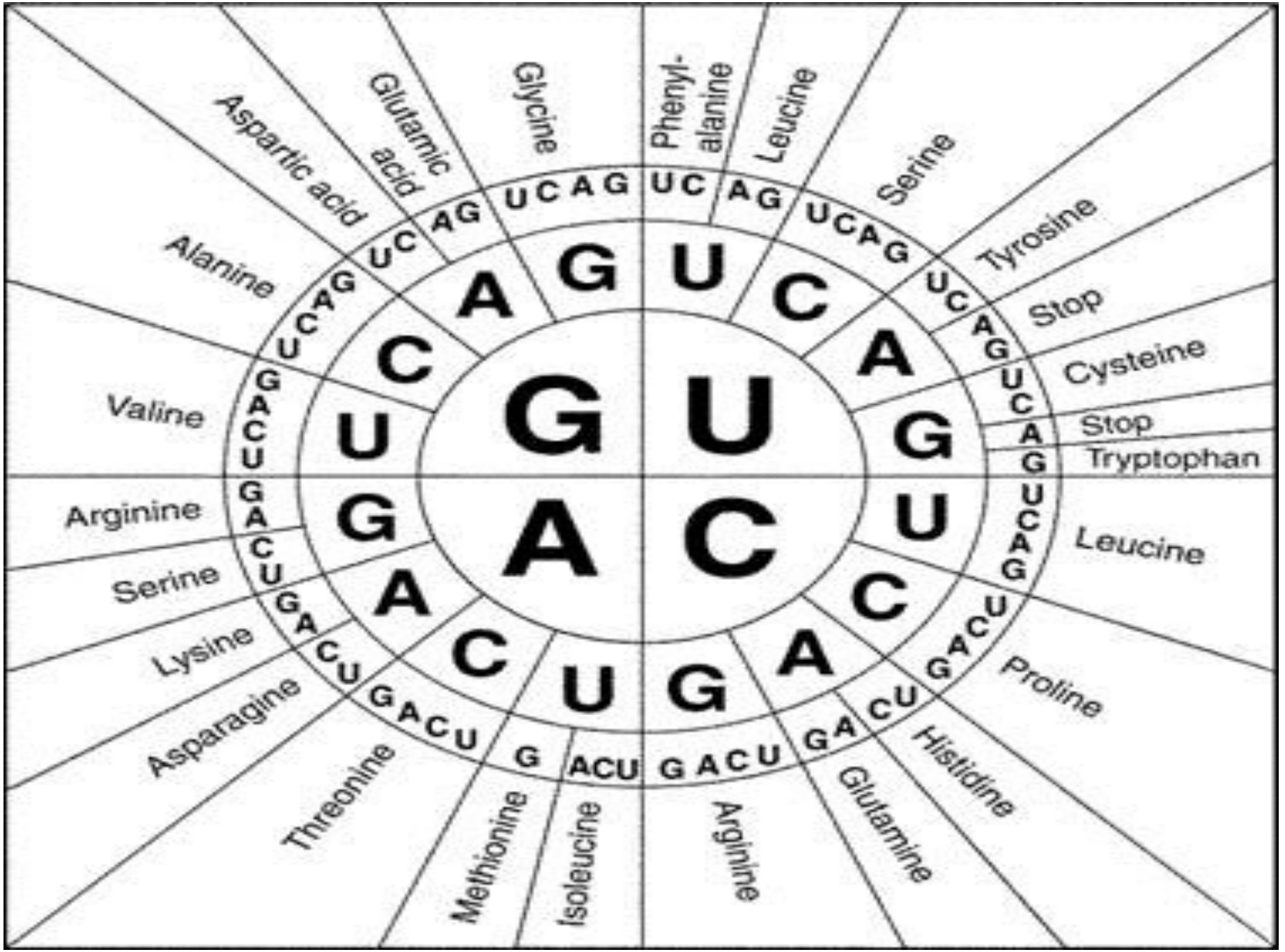
انخفاض تركيز ARNm بعد كل حقن يدل

ب- علاقة ARNm بالرمز الوراثي

تجربة Nirenberg (1961)



EspaceSVT.com
موقع فضاء علوم الحياة و الأرض


G
U
A
C
Glycine
Glutamic acid
Aspartic acid
Alanine
Valine
Arginine
Serine
Lysine
Asparagine
Threonine
Methionine
Isoleucine
Phenyl-alanine
Leucine
Serine
Tyrosine
Stop
Cysteine
Stop
Tryptophan
Leucine
Proline
Histidine
Glutamine
Arginine
UCAG
UCAG
UCAG
UCAG

جدول الرمز الوراثي (تقابل الوحدات الرمزية لـ ARNm مع الأحماض الأمينية)

الحرف الأول \ الحرف الثاني	U	C	A	G	الحرف الثالث
U	UUU, UUC: فنيل ألنين (Phe) UUA, UUG: لوسين (Leu)	UCU, UCC, UCA, UCG: سيرين (Ser)	UAU, UAC: تيروزين (Tyr) UAA, UAG: بدون معنى	UGU, UGC: سيستيين (Cys) UGA: بدون معنى UGG: تريبتوفان (Try)	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG: لوسين (Leu)	CCU, CCC, CCA, CCG: برولين (Pro)	CAU, CAC: هيستيدين (His) CAA, CAG: غلوتامين (Gln)	CGU, CGC, CGA, CGG: أرجينين (Arg)	U C A G
A	AUU, AUC, AUA: إيزولوسين (Ile) AUG: ميتيونين (Met)	ACU, ACC, ACA, ACG: تريونين (Thr)	AAU, AAC: أسبارجين (Asn) AAA, AAG: ليزين (Lys)	AGU, AGC: سيرين (Ser) AGA, AGG: أرجينين (Arg)	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG: فالين (Val)	GCU, GCC, GCA, GCG: ألانين (Ala)	GAU, GAC: حمض أسبارتيك (Asp) GAA, GAG: حمض غلوتاميك (Glu)	GGU, GGC, GGA, GGG: غليسين (Gly)	U C A G

تبين المناولة 1 أن الثلاثية UUA ترمز للحمض أميني لوسين (Leu). و تبين المناولة 2 أن الثلاثية UUU ترمز للحمض أميني فنيلالنين(Phe) .

تسمى كل 3 قواعد آزوتية ترمز الى حمض أميني: وحدة رمزية. توصل العالم الى وجود 64 وحدة رمزية:

61 وحدة رمزية تشير الى 20 حمض أميني مع ظاهرة التكرار(نفس الحمض الأميني ترمزله عدة وحدات رمزية).

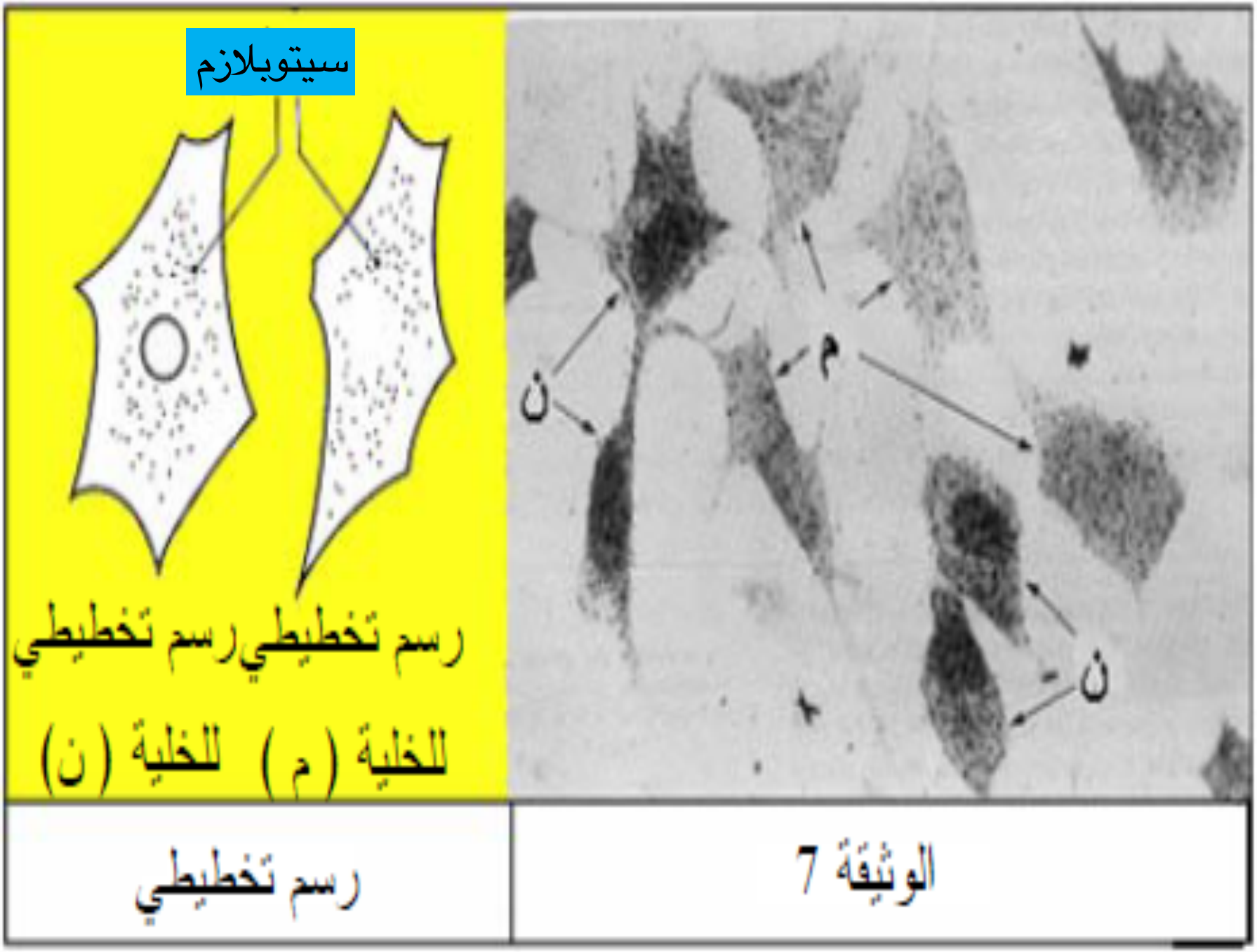
3 وحدات رمزية لا ترمز لأي حمض أميني و تسمى

الرمز الوراثي:

يمثل نظام التقابل بين الوحدات الرمزية في ARNm و الأحماض الأمينية في البروتين

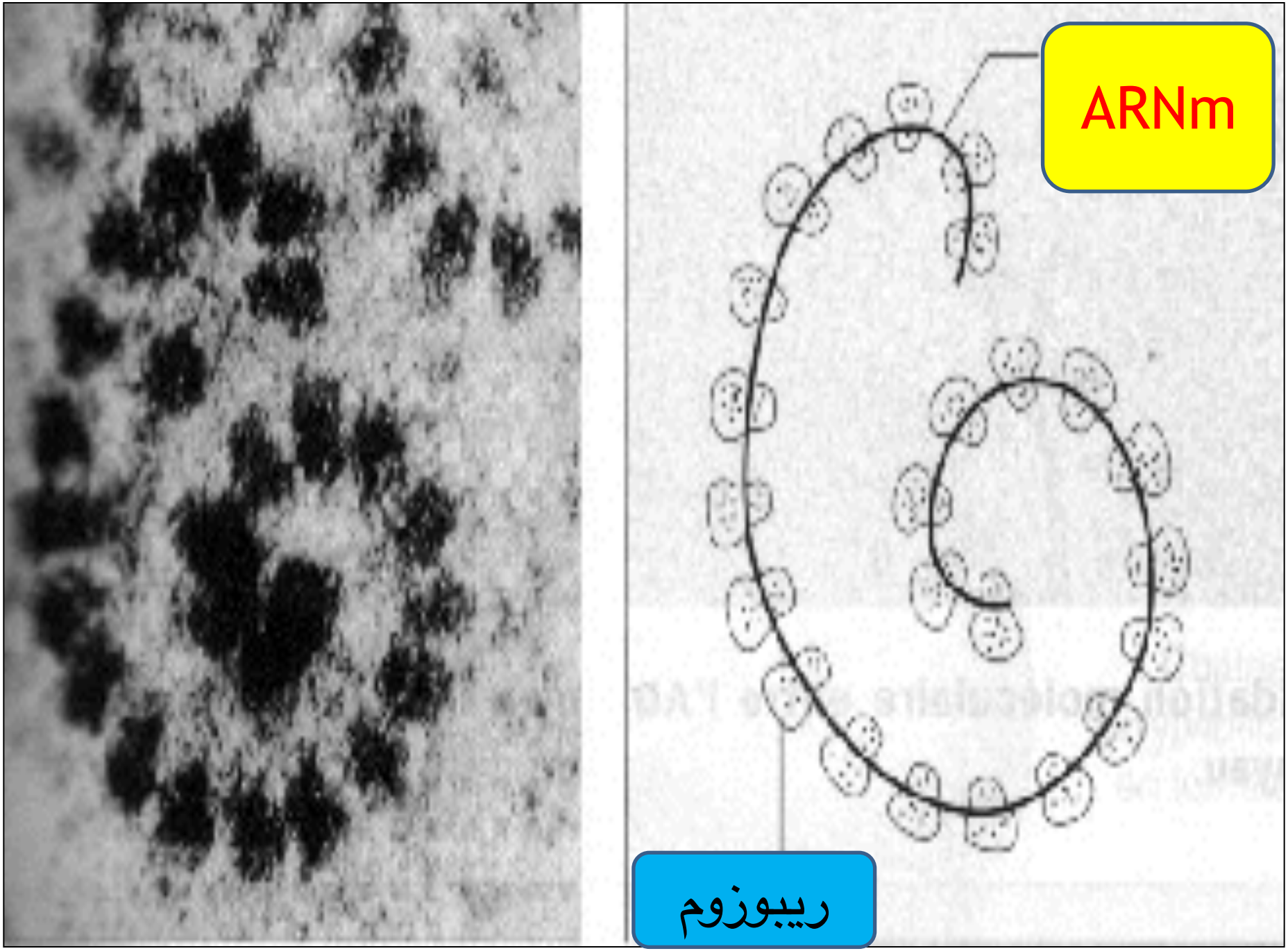
2- مراحل تركيب البروتينات

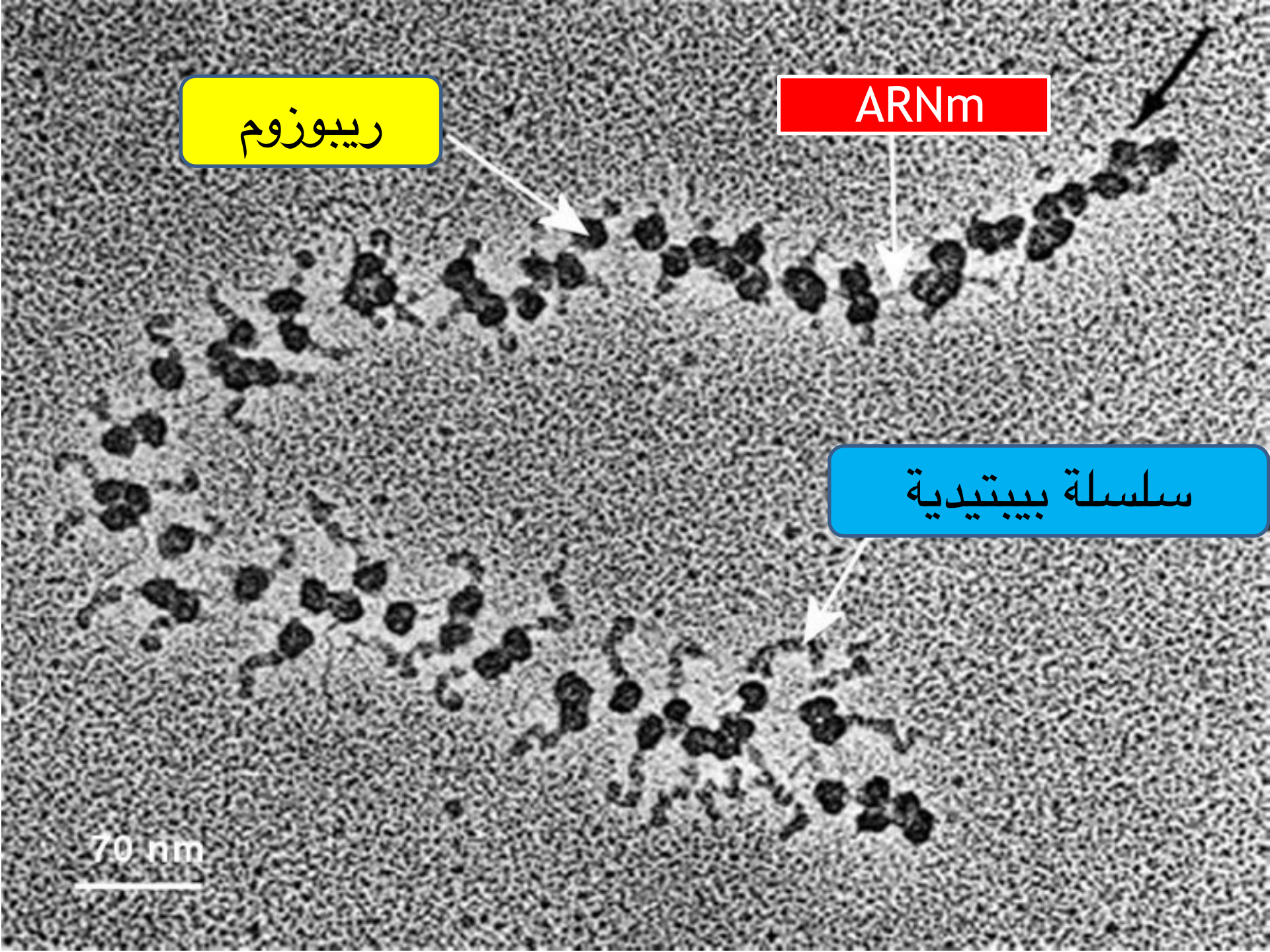
2-1 العناصر المتدخلة في تركيب البروتينات

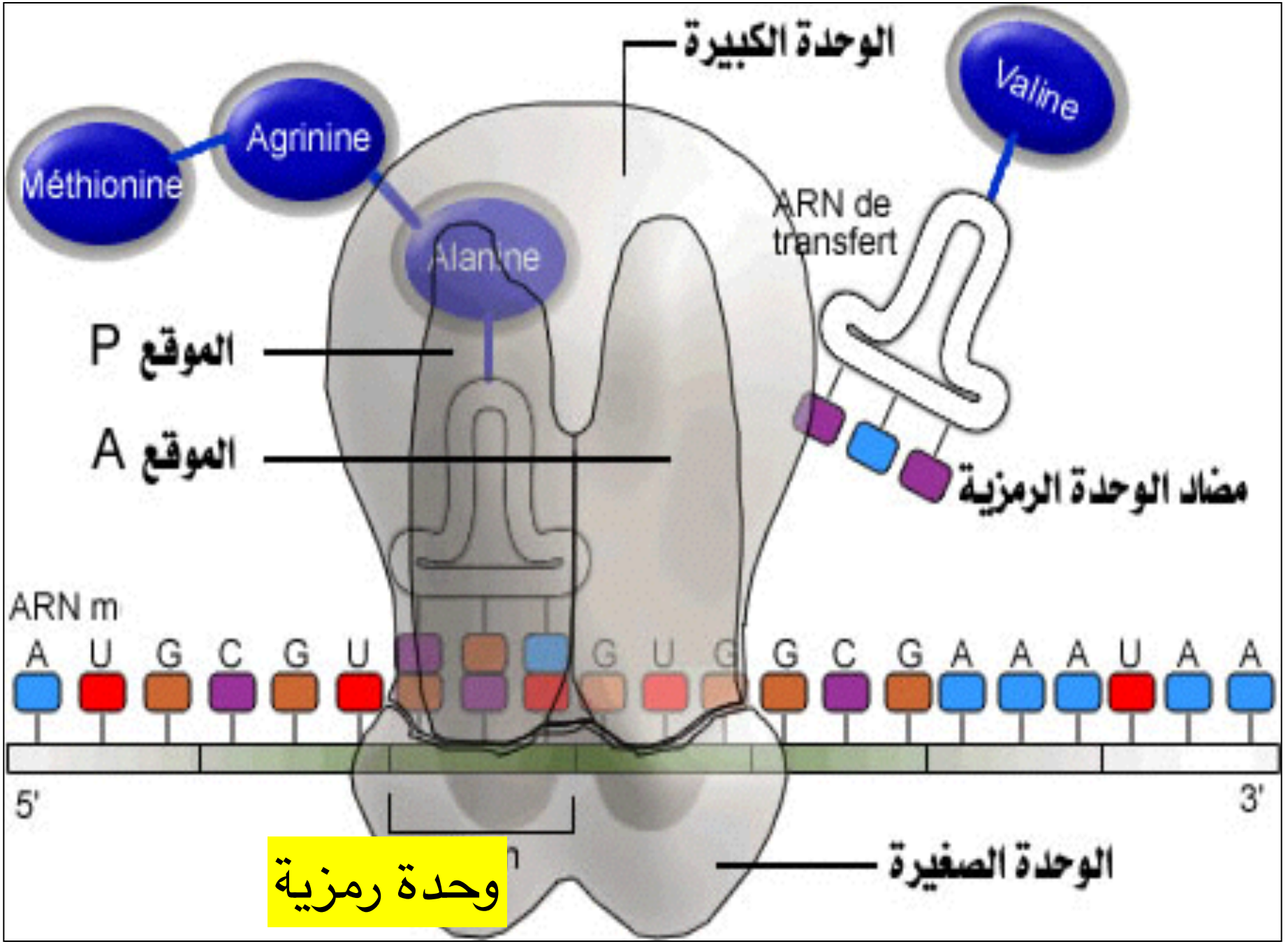


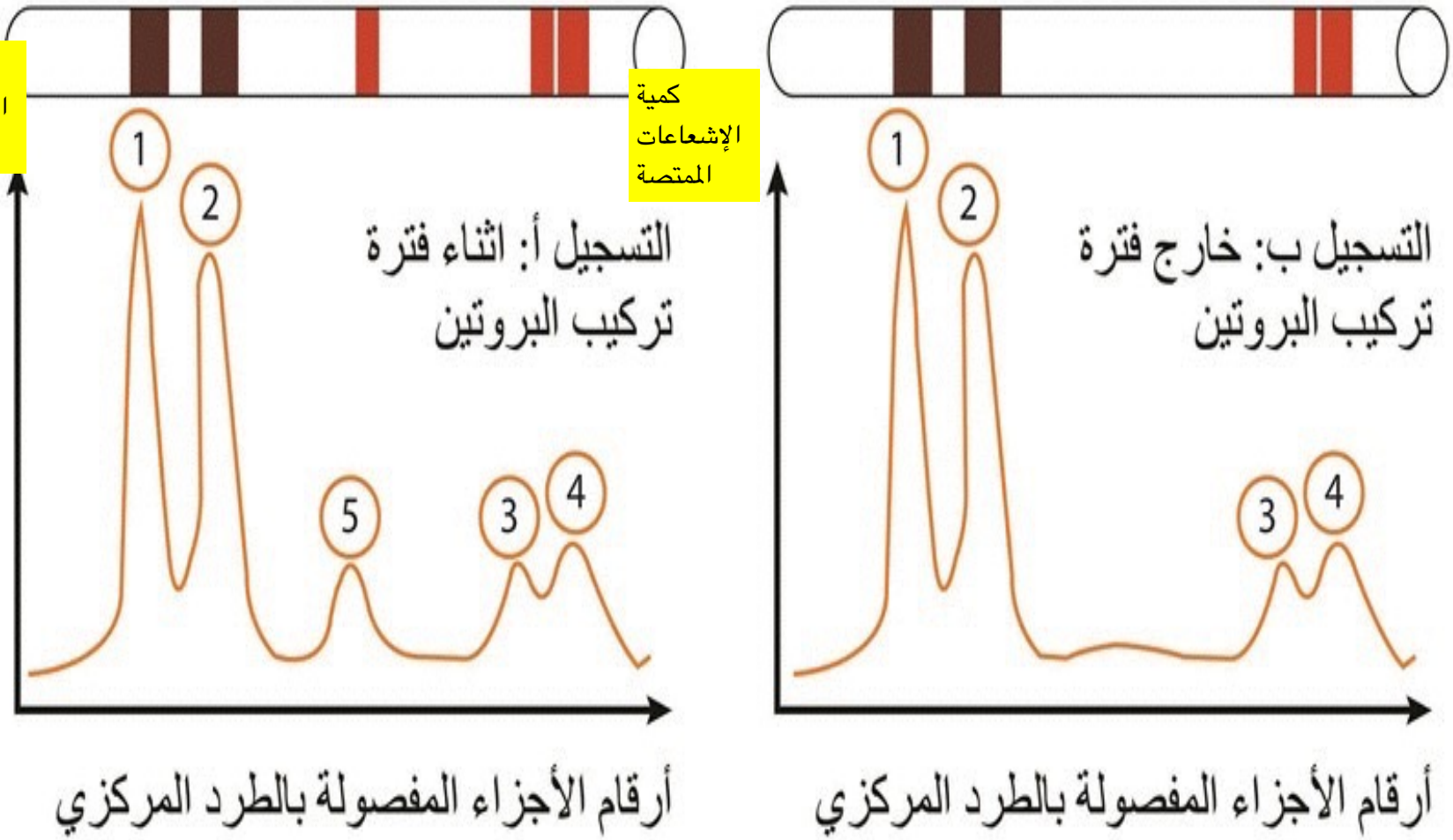
الوثيقة 7	رسم تخطيطي

تركيب البروتينات يتم
على مستوى
السيتوبلازم و نواة
الخلية لا تتدخل أثناء


ARNm
ريبوزوم

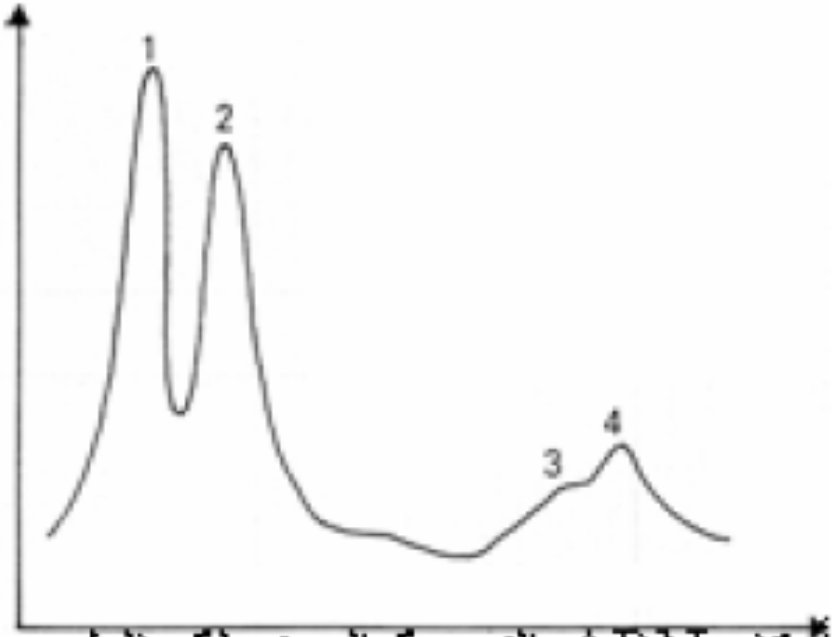

ريبوزوم
ARNm
سلسلة بيبتيدية
70 nm


الوحدة الكبيرة
Valine
Agrinine
Méthionine
Alanine
ARN de transfert
P الموقع
A الموقع
مضاد الوحدة الرمزية
ARN m
A U G C G U G U G G C G A A A U A A
5'
3'
الوحدة الصغيرة
وحدة رمزية



ب - أنماط الـ ARN السيتوبلازمية

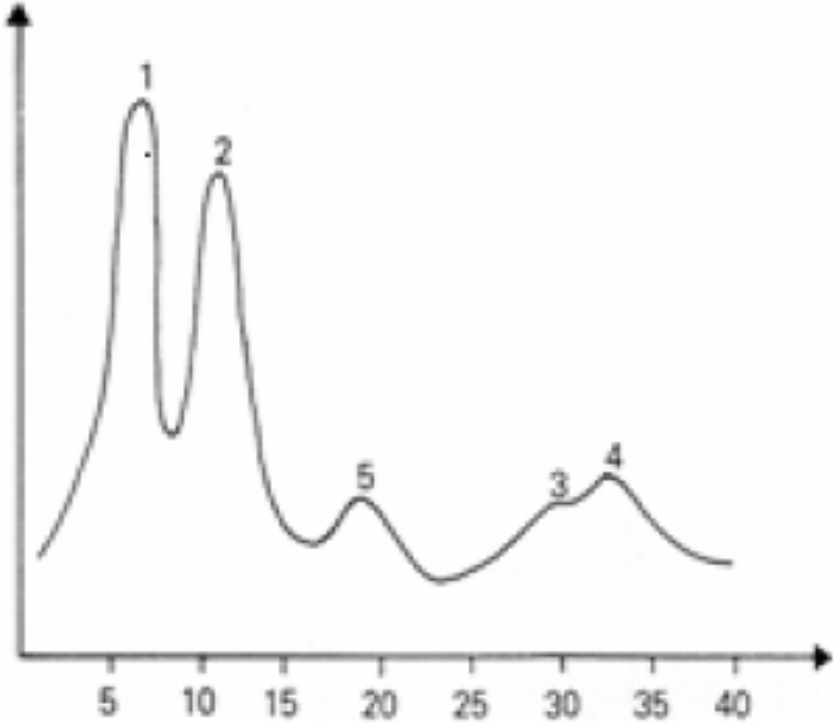
كمية الإشعاعات الممتصة (دقة في الدقيقة)



أرقام ARN النووية المعزولة بالطرد المركزي

أ ـ مجموع الـ ARN الموجودة في سيتوبلازم الخلية خارج فترة تركيب البروتين

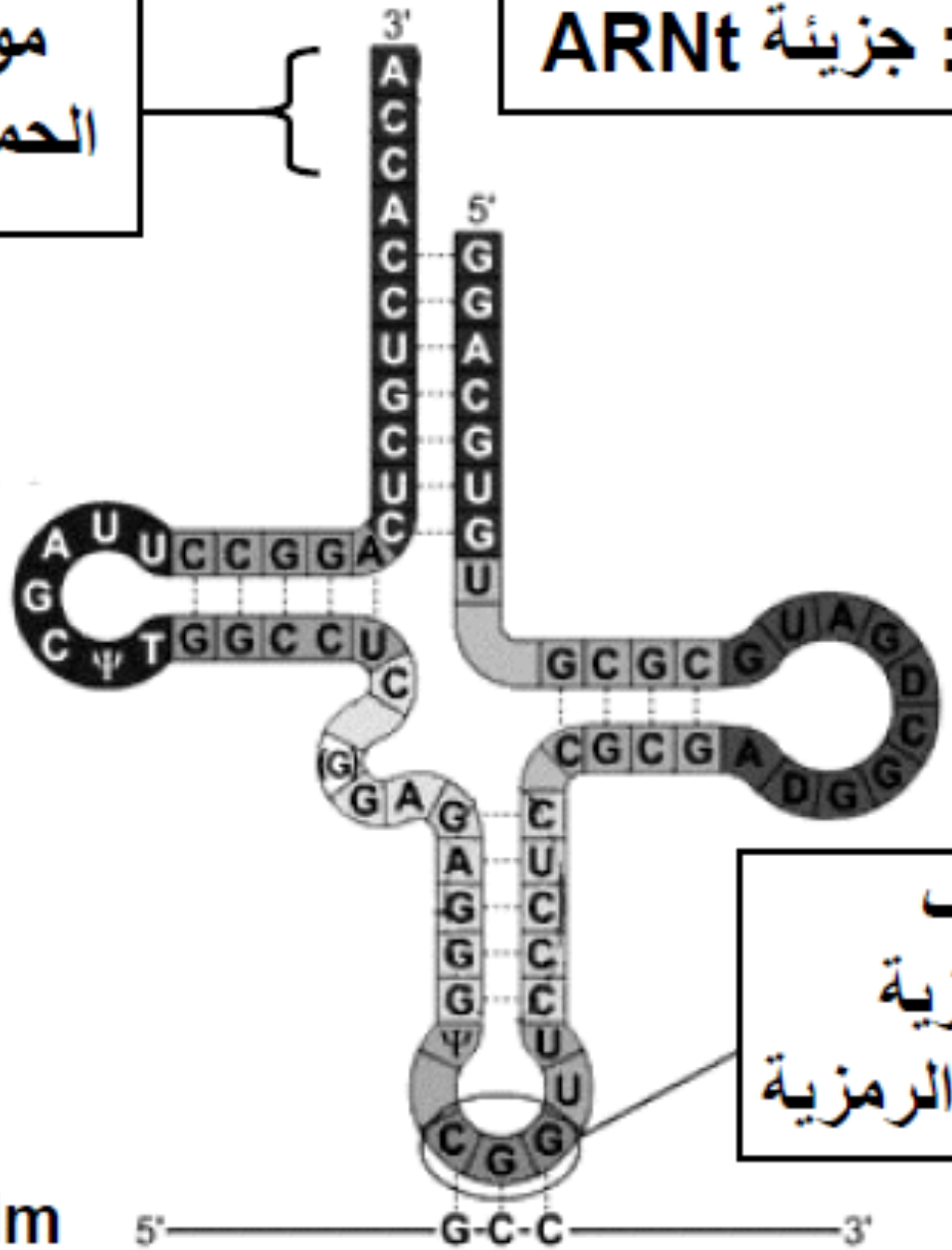
كمية الإشعاعات الممتصة (دقة في



ب ـ مجموع الـ ARN الموجودة في سيتوبلازم الخلية أثناء فترة تركيب البروتين

- نلاحظ ظهور1و2 ثم 3و4 سواء خارج فترة تركيب البرتين أو أثناء التركيب .
- كما نسجل ظهور5 أثناء تركيب البروتين .
- هناك نوعان من ARN يتواجدان في السيتوبلازم خارج و أثناء فترة تركيب البروتينات و هما $ARNt_{(1-2)}$ $ARNr_{(3-4)}$.
- واحد أثناء فترة تركيب البروتين و ARN

الشكل2: جزيئة ARNt



موقع تثبيت
الحمض الأميني

موقع تعرف
الوحدة الرمزية
= مضاد الوحدة الرمزية

تحتاج عملية الترجمة في السيتوبلازم العناصر التالية :

- ARNm يمثل نسخة من أحد لولبي المورثة القابل للنسخ (اللولب المنسوخ)

- الريبوزومات وهي عضيات سيتوبلازمية صغيرة و تتكون من وحدتين تتكون كل منهما من ARNr و بروتينات :
- وحدة صغيرة تساعد على ارتباط الوحدة الكبيرة ب ARNm .
- وحدة كبيرة تتوفر على موقعين , الموقع A لاستقبال الأحماض الأمينية , الموقع P

يرتبط ARNm بين
وحدتي الريبوزوم الذي
يعمل على ترجمة الوحدات
الرمزية الى سلسلة
ببتيدية .

الناقل الموجود بالسيتوبلازمARN أو ARN

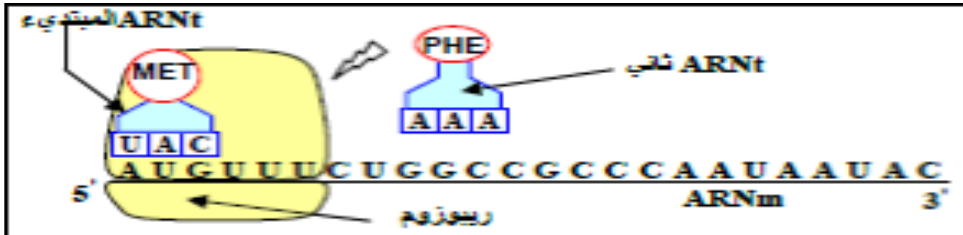
يختص بنقل الأحماض الأمينية الحرة المطابقة للوحدة الرمزية . يتكون ARNt من سلسلة من النيكليوتيدات و موقعين :

- موقع لتثبيت الحمض الأميني المناسب للوحدة الرمزية
- موقع يحتوي على 3 نيكليوتيدات مكملة للوحدة الرمزية المشيرة لحمض أميني معين و يسمى

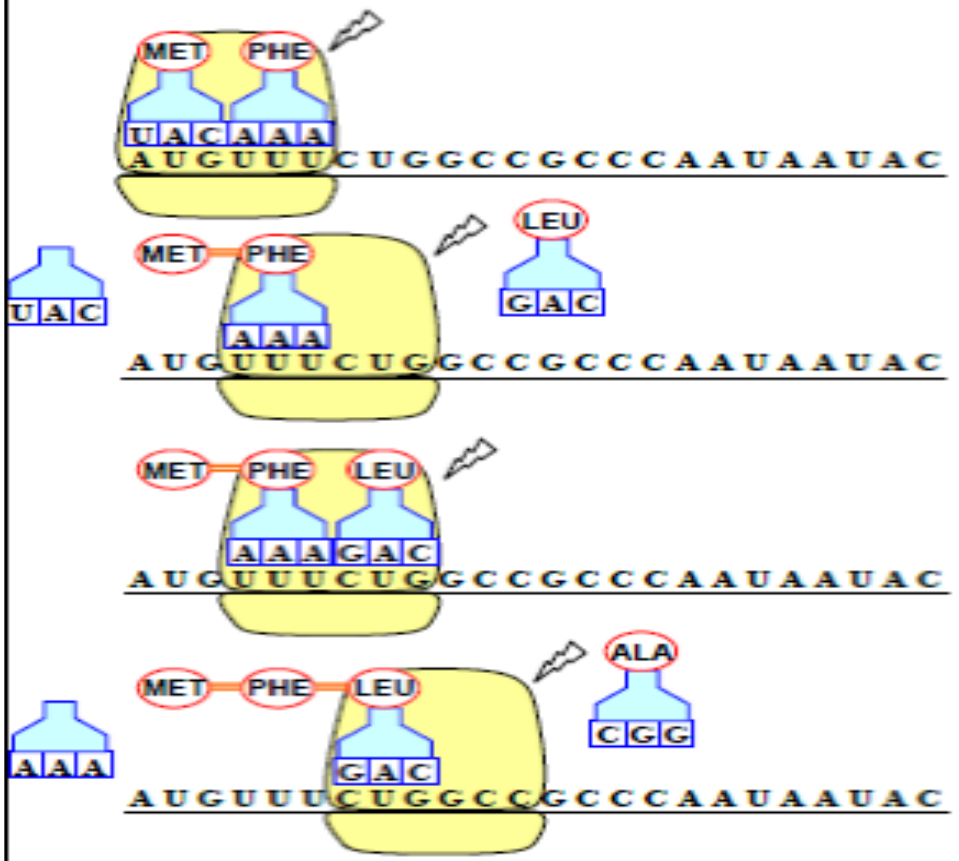
2-2 مراحل الترجمة

♥ الوثيقة 5 : مراحل الترجمة.

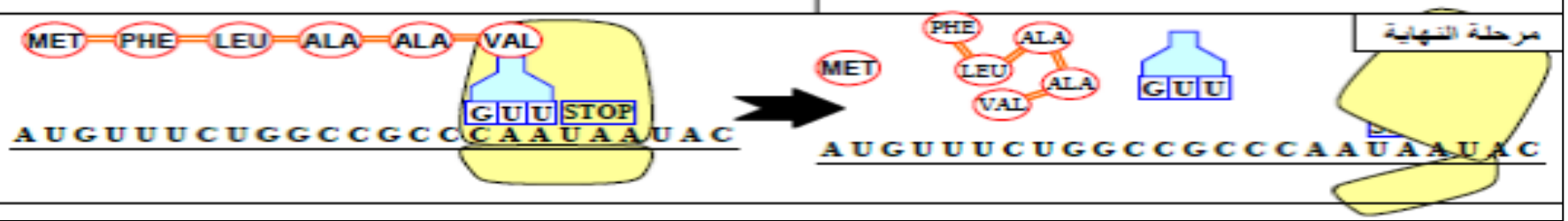
مرحلة البداية



مرحلة الاستطالة



مرحلة النهاية



تتم عملية الترجمة على 3 مراحل:

- البداية:

تلتصق و حدتا الريبوزوم بجزيئة ARNm من الجهة ’5على مستوى الوحدة الرمزية AUG (الوحدة الرمزية البدئية)

تتميز بداية الترجمة بإدماج الحمض الأميني Met الذي يرتبط ب ARNt المبتدئ و ذلك

- الإستطالة:

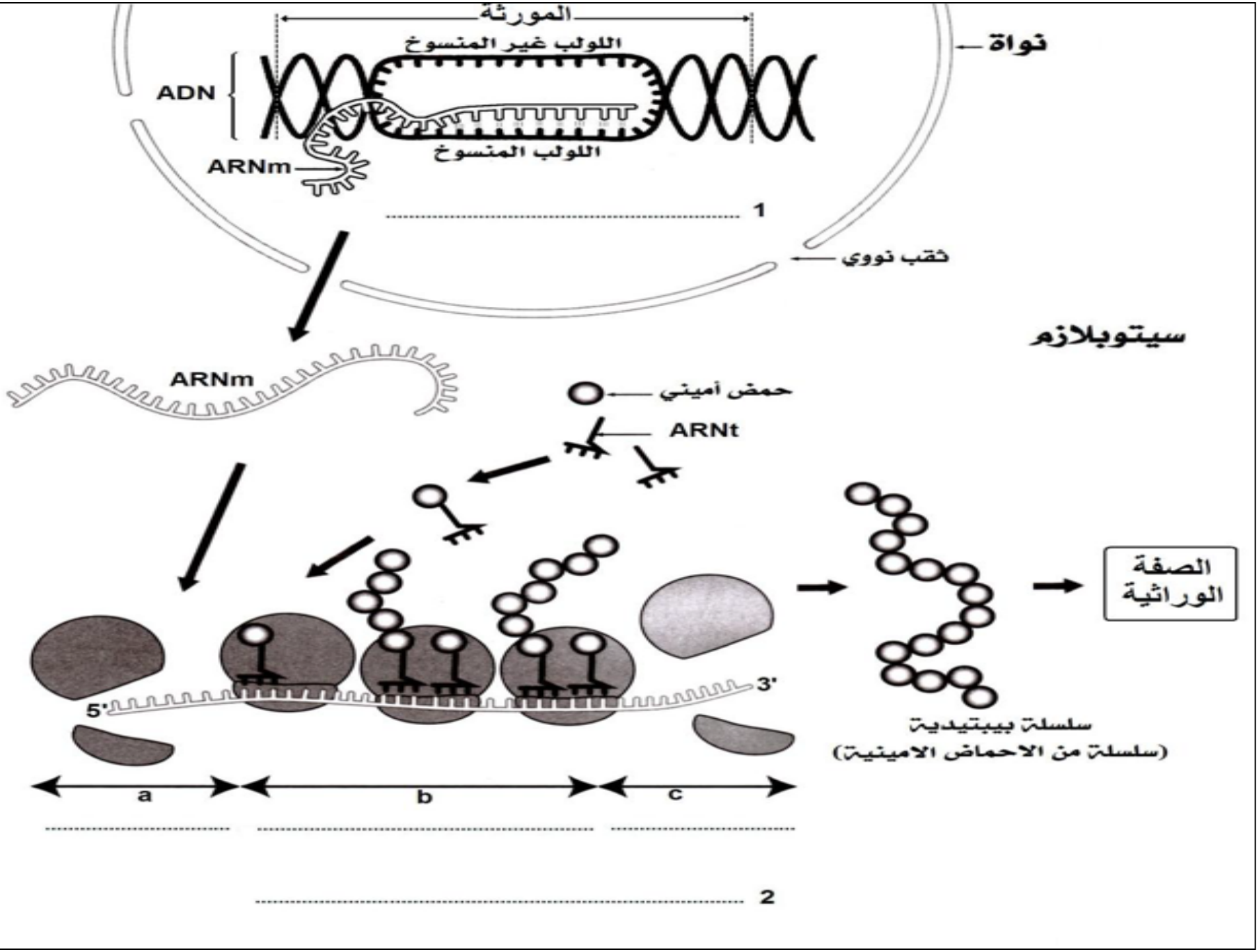
يتموضع في الموقع (ARNt (A ثان حاملا لحمض أميني آخر فتنشأ رابطة بيبتيدية بين الحمض الأميني الثاني و المتيونين Met.

تنفصل الرابطة بين Met و ARNt المبتدئ الذي يغادر الريبوزوم.

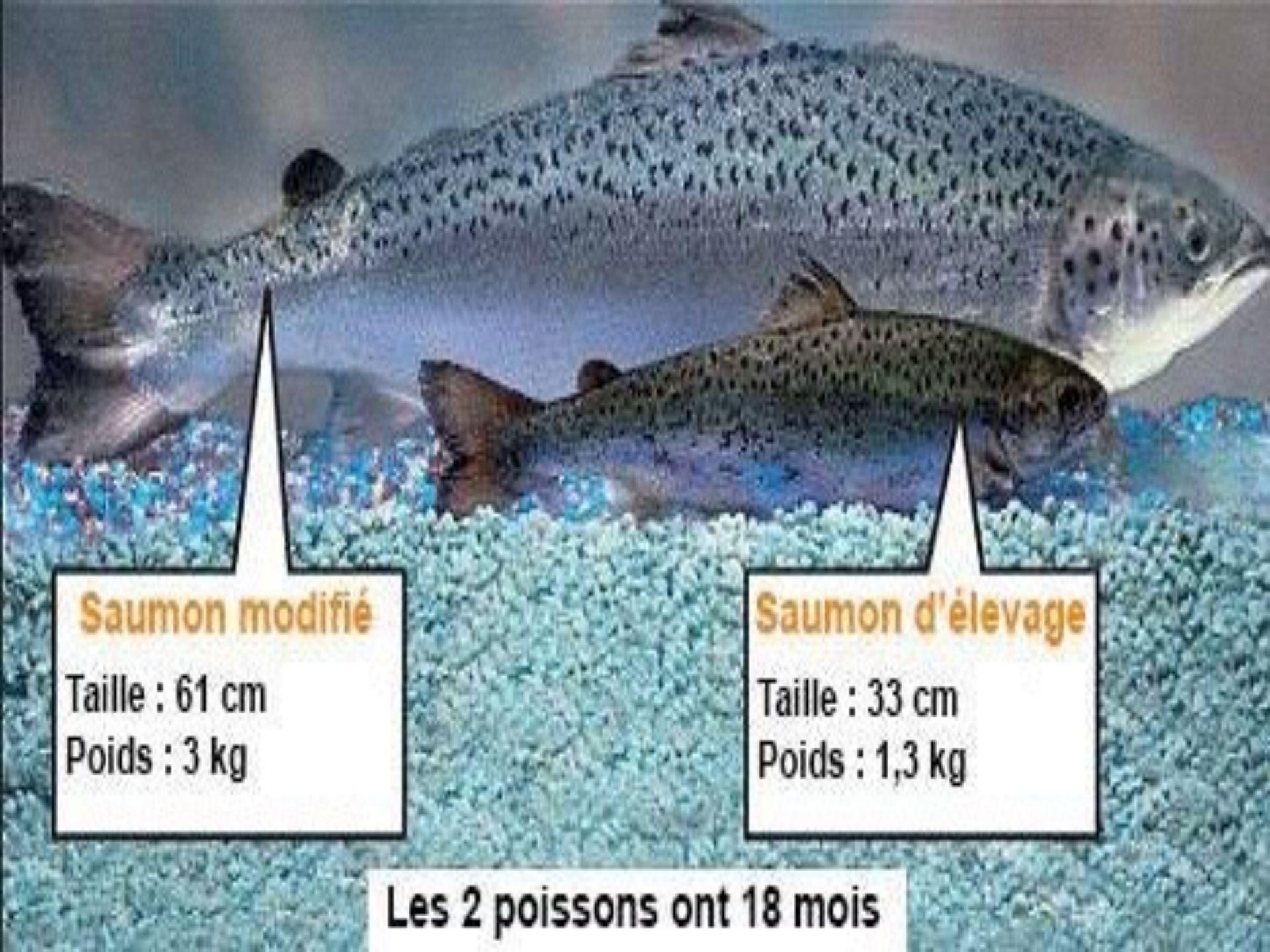
يتحرك الريبوزوم بوحدة رمزية واحدة فيصبح الموقع A فارغا ثم يلتحق ARNt ثالث حاملا

- **النهاية:**

- عندما يصل الموقع A الى الوحدة الرمزية قف UGA/UAG/UAA و هي لاترمز لأي حمض أميني يتوقف التركيب فتنفصل وحدتا الريبوزوم بعضهما عن بعض و عن ARNm و


المورثة
اللولب غير المنسوخ
نواة
ADN
اللولب المنسوخ
ARNm
1
ثقب نووي
سيتوبلازم
ARNm
حمض أميني
ARNt
الصفة الوراثية
3'
5'
سلسلة بيبتيدية
(سلسلة من الاحماض الامينية)
a
b
c
2

الفصل3 : الهندسة المستوية


Saumon modifié
Taille : 61 cm
Poids : 3 kg
Saumon d'élevage
Taille : 33 cm
Poids : 1,3 kg
Les 2 poissons ont 18 mois

- الهندسة الوراثية :

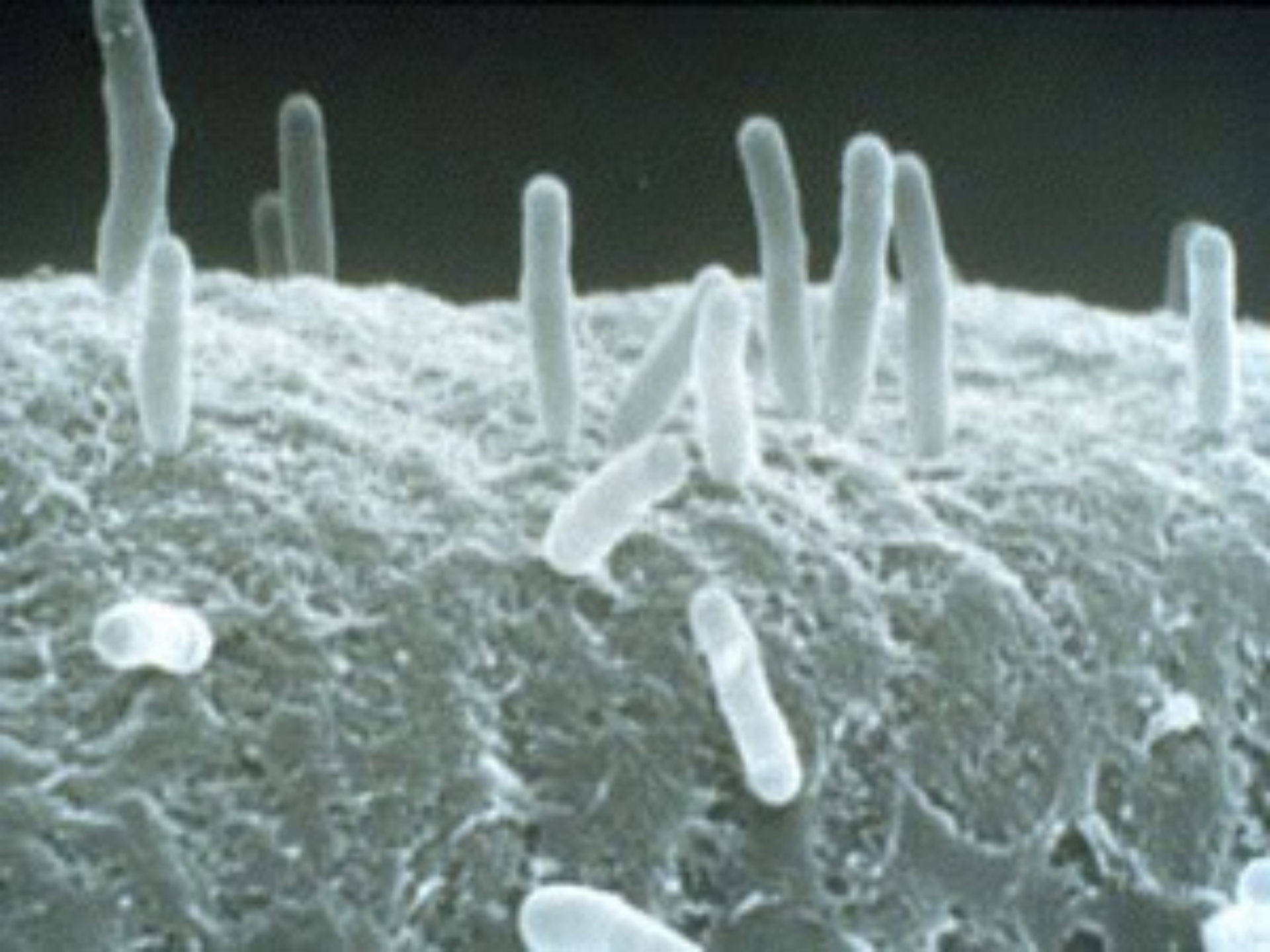
- علم يهتم بدراسة نقل المورثات من خلية معطية الى خلية عائلة قصد إكسابها صفة وراثية جديدة .

I- الإنتقال الطبيعي

1- دراسة مرض جرب السنخ

Chêne
Épicéa

Stobbs

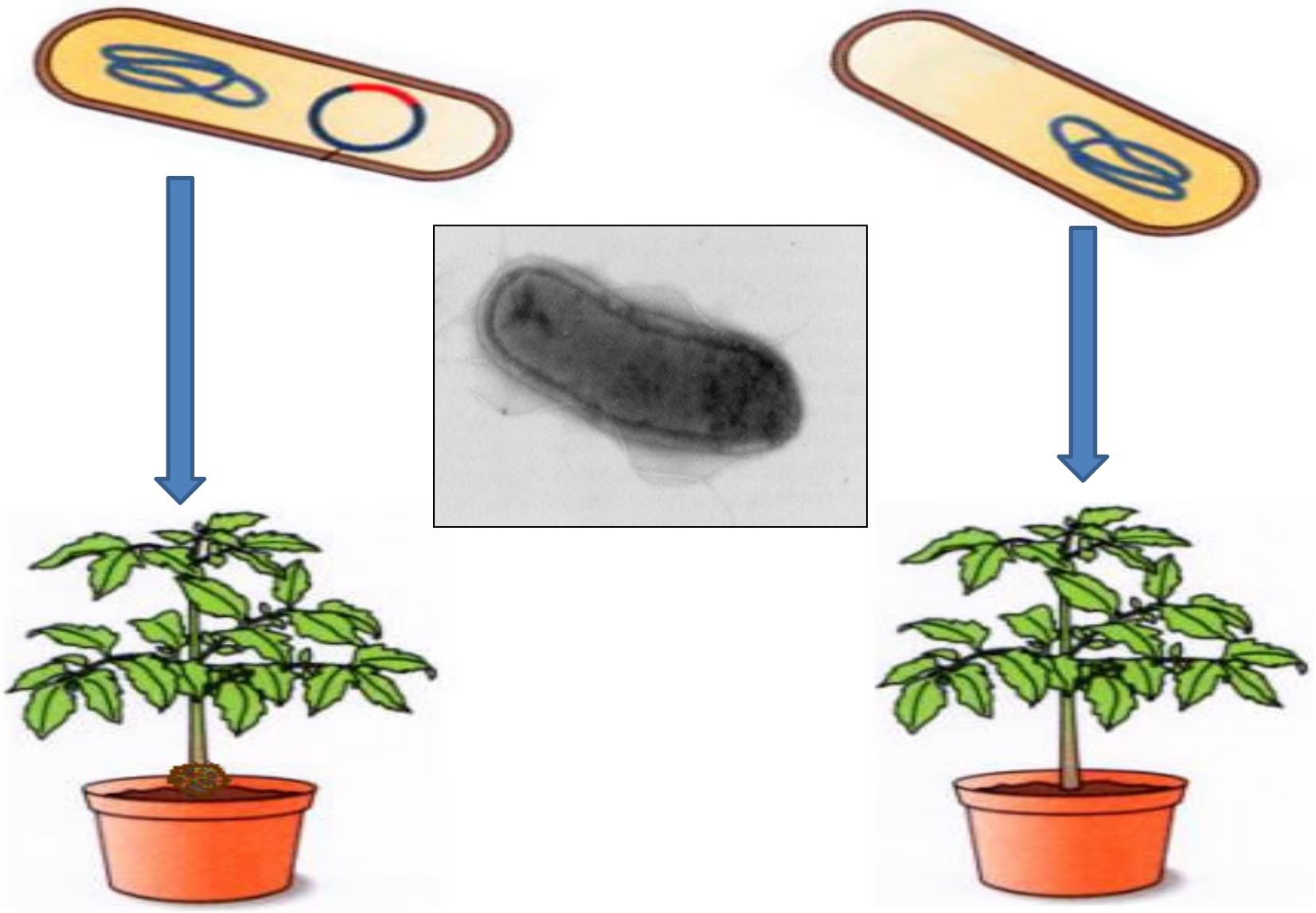


تجارب	ملاحظات
1: نعزل من ورم جرب السنخ بكتيرية At يتم إدخالها عبر فتحة حديثة في سنخ نبتة سليمة	ظهور الورم
2: نزرع نسيج جرب السنخ لايحتوي على بكتيريات At في وسط زرع ملائم	تتكاثر خلايا النسيج بشكل عشوائي

- 1/ يظهر جرب السنخ في شكل ورم غير عادي في سنخ النبات المصاب. بينت الأبحاث أن مرض جرب السنخ ناجم عن الإصابة ببكتيرية تعيش في التربة تدعى Agrobacterium

- 2/ التغيرات التي تطرأ على خلايا السنخ بواسطة At هي التكاثر العشوائي : نتكلم عن صفة الورمية. حدث التغييرالوراثي في الخبر الوراثي مما أكسب النبات صفة جديدة.

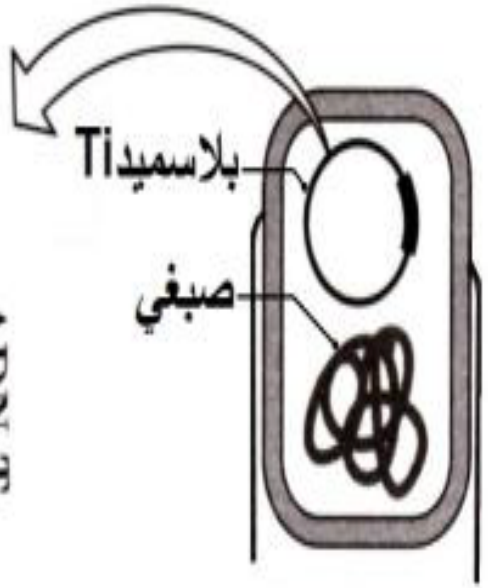
2- الكشف عن عامل الإصابة بمرض جرب السنخ



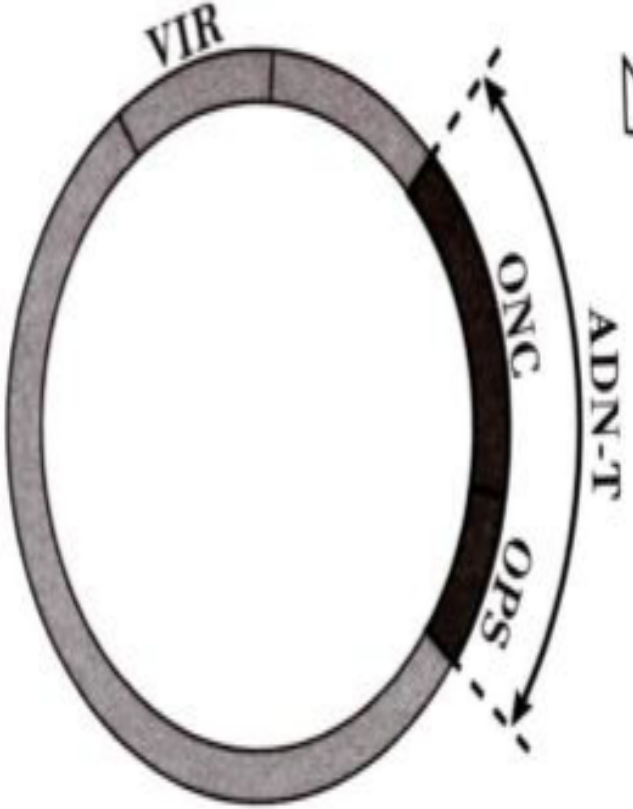
- 1/ البلاسميد Ti (محرض للورم Tumor inducing) هو المسؤول عن التغيير الوراثي لقدرته على الإنتقال من البكتيرية At الى خلايا النبات مما يكسبه صفة التكاثر العشوائي .

3- الخريطة الوراثية للبلاسميد

Ti



(أ) بكتيرية Agrobacterium tumefaciens



(ب) الخريطة الوراثية للبلاسميد Ti

(ج) صورة مجهرية للبلاسميد Ti

VIR: المورثة المسؤولة عن انتقال ADN-T الى الخلية النباتية على مستوى السنخ

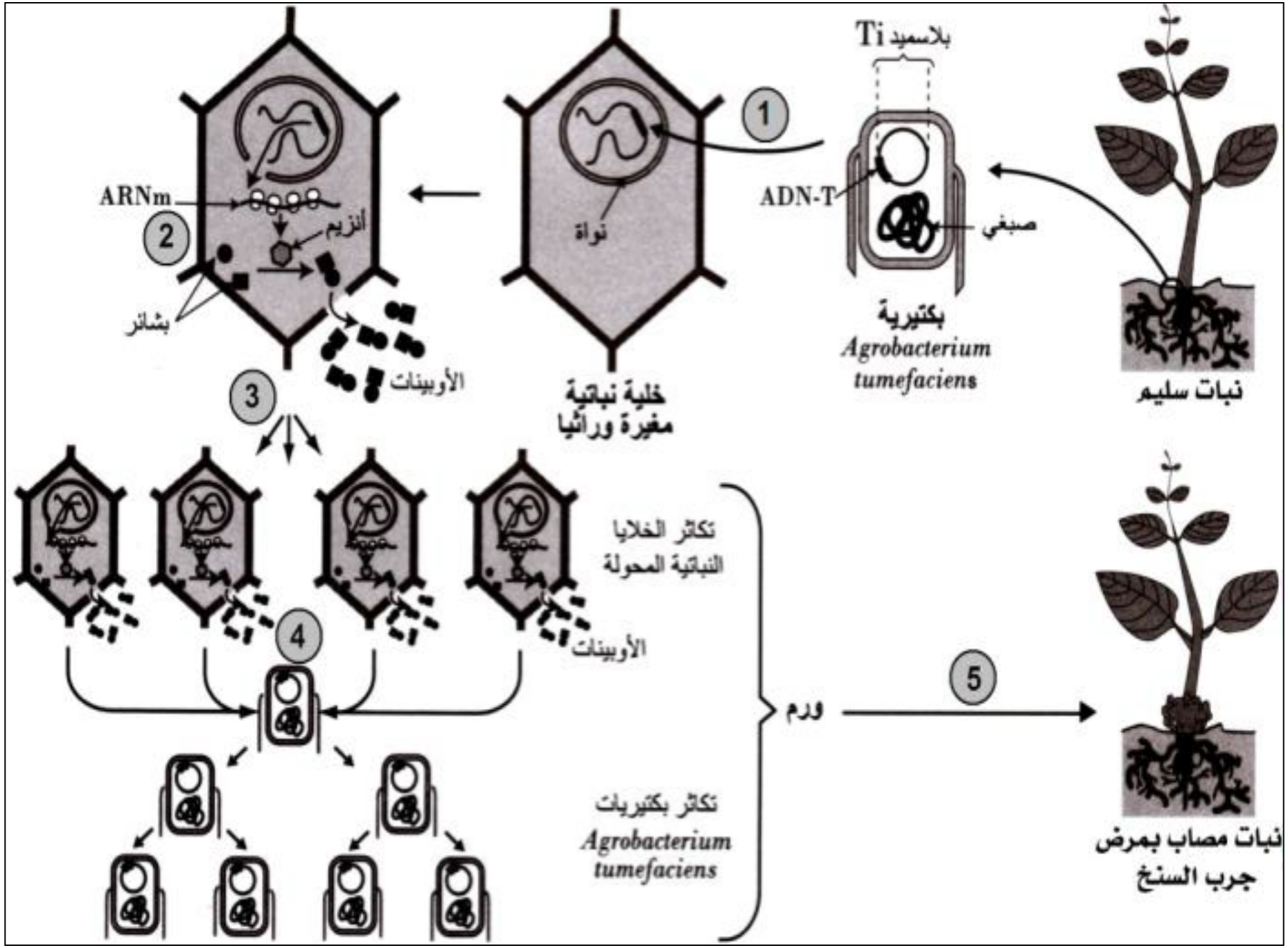
ONC: المورثة المسؤولة عن التكاثر الخلوي

OPS: المورثة المسؤولة عن تركيب مادة الاوبين (الاوبينات تحتاج اليها بكتيريات At)

2/ البلاسميد Tiيشتمل على المورثات التالية:

- ADN-T نسبة الى Transferred
و هو الجزء الذي ينتقل الى ADN
الخلايا النباتية و يندمج في ذخيرتها
الوراثية و هو الذي يرمز لمورثات مسؤولة
) و التكاثرOPSعن تركيب الأوبينات (
). ONCالعشوائي (
- المظفرة OCC المسؤولة عن هدم

4- آلية التغيير الوراثي


Ti بلاسميد
1
ADN-T
صبغي
بكتيرية
Agrobacterium
tumefaciens
نبات سليم
نواة
خلية نباتية
مغيرة وراثيا
ARNm
2
انزيم
بشائر
الأوبينات
3
تكاثر الخلايا
النباتية المحولة
الأوبينات
4
تكاثر بكتيريات
Agrobacterium
tumefaciens
ورم
5
نبات مصاب بمرض
جرب السنخ

3/ مراحل التغيير الوراثي الطبيعي:

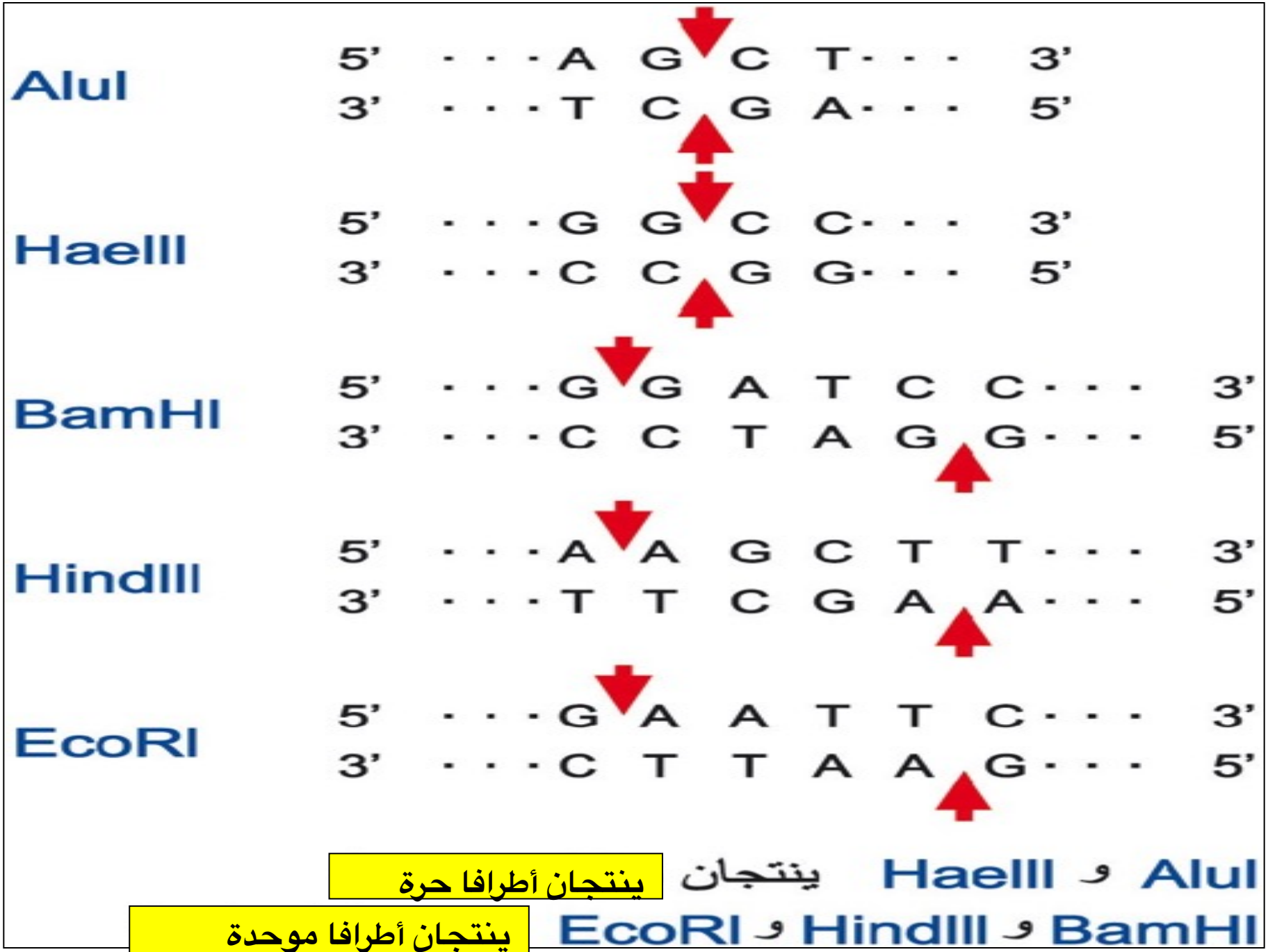
تحقن البكتيرية جزءا من البلاسميد(Ti(ADNT
في الخلية النباتية و التي تدمجه ضمن دخيرتها الوراثية يبدأ ADNT في التعبير مما يمنح الخلية النباتية القدرة على تركيب الأوبينات الموجهة لفائدة At و تركيب الأونكوجين المسببة لحدوث الورم في سنخ النبتة .

تكتسب النبتة صفتين جديدتين:الورمية(جرب

تقنيات الهندسة الوراثية -II

1- عزل المورثات

1-1أنزيمات الفصل


AluI
5’ - - - A G C T - - - 3’
3’ - - - T C G A - - - 5’
HaeIII
5’ - - - G G C C - - - 3’
3’ - - - C C G G - - - 5’
BamHI
5’ - - - G G A T C C - - - 3’
3’ - - - C C T A G G - - - 5’
HindIII
5’ - - - A A G C T T - - - 3’
3’ - - - T T C G A A - - - 5’
EcoRI
5’ - - - G A A T T C - - - 3’
3’ - - - C T T A A G - - - 5’
ينتجان AluI و HaeIII
ينتجان أطرافا حرة
ينتجان BamHI و HindIII و EcoRI
ينتجان أطرافا موحدة

يتم عزل المورثة المراد نقلها بواسطة أنزيمات الفصل.

أنزيم الفصل بروتين بكتيري يقطع ADN في مواقع محددة بدقة حيث تتعرف على تسلسلات دقيقة من القواعد الآزوتية و تقطع الجزيئة في مستواها .

بعد القطع تحرر أطراف موحدة أو أطراف حرة .

ملحوظة:يحمل كل أنزيم فصل إسم النوع

ECORI تنتجه بكتيرية Echerichia coli

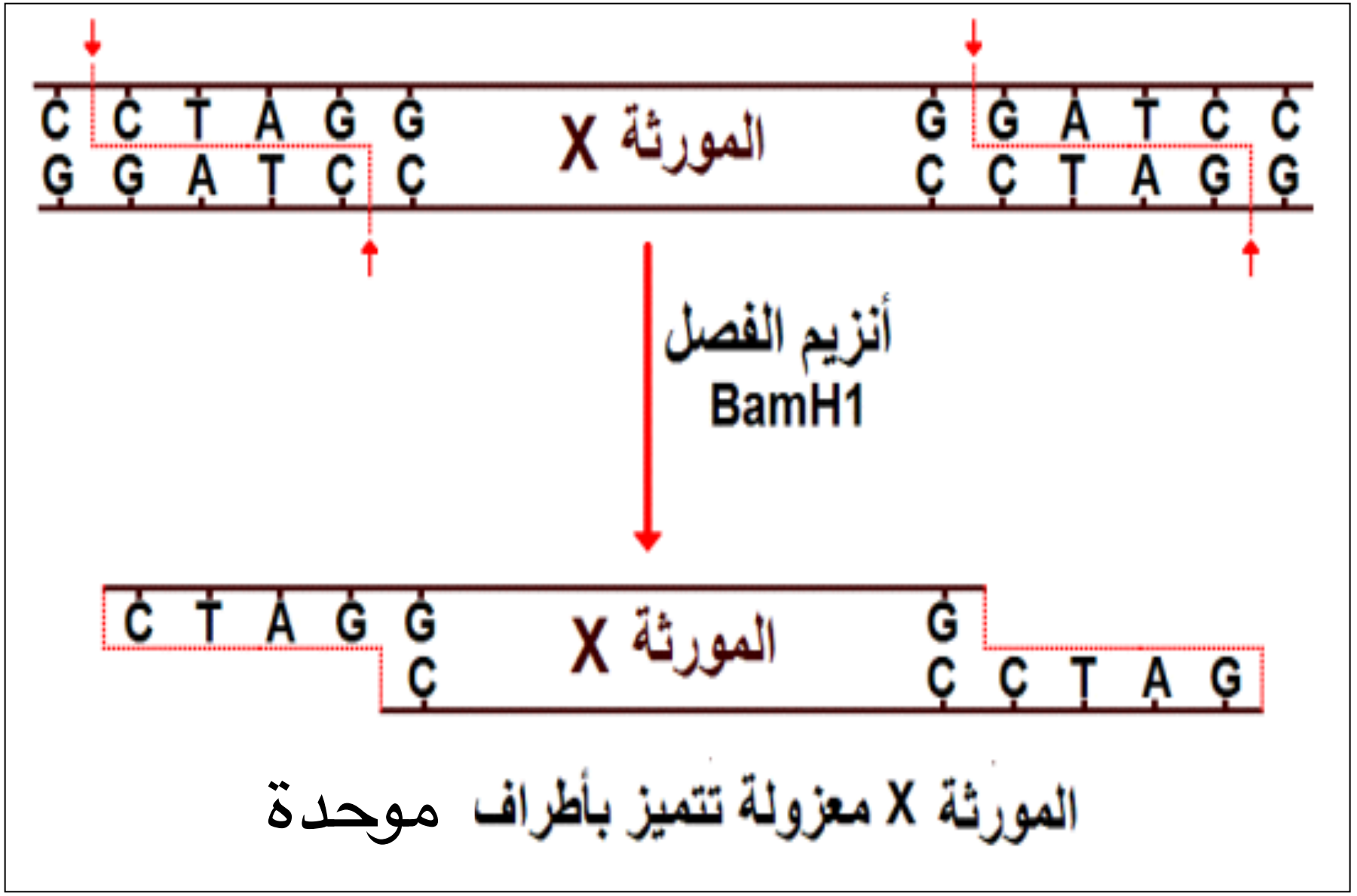
و يقطع بدقة بين القاعدتين G و A على مستوى التسلسل GAATTC

CTTAAG

BAMHI تنتجه Bacillus amylolitiquefaciens

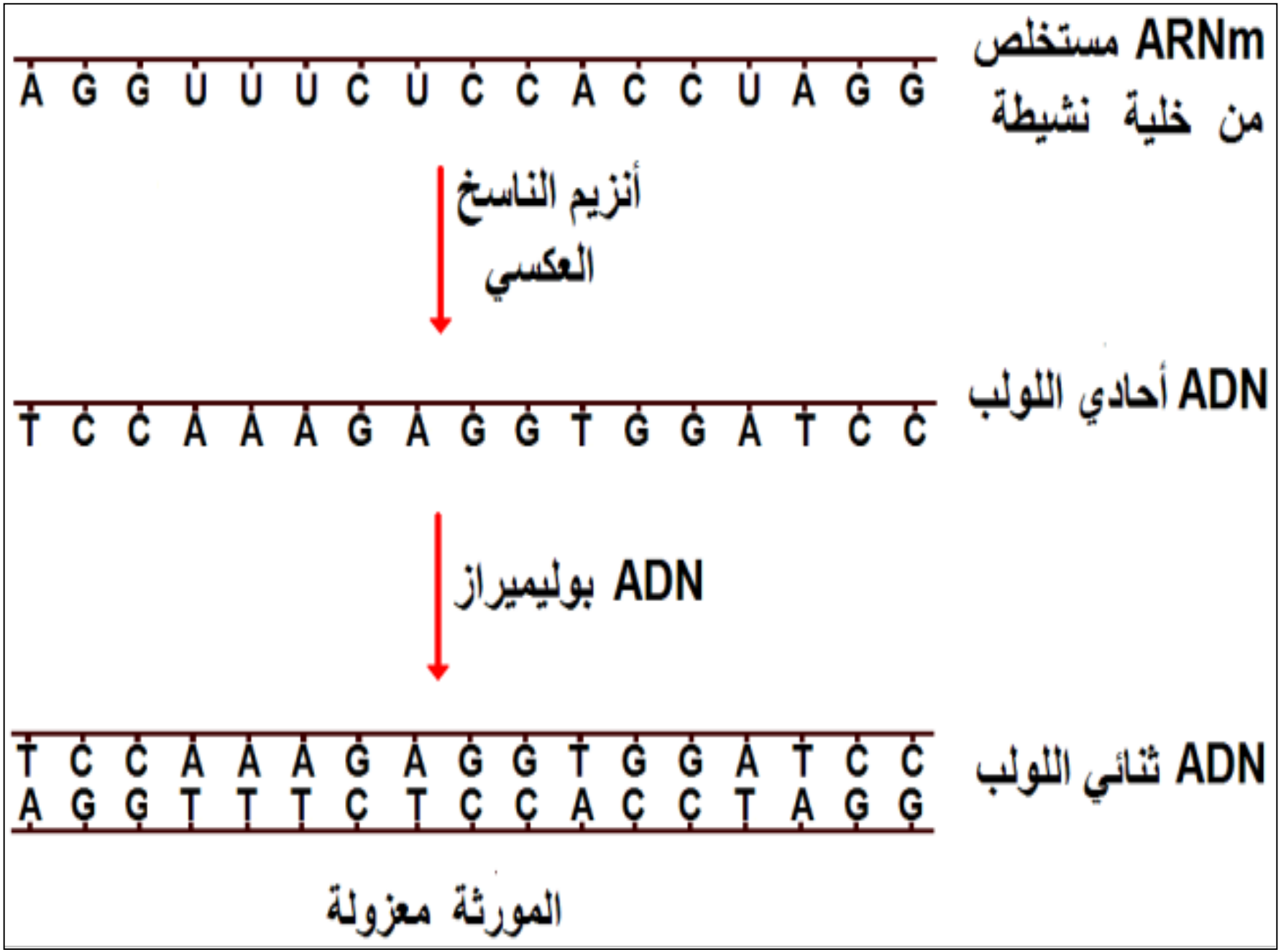
و يقطع بدقة بين القاعدتين G و G على مستوى التسلسل GGATCC

CCTAGG



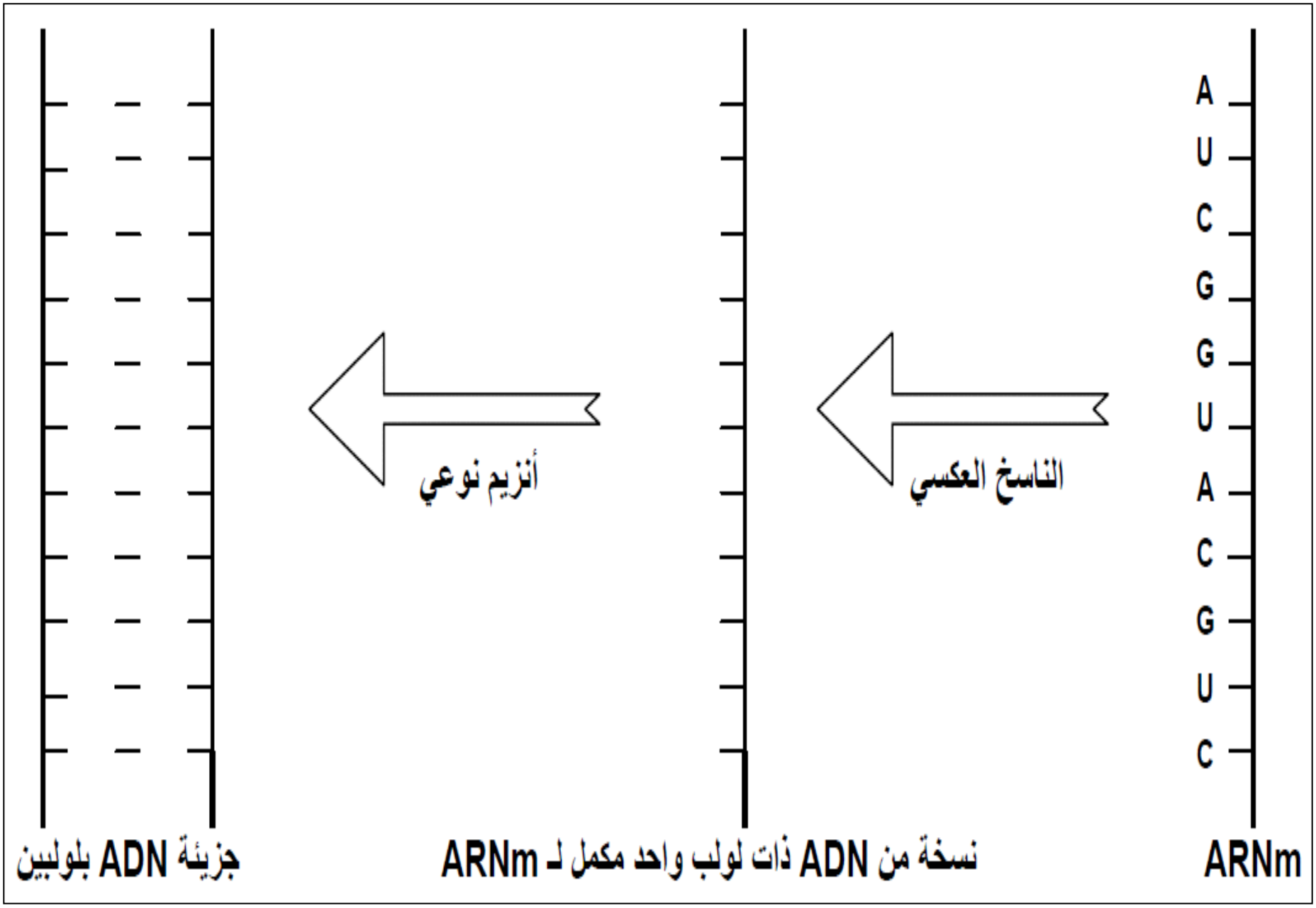
المورثة X معزولة تتميز بأطراف موحدة

1-2 الناسخ العكسي

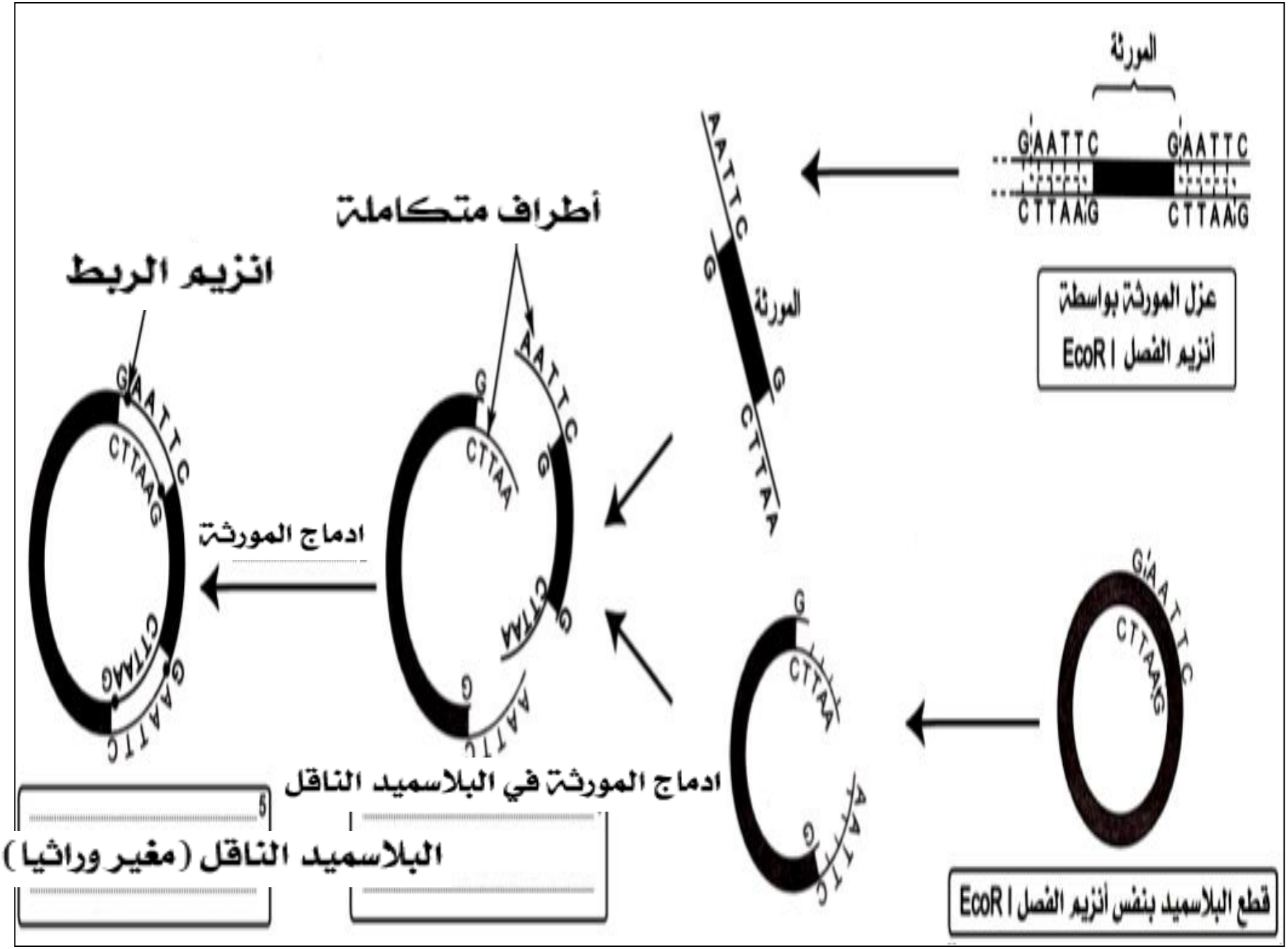

ARNm مستخلص من خلية نشيطة
A G G U U U C U C C A C C U A G G
أنزيم الناسخ العكسي
ADN أحادي اللولب
T C C A A A G A G G T G G A T C C
ADN بوليميراز
ADN ثنائي اللولب
T C C A A A G A G G T G G A T C C
A G G T T T C T C C A C C T A G G
المورثة معزولة

الناسخ العكسي هو أنزيم يعمل على تركيب لولب ADN منفرد يسمى ADNc (ADN مكمل) انطلاقا من جزيئة ARN . نتكلم عن ظاهرة النسخ العكسي .

بوليميراز تعمل بعد ذلك على بناء ADN للحصول ADNc اللولب المقابل لجزيئة


A
U
C
G
G
U
A
C
G
U
C
الناسخ العكسي
أنزيم نوعي
جزيئة ADN بلولبين
نسخة من ADN ذات لولب واحد مكمل لـ ARNm
ARNm

2- دمج المورثة في الخلية العائلة


المورثة
G AATTC
CTTAA G
عزل المورثة بواسطة
أنزيم الفصل EcoR I
أطراف متكاملة
انزيم الربط
ادماج المورثة
قطع البلاسميد بنفس أنزيم الفصل EcoR I
ادماج المورثة في البلاسميد الناقل
البلاسميد الناقل (مغير وراثيا)

يستعمل البلاسميد (ADN حلقي) كناقل بيولوجي لإدماج المورثة المرغوبة في الخلية العائلة عبر المراحل التالية :

1- قطع المورثة المرغوبة بأنزيم الفصل

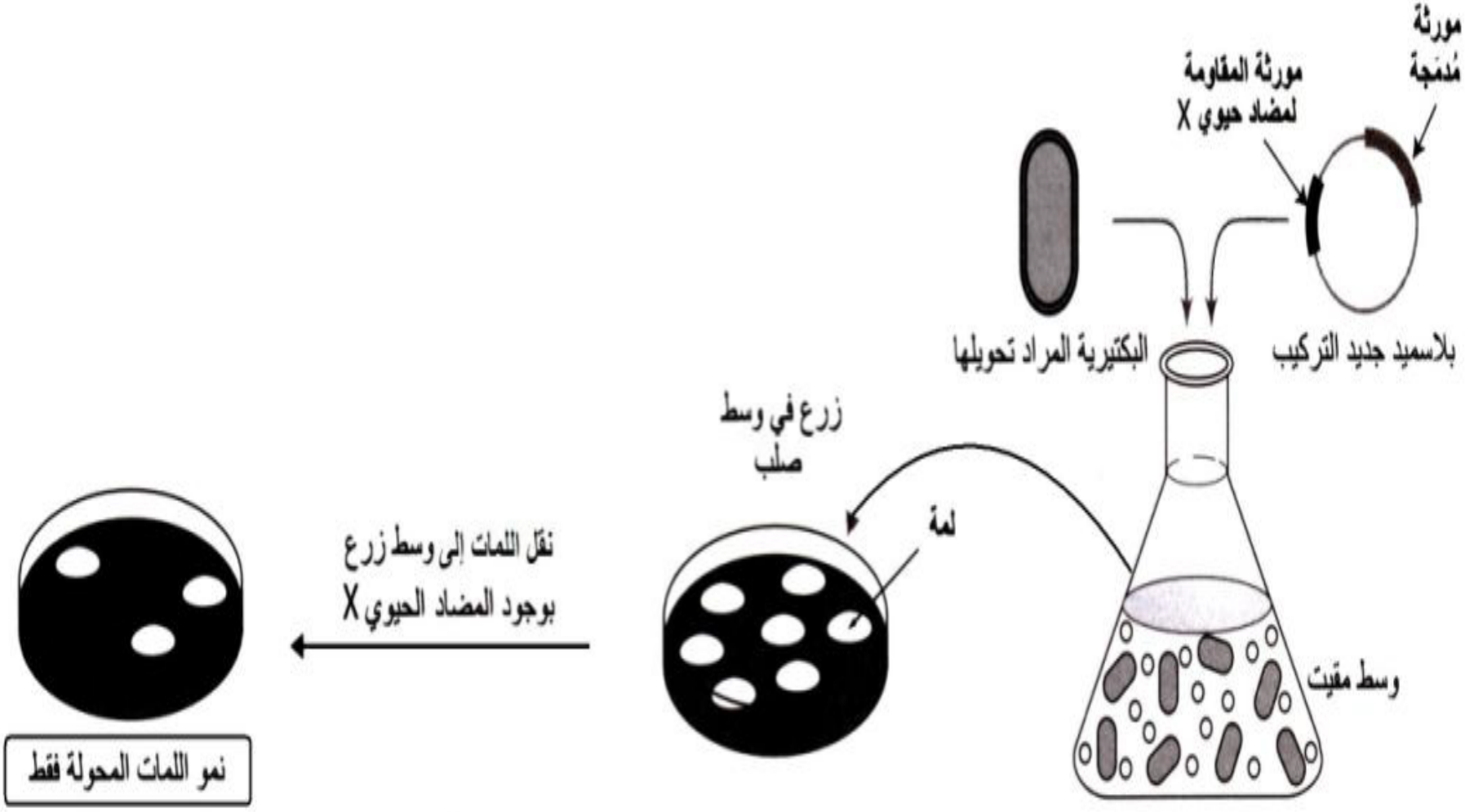
2- قطع البلاسميد بنفس أنزيم الفصل

3- دمج المورثة في البلاسميد بواسطة أنزيم الربط

4- إضافة البلاسميد المؤشر إلى

3- رصد الخلايا المغيرة وراثيا

لرصد وانتقاء البكتيريـــات المدمِجة للبلاسميـــدات جديدة التركيب وعزلها عن البكتيريات الأخرى، يمكن الاعتماد على خاصية **المقاومة لمضاد حيوي**، بإضافة هذا الأخير لوسط الزرع.



لرصد الخلايا المغيرة وراثيا نقوم باستعمال بلاسميد ناقل يتوفر على مورثة «مقاومة مضاد حيوي» بالإضافة للمورثة المرغوبة.

عند دخول هذا البلاسميد الى الخلية العائلة(بكتيرية) تصبح مغيرة وراثيا و مقاومة للمضاد الحيوي.

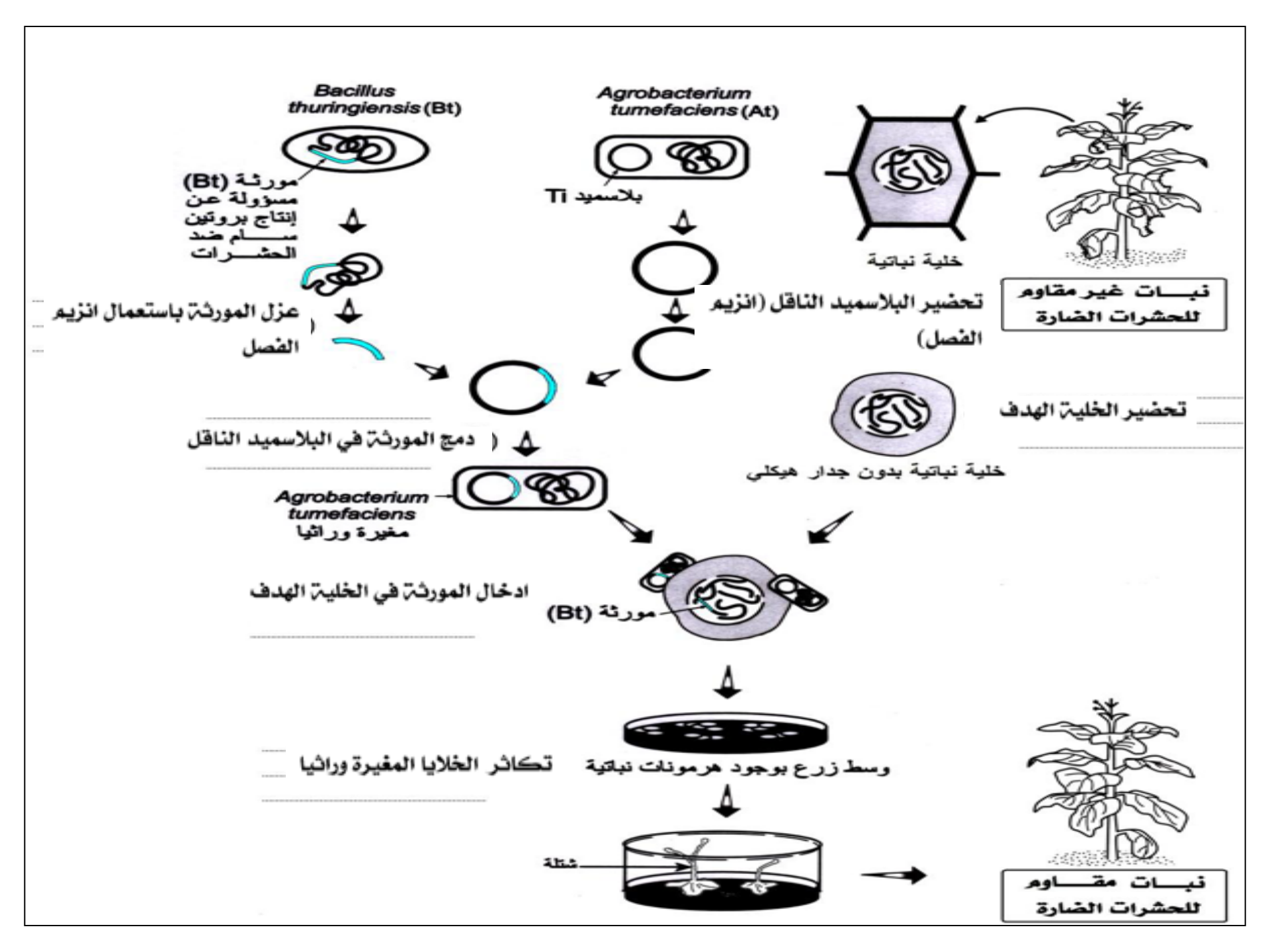
يتم زرع البكتيريات في وسط زرع بوجود

ملحوظة:

يتم تلميم البكتيريات المغيرة وراثيا حيث يتم زرع البكتيريات و الحصول على لمات أي عدة مستعمرات بكتيرية.

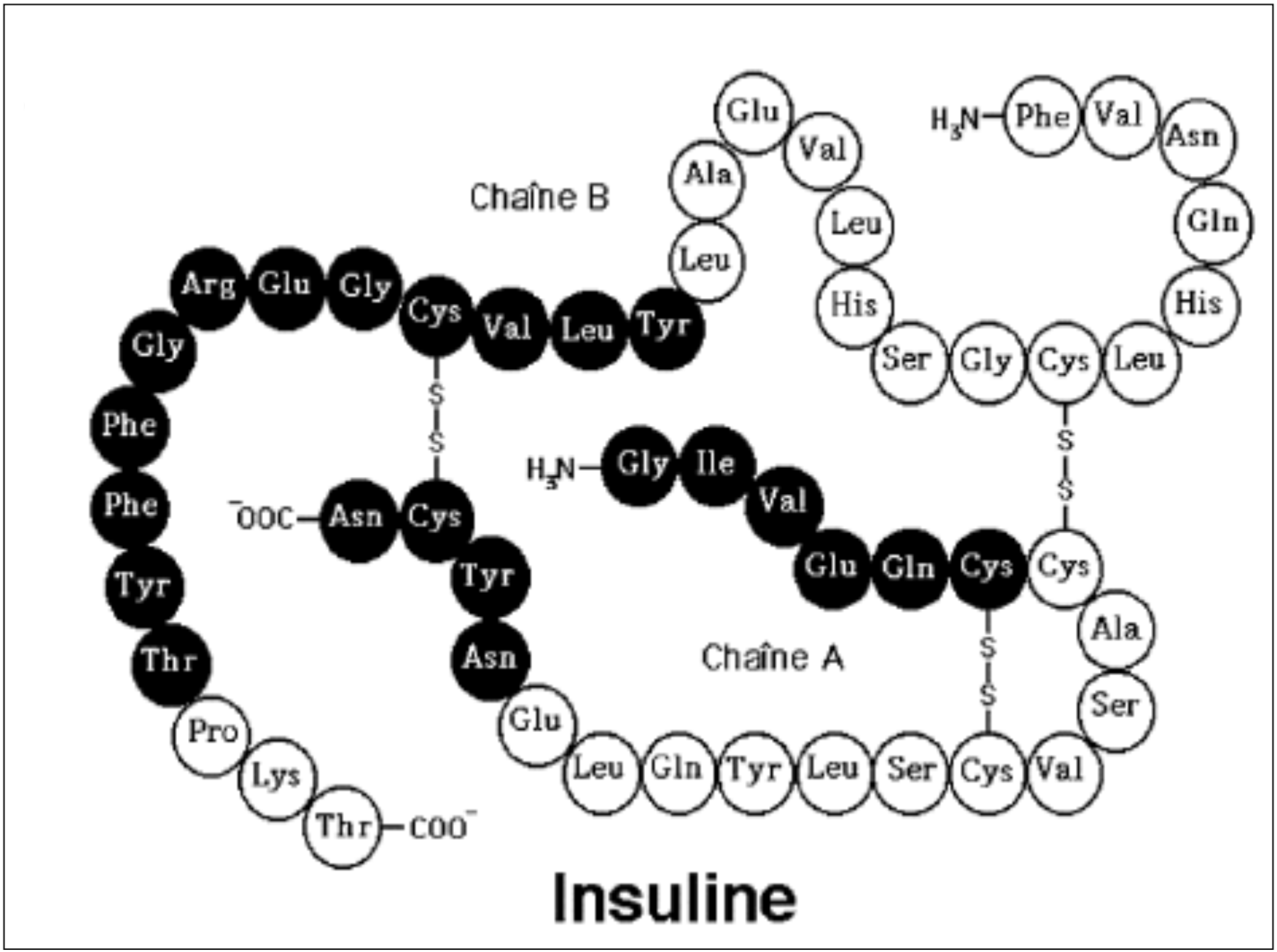
تطبيقات الهندسة الوراثية -II

1- الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة ضد الحشرات الضارة

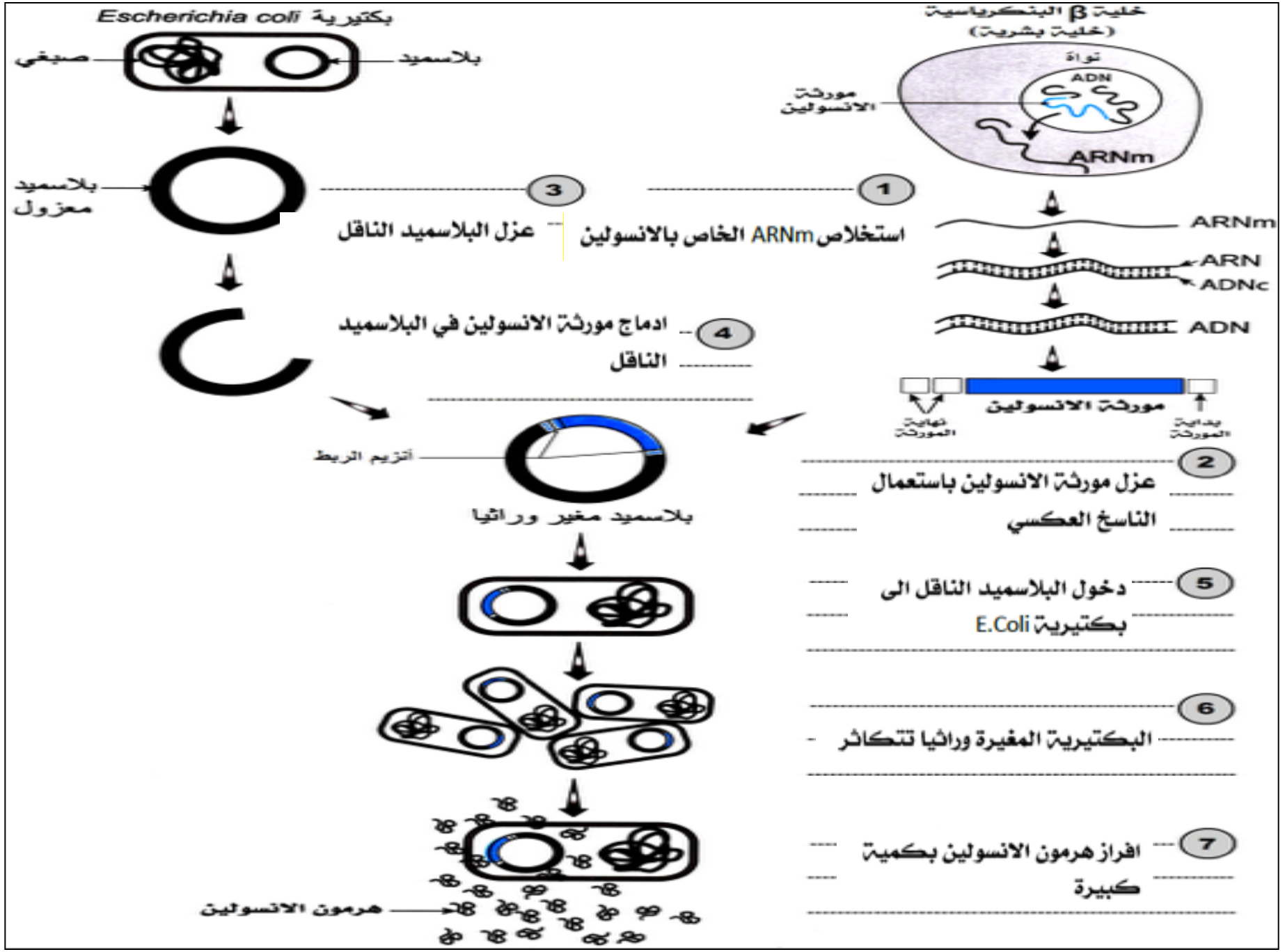

Bacillus thuringiensis (Bt)
Agrobacterium tumefaciens (At)
مورثة (Bt) مسؤولة عن إنتاج بروتين سام ضد الحشرات
بلاسميد Ti
خلية نباتية
نبات غير مقاوم للحشرات الضارة
عزل المورثة باستعمال انزيم الفصل
تحضير البلاسميد الناقل (انزيم الفصل)
تحضير الخلية الهدف
خلية نباتية بدون جدار هيكلي
دمج المورثة في البلاسميد الناقل
Agrobacterium tumefaciens مغيرة وراثيا
ادخال المورثة في الخلية الهدف
مورثة (Bt)
وسط زرع بوجود هرمونات نباتية
تكاثر الخلايا المغيرة وراثيا
شتلة
نبات مقاوم للحشرات الضارة

- عزل المورثة بواسطة أنزيم الفصل
- قطع البلاسميد بنفس أنزيم الفصل
- دمج المورثة في البلاسميد الناقل بأنزيم الربط
- دمج البلاسميد المغير وراثيا في بكتيرية عائلة
- تحضير خلايا نباتية بدون جدار هيكلي أو بروتوبلاست.
- إدخال المورثة المرغوبة في البروتوبلاست
- تكاثر الخلايا النباتية المغيرة وراثيا

2- الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري


Chaîne B
Chaîne A
Glu
Val
Ala
Leu
Leu
His
Ser
Gly
Cys
Leu
His
Gln
Asn
Val
Phe
H3N
Arg
Glu
Gly
Cys
Val
Leu
Tyr
Gly
Phe
Phe
Tyr
Thr
Pro
Lys
Thr
COO
OOC
Asn
Cys
Tyr
Asn
Glu
H3N
Gly
Ile
Val
Glu
Gln
Cys
Cys
Ala
Ser
Leu
Gln
Tyr
Leu
Ser
Cys
Val

Insuline


بكتيرية Escherichia coli
صيغي
بلاسميد
بلاسميد معزول
خلية β البنكرياسية
(خلية بشرية)
نواة
ADN
مورثة الانسولين
ARNm
1
استخلاص ARNm الخاص بالانسولين
3
عزل البلاسميد الناقل
ARNm
ARN
ADNc
ADN
مورثة الانسولين
نهاية المورثة
بداية المورثة
2
عزل مورثة الانسولين باستعمال
الناسخ العكسي
4
ادماج مورثة الانسولين في البلاسميد
الناقل
أنزيم الربط
بلاسميد مغير وراثيا
5
دخول البلاسميد الناقل الى
بكتيرية E.Coli
6
البكتيرية المغيرة وراثيا تتكاثر
7
افراز هرمون الانسولين بكمية
كبيرة
هرمون الانسولين

- استخلاص ARNm الخاص بالأنسولين

- عزل مورثة الأنسولين بالنسخ العكسي

- عزل البلاسميد الناقل وفتحه بأنزيم الفصل

- دمج مورثة الأنسولين ضمن البلاسميد الناقل

- إدخال البلاسميد المغير في بكتيرية