مقدمة فى

علم الوراثة والهندسة الوراثية

لطلاب كلية الزراعة والطب البيطرى

(الجزء النظرى)

إعداد

قسم الوراثة

كلية الزراعة - جامعة القاهرة

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

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

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

وقد فتحت هذه التقنية أمالاً 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

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

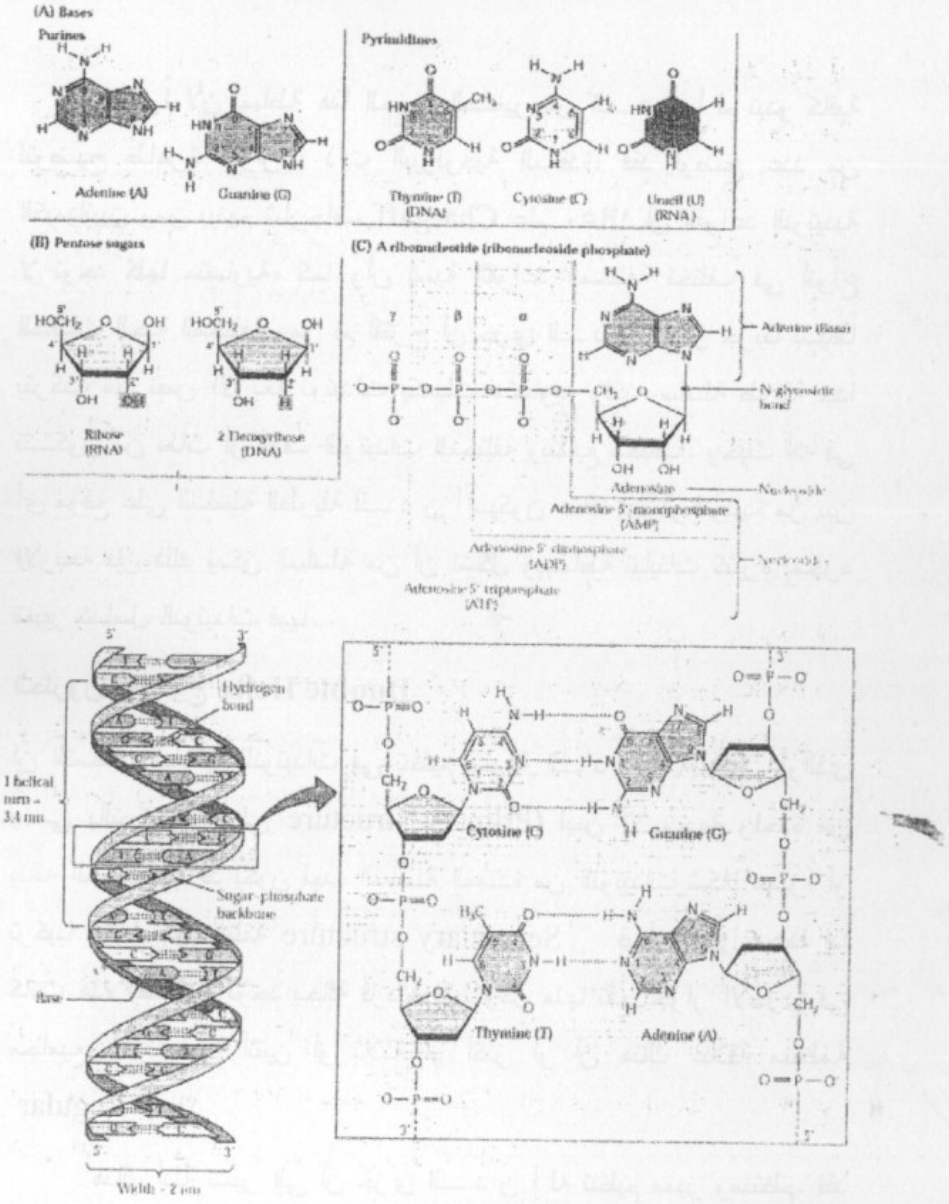
يعتبر فردريك ميتشر Friedrick Miescher عام ١٨٦٩ أول من فكر فى البحث عن البناء الكيميائى للمادة الوراثية فى نواة الخلية التى فصلها عن السيتوبلازم واستطاع أن يستخلص منها خليط من المركبات أسماه النيوكليين Nuclein وأن المكون الأعظم من النيوكليين يحتوى على كمية كبيرة من الفسفور ولهذا أطلق عليه فيما بعد الحامض 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.



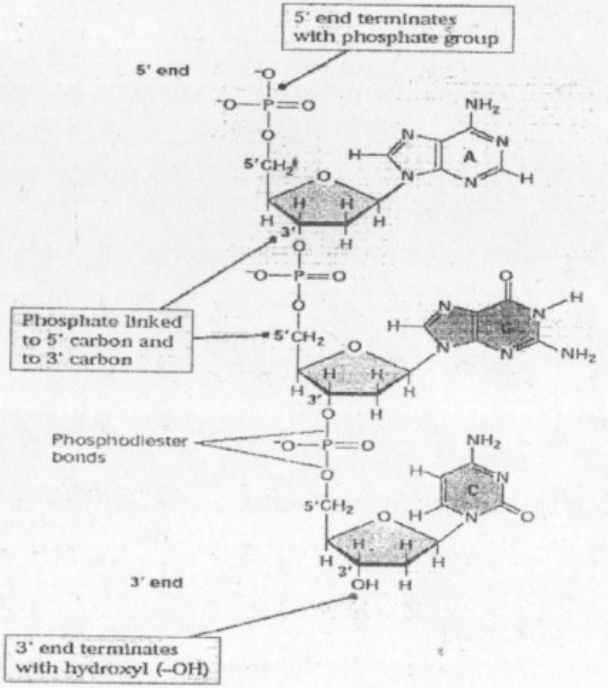
شكل (١-١):البناء الكيميائى للأحماض النووية

وترتبط مجموعة الفوسفات بالسكر فى كل نوتيدة عند ذرة الكربون (٥) والتى تسمى بالمـوقع (Five prime)، ويمكن تسمية ذلك بالفوسـفات السـكرى أو السـكر 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

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 الـــ 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 الـــ د ن أ.

ونظراً لأن بساطة هذا الجزئ الصغير من الـــ 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 الـــ د ن أ ليس جزيئا بسيطاً يتركب من نفس الأربعة نوتيدات بكميات متساوية ولكنه سلسلة طويلة جداً تتـــكون من مئات أو آلاف النوتيدات المختلفة وبتتابع مختلف. وحيث أنه فى أى موقع على السلسلة الطويلة للـــ 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 الـــ 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 الـــ د ن أ له تنظيم مميز ومنتظم. فقد أوضح شارجاف Chargaff أنه كقاعدة عامة فإن عدد القواعد البيوريتية

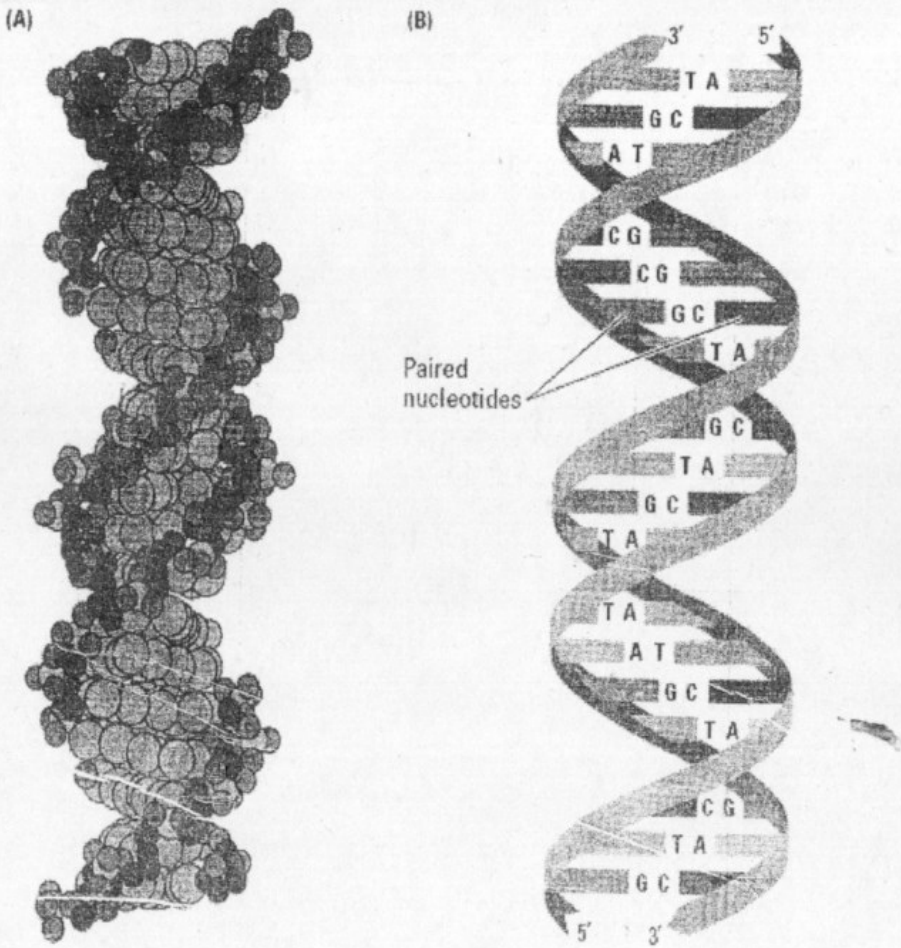
(أدنين + جوانين) (A+G) تساوى عدد القواعد البيريميدينية (ثيمين + سيتوزين) (C+T) وهناك تساو بين القواعد التى تحمل مجموعة الأمين فى الموقع رقم ٦ أو الموقع رقم ٤ (أدينين + سيتوزين) (A+C)، والقواعد التى تحمل مجموعة الكيتون فى الموقع رقم ٦ أو الموقع رقم ٤ (ثيمين +جوانين) (T+G) إضافة إلى ذلك فإن النسبة بين 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 الأحادية 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



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

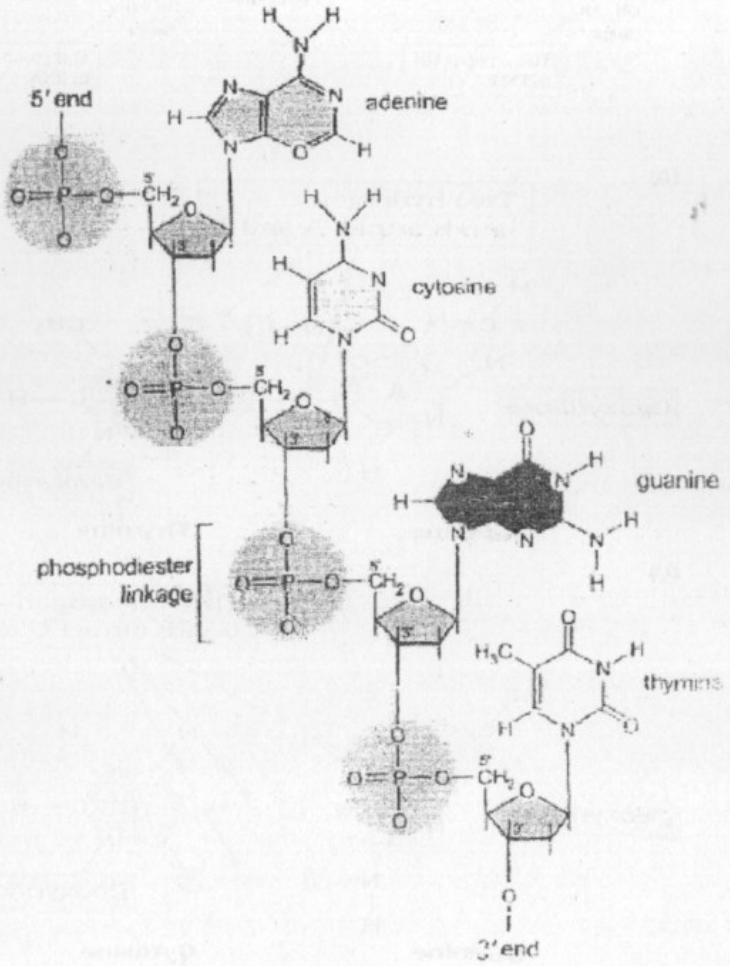
وبناء على هذا فإن جزئ الـــ د ن أ يتكون من سلسلة مزدوجة وتلتف السلسلتان داخليا حول بعضهما مكونة حلزوناً مزدوجا. وكل سلسلة أو شطرة عبارة عن خيط من النوتيدات الديوكسى ريبوزية متجمعة معا وكل نوتيدة تتكون من قاعدة بيورين أو بيريميدين مرتبطة بجزئ سكر ديوكسى ريبوزى (وهذا يسمى نوسيدة ديوكسية)، ترتبط بدورها 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 بيورينات 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).

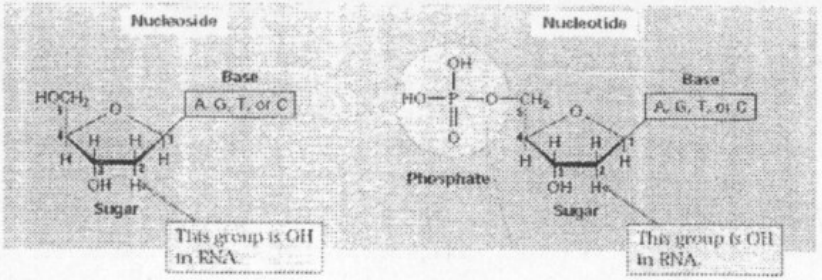
وفى حلزون الـــ د ن أ تكون القواعد موجهة داخليا فى كلا السلسلتين مما يجعل كل قاعدة فى سلسلة ما تزدوج أو تتقابل مع القاعدة فى السلسلة المقابلة وذلك من خلال روابط هيدروجينية ضعيفة. وتكون نهايات أو أطراف السلسلتين موجهتان تعاكسياً بمعنى أن اتجاه إحدى السلسلتين يكون ٣′ ← ٥′ والسلسلة الأخرى يكون إتجاهها ٥′ ←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.

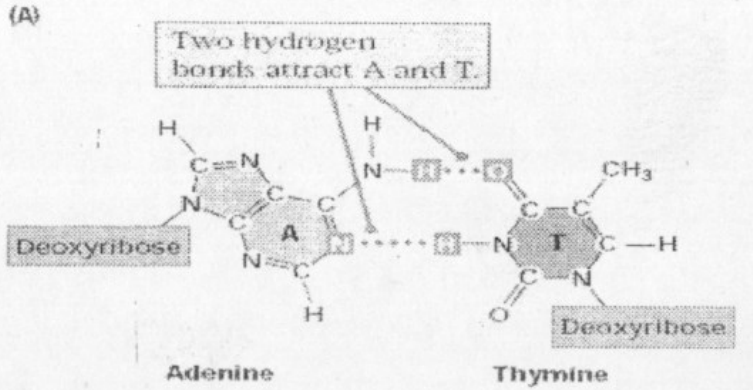
ويتم الازدواج بين A-T عن طريق رابطتين من الهيدروجين أما بين G-C فيتم ذلك عن طريق ثلاثة روابط هيدروجينية. والحلزونات المزدوجة الغنية فى G-C أكثر ثباتا عن تلك الغنية فى A-T ويمكن استخدام درجة الحرارة التى يتفكك أو يتحلل عندها جزئ الـــ د ن أ إلى سلسلتين مفردتين كدليل على مدى محتواه من القواعد فكلما زادت 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

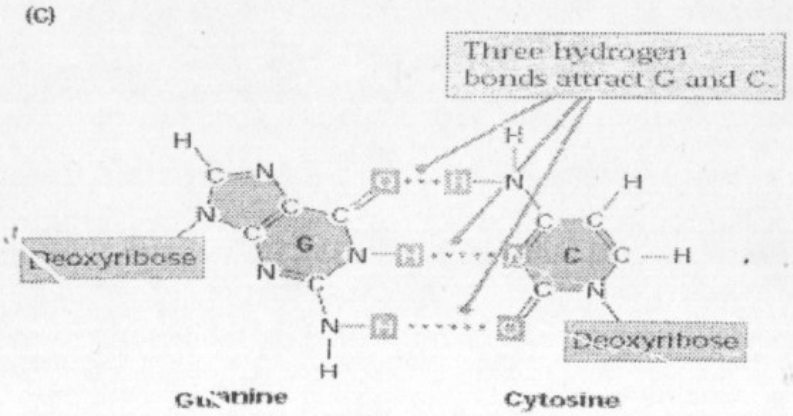
السلسلة الأخرى. ويوضح شكل (١-٥) ازدواج القواعد كما يوضح شكل (١-٦) تخطيطاً مبسطاً لبناء السلسلة المزدوجة لـــ د ن أ.



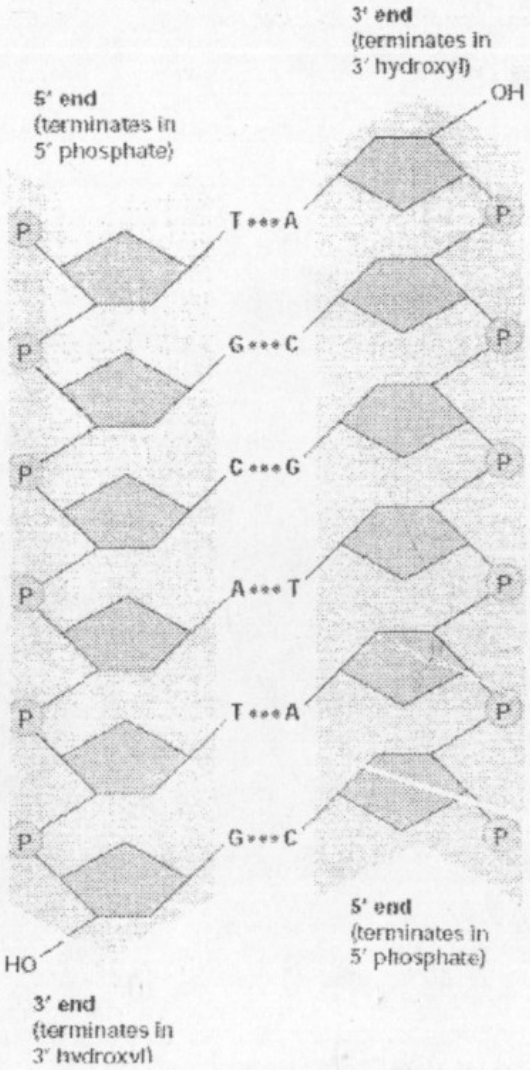
شكل (١-٤) يوضح تركيب سلسلة الـــ د ن أ







شكل (١-٥) ازدواج القواعد



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

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 ≡ 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.

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.

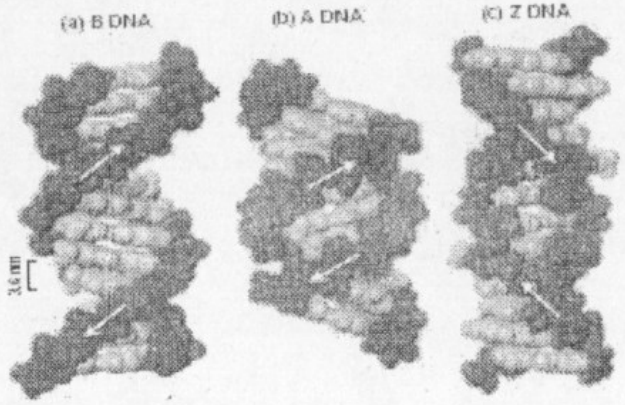
الحلزون المزدوج يمكن أن يتواجد بصور مختلفة:

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 E- & Z- & C- & D- 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

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.

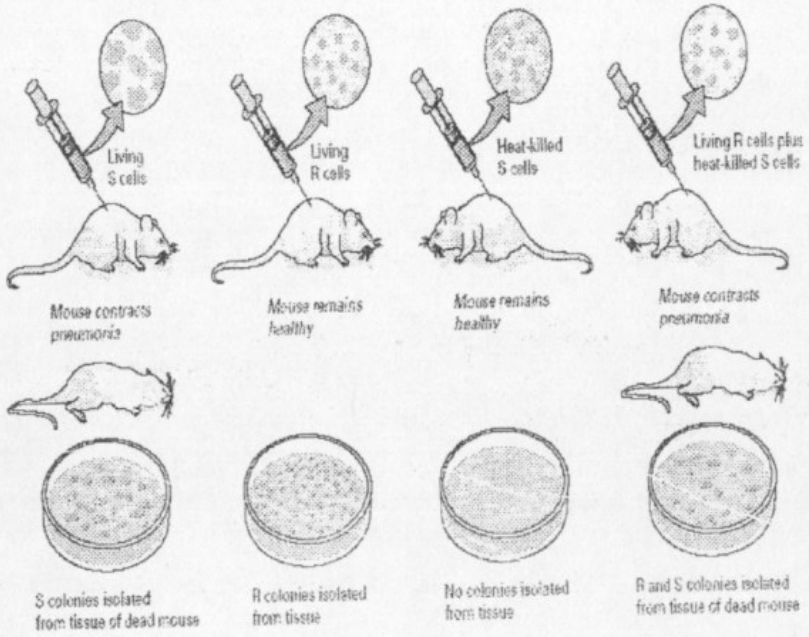
واعتقد جريفيث أن SIII المقتولة بالمعاملة الحرارية لسبب أو لآخر أعيدت اليها الحياة ولكن هذا لم يكون مقنعاً ثم فكر فى أنها قد تكون نتيجة لحدوث طفرة، ولكن معدل ظهور أفراد SIII كان أعلى بكثير عما هو معروف عن معدل الطفور. وهكذا ظلت الفكرة على أنه بطريقة ما فإن الخلايا المقتولة بالمعاملة الحرارية أعطت خاصية 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

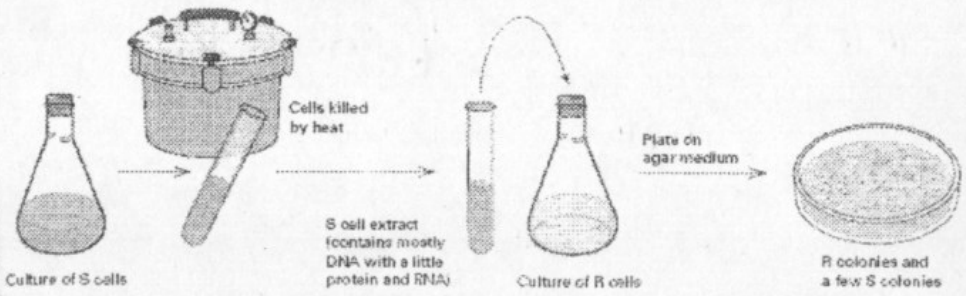
التحول وإثبات أنه د ن أ. وقد أجروا تجاربهم باختبار تأثير الأجزاء المختلفة لمستخلصات من الخلايا طراز SIII المقتولة بالمعاملة الحرارية والمحتوية على سكريات معقدة أو بروتينات أو ر ن أ – أو د ن أ وإضافتها إلى مزارع عليها بكتيريا حية من طراز RII . وبعد إضافة مصل به أجسام مضادة تتفاعل مع بكتيريا الطراز وجدوا 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 بإنزم 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.

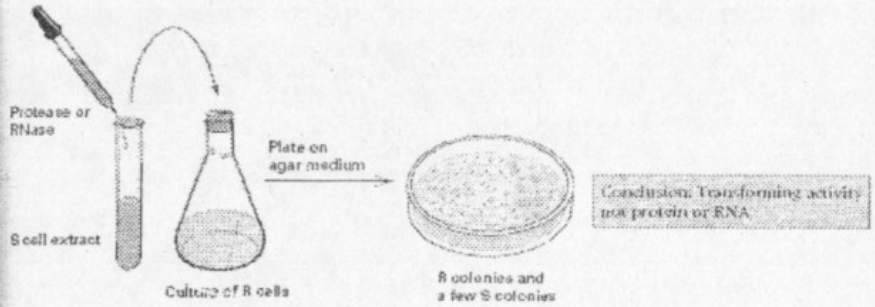


شكل رقم (١-٨): تجارب فردريك و جريفث

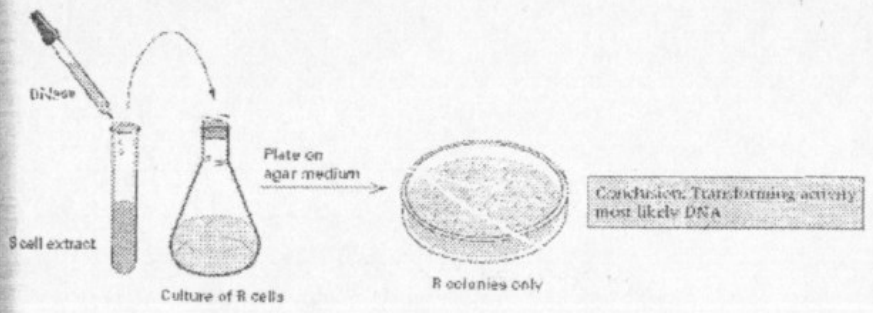
(A) The transforming activity in S cells is not destroyed by heat



(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 لسيوجينية 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.

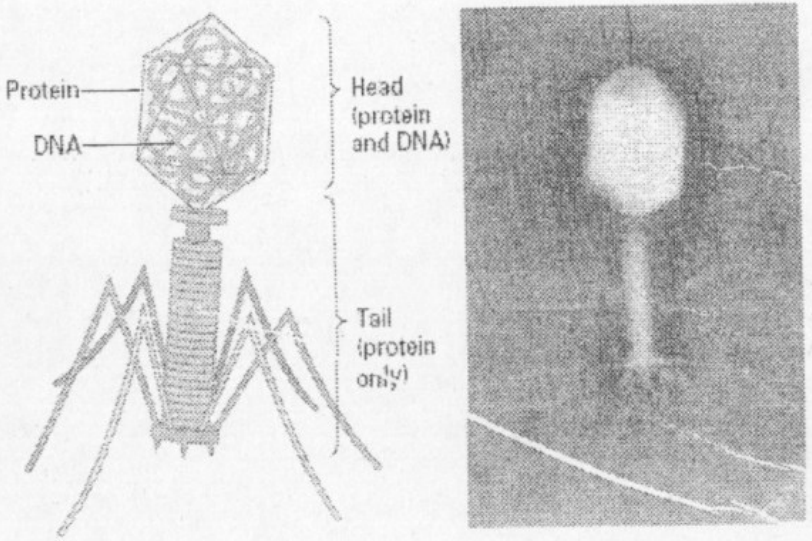
ووجد أن الخاصية الليسوجينية تعطى ميزة للبكتيريا. إذ أن وجود البروفاج بداخلها يجعلها تقاوم أى عدوى أخرى وتمنع النمو الخضرى لجسيمات فيروسية من نفس صنف البروفاج فمثلاً بكتيريا إ.كولاى *E. coli* والتى بداخلها بروفاج

(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.

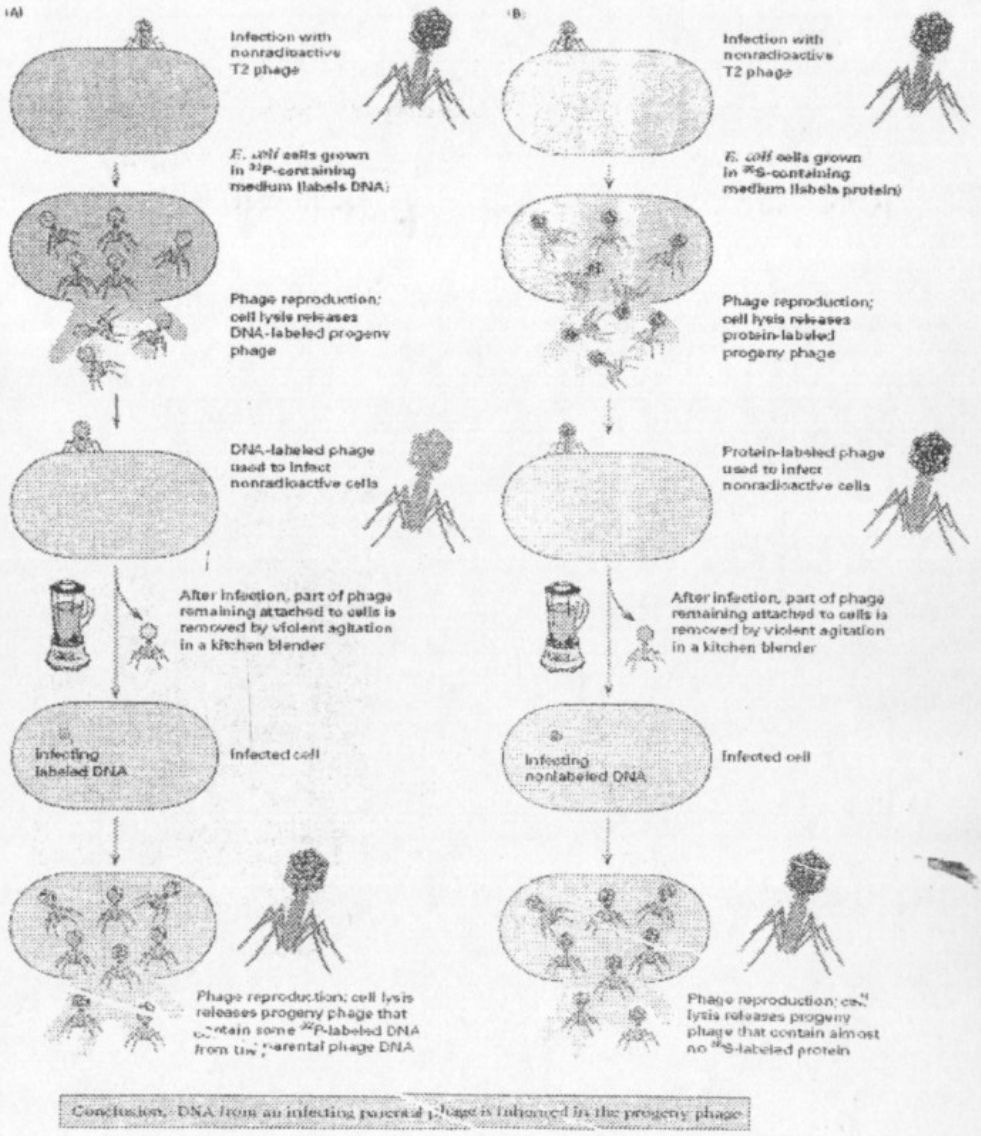
ويوجد للفاج رأس تغلف من الخارج بغلاف بروتينى وتحتوى بداخلها على د ن أ الفاج. وقد وجد أن معاملة البكتيروفاج بإنزيم الدينيز لا يؤثر على د ن أ الفيروس، لكن بعد تمزيق الغلاف البروتينى بصدمة أسموزية مثلا ثم المعاملة بالإنزيم يؤدى إلى الحصول على محلول يحتوى على حبيبات صغيرة من الـــ د ن أ... إضافة إلى الغلاف 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)

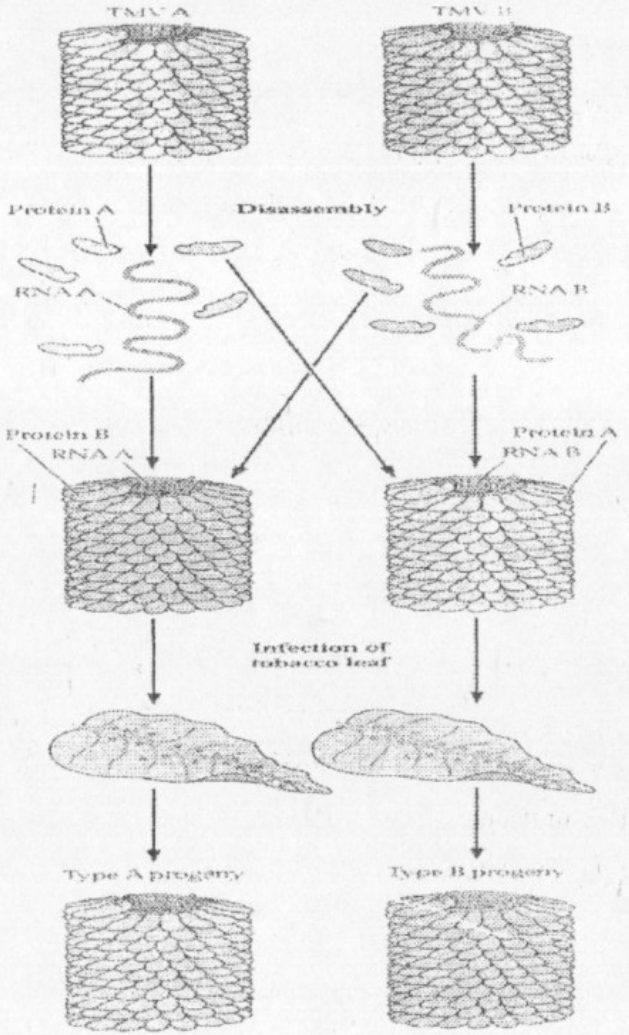


شكل رقم (١-١١) : تجارب هيرشي وتشيز.

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 الـــ ر ن أ وليس الـــ د ن أ الذى يوجد فى سلسلة مغلفة بغطاء بروتينى يساعد الفيروس على إحداث العدوى كما وأنه يحمى الـــ 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 الـــ ر ن أ ووجد أن البروتين بمفرده لا يستطيع إحداث العدوى المرضية للنبات ولكن خلطه مع الـــ 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 الـــ ر ن أ فى الأب وليس حسب بروتين الأب كما يوضح ذلك شكل رقم (١-١٢) وهذا يثبت أن الـــ ر ن أ فى الفيروس هو المادة الوراثية.



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.

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 الامينى 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 تكميلبتى 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 الاستقال 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 أأأ ث ث ....، وثانية ج أأأ ث ث .. ، وثالثة ج ث أأ 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. فبساطة نحن نعرض الفكرة ونقترح أن المعلومات الوراثية بجزئ مزدوج من الـــ د ن أ موجودة على شكل شفرة من تتابع النوتيدات على طول السلسلتين متحددتى النوتيدات.

لو أن الشفرة الوراثية منبثقة بالفعل من ترتيب النوتيدات فى جزئ الـ د ن أ لأستطعنا أن نتنبأ أن الأنواع المختلفة من الكائنات الحية المحتوية على معلومات وراثية مختلفة ستحتوى جزيئاتها من الـ د ن أ على تتابعات مختلفة للنوتيدات، فى حين أن جميع جزيئات الـ د ن أ من نفس النوع ستكون متطابقة وبالرغم من أن الطرق الكيموحيوية لم تتمكن خلال حقبة الخمسينات من تعيين تتابع قواعد الـ 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 الـ د ن أ المستخلصة من نوع ما، والـ 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 الـ د ن أ وفى أجزاء لاحقة سوف نوضح كيف يمكن نسخ وترجمة الشفرة الوراثية.

(ب) تناسخ الـ د ن أ DNA Replication

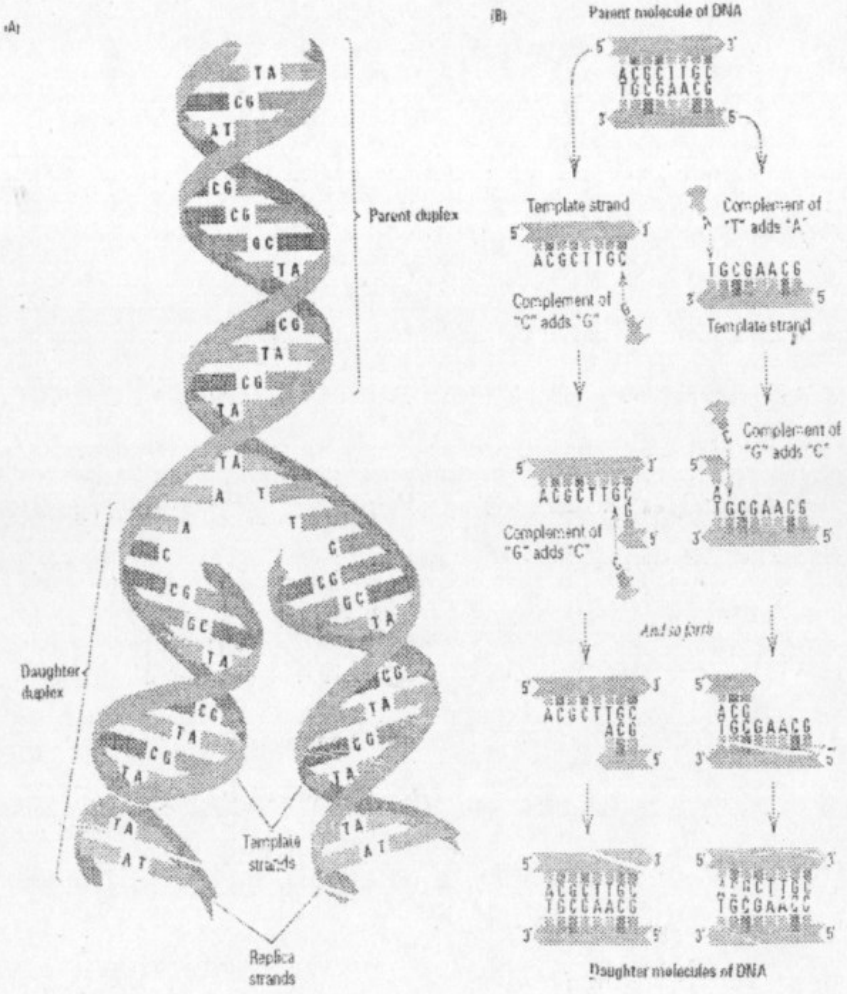
لقد أوحى نموذج الحلزون المزدوج الـ د ن أ طريقة دقيقة لتناسخه ذاتيا Self-replication. وهذه هى الخاصية الثانية فى قائمة خواص المادة الوراثية.

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 الـ 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 بروابط هيدروجينية 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

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.



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

(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 Messenger RNA (mRNA) وتقوم جزيئات الـــ ر ن أ حاملة الرسالة هذه بعدئذ بالاشتراك فى تصنيع متعددة الببتيدات. وسوف نناقش عمليات النسخ المتطابق والترجمة بشئ 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 الطفرة وظهور تراكيب جديدة هى الخاصية الرابعة للمادة الوراثية. ومن أول وهلة يمكن أن نتصور 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

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

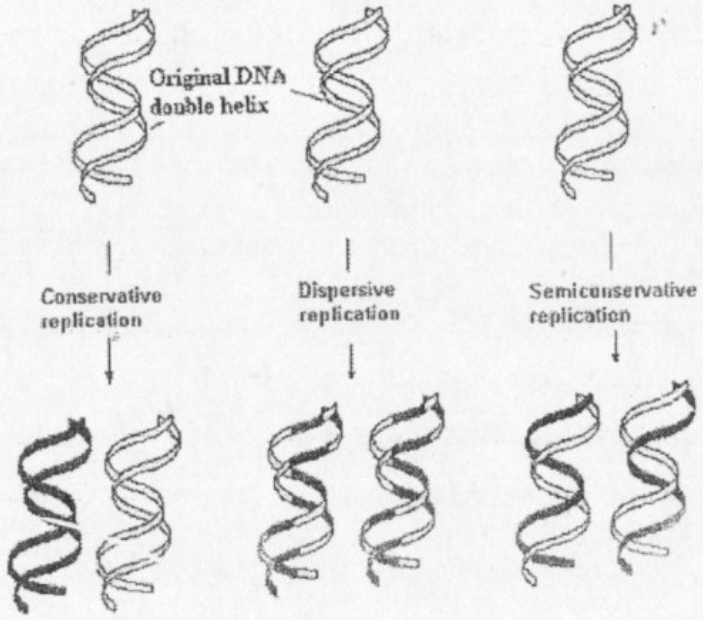
طريقة تناسخ الـــ د ن أ:

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

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.

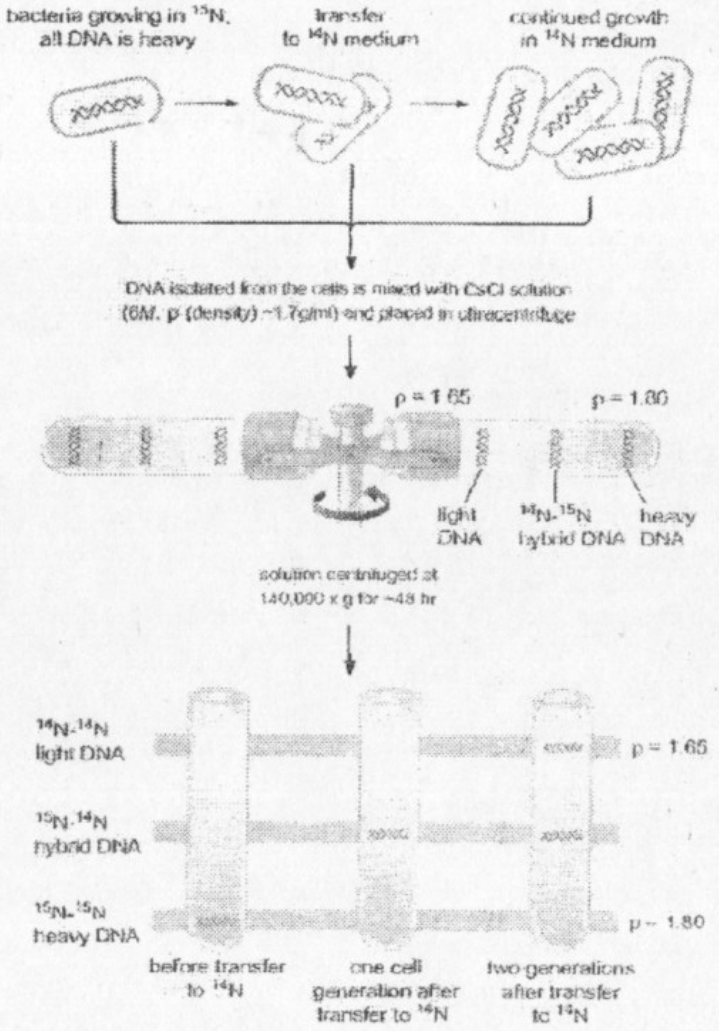
قام ميسلسون وشتال Meselson and Stahl عام ١٩٥٨ بتنمية بكتيريا إ. كولاى على بيئة تحتوى النيتروجين الثقيل (^{15}N) كمصدر وحيد للنيتروجين ولأجيال متعددة ثم استخلاص الـ د ن أ من الخلايا النامية فوجد أنه موسوم بـ ^{15}N . وبأخذ هذه الخلايا الموسومة الـ د ن أ وتنميتها على بيئة غير مشعة واستخلاص د ن أ خلايا 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 المنكون 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

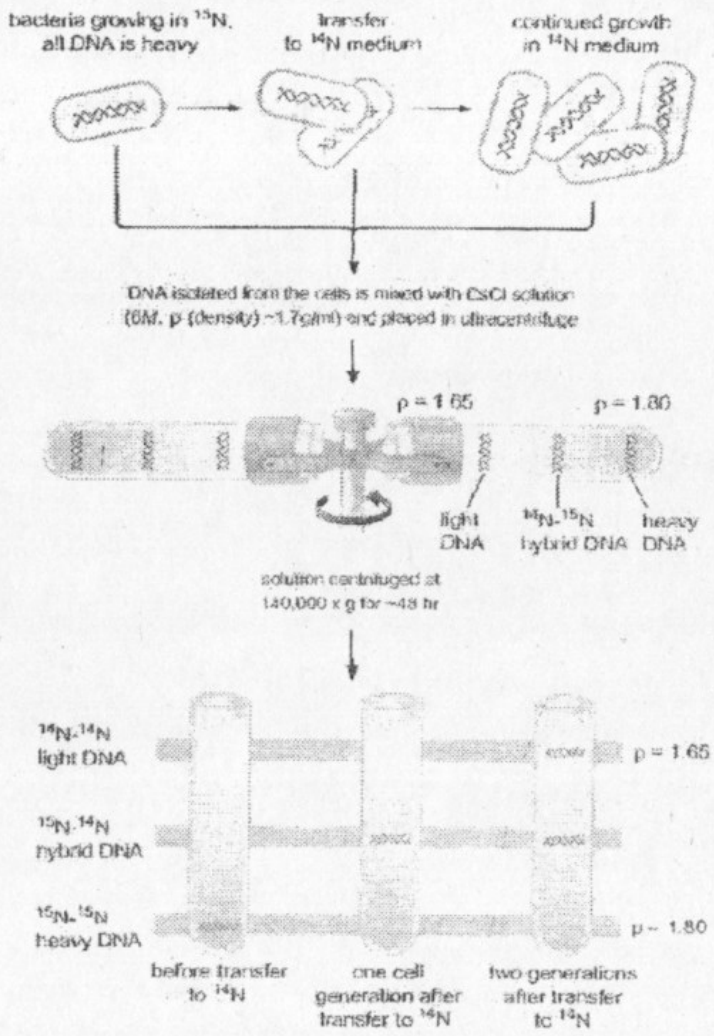
الذى يتخذه ^{14}N . وعلى أساس التكاثر بالطريقة شبه المحافظة، فبعد الجيل الثانى أى فى الوقت الذى تكاثر فيه الـ د ن أ مرة ثانية يجب أن يكون نصفه محتويا على ^{14}N والنصف الآخر هجينى وعليه ففى أنبوبة الطرد المركزى يجب مشاهدة شريطين من الـ د ن أ أحدهما يقع فى الموقع الوسطى (أى فى المكان بين الـ ^{15}N -DNA ، ^{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).



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



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

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 AT ATA ABU ABUA وأوضحت تجارب ويك وبلدوين Wake and Baldwin

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 الـ 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.

The Complex "Replication" Apparatus

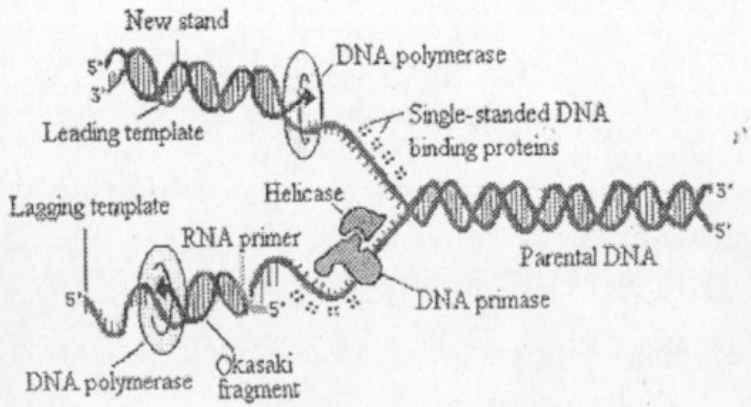
لقد أوضحت دراسات ميكانيكية تناسخ المادة الوراثية (د ن أ) أنها عملية معقدة، ما زال العلماء حتى الآن يحاولون التوصل إلى تفاصيل هذه الميكانيكية التى تتم بواسطة معقد متعدد الانزيمات والذى يسمى جهاز أو ماكينة التناسخ أو الريبليسوم Replication apparatus or Replisome ، وقد ابتدأ حديثاً فى التعرف على مكونات ماكينة التناسخ فى الكائنات مميزة النوى بعد أن وجد أنه فى بكتيريا القولون يحتاج تناسخ الـ د ن أ إلى نواتج ١٢ جيناً على الأقل، أمكن عزل وتنقية نواتج الكثير منها. كما سبق ذكره، فإن خيطى الـ د ن أ لهما قطبية متعاكسة أى أن أحدهما فى الاتجاه ٥′ → ٣′ والآخر فى اتجاه ٣′ → ٥′ كما أن كل انزيمات بلمرة الـ 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 الـ 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.

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

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.

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 الـ 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 الـ 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).

الـ DNA فى إ. كولاى

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

ج- البادئ ووصل قطع أوكازاكى ببعضها:

انزيم بلمرة الـ د ن أ (III) لا يستطيع أن يبدأ تصنيع الـ د ن أ فى عدم وجود بادئ Primer أى قطعة صغيرة من الـ د ن أ المزدوج ويختلف فى ذلك عن انزيم بلمرة الـ ر ن أ فكيف إذن يمكن أن يبدأ عملية تكوين الخيط الجديد من الـ 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 الـ ر ن أ وتستكمل بلمرة الـ د ن أ بواسطة أنزيم DNA polymerase III ويسمى انزيم بلمرة الـ 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 الـ ر ن أ الذى يعمل فى عملية النسخ Transcription ويعمل انزيم الـ Primase بالتعاون مع عدد من البروتينات الأخرى (٦ أو أكثر) مكونا مركبا يسمى الـ Primosome فى الخيط المتلكئ ويستمر إنزيم بلمرة الـ د ن أ (III) فى تكوين الـ د ن أ لمسافة قصيرة فقط حتى يصل إلى بادئ الـ ر ن أ عند الطرف الـ ٥` لقطعة أوكازاكى التالية وهنا يتوقف إنزيم بلمرة الـ د ن أ (III) ويبدأ إنزيم بلمرة الـ د ن أ (I)

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 الأكسونيوكليز ٥' ← ٣' المطلوبة لإزالة بادئات الـــ ر ن أ من الخيط المتلكئ.

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

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

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 الـــ د ن أ فى مميزة النوى بطريقة وسم الـــ 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 الـــ د ن أ فى الكروموسوم الأكبر فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر ليفسر التناسخ فى أجنة الدروسوفلا خلال من ٣-٤ دقائق (جزئ الـــ 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).

الباب الثانى

التنظيم البنائى للمادة الوراثية داخل الكروموسوم

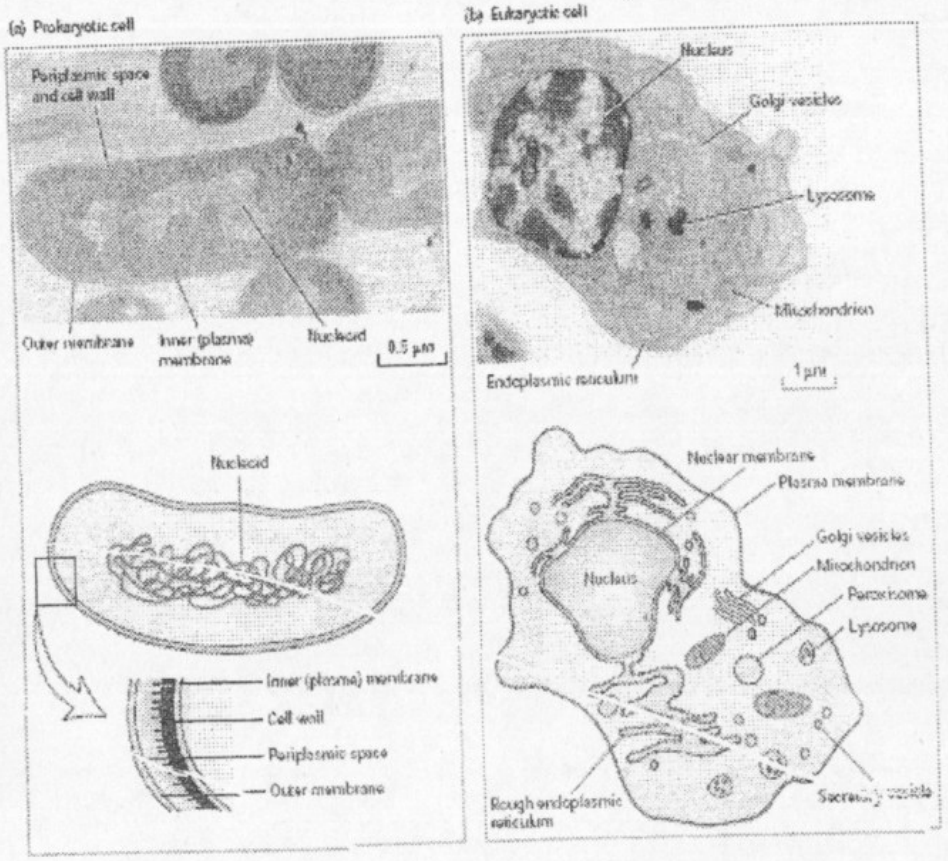
Structural Organization of the Genetic Material in the Chromosomes

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 موروفولوجى 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 ٤٠-١٠٠ 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

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	١٦٠٠٠	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 باستخدام 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 (ن)	متوسط كمية الـ د ن أ فى الكروموسوم (kb)
بدائيات النوى			
إ. كولاى	٤٦٠٠	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 تحترى 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

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.

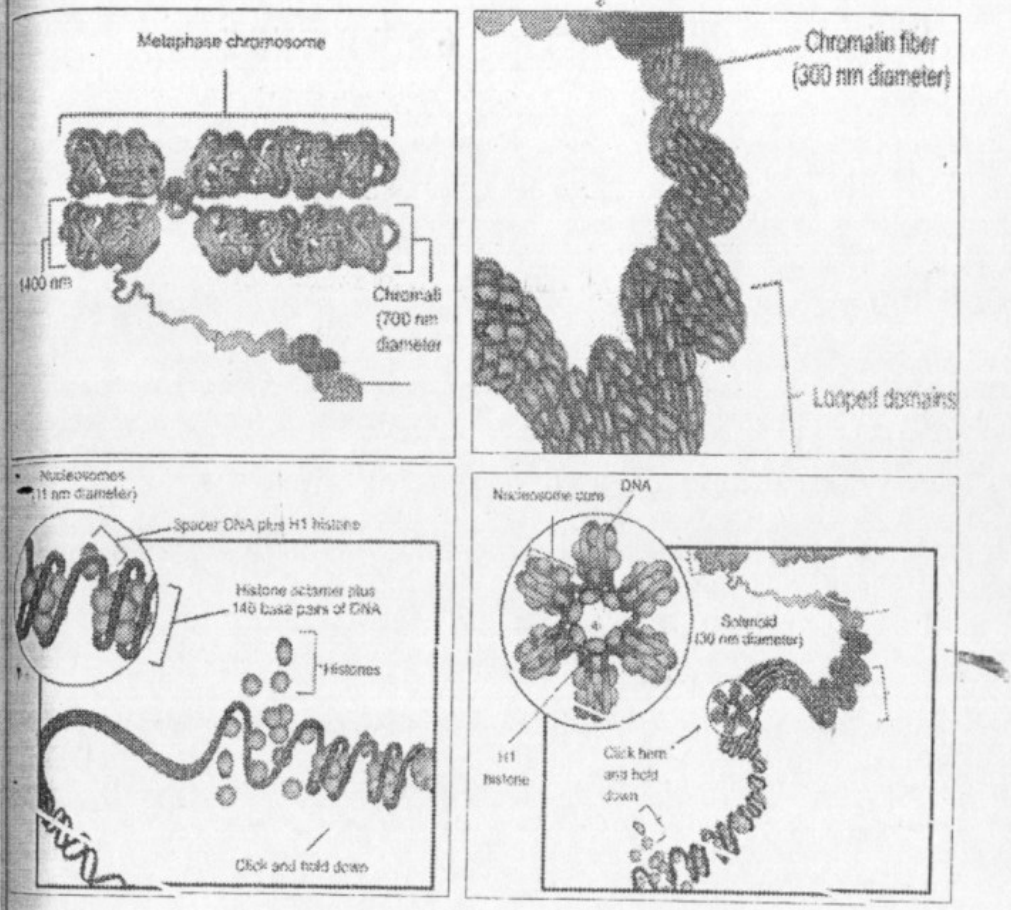
الكروموسوم فى الكائنات مميزة النوى يكون شديد الطى:

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

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:

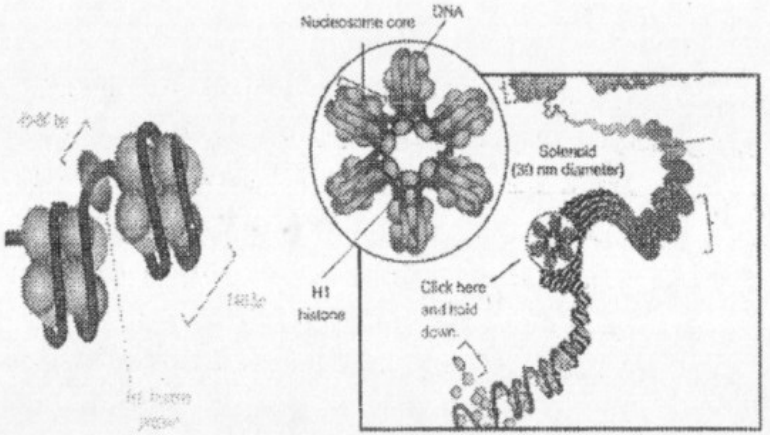
الكروماتين ذو تركيب معقد ولكن منتظم لدرجة كبيرة. فهو يتكون من وحدات متكررة من البروتين المرتبط بالـــ د ن أ المعبأ بمستويات عديدة من الحلزنة. والمستوى الأول من الطى يؤدى إلى تكوين خيط قطره ١١ نانوميتر. وينشأ هذا الخيط من التفاف ٢٠٠ زوج من الـــ د ن أ حول جسم مركزى من البروتين مكون من جزئيين من كل من 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.

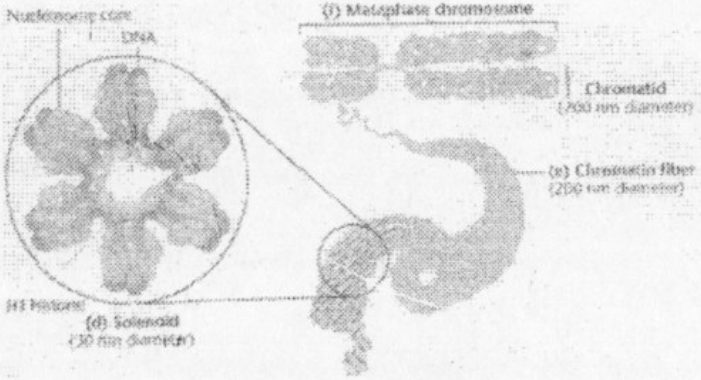
المستوى الثانى من حلزنة الـــ د ن أ ينتج ملف لولبى قطره ٣٠ نانوميتر:

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.

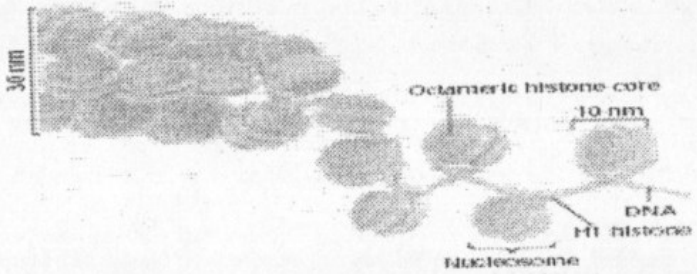
الكروماتين يتكون من مجالات محلزنة قطرها ٢٠٠ نانوميتر:

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 ينقسم إلى عروات ترتبط ببروتين واصل Protein linker





شكل (٢-٣): تركيب النيوكليوسوم وخيط النيوكلبوسومات



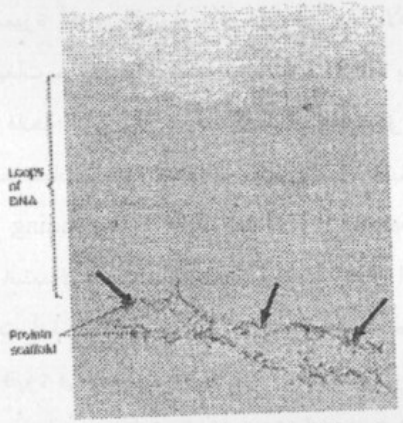
شكل (٢-٤): نموذج الملف اللولبى لليفة الكروماتينية (٣٠ نانوميتر)

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 مصحوبة 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)

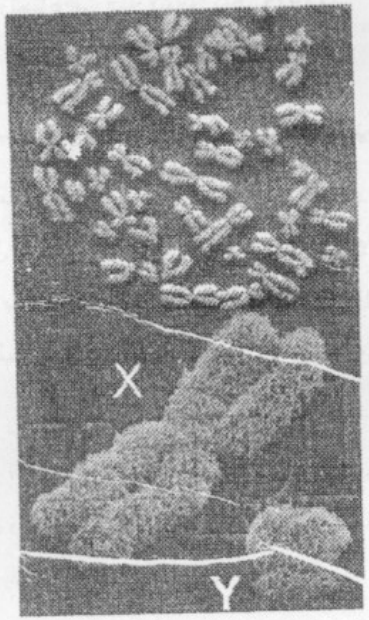
التركيب المورفولوجى للكروموسوم:

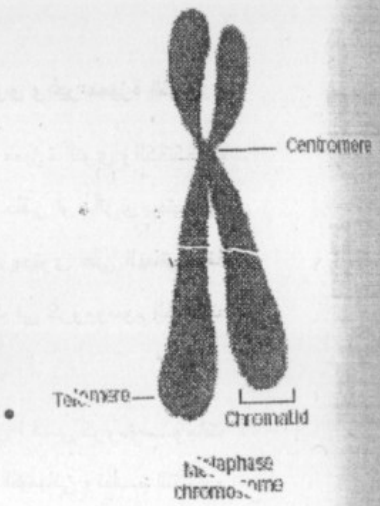
بالرجوع إلى أشكال الكروموسومات المبينة فى الجزء العملى للكتاب نود أن نوضح التفسيرات الجزيئية والوظيفية لمكونات هذه الانماط:

- 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.



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





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

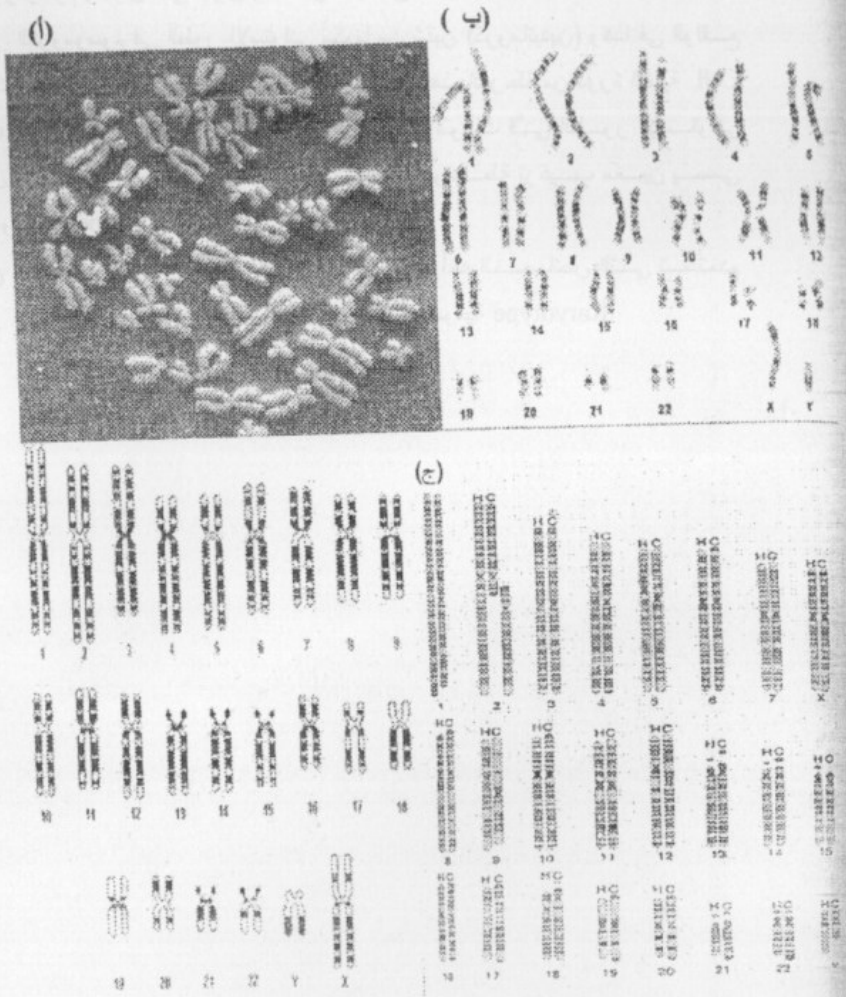
شكل (٢-٧): صورة الكروموسوم فى **الطور الإستوا** كما تظهر بالميكروسكوب **الالكترو** الماسح

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 لاتُظهر 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

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 اتضح 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 لـ 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 الرئيسي 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.

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 والتغيرات 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

فى الكائنات الثنائية تحتوى على كمية من د ن أ ضعف الموجودة فى جاميطات نفس النوع. فضلاً عن أن التركيب الجزيئى لحمض الـ د ن أ متشابهة فى كل أنواع خلايا الكائن الحى (بخلاف بعض الاستثناءات) بينما يختلف تركيب حمض الـ 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 (٣-١). هذه العمليات الثلاث هى:

(١) التحول الوراثى Transformation

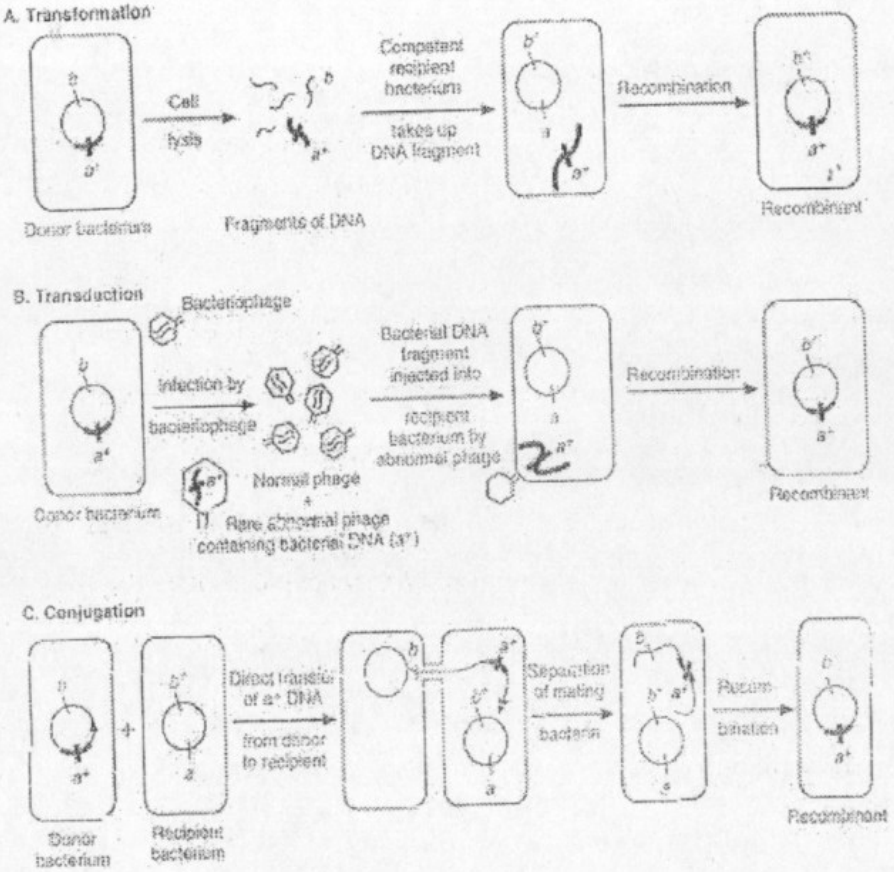
ويتضمن نقل جزيئات د ن أ المجردة من الخلايا الواهبة Donor إلى الخلايا المستقبلة Recepient أو المتلقية .

(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 $\bar{F}$ For sex factor) إلى الخلية الملتقية أو المؤنثة $\bar{F}$ (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

(١) التحول Transformation

يعتبر التحول أول دليل مباشر أثبت أن المادة الوراثية هى الـ 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 الـ 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 الـ 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 للـ 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 الـ د ن أ، وعلى ذلك فالتحول المزدوج للجينين (مثلاً a لـ a^+ و b لـ b^+ وباستعمال $a^+ b^+$ كمعطى و ab كمستقبل) سوف يحتاج إلى عمليتى تحول مستقلتين (الامتصاص والدمج فى خيط من الـ 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 الـ 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 الـ 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

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

تكون الـ د ن أ الهجين أثناء تكوين الاتحادات الجديدة:

ويمكن التنبؤ بأن جزيئات الـ 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[١٥] ويد[٣] (هيدروجين ثقيل) كى يكون د ن أ الخلايا ثقيلا، مثلما فى تجارب ميسلسون وستال. وهذه السلالة ثقيلة الـ د ن أ حملت واسماً وراثيا ery^r للمقاومة للمضاد الحيوى اريثرومايسين، وواسما str^s للحساسية للمضاد الحيوى استربيتومايسين. 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 الـ د ن أ من خلايا هذه السلالة، وفى أثناء عملية العزل أصبح الـ 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 الـ د ن أ فى المجال من ٠,٣ إلى ٨ × ١٠[٦] دالتون. وبعد ذلك عرضت الشظايا لخلايا كفوءة ذات كروموسومات خفيفة (ن[١٤]، يد١) تحظى بالتركيب الوراثى $\frac{ery^s str^r}{ery^s str^r}$ وبمعنى آخر، كانت الخلايا المستقبلة حساسة للاريثرومايسين (ery^s) لكن مقاومة للاستربيتومايسين (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 الاستربيتومايسين والاريثرومايسين ومن ثم تحظى بالتراكيب $\frac{ery^r}{ery^r}$ $\frac{str^s}{str^s}$ ولقد وجد أنه عندما استعملت شظايا خفيفة كـ د ن أ واهب فقد أمكن لفئة واحدة فقط من الخلايا المتحولة أن تتكون، كانت جميعها مقاومة للاستربيتومايسين. وبمعنى آخر، وكما كان متوقعاً فإن شظايا د ن أ الخفيف كانت مشتقة كلية من كروموسومات الخلايا المستقبلة الاصلية، أى الخلايا المقاومة للاستربيتومايسين. وعلى النقيض عندما استعملت الشظايا الهجينة كـ د ن أ واهب، فقد وجدت فئتان من الخلايا المحولة بتكرار متساو: فئة مقاومة للاستربيتومايسين والأخرى للاريثرومايسين. ومن ثم فالمقطع من الـ 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 الـ 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 للاثنين سوياً. ويفترض أن هذا ينتج من الحقيقة التى هى أن تحولا ناجحا فى منطقة كروموسومية واحدة يكون حدثا نادرا.

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

(٢) النقل الفاجى أو الاستنفال Transduction

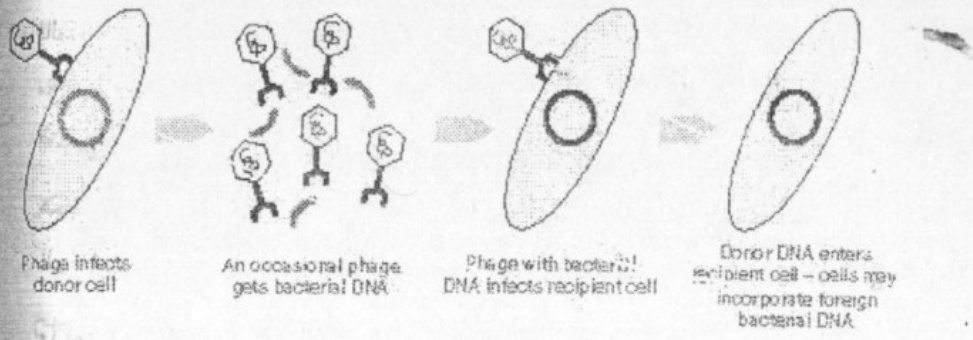
ويوجد عندما يحمل الفيروس البكتيرى مقطع من الكروموسوم من بكتريا المعطى (Donor) إلى بكتريا المتلقى (Recipient) مما يسهل الاتحادات بين الجينات المعلمة لكلتا الخليتين.

وهناك ثلاثة أنواع مختلفة للاستنقال:

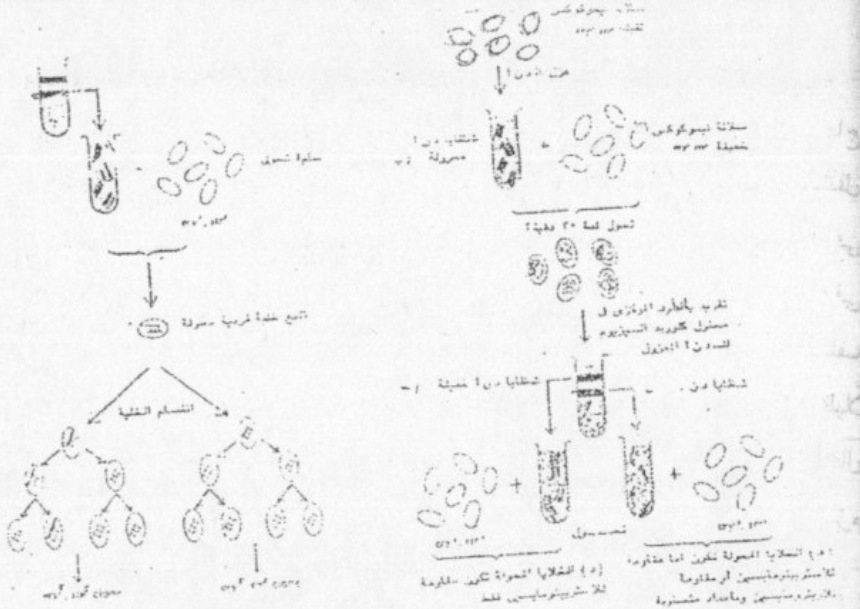
١- الاستنقال العام Generalized transduction

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

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 الـ د ن أ الذى يشترك فى تتابع نظير مع جزء من كروموسوم الخلية المصابة، يمكن أن يندمج فى الكروموسوم. وعندما يكون الـ 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 الـ 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 الـ 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

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 .

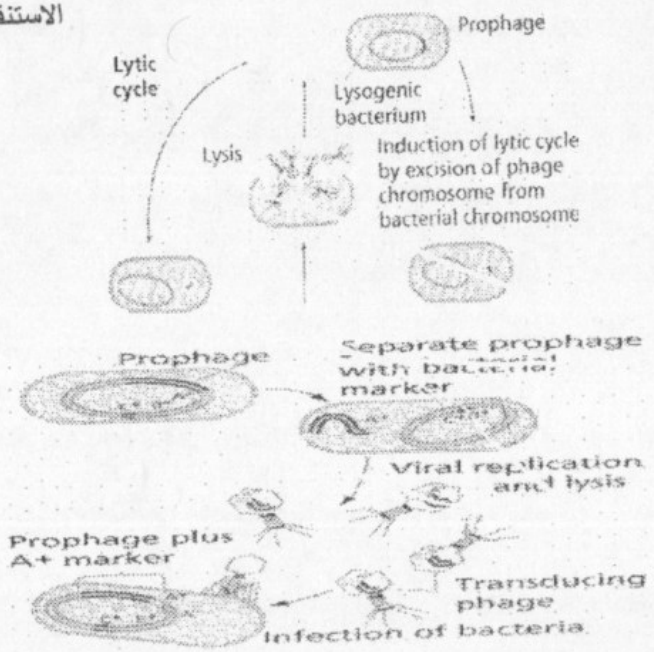
هناك تحول تلقائى بدرجة قليلة جداً (تقريباً خلية واحدة فى كل 10^5 خلية منقسمة) من حالة الليسوجينك أو حالة البروفاج لحالة التحلل. ومثل هذا التحول يمكن أيضاً استحداثه induced على سبيل المثال بواسطة الاشعاع بالأشعة فوق البنفسجية وأثناء التحول من الحالة الليسوجينك لدورة التحلل بتحرر البروفاج excised من كروموسوم العائل ويبدأ فى التكرر الذاتى . عمليات التحرر أو الإزالة excision لها مواضع متخصصة site-specific مثل عملية الاندماج .

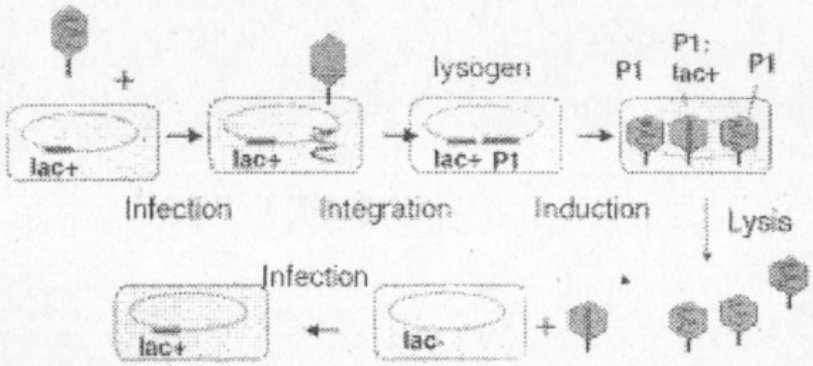
وعمليات الاندماج والتحرر محكومة بإنزيمات تُشفر بواسطة جينات الفاج عملية التحرر عادة تكون بقطع دقيق جداً خارج كروموسوم الفاج بالضبط ليكون كما كان قبل عملية الاندماج؛ وعلى الرغم من ذلك فأحياناً يحدث التحرر فى موقع آخر غير موقع الالتحام. وعندما يحدث ذلك فإن جزءاً من كروموسومات الفاج يترك فى كروموسوم العائل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

أن تعبأ فى جسيمات الفاج. وعلى ذلك فالاستنقال 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 الإستنقال الخاص مقطع د ن أ المعطى كروموسوم الفاج المندمج معه يضاف added لكروموسوم المستقبل منتجا ناقل ثنائى جزئياً partially diploid transduction (شكل ٣-6) .

الاستنقال



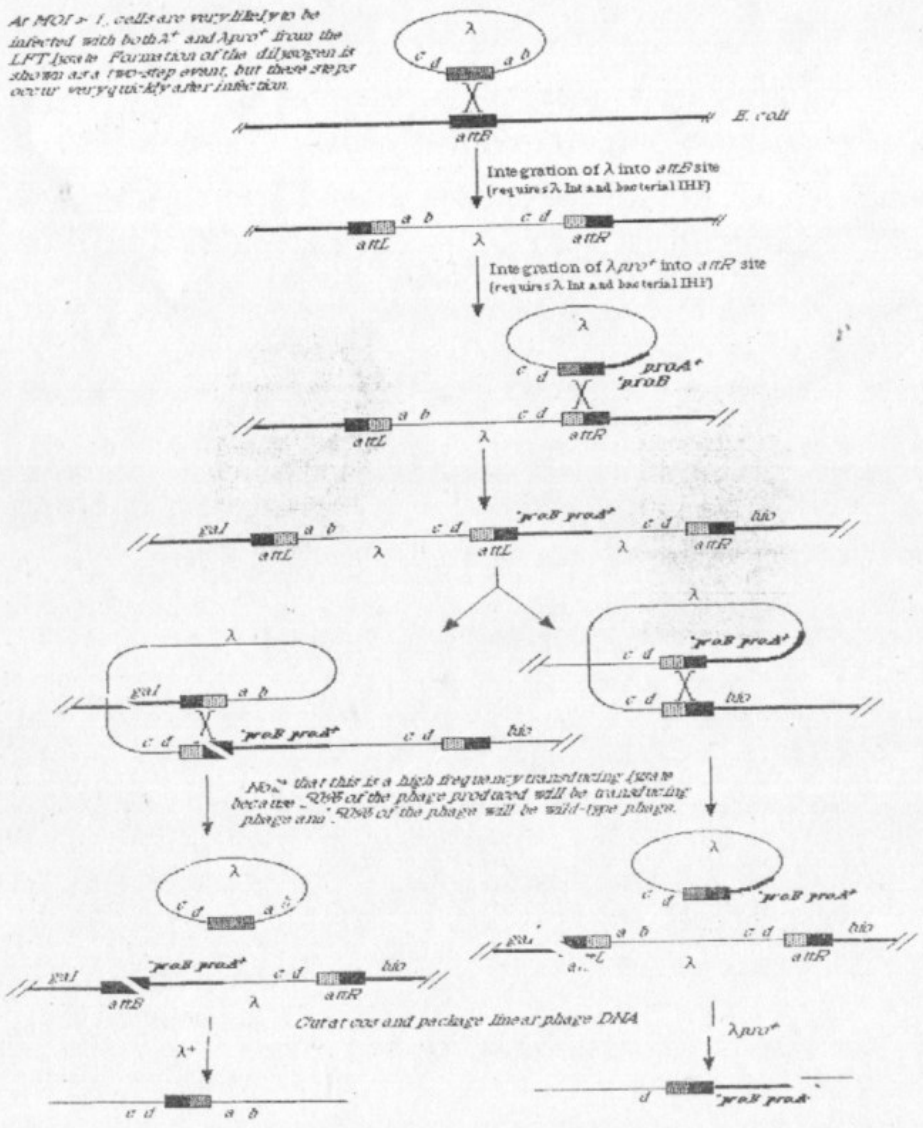


شكل (٣-4) : يوضح الإستنقال العام بواسطة البكتريوفاجات الفعالة والمعتدلة

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.

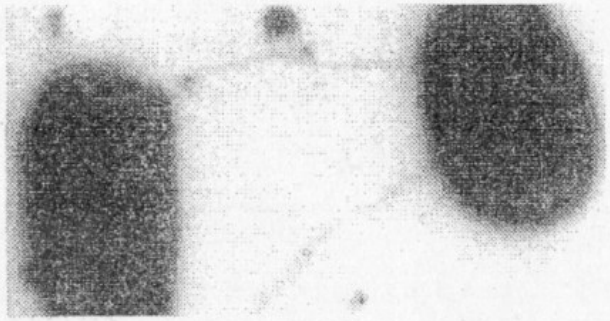


شكل (٣-6) : يوضح الإستنقال الخاص منتجا كروموسوم ثنائى الليسوجينية

(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 تُحمل 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 .

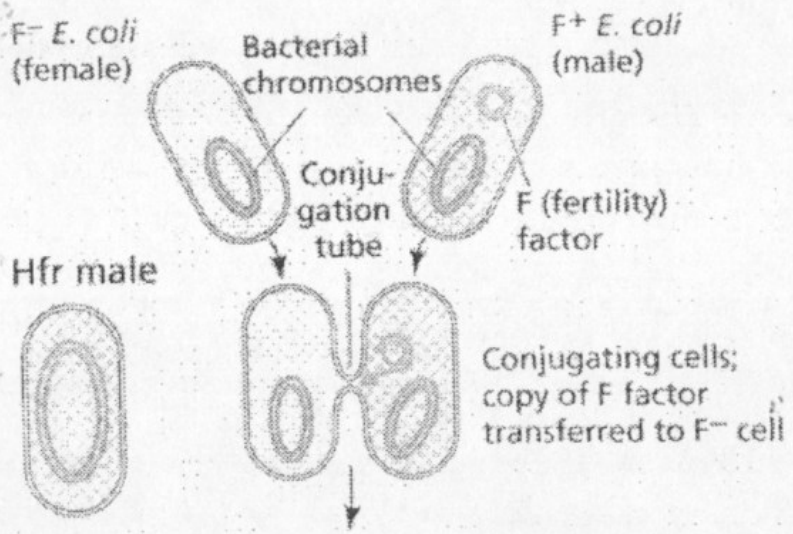
وتسمى الخلية المعطية التى بها العامل F فى الحالة الذاتية autonomous خلية F^+ وعندما تقترن خلية F^+ مع خلية F المستقبلة فإن العامل F الذاتى ينقل وحده كلتا الخليتان المقترنان exoconjugants (الخلايا المتضمنة فى عملية الإقتران) تصبح F^+ لأن العامل F يتكرر أثناء الانتقال وعلى ذلك الخلط بين مزرعيتن F^+ ، F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

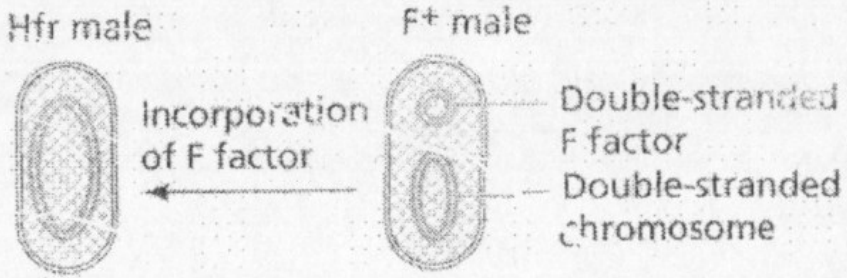
frequency recombiantion) وفى الحالة المندمجة العامل F يعمل على نقل الكروموسوم من خلية Hfr لخلية المستقبلة (F^-).

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

ميكانيكية انتقال الـ 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 الـ 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

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 نوياتها 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 الماثل يحمل أليات عادية تغطى الأثار المتنحية 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,

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 Aneupioidy

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 10^2 نتيجة للتوزيع الإعتباطى للوحدات الكروموسومية الأحادية – ونتيجة لهذا التوزيع

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

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

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 ترنر 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 الكرموسوم 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)

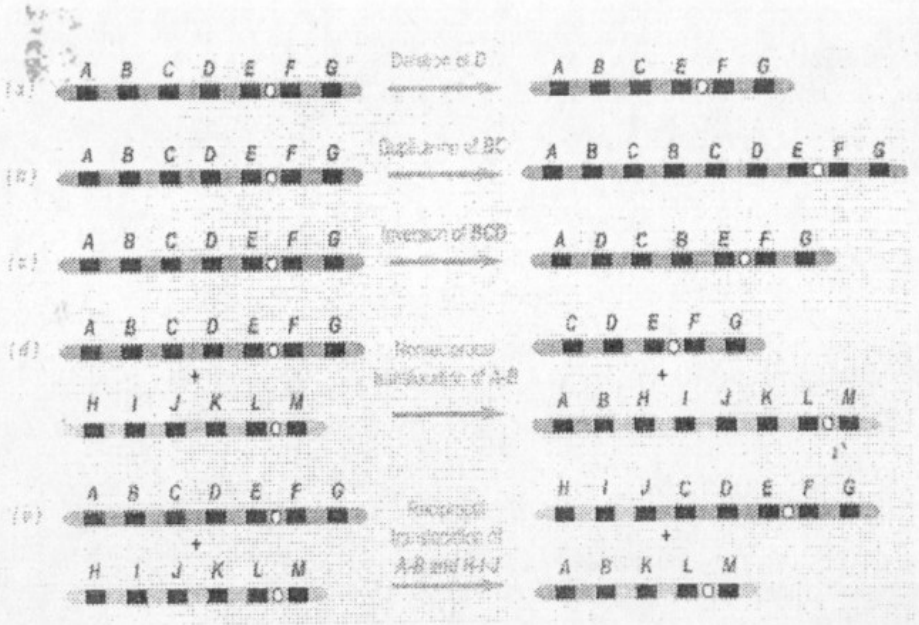
وحدوث النقص البينى يكون إما نتيجة لكسرين والتخلص من الجزء المكسور أو نتيجة لكسرين فى منطقتين ملتفتين ويتبع ذلك إلتحام الأطراف ، وقد ينشأ نتيجة لعبور غير مشروع بين مقطعين غير متناظرين .

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 سيتولوجياً 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 فى حالة النقص فى كروموسوم X فى حشرة الدروسوفلا . ويلاحظ أن الأفراد الأصلية للنقص – فيما عدا بعض إستثناءات قليلة جداً تموت .

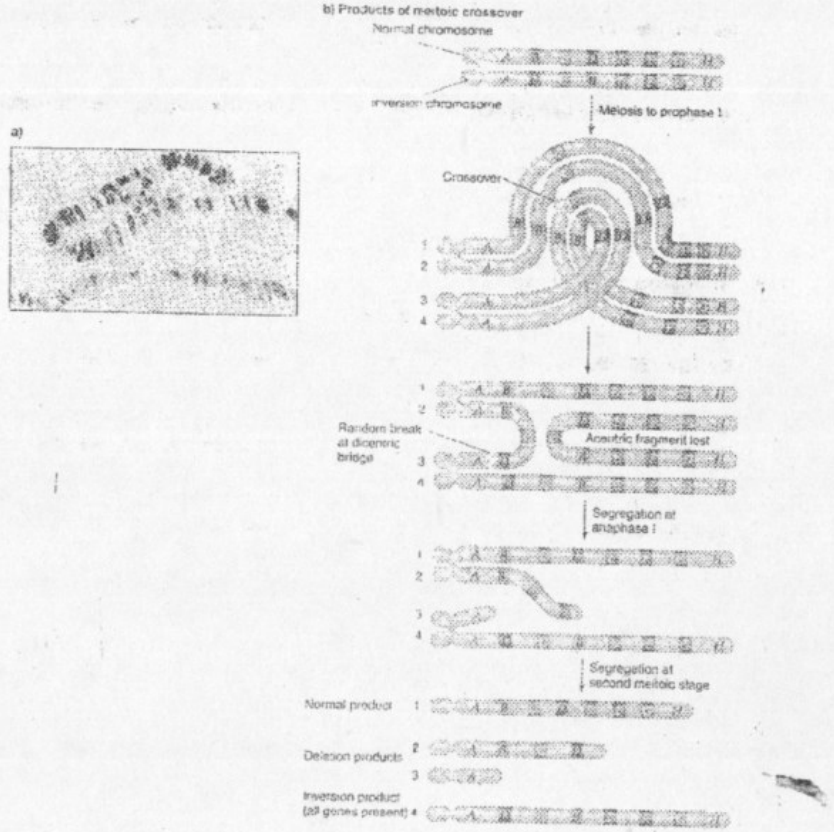
وقد وجد إرتباط بين وجود نقص فى الذراع القصير للكروموسوم الخامس فى الإنسان وتناظر عواء القط Cri du chat حيث يشمل ذلك تخلفاً عقلياً وصراخاً يشبه عواء القطط فى الأطفال حديثى الولادة .

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



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

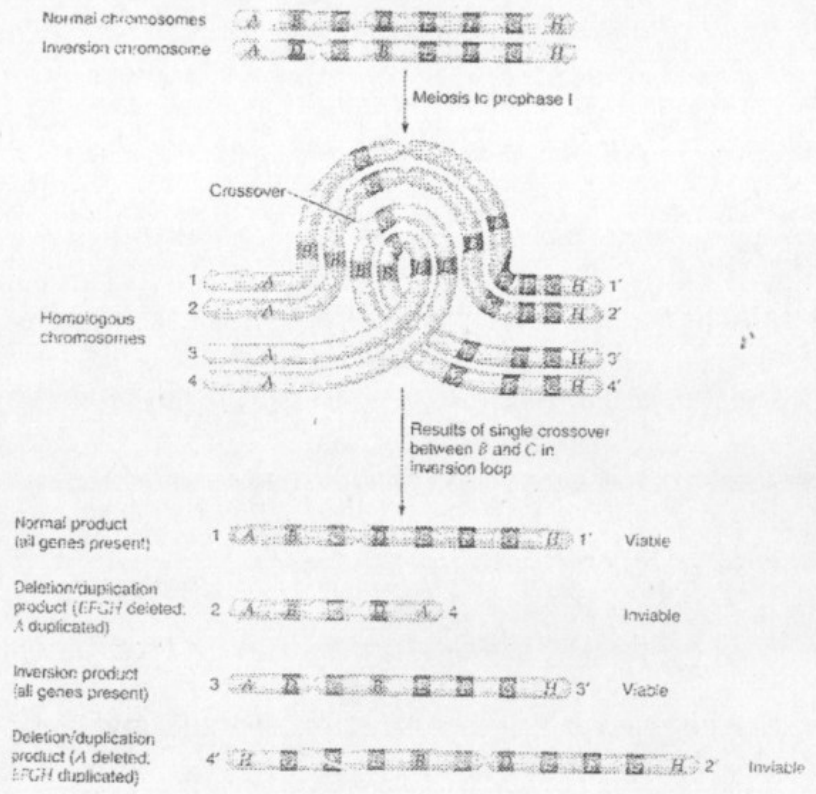
وسطى السنترومير يصبح طرفى السنترومير بواسطة إنقلاب شامل السنترومير متضمناً أطوالاً غير متساوية من الكروموسوم عن يمين ويسار السنترومير كما هو موضح بالشكل الآتى :

كروموسوم وسطى السنترومير ١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧ ٨

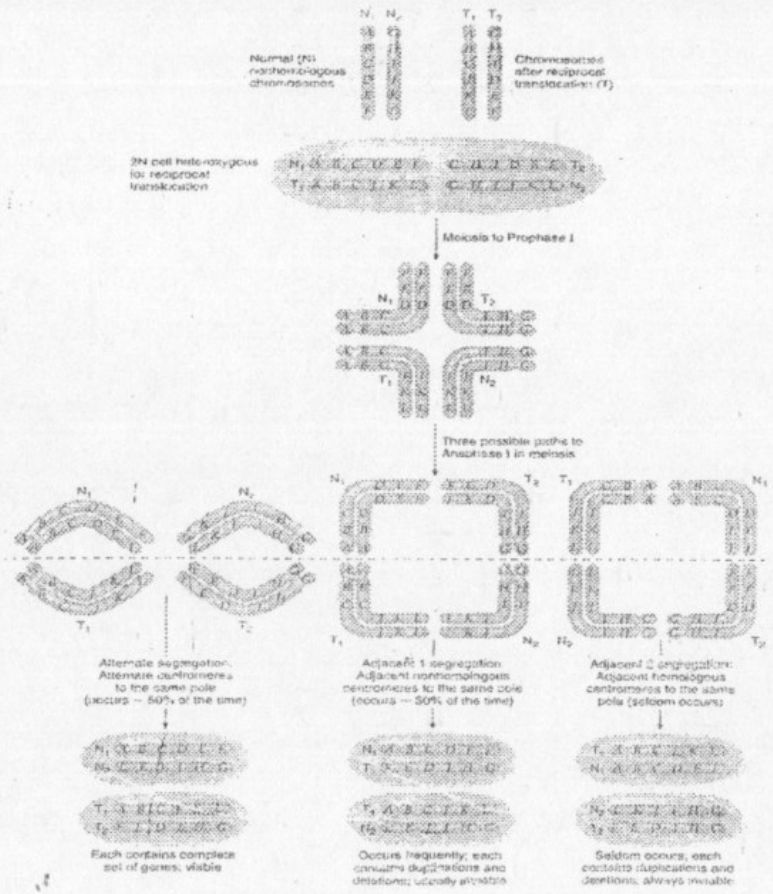
كروموسوم به سنترومير قريب من الطرف ١ ٥ ٤ ٣ ٢ ٦ ٧ ٨

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 .



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 .

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 متحدة ، 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 .

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 :

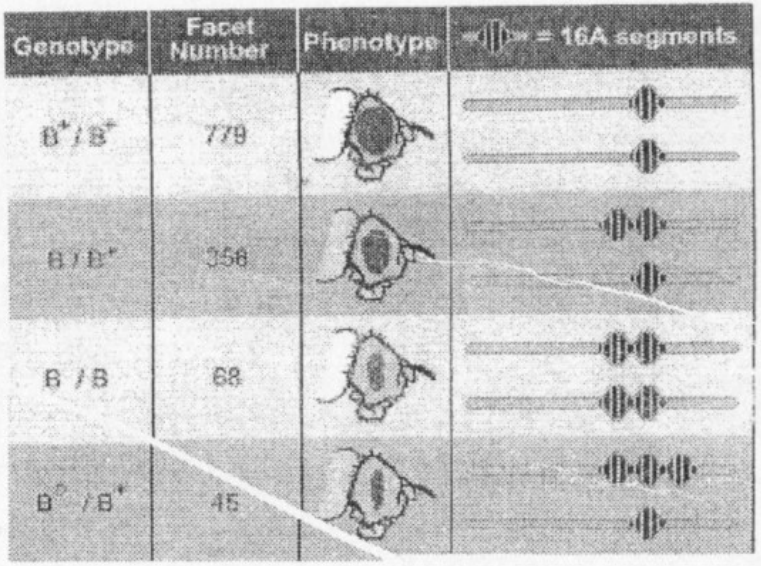
(أ) النوع الثابت Stable or S-type :

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 ثلاثاً – 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 فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر

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 .

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 أشعة 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 فى 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

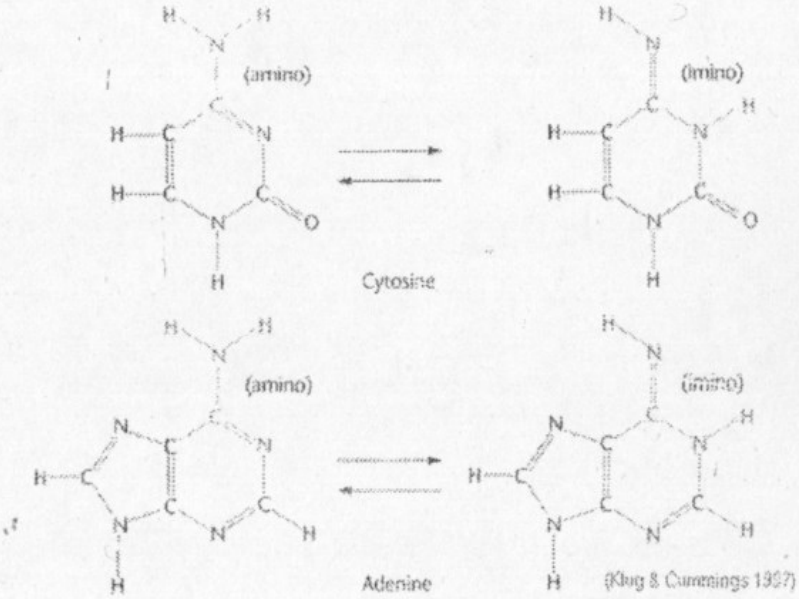
عندما وصف واطسون وكريك تركيب سلسلة الـــ د ن أ المزدوجة وافترضنا التناسخ بالطريقة شبه المحافظة المبنى على التزاوج الخاص بالقواعد كان ذلك لتوضيح الانتقال الدقيق للمعلومات الوراثية من جيل لآخر كما أنهما افترضا أيضاً تفسير ميكانيكية الطفور التلقائى .

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 مهما فى بناء الـــ د ن أ حيث أنه يغير أو يبدل نظام ازدواج القواعد المحتمل الحدوث .

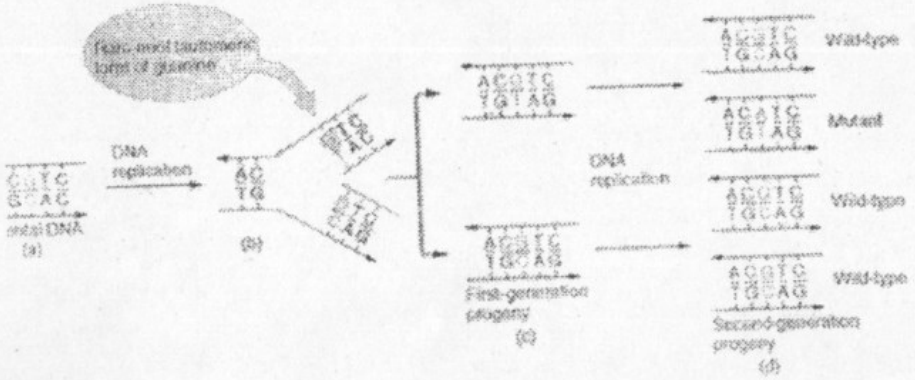
إن شكل أو حالة الأينول (الأقل ثباتاً) للثيمين والجوانين وحالة إمينو (الأقل ثباتاً) السيتوزين والأدنين وكلاهما تنتج من تحرك ذرة الأيدروجين خلال القواعد النيتروجينية (شكل ٣-١٤) تؤدى عادة إلى الشكل النادر (إينول أو إمينو) فى اللحظة التى يحدث فيها تناسخ أو اتحاد لسلسلة الـــ د ن أ القديمة والنتيجة حدوث طفور. 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

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.

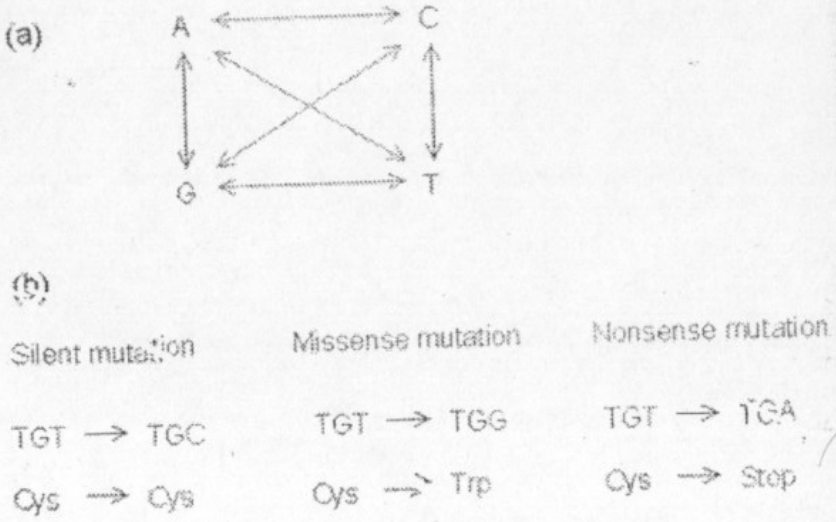
وإحلال قاعدة من البيورين بالبيرميدين أو العكس يسمى استبدال أو إحلال متعاكس أو غير متكافئ Transversion.



شكل (٣-١٤) : النظام المتوتر للأربع قواعد الأساسية فى الـ د ن أ يرجع إلى التبديل فى 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

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

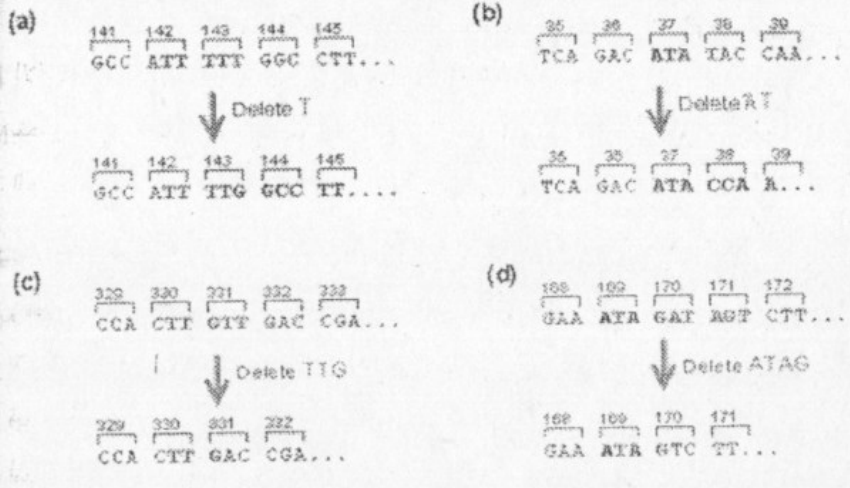
والبعض ضعيف التأثير وأمكن اكتشافها مبدئياً عن طريق تغير سلوكها أثناء عملية التفريد الكهربى والتى تعزى لاختلافات الشحنة الكهربية والوزن الجزيئى .

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) .



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 الجديّدة Postreplication recombination repair

يتضمن 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) .

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 اندونيوكلييز 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 .

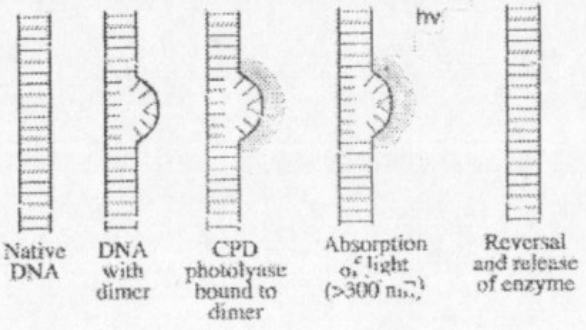
ب– يأتى بعد ذلك دور انزيم الأكسونيوكلييز Exonuclease ويحتمل أن يكون مسئولاً عن النشاط الأكسونيكليزى ٣′ → ٥′ لإنزيم د ن أ بوليميريز I (حيث يعمل على استبعاد ثنائيات الثيمين) ويقوم باستبعاد قطعة أخرى مجاورة لمكان الكسر الذى تم بواسطة الأندونيوكلييز .

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 .

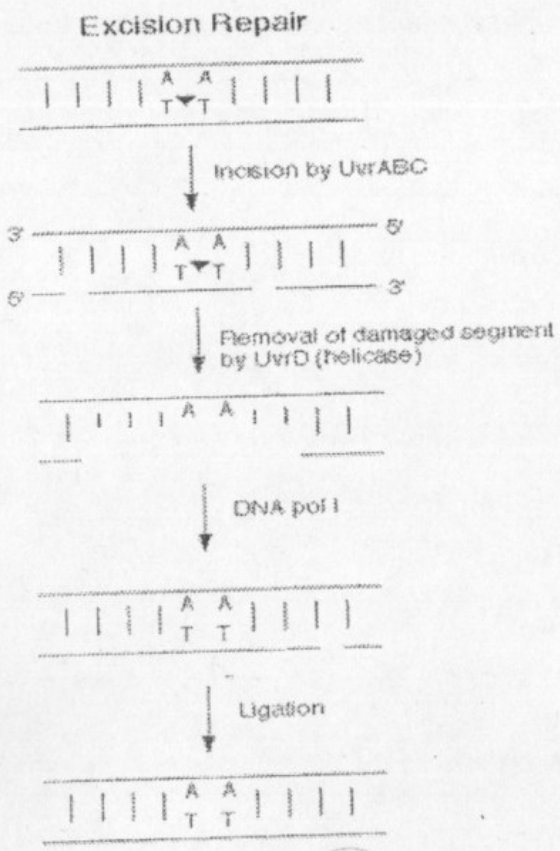
هذا وقد ظهر أن وجود انزيم د ن أ بوليميريز I ضرورى حيث أن الطفرات التى ينقصها هذا الانزيم يكون بها قصور فى عملية الاصلاح (شكل ٣-١٩) .

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 النيوكلييز 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 .

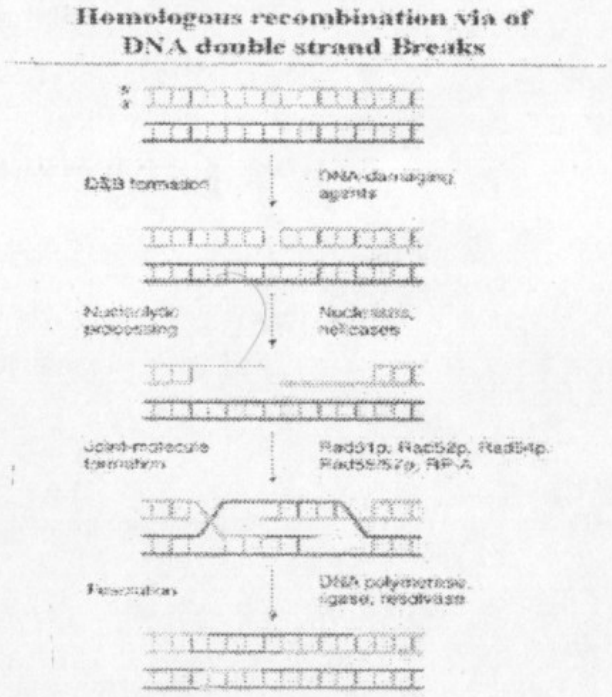


شكل (٣-١٨) : يوضح إنشطار تنائيات الثيمين بواسطة التفاعل التنشيطى الضوئى .

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 .



شكل (٣-٢٠) : رؤية مبسطة للإصلاح التكرارى المتقدم – للتراكيب الجديدة لأضرار الـــ 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 الـــ 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 أن 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

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 بينى 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

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 إلى 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

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 –

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

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 توريث.

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.

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.

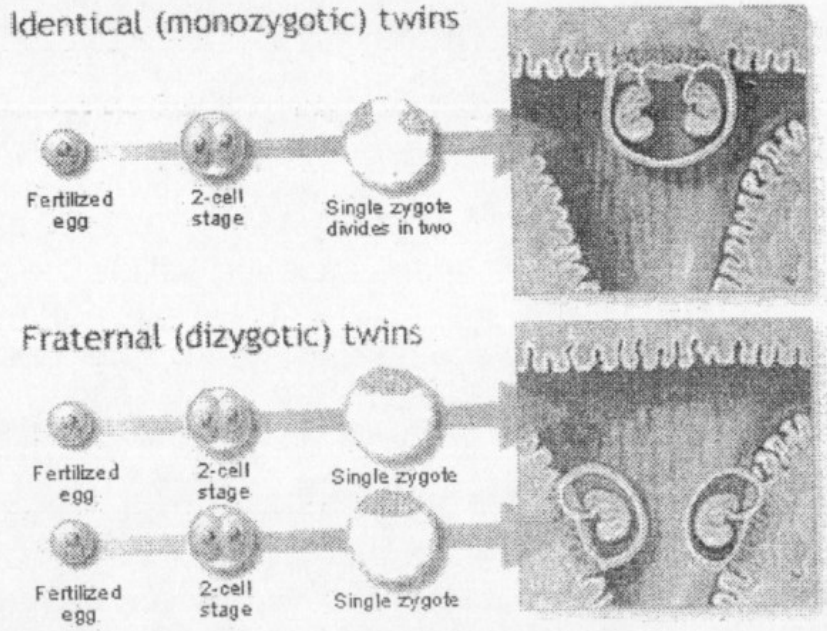
أما بالنسبة للإنسان، فانه من غير الممكن وجود مجموعة من الأفراد تحت ظروف بيئية واحدة تماما – ولكن دراسة التوائم Twins فى الأنسان القت ضوءاً ساطعاً وهيأت مادة تجريبية طبيعية لدراسة التأثير النسبى لكل من الوراثة والبيئة على الصفات – ويوجد فى الأنسان نوعان من التوائم:

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 الصنوين 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

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 التوآمان 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 توآمين 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 التوآمين 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 التوآمان 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 توآمان 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

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 للأن إلى مفهومين بسيطين وهامين:

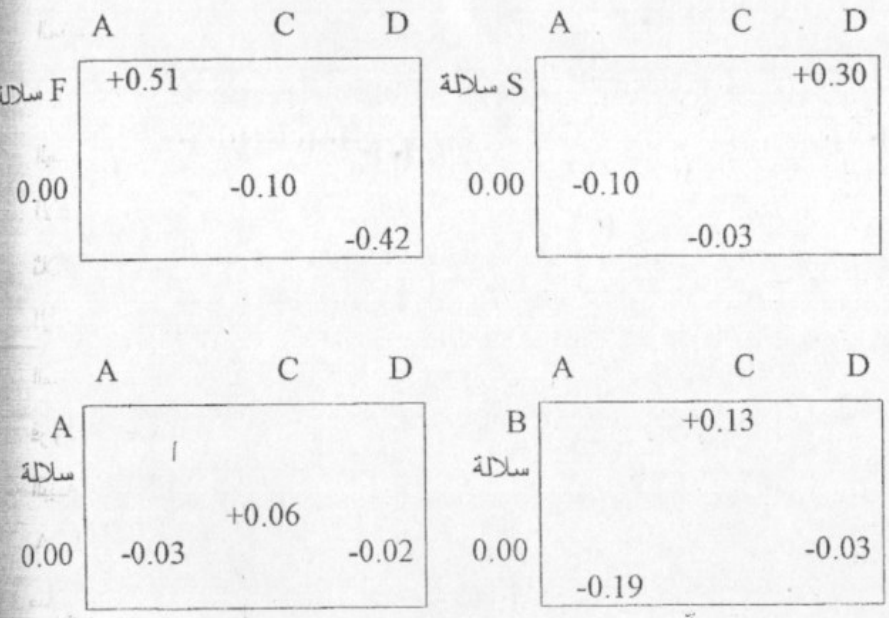
١- أن التراكيب الوراثية المختلفة قد تتفاعل باختلاف فى البيئة الواحدة.

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 فإننا مما لا شك فيه سننتخب التركيب الوراثى F ومع ذلك قد ننتخب التركيب الوراثى A أو B للعمل فى كل البيئات.



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

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 الاختلافات 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.

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.

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.

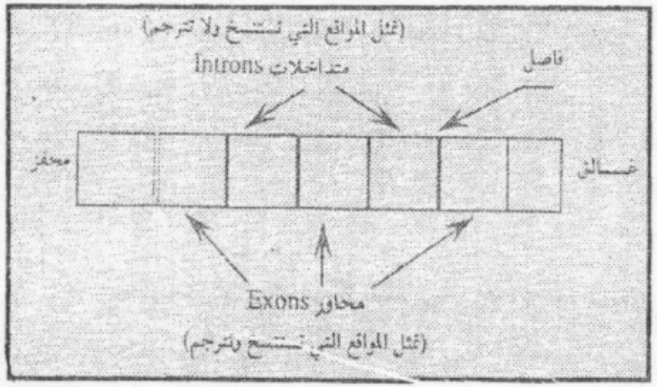
الجينات وتركيبها:

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

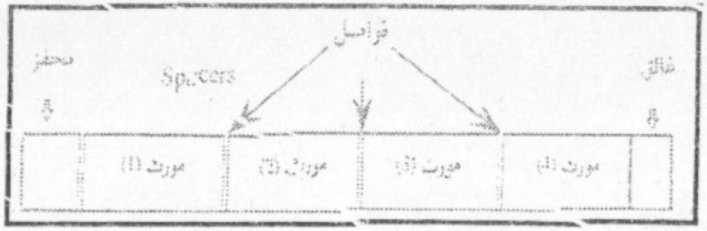
ويتألف الجين من عدد من المناطق مختلفة الوظيفة، وتوجد منطقة المحفز Promoter فى الطرف `5والذى يتكون من تتابعات معينة تمثل شفرة خاصة تسهل تعرف إنزيمات بلمرة الحامض النووى RNA والاستقرار عليه لبدء عملية بناء شريط الحامض النووى m RNA

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

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 ب



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

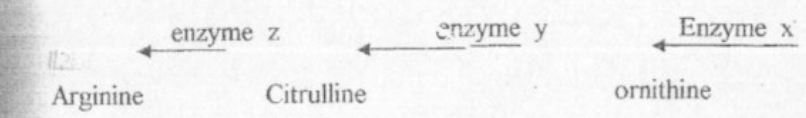
قام العالمان بيدل وتاتم عام ١٩٤٠ بمعاملة جراثيم لاجنسية (conidia) للطراز البرى من النيروسبورا كراسا (*N. crassa*) بواسطة الأشعة السينية X-ray، وذلك لاستحداث الطفرات ثم اختبرت بعد ذلك المستعمرات الناتجة من الجراثيم المعاملة بالإشعاع من حيث مقدرتها على النمو على بيئة الكفاف minimal medium (بيئة تحتوى على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

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 $\underline{arg_1}$, $\underline{arg_2}$, $\underline{arg_3}$، 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 $\underline{arg_1}$ تنمو إذا اضيف إلى البيئة أى من الـ ornithine أو citrulline أو arginine وطفرات $\underline{arg_2}$ تنمو إذا أضيف citrulline أو الـ arginine ولكنها لا تنمو على الـ ornithine. بينما طفرات الـ $\underline{arg_3}$ 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:



فإذا فرضنا أن طفرات $\underline{arg_1}$ 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 $\underline{arg_2}$ بها قصور فى انزيم y وطفرات $\underline{arg_3}$ 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

غالبية الجينات تمارس تأثيرها على الشكل المظهرى عن طريق الببتيدات 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

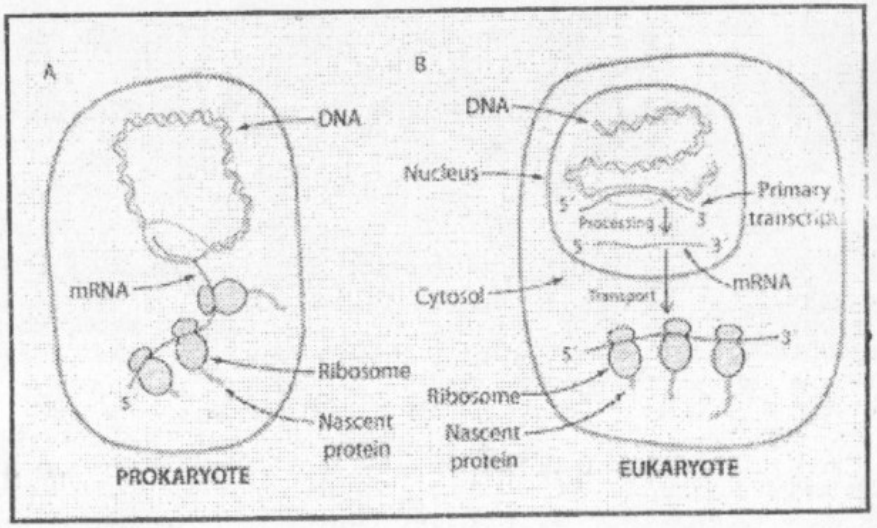
تحتوى جزئيات هذا النوع على المعلومات الوراثية فى صورة تتابعات من النوتيدات والتى يكون لها علاقة بتتابعات الأحماض الأمينية فى السلسلة الببتيدية للبروتين. وكل حمض أمينى يكون ممثلاً فى المادة الوراثية بتتابع من ثلاثة نوتيدات تعرف بالشفرة الوراثية التى سيأتى ذكرها فيما بعد.

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.

ثانياً: حمض ر ن أ الريبوسومى rRNA

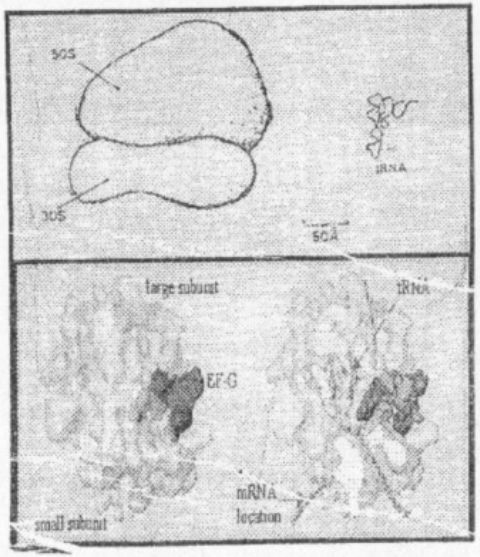
ثبت من التجارب المعملية أن عملية تكوين الرابطة الببتيدية تتم على الريبوسومات والريبوسومات هى تلك الحبيبات الكروية التى تعد بمثابة السطح الذى يتم عليه البناء البروتينى فى السيتوبلازم (شكل ٤-٤).

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)

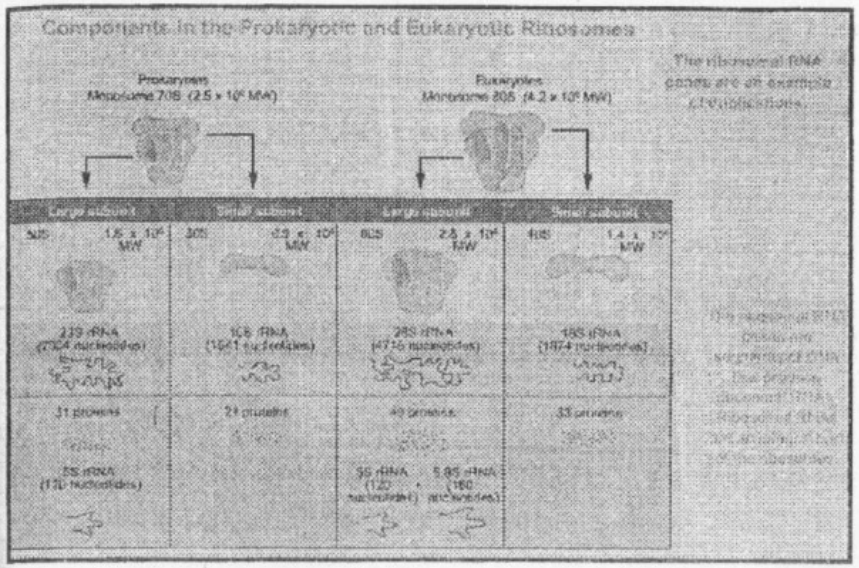
يلعب حمض ر ن أ الناقل دوراً فى تخليق البروتين ولكن دوره فـى هـذه الحالة مختلف تماماً عن دور حمض ر ن أ الريبوسومى. وفى الواقع فان حمـض ر ن أ الناقل يعتبر كجزيئات مكيفة adaptor لها القدرة علـى قـراءة تتابعـات النوتيدات الموجودة على ر ن أ الرسول المستنسخ وتحول هذه النوتيدات إلى مـا يقابلها من أحماض أمينية 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)



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.

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.

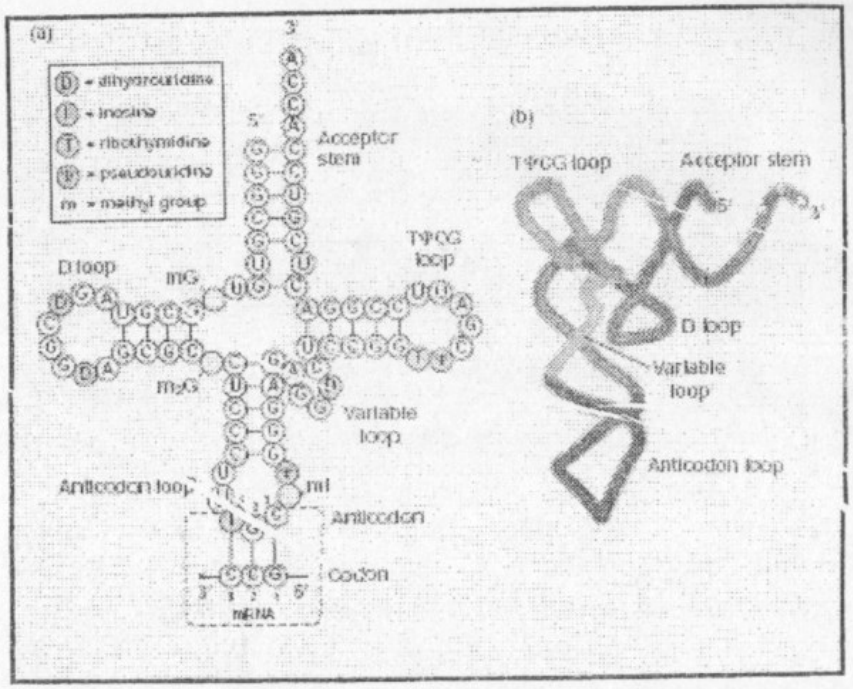
الشفرة الوراثية Genetic Code

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

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 متـصلة 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:-

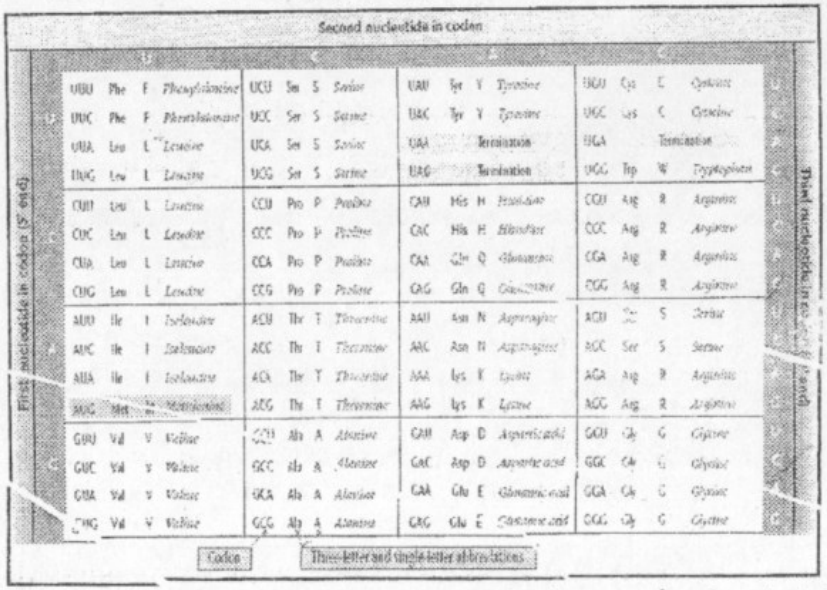
١- ترادف الشفرة Degeneracy of the code

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.

(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 لا يدع 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 اللاميتوكوندرية. 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.

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.

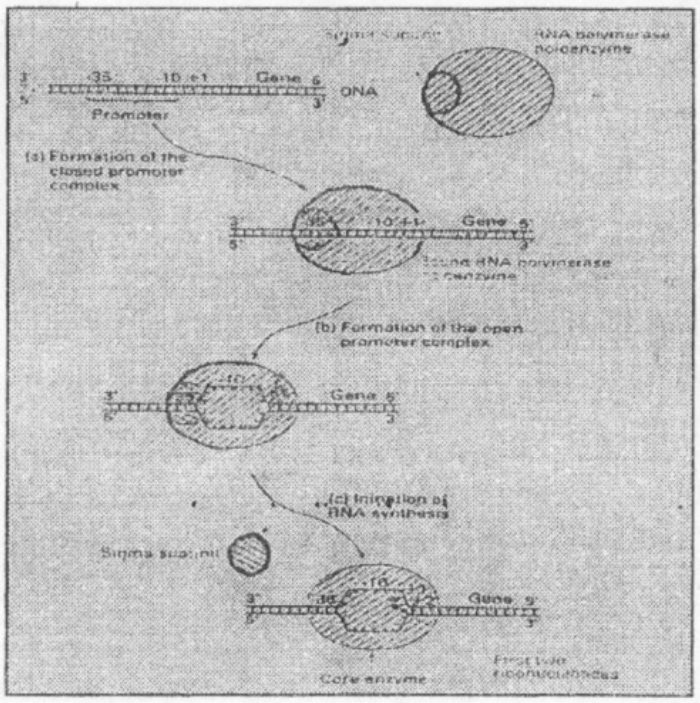
ففى بكتريا إ.كولاى تم دراسة منطقة المحفز ووجد أنه يحتوى على تتابعين قصيرين متشابهين فى جميع المحفزات أى فى موقع ما قبل بداية النسخ بما بين ١٠ نوتيدات أو ٣٥ نوتيدة لذلك أطلق عليهما صندوق - ١٠، صندوق - ٣٥ -]

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

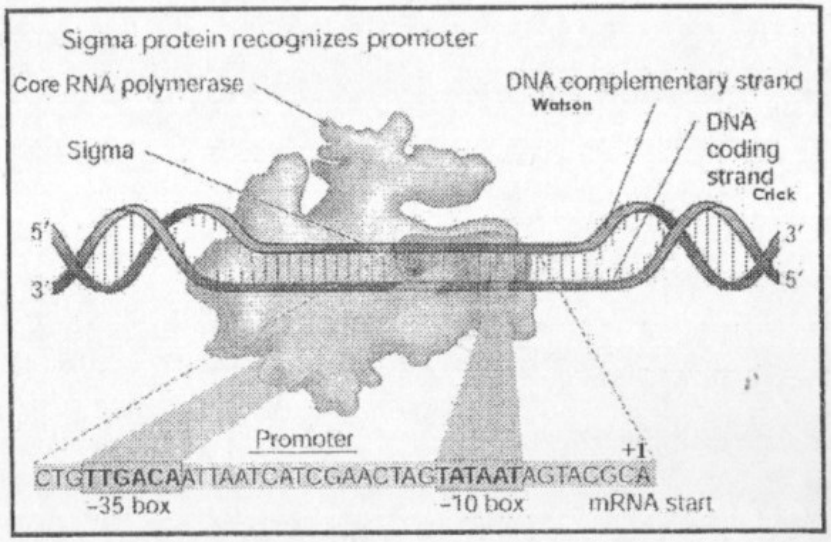
-35 box ⟶ 5`- TTGACA - 3`

-10 box ⟶ 5`- TATAAT - 3`

ويختلف التتابع الحقيقى للمحفز من جين إلى آخر ولكنها جميعـا تحتـوى 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 تتعـرف علـى منطقة المحفز promoter لذلك يجب أن يتواجد إنزيم البلمرة فى صورة الإنـزيم الكامل holoenzyme (α_2 ββ′σ) (شكل ٤-١٠). وفى حالة غيـاب عامـل σ يستطيع الإنزيم أن يرتبط بالـ د ن أ ولكن بطريقة عشوائية فى منـاطق مختلفـة وليس متخصصا بمنطقة المحفز promoter.

ب) الإستطالة Elongation

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

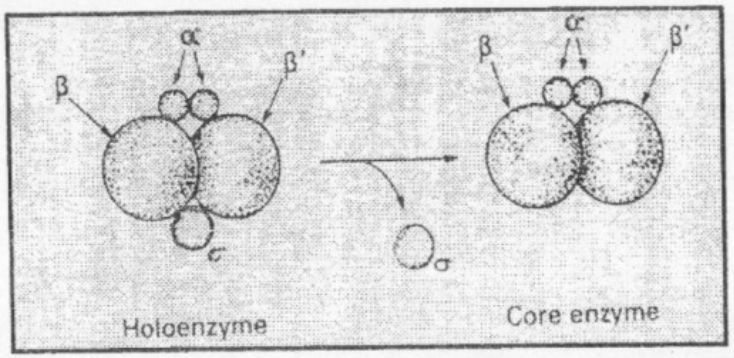
للحمض الـ ر ن أ بعد ربطها بروابط هيدروجينية لقالب متعدد النوتيدات للجين المراد نسخه شكل (٤-١١).

(ج) عملية إنتهاء نسخ المادة الوراثية Termination

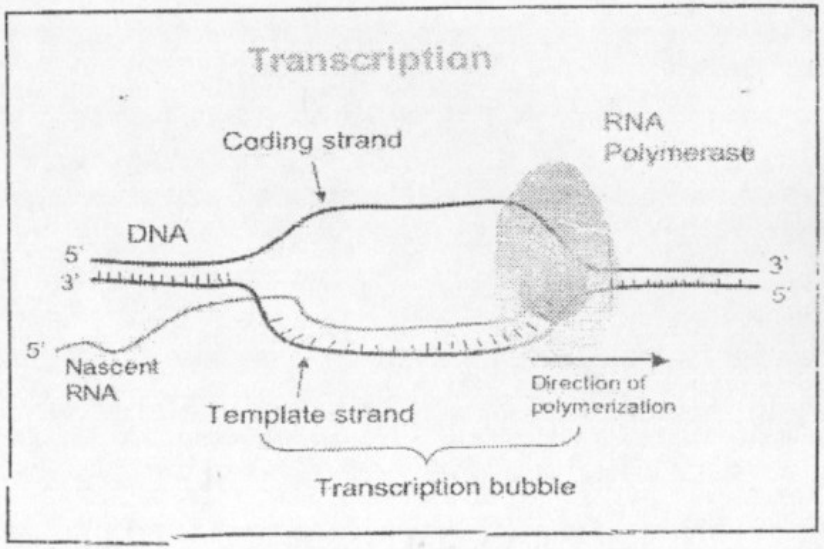
إنتهاء عملية النسخ لا تتم عشوائياً ولكن تتم فى مكان مناسب بعد إنتهاء حيز الجين ومنطقة الإنتهاء لاتحتوى تتابعا معينا كما فى حالة المحفز ولكن تحتوى إشارة معقدة complex single ونجد أن منطقة إنتهاء النسخ رغم إختلاف التتابعات النوتيدية بها تتميز بصفة البالندروم التكاملى Complementary palindromes (شكل (٤-١٢). وهذا يعنى النوتيدات داخل نفس السلسلة وأيضا حمض جزئ الـ ر ن أ الرسول المنسوخ.

ويؤثر تكوين البالندروم التكاملى على عملية التناسخ إذ أنه يسمح بتكوين stem-loop المسئولة عن إنتهاء عملية التناسخ يتبعه بتسلسل من ٥-١٠ نوتيدات من النوع الإدنين A فى جزئ الـ د ن أ القالب الذى ينسخ إلى تتابعات من U فى حمض الـ ر ن أ الرسول وتكون الرابطة بين A-U والتى تكون ضعيفة وتسمح بأنفصال detaches لجزئ الـ ر ن أ من سلسلة القالب.

وتجدر ملاحظة أن بعض الناهيات terminators لا تحتوى التتابعات المتتالية من الإدنين A ولكن عملية الإنتهاء تتم بطريقة مختلفة وتسمى هذه الناهيات Rho-dependent terminators حيث أنهم يعملون فقط فى وجود إنزيم يسمى Rho وهو إنزيم كبير وليس من الوحدات التى تدخل تركيب إنزيم بلمرة الـ ر ن أ. يتصل أو يمسك الإنزيم Rho بالسلسلة النامية وعندما يكون إنزيم البلمرة منطقة الـ stem loop ينشط الإنزيم Rho ويبدأ فى كسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج الـ د ن أ القالب مع ر ن أ الرسول المستنسخ.



شكل (٤-١٠): يوضح العلاقة بين الإنزيم الكامل **Holoenzyme** والإنزيم القالب **Core-enzyme** لانزيم بلمرة الـ ر ن أ لبكتريا إ.كولاى



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