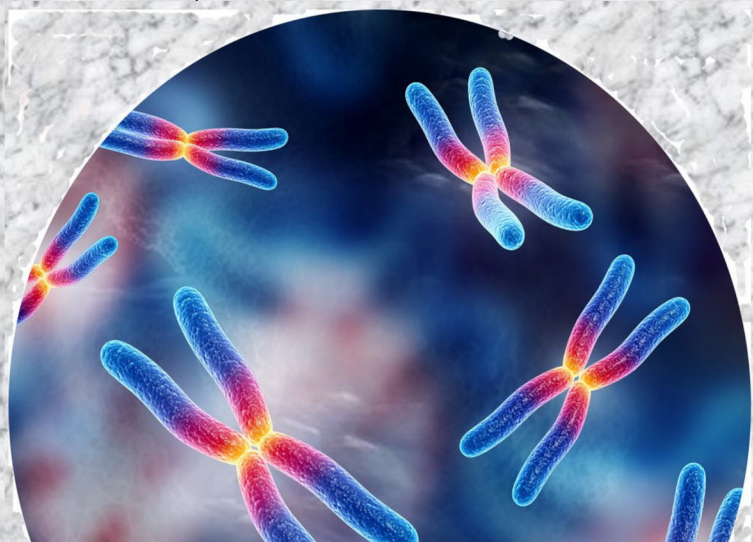


جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية الزراعة

أساسيات علم الوراثة

تأليف
أ.د. خالد حامد حسن
أستاذ- تربية و تحسين دواجن
كلية الزراعة - جامعة ديالى

2017

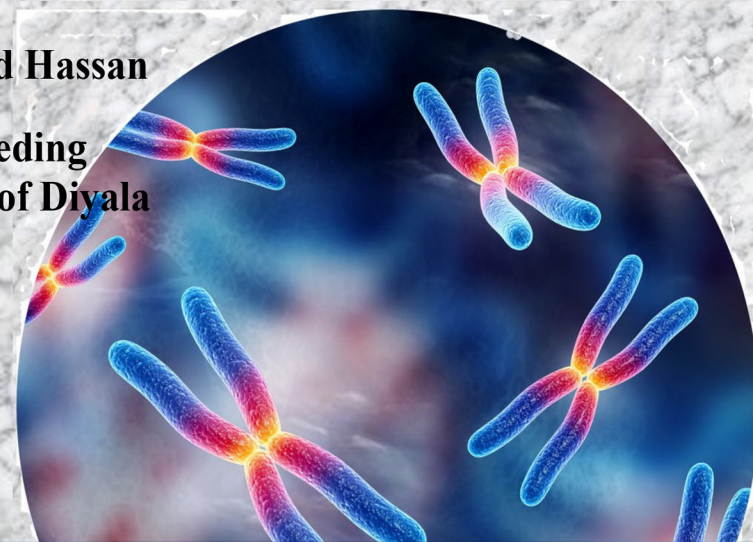


Republic of Iraq
Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Diyala

Principles of GENETICS

Prof. Dr. Khalid Hamid Hassan
Professor - Poultry Breeding
College of Agr. - Univ. of Diyala

2017



أساسيات علم الوراثة

تأليف أ.د. خالد حامد حسن
2017

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

أساسيات
علم الوراثة

تأليف
أ.د. خالد حامد حسن
كلية الزراعة – جامعة ديالى

2017

تقديم

ظهر علم الوراثة الحديث نتيجة تراكم المعلومات التي ساهمت بها اجيال من العلماء ، كل ساهم بمقدار ما توفر له من تقنيات عصره و نضج المجتمع العلمي في ذلك الوقت لتقبل الافكار و الاكتشافات الجديدة ، فمن المفارقة ان نقوم بدراسة قوانين مندل في القرن الحادي و العشرين في حين توفي مندل عام 1884 م و افكاره مرفوضة من المجتمع العلمي الذي عاصره نتيجة الممانعة لاعتماد النمط التجريبي الاحصائي الجديد. لقد تطور علم الوراثة سريعا و ارتبط مع مختلف العلوم و انتشرت تطبيقات العلم في مجال الطب ، الزراعة و علوم اخرى.

ان التطور الكبير في علم الوراثة و الانجازات الالامعة جاءت نتيجة الفهم العميق لاساسيات التركيب الجزيئي للمادة الوراثية و اليات التعبير الجيني و السيطرة عليها، لذلك من الضروري عدم التخلي عن تدريس اساسيات العلم بالرغم من وصول العلم الى حقائق متقدمة و معقدة، و في نفس الوقت يجب توفير الفرصة لاطلاع طلبة العلم على الميادين الحديثة و التقنيات الدقيقة التي فتحتها علم الوراثة و منها التقنيات التي استخدمت في انتاج النعجة دولي من خلية متخصصة بالغة ، تحديد تتابع الجينوم في الانسان و العديد من الكائنات الحية ، و استخدام الشرائح الدقيقة في تحليل التعبير الجيني. لقد اصبح بمقدور العلماء في الوقت الحاضر عزل الجينات و دراسة وظائف الجين في الكائن الحي فضلا عن امكانية نقل الجينات بين الكائنات الحية و تجاوز حاجز النوع مما يوفر المعلومات الضرورية للتطور المستقبلي لفروع العلم و فتح افاق جديدة من الانجازات العلمية. ان الامال معقودة في ان يساهم علم الوراثة في ايجاد الحلول و العلاج للعديد من الامراض التي تقفك بالبشرية من خلال العلاج بالجينات genetherapy و دراسة التباين الوراثي للاستجابة الى الادوية، فضلا عن المساهمة في مكافحة الفقر و الجوع في العالم من خلال التحسين الوراثي للاصناف المستخدمة في الانتاج الزراعي لرفع مستوى الانتاج كما و نوعا.

ان التطور الحديث في وسائل الاتصالات و المعلوماتية و توفر الوسائل الالكترونية انعكس ظلالة على الوسائل التعليمية الحديثة في مختلف العلوم و منها علم الوراثة ، اذ تطورت وسائل التعليم و التعلم الذاتي و استخدام المحاضرة التفاعلية للوصول الى فهم افضل للحقائق العلمية و استيعاب الاليات المعقدة في ربط المفاهيم العلمية المختلفة.

يسرني ان اتقدم بهذا الجهد العلمي المتواضع الى طلاب العلم ليكون عوننا لهم في دراسة علم الوراثة و التعرف على مختلف جوانب التطور في علم الوراثة من خلال اعتماد الكتاب على المراجع العلمية الحديثة.

و من الله التوفيق

المؤلف

أ.د. خالد حامد حسن

المحتويات

الباب الأول

الفصل الأول 1 - 38

تاريخ علم الوراثة وعلاقته بالعلوم الأخرى ، التكاثر وعلاقته بالوراثة ، دورة الخلية ، نقاط السيطرة على دورة الخلية ، الانقسامات الخلوية الميوزي و الميوزي ، تكوين الكميات

الفصل الثاني 39 - 47

نماذج الأحياء المستخدمة في الدراسات الوراثية .

الباب الثاني : الوراثة المنديلية و الامتدادات بعد الوراثة المنديلية

الفصل الأول 48 - 76

تجارب مندل ، مفهوم السيادة ، تطبيقات على قوانين مندل : مربع بونيت ، الخطوط المتفرعة ، قوانين الاحتمال ، اختبار الفرضيات الوراثية : اختبار مربع كاي ، تطبيقات الوراثة المنديلية ، في وراثة الإنسان .

الفصل الثاني 77 - 103

الامتدادات بعد الوراثة المنديلية : التفاعل الاليلي : السيادة غير الكاملة ، السيادة التبادلية ، فوق السيادة : الاليلات المتعددة ، فعل الجين التجميعي ، فعل الجين غير التجميعي ، التفاعل الجيني غير الاليلي ، التفوق ، التأثير المتعدد للجين ، تأثير البيئة في التعبير الجيني . الارتباط و العبور : الكشف عن وجود الارتباط بين الجينات ، قياس شدة الارتباط بين المواقع الجينية ، العبور ، رسم الخرائط الكروموسومية .

الفصل الثالث 104 - 125

التجارب التي أثبتت إن الدنا هي مادة الوراثة ، التركيب الجزيئي للمادة الوراثية ، انتظام و تعبئة المادة الوراثية في الكروموسوم ، وصف الكروموسومات و عمل الهيئة الكروموسومية

الفصل الرابع 126 - 134

استخلاص الدنا ، طرائق استخلاص الدنا ، تنقية الدنا ، التقدير الكمي لتركيز الدنا في العينة .

الباب الثالث 151 - 135

وراثة الجنس : كروموسومات الجنس ، طرائق تحديد الجنس في الحيوانات : تحديد الجنس بتأثير الوراثة ، تحديد الجنس بتأثير البيئة ، تحديد الجنس في النبات ، وراثه الصفات المرتبطة بالجنس ، الصفات المحددة بالجنس ، الصفات المتأثرة بالجنس ، الانقلاب الجنسي.

الباب الرابع 181 - 152

الطفرات النقطية و الشذوذ الكروموسومي : الطفرات وأنواعها و مسبباتها ، التأثيرات المظهرية للطفرة، الأساس الجزيئي لحدوث الطفرة، أنواع المطفرات، دراسة الكروموسومات و الاختلافات الكروموسومية ، الاختلاف في عدد الكروموسومات ، الاختلاف في ترتيب الكروموسوم ، الاختلاف في تركيب الكروموسوم ، بعض الأمراض و العيوب الوراثية في الإنسان .

الباب الخامس 220 - 182

تكرار المادة الوراثية ، أنظمة إصلاح الأخطاء في تكرار الدنا ، التعبير الجيني : الاستنساخ ، الترجمة ، تنظيم التعبير الجيني في بدائية النواة و حقيقية النواة .
الوراثة السايكوبلازمية (الأمية) و التأثيرات الأمية .

الباب السادس 237 - 221

الترحيل الكهربائي على الهلام ، تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل ، تقانة وصمة سوزن ، تقانة وصمة نورثرن ، تقانة وصمة ويسترن ، تحديد تتابع النيكلوتيدات في قطعة الدنا ، تقنيات الهندسة الوراثية ، الخطوات الأساسية في كلونة الجين.

الباب السابع : وراثه العشائر و الوراثة الكمية 267 - 238

مفهوم تكرار الجين و تكرار التراكيب الوراثية ، حساب تكرار الجين و تكرار التراكيب الوراثية ، اتران هاردي واينبرغ ، شروط اتران هاردي واينبرغ . الوراثة الكمية .

الباب الثامن : الوراثة والتطور 289 - 268

نظرية دارون في التطور، كيفية عمل الانتخاب الطبيعي ، ظهور الأنواع الجديدة ، الانقراض ، الانقراضات الجماعية في تاريخ الحياة على الأرض .
تعريف المصطلحات الوراثية .

علم الوراثة

نبذة تاريخية

إن الحقائق العلمية المعروفة في الوقت الحاضر بخصوص علم الوراثة وتفصيلها الدقيقة لم تكن معروفة في الزمن الماضي البعيد ولم تولد دفعة واحدة بل جاءت في سياق التطور الطبيعي للتفكير الإنساني والتقدم في مختلف العلوم التي ساعدت في اكتشافات علم الوراثة ، وقد وصف Carey (2010) أهمية دراسة التاريخ من خلال قناعته أن الناس الذين لا يتذكرون التاريخ محكوم عليهم بتكرار تجارب الآخرين وأخطائهم . ودراسة تاريخ علم الوراثة يمكن تناوله بوصف المراحل الزمنية التي تطور خلالها العلم :

الوراثة قبل التاريخ : إن الإنسان القديم امتلك المعلومات عن التوريث في فترة امتدت إلى 5000 سنة ق.م وذلك من خلال ممارسته الانتخاب الاصطناعي Artificial selection في تربية النباتات والحيوانات الداجنة لصفات مرغوبة وحصل الإنسان القديم على سلالات من القمح والذرة والتمر بمواصفات لم تكن موجودة في الأنواع البرية. قام بتدجين الكلاب وانتخابها على سبيل المثال لصفات قيادة القطيع، الحراسة والصيد وغيرها .

الفترة التاريخية المبكرة : إن امتلاك المعرفة الفطرية يختلف كثيرا عن تنظيم المعارف والإعلان عنها ونشرها وذلك ما يتطلبه العلم ، على سبيل المثال أنت تعرف وتعلمت المشي فطريا وبمعرفة ضمنية ولكن لتفكر بدقائق بكتابة مقالة محترفة كيفية المشي لكي تتحول المعلومات الفطرية في سياق المعرفة العلمية . أشار Stent (1971) إلى أن النظرية الأولى المعروفة عن التوريث في الغرب كانت من قبل فلاسفة اليونان في القرن الخامس قبل الميلاد فقد وضع ابقراط Hippocrates (460 – 370 ق.م) نظرية المدفع والطبوق Bricks and mortar وفيها يعتقد إن العناصر المسؤولة عن التوريث منتشرة في أجزاء الجسم وتتركز في مني الرجل ثم تتشكل إلى إنسان في الرحم ، وكان يؤمن بوراثة الصفات المكتسبة .

من النظريات المبكرة التي حاولت تفسير انتقال الصفات الوراثية نظرية التكوين المسبق Preformation التي وضعها Leeuwenhoek (1632-1723) وهو صانع عدسات هولندي (ليس لديه مستوى تعليمي علمي) أول من شاهد نطفة الإنسان واعتقد إن كل نطفة تحمل كائناً مصغراً ينمو إلى إنسان بالغ و بموجبها يكون التطور عبارة عن النمو ، وطبقا لهذه النظرية فإن كل فرد يشكل بالكامل ضمن الخلية الجرثومية ويزداد بصورة أساسية في الحجم خلال التطور الجنيني، وينقسم علماء التكوين المسبق إلى معسكرين متضادين وهما ovists و spermists. حيث يفترض ovists إن مبيض الأنثى يحتوي على نسخ غير ناضجة من النسل وان السائل المنوي الذي يسهم به الذكر يعمل على تنشيط عملية النمو . بالمقابل فان علماء فرضية spermists يفترضون إن النطفة تحتوي على نسل دقيق كامل التكوين وان دور البيضة هو حضانة النطفة، وادعى بعض العلماء في تلك الفترة إنهم لاحظوا شكل الإنسان المصغر في

رأس النطفة (شكل 1- 1) ويأتي ذلك من إن المجاهر التي استخدمت في ذلك الوقت كانت بدائية ولا تظهر تفاصيل الخلية ولذلك يقوم الباحثون بإكمال التفاصيل بملاحظات من الخيال.



الشكل 1- 1. المخطط المنشور لتوضيح فرضية سبق التكوين و يوضح كائناً مصغراً داخل النطفة.

ومع تحسن المجاهر و تراكم الاكتشافات ، أصبحت السيادة لنظرية التكوين المتعاقب خلال القرن الثامن عشر فقد أشار عالم التشريح الألماني Kaspar Friedrich Wolff (1733 – 1794) إلى انه في حالة وجود الفرد البالغ بصورة مصغرة في البيضة أو النطفة بذلك يكون التطور (التكوين) عبارة عن نمو في الحجم وبناء على ذلك تكون الأجنة مشابهة للفرد البالغ الصغير ، بينما لاحظ Wolff إن الأوعية الدموية، القناة الهضمية و الكلية لجنين الدجاج تختلف تماما عن مثيلاتها من الأعضاء في الدجاج البالغ، وأكد على أهمية التراكيب المتخصصة المرحلية (الأغشية الجنينية الامنيون ، الكوريون و اللانتويس مثلا) وفسرها على أنها تكيف مؤقت للتغذية ، التنفس والتخلص من الفضلات و هذه التراكيب سوف تستبدل أو تتحول فيما بعد إلى تراكيب أخرى خلال التطور ، ومع تراكم الاكتشافات للاختلافات بين المراحل الجنينية، المبكرة و البلوغ اضمحلت فرضية التكوين المسبق وأصبحت نظرية التكوين المتعاقب الدليل الأساسي للتطور، ولكن الميكانيكيات على المستوى الجزيئي لم تكن مفهومة بدرجة كافية.

وضع لامارك (1744 – 1829) مجموعة من الأفكار التي تقترض إن استخدام أو عدم استخدام عضو معين في الجسم يؤثر على تطور هذا العضو أو ضموره وبالتالي فإن النسل الناتج عن الفرد يرث الصفات المكتسبة عن الاستخدام لهذا العضو من الجسم (Milner ، 1993) وأشار ضمنا إلى التأقلم للبيئة المحيطة من خلال تأثيرها على صفات

الكائن الحي وأوضح ذلك من خلال مثاله إن الزرافة طال عنقها خلال سلسلة من الأجيال وذلك لضرورتها للحياة لتتمكن من أكل قمم الأشجار وبذلك تمتلك ميزة تنافس بها بقية الحيوانات (الملاح و سفيان ، 1990) ولم تلق هذه النظرية القبول الواسع لأنه لم يوفر الميكانيكية التي تنتقل خلالها الصفات بين الأجيال، بينما وضع جارلس دارون Charles Darwin (1809-1882) (الشكل 1-2 ، هو عالم بريطاني حفيد الطبيب والشاعر الانجليزي ارasmus دارون Erasmus Darwin (1731 - 1802) في عام 1868 م نظرية شمولية التكوين Pangenesis التي توفر الميكانيكية لأفكار لامارك (قام العالم جريجور مندل بنشر أبحاثه وقوانينه قبل ثلاثة أعوام 1865 م من وضع هذه النظرية إلا أنها لم تلق الاهتمام والتأييد) والتي تقترض وجود جسيمات صغيرة ناقلة للوراثة أطلق عليها gemmules وسميت أيضا pangene تنتج من كل أجزاء الجسم وتنتقل داخل الجسم لتتركز في خلايا الغدد التناسلية وتنتقل إلى النسل الناتج عن الفرد، وقد اقتنع دارون بنظرية شمولية التكوين؛ لأنها توفر الميكانيكية لوراثة الصفات المكتسبة Inheritance of acquired characteristics ، فضلا عن أن هذه النظرية تتماشى مع المفهوم السائد للوراثة في ذلك الوقت وهو نظرية المزج الوراثي blending theory of inheritance حيث إن النسل الناتج سيكون خليطا من جسيمات الأبوين . إلا إن هذه النظرية كان لها معارضون وبذلوا جهودا لإثبات عدم صحتها ومنهم Francis Galton (1822 – 1911) وهو ابن خال دارون إذ أجرى بحوثا و تجارب موسعة للفترة 1869 – 1871 لاختبار إمكانية انتقال الجسيمات الناقلة للوراثة في مجرى الدم نقل خلالها الدم بين سلالات من الأرانب المتباينة واختبر صفات النسل الناتج عنها ولم يجد دليلا على إن الصفات تنتقل بين السلالات عن طريق الدم.



الشكل 1 – 2. العالم البريطاني Charles Darwin .

وتراكت المعلومات التي أثبتت عدم صحة هذه النظرية فقام العالم Hugo de Vries عام 1889 م (الشكل 1-3) بتحويل هذه النظرية وافترض أن هذه الجسيمات pangenes ترتبط بالكروموسومات في نواة كل خلية، وافترض أن هذه الجسيمات تكون وحدات منفصلة عن

بعضها و مستقلة واعتقد إن الجسيمة تؤثر على مدى واسع من الصفات الوراثية (وهذه هي نقطة الاختلاف عن مفهوم مندل للعوامل الوراثية factors).



شكل 1 - 3. العالم الهولندي Hugo de Vries .

قام العالم الألماني August Weismann بوضع نظرية الخط الجرثومي germ-plasm theory عام 1883 م والتي تفترض أن خلايا الكائن الحي تقسم إلى خلايا جسمية somatic cells وهي التي يتكون منها عموم الجسم والخلايا الجرثومية germ cells وهي الخلايا التي تولد الكميات، وافترضه الحاسم بعدم حصول التبادل بينهما في التغيرات الحاصلة خلال فترة الحياة وإن التغيرات الموروثة يجب أن تحدث في الخلايا الجرثومية (Chris، 2009). وذكر Winther (2001) إن اسم وايزمان يرتبط مع عدد من الحقائق الوراثية منها معارضته لنظرية وراثه الصفات المكتسبة، تفسيره أن الاختلافات في المادة الوراثية تظهر ببطء نتيجة سلسلة من العمليات الداخلية مثل التكاثر الجنسي و أن الخلايا الجرثومية تكون مستمرة ضمن الجيل وبين الأجيال، وكان لتجاربه وايزمان اسهام في إثبات عدم صحة نظرية وراثه الصفات المكتسبة حيث قام بقطع ذبول الفئران حديثة الولادة في المختبر و لفترة 21 جيلا واستمرت الفئران بإنتاج فئران صغيرة تمتلك الذبول الطبيعية.

مندل

ولد يوهان جريجور مندل Johan Gregor Mendel في 22 تموز عام 1822 م في مدينة Heinzendorf (الآن في جمهورية التشيك) من عائلة فلاحية، وبسبب ظروفه المادية الصعبة لم يستطع إكمال دراسته والتحق راهبا في دير برنو Berno وهو بعمر 21 سنة ليوفر له الدير فرصة إدراك طموحاته العلمية، وقد عمل مندل لاحقا مدرسا بديلا في المدرسة التقنية في المدينة، وعمل مندل بنشاط في إجراء بحوثه في حديقة الدير للتحري عن الاختلافات و وراثتها في نبات البزاليا و توجت جهوده بوضع قوانين أساسية في الوراثة نشرها في عام 1866 م (بعد سبع سنوات من نشر دارون كتابه (أصل الأنواع) ولكن نتائجه لم تلق الاهتمام طوال 34 سنة بسبب إتباعه أسلوبا إحصائيا غير مألوف في ذلك الوقت فضلا عن أن مكونات الخلية والانقسام الخلوي لم تكن معروفة وقد توفي مندل عام 1884 م.

على الرغم من اكتشاف الخلية و وصفها مبكرا إلا أن معرفة تراكيبها الدقيقة و دورها في الوراثة كان نتيجة سلسلة من الدراسات والانجازات العلمية التي أسهم بها الكثير من العلماء، إذ يعتبر العالم الانكليزي Robert Hooke عام 1665 م أول من شاهد الخلية Cell إلا انه لم يدرك أهميتها ، وقد ظهرت المفاهيم الحديثة عن الخلية بجهود عالم النبات الألماني Matthias Jakob Schleiden و العالم الألماني في علم الحيوان Theodor Schwann اللذين وضعوا نظرية الخلية التي تقترح أن جميع الحيوانات والنباتات تتكون من خلايا وان كل خلية تنحدر من خلية سابقة لها حيث تمثل الخلية الوحدة الاساسية للحياة . وبحلول عام 1880 م استطاع الباحثون Walther Flemming و Anton Schneider و Eduard Strasburger و آخرون من التوصل إلى الحقائق الآتية :

- 1- تتضاعف الكروموسومات عند انقسام الخلية .
 - 2- إن الخلايا الجديدة الناتجة عن الانقسام تستلم العدد نفسه من الكروموسومات للخلية الأصلية.
 - 3- تمتلك الكميات نصف العدد الكروموسومي للخلية البالغة.
 - 4- يتضمن الإخصاب اندماج نواتي النطفة والبويضة.
 - 5- يمتلك الزايكوت الناتج عن الإخصاب العدد الكامل من الكروموسومات.
- وما تلا ذلك من اكتشاف Wilhelm Roux عام 1883 م أن الكروموسومات تشترك في نقل المعلومات الوراثية بين الأجيال (Carey ، 2010)، وقد وفرت هذه الاكتشافات المعلومات اللازمة لفهم صحيح لقوانين مندل عند إعادة اكتشافها عام 1900 م من قبل ثلاثة علماء بصورة مستقلة وهم ديفريز Hugo de Vries من هولندا و كورنرز Carl Correns من ألمانيا و تشرماك Erich von Tschermak من النمسا (الشكل 1-4) عندما حصلوا على بحث مندل أثناء بحثهم في الدراسات السابقة في تهجين النبات وقد شكل اكتشاف قوانين مندل البداية الحقيقية لعلم الوراثة الحديث، وضمن نفس الفترة اطلع William Bateson على بحوث مندل وقام بترجمتها إلى الانجليزية وأطلق كلمة Genetics على علم الوراثة مستخدما كلمة إغريقية بمعنى يولد أو ينتج to generate لوصف العلم الجديد.



(a) Gregor Mendel



(b) Carl Correns



(c) Hugo de Vries



(d) Erich von Tschermak

الشكل 1 - 4. يوهان مندل و العلماء الذين اكتشفوا قوانين مندل و هم: كورنرز، ديفريز، تشرماك.

نظرية الكروموسوم في الوراثة Chromosomal theory of inheritance

تفترض هذه النظرية أن الكروموسوم يمثل تتابع خطي من سلسلة من الجينات وتفسر هذه النظرية أنماط الوراثة بافتراض أن الجينات تحتل مواقع محددة على الكروموسومات ، وهناك نقاط جوهرية تحدها النظرية هي :

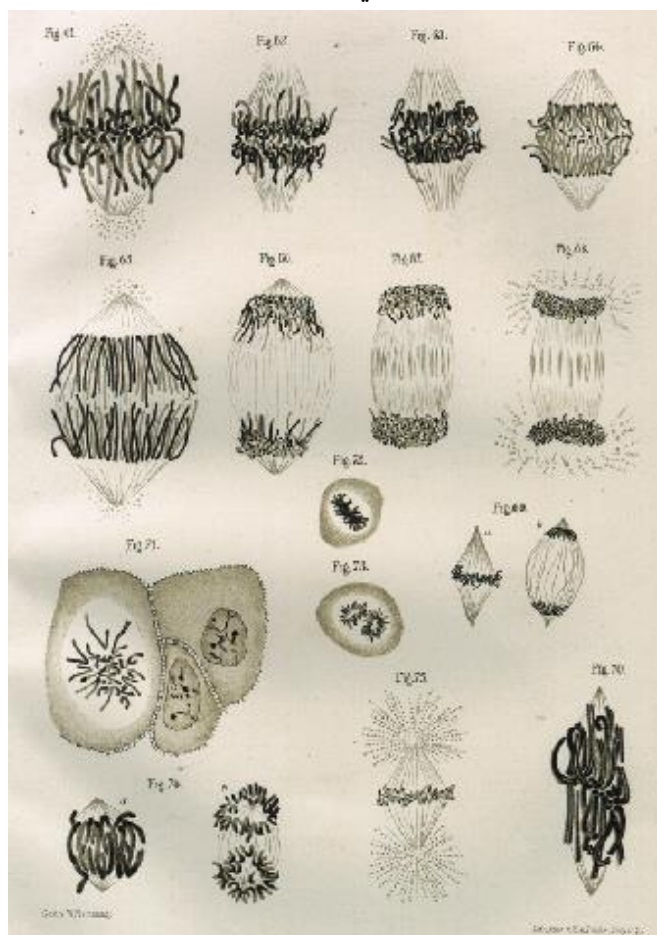
- 1- يمتلك الكروموسوم الواحد مجموعة من الجينات .
- 2- أزواج الكروموسومات المتناظرة تتعزل عن بعضها البعض خلال الانقسام الميوزي للخلية *meiosis division*، وكل خلية جنسية تمتلك نصف عدد الكروموسومات الموجودة في الخلية الجسمية .
- 3- تتوزع الكروموسومات بصورة مستقلة خلال الانقسام الميوزي لتكوين الكميات وهذا يعني إن الكميت يستلم مجموعة واحدة من الكروموسومات المتناظرة من كل أب وبطريقة لا يؤثر احدهما على الآخر.

أشار Mueller (2001) إن أول من اثبت إن الكروموسوم يحمل المادة الوراثية هو Walter Sutton في دراسته على خلايا الجراد *grasshopper*، فقد اثبت أن الصدفة تلعب دورا كبيرا في الانقسام الميوزي من خلال توليفات مختلفة من الكروموسومات (Sutton ، 1903).

وقد ذكر O'Connor و Miko (2008) إن العلماء استطاعوا تمييز الكروموسوم في بداية القرن التاسع عشر باستخدام الميكروسكوب إلا أن أهمية الكروموسومات لم تكن معروفة ، وفي النصف الثاني من القرن التاسع عشر أجريت بحوث مهمة من قبل جريجور مندل و جارلس دارون لوضع ميكانيكية الوراثة ثم تبعها بعد عقود قليلة من الزمن بحوث مهمة قام بها Walther Flemming و Theodor Boveri و Walter Sutton توصلوا خلالها إلى اكتشافات مهمة عن الكروموسومات من حيث التركيب وسلوكها أثناء الانقسام و الدور الذي تلعبه في نقل الصفات الوراثية. ولم تكتمل المعلومات الضرورية إلا بعد تجارب Thomas Hunt Morgan في بداية القرن العشرين والذي استطاع خلالها وصف الارتباط المباشر بين سلوك الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزي و وراثة الصفات بين الأجيال وبذلك وفر الدليل القوي لنظرية الكروموسوم.

في منتصف القرن التاسع عشر توصل العلماء إلى أن الخلايا تشتق من خلايا سابقة وان المعلومات الوراثية تتمركز في نواة الخلية ولكن طبيعة المادة الوراثية لم تكن معروفة ، وقد وصف العالم الألماني Flemming شبكة ليفية قابلة للاصطباغ في نواة الخلية أطلق عليها كروماتين *chromatin* (أي مادة قابلة للاصطباغ) كما وصف حركة الكروموسومات وانشطارها الطولي خلال الانقسام الخلوي والذي ينتج عنه خليتين جديدتين، وقد وصف بدقة الميكانيكية لتوزيع المادة الوراثية على الخلايا الناتجة عن الانقسام الخلوي (الشكل 1-5). في نهاية القرن التاسع عشر ونتيجة التطورات الكبيرة في علم الخلية وتقنيات الميكروسكوب تمكن عالم الأجنة الألماني Theodor Boveri من تطوير اكتشافات فلمنك ليوفر الدليل على أن

الكروموسومات في الخط الجرثومي تمثل مادة الاستمرارية والتواصل بين الأجيال المتعاقبة. وقد وصف عملية تنصيف عدد الكروموسومات في الكميات.



الشكل 1 - 5. مراحل الانقسام كما رسمها Flemming خلال الانقسام الميوزي .

في السنوات المبكرة من القرن العشرين أجرى Thomas Hunt Morgan وزملاؤه في جامعة كولومبيا تجاربهم على حشرة *Drosophila* وتوصلوا إلى التعرف على مئات الجينات و العديد من الاكتشافات المهمة حول انتقال المعلومات الوراثية، وأوضحت الفحوص الخلوية أن الدروسوفلا تمتلك أربعة أزواج من الكروموسومات بضمنها كروموسومات الجنس يكون التركيب الوراثي للأنثى XX و التركيب الوراثي للذكر XY (الشكل 1-6).



الشكل 1 – 6. الكروموسومات في حشرة الدروسوفيليا *Drosophila*.

مستويات التحليل الوراثي

يمكن إجراء التحليل الوراثي Genetic analysis في مستويات مختلفة، و أقدم هذه المستويات هو التحليل المندي الذي يركز على أسلوب انتقال الصفات من جيل الآباء إلى جيل الأبناء عند إجراء التهجينات المختلفة. و هناك نوع آخر من التحليل الوراثي ظهر لاحقاً اتبع خطى واطسن و كريك و عدد كبير من الباحثين الذين عملوا في مشاريع الجينوم للكائنات الحية المختلفة و كان التركيز فيه على التركيب الجزيئي للمادة الوراثية، فضلاً عن وجود مستوى آخر من التحليل الوراثي يركز على عشائر الكائنات الحية (Snustad و Simmons، 2012) و سنتناول وصف هذه المستويات من خلال الفقرات الآتية :

التحليل الوراثي في الوراثة المنديية

يسمى أيضا الوراثة التقليدية، وتشير إلى المرحلة التي سبقت اكتشاف تركيب الدنا وفيها يجري تحليل نتائج التضريريات الوراثية بين سلالات الكائنات الحية المختلفة و بنفس الأسلوب الذي اتبعه مندل في دراسته للتضريريات في نبات البزاليا (مثال، تضرير نبات طويل الساق مع نبات قصير الساق) و في هذا النوع من التحليل الوراثي يتم ملاحظة تأثير الجين على الصفات الموروثة في الأبناء الناتجة عن التضريريات، و يعزى الاختلاف إلى امتلاكها أشكالاً بديلة للجين (الاليلات) . و لكن في بعض الحالات تتأثر الصفة بأكثر من جين واحد و قد تتأثر الصفة بالظروف البيئية مثل التغذية و الحرارة مما يجعل هذا النوع من التحليل الوراثي غير قادر على تفسير النتائج.

تشمل الوراثة التقليدية أيضا دراسة تركيب و سلوك الكروموسومات باعتبارها التراكييب الخلوية الحاملة للجينات، و تمكن علماء الوراثة من إجراء التحليل الوراثي لأنماط من الوراثة مكنهم من تحديد مواقع الجينات على الكروموسوم و رسم الخرائط الوراثية.

التحليل الوراثي في الوراثة الجزيئية

بعد اكتشاف تركيب الدنا، أصبحت أهداف البحوث الوراثية تركز على المستوى الجزيئي لدراسة تكرار المادة الوراثية و تضاعفها، أسلوب التعبير الجيني و طرائق تنظيم التعبير الجيني في الكائنات الحية المختلفة ، و دراسة الطفرات على المستوى الجزيئي. و تمكن هذا الفرع من علم الوراثة أن يلعب دورا مهما بعد أن تمكن العلماء من تحديد تنابعات الدنا و أصبحت

الممارسات البسيطة و الروتينية في المختبرات الوراثية، مما وفر الفرصة لدراسة مكونات الجين من التتابعات المشفرة، التتابعات المنظمة لعمل الجين، و التتابعات غير المشفرة للجين فضلاً عن دراسة طبيعة سلسلة عديد الببتيد التي يشفر لها الجين . و نتجت عن تراكم المعلومات المتوافرة عن طبيعة جزيئات الدنا إمكانية التعامل مع جزيئات الدنا مختبرياً ضمن تقانات الهندسة الوراثية و أصبح من الممكن قطع جزيئات الدنا في مواقع محددة و غرسها في جزيئة دنا أخرى و التعامل مع الجزيئات الهجينة مختبرياً في الزجاج، و إجراء العديد من التجارب التي تضمنت نقل الجين من كائن حي إلى كائن حي آخر.

التحليل الوراثي في وراثه العشائر

يتناول هذا الفرع من علم الوراثة (وراثه العشائر population genetics) دراسة الخصائص الوراثية للعشيرة ، فالأفراد ضمن العشيرة الواحدة قد يمتلكون اليلات مختلفة ، و يتضمن ذلك اليلات مختلفة في مواقع جينية مختلفة، مما يجعل الأفراد في العشيرة متميزين وراثياً (يمتلكون تركيباً وراثياً مختلفاً) و ربما يمتلكون تراكيب وراثية فريدة. و يسعى علماء وراثه العشائر إلى فهم هذه الاختلافات في العشيرة و أهميتها. و تعتمد الدراسة في وراثه العشائر في تحديد تكرارات الجينات gene frequencies في العشيرة و متابعة تغير هذه التكرارات و تحديد العوامل المؤثرة في إحداث التغيير خلال الفترات الزمنية التي تتضمن جيل أو عدد من الأجيال.

أهمية علم الوراثة في المجتمع وعلاقته مع بقية العلوم :

يرتبط علم الوراثة بالعديد من جوانب حياة الإنسان و فعاليات المجتمع بضمنها صحة المجتمع ، السلوك ، توفير الغذاء ، و تطبيقات في الجوانب القانونية .

يؤثر علم الوراثة بشكل عميق في الطب، إذ وفر علم الوراثة المعلومات الضرورية عن كيفية عمل مختلف أجزاء الجسم في حالة التطور والنمو الطبيعي وكذلك في الحالات المرضية مثل السرطان وأمراض القلب والأمراض الوراثية الأخرى، ويعتبر الطبيب البريطاني جارود Archibald Garrod أول من وضع الأسس لعلم الوراثة الطبية الحديث، فقد كان أول من أشار إلى وجود ارتباط بين الطفرة الجينية مع حدوث إعاقة للمسارات الأيضية في الجسم وينتج عنها مرض وراثي، ففي عام 1902م قام جارود بدراسة مرض أيزي Metabolic disorder ينتشر بين العوائل مما يشير إلى انه يتوارث ويسمى Alkaptonuria وفيه تتراكم مادة alkapton في أنسجه الجسم وتفرز في البول، وتمثل هذه المادة التي تسمى أيضا Homogentisic acid ناتجاً وسطياً من تمثيل الحمض الاميني فنيل الانين phenylalanine ، وفي الحالة الطبيعية يتحول alkapton إلى ماده أخرى تسمى maleylacetoacetate أما في الحالة المرضية فيحدث تشوه في إنزيم التحويل وينتج عن ذلك تراكم لمادة alkapton وتتأكسد وينتج عنها اللون الأسود في المناطق التي تكون غنية بالغضاريف مثل الأذن والأنف والمفاصل وغيرها، فضلاً عن تحول البول إلى اللون الأسود عند تعرضه للأوكسجين، وبالرغم من أن هذا المرض لا يسبب أعراضاً خطيرة إلا انه يسبب الآلام في المفاصل و تلازم المريض

طوال حياته، وقد وجد جارود نتيجة دراسته للمرض وبالاشتراك مع عالم الوراثة وليم باتسون William Bateson أن المرض يتوارث وفق القوانين المنديلية وأن العوامل الوراثية تسيطر على الوسط الكيميائي للخلية، ولذلك يشار إلى جارود أنه الأب لعلم الوراثة الكيموحيوية Father of biochemical genetics منذ ذلك الوقت، أجريت العديد من الدراسات التي توصلت إلى وجود ارتباطات بين العيوب في الجينات (الطفرات) والأمراض، ووجدت العلاج للعديد من الحالات مثل مرض النزف الوراثي Hemophilia وهو المرض كان يسبب عادة الموت للمصابين خصوصاً في مرحله المرافقة، أما اليوم باستخدام المعلومات الوراثية وجد العلاج الفعال للمرض و يجعل الفرد المصاب يعيش حياة طبيعية.

يعدّ العلاج بالجينات Gene therapy من التقنيات الوراثية المهمة والتي تشير إلى إدخال جينات طبيعية إلى خلايا المريض المصابة بجينات مشوهة. وهذه التقنية واعدت بالأمل لإيجاد العلاج الفعال للأمراض الوراثية، فبالرغم من أن المعلومات النظرية تشير إلى فرصة نجاح هذه التقنية في معالجة الأمراض الوراثية إلا أن النتائج التجريبية على العديد من الأمراض، أوضحت أن الجين المستخدم في العلاج يتوقف عن التعبير عن نفسه بعد فترة قصيرة مما يتوجب إجراء العديد من الأبحاث في هذا المجال. و استخدمت تقنية البصمة الوراثية DNA fingerprint في الفصل القضائي لخلافات الأبوة، التعرف على الأشخاص المجهولين للذين قضاوا في الحوادث، فضلاً عن استخدامها في التحقيقات الجنائية للتعرف على وجود شخص محدد في موقع الجريمة من خلال تحليل عينات الدم، الشعر، الأنسجة وغيرها.

يعدّ السرطان cancer من الأمراض التي تشكل تحدياً كبيراً في مجال الطب، إن جميع أنواع السرطان تمثل مرضاً وراثياً بمعنى أنها ناتجة عن تغيير في المعلومات الوراثية التي تنتقل إلى الخلايا الجديدة، والمعلومات المتوافرة تشير إلى أن مرض السرطان ينتج عن تراكم الأضرار في الجينات المسيطرة على الانقسام الخلوي والتمايز الخلوي وما يرتبط بهما.

من التطورات الحديثة في مجال تشخيص الأمراض الوراثية، يعمل العلماء على استخدام تطبيقات الحاسوب في التقنيات الوراثية من خلال استخدام تقنيات شريحة الجين gene-chip technologies والتي تستخدم في تشخيص الأمراض الوراثية بسرعة، وجود الفيروسات، الكشف عن التغيرات في نمط التعبير الجيني في أنسجة المريض المرتبطة بأمراض مختلفة. ويمكن لشريحة الجين مقارنة مستويات التعبير الجيني بسرعة في عشرة الآلاف وأكثر من الجينات في أنسجة منتخبة من المريض ومقارنتها مع الأشخاص الطبيعيين وأن هذه التقنية يمكن لها أن تطور الفهم للعلاقة بين التغير في التعبير الجيني مع نشوء الأمراض في الإنسان، وتوفر المعلومات الضرورية للعلماء لعلاج الأمراض الوراثية.

لقد أدى تطبيق قوانين مندل في الزراعة الحديثة إلى تطور كبير في الإنتاج الزراعي، على سبيل المثال إنتاج هجين الذرة Hybrid corn من خلال تضريب خطوط مربية تربية داخلية، وكل خط منتخب لصفات مميزة مثل مقاومة الأمراض، المحتوى العالي البروتين أو السكر،

وخلال الفترة من 1940 إلى 1980 ارتفع معدل إنتاج الذرة بنسبة 250% وكان لعملية التهجين تأثير كبير في إنتاج المحاصيل الغذائية المهمة مثل الحنطة، الرز، الشوفان والشعير.

خلال الفترة الممتدة من الخمسينيات إلى السبعينيات من القرن العشرين عمل Norman Borlaug وفريق من الباحثين على استخدام القوانين الوراثية في تكوين سلالات جديدة من الحنطة في المكسيك وهي ذات إنتاجية جيدة في ظروف الإجهاد الموجودة في البلدان النامية وحصل على جائزة نوبل للسلام في عام 1970 لجهوده في تطوير سلالات المحاصيل الغذائية، وبعد النجاح الذي تحقق في إنتاج الذرة الهجينة تم تطبيق القوانين الوراثية في برامج التربية والتحسين للدجاج ونتيجة لذلك تم تحسين صفات النمو، مقاومة الأمراض وإنتاج البيض في قطعان الدجاج، وفضلا عن ذلك تم تطبيق برامج التربية والتحسين على قطعان الماشية والأغنام وتحسين صفات النمو وكفاءة التحويل الغذائي والتأقلم للظروف البيئية المحلية، وفي أبقار الحليب تم تحسين إنتاجية البقرة من الحليب ونسبه الدهن في الحليب.

يعدّ التلقيح الاصطناعي Artificial insemination من التقنيات الفعالة و المهمة التي استخدمت في تحسين الماشية، إذ يتم انتخاب الذكور التي تمتلك جينات متميزة في إنتاج الحليب حسب سجلات العائلة أو إنتاج اللحم حسب الأداء المظهري، وتعتمد هذه التقانة على الحصول على مني الذكر المتميز وتخفيفه وخرنه تحت ظروف التجميد ويستخدم في تلقيح الإناث في مناطق مختلفة من العالم، مما ساعد على نشر الجينات الجيدة إلى عدد كبير من النسل وتحسين إنتاجية اللحم والحليب.

تستخدم التقنيات الوراثية الحديثة من المجال الزراعي من خلال إدخال صفات جديدة لم يمتلكها الفرد، فقد استخدمت تقانة غرس الجينات المقاومة للحشرات أو المسببات المرضية في نباتات المحاصيل وأصبحت وسيلة مهمة في مقاومة هذه الكائنات الضارة التي تسبب تدمير الكثير من الموارد الغذائية في العالم، ومن الأمثلة في هذا المجال هو حشرة حفار ساق الذرة corn borer والتي تسبب أضرارا كبيرة في إنتاجية الذرة وتشير المصادر إلى أن مكافحة هذه الآفة تكلف المزارعين في الولايات المتحدة بليون دولار سنويا عن طريق رش المحاصيل بالمبيدات الحشرية، أما اليوم فتستخدم إحدى سلالات بكتريا *Bacillus thuringiensis* والتي تمتلك جينا يقوم بإنتاج بروتين سام يقتل حشرة حفار ساق الذرة، ويتم عزل هذا الجين من البكتريا وخرسه في جينوم نبات الذرة وعند تغذية الحشرة على عصارة النبات تقتل خلال أيام قليلة.

إن المشاريع الوراثية التي يجري تنفيذها حاليا مثل مشروع الجينوم البشري Human Genome Project الذي يهدف إلى تحديد تتابعات المعلومات الوراثية في الإنسان وعدد محدود من الكائنات الحية المهمة (مثل الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، ذبابة الفاكهة *Drosophila melanogaster* وغيرها) والتي اكتمل جزء مهم منها، يمكن لها أن تؤثر بشكل كبير على المجتمع الإنساني، إذ يوفر هذا المشروع المعلومات للعلماء بطريقة يمكن

بواسطتها التنبؤ بالمستوى الصحي المستقبلي للأفراد، وعلى سبيل المثال، تحديد احتمالية حدوث السرطان، الأمراض العقلية، بعض الأمراض الوراثية في شخص معين.

إن هذه المشاريع الوراثية طرحت العديد من التساؤلات المستقبلية حول إمكانية استخدام هذه المعلومات في صلاحية الفرد وراثيا للتعيين في وظيفة معينة كإحدى الوثائق المطلوبة أو استخدام هذه المعلومات من قبل شركات التأمين على الصحة أو الحياة.

يمتلك علم الوراثة إمكانية لتحسين مستوى الحياة في المجتمع الإنساني، ومن بين النظريات الوراثية المهمة الانتخاب الطبيعي Natural Selection والتي تشير إلى أن الكائنات التي تمتلك ميزات جيدة وملائمة للبيئة التي تعيش فيها سوف تنتج عدداً كبيراً من النسل مقارنة بالكائنات التي تمتلك صفات أقل جودة، وكنتيجة لهذه العملية فإن الصفات الجيدة تكون هي السائدة في العشيرة وتمثل الحالة الطبيعية وخلافها يكون شاذاً وغير طبيعي. إن هذه النظرية لا تأخذ دورها في المجتمعات البشرية، فقد أشار فرانسيس كالتون Francis Galton إلى أن العديد من الإعاقات العقلية والبدنية يجري توارثها نتيجة الرعاية الاجتماعية والصحية وبالتالي لا تخضع إلى قوى الانتخاب الطبيعي، ويعتقد كالتون بإمكانية تحسين الهيكل الوراثي للمجتمع البشري من خلال الانتخاب الاصطناعي وسميت هذه الفكرة علم تحسين النسل البشري

Eugenic وفيها يتم تشجيع الآباء الذين يحملون صفات مميزة على تكوين عائلات كبيرة وتسمى positive eugenic بينما لا يشجع الآباء الذين يحملون صفات غير مرغوبة على إنجاب الأطفال وتسمى Negative eugenic من الصفات التي اعتقد كالتون أنها مفيدة للمجتمع البشري الذكاء العالي، الانجاز العالي، الإبداع والصحة المميزة . أما الصفات التي يجري الانتخاب ضدها فهي المستوى المنخفض من الذكاء، الأمراض العقلية، الجريمة، والإدمان.

و قد جرى تطبيق علم تحسين النسل في الولايات المتحدة في مرحلة مبكرة من القرن العشرين خصوصا تحسين النسل السالب ، ففي عام 1907 وضعت ولاية Indiana قوانين لإحداث العقم Sterilization في الأشخاص الذين يظهرون البلاهة ، الإدانة بالاعتصاب ، الإدانة بالجرائم المعتادة ، و بحلول عام 1931 طبقت نصف الولايات الأمريكية تقريبا قوانين إحداث العقم في الحالات التي تم وصفها و امتدت لتشمل الانحراف الجنسي، الإدمان على المخدرات، الإدمان الكحولي و الصرع. و في عام 1920 ظهر اتجاه آخر يتعلق بتحسين النسل هو تقييد الهجرة إلى الولايات المتحدة حسب المجاميع الوراثية المرغوبة ، فقد تم تسهيل هجرة المجاميع المهاجرة من شمال أوروبا، مع وضع قيود شديدة على المجاميع الوراثية المهاجرة من مناطق البحر الأبيض المتوسط ، أواسط أوروبا و الصين. وفي ألمانيا خلال الحقبة النازية، قام هتلر خلال الفترة 1930 لغاية 1945 بتطبيق قوانين قاسية ضمن مفهوم تحسين النسل قام خلالها بإبادة ملايين اليهود و العجر و غيرهم ضمن حملة أطلق عليها تنظيف ألمانيا من المادة الوراثية المتدنية (Snustad و Simmons ، 2000). إن المجتمع الإنساني الحديث لابد أن يستفاد من أخطاء و دروس الماضي، و أن تكون اتجاهات استخدام المعلومات الوراثية التي يوفرها مشروع الجينوم البشري من خلال تحسين المستوى

الصحي لأفراد المجتمع و إيجاد الأساليب الفعالة في معالجة الكثير من الأمراض الوراثية.
التكاثر و علاقته بالوراثة

إن إحدى الملاحظات المهمة التي قادت إلى اكتشافات مفاهيم الوراثة هي انتقال الصفات من جيل الآباء إلى جيل الأبناء و الذي يحمل في مضمونه تكاثر الكائنات الحية و صراعها من أجل البقاء و المحافظة على النوع . تتكاثر الكائنات الحية بطريقتين: الأولى تتضمن التكاثر اللاجنسي (Asexual reproduction) و التي تشمل الانشطار البسيط و التبرعم و التكاثر الخضري في النبات (الفسائل و العقل وغيرها باستثناء البذور) و الطريقة الثانية التكاثر الجنسي (sexual reproduction) و يشمل تكوين الكميئات الذكرية و الكميئات الأنثوية التي تتحد بعملية الإخصاب لتكوين النسل الجديد ، و تشمل الطريقة الأخرى الأسلوب الذي ينتج عنه التنوع البيولوجي نتيجة تراكم تأثيرات الطفرة و العبور في عشائر الكائنات الحية .

دورة الخلية Cell Cycle

لكي تنمو الكائنات الحية سواء كانت أحادية الخلية أو متعددة الخلايا ، لابد من توفر ثلاثة أحداث و هي زيادة كتلة الخلايا ، و تضاعف المادة الوراثية ، و الانقسام الذي ينتج عنه خليتان كل واحدة منها تمتلك مجموعة متساوية من المادة الوراثية للمحافظة على خط الخلية . و تشير الخفاجي (2008) إلى أن الخلايا الحقيقية النواة تكون متشابهة في خصائصها الأساسية ، و يمكن دراستها في الأحياء المجهرية الدقيقة لتوفير المعلومات عن أساسيات السيطرة عليها في خلايا الأحياء الراقية في سلم التطور . تمثل عملية النمو سلسلة معقدة من الأحداث تسمى دورة الخلية و التي تتضمن أحداثاً مسيطراً عليها وراثياً و تشمل طورين أساسيين هما : طور البيني Interphase و يسمى البيني لأنه يقع بين انقسامين ، و طور الانقسام الميوزي Mitosis و يشكل الانقسام الميوزي 5 % من دورة الخلية بينما يمثل الطور البيني 95 % من دورة الخلية (شكل 1-7) ، و يمكن وصف سلسلة الأحداث في دورة الخلية بما يأتي :

- 1- الطور البيني : و يشتمل على ثلاثة أطوار رئيسة هي :
 - أ- مرحلة النمو الأولى G_1 (Gap_1) و هي المرحلة التي تلي انقسام الخلية و تكوين خليتين جديدتين ، و تكون الخلية في هذه المرحلة نشيطة من الناحية الأيضية و تعمل خلالها الخلية على توفير المتطلبات الكيميائية لتصنيع الدنا في المرحلة اللاحقة و تحفيز الجينات المسؤولة عن تخليق الهستونات و بروتينات أخرى ضرورية لعملية التضاعف . و يمكن للخلايا أن تبقى في هذه المرحلة نشطة أيضاً تؤدي وظائفها في الجسم دون أن تكمل بقية المراحل و لا تدخل الانقسام إلا إذا استلمت إشارات و محفزات خارجية . و يكون شكل الكروموسوم في هذه المرحلة تركيباً عصبياً مفرداً غير متضاعف .
 - ب- مرحلة تصنيع الدنا (DNA Synthesis) S و تمثل المرحلة بعد G_1 و يجري خلالها تضاعف المادة الوراثية و تصبح الكروموسومات متضاعفة يتكون كل كروموسوم من

كروماتيديين شقيقين (نسختين من الكروموسوم متطابقتين) يرتبطان مع بعضهما بواسطة السنتروميير .

ج - مرحلة النمو الثانية G2 (Gap2) و هي المرحلة بعد تضاعف الدنا (بعد مرحلة S) و تعمل خلالها الخلية على مضاعفة محتوياتها من العضيات و غيرها استعدادا للانقسام الخلوي .

ت- طور الانقسام الميوزي : بعد أن تكمل الخلية مراحل الطور البيئي تدخل طور الانقسام النووي ثم يعقبه انقسام السايكوبلازم Cytokinesis تنتج عنه خليتان جديدتان تبدأ كل منهما دورة جديدة للخلية . و سيتم وصف الأحداث التي تجري في أطوار الانقسام لاحقا .

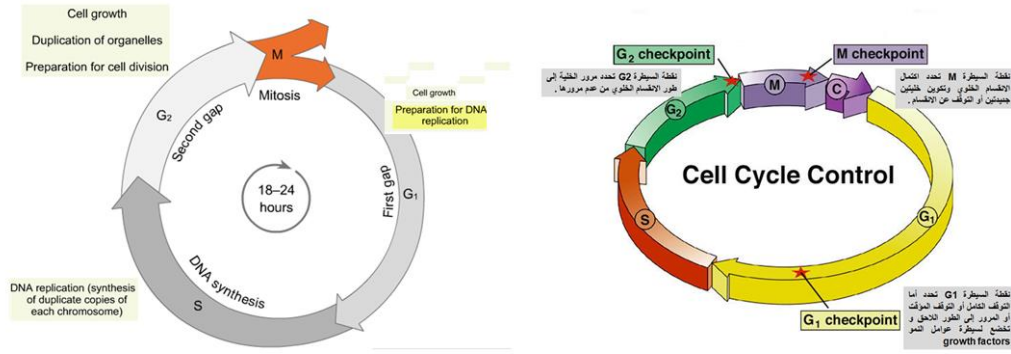
نقاط السيطرة على دورة الخلية

يجري تنظيم دورة الخلية من خلال نقاط السيطرة في دورة الخلية Check points التي تعمل على السماح للخلية بالمرور إلى المرحلة اللاحقة أو تمنعها حسب استيفائها لمتطلبات المرحلة القادمة (شكل 1-7) ، و نقاط السيطرة في دورة الخلية هي :

1- نقطة السيطرة في مرحلة G1 (G1 check point) ، و هي من أهم نقاط السيطرة تسمى في الخميرة نقطة البداية start و يقابلها في الخلايا الحيوانية تسمية نقطة التقييد Restriction point و إذا لم تستلم الخلية إشارة الاستمرار فان الخلية تخرج من دورة الخلية و لا تدخل في طور الانقسام و بذلك يسمى طورها G0 phase ويمثل هذا الطور معظم خلايا جسم الإنسان . و تدقق هذه النقطة اكتمال التحضيرات لتكرار الدنا و بعبور هذه النقطة تبدأ الخلية بتصنيع الدنا في المرحلة S . و تستجيب نقطة السيطرة إلى مؤثرات خارجية مثل توافر الوسط الغذائي أو شحته و تختلف هذه المحفزات حسب طراز الخلية ففي خلايا الكبد يمكن لها أن تعود إلى دورة الخلية بعد توقفها وذلك بتأثير تحفيز عوامل النمو growth factors ولكن الخلايا العالية التخصص مثل الخلايا العصبية والخلايا العضلية فإنها لا تنقسم على الإطلاق .

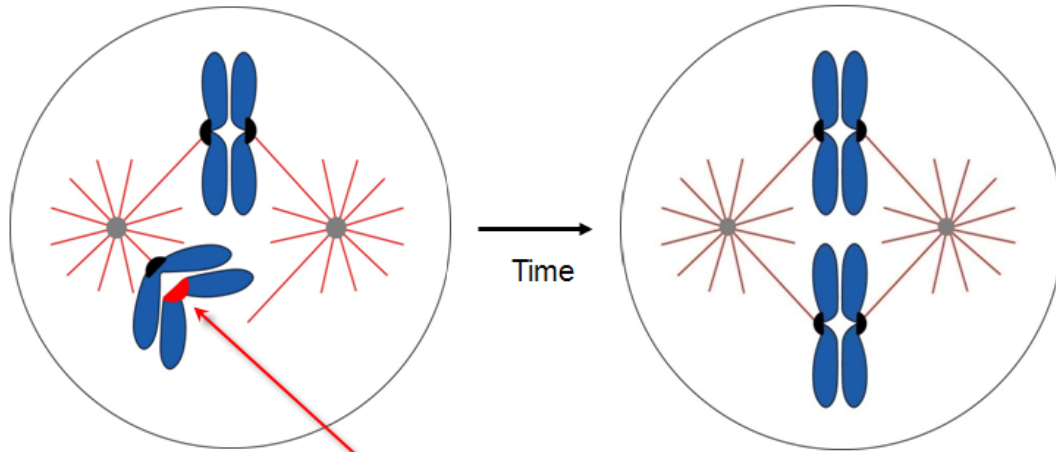
2- كذلك الإشارات الداخلية مثل حجم الخلية حيث إن الخلية الصغيرة يجب أن تنمو إلى الحجم المحدد المشابه للخلية الأم قبل دخولها الانقسام .

3- نقطة السيطرة في مرحلة G2 (G2 check point) : و تمنع هذه النقطة الخلية من بدء الانقسام قبل اكتمال تضاعف الدنا ، إذ إن هذه النقطة تتحسس وجود الدنا غير المتضاعف الذي يعطي إشارة لتوقف دورة الخلية إلى حين اكتمال تكرار الدنا ، فضلا عن ذلك فان هذه النقطة تكون حساسة لحدوث الضرر في الدنا نتيجة تعرضه للإشعاع أو المواد الكيميائية ، حيث لا تسمح هذه النقطة للخلية بالدخول في الانقسام إلا بعد إصلاح الضرر في المادة الوراثية . و تذكر الخفاجي (2008) أن الدنا المتضرر يمكن أن يوقف دورة الخلية عن G1 أيضا لحين إجراء الإصلاحات .



الشكل 1 - 7. مراحل دورة حياة الخلية و نقاط السيطرة فيها .

4-نقطة السيطرة في مرحلة الانقسام (M check point) ، تحافظ هذه النقطة على سلامة جينوم الخلية و تدقق هذه النقطة اصطفاف الكروموسومات و توزيعها بأعداد متساوية على خيوط المغزل ، و في حالة وجود خلل تتوقف عملية الانقسام في الطور الاستوائي قبل أن يحدث انعزال الكروموسومات في لطور الانفصالي ، و تبقى الكروموسومات في الطور الاستوائي إلى أن يكتمل اصطفاف الكروموسومات بشكل طبيعي لتواصل الخلية الانقسام (الشكل 1-8) .



عدم ارتباط خيوط المغزل إلى منطقة kintochore أحد الكروموسومات يؤخر دخول الخلية إلى الطور الانفصالي بانتظار إصلاح الخلل وبعدها تستمر الخلية بالانقسام الصحيح .

الشكل 1 - 8. نقطة السيطرة تمنع دخول الخلية للانقسام في حالة عدم اكتمال اصطفاف الكروموسومات .

موت الخلية المبرمج Apoptosis

يمثل الموت المبرمج آلية طبيعية تحدث في العديد من خلايا حقيقية النواة في الكائنات الحية متعددة الخلايا، فقد أشار Elmore (2007) إلى أن الموت المبرمج للخلية يعد عنصراً حيوياً في العمليات الحيوية المختلفة بضمنها دورة الخلية الطبيعية، و جزء من تطور و وظيفة الجهاز المناعي السليم، و آليات التطور الجنيني. و تعد الزيادة و النقصان عن الحالة الطبيعية في موت الخلايا حالة غير سليمة ترافق الحالات المرضية مثل الأمراض العصبية و العديد من أنواع السرطان. و قد تطور الفهم للميكانيكيات التي تشترك في عملية الموت المبرمج من خلال البحوث التي أجريت على الديدان الخيطية (nematode) و فيها تتولد أثناء التطور 1090 خلية جسمية للفرد البالغ و يحدث الموت المبرمج لعدد من الخلايا 131 خلية في نقاط محددة من عملية التطور و هي ثابتة بين الديدان مما يشير إلى وجود دقة عالية في السيطرة الوراثية على هذه العملية.

الانقسامات الخلوية Cell Divisions

يحدث الانقسام في الخلايا البدائية النواة بطريقة الانشطار الثنائي Binary fission مثل تكاثر البكتريا، أما الكائنات الحقيقية النواة فيحدث فيها نوعين من الانقسامات وهما: الانقسام الميتوزي Mitosis الذي يحدث في الخلايا الجسمية حيث تتطلب عملية النمو زيادة عدد الخلايا و حجمها و أن تمتلك الخلايا الناتجة على نسخة متماثلة من المادة الوراثية التي تمتلكها الخلية المخصبة Zygote الناتجة عن عملية الإخصاب بين الكميته الذكري و الكميته الأنثوي. و الانقسام الميوزي Meiosis الذي يحدث في الخلايا الجنسية لغرض إنتاج الكميته التي تمثل الأساس للتكاثر الجنسي في الكائنات الحية، و فيه تكون الخلية الأم ثنائية المجموعة الكروموسومية و الخلايا الناتجة عن الانقسام أحادية المجموعة الكروموسومية haploid.

الانقسام الميتوزي Mitosis Division

تدخل الخلية هذا الانقسام بعد اجتيازها المرحلة G_2 من الطور البيني و تحضير جميع متطلبات الانقسام الخلوي، و تمتلك الخلية الثنائية المجموعة الكروموسومية ($2n$) مجموعتين من الكروموسومات، و كل كروموسوم يكون متضاعفاً إذ يتكون من كروماتيدين شقيقين يرتبطان معا في منطقة السنترومير. و يكون الانقسام الميتوزي متشابه في الخلايا النباتية و الخلايا الحيوانية مع اختلاف بسيط (يتضمن أسلوب انقسام السائتوبلازم في الخلية النباتية). بالرغم من أن الانقسام الميتوزي يتضمن سلسلة من الأحداث المستمرة إلا انه يمكن تقسيمه بشكل رئيس إلى انقسام النواة و انقسام السائتوبلازم Cytokinesis. و يمر انقسام النواة بسلسلة من الأحداث تم تقسيمها إلى أربعة أطوار (الشكل 1-9) هي:

1- الطور التمهيدي Prophase

يتميز الطور التمهيدي بحركة مكونات الجهاز المغزلي للخلية الذي يتكون من الأجسام القطبية Centrosomes باتجاه قطبي الخلية و يتكون كل جسم قطبي من بتركيبين اسطوانيين تسمى Centrioles و تظهر منها تراكيب شعاعية تسمى خيوط المغزل تمتد إلى وسط الخلية و تكون

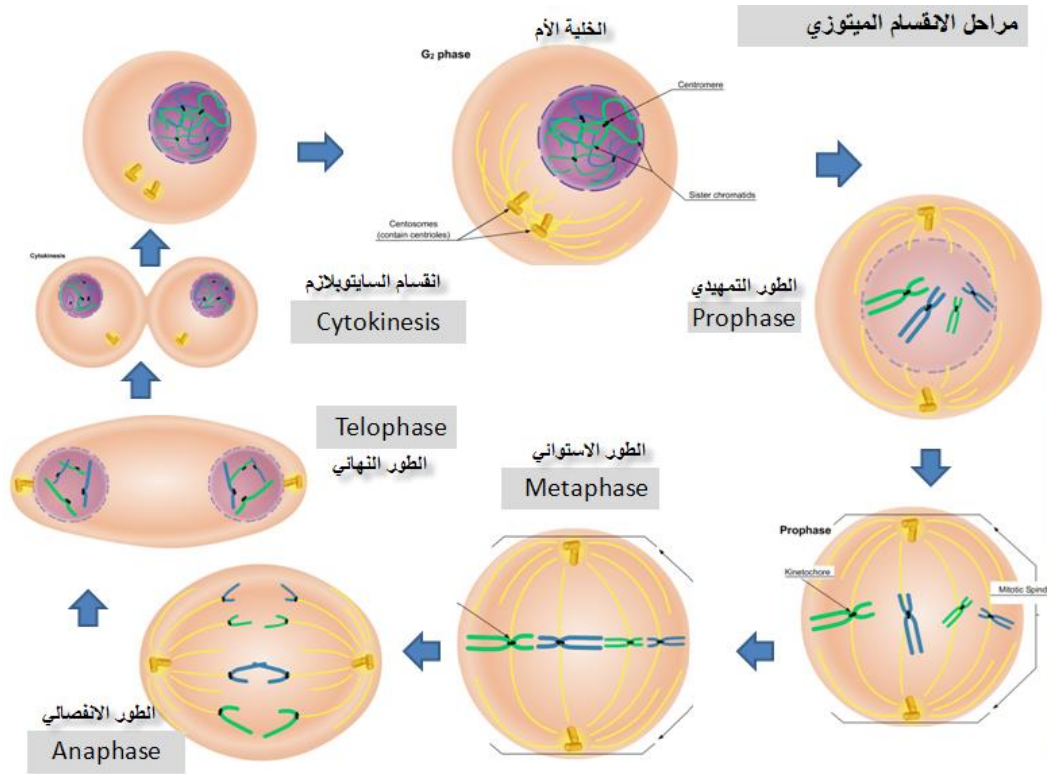
خيوط المغزل بثلاثة أنواع (Kalthoff ، 2001) : الأول يسمى خيوط المغزل القطبية polar fibers التي تصل بين الجسمين القطبيين. و الثاني خيوط نجمية Astral fibers تمتد خلف الجسم القطبي . و الثالث خيوط المغزل Kinetochore fibers التي تمتد من الجسم القطبي و تتصل بمنطقة Kinetochore الموجودة في منطقة السننرومير للكروموسوم (الشكل 1-10) و يمتلك كل كروماتيد Kinetochore خاصاً به (أي أن الكروموسوم المتضاعف يمتلك اثنين في منطقة السننرومير) . و من الأحداث المهمة في هذا الطور انحلال الغشاء النووي و تحلزن الكروموسومات بحيث تصبح مرئية تحت الميكروسكوب الضوئي و تظهر بشكل خيوط طويلة تتكون من كروماتيدين يرتبطان معا في منطقة السننرومير . ترتبط خيوط المغزل بمناطق Kinetochore للكروماتيدات و تبدأ بتنظيم الكروموسومات في منطقة وسط الخلية .

2- الطور الاستوائي Metaphase

في هذا الطور تنتظم الكروموسومات في وسط الخلية في منطقة متساوية البعد عن الأجسام القطبية ، و تكون خيوط المغزل مرتبطة بكروماتيدي كل كروموسوم باتجاهين متضادين لكي يذهب كل كروماتيد إلى احد أقطاب الخلية ، و لا تغادر الخلية الطبيعية هذا الطور إلا بعد التأكد من ارتباط جميع خيوط المغزل في مناطق Kinetochore لجميع الكروماتيدات بتأثير نقطة السيطرة (M check point) . و تبدأ خيوط المغزل بسحب الكروماتيدات إلى الأقطاب المتضادة و لكنها مازالت مرتبطة في منطقة السننرومير .

3- الطور الانفصالي Anaphase

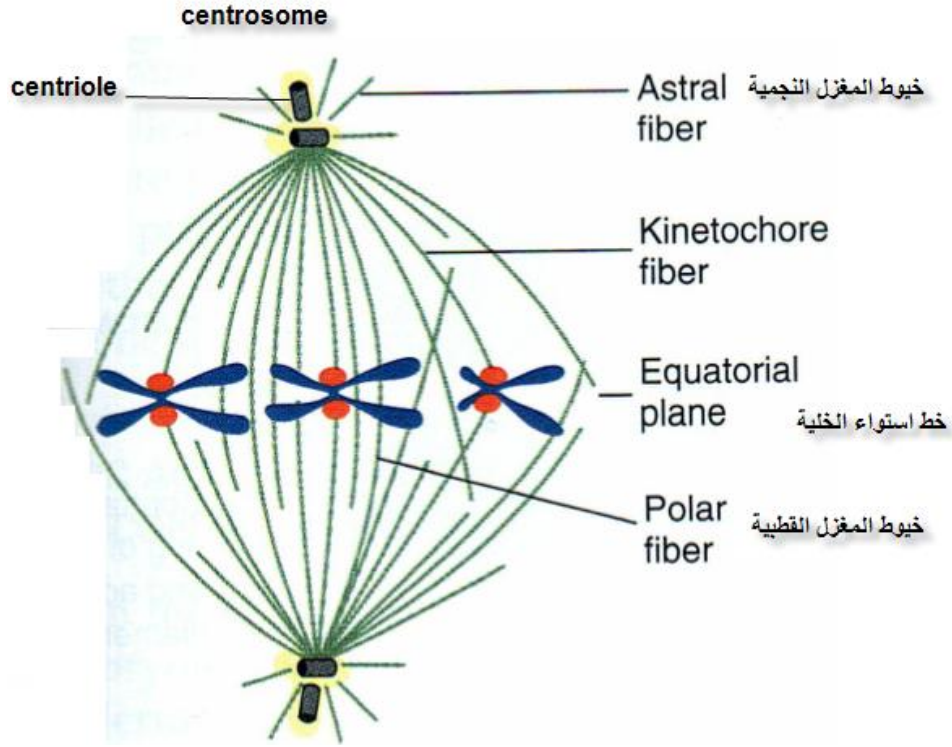
تتفصل الكروماتيدات الشقيقة لكل كروموسوم عن بعضها و تصبح كروموسومات مستقلة و تتحرك بتأثير سحب خيوط المغزل المرتبطة بها بمنطقة Kinetochore . و تأتي حركة الكروموسومات باتجاه أقطاب الخلية نتيجة محصلة قوتين الأولى بتأثير قصر ألياف خيوط المغزل من نوع Kinetochore و الأخرى ناتجة عن استطالة خيوط المغزل القطبية و التي تدفع الأجسام القطبية باتجاه الخارج مسببة استطالة جسم الخلية .



الشكل 9-1 . مراحل الانقسام الميوزي في الخلية الحيوانية .

4-الطور النهائي Telophase

بعد وصول الكروموسومات إلى قطبي الخلية تبدأ خيوط المغزل بالاختفاء و يتكون غشاء نووي جديد يحيط بمجموعة الكروموسومات الجديدة . وتقل حلزنة الكروموسومات بنهاية انقسام النواة.



الشكل 10-1 . أنواع خيوط المغزل في الخلية و أسلوب ارتباطها .

انقسام سايتوبلازم الخلية Cytokinesis

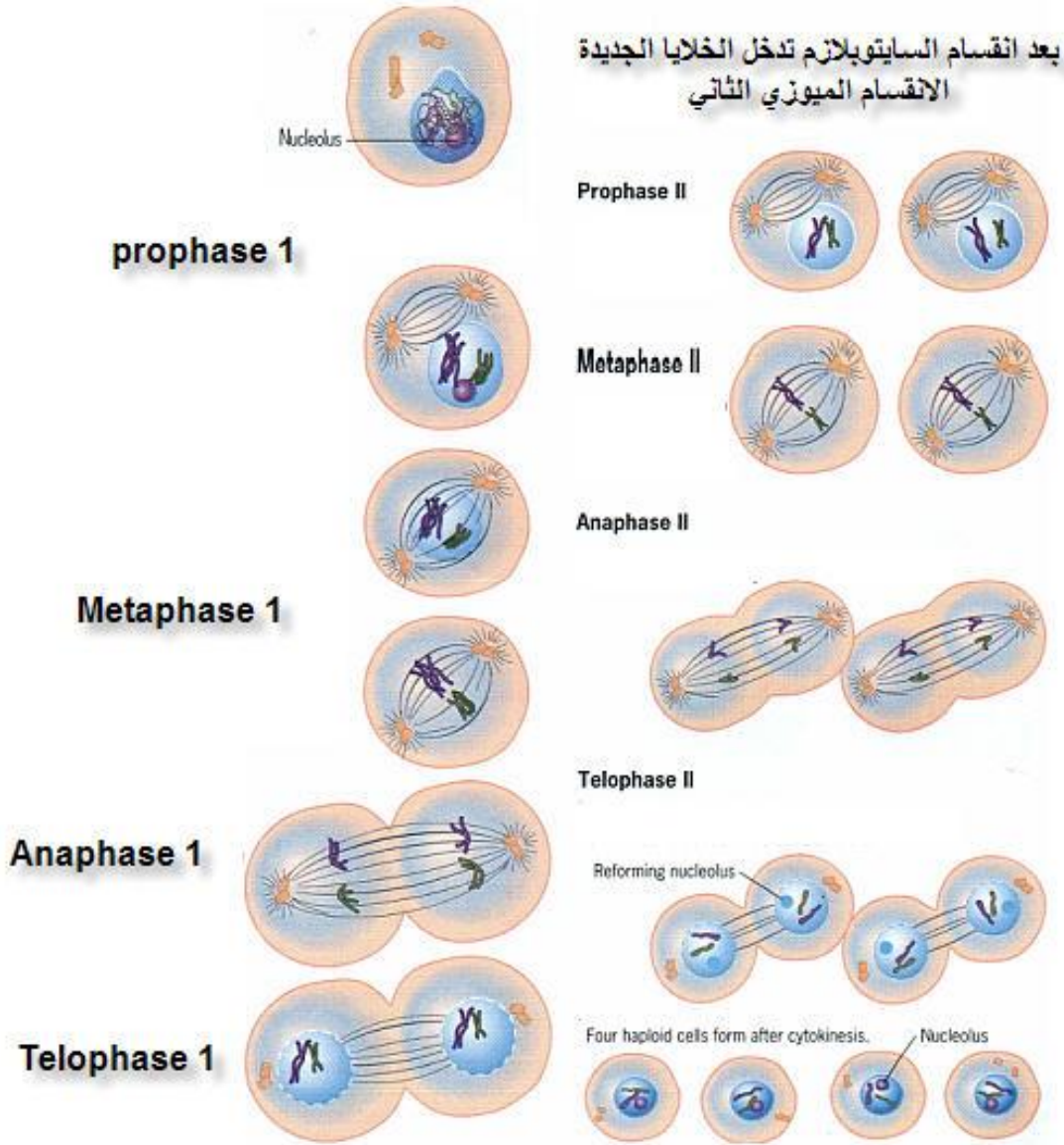
يبدأ انقسام السايوبلازم من الطور الانفصالي عن طريق استطالة الخلية و حصول التخصر الذي يظهر بشكل أخدودي ، و مع اكتمال انقسام النواة يزداد تقلص الجزء المشترك بين الخليتين الجديدتين و تنتهي بانفصال الخليتين لتصبح خلايا منفصلة. أما في الخلية النباتية فتتميز بتكوين الصفيحة الوسطية Middle lamella و ترسيب الجدار الخلوي على جانبي هذه الصفيحة و تنتهي باستقلال الخليتين .

الانقسام الميوزي Meiosis Division

يسبق الانقسام الميوزي الأول ، دورة من تضاعف المادة الوراثية DNA في الكروموسومات وينتج عن ذلك كروماتيدان متماثلان لكل كروموسوم (تسمى الكروماتيدات الشقيقة sister chromatids) و لكون الانقسام الميوزي يتضمن انقسامين متتاليين ينتج عنه أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية

خلال الانقسام الميوزي الأول تلتقي الكروموسومات المتناظرة و هي متضاعفة و ينتج عنها الرباعيات Tetrad و تنعزل أفراد أزواج الكروموسومات المتناظرة وتتوزع على الخليتين الناتجة في الطور الانفصالي الأول يتبعه الطور النهائي الأول و ينتج عن الانقسام الميوزي الأول خليتان تمتلكان نصف العدد الأصلي للكروموسومات في الخلية و في الانقسام الميوزي

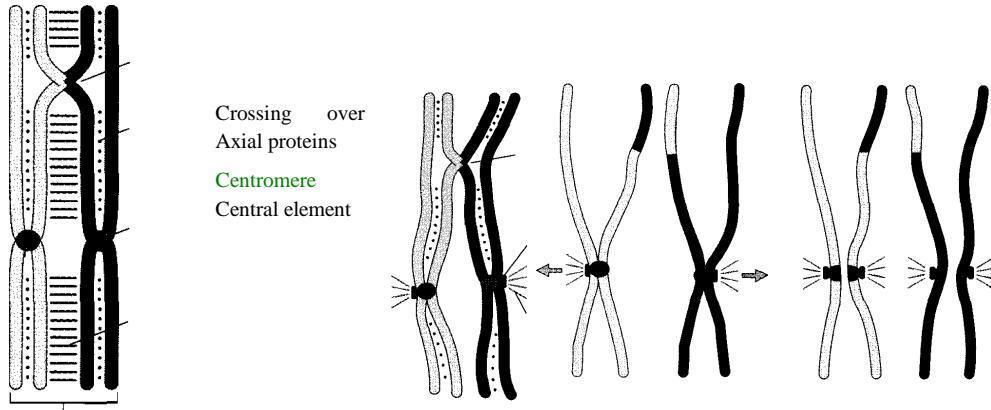
الثاني تنعزل الكروماتيدات لكل كروموسوم وينتج عن ذلك أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية (شكل 1-11) .



الشكل 1-11 . مراحل الانقسام الميوزي في الخلية الجرثومية الحيوانية .

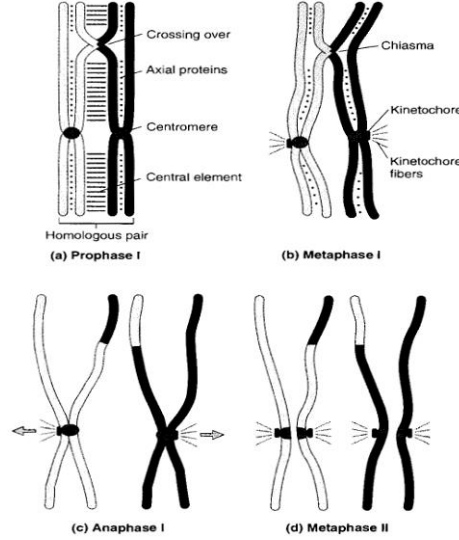
انعزال الكروموسومات المتناظرة خلال الانقسام الميوزي خلال الطور التمهيدي الأول prophase 1 تصبح الكروموسومات متحلزنة وتقتصر ويمكن مشاهدتها باستخدام الميكروسكوب ، وخلال هذه المرحلة تكون العملية مشابهة للطور التمهيدي

في الانقسام الميوزي ، وبعد ذلك يحدث اختلافان رئيسيان بين الانقسام الميوزي والميتوزي : الأول ، في الانقسام الميوزي ترتبط الكروماتيدات الشقيقة مع بعضها في كامل محورها الطولي (الشكل 1-12) و الثاني ، ترتبط الكروموسومات المتناظرة مع بعضها في أزواج من خلال مواد بروتينية وينتج عن انتظام الكروموسومات المتناظرة ما يعرف بالرباعيات tetrads ويحدث خلالها عملية وراثية مهمة هي العبور crossing over حيث تتبادل خلالها الكروماتيدات غير الشقيقة للكروموسومات المتناظرة أجزاء من المادة الوراثية ويمكن ملاحظة حصول العبور خلال الطور الاستوائي الأول metaphase 1 من خلال ملاحظة نقطة تبادل المادة الوراثية الناتجة عن كسر وتبادل الأجزاء وإعادة الالتحام وتسمى هذه النقطة chiasma . ويبقى الكروماتيدين لكل كروموسوم متناظراً مرتبطة مع بعضها في منطقة السنترومير خلال الانقسام الميوزي الأول ، وفي هذا الوقت تتكون خيوط المغزل ، وخلال الطور الانفصالي الأول anaphase 1 تسحب الكروموسومات المتناظرة من مناطق السنترومير ، وخلال الانقسام النهائي الأول تتكون النواة للخلايا الناتجة والتي تحتوي على مجموعة كاملة من الكروموسومات المتضاعفة و بسبب حدوث العبور الوراثي فان معظم الكروموسومات تتكون من كروماتيدات غير متماثلة .



الشكل 1-12 . يلاحظ ارتباط الكروموسومات المتناظرة مع بعضها على طول المحور الطولي بمادة بروتينية ، كما يلاحظ مواقع ارتباط ألياف المغزل لسحب الكروموسومات المتضاعفة كاملة أو سحب الكروماتيدات لكل كروموسوم إلى قطبي الخلية خلال الانقسام الميوزي .

خلال الانقسام الميوزي الثاني ، كل سنترومير يرسل أليفا إلى كل قطب مغزلي ونتيجة لذلك تنعزل الكروماتيدات لكل كروموسوم كما هو الحال في الانقسام الميتوزي (الشكل 1-13) . الخطوة النهائية في الانقسام الميوزي الثاني أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية .



الشكل 1-13 . عملية انفصال الكروموسومات المتناظرة ، و الكروماتيدات الشقيقة خلال الانقسام الميوزي .

الانقسام الميوزي و حالات الشذوذ الكروموسومي

أشار Sunstad و Simmons (2000) إلى أن بعض المشاكل تحدث خلال الانقسام الميوزي تمثل خللاً في مسار الميكانيكيات الصحيحة للانقسام الميوزي التي تم وصفها ، مثالها فشل الكروموسومات المتناظرة في الازدواج أو الانفصال عن بعضها و يطلق على هذه الحالة عدم الانفصال nondisjunction و نتيجة لهذه الحالة التي يمكن أن تحدث في الانقسام الميوزي الأول أو الثاني فإن كلا من أزواج الكروموسومات المتضاعفة (أو كلا من الكروماتيدات الشقيقة) قد تذهب إلى نفس قطب الخلية ، و أشارت الدراسات على النطف إلى حدوث 5 % من حالات الشذوذ من مجموع الخلايا النطفية في الأشخاص الطبيعيين في خصوبتهم و تمثل هذه النسبة الحالة الطبيعية .

إن أسباب حدوث حالة عدم الانفصال متعددة منها :

1- العوامل البيئية : و فيها تعمل صدمات الحرارة أو البرودة التي تتداخل مع ازدواج الكروموسومات في العديد من أنواع الكائنات الحية و تؤدي إلى عدم انتظام ميكانيكية الانقسام الميوزي .

2- ينتج عن تعرض الخلايا إلى الأشعة السينية أو المواد الكيماوية مثل الكولشيسين Colchicine و القواعد خلل في الجهاز المغزلي للخلية و يؤدي إلى حالات عدم الانفصال و الشذوذ الكروموسومي

3- وجد في الإنسان أن عمر الأم يرتبط ارتباطاً وثيقاً مع حالات عدم الانفصال للكروموسومات خلال الانقسام الميوزي ، فقد وجد أن تكرار ظهور متلازمة داون Down syndrome (ثلاث نسخ من الكروموسوم رقم 21 بدلاً من نسختين) في مواليد الأمهات بعمر 20 سنة هو

4 حالات شذوذ من مجموع 10000 حالة ولادة و تزداد هذه النسبة بشكل حاد إلى حوالي 200 حالة شذوذ من مجموع 10000 حالة ولادة عندما يكون عمر الأم 45 سنة و أكبر .

عملية تكوين الكميّات Gametogenesis

معظم الكائنات تتوالد جنسيا من خلال الخلايا التكاثرية وتسمى الكميّات Gametes (Gk. Gamein وتعني to marry . تتواجد الكميّات بنوعين : وهي بنوعين البيوض و النطف . تجري عملية تكوين الكميّات في الأعضاء التي تسمى المناسل gonads والتي تسمى في الإناث المبايض ovaries وفي الذكور الخصى Testes .

وتختلف الكميّات عن بقية الخلايا في عدد الكروموسومات ، حيث إن الخلايا الجسمية تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية diploid والتي تحمل مجموعتين من الكروموسومات احدهما انحدرت من الأب و الأخرى من الأم . أما الكميّات فهو أحادي المجموعة الكروموسومية haploid وهي تحتوي على مجموعة واحدة من الكروموسومات حيث ينتج ذلك عن الانقسام الاختزالي للخلايا الجرثومية . عند الإخصاب ، تتحد البيضة والنطفة و تتوحد الكروموسومات لينتج عنها الزايجوت ثنائي المجموعة الكروموسومية .

بالرغم من أن الكميّات الذكرية والأنثوية أحادية المجموعة الكروموسومية إلا إنها تختلف عن بعضها في جميع النواحي فالكميّات الذكرية يسمى sperm أو spermatozoon يكون متخصصاً بدرجة عالية لانجاز وظيفة إيجاد وإخصاب البويضة و تكون النطفة خلية نحيفة تتألف من النواة التي تحوي مجموعة من الكروموسومات المتحلزنة بدرجة عالية ، ذيل يستخدم لحركة النطفة ، المايتوكوندريا لتوفير الطاقة الكيميائية لحركة الذيل . في رأس النطفة تحتوي النطفة على جزيئات متخصصة للدلالة إلى البيضة من نفس النوع ، و الإنزيمات المخزونة في رأس النطفة التي تساعد على اختراق غلاف البيضة . أما الكميّات الأنثوية يسمى ovum أو Egg وهي اكبر خلية ينتجها النوع species . فضلا عن توفيرها المعلومات الوراثية فان وظيفة البيضة هو إسناد التطور الجنيني في المراحل المبكرة حتى يمكنها الحصول على التغذية من مصدر آخر . وتبعاً لذلك فان البيضة تملأ بالمواد الغذائية العالية الطاقة مثل glycoprotein ، كربوهيدرات و الدهون . وتحتوي البيضة أيضا على مواد بنائية تتجمع بسرعة بعد الإخصاب . على سبيل المثال تخزن البيوض الهستونات histones و tubulin والتي تستخدم خلال الانشطار لصنع الكروماتين و دعامات الخلية الدقيقة microtubules على التوالي. في معظم الحيوانات ، توفر البيضة المعلومات المكانية من خلال التوزيع غير المتساوي لمكونات الساييتوبلازم والتي تحدد لاحقا واحداً أو اثنين من محاور جسم الجنين .

خط الخلايا الجرثومية ونشوء المناسل

مع ظهور نظرية الخلية ، أصبح واضحا إن جميع الكائنات تتألف من الخلايا وان الكميّات هي خلايا متخصصة وان الكروموسومات تحمل المعلومات الوراثية .

إن النتائج بعيدة المدى لهذه الاكتشافات للوراثة والتكوين تم تحديدها من قبل August Weismann 1834 – 1914 وقد طور مفهوم الخط الجرثومي germ line والتي يمكن تعريفه على انه نسل Lineage الخلايا التي ينشأ عنها الكميات .

ويمتلك خط الخلايا الجرثومية الفرصة لتعيش إلى الأبد في أحفادها بينما جميع الخلايا الجسمية سوف تموت . وهكذا فإن خط الخلايا الجرثومية يمكن النظر إليها كنسل مستمر للخلايا التي تنسج من جيل لآخر . الخلايا التي تنتج في المستقبل الكميات تسمى الخلايا الجرثومية الأولية Primordial germ cells في العديد من الحيوانات و يمكن تمييز الخلايا الجرثومية من الخلايا الجسمية عن طريق حجمها ، شكلها و نظام انقسامها و حركتها و قابلية اصطبائها . في العديد من مجاميع الحيوانات ، يمكن تحديد الخلايا الجرثومية الأولية في مرحلة مبكرة من التطور الجنيني عن طريق موقعها في سايتوبلازم البيضة . في الفئران ، يعتمد تطور الخلايا الجرثومية الأولية على إشارات يجري استلامها من بقية الخلايا . فالخلايا التي تستلم هذه الإشارات تحافظ على تعبير جين معين هو $oct-4^+$ والذي يحافظ على الخلايا في حالة غير متميزة .

مفهوم الخط الجرثومي يعرف هذه الخلايا بأنها تلك الخلايا التي تمرر معلوماتها الوراثية إلى الجيل القادم حيث لا تسهم الخلايا في نقل المعلومات الوراثية إلى الأجيال القادمة وبذلك فإن الصفات المكتسبة في الخلايا الجسمية لا يجري توارثها إلى جيل الأبناء .

في معظم الحيوانات ، ترتبط الخلايا الجرثومية الأولية مع الخلايا الجسمية لتكوين المناسل gonad (المبايض و الخصى) التي تتكون فيها الكميات . وتشارك الخلايا الجسمية في تكوين المناسل وتشتق هذه الخلايا من طبقة الميزوديرم التي تتكون خلال مرحلة الكسترلة .

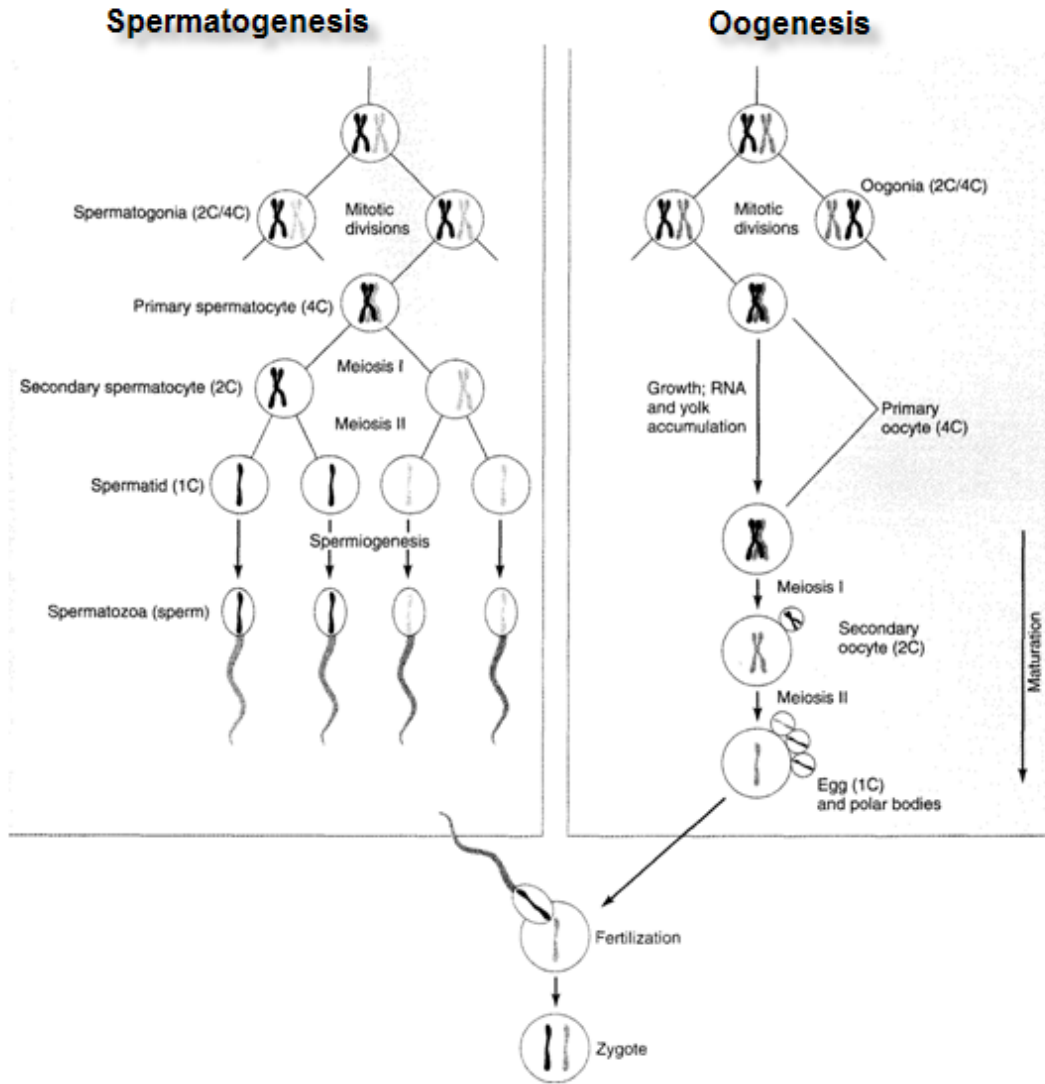
في العديد من الكائنات الحية ، تصل الخلايا الجرثومية الأولية إلى براعم المناسل في الميزوديرم بعد فترة من الهجرة ، على سبيل المثال في الجنين البشري بعمر ثلاثة أسابيع تتمركز الخلايا الجرثومية الأولية في منطقة الكيس المحي و من هناك تهاجر إلى براعم المناسل في الميزوديرم . في الزواحف و الطيور ، تنتقل الخلايا الجرثومية الأولية خلال مجرى الدم وعند وصولها إلى منطقة مجاورة إلى براعم المناسل في الميزوديرم فإنها تخرج من الأوعية الدموية و تدخل المناسل . وتصل الخلايا الجرثومية الأولية إلى براعم المناسل في الميزوديرم خلال مرحلة عدم التمايز الجنسي من التطور في الإنسان تكون في نهاية الأسبوع السادس من الحمل .

تتكاثر الخلايا الجرثومية الأولية ضمن المناسل بواسطة الانقسام الميتوزي و عادة تدخل بعد ذلك فترة السكون . وبعد ذلك تتوزع في أجزاء خاصة في المناسل وتكتسب الخلايا الجرثومية الذكورية والأنثوية صفات خلوية مختلفة وفي هذه المرحلة تسمى الخلايا الجرثومية gonia (و هي تعني في اللاتينية gone = seed) و تسمى في الذكر Spermatogonia و في الأنثى Oogonia .

دور الانقسام الميوزي في تكوين الكميات

خلال عملية تكوين الكميات ، تنقسم الخلايا الجرثومية إلى خلايا تحتوي على نصف العدد الكروموسومي للخلية الجسمية ، أي تتحول من خلية ثنائية المجموعة الكروموسومية diploid إلى خلية أحادية المجموعة الكروموسومية haploid . على سبيل المثال الخلايا البشرية الثنائية المجموعة الكروموسومية تحتوي 46 كروموسوماً (23 كروموسوم انحدر من الأب و 23 كروموسوم انحدر من الأم) وينتج عن الانقسام الميوزي كميات تحتوي 23 كروموسوماً فقط بحيث تمتلك فرد من كل زوج كروموسومي متناظر و بصورة عشوائية (سواء جاءت من الأم أو من الأب) ويحدث تنصيف الكروموسومات خلال انقسامين متتاليين هما الانقسام الميوزي الأول و الانقسام الميوزي الثاني .

تنطلق الخلية الجرثومية الأنثوية من المبيض بعملية تسمى التبويض ovulation وفي البرمائيات و معظم اللبائن بضمنها الإنسان فان التبويض و الإخصاب يحدث عند الطور الاستوائي الثاني Metaphase II . وتستخدم مصطلحات مختلفة لوصف الخلايا الجرثومية عند مراحل الانقسام الميوزي المختلفة (الشكل 1-14) حيث تسمى الخلية قبل دخولها الانقسام الميوزي الأول primary oocyte أو primary spermatocyte و بعد الانقسام الميوزي الأول تسمى الخلية الجرثومية secondary spermatocyte أو secondary oocyte . و بعد إكمال الانقسام الميوزي تسمى الخلايا الذكرية ارومات النطف spermatids و الخلايا الجرثومية الأنثوية تسمى البيضة egg . ونلاحظ إن كل خلية نطفية أولية تنتج أربع ارومات نطف و تنضج إلى أربع نطف ، بينما الخلية البيضية الأولية تنتج خلية بيضة واحدة و ثلاثة أجسام قطبية polar bodies تتحلل لاحقاً .



الشكل 1-14 . مراحل تكوين النطف و البيوض في الحيوانات .

الاختلافات في توقيت حدوث الانقسام الميوزي بين الذكور والإناث

The timing of meiosis differs between males and females

في الإنسان واللبائن الأخرى ، يختلف توقيت حدوث الانقسام الميوزي بدرجة كبيرة في الذكور عما هو عليه في الإناث ، ففي الخط الجرثومي للذكور تبدأ دورات الانقسام الميوزي عند عمر البلوغ adulthood ، ففي الإنسان تدخل الخلايا النطفية الأمية spermatogonia إلى الانقسام الميوزي في دفعات من بلوغ الذكر جنسيا و تستمر خلال فترة حياته ، وحال إكمال الانقسام الميوزي التي تستغرق أسابيع قليلة تنضج ارومات النطف spermatids لتكون منها النطفة spermatozoa ويستمر الذكر بإنتاج النطف بهذا الأسلوب إلى نهاية حياته . بالمقارنة ،

الانقسام الميوزي الأول في عملية تكوين البويض تبدأ قبل فترة طويلة من بلوغ الأنثى جنسيا ، ويسمح الطور التمهيدي الأول 1 meiotic prophase الذي يستغرق فترة طويلة للإناث التي تنتج بيضة كبيرة الحجم بان تصنع و تراكم مواد جزيئية بنائية ضرورية للتطور الجنيني المبكر . وعلى الرغم من أن اللبائن تنتج عادة بيضة صغيرة الحجم نسبيا إلا إنها تتبع نفس النمط من التوقيتات ، وفي الإنسان ، يبدأ الانقسام الميوزي قبل الولادة ولا يكتمل إلا عند الإخصاب . لذلك فان بعض البويض تحتجز في الطور التمهيدي الأول لفترة طويلة قد تصل إلى 50 سنة . ويبدو أن الاحتجاز الطويل لهذه البويض يؤثر على انعزال الكروموسومات المتناظرة أو الكروماتيدات خلال الطور الانفصالي ، لذلك فان البيضة قد تستلم زوج الكروموسومات المتناظرة سوية أو لا تستلم أي منهما ، وفي هذه الحالة فان هذه البيضة إذا جرى إخصابها وتطورت سوف تظهر أعداد غير منتظمة من الكروموسومات أو aneuploidies والأجنة التي تنتج من هذه البويض عادة يحدث لها إجهاض تلقائي ، ولكن البعض من الحالات قد يكتمل نموها وتولد إلى الحياة ، النسبة الشائعة من هذه الحالة في الإنسان هو الشذوذ ثلاثي الكروموسوم 21 ويسمى Trisomy 11 ويعني وجود ثلاث نسخ من الكروموسوم 21 بدلا من نسختين ، والأشخاص الناتجة عن هذه الحالة تظهر عليهم متلازمة داون Down syndrome ويظهر عليها قصر لقامة ، الوجه المدور و التخلف العقلي بدرجات متفاوتة من البسيط إلى الشديد . وتكرار ولادة الأطفال الحاملين لمتلازمة داون اقل من 0.2% للأمهات بعمر اقل من 30 سنة و لكنها تزداد إلى أكثر من 3% للأمهات بعمر اكبر من 45 سنة .

توجيه الانقسام الميوزي للتباين الوراثي ، تكوين التراكيب المتماثلة للآليات الطافرة واستبعاد الجينات الضارة

MEIOSIS PROMOTES GENETIC VARIATION, HELPS TO ESTABLISH HOMOZYGOUS MUTANT ALLELES, AND ELIMINATES BAD GENES

تتضمن عملية الانقسام الميوزي احتمالية حدوث نتائج خطيرة منها عدم انعزال الكروموسومات المتناظرة التي سبق ذكرها أو عملية كسر وإعادة التحام المادة الوراثية خلال العبور والتي قد ينتج عنها الحذف deletion أو التضاعف duplication للقطع الكروموسومية . إن أهمية التكاثر الجنسي تأتي من زيادته التنوع الوراثي مقارنة بالتكاثر اللاجنسي وبذلك يسهل عملية التكيف و التطور . إن أساس التنوع الوراثي هي الطفرات والتي تحدث بصورة عشوائية بتأثير الإشعاع ، المطفرات الكيماوية و الطفرات التلقائية الناتجة عن عدم الدقة في تضاعف المادة الوراثية ، مثل هذه الطفرات تنتقل من الخلية الأم إلى جميع الخلايا التي ستنج عنها . إذا حدثت الطفرة في كائن حي يتكاثر لاجنسيا ، يمكن أن يحتوي البرعم على خلايا طافرة وأخرى غير طافرة وبذلك تأخذ وقتا طويلا للحصول على كائن يمتلك الخلايا الطافرة .

بالمقارنة ، الكائنات التي تتكاثر جنسيا فان الطفرة التي تحدث في الخلايا الجرثومية تؤدي إلى انتقال الطفرة إلى جميع خلايا النسل الناتجة عنه . ويعمل الانقسام الميوزي على خلط و عمل توافق بين الآليات الجديدة (الطافرة) و القديمة في أعداد غير محدودة من التوافق . هناك حدثان مهمان خلال الانقسام الميوزي : الأول ، ينتج عن الطور الانفصالي الأول نوى

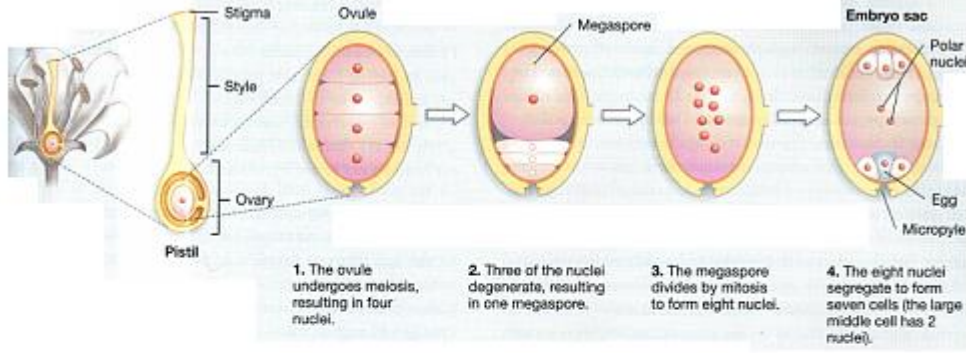
تحتوي على أي توليفة من الكروموسومات المنحدرة من الأب أو الأم ، وخلال هذا الطور لنفرض إن النواة تحتوي على كروموسوم منحدر من الأم ، بذلك يمكن لهذه الخلية أن تستلم الكروموسوم النظير الآخر منحدرًا من الأم أو الأب و هذا ما يعرف بالانعزال الحر ، من ذلك نجد إن الإنسان يملك 23 زوجاً كروموسومياً يمكن أن ينتج 223 نوعاً من الكميات بتوليفات مختلفة من الكروموسومات . الحدث الثاني ، للانقسام الميوزي الذي يوجه التباين الوراثي هو العبور الذي ينتج عنه توليفات جديدة للجينات المنحدرة عن الأم والأب ، ويتكامل مساهمة التوزيع الحر و العبور في التباين الوراثي عند الإخصاب . عندما تتحد البيضة التي تمتلك توليفة محددة من الجينات المنحدرة عن الأم مع نطفة بتوزيع مختلف من الجينات المنحدرة عن الأب . إن هذه العوامل الثلاثة : التوزيع الحر ، العبور و التوليفات للجينات المنحدرة عن الأم بتوليفات مختلفة مع الجينات المنحدرة عن الأب تكون متاحة في التكاثر الجنسي ولكنها لا تحدث في التكاثر اللاجنسي . ويعد التباين الوراثي المادة الخام التي يعمل عليها الانتخاب الطبيعي ، وهناك فائدة أخرى للتكاثر الجنسي للكائنات الحية هي إتاحة الفرصة للطفرات الوراثية التي توفر ميزة لتكيف النوع للظروف البيئية . مع ذلك فإن انعزال الكروموسومات المتناظرة خلال الانقسام الميوزي يوفر الميكانيكية لتصبح التراكيب الوراثية متماثلة للذليلات الطافرة من خلال التربية الداخلية (Kalthoff ، 2001) .

أخيراً ، يوفر الانقسام الميوزي الميكانيكية لاستبعاد الجينات المؤذية و غير المرغوبة حيث إن مدى واسعاً من الطفرات تكون مؤذية ويوفر الانقسام الميوزي فرصة لاستبعاد هذه الجينات المؤذية من خلال فرصتين: الأولى ، أن كل كميت سوف يرث نصف الكروموسومات الأبوية فقط . و الأخرى ، بواسطة العبور حيث تتبادل الكروموسومات المتناظرة القطع الكروموسومية وبذلك تتاح الفرصة للارتباط بقطعة خالية من الجينات المؤذية .

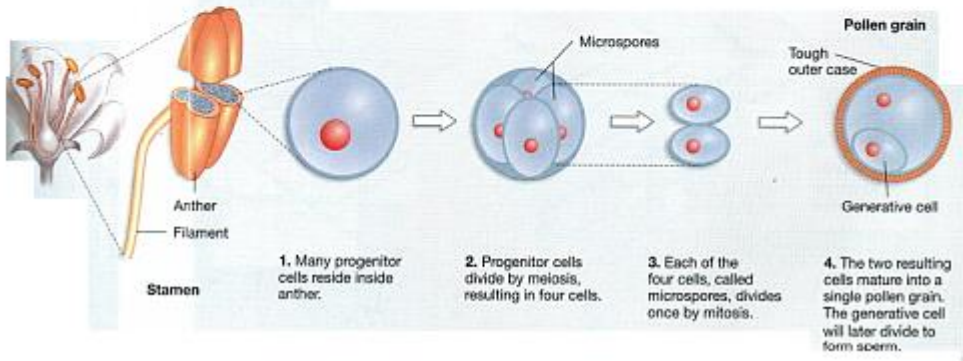
تكوين الكميت الذكري في النبات

تمثل السداة stamen العضو الذكري في الزهرة و يتألف من جزأين هما كيس المتك anther و الخيوط filament ، و تمر الخلايا داخل كيس المتك في الانقسام الميوزي ، و ينتج عنه خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى microspore و تتحول إلى حبة لقاح pollen grain و هي تمثل الكميت الذكري ، و بعد نضوج حبة اللقاح تكون جاهزة للنقل إلى الأعضاء الأنثوية لإحداث الإخصاب (الشكل 1-15) .

تكوين الكمية الانثوي في النباتات الزهرية



تكوين الكمية الذكري في النباتات الزهرية



الشكل 1-15. مراحل تكوين الكمية الأنثوي (الأعلى) و الكمية الذكري (الأسفل) في النبات

عملية تكوين النطف في الحيوانات Spermatogenesis

تتكون النطف sperms في الانبيبات المنوية للخصية وتمر النطف إلى البربخ حيث تنضج فيه لحين قذفها ، وتتحلل العديد من النطف ويتم امتصاصها بواسطة ظهارة البربخ والقناة الدافقة ، وتضاف إفرازات الغدد اللاحقة إلى النطف في وقت قذف المنى .
تمثل عملية تكوين النطف التغيرات الناتجة عن تحول الخلايا الجذعية stem cells أو الخلايا الجرثومية الذكرية spermatogonia المبطنة للانبيبات المنوية إلى النطف وتحدث هذه التغيرات بالقرب من خلايا سرتولي sertoli cells وتشمل عملية تكوين النطف مرحلتين هي :

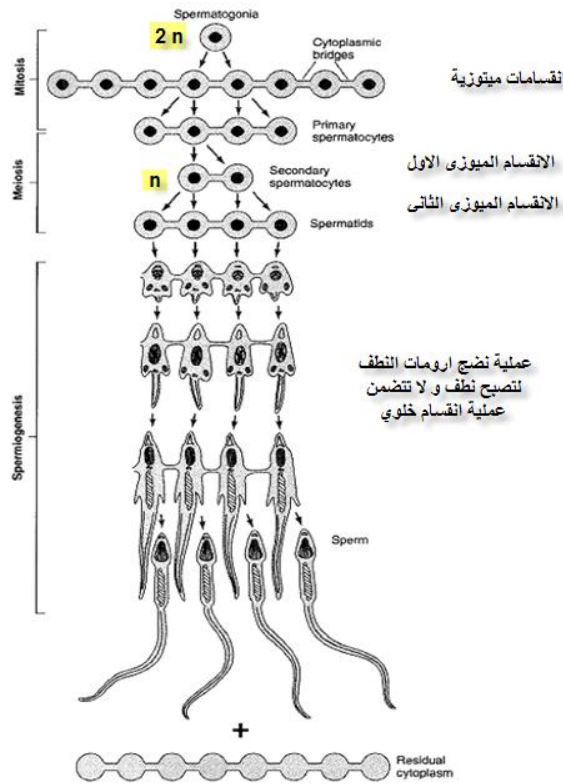
تطور الخلايا الجرثومية للذكر في النبيبات المنوية

MALE GERM CELLS DEVELOP IN SEMINIFEROUS TUBULES

تقسم الخصية في اللبائن إلى أجزاء تسمى الفصيصات lobules والتي تحتوي على نبيبات دقيقة ملتوية تسمى النبيبات المنوية الملتوية (وهي باللاتينية semen = seed ; ferre = to bear) وتمثل الوحدات الوظيفية لعملية تكوين النطف الشكل الآتي :

تنتظم الخلايا الجرثومية النامية داخل نسيج رابط بطريقة مميزة . فالخلايا في المراحل المبكرة من التكوين وهي الخلايا النطفية الأمية تتوزع في محيط الأنبوب والخلايا في المراحل المتقدمة من التطور تقع بالتتابع باتجاه تجويف النبيب . أخيرا تنطلق النطفة الناضجة إلى تجويف النبيب المفتوح (شكل 1-16) .

1-تكوين الخلية النطفية spermatocytogenesis وتمثل الطور التكاثري الذي تمر فيه الخلايا الجرثومية الأولية بسلسلة من الانقسامات الخيطية التي تعقبها انقسامات منصفة للكروموسومات



الشكل 1-16 . مراحل الانقسام الخلوي و نضج ارومات النطف عند تكوين الكميات الذكرية في الحيوانات.

ويوضح الفحص الدقيق أن النطف خلال مراحل النضج تشكل مجاميع من الخلايا ترتبط أفرادها مع بعضها بجسور سايتوبلازمية cytoplasmic bridges ، إن هذه الجسور ناتجة عن الانقسام

السايتوبلازمي غير الكامل بعد الانقسامات الميوزية والميوزية وتسمح بمرور الجزيئات الكبيرة و كذلك العضيات بين الخلايا المرتبطة ، وبذلك يكون تطور وتكوين جميع الخلايا النطفية لمجموعة معينة تحت سيطرة وتوجيه منتجات الجين العائدة إلى كلا الكروموسومات الأبوية ، وهذه الحالة تكون لها أهمية خاصة في حالة الجينات الموجودة على كروموسومات الجنس والتي تكون غير متناظرة في معظم الأجزاء ، ففي حالة عدم وجود الجسور الساييتوبلازمية إن نصف الخلايا النطفية الثانوية وأحفادها سوف تفتقد بالكامل إلى منتجات جين معين يقع على كروموسوم Y و النصف الآخر سوف يفتقد منتجات جين معين يقع على الكروموسوم X .

فضلا عن خط الخلايا الجرثومية بمختلف المراحل من النضج الموجودة في النبيب المنوي ، يوجد في النبيب خلايا جسمية حاضنة تسمى خلايا سرتولي Sertoli cells و هي تمتد من النسيج الزابط إلى تجويف النبيب ، وتلعب خلايا سرتولي العديد من الأدوار المهمة في الخصية من الناحية التركيبية والوظيفية ، فهي تعمل امتدادات لها ارتباطات ضيقة ، وبذلك تشكل خلايا سرتولي حاجزا للدم المغذي للخصية و بذلك يقسم النبيب المنوي إلى حجرتين ، الحجرة الخارجية تحتوي على الخلايا النطفية الأمية ، بينما تحتوي الحجرة الداخلية على الخلايا النطفية spermatocytes و ارومات النطف و النطف ، وبذلك لا تحصل خلايا الخط الجرثومي المتقدمة على احتياجاتها من تجهيز الدم واللمف بسبب الحاجز الدموي ويقتصر السيطرة على محتوياتها الكيمياوية عن طريق الإفرازات لخلايا سرتولي وبذلك نجد أن الخلايا القديمة تتحلل في الداخل .

خلايا الخط الجرثومي المرتبطة بخلايا سرتولي تكون في حالة سكون و تتبادل الإشارات التي تؤثر في تطورها اللاحق . قبل البلوغ الجنسي Puberty يعمل الارتباط مع خلايا سرتولي على تثبيط تكاثر الخلايا النطفية الأمية و يمنع دخولها في الانقسام الميوزي . أما بعد البلوغ الجنسي ، فتعمل خلايا سرتولي على تحفيز الانقسامات الخلايا النطفية الأمية و تعمل على توفير الغذاء و الإشارات اللازمة لتطور و تكوين النطف، و فضلا عن ذلك تعمل خلايا سرتولي على إرسال واستلام الإشارات الهرمونية .

خلال التطور الجنيني fetal development تطلق خلايا سرتولي هورمون anti - Mullerian duct hormone الذي يعمل على تثبيط تطور القناة التناسلية الأنثوية وعلى طول فترة التطور تشترك خلايا سرتولي بالتغذية الرجعية الهرمونية مع الغدة النخامية و كذلك تستجيب خلايا سرتولي للتستسترون الذي تنتجه الخلايا الجسمية البينية Somatic interstitial cells الموجودة بين النببيات المنوية .

2-عملية نضج ارومات النطف Spermiogenesis

في نهاية الانقسام الميوزي ، كل خلية نطفية أولية primary spermatocyte ينتج عنها أربع ارومات نطف أحادية المجموعة الكروموسومية و تكون دائرية غير منتظمة الشكل . في معظم الأنواع الحيوانية تنضج ارومات النطف إلى شكل واحد للنطفة وتسمى عملية النضج التي تحول ارومات النطف إلى نطف ناضجة Spermiogenesis و يمكن متابعة الخطوات الأساسية لعملية

النضج كما في شكل (16-1) و خلالها تحاط الحويصلات الناتجة عن جهاز جولجي في أرومة النطفة ليحاط بغلاف و يسمى عندئذ الاكروسوم acrosome (تعني باللاتينية soma = body : akron= tip) و يكون قبة تغطي النواة و يستطيل ذيل النطفة باتجاه تجويف النبيب و تتجمع المايوتوكونديريا حول قاعدة الذيل و تتكاثر النواة بشكل كبير نتيجة استبدال هستونات الكروموسوم ببروتينات أخرى تسمى بروتامينات protamines .

في النهاية تصبح النطفة خلية مفردة بقرصها من الجسم المتبقي residual body الذي يتكون من كتلة سايتوبلازمية بضمنها الجسور السايتوبلازمية لمجموعة ارومات النطف . تكون خلية النطفة متخصصة جدا في وظيفتها وهي توصيل جينوم الذكر إلى البيضة ، وتكون النواة و الاكروسوم رأس النطفة head و التي ترتبط مع منطقة العنق neck ، أما بقية النطفة فهي عبارة عن الذيل الطويل tail . و بالطبع فان النواة تحمل المادة الوراثية المنحدرة عن الأب ، ويحتوي الاكروسوم على الإنزيمات اللازمة لاختراق الخلايا و الأغلفة المحيطة بالبيضة . الجزء القريب من الذيل يسمى القطعة الوسطية mid-piece و تحتوي على المايوتوكونديريا التي وضعت في قاعدة العضو الدافع للنطفة و الذي يسمى flagellum الذي يحتاج إلى معظم الطاقة الكيميائية التي جهزها المايوتوكونديريا .

خلية النطفة مثل بقية الخلايا تحاط بالغشاء البلازمي الذي يحتوي على بروتينات خاصة تسمح لنطفة الاستجابة لعوامل الجذب الكيمياوية و التفاعل مع البيضة . و توجد هذه البروتينات في مناطق مختلفة من الرأس و الذيل .

إن عملية التمايز تستمر مع مغادرة النطف الخصية و وصولها إلى البربخ epididymis . معظم نطف الحيوانات غير اللبونة تشبه نطف الحيوانات اللبونة بشكل عام إلا انه بالفحص الدقيق يمكن الوصول إلى بعض الاختلافات ، حيث نجد أن نطف اللاقريات في المياه العذبة و المياه البحرية و التي تطلق إلى المياه تمتلك ذيلاً اقل تطورا و منطقة اقصر . وفي بعض الأنواع الحيوانية نجد أن النطف تختلف بشكل مطلق عن نطف الثدييات على سبيل المثال نطف جراد البحر Crayfish تكون النطف نجمية الشكل star – shaped و نطف الديدان المستديرة Roundworms (النيماتود Nematode) تكون عبارة عن خلايا كبيرة تحتوي على كمية كبيرة من السايتوبلازم و لا تمتلك الذيل و تكون حركتها مشابهة للامبيا .

يحافظ الهورمون المحفز للجريب FSH والاندروجينات على عملية تكوين النطف في الخصية ويبدو إن الهورمون المحفز للجريب يسهل من نضج أرومات النطف في مراحلها الأخيرة من خلال تأثيره على خلايا سرتولي ، ويحفز أيضا تكوين البروتين المرتبط بالاندروجين Androgen Binding Protein (ABP) وربما يعمل هذا البروتين على تثبيت كمية الاندروجينات اللازمة للخلايا الجرثومية النامية .

تترك النطف منطقة الخصية وتكون حركتها غير كاملة وتستمر في النضج واكتساب الحركة أثناء مرورها خلال البربخ ويؤدي البربخ الوظائف الآتية :

- 1- نقل النطف من الخصية إلى القناة القاذفة
 - 2- إنضاج النطف وزيادة قابليتها على الإخصاب
 - 3- خزن النطف المتكونة
 - 4- تحليل النطف المسنة
 - 5- امتصاص السوائل والمواد الناتجة من تحليل النطف .
- ويتراوح الزمن اللازم لمرور النطف خلال البربخ حوالي 14 – 20 يوماً في الكيش و 8- 11 يوماً في الثور . ويرتبط الخلل في وظيفة البربخ في الثور بالنطف الشاذة الحاصلة في ذيل النطفة وضعف حركة النطف .

الخلايا النطفية الأمية تسلك سلوك الخلايا الجذعية

SPERMATOGONIA BEHAVE AS STEM CELLS

في الخط الذكري للخلايا الجرثومية لمعظم الحيوانات ، تظهر الخلايا الجرثومية الابتدائية نمطاً من الانقسام الخلوي معروف لصنف عام من الخلايا تسمى الخلايا الجذعية stem cells والتي تعرف بثلاثة خصائص هي :

1- خلايا جذعية غير متميزة ، حيث إنها لم تخصص في أداء وظيفة محددة في الكائن الحي .

2- خلايا جذعية لها القدرة على تجديد نفسها أي لها القابلية على توليد خلايا جذعية أكثر من خلال الانقسام الميتوزي و عادة تستمر هذه القابلية إلى نهاية حياة الفرد .

3- خلايا جذعية تظهر عنها خلايا سلفية ملتزمة committed progenitor cells و هي محددة في قدرتها لتكوين خلايا متميزة معينة .

في حالة خط الخلايا الجرثومية الذكرية تكون الخلايا السلفية الملتزمة هي الخلايا النطفية الأمية Spermatogonia والتي تدخل عدد محدد من الانقسامات الميتوزية قبل أن تدخل أحفادها في الانقسام الميوزي .

هناك أنواع أخرى من الخلايا الجذعية إلى جانب الخلايا النطفية الأمية ، على سبيل المثال الطبقة الخارجية من الجلد (البشرة epidermis التي تحدث فيها تغيرات سريعة) و في هذه الحالة ، الخلايا الملتزمة تتولد من خلايا جذعية موجودة في طبقات عميقة من الجلد ، و هي تدخل انقسامات ميتوزية تتكاثر خلالها قبل أن تصبح متميزة كلما تحركت إلى سطح الجلد وأخيراً يتخلص منها الجسم . بصورة مشابهة ، الخلايا الدموية التي تكون فترة حياتها قصيرة نسبياً والتي يجري تعويضها باستمرار من عدد صغير من الخلايا الجذعية ، والتي تقع في نخاع العظم المحمي بصورة جيدة و هذه الخلايا تسمى Pluripotent لأنها يظهر عنها أكثر من نوع واحد من الخلايا السلفية الملتزمة و أخيراً أنواع متعددة من الخلايا المتميزة التي تتضمن خلايا الدم الحمراء وبقية الخلايا اللمفاوية .

إن نسل الخلايا الجذعية هو خاصية للخلايا الجرثومية الذكورية وهي حالة لا تشاركها دائما فيها الخلايا الجرثومية الأنثوية . فبينما نجد إن الخلايا الجرثومية الابتدائية في مبايض الحشرات هي خلايا جذعية ، وتنتج الخلايا الأمية البيضية بأعداد محدودة ، وجميع خلايا البيوض التي تنتجها الأنثى خلال حياتها تكون قد تشكلت قبل أن تصل الأنثى إلى النضج الجنسي ، ومنذ ذلك الحين يجري فقد الخلايا البيضية بصورة مستمرة من خلال عملية مسيطرة عليها وراثيا تسمى الموت المبرمج للخلية programmed cell death .

في الإنسان ، يكون استنزاف خلايا البيوض الموجودة في المبيض قبل فترة طويلة من نهاية متوسط العمر للأنثى . و يحدث انخفاض حاد في تصنيع الاستروجين بسبب اختفاء حويصلات المبيض وأيضا يضع نهاية للدورة الحوضية و ما يعرف بسن اليأس menopause .

تكوين الكمية الأنثوي في النبات

أشار Freeman (2002) إلى وصف للأعضاء الأنثوية في الزهرة و عملية تكوين الكميات الأنثوية ، حيث تتألف المدقة Pistil من ثلاثة أجزاء هي الميسم stigma و القلم style و المبيض ovary ، و يلاحظ في الشكل (1-15) مقطع في مبيض الزهرة في كاسيات البذور angiosperm و نلاحظ أنها تحتوي على تركيب واحد أو أكثر يطلق عليه البذيرة ovule و تدخل الانقسام الميوزي و ينتج منها الكميات الأنثوية ، و يلاحظ من الشكل نقطتان مهمتان :

1- ينتج عن الانقسام الميوزي أربع نوى ، و لكن ثلاث منها تتحلل و تبقى نواة أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى megaspore .

2- في هذا النوع ، ينقسم السبور بالانقسام الميوزي لينتج ثماني نوى (يختلف عدد النوى من نوع لآخر) و تنعزل النوى الثماني إلى مواقع مختلفة و يتكون منها سبع خلايا و يطلق على الكمية الأنثوي المتعدد الخلايا الكيس الجنيني embryo sac . و الأجزاء المهمة في الكيس الجنيني هي البيضة و النوى القطبية polar nuclei و تتمركز البيضة في قاعدة التركيب قرب الفتحة التي تسمى البويب micropyle بينما تقع النوى القطبية في وسط التركيب . و عند اكتمال تطور الكيس الجنيني ينضج الكمية الأنثوي و تصبح البويضة جاهزة للإخصاب .

إن عملية التلقيح و عملية الإخصاب تمثل عمليتين مختلفتين في النبات، فالتلقيح pollination تشير إلى نقل حبوب اللقاح من المتك إلى الميسم . بينما يقصد بالإخصاب fertilization اتحاد الكمية الذكري و الكمية الأنثوي لتكوين البيضة المخصبة zygote . و يحدث التلقيح في كاسيات البذور عن طريق نقل الكمية الذكري من احد النباتات إلى الميسم في نبات آخر عن طريق الحشرات ، أو الطيور و غيرها إذ تنتقل الحشرات و الطيور من زهرة إلى أخرى للتغذية على حبوب اللقاح أو رحيق الأزهار و لذلك تمثل عملية التلقيح آلية تبادل المنفعة بين هذه الحيوانات و النباتات . في بعض أنواع النباتات يحدث التلقيح ذاتيا self-fertilization و الذي يقود إلى التربية الداخلية، و في بعض النباتات ، تكون النباتات غير قادرة على الإخصاب الذاتي و يتم رفض حبوب اللقاح من قبل الميسم و تسمى ظاهرة عدم التوافق الذاتي self-incompatible .

عملية تكوين البويض في الحيوانات Oogenesis

تختلف البويض عن النطف في نواحٍ متعددة ، والوظائف الأساسية للبيضة هي الاسهام بالجينوم من الأم ، للاتحاد مع نطفة واحدة عند الإخصاب ، لتوفير جزيئات بنائية ضرورية ، توفير معلومات هيكلية ، توفير أغلفة حماية للجنين المتطور . وتمتلك البيضة القيام بهذه الوظائف خلال عملية تكوين البيضة في المبيض خلال عملية تسمى Oogenesis . يبدأ الانقسام الميوزي في وقت مبكر جدا في الخط الجرثومي الأنثوي ويحتاج إلى وقت طويل لكي يكتمل مقارنة مع الخط الجرثومي الذكري ، و ينتج عن الانقسامات الميوزية للخلية البيضية الأمية ظهور كميت واحد كبير الحجم وهي البيضة و خلايا صغيرة أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى الأجسام القطبية polar bodies . تمثل البويض مخازن يتم ملؤها من الأم بمواد جزيئية بنائية معظمها RNA و بروتينات تستخدم في التطور الجنيني . وهذه المواد تضاف إلى البويضة خلال توقف الانقسام الميوزي ، وبعد مرحلة النمو هذه تتحول البويضة مع أغلفة حمايتها من المبيض إلى بيضة أخرى .

تجهيز البويض بكميات كبيرة من الرنا

Oocytes are supplied with large amounts of RNA

خلال توقف الانقسام الميوزي في الطور التمهيدي الأول ، ويزداد حجم نواة البويضة في العديد من الأنواع بصورة معنوية وتصبح فعالة في تصنيع الرنا ، تكون هذه المرحلة مناسبة لتصنيع الرنا لوجود أربعة كروماتيدات وبذلك يكون موجود في النواة أربع مجموعات من الجينات يجري استنساخها . النواة الكبيرة للخلية البيضية الأولية primary Oocyte تعرف على أنها حوصلة جرثومية germinal vesicle (Kalthoff ، 2001) .



الشكل 17-1 . الكروموسومات الفرشائية التي تجهز البيضة بمستنسخات الرنا mRNA .

في الضفدع و العديد من الحيوانات ، تبقى الكروماتيدات لكل كروموسوم مرتبطة مع بعضها ولكن تزداد في الطول و تتعاقب المناطق الكروموسومية المتحلزنة مع عروات loops كروماتيدية غير متحلزنة تمتد من المحور الرئيسي للكروموسوم ، وبسبب شكلها الذي يشبه فرشاة تنظيف زجاجة مصابيح الكيروسين Kerosene lamps سميّت بالكروموسومات الفرشائية lampbrush chromosomes (الشكل 1-17). ونتيجة الحجم الكبير نسبياً للبيضة مقارنة مع الخلية الجسمية فان العضيات السائتوبلازمية تتوفر بغزارة في البيضة ، على سبيل المثال تحتوي البيضة مكتملة النمو 200.000 مرة من الرايبوسومات الموجودة في الخلية الجسمية.

أسلوب آخر لتجهيز البيضة بكميات كبيرة من جميع أنواع RNA تمت ملاحظتها في حشرات معينة بضمنها الذباب ، نحل ، الفراشات ، الخنافس تتطور بعض خلايا الخط الجرثومي فيها إلى بيوض بينما تصبح الخلايا الأخرى خلايا حاضنة nurse cells . وبصورة مشابهة لخلايا الخط الجرثومي الذكري ، تتطور خلية بيضة واحدة و عدد من الخلايا الحاضنة كمستعمرة من الخلايا ترتبط مع بعضها بواسطة جسور سائتوبلازمية والتي تنتج عن الانقسام السائتوبلازمي غير الكامل ، وبدلاً من تكوين الكميات تعمل الخلايا الحاضنة دور المساعد للبيوض المرتبطة بها . وتصبح الخلايا الحاضنة متعددة المجموعة الكروموسومية polyploidy عن طريق دخولها دورات متعددة من التضاعف الكروموسومي بدون الانقسام الميوزي .

تحتوي نواة الخلية الحاضنة في مبيض الدروسوفلا على سبيل المثال حوالي 1000 نسخة من كل كروموسوم وبذلك تستطيع الخلايا الحاضنة تصنيع كميات كبيرة من الرنا في البيضة خلال الأطوار المبكرة والمتوسطة من عملية تكوين البيضة و نقل mRNA من الخلايا الحاضنة إلى خلية البيضة و تعتمد على النظام المستقطب polarized system للنبيبات الدقيقة التي تمتد خلال الجسور السائتوبلازمية ، وخلال الفترة المتأخرة من عملية تكوين البيضة وبسبب تقلص النبيبات يحصل نقل كتلي لجميع السائتوبلازم إلى البيضة .

كل مبيض يتألف من 16 أنبوباً مغزلي الشكل يسمى ovarioles و تقع الخلايا الجذعية الأنثوية في طرف النبيبات المغزلية و تنتج الخلايا السلفية الملتزمة و التي تسمى عادة Oogonia و يشار لها بمصطلح cystoblasts بسبب أن بعض أحفادها تكون البيوض ، وكل cystoblast تنقسم أربع مرات وينتج عنها 16 خلية مرتبطة تسمى cystocytes وبسبب طبيعة الانقسامات المتتابعة غير المتكاملة ، تمتلك اثنتان فقط من السستوسايت أربعة جسور سائتوبلازمية إلى بقية السستوسايت ، و السستوسايت الاثنتان تدخل الانقسام الميوزي ولكن إحداها فقط تستمر وتصبح البيضة وجميع 15 سستوسايت تصبح خلايا حاضنة متعددة المجموعة الكروموسومية . وتحاط جميع 16 خلية جرثومية بواسطة خلايا جسمية وتتطور إلى خلايا حوصلات والتي تعمل على امتصاص بروتينات الصفار وتصنيع

بروتينات قشرة البيضة ، ويكون الترتيب الكامل هو بويضة واحدة و 15 خلية حاضنة و تحاط بخلايا حويصلية وتسمى بمجموعها حجرة البيضة egg chamber .

المبيض يحدد أقطاب البويضة

إن تجهيز البويضة بالرنا والبروتين هو المهمة الرئيسية ولكن في معظم الحيوانات تستلم البيوض أيضا أشارات من الخلايا المحيطة في المبيض وهذا يسبب توزيعاً غير متماثل للساييتوبلازم .

في العديد من الأنواع ، تكتسب البويضة التقاطب الحيواني – الخضري – Animal – vegetal polarity ويكون القطب الحيواني قرب نواة البويضة و يمكن ملاحظته من نتوء الأجسام القطبية . أما القطب الخضري Vegetal pole فيقع في القطب المعاكس للقطب الحيواني ويكون الموقع الأكثر تراكماً للمح . إن اكتساب البيوض القطبية يوفر التنبؤ بتحديد المحور الأمامي والخلفي للجنين . في الحشرات الأكثر تطوراً ، ترتبط البويضة مع عنقود الخلايا الحاضنة التي تقع دائماً في احد جوانب البويضة بمواجهة قمة Ovariole ويصبح هذا الجانب القطب الأمامي للبويضة حيث يتشكل رأس الجنين ، ولقد ظهرت طفرة في الدروسوفيليا جعلت الخلايا الحاضنة في كلتا النهايتين من البيضة و نتجت عنها أجنة برأسين.

عملية نضج البويضة تحضير للتبويض و الإخصاب

البويضة الكاملة النمو تحتوي على المعلومات الوراثية الأمية و جميع المكونات الساييتوبلازمية الضرورية لبدء تكوين الجنين . وبالرغم من ذلك ، فان البويضة لمعظم الحيوانات تكون غير مهياة للإخصاب في هذه المرحلة . يجب تعديل نفاذية الغشاء البلازمي للجزيئات الصغيرة والايونات وبذلك يمكن للخلية أن تغادر المبيض و تؤدي وظيفتها في بيئات أخرى .

يحتوي الغشاء البلازمي للبويضة على مستقبلات لارتباط النطفة . تسمى عملية تحضير البويضة للإخصاب بعملية نضج البويضة Oocyte maturation ، وفي معظم الحيوانات تبدأ عملية نضج البويضة مع نهاية توقف الانقسام الميوزي في الطور التمهيدي الأول . إن أحداث النضج المبكرة تتضمن تكثيف الكروموسوم وتحلل الغلاف النووي و تسمى العملية انهيار الحويصلة الجرثومية germinal vesicle breakdown ويستلزم النضج حدوث التبويض ovulation وهو عملية إطلاق البويضة من المبيض ، وبعد هذا الحادث يسمى الكميت الأنثوي ببيضة egg .

بيوض أنواع الحيوانات المختلفة ، يحدث لها التبويض والإخصاب عند مراحل مختلفة من الانقسام الميوزي ، ففي إحدى الحالات المتطرفة يحدث التبويض و الإخصاب و لا تزال الحويصلة الجرثومية سليمة و هذا النمط يحدث في مختلف الديدان مثل الإسكارس . و في حالة متطرفة أخرى ، يكمل بيض الحيوانات الانقسامات الميوزية عند وقت الإخصاب و هذا

النمط نجده في قنفذ البحر sea urchins . أما غالبية بيض أنواع الحيوانات فيقع بين الحالتين المتطرفتين . سوف نركز على النمط الذي يلاحظ في معظم الفقريات بضمنها الإنسان وفي هذه الأنواع يبدأ النضج مع انطلاق البويضة من حالة السكون في طور التمهيدي الأول و تنتهي بالتوقف الثاني عند الطور الاستوائي الثاني .

تمت دراسة أسلوب السيطرة على نضج البويض في الضفدع حيث يسيطر على نضج البويضة هرمونيا بسيطرة تحت المهاد و الغدة النخامية وخلايا الحويصلة . حيث تحفز العملية بإطلاق الهرمونات من تحت المهاد .

و تستجيب لهذا التحفيز الغدة النخامية بإفراز الهرمونات التناسلية gonadotropic hormones و التي تدفع خلايا الحويصلة لإفراز البروجستيرون progesterone حيث يرتبط البروجستيرون بالمستقبلات البروتينية في غشاء الخلية و لا يعتقد أن هذه المستقبلات تعمل عوامل مسيطرة على عملية الاستنساخ ، ويبدأ عملية نضج البويض ضمن ساعات قليلة بعد إطلاق البروجستيرون ، وتشير الدراسات إلى أن البويض المعاملة بالبروجستيرون تحتوي على عامل تحفيز للنضج maturation promoting factor و توصلت الدراسات اللاحقة إلى أن هذا العامل مماثل للعامل M-phase promoting factor (MPF) و الذي يلعب دورا مركزيا في السيطرة على دورة الانقسام الميوزي في الخلايا الجسمية ، وهكذا فإن إطلاق البويضة من مرحلة توقف الانقسام الميوزي في طور التمهيدي الأول يكون مكافئ للانتقال من الطور G2 إلى الانقسام الميوزي في الخلية الجسمية .

نماذج الكائنات الحية المستخدمة في الدراسات الوراثية

تستخدم نماذج الكائنات الحية في التعليم و في البحوث البيولوجية لأنها تكون مفيدة في توضيح مجاميع من المعلومات التي توصف العمليات الحيوية ، كما إنها تكون جاهزة لتقديم الإجابة على أسئلة محددة و ذلك لبساطة تركيبها و خصائصها . و تعمل النماذج بدائل عن بقية الكائنات الحية للحصول منها على معلومات بيولوجية و تنفيذ تجارب عليها في بيئات تختلف عن البيئات الأصلية و يجري تعميم النتائج على تصنيف بيولوجي واسع قريب من النموذج .

و يجب أن تمتلك نماذج الكائنات الحية عدداً من المواصفات التي تجعلها أفضل من كائنات أخرى للاستخدام لأغراض التعليم أو للبحوث الوراثية و منها :

1- سهولة الحصول على النموذج و توفره ، وما يتبعه من تكاليف اقتصادية للحصول عليه و إدارته خلال البحوث المقرر إجرائها .

2- امتلاك الكائن الحي صفات متباينة و متفارقة يجعل من السهولة متابعة انتقال هذه الصفات عبر الأجيال و استنتاج العلاقات التي تحكم توارثها ، و مثالها نبات بزاليا الحديقة التي استخدمها مندل في تجاربه ، إذ استخدم سبع صفات متفارقة (طويل و قصير) موجودة على النبات .

3- قصر فترة الجيل و التي تشير إلى دورة حياة الكائن الحي ، وكلما كانت فترة الجيل قصيرة كانت مفضلة لأنها تتيح للباحث الحصول على المعلومات ضمن فترة تجريبية قصيرة مثالها الفئران التي تنضج جنسياً في 5 - 6 أسابيع و فترة حمل 19 - 31 يوماً تكون مفضلة على الفيل مثلا الذي ينضج جنسياً في 8 - 16 سنة و فترة حمل تصل إلى سنتين (محمد ، 1981) .

4- وفرة النسل الناتج عن تكاثر نموذج الكائن الحي و الذي يزيد من دقة الحصول على النتائج من التضييبات مثل ذبابة الفاكهة التي تعطي عدد كبير من النسل مقارنة بالأغنام أو الأبقار التي تعطي ولادة مفردة .

5- سهولة إدارة نموذج الكائن الحي من ناحية متطلبات الإيواء و إجراء التضييبات و التقنيات و المهارات التي تتطلبها عملية انجاز البحوث و تكون البساطة هي المفضلة دائما .
و هناك عدد من الكائنات الحية لعبت و لازالت تلعب دورا مهما في الاكتشافات و التقدم المتحقق في علم الوراثة .

بكتريا القولون *Escherichia coli*

أشار Taj و آخرون (2014) إلى اكتشاف البكتريا من قبل العالم الألماني Theodor Escherich في عام 1885 و سميت *Bacterium coli* و ذلك لوجودها في القولون ، و سميت البكتريا بعد وفاته *Escherichia coli* تكريماً لأعماله و تكتب اختصاراً *E. coli* . و تشمل بكتريا القولون عشيرة واسعة من البكتريا تضم تنوعاً كبيراً في الشكل المظهري و الوراثة و تتشابه معظم السلالات في حوالي 20 % من الجينوم . بكتريا القولون وحيدة الخلية تنتمي إلى بدائية النواة Prokaryote التي لا تمتلك الغشاء النووي ، و تستخدم كنموذج حي في المختبرات و دروس التعليم ، و تمتلك البكتريا العديد من الصفات التي جعلتها مرغوبة في الدراسات الوراثية نتيجة سرعة نموها و انقسامها حيث تحتاج إلى 30 دقيقة ، بساطة المتطلبات الغذائية ، تراكم المعلومات عن المادة الوراثية و تحديد تتابع النيكلوتيدات الكامل ، القدرة على التكيف السريع للظروف البيئية . تم التعرف على البكتريا في العديد من المصادر البيئية منها حيوانات ذوات الدم الحار ، منتجات الألبان ، تلوث الفواكه و الخضراوات و في المياه و التربة.

و ذكر Taj و آخرون (2014) أن طول البكتريا يبلغ 2 مايكروميتر و قطرها 0.25 – 1 مايكروميتر، و درجة الحرارة الملائمة للتضاعف 37 م مع وجود بعض السلالات القادرة على التضاعف بدرجة حرارة 49 م . و تستخدم البكتريا أيضا في توضيح آلية تنظيم التعبير الجيني وفق اوبرون اللاكتورز فضلا عن استخدامها في بحوث تقانات الهندسة الوراثية بشكل واسع .

الفأر *Mus musculus* (mouse)

يعدّ الفأر المختبري *Rattus norvegicus* أول حيوان لبون جرى تدجينه للبحوث العلمية ليستخدم نموذج للحيوانات الفقرية اللبونة (عدد الكروموسومات 40 كروموسوماً)، و الدراسات الوراثية الأولى التي استخدم فيها الفأر أنجزت خلال الفترة 1877 إلى 1850 من قبل Crampe و استهدفت دراسة توارث لون الفراء ، ثم جاءت أبحاث William Bateson في عام 1903 لدراسة سلوك وراثته لون الفراء وفق القوانين المنديلية (Jacob و Kwitek ، 2002) ، و بحلول عام 1909 أصبح الفأر من النماذج المفضلة للعلماء في مجال الوراثة و الفسيولوجي و علوم الأغذية ، و يفضل علماء الوراثة الفأر لصغر حجمه و قصر فترة الجيل البالغة 45 يوماً و احتياجه إلى متطلبات بسيطة للإيواء، فضلا عن وجود العديد من ألوان الفراء و العديد من الطفرات التي تسلك في وراثتها الوراثة المنديلية ، و تراكم المعلومات الوراثية الناتجة عن الدراسات السابقة ، و إكمال تحديد تتابع النيكلوتيدات في جينوم الفأر، و بتقدم البحوث العلمية و بحلول 1970 تم انتخاب أكثر من 234 من السلالات المرباة داخليا و المنتخبة للعيوب الوراثية لأغراض دراسة وظائف الجينات و الأمراض التي يمكن أن تنتج عن توقف عمل الجين المحدد، و توفر هذه المعلومات تأثير الضرر في الجينات البشرية على الصحة و ظهور الأمراض و إمكانية إصلاح الضرر بالعلاجات المتوفرة.

تستخدم الفئران بشكل مكثف في دراسات كلونة الجينات و تكوين الفئران المحورة وراثيا Transgenic mice و التي تتضمن استبعاد الجين الطبيعي و إدخال جين طافر إلى جينوم الفأر و تسمى هذه التقانة Knockout mouse و تستهدف معرفة وظائف الجين ، و التقانة الأخرى المستخدمة تعمل على إدخال الجين الطافر إلى جينوم الفأر مع بقاء الجين الطبيعي للفأر و تسمى Knock-in mouse .

الضفدع *Xenopus laevis* (frog)

استخدمت أنواع الضفادع من جنس *Xenopus* لفترة طويلة في الدراسات الجزيئية و الخلوية في مجال التطور البيولوجي و دراسة الجينات التي تسبب الأمراض في الإنسان. أصبحت أجنة هذه الضفادع مفضلة لدى علماء التطور البيولوجي لإجراء بحوثهم وذلك لتطورها السريع ، كما يمكن تحفيز إناث هذه الضفادع لوضع البيض في المختبر طوال السنة ، فضلا عن ان أجنة هذه الضفادع تكون كبيرة بما فيه الكفاية لاستخدامها في تجارب الزرع transplantation وإمكانية زراعة الأجنة وكذلك الأعضاء الجنينية المعزولة بسهولة في محاليل ملحية بسيطة . تقسم دورات حياة الحيوانات بصورة عامة إلى ثلاث فترات رئيسية هي : المرحلة الجنينية embryonic period ، التطور بعد الجنيني postembryonic

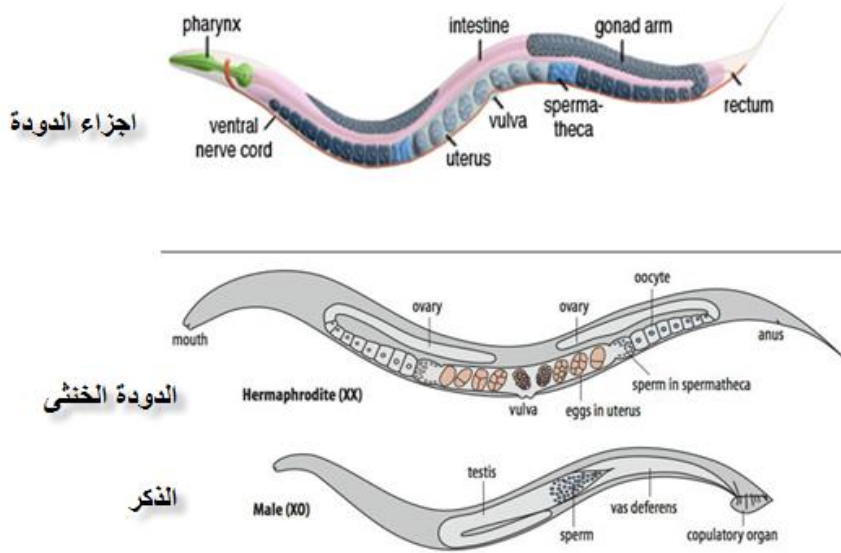
development و البلوغ adulthood وكل من هذه الفترات تقسم بدورها إلى مراحل وكل من هذه المراحل يجري دراستها ووصفها بدقة لمختلف الأنواع الحيوانية .

في بعض الحيوانات و منها الضفدع، المراحل بعد الجنينية تكون اقل تشابها مع الأفراد البالغة والمثال الشائع هو الشرغوف tadpoles للضفدع ، يرقات العث و الفراشات ويرقات الحشرات ، مثل هذه الحيوانات تمر بالتطور غير المباشر indirect development وتسمى يرقات larvae (مفردا يرقة larva) خلال الفترة بعد الجنينية . واليرقة النموذجية تتحرك ، تتغذى و تزداد في حجم الجسم.

على أية حال ، تختلف اليرقة في الشكل وأسلوب الحياة عن الأفراد البالغة وعادة يكون لها اسم مختلف ، على سبيل المثال ، الضفدع البالغ يعيش على الأرض ويصطاد الحشرات للتغذية بينما الشرغوف يعيش في الماء وعادة ترعى على الطحالب الموجودة على النباتات والصخور . من جهة أخرى ، نجد إن الشرغوف يمتلك بعض الأعضاء الموجودة في الضفدع البالغ مثل العيون ، الدماغ ، القلب إضافة إلى أعضاء خاصة بمرحلة التطور والتي ستختفي لاحقا بضمنها الخياشيم gills والزعنفة الذيلية . بالمقابل لا توجد بعض الأعضاء الموجودة في الأفراد البالغة في الشرغوف بضمنها السيفان و الرنتين التي لا تزال مفقودة في هذه المرحلة . إن التحول من اليرقة إلى الفرد البالغ يستلزم سلسلة من الأحداث المهمة وتسمى التحويل metamorphosis .

النيماتودا (Caenorhabditis elegans) Nematode

يطلق عليها عادة الدودة Worm ، كائن حي طوله 1 – 1.5 ملم يمتاز بسهولة تربيته ، إذ يمكن إيواء أعداد كبيرة من الدودة في حيز صغير فضلا عن دورة حياة قصيرة تبلغ 3 أيام و إمكانية إجراء التضرّيبات مع الذكور أو الإخصاب الذاتي للإناث التي تكون خنثية hermaphrodites (الشكل 1-18)، و فترة حياتها في الظروف الملائمة تتراوح 2 – 3 أسابيع، و من المفيد للعاملين في مجال الوراثة معرفة إن جينوم الدودة يبلغ 100 مليون زوج قاعدي (نيوكليوتيدة) و هو اكبر 20 مرة من حجم الجينوم لبكتريا القولون ، قد تم تحديد تتابع جينوم الدودة بالكامل في 1998. و تمتلك الدودة صفة مميزة هي ان أفراد الطراز البري wild-type تتكون من 959 خلية و مواقع الخلايا تكون ثابتة أيضا ، فضلا عن كونها شفافة فمن السهولة متابعة نسل الخلية و اشتقاقات الخلايا الناتجة عنها و إجراء البحوث التطورية و الشكلية على خلية مفردة ضمن هذا الكائن الحي متعدد الخلايا، و لذلك استخدمت وسيلة فعالة في دراسة اسلوب تأثير الجينات في مصير الخلية و تمايزها.



الشكل 18-1. الـنيماتودا (*Caenorhabditis elegans*) Nematode

استخدمت الـدودة في الدراسات الـوراثية من قبل Sydney Brenner في بداية السبعينيات من القرن العشرين ، و حصل الباحثون من خلال استخدامها في دراساتهم على معلومات جيدة في مجالات الـوراثة و البيولوجي الجزيئي حيث وفرت المعلومات لفهم أفضل لعمليات التطور على أساس الوصف الخلوي و الميكانيكية الجزيئية (Sommer ، 2000).

عفن الخبز The simple bread mold

هو من النباتات الأولية lower plants اسمه العلمي *Neurospora crassa* أسهم في توفير العديد من المعلومات التي أدت إلى فهم عدد من الحقائق الـوراثية ، خصوصاً ما يتعلق بإعادة الاتحاد و العلاقة بين الجينات و منتجات الجين . الاعفان غالباً تنمو على الأرض و تكون أحادية المجموعة الكروموسومية في غالبية دورة الحياة . ويكون الفطر خيطياً تمثل الخيوط الجزء الخضري وتسمى الهياضات mycelium و يكون خيط الفطر مقسماً إلى أجزاء بجدران مستعرضة تحتوي على ثقوب تسمح بمرور الساييتوبلازم بين أجزاء الخيط ، ويتكاثر الفطر بطريقتين لاجنسيا و جنسيا . ففي التكاثر اللاجنسي ينتج الفطر سبورات متعددة النوى تسمى كونيديا conidia وتنبت السبور إلى خيط فطري جديد و هذا الاسلوب هو السائد في تكاثر الفطريات . أما التكاثر الجنسي فيكون عن طريق اتصال الخيوط مع بعضها لتكوين خليط من الانوية في ساييتوبلازم مشترك ، ويوجد زوج من الاليلات A ، a يتحكم بطراز التزاوج إذ يحدث التكاثر الجنسي فقط عند اتحاد خيوط تمتلك اليلات مختلفة و ينتج عنها مناطق متخصصة في الخيط عبارة عن أجسام ثمرية أنثوية غير ناضجة و يخرج منها خيوط مستقبلة تسمى تريكوجنس . عندما تمتزج كونيديا من طراز التزاوج المضاد بالتريكوجنس تخصب انوية أنثوية متعددة و تنتظم الزايكوتات الثنائية في كيس مستطيل ، وينقسم الزايكوت ميوزيا ليكون أربع انوية ويتبع ذلك انقسام ميتوزي ينتج عنه أربعة أزواج من تنضج إلى ثمانية ابواغ ascospores يجري إطلاقها عند النضج كل واحدة منها ينتج خيطاً أحادي المجموعة الكروموسومية .

خميرة الخبز *Bakers Yeast*

تمثل خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* نموذجاً شائع الاستخدام للخلية الأحادية حقيقية النواة في الدراسات الوراثية ، وتتكاثر الخميرة بطريقتين لاجنسيا و جنسيا . و يحدث التكاثر اللاجنسي عن طريق عملية التبرعم budding والتي تتضمن الانقسام الميتوزي للنواة أحادية المجموعة الكروموسومية و تنتقل النواة الجديدة إلى البرعم الصغير و تسمى الخلية النسلية Progeny cell .

التكاثر الجنسي مشابه لما يحدث في عفن الخبز الذي تم وصفه و يشار إلى الاليلات α و a (الفا) و ينتج عن اندماج الخلايا المتضادة خلية ثنائية المجموعة الكروموسومية و التي تدخل الانقسام الميوزي لإنتاج أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى ابواغ ascospores في كيس و عندما يتمزق الكيس تنطلق الابواغ الأحادية و تثبت إلى خلايا خميرة جديدة .

ذبابة الفاكهة *The Fruit Fly*

تمثل حشرة دروسوفيل ميلانوجستر *Drosophila melanogaster* (عدد الكروموسومات ثمانية) نموذجاً ذا أهمية كبيرة في الدراسات الوراثية ، فقد اعتمدت نظرية الكروموسوم chromosome theory بشكل كامل على بحوث أجريت على ذبابة الفاكهة ، و اعتمد العالم Morgan في عام 1910 على الحشرة في بحوثه توصل خلالها إلى مفاهيم الارتباط بين الجينات و ظاهرة العبور crossing over ، و تستخدم في الوقت الحاضر بشكل واسع في دراسة مسارات سيطرة الوراثة على التطور و التكوين .

طول الحشرة حوالي 2 ملم و تكمل دورة حياتها في حوالي 10 أيام بدرجة حرارة 25 م تمر خلالها بأربع مراحل هي البيضة ، اليرقة ، العذراء و الحشرة البالغة ، يكون إخصاب البيضة داخليا و تضع الأنثى البيض المخصب و خلال يوم واحد تتطور البيضة إلى يرقة و تبقى في هذا الطور 4 – 7 أيام و بعدها تتحول إلى عذراء تقضي خلالها 4 – 6 أيام تتحول بعدها إلى حشرة بالغة ، و يتأثر تطور الحشرة بدرجة الحرارة بالحضانة فعند درجة حرارة 21 م تستغرق فترة التطور أسبوعين أما إذا استخدمت درجة الحرارة 25 م فان الفترة تكون 10 أيام ، الهيئة الكروموسومية توضح امتلاك الحشرة أربعة أزواج من الكروموسومات ثلاث منها جسمية و زوج جنسي تكون فيه الأنثى XX و الذكر XY .

هناك اختلافات بين الذكور و الإناث لتمييز و فصل الجنسين في الدراسات الوراثية خصوصا عند دراسة الصفات المرتبطة بالجنس أو عند تضريب الصفات المختلفة حيث يجري تضريب ذكور مجموعة وراثية مع إناث مجموعة وراثية أخرى ، هناك العديد من الخصائص المميزة التي تستخدم لتحديد جنس الحشرة البالغة ففي العموم تكون الإناث اكبر حجما من الذكور ، لكن التمييز الواضح يكون بفحص الأعضاء التناسلية من الجهة البطنية ، حيث تكون نهاية المنطقة البطنية مستدقة و طويلة في الإناث بينما تكون مستديرة و غامقة في الذكور و تكون الأعضاء التناسلية في الذكور أكثر تعقيدا و محاطة بكثافة بالشعيرات التي تكون غير موجودة في الإناث ، فضلا عن ذلك يوجد المشط الجنسي sex comb في الجزء الخارجي للأرجل الأمامية للذكور بينما لا تمتلك الإناث المشط الجنسي .

سمك الزرد *Zebra fish*

سمكة الزرد *Danio rerio* تكون صغيرة يبلغ طولها 5 سم ذات لون فضي أو ذهبي و تمتلك أشرطة سوداء أو زرقاء تمتد من الرأس إلى الذيل و تستطيع العيش في مدى واسع من

درجات الحرارة و التغذية (الشكل 1-19)، و قد استخدمت نموذجاً حياً لدراسة التطور البيولوجي Development في الفقريات في الثمانينات من القرن العشرين .



الشكل 1-19 . اسماك الزرد البالغة Zebrafish.

و يشير Veldman و Lin (2008) إلى وجود تشابه كبير بين جينوم سمكة الزرد و الكثير من الفقريات بضمنها الإنسان ، و تمتلك سمكة الزرد العديد من الصفات التي تتفوق فيها على بقية نماذج الكائنات الحية للفقريات مثل الفأر و منها : إن التطور الجنيني لأجنة السمكة يكون خارج جسم الأم و يكون سريعاً و بالإمكان متابعته طبيعياً بسبب شفافية الغشاء المحيط بالجنين مما يتيح للعلماء متابعة التطور الجنيني مباشرة بعد الإخصاب مروراً بمرحلة اليرقة ، حيث تفقس صغار سمكة الزرد بعد يومين من الإخصاب و يكتمل تطور كافة أعضائها بعد خمسة أيام من الإخصاب ، و تستطيع السمكة التكاثر على مدار السنة و تنتج عدة مئات من الصغار أسبوعياً فضلاً عن إمكانية تربيتها في وسط مائي صغير و بكثافة عالية مما يقلل الحاجة إلى المكان و التكاليف . و يبلغ فترة الجيل لسمكة الزرد حوالي ثلاثة أشهر لأن الصغار تحتاج إلى عدة شهور للوصول إلى النضج الجنسي، كما يجب أن يكون الذكر حاضراً قبل أن تقوم الأنثى بوضع عدة مئات من البيض لغرض إتمام عملية الإخصاب.

نبات الارابيدوبسيس *Aabidopsis thaliana*

هو نبات عشبي مزهر صغير (طوله 20 – 25 سم) و قطر أزهاره 3 ملم و تكون أزهاره قادرة على التلقيح الذاتي (شكل 1-20) و تحتوي الثمرة كرنبية تحتوي على 20 – 30 بذرة و النبات صالح للأكل من الإنسان بهيئة سلطة أو للطبخ، من النباتات الحولية و يمتلك العديد من الصفات التي تجعله مرغوباً في الدراسات البيولوجية و الوراثة للنباتات المزهرة منها قصر دورة حياة النبات نسبياً (يكمل دورة حياته في ستة أسابيع)، التركيب الوراثي ثنائي المجموعة الكروموسومية و يمتلك خمسة أزواج كروموسومية، يمتلك جينوماً صغيراً حوالي 135 Mbp و جرى تحديد تنابعات النيكلوتيدات للنبات بالكامل، يمتلك 27000 جين تشفر إلى 35000 بروتين، لذلك يستخدم في الدراسات البيولوجية و الوراثة كنموذج للنباتات في الدراسات العلمية و يمكن تنميته في المختبر باستخدام طبق بتري أو السنادين باستخدام الإضاءة الاصطناعية أو زراعته في البيوت المحمية . ينتشر النبات طبيعياً في أوروبا ، آسيا و الشمال الغربي لقارة أفريقيا، و قد استخدم النبات في الدراسات العلمية و انتشر في معظم مناطق العالم . استخدم النبات مبكراً في الدراسات العلمية حيث وصفه Alexander Braun عام 1873 عند دراسة

أزهاره المتضاعفة إلا إن استخدامه الواسع في الدراسات العلمية المخبرية في مختلف أنحاء العالم خلال الثمانينات من القرن العشرين .



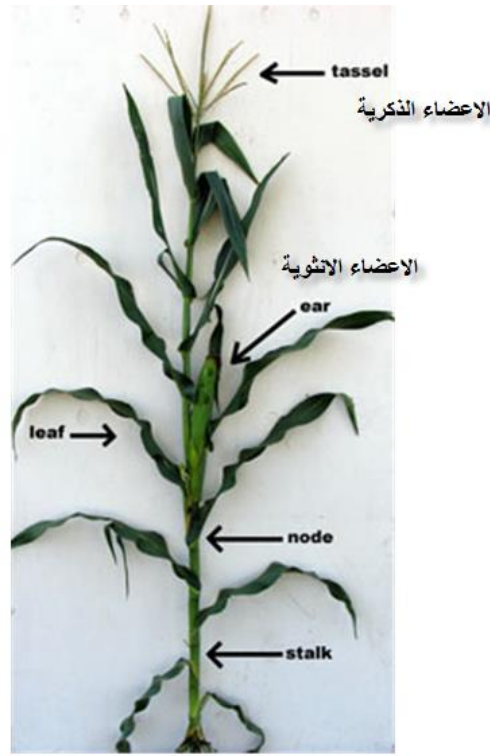
الشكل 1-20 . نبات *Aabidopsis thaliana* .

نبات الذرة الصفراء Corn

تعدّ الذرة الصفراء من المحاصيل الاقتصادية المهمة و تزرع بمساحات واسعة في مختلف مناطق العالم ، و قد أسهمت الذرة الصفراء (*Zea mays*) في العديد من الاكتشافات المهمة التي أنجزتها الدراسات الوراثية ، فقد حصلت Barbara McClintock على جائزة نوبل عام 1983 في بحوثها الرائدة حول العناصر الوراثية المتحركة التي تنتقل في جينوم الذرة الصفراء (عدد الكروموسومات 20). في معظم النباتات الزهرية بضمنها نبات بزاليا الحديقة التي استخدمها مندل في تجاربه الوراثية تمتلك الزهرة أعضاء التذكير و أعضاء التأنيث ، إلا إن نبات الذرة الصفراء تكون فيه أعضاء التذكير و أعضاء التأنيث في أزهار منفصلة ، فالشراية الموجودة في قمة النبات تمثل تجمع الاسدية (الأعضاء الذكورية) (الشكل 1-21) و تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية و التي تمثل سبورات ذكرية أمية microspore mother cells ، أما كوز الذرة في جانب النبات هو تجمع للمدقات (أعضاء التأنيث) Ear or Cob و يوجد السبورات الأنثوية الأمية megaspore mother cells و هي ثنائية المجموعة الكروموسومية في المبيض في قاعدة المدقة .

في الاسدية تدخل السبورات الذكرية الأمية الانقسام الميوزي و ينتج عن كل خلية أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى microspores وكل واحدة تخصص إلى حبة لقاح pollen grain و تنقسم نواة حبة اللقاح انقساماً ميوزياً ينتج عنه نواتان: إحداهما تصبح نواة أنبوية تسيطر على نمو أنبوب اللقاح أثناء عملية الإخصاب ، أما النواة الثانية فهي تمثل النواة التي تشترك في الإخصاب و تنقسم هذه النواة ميوزياً لإنتاج نواتين للنطفة و في هذه الحالة فان حبة اللقاح تمتلك ثلاث أنوية أحادية المجموعة الكروموسومية (اثنتان تمثلان نواتي النطفة و واحدة تمثل نواة الأنبوية) .

أما في المدقات ، فتدخل الخلايا الأنثوية الأمية الانقسام الميوزي لتكوين أربع أنوية أحادية المجموعة الكروموسومية و تتطور واحدة منها فقط لتصبح فعالة و تمثل الكميت الأنثوي بينما تتحلل الخلايا الأخرى و تنقسم النواة المتبقية ميتوزيا ثلاث مرات لينتج عنها ثماني أنوية متماثلة تنتظم خطيا في كيس الجنين الذي يحتوي في احد أطرافه على فتحة تسمى النقيير ، و تندمج نواتي المركز لتكوين نواة الاندوسبيرم endosperm ثنائية المجموعة الكروموسومية ، أما الانوية الثلاث في كل طرف من الكيس الجنيني ففي طرف النقيير تتحلل اثنتان منها و تتطور الثالثة إلى خلية البيضة ، أما الطرف الآخر من الكيس الجنيني فتتحلل الانوية الثلاث السمتية ، و بذلك يصبح الكيس الجنيني ناضجا و جاهزا للإخصاب .



الشكل 1-21 . الأعضاء الذكورية و الأنثوية في نبات الذرة الصفراء.

و لحدوث الإخصاب في نبات الذرة الصفراء ، عند انتقال حبوب اللقاح من المتك إلى الميسم و تنبت من حبة اللقاح أنبوبة لقاحية خلال القلم بسيطرة نواة الأنبوبة ، و تدخل الأنبوبة اللقاحية المبيض و تدخل من خلال النقيير إلى الكيس الجنيني و تتحد إحدى نواتي السبرم بنواة البيضة لتكوين زايكوت ثنائي المجموعة الكروموسومية يتطور إلى جنين ، و تتحد نواة السبرم الأخرى بنواة الالتحام المركزية لتكوين نواة ثلاثية $3n$ تدخل في انقسامات يتكون منها نسيج نشوي مغذي هو الاندوسبيرم تسمى الطبقة الخارجية منه الليرون alaurone و فيه تتراكم الصبغة الصفراء لحبة الذرة .

الإنسان Human

بعد التطور الكبير في علم البيولوجي الجزيئي تجري اليوم بحوث وراثية مثيرة على الإنسان مباشرة ، منها مشروع الجينوم البشري ، تشخيص الأمراض الوراثية و إمكانية علاجها باستخدام تقانة العلاج بالجينات gene therapy . إن دورة حياة الإنسان بشكل بسيط مشابهة لدورة حياة ذبابة الفاكهة ، و فيها تتحد الكميات أحادية المجموعة الكروموسومية (النطفة و البيضة) بعملية الإخصاب لتكوين خلية ثنائية المجموعة الكروموسومية تسمى الزايكوت Zygote و التي ينمو عنها الجنين و أخيرا الكائن الحي البالغ متعدد الخلايا الذي يمتلك خلايا متخصصة بإنتاج الكميات (النطفة أو البيوض) و من اتحادها تبدأ دورة حياة جديدة . و يتضمن التطور الجنيني عدة مراحل فبعد ثمانية أيام من الإخصاب تكمل الزايكوت رحلتها خلال قناة فالوب Fallopian tube و تنغرس في بطانة الرحم مسببة تمزق الأوعية الدموية و يتغذى الجنين Embryo من خلال دم الأم و تتكون لاحقا المشيمة placenta من الأغشية الجنينية و الأمية مكونة وسيلة ارتباط بين الجنين و الأم حيث يتم خلالها تبادل غازات التنفس و التغذية و التخلص من الفضلات . خلال الشهرين الأولين من التطور تظهر معظم أعضاء الأجهزة الحيوية الرئيسية في الجنين ، و معظمها تبدأ بأداء وظيفتها بنهاية هذه المرحلة ، و مع بداية الشهر الثالث من التطور يطلق على الجنين مصطلح fetus و خلال الأشهر السبعة المتبقية ينمو الجنين و يصبح مهيبا للحياة خارج الرحم ، باستثناء الجهاز المناعي الذي لم يبدأ بالعمل حيث يعتمد الجنين على الأجسام المضادة التي يستلمها من الأم عبر المشيمة و يستمر باستلام الأجسام المضادة بعد الولادة عن طريق حليب الأم إلى أن يبدأ الجهاز المناعي بأداء وظيفته .

Mendelian's Inheritance الوراثة المندلية

The basic principles of inheritance المفاهيم الأساسية للوراثة















تسعى العلوم المختلفة إلى التطور من خلال الملاحظة الدقيقة والتفكير في الظواهر الطبيعية و صياغة أفكار قابلة للاختبار حول مسببات وتأثيرات هذه الظواهر الطبيعية . ومن متابعة تاريخ العلوم المختلفة نجد أن بعض العلماء أحدثوا ثورة وانعطافة في مجال علومهم مثل نيكولاس Nicolaus Copernicus في مجال علم الفلك و نيوتن في مجال علم الفيزياء و جارلس دارون في علم الأحياء Biology ، إذ إن كل عالم من هؤلاء العلماء غير مفاهيم العلم بشكل جذري عن طريق إدخال أفكار جديدة شكلت بمثابة الثورة في العلم . في النصف الثاني من القرن التاسع عشر وضع العالم النمساوي جريجور مندل Gregor Mendel (الذي كان معاصرا للعالم جارلس دارون) قوانين أساسية كانت السبب فيما بعد في ظهور علم جديد هو علم الوراثة Genetics ، فقد تم نشر قوانين مندل في 1866 م تحت عنوان (تجارب في تهجين النباتات) وكان يسعى لتوضيح كيفية توارث الصفات في الكائنات الحية ، وبالرغم من وجود باحثين آخرين سبقوه في تهجين النباتات إلا أنهم لم ينجحوا بسبب اختلاف منهجهم التجريبي و قد أشار إليهم مندل في بحثه المنشور .

Mendel's Experiments تجارب مندل

اختار مندل نباتات بزاليا الحديقة Garden Pea (الاسم العلمي *Pisum sativum*) لتكون النباتات التجريبية وقد كان مندل موفقا في اختياره هذه النباتات لكونها نباتات حولية تمتاز بكثير من الصفات المميزة والمحددة ويمكن زراعتها وتهجينها اصطناعيا بسهولة وتنتج نسلا بأعداد كبيرة ، فضلا عن إن أزهار هذه النباتات تمتلك أعضاء التذكير والتأنيث وتكون مغلقة بطريقة تمنع التلقيح الخلطي وتسمح بالتلقيح الذاتي لذلك أطلق على النباتات التي استخدمها مندل في الصفات المختلفة أنها تراكيب نقية pure أو أنها مربية حقيقية True breeding ويتوفر منها العديد من العروق تحمل صفات متفارقة (Snustad و Simmons ، 2000) ، إن اختيار مندل الموفق مهد الطريق للنجاح لان النبات ثنائي المجموعة الكروموسومية حيث إن النباتات متضاعفة العدد الكروموسومي لا تعطي هذه النتائج البسيطة والتي يتيسر تحليلها وفهمها. لقد اختار مندل سبع صفات متفارقة في نبات الزاليا لدراستها ، وامتازت بان إحدى الصفتين المتفارقتين سائدة على الأخرى (الشكل 1-2) ، والصفات هي :

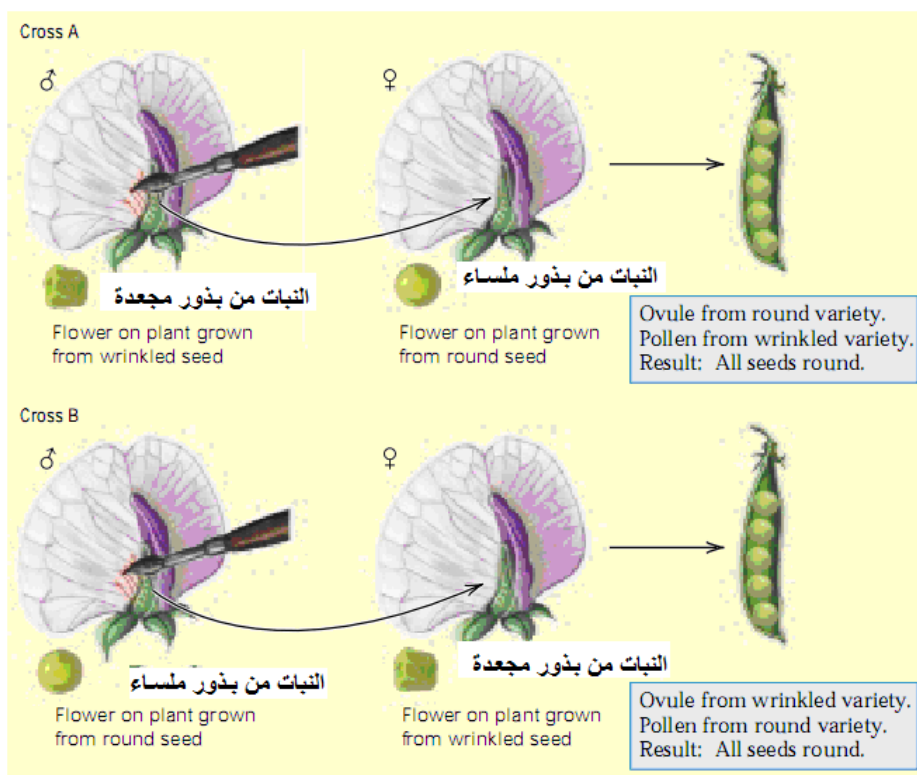
- 1- طول الساق : الذي يكون أما طويلا Tall في احد السلالات ويصل إلى 6 – 7 قدم و قصيرا Dwarf في سلالة أخرى ليصل 9 – 18 انج فقط في سلالة أخرى (صفة طويل هي السائدة) .
- 2- لون القرينات غير الناضجة : أما أن تكون خضراء Green أو صفراء Yellow (اللون الأخضر هو السائد) .
- 3- شكل القرينات : تكون منتفخة Inflated أو محرزة بالبذور Constricted (المنتفخة هي السائدة) .

- 4- موقع الأزهار : تكون الأزهار أما محورية على الساق Axial أو قمية في أعلى النبات Terminal (المحورية تكون هي السائدة) .
- 5- لون البذور : أما أن تكون خضراء Green أو صفراء Yellow (اللون الأصفر هو السائد) .
- 6- نسيجية سطح البذور : أما أن يكون أملس دائرياً Round أو مجعداً Wrinkled (الشكل الدائري هو السائد) .
- 7- لون الأزهار : أما أن تكون بلون أرجواني purple أو أبيض white (اللون الأرجواني هو السائد) .

PARENTAL GENERATION PHENOTYPES		الصفت المظهرية لنباتات جيل الآباء
DOMINANT	RECESSIVE	
سائدة	متتحة	
 Spherical seeds	×	 Wrinkled seeds
البذور ممثلة		البذور المجعدة
 Yellow seeds	×	 Green seeds
البذور صفراء		البذور الخضراء
 Purple flowers	×	 White flowers
ازهار أرجوانية		ازهار بيضاء
 Inflated pods	×	 Constricted pods
قُرناات منتخحة		قُرناات محززة
 Green pods	×	 Yellow pods
قُرناات خضراء		قُرناات صفراء
 Axial flowers	×	 Terminal flowers
ازهار محورية		ازهار قمية
 Tall stems (1 m)	×	 Dwarf stems (0.3 m)
نباتات طويلة		نبات قصيرة

الشكل 1-2 . الصفات المتفارقة التي استخدمها مندل في تجاربه على نبات البازاليا .

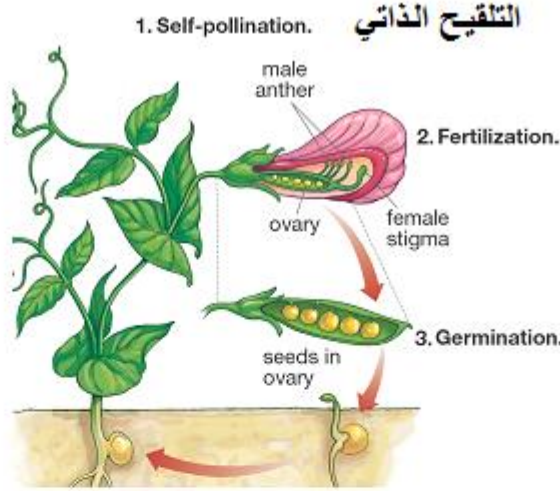
ركز مندل على هذا الاختلاف الفردي ضمن الصفة الواحدة مما أتاح له دراسة وراثية كل صفة بسهولة وبدون تعقيد . وقد أجرى مندل تهجيناته بين النباتات التي تحمل الصفات المتفارقة مع أخذه بنظر الاعتبار تأثير أن تكون الصفة للام أو للأب لذلك أجرى التضريب العكسي reciprocal cross ففي صفة البذور الملساء استخدم الصفة لتكون من الأم و صفة البذور المجعدة من الأب ثم أعاد التضريب بصورة معاكسة وكما موضح في الشكل (2-2) ولم يجد للأباء تأثيرا على نتائجه .



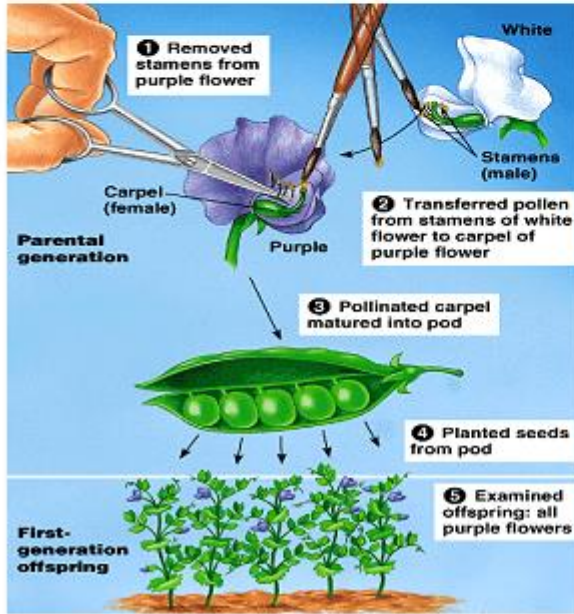
الشكل 2-2 . التضريب العكسي الذي اتبعه مندل لدراسة تأثير الأب و الأم على وراثية الصفة .

نفذ مندل عملية التضريب الخلطي بنزع المتك من أزهار النباتات التي اختارها قبل النضج ليمنع التلقيح الذاتي ، وقام بنقل حبوب اللقاح من الأزهار التي اختارها كأب إلى ميسم الأزهار التي اختارها لتكون الأم (الشكل 2-3) ثم تابع نضوج الأزهار على النباتات و الحصول على البذور ، ففي صفات معينة مثل لون البذور وشكل البذور يستطيع الحصول على النتائج مباشرة ، وفي صفات أخرى مثل طول النبات يحتاج إلى زراعة البذور ومتابعة النتائج في النسل الناتج .

قام مندل بإنتاج
النباتات نقية التركيب
الوراثي للصفة
المدرسة وذلك بترك
النباتات للتلقيح
الذاتي لعدة أجيال .



التلقيح الخلطي الذي أجراه مندل



إزالة المتك من الأزهار

نقل حبوب اللقاح من الأزهار
بيضاء اللون إلى الأزهار
الارجوانية

انتظار نضج البذور

زراعة البذور

فحص النسل الناتج عن زراعة البذور:
وجد مندل جميع الأزهار ارجوانية

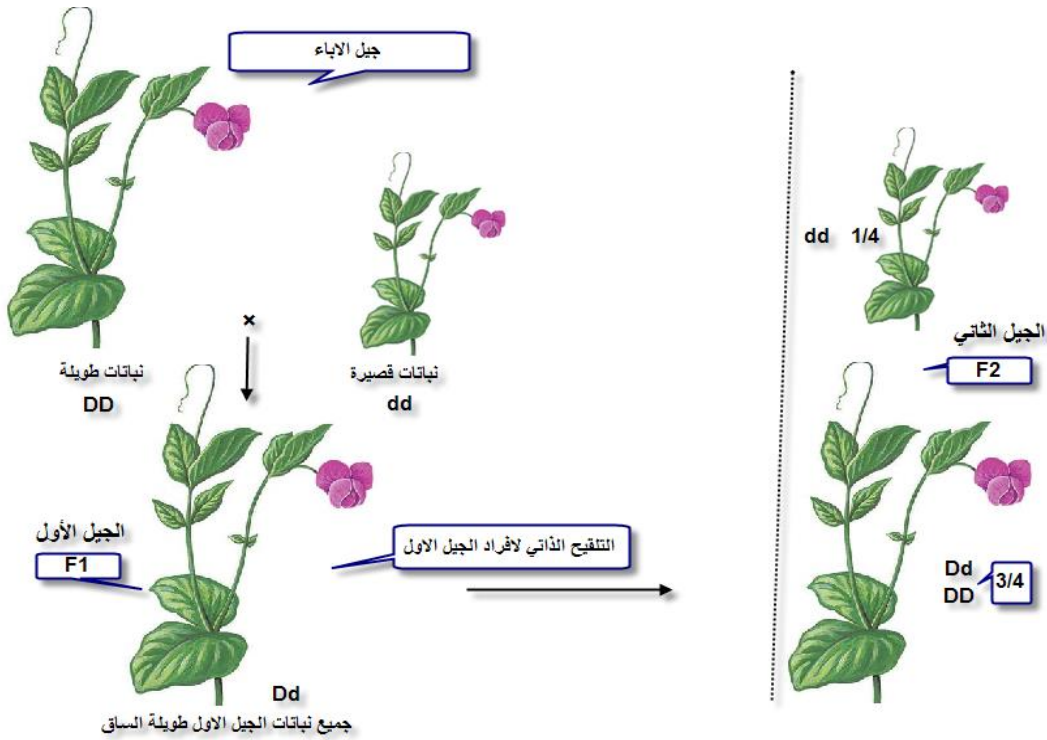
الشكل 2-3 . التلقيح الذاتي لعدة أجيال للحصول على سلالات نقية ثم خطوات التضريب الخلطي الذي اتبعه مندل في تجاربه على نبات البازليا .

تضريبات الهجين الأحادي : أساسيات الانعزال و السيادة

Monohybrid crosses: Segregation & Dominance Principles

قام مندل في هذه التجارب بتضريب السلالات التي تحمل صفات متفارقة ، ففي صفة طول النبات أجرى التضريب بين سلالة طويلة الساق و أخرى قصيرة الساق بإتباع التضريب الخلطي

الذي تم وصفه ، وبعد حصوله على البذور الناتجة عن التضريب تم زراعتها في السنة القادمة وحصل منها على نباتات متجانسة جميعها طويلة ، أي اختفت صفة القصر ، وقد حصل مندل على هذه النتيجة باستخدام التضريب المتبادل (الأب طويل مع الأم قصيرة الساق أو الأب قصير الساق مع الأم طويلة الساق) كانت النتيجة متشابهة . ولاختبار التركيب الوراثي للنباتات الهجينة الناتجة سمح لهذه النباتات بالتكاثر الطبيعي أي باستخدام التلقيح الذاتي ، وبعد الحصول على الجيل الثاني قام بفحص النباتات حيث وجد إن صفة القصر عادت للظهور ، فقد قام مندل بزراعة 1064 نبات من النسل وجد منها 787 نباتا طويلا و 277 نباتا قصيرا وبنسبة 3 : 1 طويل إلى قصير تقريبا (الشكل 2-4).

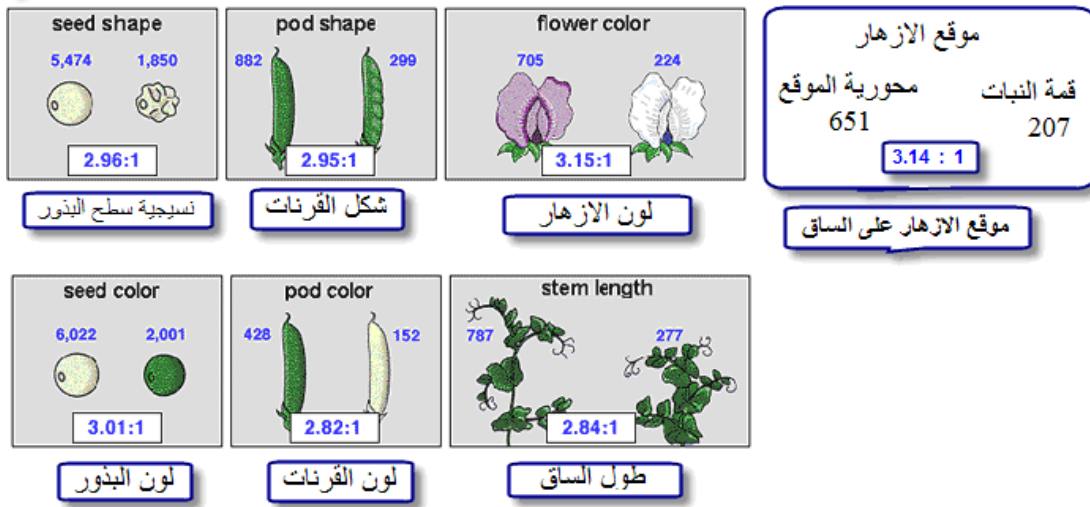


الشكل 2-4 . نتائج تضريب الهجين الأحادي لصفة طول الساق في الجيل الأول والجيل الثاني .

إن ظهور صفة القصر ثانية من تضريب نباتات طويلة هجينة التركيب الوراثي ، قد فسرها مندل في هذا السلوك الوراثي بان النباتات الهجينة كانت تحمل عاملاً وراثياً متخفياً *latent genetic factor* لصفة القصر وهي مخفية بتأثير عامل وراثي آخر يعبر عن نفسه ، وأطلق تسمية متنحي *recessive* أما العامل الوراثي الذي يعبر عن نفسه فيسمى السائد *dominant* وهذا هو مفهوم السيادة *dominance* . كما استنتج إن هذه العوامل الوراثية المتنحية والسائدة تنعزل عن بعضها البعض عند تكاثر النباتات الهجينة (عند تكوين الكميات) وهذا هو مفهوم الانعزال *segregation* الذي توصل إليه مندل من تجارب الهجين الأحادي .

قام مندل بإجراء نفس التضريب مع بقية الصفات الستة لدراسة وراثية بقية الصفات ، وسميت هذه التجارب بتضريبات الهجين الأحادي Monoybrid cross لأنه تضمن صفة مفردة واحدة و قد وجد مندل إن واحدة فقط من الصفتين تظهر في النباتات الهجينة في الجيل الأول وعندما يسمح لهذه النباتات الهجينة بالتلقيح الذاتي تظهر الصفتان في الجيل الثاني وبنسبة مقاربة للنسبة 3 : 1 وكما موضح في الشكل (2-5) .

استنتج مندل من تجاربه للتضريب الأحادي أن كل صفة يسيطر عليها زوج من العوامل الوراثية hereditary factors (أطلق عليها لاحقا جين gene من قبل العالم Wilhelm Johanssen في عام 1909) تكون بشكّلين بديلين احدهما يكون سائد والآخر يكون متنحي و يطلق على كل منهما مصطلح اليل allele . وفسر مندل نتائج تجاربه في أن جيل الآباء كانت متماثلة التركيب الوراثي homozygous ويكون زوج العوامل الوراثية فيها متماثلة و تختزل أثناء تكوين الكميات إلى نسخة واحدة وافترض مندل أن زوج العوامل الوراثية يعاد تشكيله عند الإخصاب (Snustad و Simmons ، 2000) .



الشكل 2-5 . نتائج تضريبات الهجين الأحادي التي أجراها مندل في الصفات المدروسة .

ولاختبار السلوك الوراثي في الجيل الثالث قام مندل بزراعة بذور من نباتات الجيل الثاني وقد توقع أن تكون ثلث النباتات الطويلة في الجيل الثاني ينتج عنها نباتات طويلة فقط في الجيل الثالث وان الثلثين الآخرين سينتجان نباتات طويلة وأخرى قصيرة في الجيل الثالث أما النباتات القصيرة ستعطي نباتات قصيرة فقط في الجيل الثالث ، وبالفعل حصل مندل على النتائج المتوقعة حيث إن نباتات الجيل الثاني الطويلة نتج عنها نباتات طويلة وأخرى قصيرة في الجيل الثالث بنسبة 2 : 1 طويلة : قصيرة وان نباتات الجيل الثاني القصيرة نتج عنها نباتات قصيرة فقط في الجيل الثالث (شوقي و آخرون ، 1993) .

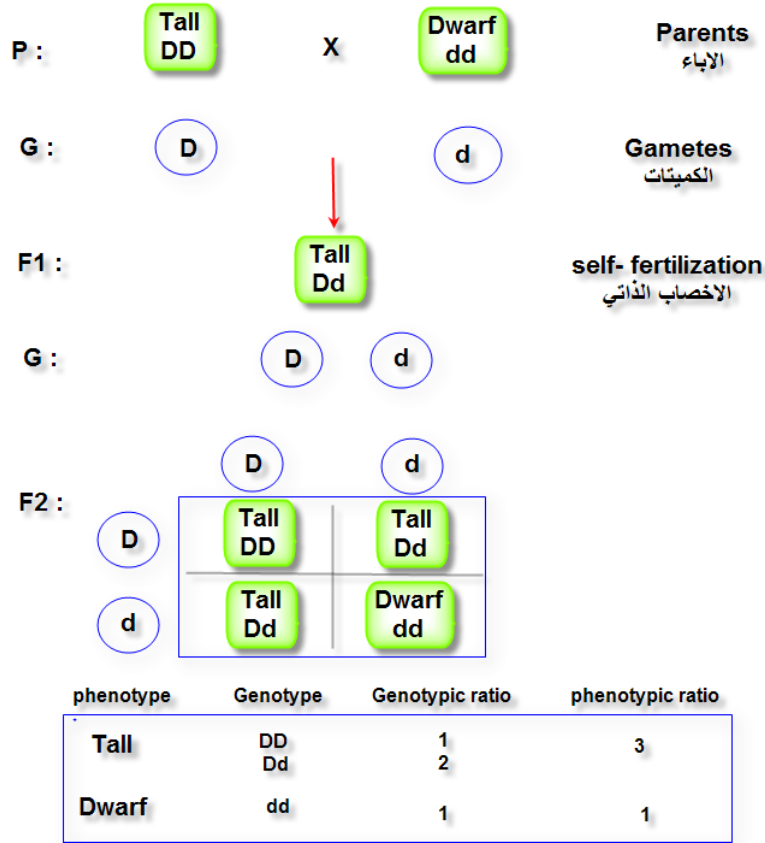
وقد أعيدت تجارب مندل من قبل العديد من الباحثين للتأكد من دقة القوانين التي تشير إليها و تضمنت النتائج المكررة من الباحثين اختبار نسبة البذور الصفراء إلى البذور الخضراء في الجيل الثاني وأوجز نتائجها Johannson في الجدول (1-2) نجد أن بعض الباحثين مثل Tschermak كان اقرب في نتائجه الى النسبة 3 : 1 من نتائج مندل نفسها (Lewis ، 1995).

الجدول 1-2 . النتائج المظهرية لأفراد الجيل الثاني من تضريلات الهجين الأحادي التي حصل عليها عدد من الباحثين في نبات البازاليا.

Source	Yellow	Green	Total	Dev. from 3 in 4	Prob. Error	Dev. ÷ P.E.
Mendel, 1866	6,022	2,001	8,023	+ .0024	± .0130	.18
Correns, 1900	1,394	453	1,847	+ .0189	± .0272	.70
Tschermak, 1900	3,580	1,190	4,770	+ .0021	± .0169	.12
Hurst, 1904	1,310	445	1,775	- .0142	± .0279	.51
Bateson, 1905	11,902	3,903	15,806	+ .0123	± .0093	1.32
Lock, 1905	1,438	514	1,952	- .0533	± .0264	2.04
Darbishire, 1909	109,060	36,186	145,246	+ .0035	± .0030	1.16
Winge, 1924	19,195	6,553	25,748	- .0180	± .0125	1.44
Total	153,902	51,245	205,147	+ .0008	± .0038	.21

SOURCE: Johannsen, 1926.

لقد استخدم مندل الرموز للإشارة إلى العوامل الوراثية في وصف المفاهيم الوراثية بوضوح و تحليل نتائج التضريلات رياضيا ، فضلا عن إمكانية التنبؤ بنتائج التضريلات في المستقبل . و استخدم الرمز للإشارة إلى الاليل ، و لتوضيح آلية استخدام الرموز و متابعة نتائج التضريل ، لناخذ مثال تضريل بين نباتات البازاليا الطويلة مع النباتات القصيرة (الشكل 2-6) ، إذ نلاحظ أن عروق البازاليا النقية الطويلة و القصيرة كانت متماثلة في كل عرق ويحمل أليلاً مختلفاً عن العرق الآخر و كلا الاليلين يسيطران على صفة طول النبات ، و بما أن الاليل المسيطر لصفة الطويل يكون سائداً على الاليل لصفة القصر لذلك استخدم الرمز للحرف الكبير D بينما استخدم الحرف الصغير d للرمز للاليل المتنحي (عادة في الوراثة يؤخذ الرمز من الحرف الأول للصفة المتنحية ليشير إلى الاليل ، و هنا استخدم d من الحرف الأول لكلمة dwarfness) و لذلك تمت الإشارة إلى التراكيب الوراثية genotype للعرق الطويل DD و العرق القصير dd ، و قد استخدم مصطلح الشكل المظهري phenotype للإشارة إلى مظهر الصفة المدروسة (Simmons و Snustad ، 2000) .



الشكل 6-2. استخدام الرموز لتمثيل التضريب بين النباتات الطويلة و القصيرة و نتائج التضريب

و يشار إلى الأفراد الناتجة عن تزاوج الأباء بالجيل الأول (F1) first filial generation (كلمة Filial كلمة لاتينية تعني الولد أو البنت) ، و بما أن كلا الأبوين يسهمان في وراثة الجيل القادم لذلك يكون التركيب الوراثي لنباتات الجيل الأول Dd أي أنها خليطة التركيب الوراثي Heterozygous للاليلات المسيطرة على صفة طول النبات ، و مع ذلك فان مظهر طول النباتات Dd مشابه إلى مظهر طول النباتات DD لان الاليل D سائد سيادة تامة على الاليل d ، التركيب الوراثي الخليط لأفراد الجيل الأول سوف ينتج نوعين من الكميتات هي D و d و بنسبة متساوية لإنتاج أفراد الجيل الثاني ، إن عملية انعزال الاليلات عن بعضها الآخر عند تكوين الكميتات تمثل الاكتشاف الأهم في تجربة مندل في تضريب الهجين الأحادي . إن نتائج تضريب الهجين الأحادي (الجيل الأول) ينتج عنه أفراد الجيل الثاني F2 و تكون النسبة المظهرية phenotypic ratio في حالة السيادة التامة هي 3 : 1 للنباتات الطويلة و القصيرة على التوالي.

قام مندل بترك نباتات الجيل الثاني للتلقيح الذاتي لإنتاج نباتات الجيل الثالث F3 ، و لاحظ أن جميع النباتات القصيرة في الجيل الثاني أنتجت نباتات قصيرة في الجيل الثالث مما يشير إلى أنها

متماثلة في تركيبها الوراثي dd ، و لكن النباتات الطويلة في الجيل الثاني صنفتم إلى مجموعتين ، حوالي ثلث هذه النباتات أنتجت نباتات طويلة فقط في الجيل الثالث ، أما الثلثان الباقيان فقد أنتجا خليطاً من النباتات الطويلة و القصيرة في الجيل الثالث ، و استنتج مندل من ذلك أن الثلث الأول تضمن نباتات متماثلة التركيب الوراثي للاليل السائد DD ، أما المجموعة الثانية فتمثل التركيب الوراثي الخليط Dd الذي حدث فيها الانعزال لإنتاج خليط من النباتات الطويلة و القصيرة في الجيل الثالث .

لقد توصل مندل من خلال تجاربه في تضريب الهجين الأحادي إلى المفاهيم الآتية :

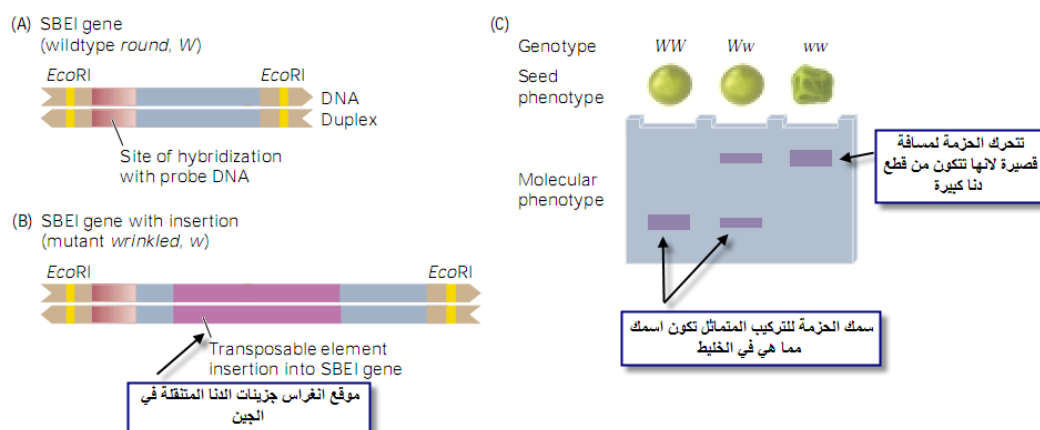
- 1- يتحكم في كل صفة يمتلكها الفرد زوج من العوامل الوراثية.
- 2- المفهوم الأساسي للسيادة ، ففي التركيب الوراثي الخليط ، قد يعمل احد الاليلين على إلغاء وجود الاليل الآخر فيعبر عن نفسه ويسمى الاليل السائد dominant allele بينما يمنع الاليل الآخر من التعبير عن نفسه و الذي يسمى الاليل المتنحي recessive allele ، و يشير مفهوم السيادة إلى وظيفة الجين حيث يمكن لبعض الاليلات أن تتحكم بمظهر الصفة بالكامل بالرغم من وجود أليل واحد فقط .
- 3- مفهوم الانعزال segregation ، ففي التركيب الوراثي تنعزل الاليلات المختلفة عن بعضها البعض خلال تكوين الكميات ، وهذه القاعدة الوراثية توصف انتقال المادة الوراثية بين الاجيال. إن الأساس البيولوجي لهذا المفهوم هو ازدواج الكروموسومات المتناظرة و انعزالها لاحقا خلال الانقسام الميوزي والذي ينتج عنه الكميات .

Molecular basis of segregation law

الأساس الجزيئي لقانون الانعزال

يسعى علماء الوراثة لدراسة الاختلافات بين الكائنات الحية في صفة معينة للتوصل إلى الأساس الوراثي لهذا الاختلاف ، ولقد كان اهتمام العلماء يتركز على الاختلافات المظهرية وكيفية انتقالها بين الأجيال مثل الاختلافات في اللون والشكل والحجم ، وهذا ما تضمنته تجارب مندل الذي درس سبعة صفات مظهرية متفارقة في شكل البذور و لون البذور و لون الأزهار وشكل القرينات ويبدو من المصادر الوراثية إن مثال تجربة مندل على شكل البذور (الممتلئة و المجعدة) هي الأكثر شهرة وانتشارا ، و مع تطور التقنيات الجزيئية اتجه الاهتمام لدراسة ما يجري على المستوى الجزيئي لتفسير قوانين مندل . عند جفاف بذور البازيلا تفقد الماء وتنكمش ، إن البذور الملساء الممتلئة تكون بهذا المظهر لأنها تنكمش بصورة متجانسة ، بينما تكون البذور مجعدة لأنها تنكمش بصورة غير منتظمة . إن مظهر البذور المجعدة يعود إلى غياب السلسلة المتفرعة للنشا starch والتي تسمى amylopectin والتي لا يجري تصنيعها في البذور المجعدة بسبب غياب إنزيم تفرع النشا starch – branching enzyme 1 (SBE1) . ويرمز للاليل البري الذي يشفر لإنزيم SBE1 بالرمز W و الاليل الطافر w . تنتج البذور الهجينة Ww نصف الكمية من الإنزيم مقارنة بالبذور بالتركيب المتماثل السائد WW ، ولكن هذه الكمية القليلة من الإنزيم كافية لإنتاج شبكة نشا متفرعة للبذور الهجينة لكي تنكمش بانتظام

وتحافظ على المظهر الأملس الممتلئ . يكون الاليل *W* سائداً على الاليل الطافر *w* . ولذلك السبب تكون البذور المجعدة بالتركيب المتماثل المتنحي *ww* فقط .

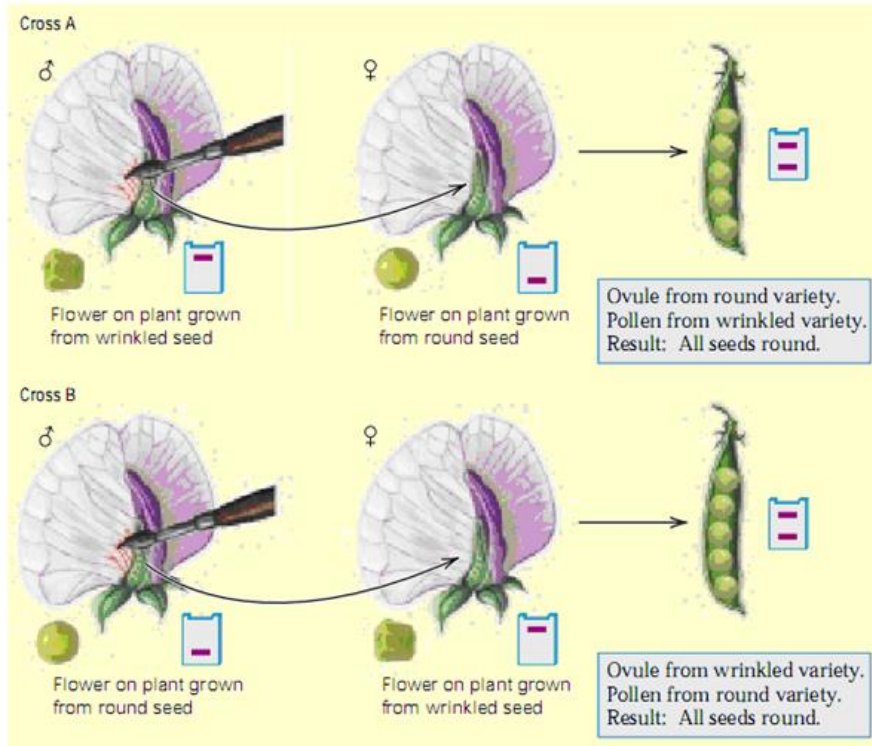


الشكل 2-7 . موقع الاليل *W* و الاليل *w* على هلام الاليكتروفوريسس لاختلافهما في حجم قطع الدنا الناتجة عن الهضم بإنزيم التقييد *EcoR1* .

إن الأساس الجزيئي لطفرة البذور المجعدة هو تعطيل فعالية الجين *SBE1* بواسطة انغراس تنابعات الدنا المتنقلة (التي تسمى transposable element) في الجين ، إن هذه التنابعات المتنقلة من الدنا موجودة في معظم الجينوم العائدة لمعظم الكائنات الحية خصوصا في الجينوم بأحجام كبيرة لحقيقية النواة وهذه التنابعات تغير مكانها من موقع لآخر في الدنا في نفس الكروموسوم أو بين الكروموسومات مسببة الطفرات التلقائية الناتجة عن انغراس الوحدات المتنقلة في الجين . ويوضح الشكل (2-7) تركيب الاليل البري *W* و الاليل الطافر *w* و يظهر فيها انغراس الوحدات المتنقلة في الجين مسببة تعطيل عمل الجين ، ويوضح الشكل جزيئة الدنا جرى تقطيعها بإنزيم التقييد *EcoR1* ، كما يوضح الجزء C من الشكل أنماط الحزم المتوقع الحصول عليها من وصمة سوزن southern blot عند هضم الجينوم بإنزيم التقييد *EcoR1* وترحيل قطع الدنا باستخدام الاليكتروفوريسس electrophoresis وتهجينها مع المجسات المعلمة إشعاعيا المكملة للتابعات في الاليل *W* و الاليل *w* ، حيث نلاحظ أن القطع الناتجة للاليل *W* تكون اصغر من القطع للاليل *w* بسبب انغراس تنابعات الدنا المتنقلة في الاليل *w* ، وبذلك يهاجر الاليل *W* الأصغر حجما بصورة أسرع من الاليل بالحجم الكبير *w* عند ترحيلها على هلام الاليكتروفوريسس .

والجينوم متماثل التركيب الوراثي السائد *WW* تكون حزمة واحدة تهاجر سريعا وبمسافة قريبة من نهاية الهلام ، بينما جينوم المتماثل المتنحي *ww* يكون حزمة واحدة تتحرك بطيئا ونجدها في

بداية الهلام بعد انتهاء عملية الترحيل ، أما الجينوم الخليط Ww فينتج عنه حزمتان وتتحرك كل حزمة بمسافة مشابهة للاليل الذي تمثله ويكون الاختلاف بين حزم الهجين وحزمة المتماثل في سمك الحزمة لان المتماثل يمتلك من الدنا أكثر من الموجود للاليل في التركيب الخليط وذلك ناتج عن كون التركيب المتماثل يتكون من نسختين من الاليل بينما يمتلك التركيب الخليط نسخة واحدة من كل اليل في التركيب الوراثي الخليط ، وكما هو واضح في الشكل (2-7) . ويظهر بوضوح أن التقانة الموضحة في الشكل السابق والتي يطلق عليها التضخيم العشوائي المتعدد المظاهر للدنا $Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)$ والذي نحصل عليها من تضخيم التتابعات لقطعة واحدة من الدنا في جينوم الفرد باستخدام تقنية سلسلة تفاعل البوليميريز $Polymerase Chain Reaction (PCR)$ ، قادرة بوضوح على التمييز بين التراكيب الوراثية الثلاثة WW ، Ww و ww لان التركيب الوراثي الخليط يظهر كلتا الحزمتين الموجودتين في التراكيب الوراثية المتماثلة ، إن هذه الحالة يمكن وصفها بالقول أن الاليلات w و W تكون ذات سيادة تعادلية على المستوى الجزيئي $codominance at molecular level$. ولتفسير عدم تأثير التضريب العكسي في نتائج التضريب للهجين الأحادي ، نلاحظ من الشكل (2-8) إن النباتات الهجينة في الجيل الأول تمتلك الحزمتين في هلام الاليكتروفوريسس ولا يتأثر مظهر الصفة بعائدية الحزمة للأب أو إلى الأم .



الشكل 2-8 . الأشكال المظهرية و الجزيئية الناتجة عن التضريب العكسي والتي تظهر أن البذور الهجينة تمتلك حزمتين للدنا على الهلام باستخدام $RAPD$.

ولتأكيد أهمية المظاهر الجزيئية في الوراثة الحديثة modern genetics في إثبات أساسيات الانتقال الوراثي ، يمكننا الآن متابعة خطوات تضريب الهجين الأحادي على المستوى الجزيئي باستخدام تقنية RAPD للاليلات W و w من مرحلة تكوين الكميات إلى الإخصاب وتكوين التراكيب الوراثية وفق النسب المندلية ، فعلى الرغم من نباتات الجيل الأول تحمل مظهر الصفة السائدة فإن التحليل الجزيئي للجينوم باستخدام RAPD يظهر تركيبها الوراثي الخليط للنباتات ، ويمكن إيضاح النسبة المظهرية 3 : 1 من خلال الشكل (2-9) الذي يمثل جوهر الوراثة المندلية حيث يبرز خصائص وراثية الموقع الجيني الواحد وهي :

1- تتواجد الجينات بهيئة أزواج وذلك يعني أن الفرد يمتلك نسختين لكل جين ، أحدهما مصدره الأب و النسبة الثانية مصدرها الأب الآخر أي تكون الخلايا الجسمية ثنائية المجموعة الكروموسومية diploid.

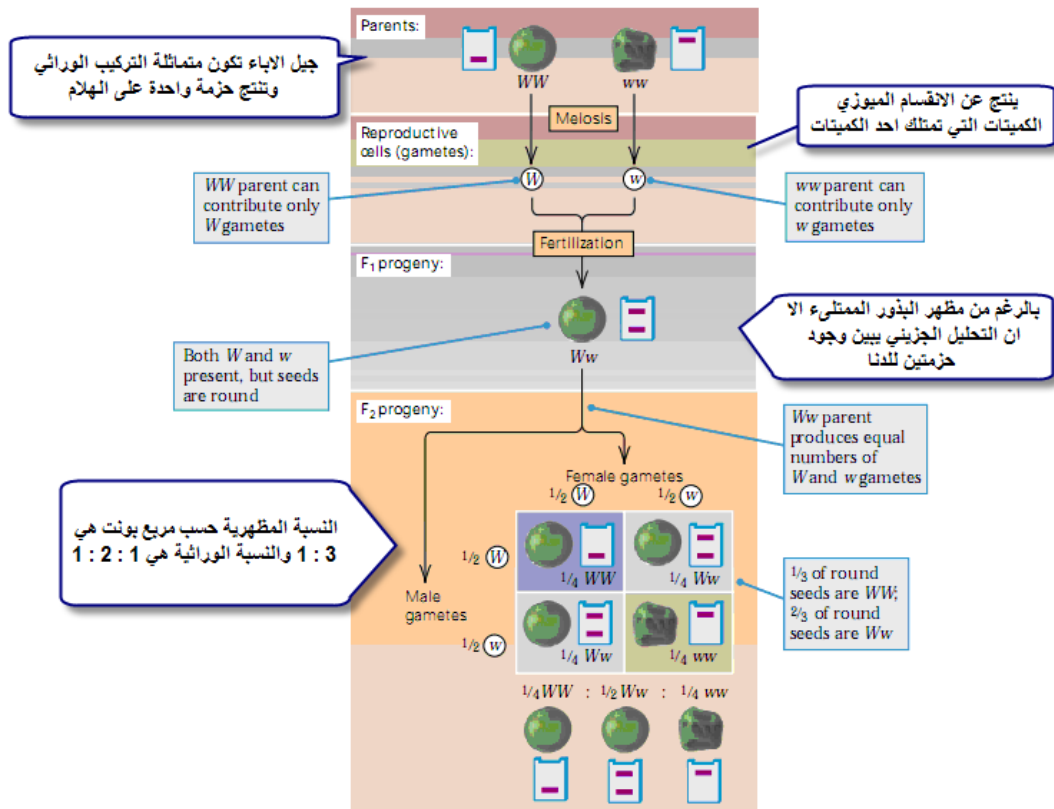
2- إن كل زوج من الجينات ، قد تكون فيها الاليلات متماثلة Homozygous سواء WW أو ww و قد تكون فيها الاليلات مختلفة Heterozygous أي Ww .

3- كل كميت يحتوي على أحد الاليلات فقط أما W أو w ، وتمثل خط الخلايا الجرثومية التناسلية وتكون أحادية المجموعة الكروموسومية Haploid .

4- عند تكوين الكميات تنتج التراكيب الوراثية المتماثلة نوعاً واحداً من الكميات ، بينما تنتج التراكيب الوراثية الخليطة Ww نوعين من الكميات أحدهما تحمل الاليل W و الكميت الآخر يحمل الاليل w .

5- اتحاد الكميت الذكري و الكميت الأنثوي تكون عملية عشوائية و ينتج عنها إعادة تكوين الأزواج الجينية حيث ينتج عن الإخصاب Fertilization تكوين الزايكوت zygote ثنائية المجموعة الكروموسومية .

إن الخاصية الأساسية للانتقال الوراثي هي الانعزال segregation و هو ما يطلق عليه قانون مندل الأول Mendel's first law . و من خلال نفس الشكل تتوضح النسب المندلية لتضريب الهجين الأحادي ففي الجيل الثاني تكون النسبة المظهرية Phenotypic ratio هي 3 : 1 و النسبة الوراثية Genotypic ratio هي 1 : 2 : 1 .



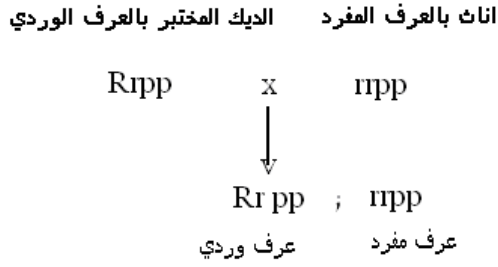
الشكل 2-9 . التفسير المظهري والجزيئي للنسبة 3 : 1 للمظهر السائد : المظهر المتنحي في الجيل الثاني لتضريب الهجين الأحادي .

التضريب الاختباري Test cross

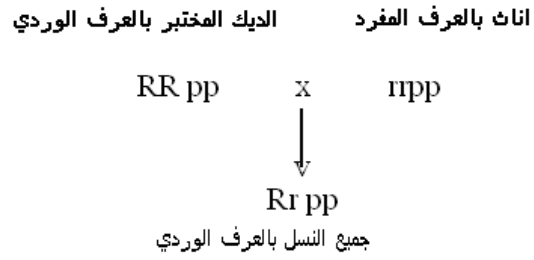
عندما يتحكم جين تام السيادة على صفة نوعية فان الشكل المظهري للتركيب الوراثي السائد المتماثل AA والتركيب الوراثي الخليط Aa سيكون متشابهها ولغرض تمييز الأفراد متماثلة التركيب الوراثي يجري تضريب الفرد مجهول التركيب الوراثي مع تركيب وراثي متماثل متنحي فإذا كان النسل الناتج جميعه يحمل الصفة السائدة كان الفرد الذي يجري اختباره متماثلاً سائداً في حين يؤدي ظهور فرد واحد بالمظهر المتنحي إلى اعتبار الفرد المختبر خليطاً .

ومن الأمثلة في وراثه الدجاج هو العرف الوردي في سلالة الوايندوت حيث يعتبر العرف الوردي قياسياً للسلالة إلا أن العرف المفرد يظهر ضمن أفراد السلالة نتيجة تزواج الأفراد الخليطة التركيب الوراثي مما يستدعي استبعاد هذه الأفراد للحفاظ على المواصفات القياسية للسلالة ، ولغرض اختبار ديك يحمل مظهرها العرف الوردي هل هو متماثل سائد RRpp أو خليط Rrpp يجري تضريبه مع إناث متنحية التركيب الوراثي تحمل العرف المفرد rpp فإذا حصلنا على أفرخ بالعرف الوردي فقط فيدل ذلك على أن الديك المختبر متماثل سائد في حين ظهور العرف المفرد في النسل يدل على أن الديك المختبر خليط التركيب الوراثي وكما يأتي :

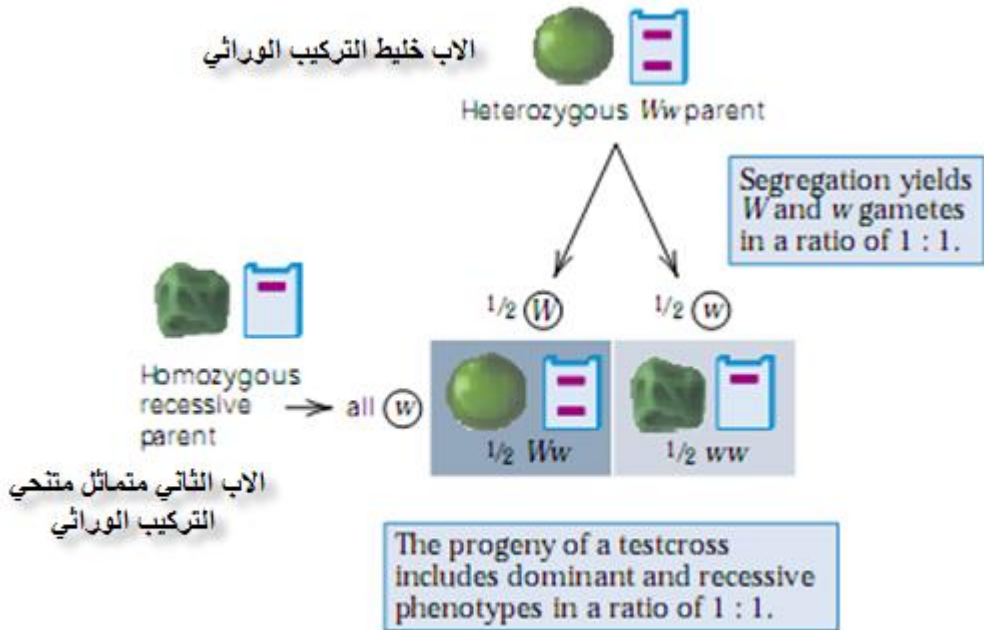
الحالة الثانية - الفرد المختبر خليط :



الحالة الاولى - الفرد المختبر متماثل سائد :



و يمكن توضيح التضريب الاختباري على المستوى الجزيئي ، إذ يلاحظ إن الفرد خليط التركيب الوراثي يمتلك حزمتين (حزمة لكل الليل) يجري تضريبه مع فرد متماثل متنحٍ (يمتلك حزمة واحدة كثيفة) و يكون الناتج للجيل الأول شكلين مظهريين الأول يحمل صفة الليل السائد الخليط (حزمتين على الهلام) و الآخر يحمل الصفة المتنحية (حزمة واحدة) كما موضح في الشكل 10-1.



ناتج التضريب الاختباري ، يتضمن الشكل المظهري السائد و المتنحي بنسبة 1 : 1

الشكل 10-2 . التضريب الاختباري لفرد خليط التركيب الوراثي على المستوى المظهري و الجزيئي.

تضريبات الهجين الثنائي : قانون الانعزال الحر

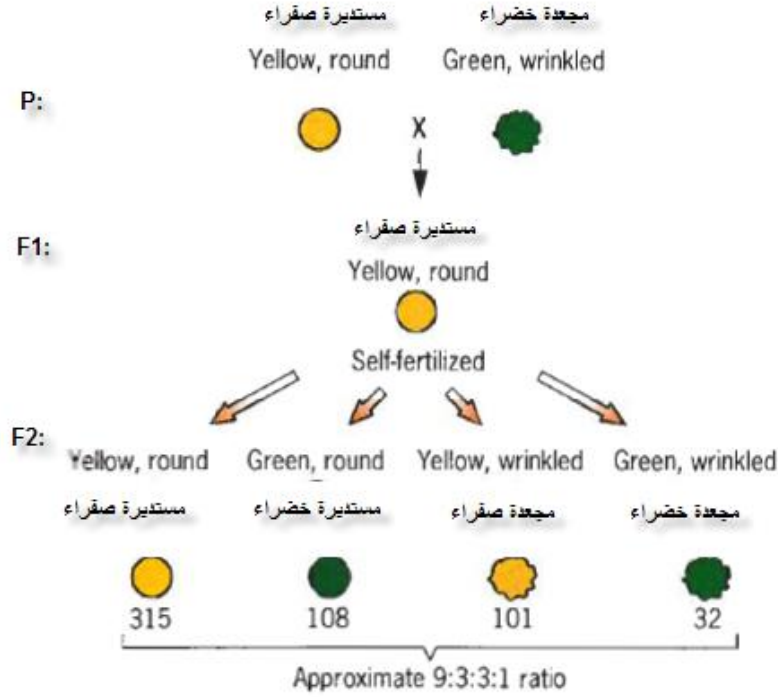
Dihybrid crosses: Principle of Independent Assortment

استهدف مندل من خلال تضريبات الهجن الثنائية التعرف على أسلوب انتقال صفتين أو أكثر معا من جيل لآخر و اختبار استقلالية أزواج الاليلات المختلفة عن بعضها البعض ، واستخدم لهذا الغرض صفتين في بذور النبات هما: شكل البذور و لون البذور فقام بتضريب نباتات ذات بذور مستديرة صفراء اللون GGWW مع نباتات ذات بذور مجعدة خضراء اللون ggww حصل في الجيل الأول على نباتات خليطة في الصفتين GgWw طرازها المظهري بذور مستديرة صفراء اللون مما يدل على إن صفة اللون الأصفر سائدة على اللون الأخضر و صفة بذور مستديرة سائدة على البذور المجعدة ، و عندما سمح لنباتات الجيل الأول التلقيح ذاتيا حصل في الجيل الثاني على أربعة طرز مظهرية مميزة تتطابق مع نسبة 9 : 3 : 3 : 1 و هي :

16/9 مستديرة صفراء : 16/3 مستديرة خضراء : 16/3 مجعدة صفراء : 16/1 مجعدة خضراء و هذه النسبة تتفق إحصائيا مع قانون ضرب الاحتمالات لحادثين مستقلين و بما إن احتمال ظهور كل صفة بشكل مستقل هو 3 : 1 أو (1 + 3) لذلك تكون النسبة المظهرية للهجين الثنائي هي :

$$(1 + 3 + 3 + 9) = 2^2 (1 + 3)$$

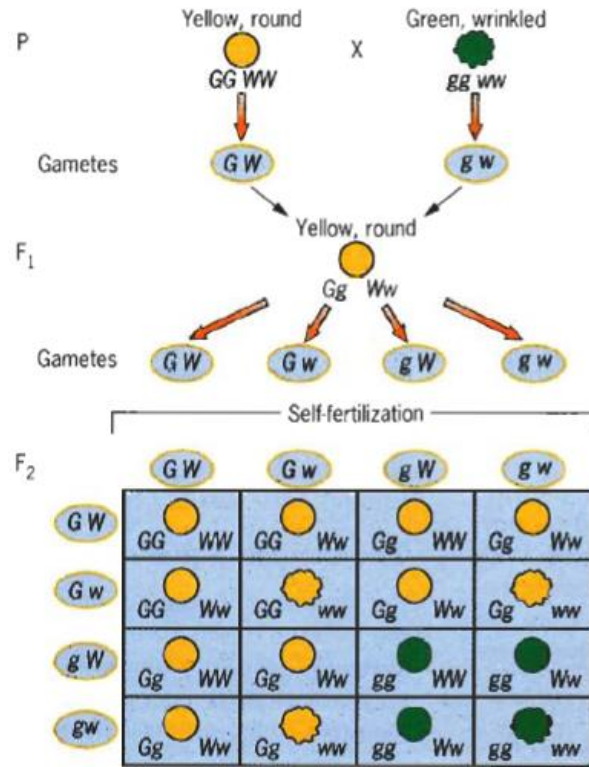
و تشير هذه النتائج إلى أن اليلات كل زوج من الجينات المنعزلة تسلك سلوكا مستقلا عن زوج اليلات الصفة الثانية فاستنتج مندل من خلال نتائج هذه التضريبات قانون التوزيع الحر الذي يشير إلى أن الاليلات في المواقع الجينية المختلفة تنعزل عن بعضها البعض بصورة مستقلة في كل موقع عن المواقع الأخرى و يمكن متابعة مخطط التضريب في الشكل (11-2) .



الشكل 11-2 . تضريب الهجين الثنائي الذي أجراه مندل على صفتي شكل البذرة و لون البذرة في نبات بزاليا الحديقة .

و التفسير الوراثي لانتقال الصفتين معا من جيل الآباء إلى الجيل الأول و من الجيل الأول إلى الجيل الثاني بعد التلقيح الذاتي باستخدام الرموز الوراثية الموضحة في الشكل (12-2) . نلاحظ أن الهجين الثنائي GgWw قد أنتج أربعة أنواع من الكميات هي GgWw ، Ggww ، ggWw ، ggww أحادية المجموعة الكروموسومية و بنسب متساوية (0.25 لكل كميت) بحيث إن كل كميت يمتلك أليلاً خاصاً بلون البذرة و أليلاً خاصاً بشكل البذرة . إن نتائج التضريب تشير إلى :

- 1- إن اليلات كل موقع جيني تنعزل عن بعضها البعض عند تكوين الكميات .
- 2- إن انعزال اليلات كل موقع جيني يحدث بصورة مستقلة عن المواقع الأخرى .



الشكل 12-2 . التفسير الوراثي لتضريب الهجين الثنائي باستخدام الرموز الوراثية .

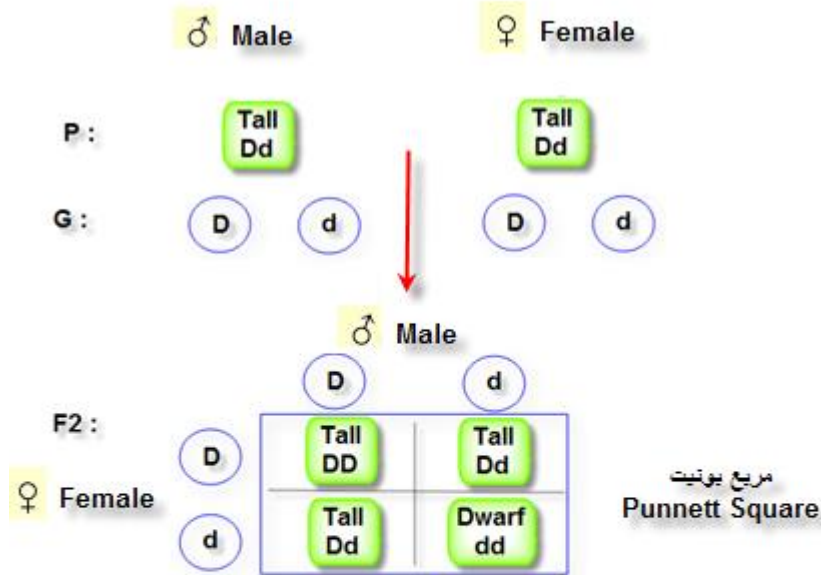
Application of Mendelian Principles

تطبيقات على قوانين مندل

عندما يكون الأساس الوراثي للصفة المدروسة معلوماً يصبح بالإمكان استخدام قوانين مندل للتنبؤ بنتائج التضريبات المختلفة ، وهناك ثلاث طرائق عامة للوصول إلى ذلك وهي :

1- مربع بونيت Punnett square method

استخدمت هذه الطريقة من قبل عالم الوراثة R. C. Punnett للتنبؤ بنتائج التضريبات التي تتضمن زوجاً واحداً أو زوجين من الجينات ، حيث تكتب الكميات الذكورية في الخط الرأسي للمربع و الكميات الأنثوية في العمود الأيسر للمربع و نعمل جميع التوافق الممكنة بين الكميات داخل المربع ، وينتج عن ذلك توزيع التراكيب الوراثية الزايكوتية و النسبة الوراثية genotypic ratio ، و لتحديد الطرز المظهرية يؤخذ بنظر الاعتبار سيادة الاليلات على بعضها و تبعاً لذلك تحديد النسبة المظهرية phenotypic ratio . لا تستخدم هذه الطريقة في الحالات التي تتضمن أكثر من زوجين من الجينات ، ويوضح الشكلان (12-2 و 13-2) آلية العمل وفق هذه الطريقة لموقعين جينيين و موقع جيني واحد على التوالي .



الشكل المظهري phenotype	التركيب الوراثي Genotype	النسبة الوراثية Genotypic ratio	النسبة المظهرية phenotypic ratio
Tall	DD Dd	1 2	3
Dwarf	dd	1	1

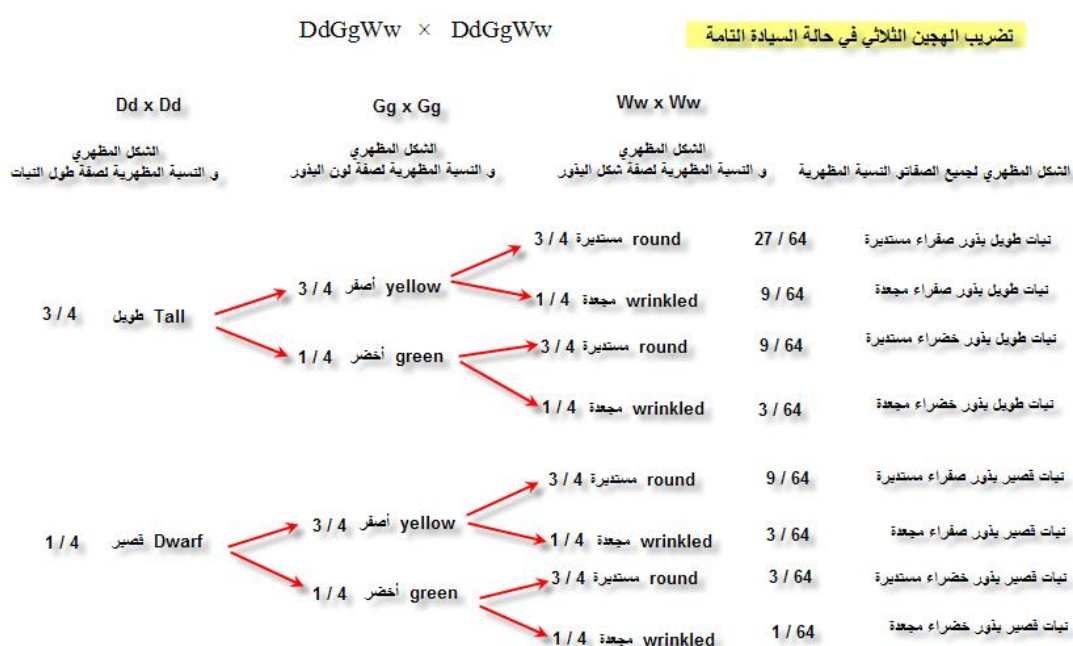
الشكل 2-13 . مربع يونيت للتنبؤ بنتائج التضريب لموقع جيني واحد .

2- طريقة الخطوط المتفرعة The Forked-Line Method

يستخدم في هذه الطريقة مخطط من الخطوط المتفرعة حسب عدد أزواج الجينات المشتركة في التضريب ، و تستخدم هذه الطريقة للتنبؤ بنتائج التضريبات التي تتضمن زوجين أو أكثر من الجينات ، فإذا كان لدينا تضريب بين أفراد الهجين الثلاثي Trihybrid cross و هو تركيب وراثي خليط في ثلاثة مواقع جينية مستقلة الأول يسيطر على طول النبات (Dd) اليل طويل الساق سائد على (d اليل قصير الساق) والثاني يسيطر على لون البذور (Gg) اليل بذور صفراء سائد على (g اليل بذور خضراء اللون) و الثالث شكل البذور (Ww) اليل بذور مستديرة سائد على (w اليل بذور مجعدة) أي صيغة التضريب تكون كما يأتي :



نتعامل مع هذا التضريب على انه ثلاثة تضريبات فردية هي : $Dd \times Dd$ و $Gg \times Gg$ و $Ww \times Ww$ لان جميع الجينات تتوزع بشكل مستقل . ففي حالة السيادة التامة بين الاليلات من المتوقع الحصول على النسبة المظهرية 3 : 1 في كل تضريب هجين أحادي (صفة طول النبات مثلا ينتج 3 طويل : 1 قصير) ، و بما أن أزواج الجينات الثلاثة مستقلة لذلك يمكن تجميع و تنظيم التضريبات الأحادية الثلاثة سوية و نحصل على النسبة المظهرية الكلية للنسل و الناتجة عن التضريب ، وكما موضح في الشكل (2-14) .



الشكل 2-14 . طريقة الخطوط المتفرعة لتضريب الهجين الثلاثي .

3- طريقة قوانين الاحتمال Probability Laws Method

الطريقة البديلة لمربع بونيت و الطريقة المتفرعة تعتمد على مبادئ الاحتمال ، وتستخدم فيها قواعد ضرب و جمع الاحتمالات و تتعامل مع الأحداث الوراثية بصيغة التعامل مع قطعة نقدية ، فالتركيب الوراثي الهجين ينتج نوعين متساويين من الكميات ، في حالة تضريب فردين هجينين فان الكميات تتحد عشوائيا لإنتاج التراكيب الوراثية الزايكوتية ، ففي حالة صفة طول النبات مثلا عند تضريب الأفراد $Dd \times Dd$ فان احتمال أن يكون الزايكوت بالتركيب الوراثي DD هو ضرب احتمالية الحصول على الكمية D في كل فرد من الأباء و هو 0.5 وبذلك يكون الاحتمال هو : $0.25 = 0.5 \times 0.5$. و بما أن الكميات تنتج بصورة مستقلة فان احتمالية الحصول على الزايكوت بالتركيب الوراثي dd هو 0.25 أيضا .

أما احتمالية الحصول على الزايكوت بالتركيب الوراثي Dd هو 0.5 لان هناك طريقتين لإنتاج الزايكوت و بالتالي تخضع لقانون جمع الاحتمالات : $0.25 + 0.25 = 0.5$. وفي حالة السيادة التامة فان الشكل المظهري السائد (طويل) يكون $0.25 + 0.50 = 0.75$ و الشكل المظهري المتنحي (القصير) احتمالية حصوله هو 0.25 .

يجري تطبيق نفس الاسلوب مع التضريبات التي تتضمن مواقع جينية أكثر ، على سبيل المثال تضريب أفراد خليطة التركيب الوراثي في أربعة مواقع جينية ما هو نسبة التركيب الوراثي الناتج في النسل يكون متماثل متنحي في المواقع الجينية الأربعة . إن نسبة الحصول على التركيب الوراثي المتماثل المتنحي في كل موقع هو 0.25 و بما أن هذه المواقع مستقلة عن بعضها فان التركيب الوراثي المتماثل المتنحي لجميع المواقع هو :

$$0.00391 = 0.25 \times 0.25 \times 0.25 \times 0.25$$

و بالتأكيد تعتبر طريقة الاحتمالية هي الأسرع و الأفضل من الطرائق السابقة .
مثال :

اجري تضريب هجين ثنائي بالتركيب $AaBb \times AaBb$ ، المطلوب معرفة ما هي نسبة النسل الذي يظهر الشكل المظهري المتنحي في موقع جيني واحد على الأقل .
الحل:

هناك ثلاثة أنواع من التراكيب الوراثية التي تحقق هذه الحالة و هي : $A- bb$ ، $aa B-$ ، $aa bb$ ،

و لحساب الاحتمالية يجب حساب احتمالية كل تركيب وراثي و ثم جمع الاحتمالات الكلية :

$$\text{احتمالية الحصول } A- bb \text{ هو } 0.182 = 0.25 \times 0.75$$

$$\text{احتمالية الحصول } aa B- \text{ هو } 0.182 = 0.75 \times 0.25$$

$$\text{احتمالية الحصول } aa bb \text{ هو } 0.063 = 0.25 \times 0.25$$

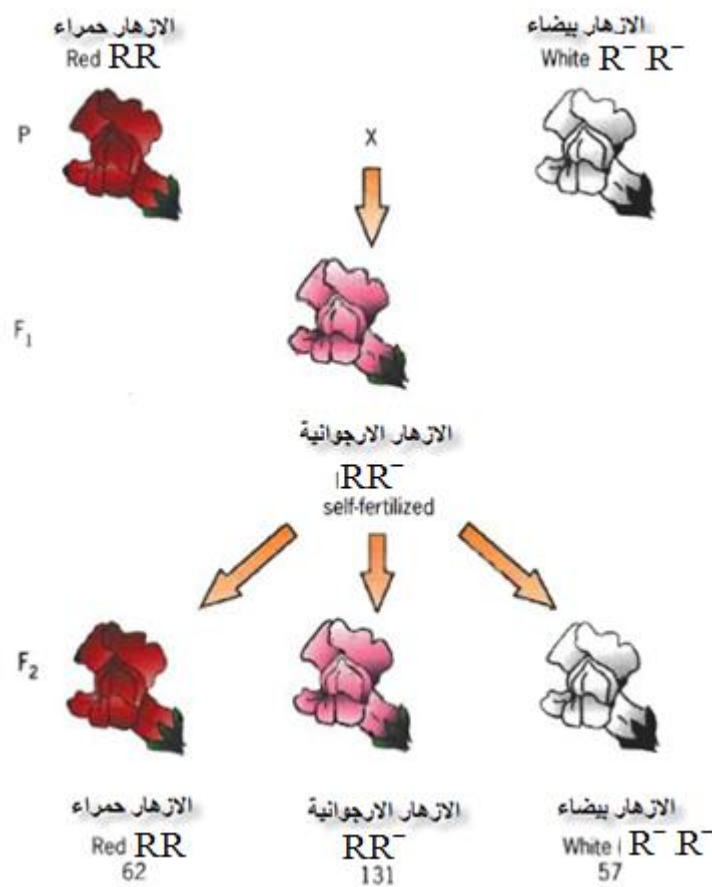
$$\text{و نتيجة جمع هذه الاحتمالات هو } 0.427 = 0.063 + 0.182 + 0.182$$

صياغة و اختبار الفرضيات الوراثية

يعتمد منهج البحث العلمي على الملاحظة للظواهر الطبيعية و ربط الحقائق العلمية مع بعضها في سياق منطقي ، و لدراسة ظاهرة طبيعية محددة يقوم الباحث بصياغة فرضية hypothesis تتضمن مجموعة من الأفكار التي توفر تفسيراً أولياً للظاهرة المدروسة و تحتاج هذه الفرضية إلى البراهين لإثبات صحتها ، لذلك يقوم الباحث باختبار هذه الفرضية من خلال جمع البيانات بطريقة المسح أو بإجراء التجارب العلمية و معالجة هذه البيانات إحصائياً للوصول إلى قرار بقبول أو رفض الفرضية .

مثال عن اختبار الفرضية الوراثية متابعة وراثية لون الأزهار في نبات أنف العجل snapdragon ، استخدمت سلالتان نقيتان من النبات إحداهما لون الأزهار الحمراء و السلالة الثانية لون الأزهار البيضاء ، الفرضية الوراثية تستند إلى السؤال : هل هذه الألوان للأزهار هي ناتجة عن أساس وراثي ؟ و للإجابة عن هذا السؤال يتم تضريب السلالتين لإنتاج الهجين في

الجيل الأول و جميعها باللون الأرجواني للإزهار و عندما نترك أفراد الجيل الأول للتلقيح الذاتي فان الجيل الثاني يتكون من ثلاثة أنواع من النباتات مع أعدادها المشاهدة هي لون الأزهار الأحمر (62) ، لون الأزهار الأرجوانية (131) ، لون الأزهار البيضاء (57) ، كيف يمكننا توضيح هذه البيانات ؟ نضع الفرضية أن لون الأزهار يسيطر عليه بواسطة جين مفرد باليلين هي R اللون الأحمر و الاليل R^- اللون الأبيض ، و الأزهار خليطة التركيب الوراثي RR^- باللون الأرجواني لان الاليل R سائدة سيادة غير تامة على الاليل R^- (الشكل 2-15) .



الشكل 2-15 . وضع الفرضية الوراثية و اختبارها لصفة لون الأزهار في نبات أنف العجل .

يستخدم اختبار مربع كاي Chi – Square test على نطاق واسع في التجارب الوراثية لاختبار حسن المطابقة بين النتائج المشاهدة التي تم الحصول عليها فعلياً من مصادر جمع البيانات مع النتائج المتوقع الحصول عليها وفق الفرضيات الوراثية ، إن السؤال الذي نبحت عن إجابته هل هذه البيانات تدعم الفرضية الوراثية أم لا ؟ و يجري خلال الاختبار حساب القيمة الإحصائية لمربع كاي بالاعتماد على البيانات المشاهدة و مدى انحرافها عن القيم المتوقعة ،

ويجري مقارنة القيمة المحسوبة للاختبار مع القيمة الجدولية للاختبار (الجدول 2-2) وفق مستوى معنوية محدد ، ففي حالة أن تكون القيمة المحسوبة تساوي أو اكبر من القيمة الجدولية ترفض فرضية العدم مما يدل على وجود اختلافات معنوية بين الأعداد المشاهدة والأعداد المتوقع الحصول عليها ، أما إذا كانت قيمة مربع كاي المحسوبة اقل من القيمة الجدولية فيكون القرار بقبول فرضية العدم أي إن هناك حسن مطابقة بين الأعداد المشاهدة و الأعداد المتوقعة ويدعم الفرضية الوراثية التي وضعها الباحث . وتستخدم الصيغة الآتية لحساب قيمة مربع كاي المحسوبة :

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

حيث تمثل :

χ^2 : قيمة مربع كاي المحسوبة .

O_i : الأعداد المشاهدة .

E_i : الأعداد المتوقعة .

مثال : اجري تضريب بين نباتين ، الأول بأزهار حمراء RR و الثاني بأزهار بيضاء R^-R^- و حصلنا على نباتات الجيل الأول جميعها تحمل أزهاراً أرجوانية (سيادة غير كاملة) خليطة التركيب الوراثي و عندما تركت أفراد الجيل الأول للتلقيح الذاتي حصلنا على الجيل الثاني الذي يتكون من ثلاثة طرز مظهرية بالأعداد الآتية : أزهار حمراء (63) : أزهار أرجوانية (131) : أزهار بيضاء (54). لغرض اختبار حسن المطابقة للنتائج المشاهدة مع فرضية الانعزال لموقع جيني واحد (1 : 2 : 1) نستخدم اختبار مربع كاي :
يمكن تسهيل تنفيذ اختبار مربع كاي بإتباع خطوات الجدول أدناه للوصول إلى القيمة المحسوبة للاختبار .

$\frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$	O - E	الأعداد المتوقعة E_i	الأعداد المشاهدة O_i	الفئات المظهرية
0.016	1	$\frac{1}{4} \times 248 = 62$	63	أزهار حمراء
0.395	7	$\frac{1}{2} \times 248 = 124$	131	أزهار أرجوانية
1.032	8 -	$\frac{1}{4} \times 248 = 62$	54	أزهار بيضاء
$\chi^2 = 1.44$		248	248	

يتم حساب الأعداد المتوقعة لكل فئة مظهرية عن طريق ضرب النسبة المظهرية المتوقعة للفئة مع العدد الكلي للعينة و تحديد درجات الحرية V وهي $(V = K - 1)$ و تمثل K عدد الفئات المظهرية وهي في مثالنا ثلاثة طرز مظهرية و بذلك تكون درجات الحرية تساوي 2 . نستخرج قيمة مربع كاي الجدولية بدلالة درجات الحرية و مستوى المعنوية و تساوي 5.99 الاستنتاج ، بما أن قيمة مربع كاي المحسوبة اقل من القيمة الجدولية لذلك تقبل فرضية العدم أي إن هناك حسن مطابقة بين الأعداد المشاهدة و الأعداد المتوقعة .

الجدول 2-2. القيم الجدولية لاختبار مربع كاي .

درجات الحرية df	مستوى المعنوية			
	0.05	0.025	0.01	0.005
1	3.84	5.02	6.63	7.88
2	5.99	7.38	9.21	10.60
3	7.82	9.35	11.35	12.84
4	9.49	11.14	13.28	14.86
5	11.07	12.83	15.09	16.75
6	12.59	14.45	16.81	18.55
7	14.07	16.01	18.48	20.28
8	15.51	17.54	20.09	21.96
9	16.92	19.02	21.66	23.59
10	18.31	20.48	23.21	25.19
11	19.68	21.92	24.72	26.75
12	21.03	23.34	26.21	28.30
13	22.36	24.74	27.69	29.82
14	23.69	26.12	29.14	31.31
15	25.00	27.49	30.58	32.80
16	26.30	28.85	32.00	34.27
17	27.59	30.19	33.41	35.72
18	28.87	31.53	34.81	37.15
19	30.14	32.85	36.19	38.58

استخدام توزيع ذي الحدين في التنبؤ لنتائج التضريبات

يتوزع النسل الناتج عن بعض التضريبات إلى مجموعتين متميزتين ، على سبيل المثال ذكور أو إناث ، أفراد سليمة أو أفراد مصابة ، أفراد طبيعية أو أفراد طافرة ، شكل مظهري سائد أو متنح . و لكي نتحدث عن الصيغة العامة يمكن استخدام الرمز p للحدث الأول و q للحدث الثاني .

بعض التوافيق من التراكيب الوراثية الموجودة في مجاميع محددة العدد يمكن حساب احتمالية حدوثها باستخدام المفكوك ذي الحدين الذي يختص بالمحاولات التي تكون نتيجتها النجاح

في وقوع الحادث p أو الفشل في وقوع الحادث q بحيث يكون $p + q = 1$ ويجري حساب الاحتمال باستخدام الصيغة الآتية

$$(p + q)^n = C_x^n \times p^x \times q^{n-x}$$

تمثل C_x^n التوافيق الممكنة

P احتمالية النجاح في وقوع الحادث

q احتمالية الفشل في وقوع الحادث

x يمثل عدد حالات النجاح في ظهور الحادث .

ويتم حساب C_x^n وفق الصيغة الآتية :

$$C_x^n = \frac{n!}{x!(n-x)!}$$

وفيه يمثل n عدد المحاولات الكلية ، x يمثل عدد حالات النجاح في ظهور الحادث .
 مثال : في عائلة مكونة من ستة أطفال ، ما هي احتمالية أن يكون على أربع إناث في هذه العائلة؟
 إن احتمالية النجاح في تحقيق الحادث هو p و هنا الإناث و بقيمة $1/2$ ، و احتمالية عدم تحقق الحادث (أي الحصول على الذكور) هو q بقيمة $1/2$ ، و تكون احتمالية الحصول على أربعة إناث و اثنان من الذكور هي :

$$C_x^n = \frac{n!}{x!(n-x)!} = \frac{6 \times 5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1}{4 \times 3 \times 2 \times 1 (2 \times 1)} = 15$$

$$\begin{aligned} p(x=4) &= C_x^n \times p^x \times q^{n-x} \\ &= 15 \times (0.5)^4 \times (0.5)^2 \\ &= 0.234 \end{aligned}$$

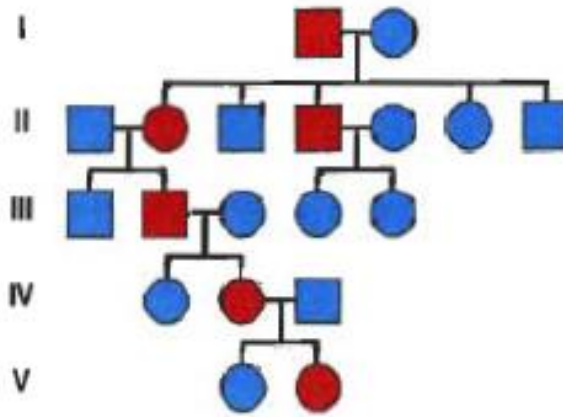
مثال : في دراسة سلوك صفة الالبينو Albino في الإنسان ، في عائلة الأبوين خليطي التركيب الوراثي (Cc) و احتمالية ظهور الأفراد طبيعيين (p) 0.75 و احتمالية ظهور الطفل البينو (q) هو 0.25 ، فإذا كان للعائلة أربعة أطفال ما هو احتمال أن يكون اثنان منهم طبيعيين ؟
 الحل :

$$C_2^4 = \frac{n!}{x!(n-x)!} = \frac{4 \times 3 \times 2 \times 1}{2 \times 1 (2 \times 1)} = 6$$

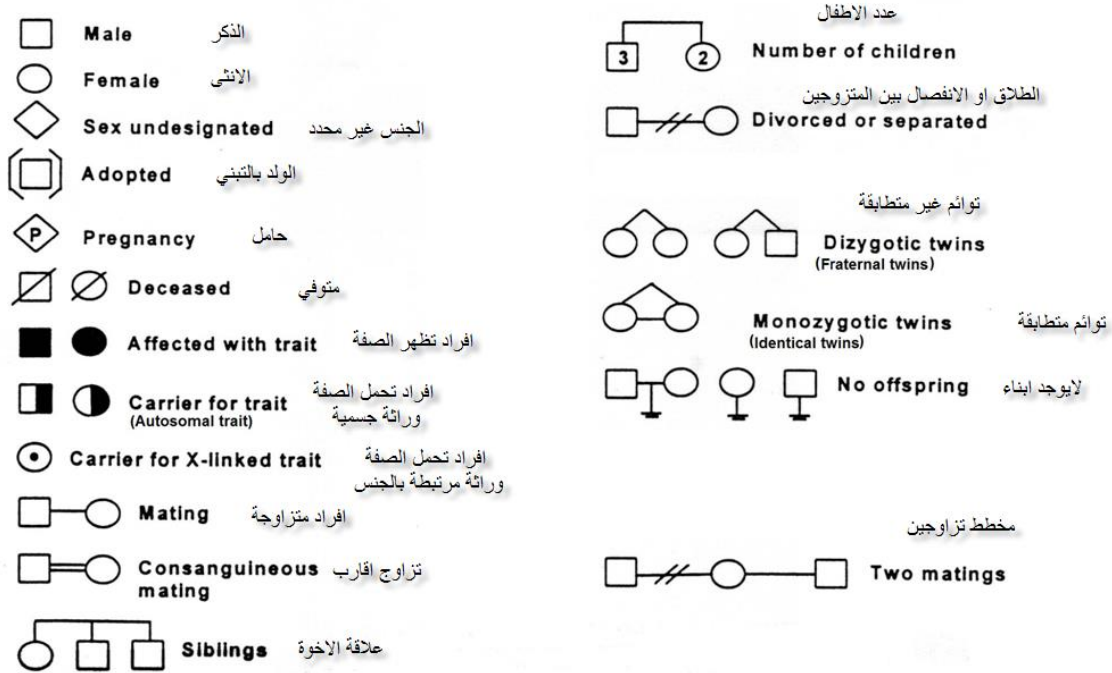
$$\begin{aligned} p(x=2) &= C_x^n \times p^x \times q^{n-x} \\ &= 6 \times (0.75)^2 \times (0.25)^2 \\ &= 0.21 \end{aligned}$$

تحليل سجلات النسب Pedigree Analysis

سجل النسب هو مخطط يظهر العلاقة بين أفراد العائلة و أسلوب توارث الصفات بين الأجيال لمجموعة من الأفراد تربطهم صلة القرابة (الشكل 2-16) ، و يستخدم فيه رموز ثابتة متعارف عليها عالميا كما هو موضح في الشكل 2-17 ، إذ يستخدم المربع للإشارة إلى الذكر و الدائرة إلى الأنثى ، بينما يشير الخط الأفقي الذي يربط المربع مع الدائرة إلى التزاوج بين الفردين و الناتج من التزاوج (النسل) يتم الإشارة إليه أسفل التزاوج و يرتبط مع خط التزاوج بخط عمودي ، وفيه يتم وضع الابن الأول إلى اليسار ثم التالي إلى اليمين و هكذا لبقية أفراد العائلة .



الشكل 2-16. سجل النسب لمتابعة توارث صفة معينة بين الأجيال المتعاقبة .



الشكل 2-17 . الرموز الوراثية المستخدمة في سجلات النسب .

تطبيقات الوراثة المنديلية في وراثة الإنسان

بدأت تطبيقات قوانين مندل في وراثة الإنسان بعد إعادة اكتشاف قوانين مندل عام 1900 ، و لكن لعدم إمكانية إجراء التضييبات المسيطر عليها بين الأفراد كان التقدم في هذا المجال بطيئاً ، و جرى الاعتماد على تحليل سجلات النسب للعوائل والذي يكون عادة غير مكتمل ، فضلا عن ذلك فان الإنسان (عكس الحيوانات التجريبية) لا ينتج عدد كبير من النسل مما يجعل من الصعوبة حساب النسب المنديلية ، فضلا عن ذلك فان بعض الصفات لا تعبر عن نفسها إلا بعد وصول الفرد إلى منتصف العمر ، و يوضح الجدول (2-3) عدد من الصفات السائدة و الصفات المتنحية في الإنسان .

الجدول 2-3. بعض الصفات السائدة و الصفات المتنحية الموروثة في الإنسان .

Inherited Conditions in Human Beings

Dominant Traits

الصفات السائدة في الانسان

Achondroplasia (dwarfism)
Brachydactyly (short fingers)
Congenital night blindness
Ehler-Danlos syndrome (a connective tissue disorder)
Huntington's disease (a neurological disorder)
Marfan syndrome (tall, gangly stature)
Neurofibromatosis (tumorlike growths on the body)
Phenylthiocarbamide (PTC) tasting
Widow's peak
Woolly hair

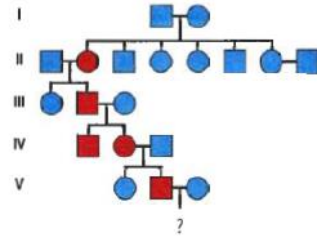
Recessive Traits

الصفات المتنحية في الانسان

Albinism (lack of pigment)
Alkaptonuria (a disorder of amino acid metabolism)
Ataxia telangiectasia (a neurological disorder)
Cystic fibrosis (a respiratory disorder)
Duchenne muscular dystrophy
Galactosemia (a disorder of carbohydrate metabolism)
Glycogen storage disease
Phenylketonuria (a disorder of amino acid metabolism)
Sickle-cell anemia (a hemoglobin disorder)
Tay-Sachs disease (a lipid storage disorder)

المصدر Snustad و Simmons (2000) .

إن التشخيص للحالات الوراثية تكون عادة صعبة و معقدة ، و يقوم خلالها الأطباء الذين لديهم الخبرة والتدريب الوراثي بإجراء التشخيص من خلال فحص المرضى ، إجراء اللقاءات مع أقارب المريض و التدقيق من خلال استخدام الإحصاء الحيوي في حالات الولادة ، الوفاة و التزاوج ، و من خلال البيانات المتراكمة يمكن التعرف على الحالة سريريا و تحديد اسلوب توارثها . على سبيل المثال إذا توفر سجل النسب في الشكل (2-18) عن حالة من التقزم dwarfism النادرة في الإنسان ، فمن ملاحظة سجل النسب نجد إن سلوك الصفة يشير إلى تأثير الصفة بالليل سائد ، و المرأة في الجيل الثاني II قد أحدثت طفرة نادرة و جديدة في العشيرة ، فإذا تقدمت العائلة بطلب استشارة في الجيل الخامس V ما هي الفرصة للرجل القزم أن ينقل الصفة إلى أبنائه ؟ للإجابة على هذه الحالة لابد من معرفة التراكيب الوراثية المتوقعة للأباء لان الحالة يتحكم بها اليل سائد ، فإذا كانت الأم طبيعية (متماثل متنحي) dd و من خلال سجل النسب نجد إن الأب هو خليط التركيب الوراثي Dd ، لذلك تكون احتمالية إنجاب طفل قزم هي 0.50 .



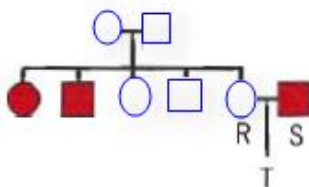
الشكل 2-18 . أسلوب التحليل الوراثي لانتقال صفة التقزم (صفة سائدة) في الإنسان باستخدام سجل النسب .

و كمثال آخر لتحليل انتقال صفة متنحية (الشكل 2-19) ، لناخذ صفة الأبهق (الالبينو) و التي تتصف بان المصاب يعاني من غياب كامل لصبغة الميلانين في الجلد ، العيون و الشعر و يتحكم بالصفة جين جسدي متنحٍ ، فإذا كان الأب S المصاب بالمرض يرغب بالإنجاب من تزاوجه مع R التي لا تظهر المرض و لكنها من عائلة قد ظهر في أفرادها المرض ، ما هو احتمالية أن يظهر المرض في الطفل T ، من ملاحظة سجل النسب نجد أن هناك احتمالية أن يولد الطفل يظهر صفة الأبهق ، و تعتمد هذه الاحتمالية على عاملين : الأول أن الأم R قد تكون بالتركيب الوراثي الخليط و حاملة للمرض ، و العامل الثاني هو احتمالية تمريرها للاليل المسؤول عن الصفة إلى الطفل . أما الأب فهو متماثل متنحٍ و يظهر صفة الأبهق و سوف يمرر الاليل إلى الطفل . لتحديد الاحتمال الأول لابد من تحديد احتمالية التركيب الوراثي للام R ، يتم استبعاد احتمالية تركيبها الوراثي متماثل متنحٍ aa لأنها لا تظهر المرض ، و علينا تحديد احتمالية

التركيبين الوراثيين AA و Aa و لحساب الاحتمالية المرتبطة بكل منهما نلاحظ أن التركيب الوراثي لأبوي R يجب أن يكون خليط Aa لان اثنين من أبنائهم يحملان المرض أي أن الأم جاءت من التزاوج Aa × Aa و بذلك فان احتمالية أن تكون R بالتركيب الوراثي الخليط Aa هو 2 / 3 و احتمالية أن تكون بالتركيب الوراثي AA هو 1 / 3 . و لتحديد احتمالية تمريرها الاليل a إلى الطفل يجب الانتباه أن الاليل a موجود في نصف كميات الأم فقط ، لذلك احتمالية أن يكون الطفل بالتركيب الوراثي aa :

Probability aa = (probability that R is Aa) × (probability that R transmits a)

$$\text{Probability aa} = (2 / 3) \times (1 / 2) = 1 / 3$$



	(A)	(a)
(A)	AA Normal	Aa Normal
(a)	aA Normal	aa Albino

الشكل 2-19 . أسلوب التحليل الوراثي لانتقال صفة الأبهق (صفة متنحية) في الإنسان باستخدام سجل النسب.

وراثة العامل الريسي في الإنسان

اكتشف العامل الريسي من قبل العالم كارل لاندشتاينر Karl Landsteiner عام 1940 نتيجة بحوث أجراها في حقن الأرانب بدم قردة من فصيلة الريس Rhesus Monkeys و الحصول على مضاد مصلي استعمل لتصنيف عينات دم الإنسان ، إذ استخدم المصل في تصنيف سكان نيويورك بالبشرة البيضاء إلى مجموعتين، الأولى موجبة الريس Rh⁺ يعمل المضاد المصلي على تجلط الدم و كانت بنسبة 85 % ، بينما المجموعة الثانية سالبة الريس Rh⁻ في حالة عدم حصول التجلط و كانت بنسبة 15 % . و تنتج أنتيجينات الريس من جين RhD (الاليل D سائد على الاليل d) الذي ينتج الانتجين D و بذلك يكون موجب الريس بالتركيب الوراثي (DD أو Dd) و الفرد سالب الريس بالتركيب الوراثي dd. إن الأجسام المضادة للانتجين لا توجد بصورة طبيعية ، و لكن يمكن تحفيز الأفراد على إنتاج الأجسام المضادة عند

حقنها بالانتجين D ، إن الأفراد سالبة الريس لا يحملون أجساماً مضادة لخلايا من أفراد موجبة الريس و لكنهم قادرين على إنتاج أجسام مضادة في حالتين :

- 1- عند نقل الدم من شخص موجب الريس إلى فرد سالب الريس ، فإن الفرد سالب الريس يعمل على تكوين أجسام مضادة تتفاعل مع خلايا الدم عند القيام بعمليات نقل الدم المستقبلية .
- 2- في حالة الحمل عندما تكون الأم سالبة الريس و الطفل موجب الريس فإن انتجين الطفل D يمكن أن يحفز الأم على تكوين الأجسام المضادة عند اختلاط دم الأم و الطفل عند الولادة وقطع الحبل السري ، وهذه الأجسام المضادة تهاجم كريات الدم الحمراء للجنين في حالات الحمل اللاحقة و تعمل على تكسير الكريات الدموية للجنين وتسبب موته ، لذلك يتوجب معالجة الأم بعد كل عملية ولادة أو إجهاض .

وجد Wiener في عام 1941 أجسام مضادة أخرى و يعمل بشكل مستقل عن العامل الريسي RhD ، و في عام 1943 تم اكتشاف عامل آخر و قد وجد إن التوليفات لهذه المواقع الثلاثة يجري وراثتها سوية ، فقد وجد Fisher في عام 1943 ان الجينات الثلاثة C ، D ، E تمثل مجموعة ارتباطيه ، و قد أشارت الدراسات الجزيئية إن جميع الأفراد موجبة الريس (DD ، Dd) تمتلك كلا من الجينين C و E بينما في الأفراد التي تكون سالبة الريس (dd) يكون احد الجينين مفقودا مما يشير إلى أن احد الجينين يسيطر على فعالية الجين D (Keles و Speed ، 2000) .

بعد عامل الريس مهما من الناحية الصحية إذ يسبب في حالات معينة مشاكل صحية خطيرة ، مثل حالات عدم التطابق في عمليات نقل الدم ، فضلا عن المخاطر التي يتعرض لها الجنين موجب الريس عندما تكون الأم سالبة الريس ، حيث يولد الطفل الأول طبيعيا و نتيجة الولادة و تمزق المشيمة تختلط كمية قليلة من دم الوليد مع دم أمه مما ينتج عن ذلك تكوين أجسام مضادة في دم الأم يمكن لها أن تنتقل عبر المشيمة إلى الجنين في الحمل اللاحق وتسبب تجلط دم الجنين و هذه المخاطر تكون محددة فقط في حالة الجنين موجب الريس و الأم سالبة الريس . و لتجنب حدوث هذه المخاطر للجنين أو الطفل الوليد يجري حقن السيدة الحامل قبل أن يحصل لها التحسس و إنتاج الأجسام المضادة بمستحضر Human anti-D immune globulin عند الأسبوع 28 أو بعد الولادة مباشرة لطفل موجب الريس في خلال 72 ساعة من الولادة، و يقوم هذا المستحضر بتكسير خلايا دم الطفل التي تسربت إلى دم الأم من خلال المشيمة بعد الولادة، بينما لا يفيد المستحضر في الحالات التي يحدث فيها التحسس و إنتاج الأجسام المضادة في دم الأم .

امتدادات الوراثة المندلية Extension Mendelian's Inheritance

الأشكال البديلة للجين

استنتج مندل من خلال تجاربه أن الجينات تتواجد بأشكال بديلة تشغل نفس الموقع الجيني ، و لكل صفة من الصفات السبع التي درسها في نبات البازليا افترض مندل أن هناك اليين في الموقع الجيني الواحد احدهما سائد Dominant allele و الآخر متنح Recessive allele . و تنتج حالة السيادة من تفاعل بين منتجات الاليلين يؤدي إلى التعبير المظهري للاليل السائد بالكامل بينما يمنع الاليل المتنحي من التعبير عن نفسه ، أشارت البحوث الوراثة اللاحقة إلى أن الجينات يمكن أن تتواجد بأكثر من شكلين و تسمى الاليلات المتعددة .

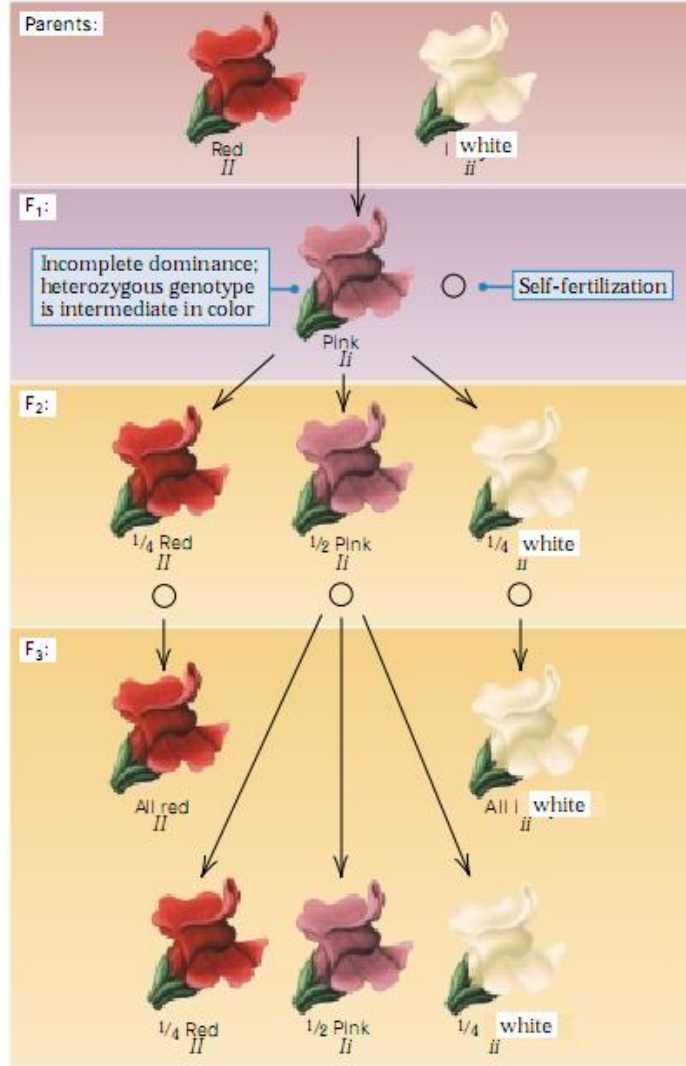
درجات السيادة

توصل مندل من خلال تضريريات الهجين الأحادي إلى مفهوم السيادة الكاملة ، إلا أن الدراسات التي أجريت بعد ذلك توصلت إلى أن التفاعل بين اليلات الموقع الجيني الواحد يتضمن عدد من درجات السيادة هي :

1- السيادة الكاملة Complete dominance و فيها لا يمكن التمييز مظهريا بين التركيب الوراثي المتمائل السائد AA و التركيب الوراثي الخليط Aa، أي أن الاليل السائد يطغى على الاليل المتنحي و يمنعه من التعبير عن نفسه ويكون الشكل المظهري هو من فعل الجين السائد فقط .

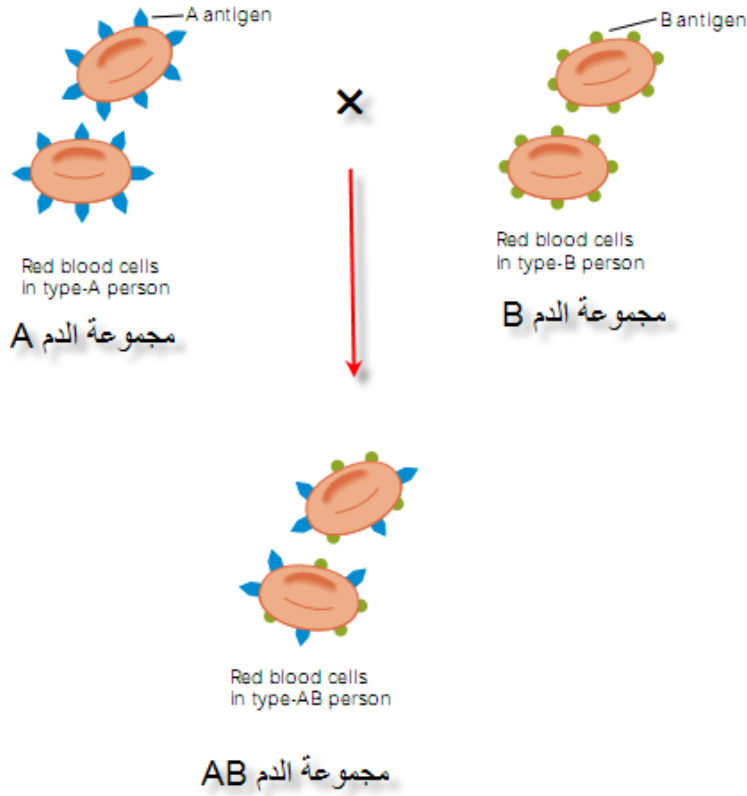
2- السيادة غير الكاملة Incomplete dominance ، تظهر السيادة غير الكاملة عندما يكون للتركيب الوراثي الخليط AA⁻ شكل مظهري يمكن تمييزه عن التراكيب الوراثة المتمائلة (AA و A⁻A⁻) ، و بذلك ينتج عن تضرير الهجين الأحادي ثلاثة طرز مظهرية و بنسبة 1 : 2 : 1 للتراكيب المتمائل السائد : التركيب الخليط : التركيب الوراثي المتمائل المتنحي على التوالي . و التفسير لظهور السيادة غير الكاملة يمكن وصفه من خلال الجرعة الجينية من منتج الجين ، فالتركيب الوراثي المتمائل السائد سيادة غير كاملة AA ينتج عنها 2X أي ضعف منتج الجين الذي ينتج للتركيب الوراثي الخليط AA⁻ الذي يكون X أما التركيب الوراثي المتمائل المتنحي فيغيب عنه منتج الجين ، مما ينتج عن ذلك اختلاف في الشكل المظهري للتراكيب الوراثة الثلاثة ، و هي حالة توضح فعل الجين التجميعي أو التراكمي Additive gene effect (الشكل 2-20).

ولتوضيح الفرق بين السيادة الكاملة و السيادة غير الكاملة من خلال المنظور الوظيفي للجين ، نجد في حالة السيادة الكاملة إن كمية قليلة من منتج الجين (إنزيم مثلا) يكفي لإظهار الصفة بالكامل لذلك لا تؤثر الجرعة الجينية المختلفة من المنتج على الشكل المظهري الناتج عن AA و Aa لان الجرعة الواحدة تكفي لإظهار الصفة كاملة . أما في حالة السيادة غير الكاملة فإن الشكل المظهري يعتمد على كمية منتج الجين و تؤثر فيه الجرعة الجينية مثالها لون ثمرة الباذنجان التي تكون باللون الأسود للتركيب الوراثي CC بينما يكون اللون البنفسجي للثمرة للتركيب الوراثي CC⁻ و تكون باللون الأبيض للتركيب الوراثة CC⁻ .



الشكل 20-2 . الشكل المظهري الناتج عن تأثير السيادة غير الكاملة في نبات .snapdragon

3- السيادة التعادلية (المواكبة) Codominance في هذه الحالة يعبر كل اليل عن نفسه بشكل مستقل و بمعزل عن تأثير الاليل الآخر و يظهر منتج الجينين معا في حالة التركيب الوراثي الخليط ، و في هذه الحالة لا تستخدم الرموز المستخدمة في السيادة الكاملة (في حالة السيادة الكاملة يستخدم الحرف الكبير A للإشارة للاليل السائد و الحرف الصغير لنفس الحرف a للإشارة للاليل المتنحي) و يستخدم في حالة السيادة التعادلية حرف كبير في أعلاه حروف مختلفة للاليلات مثالها مجاميع الدم في الإنسان حيث السيادة التعادلية بين صنف الدم A تركيبه الوراثي $I^A I^A$ و صنف الدم B تركيبه الوراثي $I^B I^B$ و بالتالي فان التركيب الوراثي الخليط هو AB تركيبه الوراثي $I^A I^B$. (الشكل 21-2) .



الشكل 2-21 . السيادة المتعادلية (المواكبة) بين اليلات مجموعة الدم A و مجموعة الدم B في الإنسان .





4- فوق السيادة over dominance
تفاعل بين الاليلات يظهر في الأفراد خليطة التركيب الوراثي التي تكون متفوقة في الأداء على التراكيب الوراثية المتماثلة أو ظهور صفة في الخليط تفنقر إليها التراكيب الوراثية المتماثلة ، من الأمثلة لهذه الحالة إنتاج بروتينات الالهبتوكلوبين haptoglobins في الإنسان حيث ينتج عن التركيب الوراثي HH البروتين haptoglobin1 والتركيب الوراثي hh ينتج عنه البروتين haptoglobin2 بينما وجد إن التركيب الوراثي Hh ينتج عنه البروتينات haptoglobin1 ، haptoglobin2 و haptoglobin3 والبروتين الأخير لا ينتج في حالة وجود أي من الاليلين بصورة منفردة .

الاليلات المتعددة Multiple Alleles

في الكائنات الحية ثنائية المجموعة الكروموسومية تنتظم الكروموسومات بأزواج كروموسومية متناظرة Homologous chromosome و بالتالي فان الفرد يمتلك اليلين فقط يشغل الموقع الجيني ، اكتشفت الدراسات التي أجريت بعد تجارب مندل أن بعض الجينات تمتلك ثلاثة اليلات أو أكثر في العشيرة إلا أن الفرد يحمل زوجاً من الاليلات فقط من اشكال الاليلات في العشيرة و

وتسمى بالآليلات المتعددة . من الأمثلة التقليدية للآليلات المتعددة هي وراثه لون الفراء في الأرانب ، إذ يسيطر على الصفة جين يرمز له C و يظهر في أربعة اليلات يرمز لها بإضافة حرف صغير في أعلى الحرف C و هي :

- 1- اللون الاجوتي Agouti و هو اللون البري الرمادي الغامق و يتحكم باللون الجين C^+ .
 - 2- اللون شنشيليا Chinchilla يتحكم باللون الجين C^{ch} يكون اللون فضياً فاتحاً ويفقد البريق الأصفر الموجود في اللون البري .
 - 3- اللون هيمالايا Himalayan يتحكم باللون الجين C^h والتركيب الوراثي $C^h C^h$ يظهر الفراء باللون الأبيض في كامل الجسم بينما يكون اللون اسود في المناطق البعيدة .
 - 4- الالبينو Albino ويتحكم بهذا اللون الجين c و يظهر التركيب الوراثي cc اللون الأبيض للفراء في كامل الجسم نتيجة انعدام تكوين الصبغة .
- و تكون سلسلة السيادة بين الآليلات هي $C^+ > C^{ch} > C^h > c$ ، و يوضح الشكل (22-2) التراكيب الوراثية و الشكل المظهري للون الفراء في الأرانب .

	Genotype	Phenotype
 Albino البينو	cc	White hairs over the entire body
 Himalayan هيمالايا	$C^h C^h$	Black hairs on the extremities; white hairs everywhere else
 Chinchilla شنشيليا	$C^{ch} C^{ch}$	White hair with black tips on the body
 Wild-type (الطراز البري)	$C^+ C^+$	Colored hairs over the entire body

الشكل 22-2 . الشكل المظهري و التراكيب الوراثية للون الفراء في الأرانب .

وراثه مجاميع الدم في الإنسان

هي مثال آخر للصفات التي يتحكم بها الآليلات المتعددة و تصنف مجاميع الدم في الإنسان إلى A ، B ، AB ، O حسب الانتجين الموجود على سطح الكريات الدموية ، الجين المسؤول عن إنتاج الانتجين A و B يرمز له I و لهذا الجين ثلاثة اليلات هي I^A ، I^B و I^O ، ويطلق على

هذا الجين المتعدد الاليلات مصطلح اليل متعدد الأشكال Polymorphic أيضا . و فيها ينتج الاليل I^A الانتجين A ، و الاليل I^B ينتج الانتجين B بينما الاليل I^O لا ينتج أي نوع من الانتجينات . و سلسلة السيادة بين الاليلات المسؤلة عن الصفة هي :

$$I^A = I^B > I^O$$

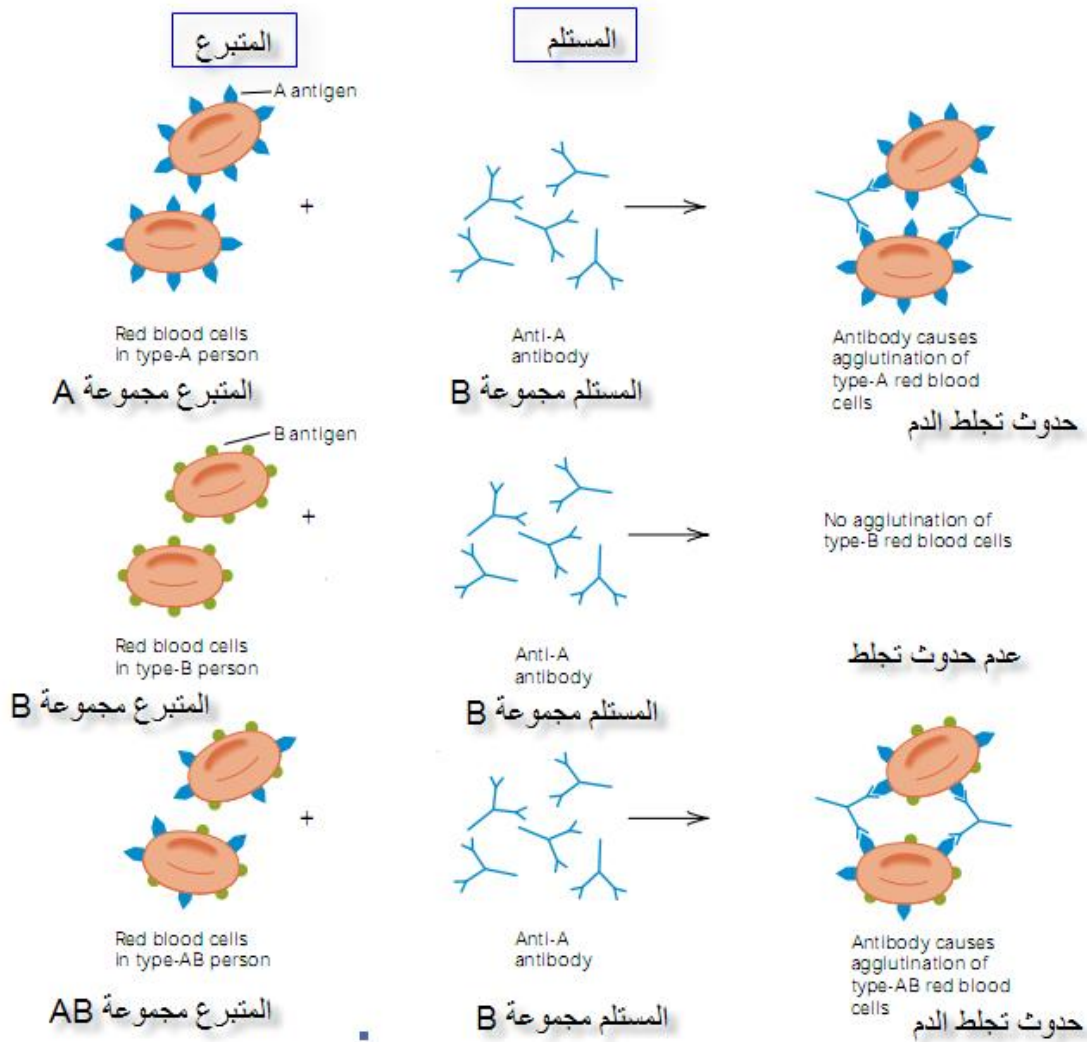
أي أن هناك سيادة تعادلية بين الاليلين I^A و I^B و كلا الاليلين سائدان على الاليل I^O . و يظهر الشكل (2-23) التراكيب الوراثية لمجاميع الدم و التضريبات المختلفة بينها .

التركيب الوراثي	مجموعة الدم
$I^A I^A$ or $I^A I^O$	A
$I^B I^B$ or $I^B I^O$	B
$I^A I^B$	AB
$I^O I^O$	O

التضريبات	النسل	مجموعة الدم
$I^A I^A \times I^A I^A$	$I^A I^A$	A
$I^A I^A \times I^O I^O$	$I^A I^O$	A
$I^B I^B \times I^B I^B$	$I^B I^B$	B
$I^B I^B \times I^O I^O$	$I^B I^O$	B
$I^A I^A \times I^B I^B$	$I^A I^B$	AB
$I^O I^O \times I^O I^O$	$I^O I^O$	O

الشكل 2-23 . التراكيب الوراثية لمجاميع الدم في الإنسان و التضريبات الممكنة بينها .

و تكون مجاميع الدم ذات أهمية كبيرة على الصحة البشرية عند عمليات نقل الدم ، حيث يوجد الانتجين على سطح الخلية الدموية الحمراء، بينما توجد الأجسام المضادة في بلازما الدم فالفرد الذي يحمل مجموعة الدم A يمتلك الأجسام المضادة لمجموعة الدم B و الفرد الذي يحمل مجموعة الدم B يمتلك الأجسام المضادة لمجموعة الدم A و لذلك تستلم هذه المجاميع الدم من نفس مجموعتها فقط ، و الفرد ذو مجموعة الدم AB لا يمتلك الأجسام المضادة لمجموعتي A و B و بذلك يستطيع استلام الدم من كافة مجاميع الدم ، أما مجموعة الدم O فيكون سطح خلية الدم خاليا من الانتجينات و بذلك يمكنه التبرع إلى كافة مجاميع الدم الأخرى (الشكل 2-24).



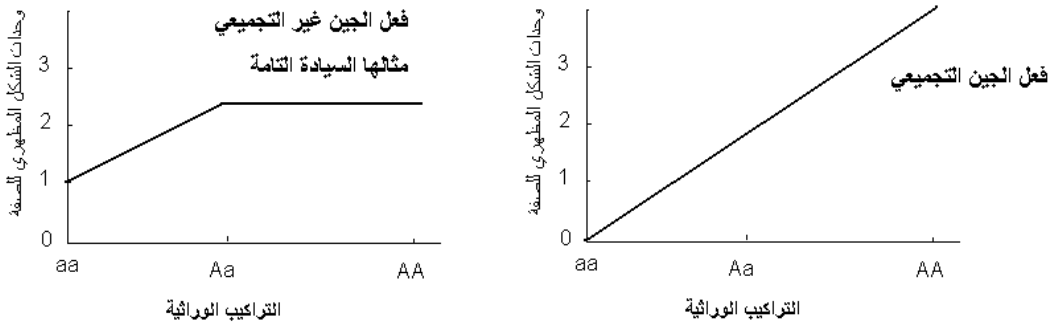
الشكل 2-24 . التوافق بين مجاميع الدم بين المتبرع و المستلم و تأثيره على تجلط الدم في الإنسان.

فعل الجين Gene Action

تتحكم الجينات بالوظائف الحيوية للخلية و الفرد و يكون مظهر الصفات هو انعكاس لعمل الجينات في التركيب الوراثي ، و بما أن الفرد يحمل في تركيبه الوراثي عدداً كبيراً من الجينات و أن عدد من الصفات تشترك فيها عدد من الجينات لذلك لابد من وجود علاقة بين الجينات و اسلوب ينظم عمل الجينات مع بعضها البعض بشكل يضمن الأداء الطبيعي للأجهزة الحيوية في مراحل الحياة المختلفة و كذلك آلية التكاثر . تشير الدراسات الوراثية إلى أن هناك تصنيفين لفعل الجينات الأول هو فعل الجين التجميعي Additive gene action و الثاني فعل الجين غير التجميعي Nonadditive gene action .

فعل الجين التجميعي

يقصد بفعل الجين التجميعي إن الشكل المظهري Phenotype لأحد الجينات يضاف إلى التأثير المظهري لآليله أو للجينات الأخرى في التركيب الوراثي genotype التي تكون مؤثرة في التعبير عن الصفة (التركيب الوراثي يعني محتوى الفرد من الجينات التي يستلمها عند الإخصاب) . في هذا النوع من الوراثة لا يوجد تمييز حاد بين التراكيب الوراثية ولكن هناك تدرجات بين الحالتين المتطرفتين ، ولتوضيح فعل الجين التجميعي نلاحظ الشكل (2-25) الذي يوضح بياناً كيفية إضافة التأثير المظهري لأحد الجينات إلى التأثير المظهري للجين الآخر ، و قد ذكر Snustad و Simmons (2012) مثلاً عن وراثة لون الأزهار في نبات Snapdragon فالأزهار في هذا النبات تكون بألوان حمراء ، بيضاء أو الأرجوانية حسب التركيب الوراثي للنبات ، و لا تؤثر البيئة في لون الأزهار و جميع التباين المشاهد يكون ناتجاً عن الاختلافات الوراثية و لا تشترك التأثيرات السائدة في تحديد الشكل المظهري ، إذ إن لون الأزهار يخضع للأثر التجميعي للآليل R فالنباتات بالتركيب الوراثي RR تحمل الأزهار الحمراء و النباتات بالتركيب الوراثي R^-R^- تحمل الأزهار البيضاء، بينما يحمل النبات بالتركيب الوراثي الخليط RR^- الأزهار الأرجوانية ، و يعتمد الشكل المظهري للون الأزهار على عدد الأليلات R التي يمتلكها النبات حيث يساهم كل اليل R بمقدار ثابت من اللون و بذلك تساهم الأليلات مع بعضها بأسلوب تجميعي .



الشكل 2-25 . مخطط يوضح الفرق بين فعل الجين التجميعي وفعل الجين غير التجميعي ، وفيه يظهر الفرد بالتركيب الوراثي Aa حالة وسطية بين التركيبين الوراثيين aa و AA في حالة فعل الجين التجميعي ، أما في حالة الفعل غير التجميعي فيكون الشكل المظهري للتركيب الوراثي Aa متساوي مع الفرد AA في حالة السيادة التامة ، ويلاحظ عدم وجود علاقة الخطية في التعبير المظهري في التراكيب الوراثية الثلاثة .

وتؤثر الجينات التجميعة على العديد من الصفات الاقتصادية المهمة مثل معدل النمو ، إنتاج البيض ، نوعية الذبيحة وغيرها من الصفات التي تتأثر بالعديد من الجينات ، ولا يمنع ذلك من أن هذه الصفات تتأثر أيضا بالجينات غير التجميعة وتكون محصلة التأثيرات الشكل المظهري للصفة .

فعل الجين غير التجميعي

في هذه الحالة لا يكون بالضرورة إضافة التعبير المظهري لأحد الجينات إلى الجينات الأخرى ولكن قد ينتج عن تفاعل اليلات نفس الموقع الجيني تأثيراً مظهرياً معيناً وحسب درجات السيادة والتنحي بين الاليلات و التي تم وصفها سابقا ، أو نتيجة حدوث تفاعل بين أزواج الجينات في المواقع الجينية المختلفة (على نفس الكروموسوم أو في الكروموسومات المختلفة) نحصل على شكل مظهري معين .

تفاعل الجينات Gene interaction

هناك العديد من الصفات تظهر نتيجة اشتراك مجموعة من الجينات في إظهار الصفة ، فان آلاف التفاعلات الحيوية تحدث ضمن خلايا الجسم في درجة الحرارة الطبيعية ، كل تفاعل يكون موجها بواسطة نشاط جين معين من خلال إنتاج إنزيم محدد ، والعديد من التفاعلات الحيوية في الجسم تكون تفاعلات متسلسلة أي إن التفاعل يكتمل من خلال سلسلة من الخطوات لإنتاج مركب معين مسؤول عن صفة مظهرية معينة .

ومن التجارب الوراثية المبكرة التي أشارت إلى أن مظهر الصفة يمكن أن يتأثر بأكثر من جين واحد هي تجارب Bateson و Punnett في دراستهم على شكل العرف في الدجاج ، فالدجاج يمتلك أشكالا مختلفة من العرف منها سلالة الوايندوت تمتلك العرف الوردى Rose comb و سلالة البراهما تمتلك العرف البازلاني وسلالة الليكهورن تمتلك العرف المفرد Single comb و أن التضريب بين العرف الوردى و البازلاني نتج عنه شكل جديد من العرف يسمى العرف الجوزي Walnut comb في الجيل الأول وان تضريب أفراد الجيل الأول نتج عنه أربعة طرز مظهرية وبنسبة 9/16 عرف جوزي : 3/16 عرف وردي : 3/16 عرف بازلاني : 1/16 عرف مفرد مما يدل على أن الجينات المؤثرة على الصفة تنعزل بصورة مستقلة و أن مظهر الصفة ناتج عن تفاعل منتجات الجينين ، واستنتجا أن شكل العرف يتحدد بزوجين من الجينات تنعزل وتتوزع بشكل مستقل عن بعضها الآخر وهي RR و PP وان التفاعل بين الاليلين السائدين R و P يؤدي إلى ظهور شكل مظهري جديد غير موجود لدى الأبوين وهو العرف الجوزي (Snustad و Simmons ، 2000) . كما في المخطط الآتي :

عرف وردي		عرف بازلائي		(P)	الآباء Parents
RR pp	x	rr PP			
	↓				
Rr Pp	x	Rr Pp		(F1)	الجيل الأول First Filial
عرف جوزي					
	↓				
R - P -	R - pp	rr P -	rr PP	(F2)	الجيل الثاني Second Filial
عرف جوزي	عرف وردي	عرف بازلائي	عرف مفرد	Phenotypic Ratio	النسبة المظهرية
9	3	3	1		

- إن تفاعل الجينات في المواقع الجينية المختلفة يمكن أن ينتج عنه الحالات الآتية :
- 1- ظهور صفة جديدة لم تكن موجودة في جيل الآباء و مثالها شكل العرف الجوزي في الدجاج والذي تم وصفه سابقا .
 - 2- ظهور التفوق Epistasis بين الجينات في المواقع الجينية المختلفة .

التفوق Epistasis

هو تفاعل بين جينات تشغل مواقع جينية مختلفة ، عندما يتأثر مظهر صفة معينة بجينين أو أكثر و يطغى أحد الجينات على جين آخر في المواقع الجينية الأخرى في تأثيره على الشكل المظهري للصفة و يسمى الجين المتفوق Epistatic gene بينما يسمى الجين الذي يمنع من التعبير عن نفسه الجين المتفوق عليه Hypostatic gene ، و يجب الملاحظة أن التفوق هو تفاعل بين جينات غير اليلية أما السيادة و التنحي فهي تفاعل بين جينات اليلية تشغل نفس الموقع الجيني . و المثال لحالة التفوق ، في الدجاج صفة اللون الأبيض السائد Dominant White حيث تكون خطوط الذكور لأباء فروج اللحم بلون الريش الأبيض السائد بالتركيب الوراثي II CC حيث يمتلك جين جسمي يقوم بتنشيط إنتاج اللون في الريش و يسمى الجين المثبط Inhibitor gene (I) و يكون هذا الاليل سائد على أليله المتنحي (i) الذي يسمح لجينات إنتاج اللون (C) بالتعبير عن نفسها وإنتاج الريش الملون . فعند تزاوج ديكة باللون الأبيض السائد II CC مع إناث ملونة ii CC فإن جميع النسل في الجيل الأول يكون ابيض اللون ، و يمكن توضيحها بالمخطط الآتي (حسن ، 2011) .

ديكة ليكهورن بيضاء		إناث ملونة	
II CC	x	ii CC	الآباء
	↓		
II CC			الجيل الأول
بيضاء اللون			

يؤدي التفوق إلى انحراف عن النسبة المندلية في الجيل الثاني من تضريب الهجين الثنائي (9 : 3 : 3 : 1) ويكون عدد الطرز المظهرية في النسل الناتج أقل من أربعة طرز مظهرية ، و تشير المصادر الوراثية إلى وجود ستة انحرافات شائعة ثلاث منها تظهر ثلاثة طرز مظهرية في الجيل الثاني و الثلاثة الأخرى تظهر طرازين مظهريين ، وهذه الانحرافات هي :

1- التفوق السائد

ينتج عن التفوق السائد انحراف النسبة المندلية لتكون 12 : 3 : 1 و تظهر عندما يطغى الأليل السائد في موقع جيني مثلاً A و يعبر عن نفسه مظهرياً بغض النظر عن وجود الأليلات الأخرى في موقع آخر مثل B (سواء كان الأليل B أو b) و في هذه الحالة فإن الموقع B لا يعبر عن نفسه إلا في حالة أن يكون الموقع الأول متماثلاً منتحياً .

2- التفوق المتنحي

في هذه الحالة يعمل التركيب الوراثي المتماثل المتنحي في الموقع الأول aa على منع الأليلات الموقع الثاني B من التعبير عن نفسها ، و تستطيع الأليلات الموقع الثاني أن تعبر عن نفسها فقط في حالة وجود أليل سائد A في الموقع الأول ، و يعمل هذا التفوق على تحويل النسبة المندلية إلى 9 : 3 : 4 .

3- التفوق لجينات الأثر التجميعي

عند وجود أليل سائد في أحد الموقعين الجينيين ينتج نفس الشكل المظهري نتيجة للتعبير عن جرعة جينية واحدة مثل bb A- أو B- aa ، بينما التركيب الوراثي aa bb لا ينتج عنه الصفة للمنتج الجيني . أما التركيب الوراثي B- A- فتنتج الصفة أكثر وضوحاً لأنها ناتجة عن جرعة جينية مضاعفة ، ويتسبب هذا السلوك إلى انحراف عن النسبة المندلية إلى النسبة 9 : 6 : 1 .

4-التفوق السائد المكرر

تظهر الصفة التي تتأثر بموقعين جينيين بكامل تعبيرها إذا وجد أليل سائد في أحد الموقعين أو كلاهما و لا تظهر الصفة فقط في حالة أن يكون التركيب الوراثي متماثلاً منتحياً في الموقعين و تحور النسبة المندلية إلى نسبة 15 : 1 .

5- التفوق المتنحي المكرر

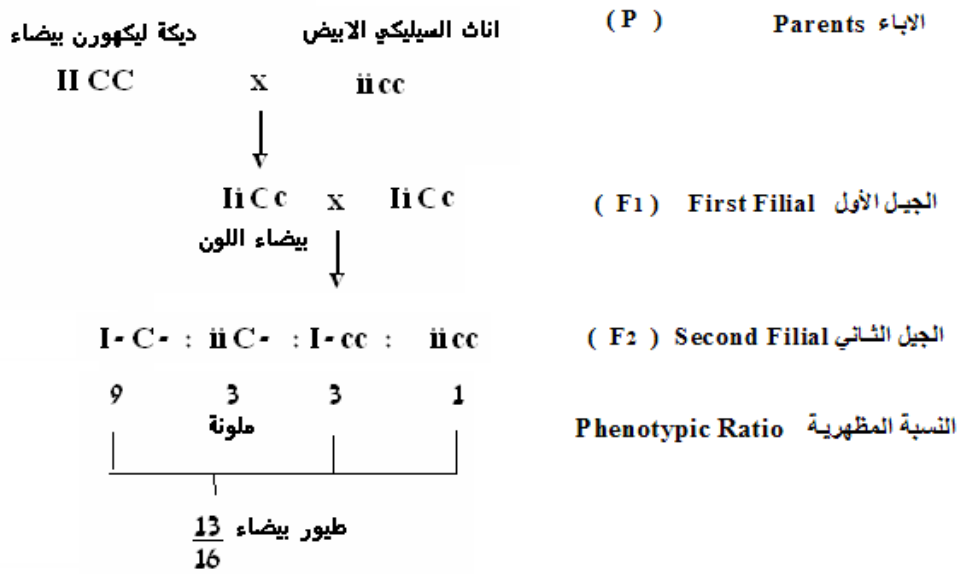
تمثل هذه الحالة الوراثة التكميلية Complementary inheritance ، إذ يعمل كل موقع جيني خطوة واحدة في إظهار الصفة عندما يكون بالحالة السائدة و بالتالي لا تظهر الصفة عندما يكون أحد الموقعين متماثلاً متنحياً B- aa أو bb A- و تنتج طرازاً مظهرياً واحداً ، أما وجود الأليل سائد في الموقعين يؤدي إلى ظهور الصفة لأنهما يكمل بعضهما الآخر و ينتج طرازاً مظهرياً مختلفاً و تحور النسبة المندلية إلى نسبة 9 : 7 .

6- التفوق السائد و المتنحي

ينتج هذا التفوق طرازين مظهريين في الجيل الثاني ، و فيه ينتج كل من التركيب الوراثي السائد لأحد الموقعين و التركيب الوراثي المتماثل المتنحي للموقع الآخر A- bb نفس الشكل المظهري للتركيبين B- A- و aa bb ، بينما ينتج التركيب الوراثي B- aa طرازاً مظهرياً آخر و تحور النسبة المندلية إلى النسبة 13 : 3 .

مثال هذه الحالة تظهر بتأثير الجين المثبط (I) والذي يمنع جين اللون (C) من إنتاج اللون في ريش الدجاج حيث لوحظ إن تزاوج ديكة الليكهورن الأبيض مع إناث السيليكبي الأبيض ينتج عنه

دجاج ابيض في الجيل الأول وينتج عن تزاوج طرازين مظهريين هما $\frac{13}{16}$ ابيض و $\frac{3}{16}$ طيور ملونة وهي تمثل انحراف عن النسبة المنديلية المظهرية لزوجين من الجينات والتفسير الوراثي لهذه الحالة :



التأثير المتعدد للجين Pleiotropic effect

يمكن للجين الواحد أن يؤثر على عدد من الأشكال المظهرية لصفات مختلفة و قد يكون التفسير لهذه الظاهرة إن إنتاج هذا الجين يدخل في الممرات الايضية لعدد من الصفات و بالتالي يظهر تأثيره على أكثر من صفة واحدة ، و من الأمثلة التي توضح الحالة هي الطفرة التي تؤثر على شكل الشعيرات في حشرة الدروسوفيليا ، إذ تمتلك الحشرة البرية شعيرات طويلة ملساء مقوسة في مناطق الرأس و الصدر و قد لوحظ أن الحشرات التي تكون متماثلة التركيب الوراثي للطفرة في الموقع الجيني المؤثر على الصفة كانت تمتلك شعيرات قصيرة وسميكة في الأجزاء المذكورة من الجسم ، و هذا الجين يؤثر أيضا على إنتاج البيوض الطبيعية المخصبة و قد تم التعرف على هذا التأثير لان الإناث التي حدثت فيها الطفرة كانت عقيمة تضع بيوضاً غير مكتملة التكوين لا يمكن لها الفقس و لم يلاحظ وجود تأثير لهذه الطفرة على خصوبة الذكور . لذلك نقول أن لهذا الجين تأثيراً متعدداً يسيطر فيه على تكوين كل من الشعيرات و البيوض في إناث الدروسوفيليا .

تأثير البيئة في التعبير الجيني

تؤثر البيئة بدرجات متفاوتة في التعبير الجيني فهي لا تؤثر في مظهر الصفات النوعية Qualitative traits (وهي الصفات التي يمكن أن يصنف الأفراد على أساسها إلى مجاميع منفصلة دون الحاجة إلى أدوات للقياس ، وتؤثر في الصفة النوعية زوج أو زوجان من الجينات) مثل مجاميع الدم ABO في الإنسان وشكل العرف في الدجاج ، إذ إن صنف الدم يتحدد وراثياً و

لا يتغير إلى صنف آخر بتغير الظروف البيئية من تغذية أو درجة حرارة و غيرها . أما الصفات الكمية Quantitative traits (وهي الصفات التي تحتاج إلى أدوات قياس لتحديد قيمتها مثل الوزن ، الطول ، الصفات التشريحية والإنتاجية ، وتقع معظم الصفات الاقتصادية المهمة ضمن الصفات الكمية) فهي تظهر تباينا مستمرا بين أفراد المجموعة بسبب تأثيرها بعدد كبير من الجينات التي يجري انعزالها في نفس الوقت فضلا عن تأثيرها بالعوامل البيئية بدرجات متفاوتة ، وبذلك فإن الصفات الكمية لا يمكن تقسيمها إلى مجموعات منفصلة لكونها تقيس متغيرات مستمرة . على سبيل المثال صفة وزن الجسم ، بالرغم من امتلاك الفرد الجينات المسؤولة عن الوزن العالي إلا أن تعبيرها يتوقف على توفير مستوى جيد من التغذية و في حالة عدم توفر التغذية الجيدة لا تظهر الصفة بالمستوى المثالي لتعبير الجينات المسؤولة عن الصفة . وتتأثر الصفات الكمية بالعوامل البيئية (تتضمن جميع العوامل غير الوراثة) بدرجات مختلفة لذلك يكون التباين المظهري V_p هو حاصل جمع التباين الوراثي V_G والتباين البيئي V_E والتداخل بين البيئة والوراثة V_{EG} .

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

يؤدي الجين وظيفته بفعالية في بيئة محددة تمثل كل من البيئة البيولوجية و البيئة الخارجية ، و يقصد بالبيئة الخارجية جميع العوامل المؤثرة على الفرد من درجة الحرارة ، الإضاءة ، التغذية و غيرها و كمثال على تأثير البيئة الخارجية على التعبير الجيني ، يوجد في حشرة الدروسوفيلا طفرة تسمى *shibire* وفيها تكون الحشرة الطافرة حيوية وتنتج بيوض خصبة في درجة الحرارة الطبيعية 25 م° ولكنها تكون حساسة جدا للرج المفاجئ و في حالة تعرضها للرج تسقط أسفل بيئة التربية ، و في حالة تعرض الحشرات الطافرة إلى درجة حرارة 29 م° فإن جميع الحشرات تموت و بدون رج مفاجئ لوسط التربية ، من ذلك نستنتج أن الحشرات الطافرة تكون قادرة على الحياة في درجة حرارة 25 م° بينما تكون درجة الحرارة 29 م° مميتة لها . والتفسير الممكن لهذه الحالة أن البروتين الناتج عن الجين الطافر بدرجة حرارة 25 م° يكون فعال جزئيا بينما يكون البروتين الناتج في درجة حرارة 29 م° يكون غير فعال وظيفيا و يكون ذو تأثير مميت . و قد ذكر Freeman (2002) إن الشكل المظهري لمعظم الجينات يتأثر بالعوامل البيئية و ناقش مثال احد العيوب الوراثية في الإنسان وهو فينيل كيتون يوريا *phenylketonuria* (PKU) و الأشخاص المصابين بهذا المرض يعانون من نقص في الإنزيم الذي يعمل على تكسير الحمض الاميني فنيل الانين *phenylalanine* و نتيجة لهذا النقص تتراكم في جسم المريض الحمض الاميني و الجزيئات المرتبطة معه و هي *phenylpyruvic acid* و تتداخل هذه الجزيئات مع تطور و نمو الجهاز العصبي و ينتج عنها التخلف العقلي ، و لكن وجد أن الكشف المبكر عن المرض في الولادات الحديثة و تغذية المولود على غذاء منخفض بالحمض الاميني فنيل الانين يؤدي إلى أن يتطور المريض و ينمو بشكل طبيعي و بذلك نلاحظ أن التغيير البسيط في البيئة قد أدى إلى أن الأفراد الحاملين لمرض PKU أن يظهروا بالمظهر الطبيعي .

يقصد بالبيئة البيولوجية الظروف في داخل الفرد من الإنزيمات و الهرمونات و درجة الحرارة المثالية للجسم و غيرها ، مثال لتأثير البيئة البيولوجية على التعبير الجيني هو طراز الصلع في الإنسان *Pattern of baldness* و فيه يتأثر تعبير الجين بجنس الفرد فالتركيب الوراثي BB و Bb يعبر عن الصلع في الذكور بينما لا يعبر التركيب الوراثي الخليط Bb عن وجود الصلع في الإناث ، و التفسير لهذه الحالة هو تحفيز هورمون التستستيرون (هورمون

ذكري) لتعبير الجين بظهور الصلع و يكون مستوى الهرمون منخفضا في الإناث بدرجة لا تحفز الجين على التعبير عن نفسه (Snustad و Simmons ، 2000) .

التأثيرات البيئية على التعبير الجيني الموروثة

يشير المصطلح Epigenetics إلى تغير في وظيفة الجين بدون حدوث تغير في تسلسل الدنا ، بمعنى آخر تغيير في آليات التعبير الجيني و ليس في تتابع الحمض النووي DNA . وتشير الدراسات الوراثية إلى أن الصفات التي تتأثر بهذا الأسلوب تكون ناتجة عن تغيرات في الكروموسوم بدون حدوث تغير في تتابع الدنا ، و تقترض حصول تغيرات في الكروماتين Chromatin استجابة لمؤثرات بيئية .

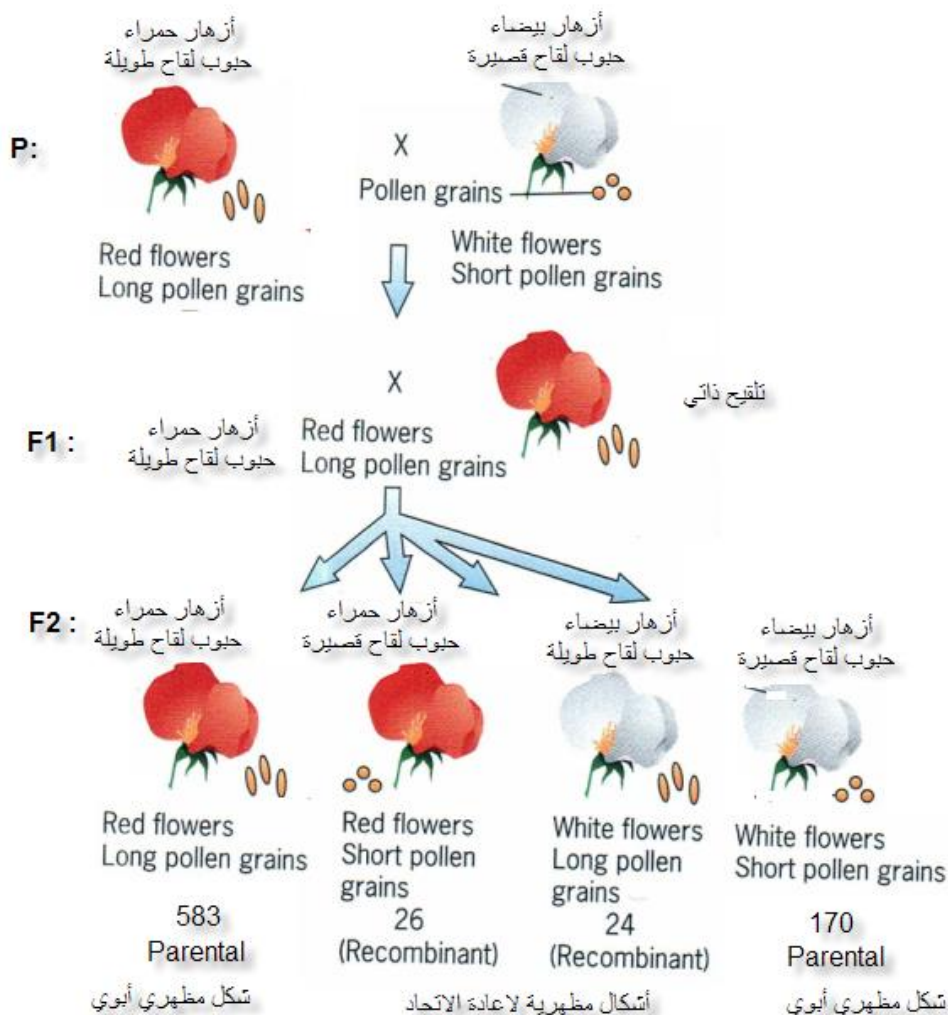
تؤثر العوامل البيئية على بعض الصفات في الكائنات الحية ، ويمكن لبعض هذه التغيرات أن تنتقل أحيانا إلى النسل الناتج ، ففي تجربة أشار إليها Renato Paro (2009) لاحظ فيها أن حضانة بيوض حشرة الدروسوفيل الطافرة بالعيون البيضاء (و هي صفة متنحية أمام الطراز البري السائد العيون الحمراء) بدرجة حرارة 37 م° (يجري اعتياديا حضانة بيوض الدروسوفيل بدرجة حرارة 25 م°) فان البيوض تنفس عن حشرات بعيون حمراء ، على العكس مما كان متوقعا و هو الحصول على العيون البيضاء لجميع الحشرات و هو الناتج عن تضريب المتماثل المتنحي (aa = aa × aa) . و عندما تركت الحشرات في الجيل الأول للتزاوج كانت الحشرات في الجيل الثاني بعيون حمراء بدون إجراء التغيير في درجة حرارة الحضانة أي تم حضانتها بدرجة حرارة 25 م° ، بالرغم من أننا نعلم وفق قواعد الوراثة أن الصفة المتنحية و هي العيون البيضاء نتوقع أن نحصل منها على العيون البيضاء فقط ، قد أثبتت هذه التجربة أن المعاملة البيئية و هي درجة الحرارة غيرت لون العيون في الجيل الأول و أن أفراد الجيل الأول التي حصل فيها التغيير استطاعت أن تمرر هذا التغيير إلى أبنائها في الجيل اللاحق ، ومع ذلك فان تتابع الدنا للجين المسؤول عن لون العيون بقي على حاله في الآباء بالعيون البيضاء و الأبناء بالعيون الحمراء ، ما هو التفسير ؟ يمكن توضيح الحالة على المستوى الجزيئي ، إذ تمثل الهستونات Histon (البروتينات القاعدية) عوامل مهمة في تعبئة الدنا و خزنه في طريقة و فضاءات معينة ، و حديثا أصبح واضحا أن هذه البروتينات الهستونية لها دور آخر بالاعتماد على الية الاستئلة acetylation او الية المثيلة methylation ، فإنها أما أن تنشط أو تعطل عمل الجينات (وجود المثيل يعطل الجين بينما وجود الاستئلة في البروتينات الهستونية ينشط الجين) .

الارتباط و العبور Linkage and Crossing over

اعتقد مورغان Morgan أن الجينات تنتظم على الكروموسوم مثل الخرز في المسبحة ، و ذلك يجعل من الجينات الواقعة على نفس الكروموسوم مرتبطة فيزيائيا و تنتقل كوحدة واحدة خلال الانقسام الميوزي و تكوين الكميئات ، و توصف بأنها جينات مرتبطة linked genes و تسمى هذه الظاهرة الارتباط Linkage و من الممكن أن يحدث الارتباط في الكروموسومات الجسمية و الجنسية .

إن فكرة الارتباط و إعادة الاتحاد Recombination تم وصفها لأول مرة من قبل باتسون و بونيت بعد فترة قصيرة من إعادة اكتشاف قوانين مندل بداية القرن العشرين من خلال تجاربهم على نبات البزاليا الحلوة Sweet Pea ، من خلال تضريب سلالتين تختلفان في لون الأزهار (احمر R سائد على ابيض r) و طول حبوب اللقاح (طويلة L سائدة على قصيرة l) ، فعند

تضريب نباتات ذات أزهار حمراء و حبوب لقاح طويلة مع نباتات ذات أزهار بيضاء و حبوب لقاح قصيرة حصل في الجيل الأول على نباتات ذات أزهار حمراء و حبوب لقاح طويلة (هجين ثنائي $Rr Ll$) لكونهما صفتين سائدتين ، و عندما ترك نباتات الجيل الأول للتلقيح الذاتي حصل على الجيل الثاني بأربعة طرز مظهرية و لكن بنسب تختلف عن النسب المندلية لتضريب الهجين الثنائي ($1 : 3 : 3 : 9$) فقد حصل على النسبة $23.2 : 1 : 1 : 6.8$ و نلاحظ بوضوح أن الطرز المظهرية التي تشبه الآباء تشكل النسب الأكبر في النسل الناتج و هذا الانحراف عن النسبة المندلية سببه الارتباط بين الجين المسؤول عن لون الأزهار و الجين المسؤول عن طول حبوب اللقاح و أن الجينين لا يعزلان بصورة مستقلة ، و يمكن ملاحظة التضريب في الشكل (26-2) (Simmons و Snustad ، 2000) .



الشكل 26-2 . مخطط تجربة باتسون و بونيت على نبات البازيلا الحلوة .

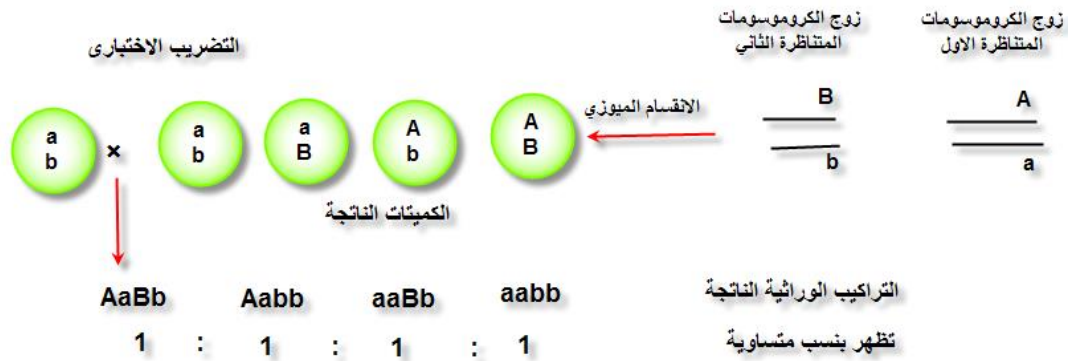
الكشف عن وجود الارتباط بين الجينات

يمكن التعرف على إن جينين محددين موجودين على نفس الكروموسوم أو موجودين على كروموسومات مختلفة من خلال إجراء التضريب الاختباري Test cross للأفراد الهجينة للصفاتين من خلال تضريب الهجين الثنائي مع فرد متماثل متنحٍ للصفاتين المدروستين ، ففي حالة الانعزال الحر يجب أن نحصل على :

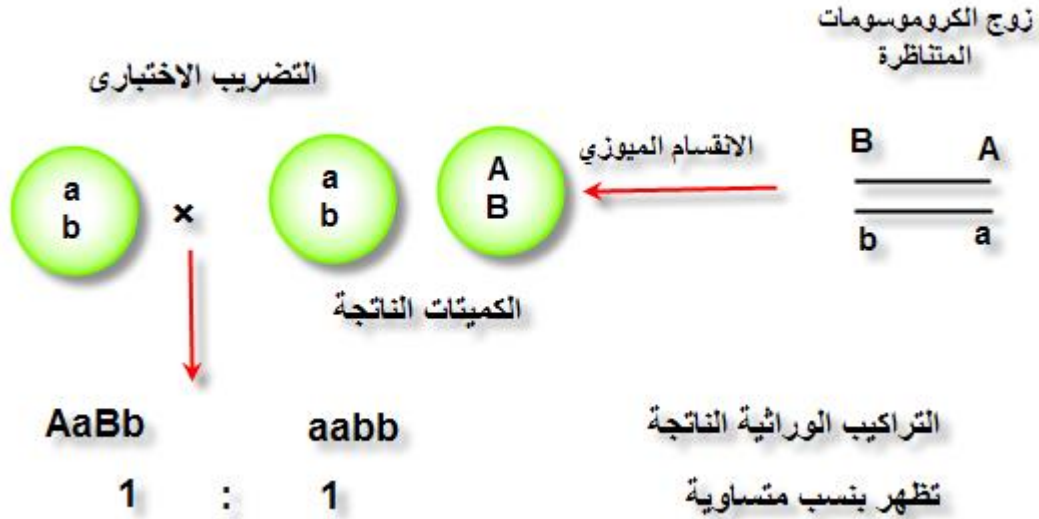
1- الحصول على أربعة طرز مظهرية محددة .

2- تكون نسبة ظهور الطرز المظهرية الأربعة متساوية (1 : 1 : 1 : 1) .

و هو سلوك متوقع للكروموسومات أثناء الانقسام الميوزي في حالة وقوع كل زوج من الجينات على أزواج مختلفة من الكروموسومات و بذلك يتيح عدم الارتباط الفرصة لكل فرد من الزوج الأول من الجينات أن يتحد بصورة عشوائية مع أي فرد من الزوج الثاني من الجينات منتجا أربعة أنواع من الكميات و بأعداد متساوية و كما في المخطط الآتي :



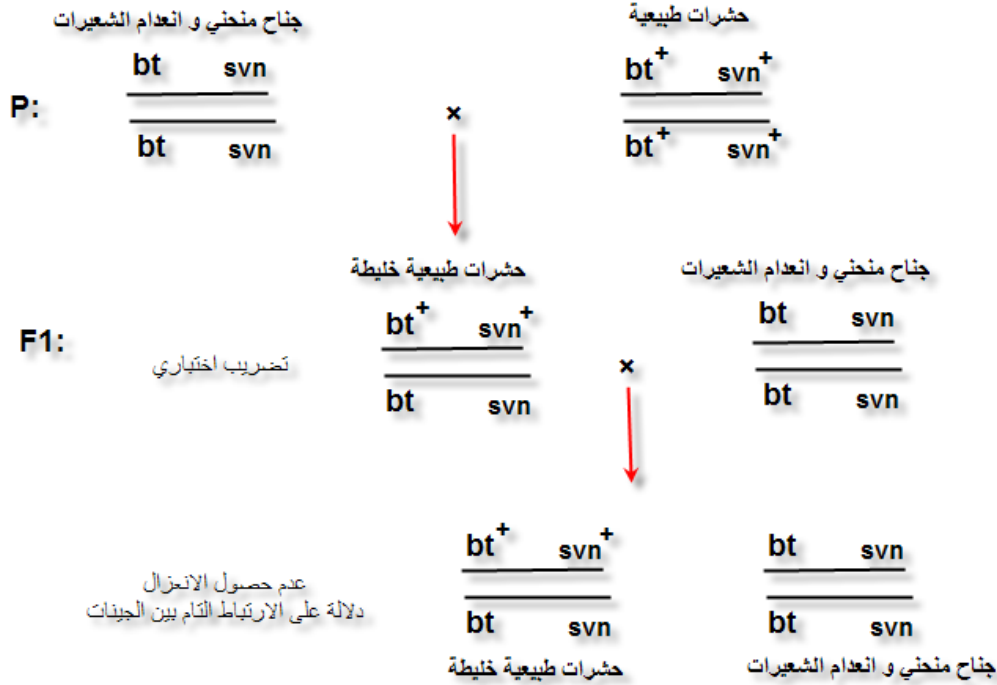
أما في حالة أن تكون الجينات مرتبطة على كروموسوم واحد و قريبة جدا من بعضها فإنها لا تنعزل بصورة حرة و تميل إلى البقاء معا كما هي في جيل الآباء و بذلك يحصل انحراف عن النسبة التي حصلنا عليها في التضريب الاختباري السابق ، إذ نحصل على النسبة المظهرية 1 : 1 لطرزين مظهريين بدلا من أربعة طرز مظهرية . و كما موضح في المخطط الآتي :



ويصنف الارتباط بين الجينات إلى :

1- الارتباط التام Complete linkage

عندما تكون الجينات مرتبطة مع بعضها فإنها تنتقل سوية من جيل لآخر بنفس الحالة التي جاءت بها من الأباء ، فارتباط الجينات في هذه الحالة يكون كاملا ، على سبيل المثال الكروموسوم الرابع في حشرة الدروسوفيلا يحمل الجينات الطافرة التي تنتج الجناح المنحني *bt* وعدم وجود الشعيرات *svn* فعند تزواج أفراد طبيعية الشكل المظهري bt^+svn^+ / bt^+svn^+ مع أفراد ذو جناح منحني و عديم الشعيرات *bt svn* ينتج في الجيل الأول F1 حشرات جميعها طبيعية الشكل المظهري خليطة التركيب الوراثي $bt^+svn^+ / bt\ svn$. و عند إجراء التضريب الاختباري لأفراد الجيل الأول بتضريبها مع أفراد متماثلة متنحية للصفاتين نحصل على حشرات بنسبة متساوية للشكل المظهري ذي جناح منحني و عديم الشعيرات : و الشكل المظهري طبيعي لكانتا الصفتين . و لا يظهر أفراد منحنية الجناح ذات شعيرات أو على أفراد طبيعية الجناح عديمة الشعيرات ، لذلك فان انعدام الانعزال الحر بين أزواج الجينات المسؤولة عن الصفتين يوفر الدليل على وجود ارتباط تام بينهما ، ويمكن توضيح التضريب وفق المخطط الآتي:



Incomplete linkage & Recombination

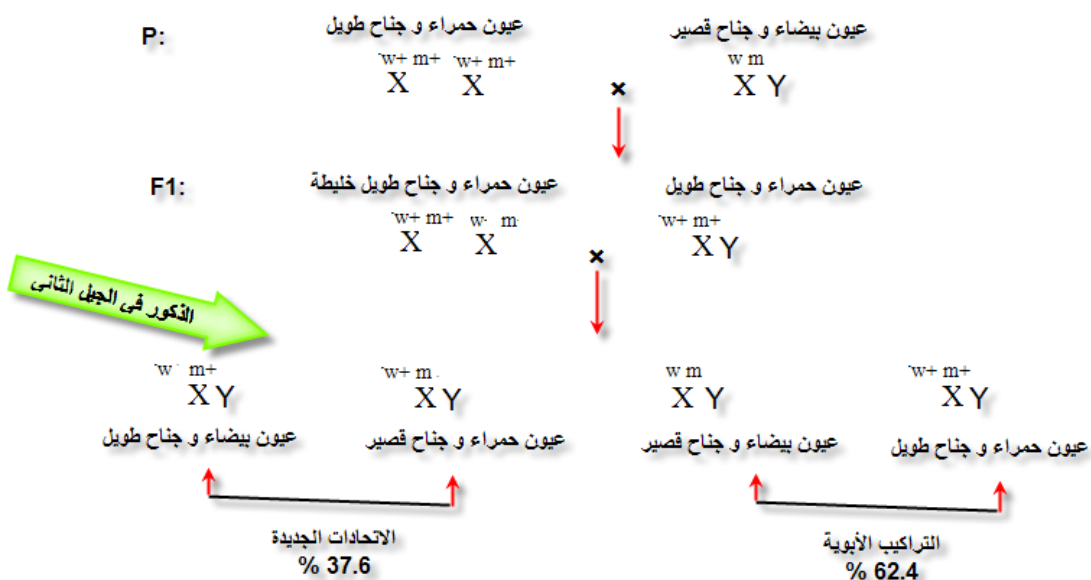
2- الارتباط غير التام و إعادة الاتحاد

إن حالة الارتباط التام بين الجينات التي تقع على نفس الكروموسوم تكون نادرة الحدوث في معظم الأصناف التي تتكاثر جنسياً ، و الشائع أن يكون الارتباط غير تام إذ إن أزواج الجينات في معظم المجاميع الارتباطية تنعزل عن بعضها انعزالاً جزئياً حراً . لوحظت هذه الظاهرة من قبل العالم مورغان عندما أجرى تصريباً بين إناث حشرة الدروسوفيلا ذات عيون حمراء و جناح طويل مع ذكور ذات عيون بيضاء و جناح قصير ، و زوجي الجينات المؤثرة على هذه الصفات مرتبطة بالجنس (واقعة على كروموسوم الجنس X) و تكون الصفات عيون بيضاء و الجناح القصير متنحية .

تكون الإناث في الجيل الأول خليطة التركيب الوراثي لصفتي لون العيون و طول الجناح و تكون الذكور متماثلة لامتلاكها كروموسوم X واحد .

أما أفراد الجيل الثاني فيتوقع أن تكون الذكور الناتجة عن إناث الجيل الأول ، أما أن تكون حمراء العيون طويلة الجناح أو بيضاء العيون قصيرة الجناح معتمداً على كروموسوم X الذي يستلمه الذكر من الأم و هي خليطة في الجيل الأول ، فإذا كان الانعزال كاملاً بين جين العيون البيضاء و جين الجناح القصير الموجودين على كروموسوم X فإن أفراد الجيل الثاني من الذكور تظهر فيها أربع فئات مظهرية و بنسب متساوية ، و إذا كان الارتباط تاماً بين الجينين فالأبناء الذكور تكون بنفس المظهر الخارجي للآباء التي أنتجت الأم الهجينة . لكن النتائج التي حصل عليها العالم مورغان في الجيل الثاني تقع بين الحالتين المتوقعتين فمن مجموع 1190 ذكراً في الجيل الثاني كان فيها 37.6% تمثل تراكيب الاتحادات الجديدة وهي لون العيون الأبيض و الجناح الطويل ؛ عيون حمراء و أجنحة قصيرة . بينما ظهرت 62.4% تمثل تراكيب وراثية

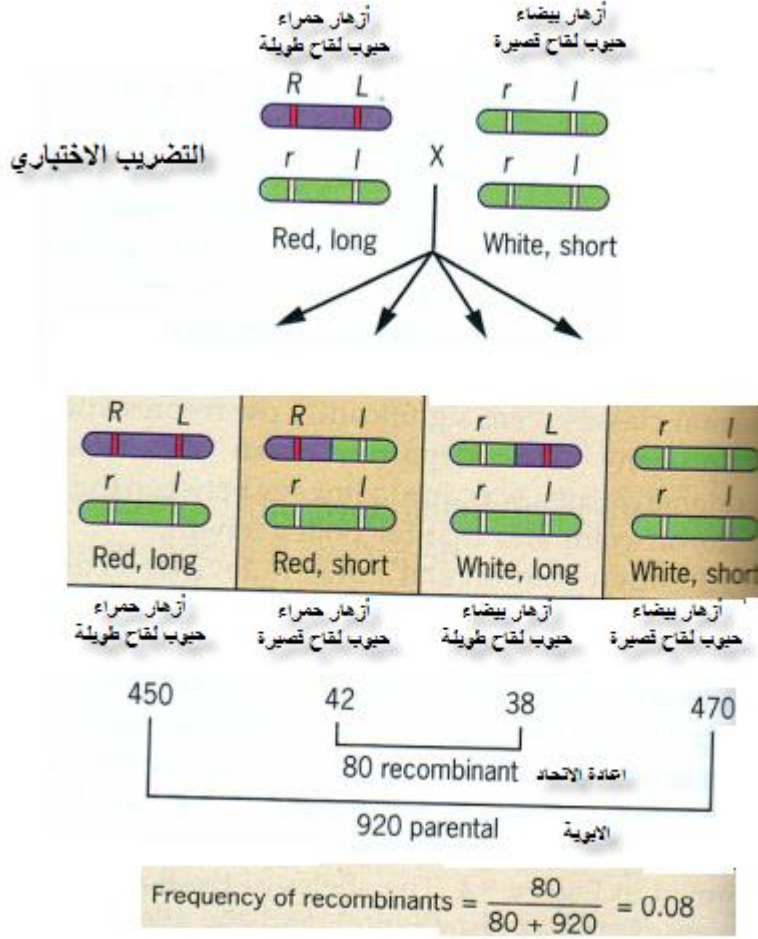
أبوية وهي أما عيون حمراء و أجنحة طويلة أو عيون بيضاء و أجنحة قصيرة . كما موضح في المخطط الآتي :



و قد أطلق على ظاهرة وجود الجينين السائدين أو المتنحيين معا على نفس الكروموسوم بالنظام الازدواجي Coupling أما وجود جين سائد و جين متنحي معا على نفس الكروموسوم فيعرف بالنظام التنافري Repulsion . و الاستنتاج الذي توصل إليه مورغان من هذه التجربة هو حصول الاتحادات الجديدة جاء نتيجة حصول عملية العبور crossing over .

استخدام تكرار إعادة الاتحاد في قياس شدة الارتباط بين الجينات

يمكن استخدام تكرار الاتحادات الجديدة Recombination لقياس شدة الارتباط بين الجينات ، فالجينات المرتبطة بقوة نادرا ما يظهر فيها إعادة الاتحاد بينما الجينات التي يكون ارتباطها مع بعضها ضعيفا يحدث فيها إعادة الاتحاد طبيعيا و بتكرارات مختلفة . يستخدم التضريب الاختباري لتقدير تكرار إعادة الارتباط ، وفيه يجري تضريب الفرد الخاضع للدراسة مع فرد بتركيب وراثي متماثل متنحي ، على سبيل المثال عند تضريب الهجين الثنائي لصفتي لون الأزهار و طول حبوب اللقاح في نبات البازاليا الحلوة (التي تم وصفها سابقا) مع نبات متماثل متنحي للصفتين فان النسل الناتج عن التضريب الاختباري سوف يعكس أنواع الكميات التي ينتجها الفرد الخليط و النسب التي تكون عليها كما هو موضح في الشكل (27-2) .



الشكل 27-2 . التضريب الاختباري لتقدير شدة الارتباط بين جينات لون الأزهار و طول حبوب اللقاح في نبات البازليا الحلوة .

يتضح من تحليل نتائج التضريب الاختباري إن عدد النسل الناتج عن التضريب هو 1000 فرد منها 920 فرداً يشابه الشكل المظهري للأباء و الأفراد المتبقية 80 فرد هي تراكيب جديدة تمثل إعادة الاتحاد ، و لحساب تكرار إعادة الاتحاد نستخدم الصيغة الآتية :

$$\frac{\text{عدد أفراد تراكيب إعادة الاتحاد}}{\text{العدد الكلي للنسل}} = \text{تكرار تراكيب إعادة الاتحاد}$$

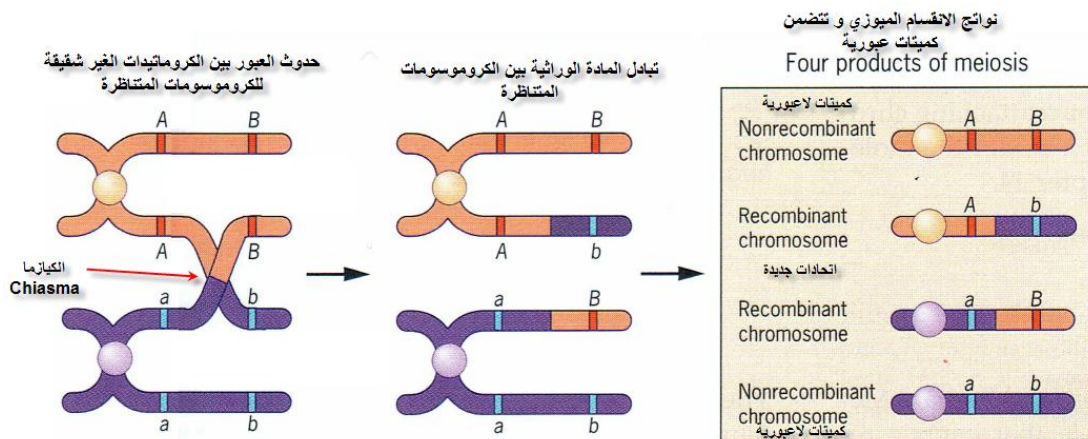
$$\frac{80}{80 + 920} = \text{تكرار تراكيب إعادة الاتحاد}$$

$$0.08 = \text{تكرار تراكيب إعادة الاتحاد}$$

إن القيمة 0.08 يمكن استخدامها كمقياس لمدى حدوث إعادة الاتحاد بين الجينين المؤثرين في لون الأزهار و طول حبوب اللقاح خلال الانقسام الميوزي و تكوين الكميئات . و نلاحظ هنا أن تكرار الكميئات لإعادة الاتحاد لا تتجاوز 50 % من مجموع الكميئات الكلية و هي الحد الأعلى الذي يمكن أن تصله الاتحادات الجديدة عندما تكون الجينات بعيدة جدا عن بعضها و هي مساوية للحالة التي يكون فيها الجينات واقعة على كروموسومات مختلفة ، أي إنها تمثل حالة التوزيع المستقل و الحر للجينات و توزيعها على الكميئات .

العبور Crossing over

تنتج كميئات إعادة الاتحاد عن عملية تسمى العبور Crossing over تحدث بين الكروموسومات المتناظرة ، و تتضمن عملية العبور تبادل للمادة الوراثية بين الكروموسومات المتناظرة خلال الطور التمهيدي من الانقسام الميوزي الأول ، عندما تلتقي الكروموسومات المتناظرة المتضاعفة لتكون بشكل أزواج و تتكون بذلك الرباعيات Tetrad (لان كل كروموسوم يتكون من كروماتيدين شقيقين) ، و توصف عملية العبور على أنها كسر و تبادل للمادة الوراثية و إعادة التحام بين الكروماتيدات غير الشقيقة في الكروموسومات المتناظرة ، و تسمى منطقة حدوث العبور التي تظهر بشكل التحام كيازما Chiasma و كما موضح في الشكل (28-2) .



الشكل 28-2 . ميكانيكية حدوث العبور بين الكروموسومات المتناظرة و تكوين كميئات إعادة الاتحاد .

توفرت الأدلة لحصول عملية العبور من خلال الدراسات التي أجريت على خميرة الخبز *S. cerevisiae* و هي خلية أحادية المجموعة الكروموسومية تكاثرها الشائع لا جنسي ، و مع ذلك يمكن أن تتكاثر جنسيا و يحدث عندما تندمج خليتين من طرازين مختلفين يشار إليها α و a و هذا الاندماج ينتج عنه خلية ثنائية المجموعة الكروموسومية تدخل الانقسام الميوزي و ينتج عنه أربع خلايا أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى ascospores تنتظم داخل كيس يسمى ascus ، و بإمكان الباحثين فتح هذا الكيس و زراعة كل من نواتج الانقسام الميوزي بصورة منفصلة لدراسة مستعمرات الخميرة الناتجة عنها . و توجد في الخميرة العديد من الطفرات تتضمن اختلافات في شكل المستعمرة و لونها ، و تستخدم هذه الطفرات في الدراسات الوراثية لدراسة العبور و إعادة الاتحاد . و نتج عن هذه الدراسات اكتشافان مهمان : الأول هو أن العبور يحدث بعد تضاعف الكروموسومات المتناظرة و ليس قبله و ينتج عن ذلك إن الكيس ascus قد يحتوي على اثنين من تراكيب إعادة الاتحاد (عبورية) و اثنين لابعورية (لا تتضمن إعادة الاتحاد) و يطلق عليها أحيانا تراكيب أبوية . أما الاكتشاف الثاني هو إمكانية حدوث العبور المتعدد (الثنائي ، الثلاثي ، الرباعي) بين الكروماتيدات غير الشقيقة ، و يجب ملاحظة أن تبادل المادة الوراثية بين الكروماتيدات الشقيقة لا ينتج عنه تراكيب إعادة الاتحاد الجديدة لأن الكروماتيدات الشقيقة متماثلة .

تعدّ ظاهرة العبور مهمة لعشائر الكائنات الحية لأنها تؤدي بالاشتراك مع الطفرات إلى تنوع التراكيب الوراثية و إحداث التباين بين أفراد النوع الواحد مما يضمن البقاء و التطور للأنواع ، فضلا عن استخدام حالات العبور لرسم الخرائط الوراثية .

رسم الخرائط الكروموسومية

ينتج عن حدوث العبور في الطور التمهيدي للانقسام الميوزي الأول نتائج يمكن متابعتها مظهريا و هي :

- 1- تكوين نقاط الكيازما في نهاية الطور التمهيدي .
 - 2- إنتاج تراكيب إعادة الاتحاد بين الجينات و التي يمكن ملاحظتها في الجيل اللاحق بعد ان تعبر عن نفسها في النسل الناتج .
- يعمل علماء الوراثة على رسم الخرائط للكروموسومات من خلال تحديد ترتيب الجينات على الكروموسوم و تقدير المسافات الوراثية Genetic Distances بين الجينات على الكروموسوم من خلال حساب عدد حالات العبور التي تحدث خلال الانقسام الميوزي ، و بما ان حالات العبور الحقيقية لا يمكن ملاحظتها بصورة مباشرة لذلك تستخدم عدد نقاط الكيازما لتقدير عدد حالات العبور التي حدثت خلال الانقسام الميوزي .

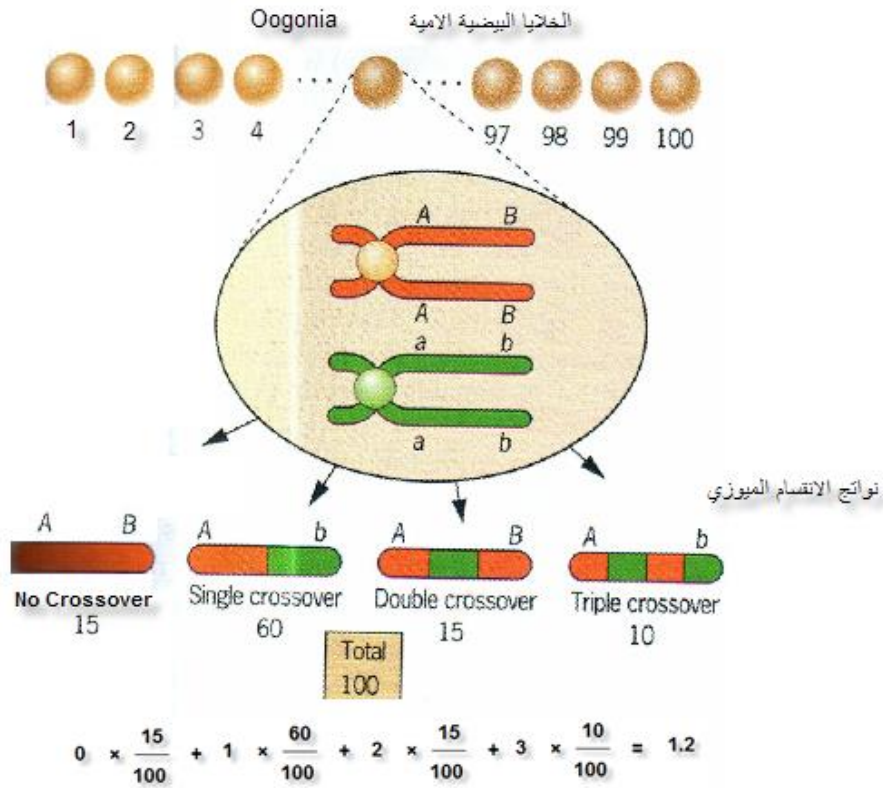
استخدام العبور كمقياس للمسافة الوراثية

إن الجينات التي تكون بعيدة عن بعضها الآخر يحدث فيها عدد كبير من حالات العبور مقارنة بالجينات التي تكون قريبة من بعضها ، و مع ذلك يجب أن يتم التعبير عن عدد حالات العبور بمفهوم إحصائي ، و بالرغم من أن احتمالية حدوث العبور بين نقطتين على الكروموسوم تكون منخفضة و لكن في عشيرة كبيرة من الخلايا تكون احتمالية حدوث العبور لعدة مرات مقبولة لان هناك العديد من الفرص المستقلة لحدوثها ، و هكذا فان القيمة التي نحتاج إلى قياسها هي معدل عدد حالات العبور في منطقة معينة من الكروموسوم حيث تعتمد وحدة الخريطة على هذه المعدلات .

و تكون الصياغة المهمة هي أن (المسافة بين نقطتين على خريطة الكروموسوم الوراثية هي معدل عدد حالات العبور بينهما) . و لكي نفهم هذا التعريف لنفترض أن هناك 100 خلية بيضة أمية Oogonia دخلت الانقسام الميوزي (الشكل 2-29) ففي بعض الخلايا لا يحدث العبور بين الموقعين A و B بينما في خلايا أخرى تحدث حالات عبور بأعداد مختلفة (1 ، 2 ، أو أكثر) بين الموقعين المذكورين ، في نهاية الانقسام الميوزي سيكون الناتج 100 كميت كل واحد يمتلك كروموسوم أما لم يحدث فيه عبور ، عبور واحد ، اثنان أو أكثر بين الموقعين A و B . نقوم بتقدير المسافة الوراثية بين النقطتين عن طريق حساب معدل عدد حالات العبور في هذه العينة من الكروموسومات (باستخدام البيانات في شكل 2-29)، و كما يأتي :

$$0 \times \frac{15}{100} + 1 \times \frac{60}{100} + 2 \times \frac{15}{100} + 3 \times \frac{10}{100} = 1.2$$

بصورة تطبيقية ، لا يمكننا مشاهدة نقاط التبادل الوراثي على الكروموسومات الناتجة عن الانقسام الميوزي و بدلا عن ذلك نستدل على وجودها من خلال ملاحظة الايليات التي تحمل إعادة الاتحاد الناتجة عن الانقسام الميوزي ، إذ أن إعادة الاتحاد تشير إلى حدوث العبور و لذلك فان حساب عدد الكروموسومات لإعادة الاتحاد توفر لنا طريقة لحساب نقاط العبور .



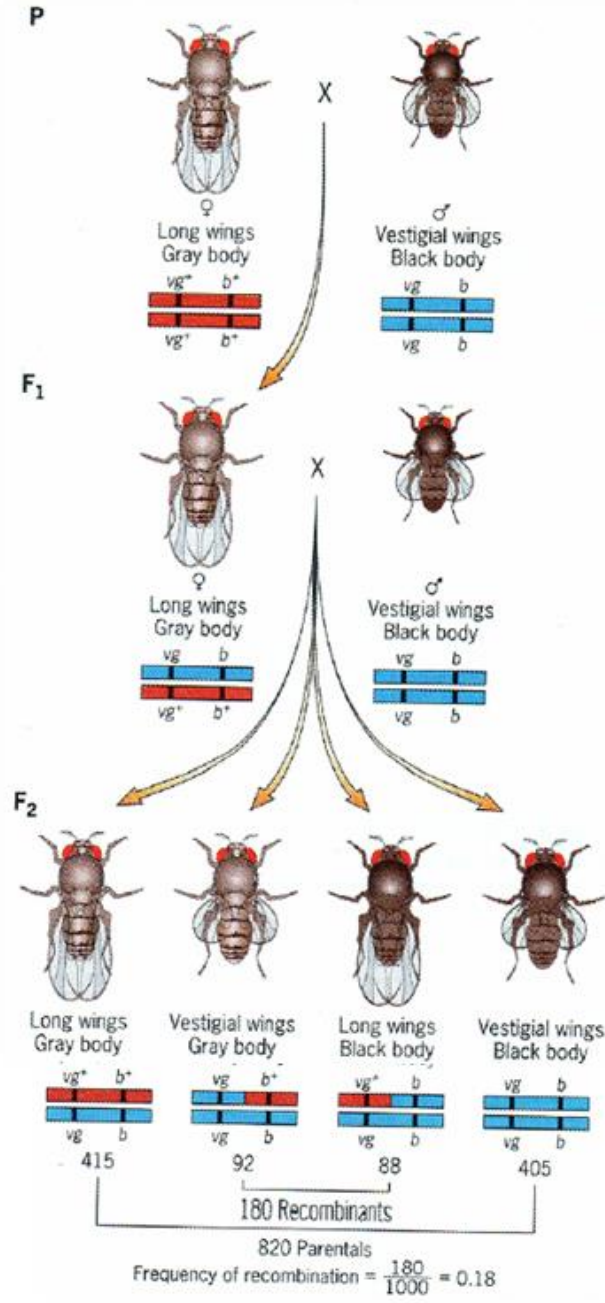
الشكل 2-29 . حساب معدل عدد حالات العبور بين الجينات على الكروموسومات الناتجة عن الانقسام الميوزي .

استخدام التضريب الاختباري لنقطتين لرسم خريطة إعادة الاتحاد

لتوضيح عملية رسم الخريطة الوراثية ، نأخذ تضريب إناث الدروسوفيلا بالطراز البري مع ذكور متماثلة التركيب الوراثي متنحية لطفرتين جسميتين و هي vestigial (vg) التي ينتج عنها الجناح القصير و الطفرة الثانية black (b) التي ينتج عنها اللون الأسود لجسم الحشرة (شكل 2-30) . حشرات الجيل الأول من هذا التضريب تمتلك جناح طويل و لون الجسم الرمادي ، وهذا يشير إلى سيادة الأليلات البرية للصفات vg^+ و b^+ . تم إجراء التضريب الاختباري لإناث الجيل الأول مع ذكور قصيرة الجناح و لون الجسم اسود ، و تم تصنيف الحشرات في الجيل الثاني حسب الشكل المظهري و النسب المظهرية ، و أظهرت النتائج وجود أربعة طرز مظهرية اثنان منهما وفيرة العدد تمثل الأشكال المظهرية للأباء و اثنان منهما نادرة العدد تمثل الأشكال المظهرية لإعادة الاتحاد ، نستنتج من ذلك أن جينات صفتي طول الجناح vg و لون الجسم b مرتبطان مع بعضها لأن تراكيب إعادة الاتحاد اقل بكثير من 50 % من مجموع النسل الكلي و هذه الجينات يجب أن تكون واقعة على نفس الكروموسوم و لتحديد المسافة بينهما يجب علينا تقدير معدل عدد حالات العبور الموجودة في الكميات لإناث الجيل الأول ذات التركيب الوراثي ثنائي الهجين و يمكننا إجراء التقدير عن طريق حساب تكرار الحشرات التي تحمل مظهر إعادة الاتحاد في الجيل الثاني F_2 و ملاحظة أن كل حشرة ورثت كروموسوماً تمتلك حالة عبور واحدة بين الجينين ، معدل أعداد حالات العبور في العينة الكلية للنسل هي :

$$0 \times 0.82 + (1) \times 0.18 = 0.18$$

يدل هذا التحليل البسيط إن هناك معدل 18 كروموسوم من مجموع 100 كروموسوم نتجت عن الانقسام الميوزي حدث فيها العبور بين الجينين vg و b و هكذا فإن الموقعين يفصلهما 18 وحدة مسافة وراثية في الخريطة الكروموسومية . في بعض الأحيان يطلق علماء الوراثة تسمية سنتي مورغان (cM) CentiMorgan على وحدة المسافة الوراثية في الخريطة ، إذ إن كل 100 سنتي مورغان يساوي مورغان واحد (M) لذلك يمكننا القول أن الجينين vg و b يفصلهما مسافة 18 سنتي مورغان أو 0.18 مورغان ، و يجب ملاحظة أن مسافة الخريطة الوراثية تساوي تكرار إعادة الاتحاد و تكتب بصيغة النسبة المئوية .

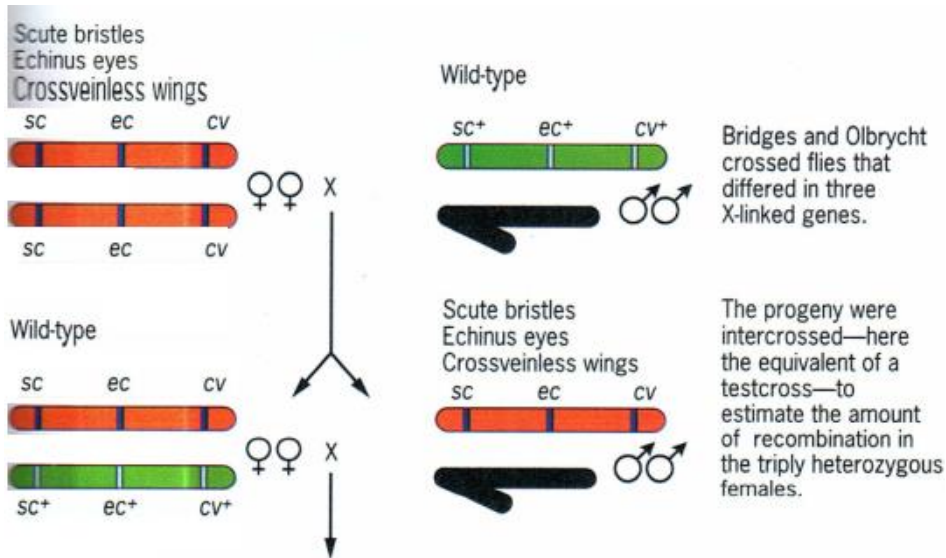


الشكل 2-30. التضريب الاختباري لنقطتين لرسم الخريطة الكروموسومية في حشرة الدروسوفيلا.

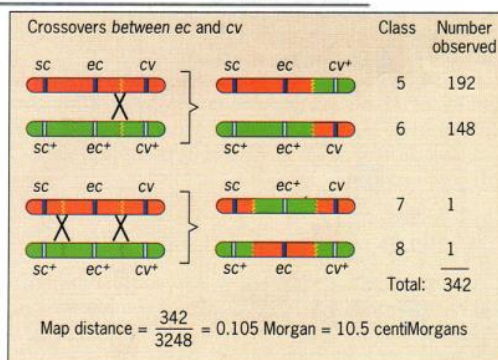
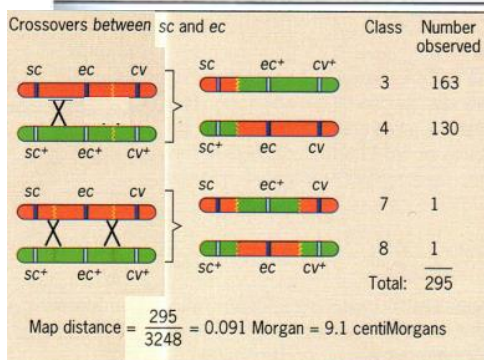
استخدام التضريب الاختباري لثلاثة نقاط في رسم خريطة إعادة الاتحاد يمكننا استخدام تكرار إعادة الاتحاد في رسم الخريطة الوراثية باستخدام البيانات التي نحصل عليها من التضريب الاختباري الذي يشمل أكثر من موقعين جينيين كما يوضح الشكل (2-31) الذي يوضح تجربة أجريت من الباحثين Olbrycht و Bridges بتضريب ذكور

حشرة الدروسوفيلا بالطراز البري مع إناث تحمل طفرات متماثلة متنحية لثلاثة مواقع مرتبطة بالجنس و هي scute (sc) تؤثر في شعيرات الجسم ، echinus (ec) تؤثر في عيون الحشرة ، crossveinless (cv) تؤثر على الأجنحة ، و عندما ترك الجيل الأول يتزاوج داخليا ، حصل الباحثان على الجيل الثاني الذي تم تصنيف الحشرات فيه إلى ثمانية طرز مظهرية وحساب نسبها المظهرية ، و فيها طرازان مشابهان للطرز الأبوية و ستة طرز أخرى تمثل تراكيب جديدة لإعادة الاتحاد . و لرسم عمليات العبور التي حدثت في الطرز الناتجة لآبد أولا من ترتيب الجينات على الكروموسوم ، وهناك ثلاثة احتمالات لترتيب الجينات على الكروموسوم وهي : cv ec sc و cv ec sc و sc cv ec . أما بقية الاحتمالات مثل cv sc ec هي مماثلة لإحدى الاحتمالات الثلاثة المذكورة لان الطرف اليميني للكروموسوم لا يجري تمييزه عن الطرف اليسار للكروموسوم .

لإجراء التحليل بصورة صحيحة لهذه البيانات ، يجب النظر بعناية إلى الطرز الستة لإعادة الاتحاد ، أربعة منها يجب أن تكون ناتجة عن حالات عبور مفردة في واحدة من المنطقتين التي تتخلل الجينات و الطرازين المتبقيين يجب أن تكون ناتجة عن حالات عبور مزدوجة حدثت في كلا المنطقتين التي تتخلل الجينات . و نحن نعلم كقاعدة أن العبور المزدوج يحدث بتكرار أقل بكثير من العبور المفرد لذلك نتوقع أن الطرازين بالتكرار النادر تعود إلى حالات العبور المزدوج . و من بيانات التجربة في الشكل (2-31) نجد أن الطرازين النادرين هما 7 و 8 و كل منهما ظهر بتكرار حشرة واحدة و بمقارنة هذه الطرز مع الطرز الأبوية 1 و 2 نجد أن الجين ec هو الذي تأثر بالعبور المزدوج لذلك يجب أن يكون موقعه بين الجينين الآخرين و بذلك يكون الترتيب الصحيح للجينات cv ec sc . و لحساب المسافات بين الجينات بعد أن توصلنا إلى ترتيبها على الكروموسوم ، نقوم بتحديد المسافات بين الجينات ، و تتضمن العملية حساب معدل عدد حالات العبور في كل منطقة كروموسومية (الشكل 2-31) ، فالمسافة بين الجينين sc و ec يمكن التعرف عليها من خلال التعرف على طرز إعادة الاتحاد بين الجينين الناتجة عن العبور ، نجد إن هناك أربعة طرز إعادة اتحاد هي 3 و 4 و 7 و 8 و فيها الطرازين 3 و 4 تضمن عبوراً مفرداً بينما الطرازان 7 و 8 تضمن عبوراً مزدوجاً (العبور الأول بين sc و ec و الآخر بين ec و cv) لذلك نستخدم تكرار الطرز الأربعة لتقدير معدل عدد حالات العبور بين الجينين :



Class	Phenotype	Genotype of maternally inherited X chromosome			Number observed
1	Scute, echinus, crossveinless	sc	ec	cv	1158
2	Wild-type	sc+	ec+	cv+	1455
3	Scute	sc	ec+	cv+	163
4	Echinus, crossveinless	sc+	ec	cv	130
5	Scute, echinus	sc	ec	cv+	192
6	Crossveinless	sc+	ec+	cv	148
7	Scute, crossveinless	sc	ec+	cv	1
8	Echinus	sc+	ec	cv+	1
				<u>1</u>	
				Total:	3248



الشكل 2-31. استخدام التضريب الاختباري في رسم الخرائط الكروموسومية.

الطرز الأربعة

$$\frac{\text{Class 3} \quad \text{Class 4} \quad \text{Class 7} \quad \text{Class 8}}{163 \quad 130 \quad 1 \quad 1} = \frac{295}{3248} = 0.091$$

Total

و هكذا ففي كل 100 كروموسوم ينتج عن الانقسام الميوزي في إناث الجيل الأول فيها 9.1 كروموسوم حدث فيها عبور بين الجينين sc و ec و المسافة بين الجينين هي 9.1 وحدة خريطة (9.1 سنتي مورغان) ، و بنفس الطريقة يمكننا أن نحصل على المسافة بين ec و cv ، أربعة طرز مظهرية لإعادة الاتحاد في هذه المنطقة هي 5 و 6 و 7 و 8 و الاتحادات الجديدة المزوجة هنا أيضا 7 و 8 . و يتم حساب تكرار إعادة الاتحاد في الطرز الأربعة كما يأتي :

الطرز الأربعة

$$\frac{\text{Class 5} \quad \text{Class 6} \quad \text{Class 7} \quad \text{Class 8}}{192 \quad 148 \quad 1 \quad 1} = \frac{342}{3248} = 0.105$$

Total

و بناء على ذلك تكون المسافة بين ec و cv هي 10.5 وحدة خريطة . و عند تجميع البيانات للمنطقتين نحصل على الخريطة :

$$sc \xrightarrow{9.1} ec \xrightarrow{10.5} cv$$

تكون المسافة في الخريطة تجميعية و لذلك يمكن تقدير المسافة بين الجينين sc و cv عن طريق جمع الأطوال التي تم حسابها كما يأتي :

$$9.1 + 10.5 = 19.6 \text{ cM}$$

وظائف المادة الوراثية

بعد إعادة اكتشاف قوانين مندل في بداية القرن العشرين والتي أصبحت مقبولة في الوسط العلمي و التي تشير إلى أن الجينات مسؤولة عن نقل المعلومات الوراثية بين الأجيال المتعاقبة ، و توفرت الأدلة على وجود الجينات و انتظامها على الكروموسومات ، و أن قوانين مندل تتوافق مع حركة الكروموسومات خلال الانقسام الميوزي و تكوين الكميات ، إلا أن اهتمام علماء الوراثة تركز حول طبيعة المادة الوراثية على المستوى الجزيئي و تركيبها الكيميائي ، و يجب أن يكون للمادة الوراثية القدرة على انجاز الوظائف الآتية :

- 1- الوظيفة الوراثية (تكرار المادة الوراثية) ، يجب على المادة الوراثية أن تكون قادرة على تخزين المعلومات الوراثية و نقلها بدقة من جيل الآباء إلى جيل الأبناء .
- 2- وظيفة السيطرة على الشكل المظهري (التعبير الجيني) ، حيث تسيطر المادة الوراثية على الفعاليات الحيوية و مراحل التطور المظهري لصفات الكائن الحي من خلال السيطرة و توجيه عمليات النمو و تمايز أنسجة و أعضاء الجسم التي تنشأ من خلية واحدة هي الخلية المخصبة .
- 3- وظيفة التطور ، على الرغم من ضرورة توفر الدقة في تكرار المادة الوراثية للحفاظ على خصائص النوع إلا انه يجب أن يكون هناك درجة محدودة من التغيير في المادة الوراثية (الطفرات و العبور) توفر التنوع في التراكيب الوراثية لمواجهة التغييرات البيئية التي تعيش فيها الكائنات لتتمكن من التكيف مع الظروف البيئية الجديدة .

اكتشاف طبيعة المادة الوراثية

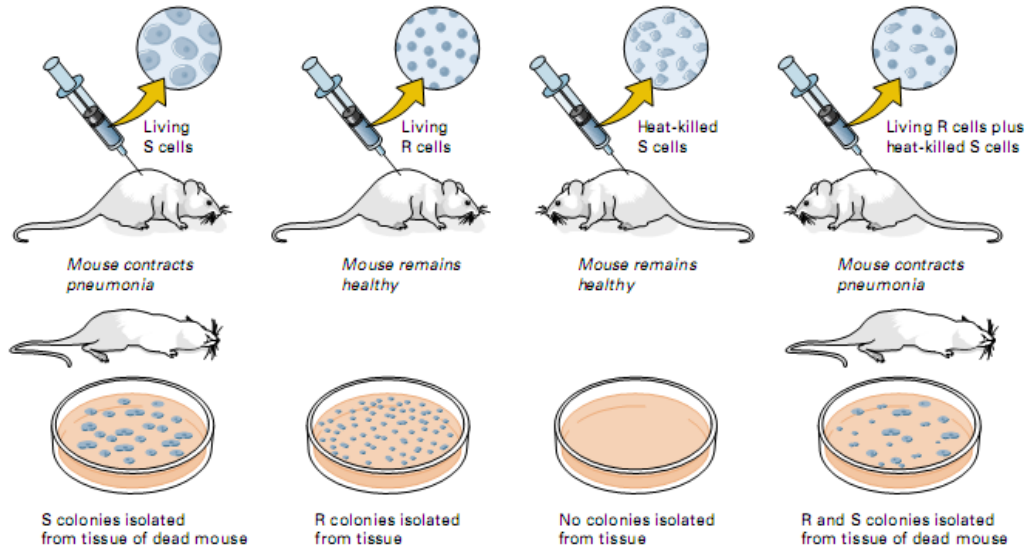
توصلت الدراسات الكيميائية إلى أن الكروموسومات تتكون من نوعين من الجزيئات العضوية الكبيرة هما البروتينات (الهستونية و اللاهستونية) و الأحماض النووية التي تكون على نوعين ، الأول **الدنا** و هو الحمض النووي منقوص الأوكسجين **Deoxyribonucleic Acid (DNA)** . و الثاني **الرنا** و هو الحمض النووي الرايبوزي **Ribonucleic Acid (RNA)** . و تواصلت الدراسات لتحديد أي جزء من هذه المكونات تمثل مادة الوراثة ، و لقد توافرت العديد من البراهين غير المباشرة التي تشير إلى أن الدنا هي المادة الوراثية و منها :

- 1- إن غالبية جزيئات الدنا في الخلايا موجودة في الكروموسومات ، بينما الرنا و البروتينات تتواجد أيضا في الساييتوبلازم .
 - 2- يوجد علاقة دقيقة بين كمية الدنا في الخلية و عدد المجاميع الكروموسومية الموجودة في الخلية . على سبيل المثال في الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسومية تكون كمية الدنا في الخلية الجسمية ضعف كمية الدنا الموجودة في الكميات (النطف أو البيوض) لنفس الكائن الحي .
 - 3- يكون التركيب الجزيئي للدنا متشابهاً في الخلايا المختلفة للكائن الحي ، بينما يكون التركيب الجزيئي للبروتينات و الرنا مختلفا بدرجة كبيرة من طراز خلوي لآخر (الخلية العضلية تختلف عن الخلية العصبية) .
 - 4- تكون جزيئة الدنا أكثر استقراراً من جزيئات الرنا و البروتينات التي يجري تصنيعها و انحلالها بسرعة في الكائن الحي ، إذ إن المادة الوراثية يجب أن تقوم بوظيفة تخزين و نقل المعلومات الوراثية من الآباء إلى الأبناء لذلك نتوقع أن تكون ثابتة مثل الدنا .
- إن هذه الدلائل غير المباشرة على أن الدنا هو المادة الوراثية و لكنها لم توفر الدليل المباشر على ذلك .

تجربة التحول البكتيري Transformation in Bacteria

التحول البكتيري، نوع من عملية إعادة الاتحاد تحدث في البكتيريا تم اكتشافها من قبل فردريك كريفت Frederick Griffith في عام 1928 الذي أجرى تجاربه على بكتيريا نيوموكوكس *Streptococcus pneumoniae* ، و تبدي هذه البكتيريا اختلافات وراثية يمكن تصنيفها حسب امتلاكها الكبسولة capsule أو غياب الكبسولة المحيطة بالخلية البكتيرية و تتكون الكبسولة من سكريات معقدة و الصفة الثانية التي اعتمد عليها كريفت في تجربته هي التركيب الجزيئي للكبسولة وتصنف إلى طرز انتيجينية I ، II ، III و غيرها. و تكون البكتيريا ذات الكبسولة مستعمرات كبيرة و ملساء ويرمز للطراز S و هو طراز ممرض للحيوانات اللبونة مثل الفئران أو الإنسان مسببا للالتهاب الرئوي ، و تطفر بكتيريا هذا الطراز بتكرار منخفض واحد من كل 10^7 إلى طراز آخر من البكتيريا لا يمتلك الكبسولة و ينمو إلى مستعمرات صغيرة خشنة السطح يرمز لها R . وهذا الطراز غير ممرض عند إصابته للحيوانات .

قام كريفت بحقن الفئران ببكتيريا مقتولة بالحرارة من الطراز SIII و وجد أنها لا تسبب أعراض مرضية للفئران ، ثم قام بخلط البكتيريا SIII المقتولة بالحرارة مع بكتيريا حية من الطراز RII فوجد أن الفئران قد ماتت و عزل منها بكتيريا حية من الطراز SIII كما موضح في الشكل (2-32). إن حقن الفئران بالبكتيريا المقتولة بالحرارة من الطراز SIII بمفردها لم يسبب المرض دلالة على عدم وجود بكتيريا حية ، و كذلك تم استبعاد احتمال حدوث الطفرة للبكتيريا RII إذ أن الناتج عن الطفرة هي البكتيريا SII بينما الطراز الذي تم عزله من الفئران المصابة هو SIII ، و لتفسير كيفية تحول البكتيريا RII إلى بكتيريا SIII لابد أن احد مكونات الخلايا الميتة SIII ليمثل أساس التحول الذي حول الخلايا الحية من الطراز RII إلى الطراز SIII . إن هذه العملية أطلق عليها ظاهرة التحول Transformation و قد أثبتت التجارب اللاحقة أن عملية التحول

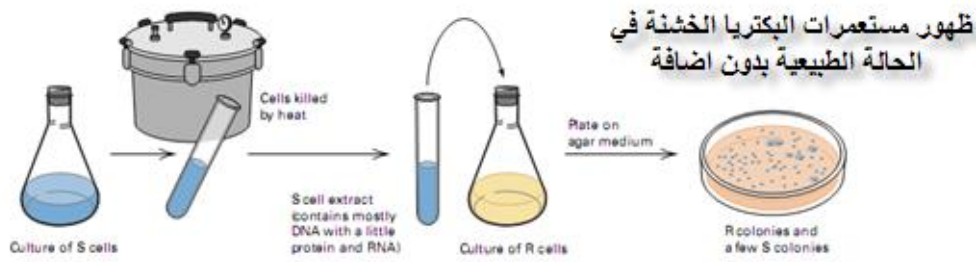


الشكل 2-32 . تجربة فردريك كريفت على بكتيريا نيوموكوكس التي اكتشف خلالها ظاهرة التحول .

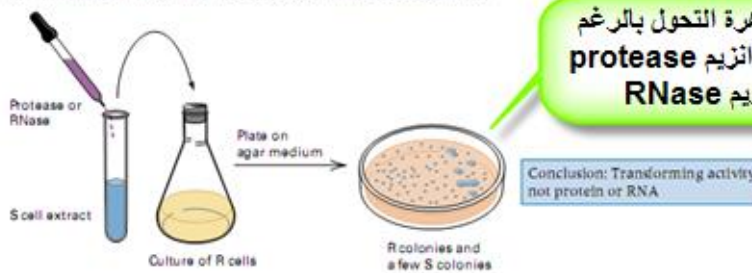
لا تحتاج إلى وسيط أو مضيف حي وإنما يمكن حدوثه في أنبوبة اختبار تحتوي المستخلصات البكتيرية من الطرز التي تم وصفها سابقا . يجب التأكيد هنا إن هذه التجربة لم تقدم الدليل المباشر على دور الدنا في الوراثة إلا أنها فتحت الباب واسعا لسلسلة من التجارب اللاحقة التي أثبتت إن أساس التحول هو المادة الوراثية (الدنا) الذي انتقل من البكتريا الميتة إلى البكتريا الحية وسبب تحولها إلى الطراز الممرض .

اكتشاف أساس التحول

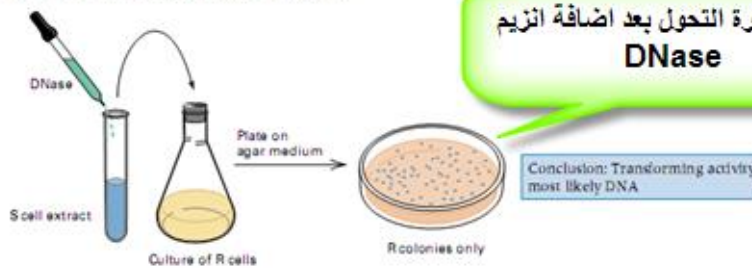
في عام 1944 أجرى كل من افري و ماك لويد و مكارتي سلسلة من التجارب أدت إلى اكتشاف إن الدنا هي أساس التحول البكتيري و قدمت الدليل المباشر على أن الدنا هو المادة الوراثية ، و اعتمدت التجارب على استخدام الإنزيمات المحللة لكل من البروتينات ، DNA و RNA ، و توصلوا إلى أن استخدام إنزيمات Protease أو RNase لم يكن لها القدرة على إيقاف تحول البكتريا RII إلى الطراز SIII بينما المعاملة باستخدام الإنزيم DNase أدى إلى إيقاف ظاهرة التحول لأنها دمرت الدنا كما موضح في الشكل (2-33).



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



(C) The transforming activity is destroyed by DNase.



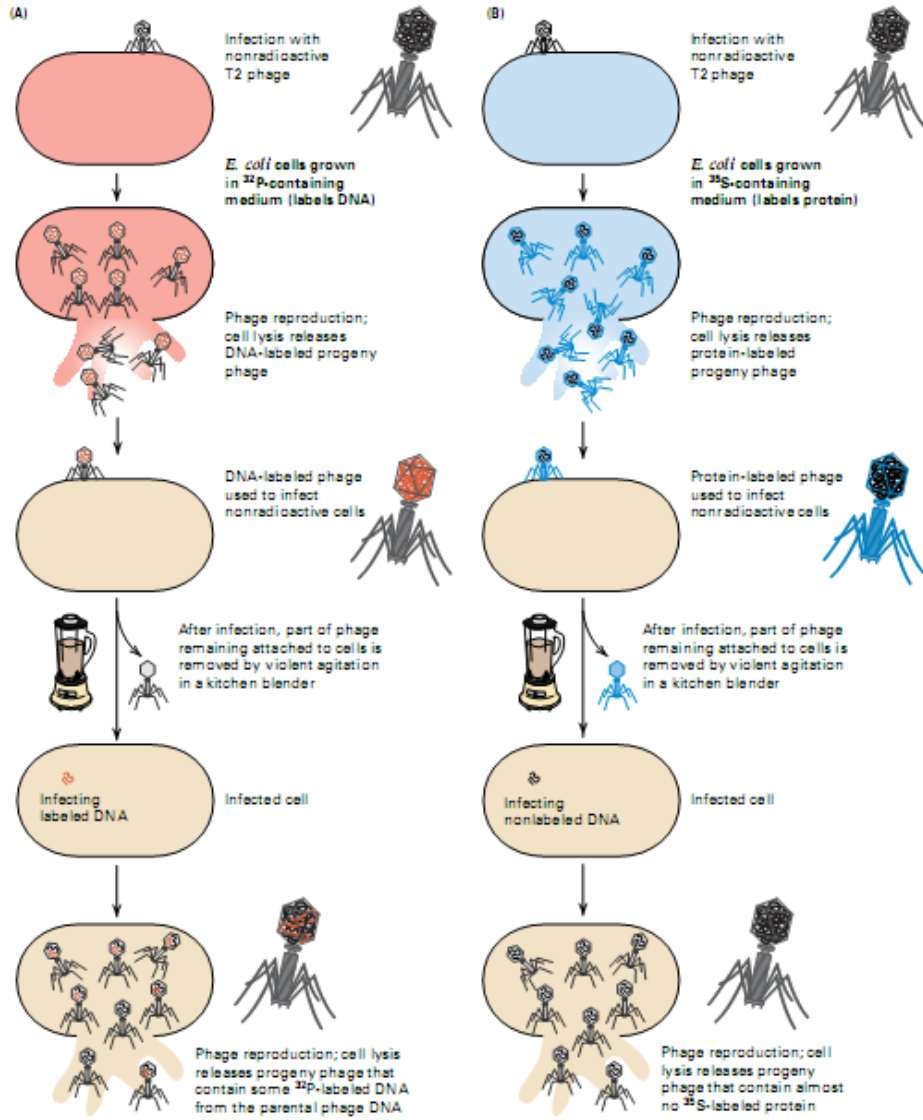
الشكل 2-33 . إثبات أن الدنا هو أساس التحول البكتيري باستخدام الإنزيمات المحللة .

إن التفسير المنطقي للتحويل البكتيري هو أن قطعة الدنا التي تحمل المعلومات الوراثية الخاصة بتكوين الكبسولة من طراز SIII قد دخلت و اندمجت مع الكروموسوم من طراز RII مسببة التحويل إلى الطراز SIII .

تجربة هيرشي – تشيز Hershey – Chase Experiment

قام الباحثان هيرشي و تشيز عام 1952 بتجربة وفرت الدليل المباشر الآخر على أن الدنا هي المادة الوراثية ، فقد أظهرت التجربة إن المعلومات الوراثية في فيروس البكتريا Bacteriophage T2 توجد في الدنا (يصيب بكتريا القولون *E. coli* و يتكاثر داخلها) و قد اثبت الباحثان أن دنا الفيروس يدخل إلى البكتريا عند إصابتها بينما يبقى الجزء البروتيني خارجا ، مما يوفر الدليل أن الدنا يحمل المعلومات الوراثية اللازمة لتكاثر الفيروس . استخدم الفسفور المشع P^{32} لتعليم الدنا لان الفسفور جزء من تركيب الدنا الجزيئي و لا يحتوي على الكبريت في تركيبه الجزيئي ، و استخدم الكبريت المشع S^{35} لتعليم الغلاف البروتيني لان الكبريت يدخل في التركيب الجزيئي للغلاف البروتيني و لا يحتوي على الفسفور .

عندما خلطت جزيئات الفيروس البكتيري T2 المعلمة بالكبريت المشع S^{35} مع خلايا بكتريا القولون لعدة دقائق ثم جرى تكسيرها وجد أن معظم الإشعاع (أي البروتينات) أمكن إزالتها من الخلايا دون أي تأثير على إنتاج نسل الفيروس البكتيري (الشكل 2-34) . أما عند استخدام الفيروس البكتيري الذي علم فيه الدنا بالفسفور المشع تبين أن كل الإشعاع كان موجودا داخل الخلايا و لم تنفصل عند تكسيرها بالخلاط . و يستنتج من التجربة أن دنا الفيروس دخل جسم البكتيريا بينما بقي الغلاف البروتيني خارج الخلية البكتيرية ، و حيث إن تكاثر الفيروس يتم داخل الخلايا البكتيرية فان التجربة وفرت الدليل المباشر أن المعلومات الوراثية موجودة في الدنا و ليس في البروتين .



الشكل 2-34 . تجربة هيرشي – تشيز لإثبات الدنا يمثل المادة الوراثية في فيروس البكتريا .

التركيب الجزيئي للمادة الوراثية

تخزن المعلومات الوراثية لجميع الكائنات الحية في الدنا (ماعدا بعض الفيروسات تخزن في الرنا) و لابد من معرفة طبيعة التركيب الكيميائي و البنائي للأحماض النووية و كيفية خزن المعلومات الوراثية في الحمض النووي و أسلوب انتقال هذه المعلومات من جيل الآباء إلى جيل الأبناء .

التركيب الكيميائي للأحماض النووية

تمثل الأحماض النووية الجزء الرئيس من مادة النيوكلين nuclein التي يتكون منها الكروموسوم ، وتتكون الأحماض النووية في جزيئات كبيرة متكررة تسمى النيكلوتيدات Nucleotides و يتكون كل نيوكليوتيدة من الأجزاء الآتية :

1- مجموعة فوسفات Phosphate group

2- سكر خماسي (بنتوز Pentose)

3- قاعدة نتروجينية

ففي الحمض النووي الدنا يكون السكر الخماسي منقوص الأوكسجين في ذرة الكربون رقم 2 (2- deoxyribose) كما موضح في الشكل (2-35) و منه جاءت تسمية DNA ، أما الحمض النووي الرنا، فيكون السكر الخماسي الرايبوز و منه جاءت تسمية RNA . هناك أربع قواعد نتروجينية تتواجد في الدنا وهي : الأدينين (A) Adenine ، الكوانين guanine (G) ، الثايمين (T) Thymine و الساييتوسين (C) Cytosine . بينما القواعد النتروجينية التي تتواجد في الحمض النووي الرنا تكون نفسها باستثناء الثايمين حيث تستبدل باليوراسيل (U) Uracil .

وتكون القواعد النتروجينية الأدينين و الكوانين ثنائية التركيب الحلقي و تسمى بيورينات Purines و القواعد النتروجينية الساييتوسين و الثايمين و اليوراسيل تكون بتركيب أحادي الحلقة و تسمى بيريميديينات Pyrimidines ، و تتكون نتيجة اختلافات القاعدة النتروجينية أربعة أنواع من النيكلوتيدات في كل من الدنا و الرنا اثنان منها من البيورينات و الاثنان الأخرى من البيريميديينات .

ترتبط النيكلوتيدات مع بعضها الآخر في سلسلة عديد النيكلوتيدات بأواصر ثنائية الايستر phosphodiester bonds توصل بين وحدات السكر الخماسي منقوص الأوكسجين في النيكلوتيدات المتجاورة ، و يكون الحمض النووي الرنا عبارة عن سلسلة مفردة من النيكلوتيدات ، بينما يتكون الحمض النووي الدنا من سلسلتين ترتبط مع بعضهما بأواصر هيدروجينية لتكوين الحلزون المزدوج كما موضح في الشكل (2-36) .

التركيب البنائي للدنا

اقترح جيمس واطسون و فرانسيس كريك عام 1953 نموذج الحلزون المزدوج لبناء جزيئة الدنا و الذي يوفر الآليات اللازمة لانتقال المادة الوراثية بين الأجيال ، و اعتمد الباحثان على مجموعة من المعلومات التي توفرت من دراسات سابقة وهي :

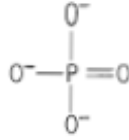
1- النتائج التي توصل إليها Erwin Chargaff و فريقه البحثي عند تحليله الدنا من كائنات حية مختلفة ، وجدوا أن تركيز الثايمين يساوي تركيز الأدينين فضلا عن أن تركيز

الساييتوسين يساوي تركيز الكوانين . و أن نسبة تركيز $\frac{[T+A]}{[C+G]}$ تتباين بدرجة كبيرة في

الدنا للأنواع المختلفة من الكائنات الحية . ويتم حساب نسبة تركيز مجموع الكوانين والساييتوسين من التركيز الكلي للقواعد النتروجينية $\frac{[G+C]}{[AllBases]}$ و يطلق عليها % GC . و

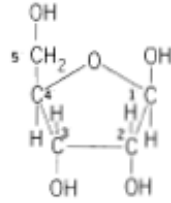
استنتج واطسون و كريك من ذلك أن هناك علاقة ثابتة تربط الأدينين و الثايمين و كذلك الساييتوسين و الكوانين في تركيب الدنا .

مجموعة فوسفات

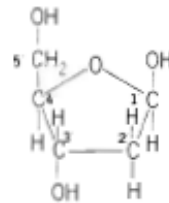


سكر خماسي

(a) In RNA:
Ribose



(b) In DNA:
2-Deoxyribose

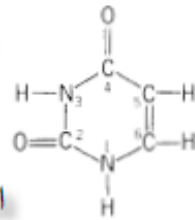


سكر خماسي
منقوص الاوكسجين

← No hydroxyl group

القواعد النتروجينية

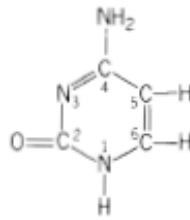
(a) In RNA only
(with rare exceptions):



Uracil
(2,4-dioxypyrimidine)

البيريميديات

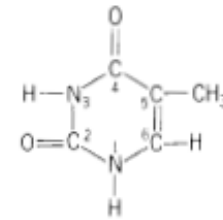
(b) In both RNA
and DNA:



Cytosine
(4-amino-2-oxy-pyrimidine)

السايتوسين

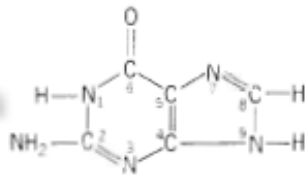
(c) In DNA only
(with rare exceptions):



Thymine
(2,4-diox-5-methyl
pyrimidine)

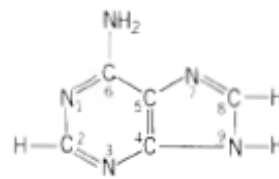
الثايمين

البيورينات



Guanine
(2-amino-6-oxypurine)

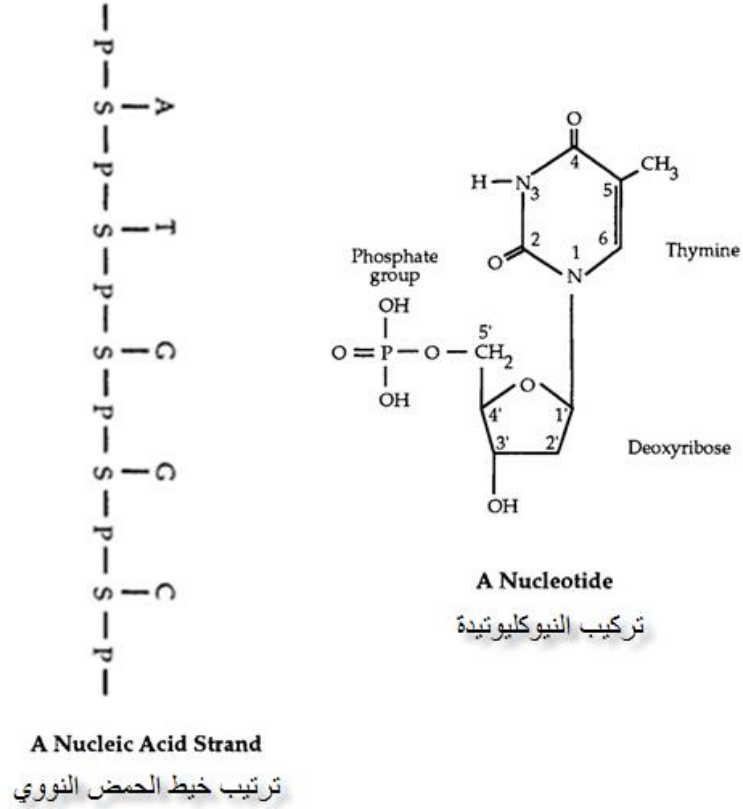
الكوانين



Adenine
(6-aminopurine)

الادينين

الشكل 2-35 . مكونات النيكلوتيدات في الأحماض النووية (RNA و DNA) .

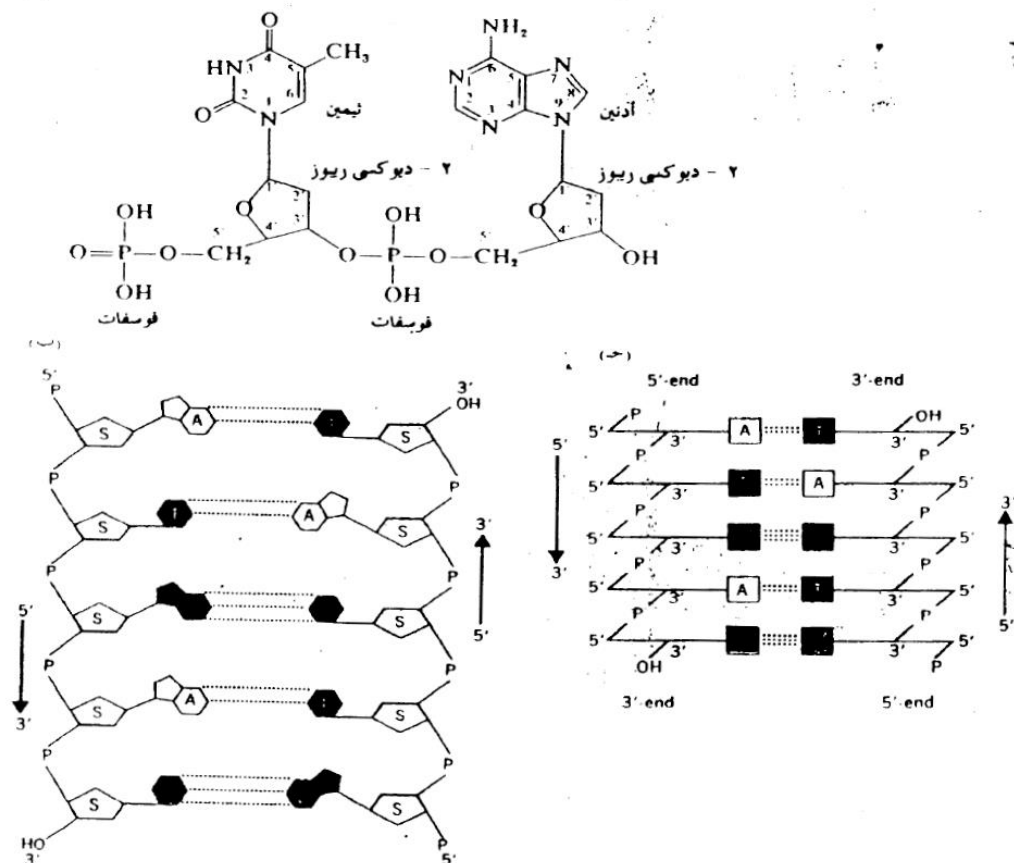


الشكل 2-36 . تركيب النيكلوتيدة و أسلوب ارتباط النيكلوتيدات مع بعضها في خيط الدنا .

2- عند مرور أشعة X خلال جزيئات كبيرة منعزلة أو بلورات جزيئات نقية فإن الأشعة تنحرف بتأثير ذرات هذه الجزيئات وفق نظام خاص لكل مادة و حسب تنظيم مكونات هذه الجزيئات ، و يمكن تسجيل انحرافات أشعة X على فيلم حساس لأشعة X . وقد استخدم واطسون و كريك نتائج بحوث ولكنز M. Wilkins و فرانكلين R. Franklin و مساعديهم و استنتج أن الدنا عبارة عن تركيب عالي الدقة يتكون من خيطين تتكرر فيه الوحدات البنائية في فضاءات منتظمة بمقدار 0.34 نانوميتر ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ meter}$) على طول محور الجزيئة .

بناء على هذه النتائج للبحوث السابقة اقترح واطسون و كريك أن الدنا عبارة عن حلزون مزدوج double helix حيث يلتف الخيطان بهيئة حلزون ، و كل خيط يتكون من سلسلة عديد الببتيد ، و يرتبط خيطي الحلزون مع بعضهما بأواصر هيدروجينية تصل بين القواعد النتروجينية للنيكلوتيدات في الخيوط المتقابلة (الشكل 2-37). و تبدو أزواج القواعد النتروجينية المترابطة بين الخيطين بشكل متعامد على محور جزيئة الدنا و بشكل يشبه درجات السلم الحلزوني ، و ينتظم خيطا الحلزون بشكل متعاكس القطبية فيكون اتجاه الخيط الأول باتجاه $3' \rightarrow 5'$ بينما يكون اتجاه الخط المقابل هو $5' \rightarrow 3'$ و ترتبط القواعد النتروجينية مع بعضها بشكل متخصص حيث ترتبط الثايمين مع الأدينين باصرتين هيدروجينية و السايتوسين مع الكوانين بثلاثة أواصر

هيدروجينية ، أي إن خيطي الحلزون مكملان لبعضهما البعض في ترتيب القواعد النتروجينية و تنتظم بحيث إن اللفة الواحدة (360°) تتألف من 10 أزواج من القواعد النتروجينية .



الشكل 2-37 . ارتباط الخيوط المتقابلة في حلزون الدنا ، يلاحظ أن الخيوط المتقابلة متعاكسة القطبية .

إن التركيب الدقيق لجزيئة الدنا يضمن الثبات العالي للحلزون المزدوج بسبب العدد الكبير من الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد النتروجينية ، فضلا عن أن المستويات الجانبية لأزواج القواعد النتروجينية تكون غير قطبية نسبيا و بذلك تكون غير قابلة للذوبان في الماء و ذلك يفسر ثبات جزيئة الدنا في الوسط المائي لبروتوبلازم الخلية الحية .

المرونة في تغير بناء الدنا

يمثل الحلزون المزدوج الشكل الطبيعي لجزيئة الدنا و يكون داخل الخلية الحية يحتوي على 10.4 أزواج من النيكلوتيدات في اللفة الواحدة بدلا من 10 نيكلوتيدات في اللفة الواحدة التي أشارت لها الدراسات خارج الخلية و يسمى هذا الشكل B (B - form) لجزيئة الدنا و هو ترتيب جزيئة الدنا تحت الظروف الفسيولوجية الطبيعية . إن التغير في الظروف المحيطة بجزيئة الدنا يؤثر على الشكل الطبيعي للجزيئة ، ففي حالة وجود تركيزات عالية من الأملاح أو قلة الماء فإن الدنا يوجد في صورة الشكل A (A - form) والتي يوجد فيها 11 من أزواج النيكلوتيدات في اللفة الواحدة .

إن الاتجاه الطبيعي لحلزونة جزيئة الدنا هو باتجاه حركة عقرب الساعة ، و قد وجد أن بعض جزيئات الدنا أظهرت اتجاها معاكسا لحركة عقرب الساعة و يسمى الحلزون في هذه الحالة Z- form . و يجب أن نتذكر دائما إن تركيب جزيئة الدنا ليس ثابتا و جامدا و إن التغيرات التركيبية لجزيئة الدنا تؤدي دورا حيويا في أداء وظائف الدنا .

Denaturation and Renaturation المسخ و إعادة المسخ

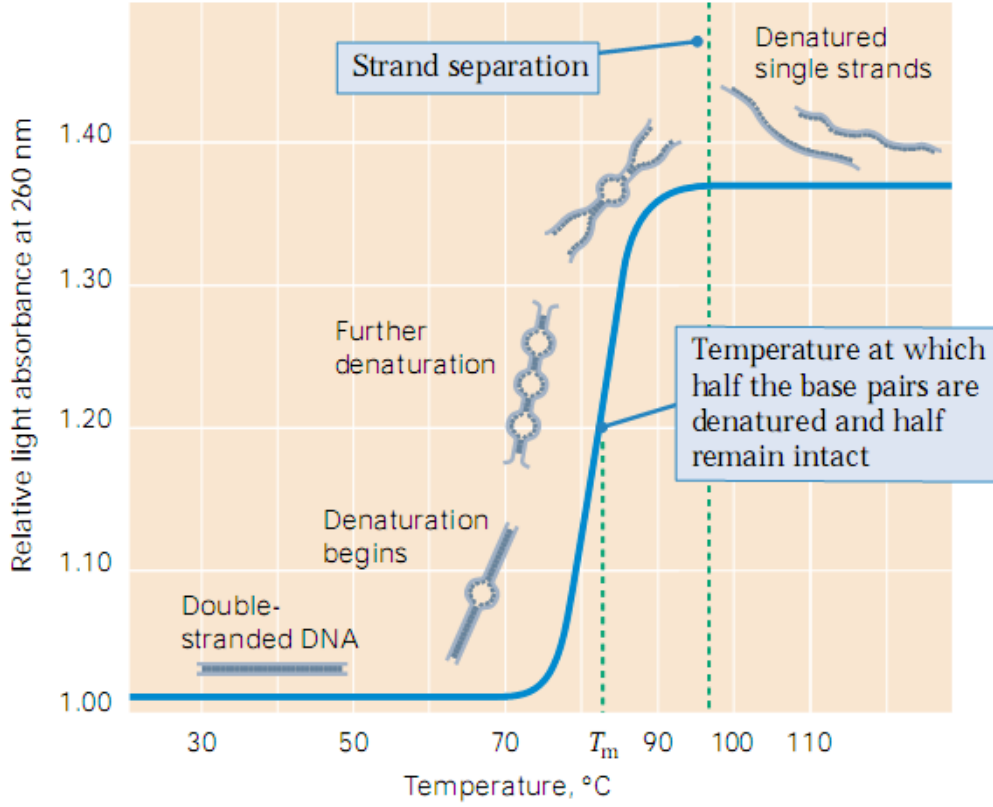
المسخ هي عملية يفقد فيها البروتين أو الحوامض النووية التركيب الثلاثي و التركيب الثانوي الموجود في الحالة الطبيعية ، و ذلك باستخدام الحوامض أو القواعد القوية ، الأملاح غير العضوية المركزة أو الحرارة . في حالة مسخ البروتين يؤدي إلى عرقلة نشاط الخلية و قد يؤدي إلى موت الخلية .

يتعرض الدنا للمسخ عند تعرضه إلى درجة حرارة عالية و يتمثل بانفصال خيطي حلزون الدنا عن بعضهما نتيجة تكسر الأواصر الهيدروجينية التي تربط القواعد النتروجينية في الخيطين . و بهذا فإن جزيئات الدنا الممسوخة تكون عبارة عن جزيئات أحادية الخيط . و يجري متابعة جزيئات الدنا لمعرفة تحولها إلى حالة المسخ باستخدام جهاز الامتصاص الضوئي spectrophotometer حيث إن القواعد النتروجينية تمتص الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet (UV) بطول موجي 260 نانومتر بكمية كبيرة و كلما زاد الامتصاص دلّ ذلك إن المحلول يحتوي على كمية أكبر من الدنا فضلا عن التغير في هيئة الدنا يغير من مقدار امتصاص الأشعة حيث يزداد امتصاص الأشعة مع زيادة المسخ ، وفق العلاقات الآتية :

1- جزيئات الدنا الطبيعية Double strands DNA بكمية 50 mg / ml تمتص 1A260 .
2- جزيئات الدنا الممسوخة إلى خيوط مفردة Single strand DNA بكمية 50 mg/ml تمتص 1.37 A260 .

3- عند تهشيم الخيط المفرد إلى أجزاء من النيكلوتيدات الحرة Free nucleotides بكمية 50 mg/ml تمتص 1.60 A260 .

يجري رسم منحنى الإذابة Melting Curve عن طريق تعريض محلول الدنا إلى درجات حرارة مختلفة بأوقات متدرجة ، و يختلف المنحنى لجزيئة الدنا من نوع لآخر حسب محتواها من نسبة GC % و تعرف درجة حرارة الإذابة Melting temperature (T_m) بأنها مقياس مناسب لوصف انتقال الجزيئة إلى الإذابة ، و هي درجة الحرارة التي يقابلها نصف مقدار الامتصاص الكلي للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 260 نانومتر ، و عمليا يجري تحديدها عن طريق حساب أعلى ارتفاع للمنحنى و نحدد منتصف المسافة للارتفاع و نسقطه على محور درجة الحرارة و نحدد قيمة درجة حرارة الإذابة كما موضح في الشكل (2-38) .



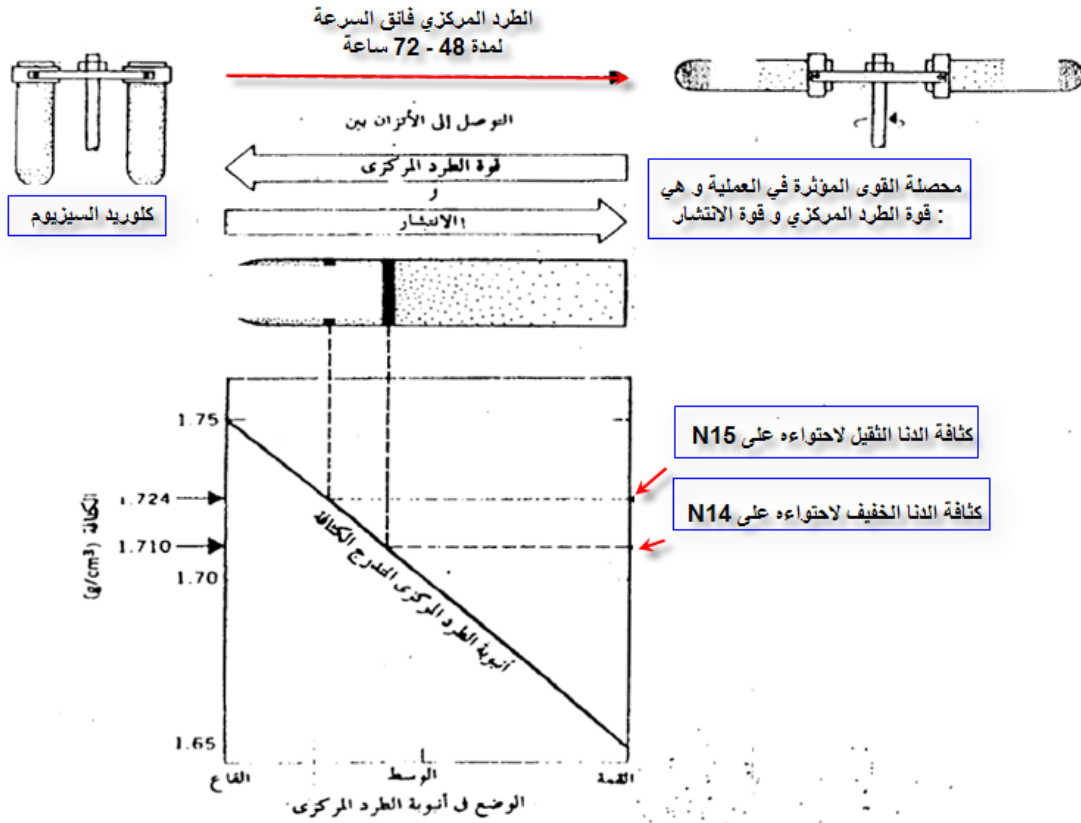
الشكل 2-38 . منحنى الإذابة لجزيئة الدنا و حساب درجة حرارة الإذابة .

في بعض الحالات يمكن إعادة الجزيئة الممسوخة إلى حالتها الطبيعية و يطلق على هذه العملية بإعادة المسخ Renaturation ، ففي حالة مسخ البروتينات لا يمكن إعادة البروتينات الممسوخة إلى طبيعتها بإزالة العوامل المؤثرة التي أدت إلى المسخ . أما في حالة الدنا ، بعد انفصال خيوط الحلزون إلى خيوط مفردة بفعل الحرارة ، يمكن إعادة تشكيل الأواصر الهيدروجينية بتبريد المحلول و تتقابل القواعد النتروجينية بشكل صحيح وفق قاعدة الازدواج القاعدي (A:T و G:C) و بذلك يتكامل الحلزون ، و هذه العملية ذات أهمية كبيرة من الناحية الوراثية و لها استخدامات كبيرة في التقنيات الحيوية و في مقدمتها PCR و غيره . تؤدي درجة الحرارة العالية إلى تكسر الأواصر ثنائية الأيسترون بين النيكلوتيدات و بالتالي نحصل على خيط مقطع ، لذلك البديل عن ذلك يمكن استخدام الوسط القاعدي PH= 11.3 نحصل من خلاله على خيوط مفردة سليمة و يستخدم هيدروكسيد الصوديوم Na OH بكفاءة لهذا الغرض

استخدام الطرد المركزي متعدد الكثافات لتقدير كثافة الدنا

تستخدم المحاليل المركزة للأملاح الثقيلة مثل كلوريد السيزيوم Cesium chloride (CsCl) لتكوين انزان متدرج الكثافات لتقدير كثافة الدنا ، فعند استخدام محلول 6 مولر من كلوريد السيزيوم و تعريضه للطرد المركزي على سرعة عالية جدا (30000 – 50000 دورة / دقيقة) لمدة 48 – 72 ساعة فان قوى الطرد المركزي ستجعل الملح يترسب تجاه قعر الأنبوبة

و بنفس الوقت يضاد هذه العملية الانتشار العكسي لجزيئات الملح في اتجاه طرف الأنبوبة العلوي (التركيز المنخفض للملح) و بعد فترة كافية من الطرد ذو السرعة العالية فأنا نصل إلى حالة الاتزان من الترسيب و الانتشار و يتكون تدرج خطي للكثافات من أعلى إلى أسفل الأنبوبة ، فإذا ما تواجد الدنا في هذا التدرج للكثافة فانه سوف يتحرك و يستقر في الموقع الذي تتساوى مع كثافته ، و يجب أن نتذكر إن قطع الدنا الغنية بقواعد G و C تكون أكثر كثافة من قطع الدنا الغنية بالقواعد A و T و بذلك تتكون حزم منفصلة في المحلول متعدد الكثافات . و تستخدم هذه الطريقة في تقدير % GC (GC ratio) حيث إن جزيئات الدنا تختلف في كثافتها حسب GC % ، و يمكن تحديد النسبة للمجهول من خلال مقارنته مع المنحنى القياسي standard curve (شكل 2-39) .



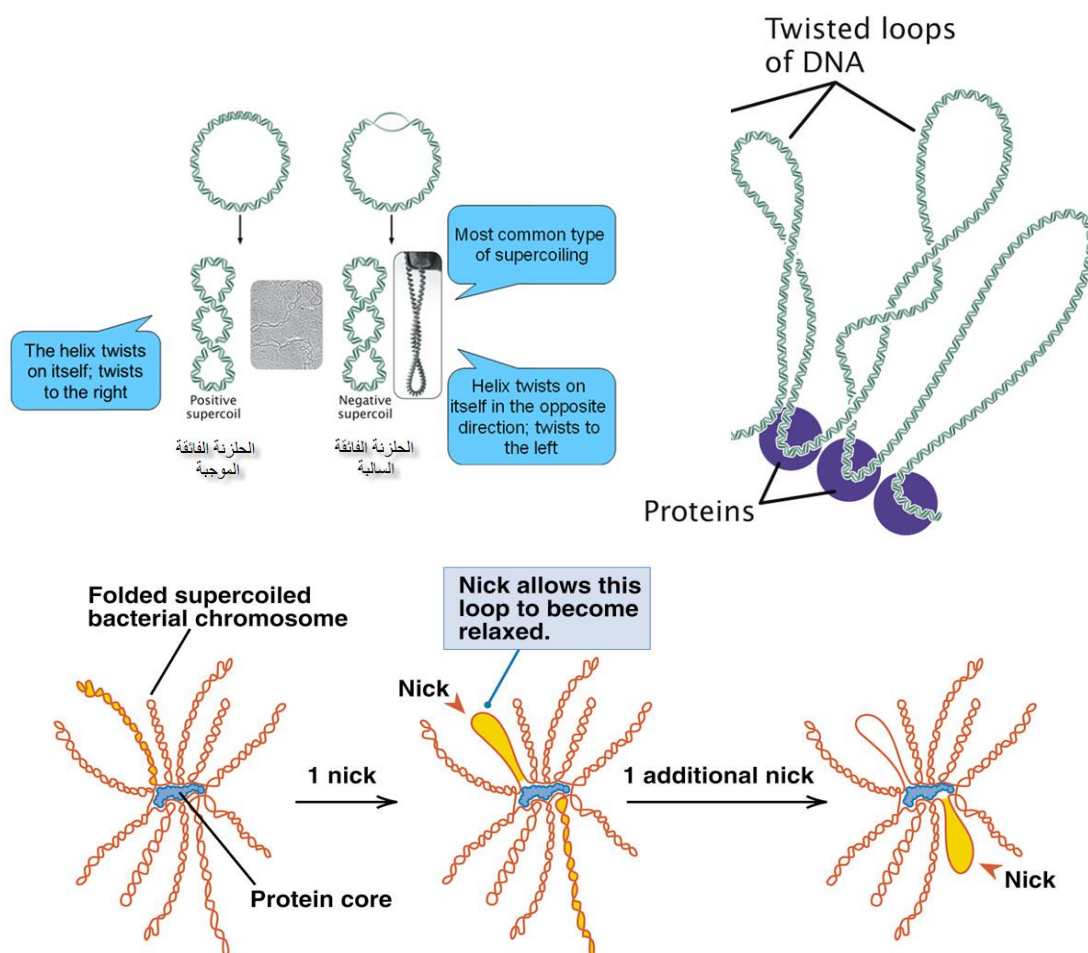
الشكل 2-39 . تقانة الطرد المركزي الفائق متدرج الكثافات ، لتحديد كثافة المادة الوراثية .

و تستخدم هذه التقنية أيضا في دراسة حزمة الدنا التابعة Satellite DNAs ، فعند عزل الدنا من كائنات بدائية النواة مثل بكتريا القولون و تعريضه إلى الوسط المتعدد الكثافات لكلوريد السيزيوم تظهر حزمة الدنا واحدة فقط في موقع يتناسب مع كثافة الدنا . أما في حالة استخدام الدنا من حقيقية النواة و تعريضها إلى الوسط المتعدد الكثافات فتظهر حزمة رئيسية كبيرة للدنا Mainband DNA و حزمة أو أكثر من الحزم الصغيرة تسمى الحزمة التابعة التي تمثل

تتابعات متكررة من النيكلوتيدات غير مشفرة ، على سبيل المثال في حشرة الدروسوفيليا *Drosophila virilis* توجد ثلاثة حزم تابعة مميزة للحشرة .

تركيب الكروموسوم في بدائية النواة Structure of Prokaryote chromosome

توفرت الكثير من المعلومات حول تركيب المادة الوراثية عن طريق الدراسات التي أجريت على الكائنات الحية بدائية النواة ، و ذلك لبرساطتها من الناحية الوراثية و التركيب البيوكيميائي مقارنة بالكائنات حقيقية النواة . ففي معظم الفيروسات و الكائنات الحية بدائية النواة توجد مجموعة كروموسومية واحدة بمعنى آخر مجموعة واحدة من الجينات تنتظم في كروموسوم واحد و الذي يتكون بدوره من جزيئة واحدة من الدنا (أو الرنا في حالة فيروسات RNA) ، و اصغر الفيروسات من نوع الرنا تمتلك ثلاثة جينات فقط ، فضلا عن أن الدراسات تناولت تحديد تتابع النيكلوتيدات للعديد من فيروسات الرنا مثلا الفيروس البكتيري (bacteriophage) MS2 الذي يتألف من 3569 نيكلوتيدة و تمثل أربعة جينات . بينما اصغر فايروسات الدنا يمتلك 9 – 11 جينا و اكبر فيروسات الدنا المعروفة هو فيروس جدري الحيوان الذي يمتلك حوالي 150 جيناً .



الشكل 2-40 . تركيب و انتظام الدنا في الكائنات بدائية النواة .

أما البكتيريا ، مثل بكتريا القولون *E. coli* فتمتلك 3000 – 4000 جين معظمها تتواجد في جزيئة مفردة من الدنا . إن معظم المصادر الوراثية تصف الكروموسوم البدائية النواة بأنه جزيئة دنا فقط على العكس من الكروموسومات الحقيقية النواة التي يرتبط فيها الدنا بالبروتين و يتميز بتركيب مورفولوجي مميز . و يرجع هذا المفهوم الخاطئ نتيجة للأسباب الآتية :

1- إن معظم الصور التي تم الحصول عليها للكروموسومات البدائية النواة جاءت بطريقة الإشعاع الذاتي و الميكروسكوب الالكتروني لجزيئات الدنا المعزولة و ليس الكروموسومات نشطة الايض أو فعالة .

2- معظم الصور الشائعة للكروموسومات البدائية النواة يتم الحصول عليها في مراحل الانقسام الميوزي و الميتوزي و تكون فيها الكروموسومات على درجة عالية من الحلزنة و تكون غير فعالة ايضيا .

من المعروف حاليا إن كروموسومات بدائية النواة الفعالة وظيفيا تظهر قليلاً من التشابه مع جزيئة الدنا المعزول و باستخدام الميكروسكوب الالكتروني ، مثلما هو الحال للكروموسومات الحقيقية النواة الفعالة في الطور البيئي التي تكون قليلة التشابه مع الكروموسومات في الطور الاستوائي للانقسام الميتوزي أو الميوزي .

يبلغ طول محيط جزيئة الدنا الحلقي في بكتريا القولون حوالي 1100 مايكروميتر و حيث إن قطر خلية بكتريا القولون 1 – 2 مايكروميتر فقط لذلك لا بد أن تكون جزيئة الدنا موجودة في شكل شديد الحلزنة داخل الخلية، وتعتبر الحلزنة الفائقة *super coiling* لجزيئة الدنا من الخصائص العامة لجميع الكروموسومات سواء كانت الفيروسية أو الحقيقية النواة ، و يمكن أن تظهر الحلزنة الفائقة بصورتين : الحلزنة الفائقة السالبة و فيها تكون جزيئة الدنا قليلة الحلزنة ، وهي الصورة التي تكون فيها جزيئة الدنا فعالة وظيفيا لانجاز الكثير من الوظائف البيولوجية . و الصورة الثانية للحلزنة الفائقة هي الحلزنة الفائقة الموجبة و كما موضحة في الشكل (2-40) .

تركيب كروموسومات حقيقية النواة Structure of Eukaryote chromosome

معظم الكائنات الحية الحقيقية النواة تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية *diploid* ، أي تمتلك مجموعتين من الجينات ، مجموعة من الأب و المجموعة الأخرى من الأم ، و مع ذلك بعض النباتات الزهرية تكون متعددة المجاميع الكروموسومية أي تحمل عدة نسخ من الجينوم *genom* . بالمقارنة مع بدائية النواة ، تمتلك حقيقية النواة عدد اكبر من الجينات قد يصل إلى 2 – 10 أضعاف مما يوجد في بكتريا القولون فضلا عن امتلاكها كميات كبيرة من الدنا غير المشفر . و تتميز الحقيقية النواة إن هذا الدنا يتجمع في عدد من الكروموسومات و أن كل كروموسوم يتواجد في نسختين في حالة الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسومية . و المعروف إن المجموعة الكروموسومية الأحادية في الإنسان (الجينوم) تحتوي على 1000 ملم من الدنا (تحتوي 2000 ملم في الخلية ثنائية المجموعة الكروموسومية) و يتوزع هذا المتر الطولي من الدنا على 23 كروموسوم مختلفين في الحجم و الشكل ، و يحتوي كل كروموسوم على حوالي 15 – 85 ملم من الدنا حسب حجم الكروموسوم ، و يجب أن ينتظم في حيز من الخلية يشكل حوالي 5 to 10µm .

عند عزل الكروماتين *chromatin* من نواة الخلية في الدور البيئي فانه لا يمكن تمييز الكروموسومات الفردية ، ويمكن خلال هذا الدور ملاحظة تجمع من البروتين النووي

nucleoprotein أظهر تحليله الكيميائي انه يتكون من الدنا ، البروتينات و كمية ضئيلة من الرنا . و تقسم البروتينات إلى نوعين هما :

1- بروتينات قاعدية : تسمى البروتينات الهستونية و تحمل شحنة موجبة و تكون غنية بالأحماض الامينية الارجنين و اللايسين و التي تعطيه الشحنة الموجبة التي ترتبط بأصرة أيونية مع الشحنة السالبة لمجاميع الفوسفات في الجوانب الخارجية للحلزون المزدوج .

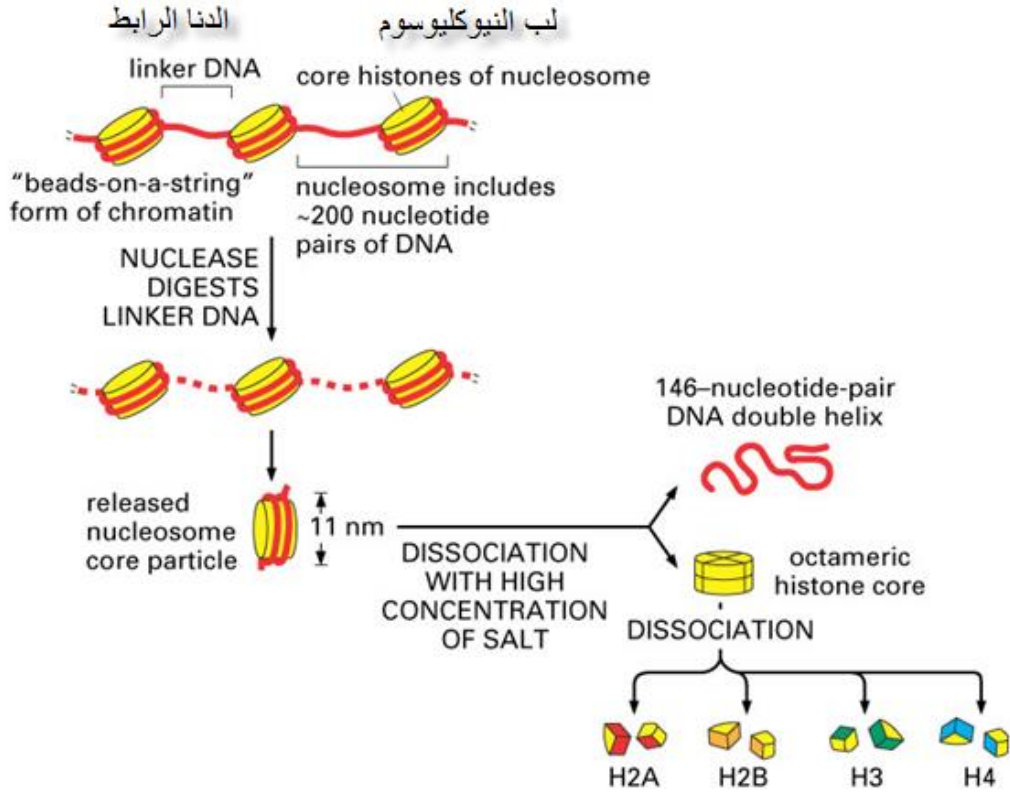
2- مجموعة غير متجانسة من البروتين غالباً ما يكون حامضي (يحمل الشحنة السالبة) و يطلق عليها البروتينات غير الهستونية .

تلعب البروتينات الهستونية دوراً رئيسياً في تركيب الكروماتين ، فهي توجد في كروماتين جميع الكائنات الراقية حقيقية النواة بكميات مكافئة لكميات الدنا ، و تتواجد البروتينات الهستونية في تركيب الكروماتين في خمسة أنواع هي : H_1 ، H_{2a} ، H_{2b} ، H_3 ، H_4 و تتواجد في جميع طرز الخلايا (ماعدا الحيوانات المنوية تستبدل بالبروتامينات) . تكون الهستونات تركيب معقد مع الدنا ينتج عنه وحدات تركيبية أساسية تسمى النيوكلوسومات nucleosomes و هي وحدات ببيضاوية الشكل قطرها 110 انكستروم و ارتفاع 60 انكستروم .

أما البروتينات غير الهستونية فتكون مختلفة بدرجة كبيرة بين طرز الخلايا المختلفة في نفس الكائن الحي ، و يعتقد إن هذه البروتينات تلعب دوراً في تنظيم التعبير الجيني .

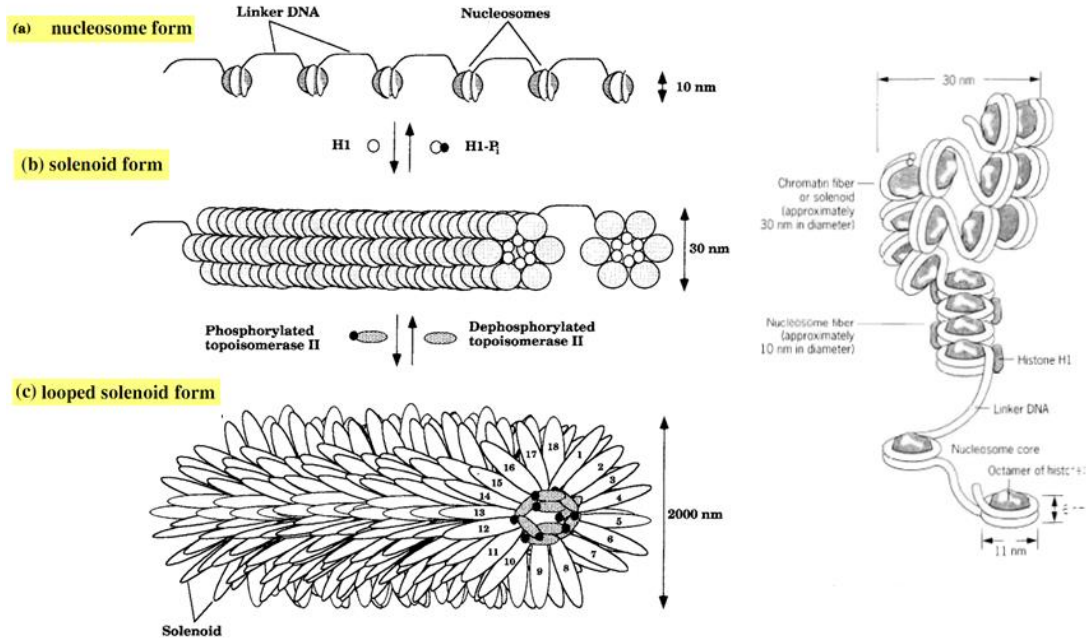
تركيب النيوكلوسوم Structure of Nucleosome

عند فحص الكروماتين تحت الميكروسكوب الالكتروني وجد انه يتكون من سلسلة من الحبيبات البيضاوية متصلة مع بعضها بخيوط رفيعة . و عند الهضم الجزئي للكروماتين بواسطة إنزيمات النيوكليز nuclease المختلفة ينتج عنه 200 زوج نيكلوتيدي تمثل القطع في مناطق الدنا الرابط و ينتج عن عمليات الهضم المكثفة قطع من الدنا بطول 146 نيوكليوتيدة تكون محمية من مهاجمة إنزيمات التحلل و يسمى هذا الجزء لب النيوكلوسوم nucleosome core و هو تركيب ثابت لا يتغير يتكون من 146 زوج نيكلوتيدي و جزئين من كل نوع من الهستونات H_{2a} ، H_{2b} ، H_3 ، H_4 . و التركيب الكامل للنيوكلوسوم يشتمل على لب النيوكليوسوم و الدنا الرابط DNA linker و جزيء واحد من الهستون H_1 . و يختلف حجم الدنا الرابط من نوع لآخر و من طراز خلوي لآخر لنفس الكائن الحي فقد يكون الرابط قصيراً لا يزيد على ثمانية أزواج نيكلوتيدات أو قد يصل إلى 114 زوج نيكلوتيدي . كما موضح في الشكل (2-41) .



الشكل 2-41 . تركيب النيوكليوسوم في الدنا للكائنات حقيقية النواة .

أسلوب انتظام و تعبئة الدنا في الكروموسوم يلتف الدنا حول نفسه في صورة حلزنة فائقة حول وحدات الهستون الثمانية لينتج النيوكليوسوم بقطر 100 انكستروم (10 نانوميتر) و يسمى سلسلة النيوكليوسومات المتصلة مع بعضها 10nm fiber و يتحلزن هذا التركيب ليكون تركيب خيطي بقطر 300 انكستروم (30 nm fiber) و يعتقد إن الهستون H₁ بشارك في الحلزنة الفائقة لخيط النيوكليوسوم 110 انكستروم لإنتاج الخيوط 300 انكستروم . و أخيرا في المستوى الثالث من الحلزنة و تعبئة الكروموسوم تشارك البروتينات غير الهستونية في تكثيف خيوط 300 انكستروم إلى هيئة خيوط متجمعة بإحكام إلى المركز الاستوائي للكروموسوم ، كما موضح في الشكل 2-42 .



الشكل 2-42 . مستويات التعبئة للدنا في كروموسوم حقيقية النواة .

التيلومير Telomere

يشير مصطلح التيلومير إلى منطقة في نهايات الكروموسومات تتكون من تتابعات نيكلوتيدات متكررة، و استخدم المصطلح لأول مرة من قبل Herman J. Muller في عام 1938 عند دراسته على كروموسومات حشرة الدروسوفيليا بعد تعريضها إلى الأشعة السينية ، إذ لاحظ إن الكروموسومات تفقد نهاياتها الطبيعية و لا تنتقل إلى الأبناء، و يشير المصطلح إلى التسمية الإغريقية حيث Telos = end و meros = part . كما لاحظت Barbara McClintock في دراستها على نبات الذرة الصفراء ان نهايات الكروموسومات المكسورة تكون لزجة و تميل إلى الالتحام مع بعضها بينما تكون نهايات الكروموسومات الطبيعية غير المكسورة مستقرة و لا تميل إلى الالتحام مع الكروموسومات المكسورة أو الطبيعية (Snustad و Simmons ، 2000)، و يكون تركيب التيلوميرات في كروموسومات حقيقية النواة مكون من تتابعات نيكلوتيدية قصيرة متكررة، و يختلف هذا التتابع بين الأنواع المختلفة كما موضح في الجدول 1-2 لبعض الكائنات الحية حيث يكون على سبيل المثال في الإنسان و بقية الفقريات TTAGGG (Blasco ، 2005) . و من خصائص منطقة التيلومير عدم تضاعفها عند تضاعف الدنا في الكروموسوم بفعالية إنزيم DNA polymerase و إنما ينقسم مع كل دورة انقسام و ينتج عن ذلك قصر منطقة التيلومير و مع تكرار عمليات انقسام الخلية يصل طول التيلومير إلى الحد الحرج و الذي يؤشر إلى الخلية للتوقف عن الانقسام و تسمى حدود هيفلك Hayflick limits و في خلية الإنسان تتراوح عدد مرات الانقسام 40 – 60 انقسام. أما خط الخلايا الجرثومية و السرطانية التي تمتاز بتواصل انقسامها فيتم تجديد منطقة التيلومير بفعالية إنزيم Telomerase.

الجدول 1-2 . تتابعات منطقة التيلومير في بعض الكائنات الحية.

تسلسل التيلومير	الكائن الحي
TTGGGG	Tetrahymena
TTTTGGGG	Euplotes
TTTTGGGG	Oxytricha
TTAGGG	Human
TTAGGG	Mouse
TTTGATTAGGTATG	<i>K. lactis</i>

السنتروميير Centromere

يتضمن الانقسام الخلوي (الميتوزي أو الميوزي) خلال الطور الانفصالي حركة الكروموسومات إلى أقطاب الخلية المتضادة، و تتطلب هذه الحركة ارتباط خيوط المغزل الدقيقة إلى منطقة محددة في الكروموسوم تسمى السنتروميير ، و تؤدي منطقة السنتروميير نفس الوظيفة في الأنواع المختلفة من الكائنات الحية ولذلك فإنها تتشابه في التركيب، و بعد دراسة تركيب منطقة السنتروميير خلال الطور الاستوائي اتضح إن المنطقة لا تكون متضاعفة بالرغم من أن الكروموسوم متضاعف و يتكون من كروماتيدين شقيقين يتصلان مع بعضهما في منطقة السنتروميير، و إن عملية إنتاج مناطق السنتروميير الفعالة وظيفيا لكل كروماتيد تمثل المفتاح الذي يؤشر للانتقال من الطور الاستوائي إلى الطور الانفصالي.

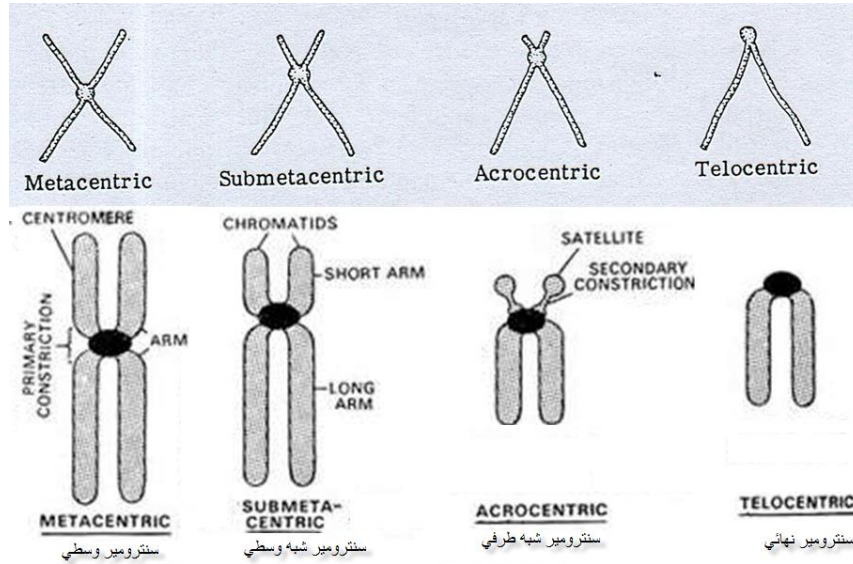
وصف الكروموسومات و عمل الهيئة الكروموسومية للفرد

يمتلك كل نوع من الكائنات الحية عدداً ثابتاً من الكروموسومات و مميزة في الشكل و خاصة بذلك النوع ، و معظم الكائنات الحية الراقية تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية (2n) أي مجموعتين من الكروموسومات المتناظرة ، مجموعة يحصل عليها الفرد من الأب و المجموعة الأخرى من الأم ، و مع ذلك فإن تعدد المجاميع الكروموسومية موجود في الطبيعة إذ يقدر أن ثلث النباتات الزهرية (مغطاة البذور) تحتوي على أكثر من مجموعتين من الكروموسومات . و يختلف عدد الكروموسومات بين الأنواع بدرجة كبيرة ففي دودة الأرض Round Worm تمتلك كروموسومين فقط إلى البروتوزوا Protozoa التي تمتلك أكثر من 300 كروموسوم و تتدرج بقية الأنواع بين هذه الحدود المتطرفة ، و مع ذلك فإن امتلاك نوعين لنفس العدد لا يعني انتماءهم إلى النوع نفسه حيث هناك اختلافات في حجم الكروموسومات و موقع السنتروميير و غيرها .

تختلف الكروموسومات في الحجم باختلاف أطوار الانقسام الخلوي :

- 1- الطور البيني Interphase تكون الكروموسومات في أنحف و أطول صورها .
- 2- الطور التمهيدي Prophase تبدأ الكروموسومات تدريجياً بالقصر طولاً و زيادة السمك
- 3- الطور الاستوائي Metaphase و فيه تكون الكروموسومات في أسمك صورها و مميزة احدهما عن الآخر لذلك تعتبر الأفضل لاستخدامها في الدراسات الخاصة بالوراثة الخلوية، و فيها تؤخذ قياسات الكروموسومات .
- 4- الطور الانفصالي Anaphase تكون فيه الكروموسومات في اصغر صورها .

- و يجري وصف الكروموسوم لتمييزه عن بقية الكروموسومات بالاعتماد على طول الكروموسوم ، موقع السنترومير أو بالاعتماد على عدد و شكل الحزم التي تتكون على الكروموسوم عند اصطبائه بإحدى الصبغات الحيوية . و تصنف الكروموسومات حسب موقع السنترومير إلى :
- 1- وسطي السنترومير Metacentric و فيه يقسم السنترومير الكروموسوم الى ذراعين متساويين
 - 2- شبه وسطي السنترومير Submetacentric يكون موقع السنترومير باتجاه احد الطرفين و ينتج عن ذلك ذراعان للكروموسوم غير متساويين بالطول يرمز للذراع القصير P و يرمز للذراع الطويل q . كما موضح في الشكل (2-43) .
 - 3- شبه طرفي السنترومير Acrocentric يقع فيه السنترومير قريباً من طرف الكروموسوم .
 - 4- نهائي السنترومير Telocentric يكون موقع السنترومير في احد طرفي الكروموسوم .



الشكل 2-43 . تصنيف الكروموسومات حسب موقع السنترومير

ويجري عمل الهيئة الكروموسومية Karyotype عن طريق عرض جميع الكروموسومات التي يمتلكها الفرد بشكل صوري ، و يتم ترتيب الكروموسومات حسب حجم الكروموسومات و بشكل أزواج متناظرة

(في الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسومية) ابتداء من الكروموسوم الأكبر الى الأصغر . و الفائدة من دراسة الهيئة الكروموسومية هو التعرف على تأثير التغيرات في الهيئة الكروموسومية و مدى ارتباطها ببعض الأمراض الوراثية مثل متلازمة داون ، إذ يتم ملاحظة فقدان الكروموسومات ، وجود كروموسومات إضافية ، فقدان جزء من الكروموسوم ، وجود جزء إضافي على الكروموسوم ، وجود كسر و إعادة ترتيب على الكروموسوم . و الأساس المعتمد لتحضير الكروموسومات هو استخدام عينة من خلايا الكائن الحي توضع في وسط غذائي يحتوي على مواد كيميائية لتحفيز انقسام الخلايا و إيقاف عملية الانقسام في مرحلة معينة (تكون فيها الكروموسومات مميزة و واضحة) و بعد ذلك تحطيم جدار الخلية باستخدام

المواد الكيماوية المتخصصة تتحرر الكروموسومات من جدار الخلية و الغلاف النووي ، ليصبح بالإمكان تصيبغ الكروموسومات و فحصها .
و أشار البلداوي و آخرون (1980) الى الخطوات العملية و المواد الكيماوية المستخدمة لعمل الهيئة الكروموسومية و ذلك بأخذ 5 مل من الدم في سرنجة تحتوي على 0.8 مل هيبارين Heparin لمنع تخثر الدم ، يؤخذ منها 1 مل و تضاف الى 7.2 مل من وسط غذائي خاص (Difco 199 10x) فضلا عن 1.8 مل من مصل الدم و يضاف له 0.5 مل بيكاربونات الصوديوم بتركيز 2.8 % و كذلك 0.5 مل Phytohama glutinin و التي تعمل على تحفيز خلايا الدم البيضاء على الانقسام و كذلك 0.4 مل من محلول ستربتومايسين أو البنسلين كمضاد حيوي (لمنع حدوث التلوث و النموات غير الطبيعية) .

يتم حضن العينة لمدة 68 – 72 ساعة في حاضنة درجة حرارتها ثابتة 37 – 38 م° مع الرج مرتين يوميا و قبل نهاية المدة المذكورة يضاف إليها مادة الكولشيسين Colchicin بتركيز 0.01 % لإيقاف عملية الانقسام الخلوي في طور الانقسام الاستوائي . تنقل العينة بعدها الى أنابيب اختبار و تعرض الى الطرد المركزي بمعدل 1000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق ، يستبعد المحلول العلوي و نحتفظ بالراسب الذي يعامل بحامض كلوريد البوتاسيوم تركيز 0.7 و لمدة 40 دقيقة ، بعد ذلك يعرض للطرد المركزي بنفس القوة و المدة و نستبعد المحلول و نحتفظ بالراسب الذي يعامل بحامض الخليك بتركيز 100% جزء : 3 أجزاء كحول الايثانول بتركيز 100% لغرض إجراء التثبيت . بعد ذلك تتم عملية الطرد المركزي بنفس القوة و الفترة لثلاث مرات متكررة و نتيجة ذلك نحصل على كروموسومات خالية من السائتوبلازم حيث ينقل الراسب الى شريحة زجاجية مبردة و نعمل مسحة على السلايد و يجفف بالهواء بدرجة حرارة الغرفة لمدة 48 – 72 ساعة بعدها يتم تصيبغ الكروموسومات .

اصطباغ الكروموسوم و تحديد الحزم Staining and Banding chromosome

تستخدم العديد من الطرائق و المعاملات الكيماوية للكروموسومات للتعرف على مناطق معينة من الكروموسوم عن طريق اصطباغها بإحدى الصبغات لتكوين الحزم الكروموسومية chromosomal bands ، بصورة عامة تصطبغ منطقة السنتروميير و القريبة منها فضلا عن منطقة التيلوميير بصبغة داكنة و يطلق على هذه المناطق الداكنة هيتروكروماتين heterochromatin و وجد انه يتكون من خيوط كروماتينية فاتحة الحلزنة و يكون غير نشط وراثيا . أما المناطق الأخرى من الكروموسوم فيكون اصطباغها باهتا و تسمى يوكروماتين Euchromatin يتركب من خيوط اقل تحلزنا و معظم الجينات التي تمت دراستها في حقيقية النواة موجودة في مناطق يوكروماتين من الكروموسوم .

هناك عدد من الصبغات المستخدمة لصبغ الكروموسومات ينتج عنها طراز مميز من الحزم تكون مميزة للكروموسوم و من هذه الصبغات :

1- حزم صبغة الفولجين Feulgen Stain يتم معاملة الكروموسومات بوسط حامضي HCl (1N) لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 60 م° ، قبل معاملتها بهذه الصبغة و هي صبغة متخصصة للدنا و لا تستخدم للرنا .

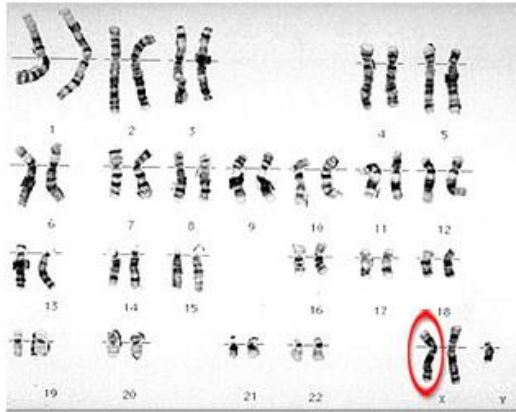
2- حزم Q (Q bands) : حزم متألقة تتكون بعد معاملة الكروموسومات بصبغة كونكريين Quinacrine mustard stain و يتم ملاحظتها باستخدام الأشعة فوق البنفسجية UV .

3- حزم R (R bands) : ويشير الحرف R الى كلمة reverse حيث تقع هذه الحزم في المواقع التي لم تتألق باستخدام صبغة كونكرين أي إنها تقع بين الحزم Q و يمكن مشاهدتها باللون الأخضر .

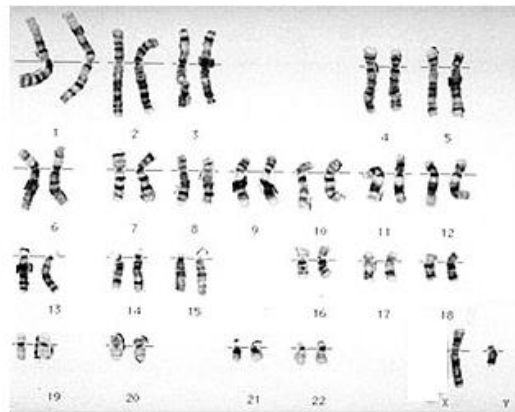
4- حزم G (G band) : سميت بالحرف G لأنها تتكون نتيجة استخدام الصبغة كمزا Giemsa و تكون مواقعها في نفس المواقع للحزم Q إلا إنها حزم غير متأققة و بالتالي يمكن ملاحظتها مباشرة . تستخدم العديد من التقنيات لاستخدام الصبغة كمزا و تحتاج الى معاملات خاصة للكروموسومات تسبق المعاملة بالصبغة ، على سبيل المثال عند استخدام صبغة كمزا الحامضية ASG (Acid-Saline-Giemsa) يتم حضن الخلايا بدرجة حرارة 60 م° و بوجود حامض الخليك و كلوريد الصوديوم لمدة ساعة واحدة بعدها يجري معاملتها بصبغة كمزا .

5- حزم C (C banding) : سميت بالحرف C للإشارة الى constitutive heterochromatin. تستخدم لإظهار موقع السنترومير على الكروموسوم و تحديد مواقع الهيتروركوماتين و الايوكروماتين .

بعد تصبغ الكروموسومات يتم فحص السلايد باستخدام الميكروسكوب بقوة تكبير 1000 باستخدام العدسة الزيتية و تصويرها بواسطة كاميرا مثبتة على الميكروسكوب ، ويتم قص الكروموسومات و يجري ترتيبها حسب الكروموسومات المتناظرة من حيث الحجم ابتداء من الكروموسومات الكبيرة ثم الأصغر و يجري تصويرها بالشكل النهائي كما في الشكل (2-44) لتمثل الحالة الطبيعية للنوع ، و في حالة وجود انحراف عن الهيئة الكروموسومية الطبيعية تؤشر الى وجود شذوذ كروموسومي في الفرد .



الشذوذ الكروموسومي Klinefelter disorder

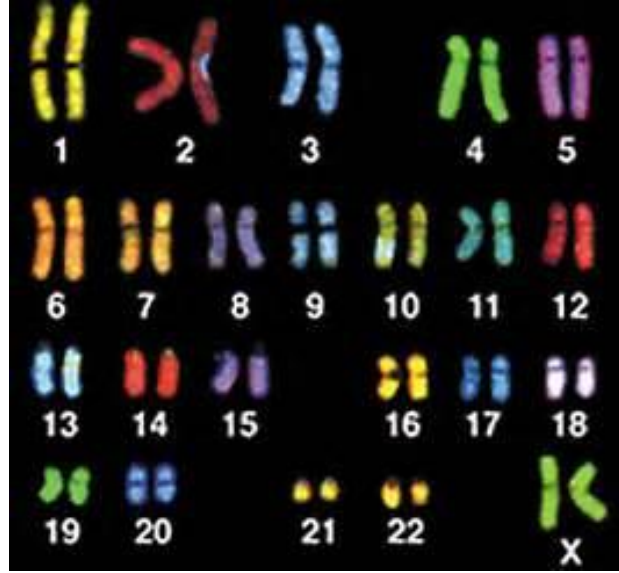


الهيئة الكروموسومية الطبيعية للإنسان

الشكل 2-44 . الهيئة الكروموسومية الطبيعية و الشذوذ الكروموسومي للإنسان .

و يشير Freeman (2002) إلى وجود تقنيات حديثة عالية الدقة لانجاز الهيئة الكروموسومية تسمى chromosome painting يجري انجازها باستخدام الصبغات المشعة fluorescent dyes و فيها ترتبط جزيئات الدنا القصيرة مع هذه الصبغات بشكل متخصص و باستخدام توليفة من الصبغات يمكن للباحثين إعطاء كل زوج من الكروموسومات المتناظرة لوناً خاصاً بها (شكل 2-45) ، و تعدّ هذه التقنية مهمة لأنها تسمح بتشخيص الشذوذ الكروموسومي البسيط و

غير الملحوظ مثل فقدان صغيرة من الكروموسوم فضلا عن تشخيص المشاكل الكبيرة التي يمكن ملاحظتها في التقنيات التقليدية .



الشكل 2-45 . الهيئة الكروموسومية باستخدام الصبغات المشعة .

و يشير AbouAlaiwi و آخرون (2002) إلى تطوير تقانة استخدام الصبغات المشعة في عمل الهيئة الكروموسومية و ذلك باستخدام التقانة الطيفية spectral karyotyping و التي أثبتت أنها تقانة فعالة في الوراثة الخلوية ، و تعتمد هذه التقانة على استخدام صبغات مشعة تحتوي على مجسات من الدنا خاصة بكل كروموسوم (في الإنسان مثلا) و بذلك يكون لكل كروموسوم لون خاص ، و تستخدم التقنيات الرقمية و الحاسوب في تصوير و تحليل النتائج لصور الكروموسومات مما يسمح بدقة التشخيص لحالات الشذوذ الكروموسومي.

استخلاص الدنا

تتطلب معظم فعاليات مختبرات الوراثة التعامل المباشر مع المادة الوراثية الدنا و لذلك تمارس عملية استخلاص الدنا بشكل روتيني و من مصادر حيوية مختلفة ، و يمكن إدراج عدد من الفوائد التي يمكن تحقيقها من خلال استخلاص الدنا :

- 1- يجري استخلاص الدنا كجزء من الاختبارات الوراثية genetic testing ، و الفحوص الصحية .
 - 2- يستخدم الدنا في البحث عن الأدلة في القضايا العائلية و الجنائية ، فضلا عن مشكلات إثبات النسب.
 - 3- تتطلب إجراء البحوث في مجال تقنيات الهندسة الوراثية استخدام عينات الدنا من مصادر مختلفة .
- تهدف عملية استخلاص الدنا تنقيته من البروتينات و بقية مكونات الخلية ، و تبدأ عملية الاستخلاص بالحصول على الخلايا حيث يتواجد الدنا في نواة الخلية ، و تتضمن العملية عدد من الخطوات العامة سواء كان مصدر الخلايا نباتية أو حيوانية و هي :
- 1- توفير الخلايا التي تمثل مصدر الدنا .
 - 2- استخدام التقنية المناسبة لتحطيم الخلايا و إطلاق الدنا من نواة الخلية .
 - 3- فصل الدنا عن البروتينات و بقية مكونات الخلية .
 - 4- تنقية الدنا و تركيزه .

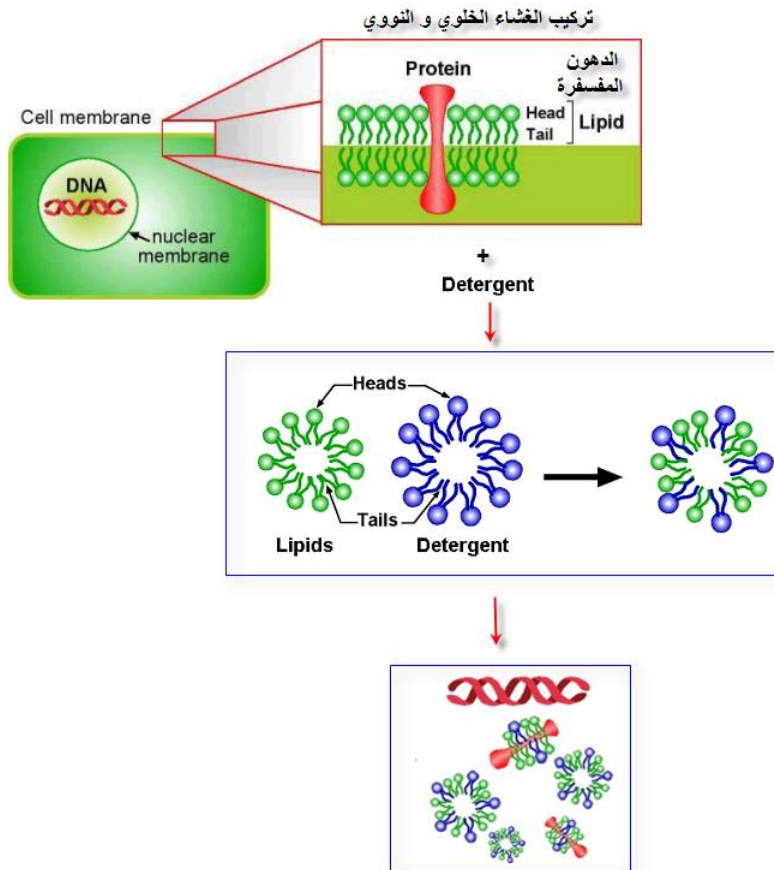
و يمكن الحصول على الدنا من أنواع الكائنات الحية المختلفة مثل البكتريا و العاثيات و النباتات و الحيوانات ، و يراعى فيها الخطوات الرئيسية العامة مع وجود بعض الخصوصية لكل نوع. تعد عملية الاستخلاص و التنقية للأحماض النووية الخطوة الأولى في معظم تقنيات البيولوجي الجزيئي و الهندسة الوراثية، و للحصول على الدنا بصورة نقية و خالية من التلوث بالمثبطات يجب اختيار طريقة الاستخلاص المناسبة، إذ يجب الانتباه إلى وجود عدد من المثبطات التي تعيق العمل في تقنية PCR وتؤدي إلى الحصول على نتائج غير صحيحة نتيجة وجود مثبطات تقنية PCR و كما موضحة في أدناه :

المثبط	تركيز المثبط
SDS (Sodium Dodecyl Sulphate)	< 0.005%
Phenol	< 0.2%
Ethanol	< 1%
Isopropanol	< 1%
Sodium acetate	< 5 mM
Sodium chloride	< 25 mM
EDTA	< 0.5 mM
Hemoglobin	< 1 mg/ml
Heparin	< 0.15 i.u./ml
Urea	< 20 mM
Reaction mixture	< 15%

طرائق استخلاص الدنا

إن عملية استخلاص الدنا من المواد البيولوجية يتطلب التحلل الخلوي cell lysis ، و يجب مراعاة إن هذه العملية تكون دقيقة تستخدم فيها القوة اللازمة لتحطيم الخلايا (الأنسجة مثلا) و في نفس الوقت يجب مراعاة المحافظة على سلامة الدنا المستخلص من التدمير، و تستخدم لهذا الغرض العديد من الطرائق منها:

- 1- تحطيم الخلايا ميكانيكيا مثل الطحن grinding أو التحلل بالازموزية .
- 2- تحطيم الخلايا باستخدام المعاملات الكيميائية مثل استخدام المنظفات detergents، أو استخدام الثايول thiol reduction ، أو استخدام Ethylene diamine tetra acetate (EDTA) الذي يعمل على إزالة ايونات المغنسيوم التي تعتبر ضرورية للحفاظ على تركيب الغشاء الخلوي ، أو استخدام (SDS) (Sodium Dodecyl Sulphate) الذي يساعد على تحطيم الأغشية الخلوية عن طريق إزالة الدهون من غشاء الخلية (الشكل 2-46).



الشكل 2-46. تركيب الغشاء الخلوي و النووي الذي يتطلب تحطيمه للحصول على الدنا.

- 3- تحطيم الخلايا و الأنسجة بالهضم الإنزيمي مثل استخدام protease. و يجب أن تتضمن العملية تحطيم الغشاء الخلوي و تعطيل الإنزيمات المحطمة للدنا ضمن نفس العملية و ذلك باستخدام المنظفات لتدمير الغشاء الخلوي و استخدام chaotropic agents لتعطيل

الإنزيمات المحطمة للدنا الناتجة من داخل الخلية ، و بعد ذلك يجري إزالة مخلفات حطام الخلايا عن طريق التصفية أو الترسيب بالطرد المركزي.

طرائق تنقية الدنا DNA purification methods

يستخدم لتنقية الحمض النووي من بقية المستخلصات الخلوية اثنتان أو أكثر من التقنيات المتاحة للتنقية مثل الاستخلاص و الترسيب ، تقنية الكروماتوغرافي ، الطرد المركزي الفائق ، تقنية الفصل بالجذب و الألفة. و التقنية الأكثر استخداما هي الاستخلاص و الترسيب و التي سنتناولها بالوصف:

الاستخلاص و الترسيب Extraction / precipitation: و يستعمل لهذا الغرض مذيبات الاستخلاص لإزالة الملوثات عن الدنا التي تشمل البروتينات و جزيئات RNA ، إذ يستعمل عادة الفينول phenol و الكلوروفورم chloroform لإزالة البروتينات بالاعتماد على قدرة الفينول و الكلوروفورم على مسخ البروتينات الموجودة في العينة و إمكانية استبعادها ، فضلا عن قدرتها على تثبيط عمل الإنزيمات المحطمة للدنا حيث تعمل المذيبات العضوية على ترسيب البروتين تاركة الأحماض النووية بحالة ذائبة ، و تتلخص الطريقة بإضافة حجم مساوٍ من الفينول مع محلول الخلايا المحطمة و يمزج المحلول جيدا و بهدوء و توضع الأنبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة 65 م لمدة ثلاث دقائق و يعاد المزج لأربع مرات ثم يستخدم الطرد المركزي بقوة 5000 د/ دقيقة و لمدة خمس دقائق و ينتج عن ذلك انفصال المزيغ إلى ثلاث طبقات في الأعلى تمثل الدنا و الوسطية تمثل طبقة سميكة بيضاء لزجة تمثل البروتينات و الطبقة في الأسفل تمثل طبقة الفينول، حيث يتم سحب طبقة الدنا بعناية باستخدام ماصة باستور و تنقل إلى أنبوبة نظيفة و يضاف للدنا مزيج الكلوروفورم : ايزواميل بنسبة 1:24 و تمزج جيدا و بعدها يفصل الدنا بواسطة الطرد المركزي و ينقل إلى أنبوبة نظيفة ، و الخطوة اللاحقة يضاف 10 مايكروليتر محلول كلوريد الصوديوم عيارية 2.5 مولاري و تليها عملية الترسيب (الفيسل ، 1999 ب). أما عملية ترسيب الدنا فيستخدم الايزوبروبانول isopropanol أو الايثانول المطلق absolute ethanol لتركيز و ترسيب الدنا، إذ يظهر الدنا كخيوط بيضاء و يترك لمدة ساعتين بدرجة -20 م ثم يستخدم الطرد المركزي 5000 د/ د لمدة خمس دقائق لترسيب خيوط الدنا ، و يستبعد الكحول في الأعلى ثم يخفف الدنا بمحلول TE و يخزن بدرجة -20 م .

يجري تنقية الدنا المستخلص من التلوث بالحامض النووي الرايبوزي RNA باستخدام إنزيم تحلل الرنا RNase A و يعاد استخلاصه ثانية حسب الخطوات التي تم وصفها سابقا، و بالرغم من أن الدنا الملوث بالرنا يمكن استخدامه في العديد من التقنيات الجزيئية دون تأثير إلا إن تنقيته من الرنا تكون ضرورية عند استخدامه في الهندسة الوراثية.

و لإجراء عملية الاستخلاص يتطلب وجود عدد من الأجهزة و العدد المختبرية و هي : حمام مائي ، جهاز طرد مركزي microcentrifuge ، أدوات قياس حجمية micropipetors ، عدد من المحاليل (محلول تحلل الخلايا lysis solution ، محلول ملحي مركز ، resuspension buffer ، كحول الايثانول أو كحول ايزوبروبيل isopropyl) .

استخلاص الدنا من المصادر الحيوانية

يمكن استخلاص الدنا من عدة مصادر للخلايا الحيوانية مثل الدم ، اللعاب ، الأنسجة ، والمني . و لنأخذ مثال استخلاص الدنا من الخلايا الطلائية الموجودة في اللعاب وفق الخطوات الآتية : يتم وضع عينة الخلايا في أنبوبة اختبار و نضيف إليها محلول تحلل الخلايا و توضع في حمام مائي لمدة 10 دقائق و يحتوي المحلول على مواد كيميائية (المنظفات detergent و إنزيمات تحلل البروتين protease) و يعمل هذا المحلول على تحطيم جدار الخلية و الغشاء النووي بتأثير المواد المنظفة بينما تعمل إنزيمات تحلل البروتين على تحطيم الهستونات و تحرير الدنا من الخلية . يضاف المحلول الملحي المركز ليعمل على تجميع البروتينات و بقية مكونات الخلية مع بعضها ، ثم وضع أنبوبة الاختبار في جهاز الطرد المركزي (بسرعة 8000 دورة / دقيقة) بعد ذلك يستبعد الراسب (البروتينات و بقية مكونات الخلية) و يحتفظ بالمحلول الذي يحتوي على الدنا في أنبوبة أخرى .

الخطوة التالية تتضمن ترسيب الدنا باستخدام الكحول حيث يضاف الكحول الإيثيلي أو كحول ايزوبروبيل و ترج الأنبوبة برفق لخلط الكحول مع المحلول ، و بما أن الدنا لا يذوب في الكحول لذلك يبدأ بالظهور على شكل خيوط بيضاء و تسمى هذه الخطوة ترسيب الدنا بالكحول ، توضع أنبوبة الاختبار في جهاز الطرد المركزي حيث يمثل الراسب الدنا و يستبعد المحلول في أعلى الأنبوبة .

استخلاص الدنا من مصادر نباتية

تختلف الخلية النباتية عن الخلية الحيوانية في امتلاكها للجدار الخلوي ، و تبقى الخطوات الأساسية لاستخلاص متشابهة ، فإذا أردنا استخلاص الدنا من بذور البازيلاء الخضراء green split peas نتبع الخطوات الآتية :

1- نضع نصف كوب من بذور البازيلاء في الخلاط blender و نضيف إليه كمية قليلة من ملح الطعام (1/8 ملعقة شاي) و يضاف للخليط 200 مل ماء بارد لتقليل درجة الحرارة الناتجة عن الاحتكاك عند تشغيل الخلاط . و يتم تشغيل الخلاط لمدة 15 ثانية ، حيث تؤدي العملية إلى تكسير البذور و فصل الخلايا عن بعضها .

2- يجري فصل المحلول الذي يحتوي على الخلايا العالقة عن بقية مكونات البذور الصلبة باستخدام مصفاة دقيقة ، و يضاف إلى المحلول 30 مل من محلول منظف detergent و يتم خلطه بالمحلول و يترك لفترة 10 دقائق . ينقل الخليط بعد ذلك إلى أنابيب اختبار بحيث يوضع في كل أنبوبة مقدار ثلث الأنبوبة .

3- يضاف إلى الأنبوبة القليل من إنزيم تحلل البروتين protease الموجود في Meat tenderize أو في عصير الأناناس pine apple juice و يعمل الإنزيم على تحطيم البروتينات الهستونية و تحرير جزيئة الدنا .

4- تمسك أنبوبة الاختبار بصورة مائلة (الشكل 2-47) و يضاف كحول ايزوبروبيل isopropyl (70 – 95 %) بشكل تدريجي على جدار الأنبوبة لتكوين طبقة من الكحول في أعلى خليط الخلايا و بنفس حجم الخليط ، و بما أن الكحول أقل كثافة من الماء لذلك يكون في الأعلى ، إن جزيئات الدنا لا تذوب في الكحول لذلك تبدأ بالظهور على شكل خيوط بيضاء متشابكة في منطقة اتصال الكحول مع الخليط ثم تبدأ تدريجياً تتجمع في طبقة الكحول . و يجري سحب طبقة الكحول مع الدنا الذي تحتويه إلى أنبوبة أخرى و يعزل عنها الدنا باستخدام الطرد المركزي .

استخلاص الدنا من بذور البزاليا



STEP 2

الخطوة الاولى
1- اضافة نصف كوب بذور البزاليا
2- اضافة قليل من ملح الطعام و نصف
كوب ماء بارد لازالة تأثير حرارة الاحتكاك
3- تشغيل الخلاط لمدة 15 ثانية



STEP 3

الخطوة الثانية
عزل محلول الخلايا العالقة عن
المخلفات الصلبة
و اضافة حوالي 30 مل من محلول
detergent



الخطوة الثالثة
اضافة القليل من انزيم تحلل البروتين
لتكسير الهستونات و تحرير الدنا



STEP 4

الخطوة الرابعة
يوضع الأنبوبة بشكل مائل
ويضاف كحول ايزوبروبيل تدرجيا
على الجدار الداخلي للأنبوبة



FINISH

النتيجة
ظهور شبكة من خيوط الدنا البيضاء المتشابكة
في طبقة الكحول الموجودة في الاعلى

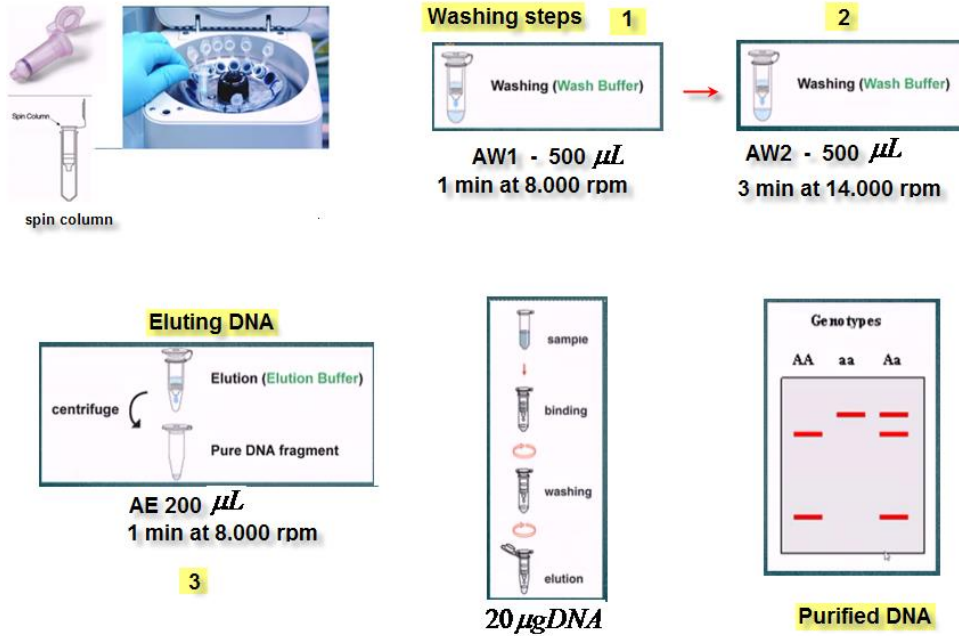
الشكل 2-47 . خطوات استخلاص الدنا من بذور البزاليا .

استخلاص الدنا باستخدام عدة الاستخلاص الجاهزة

تعمل العديد من شركات التقنيات الحيوية على توفير عدد متنوع لاستخلاص الدنا من مصادر مختلفة مثلها QIAGEN blood kit التي تستخدم لاستخلاص الدنا من عينة الدم بإتباع الخطوات الآتية :

- 1- يوضع مقدار 20 مايكروليتر من إنزيم protease في أنبوبة اختبار بلاستيكية تحتوي غطاء سعة 1.5 مل مخصصة إلى جهاز الطرد المركزي microcentrifuge.
- 2- يضاف إلى أنبوبة الاختبار 200 مايكروليتر من عينة الدم .
- 3- يضاف مقدار 200 مايكروليتر من المحلول المنظم AL buffer إلى العينة و تخلط باستخدام جهاز الرج vortex لمدة 15 ثانية و يتم حضنها بدرجة 56 م° لمدة 10 دقائق في حمام مائي باستخدام حاملة أنابيب طافية .
- 4- يضاف 200 مايكروليتر من كحول الايثانول (96 – 100 %) ethanol إلى العينة و يخلط باستخدام جهاز الرج لمدة 15 ثانية .
- 5- يستخدم الخليط من الخطوة السابقة بعناية مع عمود التدوير المجهز من الشركة QIAamp Spin Column (الشكل 2-47) و يركب مع أنبوبة تجميع سعة 2 مل و يغلق الأنبوبة و توضع في جهاز الطرد المركزي 8000 دورة / الدقيقة لمدة دقيقة واحدة .

- بعد ذلك تنقل أنبوبة التدوير QIAamp Spin Column إلى أنبوبة جمع جديد و نظيف سعة 2 مل و يستبعد الأنبوبة الذي يحتوي على الراشح .
- 6- يفتح عمود التدوير QIAamp Spin Column بعناية و يضاف 500 مايكروليتر من محلول الغسيل الأول AW1 و يوضع في جهاز الطرد المركزي 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة
- 7- للمرة الثانية ينقل عمود التدوير QIAamp Spin Column إلى أنبوبة جمع نظيف سعة 2 مل و تستبعد الأنبوبة الحاوي على الراشح .
- 8- يفتح عمود التدوير QIAamp Spin Column بعناية و يضاف 500 مايكروليتر من محلول الغسيل الثاني AW2 و يوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة لمدة 3 دقائق .
- 9- ينقل عمود التدوير QIAamp Spin Column أنبوبة خاصة بجهاز الطرد المركزي سعة 1.5 مايكروليتر و يستبعد الراشح و أنبوبة الجمع السابق .
- 10- يفتح عمود التدوير QIAamp Spin Column بعناية و يضاف 200 مايكروليتر من محلول منظم AE لإزالة الدنا و يوضع في جهاز الطرد المركزي 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة .
- 11- يوضع الدنا المستخلص بدرجة حرارة - 80 م° و يخزن لفترة طويلة تمتد إلى سنوات طويلة ، أو يخزن في محلول TE بدرجة حرارة - 4 م° لعدة شهور ، بينما يمكن خزن الدنا في الثلجة بدرجة 4 م° لمدة بسيطة للتداول و الاستخدام .

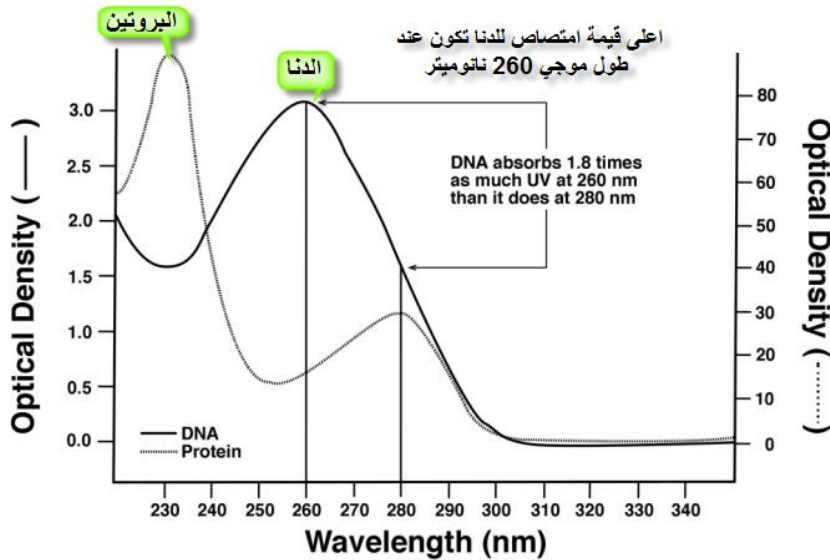


الشكل 2-47 . خطوات استخلاص الدنا باستخدام أنبوبة التدوير QIAamp Spin Column

التقدير الكمي لتركيز الدنا في العينة

يمكن تقدير تركيز الدنا بشكل تقريبي و حالة جزيئة الدنا في العينة عن طريق ترحيل العينة على هلام الاكاروز ، و هذه التقديرات تكون غير دقيقة لان الترحيل في الكثير من الحالات يتضمن العديد من الحزم أو الانتشار على شكل مسحة على الهلام ، فضلا عن احتياج العملية إلى الوقت الطويل . و لذلك لغرض التقدير الكمي لتركيز الدنا في العينة يستخدم المطياف الضوئي باستخدام الأشعة فوق البنفسجية UV Spectrophotometer و يجري قياس الامتصاص عند الطول الموجي 260 نانومتر و الذي يمثل أعلى قيمة امتصاص للدنا (الشكل 2-48)، و مع ذلك فان قيمة الامتصاص تختلف من جزيئة دنا لأخرى حسب تركيبها من القواعد النتروجينية ، إذ إن كل قاعدة نتروجينية تختلف في قابلية الامتصاص عن القواعد الأخرى . بصورة عامة يكون امتصاص الحلزون المزدوج للدنا وفق المعادلة :

$$1 \text{ OD}_{260} \text{ unit} = 50 \mu\text{g/ml}$$



الشكل 2-48. قيم الامتصاص لجزيئة الدنا و البروتين في الأطوال الموجية المختلفة .

بصورة تطبيقية نقوم بإضافة 15 مايكروليتر من عينة الدنا إلى 735 مايكروليتر من المحلول المنظم TE (و ليس إلى الماء المقطر لتجنب مسخ الدنا و تحوله إلى خيوط مفردة) و يخلط جيدا و تتم القراءة للكثافة الضوئية (OD) عند الطول الموجي 260 و 280 نانومتر (تستخدم النسبة بينهما لتحديد النقاوة ، و يجري حساب تركيز الدنا في العينة وفق المعادلة :

$$\text{OD}_{260} \text{ of sample} \times \text{dilution factor} \times 50 \mu\text{g/ml} (1 \text{ OD}) = \mu\text{g/ml DNA}$$

إذ تمثل O.D 260 : الكثافة الضوئية لامتصاص الحامض النووي عند الموجة (260 نانوميتر).

Dilution factor = معامل التخفيف ، 50 = ثابت (تمثل كمية الدنا 50 مايكروغرام \ مل التي تمتص وحدة واحدة OD) .

مثال : توفرت لدينا عينة دنا مستخلصة 5 مايكروليتر في 1 مل و أعطت قراءة في جهاز المطياف الضوئي عند $OD_{260} = 0.14$ و معامل التخفيف $1000 \setminus 5 = 200$ بذلك يكون تركيز الدنا في المحلول :

$$0.14 \times 200 \times 50 = 1400 \mu\text{g} / \text{ml}$$

أو :

$$= 1.4 \text{ mg} / \text{ml}$$

و بعد التقدير الكمي نقوم بتعديل التركيز لعينة الدنا إلى 0.3 مايكروغرام \ مايكروليتر 1 والى التركيز المرغوب من قبل الباحث باستخدام المحلول المنظم TE ، و يخزن عند درجة 4 م° لفترة قصيرة أو بالتجميد إذا كان الخزن لفترة طويلة .

و تختلف قراءة جهاز المطياف الضوئي للكثافة الضوئية حسب طبيعة الدنا الموجودة في العينة حيث وجدت القراءات الآتية لجزيئات الأحماض النووية :

التركيز مقابل كل وحدة كثافة ضوئية Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) per A_{260} Unit	الحمض النووي Nucleic Acid
50	ds DNA الدنا حلزون مزدوج
33	ss DNA الدنا خيوط مفردة
40	ss RNA الحمض النووي الرنا

وأشار Clark و Christopher (2000) إلى إن البروتينات أيضا تمتص الأشعة فوق البنفسجية و يمكن بموجب ذلك إجراء التقدير الكمي لتركيزها في العينة ، و يمكننا ملاحظة إن البروتينات تمتلك قمتين للامتصاص في الشكل السابق الأولى تكون عند الطول الموجي 230 نانوميتر وهي ناتجة عن امتصاص الأواصر الببتيدية ، و الثانية تكون عند الطول الموجي 280 نانوميتر وهي ناتجة عن الامتصاص بواسطة الحلقات الاروماتية للأحماض الامينية (الترتوفان ،التايروسين و فنيل الانين) و تستخدم الامتصاص عند الطول الموجي 280 نانوميتر عادة في تحديد تركيز البروتينات ، و تختلف قابلية الامتصاص من بروتين لآخر حسب نسبة الأحماض الاروماتية في البروتين ، و تكون قيمة الامتصاص للبروتينات هي :

$$1 \text{ OD}_{280} \text{ unit} = 1 \text{ mg}/\text{ml} \text{ protein}$$

يستخدم في جهاز المطياف الضوئي وعاء الكوارتز quartz cuvettes لوضع العينة في الجهاز لان الكوارتز لا يمتص الأشعة فوق البنفسجية بينما يمتص الزجاج و البلاستيك هذه الأشعة و يتداخل في القراءات . و يستخدم المحلول المنظم TE لتصفير الجهاز و تخفيف العينات ، و تكون قراءة الجهاز لعينة الدنا عند طول موجي 260 نانوميتر هي 0.15 ، و يستخدم جهاز المطياف الضوئي لتحديد نقاوة محلول الدنا عن طريق مقارنة قيم الكثافة الضوئية للمحلول عند أطوال موجية مختلفة ، و عادة تجري قراءة محاليل الدنا عند الأطوال الموجية 230 ، 260 ،

280 نانوميتر و يجب تصفير الجهاز باستخدام المحلول المنظم TE باعتباره بلانك مع كل طول موجي . و تستخدم النسبة لقراءة الامتصاص 260 \ 280 لتحديد نقاوة الدنا و تكون للدنا النقي 1.8 و ارتفاع النسبة يشير إلى وجود الرنا في المحلول ، أما إذا كانت النسبة أقل من 1.8 فذلك يعطي إشارة إلى وجود التلوث بالبروتين و الفيول ، و هناك طريقة بديلة لكشف التلوث بالبروتينات و الفيول باستخدام النسبة للامتصاص 230 \ 260 و تكون النسبة أكبر من 0.5 دلالة على التلوث .

وراثة الجنس Sex Inheritance

تظهر الأفراد في معظم أنواع الكائنات الحية التي تتكاثر جنسيا على هيئة ذكور Males و إناث Females . تمتلك الخلية الحيوانية نوعين من الكروموسومات : الأول هي الكروموسومات الجسمية Autosomes و هي جميع الكروموسومات في الخلية ماعدا زوج الكروموسومات الجنسية . النوع الثاني ، الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes و تختلف كروموسومات هذا الزوج حسب جنس الفرد و بالتالي تؤثر في جوانب عديدة من الوراثة المتعلقة بها .

طرائق تحديد الجنس في الحيوانات Sex Determination in Animals

يتحدد جنس الأفراد في الكائنات الحية بعدة طرائق منها الوراثة و الأخرى بتأثير عوامل بيئية و حسب نوع الكائن الحي ، و يمكن تقسيم ميكانيكيات تحديد الجنس إلى ما يأتي :

1- **تحديد جنس الأفراد بتأثير العوامل الوراثية** : يتحدد جنس الأفراد في بعض أنواع المملكة الحيوانية بتأثير العوامل الوراثية وفق أنظمة تحديد الجنس الآتية :

أ- الذكور خليطة الكميات Males heterogametic sex

عندما يكون التركيب الوراثي للذكور خليطا ينتج عنه نوعين من الكميات ، بينما الإناث تكون متماثلة الكميات و تنتج نوعاً واحداً من الكميات ، و بذلك تكون الذكور مسؤولة عن تحديد الجنس في هذه الأنواع و تشمل على نظامين لتحديد الجنس :

1- نظام تحديد الجنس XO – XX :

وجد العالم Henking عام 1891 في دراسته على بعض الحشرات (الجراد) أن

الذكور يقل عدد كروموسوماتها بمقدار واحد عن الإناث ، و أثناء الانقسام الميوزي لا

يقترن الكروموسوم المفرد مع أي من الكروموسومات الأخرى و يعرف مثل هذا

الكروموسوم باسم كروموسوم الجنس أو كروموسوم X .

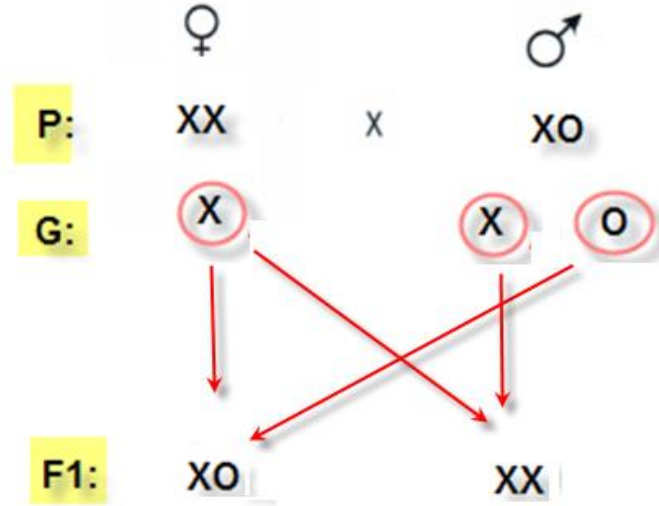
عند اكتمال الانقسام الميوزي ينتقل هذا الكروموسوم المفرد إلى نصف عدد الكميات الناتجة فقط

و تكون النتيجة أن نصف النطف تحتوي على عدد من الكروموسومات مشابه لما موجود في

البيضة (الكميت الأنثوي) في حين يكون النصف الآخر من النطف يحتوي على عدد

كروموسومات يقل بكروموسوم الجنس . يلاحظ في هذا النظام أن الاختلاف بين الجنسين هو في

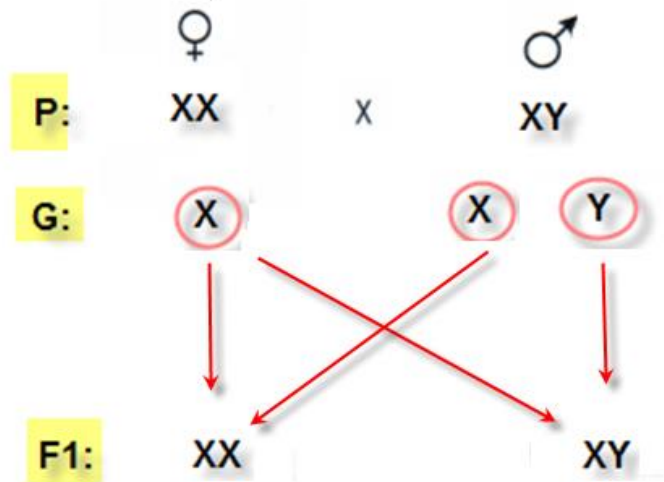
عدد الكروموسومات و يستخدم الرمز 0 للإشارة إلى غياب الكروموسوم (الشكل 1-3) .



الشكل 1-3 . تحديد جنس الأفراد وفق نظام XX – XO .

2- نظام تحديد الجنس XY – XX :

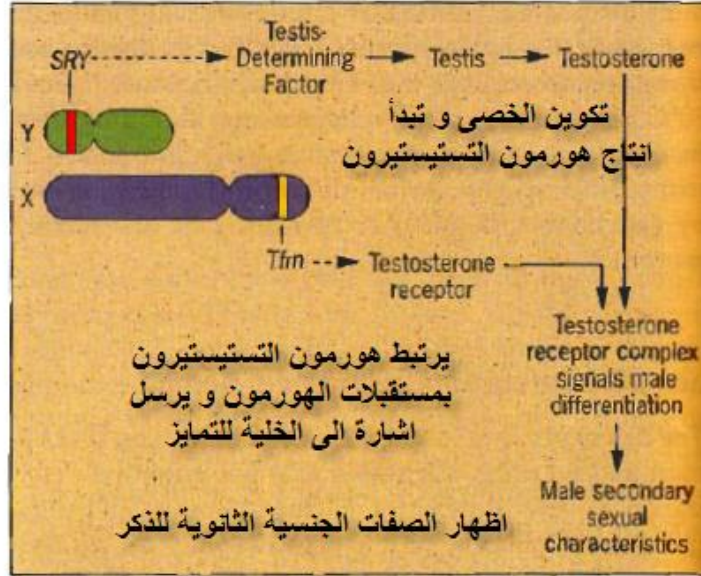
يلاحظ هذا النظام في الإنسان و حشرة الدروسوفيليا ، إذ تمتلك الذكور كروموسوماً مختلفاً في الشكل و الحجم عن الكروموسومات الأخرى يعرف كروموسوم Y ، وبذلك يكون التركيب الوراثي في الذكور XY و في الإناث XX و تبعاً لهذا النظام فإن جميع البيوض تحتوي على كروموسوم الجنس X ، بينما تنتج الذكور نوعين من النطف نصفها مشابهة لكروموسومات البيضة و النصف الآخر يحتوي على كروموسوم Y (الشكل 2-3) .



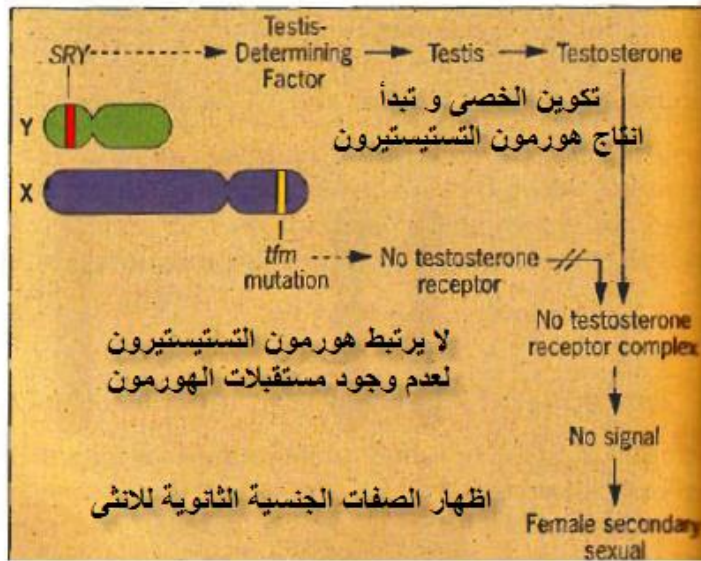
الشكل 2-3 . تحديد جنس الأفراد وفق نظام XX – XY .

و بالرغم من أن المخطط أعلاه يوضح ببساطة آلية تحديد الجنس وفق هذا النظام ، إلا أن الدراسات الوراثية اشارت الى أن الآلية تختلف من نوع لآخر ، و لنوضح ذلك في الإنسان و في حشرة الدروسوفيليا .

فقد أشار Snustad و Simmons (2000) إلى أن اكتشاف التركيب الوراثي للجنسين في الإنسان يكون XX في الإناث و XY في الذكور طرح تفسيراً هو أن الجنس أما أن يتحدد نتيجة الاختلافات في عدد كروموسومات X أو نتيجة وجود أو غياب كروموسوم Y و نحن نعلم إن الفرضية الثانية هي الصحيحة ، إن الذكورة في الإنسان و اللبائن المشيمية placental mammals تكون بتأثير كروموسوم Y (شكل 3-3) و يأتي هذا الاستنتاج من دراسة الشذوذ في كروموسومات الجنس ، فقد وجد أن التركيب الوراثي XO يتطور إلى أنثى و التركيب الوراثي XXY يتطور إلى ذكر . و يحمل كروموسوم Y جين (SRY) - sex determining region Y (يقع على الذراع القصير للكروموسوم Y) و الذي يقوم بإنتاج عامل تحديد الخصى (TDF) - testis determining factor الذي يعمل على توجيه التطور الجنيني المبكر من خلال التأثير على المناسل الأولية primordial gonads لتصبح خصى testes و التي تبدأ بإفراز هورمون التستوستيرون testosterone hormone الذي يكون مسؤولاً عن تطور الصفات الجنسية للذكر . و ذلك يفسر أن بعض التراكيب الوراثية XX تكون ذكورا (تسمى swyer syndrome) و التراكيب الوراثية XY إناثا (تسمى male syndrome) (الشكل 3-3) فالذكور XX تحمل قطعة صغيرة من كروموسوم Y مغروسة في كروموسوم X وتحمل هذه القطعة الجين المسؤول عن الذكورة ، و بنفس الاتجاه فإن الإناث بالتركيب XY يكون فيه كروموسوم Y فاقدا للقطعة الحاوية على جين الذكورة . إن وجود الجين SRY على الكروموسوم Y لا يكون كافياً لإنتاج ذكر طبيعي ، حيث إن هذا الجين يوجه إلى إنتاج الخصى التي تبدأ إنتاج هورمون التستوستيرون ، و يرتبط الهورمون بمستقبلات خاصة بالهورمون موجودة على أنواع عديدة من الخلايا حيث ينتج معقد هورمون - مستقبل hormone - receptor ويعطي هذا المعقد الإشارة إلى الخلية يحدد تمايزها إلى ذكر ، و ينتج عن تمايز عدة أنواع من الخلايا ظهور صفات خاصة بالذكور منها العضلات القوية و نمو اللحية و الصوت المميز ، و في حالة فشل جهاز الاستقبال و الإشارة الخاصة بالهورمون فإن التطور باتجاه الذكورة لا يحدث و يتطور الجنين كأنثى ، و احد أسباب الفشل هو عدم القدرة على إنتاج المستقبلات (الشكل 3-3) ، إن الأفراد الذين يظهرون النقص في الآلية الكيموحيوية قد تطورت في البداية كذكور و تكونت لديها الخصى و أنتجت هورمون التستوستيرون و لكن الهورمون لا يكون مؤثراً بسبب الخلل في المستقبلات و بذلك لا تصل إلى الخلايا إشارات التطور إلى ذكر ، و بذلك فإن الأفراد الذين لا يمتلكون مستقبلات التستوستيرون يتطورون إلى أفراد يحملون صفات جنسية أنثوية بالرغم من عدم تطور المبايض لديهم و بالتالي تكون أفراد عقيمة و تسمى هذه المتلازمة testicular feminization و الناتجة عن الطفرة في الجين tfm و هو جين مرتبط بالجنس يشفر لإنتاج مستقبلات التستوستيرون ، و ينتقل الجين الطافر من الأمهات إلى أبنائها الذكور (مظهرهم إناث عقيمة) وفق سلوك الصفات المرتبطة بالجنس .



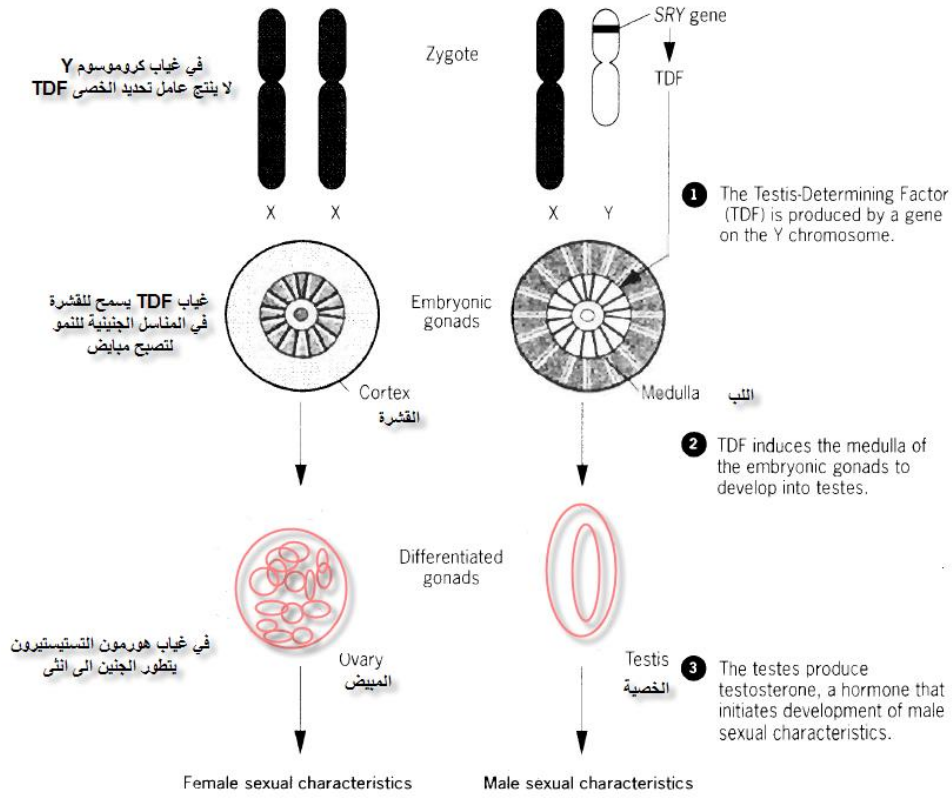
(a) Normal male with the wild-type *Tfm* gene. الحالة الطبيعية



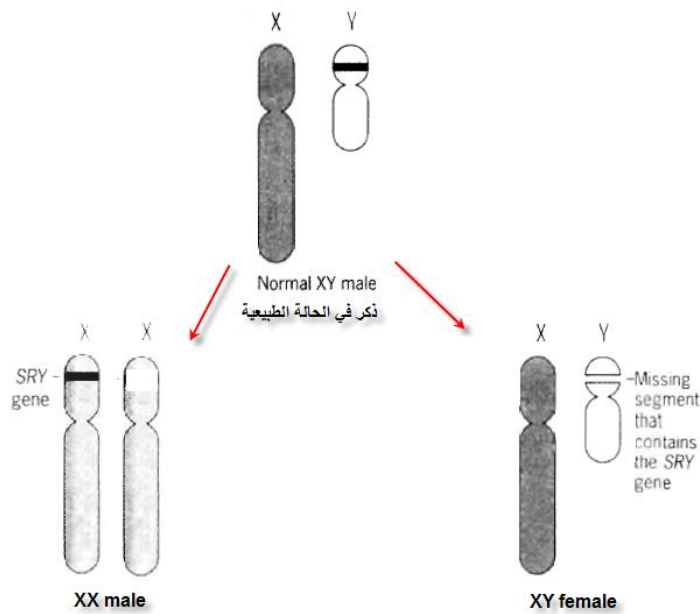
(b) Male with the *tfm* mutation and testicular feminization.

حالة الطفرة في الجين *tfm*

الشكل 3-3 . تأثير حصول الطفرة في جين *tfm* الذي يشفر لإنتاج مستقبلات التستستيرون .



الشكل 3-4 . تحديد جنس الإنسان وفق نظام تحديد الجنس XY .

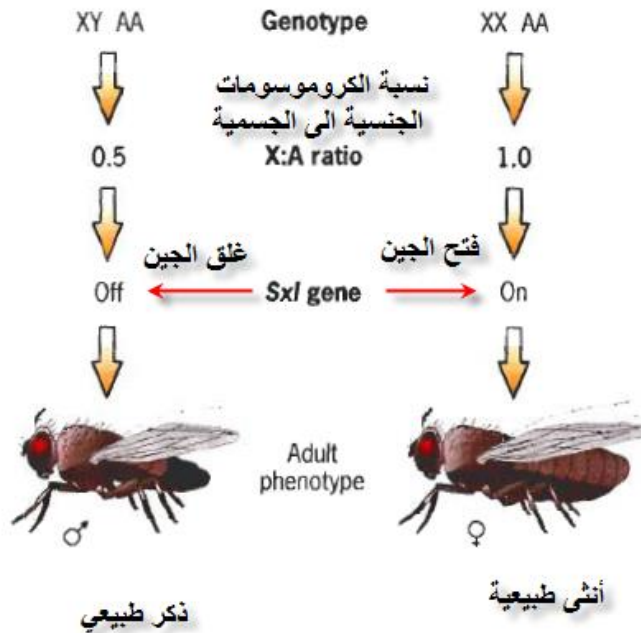


الشكل 3-5 . أهمية الجين SRY في تحديد الجنس في الإنسان .

يظهر من الشكلين (3-4 و 3-5) إن الكروموسوم Y اصغر حجما من الكروموسوم X و بالتالي فان امتلاكهم من الجينات يكون مختلفا ، و يحمل كروموسوم Y عدداً قليلاً من الجينات في الإنسان و في حالة حصول طفرة في إحدى هذه الجينات ينتج عنها شكل مذهري مختلف و إن هذه الطفرة تنتقل إلى جميع أبناء الرجل من الذكور و لا تنتقل إلى بناته و يكون من السهولة التعرف على الجينات المرتبطة بالكروموسوم Y عن طريق سجل النسب و من الأمثلة جينات تتوارث عن طريق كروموسوم Y و تنتقل إلى الأبناء الذكور فقط مثل H – Y antigen و تسمى الوراثة الهولاندرية Holandric inheritance .

أما في حشرة الدروسوفيلا فقد وجد أن الكروموسوم Y لا يلعب دورا في تحديد الجنس ، و بدلا من ذلك فان تحديد الجنس في الحشرة يتحدد بنسبة الكروموسومات X إلى الكروموسومات الجسمية (A) التي تملكها الحشرة ، و تم الإشارة إلى هذه الميكانيكية لأول مرة من قبل Bridge في عام 1921 من خلال التحليل الوراثي لمظهر الحشرات التي تحمل توليفات كروموسومية غير طبيعية ، فالحشرة الطبيعية تمتلك زوج الكروموسومات الجنسية (XX أو XY) و ثلاثة أزواج كروموسومية جسمية عادة يشار إليها AA (A تشير إلى مجموعة كروموسومية جسمية واحدة) ، الحشرة التي تكون فيها نسبة كروموسومات X إلى A تساوي 1 أو أكثر فان الحشرة تكون أنثى ، و إذا كانت النسبة 0.5 أو أقل تكون الحشرة ذكر . أما الحشرات التي تكون النسبة A : X بين 0.5 إلى 1 فان الحشرة تظهر صفات لكلا الجنسين و تسمى ببينية الجنس Intersexes ، و بالرغم من عدم اشتراك كروموسوم Y في تحديد جنس الحشرة إلا إن الكروموسوم يلعب دورا مهما في خصوبة الذكر .

التراكيب الوراثية في الذكر و الانثى

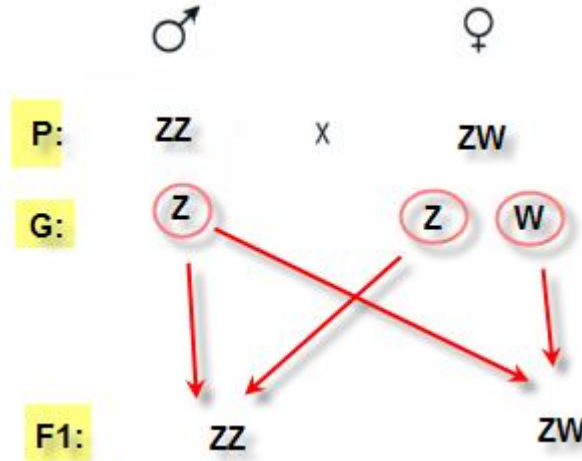


الشكل 3-6 . آلية تحديد الجنس في حشرة الدروسوفيلا .

من المعروف حالياً ، وجود جين يسمى Sex- lethal يرمز له اختصاراً Sx1 يلعب دوراً في تحديد الجنس في حشرة الدروسوفيلا ، فإذا كانت النسبة X:A تساوي واحد أو أكثر يصبح الجين Sx1 فعالاً أو بوضع مفتوح (on) و يتطور الجنين إلى أنثى ، أما إذا كانت النسبة تساوي 0.5 فاقبل يصبح الجين Sx1 غير فعال أو بوضع مغلق (off) و يتطور الجنين إلى ذكر (الشكل 3-6) ، و يؤدي التعبير الجيني غير الطبيعي لهذا الجين إلى الهلاك و لذلك سمي جيناً مميتاً . و يمكن تمييز ثلاث مناطق ناتجة عن ازدواج الكروموسومين X و Y فالمنطقة على الكروموسوم Y التي لا تزود مع كروموسوم X تحمل جينات تتوارث عن طريق كروموسوم Y و تنقل إلى الأبناء الذكور فقط . المنطقة الثانية ، يلتقي فيها الكروموسومان X و Y و يحملان جينات موجودة على كلا الكروموسومين ، غالباً تكون قرب نهاية الذراع القصير و تسلك وراثته هذه الجينات أسلوب وراثته الجينات على الكروموسومات الجسمية و تسمى هذه الجينات pseudoautosomal genes . أما المنطقة الثالثة ، فتكون لجينات محمولة على الكروموسوم X ولا يوجد لها نظير على الكروموسوم Y و تسلك هذه الجينات أسلوب وراثته خاص تسمى الوراثة المرتبطة بالجنس sex- linked inheritance و سيتم شرحها لاحقاً .

ب - الإناث الخليطة الكميات Females heterogametic sex

يمثل نظام تحديد الجنس ZZ – ZW نموذجاً لهذا النظام ، و فيه تكون الإناث هي الجنس غير المتماثل الكميات ZW و هي المسؤولة عن تحديد الجنس في النسل و تنتج نوعين من البويضات (Z و W) . بينما الذكور تكون بالتركيب الوراثي المتماثل ZZ و تنتج نوعاً واحداً من الكميات (Z) . و تستخدم الرموز Z و W بدلاً عن X و Y للإشارة إلى أن الإناث المسؤولة عن تحديد الجنس و ليس الذكور . و هذا النظام موجود في الطيور و الأسماك و الفراشات (الشكل 3-7) .



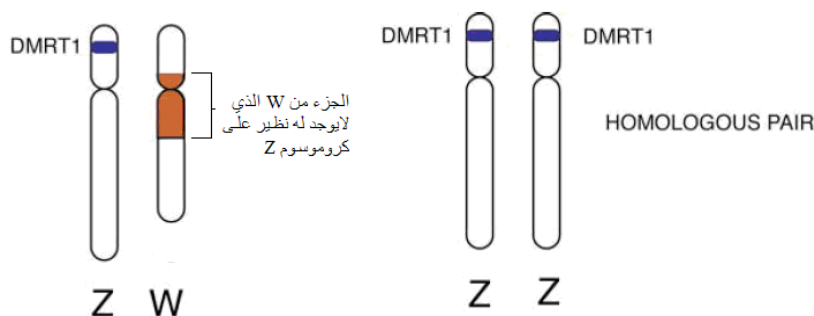
الشكل 3-7 . تحديد جنس الأفراد وفق نظام ZZ – ZW .

وتشير معظم المصادر إلى أن الدجاج يحدد جنسه وراثياً وتكون الإناث ZW مسؤولة عن تحديد الجنس في الدجاج حيث تنتج نوعين من الكميات Z و W بينما تنتج الديكة نوعاً واحداً من الكميات تحمل كروموسوم الجنس ، يملك كروموسوم W تأثيراً رئيسياً في تحديد جنس الأنثى إذ لم يلاحظ وجود دجاج بالتركيب الوراثي ZW بمظهر ذكري أو خنثي فالأفراد ZWW تموت في مرحلة مبكرة من التطور الجنيني بينما أشار Abdel-Hameed

و Shoffner (1971) إلى إن الأفراد بالتركيب الوراثي ZZW أو الأفراد بالتركيب الموزائيكي للكروموسومات الجنسية ZZ و ZW تظهر بها الخنوثة بدرجات متفاوتة حسب نسبة الخلايا التي تحملها . بينما لم تشر المصادر إلى وجود ذكور ZZ أو ZZZ خنثى . إن الآلية التي تعمل بها الكروموسومات في تحديد الجنس في الطيور لازالت تخضع إلى فرضيتين الأولى ، تفترض تحديد الجنس بفعل الاختلاف في الجرعة الجينية اذ يوجد اليدين للجنين في الذكور واليل واحد فقط في الإناث ، ويكون الجين المشترك في هذه الفرضية (شكل 3-8)

Double sex and Mab3- Related Transcription factor 1 (DMRT1)

ويقع هذا الجين على الكروموسوم Z ولا يوجد له نظير على الكروموسوم W ويعبر هذا الجين في المناسل الأولية قبل التمايز و لوحظ إن تعبيره في أجنة الذكور أعلى منه في أجنة الإناث وذلك يتفق مع فرضية تحديد الجنس باختلاف الجرعة . الفرضية الثانية تقترح تحديد الجنس بسبب وجود الكروموسوم W بنفس الأسلوب الموجود في الثدييات حيث يعمل الكروموسوم Y ، فقد وجد من النقاء الكروموسومين Z و W وجود مواقع مشتركة بين الكروموسومين باستثناء منطقة صغيرة قرب السنتروميير يعتقد أنها خاصة بكروموسوم W وتكون مسؤولة عن تحديد الأنثى حيث يوجد الجين FET1 الذي يعبر عن نفسه بكثافة في المناسل الأولية للأنثى (Manolakou و آخرون ، 2006 : Shetty و آخرون ، 2002) .



الشكل 3-8 . الفرضيات التي تفسر آلية تحديد الجنس في الطيور .

أنظمة تحديد الجنس الثلاثة السابقة يجري تحديد جنس الأفراد بتأثير كروموسومات الجنس ، و هناك نظام تحديد الجنس بتأثير الوراثة و لكن ليس بتأثير كروموسومات الجنس بل حسب عدد المجاميع الكروموسومية .

ج - نظام أحادي – ثنائي المجموعة الكروموسومية

Haploid – Diploid sex determination system

يمثل نظام تحديد الجنس في الزنابير و منها نحل العسل . ففي نحل العسل تكون الذكور أحادية المجموعة الكروموسومية (16 كروموسوماً) و تنشأ من بيوض غير مخصبة ، بينما الإناث تنشأ من بيوض مخصبة (32 كروموسوماً) و لا يكون لكروموسومات الجنس دور في تحديد الجنس ، و يؤدي الاختلاف في رعاية اليرقة إلى تطورها إلى ملكة خصبة أو تطورها إلى شغالة عقيمة ، أي إن التغذية خلال مرحلة اليرقة تؤثر على الخصوبة و ليس تحديد الجنس .

2- تحديد جنس الأفراد بتأثير العوامل غير الوراثية : يمتلك عدد من أنواع المملكة الحيوانية القابلية على التلاعب في نسبة الذكور إلى الإناث في النسل الناتج ففي التماسيح Crocodile تلعب درجة حضانة البيض دورا حاسما في تحديد جنس الأفراس الفاقسة عن البيض . ففي دراسة عن تطور الأجنة في التماسيح الأمريكية جرى فيها الحصول على البيض من أعشاش التماسيح البرية و حضانتها في المختبر ، و قد وجد أن الفترة الحساسة لتحديد الجنس تبدأ من اليوم السابع و لغاية اليوم 21 من فترة الحضانة التي تمتد إلى 60 يوما في التماسيح . وجد أن جميع البيوض التي تمت حضانتها بدرجة حرارة 30 م و أقل فقست عن إناث بينما وجد إن حضانة البيض بدرجة حرارة 34 م فأعلى كانت جميعها ذكور . و من ملاحظة العشائر البرية وجد أن الأعشاش في الشواطئ الجافة بدرجة حرارة تتراوح 34 – 35 م أنتجت 99 % من الأفراس الفاقسة من جنس الذكور ، بينما الأعشاش القريبة من المستنقعات بدرجة حرارة أقل من 29 م أنتجت إناثاً بالكامل . و قد وجد أن الحالة كانت معكوسة في السلاحف Turtle حيث أشار Snustad و Simmons (2000) إن بيوض احد أنواع السلاحف التي جرى حضانتها بدرجة حرارة 30 م ° فقست عن الإناث بينما أنتجت البيوض التي تمت حضانتها بدرجة حرارة منخفضة الذكور . و بالرغم من تحديد الجنس بتأثير درجة الحرارة شائع نسبيا ، إلا أن هناك أنظمة بيئية أخرى لتحديد الجنس ففي بعض أنواع القواقع Snails تمارس تغيير الجنس sex change خلال حياتها حيث تبدأ الأفراد البالغة ذكورا ثم تصبح فيما بعد إناثا . تتكاثر بعض الزواحف و الحشرات و الطيور عن طريق التكاثر العذري parthenogenesis و هي حالة تتطور فيها الأجنة و تكتمل من بيوض غير مخصبة .

تحديد الجنس في النبات

لا تحتوي معظم النباتات الزهرية الأحادية المسكن monoecious على كروموسومات جنسية ، و تمتلك الخلايا الناتجة عن الانقسام الميوزي التي لها نفس التركيب الوراثي القدرة على إنتاج أنسجة ذات وظائف جنسية مختلفة في زهرة كاملة مما يدل على وجود إمكانيات ثنائية كامنة في هذه الخلايا النباتية . أما نبات الذرة الصفراء *Zea mays* الذي يعد نباتاً أحادي المسكن فيه تحمل الأزهار المذكرة في طرف النبات tassel أما المدقات فتكون في النورات الابطية ، العرنوص ear ، أشار محمد (1982) إلى أن هناك زوجين من الجينات تتحكم بالتكاثر الجنسي للنبات ، تمت دراستها في التركيب الوراثي bsbs (barren stalk) يعطي نبات فاقد العرنوص و لكن توجد لديه نورات ذكرية اعتيادية و هي تصنف على أنها ذكرية . أما الجين ts (tassel seed) فعندما يكون في الحالة النقية تتحول النورة الذكرية إلى أزهار أنثوية لذلك تتكون العرنوص في قمة النبات . و تكون النباتات الاعتيادية أحادية المسكن بالتركيب الوراثي Bs- Ts- بينما النبات المذكر بالتركيب الوراثي bsbsTs- و النبات المؤنث يمكن أن يكون بالتراكيب الوراثية Bs- ts أو bsbs ts و هي تمثل ضروب ذرة ثنائية المسكن dioecious يمكن الحصول عليها عن طريق التهجين بين التركيبين الوراثيين bsbs Ts × bsbs ts ينتج عن التضرير نباتات مذكرة و نباتات مؤنثة بنسبة متساوية . و ربما يمثل هذا الأسلوب الذي تطورت فيه النباتات إلى ثنائية المسكن .

أما النباتات الثنائية المسكن الشائعة فالمعروف أنها محكومة بموقع وراثي واحد ، مثالها تحديد جنس النبات عن طريق كروموسومات الجنس في نبات اللينكنز *Lychins dioica* الذي ينتمي إلى العائلة القرنفلية (الميلانديريوم) *Melandrium* ، حيث يحدد كروموسوم Y ميلا إلى

الذكورة ، فالنباتات الذكورية فيه تحتوي على كروموسومات XY و النباتات الأنثوية تحتوي على كروموسومات XX ، وفي دراسة سيتولوجية على النبات أشارت إلى أن كروموسوم Y يكون أكبر حجما من كروموسوم X و كلاهما يكونان أكبر من الكروموسومات الجسمية الأخرى للنبات .

وراثة الصفات المرتبطة بالجنس – linked traits Inheritance of sex

يقصد بالصفة المرتبطة بالجنس الصفات التي يتحكم بها جينات تقع على كروموسوم الجنس X (نظام XX- XY) أو كروموسوم Z (نظام ZZ- ZW) و بالتحديد في منطقة الكروموسوم التي لا يوجد لها نظير على كروموسوم Y (أو W) ، و السلوك الوراثي لهذه الصفات يختلف في عدد من الخصائص عن توارث الصفات الواقعة جيناتها على الكروموسومات الجسمية و منها :

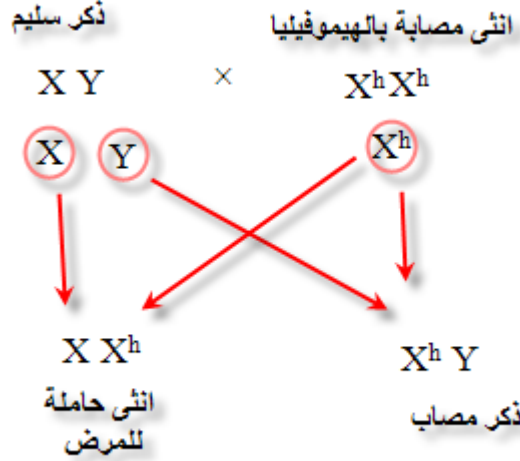
1- تختلف الصفات المتنحية المرتبطة بالجنس في تكرار ظهورها في الجنسين الذكر و الأنثى ، فالصفة التي يتحكم بها اليل متنحي a و تقع على كروموسوم الجنس X تحتاج للتعبير عن نفسها مظهريا في الإناث أن تكون متماثلة التركيب الوراثي X^aX^a ، بينما يكفي وجود اليل واحد لإظهار الصفة في الذكور X^aY أي تكون متماثلة بسبب وقوعها على كروموسوم الجنس X و عدم وجود اليل نظير على كروموسوم Y و هذه الحالة تسمى Hemizygous في هذه الحالة يكون تكرار الصفة في الذكور أعلى مما هو عليه في الإناث (و الحالة تكون معكوسة في نظام تحديد الجنس ZW حيث يكون تكرار ظهورها في الإناث أعلى مما هو في الذكور) .

2- في حالة أن الجنس خليط الكميات يحمل صفة متنحية مرتبطة بالجنس فان هذه الصفة تختفي في الجيل الأول و تعود للظهور في الجيل اللاحق، مثالها في الإنسان مرض سيولة الدم (هيموفيليا) Hemophilia وهو مرض وراثي يؤدي إلى عدم تخثر دم الفرد المصاب نتيجة نقص في تكوين مادة الثرومبوبلاستين Thromboplastin التي تشترك في عملية تجلط الدم ، و يتحكم بظهور المرض جين متنح يقع على كروموسوم الجنس X ، فعند تزواج ذكر مصاب بالمرض مع أنثى طبيعية تختفي الصفة في الجيل الأول و يمكن أن تظهر في جيل لاحق عند تزواج الإناث الحاملة للمرض مع ذكور طبيعية (الشكل 3-9) .



الشكل 3-9 . اختفاء الصفة المتنحية المرتبطة بالجنس في الجيل الأول و ظهورها في الجيل اللاحق .

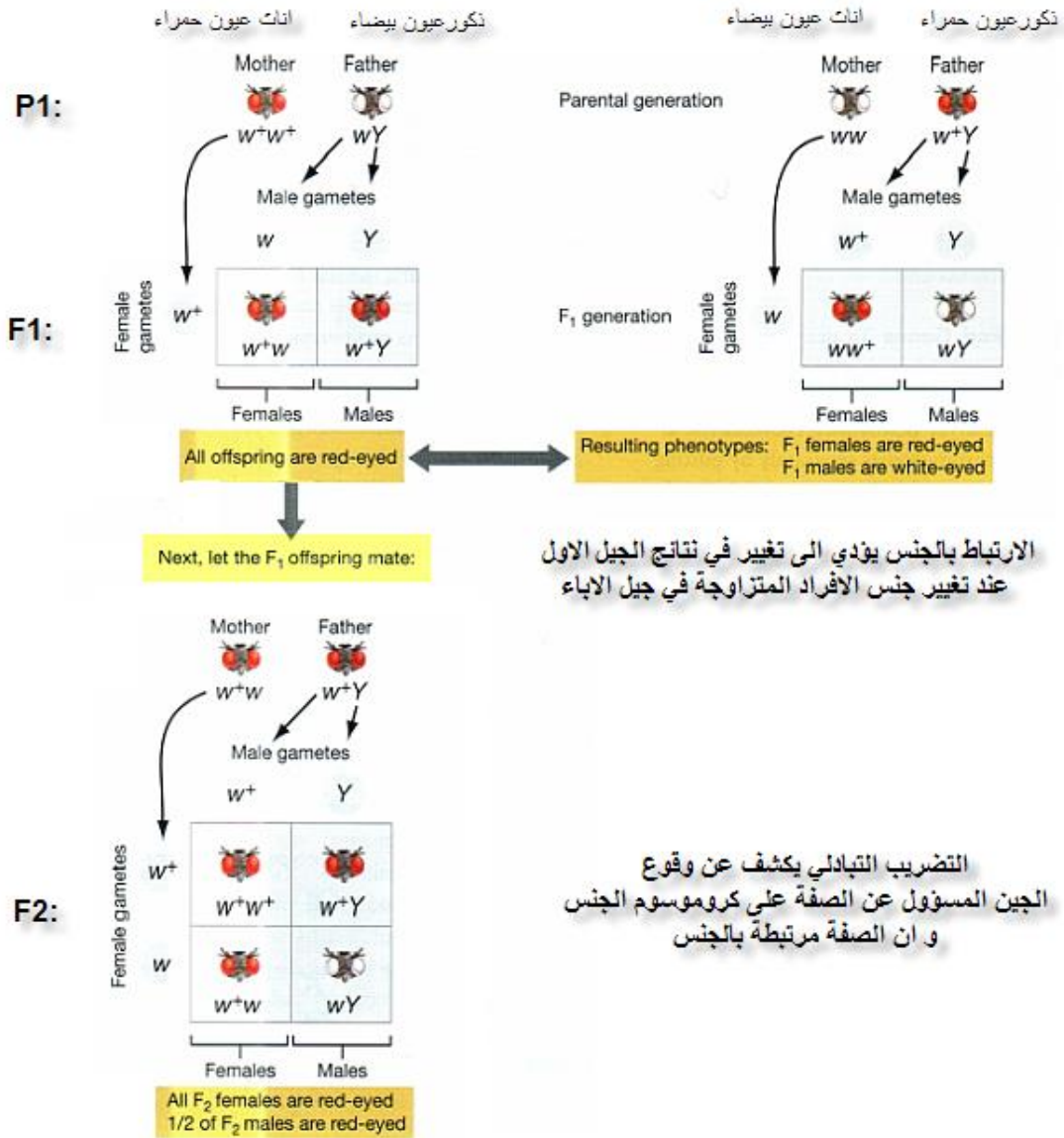
3- ضمن تضريب مسيطر عليه يحمل فيه الجنس الخليط الكميات الصفة السائدة ، تنتقل الصفة من الأب إلى بناته الإناث و تنتقل الصفة من الأم إلى أبنائها الذكور فقط و يسمى هذا السلوك الوراثة التصالبية crisscross inheritance . لنفرض في مثالنا السابق لمرض الهيموفيليا حصول تزاوج بين ذكر سليم و أنثى مصابة بالمرض ، تنتقل الصفة من الأم المصابة إلى أبنائها الذكور فقط بينما الإناث تكون بالمظهر الطبيعي (بالرغم من أنها حاملة للصفة المتنحية) لان الأب قد مرر لها المظهر السليم للصفة (الشكل 3-10)



الشكل 3-10 . الوراثة التصالبية crisscross inheritance في الصفات المرتبطة بالجنس .

و هناك العديد من الصفات الأخرى المرتبطة بالجنس منها في الإنسان فقر الدم المنجلي Sickle cell anemia و عمى الألوان Color blindness يكون تكرارها في الذكور أعلى من الإناث . و في الدجاج من الصفات المرتبطة بالجنس سرعة التريش ، الريش المخطط و فيها يكون تكرار الصفة في الإناث أعلى من الذكور .

يمكن الكشف عن الصفة المرتبطة بالجنس و تمييزها عن الصفة التي تقع جيناتها على الكروموسومات الجسمية من خلال التضريب التبادلي Reciprocal cross ففي حالة الصفة المرتبطة بالجنس فان تغيير جنس الأفراد المتزاوجة في جيل الآباء يؤدي إلى تغيير في نتائج الجيل الأول بينما الصفات غير المرتبطة بالجنس ، لا تتأثر نتائج الجيل الأول بتغيير جنس الأفراد المتزاوجة . و يمكن توضيح هذه الحالة من خلال التجارب التي أجراها مورجان Morgan على حشرة الدروسوفيليا ميلانوجستر ، فقد أشار Freeman (2002) إلى أن العالم مورجان قام بتضريب إناث ذات عيون حمراء (طراز بري) مع ذكور ذات عيون بيضاء (طراز طاغر) و حصل على أفراد الجيل الأول جميعها ذات عيون حمراء (شكل 3-11) .



الشكل 11-3 . نتائج التضريب التبادلي في تجربة مورجان على حشرة الدروسوفيلا والذي يكشف الارتباط بالجنس .

مما يدل على أنها صفة سائدة على صفة العيون البيضاء و بنسبة 3 : 1 للطرز المظهري السائد إلى المتنحي على التوالي ، و عندما سمح لأفراد الجيل الأول للتزاوج الداخلي حصل على أفراد الجيل الثاني التي أظهرت أن جميع الإناث ذات عيون حمراء بينما الذكور كانت نصفها بعيون حمراء و النصف الآخر بعيون بيضاء ، لذلك قام مورجان بإجراء الشطر الثاني للتضريب التبادلي في جيل الآباء وذلك بتضريب إناث بعيون بيضاء مع ذكور ذات عيون حمراء و حصل على نتائج في الجيل الأول تختلف تماما عن التضريب الأول حيث كانت الإناث حمراء العيون و

الذكور بيضاء العيون وفق سلوك الوراثة التصالبية التي تم شرحها و نستنتج إن الجينات التي تتحكم بالصفة واقعة على كروموسوم الجنس.

تعويض الجرعة الجينية في الجينات المرتبطة بالجنس

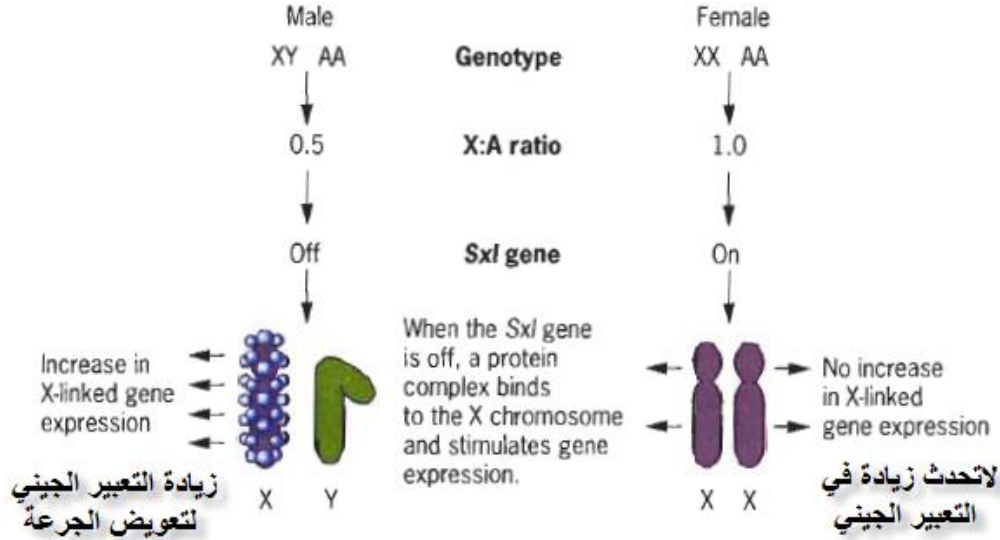
إن التطور الجنيني و نمو الحيوانات يكون عادة حساساً من تأثيرات عدم التوازن في عدد الجينات ضمن التركيب الوراثي للفرد ، ففي الفرد الثنائي المجموعة الكروموسومية تكون الحالة الطبيعية كل جين يتواجد بنسختين تسمى كل نسخة اليل. وهذه الحالة تمثل حالة الاتزان الجيني في الفرد و أن مغادرة هذه الحالة سواء باتجاه الزيادة أو النقصان في عدد الجينات تحصل حالة عدم الاتزان وقد ينتج عنها شكل مذهري شاذ أو الموت . لقد تم الإشارة سابقاً إلى وجود العديد من الأنواع تتبع نظام تحديد الجنس وفق كروموسومات الجنس فنجد إن الأنثى تمتلك كروموسومي الجنس XX بينما يمتلك الذكر كروموسوم X واحداً ، ففي هذه الحالة يطرح سؤال عن كيفية استيعاب الاختلافات العددية للجينات المرتبطة بالجنس ؟

هناك ميكانيكيتان لتعويض هذا الاختلاف هما :

- 1- يعمل كل جين مرتبط بالجنس بنشاط مضاعف في الذكر مقارنة مع نشاط الجين في الأنثى .
- 2- يجري إيقاف نشاط inactivation نسخة واحدة من الجينات المرتبطة بالجنس الموجودة في الإناث . و قد أوضحت البحوث العديدة إن كلا الميكانيكيتين مستخدمة في الطبيعة ، فالميكانيكية الأولى موجودة في حشرة الدروسوفيلا و الميكانيكية الثانية مستخدمة في اللبائن و سنتحدث عن فرط النشاط الجيني في الدروسوفيلا و إيقاف النشاط الجيني في اللبائن كمثالين لحالة تعويض الجرعة الجينية :

فرط النشاط للجينات المرتبطة بالجنس في ذكر الدروسوفيلا

في حشرة الدروسوفيلا يتم تعويض الجرعة الجينية للجينات المرتبطة بالجنس عن طريق زيادة نشاط هذه الجينات في الذكور و يسمى هذا المفهوم فرط النشاط Hyperactivation (الشكل 3-12) و يتضمن ذلك جين (Sex-lethal (Sxl حيث إن هذا الجين يكون مفتوح التعبير الجيني في الإناث و مقفل التعبير الجيني في الذكور، فعند غياب منتج الجين Sxl في الذكور يرتبط معقد من بروتينات مختلفة بمواقع عديدة من الكروموسوم X تعمل على تحفيز نشاط الجين إلى الضعف ، أما عند توفر منتج الجين Sxl كما هو الحال في الإناث فإن معقد البروتينات لا يرتبط بالكروموسوم و بذلك لا يحدث فرط النشاط الجيني ، و تكون المحصلة النهائية الكلية للجين المرتبط بالجنس متساوية في الذكور و الإناث .



الشكل 3-12 . ميكانيكية فرط النشاط الجيني لتعويض الجرعة الجينية في حشرة الدروسوفيليا.

إيقاف نشاط الجينات المرتبطة بالجنس في إناث اللبائن

يجري تعويض الجرعة الجينية للجينات المرتبطة بالجنس في اللبائن المشيمية عن طريق إيقاف نشاط احد كروموسومات X في الأنثى ، و تمت الإشارة إلى هذه الميكانيكية للمرة الأولى من قبل Mary Lyon عام 1961 و الاستنتاجات عن بحوث أجريت على الفئران ، إذ إن العملية تجري عندما يكون الجنين مكوناً من عدة الآلاف من الخلايا و فيها تتخذ كل خلية قرارها بشكل مستقل عن الخلية الأخرى في إيقاف احد الكروموسومات X فيجري اختيار الكروموسوم عشوائياً و بذلك يستمر إيقاف نشاط الكروموسوم في كافة نسل الخلية التالي ، و نتيجة لذلك تكون الأنثى اللبونة موزائكية التركيب الوراثي حيث تمتلك نوعين من مجاميع الخلايا ، النوع الأول تكون حاوية على كروموسوم X غير نشط مصدره الأم و تمثل حوالي نصف مجاميع الخلايا ، و النوع الثاني تكون حاوية على كروموسوم X غير نشط مصدره الأب و يشكل النصف الثاني من مجاميع الخلايا ، و نتيجة لذلك يمكن للأنثى خليطة التركيب الوراثي للجين المرتبط بالجنس أن تحمل شكلين مظهرين مختلفين على جسمها . إن احد أفضل الأمثلة لهذه الميكانيكية هي دراسة لون الفراء في القطه و الفأر ، ففي كلا النوعين يقع جين لون الفراء على كروموسوم X ، و بذلك تظهر الإناث الخليطة التركيب الوراثي (أليلات مختلفة من جين اللون) بقع من اللون الفاتح تمثل تعبير احد الاليلات و أخرى من اللون الغامق تمثل تعبير الاليل الآخر .

إن كروموسوم X الذي يجري إيقاف نشاطه لا يبدو مثل بقية الكروموسومات ، إذ أوضح التحليل الكيميائي عن حصول تحويرات في الدنا تشمل إضافة العديد من مجاميع المثيل فضلا عن زيادة الكثافة ليصبح داكن الصبغة يسمى Barr body نسبة إلى مكتشفه Murray Barr و يرتبط هذا التركيب إلى الجدار الداخلي للغشاء النووي ، و يبقى كروموسوم X فاقد النشاط على هذه الحالة في جميع الأنسجة الجسمية ، أما في الأنسجة الجرثومية فيتم إعادة نشاط الكروموسوم reactivation مما يعكس حاجة عملية تكوين الكميات إلى وجود نسختين فعالة من الكروموسوم .

الصفات المحددة بالجنس Sex – limited traits

الجينات المحددة بالجنس تكون موجودة في كلا الجنسين للكائنات الحية التي تتكاثر جنسياً ولكنها تعبر عن نفسها مظهرياً في أحد الجنسين فقط ، بكلمة أخرى إن هذه الجينات تسبب فروقاً مظهرية بين الجنسين سواء كانت في الصفات الإنتاجية أو الشكلية . و يختلف تأثير الجينات المحددة بالجنس عن الجينات المرتبطة بالجنس حيث إن الأخيرة تعبر عن نفسها في كلا الجنسين و لكن بتكرار مختلف بينما الجينات المحددة بالجنس تعبر عن نفسها في أحد الجنسين فقط ، فضلا عن أن جميع الصفات المحددة بالجنس محمولة على الكروموسومات الجسمية و يتأثر تعبيرها بالبيئة الهورمونية لجنس الفرد فتظهر في أحد الجنسين دون الآخر . من أمثلة هذه الصفات إنتاج الحليب في الأبقار يتحدد ظهوره في الإناث فقط بالرغم من امتلاك الثيران للجينات الخاصة بإنتاج الحليب ، و كذلك إنتاج البيض في الدجاج و اختفاء الصفة في الديكة .

الصفات المتأثرة بالجنس Sex – Influenced traits

الجينات المتأثرة بالجنس تعبر عن حالة الجينات التي تتأثر سيادتها بالجنس لحاملها ، و يأتي ذلك بتأثير البيئة الداخلية للفرد مثل هورمونات الجنس ، و من الأمثلة لهذه الحالة وراثته صفة شكل الصلع في الإنسان (ظهور الصلع في قمة الرأس و جود الشعر في جوانب الرأس) و يؤثر في الصفة الموقع الجيني BB الذي يظهر شكل الصلع في كلا الجنسين أما التركيب الوراثي الخليط Bb فيظهر تأثير السيادة على الصفة في الذكور فقط بينما تظهر الإناث طبيعية (الجدول 1-3) ، حيث تكون هذه الصفة متأثرة بجينات جسمية تتأثر بجنس حاملها .

الجدول 1-3. سلوك صفة شكل الصلع في الإنسان ، و تأثير السيادة بجنس الفرد .

الشكل المظهري		التركيب الوراثي
الذكور	الإناث	
أصلع	صلعاء	BB
أصلع	طبيعية	Bb
طبيعي	طبيعية	bb

الانقلاب الجنسي Sex reversal

أشارت الدراسات إلى إمكانية حصول الانقلاب الجنسي في الإنسان و بعض الأنواع في المملكة الحيوانية، و هي متلازمة معروفة في الإنسان و الفئران تتطور فيها الأفراد بالتركيب الوراثي XX إلى ذكور ، ففي حالات ناتجة عن الانتقال translocation للقطعة الحاوية على جين تحديد الذكورة في كروموسوم Y (Sex determine region in Y و يرمز له SRY) لتنتقل إلى كروموسوم X مما ينتج عنها ذكور بالتركيب XX ، ففي الإنسان تظهر هذه الحالات بتكرار 1 : 20000 ولادة ، و قد أشار Mittwoch (1992) إلى أن حدوث الطفرة في الجين المسؤول عن تحديد الذكورة في كروموسوم Y (SRY) ويؤدي إلى تطور الجنين إلى أنثى بالتركيب XY و كذلك أشار إلى إن حالات الشذوذ الناتجة عن وجود أكثر من كروموسوم X مع كروموسوم Y مثل XXY يكون ناتجاً عن حقيقة إن هناك جينات أخرى موجودة على كروموسوم Y تكون ضرورية في عملية تكوين النطف و هذه الجينات تكون غير فعالة وظيفياً في حالة وجود أكثر من نسخة واحدة لكروموسوم X في التركيب الوراثي للفرد.

أشار حسن (2011) إلى حالات الانقلاب الجنسي في الدجاج بتكرارات منخفضة وفيها تتحول الأنثى إلى ذكر ولم يلاحظ حصول حالة معكوسة أي الانقلاب الجنسي للذكر إلى أنثى ، و أن حصول حالة الانقلاب الجنسي التلقائي يتضمن تغيراً في الشكل المظهري فقط حيث يبقى التركيب الوراثي للطير أنثى . معظم حالات الانقلاب الجنسي تنتج عن حالات مرضية مثل ورم المبيض أو أمراض الغدة الكظرية والتي يحدث فيها تدمير المبيض الأيسر ويحفز غياب المبيض الأيسر تطور النسيج المتبقي للمبيض الأيمن وينتج عنه تركيب يسمى ovotestis والذي قد يحتوي على أنسجة المبيض أو الخصية أو كلاهما ، وهناك بحوث تشير إلى إمكانية التركيب ovotestis على إنتاج المني القادر على الإخصاب ، مع ذلك فإن هذا الدجاج لا يضع بيضاً أو يصبح ذكراً خصباً . ويفرز التركيب ovotestis الاندروجين فضلاً عن الاستروجين ونتيجة لذلك تتطور لدى الطير صفات الذكر الثانوية وبذلك يكون الطير بتركيب وراثي أنثى ZW بينما يمتلك مظهر الذكر .

الطفرات Mutations

يشير مصطلح الطفرة Mutation إلى حصول تغير مفاجئ في التركيب الوراثي للكائن الحي يورث من جيل لآخر في حالة حصوله في الخلايا التكاثرية و توفر المادة الخام لعملية التطور البيولوجي الذي يكون ضروريا لتكيف الكائنات الحية مع التغيرات البيئية المحيطة . إن المفهوم الأساسي للوراثة يعتمد على انتقال الجينات من جيل الآباء إلى جيل الأبناء من خلال التكاثر بدقة تضمن الحفاظ على خصوصية النوع، و هذه الجينات تمتلك المعلومات الوراثية على شكل شفرات وراثية تمثل تتابع النيكلوتيدات في حلزون الدنا . و لذلك يجري تضاعف المادة الوراثية من خلال الطريقة شبه المحافظة للتكرار بشكل دقيق و تعتمد هذه الدقة على فعالية إنزيمات بلمرة الدنا من خلال فعالية Proofreading و التي تقوم بتحفيز تصنيع الدنا ، و تمثل هذه الفعالية ميكانيكية لضمان دقة نقل المعلومات من جيل لآخر ، و مع ذلك يظهر وجود أخطاء في المادة الوراثية الناتجة عن التكرار تسمى هذه الأخطاء الطفرات . يجب التمييز بين الطفرة و بين التراكم الوراثية الجديدة الناتجة عن العبور و التي تمثل إعادة ترتيب للمادة الوراثية الأصلية (Snustad و Simmons ، 2000) .

بصورة عامة ، التغييرات في التركيب الوراثي يمكن أن يحدث في على مستوى الكروموسومات من ناحية العدد أو التركيب للكروموسوم ، فضلا عن التغير الذي يمكن أن يحصل على مستوى تتابع الجين المفرد ، في الوقت الحاضر يستخدم مصطلح الطفرة للإشارة إلى التغير على مستوى الجين و تسمى الطفرة النقطية Point Mutation ، بينما التغييرات على مستوى الكروموسوم يصطلح عليه الشذوذ الكروموسومي chromosomal aberration . و تمثل الطفرة مصدراً مهماً للتباين الوراثي في الطبيعة و توفر المادة الخام لعملية التطور البيولوجي و بدون الطفرة تصبح الكائنات الحية غير قادرة على التكيف مع التغييرات التي تحدث في المحيط البيئي، و مع ذلك فإن حدوث الطفرة بمعدلات عالية يؤدي إلى خلل و عدم دقة في نقل المعلومات الوراثية و تشكل معظم الطفرات حالة ضارة على أفراد النوع ، حيث إن التركيب الوراثي يكون في حالة توازن مع الظروف البيئية و متطلبات البقاء على الحياة فحدوث طفرة انعدام القرون في الماشية مثلا تجرد الحيوان من وسيلة الدفاع عن نفسه وبالتالي يصبح عرضة لخطر المفترسات فضلا عن ضعف في قابليته على المنافسة على الغذاء و التكاثر ضمن أفراد القطيع للنوع نفسه . هناك صفات عامة للطفرة يمكن مناقشتها من خلال الفقرات الآتية :

1- تحدث الطفرة في الخلايا الجرثومية أو في الخلايا الجسمية . إذ يمكن أن تظهر الطفرة في أي خلية وفي أي مرحلة من التطور في حياة الكائن الحي متعدد الخلايا ، و يتحدد تأثير الطفرة على مظهر الصفة الطافرة حسب درجة السيادة ، نوع الخلية و الوقت الذي حدثت فيه الطفرة من دورة حياة الكائن الحي ، فالطفرة التي تحدث في المراحل المبكرة للتطور الجنيني سوف تنتقل إلى جميع الخلايا التي تنتج عن الانقسامات اللاحقة . في الحيوانات الراقية في سلم التطور تنفصل الخلايا الجرثومية عن بقية الخلايا في مراحل مبكرة من التطور و يطلق على جميع الخلايا عدا الخلايا الجرثومية تسمية الخلايا الجسمية Somatic cells ، و بذلك تسمى الطفرة حسب الخلية التي تحدث فيها ، حيث تسمى Germinal mutation في حالة حدوثها في الخلايا الجرثومية ، بينما تسمى الطفرات الجسمية Somatic mutation عند حدوثها في الخلايا الجسمية ، و الطفرة في الخلية الجسمية ينتج عنها الطراز المظهري

الطافر فقط في الخلايا الناتجة عن الخلية التي حدثت فيها الطفرة و لا تنتقل هذه الطفرة إلى النسل الناتج عن الفرد .

و قد حدثت في التفاح و البرتقال طفرات جسمية تلقائية نتج عنها تحسين في الصفات النوعية للثمار ، و في كلا النباتين فان الخلية الجسمية التي حدثت فيها الطفرة تكاثرت بالانقسام الميتوزي و تكون عنها غصن كامل في الشجرة يتميز بصفات ناتجة عن الطفرة ، و لحسن الحظ فان هذه الطفرات المرغوبة في النبات يمكن إكثارها من خلال الإكثار الخضري باستخدام الأقالام grafts أو البراعم buds التي تؤخذ من الغصن الطافر الأصلي .

إذا حدثت طفرة سائدة في الخلايا الجرثومية فان تأثيرها يكون مباشراً و تنتقل إلى النسل ، أما الطفرة المتنحية فان تأثيراتها تظهر فقط في حالة التركيب الوراثي المتمثل المتنحي . و يمكن أن تحدث الطفرة في أي مرحلة من دورة حياة الكائن الحي فإذا حدثت الطفرة في الكمية فقط فان الفرد الناتج عن هذا الكمية فقط سوف يحصل على الجين الطافر ، أما إذا حدثت الطفرة في الخلايا الجرثومية الأولية الموجودة في الخصى أو المبايض فان العديد من الكميات سوف تحصل على الجين الطافر ، و يمكن إكثار الطفرة إن كانت مرغوبة ففي عام 1791 م تم تسجيل طفرة سائدة في الخلايا الجرثومية في الأغنام ، و هي صفة قصر الأرجل في احد الذكور و استخدم المربي الكبش الذي يحمل الصفة الطافرة في تكوين قطع قصير الأرجل .

2- تكون الطفرة تلقائية Spontaneous mutation أو مستحثة Induced mutation :

يقصد بالطفرة التلقائية بأنها الطفرات التي تحدث دون معرفة سبب حدوثها. أما الطفرات المستحثة فتشير إلى الطفرات الناتجة عن تعرض الكائن الحي لعوامل فيزيائية أو كيميائية تسبب تغيرات في الدنا و تسمى هذه العوامل المطفرات Mutagens و تشمل الإشعاعات المؤينة ، الإضاءة فوق البنفسجية و مدى واسع من المواد الكيميائية .

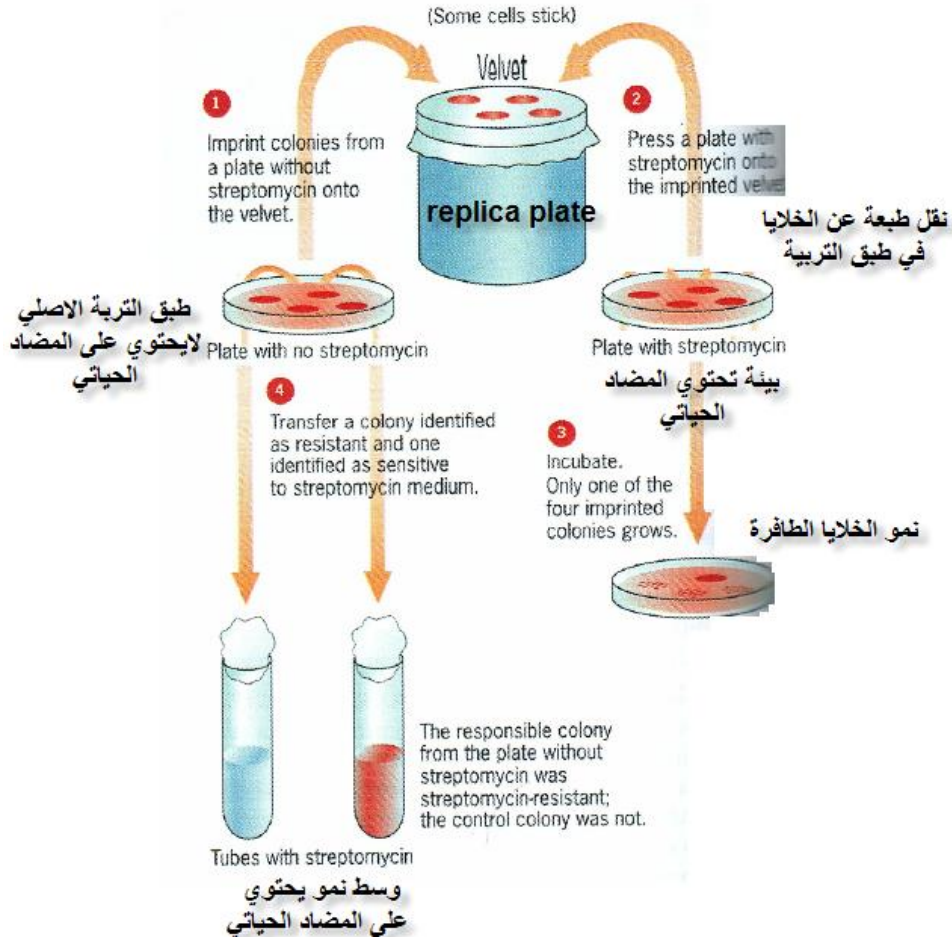
لا يمكن لعلماء الوراثة التمييز بين الطفرة التلقائية بصورة فردية ، و لكن يجري تحديد الطفرة على مستوى العشيرة فعند تعرض عشيرة إلى عامل مطفر فان 99 % من الطفرات التي توجد في العشيرة تكون مستحثة بواسطة العامل المطفر ، و يمكن للباحثين إجراء مقارنة إحصائية بين العشائر التي تتعرض للعوامل المطفرة مع عشائر المقارنة التي لم تتعرض إلى المطفرات .

و بالرغم من أن الطفرة التلقائية لا تحدث بتكرار عال ، فان التكرار المشاهد يختلف من جين لآخر و من كائن حي لآخر ، و يقدر تكرار حدوث الطفرات التلقائية لمختلف جينات البكتريا و البكتريوفاج 10^{-8} - 10^{-10} ، أما الطفرات التلقائية في حقيقية النواة يقدر تكرار حدوثها 10^{-7} - 10^{-9} طفرة / زوج نيكلوتيدي / جيل ، بينما يقدر احتمال حدوث الطفرة التلقائية لكل جين 10^{-4} - 10^{-7} في الجيل الواحد .

3- يكون حدوث الطفرة عشوائياً : أشار Snustad و Simmons (2000) إلى أن علماء

الوراثة لاحظوا أن هناك العديد من الطفرات يمكن أن تحدث نتيجة استخدام المبيدات أو المضادات الحيوية و ينتج عن هذه الطفرات عشائر مقاومة لهذه المبيدات أو المضادات الحيوية ، حيث تقتل جميع الأفراد الحساسة لهذه المبيدات و المضادات الحيوية بينما تبقى الأفراد الطافرة و تتكاثر لإنتاج عشائر مقاومة . إن هذه الملاحظة قد أثارت تساؤلاً حول طبيعة الطفرة في كونها عشوائية و أن الظروف البيئية المجهدة تشجع على ظهور الطفرة الموجودة بالأصل ، أو أن الطفرات يجري توجيهها عن طريق الظروف البيئية المجهدة على

سبيل المثال عند القيام بقطع ذبول الفئران لعدة أجيال هل نتوقع أن نحصل على سلالة فئران لا تمتلك الذيل؟ الجواب لا، فالفئران سوف تستمر تولد بوجود الذيل. عند أخذ بكتريا *E. coli* جرى تنميتها على بيئة خالية من المضاد الحيوي Streptomycin، فعند تعريضها للمضاد الحيوي Streptomycin فإن معظم هذه البكتريا تقتل بالمضاد الحيوي ومع ذلك إذا كانت العشيرة كبيرة سوف يظهر منها خلايا بكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي، والسؤال هنا هل الخلايا المقاومة للمضاد الحيوي موجودة بالأصل في عشيرة البكتريا أو أن المقاومة جاءت استجابة لوجود المضاد الحيوي؟، في عام 1952 م قام Esther و Joshua بإجراء تجربة استخدموا فيها طبق التكرار replica plate وهي تقنية تسمح بتحديد موقع الخلايا الطافرة في مزرعة البكتريا الأصلية (طبق التربية) قبل معاملتها بالمضاد الحيوي (الشكل 1-4) وبعد أخذ طبعة المزرعة البكتيرية بوساطة طبق التكرار نقلت الطبعة إلى طبق جديد يحتوي بيئة تنمية البكتريا حاوية على المضاد الحيوي وحضانتها لغرض تنميتها، لوحظ أن



الشكل 1-4. تجربة Esther و Joshua للتعرف على الخلايا الطافرة قبل التعرض للإجهاد البيئي.

الخلايا الطافرة المقاومة للمضاد الحياتي، و بعد تحديد موقعها على مزرعة البكتريا الأصلية قبل المعاملة ، قام الباحثان بأخذ عينة من موقع الخلايا الطافرة و عينة أخرى من موقع الخلايا الأخرى و زراعتها في بيئة تنموية سائلة تحتوي على المضاد الحياتي كانت النتيجة هي نمو مزرعة الخلايا الطافرة فقط ، إن هذه النتائج أظهرت أن الإجهاد البيئي لا يوجه أو يسبب التغيرات الوراثية و لكنها ببساطة تنتخب الطفرات النادرة الموجودة مسبقاً قبل الإجهاد البيئي و توفر هذه الطفرات شكلاً مظهرياً أفضل تكيفاً للظروف البيئية الجديدة .

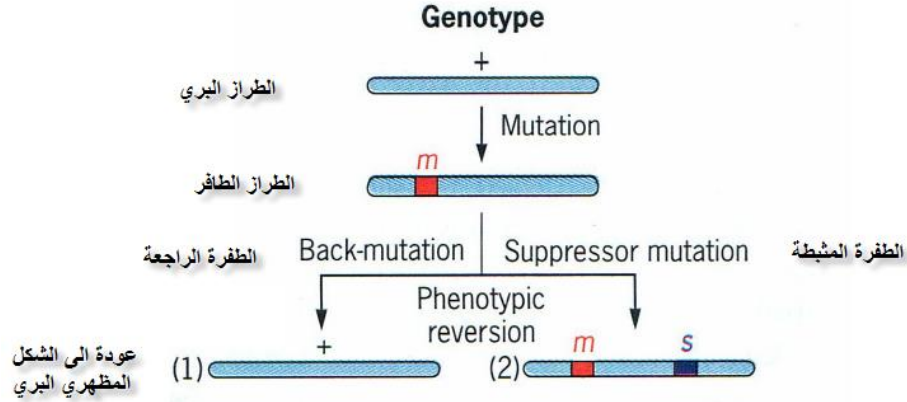
4- الطفرات تكون عكسية في حدوثها : إن حدوث الطفرة في الجين من الطراز البري يؤدي إلى ظهور الاليل الطافر Mutant allele لهذا الجين و ينتج عنه شكل مظهري جديد و تسمى هذه الطفرة إلى الأمام Forward mutation ، كما أن الاليل الطافر يمكن أن تحدث له الطفرة العكسية ليعود للتعبير عن الشكل المظهري البري و تسمى الطفرة الراجعة back mutation ، مما تقدم نرى أن الطفرة قابلة لتكون عكسية .

في بعض الحالات يصعب القرار على الطراز البري أو الطراز الطافر باختلاف العشائر ، ففي العشيرة البشرية يعد علماء الوراثة لون العيون البني و الأزرق كليهما طرازاً برياً و مع ذلك في العشيرة التي يكون أفرادها بالكامل ذات عيون بنية تعد الاليل الخاص بالعيون الزرقاء اليلاً طافراً . إن حدوث الطفرة العكسية لاستعادة الشكل المظهري الأصلي يسمى الطفرة العكسية reverse mutation و تسمى أيضا reversion و يمكن أن تحدث بطريقتين مختلفتين :

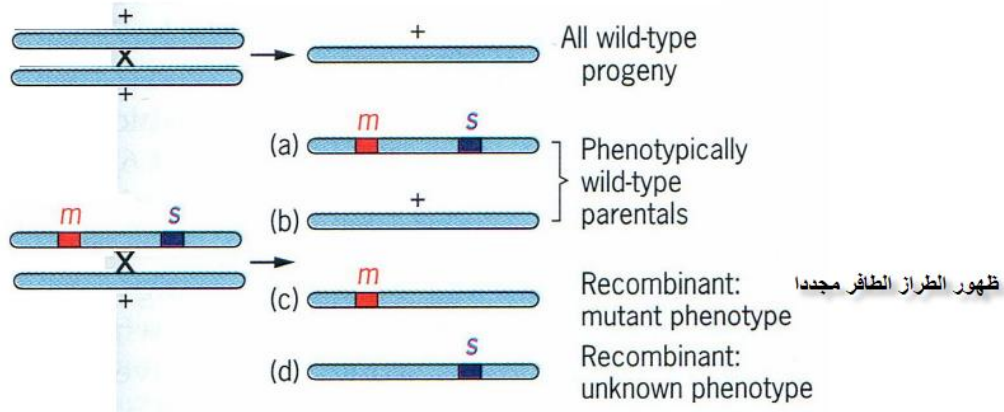
أ- يمكن استعادة الشكل المظهري الأصلي بالطفرة الراجعة و فيها تحدث الطفرة الثانية في نفس الموقع في الجين الذي حدثت فيه الطفرة الأولى و تعيد ترتيب النيكلوتيدات إلى نفس الترتيب في الطراز البري .

ب- استعادة الشكل المظهري للطراز البري يمكن أن يحدث عن طريق الطفرة المثبطة Suppressor mutation و التي تزيل تأثيرات الطفرة الأولى ، و فيها تحدث الطفرة الثانية في موقع مختلف عن موقع الطفرة الأولى سواء في نفس الجين أو جين آخر أو ربما في كروموسوم آخر .

و للتفريق بين الحالتين يستخدم التضريب الرجعي back cross للأفراد الراجعة لمظهر الطراز البري مع أفراد تحمل الطراز البري غير الطافرة ، ففي حالة الطفرة المثبطة فإن الطفرة الأولى تكون موجودة في التركيب الوراثي و يمكن أن يظهر تأثيرها في النسل نتيجة الاتحادات الجديدة بسبب العبور ، أما في حالة الطفرة الراجعة فسوف يكون جميع النسل الناتج عن التضريب الرجعي يحمل الشكل المظهري للطراز البري (الشكل 4-2) .



التضريب الرجعي
back cross



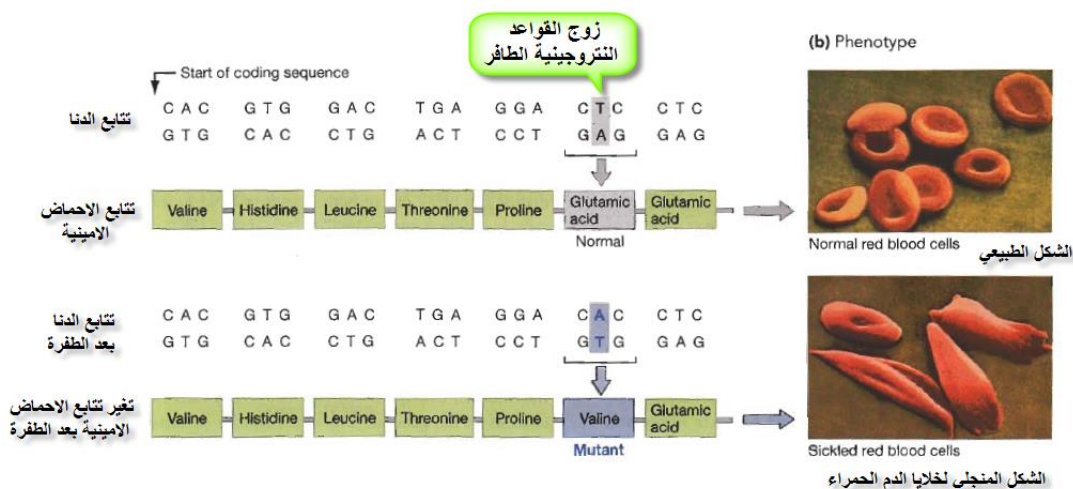
الشكل 4-2. استخدام التضريب الرجعي للتمييز بين الطفرة الراجعة و الطفرة المثبطة .

التأثيرات المظهرية للطفرة

إن الجين هو عبارة عن تتابع من أزواج النيكلوتيدات تشفر لتتابع محدد للأحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد و إن أي طفرة تحدث ضمن الجين ينتج عنها أليل جديد لهذا الجين. و معظم الطفرات التي تم التعرف عليها هي طفرات متنحية و ضارة بالكائن الحي . في بعض الحالات لا ينتج عن الطفرة تغيرات مظهرية وإنما يحدث التغيير على مستوى التركيب الوراثي فقط وتسمى الطفرات الصامتة **Silent mutation** ، بينما في حالات أخرى يكون للطفرة تأثيرات مظهرية مختلفة ، و للتعرف على حدوث الطفرة لابد من وجود بعض التغيرات المظهرية على الطراز البري ، و التغيرات المظهرية الناتجة عن الطفرات تتراوح من تغيرات ثانوية يجري تحديدها باستخدام تقنيات بيولوجية و وراثية و تسمى **Iso alleles** ، إلى تحويرات مظهرية كبيرة أو إلى تأثيرات مميتة للكائن الحي تسمى **Null alleles** و ينتج عن هذه الجينات نواتج جينية غير فعالة وظيفيا . الطفرات يمكن أن تكون سائدة أو متنحية ، ففي الكائنات الحية أحادية المجموعة الكروموسومية مثل البكتريا و الفايروس ، فإن الجميع تعبر عن نفسها مظهريا في الكائن الحي، أما في الكائنات الثنائية المجموعة الكروموسومية مثل حشرة الدروسوفيلا أو الإنسان فإن الطفرات المتنحية يمكن أن تعبر عن نفسها مظهريا في حالة التركيب الوراثي

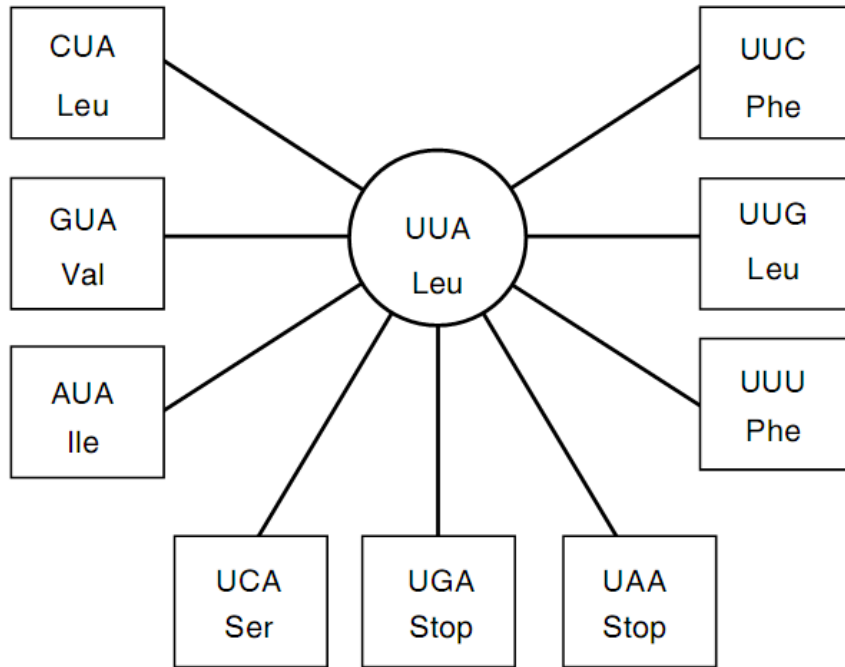
المتماثل المتنحي فقط و لا يمكن التعرف على حدوث الطفرة في حالة التركيب الوراثي الخليط ، و هناك استثناءات لهذه الحالة و هي حدوث الطفرة المتنحية لجينات مرتبطة بالجنس حيث تعبر الطفرة المتنحية عن نفسها مظهريا في الجنس خليط الكميات (ذكور حشرة الدروسوفيليا أو إناث الطيور) في حالة وجود اليل واحد فقط ، و في هذه الحالة فان الطفرات المميتة المتنحية سوف تسبب انحرافا في النسبة الجنسية .

إن الكثير من الصفات الحيوية هي محصلة لسلسلة من التفاعلات الكيميائية في جسم الكائن الحي و في كل مرحلة يجري تحفيزها بإنزيم متخصص (الإنزيم ينتج عن تعبير جين واحد أو أكثر) ، إن حصول الطفرة في الجينات المشفرة لهذه الإنزيمات يمكن أن تعيق أو توقف المسارات الايضية ، و هذا التوقف ناتج عن التغير في تسلسل أزواج القواعد النتروجينية في الجين و التي ينتج عنها تغيرات في تتابع الأحماض الامينية في عديد الببتيد و قد ينتج عن ذلك نواتج جينية غير فعالة وظيفيا، و هذا يمثل التأثيرات الرئيسية للطفرة ، حيث إن الاليل في الطراز البري يشفر لإنتاج إنزيم فعال وظيفيا بينما الاليل الطافر يشفر لإنزيمات أما تكون اقل فعالية أو غير فعالة بالكامل ، و هذا يفسر سبب كون معظم الطفرات متنحية حيث إن امتلاك الخلية لاليل الطراز البري و الاليل الطافر (التركيب الوراثي الخليط) يؤدي إلى وجود الإنزيم غير الفعال وأيضا صورة الإنزيم الفعال الذي يحفز التفاعل الكيميائي و بالتالي التعبير عن الصفة مظهريا . وأشار Freeman (2002) إلى أن الطفرة النقطية الناتجة عن استبدال قاعدة نتروجينية في تتابع الجين قد تؤدي إلى تغير في تسلسل الأحماض الامينية لمنتج الجين و ينتج عن ذلك تغير الشكل المظهري و الوظيفي لمنتج الجين ، و مثال هذه الحالة فقر الدم المنجلي في الإنسان Sickle – Cell Disease و الذي ينتج عن تغير في زوج قاعدي واحد نتج عنه تغير في شفرة الحمض الاميني Glutamic acid في الحالة الطبيعية إلى شفرة حمض أميني آخر (طافر) هو Valine و بذلك نتج عن الطفرة تغير تتابع الأحماض الامينية أدى إلى تغير الشكل المظهري و الوظيفي لمنتج الجين β -globin و في هذه الحالة يكون الهيموغلوبين مختلفا عن الحالة الطبيعية يتبلور عند انخفاض مستوى الأوكسجين في الدم و تلتصق خلايا الدم الحمراء و تتجمع في الأوعية الدموية الصغيرة (الشكل 3-4) .



الشكل 3-4. تأثير الطفرة النقطية على الشكل المظهري و الوظيفي لمنتج الجين .

أشار Dale و Park (2004) إلى أن حدوث طفرة الاستبدال النقطية في تتابع الجين يؤدي إلى عدد من الاحتمالات ، على سبيل المثال استبدال زوج واحد من القواعد النتروجينية في شفرة الحمض الاميني ليوسين UUA يؤدي إلى تسعة احتمالات من الشفرات الأخرى كما في الشكل 4-4 ، اثنتان منها وهما CUA و UUG تكونان طفرات صامتة لأنها تشفر إلى نفس الحمض الاميني ليوسين بموجب فيض الشفرة Synonymous codons ، أما التغيرات الأخرى مثل AUA و GUA فقد يكون لها تأثير قليل على البروتين الناتج لان الحمض الاميني الناتج هو Isoleucine و Valine على التوالي و هي مشابهة للحمض الاميني الأصلي من الناحية الوظيفية .



الشكل 4-4. الاحتمالات المتوقعة عن حدوث طفرة استبدال في زوج واحد من القواعد في شفرة الحمض الاميني.

أما الشفرات UUU أو UUC فهي تشفر للحمض الاميني فنيل الانين phenylalanine و الطفرة تسبب تغيرات مهمة في تركيب البروتين في هذه النقطة . و فيما يخص الشفرات UAA و UGA فإنها تمثل شفرات توقف stop codons و ينتج عنها توقف عملية الترجمة و البروتين الناتج عن هذه الطفرة قد يكون فعالاً أو غير فعال بالاعتماد على مقدار القصر الذي أصاب سلسلة الببتيد .

هناك نوع آخر من الطفرات النقطية ينتج عن الاختلاف في موقع واحد ، تنتج هذه الطفرة عن حذف deletion أو إضافة addition لنيكلويدة واحدة (أو أي عدد من النيكلويدات باستثناء الرقم 3 و مضاعفاته لان الشفرة الوراثية ثلاثية) تسمى هذه الطفرة frameshift mutation ينتج عنها تغيير في نسق القراءة للشفرات الوراثية التي تأتي بعدها (الشكل 4-5) .

(a) Original sequence **تتابع الكودونات الاصلي**

AUG	CUA	GCU	AGC	UUA	CCU	AUU	CGA	UUC	UAC	CUG	AGC	U
Met	Leu	Ala	Ser	Leu	Pro	Ile	Arg	Phe	Tyr	Leu	Ser	

(b) Sequence after deletion of a single base **تتابع الكودونات بعد حصول حذف قاعدة نروجينية واحدة**

Position of deletion

AUG	CUA	CUA	GCU	UAC	CUA	UUC	GAU	UCU	ACC	UGA	GCU	U
Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Phe	Asp	Ser	Thr	Stop		

← Altered amino acid sequence →

(c) Suppression of frameshift **تشبيط الطفرة باضافة قاعدة نروجينية**

Base added

AUG	CUA	CUA	GUC	UUA	CCU	AUU	CGA	UUC	UAC	CUG	AGC	U
Met	Leu	Leu	Val	Leu	Pro	Ile	Arg	Phe	Tyr	Leu	Ser	

← Altered sequence →

الشكل 4-5. الطفرات النقطية الناتجة عن الإضافة أو الحذف لنيكلوتيدة واحدة تؤدي إلى تغير نسق القراءة لبقية الشفرات الوراثية .

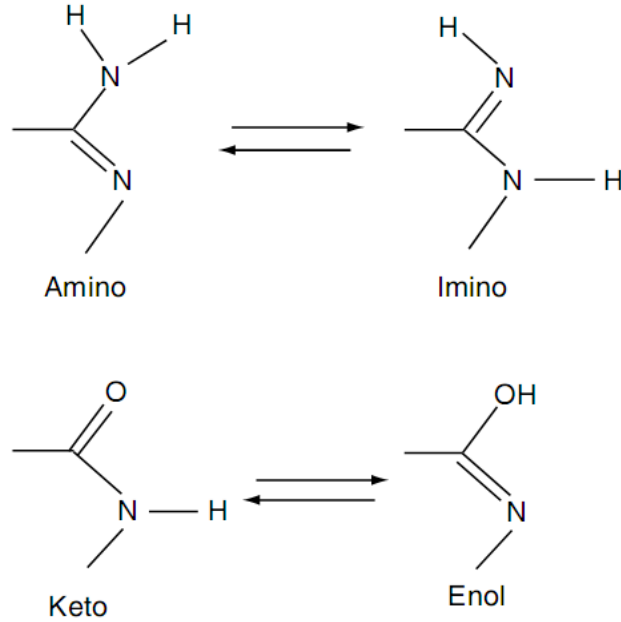
الأساس الجزيئي لحدوث الطفرة التلقائية

إن التركيب الأساسي لحلزون الدنا الذي اقترحه واطسن و كريك يتضمن التخصص في الازدواج القاعدي حيث ترتبط الأدينين مع الثايمين A – T و الكوانين مع السايتوسين G – C و أي ازدواج قاعدي مخالف سيؤدي إلى تشويه حلزون الدنا ، و أن هذا التشوه يجري إزالته باستخدام إنزيمات إصلاح الدنا و يمثل ذلك الفكرة الأساسية للحفاظ على دقة المعلومات الوراثية أثناء تكرار المادة الوراثية .

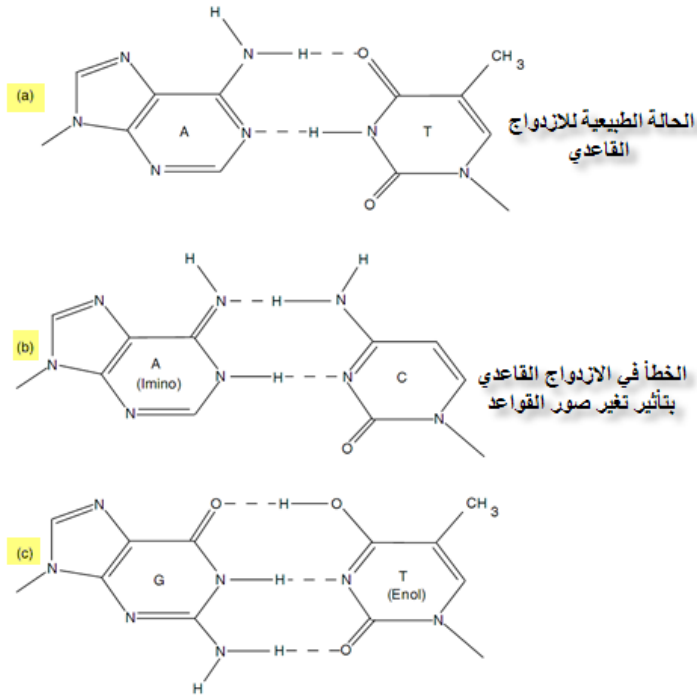
مع ذلك هناك افتراضات حول تركيب القواعد النروجينية المشتركة في تركيب النيكلوتيدات ، فيما إذا كانت تتواجد في صورة واحدة أو أكثر حيث إن القواعد النروجينية يمكن أن تتواجد بأشكال بديلة تسمى Tautomeric forms ينتج عن اختلاف في الأواصر الهيدروجينية ، و هناك مثالان للصورتين المختلفتين للقواعد و هي التغير من amino إلى imino ، و كذلك التحول من صورة keto إلى enol (الشكل 4-6) ، إن الازدواج القاعدي الطبيعي A – T يحدث عندما تكون الأدينين في صورة amino و الثايمين بصورة keto ، و لكن عندما تكون الأدينين بصورة imino فإنها سوف تزوج مع السايتوسين بدلا من الثايمين (الشكل 4-7) . و عندما تكون الثايمين بصورة enol سوف ترتبط مع الكوانين بدلا من الأدينين . إن اندماج زوج من النيكلوتيدات غير الصحيح في تتابع الدنا أثناء تكرار الدنا ينتج عنه الطفرة في هذه النقطة في حالة فشل آلية التصحيح proofreading و بقية أنظمة الإصلاح من إزالة هذا الضرر .

إن الطفرات الناتجة عن التاتوميرات تتضمن استبدال قاعدة بيورين في أحد خيطي الحلزون بقاعدة بيورين أخرى ، و استبدال قاعدة بيريميدين في الخيط المكمل بقاعدة بيريميدين أخرى و هذه

الحالة يطلق عليها Transition . بينما الحالة التي تتضمن استبدال قاعدة بيورين بقاعدة بيريميدين تسمى Transversion .



الشكل 4-6. أمثلة لحصول التاوميرات Tautomerism و التي ينتج عنها طفرات الخطأ في الازدواج القاعدي Mismatched base pair .



الشكل 4-7 . الخطأ في الازدواج القاعدي بين خيطي حلزون الدنا.

الطفرة الشرطية Conditional mutation

يشير هذا النوع من الطفرات إلى أن منتج الجين يعمل بصورة طبيعية و فعال وظيفيا في ظروف محددة ، بينما يظهر التغيير المظهري أو النقص في الفعالية الوظيفية لمنتج الجين أو انعدامها عند تغير هذه الظروف المحددة . مثالها ، في سلالة بكتيرية طافرة حساسة لدرجة الحرارة ، حدثت الطفرة الشرطية في جين تحتاجه الخلية في تكرار الدنا ، يلاحظ أن الجين يؤدي عمله في درجة حرارة 30 م مثلا و لكن يصبح غير قادر على أداء الوظيفة عند درجة حرارة أعلى مثلا 42 م . و تعد الطفرات الشرطية المميّنة مفيدة في الدراسات البيولوجية و الوراثة ، و تتميز الطفرات الشرطية بالخصائص الآتية :

تكون مميّنة في بيئة واحدة أو في ظروف بيئية مقيدة restrictive conditions ، و يكون التركيب الوراثي الطافر قادراً على الحياة في بيئة ثانية . و هناك ثلاثة أقسام رئيسية للطفرات المظهرية الناتجة عن الطفرة الشرطية المميّنة وهي :

1- الطفرات الغذائية Auxotrophic : هي طراز مظهري بكتيري طافر يكون غير قادر على تصنيع مادة ايضية أساسية معينة (حمض اميني ، بيورين ، بيريميدين ، فيتامين و غيرها) و التي يجري تصنيعها من قبل الطراز البري و الذي يطلق عليه Prototrophic Organism من نفس النوع . و بذلك يستطيع الطراز الطافر من نوع Auxotrophic أن ينمو ويتكاثر في البيئة التي تحتوي المادة الايضية غير القادر على تصنيعها و توفيرها بصورة جاهزة في بيئة الكائن الحي ، بينما لا يستطيع هذا الطراز الطافر من النمو و التكاثر في غياب المادة الايضية .

2- الطفرات الحساسة للحرارة Temperature – sensitive mutations : الطافرات من هذا النوع تستطيع النمو عند درجة حرارة محددة و لكنها لا تستطيع النمو إذا تغيرت درجة الحرارة حيث تكون حساسة لدرجات الحرارة ، و تأتي هذه الحساسية من تأثر فعالية منتج الجين و حساسيته لدرجة الحرارة ، على سبيل المثال يكون الإنزيم فعالا عند درجة حرارة منخفضة و لكن يكون بفعالية جزئية أو يكون غير فعال في درجة الحرارة العالية .

3- الطفرات الحساسة المثبطة Suppressor – Sensitive mutations : تكون هذه الطافرات قادرة على الحياة عند توفر عامل وراثي ثان يعمل مثبتاً لحالة الطفرة الأولى ، و لكن في حالة غياب العامل المثبط تكون غير قادرة على الحياة .

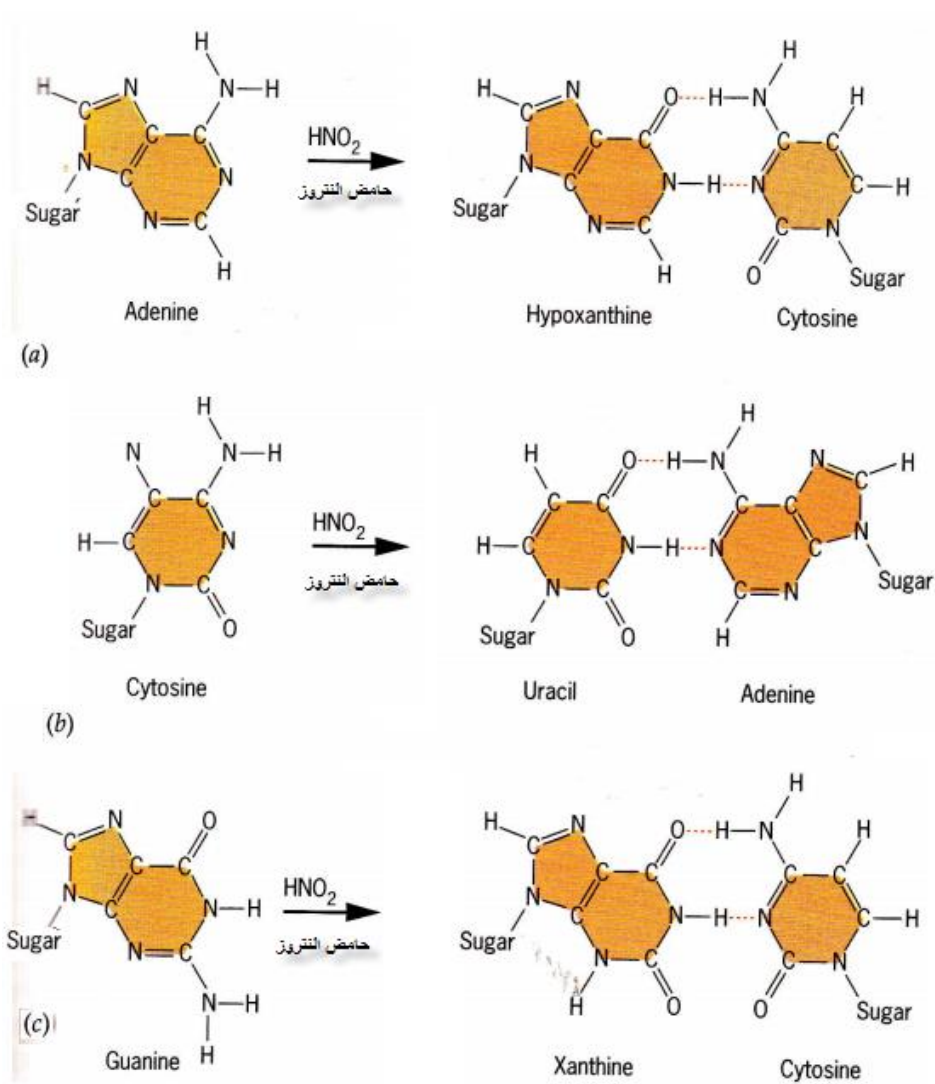
أنواع المطفرات

1- المطفرات الكيماوية Chemical Mutagenic

تعمل العديد من المواد الكيماوية على إحداث تغييرات في المادة الوراثية ينتج عنها الطفرة ، و يمكن تقسيم العوامل الكيماوية المطفرة إلى مجموعتين :

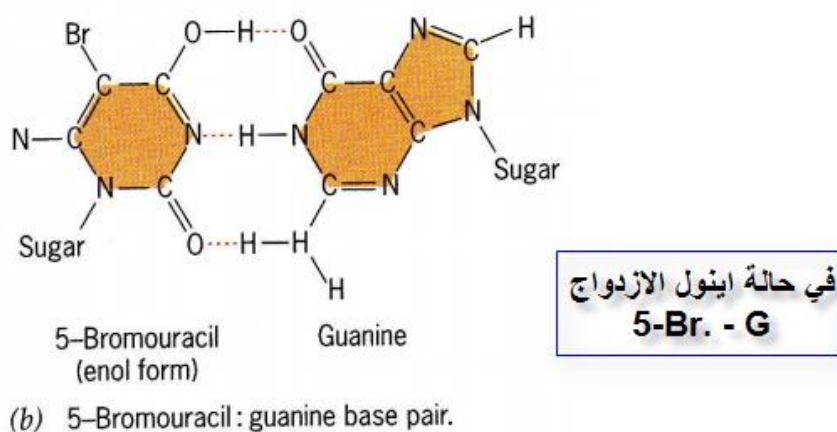
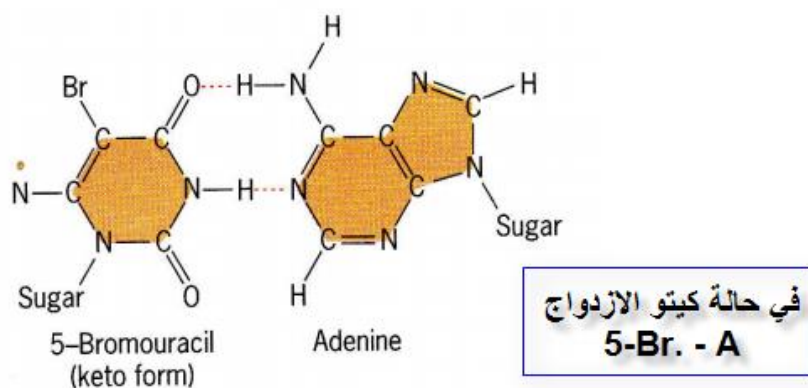
أ- العوامل الكيماوية المطفرة للدنا المتضاعف و غير المتضاعف مثل العوامل الالكيلية Alkyl Agent التي تعمل على نقل مجاميع الالكيل مثل مجاميع المثل و الاثيل و غيرها إلى القواعد النتروجينية في جزيئة الدنا و ينتج عنه تغيير في الازدواج القاعدي ، و حامض النتروز Nitrous acid و يعمل حامض النتروز على إزالة مجموعة الأمين Deamination في القواعد النتروجينية الأدينين ، الكوانين و السايروسين ، و يعمل هذا التفاعل على تحويل مجاميع الأمين إلى مجاميع كيتو Keto و ينتج عن ذلك تغيير في قابلية

ارتباط الأواصر الهيدروجينية في القواعد المحورة، و عند سحب مجموعة الأمين من الأدينين يتحول إلى Hypoxanthine الذي يزدوج مع الساييتوسين بدلا من الثايمين، و تتحول الساييتوسين إلى يوراسيل و تزدوج مع الأدينين بدلا من الكوانين (الشكل 4-8).



الشكل 4-8. تأثير حامض النتروز على القواعد النتروجينية.

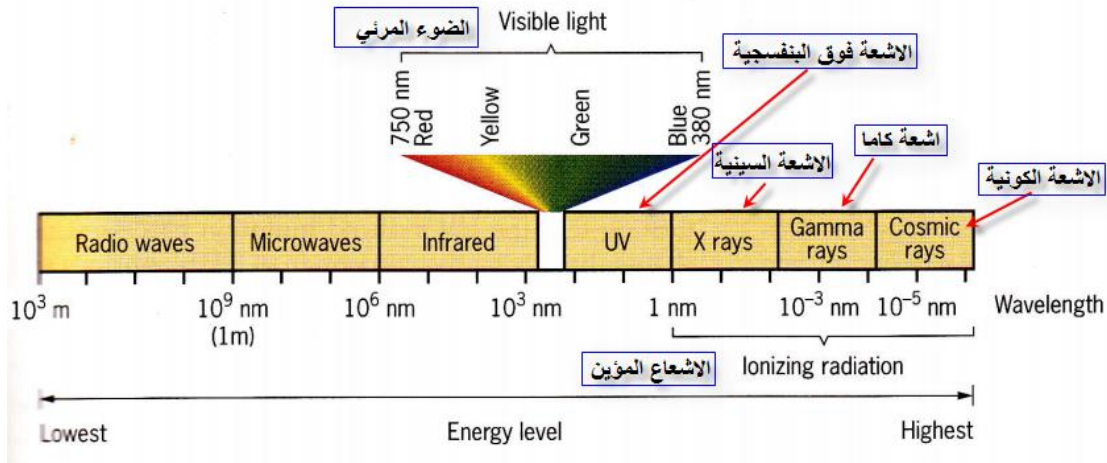
ب- العوامل الكيمياءوية المطفرة للدنا المتضاعف فقط مثل شبيهات القواعد البيورينية و البيرميدينية و التي تشابه تركيب القواعد النتروجينية الطبيعية في الدنا، و بذلك تدخل شبيهات القواعد النتروجينية إلى سلسلة الدنا بدلا عن القواعد النتروجينية الطبيعية خلال عملية تضاعف الدنا ليظهر تأثيرها المطفر. و مشابهات القواعد الأكثر استخداما هي برومبوراسيل (5-Br.) 5-bromouracil و 2-aminopurine . إذ تكون 5-Br. شبيها للثايمين و تكون مجموعة البرومين bromine في الموقع 5 مشابهة في العديد من النواحي إلى مجموعة المثيل في الموقع 5 للثايمين ، و مع ذلك فان البرومين في هذا الموقع يعمل على تغيير توزيع الشحنة و يزيد من تكرار حدوث التاتوميرات Tautomers ففي شكل كيتو keto form 5-Br. مع الأدينين (الشكل 4-9)، و بعد التحول إلى شكل اينول enol form فانها ترتبط مع الكوانين ، و لذلك مع تكرار دورات تضاعف الدنا تعمل 5-Br. على تغيير في الازدواج القاعدي ينتج عنه الطفرة.



الشكل 4-9. تأثير التاتوميرات في ارتباط شبيهات القواعد النتروجينية.

2- استحثاث الطفرات بالإشعاع

يقسم جزء الإشعاع الكهرومغناطيسي ذي الطول الموجي القصير و الطاقة العالية (الطول الموجي الأقصر من الضوء المرئي) إلى الأشعة المؤينة Ionizing radiation مثل الأشعة السينية و بيتا و كاما و هذه الأشعة تخترق الأنسجة الحية إلى مسافات عميقة و تجدر الإشارة إلى أن الأشعة الكونية التي تمثل المصدر الطبيعي تتغير قوتها عند مرورها في الغلاف الجوي و تصل إلى الأرض بكميات ضئيلة لا تؤدي إلى ضرر على الصحة العامة، و القسم الآخر الأشعة غير المؤينة nonionizing radiation و هي الأشعة فوق البنفسجية التي تخترق المنطقة السطحية للأنسجة الحية فقط (الشكل 10-4).



الشكل 10-4. موقع الأشعة المؤينة في الطيف الكهرومغناطيسي .

لقد تغير علم الوراثة بصورة كبيرة في عام 1927 عندما اكتشف Hermann J. Muller إمكانية حدوث الطفرات بتأثير الأشعة السينية في حشرة الدروسوفيليا ، و الذي فتح المجال أمام العلماء لاستحثاث الطفرة في الجين المرغوب لدراسة التأثيرات الناتجة عن فقدان وظيفة الجين، إذ ذكر مولر إن تعريض نطف الدروسوفيليا للأشعة السينية أدى إلى زيادة تكرار الطفرات المميتة المرتبطة بالجنس، و بذلك اعتبر مولر أول من اكتشف إمكانية حدوث الطفرة بتأثير خارجي و حصل على هذا الاكتشاف جائزة نوبل للعام 1946 (Snustad و Simmons ، 2006). و تتمكن الإشعاعات المؤينة بسبب طاقتها العالية من النفاذ عبر الأنسجة الحية مسببة تأين الذرات و تترك الأشعة المؤينة في طريق نفاذها الجذور الحرة ذات شحنات مختلفة تعمل على تنشيط التفاعلات الكيميائية التي تؤدي إلى ظهور الطفرات. و قد أشار الفيصل (1999 أ) إلى أن مولر استعمل طريقة CIB لكشف الطفرات الوراثية في ذكور الدروسوفيليا التي تم تعريضها إلى الأشعة السينية ، و قد وجد إن عدد الطفرات الوراثية تتناسب طرديا مع جرعة الإشعاع التي تعرض لها الجسم.

3- العوامل الوراثية القافزة كعوامل مطفرة

تم التعرف على العديد من العناصر الوراثية القافزة transposable elements في العديد من الكائنات الحية بضمنها البكتريا ، الفطريات، النباتات و الحيوانات. و تعرف العناصر القافزة على أنها تتابعات من الدنا لها القدرة على الانتقال من موقع معين في الجينوم إلى موقع آخر قد يكون في نفس الكروموسوم أو في كروموسوم آخر، و تمثل العناصر القافزة مكونات واضحة في الجينوم فهي تمثل حوالي 40 % من جينوم الإنسان و تلعب دورا في تحديد شكل الكروموسوم و تحويل التعبير الجيني (Snustad و Simmons ، 2006). هناك عدة أنواع من العناصر الوراثية القافزة يمكن تصنيفها وفق آلية انتقالها كما يأتي :

- 1- العناصر القافزة وفق آلية القطع و اللصق cut-past transposons ، ويجري انتقال العناصر القافزة في هذه الطريقة بفعالية إنزيم transposase الذي يشفر من نفس هذه التتابعات المتحركة من الدنا و يعمل الإنزيم على قطع و استئصال هذه التتابعات من موقعها على الكروموسوم و غرسها في موقع آخر جديد .
 - 2- العناصر القافزة المتضاعفة replicative transposons ، و تتضمن العملية تضاعف قطعة الدنا القافزة و تنغرس نسخة منها في موقع جديد بينما يحتفظ الموقع الأصلي بنسخة منها ، و يتداخل إنزيم transposase في انجاز العملية.
 - 3- العناصر القافزة بالاستنساخ العكسي retrotransposons ، و تنجز العملية من خلال غرس قطع العناصر القافزة التي تم تصنيعها من قطع الرنا RNA و يستخدم لهذا الغرض إنزيم الاستنساخ العكسي reverse transcriptase الذي يستخدم قطع الرنا كقالب لتصنيع جزيئات الدنا التي تنغرس في مواقع كروموسومية جديدة.
- و تنشأ الطفرات التلقائية نتيجة لنشاط العناصر القافزة ، إذ يعمل انغراس هذه العناصر في تتابع الجين على تعطيل عمل الجين أو تحويل وظيفته ، و على سبيل المثال يمثل طفرة لون العين البيضاء في الدروسوفيلا ناتجة عن انغراس العناصر القافزة.

اختبار أيمز للكشف عن المواد المطفرة Ames Test

تكون معظم العوامل المطفرة عوامل مسرطنة Carcinogenic agents تؤدي إلى ظهور السرطان، و الصفة المشتركة في مئات الأنواع من السرطان هو إن الخلايا الخبيثة malignant cells تستمر في الانقسام بعد أن يتوقف الانقسام في الخلايا الطبيعية، و المعروف إن الانقسام الخلوي يقع تحت سيطرة الجينات مثل بقية العمليات البيولوجية إذ توجد جينات تشفر إلى منتجات تعمل على تنظيم الانقسام الخلوي استجابة إلى إشارات من داخل و خارج الخلية فضلا عن إشارات بيئية .

عندما تحدث الطفرة في الجينات التي تسيطر على الانقسام الخلوي ، قد تصبح الجينات غير فعالة وظيفيا مما ينتج عن ذلك حدوث انقسام خلوي غير مسيطر عليه. إن النصيحة العامة المعروفة هي الابتعاد عن التعرض للعوامل الكيميائية المطفرة و المسرطنة إلا إن تطور مرافق الحياة الصناعية و الزراعية رافقها استخدام عدد كبير من المواد الكيميائية في القطاعات الإنتاجية فضلا عن دخول أعداد كبيرة من المركبات الكيميائية للاستخدام سنويا مما يتطلب اختبار قدرتها على إحداث الطفرات و الأمراض السرطانية قبل السماح بانتشارها .

تستخدم الفئران بصورة روتينية لاختبار قدرة المادة الكيميائية على إحداث السرطان و تتضمن العملية التغذية أو الحقن للمواد الكيميائية و ثم متابعة فحص الحيوان لظهور الأورام السرطانية، و تكون العملية مشابهة لاختبار حصول الطفرات ، و نتيجة لانخفاض تكرار حصول الطفرات

الطبيعية يتطلب تربية عدد كبير من الفئران المعاملة و غير المعاملة مما يؤدي إلى زيادة تكلفة الاختبار .

قام العالم Bruce Ames بتطوير تقنية حساسة تسمح باختبار عدد كبير من المواد الكيميائية بسرعة و تكاليف منخفضة نسبياً، من خلال قيامه بتكوين سلالات من بكتريا السالمونيلا *Salmonella typhimurium* تحتاج إلى المكملات الغذائية (الحمض الاميني هستدين Histidine) لتكاثرها إذ لا تتمكن البكتريا الطافرة من تصنيع الهستدين و تحتاج وجوده جاهزا في البيئة الغذائية بعكس البكتريا الطبيعية. إلا إن هذه البكتريا تتمكن من الرجوع إلى الحالة الطبيعية من خلال الطفرة العكسية التلقائية أو المستحثة بالمواد الكيميائية ، و يجري مقارنة تكرار حدوث الطفرة بين البكتريا غير المعاملة (الطفرة التلقائية) و تكرار حدوث الطفرة للبكتريا المعاملة بالمادة الكيميائية (الطفرة المستحثة) و تمثل التكرارات العالية للطفرة المستحثة دليلاً على حصول الطفرة العكسية الناتجة عن تأثير المادة الكيميائية التي تصنف على أنها مادة مطفرة.

دراسة الكروموسومات و الاختلافات الكروموسومية

يقوم علماء الوراثة بدراسة عدد الكروموسومات و تركيب الكروموسوم عن طريق اصطبغ الخلايا المنقسمة باستخدام صبغات معينة وبعد ذلك فحصها باستخدام الميكروسكوب ، إن تحليل الكروموسومات المصطبغة ودراستها يمثل نشاطاً رئيسياً في علم الوراثة الخلوية cytogenetic . يمتد علم الوراثة الخلوية إلى القرن التاسع عشر وخلالها تم اكتشاف الكروموسومات وملاحظة سلوكها خلال الانقسام الميوزي والميتوزي والإخصاب . وتطورات البحوث الخاصة بالكروموسومات مع تطور الميكروسكوب واستخدام الصبغات في تحضير الكروموسومات ، وتستخدم تطبيقات الوراثة الخلوية بشكل واسع في الطب حيث تستخدم لتحديد ارتباط بعض الحالات المرضية مع الشذوذ الكروموسومي .

ينجز الباحثون دراستهم على الخلايا المنقسمة وباستخدام الخلايا السريعة الانقسام من الأنسجة الجنينية في الحيوانات وقمم جذور النباتات ،مع إمكانية دراستها في بقيه أنواع الخلايا .على سبيل المثال ، يمكن استخدام خلايا الدم البيضاء في الإنسان وذلك بعزلها عن خلايا الدم الحمراء غير القادرة على الانقسام ، وتوضع خلايا الدم البيضاء في وسط زرعي ويجري تحفيزها على الانقسام الميتوزي باستخدام المعاملة الكيماوية، وبعد ذلك يجري معاملة الخلايا أثناء الانقسام بمادة الكولشيسين Colchicines التي يوقف الانقسام نتيجة منع تكوين خيوط المغزل وبالتالي يمكن رؤية الكروموسومات بسهولة . ويتم تفجير الخلايا بوضعها في محلول ملحي ضعيف hypotonic solution يسبب دخول الماء إلى داخل الخلية بتأثير الأزموزية وتفجيرها حيث تنتشر الكروموسومات إلى خارج الخلية وكانت تستخدم صبغة الفولجين feulgen's reagent خلال الستينيات وبداية السبعينيات من القرن العشرين وهي صبغة أرجوانية تتفاعل مع جزيئات السكر في الدنا ، أو باستخدام صبغة aceto-carinine وهي صبغة حمراء غامقة . وبالرغم من استخدام هذه الصبغات لازال مستمرا في دراسات الوراثة الخلوية التقليدية ،هناك الكثير من الدراسات تستخدم صبغات تنغرس بين أزواج القواعد النتروجينية للدنا وتسمى intercalating agents ،ومنها صبغة Quinacrine وتتضمن الكروموسومات التي تصطبغ بهذه الصبغة بإظهار نمط من الحزم تظهر عند تعرض الكروموسوم إلى الأشعة فوق البنفسجية ultra violet light لان هذه الصبغة مشعة fluorescent وبذلك يظهر الكروموسوم مضيئاً في بعض المناطق ومعتمتاً في مناطق أخرى

واستخدم هذه الحزم في التعرف على الكروموسومات فضلاً عن استخدامها في دراسة الشذوذ في تركيب الكروموسوم وتسمى هذه التقنية Q banding ويطلق على الحزم التي تظهر Q bands . وتم تطوير تقنيات فعالة لاصطباج الكروموسومات باستخدام صبغات غير مشتقة ، والأكثر استخداماً فيها هي صبغه كمزا Giemsa stain وهي خليط من الصبغات سميت باسم مكتشفها Gustav Giemsa وتعمل هذه الصبغة نمطاً من الحزم على كل كروموسوم (قابلة للتكرار) وتسمى هذه التقانة G banding وهي تعطي حزماً داكنة مماثلة تقريباً للحزم المضيئة في الصبغة quinacrine تقانة أخرى تسمى R banding تعطي نمطاً عكس الحزم في G banding باستخدام صبغة acridine orange والتقانة الثالثة تسمى C banding تقوم باصطباج المنطقة المحيطة بالسنترومير في كل كروموسوم وقد وفرت هذه التقانات الإمكانية للباحثين في الوراثة الخلوية الدراسة التفاصيل الدقيقة في تركيب الكروموسوم.

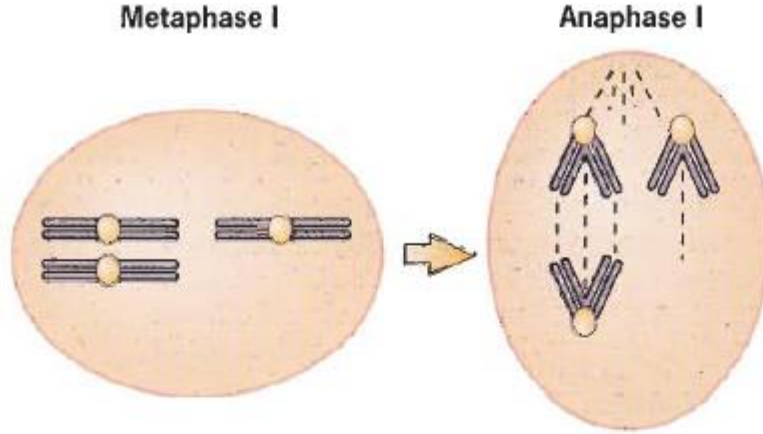
تحتوي الخلية البشرية على 46 كروموسوماً (44 كروموسوماً جسميةً وكروموسومين جنسية xx في الإناث و xy في الذكور) . في الطور الاستوائي يمكن ترتيب الكروموسومات تبعاً لحجم الكروموسوم ، الشكل ونمط الحزم . لغرض التحليل ودراسة الكروموسومات يجري تصوير الكروموسومات ثم تقطيع الصورة و ترتيب الكروموسومات بشكل أزواج متناظرة وحسب حجم الكروموسوم من الأكبر إلى الأصغر ويعطي زوج الكروموسومات الأكبر الرقم 1 والأصغر يعطى الرقم 22 ، والكروموسوم x يكون متوسطاً في الحجم ويكون الكروموسوم y نفس الحجم للكروموسوم 22 . ويطلق على هذا الترتيب Karyotype وهي مشتقة من الكلمة الإغريقية Kernel والتي تشير إلى محتويات النواة . ولقد كان من الصعب تمييز كروموسومات الإنسان بشكل فردي قبل توفر تقنيات الحزم الكروموسومية ، حيث كان يعمل الباحثون على ترتيب الكروموسومات في مجاميع حسب حجمها فتوضع الكروموسومات الأكبر في المجموعة A والأقل في مجموعة B وهكذا ولكن كان من المستحيل التعرف على كروموسوم معين داخل المجموعة. أما اليوم ونتيجة لاستخدام تقنيات الحزم يمكننا وبشكل روتيني التعرف على كل كروموسوم. وأصبح بالإمكان تمييز كل ذراع من الكروموسوم . ويجري تمييز ذراع الكروموسوم عن طريق موقع السنترومير وهو موقع اتصال خيوط المغزل بالكروموسومات لتحريكه أثناء الانقسام الخلوي ويقسم السنترومير الكروموسوم إلى ذراع طويلة وأخرى قصيرة ويرمز للذراع القصيرة بالرمز P من الكلمة الفرنسية Petite وتعني صغير وبالرمز q لأنه يتبع الحرف P بالحروف الانجليزية . ولتخصيص الإشارة إلى الذراع القصير في الكروموسوم 5 ويكتب 5P.

ينأثر الشكل المظهري في الكثير من الكائنات الحية بتغير عدد الكروموسومات في الخلية ، وفي بعض الحالات يكون التغير في جزء من الكروموسومات مؤثراً. إن التغيرات العددية عادة توصف على أنها اختلافات في Ploidy الخاص بالكائن الحي (وجاءت من الكلمة الإغريقية وتعني Fold مثل Two-fold الكائنات التي تمتلك مجاميع طبيعية من الكروموسومات تسمى تعدد المجاميع الحقيقي euploid (من الكلمة الإغريقية جيد good و fold) .

والكائنات التي تحمل مجاميع إضافية من الكروموسومات تسمى تعدد المجاميع الكروموسومية polyploidy ومستوى تعدد المجاميع الكروموسومية يوصف بالإشارة إلى عدد الكروموسومات الأساسي وعادة يشار إليها n وفيها يشير n إلى عدد الكروموسومات في المجموعة الواحدة . وبذلك ثنائية المجموعة الكروموسومية diploids تشير إلى امتلاك الفرد مجموعتين كروموسوميتين 2n وثلاثية المجموعة الكروموسومية triploids وهي 3n وهكذا .

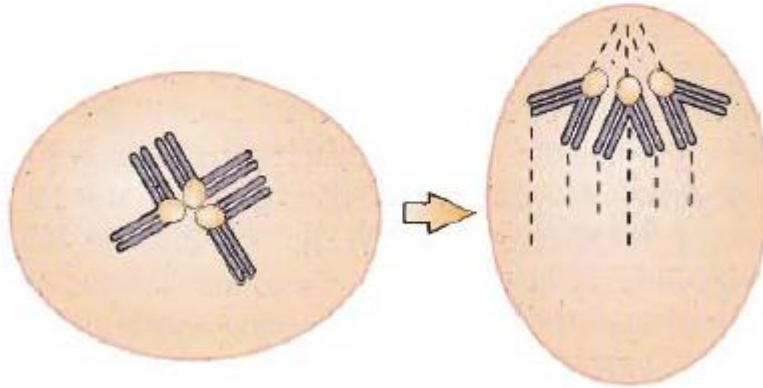
و الكائنات الحية والتي تمتلك عدداً كروموسومياً غير طبيعي يسمى *aneuploid* وهذه الكائنات تعاني من عدم اتزان وراثي . والتميز بين الاختلاف في عدد الكروموسومات *aneuploidy* و الاختلاف في عدد المجاميع الكروموسومية *polyploidy* هو إن *aneuploidy* يشير إلى تغيرات عديدة في جزء في الجينوم وغالبا ما يكون كروموسوماً واحداً بينما *polyploidy* يشير إلى تغيرات عديدة في المجموعة الكروموسومية الكاملة. إن وجود مجاميع إضافية من الكروموسومات، هو شائع في النباتات ولكنه نادر جدا في الحيوانات. وتكون نصف أنواع المملكة النباتية هي متعددة المجاميع الكروموسومية وحوالي ثلثي النباتات العشبية تكون متعددة المجاميع الكروموسومية . العديد من هذه الأنواع تتكاثر لا جنسيا .

في الحيوانات ، والتي يكون فيها التكاثر غالبا جنسيا يكون تعدد المجاميع الكروموسومية نادرا وربما يعود ذلك إلى تدخل ذلك مع آلية تحديد الجنس. وقد أشار Lewis (2008) إلى أن ثلثي حالات ثلاثي المجموعة الكروموسومية $3n$ في الإنسان تنتج عن إخصاب البويضة بنطقتين ، بينما تظهر في حالات أخرى من خلل في تكوين الكميات و فيه تخصب نطفة طبيعية بويضة ثنائية المجموعة الكروموسومية ، و يسبب ثلاثي المجموعة الكروموسومية 17 % من حالات الإخصاب التلقائي في الإنسان ، و من الحالات النادرة أن يبقى الرضيع ثلاثي المجموعة الكروموسومية في الحياة لأيام قليلة نتيجة لوجود العيوب في جميع الأعضاء تقريبا. و توجد في الإنسان خلايا معينة تكون متعددة المجاميع الكروموسومية بطبيعتها مثل خلايا الكبد التي تكون رباعية المجموعة الكروموسومية. إحدى التأثيرات العامة لتعدد المجاميع الكروموسومية وهي زيادة حجم الخلية وذلك لوجود الكثير من الكروموسومات في النواة . وما يصاحبه في زيادة في حجم العضيات في الخلية . وتكون الأنواع المتعددة المجاميع الكروموسومية اكبر حجما وأقوى من نظيرتها ثنائيه المجموعة الكروموسومية . وهذه الصفات لها أهميتها لدى الإنسان إذ يعتمد على العديد من النباتات المتعددة المجاميع لإنتاج الغذاء ، لأنها تميل لإنتاج بذور وثمار كبيرة . وبالرغم من المظهر القوي للأنواع المتعددة المجاميع الكروموسومية إلا إنها تكون عقيمة ، و المجاميع الإضافية من الكروموسومات تتعزل بصورة غير منتظمة في الانقسام الميوزي مما يؤدي إلى إنتاج كميات غير متوازنة ، و في حالة اتحاد هذه الكميات خلال الإخصاب فان الزايكوت الناتج سوف يهلك. و مثال لهذه الحالة في الكائن الحي الثلاثي المجموعة الكروموسومية $3n$ ، عندما يحدث الانقسام الميوزي فان الكروموسومات المتناظرة تزودج مع بعضها البعض (الشكل 4-11) و النتيجة المتوقعة أن يحصل ازدواج بين مجموعتين من الكروموسومات و تترك المجموعة الثالثة بدون نظير و يسمى هذا الكروموسوم *univalent* و الاحتمال الآخر هو التقاء المجاميع الثلاثة مكونة *Trivalent* و فيها يكون الازدواج جزئياً بين الكروموسومات الثلاثة ، و في كلتا الحالتين يكون من الصعوبة التنبؤ عن كيفية حركة الكروموسومات أثناء الطور الانفصالي للانقسام الميوزي الأول ، و الأكثر احتمالا هو حركة مجموعتين من الكروموسومات إلى احد أقطاب الخلية و المجموعة المتبقية تتجه إلى القطب الآخر و ينتج عن ذلك نوعان من الكميات ، و مع ذلك الاحتمال الآخر هو اتجاه المجاميع الثلاث إلى احد أقطاب الخلية و ينتج عن ذلك كميات لا تمتلك كروموسومات ، و هكذا تكون الكائنات الثلاثية المجموعة الكروموسومية عقيمة بالكامل ، و أشار Freeman (2002) إلى أن الفاكهة العديمة البذور *seedless fruits* مثل البطيخ و الموز عديم البذور ناتجة عن التركيب الوراثي الثلاثي المجموعة الكروموسومية ، ففي هذه الأنواع من الفاكهة يكون التركيب



(a) Two of the three homologs synapse, leaving a univalent free to move to either pole during anaphase.

انتقال زوج الكروموسومات المتناظرة الى احد الاقطاب
و الكروموسوم المنفرد الى القطب الاخر خلال الطور الانفصالي



(b) All three homologs synapse, forming a trivalent, which may move as a unit to one pole during anaphase. However, other anaphase disjunctions are possible.

انتقال الكروموسومات الثلاثة المتناظرة
الى احد اقطاب الخلية دون القطب الاخر

الشكل 4-11. حركة الكروموسومات المتناظرة في ثلاثية المجموعة الكروموسومية أثناء الطور الانفصالي.

الوراثي الثنائي المجموعة الكروموسومية ($2n$) منتجا للبذور و يمثل الحالة الطبيعية بينما يكون التركيب الوراثي ($3n$) عديم البذور، لان الأفراد الثلاثية المجموعة الكروموسومية تنتج كميات غير متوازن ينتج عنها أجنة غير قادرة على الحياة و بذلك تموت بذور هذه النباتات و

تختفي ، و يجب الإشارة إلى أن هناك العديد من النباتات تكون متعددة المجاميع الكروموسومية في الحالة الطبيعية و تكون منتجة

للذور و فيها يجب أن يكون عدد الكروموسومات زوجيا لكي ينتج عنها كميات متوازنة فعلى سبيل المثال حنطة الخبز تكون سداسية المجموعة الكروموسومية (6n) و ينتج عن الانقسام الميوزي كميات ثلاثية المجموعة الكروموسومية (3n) و بعد الإخصاب يكون النسل (6n) طبيعياً ، في الزراعة تتكاثر ثلاثية المجموعة الكروموسومية عن طريق التكاثر اللاجنسي مثل القطع في الموز ، التطعيم في بعض أنواع التفاح .

و تنشأ النباتات متعددة المجاميع الكروموسومية ضمن آلية التطور الطبيعي في أنواع النباتات ، وهناك احتمالان لهذا السلوك : الأول ، في الخلايا التي تنقسم لإنتاج أنسجة مختلفة من النباتات (الخلايا المرستيمية) . الثاني ، في الخلايا التكاثرية التي تنتج عن الانقسام الميوزي . ففي الخلايا المرستيمية الثنائية المجموعة الكروموسومية تفشل الكروماتيدات الشقيقة في الانفصال أثناء الانقسام الميوزي و ينتج عن هذا الفشل خلايا رباعية المجموعة الكروموسومية و التي تنقسم انقسامات متتالية لينتج عنها مستعمرة من الخلايا رباعية المجموعة الكروموسومية في نبات ثنائي المجموعة الكروموسومية ، و في حالة نجاح زراعته يمكن إنتاج نبات رباعي المجموعة الكروموسومية . أما الحالة الثانية فقد تنتج عن فشل انفصال الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزي مما ينتج عنه كميات تمتلك ضعف المجاميع الكروموسومية الطبيعية و هذا يقود إلى تعدد المجاميع الكروموسومية في حالة نجاح الإخصاب .

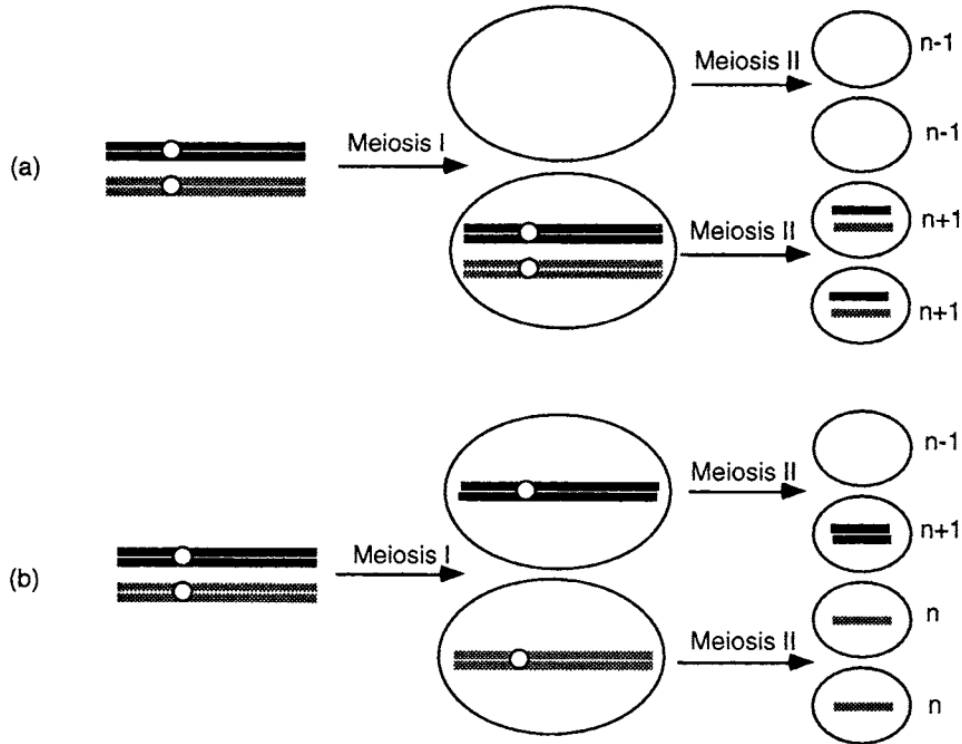
و تم تجريبها استحداث نباتات متعددة المجاميع الكروموسومية من خلال تهجين نبات الفجل و radish مع الملفوف cabbage و بالرغم من انتماء النباتين إلى جنسين مختلفين تمكن الباحثون من تضييها و إنتاج الهجين الذي كان عقيماً ، و يمتلك كلا النوعين تسعة أزواج من الكروموسومات ونتاج عنهما الهجين الذي يمتلك 18 زوجاً كروموسومياً . و تم استحداث تعدد المجاميع الكروموسومية في نباتات أخرى عن طريق استخدام الكولشيسين حيث وضعت قمم الجذور في محلول الكولشيسين لتنشيط تكوين خيوط المغزل و بذلك تضاعفت أعداد الكروموسومات و نتج عن ذلك نباتات رباعية المجموعة الكروموسومية ، و في تجربة قام بها Beasley في أربعينيات القرن العشرين بتضريب نوعين من القطن ، النوع الأول قطن العالم القديم يمتلك 13 زوجاً من الكروموسومات الكبيرة ، والنوع الثاني القطن الأمريكي يمتلك 13 زوج من الكروموسومات الصغيرة و تم الحصول على هجين الذي سمي قطن العالم الجديد و يمتلك 26 زوجاً كروموسومياً (13 زوجاً كروموسومياً كبيراً و 13 زوجاً كروموسومياً صغيراً) ، هناك حالة خاصة تظهر في بعض الكائنات الحية بصورة طبيعية تكون فيها بعض الأنسجة في جسمها متعددة المجاميع الكروموسومية خلال عملية التطور و النمو ، إن هذه العملية ربما تكون استجابة إلى حاجة الجسم إلى نسخ متعددة من كل كروموسوم و جيناتها و تسمى هذه العملية endomitosis و تتضمن تضاعف الكروموسوم يتبعه انفصال الكروماتيدات الشقيقة دون أن يرافقه انقسام الخلية و بذلك تتراكم مجاميع الكروموسومات ضمن نواة واحدة . و في الإنسان مثلاً فان دورة واحدة من endomitosis ينتج عنها خلايا رباعية المجموعة الكروموسومية في الكبد و الكلية .

و يجب التمييز بين endomitosis و الكروموسومات العملاقة Polytene و هي حالة تعدد للمجاميع الكروموسومية تحدث بدون انفصال الكروماتيدات الشقيقة ، و في هذه الحالة تتراكم الكروموسومات المتضاعفة مع بعضها مكونة حزمة من الخيوط الكروماتينية المتوازية تسمى

polytene و هي كلمة إغريقية تعني خيوط متعددة ، و من الأمثلة على الكروموسومات العملاقة تلك الموجودة في الغدد اللعابية في يرقة الدروسوفيلا ، و فيها يتضاعف كل كروموسوم حوالي تسع مرات و ينتج عن ذلك 500 نسخة في كل خلية ، و جميع النسخ ترتبط مع بعضها بقوة مكونة حزمة سميكة من ألياف الكروماتين و هذه الحزمة تكون كبيرة بحيث يمكن مشاهدتها باستخدام قوة تكبير صغيرة في الميكروسكوب ، و هذه الكروموسومات توجد أيضا في العديد من أنواع الحشرات ضمن رتبة غشائية الأجنحة Diptera التي تشمل الذباب و البعوض .

الاختلافات في عدد الكروموسومات aneuploidy

يوصف التغير العددي في جزء من الجينوم ، غالبا ما يكون في كروموسوم واحد . فالأفراد التي تمتلك كروموسوماً إضافياً، أو فقدت كروموسوماً، أو توليفات للحالتين توصف ضمن aneuploidy. إن هذا الوصف يتضمن القطع الكروموسومية . و قد ينتج ذلك نتيجة الفشل في انفصال الكروموسومات و انتقالها إلى الكميات بصورة متوازنة في الطور الانفصالي للانقسام الميوزي الأول أو الثاني (الشكل 4-12) ، وتم دراسة aneuploidy في النباتات وقد لوحظ إن عدم التوازن في الكروموسومات أدى إلى تأثيرات مظهرية .



الشكل 4-12. تكوين الكميات الغير متوازنة نتيجة الخلل في الانقسام الميوزي الأول (a) أو الخلل في الانقسام الميوزي الثاني (b).

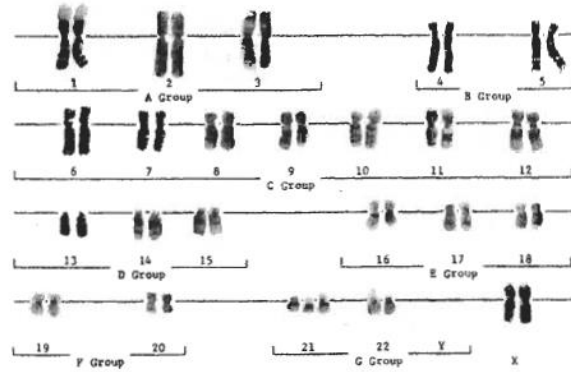
ثلاثي الكروموسوم Trisomy

إن المثال المعروف جيدا لهذه الحالة من الشذوذ الكروموسومي هو متلازمة دوان Down syndrome وتسمى أيضا المنغولية وهي الحالة المرتبطة بوجود كروموسوم إضافي بالرقم 21

في الإنسان (الشكل 4-13) وقد تم وصف متلازمة داون للمرة الأولى عام 1866 من قبل الطبيب البريطاني Langdon Down ولكن لم يتم معرفة الأساس الكروموسومي لهذه الحالة حتى عام 1959. الأشخاص المصابون يكونون قصيري القامة وضعافاً في المفاصل خصوصاً الكاحل ، ويمتلكون جمجمة عريضة ، وانف عريض و لساناً كبيراً ، مع تخلف في القدرات العقلية مما يتطلب رعاية واهتماماً خاصاً . وتعتبر المنغولية مثال لحالة ثلاثية الكروموسوم وفيها يكون عدد الكروموسومات الكلية في الهيئة الكروموسومية 47 كروموسوماً ويشار إليها $2n+1$ وتكتب أيضاً بالصيغة $47,XX,+21$. وتنشأ حالة ثلاثية الكروموسوم من فشل الانفصال لأحد الكروموسومات في الانقسام الميوزي للخلية ويمكن لحالة فشل الانفصال أن تحدث في أي من الأبوين إلا إن حدوثها يكون أكثر احتمالاً في الأم فضلاً عن زيادة احتمال حدوثها مع تقدم عمر الأم فقد وجد أن الأمهات اصغر من 25 سنة تكون احتمال إنجاب طفل منغولي $1/1500$ بينما تصبح هذه الاحتمالية $1/100$ عندما تكون الأم بعمر 40 سنة . ويعود ذلك إلى أن الانقسام الميوزي من الإناث يبدأ في المرحلة الجنينية ولكن لا يكتمل إلا بعد إخصاب البويضة ، وخلال الفترة الطويلة قبل الإخصاب تبقى الخلية ساكنة في الطور التمهيدي للانقسام الأول ، ومع زيادة الوقت في الطور التمهيدي تزداد فرصة عدم ازواج الكروموسومات وبالتالي عدم انفصالها.



(a) Down syndrome
الشكل المظهري لمتلازمة داون



(b) Karyotype of a child with Down syndrome
الهيئة الكروموسومية لمتلازمة داون في الإنسان

الشكل 4-13. الهيئة الكروموسومية لمتلازمة داون في الإنسان .

وتم تسجيل حالات أخرى عن ثلاثية الكروموسومات في الكروموسوم 13 و 18 بالرغم من كونها نادرة و ينتج عنها تشوهات مظهرية خطيرة وحياة قصيرة لا تتجاوز أسابيع قليلة بعد الولادة يتبعها الوفاة .حالة أخرى من التشوه الكروموسومي ثلاثي الكروموسوم سجلت في الإنسان هي $47,XXX$ وتكون الأفراد قادرة على الحياة وذلك لان اثنين من الكروموسومات الجنسية X تكون غير نشيطة مما يقلل من جرعة الكروموسوم X إلى المستوى الطبيعي ، والمظهر الطبيعي للأفراد إناث وتكون بالمظهر الطبيعي تقريبا وفي بعض الأحيان يظهر تخلف عقلي بسيط مع انخفاض الخصوبة.

أما حالة الشذوذ الكروموسومي الثلاثي $47,XXY$ في الإنسان ، فيكون الفرد المصاب يمتلك كروموسومين X و كروموسوم Y ، مظهرياً يبدو الفرد ذكراً و لكنه يظهر بعض الصفات الجنسية الثانوية للإناث و يكون عادة عقيباً ، و قد وصف klinefelter هذه الحالة في عام

1942 و سميت باسمه klinefelter syndrome و من الأعراض المظهرية ، ضمور الخصى و تضخم الصدر و طول الأذرع و عدم نمو شعر الجسم . تنشأ هذه الحالة XXY عن إخصاب بويضة غير طبيعية XX مع نطفة طبيعية أو إخصاب بويضة طبيعية X مع نطفة غير طبيعية XY ، و هناك عدة حالات تدرج ضمن هذه المتلازمة تمثل حالات معقدة لهذه الحالة منها XXXXXY ، XXXXY ، XXXYY ، XXXY ، XXYY درجات من التخلف العقلي .

و من حالات الشذوذ الكروموسومي القادرة على الحياة هي XYY، 47 يكون فيها الفرد ذكراً طويل القامة ، و لم تلاحظ على الفرد سلوكيات شاذة . أما الحالات الأخرى التي تم دراستها في ثلاثية الكروموسوم في الإنسان كانت مميتة خلال التطور الجنيني ما يشير إلى أهمية الجرعة الجينية في المظهر الطبيعي للفرد .

أحادي الكروموسوم Monosomy

تظهر حالة أحادي الكروموسوم عند فقدان كروموسوم في الفرد الثنائي المجموعة الكروموسومية ، و في الإنسان هناك حالة واحدة قادرة على الحياة هي X، 45 و هذه الأفراد تمتلك كروموسوم X واحد فقط بينما تكون الكروموسومات الجسمية كاملة ، و مظهر الأفراد هي إناث عقيمة و تظهر على الأفراد قصر القامة ، ضعف السمع و تشوهات في الأوعية الدموية القلبية . و قد قام Henry H. Turner بدراسة هذه الحالة للمرة الأولى عام 1938 و لذلك سميت متلازمة تيرنر Turner syndrome ، و تنشأ هذه الحالة نتيجة فقدان البويضة أو النطفة كروموسوم الجنس X خلال الانقسام الميوزي و تكوين الكميات أو نتيجة فقدان كروموسوم الجنس X أثناء الانقسام الميوزي بعد الإخصاب ، و توجد العديد من الملاحظات تؤكد وجود الحالة الثانية في المصابين بمتلازمة تيرنر وهي الموزائكية الجسمية somatic mosaics ، و هؤلاء الأشخاص يمتلكون نوعين من الخلايا في الجسم ، النوع الأول X، 45 و النوع الآخر هو XX، 46 و سبب ظهور الموزائكية هو فقدان الكروموسوم X خلال التطور الجنيني للزايجوت الطبيعي XX، 46 . كما تشير الدراسات الوراثية إلى وجود الموزائكية XO / XX في حشرة الدروسوفيلا و ينتج عن هذه الموزائكية طراز مظهري غريب ، و السبب إن جنس الحشرة يتحدد من خلال نسبة كروموسوم X إلى الكروموسوم الجسمية ، و بذلك تظهر الحشرة بالتركيب (XX / XO) أي أنها تمتلك جزءاً أنثوياً و جزءاً ذكرياً ، و فيها ينتج عن الخلايا التي تحمل XX اتجاه أنثوي في الجسم بينما ينتج عن الخلايا التي تحمل XO اتجاه ذكري في الجسم و تسمى الحشرات التي تحمل التراكيب الذكرية و الأنثوية في جسمها gynandromorphy .

الحذف و التضاعف للقطع الكروموسومات

Deletion and duplication of chromosome segment

إن فقدان قطعة من الكروموسوم يشار إليه بمصطلح الحذف deletion أو النقص deficiency و يمكن تشخيص الحذف عن طريق الفحص الكروموسومي إذا كان كبيراً بينما لا يمكن ذلك إذا كان الحذف بسيطاً. و في الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسومية فإن الحذف يجعل جزء من الجينوم hypoploid و قد ينتج عن ذلك تأثيرات مظهرية خصوصاً إذا كان الفقد كبيراً، و المثال التقليدي لهذه الحالة متلازمة مواء القطط cridu-chat Syndrome في الإنسان (المصطلح من الكلمة الفرنسية و تعني مواء القططة) و تنشأ المتلازمة بسبب فقدان جزء

من الذراع القصيرة للكروموسوم الخامس في المنطقتين 5p15.2 & 5p15.3 و يعاني الطفل المصاب من صغر في حجم الرأس و تخلف عقلي (الجنزوري ، 2008). إن وجود قطعة كروموسومية إضافية يشار إليه بمصطلح الإضافة أو التضاعف duplication ، و يمكن للقطعة الإضافية أن ترتبط إلى احد الكروموسومات أو تكون حرة منفصلة و تسمى في الحالة الثانية free duplication و في كلتا الحالتين يكون التأثير المظهري متشابهاً ، و يكون الكائن الحي hyperploids في جزء من الجينوم . و يصنف الحذف و التضاعف نوعين من الشذوذ في تركيب الكروموسوم ، و في حالة الشذوذ بحجم كبير يمكن الكشف عنه عن طريق فحص الكروموسومات المصطبغة بصبغة كونيكرين أو صبغة كمزا ، أما إذا كان الشذوذ بحجم صغير فيطلب الكشف عنه اعتماد التقنيات الجزيئية . و تعتبر حشرة الدروسوفيليا أفضل النماذج الحية لدراسة حالات الحذف و التضاعف و ذلك لامتلاكها الكروموسومات العملاقة polytene chromosome و في حالة الحذف تكون الكروموسومات المتناظرة منفصلة في منطقة الحذف ، أما في حالة التضاعف فتظهر المنطقة حاوية على نتوء أو بروز ، و عن طريقها شخصت طفرة العيون الشريطية Bar eyes في الدروسوفيليا و التي تظهر نتيجة تضاعف القطعة الكروموسومية ، و هذه الطفرة السائدة المرتبطة بالجنس عملت على تغيير حجم و شكل العيون المركبة في الحشرة و تحولت من العيون الدائرية الكبيرة إلى العيون الشريطية الضيقة ، و تستخدم في الوقت الحاضر التقنيات الجزيئية لتحديد وجود الحذف أو التضاعف مهما كان صغيراً في مدى واسع من الكائنات الحية .

إعادة ترتيب القطع الكروموسومية

Rearrangements of chromosome segments

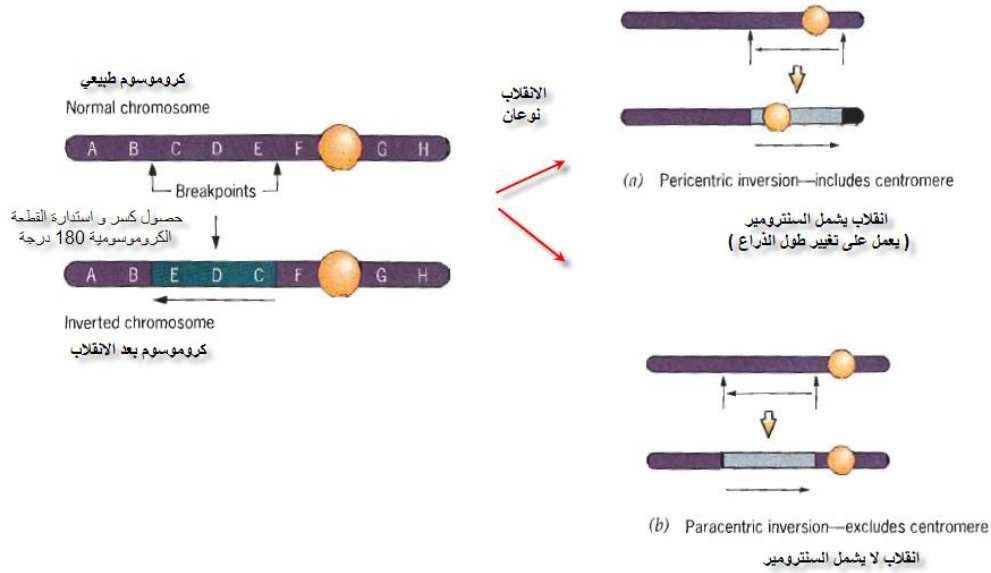
يوجد في الطبيعة اختلافات واسعة في عدد و تركيب الكروموسومات بين الكائنات الحية ، و يشمل ذلك الاختلاف بين الكائنات الحية القريبة في التصنيف البيولوجي ، على سبيل المثال تمتلك حشرة دروسوفيليا ميلانوجستر *Drosophila melanogaster* أربعة أزواج من الكروموسومات تتضمن زوجاً من كروموسومات الجنس و زوجين من الكروموسومات الجسمية الكبيرة وسطية السنتروميير ، و زوجاً كروموسومياً جسياً صغيراً شبيه بالنقطة . أما حشرة *Drosophila virilis* فتمتلك زوج الكروموسومات الجنسية و أربعة أزواج كروموسومات جسمية طرفية السنتروميير ، و زوجاً كروموسومياً جسياً صغيراً شبيه بالنقطة . و هكذا ضمن نفس الجنس genus فان الأنواع يمكن أن تمتلك بعض الاختلافات في ترتيب الكروموسومات ، و هي ضمن مفهوم التطور يعاد ترتيب القطع الكروموسومية ، و التي يمكن أن توجد ضمن النوع الواحد بافتراض إن الجينوم يعاد تشكيله باستمرار . إن إعادة الترتيب قد تؤدي إلى تغيير موقع القطع ضمن الكروموسوم أو تجميع قطع كروموسومات مختلفة ، و في كلتا الحالتين يتغير ترتيب الجينات ، وتشير المصادر الوراثية إلى وجود أنواع من التغيرات في تركيب الكروموسوم للفرد على سبيل المثال قطعة من الكروموسوم قد تلتحم مع كروموسوم آخر أو انقلاب قطعة من نفس الكروموسوم ، و هذه التغيرات تسمى إعادة الترتيب rearrangement . و هناك نوعان من إعادة الترتيب في الكروموسوم :

الانقلاب Inversion

يحدث الانقلاب عندما تنفصل قطعة من الكروموسوم و تستدير بزواوية 180° ثم يعاد ارتباطها مع بقية الكروموسوم و نتيجة لذلك يعكس ترتيب جينات هذه القطعة ، و مثل هذه

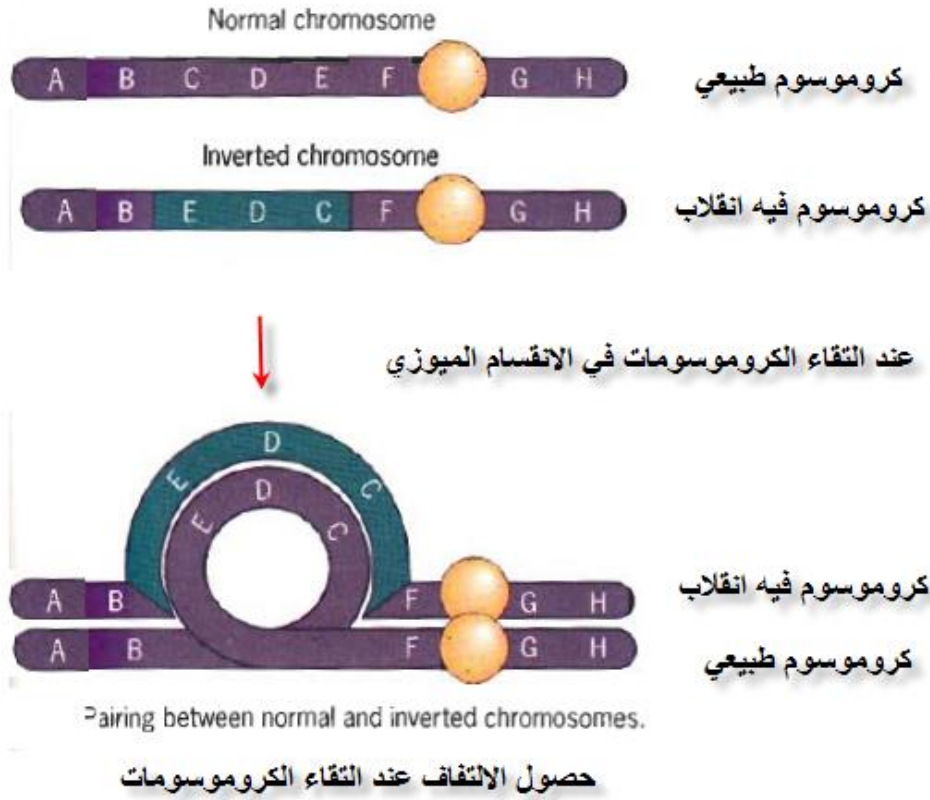
العملية يمكن استحثاؤها في المختبر باستخدام الأشعة السينية التي تقوم بإحداث كسور في الكروموسومات و ينتج عن ذلك قطع كروموسومية ، في بعض الأحيان يعاد ارتباط القطع و قد يصاحب العملية حدوث عملية الانقلاب (الشكل 4-14) ، و هناك بعض الأدلة التي تشير إلى حصول الانقلابات طبيعيا نتيجة نشاط العناصر المتحركة من الدنا Transposable elements ، و هي تتابعات من الدنا قادرة على الحركة من موقع كروموسومي إلى آخر ، و في بعض الأحيان ينتج عن حركة هذه العناصر كسر الكروموسوم إلى قطع و يعاد ارتباطها بعد حدوث الانقلاب .

و يعمل العلماء على التمييز بين نوعين من الانقلابات بالاعتماد على وجود السنتروميير من عدم وجوده ضمن القطعة الكروموسومية التي حدث فيها الانقلاب ، حيث يسمى الانقلاب الذي يشمل



الشكل 4-14. أنواع الانقلابات الكروموسومية .

منطقة السنتروميير pericentric ، بينما يسمى الانقلاب الذي لا يشمل منطقة السنتروميير paracentric و تأتي أهمية الفرق بين النوعين إن الانقلاب الذي يشمل السنتروميير قد يؤدي إلى تغيير في الطول النسبي لذرعي الكروموسوم ، بينما النوع الثاني من الانقلاب لا يشمل هذا التأثير . وفي حالة حدوث الانقلاب في احد الكروموسومات و لم يحدث الانقلاب في الكروموسوم النظير يسمى Inversion heterozygous و خلال الانقسام الميوزي و التقاء الكروموسوم الذي حدث فيه الانقلاب مع نظيره يحدث التفاف loop في الكروموسوم الطبيعي يوفر خلالها الفرصة للازدواج الصحيح للقواعد التي حدث فيها الانقلاب (الشكل 4-15) . و يصعب ملاحظة التفاف الكروموسوم في معظم الكائنات الحية بسبب صغر حجم الكروموسوم ، و مع ذلك يمكن ملاحظة الالتفاف بسهولة في الكروموسومات العملاقة في حشرة الدروسوفيلا نتيجة وجود نمط مميز للحزم على هذه الكروموسومات .

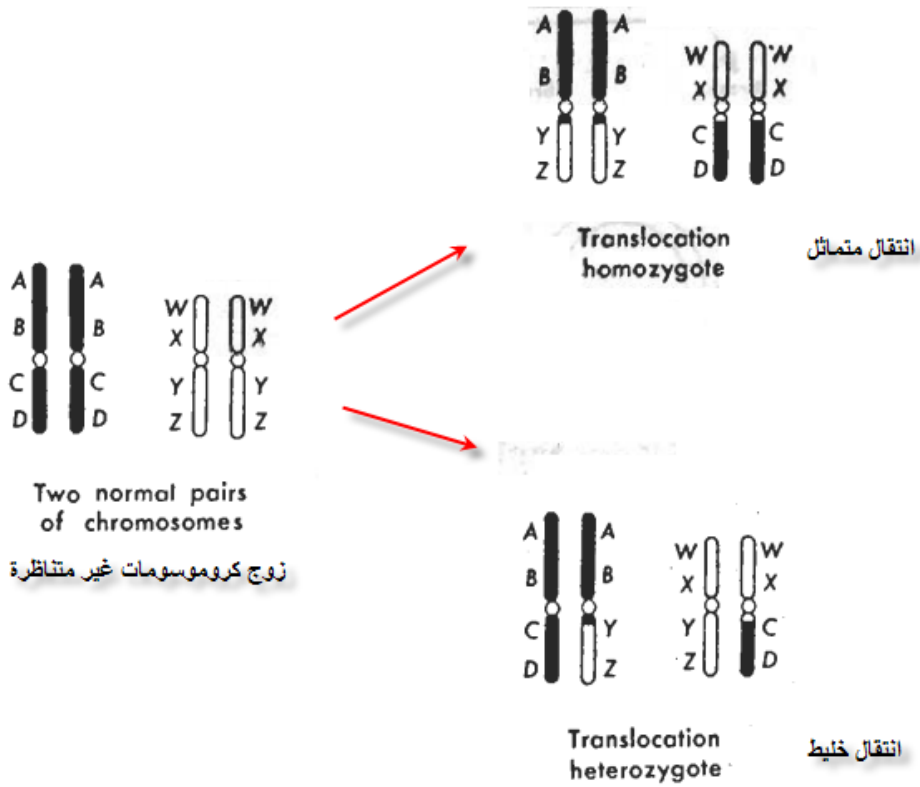


الشكل 4-15. حصول حالة التفاف الكروموسوم (loop) عند التقاء الكروموسومات في حالة الانقلاب .

الانتقالات Translocations

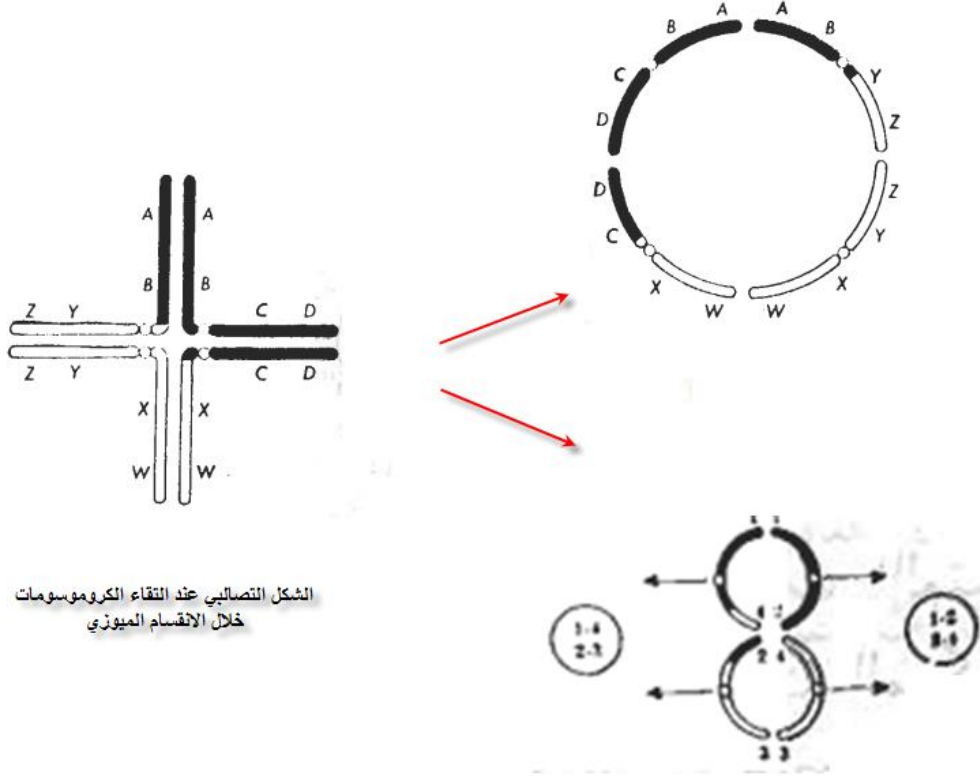
يحدث الانتقال عندما تنفصل قطعة كروموسومية من احد الكروموسومات و ترتبط مع كروموسوم مختلف غير نظير nonhomologous chromosome و الأهمية الوراثية لهذه العملية هو انتقال الجينات من احد الكروموسومات إلى كروموسوم آخر يصاحبه تغيير في العلاقات الارتباطية بين الجينات المتجاورة ، و يمكن استحداث عملية الانتقال باستخدام الأشعة السينية التي يمكن أن تكسر كروموسومين و قد يحدث إعادة ارتباط بين قطع كروموسومية تعود إلى كروموسومات مختلفة ، كما قد تحدث في الطبيعة الانتقالات بتأثير العناصر المتحركة و العوامل الميكانيكية . يشير الملاح و سفيان (1990) إلى إمكانية تقسيم الانتقالات إلى نوعين هما : الانتقال البسيط simple translocation ، و هي حالة انتقال قطعة مكسورة من احد الكروموسومات إلى كروموسوم آخر غير نظير. أما النوع الثاني فهو الانتقال المتبادل reciprocal translocation وفيه يحدث تبادل في القطع الكروموسومية بين الكروموسومات غير المتناظرة و لم يفقد خلالها أي مقدار من المادة الوراثية . و قد يشمل الانتقال منطقة السنتروميير و بالتالي قد تنتج عدة حالات منها، كروموسوم يحتوي على سنترومييرين dicentric chromosome أو كروموسوم فاقد السنتروميير acentric chromosome فضلا عن حالة الانتقال المتبادل التي ينتج عنها كروموسومات كاملة و لكنها تبادلت أجزاء كروموسومية . يمكن

أن تظهر الانتقالات المتبادلة بصورتين و هي ، الانتقالات المتماثلة homologous translocations و الانتقالات الخليطة heterozygous translocations كما موضح في الشكل 4-16. و قد ينتج عن الانتقال المتبادل مرض وراثي مثل سرطان الدم النخاعي (يسمى أيضا حالة كروموسوم فيلاديلفيا Philadelphia chromosome) و الذي ينتج عن انتقال جزء من كروموسوم رقم 9 الذي يحمل الجين السرطاني الأولي *abl* و ارتباطه بالكروموسوم 22 عند موقع الجين *bcr* مع انتقال جزء من الكروموسوم رقم 22 و ارتباطه بالكروموسوم رقم 9 (يطلق على الكروموسوم بشكله الجديد كروموسوم فيلاديلفيا) و يسبب التحول السرطاني في الإنسان (الجنزوري ، 2008).



الشكل 4-16. أنواع الانتقالات المتبادلة في الكروموسومات غير المتناظرة .

و يلاحظ من الشكل إن الانتقال المتماثل لا يتعارض مع التقاء الكروموسومين خلال الانقسام الميوزي ، إلا إن هذه الحالة تكون مختلفة في حالة الانتقال المتبادل و فيها يظهر الشكل التصالبي عند التقاء المناطق المتماثلة للكروموسومات ، أما خلال الطور الانفصالي الأول للانقسام الميوزي فينتج عن الشكل التصالبي أما انفتاحه بشكل حلقي و تتحرك خلاله السنتروميترات إلى نفس قطب الخلية مما ينتج عنه كميات غير متوازنة ، أو ينفتح الشكل التصالبي على شكل 8 مما ينتج عنه نصف كميات طبيعية و نصف آخر من الكميات حصل فيها الانتقال (الشكل 4-17).



الشكل 4-17. حركة الكروموسومات بالشكل التصالبي خلال الطور الانفصالي الأول للانقسام الميوزي .

و لابد من التمييز بين ظاهرة الانتقال التي تشير إلى حصول الشذوذ الكروموسومي و بين العبور crossingover التي يحدث خلالها تبادل للمادة الوراثية بين الكروماتيدات غير الشقيقة للكروموسومات المتناظرة و التي تعتبر حالة طبيعية و مصدر مهم للتنوع البيولوجي و التطور .

بعض الأمراض و العيوب الوراثية في الإنسان

تطرقنا خلال مناقشة الشذوذ الكروموسومي إلى العيوب الوراثية المرافقة لبعض الحالات و منها Down syndrome ، klinefelter syndrome ، Turner syndrome ، cridu- chat Syndrome ، Philadelphia chromosome ، أما الطفرات النقطية التي تحدث في مستوى الجين فقد أشار Wright و Hastie (2007) إلى أن العيوب الوراثية في الإنسان الناتجة عن خلل في جين مفرد تقدر بحوالي 6000 مرض وراثي يجري توارثها وفق القوانين المنديلية ، و بصورة عامة فان 1% من أفراد العشيرة البشرية تمتلك احد هذه العيوب الوراثية سواء عند الولادة او تنتج الطفرة خلال حياته.

و ينتج العيب الوراثي في هذه الحالة نتيجة حصول الطفرة في موقع جيني واحد ينتج عنها تغيير في طبيعة البروتين الناتج عن الجين و بالتالي خلل في وظيفة البروتين أو فقدان البروتين بالكامل ، و قد ينتج العيب الوراثي بتأثير مباشر للطفرة أو يؤدي إلى زيادة حساسية الفرد للإصابة بمرض معين . و من الأمثلة على العيوب الوراثية الناتجة عن الطفرة في موقع جيني واحد :

التليف الحوصلي Cystic fibrosis

يؤثر هذا المرض الوراثي على الجهاز التنفسي و الجهاز الهضمي ، و ينتج بسبب طفرة متنحية في جين جسمي يعرف Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator و يرمز له اختصاراً CFTR و هو محمول على الذراع الطويل للكروموسوم رقم 7 و بالتحديد 7q31 ، و التركيب الوراثي للمصاب يكون متماثلاً متنحياً و بذلك يجب أن يكون كلا الأبوين حاملاً أو مصاباً بالمرض. و في عام 1992 تمكن العلماء من تحديد الجين المسؤول عن المرض باستخدام مجسات الدنا DNA probes في الأجنة المبكرة عند مرحلة ثماني خلايا في الإخصاب المختبري ، و بذلك تستخدم التقنية في إخصاب البويضات خارج الجسم من أبوين حاملين للجين المصاب و يزرع في رحم الأم الأجنة التي لا تحتوي على الجين المرضي أو تحتوي على نسخة واحدة منه (حامل للمرض).

يعمل الجين الطبيعي على إنتاج بروتين يساعد على حركة ايونات الكلوريد خلال قنوات الكلور Chloride channels إلى داخل و خارج الخلايا ، و في حالة حصول الطفرة في هذا الجين فان البروتين الناتج يتوقف عن أداء هذه الوظيفة مما يؤدي إلى تكوين طبقة مخاطية سميكة خارج الخلية ، و تتأثر خلايا الرئة بدرجة كبيرة إذ يعمل هذا المخاط على انسداد المسالك الهوائية في الرئتين و يزيد من احتمالية الإصابة البكتيرية للرئتين، كما يؤثر المرض على الجهاز الهضمي إذ يعمل المخاط على انسداد قنوات البنكرياس مما يعيق وصول الإنزيمات الهاضمة إلى الأمعاء و عدم هضم المادة الغذائية و إعاقة في النمو. و من الأعراض الأخرى المصاحبة للمرض غزارة فقدان كلوريد الصوديوم من الغدد العرقية مما يؤثر على توازن الأملاح و المعادن في الجسم .

فينيل كيتون يوريا (PKU) Phenylketonuria

هو مرض وراثي ابيض ناتج عن طفرة جسمية متنحية لأحد الجينات على الكروموسوم 12 ، و يشفر الجين الطبيعي لإنتاج إنزيم (PAH) Phenylalanine hydroxylase و هو من إنزيمات الكبد يعمل على تكسير الحمض الاميني فنيل الانين إلى حمض التيروسين الذي يحتاجه الجسم (الجنزوري ، 2008) . إن حدوث الطفرة في الجين ينتج عنه فقدان الإنزيم لوظيفته مما يؤدي إلى تراكم الحمض الاميني فنيل الانين في الدم و تحويله إلى Phenylketone تتراكم في الدم ، و ينتج عن ذلك تلف الخلايا العصبية في الدماغ يؤدي إلى تخلف عقلي للأطفال المصابين. إن الأطفال عند الولادة لا تظهر عليهم أعراض المرض ، و لكن عند ترك المولود المصاب دون علاج لفترة قصيرة بعد الولادة ينتج تلف حاد في خلايا الدماغ قد ينتج عنه الصرع و مشاكل سلوكية لا يمكن علاجها ، كما يصاحب ذلك رائحة كريهة للجسم و يكون رأس المصاب صغيراً مقارنة بالشخص السليم مع شحوب لون الجلد و الشعر و تحدث الوفاة بأعمار صغيرة. لتجاوز الآثار الضارة للمرض يتوجب إجراء الفحوص على المواليد للكشف عن وجود المرض ، و يخضع المواليد المصابة إلى نظام غذائي خالٍ من فنيل الانين خلال الرضاعة ، و الأطفال الأكبر سناً و البالغون يجب تجنب تغذيتهم بالأغذية الغنية بالبروتين مثل اللحم ، البيض و الاجبان.

فقر الدم المنجلي Sickle – Cell anemia

يعد العالم Linus Pauling أول من أشار إلى أن سبب فقر الدم المنجلي يعود إلى خلل في تركيب الهيموغلوبين في عام 1949 ، و في عام 1956 اكتشف Vernon Ingram إن الخلل في الهيموغلوبين ناتج عن تغيير في تتابع الأحماض الامينية في الهيموغلوبين للمريض. أشار Freeman (2002) إلى أن هذه الحالة المرضية ناتجة عن طفرة نقطية بسبب استبدال قاعدة نتروجينية في تتابع الجين قد تؤدي إلى تغيير في تسلسل الأحماض الامينية لمنتج الجين و ينتج عن ذلك تغيير الشكل المظهري و الوظيفي لمنتج الجين ، و مثال هذه الحالة فقر الدم المنجلي في الإنسان Sickle – Cell والذي ينتج عن تغيير في زوج قاعدي واحد نتج عنه تغيير في شفرة الحمض الاميني الجلوتاميك Glutamic acid في الحالة الطبيعية إلى شفرة حمض أميني آخر (طافر) هو حمض الفالين Valine و بذلك نتج عن الطفرة تغيير تتابع الأحماض الامينية أدى إلى تغيير الشكل المظهري و الوظيفي لمنتج الجين β -globin و في هذه الحالة يكون الهيموغلوبين مختلفا عن الحالة الطبيعية يتبلور عند انخفاض مستوى الأوكسجين في الدم و تلتصق خلايا الدم الحمراء و تتجمع في الأوعية الدموية الصغيرة . و يذكر الجنزوري (2008) إن خلايا الدم الحمراء المنجلية تكون هشة و تتحطم بسهولة مما يؤدي إلى فقر الدم فضلا عن ضعف قدرتها على الارتباط بالاوكسجين في الرئتين مما يزيد الأعباء على القلب و ظهور الإجهاد السريع على المصاب ، فضلا عن زيادة الأعباء على الطحال للتخلص من خلايا الدم المتحطمة مما قد ينتج عن ذلك زيادة لزوجة الدم و عدم جريان الدم بصورة طبيعية في أعضاء الجسم و قد ينتج الضرر في الدماغ و الرئتين ، و لذلك غالبا ما يشار إلى أن هذا الجين ذو تأثير متعدد pleiotropic effect gene.

مرض السكري Diabetes mellitus

هو من الأمراض الشائعة يتميز بعدم قدرة خلايا الجسم على تمثيل سكر الكلوكوز لإنتاج الطاقة بسبب الخلل في إنتاج هرمون الأنسولين أو في أدائه وظيفته ، و المعروف إن المرض يوجد بطرازين : الأول يسمى Type I diabetes و هو السكر الطفولي يتميز بعدم قدرة خلايا البنكرياس على إنتاج هرمون الأنسولين بكمية كافية و بالتالي تؤثر على عملية ايض الكلوكوز و يستخدم لعلاج الحالة حقن الأنسولين ، و تشير الدراسات إلى أن الجينات المسؤولة عن المرض تقع على الكروموسومات 6 و 11 و 18 . أما الطراز الثاني Type II diabetes فيصيب الأفراد في عمر متقدم و بالرغم من وجود الأنسولين في مجرى الدم بكمية كافية إلا انه يتصف بعدم قدرة هرمون الأنسولين على أداء وظيفته بسبب عدم قدرة الخلايا استشعار وجود الهرمون بسبب فقدان المستقبلات الخاصة بالهرمون و تعالج الحالة باستعمال العقاقير التي تكسب الخلايا القدرة على استشعار هرمون الأنسولين.

الكبتون يوريا Alkaptonuria

اكتشفت هذه الحالة في وقت مبكر من قبل Archibald Garrod عام 1901 ، و هي ناتجة عن جين جسيمي منتج يؤدي إلى نقص تكوين إنزيم Homogentisic acid oxidase (HGO) اللازم لايبض الحامض الاميني تيروسين و بالتالي يؤدي إلى زيادة مركب Homogentisic acid في الدم و يتم إفرازه في البول و يتحول إلى Maleylacetoacetic acid و يؤدي إلى زيادة صبغة الميلانين في البول خارج الجسم ، فضلا عن زيادة اللون الداكن لغضروف الأذن ، الأظافر و الجلد .

مرض الزهايمر Alzheimer disease

يرجع تسمية المرض الوراثي إلى مكتشفه Alois Alzheimer في عام 1906 ، و فيها يعاني المريض من فقدان الذاكرة بطريقة تؤثر على تواصله مع الآخرين ، و ينتج المرض عن طفرة جسمية سائدة تؤدي إلى ترسب مادة ضارة بالخلايا العصبية تسمى β -Amyloid peptide (AP) خارج الخلايا العصبية تنتج عن تكسر مركب أولي يسمى β -amyloid precursor protein (APP) ، و الجين الطافر المسؤول عن إنتاج البروتين APP يوجد على الكروموسوم 21 (الجنزوري ، 2008).

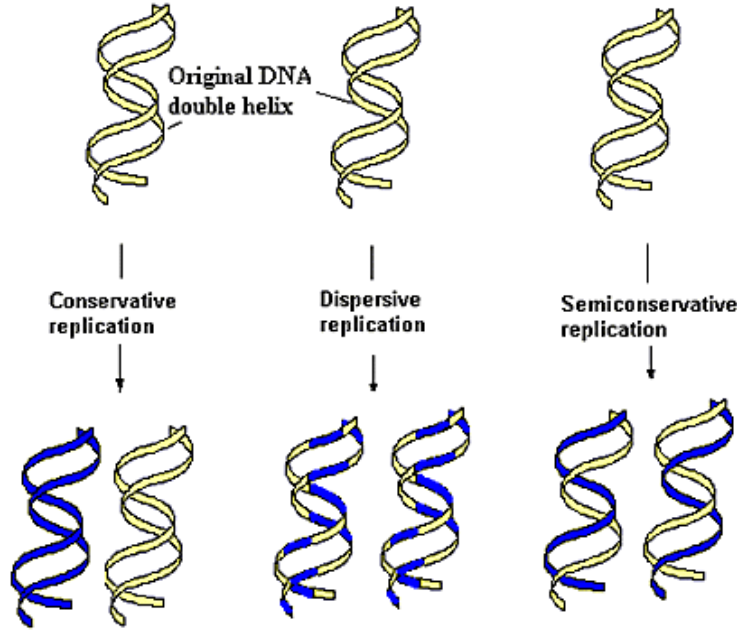
تكرار المادة الوراثية Genetic Material Replication

من الوظائف الرئيسية و المهمة للمادة الوراثية هي قدرتها على تخزين المعلومات الوراثية و نقل هذه المعلومات بدقة من جيل الآباء إلى جيل الأبناء من خلال عملية التكاثر سواء كان لا جنسيا (الانشطار الخلوي) كما في البكتريا أو التكاثر الجنسي كما في الحيوانات الراقية ، و تتطلب العملية في الحالتين تصنيع نسخة إضافية للمادة الوراثية بدقة لنقلها إلى الأبناء . و قد وضع علماء الوراثة ثلاث فرضيات لعملية تكرار الدنا (Freeman ، 2002) يمكن إيجازها في الآتي :

1- الطريقة شبه المحافظة للتكرار Semi-conservative replication method
إن نموذج الحلزون المزدوج للدنا و قاعدة الازدواج القاعدي التي اقترحها واطسن و كريك وفر ميكانيكية بسيطة لتكرار الدنا ، فعند انفصال خيطي حلزون الدنا نتيجة كسر الأواصر الهيدروجينية التي تربط بين القواعد النتروجينية في الخيطين ، يصبح كل خيط قالباً لتصنيع الخيط الجديد بإضافة النيكلوتيدات إلى الخيط الجديد وفق الازدواج القاعدي مع الخيط الأبوي (الأدينين ترتبط مع الثايمين : الكوانين ترتبط مع السايتوسين) و يطلق على هذه الطريقة شبه المحافظة للتكرار لان الحلزون يحافظ عليه جزئياً إذ إن جزيئة الدنا الناتجة عن التكرار تحتوي على خيط أبوي و الخيط الآخر للحلزون هو خيط جديد .

2- الطريقة المحافظة للتكرار Conservative replication method
تفترض هذه الطريقة أن تدور القواعد النتروجينية للحلزون باتجاه الخارج بشكل مؤقت لتكون قالباً لبناء خيطين جديدين ، و بالتالي فإن الحلزون الجديد يمتلك خيطين تم بناؤهما اعتماداً على الخيوط الأبوية كقالب ، وسميت بالطريقة المحافظة للتكرار لان جزيئة الدنا الأصلية يجري المحافظة عليها و لا يجري عليها تغيير .

3- الطريقة التشتتية للتكرار Dispersive replication method
تفترض هذه الطريقة أن حلزون الدنا يجري تقطيعه إلى أجزاء و تنفصل خيوط هذه الأجزاء لتكون قوالب لبناء خيوط جديدة و بعد ذلك يعاد بناء الحلزون ليحتوي على قطع قديمة وأخرى جديدة (الشكل 5-1) .



Possible Models of DNA Replication

الشكل 5-1. فرضيات أنماط تكرار المادة الوراثية.

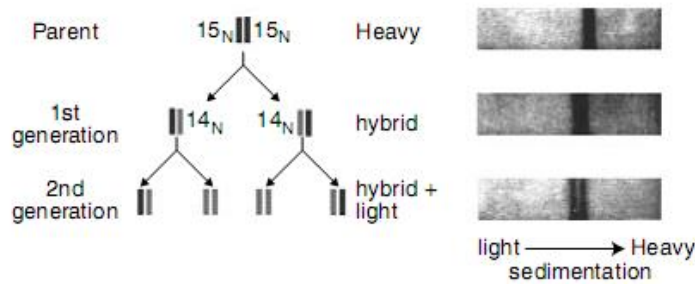
Meselson – Stahl Experiment

تجربة ميسلسون و ستال

لإثبات الميكانيكية المفترضة في تكرار الدنا قام العالمان Matthew Meselson و Frank Stahl 1958 م بإجراء تجربة استخدموا فيها بكتريا القولون *E. coli* حيث إن هذه البكتريا تقوم بعمل نسخة لمادتها الوراثية قبل كل عملية انقسام خلوي . جرى تنمية البكتريا في بيئة تحتوي على النتروجين الثقيل N^{15} بدلا من النتروجين الاعتيادي N^{14} ، و المعروف أن النتروجين يدخل في تركيب القواعد النتروجينية التي تستخدم في بناء الدنا الجديد عند تكاثر البكتريا ، و قد توقع الباحثان أن الدنا الذي يحتوي النتروجين الثقيل سيكون ذا كثافة أعلى من الدنا الذي يحتوي على النتروجين الاعتيادي عند فصله في بعملية الطرد المركزي العالي المتدرج الكثافات باستخدام محلول كلوريد السيزيوم (التي جرى شرحها سابقا) . قام الباحثان بأخذ خلايا بكتيرية نامية في بيئة تحتوي على النتروجين الثقيل لعدة أجيال لضمان أن الدنا فيها يحتوي النتروجين الثقيل ، و نقلها إلى بيئة تحتوي النتروجين الاعتيادي و تركت للنمو لفترات مختلفة و في نهاية كل فترة تم استخلاص الدنا و مقارنة كثافته مع كثافة الدنا الثقيل N^{15} ، حيث وجد أن الدنا المعزول من البكتريا التي نميت في وسط يحتوي على النتروجين الاعتيادي لمدة جيل واحد يمتلك كثافة وسطية بين كثافة الدنا الثقيل و الدنا الاعتيادي و سميت هذه الكثافة الوسطية بالكثافة الهجينة (الشكل 5-2) ، و عند اختبار كثافة الدنا للبكتريا النامية لمدة جيلين في بيئة النتروجين الاعتيادي حصل الباحثان على حزمتين من الدنا متساويتين إحداهما تمتلك الكثافة الهجينة و الأخرى تمتلك الكثافة الاعتيادية (الخفيفة) ، أثبتت نتائج هذه التجربة أن الدنا في البكتريا يتكرر وفق الطريقة شبه المحافظة للتكرار إذ إن الكثافة الهجينة للدنا بعد جيل واحد يمكن تفسيرها على أنها نتيجة بناء الحلزون المزدوج من خيط أبوي يحتوي النتروجين الثقيل N^{15} و

خيط جديد تم بناؤه من النروجين الاعتيادي N^{14} في البيئة الجديدة ، و هي تمثل حالة وسطية بين كثافة النروجين الثقيل و النروجين الاعتيادي ، أما في الجيل الثاني فان ظهور حزمة الدنا بالكثافة الاعتيادية يؤشر إلى ازدواج الخيط الأبوي الذي يحتوي N^{14} (من الجيل الأول) مع الخيط الجديد الذي تم بناؤه في الجيل الثاني ويحتوي على N^{14} ، بينما الخيط الذي يحتوي على النروجين الثقيل ازدوج مع خيط جديد يحتوي N^{14} و أدى إلى ظهور الحزمة الهجينة في الجيل الثاني و بحجم مساو للحزمة الحاوية على النروجين الاعتيادي .

أكدت هذه التجربة أيضا أن الدنا في البكتريا لا يتكرر وفق الطريقة المحافظة أو الطريقة التشتتية ، لان إتباع الطريقة المحافظة لا ينتج عنه الحزمة الهجينة و إنما تظهر حزمتان في الجيل الأول إحداهما للنروجين الثقيل (أبوية) والأخرى للنروجين الخفيف (جديدة) و هذا لم يتحقق ، و فيما يخص الطريقة التشتتية فالمتوقع عنها أن تنتج تغيرا في كثافة جزيئات الدنا من جيل لآخر مما يتعارض مع نتائج التجربة المتحققة ، لذلك أثبتت هذه التجربة أن الدنا في البكتريا يتكرر وفق الطريقة شبه المحافظة للتكرار و قد أجريت تجارب لاحقة أثبتت أن الكائنات الحية الأخرى تتبع نفس الطريقة بما فيها الحيوانات و النباتات .



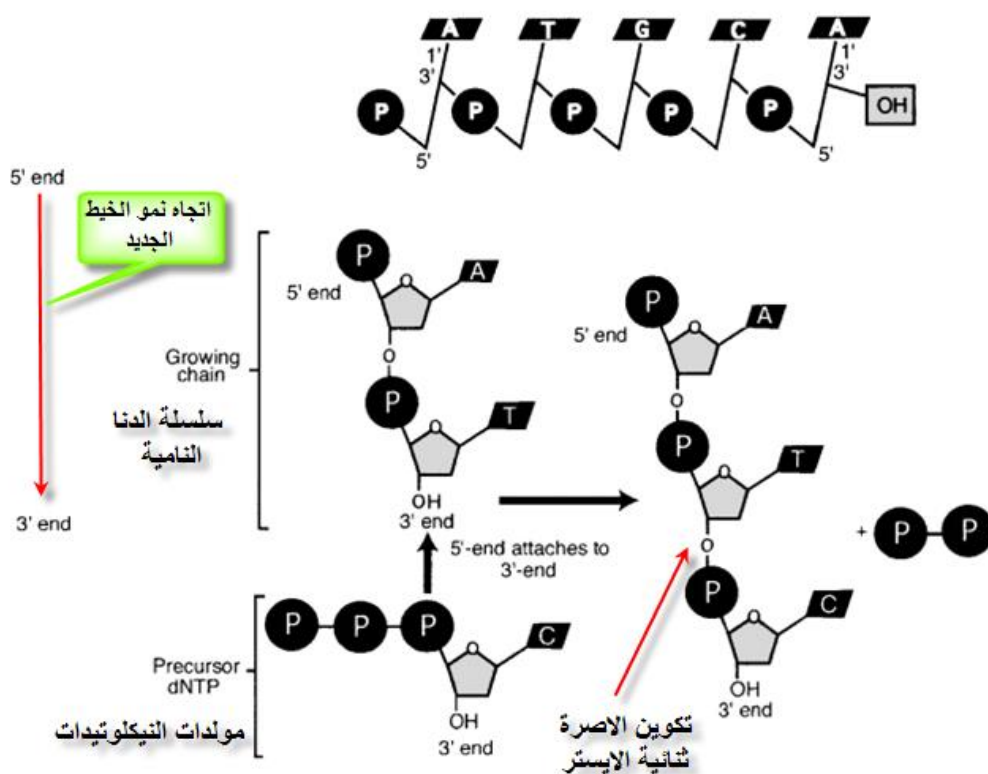
الشكل 5-2. تجربة ميسلسون و ستال لإثبات أن الدنا يتكرر وفق الطريقة شبه المحافظة .
المصدر (Streips و Yasbin ، 2002) .

إنزيم بوليميريز الدنا

قام Arthur Kornberg و مساعدوه عام 1957 بعزل إنزيم بوليميريز الدنا DNA Polymerase 1 من البكتريا *E. coli* و استخدمه في تصنيع الدنا في المختبر و قد حصل على جائزة نوبل عن هذا الانجاز ، و بعد هذا الاكتشاف تم عزل إنزيم بوليميريز الدنا من عدد كبير من الكائنات الحية ، و تم اكتشاف ثلاثة أنواع من إنزيم بوليميريز الدنا في البكتريا *E. coli* و هي I ، II ، III . و قد وجد أن إنزيم بوليميريز الدنا III هو الإنزيم الرئيس الأكثر فعالية في عملية التكرار فضلا عن فعالية المراجعة و التصحيح Proofreading لتصحيح الأخطاء الناتجة عن الإضافة الخاطئة للنيكلو تيدات أثناء تكرار الدنا ، و يحتاج إنزيم DNA Polymerase III إلى المتطلبات و الظروف الآتية لانجاز تكرار الدنا :

- 1- ايون المغنسيوم Mg^{+2} الضروري لفعالية الإنزيم في التكرار .
- 2- قالب من الدنا DNA Template يستخدمه الإنزيم لإضافة النيكلو تيدات و بناء الخيط الجديد حسب الازدواج القاعدي .

- 3- مولدات النيكلوتيدات الأربعة (dNTP) Deoxyribonucleotides و هي dATP ، dCTP ، dGTP ، dTTP و التي ترتبط بالنهاية OH - 3 بأصرة ثنائية الأيستر Phosphodiester bond عن نمو الخيط الجديد (الشكل 3-5) .
- 4- بادئ Primer و هو قطعة الدنا أو من الرنا ذو نهاية حرة OH - 3 مكاملة لتتابع من قالب الدنا يبدأ منها بناء الخيط الجديد .



الشكل 3-5. تكوين الأصرة ثنائية الأيستر أثناء تخليق خيط الدنا الجديد بعملية التكرار .

- و يتمتع إنزيم DNA Polymerase III بقابليته على أداء الفعاليات الآتية :
- 1- فعالية بلمرة النيكلوتيدات Polymerization activity لإنتاج خيط الدنا الجديد بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$.
 - 2- فعالية حذف النيكلوتيدات Exonuclease activity بالاتجاه $3' \rightarrow 5'$ لإزالة الإضافة الخاطئة للنيكلوتيدات بفعالية Proofreading أو الأجزاء التالفة من خيوط الدنا .
 - 3- فعالية حذف النيكلوتيدات Exonuclease activity بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$ ، ويعمل الإنزيم بهذه الفعالية على خيوط الدنا المفردة فقط .

أما إنزيم DNA Polymerase I فيتميز بأداء فعاليات متعددة و يستخدم بشكل واسع من قبل الكائنات الحية فضلا عن استخدامه في تقنيات الهندسة الوراثية و البيولوجي الجزيئي و من هذه الفعاليات :

1- فعالية بلمرة النيكلوتيدات Polymerization activity لإنتاج خيط الدنا الجديد بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$ بوجود نهاية حرة OH - 3 .

2- فعالية حذف النيكلوتيدات Exonuclease activity بالاتجاه $3' \rightarrow 5'$ لإزالة الإضافة الخاطئة للنيكلوتيدات بفعالية Proofreading أو الأجزاء التالفة من خيوط الدنا .

3- فعالية حذف النيكلوتيدات Exonuclease activity بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$ ، ويعمل الإنزيم بهذه الفعالية على خيوط الدنا المزدوجة و ليس المفردة ، و كذلك يعمل على خيوط الرنا الهجينة مع الدنا و لا يعمل على خيوط الرنا المفردة ، و يستخدم الإنزيم في فعالية نقل الثلمة nick translation لتكوين المجسات المشعة .

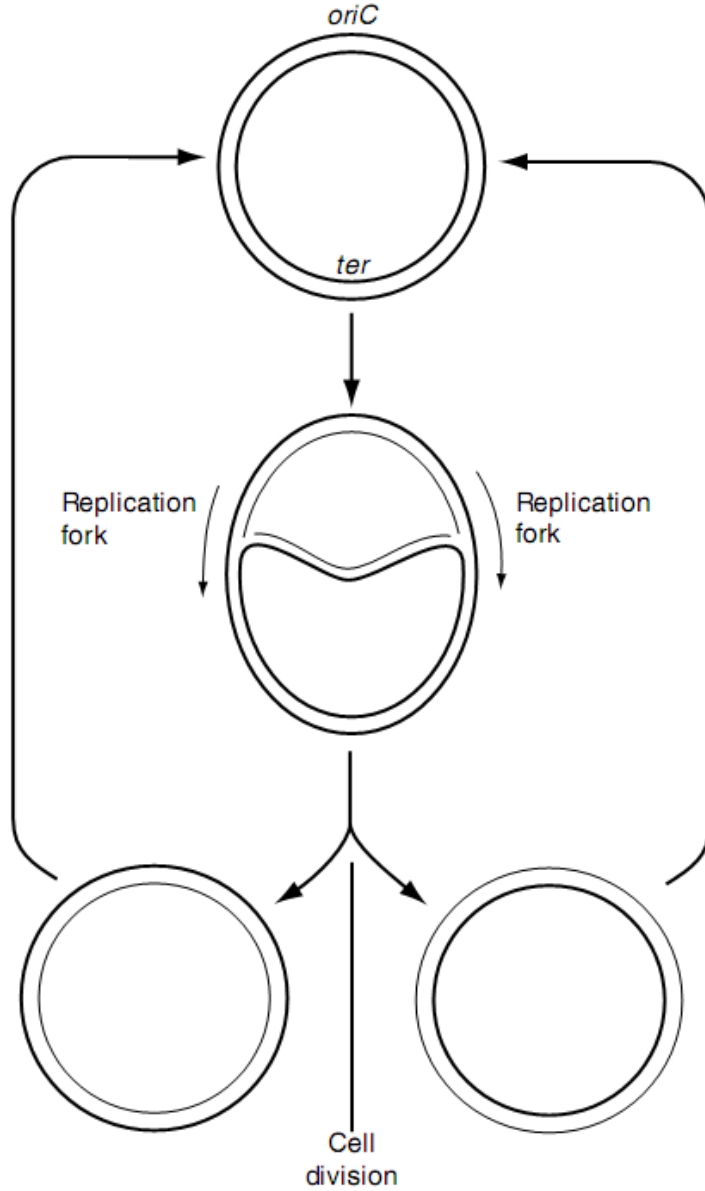
الإنزيم DNA Polymerase II لا يعرف وظيفته بالتحديد بالرغم من أنه قد يقوم بإصلاح تلف حلزون الدنا بغياب الإنزيمات من النوعين I و II .

في الكائنات حقيقية النواة تم التعرف على ثلاثة أنواع لإنزيم DNA Polymerase و هي α و β و γ ، و تعمل الإنزيمات من النوعين α و β في أنوية الخلايا بينما يعمل إنزيم γ في الماييتوكوندريا في الحيوانات و في البلاستيدات الخضراء في النباتات (Snustad و Simmons ، 2000) .

الأنماط المختلفة لتكرار الدنا

إن الطريقة شبه المحافظة لتكرار الدنا يجري تطبيقها بأنماط مختلفة في الكائنات الحية ، و يمكن إجمال أنماط تكرار الدنا بالاتي :

1- تكرار الدنا باتجاهين من منشأ تكرار واحد Bidirectional DNA replication
تكرار الدنا في بكتريا القولون *E. coli* يتضمن عدة عمليات إنزيمية يشارك فيها عدد من الإنزيمات و تتضمن العملية ثلاث مراحل هي بداية التكرار Initiation ، الاستطالة Elongation و مرحلة الاستئصال والتوقف Termination ، و أشار Streips و Yasbin (2002) إلى أن كروموسوم بكتريا القولون يتكون من جزيئة دنا دائرية واحدة لا تمتلك نهاية حرة و تمتلك موقع ثابت لبداية تكرار الدنا يسمى منشأ التكرار Origin of replication ، خلال تكرار الدنا و عند مرحلة بداية التكرار يفتح خيطا الحلزون و يتعدان عن بعضهما في نقطة منشأ التكرار و يتكون عن ذلك شوكتان لتكرار الدنا Replication forks تستمران باتجاهين متضادين (الشكل 5-4) و يبدأ إنزيم DNA Polymerase III بتخليق الخيط الجديد بالاعتماد على الخيط الأبوي كقالب و ذلك بإضافة النيكلوتيدات إلى الخيط الجديد حسب قاعدة الأزواج للقواعد النتروجينية و تمثل هذه الأحداث مرحلة الاستطالة التي تستمر إلى أن تصل شوكتا التكرار إلى نقطة النهاية Terminus التي تقع مقابل منشأ التكرار في حلقة الدنا ، و عندها تبدأ مرحلة توقف التكرار و تنفصل الخيط الجديد عن الخيط الأبوي .



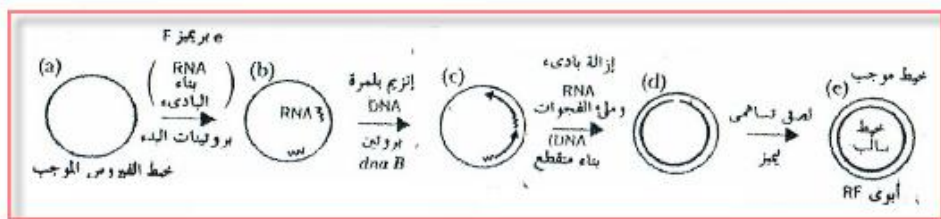
الشكل 4-5. نمط تكرار الدنا في بكتريا القولون *E. coli*.
المصدر (Park و Dale ، 2004)

2- تكرار الدنا وفق نمط الحلقة اللفافة Rolling Circle DNA replication

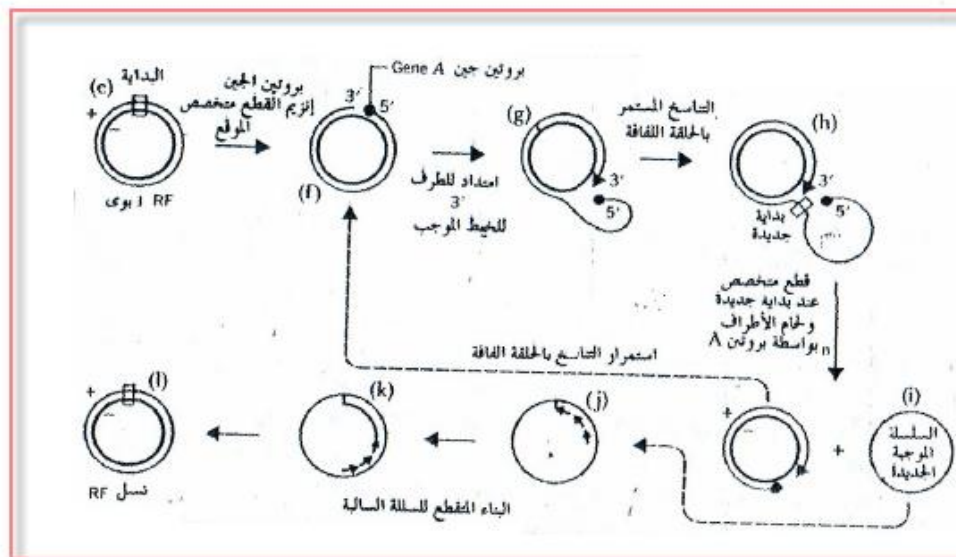
يمثل الفيروس البكتيري $\Phi X 174$ نموذجا لعدد من الفيروسات التي تصيب الكائنات بدائية النواة و تمتلك جزيئة دنا مفردة الخيط دائرية الشكل و يسمى الخيط الموجب ، و تتضمن عملية تكرار الدنا في الفيروس ثلاث مراحل (الشكل 5-5) وهي : عند دخول الفيروس خلية العائل يتحول خيط الدنا الموجب إلى حلزون مزدوج يسمى الشكل التكراري (Replication form) (RF) عن طريق بناء خيط مكمل للخيط الأبوي و يطلق على الخيط الجديد تسمية الخيط السالب و تتكرر جزيئة الدنا المزدوجة لعدة مرات ينتج عنها عشيرة من جزيئات الدنا المزدوجة

و تمثل هذه الأحداث المرحلة الأولى للتكرار ، أما المرحلة الثانية فتتضمن التكرار وفق أسلوب الحلقة اللفافة والتي تبدأ بقطع سلسلة الدنا الموجبة الأيوية من الشكل التكراري RF الناتج عن المرحلة الأولى و يجري بناء الخيط الجديد بالاتجاه $3 \rightarrow 5$ ، بينما تتسلخ النهاية $5 - P$ من ارتباطها بالخيط السالب الموجود إلى الداخل و مع استمرار نمو الخيط الجديد بالاعتماد على الخيط السالب كقالب فان الخيط السالب يدور حول محوره ومنها جاءت تسمية الحلقة اللفافة ، و يظهر جزء الخيط الأيوي الموجب المنسلخ عن الحلقة على شكل ذيل للحلقة ينمو مع تقدم التكرار ، و بعد اكتمال التكرار ترتبط نهايتا الخيط المنسلخ لتكوين سلسلة موجبة تبدأ الدورة من جديد أو يحاط كل خيط من الخيوط الموجبة الناتجة بغلاف بروتيني لاستكمال دورة تكاثر الفيروس .

المرحلة ١ : خيط فيروسي موجب ← RF أيوي



المرحلة ٢ : RF أيوي ← نسل RF



المرحلة ٣ : نسل RF ← نسل موجبة

الشكل 5-5. نمط تكرار الدنا وفق الحلقة اللفافة في الفيروس البكتيري .

تكرار الدنا في حقيقية النواة

إن أسلوب تعبئة الدنا المميز في حقيقية النواة يوضح أن عملية تضاعف الكروموسومات في الكائنات حقيقية النواة تشمل تكرار الدنا و كذلك بناء البروتينات الهستونية و البروتينات اللاهستونية الضرورية لتعبئة الدنا بمستوياتها المختلفة . إن تكرار حلزون الدنا في حقيقية النواة

يتبع الطريقة شبه المحافظة لل تكرار و بنفس الميكانيكيات و الإنزيمات في الكائنات البدائية النواة ، و يكون طول قطع أوكازاكي المنتجة في الخيط غير المستمر 100 – 200 نيكلو تيدة فقط (ميكرون واحد في الدقيقة) في حقيقة النواة حيث يكون التكرار أبطأ مما هو عليه في بدائية النواة و يكون 30 ميكرون في الدقيقة ، و ربما يعود المعدل المنخفض للتكرار إلى احتياج عملية التكرار إلى تفكيك أو إعادة ترتيب النيكلوسومات . و بالنظر إلى كون جزيئات الدنا في حقيقة النواة كبيرة الحجم ، يكون هناك أكثر من منشأ تكرار واحد على الكروموسوم و يبدأ التكرار فيها بشكل متزامن لاختصار الوقت اللازم للتكرار ، و تنتهي عملية التكرار بالتقاء شوكات التكرار في المناشئ المختلفة . ففي حشرة الدروسوفيلا يتكون أكبر الكروموسومات فيها من 6.5×10^7 زوج قاعدي فإذا كان التكرار من منشأ تكرار واحد فإنه يحتاج إلى 8.5 يوم و لكنه يتكرر في 2 – 3 دقائق و بذلك فإنه يحتاج إلى 7000 منشأ تكرار لإكمال تضاعفه ضمن هذه المدة .

الإنزيمات المشتركة في تكرار الدنا

تتشارك في عملية تكرار الدنا العديد من الإنزيمات يؤدي فيها كل إنزيم خطوة محددة في تصنيع الدنا وفق تسلسل و آلية لا يمكن تجاوزها ، و يمكن إيجازها بما يأتي :

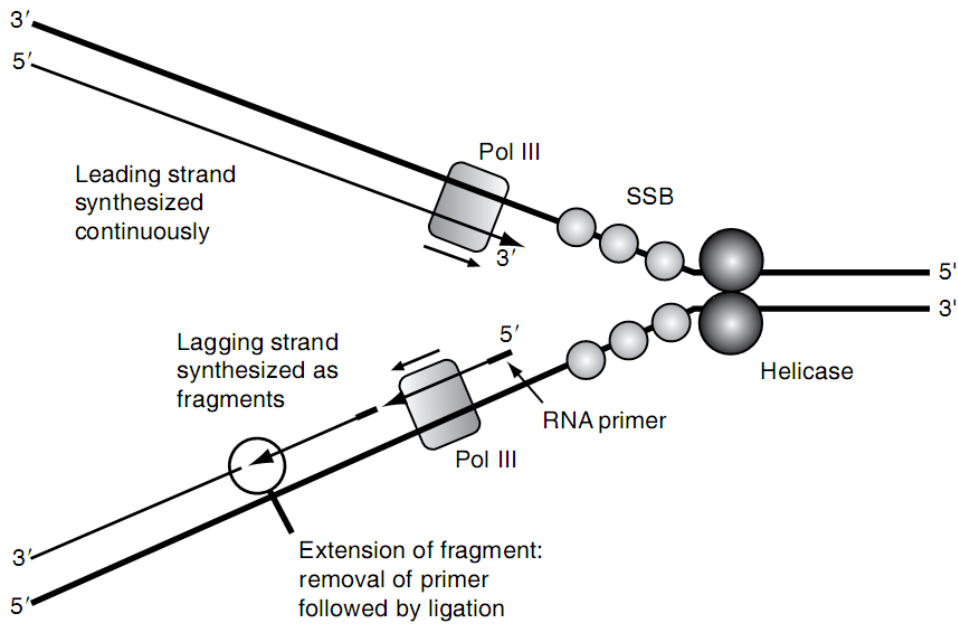
- 1- ينفصل خيطا حلزون الدنا عن بعضهما بفعل إنزيم Helicase الذي يعمل على فتح امتدادات من الحلزون أمام شوكة التكرار عن طريق تكسير الأواصر الهيدروجينية التي تربط القواعد النتروجينية بين الخيطين و يحتاج الإنزيم لإكمال عمله إلى وحدات الطاقة ادينوسين الثلاثي الفوسفات ATP ، و بعد انفصال خيطي الحلزون يرتبط بالخيطين بروتين متخصص يسمى (SSB) Single strand DNA Binding protein و الذي يمنع إعادة التحام الخيطين مرة ثانية عن طريق إعادة تكوين الأواصر الهيدروجينية . و يعمل إنزيم Topoisomerase (و يسمى الإنزيم المعزول من بكتريا *E. coli* بتسمية DNA gyrase) على تغيير في تركيب الدنا بطريقة تسمح بفتح امتدادات من خيوط الحلزون دون تكوين العقد (بنفس طريقة تكوين العقد عند فتح حبل ملفوف بشكل حلزون) .
- 2- يقوم إنزيم DNA Polymerase III بتخليق الخيط الجديد مستخدماً الخيط الأبوي كقالب عند إضافة النيكلوتيدات وفق الأزواج القاعدي و يستمر نمو الخيط الجديد بالاتجاه $3' \rightarrow 5'$ و يكون نمو احد الخيطين بصورة مستمرة في الاتجاه $3' \rightarrow 5'$ و يسمى الخيط القائد Leading strand ، أما الخيط الأبوي الأخر و بالنظر إلى عدم إمكانية تكرار الدنا بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$ لذلك يجري تخليق الخيط الجديد بعدة خطوات و بتداخل عدد من الإنزيمات و يسمى هذا الخيط بالخيط المتباطئ Lagging strand .

- 3- لغرض تخليق الخيط المتباطئ بالاتجاه $5' \rightarrow 3'$ يقوم إنزيم Primase (و هو من مجموعة إنزيمات RNA polymerase) بتخليق بادئ قصير من الرنا يتكون من حوالي 5 نيكلو تيدات مكمل لتتابع معين في شوكة التكرار و يمتلك نهاية حرة OH - 3 و يبدأ إنزيم بلمرة الدنا DNA Polymerase III بالارتباط بالبائى و تخليق قطعة من الدنا بالاتجاه $3' \rightarrow 5'$ ، يبلغ طولها في البكتريا 1000 – 2000 نيكلو تيدة و في حقيقة النواة حوالي 100 نيكلو تيدة ، و مع كل عملية فتح جديدة لحلزون الدنا تتكرر عملية بناء البائى و قطعة الدنا و

ينتج عن ذلك تخليق خيط مكون من عدد من قطع الدنا تسمى قطع أوكازاكي Okazaki fragments و تتخللها قطع من الرنا التي تمثل البوادي (شكل 5-6) .

4- يقوم إنزيم DNA Polymerase I بإزالة قطع الرنا التي تتخلل قطع أوكازاكي في الخيط المتباطئ و تقوم بملء الفراغات بالدنا بالاتجاه $5 \rightarrow 3$ و ينتج عن ذلك خيط من قطع دنا غير ملتحمة مع بعضها حيث يقوم إنزيم DNA ligase بعملية ربط هذه القطع مع بعضها عن طريق تكوين الأواصر ثنائية الأيستر بين الطرف OH - 3 لأحد القطع مع النهاية 5 - P للقطعة المجاورة و بذلك يكتمل بناء الخيط المتباطئ .

و خلال عملية تخليق خيوط الدنا الجديدة يقوم إنزيم DNA Polymerase بنوعيه بالتدقيق في إضافة النيكلوتيدات للخيط الجديد و إزالة الإضافة الخاطئة بموجب فعالية التصحيح Proofreading activity ليعود و يضيف النيكلوتيدة الصحيحة لضمان نقل المعلومات الوراثية بدقة من جيل الآباء إلى جيل الأبناء.



الشكل 5-6. الإنزيمات المشتركة في عملية تكرار الدنا .

أنظمة إصلاح الأخطاء في تكرار الدنا

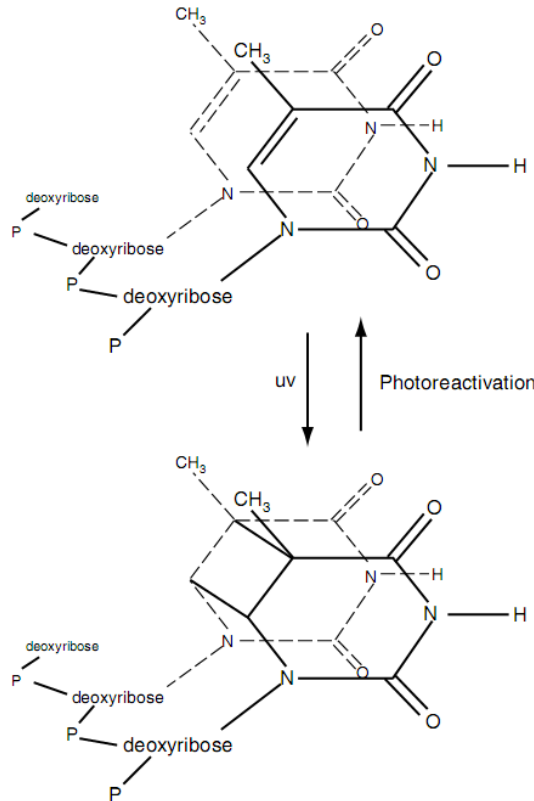
تمتلك الكائنات الحية عدداً من الآليات و الأنظمة الإنزيمية التي تمثل خطوط الدفاع ضد حدوث الطفرات و حصول الأخطاء أثناء تكرار الدنا أو نتيجة التعرض للعوامل الخارجية المطفرة .

أنظمة إصلاح الدنا قبل وصول شوكة التكرار إلى موقع الضرر في الدنا :

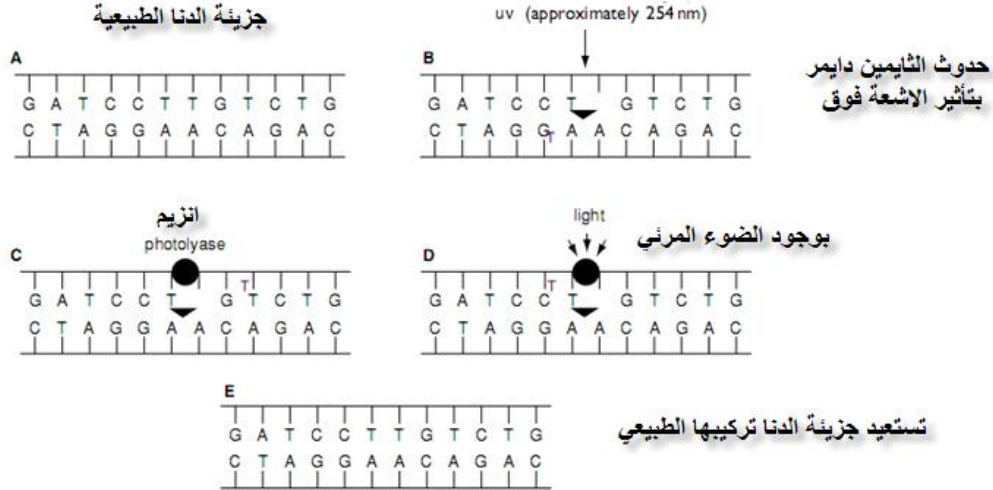
1- نظام إصلاح الدنا بالتنشيط الضوئي

Photoreactivation DNA repair system

أو ضح Dale و Park (2004) أن التأثير الرئيس للأشعة فوق البنفسجية هو تكوين البيريميدين دايمر Pyrimidine dimer (يشار إليه عادة الثايمين دايمر لكثرة حدوثه بالرغم من إمكانية حدوثه مع السائتوسين) و فيه تنشأ روابط جانبية بين قواعد البيريميدين ضمن نفس خيط الدنا (الشكل 5-7) حيث تعمل الأشعة فوق البنفسجية على تكوين الأواصر التساهمية بينهما ، و يعمل هذا الضرر على حدوث تشوه في حلزون الدنا يعيق إنزيم بلمرة الدنا من انجاز تكرار الدنا و لذلك يعد الضرر مميتاً للخلية ما لم يتم إصلاحه . و يعد نظام إصلاح الدنا بالتنشيط الضوئي من أفضل طرائق إصلاح الضرر الناتج عن البيريميدين دايمر ، و يحفز هذا النظام بإنزيم Photolyase بوجود الضوء المرئي حيث يعمل على تكسير الروابط التساهمية الجانبية و تستعيد جزيئة الدنا شكلها الطبيعي ، و تشير الخفاجي (2008) إلى أن الإنزيم يحتاج إلى مساعدة حامض الفوليك إذ يقوم بالارتباط إلى مزدوج الثايمين في الظلام و عند التعرض إلى الضوء المرئي يمتص حامض الفوليك الضوء المرئي و يستعمل الطاقة لتكسير الأواصر الجانبية للثايمين (الشكل 5-8) . و يكون هذا النظام خالياً من الأخطاء Error – free و لا تحدث عنه الطفرة .

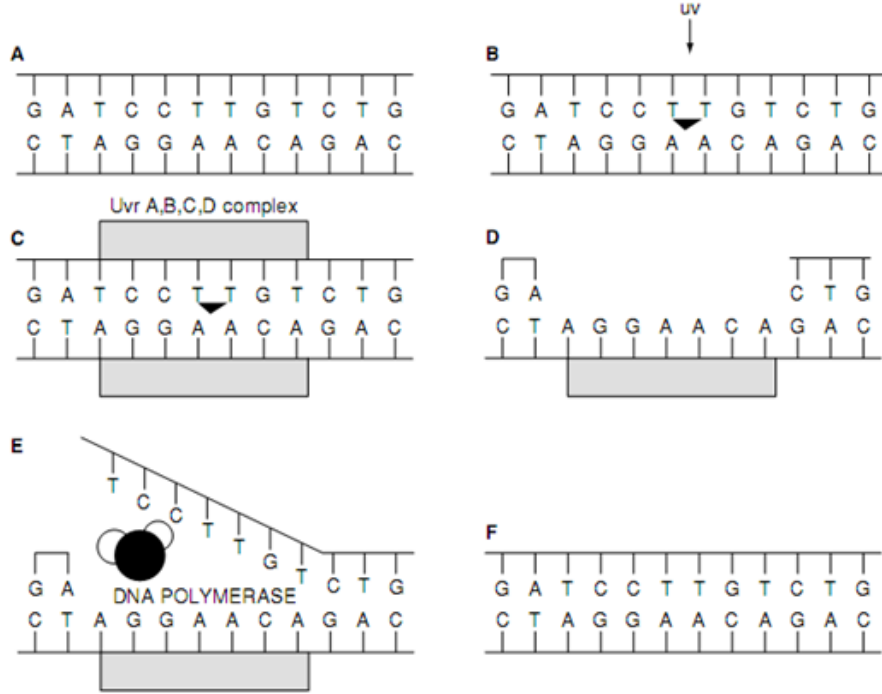


الشكل 5-7. تكوين الثايمين دايمر Thymine dimer .



الشكل 5-8. إصلاح الضرر وفق نظام التنشيط الضوئي
المصدر (Streips و Yasbin ، 2002)

2- نظام الاستئصال Excision DNA Repair system .
نظام فعال لإصلاح الضرر في حلزون الدنا و يكون خالياً من الأخطاء و لا تنتج عنه الطفرة ، يمكن أن تلجأ إليه الخلية لاستبدال نيكلويدة واحدة (الثايمين دايمر) أو عدد من النيكلويدات إذ إن تشوه حلزون الدنا يحفز ميكانيكية الإصلاح بالاستئصال بفعالية إنزيم endonuclease و هو إنزيم معقد ينتج عن تعبير ثلاثة جينات هي *uvr A* ، *uvr B* ، *uvr C* و أن حصول الطفرة في هذه الجينات يقلل من مقاومة الخلية للأشعة فوق البنفسجية و يجعلها حساسة للأشعة فوق البنفسجية . و يعمل هذا الإنزيم على قطع و إزالة منطقة الدنا المتضررة ، يعمل بعد ذلك إنزيم DNA Polymerase I على الارتباط بالنهاية 3 - OH و تكوين قطعة جديدة من الدنا بالاعتماد على الخيط المقابل كقالب لإضافة النيكلويدات حسب الأزواج القاعدي ثم لحم الكسور في الخيط من قبل إنزيم DNA ligase (الشكل 5-9). أما في حالة عدم حصول الإصلاح فان DNA Polymerase III يبدأ بتخليق الخيط الجديد بعد منطقة الضرر تاركا منطقة الضرر التي يطلق عليها Translesion حيث تغطي هذه المنطقة بروتينات Rec A التي تغطي خيوط الدنا المفردة لحين إصلاحها لاحقا من قبل أنظمة الإصلاح بعد التكرار مثل Recombination repair.



الشكل 5-9. نظام إصلاح الدنا بطريقة الاستئصال .
المصدر (Streips و Yasbin ، 2002)

أنظمة إصلاح الدنا بعد وصول شوكة التكرار إلى موقع الضرر في الدنا :
عند وصول شوكة التكرار إلى منطقة الضرر في حلزون الدنا و انفتاح خيطي الحلزون و ابتعادهما عن بعضهما تصبح الحالة غير ملائمة لتدخل أنظمة إصلاح الدنا قبل التكرار لأنها تحتاج إلى الحلزون الكامل لاستخدام الخيط غير المتضرر كقالب لإجراء الإصلاح ، لذلك تلجأ الخلية إلى أنظمة إصلاح أخرى تعمل في هذه الظروف و منها :

1- نظام إصلاح عدم التلاؤم Mismatch repair system (MMR)
إن أبسط أنواع الأخطاء التي تحدث أثناء التكرار هي التي تؤدي إلى قاعدة خاطئة في الخيط الجديد ، و عند حدوث هذه الحالة و لم يجر إصلاحها من قبل آلية التصحيح proofreading فإنها تؤدي إلى الطفرة ، و مع ذلك تمتلك الخلية ميكانيكية لإزالة حالة الازدواج الخاطئ و استبدالها بالنيكلوتيدة الصحيحة (Dale و Park ، 2004) . و يكون آلية عمل هذا النظام نتيجة لمحصلة فعالية أربعة جينات هي *mut S* ، *mut L* ، *mut H* ، *mut U* و اشتقت *mut* من كلمة *mutator* لان حصول طفرة في جينات النظام ينتج عنها زيادة في مستوى حدوث الطفرات التلقائية (الخفاجي ، 2008) . و لأداء هذه الفعالية لابد من معرفة الإنزيمات وتمييزها للخيط الجديد لإجراء الإصلاح ، و يتم ذلك عن طريق التعرف على مثيلة أشرطة الدنا التي يقوم بها إنزيم DNA methylase عند التتابع 5- GATC-3 عند القاعدة الأدينين ، حيث يقوم الجينان *mut S* و *mut L* بتحديد منطقة الضرر في الخيط الجديد الذي يخلو من المثيلة لفترة قصيرة بعد التكرار ، بينما يعمل ناتج الجين *mut H* على إحداث ثلمة على جانبي منطقة الضرر ، أما ناتج الجين *mut U* يعمل على أداء وظيفة Helicase لتسهيل فك

حلزون الدنا و يجري الإصلاح بفعالية إنزيم DNA Polymerase I و ربط قطع الحلزون بفعالية إنزيم DNA ligase .

2- نظام الاستغاثة لإصلاح الأضرار (SOS) Save Our Soul
إن نظام الإصلاح بالتنشيط الضوئي يكون فعالاً في إزالة تأثير الأضرار في الدنا و تكون فعاليتها خالية من الأخطاء و لكن بغياب الضوء المرئي لا يمكن للخلية استخدام هذا النظام و تلجأ إلى نظام إصلاح آخر يكون خالياً من الأخطاء أيضاً و هو نظام الاستئصال (Dale و Park ، 2004) . و في حالة حصول الضرر في حلزون الدنا و انفتاح حلزون الدنا لا يمكن لأنظمة الإصلاح قبل التكرار من التدخل لعدم وجود الخيط القالب في الجهة المقابلة ، لذلك يتوقف تكرار الدنا و تتعرض حياة الخلية إلى الخطر مما يحفز إنزيمات نظام الاستغاثة و فيها تتجاهل عملية الإصلاح قاعدة الأزواج القاعدي و تقوم بإضافة عشوائية للقواعد النتروجينية في منطقة الضرر ثم تعود إلى الإضافة الصحيحة بعد تجاوز المنطقة المتضررة ، و ينتج عن هذا النظام الطفرة نتيجة الإضافة العشوائية ويسمى Error – prone repair .

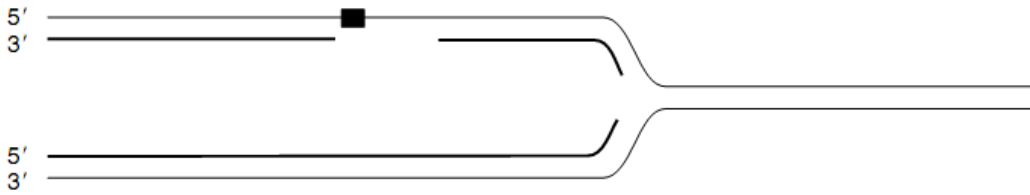
3- نظام الإصلاح بإعادة الاتحاد Recombination repair system

إن الضرر الذي يحدث في جزيئة الدنا نتيجة التداخل في قاعدة الأزواج القاعدي بين خيطي الحلزون يعمل على إيقاف التكرار بسبب إن إنزيم بلمرة الدنا يحتاج إلى الأزواج الدقيق ذي نهاية حرة OH – 3 و لذلك فان شوكة التكرار تتوقف ، و من الممكن أن يبدأ التكرار ثانية بعد تجاوز منطقة الضرر و ينتج عن ذلك فجوة في الخيط الجديد ، و هذه الفجوة لا يمكن إصلاحها بواسطة نظام الاستئصال الذي يتطلب وجود الحلزون المزدوج لاستخدام الخيط المقابل كقالب ، لذلك يعمل نظام إعادة الاتحاد لإصلاح الدنا (الذي يتضمن القطع و إعادة الربط في جزيئة الدنا) على استخدام جزء من الخيط الأبوي الثاني و المكمل لتتابع الخيط المقابل لمنطقة الضرر لملء الفجوة (الشكل 5-10) ، أما منطقة الضرر الأصلية في الخيط الأبوي فيجري إصلاحها لاحقاً بنظام الاستئصال بعد اكتمال ارتباط خيطي الحلزون .

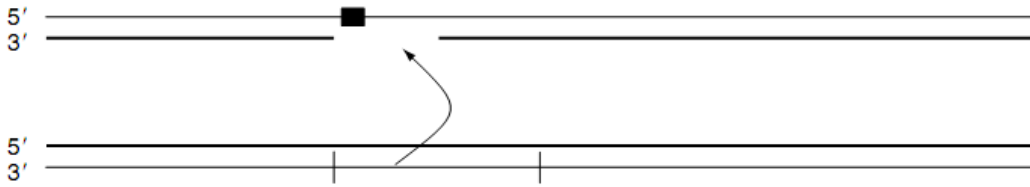
(i) Replication stops at the damaged portion



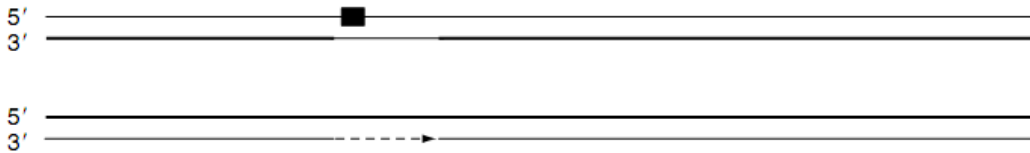
(ii) Subsequent re-initiation leaves a gap



(iii) Gap is repaired by a piece of DNA from the other parental strand



(iv) Resulting gap can be filled in by DNA polymerase I.
Original damage can be repaired by excision repair



الشكل 5-10. نظام إصلاح الدنا وفق إعادة الاتحاد Recombination .

التعبير الجيني Gene expression

إن التعبير الجيني للمادة الوراثية ينتج عنه تصنيع البروتينات و تتضمن العملية خطوتين متعاقبتين هما الاستنساخ Transcription و الترجمة Translation ، و فيها تتحول المعلومات الوراثية من شكل إلى آخر. و الجينات التي ينتج عنها البروتينات تسمى الجينات البنائية Structural genes ، و ولا يشمل مصطلح التعبير الجيني الجينات التي يجري استنساخها و لا يتم ترجمة مستنسخاتها مثل الجينات التي تشفر لأنواع جزيئات الرنا الناقل tRNA و الرنا الريبوسومي rRNA التي يجري استنساخها في النواة و تخرج المستنسخات إلى الساييتوبلازم لأداء وظيفتها في عملية الترجمة .

قد يتضمن التعبير الجيني استنساخ و ترجمة قطعة محددة من الدنا تسمى سسترون cistron و ينتج عنها سلسلة عديد الببتيد polypeptide chain ، بينما في حالات أخرى يتكون البروتين

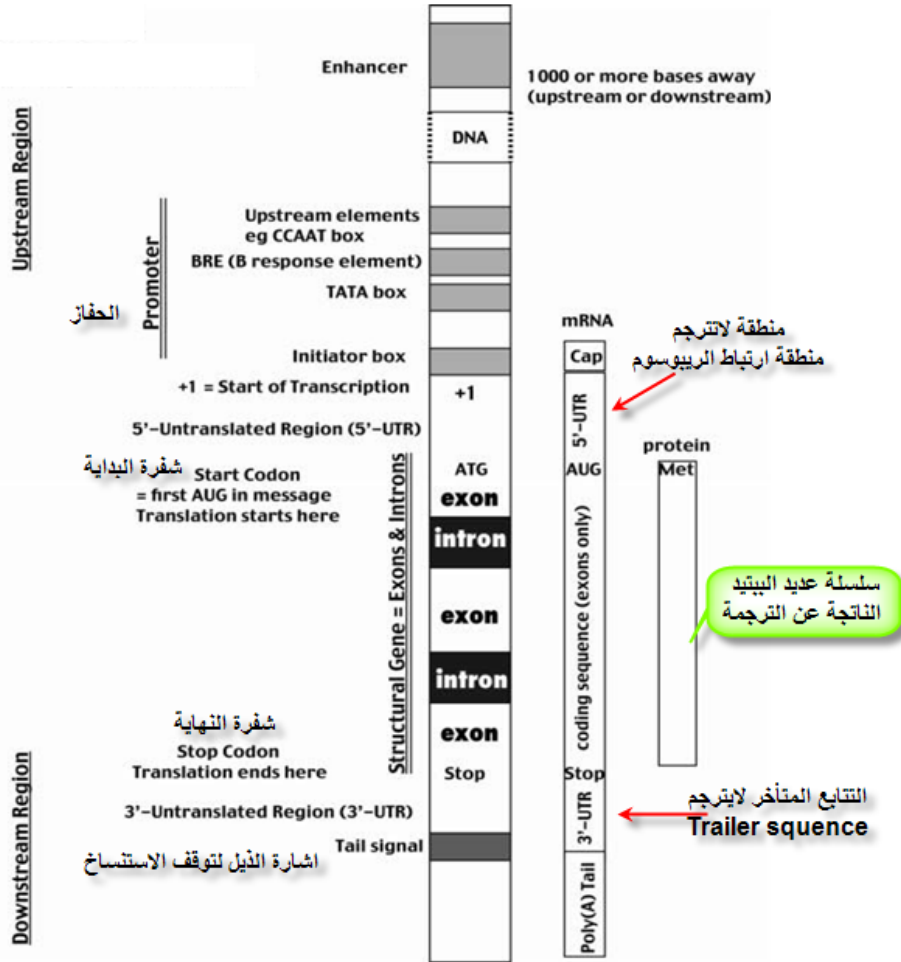
من وحدات ثانوية و كل وحدة تنتج عن منطقة مختلفة من الدنا (عدة جينات) و بالتالي فان حدوث الطفرة في أي جين من هذه الجينات قد ينتج عنه بروتين غير فعال وظيفياً . و يعد التعبير الجيني عملية مركزية لجميع الكائنات الحية تنتقل خلالها المعلومات الوراثية الموجودة في الدنا إلى جزيئات الرنا الرسول messenger RNA (mRNA) لغرض تصنيع البروتين و يطلق عليها Central dogma of molecular biology ، و تكون العملية مسؤولة عن تطور الفرد خلال الحياة ، عمليات الإدامة و الصفات التي يحملها الفرد (Stansfield و آخرون ، 2003) .

تشرح الجين Gene anatomy

يمثل الجين تتابعاً من النيكلوتيدات يشفر لتتابع الأحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد التي ينتج عنها البروتين الفعال وظيفياً ، و يوجد لكل جين عوامل سيطرة تلعب دوراً مهماً في التنظيم و السيطرة على عملية الاستنساخ و من هذه العوامل :

1- الحفاز Promoter ، عبارة عن تتابع قريب من الجزء المشفر للجين يرتبط به إنزيم بلمرة الرنا RNA Polymerase بشكل صحيح لبدء الاستنساخ من النيكلوتيدة الأولى للجين (+1) كما موضح في الشكل (5-11) ، و يشير Stansfield و آخرون (2003) إلى أن منطقة الحفاز في البكتريا تكون بطول يتراوح بين 15 – 30 زوجاً قاعدياً ، و في العديد من الحالات يعتمد ارتباط إنزيم بلمرة الرنا مع الحفاز على مجموعة من البروتينات تسمى عوامل سكما Sigma factors (σ) و يحدد كل عامل سكما منطقة الحفاز التي تلائم إنزيم بلمرة الرنا، و بالرغم من أن حفازات بدائية النواة تختلف بشكل كبير من كائن حي لآخر إلا أن هناك مناطق تمثل تتابعات قصيرة تشترك بها معظم الحفازات ، إذ توجد منطقة في الخيط ضد الحسي تبعد 10 أزواج قاعدية قبل نقطة بداية الاستنساخ تسمى 10 sequence - و يكون تتابعها 5-TATAAT-3 و المنطقة الأخرى تبعد 35 زوجاً قاعدياً قبل نقطة بداية الاستنساخ تسمى 35 sequence - و يكون تتابعها 3-TTGACA-5 . أما في حقيقية النواة فوجد أن المنطقة المشتركة تقع على بعد 25 زوجاً قاعدياً قبل نقطة بداية الاستنساخ و يطلق عليها 25 region - أو TATA box ، فضلا عن ذلك تمتلك الكثير من كائنات حقيقية النواة تتابع CAAT sequence في المنطقة 75 sequence - لتمثل هذه المناطق مواقع ارتباط إنزيم بلمرة الرنا لبدء عملية الاستنساخ بصورة صحيحة .

Parts of an Eukaryotic Gene



الشكل 5-11. مناطق الجين و العوامل المسيطرة على عملية الاستنساخ في حقيقية النواة .

2-الفاصل Terminator ، يشير إلى تتابع من النيكلوتيدات في الدنا يؤشر لإنزيم بلمرة الرنا التوقف عن الاستنساخ و الانفصال عن قالب الدنا ، جميع الفواصل في البكتريا تحتوي على تتابع متكرر و متعاكس ينتج عنها ازدواج بالروابط الهيدروجينية ضمن الخيط الواحد نتيجة تكامل القواعد النتروجينية و انثناء خيط الدنا بشكل يشابه امشوطه الشعر hair pin structure تسبب توقف استنساخ قالب الدنا عند وصول إنزيم بلمرة الدنا إليها .

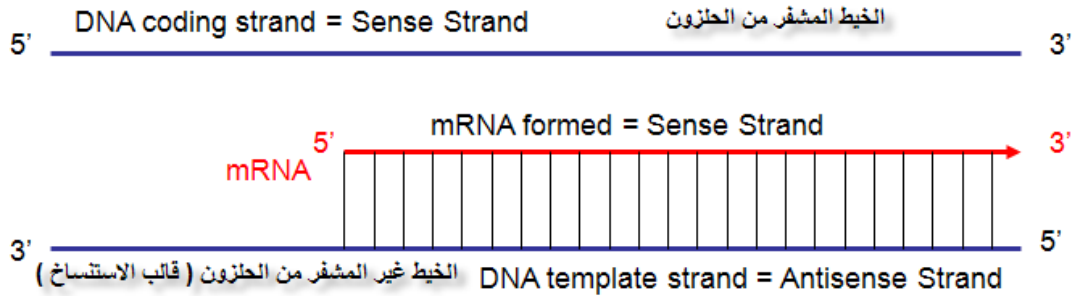
الاستنساخ Transcription

تحدث عملية الاستنساخ بفعل نشاط إنزيم بلمرة الرنا RNA Polymerase الذي يقوم بتخليق خيط من الرنا مكملاً لتتابع احد خيطي حلزون الدنا الذي يستخدم كقالب لعملية الاستنساخ و تجري إضافة النيكلوتيدات للخيط النامي وفق قاعدة الازدواج للقواعد النتروجينية مع استبدال القاعدة النتروجينية الثايمين باليوراسيل و يكون اتجاه بناء الخيط الجديد بالاتجاه $3' \rightarrow 5'$ ولا

يحتاج الإنزيم إلى بادئ لعمله و ينتج عن عملية الاستنساخ خيط مفرد يسمى الرنا الرسول mRNA ، و تحدث العملية في نواة الخلية . و لكي يكون الإنزيم قادراً على إتمام عملية الاستنساخ يجب أن يكون قادراً على انجاز الوظائف الآتية :

- 1- أن يكون الإنزيم قادراً على التعرف على منطقة الحفاز للجين و الارتباط بها بصورة صحيحة
- 2- أن يقوم باستنساخ الجين بدقة .
- 3- أن يتوقف عن عملية الاستنساخ عند الوصول إلى منطقة الفاصل .

يجري استنساخ احد خيطي حلزون الدنا ويسمى الخيط الحسي Sense strand والذي يحمل الشفرات الوراثية و الخيط المقابل للخيط الحسي في حلزون الدنا يسمى الخيط ضد الحسي Antisense strand و تكمن أهميته في تكرار الدنا و إصلاح الأضرار لجزيئة الدنا (الشكل 5-12) .



الشكل 5-12. الخيط الحسي و الخيط ضد الحسي في حلزون الدنا .

وبالرغم من وجود إنزيم RNA Polymerase واحد يؤدي وظائفه في البكتريا ، أشار Stansfield و آخرون (2003) إلى وجود ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة الرنا في حقيقية النواة لإتمام عملية الاستنساخ في النواة و هي :

1- RNA Polymerase I يقوم باستنساخ الجينات المتخصصة بالرنا الريبوسومي rRNA ذات الأحجام 5.8s ، 28s و 18s و هذا النوع يوجد مرتبطاً مع الكروموسومات في منطقة النوية .

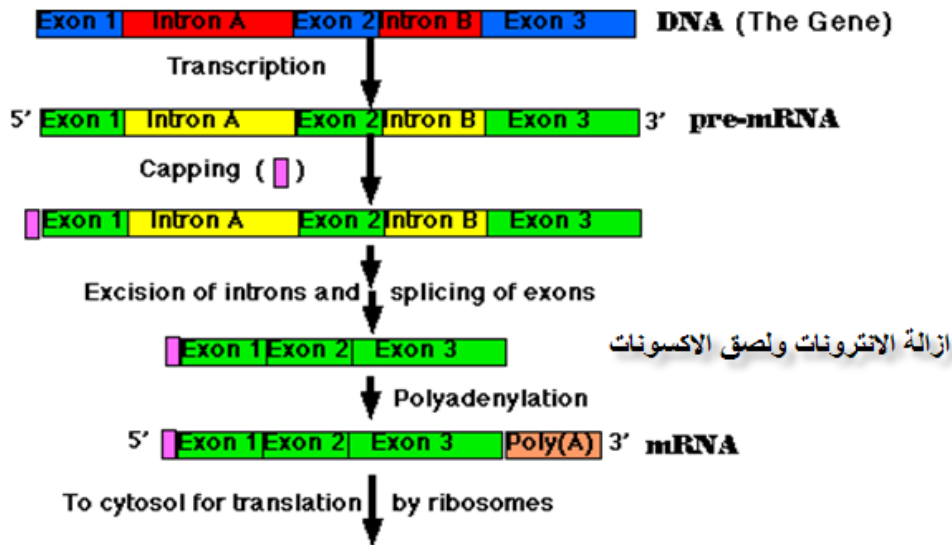
2- RNA Polymerase II يقوم هذا النوع باستنساخ المنطقة بعد الحفاز و التي تتضمن المناطق المشفرة و تسمى اكسونات Exons و المناطق غير المشفرة و تسمى انترونات Introns و إنتاج جزيئة الرنا الرسول غير الناضجة Pre-mRNA .

3- RNA Polymerase III يرتبط هذا النوع مع الحفازات التي تنظم تصنيع جزيئات الرنا القصيرة نسبياً مثل جزيئات الرنا الناقل tRNA و الرنا الريبوسومي rRNA بالحجم 5s .

العمليات على الرنا الرسول بعد الاستنساخ في حقيقية النواة RNA Processing

بعد عملية الاستنساخ في حقيقية النواة و إنتاج الرنا الرسول الأولي Pre-mRNA تجري عمليات مهمة على جزيئة الرنا الرسول الأولية لتتحول بعد ذلك إلى جزيئة الرنا الرسول mRNA وتسمى RNA processing فضلا عن نقل الجزيئة الناضجة إلى خارج النواة ، تتضمن العملية عدة خطوات هي :

- 1- إضافة القبعة cap إلى النهاية 5 من شريط الرنا الرسول ، و منطقة القبعة تمثل modified guanine (7-methyl G) ترتبط بالنيكلوتيدة الأولى من شريط الرنا الرسول من الطرف 5 ، و تؤدي دورا مهما في ارتباط الرنا الرسول بالرايبوسوم لبدء عملية الترجمة .
- 2- إضافة عدد من النيكلوتيدات من نوع adenine nucleotides بعدد يتراوح 100-200 نيكلوتيدة إلى الطرف 3 من شريط الرنا الأولى و يسمى Poly A tail ، و هو مهم في إعطاء الإشارة إلى الرايبوسوم للتوقف عن الترجمة و انفصال جزيئة الرنا الرسول .
- 3- في جينات حقيقية النواة تعترض تتابعات الجينات المشفرة (الاكسون Exon) تتابعات غير مشفرة تسمى انترون Intron و يجري استنساخ هذه التتابعات معا في جزيئة الرنا الرسول الأولية ، و يتطلب إزالة قطع الانترونات و لصق الاكسونات لتصبح جزيئة الرنا الرسول جاهزة لدخول عملية الترجمة (الشكل 5-13) .



الشكل 5-13. خطوات تجهيز شريط الرنا الرسول الأولى في حقيقية النواة .

الترجمة Translation

إن عملية التعبير الجيني تتضمن عمليتي الاستنساخ و الترجمة ، و تشير الترجمة إلى عملية تحويل المعلومات الوراثية الموجودة على الرنا الرسول إلى تتابع محدد من الأحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد و التي تمثل منتج الجين ، و تحدث العملية في الساييتوبلازم . تمثل البروتينات حوالي 15% من وزن الخلية و تلعب البروتينات ادوار مهمة في حياة الخلية .

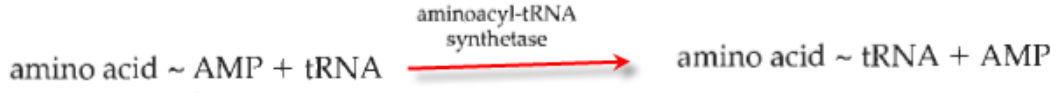
- إن تركيب البروتين الفعال وظيفيا يتضمن عدة مستويات هي :
- 1- الترتيب الأولي primary structure، و هو تتابع عديد الببتيد يشير إلى تتابع الأحماض الامينية الذي يحدده تتابع النيكلوتيدات في الجين .
 - 2- الترتيب الثاني secondary structure، الذي يمثل الترتيب الفضائي الثلاثي الأبعاد الذي تنتظم فيه الأحماض الامينية في البروتين .
 - 3- الترتيب الثالث tertiary structure ، يتضمن وجود الانتشاءات الكلية التي تتخذها البروتينات في الفضاء ثلاثي الأبعاد .
 - 4- الترتيب الرابع quaternary structure ، يشير إلى ارتباط اثنين أو أكثر من سلاسل عديد الببتيد في البروتين . و يمثل الهيموغلوبين Hemoglobin مثال جيد للبروتينات المعقدة و تظهر فيه جميع مستويات ترتيب البروتينات الأربعة .

تجري عملية الترجمة على الرايبوسومات ، و هي جزيئات كبيرة موجودة في السايوبلازم تمثل مواقع تصنيع البروتين في الخلية تنتشر في الخلية بدائية النواة بينما تتمركز في حقيقية النواة بكثافة على الشبكة الاندوبلازمية القريبة من الغشاء النووي ، و تمتلك بكتريا القولون *E.coli* 200.000 رايبوسوم تمثل 25% من الوزن الجاف للخلية مما يشير إلى الأهمية النسبية للرايبوسومات في تصنيع البروتينات و إدامة أشكال الحياة الموجودة على الأرض . عندما قام العلماء بتعليم مواقع تصنيع البروتين في الخلايا التي تنمو سريعا بوجود أحماض امينية ذات نشاط إشعاعي و تم مراقبتها بالتصوير الإشعاعي الذاتي أظهرت النتائج إن البروتينات يجري تصنيعها على الرايبوسومات ، و يتكون الرايبوسوم من وحدتين ثانويتين إحداهما وحدة ثانوية كبيرة large subunit و الثانية وحدة ثانوية صغيرة small subunit و يرتبط الجزءان عند بدء الترجمة بوجود الرنا الرسول و ينفصلان عن بعضهما عند الانتهاء من الترجمة . ويختلف حجم الرايبوسوم في بدائية النواة (70s) عما هو عليه في حقيقية النواة (80s) ، أما الرايبوسومات الموجودة في المايكوبكتريا و البلاستيدي الخضراء في حقيقية النواة فتكون اصغر (60s) ، و لاعتبارات كيميائية لا يحدث تفاعل مباشر بين الأحماض الامينية و الشفرات الوراثية الثلاثية في الرنا الرسول لذلك افترض فرنسيس كريك عام 1958 وجود جزيئات مكيفة adaptor molecules وسيطة متخصصة بين الأحماض الامينية و الشفرات خلال تصنيع البروتين .

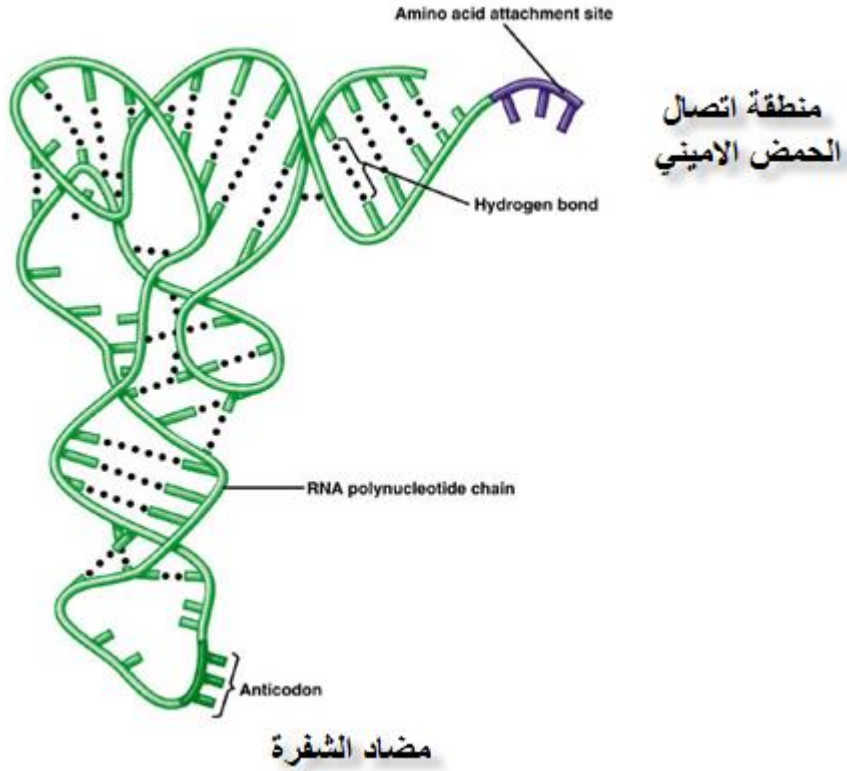
و تشترك في عملية الترجمة ثلاثة أنواع من جزيئات الرنا و جميعها يجري استنساخها من الجينات الكروموسومية و هي : الرنا الرسول (messenger RNA (mRNA) ، 3 – 5 جزيئات من الرنا الرايبوسومي (ribosomal RNA (rRNA) ، و عدة أنواع من جزيئات الرنا الناقل (transfer RNA (tRNA) عددها 40-60 نوع . و ترتبط الأحماض الامينية بشكل متخصص مع الرنا الناقل (يكون الارتباط بين المجموعة الكربوكسيلية للحمض الاميني و الهيدروكسيل في جزيئة الرنا الناقل) و يحدث الارتباط بفعل نشاط إنزيم aminoacyl-tRNA synthetase إذ يوجد على الأقل إنزيم واحد لكل حمض أميني ، و تتضمن عملية الارتباط مرحلتين : يجري خلال المرحلة الأولى تنشيط الحمض الاميني باستخدام الطاقة (ATP) و كما يأتي :



بينما تتضمن المرحلة الثانية ، التفاعل جزيئة الرنا الناقل المناسب و كما يأتي :



و يمثل ناتج المرحلة الثانية المادة الأساس لإنتاج سلسلة عديد الببتيد في الرايبوسوم ، و فيها يجري قيام الجزيئات الفعالة من الرنا الناقل المحملة بالحمض الاميني بالارتباط مع الشفرات codon المناسبة في شريط الرنا الرسول ، و تمتلك جزيئات الرنا الناقل على تتابعات من ثلاث نيكلوتيديات تسمى مضاد الشفرة anticodon يتكامل بالازدواج القاعدي مع الشفرة الوراثية الموجودة على شريط الرنا الرسول خلال عملية الترجمة (الشكل 5-14).



الشكل 5-14. جزيئة الرنا الناقل (tRNA) و مواقع مضاد الشفرة و اتصال الحمض الاميني

- و لانجاز جزيئة الرنا الناقل وظيفتها يجب توافر الظروف الآتية :
- 1- يجب أن تمتلك الجزيئة مضاد الشفرة الصحيح لكي تكون قادرة على الازدواج مع الشفرة الصحيحة .
 - 2- أن تكون قادرة على العمل مع إنزيم امينوسيل الصحيح و بالتالي الفعالية في الارتباط مع الحمض الاميني الصحيح .

3- الارتباط مع الموقع الصحيح في الرايبوسوم لأداء وظيفته .
إن ارتباط الرنا الناقل الحامل للحمض الاميني بالرايبوسوم يكون في مواقع محددة ، إذ يمتلك الرايبوسوم ثلاثة مواقع (شكل 5-15) و يمكن وصفها بالاتي :

1- الموقع A أو يسمى Aminoacyl site و يرتبط بهذا الموقع المعقد – aminocyl tRNA الذي هو عبارة عن جزيئة الرنا الناقل حاملة للحمض الاميني الذي يضاف إلى سلسلة عديد الببتيد النامية .

2- الموقع P أو يسمى Peptidyl site و ترتبط به الرنا الناقل المحملة بالحمض الاميني في بدء عملية الترجمة و خلال المرحلة اللاحقة من عملية بناء سلسلة عديد الببتيد .

3- الموقع E أو يسمى Exit site و هو موقع مغادرة جزيئة الرنا الناقل الذي ينفصل عن الحمض الاميني .

و يمكن وصف خطوات عملية ترجمة المعلومات الوراثية الموجودة على شريط الرنا الرسول إلى تتابع محدد من الأحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد من خلال تقسيم العملية إلى ثلاث مراحل هي :

1- بداية الترجمة Initiation : تتضمن جميع الأحداث التي يجري خلالها تكوين الأصرة الببتيدية بين الحمضين الأوليين في سلسلة عديد الببتيد ، و بالرغم من وجود تشابه في العديد من الجوانب بين الخلايا بدائية النواة و حقيقية النواة بخصوص هذه المرحلة إلا إننا سنقوم بالإشارة إلى بعض الاختلافات لاحقا ، ففي بكتريا القولون E.coli التي تمثل نموذجا لخلايا بدائية النواة ، تشترك في بداية الترجمة الوحدة الثانوية 30s من الرايبوسوم ، جزيئة الرنا الناقل الخاصة ببدء الترجمة والتي تحمل الحمض الاميني الميثيونين ، شريط الرنا الرسول ، ثلاثة أجزاء بروتينية تسمى عوامل بدء الترجمة (IF) Initiation factors و هي IF1 ، IF2 ، IF3 و جزيئة واحدة من GTP . و تحدث عملية الترجمة في الرايبوسوم بحجم 70s فقط إلا إن الرايبوسوم منشطر إلى جزأين ثانويين هما 30s و 50s و يتحدان عند الترجمة فقط ، لذلك تبدأ عملية الترجمة بتفاعل الوحدة الثانوية للرايبوسوم 30s مع شريط الرنا الرسول و عوامل بدء الترجمة مكونة معقد ترتبط معه الوحدة الثانوية 50s لتكوين الرايبوسوم بحجم 70s اللازم لبدء الترجمة .

يبدأ تصنيع سلسلة عديد الببتيد عن طريق الرنا الرسول الخاص ببدء الترجمة tRNA_i و يحمل الميثيونين لذلك جميع سلاسل عديد الببتيد الناتجة عن الترجمة تبدأ بالمثيونين ، و يختلف الرنا الناقل الخاص ببدء الترجمة عن الرنا الناقل الذي يحمل الميثيونين إلى داخل السلسلة بامتلاك الرنا الناقل الخاص لمجموعة أمين مغلقة بوجود مجموعة الفورميل Formyl مما يمنع تكون أصرة ببتيدي في بداية السلسلة الحرة مع مجموعة الكربوكسيل لحمض أميني في نهاية السلسلة النامية ، و فضلا عن ذلك فإن جزيئة الرنا الناقل الخاص الوحيدة القادرة على التفاعل مع بروتين بدء الترجمة IF2 لتكوين المعقد الأول أما المعقد الثاني الضروري لبدء عملية الترجمة فيكون باتحاد جزيئة الرنا الرسول مع الوحدة الثانوية للرايبوسوم 30s بوجود عامل بدء الترجمة IF3 ، و يكون ارتباط الرنا الرسول مع الوحدة الثانوية 30s عن طريق الازدواج القاعدي لمنطقة في بداية شريط الرنا الرسول بالتتابع AGGAGG و تسمى Shine-Dalgarno sequence تمثل منطقة ارتباط الرنا الرسول مع الرايبوسوم . إن اتحاد المعقدين يتطلب إطلاق عامل بدء الترجمة IF3 فضلا عن احتياج العملية إلى الطاقة التي تحصل عليها من جزيئة GTP و يعقبها لاحقا إطلاق عوامل بدء

الترجمة IF1 و IF2 خارجا ، إن تكوين الرايبوسوم بالحجم 70s يضع جزيئة الرنا الناقل الخاص في الموقع P و ترتبط مضاد الشفرة الموجودة على الرنا الناقل الخاص مع شفرة البداية AUG (start codon) الموجودة على الرنا الرسول ، و يعتبر معقد methionyl-tRNA_i الوحيد الذي يستطيع دخول الموقع P مباشرة دون المرور بالموقع A.

و بوجود شفرة البداية في الموقع P فان الشفرة الثانية من الرنا الرسول سوف تشغل الموقع A و ترتبط مع معقد امينوسيل- الرنا الناقل الذي يحمل مضاد الشفرة الصحيح مما يؤشر بداية المرحلة الثانية من تصنيع عديد الببتيد و هي الاستطالة .
إن عملية بدء الترجمة في حقيقية النواة تكون أكثر تعقيدا و تشترك فيها عوامل بدء الترجمة المذابة ، و مع ذلك فان العملية بصيغتها العامة متشابهة مع بدائية النواة مع وجود الاختلافات الآتية :

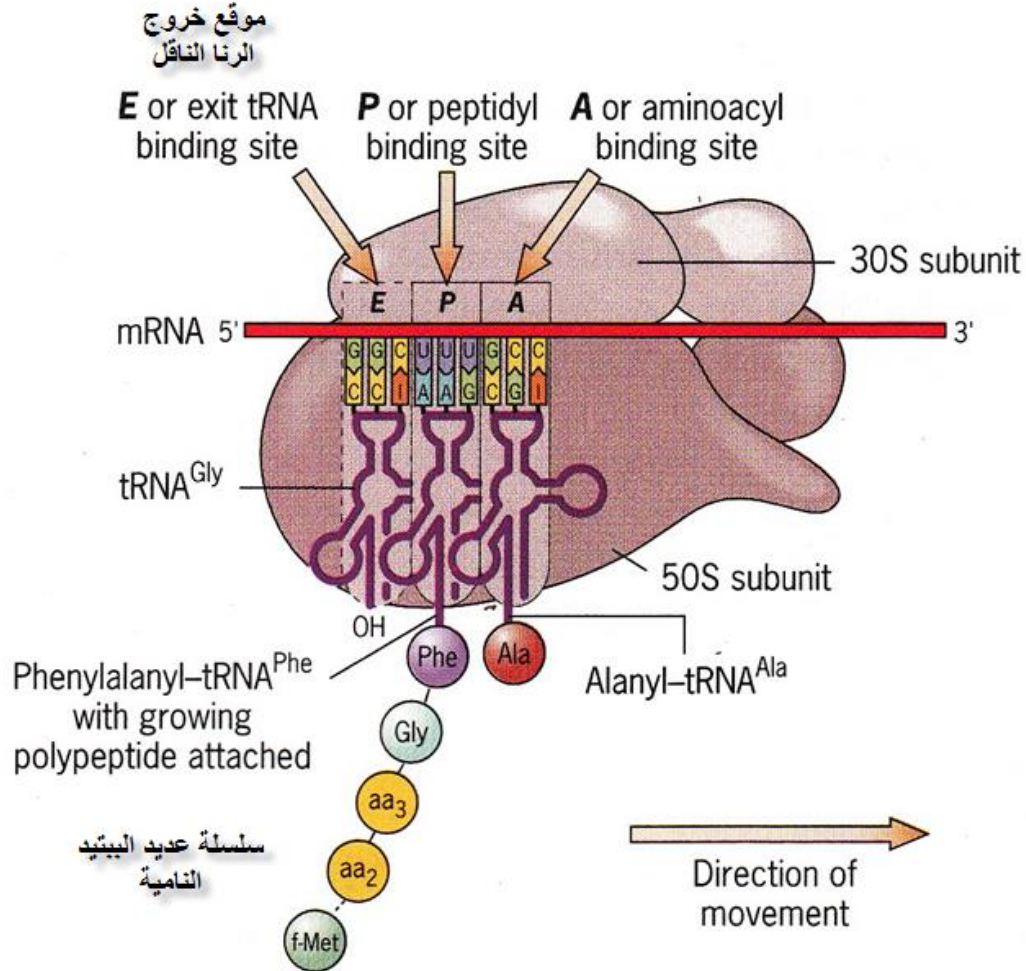
- 1- تكون مجموعة الأمين في الرنا الناقل الخاص غير مغلقة كما كانت في بدائية النواة .
- 2- يتكون معقد بدء الترجمة في الطرف 5 من شريط الرنا الرسول و ليس من منطقة shine-Dalgarno كما سبق الإشارة إليها في بكتريا القولون .

2- الاستطالة Elongation

تشابه خطوات هذه المرحلة في خلايا بدائية النواة و حقيقية النواة ، و تتضمن عملية

إضافة كل حمض أميني إلى سلسلة عديد الببتيد ثلاث خطوات هي :

- 1- ارتباط معقد امينوسيل – الرنا الناقل إلى الموقع A في الرايبوسوم .
 - 2- انتقال سلسلة عديد الببتيد النامية من الرنا الناقل في الموقع P إلى الرنا الناقل في الموقع A عن طريق تكوين أصرة ببتيديية جديدة .
 - 3- انتقال الرايبوسوم على طول الرنا الرسول إلى موقع الشفرة التالية في الموقع A .
و خلال الخطوة الثالثة تنتقل سلسلة عديد الببتيد بما تحمله من جزيئة الرنا الناقل من المواقع A و P إلى المواقع P و E على التوالي ، و تتكرر الخطوات بشكل دوري .
- ### 3- الانفصال Termination :
- عندما تدخل إحدى شفرات التوقف (UAA ، UAG و UGA) إلى الموقع A في الرايبوسوم و يجري تنظيم عمل شفرات التوقف باستخدام البروتينات الذائبة و تسمى عوامل الإطلاق (RFs) release factors ، ففي بكتريا القولون يوجد عاملين هما RF1 و RF2 و يعمل RF1 على تنظيم عمل شفرات التوقف UAA و UAG بينما ينظم RF2 عمل شفرات التوقف UAA و UGA. بينما في حقيقية النواة يوجد عامل إطلاق واحد هو eRF الذي يقوم بتنظيم عمل جميع شفرات التوقف .
وبانتهاء مرحلة الانفصال يطلق جزيئة الرنا الرسول من الرايبوسوم و ينشطر الرايبوسوم إلى وحداته الثانوية ، و بذلك تكون الوحدات الثانوية للرايبوسوم جاهزة لدورة جديدة من الترجمة .



الشكل 5-15. مواقع ارتباط الرنا الناقل على الرايبوسوم .

الشفرة الوراثية Genetic code

إن إثبات تحكم الجينات بتصنيع البروتينات ركز الاهتمام حول كيفية قيام تتابع النيكلوتيدات الأربعة في الدنا بالسيطرة على تتابع 20 حمض أميني موجود في البروتين من خلال تتابع القواعد النتروجينية في شريط الرنا الرسول .

إن عدد النيكلوتيدات في شريط الرنا الرسول التي تشفر لحمض أميني معين تسمى شفرة codon ، و من المعروف وجود عشرين حمضاً أمينياً بينما توجد أربعة أنواع من النيكلوتيدات و بذلك إذا كانت الشفرة أحادية فإنها تشفر إلى أربعة أحماض امينية فقط . أما في حالة الشفرة الثنائية (نيكلوتيدين يشفر للحمض الاميني) فيكون عدد التوافق $4^2 = 16$ و هي غير كافية لعدد الأحماض الامينية . لذلك تعتبر الشفرة الثلاثية هي اصغر وحدة تشفير توفر الشفرات للأحماض الامينية العشرين حيث توفر عدد التوافق تكون $4^3 = 64$ و هي فائضة عن عدد الأحماض الامينية ، حيث يمكن أن يشفر للحمض الاميني أكثر من شفرة واحدة (الشكل 5-16) .

The genetic code					
First base	Second base				Third base
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met/ START	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

الشكل 5-16. الشفرات الوراثية الثلاثية التي تشفر للأحماض الامينية في جزيئة الرنا الرسول

و تتصف الشفرة الوراثية بعدد من المزايا المهمة :

- 1- تتألف الشفرة الوراثية من تتابع ثلاث نيكلوتيديات في جزيئة الرنا الرسول تحدد أحد الأحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد ، بمعنى آخر إن الشفرة الوراثية ثلاثية .
- 2- لا يوجد تداخل بين الشفرات الوراثية ، إذ إن كل نيكلوتيديدة في الرنا الرسول تنتمي إلى شفرة واحدة فقط (ماعدا حالات نادرة ناتجة عن تداخل الجينات) .
- 3- عدم وجود فواصل بين الشفرات الوراثية و خلال عملية الترجمة يجري قراءة الشفرات بشكل متواصل .
- 4- جميع الأحماض الامينية تقريبا (ماعدا اثنين من الأحماض) يتم التشفير لهم بأكثر من شفرة وراثية واحدة .
- 5- تختلف الشفرات المتعددة لنفس الحمض الاميني في نيكلوتيديدة واحدة .
- 6- يوجد ضمن الشفرات الوراثية شفرة البداية start codon و ثلاث شفرات توقف .
- 7- يكون للشفرات الوراثية نفس المعنى في جميع الكائنات الحية من الفيروسات إلى الإنسان (مع وجود بعض الاستثناءات القليلة) .

تنظيم التعبير الجيني Regulation of gene expression

تحافظ الأنواع على أشكالها المظهرية المميزة بحيث يمكن بسهولة التمييز بين نبات الذرة و شجرة البلوط ، كم يتم التمييز بسهولة بين الأفراد البشرية (باستثناء التوائم المتطابقة) ، و يرجع الاختلاف المظهري إلى الاختلافات بين الجينات و الاختلافات في الأشكال البديلة للجين

(الاليلات)، و في داخل الفرد الواحد نجد تنوعاً مظهرياً و وظيفياً بين خطوط الخلايا المختلفة مثل الخلايا العصبية ، خلايا الكبد أو العظام و غيرها و جميع هذه الخلايا تنتج من خلية واحدة هي الزايكوت ، أي إن هذه الخلايا المختلفة تحتوي على نفس مجموعة الجينات ، الآن كيف يمكننا تفسير الاختلاف الواسع في الشكل المظهري و الوظيفي للخلايا ؟ المعلومات المتوافرة تشير إلى أن الجينات الموجودة في نواة الخلية لا يتم التعبير عنها جميعا في نفس الوقت ، بل إن نسبة الجينات التي يعبر عنها في حقيقة النواة تمثل نسبة محدودة لا تتجاوز عن 10 % أو اقل . و تؤدي جينات معينة عملها في جميع الخلايا مثالها الجينات التي تتحكم في تخليق الإنزيمات التي تعمل على البروتينات الريبوسومية و الإنزيمات التي تعمل على الرنا الناقل ، و مع ذلك فإن هناك جينات كثيرة أخرى تؤدي عملها لفترة قصيرة فقط في طراز واحد أو عدد قليل من الطرز في مرحلة معينة من تمايز الخلايا ، و بذلك يمكن القول إن هناك تنظيماً لعمل الجينات ، فالجينات موجودة باستمرار في إحدى حالتين أما أنها في حالة تشغيل أو حالة عدم تشغيل في الخلايا المختلفة و في الأوقات المختلفة ، و تجري عملية التنظيم على عدة مستويات منها على مستوى الاستنساخ ، الترجمة أو فعالية البروتين بعد الترجمة .
تتضمن ميكانيكات تنظيم التعبير الجيني عن طريق تنظيم النسخ ، في بدائية النواة و حقيقية النواة في مجموعتين هما :

- 1- المجموعة الأولى ، تشمل ميكانيكات التحول السريع إلى فتح أو غلق التعبير الجيني كاستجابة للتغيرات البيئية ، و تعد هذه الميكانيكات مهمة جدا في الكائنات الدقيقة نظرا لتعرض هذه الكائنات بصورة متكررة للتغيرات البيئية المفاجئة و بذلك تكتسب الكائنات الدقيقة قدرا كبيرا من المرونة ، أي القابلية على انجاز العمليات الايضية في الصورة التي تحقق أعلى نمو و أعلى مستوى من التكاثرت تحت الظروف البيئية شديدة التباين ، و هذه المجموعة من الميكانيكات تكون اقل أهمية في الكائنات حقيقية النواة ففي الكائنات العليا يتحقق التوازن لخلاياها ضد كثير من التغيرات البيئية المفاجئة .
- 2- المجموعة الثانية ، تتضمن ميكانيكات تسمى (دوائر التعبير الجيني سابقة الإعداد) و في مثل هذه الحالات فإن حدث ما (مثل الإصابة بالفيروسات أو إفراز الهرمون أو الإخصاب) يطلق التعبير الجيني لمجموعة من الجينات ، و قد يعمل ناتج الجين على إغلاق النسخ لمجموعة من الجينات مع فتح النسخ لمجموعة ثانية ، و هكذا فإن ناتج أو أكثر من نواتج المجموعة الثانية من الجينات قد يعمل بفتح النسخ لمجموعة ثالثة و هكذا ، و في هذه الحالات فإن التعبير المتتالي لمجموعات الجينات يكون سابق الإعداد من الناحية الوراثية و لا يمكن فتح النسخ للجينات خارج الترتيب . و من المعروف إن الهرمونات في الكائنات حقيقية النواة تؤثر في التعبير المتتابع لمجموعات من الجينات فضلا عن عمل الجينات المنظمة التي تدخل في التحكم في تمايز الخلايا .

تنظيم التعبير الجيني في بدائية النواة

لقد أصبح معروفا أن هناك نواتج جينية معينة تعتبر مثل مدبرات المنازل house keeper على المستوى الخلوي ، إذ إنها مكونات أساسية في غالبية الخلايا الحية و من هذه المكونات : الرنا الناقل ، الرنا الريبوسومي ، البروتينات الريبوسومية ، RNA polymerase ، إنزيمات عمليات الايض و الجينات المتخصصة في مثل هذه النواتج يعبر عنها باستمرار في معظم الخلايا .

بينما هناك نواتج جينية أخرى تحتاجها الخلية في النمو تحت ظروف معينة و بذلك يكون الإنتاج المستمر لهذه النواتج الجينية قد يكون تبديدا للطاقة ، حيث يمكن استخدام للنمو و التكاثر في الظروف الطبيعية ، أي إن تنظيم التعبير الجيني يعمل على توفر نواتج الجينات عند الحاجة إليها و بالتالي تكون العملية بمثابة ميزة انتخائية للكائنات التي تمتلكها .

تعتمد الكائنات بدائية النواة في تنظيم جيناتها على آليات الاستحثاث induction و التثبيط repression ففي آلية الاستحثاث تستطيع بكتريا القولون و معظم أنواع البكتريا الأخرى أن تنمو باستخدام احد المصادر الكربوهيدراتية (الكلوكوز ، السكروز ، اللاكتوز) كمصدر للطاقة . ففي حالة توفر الكلوكوز في بيئة النمو يكون مفضلا لبكتريا القولون لاستخدامها في عمليات الايض و في حالة غياب الكلوكوز تستطيع خلايا بكتريا القولون أن تنمو جيدا باستخدام الكربوهيدرات الأخرى ، على سبيل المثال الخلايا النامية في بيئة تحتوي على اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون تنتج نوعين من الإنزيمات هما :

β -galactosidase و β -galactoside permease و هما الإنزيمان مطلوبان لهدم سكر اللاكتوز و فيها يقوم إنزيم بيتا- كلاكوسيد برمييز بدفع وحدات من إنزيم كلاكوسايديز إلى داخل الخلية حيث يعمل الأخير على تقسيم اللاكتوز إلى كلوكوز و كالاكتوز . و يصبح الإنزيمين غير ذي نفع للخلية عند تواجدها في بيئة لا تحتوي على اللاكتوز ، لذلك تحتاج الخلية آلية للتحكم و تنظيم إنتاج هذه الإنزيمات لمنع الهدر بالطاقة . عند تنمية بكتريا القولون في بيئة حاوية على مصدر كربوهيدراتي غير اللاكتوز ثم تنقل إلى بيئة يكون فيها اللاكتوز هو المصدر الوحيد للطاقة فان البكتريا تبدأ بالتعبير الجيني بإنتاج الإنزيمات وفق آلية الاستحثاث التي تشير إلى بدء عملية التعبير الجيني في حالة وجود مادة معينة في بيئة الخلية .

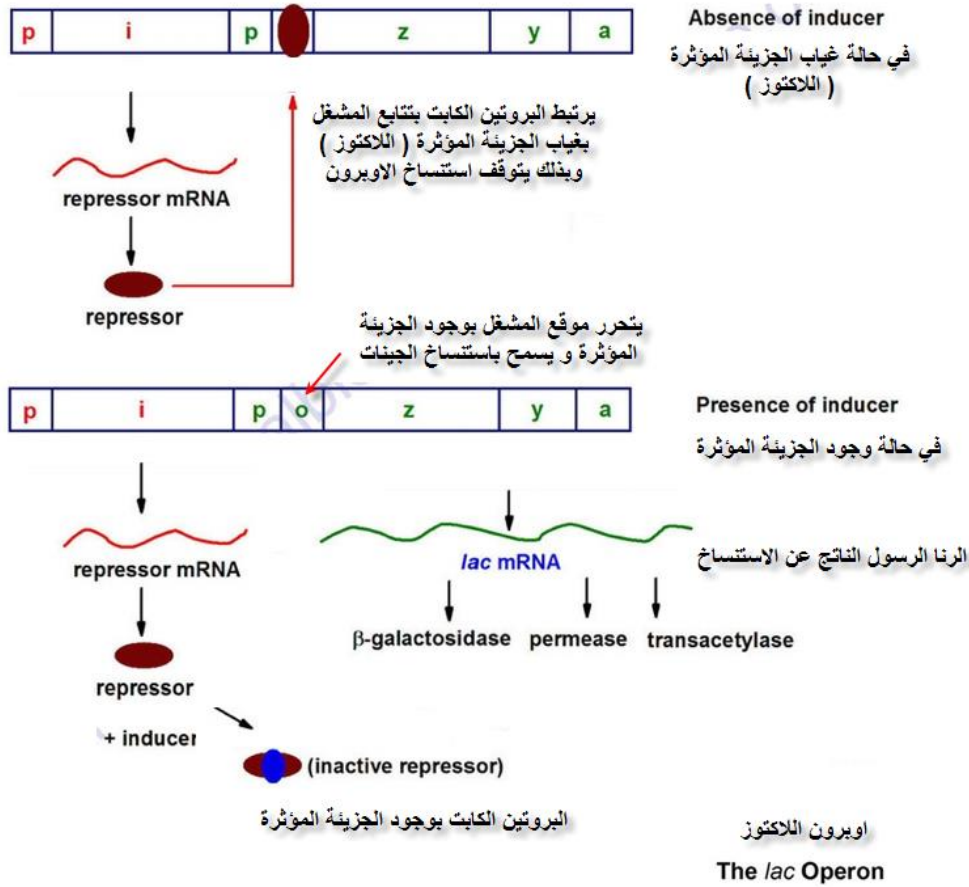
أما آلية الكبت فيمكن وصفها من خلال مقدرة بكتريا القولون على إنتاج معظم الجزيئات العضوية التي تحتاجها للنمو بما فيها الأحماض الأمينية ، البيورينات و الفيتامينات و غيرها ، يوجد في بكتريا القولون خمسة جينات تشفر لإنزيمات تحتاجها الخلية لإنتاج الحمض الأميني التربتوفان ، و تعبر هذه الجينات عن نفسها عندما توضع الخلية في بيئة خالية من التربتوفان لكي تستطيع الخلية تصنيع الحمض الأميني و الاستمرار في بناء البروتينات . أما عند وضع البكتريا في بيئة تحتوي على تراكيز كافية من التربتوفان فان استمرار إنتاج الإنزيمات يشكل ضياع للطاقة لان الخلية تحصل على التربتوفان من البيئة المحيطة ، و بذلك تمتلك البكتريا ميكانيكية السيطرة على إنتاج التربتوفان حسب توفره في البيئة المحيطة ، و تسمى عملية إيقاف التعبير عن مجموعة من الجينات بعملية التثبيط أو الكبت و يسمى الجين الذي يجري تنظيم عمله بهذه الطريقة جينا مكبوتا .

نموذج الأوبرون operon model

في الكائنات بدائية النواة ، تتواجد الجينات المختصة بتأدية وظائف ذات علاقة وثيقة ببعضها في وحدات منظمة و تعمل سوية فيما يعرف الأوبرون ، و ينتج عن الأوبرون جزيئة الرنا الرسول واحدة لجميع الجينات في الأوبرون . لقد وضع جاكوب و مونود Jacob و Monod نموذج الأوبرون عام 1961 لتفسير عمل مجموعة الجينات في بكتريا القولون إذ افترضوا إن نسخ مجموعة متجاورة من الجينات التركيبية يتم تنظيمه بعاملين هما الجين المنظم regulator gene و تتابع المشغل operator و يقوم الجين المنظم بإنتاج بروتين يسمى الكابت repressor protein يرتبط هذا البروتين بتتابع المشغل الذي يقع ملاصقا لتتابع الجينات و بالتالي يوقف نسخ الجينات و تعبيرها بسبب منعه ارتباط إنزيم البلمرة

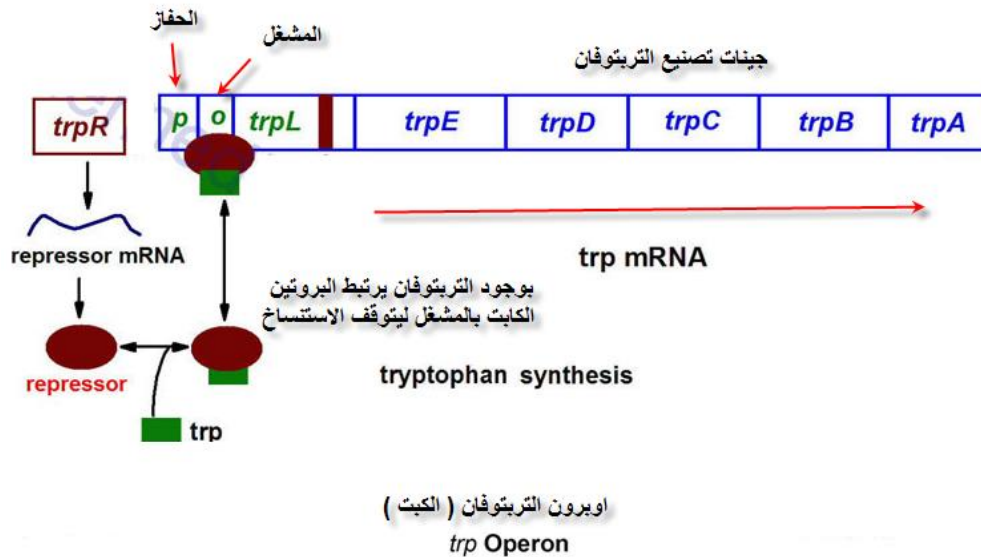
الكابت بالتتابع المشغل على وجود أو غياب بعض الجزيئات المؤثرة في بيئة البكتريا و تسمى المستحثات في حالة الأوبرونات القابلة للاستحثاث بينما تسمى قرين الكابت co-repressor في حالة الأوبرونات القابلة للكبت ، و يكون الاختلاف الرئيسي بين الحالتين هو في قدرة البروتين الكابت على الارتباط بالتتابع المشغل و كما يأتي :

1- في حالة الأوبرون لقابل للاستحثاث، فان ارتباط البروتين الكابت بالتتابع المشغل و يوقف عملية الاستنساخ في غياب الجزيئة المؤثرة، أما عند وجود الجزيئة المؤثرة في بيئة الخلية فإنها ترتبط مع البروتين الكابت و تجعله غير قادر على الارتباط بالتتابع المشغل و بالتالي يفسح المجال لعمل إنزيم بلمرة الرنا واستنساخ الجينات في الأوبرون و المثال لهذا الأوبرون هو أوبرون اللاكتوز و تكون الجزيئة المؤثرة في هذه الحالة هي جزيئة اللاكتوز التي ترتبط بالبروتين الكابت و تجعله غير قادر على الارتباط بالتتابع المشغل مما يسمح باستنساخ و ترجمة الإنزيمات اللازمة لتكسير وايض اللاكتوز ، بينما يتوقف إنتاج هذه الإنزيمات عند غياب الجزيئة المؤثرة (اللاكتوز) من بيئة الخلية نتيجة ارتباط البروتين الكابت بالتتابع المشغل (الشكل 5-17) .



الشكل 5-17. أوبرون اللاكتوز نموذجاً لآلية الاستحثاث في حالة في حالة التوقف أو في حالة التشغيل .

2- في حالة الأوبرون القابل للكبت ، يكون الوضع معكوسا عما هو عليه في الاستحثاث ، إذ لا يستطيع البروتين الكابت عندما يكون بصورة حرة أن يرتبط مع التتابع المشغل و يستطيع الارتباط بالمشغل إذا كان بصيغة مركب البروتين الكابت – جزيئة مؤثرة ، لذلك فان عملية استنساخ الجينات التركيبية التي تنظم بالكبت يتم تشغيلها في غياب الجزيئة المؤثرة بينما يتوقف النسخ عند وجود الجزيئة المؤثرة (الشكل 5-18). و يمثل أوبرون التربتوفان مثال لهذه الحالة ، إذ يسيطر أوبرون التربتوفان في بكتريا القولون على تصنيع الإنزيمات التي تحفز تصنيع الحمض الاميني التربتوفان . يتكون الأوبرون من خمسة جينات تركيبية تشفر للإنزيمات و التي تعمل على تحويل chorismic acid إلى التربتوفان . و يجري تنظيم التعبير الجيني في الأوبرون على مستويين : الأول هو الكبت repression و التي تسيطر على البدء في عملية الاستنساخ و الثاني هو عملية إضعاف التعبير الجيني attenuation و التي تتحكم بتكرار إيقاف الاستنساخ. ففي حالة الكبت يعرف أوبرون الكبت السالب ، و يمكن ملاحظة إن الأوبرون يتكون من الجين المنظم trpR الذي يشفر إلى البروتين الكابت و المشغل (O) operator و الحفاز promoter و الجينات التركيبية و تتابع الفاصل لإيقاف الاستنساخ .



الشكل 5-18. أوبرون التربتوفان نموذجاً لآلية الكبت في تشغيل أو إيقاف الاستنساخ لتنظيم التعبير الجيني.

ففي غياب الحمض الاميني التربتوفان (قرين الكابت) يرتبط إنزيم البلمرة للRNA بمنطقة الحفاز و تستنسخ الجينات التركيبية في الأوبرون ، أما في حالة وجود التربتوفان فيرتبط مع البروتين الكابت و ينتج عن ذلك معقد يرتبط بمنطقة المشغل و تمنع إنزيم البلمرة من الارتباط بالحفاز و يتوقف الاستنساخ . و قد وجد إن معدل استنساخ جينات الأوبرون في حالة غياب التربتوفان هي 70 مرة عما هو عليه في حالة الكبت بوجود التربتوفان . من خلال ما تقدم فان الجين المنظم (من خلال البروتين الكابت) يعمل على إيقاف نسخ الجينات التركيبية و يسمى نظام التحكم

السالب ، بينما تعمل أنظمة التحكم الموجب يتطلب من نواتج الجينات المنظمة أن تقوم بتشغيل عملية الاستنساخ .

أما حالة الإضعاف للاستنساخ هي مستقلة عن الكبت في أوبرون الترتوفان و تتطلب وجود تتابعات من النيكلوتيدات في منطقة trpL في أوبرون الترتوفان و يسمى هذا التابع attenuator و يحدث الإضعاف عن طريق السيطرة على منطقة الفاصل في عملية الاستنساخ و تحدث العملية بوجود الرنا الناقل المحمل بالترتوفان و ينتج عن ذلك بتر الرنا الرسول المستنسخ .

السيطرة على التعبير الجيني من خلال الترجمة

لقد تطرقنا مما سبق إلى تنظيم التعبير الجيني على مستوى استنساخ المادة الوراثية ، و الآن سنناقش السيطرة على التعبير الجيني على مستوى الترجمة ، ففي بدائية النواة تكون جزيئات الرنا الرسول مستنسخاً لعدد الجينات multigenic و تحمل التتابعات المشفرة لعدد من الجينات ، على سبيل المثال أوبرون اللاكتوز في بكتريا القولون ينتج عنه الرنا الرسول يحمل تتابع من النيكلوتيدات تشفر لإنزيمات β -galactosidase ، β -galactoside permease و β -galactoside transacetylase و هكذا فإن هذه البروتينات الثلاثة يجري استنساخهم معا أو يتوقف الاستنساخ عنهم جميعا . حيث إن منتجات هذه الجينات الثلاثة لا يجري تصنيعها بكميات متساوية . فخلية بكتريا القولون النامية في وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون تحتوي حوالي 3000 جزيئة من إنزيم β -galactosidase ، 1500 جزيئة β -galactoside permease و 600 جزيئة β -galactoside transacetylase و من الواضح إن الاختلاف في كميات هذه المنتجات قد تم بفعل السيطرة قبل الترجمة ، و يجب التركيز هنا إلى أن عمليات الاستنساخ ، الترجمة و تحلل جزيئات الرنا الرسول في بدائية النواة تجري في نفس الوقت و بالتالي فإن جزيئة الرنا الرسول يمكن لها ان تمر بهذه العمليات في وقت معين ، وهكذا فإن منتجات الجين يمكن أن تنتج بكميات مختلفة من نفس المستنسخ بميكانيكيات عديدة منها :

- 1- تكون الكفاءة غير متساوية عند بد الترجمة عند شفرة البداية AUG في الجينات المختلفة .
- 2- التغيير في كفاءة حركة الرايبوسوم في المناطق المختلفة لمستنسخ عديد الجينات .
- 3- المعدلات المختلفة من تحلل الرنا الرسول تظهر في المناطق المختلفة من جزيئات الرنا الرسول.

و لمتابعة الميكانيكية على المستوى الجزيئي ، لنأخذ مثالا عن تنظيم التعبير الجيني لإنتاج البروتين الرايبوسومي S10 في بكتريا القولون و الذي يدخل ضمن الوحدة الثانوية الصغيرة للرايبوسوم و يحتوي مستنسخ هذه الوحدة على 11 جين جميعها تشفر للبروتينات الرايبوسومية ، و يعمل منتج أي من هذه الجينات على تثبيط ترجمة الرنا الرسول لعدد الجينات ، في مستنسخ S10 الجين المنظم هو rpID و الذي يشفر للبروتين L4 فعندما يكون جزيئات الرنا الرايبوسومي متوفرة و حرة في الخلية يرتبط البروتين L4 مع الرنا و يتجمع في الرايبوسوم ، أما في حالة غياب الرنا الرايبوسومي فإن البروتين L4 يرتبط بالنهاية 5 للرنا الرسول و يثبط ترجمته ، و هذه الأحداث تمنع تصنيع البروتينات الرايبوسومية التي لا يحتاجها الخلية . و تعد آلية تثبيط ترجمة الرنا الرسول عن طريق احد المنتجات التي يشفر لها تكون شائعة في بدائية و حقيقية النواة و تسمى Negative self – regulation .

تنظيم التعبير الجيني بعد الترجمة

إن وجود تركيز كاف من المنتج النهائي في احد مسالك التصنيع الحيوي يؤدي إلى تثبيط الإنزيم الأول في مسلك التصنيع الحيوي و يسمى هذا المفهوم التثبيط بالتغذية الرجعية feedback inhibition ، و تمتلك الإنزيمات الحساسة للتغذية الرجعية موقع (مواقع) لارتباط المنتج النهائي فضلا عن امتلاكها موقع (مواقع) ارتباط مادة الأساس التي تعمل عليه . هناك طيف واسع من الإنزيمات تظهر تثبيطا أو تنشيطا عن طريق جزيئات مؤثرة مختلفة (قد تكون من ضمنها مادة الأساس)، فمثلا إنزيم glutamine synthetase يحفز الخطوة النهائية للتصنيع الحيوي للحمض الاميني كلوتامين glutamine و هذا الإنزيم يكون معقداً و قد وجد انه يستجيب بالتثبيط أو التنشيط 16 محفزاً ايضاً في بكتريا القولون .

تنظيم التعبير الجيني في حقيقية النواة

كما هو الحال في بدائية النواة ، يكون التعبير للجينات في حقيقية النواة من خلال استنساخ جزيئة الدنا إلى جزيئة الرنا الرسول و التي يجري ترجمتها إلى سلسلة عديد الببتيد ، إلا إن الرنا الرسول الأولي يجري تجهيزه قبل الترجمة في حقيقية النواة و هي خطوة غير موجودة في بدائية النواة . و تجري السيطرة على التعبير الجيني في حقيقية النواة بعدة طرائق هي :

1- السيطرة على عملية الاستنساخ : تكون السيطرة على التعبير الجيني في حقيقية النواة أكثر تعقيدا مما هو عليه في بدائية النواة ، و ذلك لكونها في الغالب متعددة الخلايا و تمتلك الأنسجة المتخصصة و الأعضاء، و الدليل على انعكاس ذلك على التعبير الجيني هو عزل أنواع مختلفة من الرنا الرسول من الأنسجة المختلفة بالرغم من امتلاك جميع الأنسجة لنفس المحتوى الوراثي في النواة ، مما يدل على إن تمايز الخلية يجعل مجموعة معينة من الجينات مفتوحة للتعبير الجيني و حسب تخصص الخلية بينما تكون بقية الجينات مغلقة و لا يسمح لها بالتعبير الجيني ، و في طراز آخر من الخلايا تفتح مجموعة ثانية من الجينات و تعلق بقية الجينات و هكذا . إن السيطرة على عملية الاستنساخ تكون استجابة لإشارات قد تكون خارجية تنتقل من جدار الخلية إلى الجينات داخل النواة من خلال آلية اتصال داخل الخلية ، فضلا عن ذلك فان الإشارات البيئية يمكن أن تمر خلال طبقات من الخلايا لتؤثر على الاستنساخ لجينات معينة من نسيج محدد ، و هذا يتطلب وجود آلية اتصال بين الخلايا لتنظيم الاستنساخ في حقيقية النواة .

2- الأنماط المختلفة في تجهيز و إنضاج الرنا الرسول : تحتوي معظم جينات الحقيقية النواة على تتابعات غير مشفرة تسمى الانترونات تعترض التتابعات المشفرة و التي تسمى الاكسونات ، و يجب إزالة جميع هذه الانترونات و لصق الاكسونات خلال عملية تجهيز الرنا الرسول قبل أن يتم ترجمة الرنا الرسول بصورة صحيحة . و تتم عملية تجهيز الرنا الرسول من خلال نشاط عضيات نووية تسمى spliceosomes . فالجينات التي تمتلك انترونات متعددة ، يمكن أن تزال بأنماط مختلفة تتضمن الإزالة المفردة أو بتوليفات مختلفة لكل عملية إزالة اعتمادا على كيفية تفاعل ماكنة التجهيز مع الرنا الرسول، فإذا تم إزالة اثنان من الانترونات متسلسلة يمكن أن يزال الاكسون الواقع بينهما و بذلك يمكن لعملية التجهيز أن تحور التتابع المشفر في الرنا الرسول عن طريق إزالة بعض الاكسونات و حصول حالات الحذف .

3- السيطرة السايكوبلازمية على استقرارية الرنا الرسول : يخرج الرنا الرسول من النواة عبر الثغور في الغشاء النووي ليجري ترجمته في السايكوبلازم إلى سلاسل عديد الببتيد، إن

وجود الرنا الرسول في السايئوبلازم يجعل العديد من الرايبوسومات به و تتحرك على طول شريط الرنا الرسول بأسلوب متسلسل و هذه العملية تستمر لغاية تحلل الرنا الرسول ، و لذلك فان تحلل الرنا الرسول تعتبر عامل آخر في تنظيم التعبير الجيني و فيها يكون الرنا الرسول الذي يبقى طويلا في السايئوبلازم يوفر الفرصة لعدة جولات من تصنيع سلاسل عديد الببتيد، بينما لا تتاح هذه الفرصة للرنا الرسول الذي يكون بعمر قصير، و تعد فترة بقاء الرنا الرسول في السايئوبلازم ضمن آلية توفير احتياج الخلية من منتج الجين و تجنب التأثيرات المؤذية لإنتاج سلاسل عديد الببتيد دون الحاجة إليها.

و تشير الدراسات الوراثية إلى إن فترة بقاء الرنا الرسول في السايئوبلازم تتأثر بعدة عوامل منها : طول ذيل عديد الأدينين في الطرف 3 (poly-A tail)، و تركيب المنطقة غير المترجمة التي تسبق ذيل عديد الأدينين ، و حالة الايض في الخلية. إذ تبين إن وجود ذيل عديد الأدينين يعمل على زيادة استقرارية الرنا الرسول ، و يعد الرنا الرسول لبروتينات الهستونات على سبيل المثال تفتقد إلى ذيل عديد الأدينين، و بذلك يكون فترة بقاء الرنا الرسول في السايئوبلازم قصيرة جدا . كما وجد إن تركيب المنطقة غير المترجمة التي تسبق ذيل عديد الأدينين يؤثر في فترة بقاء الرنا الرسول في السايئوبلازم، إذ وجد إن جزيئات الرنا الرسول التي تبقى لفترة قصيرة في السايئوبلازم تشترك في امتلاكها التتابع AUUUA مكررة لعدة مرات ، و عندما تم نقل هذا التتابع مختبريا إلى جزيئات الرنا الرسول المستقرة تحولت إلى جزيئات غير مستقرة في السايئوبلازم . كما أشارت دراسات أخرى إلى إن استقرارية الرنا الرسول تتأثر أيضا بالعوامل الكيميائية و منها الهورمونات.

استحثاث الاستنساخ بالعوامل البيئية و البيولوجية

كما سبقت الإشارة إلى إن جاكوب و مانود اكتشفا إن جينات ابيض اللاكتوز يجري استنساخها عندما يتواجد اللاكتوز في بيئة الخلية، و قد عدّوا إن اللاكتوز استحث استنساخ الجين ، و على خطى جاكوب و مانود حاول العديد من الباحثين التعرف على مستحثات استنساخ جينات حقيقية النواة و استنتجوا إن استحثاث جينات حقيقية النواة بواسطة العوامل البيئية و عوامل التغذية اقل تأثيرا عما هو عليه في بدائية النواة ، و يمكن الإشارة إلى بعض حالات الاستحثاث لاستنساخ جينات حقيقية النواة في ما يأتي :

جينات الصدمة الحرارية Heat- shock genes

عندما يتعرض الكائن الحي إلى ظروف الإجهاد الحراري فانه يستجيب إلى هذا المؤثر بتصنيع مجموعة من البروتينات التي تساعد على استقرارية البيئة الداخلية للخلية و تسمى heat-shock proteins و هي موجودة في بدائية النواة و حقيقية النواة ، و عند المقارنة بين بكتريا القولون و حشرة الدروسوفيل و جدت الدراسات تشابه في تتابع الأحماض الامينية لهذه البروتينات بنسبة 40 – 50 % و ربما يشير ذلك إلى البعد التطوري الذي يفصل بين هذه الكائنات. و يجري تنظيم التعبير الجيني لبروتينات الصدمة الحرارية على مستوى الاستنساخ، إذ يعمل الإجهاد الحراري على استحثاث استنساخ الجينات المشفرة لهذه البروتينات . ففي حشرة الدروسوفيل على سبيل المثال ، يشفر لإحدى بروتينات الصدمة الحرارية و يسمى HSP70 (وزنه الجزيئي 70 كيلو دالتون) بواسطة عائلة من الجينات موجودة على احد الكروموسومات الجسمية ، و عندما تتجاوز درجة الحرارة 33 درجة مئوية كما هو الحال في أيام الصيف الحار فان كل جين من هذه الجينات يجري استنساخه إلى الرنا الرسول الذي يجري ترجمته إلى

HSP70 ، و يجري الاستنساخ من خلال التأثير على عامل الاستنساخ للصدمة الحرارية (HSTF) Heat – shock transcription factor الموجود في أنوية خلايا الدروسوفيليا ، و بوجود الإجهاد الحراري يجري فسفرة عامل الاستنساخ HSTF و يصبح قادرا على الارتباط بتتابع النيكلوتيدات أعلى مجرى الجين HSP70 مما يجعل استنساخ الجين ممكنا من قبل إنزيم البلمرة للرنا و يطلق على موقع ارتباط عامل الاستنساخ HSTF أعلى مجرى الجين heat – shock response elements (HSEs).

الاستحثاث بالضوء في النبات

يعد البروتين (RBC) 1,5 bisphosphate carboxylase الأكثر وفرة في الكرة الأرضية، و هو إنزيم يلعب دورا مهما في عملية البناء الضوئي في النباتات الخضراء، و من خلال نشاط هذا الإنزيم يجري بناء جزيئات السكر الذي يمثل مصدر الطاقة للكثير من الكائنات الحية ، و تعتمد عملية البناء الضوئي على قابلية النبات على امتصاص طاقة الضوء و بدون توفر الضوء تتوقف العملية بكاملها و بذلك لا يحتاج النبات إلى هذه الإنزيمات بغياب الضوء . لذلك يعتبر الضوء عامل استحثاث على إنتاج RBC ، و يتكون الإنزيم من وحدتين ثانويتين احدهما صغيرة و الأخرى كبيرة، و في بعض الأنواع النباتية تقع الجينات المسؤولة عن هذه الوحدات ضمن الدنا في الكلوروبلاست، بينما تقع في أنواع نباتية أخرى يقع الجين المسؤول عن الوحدة الثانوية الصغيرة في نواة الخلية بينما الجين الذي يشفر للوحدة الثانوية الكبيرة في دنا الكلوروبلاست . و يرمز للجين الذي يشفر للوحدة الثانوية الصغيرة rbcS ، و قد أشارت العديد من الدراسات إلى أن استنساخ هذا الجين يكون نشيطا بعد تعرض النبات إلى الضوء .

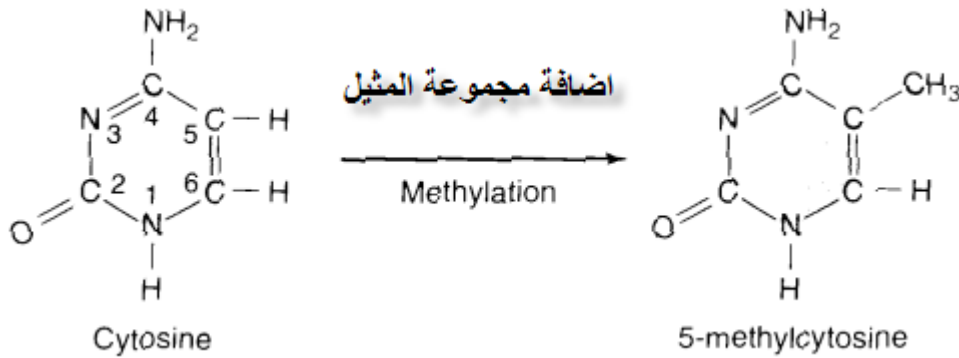
عوامل الاستحثاث الهرمونية

في الكائنات حقيقية النواة متعددة الخلايا ، يمكن لإحدى طرز الخلايا أن تعطي إشارة إلى طرز خلوية أخرى عن طريق إفراز هورمون hormone ، و يدور الهرمون خلال الجسم و يلامس الخلايا الهدف مما يؤدي إلى بداية سلسلة من الأحداث التي تنظم التعبير الجيني لجينات معينة . تصنف الهرمونات في الحيوانات بشكل عام إلى مجموعتين : الأولى الهرمونات الستيرويدية steroid hormones و تكون صغيرة و ذائبة في الدهون و يجري اشتقاقها من الكوليستيرول ، و بسبب طبيعة تكوينها الدهني لا تواجه مشكلة في دخولها إلى الخلية عبر الغشاء الخلوي و مثالها الاستروجين و البروجستيرون التي تلعب دورا مهما في النشاط التناسلي الأنثوي ، و عند دخول الهرمونات الستيرويدية إلى السايوبلازم ترتبط مع بروتينات سايوبلازمية تسمى مستقبلات الهرمونات hormone receptors و المعقد الناتج عن الارتباط يدخل إلى نواة الخلية ليعمل كعامل استنساخ ينظم التعبير الجيني لجينات معينة .

المجموعة الثانية من الهرمونات هي الهرمونات الببتيدية peptide hormones و التي تكون عبارة عن سلاسل من الأحماض الأمينية ، و مثل بقية سلاسل عديد الببتيد يشفر لها بواسطة الجينات مثالها هورمون الأنسولين Insulin الذي يعمل على تنظيم مستوى السكر في الدم و هورمون البرولاكتين prolactin الذي يستهدف خلايا إدرار الحليب في الأنثى . و بسبب كون الهرمونات الببتيدية كبيرة الحجم يصعب مرورها بصورة حرة من غشاء الخلية و لذلك يجري نقل الإشارات إلى داخل الخلية عن طريق بروتينات مستقبلية تسمى – membrane bound receptor proteins عبر السايوبلازم إلى النواة و تؤثر في تنظيم التعبير الجيني لجينات محددة و تسمى عملية نقل الإشارة الهرمونية signal transduction .

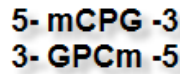
مثيلة تتابعات الجينات

لقد وجد إن التحويرات الكيميائية للنيكلو تيدات تكون مهمة في تنظيم عمل الجينات في بعض الكائنات الحية حقيقية النواة و خصوصا اللبائن، يحتوي جينوم الحيوان اللبون 3 بليون زوج قاعدي يكون منها 40% منها الزوج القاعدي G:C و من هذه المجموعة يكون 2 - 7 % محورة بإضافة مجموعة المثل إلى قاعدة الساي توسين cytosine كما موضح في الشكل (5-19).



الشكل 5-19. إضافة مجموعة المثل إلى القاعدة النروجينية الساي توسين في جزيئة الدنا .

و معظم قواعد الساي توسين المحورة بالمثيلة وجدت بأنها متضاعفة بالتركيب :



وفيه تشير mC : إلى قاعدة الساي توسين المحورة بالمثل ، P : تشير إلى الأصرة ثنائية الايستر، ويمكن الإشارة إلى هذا التركيب بصيغة الخيط المفرد mCPG . و يمكن الكشف عن وجود زوج النيكلو تيدات CPG من خلال هضم جزيء الدنا بإنزيمات التقييد التي تكون حساسة للتحويرات الكيميائية في مواقع عملها ، على سبيل المثال إنزيم التقييد HpaII يقطع في التتابع CCGG و مع ذلك عندما تكون الساي توسين الثانية في هذا التتابع محورة بمجموعة المثل فان الإنزيم لا يستطيع شطر التتابع و بذلك فان الدنا المحورة بالمثل تعطي نمط من الحزم يختلف عن الدنا غير المحورة بالمثل عند هضمها بنفس الإنزيم . و تظهر أزواج النيكلو تيدات المحورة CPG اقل من المتوقع في جينوم الحيوانات اللبونة و ربما يعود ذلك إلى حدوث الطفرة في هذه المواقع خلال الفترة التطورية . و هناك قطع من الدنا تكون غنية بالتتابعات المحورة بالمثل و تسمى CPG و تكون عادة بحجم 1 - 2 kb ففي جينوم الإنسان هناك حوالي 45000 جزيرة ، إن تحوير الدنا بإضافة المثل يؤدي إلى تثبيط عملية الاستنساخ و يمكن ملاحظة ذلك بشكل واضح في إناث اللبائن حيث يكون كروموسوم X غير الفعال محوراً بإضافة المثل بكثافة ، فضلا عن المناطق في جينوم اللبائن التي تحتوي على تتابعات مكررة بضمنها المناطق الغنية

بالعناصر الوراثية المتحركة و التي يجري تحويلها بإضافة المثل و ربما تكون طريقة لحماية الكائن الحي ضد التأثيرات للعناصر المتحركة .

إن مثيلة الدنا في اللبائن يكون مسؤولا عن بعض الحالات غير الاعتيادية التي يعبر فيها الجين حسب انحداره من الآباء . على سبيل المثال في الفئران يشفر الجين Igf2 لعامل النمو شبيه الأنسولين (Insulin like growth factor) ، و يعبر هذا الجين عن نفسه فقط عندما يورث من الأب و لا يعبر عن نفسه عندما يورث من الأم ، و بالمقارنة الجين H19 يعبر عن نفسه عندما يورث من الأم فقط ، و يطلق على الجين الذي يسلك هذا السلوك imprinting gene .

الوراثة الساييتوبلازمية (الأمية) و التأثيرات الأمية

إن معظم المادة الوراثية في الكائنات الحية تكون موجودة في نواة الخلية و بنسبة تصل إلى 99 % بينما تكون النسبة المتبقية خارج النواة في العضيات الساييتوبلازمية ، كما تؤثر المستنسخات الموجودة في الساييتوبلازم في توجيه التطور الجنيني المبكر ، و يمكننا تسليط الضوء على أهمية المادة الوراثية الموجودة في الساييتوبلازم من خلال الفقرات الآتية :

الوراثة الساييتوبلازمية cytoplasmic inheritance

مع بداية القرن العشرين أجريت العديد من الدراسات التي أشارت إلى وجود عوامل وراثية خارج النواة ، و معظم الدراسات المبكرة أجريت باستخدام النباتات التي تمتلك خلاياها كلاً من الماييتوكوندريا و الكلوروبلاست و لذلك لم يكن من الممكن تحديد أي من هذه العضيات مسؤولة عن الوراثة غير النووية ، بينما أجريت الدراسات اللاحقة على الخميرة yeast و فيها تم استبعاد احتمالية اشتراك الكلوروبلاست في الوراثة غير النووية . المفهوم العام الذي تشترك فيه وراثية العضيات هي عدم إتباعها قواعد الوراثة المندلية و بدلا عن ذلك تتصف بالمساهمة غير المتساوية للأبوين و بالانعزال غير المنتظم لللايلات .

أجريت التجارب المبكرة على الوراثة الساييتوبلازمية في بعض النباتات التي تظهر صفة التبرقش في لون الأوراق color variegation ففي بعض أجزاء الورقة نجد اللون الأخضر و في أجزاء أخرى نجد اللون الأبيض ، و في حالات أخرى يمكن أن توجد ألوان مثل الأخضر الشاحب أو الأخضر المصفر. إن هذه الأنماط الموزائكية التي تظهر تبرقش الأوراق يمكن تفسيرها بتصنيف أنواع مختلفة من الكلوروبلاست خلال انقسام الخلية ، فالخلايا قد تحتوي على كلوروبلاست قادرة على تصنيع الصبغة الخضراء chlorophyll و كلوروبلاست أخرى غير قادرة على تصنيعها. إن هذا الخليط من نوعي العضيات ضمن نفس الخلية يسمى heteroplasmy ، بينما وجود نوع واحد من الكلوروبلاست ضمن الخلية يسمى homoplasmy ، عندما تنقسم الخلية التي تحتوي على نوعين الكلوروبلاست تتوزع هذه العضيات على الخلايا الناتجة عن الانقسام بأسلوب غير منتظم ، و بعد العديد من الانقسامات قد ينتج عن هذا التوزيع الغير المنتظم خلية تفتقد كليا إلى الكلوروبلاست المنتجة للصبغة الخضراء و إن هذه الخلية ستتكاثر بدورها و ينتج عنها مساحة بيضاء في الورقة الخضراء ، و تكون هذه المساحة البيضاء غير منتظمة الشكل و الحجم و في مواقع غير محددة على الورقة .

إن وراثية صفة التبرقش في اوراق النباتات تمت دراسته لأول مرة من قبل عالم النبات الألماني كارل كورينز Carl Correns (و هو العالم الذي أسهم في إعادة اكتشاف قوانين مندل) ، فضلا عن بحوث عالم النبات Erwin Baur . و قد عمل كورينز على التبرقش في نبات الساعة الرابعة *Mirabilis jalapa* و فيها أجرى تضريبات بين سلالات خضراء و أخرى

مبرقشة الأوراق و استخدم خلالها الأزهار من الجزء الأبيض من النبات المبرقش ، و قد لاحظ كورينز إن النسل الناتج من هذه التضريبات كان دائما يماثل مظهرها النسيج الذي أنتج الكمية الأنثوي ، و بذلك عندما يكون التضريب ناتجاً من إخصاب بيضة من نبات أخضر مع حبوب لقاح من الجزء الأبيض للنبات المبرقش ينتج عن ذلك نسل أخضر الأوراق فقط ، و مع ذلك عندما يحصل التضريب بين بيضة من الجزء الأبيض للنبات المبرقش مع حبوب لقاح من النبات الأخضر ينتج نسل بأوراق بيضاء نقية ، إن هذا النمط من الوراثة يسمى وراثته أمية *Maternal inheritance* . و يمكن تفسيرها من خلال سيطرة عوامل محددة تسيطر على لون النبات تنتقل من خلال البيضة و ليس عن طريق حبوب اللقاح ، و هذه العوامل موجودة في الكلوروبلاست . أما عندما يورث النبات خليطاً من الكلوروبلاست منها قدرة على إنتاج الصبغة الخضراء و أخرى غير قادرة على إنتاج الصبغة و تكون الوراثة عن طريق الأم فإن أنسجتها تكون مبرقشة لأن كلا النوعين من الكلوروبلاست قد تعزل نفسها خلال التطور و النمو .

أما عالم النبات Baur فقد قام بدراسة تبرقش الأوراق في نبات *Pelargonium zonale* و قد أجرى التضريب بين سلالات خضراء و أخرى مبرقشة و نتج عن ذلك خليط من الأبناء منها الخضراء ، نباتات مبرقشة ، نباتات بيضاء نقية و إن هذه الألوان المختلفة لم تتبع النسب المندلية و هذا يدل على إن الصفة يسهم فيها كلا الأبوين من خلال عوامل موجودة خارج النواة أي إن الكلوروبلاست في هذا النبات يساهم بها عن طريق البيضة و عن طريق حبوب اللقاح .

العقم الذكري في نبات الذرة

تكون الأعضاء التكاثرية الذكورية و الأنثوية في نبات الذرة الصفراء في أجزاء مختلفة من النبات ، إذ تكون الأعضاء التكاثرية الأنثوية بشكل عرائيص ears موجودة في مواقع مختلفة على طول الساق ، أما الشراية tassel التي تمثل العضو التكاثري الذكري فيوجد في قمة النبات ، و في بعض السلالات تفشل الأعضاء التكاثرية الذكورية في التطور و يكون الذكر عقيماً ، و مع ذلك تحمل هذه النباتات الأعضاء التكاثرية الأنثوية الطبيعية المنتجة للبويضات و التي يمكن إخصابها من سلالات أخرى. و من الدراسات التي أجريت على حالة العقم الذكري في الذرة قام Marcus Rhoades في عام 1930 بتضريبات بين نباتات تحمل العرائيص ذات أعضاء ذكورية عقيمة مع حبوب لقاح من سلالة طبيعية ، فكان النسل جميعاً يحمل أعضاء ذكورية عقيمة ، و كان الاستنتاج إن حالة العقم الذكري تحدث بفعل عامل يورث عن طريق الأم. إن نبات الذرة الصفراء تمتلك كلاً من الماييتوكونديريا و الكلوروبلاست و قد أشارت المصادر الوراثية إلى إن بعض العروق من الذرة تمتلك جزيئات دنا في الماييتوكونديريا تسمى S1 و S2 تشترك في إظهار العقم الذكري ، بينما أشارت دراسات أخرى إلى أن العقم الذكري قد يعود إلى طفرة في دنا الماييتوكونديريا .

طبيعة الدنا في الماييتوكونديريا

تمتلك الماييتوكونديريا الدنا الخاص بها و يرمز له mtDNA و الماكنة الجزيئية التي يجري بموجبها تضاعف الدنا و التعبير الجيني لجينات دنا الماييتوكونديريا ، و قد تم اكتشاف دنا الماييتوكونديريا خلال الستينيات للقرن العشرين من خلال الصور الالكترونية التي أظهرت وجود الدنا على شكل ألياف ضمن الماييتوكونديريا ، و تم لاحقاً استخلاص هذه الألياف و دراسة خواصها الفيزيائية و الكيميائية .

تتباين جزيئات الدنا في الماييتوكونديريا من حيث الحجم ففي الحيوانات الفقرية تكون 16 – 17 كيلو زوج قاعدي (kbp) و في النباتات الزهرية تصل إلى 2500 كيلو زوج قاعدي ، و تمتلك

كل مايتوكوندريا على عدة نسخ من الدنا و كل خلية تمتلك عدد من المايتوكوندريا لذلك فان عدد جزيئات الدنا يمكن أن يكون كبيراً جداً ، ففي خلية البيضة في الفقريات مثلا تم تقدير عدد نسخ دنا المايتوكوندريا 10^8 نسخة و الخلايا الجسمية تمتلك عدداً اقل ربما اقل من 1000 نسخة . معظم جزيئات الدنا في المايتوكوندريا تكون دائرية الشكل و لكن في بعض الأنواع مثل الطحالب *alga* تكون خطية . و يوصف دنا المايتوكوندريا في الإنسان بأنه صغير الحجم (16.659 كيلو زوج قاعدي) و يحتوي على 37 جيناً و تشمل جينين تشفر للـ rنا الرايبوسومي و 22 تشفر للـ rنا الناقل و 13 تشفر للسلاسل الببتيدية التي تشترك في عمليات الأكسدة . أما في الفئران ، الماشية و الضفدع فتكون مشابهة لما موجود في الإنسان و لكن هناك بعض الاختلافات في التركيب الوراثي ناتجة عن إعادة الترتيب للجينات ضمن الجزيئة الدائرية . أما في الفطريات *fungi* يكون دنا المايتوكوندريا يكون اكبر مما هو عليه في الحيوانات ، ففي الخميرة تحتوي جزيئات الدنا الدائرية بطول 78 كيلو زوج قاعدي و هذه الجزيئات تحتوي على الأقل 33 جيناً و تشمل جينين تشفر للـ rنا الرايبوسومي و 23 – 25 جيناً تشفر للـ rنا الناقل و جين واحد يشفر للبروتين الرايبوسومي و سبعة جينات تشفر إلى سلاسل عديد الببتيد المختلفة و التي تشترك بعمليات الأكسدة، و يعود حجم دنا المايتوكوندريا الكبير في الخميرة بسبب احتواء جيناتها على الانترونات فضلا عن وجود تتابعات غير مشفرة طويلة بين بعض الجينات بينما لا توجد هذه الحالة في دنا المايتوكوندريا للحيوانات . و بالمقارنة يكون دنا المايتوكوندريا في النباتات اكبر بكثير من بقية الكائنات الحية حيث تقدر في النباتات اللوعائية 186 كيلو زوج قاعدي دائري الشكل ، أما في النباتات اللوعائية *vascular plants* تقدر 570 كيلو زوج قاعدي .

طبيعة الدنا في الكلوروبلاست

تمثل الكلوروبلاست عضيات متخصصة في النبات ضمن تصنيف عام تسمى البلاستيدات *plastids* و توجد عدة أنواع من البلاستيدات منها : *chromoplast* ، و تضم البلاستيدات الحاوية على الصبغات . *Amyloplast* ، و تضم البلاستيدات الحاوية على النشا . و *elaioplast* ، و هي البلاستيدات الحاوية على الدهون . و جميع هذه الأنواع يبدو أنها تتطور من غشاء صغير يحيط بالعضيات و يسمى *proplastids* و ضمن أنواع معينة من النباتات يبدو أنها جميعاً تمتلك نفس الدنا و يسمى دنا الكلوروبلاست *chloroplast DNA* و يرمز له اختصاراً *cpDNA* .

في النباتات الراقية ، يتراوح حجم الدنا *cpDNA* من 120 – 160 كيلو زوج قاعدي و في الطحالب يتراوح من 85 – 292 كيلو زوج قاعدي ، و من بين حوالي 200 نوع من النباتات تم دراسة و تشخيص دنا الكلوروبلاست فيها يبدو ان الدنا ينظم بشكل دائري و مع ذلك ففي الأنواع التي يكون فيها الدنا كبير الحجم ينتظم بشكل خطي . و يعتمد عدد جزيئات دنا الكلوروبلاست في الخلية على عاملين : 1- عدد الكلوروبلاست في الخلية ، 2- عدد جزيئات دنا *cpDNA* داخل الكلوروبلاست ففي الكلاميدوموناس *Chlamydomonas* و هو طحلب وحيد الخلية يمتلك كلوروبلاست واحدة فقط و تحتوي داخلها حوالي 100 نسخة من *cpDNA* بينما يلاحظ في *Euglena gracilis* يمتلك 15 كلوروبلاست في الخلية و كل كلوروبلاست يحتوي على 40 نسخة *cpDNA* ، و تحمل دنا الكلوروبلاست تتابعات تشفر للـ rنا الرايبوسومي ، الرنا الناقل و بعض البروتينات الرايبوسومية و العديد من سلاسل عديد الببتيد الخاصة بنظام البناء الضوئي . إن أصل وجود المايتوكوندريا و الكلوروبلاست كعضيات في سايتوبلازم خلايا حقيقية النواة تناوله العديد من الدراسات و وضعت لتفسيره العديد من الفرضيات ، عندما نتكلم على مفهوم

التعايش symbiosis الذي يشير إلى حالة يكون فيها كائنين أو أكثر تعيش معا بارتباط وثيق من خلال تبادل المنفعة ، و يعتبر المثال التقليدي lichens ، وهي كائنات حية منتشرة بشكل واسع تتكون من الطحالب و الفطريات تعيش معا في ارتباط تبادل المنفعة . أما مصطلح التعايش الداخلي Endosymbiosis ، فيشير إلى حالة خاصة من التعايش و فيها يعيش احد الشركاء بالمنفعة داخل الشريك الآخر مثالها Chlorella و هي طحلب أحادي الخلية يعيش في بعض الأحيان داخل البروتوزوا الوحيدة الخلية التي تسمى Paramecium bursaria و الذي يستفاد من الكلوروفيل الذي يمتلكه الطحلب ليبدو البراميسيوم باللون الأخضر . و قد أشار العديد من الدراسات إلى وجود أدلة توحى بأن المايكوبلازما و الكلوروبلاست نشأت من حالة التعايش الداخلي للبكتريا في خلايا حقيقية النواة خلال المرحلة التطورية خلال مليون سنة مضت من خلال تبادل المنفعة .

التأثيرات الأمية Maternal effects

هناك العديد من الأحداث المهمة تجري خلال تطور الحيوان تبدأ قبل إخصاب البيضة ، و فيها يتم نقل مواد غذائية و جزيئات محددة إلى البيضة من الخلايا المحيطة لتنظيم النمو الجنيني المبكر ، و هذه المواد يتم تكوينها من خلال تعبير الجينات في الجهاز التناسلي الأنثوي و البعض منها هو تعبير من أنسجة جسمية و البعض الآخر في الأنسجة الجرثومية ، و بمجموعة هذه الأحداث فان هذه الجينات تساعد على تكوين البويضات القادرة على التطور إلى أجنة بعد الإخصاب .

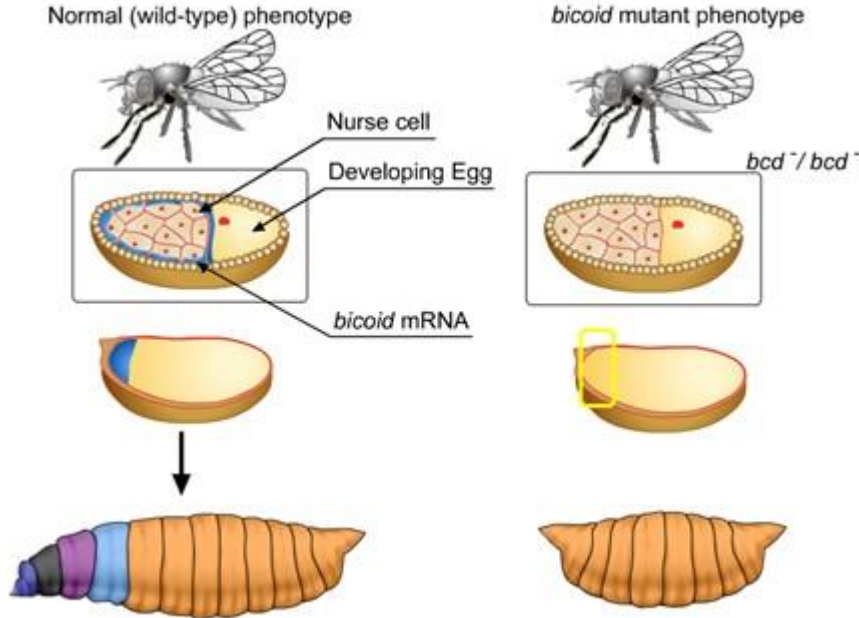
وقد تحدث الطفرات في الجينات التي تسهم في تكوين البويضات الطبيعية ، و إن هذه الطفرات قد لا يكون لها تأثير على القابلية على الحياة أو المظهر الطبيعي للام التي تنتج البويضات ، و إنما تظهر تأثيرات هذه الطفرات على الجيل القادم و تسمى هذه الطفرات maternal - effect mutations و يشير ذلك إلى إن المظهر الطافر في النسل الناتج يعود إلى الطفرة في التركيب الوراثي للام . و الجينات التي تم التعرف عليها من خلال هذه الطفرات سميت maternal effect genes و من هذه الجينات (dl) dorsal في الدروسوفيل ، فالتزاوج بين حشرات متماثلة التركيب الوراثي للجين المتحى الطافر ينتج عنه هلاك أفراد غير قادرة على الحياة و هذا التأثير ينحدر عن طريق الأم .

إن التضريب بين إناث متماثلة للجين الطافر مع ذكور متماثلة حاملة للجين الطبيعي ينتج عنه أفراد غير قادرين على الحياة ، بينما التضريب التبادلي reciprocal cross الذي يجري فيه تضريب ذكور متماثلة تحمل الجين المتحى الطافر مع إناث متماثلة تحمل الجين الطبيعي نتج عنه أفراد قادرة على الحياة ، لذلك فان التأثير المميت للطفرة يمرر إلى الجيل القادم فقط في حالة التركيب المتماثل للطفرة في الإناث بينما يكون التركيب الوراثي للأب غير مؤثر . و التفسير على المستوى الجزيئي لهذه الحالة يشير إلى أن الجين dorsal يشفر إلى عامل الاستنساخ الذي يجري إنتاجه خلال تكوين البويضة و يتم خزنها في البويضة و يلعب هذا العامل دور مهم في التطور الجنيني المبكر من خلال تحديد التمايز للأجزاء الظهرية و البطنية للجنين . و في حالة غياب عامل الاستنساخ يتم تمايز الأجزاء البطنية بشكل غير صحيح و بشكل مشابه للجزء الظهرية و ينتج عن ذلك جنين يمتلك جهتين ظهريتين .

من المعروف أن الحيوانات تكون ذات تناظر ثنائي فهي تمتلك محورين أساسيين للجسم ، احدهما يميز الجهة الظهرية dorsal من الجهة البطنية ventral و المحور الثاني يميز الجهة الرأسية anterior من الجهة الذيلية posterior ، و تتحدد هذه المحاور مبكرا في التطور الجنيني و

في بعض الأنواع يكون التحديد قبل إخصاب البويضة . و يتم تكوين المحور الرأسي – الذيلي في حشرة الدروسوفيلا من خلال تصنيع موقعي لعوامل الاستنساخ التي يتم تشفيرها من جينات تسمى *hunchback* و *caudal genes* ، و الرنا الرسول للجين *hunchback* يجري ترجمته فقط في الجزء الأمامي للجنين و الرنا الرسول للجين *caudal* يجري ترجمته فقط في المنطقة الذيلية للجنين ، و يتم السيطرة على عملية الترجمة لمستنسخات هذه الجينات من قبل الأم عن طريق جين *bicoid* الذي يحدد النهاية الرأسية للجين و جين *nanos* الذي يحدد النهاية الذيلية و بعد الإخصاب كل نوع من الرنا الرسول يجري ترجمته موضعيا، و يكون لبروتين *bicoid* وظيفتين : الأولى يؤدي فيها وظيفة عامل الاستنساخ لتحفيز تصنيع الرنا في العديد من الجينات بضمنها *hunchback* و بعد ذلك يجري ترجمة الرنا الرسول إلى بروتينات تسيطر على تكوين التراكيب الرأسية للجنين . والوظيفة الثانية ، يعمل بروتين *bicoid* على منع الترجمة للرنا الرسول لجين *caudal* (الشكل 5-20) . و بشكل معكوس تجري الأحداث في المنطقة الذيلية حيث لا يوجد بروتين *bicoid* و بذلك يترجم الرنا الرسول للجين *caudal* لتكوين المنطقة الذيلية.

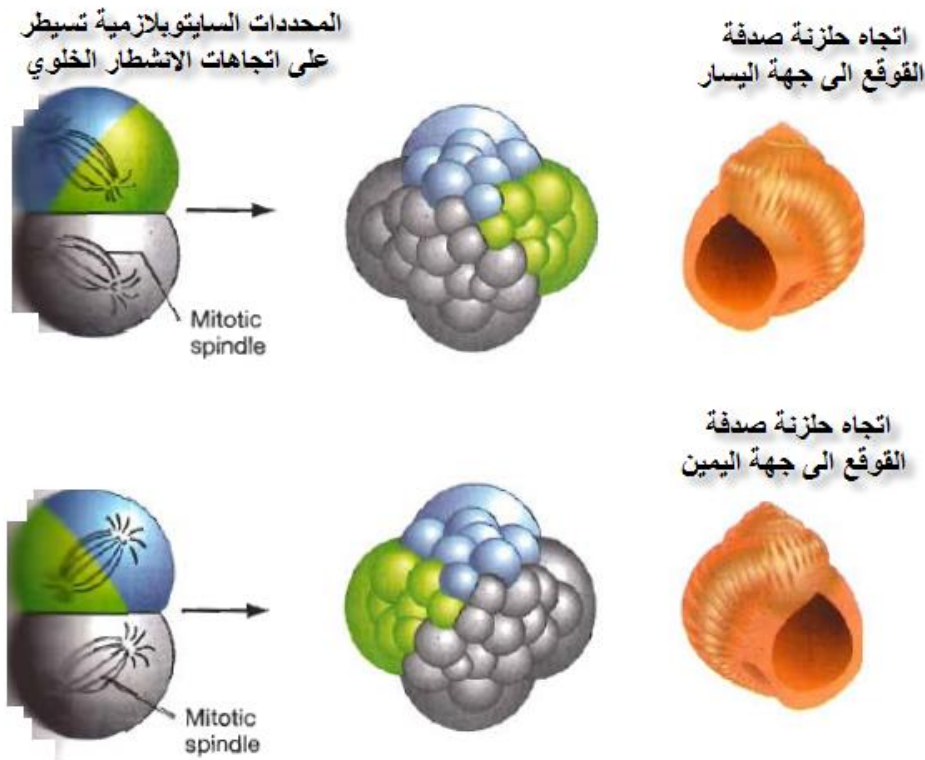
إن البروتين الناتج عن الجين *nanos* لا يؤدي وظيفة عامل الاستنساخ و لكن يعمل على تنظيم عملية الترجمة حيث يرتبط بالرنا الرسول للجين *hunchback* و يسبب تحلل الرنا الرسول و بذلك لا يترجم في المنطقة الذيلية و يكون بذلك متخصصا فقط في المنطقة الرأسية .



الشكل 5-20. تأثير جين *bicoid* في تحديد المحور الرأسي – الذيلي في حشرة الدروسوفيلا .

و أشار Freeman (2002) إلى أن المحددات السائتوبلازمية التي تطلقها الأم إلى سائتوبلازم البويضة عند تكوينها تعمل على توجيه الانشطارات الخلوية المبكرة ، ففي عام 1894 نشر Crampron ملاحظات مهمة من خلال دراسته أنماط الحلزونة في صدفة القواقع التي تكون أما إلى جهة اليمين او إلى جهة اليسار ، و عادة تكون أفراد النوع الواحد بنفس اتجاه

الحلزنة و قد وجد Crampron ا فراد تمتلك طفرة تؤدي إلى أن يكون اتجاه الحلزنة معاكس لاتجاه الحلزنة الطبيعي في النوع . و في دراسات لاحقة وجد Alfred Sturtevant إن الصفة يتحكم بها موقع جيني يمتلك اليلين يكون فيها الاليل D (إلى جهة اليمين) سائداً على الاليل d (إلى جهة اليسار) و عندما قام بتضريب إناث بالتركيب DD مع ذكور dd و حصل على النسل بالتركيب Dd و مظهر الصفة إلى اليمين ، و لكن عند تضريب إناث اتجاه الحلزنة فيها إلى اليسار dd و الذكور متماثلة إلى اليمين DD حصل على الجيل الأول بالتركيب الوراثي Dd و لكن مظهر الصفة باتجاه الحلزنة إلى اليسار ، و لتفسير هذه الحالة افترض إن اتجاه الانشطار المبكر و اتجاه الحلزنة للصدفة تعتمد على التركيب الوراثي للام و ليس على التركيب الوراثي للنسل و بذلك إذا كان التركيب الوراثي للام dd فان النسل يمتلك اتجاه حلزنة إلى اليسار بينما تركيب الأم DD أو Dd ينتج عنه النسل يمتلك اتجاه الحلزنة إلى اليمين (الشكل 5-21) .



الشكل 5-21. التأثيرات الأمية في تحديد اتجاه الحلزنة في صدفة القواقع .

التقانات الإحيائية المستخدمة في الوراثة الجزيئية

إن التعامل مع الدنا مختبريا يمثل الأساس في علم الأحياء الجزيئي ، و يتطلب ذلك معرفة خصائص الدنا و أسلوب التعامل مع المادة الوراثية لدراستها و تحليلها ، من التقانات الأساسية التي تجري بصورة روتينية في مختبرات الوراثة الجزيئية تتضمن استخلاص الدنا و تنقيته و تخزينه ، الترحيل الكهربائي على الهلام ، التقدير الكمي لتركيز الدنا في العينة ، وصمة سوذرن ، تحديد تتابع القواعد في حلزون الدنا و غيرها من التقانات الضرورية ، و سيتم مناقشة بعض التقانات الإحيائية الأساسية للعمل في مختبرات الوراثة الجزيئية .

الترحيل الكهربائي على الهلام Gel electrophoresis

يعد الترحيل الكهربائي على الهلام من التقانات القياسية المعتمدة في البيولوجي الجزيئي لفصل و تحليل الجزيئات الدقيقة ، و تعتمد هذه التقنية ببساطة على إن البروتينات و الأحماض النووية تحمل شحنة كهربائية و نتيجة لذلك فإن هذه الجزيئات تتحرك عند وضعها في مجال كهربائي ، إذ تهجر الأيونات السالبة باتجاه الموجب و تتجه الأيونات الموجبة متحركة إلى القطب السالب ، و بدأ الباحثون بوضع العينة في مادة هلامية و تم تسليط حقل كهربائي خلال الهلام مما جعل الجزيئات تتحرك خلال الهلام باتجاه القطب الموجب ، و مع حركة الجزيئات تنفصل الجزيئات عن بعضها الآخر حسب حجمها و شحنتها ، نجد أن الجزيئات الصغرى أو التي تمتلك شحنة عالية تتحرك أسرع من الجزيئات الأكبر منها أو تلك الأقل منها شحنة . يوفر الترحيل الكهربائي على الهلام العديد من المزايا الجيدة و التي جعلت التقنية واسعة الانتشار منها:

- 1- عدم حصول تغييرات كيميائية في الأحماض النووية خلال عملية فصل القطع حسب الحجم .
- 2- سهولة التعامل مع هلام الاكاروز .
- 3- إمكانية استعادة العينات التي تم ترحيلها على الهلام بعد فصلها لغرض متابعة إجراء الدراسة عليها .

تستخدم هذه التقنية في العديد من التطبيقات في مختبرات البيولوجي الجزيئي منها :

- 1- تستخدم التقنية بصورة واسعة لتقدير حجم قطع الدنا بعد هضمها بإنزيمات التقييد وذلك بمقارنتها بمواقع الحزم لجزيئات قياسية معروفة الحجم على نفس الهلام و تسمى الدليل الحجمي .
- 2- تستخدم في تشخيصات الوراثة الجزيئية أو البصمة الوراثية و في تحليل نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR .
- 3- تستخدم التقنية كجزء من خطوات عملية كلونة الجينات .

و تستخدم العديد من التقانات لإجراء الترحيل الكهربائي على الهلام تختلف في استخدامها حسب الهدف من عملية فصل القطع و الحجم المطلوب فصله ، و يستخدم هلام الاكاروز Agarose gel لفصل جزيئات الدنا كبيرة الحجم و هو الأكثر استخداما في مختبرات الوراثة الجزيئية ، بينما يستخدم هلام بولي اكريلاميد Polyacrylamide gel لفصل قطع الدنا الصغيرة جدا و الحصول على فروق دقيقة بين الحزم . و التقنية الحديثة المستخدمة حاليا في الترحيل

الكهربائي على الهلام الشعري Capillary Electrophoresis و الذي ينجز العملية و يعرض النتائج باستخدام الحاسوب و يستخدم بشكل واسع في الحصول على تتابع قطع الدنا .
يستخدم العديد من المحاليل المنظمة في ترحيل الأحماض النووية مثل - Tris- acetate (TAE) EDTA و هو الأكثر استخداما ، و يتم تحضيره كمحلول قياسي 10X في لتر ماء من المكونات الآتية :

المادة	الكمية
Tris (hydroxymethyl) aminomethane	48.4 غم
حامض الخليك الثلجي (17.4 مول)	11.4 مل
EDTA (0.5 مول)	20 مل

و تذاب هذه المواد في 800 مل من الماء المقطر الأيوني و يكمل الحجم إلى لتر و يخزن بدرجة حرارة الغرفة و يجري تخفيف المحلول إلى 1 X قبل الاستخدام أي 100 مل تكمل إلى لتر واحد باستخدام الماء المقطر الأيوني .

ولتحضير هلام الاكاروز يجري خلط مسحوق الاكاروز مع المحلول المنظم إلى التركيز المطلوب ، و عادة تكون ضمن المدى 0.5 - 2 % ، ثم يجري تعريضه للحرارة في حمام مائي مغلي أو في فرن مايكرويف إلى أن يذوب الاكاروز و تضاف إلى الهلام صبغة بروميد الاثيديوم (Eth Br) Ethidium Bromide بتركيز 0.5 مايكروغرام / مل و هي صبغة متألقة عند تعرضها إلى الأشعة فوق البنفسجية (يجب التعامل معها بحذر لكونها صبغة سامة و مطفرة) تستخدم لغرض رؤية الحمض النووي عند تعريضه إلى الأشعة فوق البنفسجية (يجري تحضير الصبغة بإضافة 1 غم من صبغة بروميد الاثيديوم إلى 100 مل من الماء المقطر و يجري خلطه بالخلط المغناطيسي لعدة ساعات لضمان الذوبان و ينقل إلى قنينة معتمة و تخزن بدرجة حرارة الغرفة) . و يترك الخليط ليبرد إلى درجة 60 م ° ثم يسكب المحلول في قالب الهلام و يترك للتصلب و بمجرد تصلب الهلام يرفع العرف comb من القالب للحصول على حفر العينات ، و توضع الحفر باتجاه القطب السالب و يوضع فيها عينات الدنا لكي تهجر القطع خلال الهلام إلى القطب الموجب و بنفس الوقت تهجر صبغة بروميد الاثيديوم غير المرتبطة بالحمض النووي بالاتجاه المعاكس لحركة قطع الدنا .

تتأثر حركة قطع الدنا في هلام الاكاروز بالعديد من العوامل أهمها تركيز الاكاروز في الهلام و الفولتية المستخدمة في الترحيل ، فالتركيز العالي من الاكاروز في الهلام يقلل سرعة هجرة قطع الدنا و بالتالي يكون ملائماً لفصل جزيئات الدنا الصغيرة و من مساوئها أنها تحتاج إلى وقت طويل للترحيل ، و معظم هلام الاكاروز يجري تحضيره بتركيز تتراوح بين 0.7 % التي تكون ملائمة لقطع الدنا الكبيرة (5 - 10 كيلو زوج قاعدي) إلى 2 % التي تكون ملائمة للقطع الصغيرة من الدنا (0.2 - 1 كيلو زوج قاعدي) و ما بينها تتدرج بقية التراكيز حسب حجم قطع الدنا كما موضح في الجدول (1-6) .

الجدول 6-1. تركيز هلام الاكاروز الملائم لفصل مختلف الأحجام من جزيئات الدنا الخطية .

Agarose Concentration in Gel (% [w/v]) تركيز الاكاروز في الهلام (وزن / حجم)	Range of Separation of Linear DNA Molecules (kb) المدى لجزيئات الدنا الخطية (كيلو زوج قاعدي)
0.3	5-60
0.6	1-20
0.7	0.8-10
0.9	0.5-7
1.2	0.4-6
1.5	0.2-3
2.0	0.1-2

أما الفولتية المستخدمة في ترحيل قطع الدنا فتكون حسب حجم قطع الدنا ، فعلى سبيل المثال أفضل نتيجة يمكن الحصول عليها للقطع اكبر من 2 كيلو زوج قاعدي تكون باستخدام 5 فولت لكل سنتيمتر على الهلام .

و تتضمن العملية الخطوات الآتية :

- 1- يجري تحضير هلام الاكاروز بالتركيز المطلوب حسب حجم قطع الدنا التي يجري ترحيلها ، و يتم تسخين الخليط في حمام مائي مغلي أو فرن مايكرويف حتى يذوب الاكاروز و بعدها يوضع الوعاء في حمام مائي بدرجة حرارة 55 م° ليبرد المحلول ، و تضاف إلى الهلام صبغة بروميد الاثيديوم (0.5 مايكروغرام / مل) مع خلطها بالرج برفق .
- 2- يسكب محلول الاكاروز الدافئ إلى قالب الهلام مع تركيب العرف comb الخاص بحفر العينات و يترك الاكاروز ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 – 45 دقيقة ثم يزال العرف من الهلام بعناية تجنباً لتدمير حفر وضع العينات .
- 3- يوضع الهلام في جهاز الترحيل الكهربائي و يضاف إلى الحوض المحلول المنظم بحيث يغطي الهلام بارتفاع ملم واحد .
- 4- تخلط عينات الدنا مع صبغة الترحيل بروموفينول الأزرق bromophenol blue و بنسبة 1: 5 أو 1: 10 و يجري تحميل خليط العينات الحاوي على الدنا في حفر الهلام الموجودة في قمة شريحة الهلام باستخدام الماصة الدقيقة micropipette مع تحميل الدليل الحجمي ladder على الجانب الأيمن و الجانب الأيسر من الهلام ، و يجري بموجبها قياس حجم الجزيئات غير المعروفة المستخدمة في التجربة .
- 5- يغلق غطاء جهاز الترحيل الكهربائي و يتم التوصيل الكهربائي باستخدام فولتية 1 – 5 فولت / سم و عند التوصيل الصحيح يبدأ تكوين الفقاعات عند الأقطاب و تبدأ هجرة قطع الدنا باتجاه القطب الموجب (باللون الأحمر) و خلال دقائق قليلة تبدأ صبغة بروموفينول الأزرق بالهجرة من حفر العينات عبر الهلام و يستمر الترحيل الكهربائي إلى أن تصل الصبغة إلى الثلث الأخير من الهلام .

6- بعد وصول العينات إلى مسافة مناسبة على الهلام يتم إطفاء التيار الكهربائي عن الجهاز و إزالة الأقطاب و يرفع الغطاء ، و يتم التعرف على حزم الدنا بتعريضها إلى الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي 300 نانومتر و يتوفر لهذا الغرض في اغلب المختبرات Gel documentation يجري التصوير عن طريق برنامج الحاسوب و تسجيلها و تحليلها و إجراء القياسات المطلوبة .

7- و الخطوة الثانية تتضمن غمر الهلام بمحلول موصل للتيار الكهربائي و بعد ذلك إيصال فولتية كهربائية خلال الهلام . و بعد حركة الجزيئات خلال الهلام لفترة من الزمن ، و يجري في الخطوة الثالثة إزالة المجال الكهربائي و بعدها يجري تحديد مواقع حزم الجزيئات التي انفصلت عن بعضها البعض حسب حجمها ، و يوضع عادة في الحفرة الأولى من الهلام جزيئات معروفة الحجم و تسمى بحجوم قياسية أو تسمى ladder .

تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction

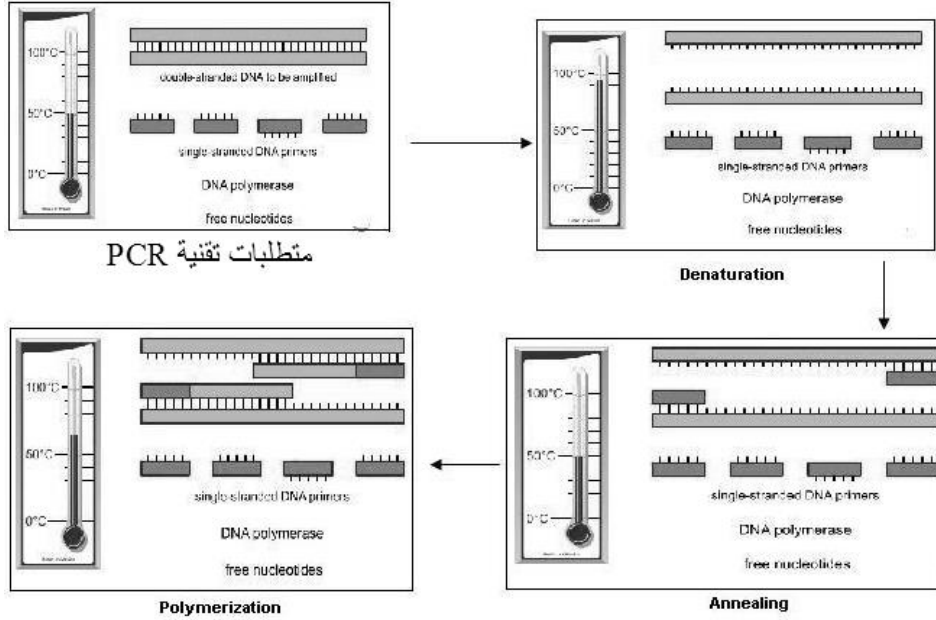
هي من التقانات التي تستخدم بشكل واسع في مختبرات البيولوجي الجزيئي ، يمكن بواسطتها كلونة قطعة صغيرة من الدنا أو تضاعفها لإنتاج نسخ عديدة من الدنا ، ابتكرت التقنية من قبل Kary B. Mullis عام 1983 و تقييما لعمله منح جائزة نوبل عام 1993 في الكيمياء ، ويمكن باستخدام هذه التقانة كلونة تتابع من الدنا في المختبر بدون استخدام خلايا حية في عملية الكلونة ، ومع ذلك فان هذه العملية يمكن أن تتم في حالة معرفة تتابع النيكلوتيدات لمنطقة قصيرة في نهايتي تتابع الدنا المرغوب حيث يجري تصنيع تتابع مكمل لهذه المنطقة يستخدم كبادئ primer في تضاعف المنطقة المرغوبة ، وتمثل التقانة عملية تكرار الدنا الطبيعية التي تحدث في الخلايا خلال الانقسام الخلوي و فيها ينفصل خيطا حلزون الدنا و يقوم أنزيم بوليمريز الدنا ببناء الخيط الجديد بإضافة النيكلوتيدات حسب قاعدة الأزواج القاعدي معتمدا على الخيط الأبوي كقالب و تحتاج العملية إلى العديد من المكونات وهي النيكلوسيدات ثلاثية الفسفور منقوصة الأوكسجين deoxynucleoside triphosphates و تتابع بسيط من الدنا يسمى البادئ primer ، وتتطلب التقانة معرفة تتابعات القواعد في نهايتي قطعة الدنا المطلوب تضاعفها و تستخدم هذه المعلومات لاختيار البادئ الملائم للعملية و الذي هو عبارة عن تتابع قصير من الدنا الأحادي الخيط يكون مكملا لتتابع في قطعة الدنا المطلوب مضاعفها ، و تقوم تقانة PCR على استخدام هذه المكونات لمضاعفة الدنا في أنبوبة الاختبار .

و تتضمن تقنية PCR ثلاث مراحل كما موضح في شكل (2-6) وهي:

1- مرحلة المسخ Denaturation : إن رفع درجة حرارة حلزون الدنا (المرغوب استخدامه كقالب) إلى نقطة أعلى من درجة حرارة الإذابة melting temperature يؤدي إلى تكسير الأواصر الهيدروجينية بين خيطي الحلزون يؤدي إلى فصل خيوط الدنا إلى خيوط مفردة ، و في حالة تسخين قطع الدنا في محلول منظم بقوة أيونية اقل من 150mM NaCl ، فان درجة حرارة الإذابة تكون عادة اقل من 100 درجة مئوية و هذا يفسر استخدام درجة حرارة تتراوح 95 – 97 درجة مئوية لمدة 15 – 30 ثانية لفصل خيوط الدنا في هذه التقانة ، وكان البوليمريز DNA polymerase 1 المستخدم في التجارب الأولى يتعرض للتدمير بالحرارة في هذه المرحلة و يتوجب استبداله مع كل دورة ، و حاليا جرى تطوير العملية بعد اكتشاف إنزيم البلمرة المستقر بالحرارة و الذي استخلص من البكتريا المحبة للحرارة *Thermus aquaticus* المحبة للحرارة و سمي Taq polymerase (*T. aquaticus*) الذي لا يتأثر بالحرارة المستخدمة في مسخ الدنا و بذلك لا يضاف إنزيم البلمرة مع كل دورة . و لكن النقطة غير الجيدة تكمن في أن الإنزيم Taq polymerase لا يمتلك فعالية الإصلاح proofreading و تبعا لذلك قد ينتج عنه تكرار في الأخطاء أكثر من الحالة الطبيعية .

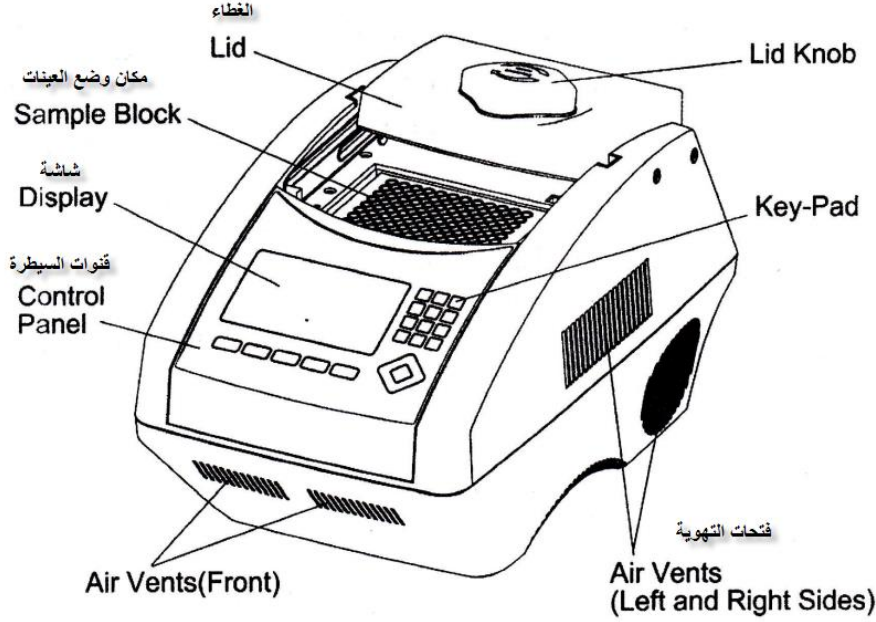
2- مرحلة الربط annealing خلال هذه المرحلة تخفض درجة الحرارة إلى 50 - 60 درجة مئوية لمدة 30 ثانية مما يسمح للبادئ بالارتباط إلى خيط الدنا المنفصل . و يستخدم في العملية نوعان من البادئات واحد لكل خيط من الحلزون احدهما يكمل مع بداية التتابع المرغوب في احد الخيطين و يسمى Forward primer و الآخر يرتبط مع نهاية التتابع المرغوب في الخيط المقابل و يسمى Backward primer كما موضح في الشكل (1-6).

3- مرحلة البلمرة و الاستطالة Elongation خلالها يتم رفع درجة الحرارة إلى 70 - 72 درجة مئوية لمدة 1.5 دقيقة وهي الدرجة الملائمة لعمل أنزيم بوليمريز حيث يقوم بمضاعفة جزيئة الدنا بسرعة ، هذه الدورة لمراحل PCR تستغرق دقيقتين ، و يجري مسخ النواتج عن



الشكل 6-1. تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)

الدورة الأولى و ترتبط مع البادئ و تتضاعف مرة أخرى بفعالية إنزيم البلمرة ، نظريا دورة PCR تتكرر إلى ما لانهاية ولكن في العادة يجب تجديد أنزيم بوليمريز الدنا ، النيكلوتيدات و البادئ بعد حوالي 30 دورة وخلالها يمكن إنتاج بليون نسخة من قطعة الدنا في اقل من ثلاث ساعات . و يستخدم للتحكم بدورات درجات الحرارة و فترة تعريض المحلول لها جهاز Thermocycler الذي يجري برمجته من خلال شاشة التحكم وفق درجات الحرارة و عدد دوراتها (الشكل 6-2) .



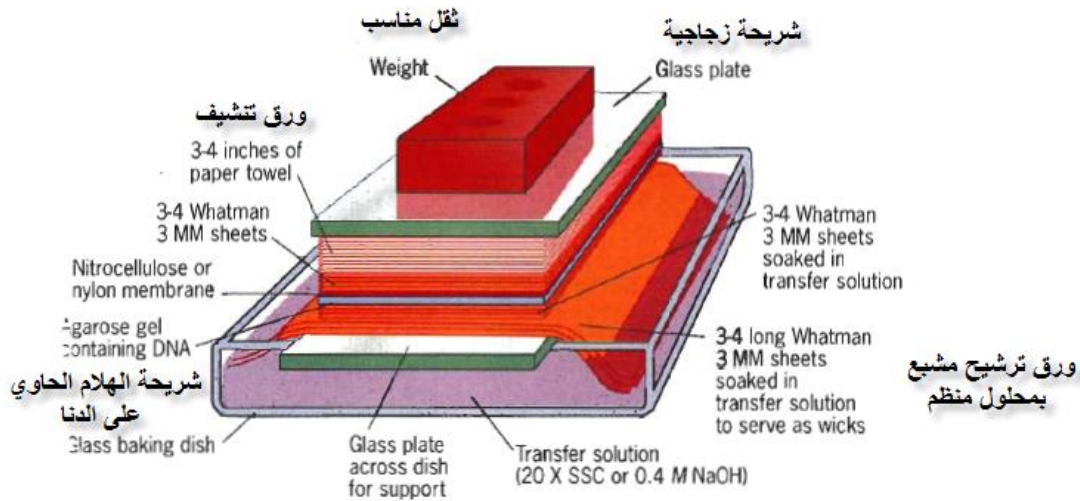
الشكل 6-2. جهاز التحكم الحراري في تقانة PCR .

تستخدم هذه التقانة في العديد من التطبيقات المهمة منها ، تشخيص الأمراض الوراثية في الإنسان خصوصا أثناء الحمل حيث يتم الحصول على كمية محدودة من الدنا مصدرها الجنين و يجري مضاعفتها باستخدام هذه التقانة لإكمال الفحوصات اللاحقة . و التطبيق المهم الآخر هو استخدام التقانة في الحالات العدلية و الجنائية عند توافر أدلة بيولوجية في مكان الجريمة مثل الدم ، المنى ، الشعر و غيرها و يمكن استخدام التقانة لمضاعفة الدنا المستخلص من هذه العينات و الحصول على البصمة الوراثية للشخص الموجود في مكان الحادث DNA fingerprint .

تقانة وصمة سوزن Southern blot

يوفر الترحيل الكهربائي على الهلام وسيلة فعالة لفصل الجزيئات الكبيرة إلى حجوم مختلفة و قوة شحنات مختلفة ، و بما إن جزيئات الدنا شحنة ثابتة لكل وحدة حجم و هكذا فان جزيئات الدنا تنفصل في الاكاروز و الاكريلاميد حسب حجم القطعة . في عام 1975 نشر E. M. Southern طريقة مهمة أتاحت للباحثين تحديد موقع الجينات و تتابعات النيكلوتيدات المحددة على قطع الدنا التي جرى فصلها بواسطة الترحيل الكهربائي على الهلام . و تعتمد فكرة التقانة على إمكانية ارتباط الخيوط المفردة لجزيئات الدنا و الرنا عند وجود تتابعات مكملة في الخيطين لتكوين حلزون مزدوج متجانس دنا - دنا أو حلزون غير متجانس من خيوط الدنا - الرنا ، و الخاصة الرئيسية في هذه التقانة هو نقل جزيئات الدنا التي جرى فصلها بواسطة الترحيل الكهربائي على الهلام إلى ورقة نترات السليلوز nitrocellulose أو غشاء النايلون

nylon membrane ، و تمثل عملية نقل طبعة الدنا إلى الغشاء وصمة سوذرن التي سميت باسم الشخص الذي ابتكرها ، و يجري مسخ الدنا قبل أو خلال عملية النقل عن طريق وضع الهلام في محلول قاعدي (PH = 11.3) و ينتج عن المسخ خيوط مفردة ، يوضع بعد ذلك الهلام على سطح ورقة ترشيح مشبعة بالمحلول المنظم و يغطى سطح الهلام من الأعلى بورقة نترات السليلوز أو غشاء النايلون ثم توضع حزمة من أوراق التنشيف الجافة على سطح مرشح نترات السليلوز و تترك لعدة ساعات يسري خلالها المحلول المنظم وفق الخاصية الشعرية من ورقة الترشيح السفلى خلال الهلام إلى الأعلى نتيجة امتصاص أوراق التنشيف في الأعلى (شكل 3-6)، و ترتبط قطع الدنا المحمولة مع المحلول المنظم بورقة نترات السليلوز التي يكون لها ألفة قوية للارتباط بالدنا ، و بذلك ترتبط قطع الدنا بالورقة بنفس نمط توزيعها على الهلام ، بعدها يجري تجفيف ورقة نترات السليلوز بتعريضها للتسخين بدرجة 80 م ° ، بعد ذلك تعرض الورقة الى محلول يحتوي مجسات معلمة إشعاعيا للجين المرغوب و هذه المجسات سوف ترتبط مع جزيئات الدنا في الورقة و التي تمتلك تتابع النيكلوتيدات المكمل للمجس المعلم ، يجري غسل الورقة بعد ذلك لإزالة المجسات غير المرتبطة ، ثم يعرض الورقة إلى فلم للأشعة السينية -X ray لتحديد موقع وجود النشاط الإشعاعي الذاتي للمجس المرتبط و الذي يظهر على شكل حزمة داكنة و التي تشير إلى موقع تتابع النيكلوتيدات المرغوب على شريحة الهلام .



الشكل 3-6. تقانة وصمة سوذرن لتحديد موقع جين معين على هلام الاكاروز .

و يتم الحصول على المجسات المعلمة إشعاعيا لاستخدامها في وصمة سوذرن من خلال تحضيرها بأساليب مختلفة أهمها ، استخدام تقانة نقل الثلمة nick – translation لجزيئات الدنا مزدوجة الخيط ، و ذلك من خلال قطع خيط مفرد من الحلزون باستخدام إنزيم DNase 1 و هو احد إنزيمات القطع endonucleases و من ثم انتقال الثلمة على طول جزيئة الدنا بفعالية

إنزيم 1 Polymerase في قضم النيكلوتيدات exonuclease activity 3 → 5 و بناء الخيط الجديد الحاوي على النيكلوتيدات المشعة بفعالية polymerase activity 3 → 5 بوجود مولدات النيكلوتيدات المعلمة إشعاعيا بالفسفور المشع P^{32} .

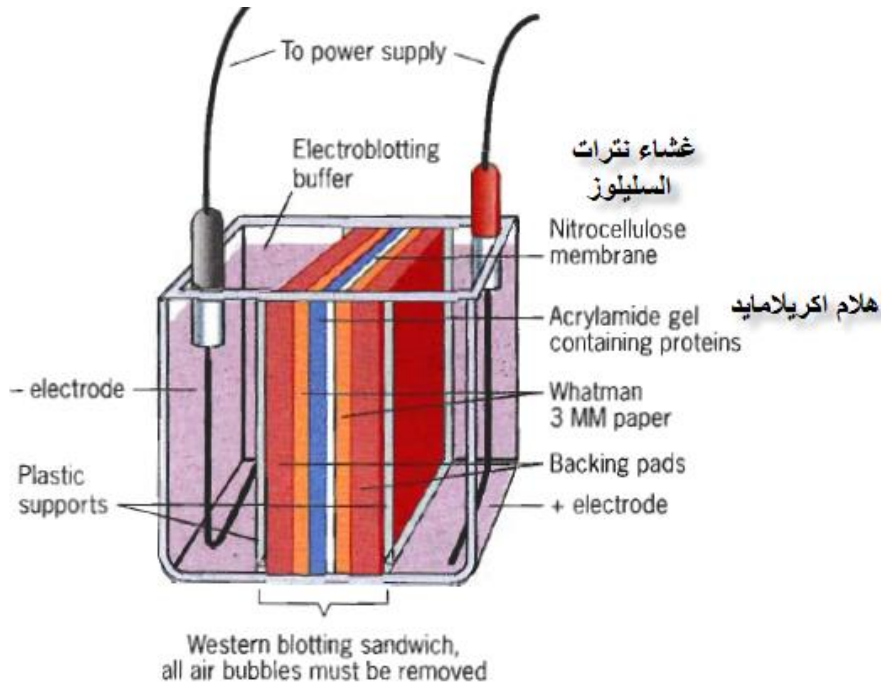
تقانة وصمة نورثرن Northern blot

كما هو الحال في نقل قطع الدنا من هلام الاكاروز إلى غشاء نترات السليلوز لإجراء دراسات تهجين تتابعات النيكلوتيدات ، يمكن لجزيئات الرنا التي تم فصلها بالترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز أن تنتقل إلى غشاء نترات السليلوز بصورة مشابهة و هي عملية تجري بصورة روتينية في مختبرات الوراثة الجزيئية ، و سميت وصمة نورثرن لوجود التشابه في الإجراءات مع وصمة سودرن ، و مع وجود هذا التشابه في الإجراءات إلا إن جزيئات الرنا تكون حساسة جدا إلى التحلل بواسطة إنزيمات التحلل RNase لذلك يجب العناية في تجنب تلوث الأدوات بهذه الإنزيمات ، فضلا عن ذلك فإن معظم جزيئات الرنا تحتوي على تراكيب ثانوية ، لذلك يجب المحافظة على مسخ جزيئات الرنا خلال الترحيل الكهربائي على الهلام ليتم فصل الجزيئات حسب الحجم ، و يجري المسخ بإضافة الفورمالديهايد إلى المحلول المنظم المستخدم في الترحيل الكهربائي ، و بعد نقل جزيئات الرنا إلى ورقة نترات السليلوز يجري تهجين وصمة الرنا إلى مجسات معلمة من الرنا أو الدنا بنفس الاسلوب المتبع في وصمة سودرن ، و تستخدم وصمة نورثرن في دراسات التعبير الجيني حيث يجري تحديد استنساخ جين معين في جميع أنسجة الكائن الحي أو اقتصار استنساخه في أنسجة معينة فقط ، فضلا عن ذلك تستخدم التقانة لدراسة التعبير الجيني لبعض الجينات في مراحل عمرية محددة أثناء النمو و التطور .

تقانة وصمة ويسترن Western blot

يعد الترحيل الكهربائي على هلام بولي اكريلاميد وسيلة مهمة لفصل و تشخيص البروتينات ، ولكون العديد من البروتينات الفعالة تتألف من اثنين أو أكثر من سلاسل عديد الببتيد لذلك يجري فصل سلاسل عديد الببتيد بشكل فردي في الترحيل الكهربائي بوجود Sodium dodecyl sulfate (SDS) الذي يعمل على مسخ البروتينات ، و بعد إجراء الترحيل الكهربائي يجري تحديد وجود البروتينات باستخدام صبغة Coomassie blue أو صبغة Silver stain . و يتم نقل سلاسل عديد الببتيد التي تم فصلها من الهلام إلى غشاء نترات السليلوز و يمكن تحديد البروتينات باستخدام الأجسام المضادة للبروتين ، إن عملية نقل البروتينات من هلام اكريلاميد إلى غشاء نترات السليلوز يسمى وصمة ويسترن Western blot و تجري باستخدام التيار الكهربائي (الشكل 4-6) لنقل البروتينات من الهلام إلى سطح غشاء نترات السليلوز ، و يجري تحديد البروتين الموجود على الغشاء عن طريق وضع الغشاء في محلول يحتوي على الأجسام المضادة للبروتين ثم يغسل الغشاء لإزالة الأجسام المضادة غير

المرتبطة بالغشاء و يجري تحديد الأجسام المضادة الأولية primary antibody المرتبطة عن طريق وضع الغشاء في محلول يحتوي أجساماً مضادة ثانوية secondary antibody . تتفاعل الأجسام المضادة الثانوية مع الكلوبولينات المناعية و يجري الكشف عن طريق الإشعاع الذاتي أو عن طريق تفاعل إنزيمي متخصص يولد نواتج مرئية . تعد وصمة ويسترن وسيلة فعالة للتعرف على نواتج الجين من البروتينات و تشخيصها.



الشكل 4-6. وصمة ويسترن للتعرف على البروتينات .

تحديد تتابع النيكلوتيدات في قطعة الدنا DNA Sequencing

يمكن الحصول على تتابع أزواج النيكلوتيدات في قطعة الدنا و معرفة التغيرات في تتابع النيكلوتيدات التي تسبب تغيراً في وظيفة الجين أو الكروموسوم. و اليوم يعد تحديد تتابع النيكلوتيدات لقطعة الدنا من العمليات الروتينية التي تجري في معظم مختبرات الوراثة الجزيئية

، وان المقدرة الحالية على الانجاز تحققت بفعل انجازات سبقتها في مجال البيولوجي الجزيئي ،
و هي :

1- اكتشاف إنزيمات التقييد restriction enzymes و استخدامها في تحضير العينات
المتجانسة من قطع الدنا .

2- تطور تقانة الترحيل الكهربائي على الهلام إلى درجة يمكن بواسطتها التمييز بين قطع الدنا
التي تختلف عن بعضها في الحجم بمقدار نيكلويدة واحدة .

3- إمكانية كلونة الجينات والحصول على كمية كبيرة من جزيئة دنا معينة .

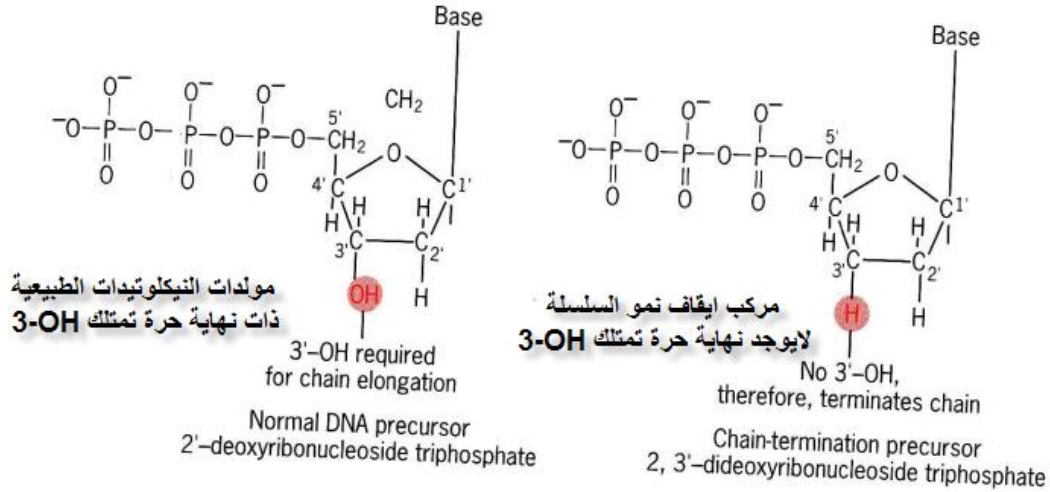
4- توصل الباحثين إلى اسلوبين لتحديد تتابع النيكلوتيدات في قطعة الدنا و كلاهما يعتمد على
توليد مجموعة من قطع الدنا جميعها تمتلك نهاية واحدة مشتركة بنفس النيكلوتيدة و النهاية
الأخرى تمتلك جميع الاحتمالات ، و هذه القطع يجري فصلها بالترحيل الكهربائي على هلام
بولي اكريلاميد ، وفي كلتا الحالتين تجري أربعة تفاعلات كيموحيوية تجري بصورة
منفصلة و كل منها يولد مجموعة من القطع توقفت عند إحدى القواعد النتروجينية الأربع في
الدنا .

الطريقة الأولى ، تسمى طريقة Maxam and Gilbert التي سميت باسم مخترعها و تستخدم
أربع تفاعلات كيميائية مختلفة لقطع سلسلة النيكلوتيدات في الدنا بشكل متخصص عند A ، G ،
T و C .

و الطريقة الثانية ، تم ابتكارها من قبل Fred Sanger و استخدم فيها تصنيع الدنا في أنابيب
المختبر بوجود النيكلوتيدات ذات النشاط الإشعاعي و اسلوب متخصص في إيقاف السلسلة النامية
و ينتج عنها أربع مجاميع من القطع المعلمة إشعاعيا تنتهي بأحدى القواعد النتروجينية الموجودة
في الدنا .

تستخدم مادة 2,3- Dideoxyribonucleoside triphosphate لإيقاف السلسلة النامية للدنا
باستخدام سنكر لتحديد تتابع النيكلوتيدات ، و لنذكر إن إنزيم بوليميريز الدنا يحتاج إلى قطعة
البادئ تمتلك نهاية حرة ذات 3-OH ، و إن المادة المستخدمة لإيقاف نمو السلسلة لا تمتلك نهاية
حرة ذات 3- OH (الشكل 5-6) لذلك فإن إضافتها يوقف امتداد و نمو السلسلة ، و بناء على ذلك
تستخدم أربعة أنواع من هذه المادة لإيقاف السلسلة النامية عند قواعد متخصصة في أربعة
تفاعلات لتصنيع الدنا تكون منفصلة عن بعضها و هذه الأنواع هي : 2,3-
dideoxythymidine triphosphate (ddTTP) و التي توقف نمو السلسلة نتيجة ازدواجها
مع الانين في القالب ، (2,3- dideoxycytidine triphosphate (ddCTP) و 2,3-
dideoxyadenosine triphosphate و 2,3-dideoxyguanosine triphosphate . و

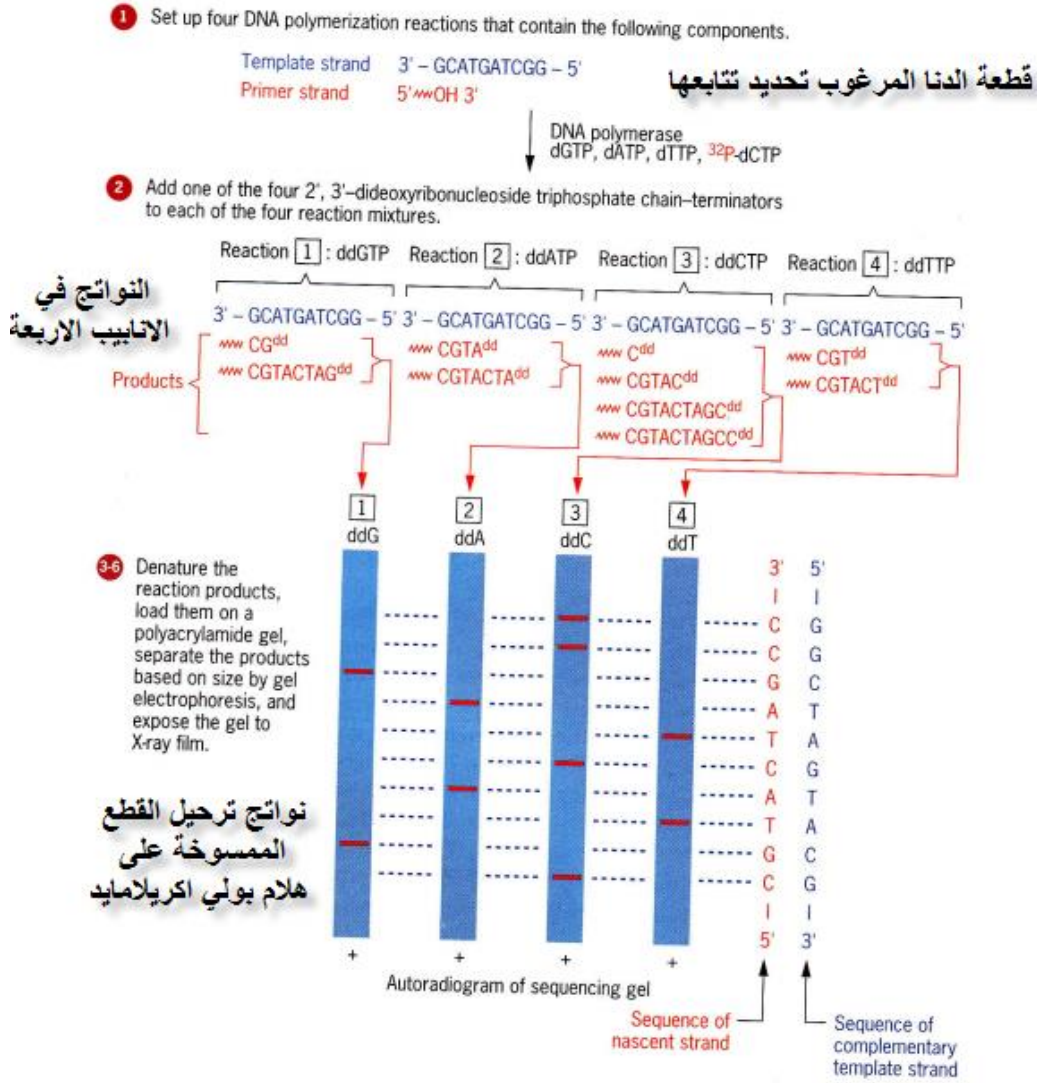
ينتج عن ذلك أربع مجاميع من قطع الدنا و كل مجموعة تتوقف قطعها عند نفس القاعدة النروجينية مع اختلاف موقع هذه القاعدة في قطعة الدنا ، و تكون نسبة ddXTP : dXTP في كل أنبوبة تفاعل هي 1:100 و يشير X إلى احدى القواعد النروجينية الأربعة .



الشكل 5-6. تركيب مادة إيقاف السلسلة 2,3- Dideoxyribonucleoside triphosphate

بعد تكوين قطع الدنا في أنابيب التفاعلات الأربعة ، يتم مسخ القطع المتكونة و فصلها عن القالب و بعد ذلك يجري ترحيلها كهربائياً على هلام بولي اكريلاميد و يجري تحديد موقعها على الهلام بالإشعاع الذاتي و ينتج عن ذلك تعريف بتتابع النيكلوتيدات في السلسلة الطويلة التي تم تصنيعها فالقطعة الصغيرة تقطع مسافة أطول و تكون قريبة من القطب الموجب ، و بالتتابع تمتلك الحزمة نيكلوتيدة أطول من الحزمة السابقة لها (الشكل 6-6).

أما اليوم ، فيتم إجراء تحديد تتابع قطعة الدنا بمكانن تحديد تتابع الدنا الأوتوماتيكية و التي تستخدم نفس الطريقة التي تم وصفها dideoxy chain- termination procedure مع بعض التحويرات .

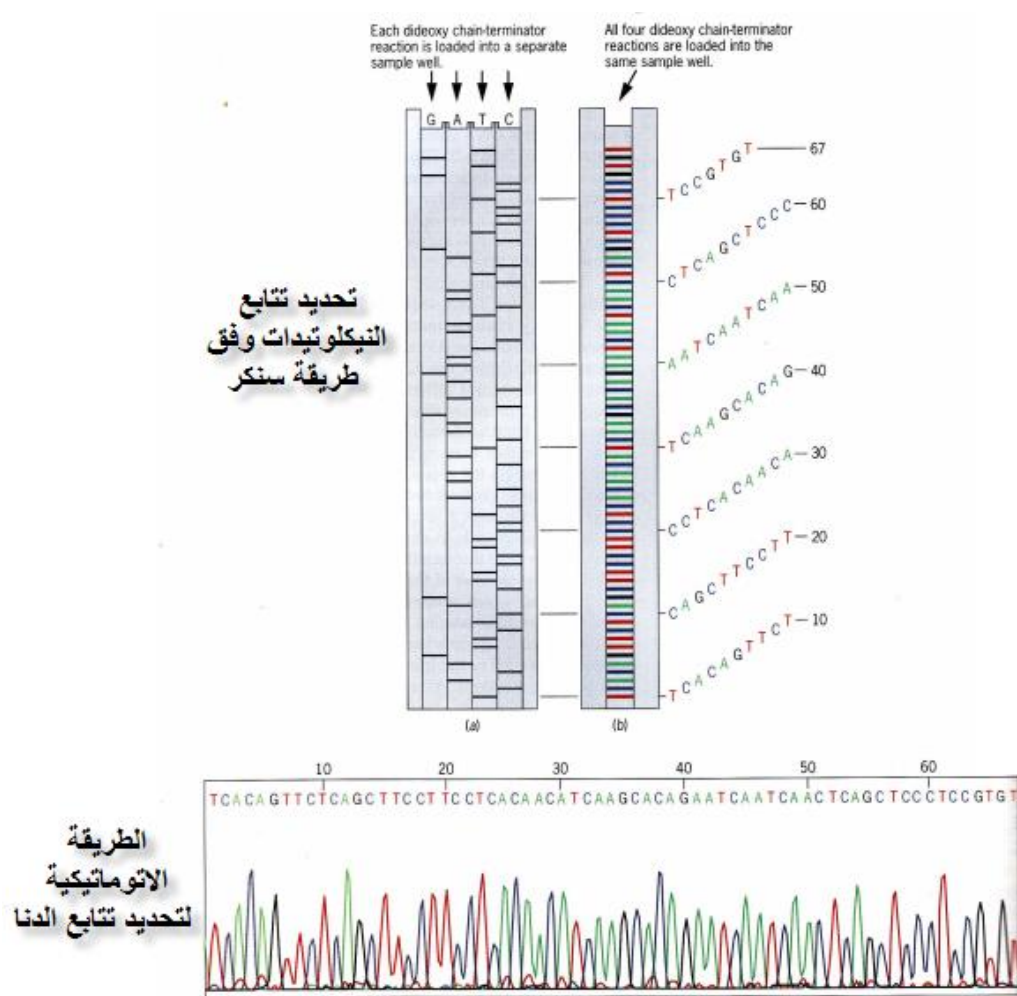


الشكل 6-6. خطوات تحديد تتابع قطعة الدنا وفق طريقة سنكر .

توجد مجموعة من الاختلافات بين طريقة انجاز تحديد التتابع للدنا باستخدام شريحة هلام بولي اكريلاميد أو تنفيذ تحديد التتابع اتوماتيكيا و هي :

- 1- تستخدم الصبغات المتألقة بدلا من الإشعاع الذاتي في تحديد سلاسل الدنا .
- 2- يجري فصل جميع النواتج للتفاعلات الأربعة عن طريق الترحيل الكهربائي على الهلام من خلال الأنبوب الشعري .
- 3- استخدام الخلايا الصورية photocells لتحديد الصبغات المتألقة من خلال مرورها في الأنبوب الشعري .

4- نقل نتائج صورة الخلية إلى الحاسوب و يجري تحليلها اتوماتيكيا ، تسجل و تطبع كنتائج و يمثل الشكل (6-7) مقارنة بين نواتج شريحة الهلام لتحديد تتابع النيكلوتيدات مع ناتج تحديد التتابع بشكل أوتوماتيكي .



الشكل 6-7. مقارنة نتائج تحديد تتابع الدنا بين طريقة سنكر و الطريقة الاتوماتيكية .

تقنيات الهندسة الوراثية

إن رغبة الإنسان في تحويل الكائنات المحيطة به للحصول على كائن حي يحمل مواصفات موجودة في كائنات حية مختلفة ، ترجع إلى تاريخ موغل في القدم يصل إلى 12000 ق.م. مع بداية الإنسان استئناس الكائنات الحية لتلبية احتياجاته ، فقام بإجراء التزاوج بين السلالات المختلفة لتركيز الصفات المرغوبة و جمعها في كائن حي متفوق و شملت ذلك النباتات بإجراء الانتخاب الوراثي لعدة أجيال تمثل فترة زمنية طويلة لإنتاج صنف أو عرق جديد (Key و آخرون، 2008) ، إلا إن هذه العملية بقيت محصورة ضمن إطار سلالات النوع الواحد بسبب عدم إمكانية إجراء التزاوج بين الأنواع المختلفة من الكائنات الحية، و استمر حاجز النوع عائقاً أمام رغبة الإنسان في الحصول على الكائن الخارق الذي يجمع الصفات الايجابية الموجودة في كائنات حية تنتمي إلى أنواع مختلفة إلى السبعينيات من القرن العشرين حيث تطورت تقنيات الأحياء الجزيئية و تراكمت المعلومات المتوفرة عن المادة الوراثية على المستوى الجزيئي وأصبح بالإمكان نقل الجينات بين الأنواع المختلفة عن طريق كلونة الجين gene cloning. و تمثل كلونة الجين محور تقنيات الهندسة الوراثية و تتضمن النقل المباشر للمادة الوراثية من احد الكائنات الحية إلى كائن حي آخر بحيث يمكن لها التكرار و التعبير الجيني مما يؤدي إلى اكتسابه صفة لم يكن يمتلكها سابقاً فضلاً عن قابليتها على الانتقال إلى الأجيال اللاحقة، و قد استخدمت التقنية لزيادة إنتاج الصوف في الأغنام المحورة وراثياً، و زيادة إنتاج الحليب أو تغيير مكونات الحليب المنتج مثل الحليب الخالي من اللاكتوز، أو إنتاج الحيوانات المقاومة للأمراض. و يمكن استخدام التقنية في اكتساب النبات مثلاً صفة المقاومة للجفاف أو الإجهاد الحراري أو مقاومة مسببات المرضية ، و يعد Herbert Boyer و Stanley Cohen أول من قام بإجراء التقنية في عام 1973 ، و في نفس العام قام Rudolf Jaenisch بإنتاج فأر محور وراثياً genetically modified mouse و تتابعات الأحداث و الانجازات في المجال النباتي و الحيواني و الكائنات الحية الدقيقة ، وفي عام 2000 نشرت مجلة Science المعروفة علمياً بحثاً عن إنتاج الرز الذهبي golden rice الذي يعد غذاء جرى تطويره وفق تقنيات الهندسة الوراثية لزيادة القيمة الغذائية و ذلك باحتوائه الكاروتين (beta-carotene) الذي يتحول في الجسم إلى فيتامين A . وفي عام 2006 تم إنتاج الذرة الصفراء المحورة وراثياً في الولايات المتحدة و كندا و تكون الذرة المحورة غنية بالحمض الاميني اللايسين lysine مما يقلل الحاجة لإضافة اللايسين إلى علائق الماشية بصفة مكملات غذائية ، و بحلول عام 2010 أصبح الإنتاج تجارياً للمحاصيل المحورة وراثياً في 29 دولة في العالم .

الخطوات الأساسية في كلونة الجين

بالرغم من وجود بعض الخطوات التنفيذية الخاصة في كل نوع من الكائنات الحية ، إلا إن هناك خطوات أساسية تمثل الاتجاه العام التي تشترك فيها عملية كلونة الجين في مختلف الكائنات الحية و منها:

1- استخلاص و تنقية الدنا ، و توجد لهذا الغرض العديد من الطرائق لاستخلاص الدنا من المصادر المختلفة مثل الدم ، اللعاب ، الأنسجة و غيرها ، و قد تم وصف بعض هذه الطرائق في الباب الثاني من هذا الكتاب .

2- تقطيع الجينوم و الحصول على الجين المرغوب القابل للكلونة ، و تستخدم لغرض تقطيع الجينوم إنزيمات التقييد restriction enzymes الملائمة و التي تضمن تكرار الحصول على نفس القطع من دنا الكائن الحي المحدد ، إذ إن عملية القطع لا تتم بصورة عشوائية بل يحدث في تتابع محدد لكل إنزيم تقييد، و يمكن تمييز القطع المستهدفة باستخدام تقنية وصمة سوذرن والحصول على مضاعفة الجين المرغوب باستخدام تقنية PCR.

3- استخدام نواقل الكلونة cloning vectors ، تستخدم نواقل الكلونة لحمل قطعة الدنا المرغوبة عن طريق ربطهما باستخدام الإنزيم اللاحم للدنا DNA ligase و تكوين الجزيئة الهجينة(ناقل الكلونة مع قطعة الدنا المرغوبة)، و تتوفر لهذا الغرض العديد من الأنواع منها البلازميدات ، العاثيات bacteriophages، الكوزميدات cosmids و الفيروسات المحورة ، و تضمن نواقل الكلونة إمكانية تكرار الجينات و تعبيرها عن الصفة في المضيف .

4- التعرف على الجزيئات الهجينة (ناقل الكلونة الذي يحمل جزيئة الدنا الغريبة) و تمييزها عن ناقل الكلونة و جزيئة الدنا الغريبة، و يتم ذلك باستخدام الترحيل الكهربائي على الهلام و مقارنة أحجام الجزيئات الهجينة مع بقية الجزيئات.

5- إدخال الجزيئات الهجينة إلى الكائنات الحية المضيئة ، باستخدام التقنية المناسبة للمضيف مثل التحول transformation أو الإصابة الفيروسية أو الحقن المجهرى ، و يتطلب إجراء عملية انتقاء للخلايا التي حصلت على الخلايا الهجينة و اختبار إمكانية الجين على التعبير عن الصفة المستهدفة في المضيف.

6- تحديد إمكانية انتقال الجين المكون عبر الأجيال باستخدام طرائق التربية و التحسين التقليدية.

استخدام كلونة الجين في المجالات المختلفة

انتشرت تطبيقات كلونة الجين في مختلف الاختصاصات منها الطبية ، الزراعية ، الصناعية، البيئية و غيرها ، و من التطبيقات المهمة لكلونة الجين في المجال الزراعي هي إنتاج النباتات المحورة وراثيا التي تحمل صفات جديدة لايمتلكها النوع مثل مقاومة المسببات المرضية ، مقاومة الحشرات ، أو مقاومة الظروف البيئية المتطرفة مثل الملوحة أو الجفاف ، فضلا عن إمكانية تحسين إنتاجيتها الكمية و النوعية . و قد أشار Key و آخرون (2008) إلى إنتاج الذرة الصفراء المحورة وراثيا في الولايات المتحدة و المقاومة للحشرات و التي يجري زراعتها في مساحة 10.6 مليون هكتار و تمثل 35% من إنتاج الذرة الكلية في الولايات المتحدة، فضلا عن إنتاج الصويا ، القطن المحور وراثيا.

وتستخدم تقنية كلونة الجين في إنتاج البروتينات و المستحضرات الصيدلانية من خلال الحيوانات المحورة وراثيا.

الجدل في استخدام الأغذية المحورة وراثيا

وهناك بعض الجوانب التي أثارت النقاش حول تقنية نقل الجينات و آثارها المحتملة على صحة المجتمع البشري منها :

1- إن استخدام الجينات الانتقائية *selectable marker gene* للتعرف على الخلايا المتحولة (التي تحمل الجين الغريب) مثل جينات المقاومة للمضادات الحيوية (مثل *tetracycline* في الخلايا البكتيرية ، *kanamycin* في الخلايا النباتية)، حيث تقتل المضادات الحيوية الموجودة في الوسط الزراعي الخلايا النباتية الطبيعية بينما تبقى الخلايا المتحولة لأنها تحمل جين المقاومة للمضاد الحيوي ، و تظهر مخاطر هذه التقنية من خلال إمكانية انتشار المقاومة للمضادات الحيوية إلى العوائل البكتيرية الموجودة في التربة أو في القناة الهضمية للإنسان بعد تناول الغذاء بالرغم من انخفاض احتمالية حدوث هذه المخاطر (Key و آخرون ، 2008).

2- إمكانية انتقال جينات أخرى مع قطعة الجين المكلونة المدروسة ، و بالطبع لا تكمن المخاطر في الدنا بحد ذاته لأن الإنسان يتناوله مع الأطعمة و لكن في التوليفات الجينية التي يمكن حدوثها ، و قد استجاب العاملون في هذا المجال لإنتاج اصغر القطع التي تتضمن الجين المستهدف بالكلونة.

3- تشير الدراسات الوراثية إن النباتات المحورة وراثيا تظهر عدد اكبر من الطفرات مقارنة بالنباتات الطبيعية ، و قد يرجع ذلك إلى الطريقة المتبعة في إنتاج النباتات المحورة وراثيا. و من الناحية النظرية فان هذه النباتات قد ينتج عنها منتج بقيمة غذائية منخفضة أو زيادة مستويات المواد المثيرة للتحسس أو السموم .

وراثة العشائر و الوراثة الكمية

وراثة العشائر

يعد علم وراثة العشائر احد فروع علم الوراثة المهمة و يهتم بدراسة عشائر الكائنات الحية و بذلك تكون العشيرة هي الوحدة الأساسية في الدراسة، و نشأ علم وراثة العشائر في الثلث الأول من القرن العشرين من خلال تبني مفاهيم جديدة لوصف الخصائص الوراثية للعشيرة أساسها تكرارات التراكيب الوراثية و تكرارات الجينات في العشيرة، و يشير حسين (2002) إلى أن المتخصص في مجال وراثة العشائر لابد أن يكون قد درس علم الإحصاء البيولوجي ليتمكن من دراسة سلوك الصفات الكمية التي يجري قياسها ضمن برامج التربية و التحسين للحيوان و النبات. تهتم وراثة العشائر بدراسة الاختلافات الاليلية بين مجاميع الأفراد و انتقال هذه الاختلافات الاليلية من جيل الآباء إلى جيل الأبناء جيلا بعد آخر، و دراسة التغيرات المؤقتة التي تحدث في التكوين الوراثي للعشيرة بتأثير قوى التطور المنتظمة و العشوائية.

أشار Snustad و Simmons (2012) إلى أن نظرية وراثة العشائر هي نظرية تكرارات الاليلات، إذ إن كل جين يتواجد في عدة صور اليلية و عند التركيز على جين معين في جينوم الكائن ثنائي المجموعة الكروموسومية فان التركيب الوراثي للفرد إما أن يكون متماثلاً أو خليطاً، و يمكن حساب تكرارات التراكيب الوراثية المتماثلة و التراكيب الوراثية الخليطة الموجودة في العشيرة، فضلا عن إمكانية تقدير تكرار كل اليل في العشيرة، و تمثل عمليات حساب تكرار التراكيب الوراثية و تكرار الجين الأساس النظري لوراثة العشائر.

تقدير تكرارات التراكيب الوراثية و تكرارات الجينات

تتواجد عشائر الكائنات الحية في الطبيعة بأعداد كبيرة و بذلك يكون من الصعوبة دراسة جميع أفرادها، لذلك تؤخذ عينات من هذه العشائر لدراستها، ففي دراسة لتحديد تكرارات التراكيب الوراثية لأنواع الدم (Blood types) M و N في الإنسان ، المعروف أن أنواع الدم يجري تحديدها من اليلين في الموقع الجيني على الكروموسوم الرابع في الإنسان. يكون الاليل L^M مسؤولاً عن إنتاج نوع الدم M بينما الاليل L^N يحدد نوع الدم N ، و تكون الأفراد الحاملة لكلا الاليلين خليطة التركيب الوراثي $L^M L^N$ و تحدد نوع الدم MN . و لتقدير تكرارات الاليلات L^M و L^N في العشيرة فإننا نقوم بتقدير نسبة كل اليل من مجموع الاليلات الموجودة في العشيرة، و سنتناول المثال الموضحة بياناته في أدناه :

نوع الدم	التركيب الوراثي	عدد الافراد
M	$L^M L^M$	1787
MN	$L^M L^N$	3039
N	$L^N L^N$	1303
المجموع		6129

توضح هذه البيانات أنواع الدم في عشيرة من السكان يمكن استعمالها لحساب تكرارات التركيب الوراثية Genotype frequency و تكرارات الاليلات (الجينات) Gene frequency وفق الآتي : لحساب تكرارات التركيب الوراثية يجب أن تصنف العشيرة حسب التركيب الوراثية إلى مجاميع، ثم حساب عدد الأفراد الذين ينتمون إلى كل تركيب وراثي، و يمثل تكرار التركيب الوراثي المحدد نسبة هذا التركيب في العشيرة و في مثالنا السابق يكون تكرار التركيب الوراثية الثلاثة هي :

نوع الدم	التركيب الوراثي	تكرار التركيب الوراثي
M	$L^M L^M$	$1787 / 6129 = 0.29$
MN	$L^M L^N$	$3039 / 6129 = 0.50$
N	$L^N L^N$	$1303 / 6129 = 0.21$
المجموع		$= 1.00$

و نلاحظ إن مجموع تكرارات التركيب الوراثية في العشيرة تساوي واحداً.

أما حساب تكرارات الجينات من هذه البيانات فيمثل نسبة الجين في العشيرة من جميع الجينات الموجودة في العشيرة لهذا الموقع الجيني و بسبب إن الإنسان ثنائي المجموعة الكروموسومية فان المجموع الكلي للجينات في العشيرة لهذا الموقع هو : $12258 = 6129 \times 2$ ، و لحساب تكرار الجين L^M نقوم بضرب عدد الأفراد في التركيب الوراثي المتماثل للجين $L^M L^M$ بالعدد 2 (لان كل فرد يمتلك جينين) و نجمعه مع عدد الأفراد الخليطة $L^M L^N$ و كما يأتي :

$$F(L^M) = (2 \times 1787) + 3039 / 12258 = 0.5395$$

و نقوم بنفس العملية لحساب تكرار الجين L^N و ذلك بضرب عدد الأفراد بالتركيب الوراثي L^N بالعدد 2 و نجمعه مع عدد الأفراد الخليطة و نحصل على الآتي :

$$F(L^N) = (2 \times 1303) + 3039 / 12258 = 0.4605$$

و إذا رمزنا إلى تكرار الاليل L^M بالرمز p و للاليل L^N بالرمز q نلاحظ أن مجموع التكرارات $p+q = 1$.

اتزان هاردي واينبرغ Hardy – Weinberg Equilibrium

خلال العقد الأول من القرن العشرين نشر كل من عالم الرياضيات الانجليزي G. H. Hardy و الطبيب الألماني Wilhelm Weinberg و تحديدا في عام 1908 بحوثهم لوصف العلاقة الحسابية بين تكرار الاليلات و تكرار التراكيب الوراثية، و سميت هذه العلاقة قاعدة هاردي – واينبرغ Hardy – Weinberg principle و يمكن من خلالها التنبؤ بتكرار التراكيب الوراثية للعشيرة للجيل القادم من خلال معرفة تكرار الاليلات في العشيرة . و يوضح Falconer (1996) إن قاعدة هاردي – واينبرغ تشير إلى : في العشيرة الكبيرة عشوائية التزاوج ، تبقى تكرارات الجينات و تكرارات التراكيب الوراثية ثابتة من جيل لآخر في غياب الهجرة ، الطفرة و الانتخاب . و يقصد بالعشيرة الكبيرة أن تكون بالمئات و ليس بالعشرات.

إذا تابعنا انعزال موقع جيني يحتله اليلين هما A و a و كان تكرار الاليل A هو p و تكرار الاليل a هو q ، و بافتراض حصول التزاوج العشوائي بين أفراد العشيرة فان التراكيب الوراثية ثنائية المجموعة الكروموسومية تتشكل في الجيل القادم بصورة عشوائية من اتحاد الكميات الذكرية و الأنثوية و كما يأتي:

		الكميات الانثوية	
		$A (p)$	$a (q)$
الكميات الذكرية	$A (p)$	AA p^2	Aa pq
	$a (q)$	Aa pq	aa q^2

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

نلاحظ إن احتمال تكوين التركيب الوراثي AA هو p^2 ، و احتمال تكوين التركيب الوراثي aa هو q^2 ، بينما تكون احتمالية تكوين التركيب الوراثي الخليط Aa هو $2pq$ ، و يكون محصلة جمع الاحتمالات هي واحد.

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

إن الافتراضات الرئيسية لاتزان هاردي- واينبرغ تتضمن أن يتزوج أفراد العشيرة عشوائيا و ينتج عن ذلك مستودع من الكميات يوفر الفرصة من خلال عملية الإخصاب تكوين توليفات عشوائية من الزايكوت في الجيل القادم، و بافتراض إن هذه التراكيب للزايكوت تمتلك نفس القدرة على البقاء لتصل إلى مرحلة البلوغ (غياب الانتخاب الطبيعي)، في هذه الحالة يتم المحافظة على تكرار التراكيب الوراثية في العشيرة.

اختبار اتزان العشيرة وفق قاعدة هاردي – واينبرغ

لتوضيح كيفية تطبيق قاعدة هاردي – واينبرغ في العشائر الطبيعية، نعود إلى مثالنا حول أنواع الدم M-N في الإنسان، لقد قمنا من خلال البيانات السابقة بتقدير تكرار الاليل L^M ($p = 0.5395$) و تكرار الاليل L^N ($q = 0.4605$) و باستعمال هذه التكرارات وفق قاعدة هاردي – واينبرغ يمكننا التنبؤ بتكرارات التراكيب الوراثية لأنواع الدم وكما يأتي:

تكرار التركيب الوراثي	التركيب الوراثي
$p^2 = (0.5395)^2 = 0.2911$	$L^M L^M$
$2pq = 2(0.5395)(0.4605) = 0.4968$	$L^M L^N$
$q^2 = (0.4605)^2 = 0.2121$	$L^N L^N$

و لاختبار مدى توافق هذا التنبؤ مع البيانات الأصلية التي تم تقدير تكرارات الاليلات منها، نقوم بمقارنة أعداد التراكيب الوراثية المشاهدة مع أعداد التراكيب الوراثية المتوقعة بموجب قاعدة هاردي – واينبرغ و يمكننا الحصول على الأعداد المتوقعة من خلال ضرب تكرارات التراكيب الوراثية المتوقعة مع العدد الكلي للعينة (6129) التي يجري دراستها و منها نحصل على الأعداد الآتية:

العدد المتوقع	التركيب الوراثي
$0.2911 \times 6129 = 1784.2$	$L^M L^M$
$0.4968 \times 6129 = 3044.8$	$L^M L^N$
$0.2121 \times 6129 = 1300.0$	$L^N L^N$

و نقوم باستعمال اختبار مربع كاي لحسن المطابقة لتحديد معنوية انحراف الأعداد المشاهدة عن الأعداد المتوقعة و كما يأتي :

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

$$\chi^2 = \frac{(1787 - 1784.2)^2}{1784.2} + \frac{(3039 - 3044.8)^2}{3044.8} + \frac{(1303 - 1300.0)^2}{1300.0} = 0.0223$$

يتم مقارنة قيمة مربع كاي المحسوبة (0.0223) مع القيمة الجدولية لمربع كاي عند درجات حرية ($v = 3 - 2 = 1$) ، و السبب في إنقاص درجتين من عدد الطرز الوراثية (3) :

1- جرى طرح درجة حرية واحدة بسبب إن الأعداد المتوقعة هي ثابتة وفق حجم العينة المستخدمة.

2- جرى طرح درجة حرية ثانية بسبب تقديرنا لتكرار الجين L^M مباشرة (p) من بيانات العينة.

أما السؤال عن سبب عدم طرح درجة حرية عن تقدير تكرار الجين L^N و ذلك لإمكانية تقديرها بشكل غير مباشر من خلال العلاقة : $q = 1 - p$

و نحصل على القيمة الجدولية لمربع كاي من الجدول 1 باستعمال درجات الحرية و مستوى المعنوية ، و نلاحظ إن القيمة الجدولية عند درجات حرية (1) و مستوى معنوية 0.05 بلغت 3.841 و التي تكون اكبر من القيمة المحسوبة (0.022) و نتيجة لذلك نقبل بفرضية العدم التي تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين الأعداد المشاهدة و الأعداد المتوقعة و إن هناك حسن مطابقة بينهما. و نستنتج من ذلك إن التراكيب الوراثية لأنواع الدم في الإنسان متوافقة مع النسب الناتجة عن قاعدة هاردي - واينبرغ.

الجدول 1. القيم النظرية لاختبار مربع كاي عند مستويات معنوية مختلفة .

درجات الحرية df	مستوى المعنوية			
	0.05	0.025	0.01	0.005
1	3.84	5.02	6.63	7.88
2	5.99	7.38	9.21	10.60
3	7.82	9.35	11.35	12.84
4	9.49	11.14	13.28	14.86
5	11.07	12.83	15.09	16.75
6	12.59	14.45	16.81	18.55
7	14.07	16.01	18.48	20.28
8	15.51	17.54	20.09	21.96
9	16.92	19.02	21.66	23.59
10	18.31	20.48	23.21	25.19
11	19.68	21.92	24.72	26.75
12	21.03	23.34	26.21	28.30
13	22.36	24.74	27.69	29.82
14	23.69	26.12	29.14	31.31

تقدير تكرارات الجينات في العشيرة

لقد تكلمنا سابقا على التنبؤ بتكرار التراكيب الوراثية عندما يتوافر لدينا تكرار الجين، و الآن نقوم بوصف آلية التنبؤ بتكرار الجين عندما يتوفر لدينا تكرار التراكيب الوراثية، على سبيل المثال في الولايات المتحدة نسبة ظهور المرض الوراثي (PKU) phenylketonuria حوالي 0.0001 و الذي يمثل تكرار التركيب الوراثي المتنحي (لان الحالة ناتجة عن اليل جسيمي طافر متنحٍ)، و في هذه الحالة لا يمكننا التمييز بين تكرار التراكيب الوراثية المتماثلة السائدة و تكرار التركيب الوراثي الخليط لأنها تحمل نفس الشكل المظهري، و لذلك نستعمل قاعدة هاردي – واينبرغ لتقدير تكرار الاليل المتنحي و كما يأتي:

1- نسبة ظهور المرض 0.0001 تمثل تكرار التركيب الوراثي المتماثل المتنحي وهي

$$. q^2 = 0.0001$$

2- بافتراض حصول التزاوج العشوائي في العشيرة فان تكرار الاليل المتنحي هو الجذر التربيعي لتكرار التركيب الوراثي المتمثل المتنحي وفق الآتي :

$$q^2 = 0.0001$$

$$q = \sqrt{0.0001} = 0.01$$

بمعنى إن واحداً بالمائة من الاليلات في العشيرة هي من الاليل الطافر و بذلك يكون تكرار الاليل السائد هو :

$$p = 1 - q$$

$$p = 1 - 0.01$$

$$p = 0.99$$

و نتيجة لذلك يكون تكرار الأفراد بالتركيب الوراثي الخليط الحامل للمرض في العشيرة هو :

$$2pq = 2(0.99)(0.01)$$

$$= 0.0198$$

تستخدم قاعدة هاردي – واينبرغ أيضا في تقدير تكرارات الجينات المرتبطة بالجنس و تكرارات الاليلات المتعددة، ففي حالة الجينات المرتبطة بالجنس sex-linked traits نتابع تكرار الجين الذي يسيطر على رؤية الألوان في الإنسان، إذ يجري تقدير تكرارات الاليلات من خلال تكرارات التراكيب الوراثية في الذكور مباشرة لان تكرارات التراكيب الوراثية تساوي تكرارات الجينات في الذكور لأنها تمتلك كروموسوماً جنسياً واحداً X و بذلك تكون hemizygous و لا توجد في الذكور التراكيب الوراثية الخليطة، أما في الإناث فيجري تطبيق قاعدة هاردي – واينبرغ لتقدير تكرارات الاليلات ، و من الأمثلة المدروسة لتكرار هذا الجين في العشائر البشرية في شمال أوروبا و فيها يكون 88 % من الرجال يمتلكون الرؤيا الطبيعية للألوان و حوالي 12 % مصابون بعمى الألوان، و هكذا فان تكرار الاليل الطبيعي C يساوي $p = 0.88$ و تكرار الاليل المسبب لمرض عمى الألوان c يساوي $q = 0.12$ و بافتراض حصول التزاوج العشوائي في العشيرة، نقوم بحساب تكرارات التراكيب الوراثية في العشيرة كما يأتي :

التشكل المظهري	تكرار التركيب	التركيب الوراثي	جنس الفرد
طبيعي	$p = 0.88$	C	الذكور
عمى الالوان	$q = 0.12$	c	
طبيعي	$p^2 = 0.77$	CC	الإناث
طبيعي	$2pq = 0.21$	Cc	
عمى الالوان	$q^2 = 0.02$	cc	

تكون تكرارات الجينات في الإناث هي :

$$C = p = P + 0.5(H)$$

$$p = 0.77 + 0.5(0.21)$$

$$p = 0.875$$

$$c = q = Q + 0.5(H)$$

$$q = 0.02 + 0.5(0.21)$$

$$q = 0.125$$

المعروف من سلوك الجينات المرتبطة بالجنس إن الذكور تستلم كروموسوم X من أمهاتها لذلك يكون تكرار الجين المرتبط بالجنس في الذكور مساويا لتكرار الجين لأمهاتها في الجيل السابق ، أما الإناث فإنها تستلم احد كروموسومات الجنس من الآباء و الكروموسوم الآخر من الأمهات و بذلك يكون تكرار الجين المرتبط بالجنس في الإناث مساويا إلى متوسط تكرار الجين للآباء و الأمهات في الجيل السابق. ولغرض حساب تكرار الجين في العشيرة ، أشار Falconer (1990) إلى أن إسهام الذكور في تكرار الجين للعشيرة بنسبة الثلث بينما يكون إسهام الإناث بنسبة الثلثين بسبب امتلاك الإناث كروموسومين X و امتلاك الذكور كروموسوم X واحد ، و بذلك يكون التكرار في العشيرة :

$$p = (1/3)p_m + (2/3)p_f$$

أما حساب تكرار الايلاط المتعددة فيتم من خلال حساب احد الايلاط وتثبيت الايلاط الأخرى و التعامل معها بمثابة اليل واحد في كل مرة في الموقع الجيني الواحد، و يكون التعامل في عملية الحساب في صيغة الايلاطين، على سبيل المثال يتم تحديد مجاميع الدم ABO في الإنسان بواسطة

ثلاثة اليلات هي I^A ، I^B و i و تكرارات هذه الاليلات يرمز لها p ، q و r على التوالي، و تحدد تكرارات التراكيب الوراثية الستة من خلال المفكوك :

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr$$

و كما موضح في أدناه:

التكرار	التركيب الوراثي	مجموعة الدم
p^2	$I^A I^A$	A
$2pr$	$I^A i$	
q^2	$I^B I^B$	B
$2qr$	$I^B i$	
$2pq$	$I^A I^B$	AB
r^2	ii	O

لنأخذ مثالا نقوم من خلاله بحساب تكرارات الاليلات المتعددة لمجاميع الدم في الإنسان ، توافرت البيانات أدناه من خلال Falconer (1990) و التي تمثل تكرارات مجموعات الدم المشاهدة في عينة من رجال الطيران في المملكة المتحدة و بافتراض اتزان هاردي – واينبرغ :

التكرار المتوقَّع	التكرار المتَّساهد	التركيب الوراثي	مجموعة الدم
p^2	0.41716	$I^A I^A$	A
$2pr$		$I^A i$	
q^2	0.0856	$I^B I^B$	B
$2qr$		$I^B i$	
r^2	0.46684	ii	O
$2pq$	0.0304	$I^A I^B$	AB

نقوم أو لا بحساب تكرار الاليل المتتحي لمجموعة الدم O (r) و ذلك بأخذ الجذر التربيعي لتكرار التركيب الوراثي :

$$r = \sqrt{r^2}$$

$$r = \sqrt{0.46684} = 0.6833$$

و لحساب تكرار الاليل لمجموعة الدم A و هو p نقوم بجمع تكرار التراكيب الوراثية لمجموعتي الدم B و O ثم نأخذ الجذر التربيعي للمجموع و نطرحه من 1 فنحصل على p و كما يأتي :

$$p = 1 - \sqrt{B + O}$$

$$p = 1 - \sqrt{0.0856 + 0.46684} = 0.2567$$

ثم نقوم بحساب تكرار الاليل لمجموعة الدم B و هو q نقوم بجمع تكرار التراكيب الوراثية لمجموعتي الدم A و O ثم نأخذ الجذر التربيعي للمجموع و نطرحه من 1 فنحصل على q و كما يأتي :

$$q = 1 - \sqrt{A + O}$$

$$q = 1 - \sqrt{0.41716 + 0.46684} = 0.0598$$

و بذلك حصلنا على تكرارات الاليلات الثلاثة ، و نلاحظ إن عملية الجمع لهذه الاليلات تساوي 0.9998 و إن هذا الفرق البسيط عن الواحد يعود إلى تباين العينات.

شروط اتزان هاردي – واينبرغ

هناك العديد من الأسباب التي تعيق تطبيق قاعدة هاردي واينبرغ في بعض العشائر، إذ توجد شروط لا بد من توفرها لتكون قاعدة هاردي – واينبرغ صحيحة ومنها:

1- التزاوج العشوائي Random mating

يمثل التزاوج العشوائي لأفراد العشيرة، الافتراض الرئيس لقاعدة هاردي - واينبرغ و إذا كان نظام التزاوج في العشيرة غير عشوائي فان العلاقة بين تكرار الجينات و تكرار التراكيب الوراثية تكون غير صحيحة وفق قاعدة الاتزان، على سبيل المثال ، قد يتزاوج الأفراد في العشيرة بناء على صلة القرابة الوراثية (تزاوج الأقارب) و ينتج عن ذلك انخفاض في تكرار التراكيب الوراثية الخليطة و زيادة في تكرار التراكيب الوراثية المتماثلة مقارنة بتكرارات التراكيب الوراثية وفق قاعدة هاردي واينبرغ .

يمكننا التعامل حسابيا مع هذا التأثير من خلال استعمال معامل التربية الداخلية F و إذا افترضنا أن الموقع يتكون من اليدين A و a و بتكرار p و q و أن معامل التربية الداخلية في العشيرة هو F ، يكون تكرار التركيب الوراثي في هذه العشيرة :

تكرار التراكيب الوراثية بوجود التربية الداخلية	التركيب الوراثي
$p^2 + pqF$	AA
$2pq - 2pqF$	Aa
$q^2 + pqF$	aa

و من خلال ملاحظة هذه الصيغ يكون واضحا زيادة تكرار التراكيب الوراثية المتماثلة و انخفاض تكرار التركيب الوراثي الخليط مقارنة بتكرارات قاعدة الاتزان، و تكون الزيادة في كل تركيب وراثياً متماثلاً تساوي نصف مقدار الانخفاض في التركيب الخليط. و إن التغير في تكرار التركيب الوراثي يتناسب مع معامل التربية الداخلية ، ففي العشيرة التي يكون معامل التربية الداخلية فيها كاملاً ($F = 1$) تفقد التراكيب الوراثية الخليطة و كما يأتي :

تكرار التراكيب الوراثية عندما يكون $F=1$	التركيب الوراثي
p	AA
0	Aa
q	aa

و يحدث التزاوج العشوائي بين أفراد تركيباً وراثياً معيناً في العشيرة بنسبة تتوافق مع تكرار التركيب الوراثي في العشيرة .

2- الاختلافات في قابلية الحياة unequal survival

إذا كان هناك اختلافات في قابلية الحياة للزايكوت في التراكيب الوراثية المختلفة الناتجة عن التزاوج العشوائي في العشيرة ، فإننا لا نتوقع أن نجد تكرارات تراكيب وراثية مطابقة لقاعدة هاردي – واينبرغ . على سبيل المثال، في عشيرة حشرة الدروسوفيليا تتزاوج عشوائياً لتأخذ موقعاً جينياً جسمياً يشغله الايلان $A1$ و $A2$ و عندما فحصنا عينة مكونة من 200 فرد بالغ في العشيرة حصلنا على البيانات الآتية:

Genotype	Observed Number	Expected Number
A_1A_1	26	46.1
A_1A_2	140	99.8
A_2A_2	34	54.1

يمكننا حساب الأعداد المتوقعة من خلال تقدير تكرارات الأليلين في هذه العينة و كما يأتي :

$$F (A1) = (2 \times 26 + 140) / (2 \times 200) = 0.48$$

$$F (A2) = 1 - 0.48 = 0.52$$

ثم نستخدم الصيغ الخاصة بقاعدة هاردي – واينبرغ لتقدير عدد التراكيب الوراثية المتوقعة . ويبدو واضحاً إن الأعداد المتوقعة لا تتفق مع الأعداد المشاهدة و التي تشير إلى زيادة في عدد التراكيب الوراثية الخليطة و انخفاض في عدد التراكيب الوراثية المتماثلة. إن التفسير لعدم المطابقة بين الأعداد المشاهدة و الأعداد المتوقعة يمكن أن ينتج عن اختلاف التراكيب الوراثية الثلاثة في قابلية الحياة خلال فترة التطور من مرحلة الزيكاوت إلى مرحلة البلوغ ، و فيه يكون التركيب الوراثي الخليط هو الأفضل في قابلية الحياة مقارنة بالتراكيب الوراثية الأخرى .

3- تجزئة العشيرة الكلية population subdivision

يقصد بالتزاوج العشوائي في العشيرة أن يكون لكل فرد في العشيرة القدرة على التزاوج مع أي فرد آخر في العشيرة نتيجة عدم وجود العوائق الجغرافية و البيئية بين أفراد العشيرة .

في العشيرة الطبيعية ، نجد إن العشيرة تكون مقسمة إلى مجاميع ثانوية ، و على سبيل المثال نجد إن عشيرة الأسماك في بحيرة معينة تمتلك تكراراً عالياً لاليل A بينما في بحيرة أخرى يكون تكرار الاليل A منخفضاً بالرغم من توافق تكرار التراكيب الوراثية مع توقعات قاعدة هاردي – واينبرغ ضمن كل بحيرة بشكل مستقل بينما لا يكون هناك توافق مع قاعدة هاردي – واينبرغ في حالة العشيرة الواحدة التي تضم جميع البحيرات، حيث إن التقسيمات الجغرافية تجعل العشيرة متماثلة و هو يعارض افتراض قاعدة هاردي – واينبرغ الذي يشير إلى تجانس تكرارات الجينات في العشيرة بكاملها.

4- الهجرة Migration

عند انتقال الأفراد من مقاطعة إلى أخرى فإنها تشير إلى انتقال المحتوى الجيني لهذه الأفراد إلى عشيرة أخرى مستوطنة في هذه المقاطعة، إن دخول جينات جديدة إلى العشيرة يعمل على تغيير تكرار الجينات و تكرار التراكيب الوراثية في العشيرة و يؤثر على اتزان هاردي – واينبرغ، على سبيل المثال إذا كان لدينا عشيرتان بنفس الحجم تفصل بينهما حواجز جغرافية و كان تكرار الاليلين A و a في العشيرة الأولى هو 0.50 بينما في العشيرة الثانية كان تكرار الاليل A هو 0.80 و تكرار الاليل a هو 0.20 و بافتراض حصول التزاوج العشوائي ضمن كل عشيرة فان تكرار التراكيب الوراثية سوف يختلف في العشيرتين، و بافتراض زوال العوائق الجغرافية بين العشيرتين و اختلاطهما في عشيرة واحدة فان العشيرة الناتجة سيكون فيها تكرار الجينات يمثل معدل التكرارات في العشيرتين و كما يأتي:

$$F (A) = (0.5 + 0.8) / 2 = 0.65$$

$$F (a) = (0.5 + 0.2) / 2 = 0.35$$

كما إن تكرار التراكيب الوراثية في العشيرة الجديدة يمثل معدل تكرارات التراكيب الوراثية في العشيرتين و كما يأتي:

$$F (AA) = (0.25 + 0.64) / 2 = 0.445$$

$$F (Aa) = (0.50 + 0.32) / 2 = 0.410$$

$$F (aa) = (0.25 + 0.04) / 2 = 0.145$$

و نلاحظ إن تكرارات التراكيب الوراثية المشاهدة لا تساوي التكرارات المتوقعة للتراكيب الوراثية وفق قاعدة هاردي-واينبرغ، إذ يمكننا حساب التكرارات المتوقعة باستعمال تكرار الجين كما يأتي:

$$F (AA) = (0.65)^2 = 0.422$$

$$F (Aa) = 2 \times (0.65) (0.35) = 0.455$$

$$F (aa) = (0.35)^2 = 0.123$$

إن الاختلاف بين تكرارات التراكيب الوراثية المشاهدة و المتوقعة يشير إلى عدم حصول التزاوج العشوائي داخل العشيرة الجديدة، و في حالة تزاوج العشيرة الجديدة عشوائيا لمدة جيل واحد سيؤدي إلى الاتزان وفق قاعدة هاردي-واينبرغ . من ناحية أخرى، تؤدي هجرة

الأفراد من عشيرة إلى أخرى إلى اضطراب مؤقت في ائزان العشيرة بشكل مشابه إلى عدم حصول التزاوج العشوائي. و تعد الهجرة من العوامل المنتظمة المؤثرة على تكرار الجين و يمكن التنبؤ بحجم و اتجاه هذا التغيير ، و لتقدير تكرار الجين بعد جيل واحد من حصول الهجرة لابد من معرفة نسبة المهاجرين في العشيرة و نرمز لها m و نرمز لتكرار الجين في العشيرة الأصلية q_0 ، و تكرار الجين في العشيرة المهاجرة q_m و بذلك يكون تكرار الجين في الجيل القادم q_1 وفق الصيغة الآتية :

$$\begin{aligned} q_1 &= mq_m + (1 - m)q_0 \\ &= m(q_m - q_0) + q_0 \end{aligned}$$

و يمكن تقدير حجم التغيير في تكرار الجين الناتج عن الهجرة وفق الصيغة الآتية :

$$\begin{aligned} \Delta q &= q_1 - q_0 \\ &= m(q_m - q_0) \end{aligned}$$

و لتوضيح ذلك لنفترض المثال الآتي : هاجرت مجموعة من الحيوانات عددها 200 حيوان إلى منطقة يسكنها قطيع من الحيوانات عددها 800 حيوان ، فإذا علمت إن تكرار الجين للحيوانات المهاجرة هو $q_m = 0.4$ و تكرار الجين في العشيرة الأصلية $q_0 = 0.6$. المطلوب : حساب تكرار الجين في العشيرة بعد جيل واحد من الهجرة (q_1) و حساب التغيير في تكرار الجين بعد جيل واحد من حدوث الهجرة .

$$m = 200 / 1000 = 0.2$$

$$q_1 = m(q_m - q_0) + q_0$$

$$q_1 = 0.2 (0.4 - 0.6) + 0.6$$

$$= 0.56$$

و تقدير حجم التغيير في تكرار الجين بعد جيل واحد من الهجرة هو :

$$\Delta q = m(q_m - q_0)$$

$$\Delta q = 0.2 (0.4 - 0.6) = - 0.04$$

و تشير الإشارة السالبة إلى حصول انخفاض في تكرار الجين بهذا المقدار بعد جيل واحد من الهجرة.

5- الطفرة Mutation

أشار Falconer (1990) إلى أن تأثير الطفرات على الخصائص الوراثية للعشيرة تختلف حسب نوع الطفرة من حيث كونها طفرة نادرة الحدوث أو طفرة متكررة.

الطفرة غير المتكررة Non- recurrent mutation

عندما تكون الطفرة نادرة الحدوث ينتج عنها نسخة واحدة من الجين الطافر في العشيرة ، و يمكن ضمن قوانين الاحتمالات أن يفقد هذا الاليل الطافر بعد جيل واحد أو جيلين من حدوث الطفرة نتيجة تباين العينات ، و لذلك فان هذا النوع من الطفرات قليل الأهمية في تغيير تكرار الجين و ذلك يعود إلى أن تكرار الاليل الطافر منخفض جدا في العشيرة .

الطفرة المتكررة Recurrent mutation

إن الطفرة المتكررة تكون سبباً لتغيير تكرار الجين في العشيرة ، إذ إن حدوث الطفرة بانتظام و بتكرار محسوب لا ينتج عنه فقدان الاليل الطافر في العشيرة بسبب تباين العينات ، و لنفترض أن الاليل A1 يطفر إلى الاليل A2 بتكرار يساوي u في كل جيل ، و بذلك تمثل u نسبة الاليلات A1 التي تطفر إلى الاليل A2 خلال جيل كامل، و يكون الفقد في الاليل A1 بمقدار up في الجيل الواحد. و لكن الطفرة تحدث باتجاهين و الطفرة العكسية تؤدي إلى طفور الاليل A2 إلى الاليل البري A1 و بمعدل v ، و هنا يكون التغيير في تكرار الجين بمقدار الفرق بين معدل الطفور باتجاهين.

$$\begin{array}{ccc} A_1 & \frac{u}{v} & A_2 \\ p_0 & & q_0 \end{array} \quad \begin{array}{l} \text{معدل الطفور} \\ \text{تكرارات الاليلات الابتدائية} \end{array}$$

$$\Delta q = up_0 - vq_0$$

و عندما يحدث الاتزان بين اتجاهي الطفور ، يمكن حساب تكرار الاليل في العشيرة وفق الصيغة الآتية:

$$pu = qv$$

$$q = \frac{u}{u+v}$$

ومن خلال الدراسات الوراثية عن تأثير الطفرات في تكرار الجين في العشيرة ، و ملاحظة إن معدل الطفرات الطبيعي الذي يتراوح 10^{-5} إلى 10^{-6} لكل جيل نستنتج إن الطفرة لوحدها غير قادرة على إحداث تغير منظور في العشيرة ضمن الفترات الزمنية التجريبية و إنما يكون أهمية الطفرة من خلال فعلها التراكمي و التأثير التطوري للكائنات.

الانتخاب Selection

افترض جارلس دارون، في وصفه لآلية التطور الطبيعي في العشائر، أن الكائنات الحية تنتج نسلا بأعداد كبيرة لا تتناسب مع موارد البيئة و بذلك يبدأ الصراع بين النسل للحصول على فرصة البقاء في الحياة ، و تعمل الأفراد التي تبقى على قيد الحياة بالتكاثر و نقل صفاتها إلى أبنائها و بعد عدة أجيال من المنافسة تسود الصفات المرتبطة مع المنافسة القوية، و أطلق دارون على هذه العملية تسمية الانتخاب الطبيعي .

إن مناقشة ميكانيكية الانتخاب الطبيعي وفق مفاهيم وراثية يوجب علينا التعامل مع صفات القابلية على الحياة و التكاثر بأنها صفات مظهرية ، و إن هذه الصفات يجري تحديدها عن طريق الجينات ، و يستخدم علماء الوراثة مصطلح المواءمة Fitness للإشارة إلى القابلية على الحياة و التكاثر و يرمز له w ، و كل فرد من العشيرة يمتلك مواءمته الخاصة و فيها يشير الرقم صفر للمواءمة إلى هلاك الفرد أو فشله في التكاثر، و الرقم 1 يشير إلى بقائه في الحياة و إسهامه بفرد واحد في الجيل القادم ، بينما الرقم 2 يشير إلى إسهام الفرد في الجيل القادم باثنين من الأبناء و هكذا. إن معدل المواءمة لأفراد العشيرة ينتج عنها متوسط المواءمة . إن بقاء العشيرة بحجم مستقر يكون فيه معدل المواءمة فيه يساوي 1 يشير إلى أن كل فرد في العشيرة أسهم بمعدل فرد واحد من الأبناء ، و بالطبع نتحدث عن المعدل لان هناك بعض الأفراد ينتجون نسل أكثر من واحد و بالمقابل هناك أفراد يهلكون أو لا يكون لهم أبناء.

لدراسة تأثير الاختلافات في المواءمة بين الأفراد في العشيرة، لنفترض إن المواءمة يجري تحديدها بواسطة جين مفرد ينعزل في اليلين A و a في احد أنواع الحشرات، و لنفترض إن الاليل A يسبب اللون الداكن في الحشرة و هو سائد سيادة تامة على الاليل a الذي يسبب اللون الفاتح ، ففي بيئة الغابات التي تنمو فيها النباتات بكثافة سوف تنمو فيها الحشرات باللون الداكن بشكل أفضل من اللون الفاتح و تبعا لذلك تكون مواءمة التراكيب الوراثية AA و Aa اكبر من مواءمة التركيب الوراثي aa . بالمقابل، في الحقول المفتوحة التي يكون فيها النباتات قليلة نجد إن الحشرات باللون الفاتح قادرة على الحياة أفضل من الحشرات باللون الداكن و تكون المواءمة معكوسة للحالة السابقة .

يمكن التعبير عن هذه العلاقة بصورة رياضية باستعمال مفهوم المواءمة النسبية relative fitness و في هاتين البيئتين نعطي للتركيب الوراثي المتفوق الرقم 1 و يعبر عن مواءمة

التركيب الوراثي في هذه البيئة بينما يتم التعبير عن مواءمة التركيب الوراثي الآخر كانحراف عن الرقم 1 ، و نرسم للانحراف عن المواءمة الكاملة بالرمز s و تسمى معامل الانتخاب selection coefficient و يقيس شدة الانتخاب الطبيعي الذي يوجه ضد التركيب الوراثي في العشيرة ، و يمكننا وضع العلاقة بين التراكيب الوراثية الثلاثة للحشرات في البيئتين كما يأتي:

AA	Aa	aa	التركيب الوراثي
اللون الداكن	اللون الداكن	اللون الفاتح	الشكل المظهري
1	1	$1 - s_1$	المواءمة النسبية في بيئة الغابات
$1 - s_2$	$1 - s_2$	1	المواءمة النسبية في بيئة الحقول

نجد من العلاقة السابقة إن التركيب الوراثي aa يمتلك مواءمة ضعيفة في بيئة الغابات مقارنة بالتركيبين AA و Aa و أن مقدار ضعف المواءمة يعتمد على قيمة معامل الانتخاب s ، ففي حالة $s = 1$ يكون الاليل a ذا تأثير مميت و بالتالي فالمواءمة تساوي صفراً. و لمتابعة تأثير الانتخاب الطبيعي على تكرار الاليل ، نركز على عشيرة الحشرات في بيئة الغابات و نفترض إن التكرار الابتدائي للاليل A يساوي $p = 0.50$ و تكرار الاليل a يساوي $q = 0.50$ و معامل الانتخاب $S_1 = 0.1$ و إن العشيرة تتزوج عشوائياً ، كما إن العشيرة متزنة عند حدوث الإخصاب و بذلك فإن الاختلافات في قابلية الحياة بين التراكيب الوراثية سيؤدي إلى تغيير التكرارات مع الوصول إلى مرحلة بلوغ الحشرات، و في ضوء الافتراضات المذكورة تكون التكرارات كما يأتي :

AA	Aa	aa	التركيب الوراثي
اللون الداكن	اللون الداكن	اللون الفاتح	الشكل المظهري
1	1	$1 - 0.1 = 0.9$	المواءمة النسبية في بيئة الغابات
$p^2 = 0.25$	$2pq = 0.50$	$q^2 = 0.25$	المواءمة النسبية عند الإخصاب

و بذلك تكون نسبة إسهام التراكيب الوراثية بالكميات حسب تكرار التركيب الوراثي و مواءمته النسبية و كما يأتي :

<i>AA</i>	<i>Aa</i>	<i>aa</i>	التركيب الوراثي
$(0.25) \times 1 = 0.25$	$(0.50) \times 1 = 0.50$	$(0.25) \times (0.9) = 0.225$	المساهمة النسبية في الجيل القادم

و عند قسمة الإسهام النسبي لكل تركيب وراثي على المجموع الكلي نحصل على نسبة الإسهام في الجيل القادم ، وكما يأتي :

AA	Aa	aa	التركيب الوراثي
0.256	0.513	0.231	نسبة المساهمة في الجيل القادم

و يمكننا أن نحسب تكرار الاليل a بعد جيل واحد من الانتخاب :

$$q = 0.231 + 0.5 (0.513) = 0.487$$

وتكون اقل قليلا من التكرار الابتدائي (0.50) ، ونستنتج إن الانتخاب الطبيعي في بيئة الغابات يعمل على استبعاد الاليل a و يقل تكراره في العشيرة نتيجة انخفاض مواءمة التركيب الوراثي aa . أما في بيئة الحقول، نجد إن التركيب الوراثي aa تفوق على التراكيب الوراثية الأخرى لامتلاكه ميزة انتخابية، وكما يأتي :

<i>AA</i>	<i>Aa</i>	<i>aa</i>	التركيب الوراثي
$1 - 0.1 = 0.9$	$1 - 0.1 = 0.9$	1	المواءمة النسبية
0.25	0.50	0.25	التكرار

و بعد جيل واحد من الانتخاب في بيئة الحقول يصبح تكرار الاليل a يساوي $q = 0.513$ و هو أعلى من التكرار الابتدائي (0.50) .

الانتخاب يفضل التركيب الوراثي الخليط Selection favouring heterozygous

تظهر بعض الحالات في العشائر الطبيعية يكون فيها التركيب الوراثي الخليط أكثر مواءمة من التراكيب الوراثية المتماثلة ، و هو ناتج عن تعبير فوق السيادة المرتبط بالمواءمة ، و في هذه الحالة يعمل الانتخاب على أن تكون تكرارات الجينات في حالة اتزان عند القيم المتوسطة لكلا الأليلين و ذلك يضمن بقاءهما معا في العشيرة و يكون تكرار الجين هو :

$$q = \frac{S_1}{S_1 + S_2}$$

حيث يمثل S_1 معامل الانتخاب ضد المتماثل السائد ، و S_2 معامل الانتخاب ضد المتماثل المتنحي.

و تشير الدراسات الوراثية إلى أن تفضيل الطبيعة للتركيب الوراثي الخليط و زيادة تكراره مقارنة بالتراكيب الوراثية المتماثلة لا يعود إلى تفوق التركيب الوراثي الخليط في صفة المواءمة و لكن لوجود مشاكل تتعلق بالمواءمة في التراكيب الوراثية المتماثلة ، على سبيل المثال يعد مرض فقر الدم المنجلي Sickle – Cell anemia مثلاً معروفاً في تفضيل الانتخاب للتركيب الوراثية الخليطة و فيه ينتج المرض عن وجود الهيموجلوبين غير الطبيعي بالشكل S و تعاني التراكيب الوراثية المتماثلة لللاليل المرضي من فقر الدم الحاد الذي يؤدي إلى الموت ، و مع ذلك نجد إن تكرار الأليل المرضي عالٍ في العشائر الإفريقية أو المنحدرة منها بدرجة لا يمكن أن تعزى إلى التوازن بين الطفرة و الانتخاب، و من دراسة هذه الحالة تبين إن انخفاض المواءمة للتركيب الوراثي لللاليل المرضي ناتج عن فقر الدم الحاد و كذلك انخفاض مواءمة التركيب الوراثي المتماثل الطبيعي نتيجة الحساسية من إصابته بمرض الملاريا المستوطن في تلك البيئات ، و إن هذه المشاكل المرتبطة بالمواءمة التي تظهر في التراكيب الوراثية المتماثلة أدت إلى ارتفاع تكرار التركيب الوراثي الخليط الذي لا يعاني من هذه المشاكل.

التوازن بين الطفرة و الانتخاب Balance between mutation and selection

أن الحديث عن العوامل المؤثرة في عميلة التطور (مثل الطفرة و الانتخاب) بصورة منفصلة يكون غير واقعي ، ففي العشائر الطبيعية تعمل هذه المؤثرات بصورة مشتركة ، و يجب أن نتعرف على العوامل الأكثر فعالية في تغيير تكرار الجين، فمن المعروف إن الطفرات المتكررة تعمل على استحداث اليلات جديدة في العشيرة تكون بتكرارات منخفضة و يكون الاتجاه العام هو إن الطفرة تعمل على زيادة تكرار هذه اليلات ، بينما يعمل الانتخاب على استبعاد هذه اليلات من العشيرة و بقوة تتناسب مع معامل الانتخاب s ، و من ملاحظة تأثير

القوتين على تكرار الجين نجد إن تأثير الطفرة يكون مؤثرا في زيادة التكرار عندما يكون تكرار الجين الطافر منخفضا في العشيرة (و ذلك بوجود وفرة من الاليلات غير الطافرة التي يمكن أن يحدث لها الطفرة) بينما يكون الانتخاب اقل فعالية عندما يكون تكرار الجين نادرا في العشيرة (أي إن الفعالية النسبية للقوتين تعتمد على تكرار الجين في العشيرة) و أن عمل القوتين معا لفترة طويلة ينشأ عنه حالة الاتزان equilibrium ، و عندما يكون الانتخاب موجها ضد الاليل المتنحي يمكن حساب تكرار الاليل المتنحي في حالة الاتزان باستخدام الصيغة الآتية :

$$q = \sqrt{\frac{u}{s}}$$

حيث يمثل u معدل الطفور و s معامل الانتخاب ضد الاليل المتنحي .

و يمكن لقوى أخرى تعمل على تعديل نقطة الاتزان بين الطفرة و الانتخاب ، إذ يزداد معدل حدوث الطفرة بتأثيرات الإشعاع و التعرض للمواد الكيماوية ، و من جهة أخرى يمكن لمعامل الانتخاب s أن يقل كثيرا بتأثير الرعاية الصحية أو الاستئناس لعشائر الحيوانات و النباتات و رعايتها أو بالعكس يمكن أن يزداد معامل الانتخاب عند استخدام معايير تحسين النسل البشري Eugenic التي تشدد على استبعاد التراكيب الوراثية غير المرغوبة في المجتمع البشري. إن هذه القوى التي تعمل على تغيير حالة الاتزان بين الطفرة و الانتخاب تؤدي إلى حصول نقطة جديدة من الاتزان بين القوتين على سبيل المثال يؤدي زيادة معدل الطفرات بتأثير الإشعاع (أو تقليل معامل الانتخاب إلى النصف) إلى مضاعفة تكرار التراكيب الوراثية المتماثلة للاليل الطافر.

الانجراف الوراثي Genetic drift

يحدث الانجراف الوراثي بتأثير الصدفة التي تحدث عشوائيا في العشائر الصغيرة و الكبيرة على حد سواء ، إلا أن تأثيرها يكون مؤثرا في تغيير تكرار الجين في العشائر الصغيرة، و لذلك فإن العملية عشوائية في تأثيرها على تكرار الجين بطريقة يمكن التنبؤ بمقدار التغيير و لكن لا يمكننا التنبؤ باتجاه التغيير في تكرار الجين، و قد ينتج ذلك بتأثير التربية الداخلية التي تنشأ في العشائر الصغيرة و التي تؤدي إلى زيادة التراكيب الوراثية المتماثلة و انخفاض التركيب الوراثي الخليط ، و تتباين تكرارات الجينات في العشائر الصغيرة بشكل عشوائي من جيل لآخر، و يمكن وصف الحالة من خلال مثال بسيط ، إذا كان لدينا مجموعة من ثلاثة أفراد و فيهم الذكور بالتركيب الوراثي AA و aa و الأنثى واحدة بالتركيب الوراثي Aa ، و نلاحظ هنا أن تكرار الاليل a في جيل الآباء هو $q = 0.50$ ، فإذا تزاوجت الأنثى بالصدفة مع الذكر aa ($Aa \times aa$) فإن النسل الناتج في الجيل القادم يكون تكرار الاليل a يساوي $q = 0.75$ ، بينما إذا تم التزاوج مع الذكر AA بالصدفة ($Aa \times AA$) يكون تكرار الاليل a في النسل الناتج

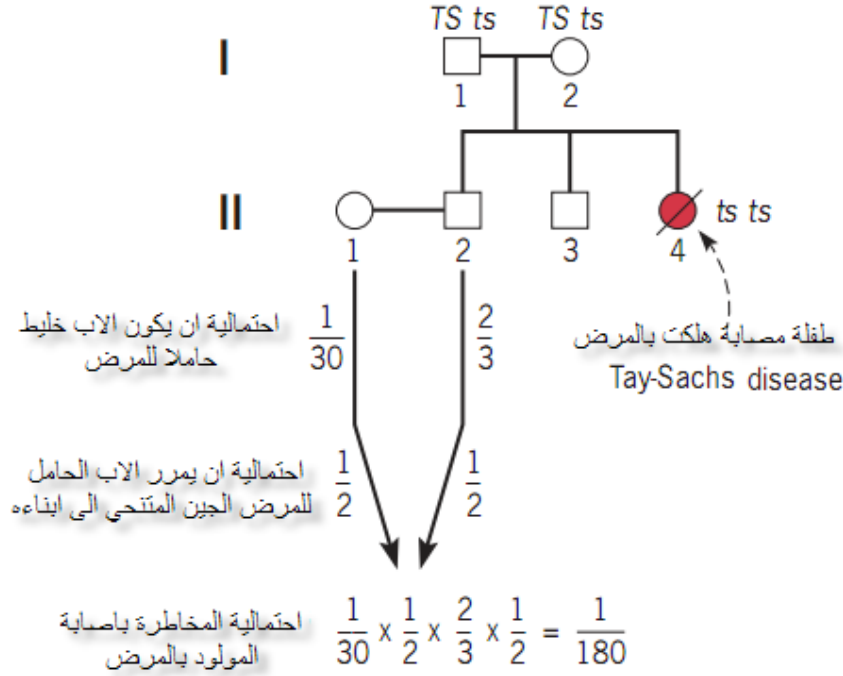
يساوي $q = 0.25$ ، لذلك نشاهد إن الصدفة يمكن أن تؤدي إلى تذبذب في تكرار الاليل من جيل لآخر في العشائر الصغيرة. تكون التأثيرات الرئيسية للانجراف الوراثي تكوين مجاميع من الأفراد متميزة احدهما عن الأخرى نتيجة التماثل في التراكيب الوراثية داخل المجموعة الواحدة بتأثير التربية الداخلية، و على المدى البعيد إذا تم استبعاد أحد الاليلات تماما من العشيرة (يكون معامل الانتخاب يساوي $s = 1$) فان الاليل الآخر سوف يجري تثبيته في العشيرة Fixed allele و يصبح تكراره 1.00 ويشير ذلك إلى أن جميع الأفراد في العشيرة تكون متماثلة التركيب الوراثي لهذا الاليل، أما الفترة التي يحتاجها الاليل ليصبح ثابتا في العشيرة فانه يعتمد على حجم العشيرة حيث إن العشيرة الأكبر عددا تحتاج إلى فترة أطول للوصول إلى تثبيت الاليل.

يمكن توضيح مفهوم الانجراف الوراثي من خلال تأثير المنبوذ Founder effect و تأثير عنق الزجاجة Bottle neck effect . ففي حالة تأثير المنبوذ ، تنعزل مجموعة صغيرة من الأفراد عن العشيرة الكبيرة سواء بتأثيرات جغرافية أو سلوكية، و تتكاثر بشكل مغلق داخل العشيرة الصغيرة و بذلك ينشأ تكرار جديد للجين ضمن العشيرة المنعزلة يختلف عن تكرار الجين في العشيرة الكبيرة التي انفصلت عنها، و تظهر هذه الحالة واضحة في اليلات الجينات النادرة في العشيرة الكبيرة و التي تصبح ذات تكرارات عالية في العشيرة المنعزلة بعد عدد من الأجيال من انتباذها عن العشيرة الأصلية و يحدث ذلك بتأثير التربية الداخلية الذي يكون واضحا في العشائر الصغيرة.

أما في حالة عنق الزجاجة، فينتج الانجراف الوراثي عند تعرض العشيرة الكبيرة أو النوع بكامله إلى كارثة طبيعية تؤدي إلى هلاك معظم الأفراد وبصورة عشوائية باستثناء مجموعة صغيرة استمرت في الحياة بتأثير الصدفة نتيجة عدم تعرضها إلى تأثير الكارثة الطبيعية و بذلك يتحدد تكرار الجينات بموجب المجموعة الصغيرة التي تنمو عبر الأجيال لتؤسس عشيرة كبيرة بتكرارات مختلفة عن العشيرة الأصلية.

استعمال تكرار الجين في الاستشارة الوراثية

يستعمل تكرار الجين في بعض الأحيان بالتزامن مع تحليل سجل النسب لحساب المخاطر التي قد يتعرض لها شخص معين في العشيرة كالإصابة بمرض وراثي، و من ملاحظة الحالة في المخطط الآتي :



نجد إن الآباء حصلوا في الجيل الأول على ثلاثة أطفال، و الطفل الأخير كان يعاني من مرض وراثي Tay – Sachs و ينتج عن طفرة جسمية متنحية (ts) و بتكرار 0.017 في العشيرة المدروسة، وفق هذا التكرار فان احتمالية أن يكون تكرار التراكيب الوراثية الحاملة للمرض وفق اتزان هاردي – واينبرغ :

$$F (Ts ts) = 2 \times (0.017) (0.983) = 0.033$$

و هي تقريبا شخص لكل 30 شخصاً. و بافتراض إن تكرار الجين الطافر ts في عشيرة أخرى هو 0.017 أيضا، ستكون احتمالية أن يكون الشخص حاملا للآليل الطافر حسب قاعدة هاردي – واينبرغ هو 0.033 كما موضح أعلاه ، أما الذكر II-2 من المخطط فتكون احتمالية كونه حاملا للآليل الطافر هو 0.67 ، و لحساب احتمالية المخاطرة في إنجاب الزوجين II-1 و II-2 طفلاً مصاباً بالمرض Tay-Sachs كما يأتي :

$$(1/30) \times (0.50) \times (0.67) \times (0.50) = 0.006$$

الوراثة الكمية Quantitative genetics

تتبع الصفات الكمية في قياسها المتغير المستمر continuous variable و تشمل عدداً كبيراً من الصفات تقع ضمنها الصفات الاقتصادية المهمة مثل وزن الجسم ، إنتاج الحليب ، فعالية الإنزيم ، القابلية على التكاثر و غيرها ، و توجد اختلافات مهمة بين الأفراد

في العشيرة في قياس الصفة الكمية ، إذ إن دراسة الصفة الكمية في العشيرة تتم من خلال قياسها على عينة من الأفراد في العشيرة ، و بذلك يمكن التعامل مع الشكل المظهري للصفة الكمية إلى صيغة أرقام باستخدام أداة قياس مناسبة و يجري تحليل هذه البيانات إحصائياً للوصول إلى فهم للأساس الوراثي للصفة ، لذلك تعد أهم خصائص الصفة الكمية قابلية للقياس.

لقد اعتقد جارلس دارون إن الاختلافات بين الأفراد في قياسات الصفة الكمية توافر المادة الخام التي يعمل عليها الانتخاب الطبيعي و بموجبها تتغير الأنواع تدريجياً، و بعد اكتشاف قوانين مندل و اعتمادها في الوسط العلمي ظهرت صعوبة في التعامل مع الصفات الكمية وفق الأسس المنديلية من حيث صعوبة متابعة انعزالها وفق أسلوب الصفات النوعية البسيطة، و بالرغم من وجود قناعة لدى العلماء إن الصفات الكمية تسيطر عليها الوراثة من خلال عدد المؤثرات منها : وجود ظاهرة التشابه بين الأقارب إذ يزداد التشابه بين الأفراد مع زيادة درجة القرابة بينهما، وفضلاً عن ذلك فإن الصفات الكمية يمكن تغييرها بالانتخاب الوراثي ففي مجال الزراعة نتج عن الانتخاب أفراد متميزين في عدد من الصفات الكمية مثل تقليل شحوم الجسم ، زيادة المقاومة للأمراض و غيرها. و قد توصل العلماء إلى الحقائق الآتية لغرض التعامل الوراثي مع الصفات الكمية :

1- تتأثر الصفة الكمية بالعديد من الجينات و إن التأثير الوراثي في الشكل المظهري يعبر عن متوسط اثر هذه الجينات.

2- تتأثر الصفة الكمية بالعديد من العوامل البيئية . و أشار فيلهلم يوهانسن Wilhelm Johannsen إلى أن التباين بين الأفراد في الصفة الكمية تسهم فيه العوامل البيئية، و قد عمل يوهانسن على نبات الفاصوليا bean ، إذ قام بانتخاب النباتات إلى وزن حبة الفاصوليا وفي الظروف الحقلية و حصل على خطوط مربية داخلية تتباين فيما بينها في وزن الحبة بشكل واضح ، إلا انه لاحظ وجود تباين داخل الخط المربي داخلها في الصفة المنتخبة ، و قد فسر ذلك إلى إن الخط أصبح متماثلاً وراثياً و إن هذه الفروق تعود إلى العوامل البيئية التي لا يمكن السيطرة عليها ، و نشر أبحاثه في عام 1909 م و توصل إلى أن التباين المظهري يعود إلى مكونين هما : الوراثي و البيئي .

الوراثة الكمية و الإحصاء

تكون الاختلافات في الصفات الكمية ذات توزيع مستمر لذلك يكون من غير الممكن وضع الأشكال المظهرية في فئات منفصلة كما هو متبع في الصفات النوعية ، لذلك نستخدم الأساليب الإحصائية لوصف التوزيع المظهري للصفة في العشيرة ، و غالباً تؤخذ عينة sample من العشيرة تمثل عدداً من الأفراد من العشيرة ، و يمكن عرض المعلومات التي

يجري الحصول عليها بيانيا وفق التوزيع التكراري frequency distribution حيث يقسم المحور الأفقي (السيني) إلى أجزاء متساوية تمثل القيم التي جرى قياسها للصفة الكمية بينما يمثل المحور العمودي (الصادي) تكرار المشاهدات ضمن كل فئة للمحور السيني ، و من الخصائص الأساسية للتوزيع التكراري التي يتطلب حسابها من بيانات العينة هو المعدل mean و هو من مقاييس النزعة المركزية الأكثر استخداما و يجري حسابه بقسمة مجموع البيانات على عدد البيانات و كما يأتي :

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

كما يجري تحديد الفئة المنوالية modal class و تمثل الفئة التي تحتوي على أكثر المشاهدات ، وفي حالة التوزيع الطبيعي للبيانات نجد إن المعدل يقع ضمن الفئة المنوالية و هذا يعكس تماثل طرفي منحنى التوزيع الطبيعي و يشير إلى أن عدد البيانات أعلى من المتوسط و تساوي تقريبا عدد البيانات اقل من المتوسط (و عادة تتوزع بيانات العينة توزيعا طبيعيا و لذلك يمكننا استخدام تطبيقات التوزيع الطبيعي في تحليل البيانات) و في بعض الحالات نجد التواء skewness المنحني إذ تتجمع معظم المشاهدات في احد الطرفين بينما يوجد القليل من المشاهدات في الطرف الآخر مما يشكل صورة الطرف الطويل. و يتطلب وصف بيانات العينة بصورة صحيحة استخدام مقياس آخر من مقاييس التشتت و هو التباين variance الذي يقيس مدى تشتت البيانات أو تجمعها حول متوسطها الحسابي و كلما زادت قيمة التباين يدل على تشتت بيانات العينة و العكس صحيح و يرمز للتباين S^2 و يتم حسابه وفق المعادلة الآتية :

$$S^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}$$

و بالنظر إلى اعتماد عملية حساب التباين على مربع انحرافات القيم عن متوسطها الحسابي لذلك تكون وحدات التباين مربعة و بذلك تكون غير منطقية في استخدامها لبعض الصفات مثل تربيع وحدات يوم ، كغم و غيرها ، و لذلك يستخدم الانحراف المعياري standard deviation و هو الجذر التربيعي للتباين لوصف تشتت البيانات . و تستخدم الأساليب الإحصائية في التحليل الوراثي للصفات الكمية و يكون الهدف من التحليل تجزئة التباين المشاهد phenotypic variance للصفة إلى مكونات وراثية و بيئية ، و من ثم استخدام المكونات الوراثية في التنبؤ عن الشكل المظهري لتضريب معين.

إن الفكرة الأساسية لوراثة الصفة الكمية هي خضوعها لتأثير عدد من العوامل المختلفة الوراثية و البيئية و قد بلور الأساس النظري لهذه الفرضية في صيغتها الحديثة العالم فيشر R. A. Fisher بناء على أبحاث و تجارب سابقة و قد نشرت نظريته بعد نهاية الحرب العالمية الأولى 1918 ، و افترض فيشر إن قيمة الصفة الكمية هي محصلة التأثيرات الوراثية و البيئية و تعامل كانحراف عن المتوسط العام للعشيرة ، و كما يأتي :

$$P = \mu + g + e$$

و يمثل μ متوسط العشيرة ، g الانحراف عن المتوسط بتأثير العوامل الوراثية ، e الانحراف عن المتوسط بتأثير العوامل البيئية . و قد افترض فيشر إن الصفة الكمية يتحكم فيها عدد من الجينات التي تسهم في الشكل المظهري للصفة الكمية (حالياً يطلق عليها polygenic) ، و بذلك فإن التباين الكلي ناتج عن جزأين: هما التباين الوراثي و التباين البيئي ، و كما يأتي:

$$V_P = V_g + V_e$$

و يتم تجزئة التباين الكلي باستخدام طريقة تحليل التباين Analysis of Variance

المكافئ الوراثي

يمثل المكافئ الوراثي أهم المعالم الوراثية للصفة الكمية و يشير إلى الجزء من التباين الكلي الذي تسهم فيه الاختلافات الوراثية بين أفراد العشيرة، و هو يعكس الإسهام النسبي لكل من الاختلافات الوراثية و الاختلافات البيئية في التباين المشاهد في العشيرة . و يجري تقدير المكافئ الوراثي بأسلوبين هما : المكافئ الوراثي بالمعنى الواسع broad sense heritability (يرمز له H^2)، و المكافئ الوراثي بالمعنى الضيق narrow sense heritability (يرمز له h^2)، و يستخدم في تقدير المكافئ الوراثي بالمعنى الواسع التباين بكافة مصادره التجميعية V_A و السيادة V_D و التفاعلية V_I و بذلك يكون تقديره عالياً و لكنه أقل أهمية للعاملين في برامج الانتخاب للتحسين الوراثي لان التأثيرات السيادة لا تنتقل عبر الأجيال :

$$= \frac{V_G}{V_P} H^2$$

حيث يشير V_G إلى التباين الوراثي ، V_P يمثل التباين المظهري الكلي . أما تقدير المكافئ الوراثي بالمعنى الضيق فيستخدم التأثيرات التجميعية فقط في تقدير المكافئ الوراثي لذلك يكون تقديره أقل من تقديره بالمعنى الواسع و لكنه أكثر أهمية في برامج الانتخاب الوراثي :

$$= \frac{VA}{VP} h^2$$

حيث يمثل VA التباين التجميحي و VP التباين المظهري الكلي. و تتراوح تقديرات المكافئ الوراثي بين 0 و 1 حيث يشير 0 إلى عدم إسهام الوراثة في التباين المظهري بينما يشير 1 إلى أن جميع التباين المظهري يعود إلى الوراثة. و لتقدير المكافئ الوراثي يعمل الباحثون على تحديد التباين الكلي و من ثم تجزئة التباين إلى تباين بسبب الاختلافات الوراثية و تباين بسبب الاختلافات البيئية .

لقد ذكر Snustad و Simmons (2002) مثالا توضيحيا لمفهوم تقدير المكافئ الوراثي ، تناول صفة الفعالية الإنزيمية لأحد الإنزيمات المستخلصة من الأنسجة النباتية ، إذ إن الفعالية الإنزيمية تختلف قيمتها بين النباتات و تعتمد على التركيب الوراثي للنبات و على الظروف البيئية التي ينمو فيها ، و سوف نقوم بتقدير التباين بثلاث طرائق مختلفة ، الطريقة الأولى تم فحص الفعالية الإنزيمية لأربعة نباتات بصورة فردية تنتمي إلى طرازين وراثيين هما A و B و في بيئتين مختلفتين هما E1 و E2 و كما يأتي:

النباتات	التركيب الوراثي	البيئات	الفعالية الإنزيمية
1	A	1	32
2	A	2	28
3	B	1	24
4	B	2	20

متوسط الفعالية الإنزيمية لهذه العينة هو 26 و التباين هو 26.6 (يمثل التباين المظهري Vp) وهو يعكس الاختلافات الوراثية و البيئية معا بين الأفراد الأربعة.

في الطريقة الثانية ، نقوم باستبعاد التباين الناتج عن الاختلافات البيئية عن طريق نمو التركيبين الوراثيين في نفس البيئة و كما يأتي :

النباتات	التركيب الوراثي	البيئة	الفعالية الإنزيمية
1	A	1	32
2	A	1	32
3	B	1	24
4	B	1	24

متوسط الفعالية الإنزيمية في هذه العشيرة هو 28 ، و التباين 21.3 ، و بالنظر إلى استبعاد التباين البيئي فان التباين المظهري يكون ناتجاً بسبب الاختلافات الوراثية ، و كما يأتي:

$$V_p = V_g = 21.3$$

تفترض الطريقة الثالثة تطابق التراكيب الوراثية ، و نمو أفراد التركيب الوراثي في بيئات مختلفة ، و كما موضح في أدناه :

النباتات	التركيب الوراثي	البيئات	الفعالية الإنزيمية
1	A	1	32
2	A	1	32
3	A	2	28
4	A	2	28

متوسط الفعالية الإنزيمية في العينة هو 30 و التباين 5.3 ، و بالنظر إلى تماثل التراكيب الوراثية نستبعد التأثيرات الوراثية و يكون التباين المظهري ناتجا عن الاختلافات البيئية، و كما يأتي :

$$V_p = V_e = 5.3$$

إن بساطة هذا المثال توضح تجزئة التباين الكلي الناتج في الطريقة الأولى (26.6) إلى تباين بسبب الاختلافات الوراثية (21.3) و إلى تباين بسبب الاختلافات البيئية (5.3) ، و لذلك نستنتج إن معظم التباين في الفعالية الإنزيمية يعود إلى الاختلافات الوراثية ، و المتبقي بسبب الاختلافات البيئية.

و لتقدير المكافئ الوراثي بالمعنى الواسع :

$$H^2 = 21.3 / 26.6 = 0.80$$

أما تقدير المكافئ الوراثي بالمعنى الضيق فيتطلب إجراء تنسيب لأفراد العينة و تقسيمها إلى عوائل أشقاء أو أنصاف الأشقاء و بالتالي تحليل التباين المشاهد و تجزئته إلى مكونات بتأثير الأب و مكونات بتأثير الأم ، فإذا افترضنا إن لدينا عدداً من الآباء (s) كل واحد منها تزواج مع عدد من الإناث (d) وكل أنثى أنتجت عدداً من النسل (k) فيكون نموذج التحليل :

S. O. V.	d.f.	Mean square	Expected mean square
Between sires	s-1	MS _s	$dk\sigma^2 s+k\sigma^2 D+\sigma^2 w$
Between Dams/sire	s(d-1)	MS _D	$k\sigma^2 D+\sigma^2 w$
Within progeny	sd(k-1)	MS _w	$w\sigma^2$

المصدر : (حسن ، 2011)

ويمكن حساب التباين المشاهد بتأثير الأباء $\sigma^2 s$ كما يأتي :

$$s = \frac{MSs - MSD}{dk} \sigma^2$$

ويساوي في علاقته مع المكونات السببية (0.25 من التباين الوراثي التجميعي)

$$s = \frac{1}{4} VA \sigma^2$$

أما التباين المشاهد بتأثير الأم $\sigma^2 D$ فيتم حسابه كما يأتي :

$$= \frac{MSD - MSw}{k} \sigma^2 D$$

$$\sigma^2 D = \frac{1}{4} VA + \frac{1}{4} VD + VEC \quad \text{ويساوي في علاقته السببية}$$

وبذلك تكون العلاقة بين التباين المظهري الكلي والمكونات السببية هي :

$$VP = \sigma^2 T = \sigma^2 s + \sigma^2 D + \sigma^2 w$$

وفي هذه الحالة يتم تقدير المكافئ الوراثي بالمعنى الضيق كما يأتي :

1- عن طريق مكون الأباء : بما إن $\sigma^2 s$ يساوي $\frac{1}{4} VA$ لذلك يضرب $\times 4$ للحصول على VA ونطبق المعادلة :

$$h^2 s = \frac{4\sigma^2 s}{\sigma^2 s + \sigma^2 D + \sigma^2 w}$$

2- عن طريق مكون الأمهات : بنفس الطريقة السابقة نحصل على المعادلة :

$$h^2 D = \frac{4\sigma^2 D}{\sigma^2 s + \sigma^2 D + \sigma^2 w}$$

3- عن طريق مكون (الأباء + الأمهات)

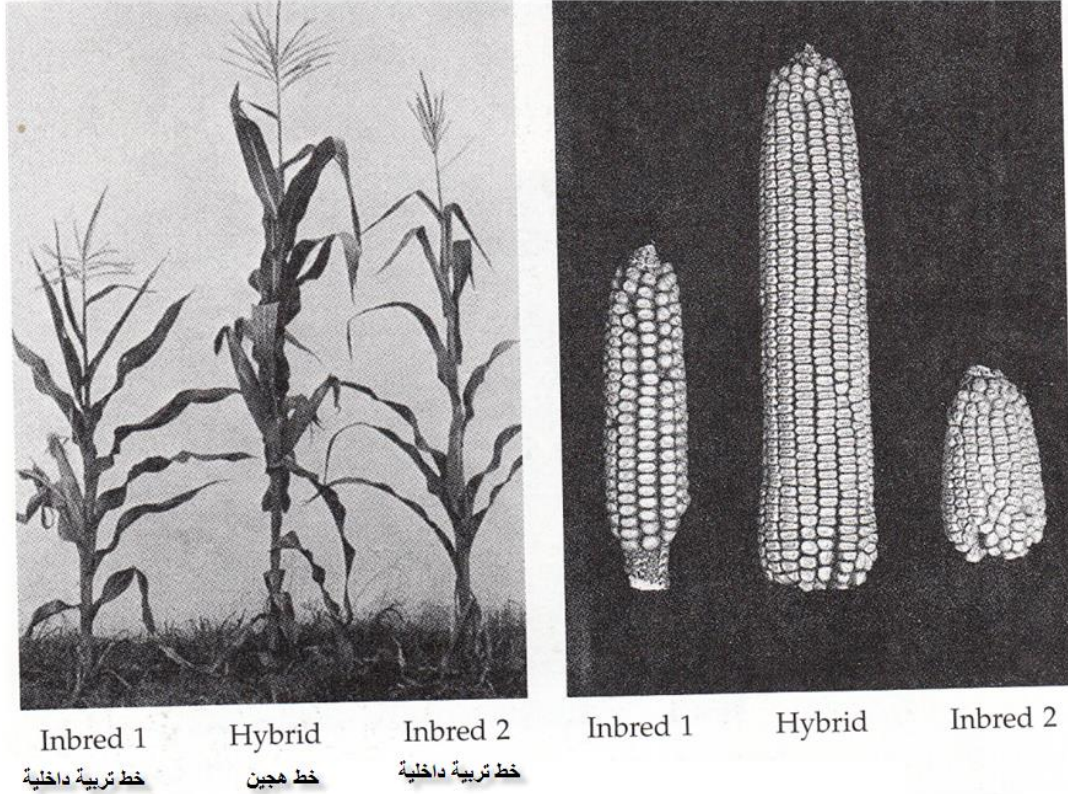
$$h^2 (s + D) = \frac{2(\sigma^2 s + \sigma^2 D)}{\sigma^2 s + \sigma^2 D + \sigma^2 w}$$

التربية الداخلية و التشابه بين الأقارب

من الظواهر المرافقة للصفات الكمية ظاهرة التشابه بين الأقارب للصفة الكمية ، ويزداد التشابه بين الأفراد مع زيادة درجة القرابة فالتشابه بين الأخوة الأشقاء يكون اكبر من التشابه بين أبناء العم و الخال ، و تؤثر درجة القرابة على اسلوب التزاوج بين الأفراد ، فالتزاوج بين الأفراد الذين تربطهم درجة قرابة اكبر من متوسط درجة القرابة في العشيرة يطلق عليه التربية الداخلية *inbreeding* ، بينما التزاوج بين الأفراد الذين لا تربطهم صلة قرابة يطلق عليها التربية الخارجية *outbreeding* . و توفر التربية الداخلية الفرصة للعاملين في التجارب الوراثية للحصول على الخطوط النقية و إمكانية دراسة تأثير الاليلات المتنحية في طرازها الوراثي المتمائل حيث إن التأثير الرئيس للتربية الداخلية زيادة تكرار التراكيب الوراثية المتمائلة و انخفاض تكرار التراكيب الوراثية الخليطة جيلا بعد جيل من تزاوج الأقارب ، و يزداد تأثير التربية الداخلية بزيادة درجة القرابة بين الأفراد المتزاوجة.

يتأثر حصول التربية الداخلية في العشائر البشرية بالثقافات و التقاليد الاجتماعية و الدينية المختلفة ، و قد ذكر *Snustad* و *Simmons* (2012) مثالا في هذا المجال ، ففي الولايات المتحدة خلال الفترة 1959 – 1960 كانت إحصائية التزاوج بين أبناء العم من الجيل الأول في سجلات الزواج الكاثوليكي 0.08 % و بلغت بين أبناء العم من الجيل الثاني 0.11 % ، و بالمقارنة في غينيا خلال عام 1955 وجد إن نسبة التزاوج بين أبناء العم في الجيل الأول 19.08 % و بين أبناء العم من الجيل الثاني 6.22 % . و لا تشجع اغلب المجتمعات البشرية التزاوج بين الأقارب لتجنب التأثيرات الضارة للتربية الداخلية التي ينتج عنها ظهور تأثيرات الاليلات المتنحية بصورة نقية و التي غالبا ما تكون أمراضاً وراثية مثل التخلف العقلي ، التليف الحوصلي *cystic fibrosis* و مرض فينيل كيتون يوريا *phenylketonuria*

تستخدم التربية الداخلية في التجارب الزراعية ، فعلى سبيل المثال يجري التزاوج بين الأشقاء لعدة أجيال للحصول على خطوط التربية الداخلية *inbreed lines* إلا إن هذه الخطوط تظهر انخفاصاً في الحيوية و الخصوبة مقارنة بالخطوط الناتجة عن تزاوج الأبعاد ، و يطلق على الانخفاص في الحيوية الناتج عن التربية الداخلية مصطلح وهن التربية الداخلية *inbreeding depression* . و في النباتات التي يحصل فيها التلقيح الذاتي ينتج عنها خطوط مرباة داخليا بعد



الشكل 7-1. التأثيرات الضارة للتربية الداخلية على طول الساق و الإنتاجية في نبات الذرة مقارنة بالخط الهجين .

عدة أجيال من التلقيح الذاتي ، و قد وجد إن خطوط الذرة الصفراء المرباة داخليا تكون قصيرة الساق و ذات إنتاجية منخفضة بالمقارنة مع خطوط الذرة الصفراء الهجينة التي تكون طويلة الساق و ذات إنتاجية عالية كما في الشكل (7-1) .

إن خطوط التربية الداخلية الناتجة عن تزاوج الأقارب لعدة أجيال تكون متماثلة وراثيا في العديد من المواقع الجينية ، مثلا في احد الخطوط المرباة داخليا $AAbbCCdd$ و قد يكون في خط آخر مربى داخليا $aaBBCCDD$ و لذلك عند التضريب بين خطوط التربية الداخلية ينتج عنه أبناء ذوو تراكيب وراثية هجينة في العديد من المواقع الجينية و يظهر نتيجة ذلك ما يعرف بقوة الهجين Heterosis و الذي استخدم لأول مرة من قبل George Shull في عام 1914 وفيها يتفوق النسل الناتج على متوسط الأبوين أو على أعلى الأبوين و يتصف النسل الهجين الناتج بزيادة الحيوية و الخصوبة .

الوراثة و التطور

يستخدم مصطلح التطور Evolution في علم الأحياء للإشارة إلى عملية التغيير ، و يوصف التغييرات في خصائص مجاميع الكائنات الحية خلال فترة العديد من الأجيال ، و لا يستخدم هذا المصطلح لوصف التغييرات التي تحدث على مستوى الفرد خلال حياته و إنما يستخدم مصطلح development للإشارة إلى التغييرات التي ترافق الفرد خلال مراحل نموه، و من المعروف إن تطور الفرد و نموه يخضع للسيطرة الوراثية و تركيبه الوراثي و إن حصول التغييرات على المستوى الوراثي ينتج تغييرات في الأفراد قد تؤدي إلى التطور على مستوى العشيرة. و لذلك يشير التطور إلى التغييرات على مستوى العشائر على مدى الأجيال و قد ينشأ عن هذه التغييرات تجزئة العشيرة إلى عدة عشائر صغيرة تنحدر عن العشيرة الأصلية و بهذه الطريقة تتنوع الكائنات الحية ، و ينبغي أن تكون هذه التغييرات موروثة من جيل لآخر، و تفترض نظرية التطور إن الكائنات الحية الموجودة حاليا انحدرت من أسلاف لها نتيجة حصول تغييرات و تعديلات وراثية نتج عنها التنوع الإحيائي.

يفسر التطور وحدة الحياة و آلية تنوعها ، فالكائنات الحية المختلفة تشترك في العديد من الصفات لأنها تنحدر من أجداد مشتركة ، و تتنوع الكائنات الحية لان كل نوع يتكيف Adapted للبيئة و أسلوب الحياة التي يعيشها (Mader ، 1993). و يشير Verma و Agarwal (2005) إلى أن ملاحظة الكائنات الحية يظهر أن هناك تنوعا كبيرا في الحيوانات و النباتات و الكائنات الحية الدقيقة ، و إن هذه الكائنات الحية تبدي تكيفا جيدا للمشاكل البيئية التي تمر بها البيئات التي تعيش فيها، و هذا التنوع في الصفات إما أن يكون موجودا مع بدء الحياة و بقي ثابتا و إن التنوع ناتج عن الطفرة و التكيف للظروف البيئية الجديدة التي تظهر مع الوقت، و هذا هو مفهوم التطور. و يسعى علم التطور Evolution science إلى فهم القوى البيولوجية و الأسباب التي دفعت الكائنات الحية الأجداد إلى التطور و إنتاج تنوع هائل في النباتات و الحيوانات كما نجدها في الوقت الحاضر.

تختلف الفترة الزمنية التي تحتاجها العشائر لتظهر عليها سمات التنوع حسب فترة الجيل للعشيرة و يظهر التطور واضحا في الكائنات الحية الدقيقة التي تمتلك فترة جيل قصيرة، و يشير Futuyma (2005) إلى أن البشرية قبل عام 1940 كانت تعاني من خطر الأمراض المعدية مثل السل ، الطاعون ، التيفوئيد و غيرها و يواجه اغلب المرضى الموت من جراء الإصابة بالمرض، و بحلول عام 1960 و تطور العناية الطبية و استخدام المضادات الحيوية في علاج الأمراض المعدية أصبح الصراع قائما بين أنواع الكائنات الحية الدقيقة الممرضة و المضادات الحيوية، و ظهر نتيجة التغييرات الوراثية في الكائنات الحية الدقيقة سلالات مقاومة للبنسلين ، التتراسايكلين و غيرها مما تطلب من علماء الأدوية إيجاد البدائل للعلاج ، و يبدو إن العملية

ستكون مستمرة نتيجة ظهور سلالات جديدة مقاومة للبدائل أيضا نتيجة آلية التطور في عشائر الكائنات الحية.

نبذة تاريخية

بدء علم التطور من خلال الأفكار التي أسهم بها عدد من الفلاسفة و بالأخص أرسطو و أفلاطون و تبني فكرة الخلق الخاص special creation و التي تشير إلى أن جميع الأنواع الموجودة تم خلقها من قبل الخالق و تبقى ثابتة و لا تتغير، و من النظريات المبكرة لتفسير آلية التطور و التنوع البيولوجي وضعت من الفلاسفة الفرنسيين في القرن الثامن عشر، فقد اقترضوا إن الأنواع تنشأ نتيجة تأثير قوى الطبيعة و برزت فرضية العالم الفرنسي لامارك Lamarck, Jean Baptiste (1744 – 1829) و التي وضعها في 1809 و التي تفترض إن كل نوع من الكائنات الحية نشأ بفعل النشوء الذاتي من المادة غير الحية spontaneous generation و إن الأنواع نشأت في مراحل زمنية مختلفة ، وتفسير الاختلافات الموجودة حاليا هي ناتجة عن الفعل التراكمي الزمني و عمر النوع. و يعتقد لامارك إن الأنواع تختلف عن بعضها البعض نتيجة الاختلاف في احتياجاتها و استخدامها أعضاء معينة من الجسم أكثر من أعضاء أخرى مما يجعل الأعضاء الاكثر استخداما أكثر تطورا و قوة مثل العضلات التي تصبح أكثر قوة مع شدة العمل، و يفترض لامارك إن هذه الصفات المكتسبة خلال حياة الفرد تورث إلى الأبناء وفق فرضية وراثه الصفات المكتسبة inheritance of acquired characteristics ، و من الأمثلة التي أوردها لامارك طول الرقبة في الزرافة ، إذ يعتقد أنها ازدادت طولا لان أجداد الزرافة كانت تمد رقبتها عاليا للوصول إلى قمم الأشجار للمنافسة على الغذاء و نتج عن ذلك زيادة طول رقبة الزرافة في الأبناء على مدى الأجيال. و لقد كان لنظرية لامارك تأثير ضعيف خلال حياته نتيجة انتقادها من قبل علماء معروفين في ذلك الوقت فضلا عن أنها جاءت بعد الثورة الفرنسية (1789 - 1799) إذ أصبحت الأفكار التي تولد في فرنسا مشكوك فيها لدى بقية البلدان، و لكن تعتبر خطوة في تاريخ ظهور فرضية التطور (Futuyma، 2005).

لا يكاد يذكر التطور إلا أن يذكر معه جارلس روبرت دارون (1809 – 1882) الذي كان أبوه طبيبا انجليزيا ، و درس الطب لفترة قصيرة في جامعة إدنبرة ثم تحول إلى دراسة الدين في جامعة كامبردج، و يبدو انه امن بالتوراة في شبابه، و كان مهتما بالتاريخ الطبيعي و أصبح مقربا من علماء الطبيعة في الجامعة، وفي عام 1831م تغيرت حياته كليا بعد دعوته للمشاركة في رحلة الباخرة بيغل Beagle ship بصفته مختصاً في الطبيعة، و كانت مهمة الباخرة رسم خرائط المياه في أمريكا الجنوبية ، و استمرت الرحلة خمس سنوات قام خلالها دارون بدراسة التاريخ الطبيعي في غابات البرازيل و المناطق الساحلية للأرجنتين و الإكوادور و جمع نماذج عديدة و سجل ملاحظاته الجيولوجية و الاحيائية ، و وضع فرضيته الصحيحة حول تكوين الجزر المرجانية . بعد عودته من الرحلة و اطلاق عالم الطيور John Gould على نماذج

دارون ، لاحظ أن طيور Mocking birds تختلف من جزيرة إلى أخرى و إنها تمثل أنواعاً مختلفة، كما لاحظ دارون اختلاف السلاحف العملاقة من جزيرة إلى أخرى، إن هذه الحقائق و التشابه بين النماذج المتحجرة و اللبائن الحية التي وجدها في أمريكا الجنوبية ولدت لديه الإيمان أن الأنواع المختلفة لا بد أنها نشأت من أجداد مشتركة.

لقد وفر المجتمع العلمي التمويل لدارون لتكريس بقية حياته في دراسة الأحياء (بالرغم من انه كان يعاني من الأمراض بعد عودته من الرحلة) ، و قد قام بإيجاد العديد من البراهين على حصول التطور و حاول إيجاد الأسباب التي أدت إلى حدوثها ، و في عام 1838 م اطلع دارون على مقال في الاقتصاد و العشيرة البشرية لكاتبه Thomas Malthus أشار فيها إلى أن الزيادة في أعداد العشيرة البشرية لا تتناسب مع الزيادة في الموارد الغذائية و إن هذه الحالة قد تؤدي إلى المجاعة ، و لقد كانت هذه المقالة دافعة لإلهام دارون في وضع أهم الأفكار في نظرية التطور وهي الانتخاب الطبيعي Natural selection، و لقد ذكر دارون أن الملاحظات الكثيرة تؤكد إن التباينات المرغوبة و المفضلة يتم المحافظة عليها في العشيرة بينما يجري تدمير التباينات غير المرغوبة و اختفائها من العشيرة، و بكلمة أخرى أن الأفراد في نوع معين يمتلكون خصائص متفوقة يعيشون و يتكاثرون بشكل أكثر نجاحا من الأفراد الذين يمتلكون خصائص أدنى ، و عندما تكون هذه الاختلافات موروثية فان متوسط صفات النوع سوف تتغير.

في منتصف القرن التاسع عشر (1859 م) نشر جارلس دارون كتابه المعروف أصل الأنواع بتأثير الانتخاب الطبيعي Origin of species by means of natural selection ، و أوضح في كتابه إن عملية التطور نتيجة لآلية الانتخاب الطبيعي Natural selection ، فالحياة ميدان للتنافس و الصراع من اجل البقاء في مواجهة محدودية الموارد سواء الطعام أو المكان أو التغيرات البيئية غير المتوقعة ، و أشار دارون إلى أن العشيرة قد تحتوي على بعض الأفراد تمتلك صفات تجعلهم قادرين على الحياة في الظروف البيئية الجديدة و الاستمرار في التكاثر و توريث صفاتهم الجيدة إلى أبنائهم ، بينما الأفراد الذين لا يمتلكون هذه الصفات تقل أعدادها تدريجيا في العشيرة و بذلك يوفر الانتخاب الطبيعي فرصة تكيف العشيرة للظروف البيئية التي تعيش فيها. و مع ذلك لم يستطع دارون تفسير الميكانيكية التي تسبب التغير و التنوع في أشكال الحياة من جيل لآخر.

نظرية دارون في التطور

تضمن كتاب أصل الأنواع نقطتين أساسيتين : الأولى ، إن جميع الأنواع سواء الموجودة حاليا أو المنقرضة انحدرت من أصل واحد أو أصول قليلة من أشكال الحياة، و لقد كانت الأنواع الأولى التي انحدرت من الأصل المشترك متشابهة بدرجة كبيرة و مع تراكم الفروقات خلال

حقبة زمنية كبيرة أصبحت الاختلافات جوهرية بين الأنواع، و تختلف نظرية دارون عن فرضية لامارك في أن الأخيرة لم تفترض وجود دور لانحدار الأنواع عن أسلاف مشتركة.

و النقطة الأساسية الثانية، تناولت العوامل المسببة للتغيرات التطورية و تشمل الانتخاب الطبيعي و فيه يكون البقاء في الحياة للتراكيب الوراثية الأكثر مواءمة للظروف البيئية المحيطة.

و يمكننا الإحاطة بنظرية دارون من خلال مناقشة خمسة محاور تستند إليها النظرية وهي:

1- إن التطور بمفهومه البسيط يعني افتراض إن صفات النسل الناتج عن الكائنات الحية تتغير مع مرور الوقت ، و أن هذه الفكرة لا تعود إلى دارون بالأصل بل موجودة في الوسط العلمي و لكن قام دارون بتنظيم أفكارها و طرح البراهين بأسلوب جعلها مقبولة من علماء الأحياء.

2- تختلف فرضية الأصل المشترك التي وضعها دارون بشكل جذري عن فرضية لامارك في التطور، و كان دارون أول من ذكر أن الأنواع المختلفة انحدرت و تنوعت من أسلاف مشتركة و أن جميع أشكال الحياة يمكن وضعها على أنها شجرة عائلة كبيرة.

3- أشارت نظرية دارون إلى حصول التغيرات التطورية بشكل تدريجي gradualism للوصول إلى الاختلافات الجذرية بين الكائنات الحية و ظهور الأنواع المختلفة ، و أن هذه الأنواع نشأت تدريجياً بخطوات صغيرة من خلال أشكال حياة وسطية ، و هذا الوصف يختلف عن الفرضيات البديلة التي تفترض حصول التغير السريع و بقفزات دون وجود للحالة الوسطية و من هذه الفرضيات saltational evolution.

4- إن التغيرات التطورية تحدث على مستوى العشائر ، و يكون التغير في نسبة الأفراد التي تحمل صفات مختلفة قابلة للتوريث في داخل العشيرة ، و هذا المفهوم جديد بالكامل مقارنة مع فرضية الأصل المفاجئ للأنواع و القفزات التطورية و كذلك تختلف عن حسابات لامارك في التغيرات التطورية نتيجة تحول الأفراد.

5- يمثل الانتخاب الطبيعي فرضية دارون المتألفة (بالرغم من تصورهما بشكل مستقل من قبل عالم الطبيعة Alfred Russel Wallace الذي نشر بحثاً موجزاً في عام 1858 م بعد عودته إلى إنجلترا من رحلته في ماليزيا جمع خلالها نماذج من الفراشات و التاريخ الطبيعي و أشار في بحثه إلى أن عملية التطور ناتجة عن الانتخاب الطبيعي) و التي تشير إلى أن التغيرات في نسبة الأفراد التي تحمل صفات معينة في العشيرة تحدث بسبب الاختلافات في قدرتها على البقاء في الحياة و إمكانيتها على التكاث ، و أن هذه التغيرات ينتج عنها التكيف adaptation الذي يشير إلى امتلاك الفرد ميزات مصممة لمواءمة الظروف البيئية التي يعيش فيها.

و افترض دارون أن تنوع النسل الناتج عن الأصل المشترك جاء نتيجة لاحتياج كل خط من النسل إلى صفات مختلفة؛ لان تكيفها يجري في ظروف حياتية و بيئية مختلفة، وفضلا عن ذلك يؤثر ضغط المنافسة على تفضيل استخدام الأنواع المختلفة المصادر المختلفة من الغذاء و المأوى . و تعاني فرضية التطور لدارون من قصور في إمكانية تحديد مصدر هذه الاختلافات الوراثية و ذلك بسبب الاعتقاد السائد في المجتمع العلمي خلال تلك الفترة بنظرية المزج الوراثي Blending inheritance و التي تفترض أن الاختلافات داخل العشيرة تقل بمرور الوقت و لا تزداد كما تشير فرضية التطور، إذ إن نظرية المزج الوراثي تعتقد أن الأبناء عادة تمثل الحالة الوسطية للأبوين سواء في اللون أو الحجم ، و فيها مزج اللونين الأبيض مع الأسود ينتج اللون الرمادي ، و أن مزج الرمادي مع اللون الرمادي لا يمكن أن ينتج عنه اللون الأسود أو الأبيض ، من ذلك يتضح إن هذه الفرضية تتعامل مع الأساس الوراثي بصيغة مزج السوائل ، و لم يطلع دارون على نتائج مندل التي كان من الممكن أن تعطي التفسير لان مندل تعامل مع الأساس الوراثي بمفهوم الجسيمات particles التي تنتقل من جيل لآخر و أن الاختلافات يمكن لها تتواجد بين الأجيال.

مفاهيم التطور بعد نظرية دارون

بالرغم من أن نشر كتاب أصل الأنواع قد أثار الجدل بين العديد من العلماء ، إلا أن معظم العلماء قد تقبل فكرة الأصل المشترك للأنواع بحلول عام 1870 م ، و لكن هذا الإجماع لم يشمل نظرية دارون في الانتخاب الطبيعي الذي يفسر فيه سبب التطور ، و بعد حوالي 60 عاما من نشر الكتاب شكك معظم العلماء في صحة الانتخاب الطبيعي ليكون محركا لعملية التطور . تميزت الفترة من نهاية القرن التاسع عشر و بداية القرن العشرين بأنها العصر الذهبي لدراسة المتحجرات ، الدراسة المظهرية المقارنة و علم الأجنة المقارن ، و عملت الحركة العلمية في هذه الاتجاهات على تراكم المعلومات المتوفرة من سجل المتحجرات و دراسة العلاقة بين الكائنات الحية. و تم افتراض نظريات بديلة عن نظرية دارون في الانتخاب الطبيعي إلا إنها لم تصمد طويلا في المجتمع العلمي و منها :

1- تجديد نظرية لامارك Neo- Lamarckism و تتضمن العديد من النظريات التي تعتمد على الفكرة القديمة في وراثة الصفات المكتسبة خلال حياة الفرد ، و بعض هذه الصفات تكون بتأثير بيئي مباشر على التطور ، مثالها امتلاك النبات أوراق سميكة عند نموها في البيئة الحارة الجافة. و خضعت نظرية لامارك إلى العديد من الانتقادات و التجارب لإثبات حقيقتها و منها التجربة المشهورة التي أجراها August Weismann في 1890s م و فيها قطع ذيول الفئران لعدة أجيال و لم يجد تأثير على طول الذيل في النسل الناتج عنها ، و تلتها العديد من التجارب التي لم تؤيد وجود تغيرات وراثية ناتجة عن التأثير البيئي.

2- نظرية التطور المتواتر Orthogenesis ، و هي نظرية تشير إلى أن التطور يحدث في اتجاه محدد وراثيا باتجاه هدف ثابت و لا يتأثر بالعوامل الخارجية ، و أن الأنواع تنشأ في اتجاه محدد مسبقا بدون تأثير للانتخاب الطبيعي ، و قد أهملت هذه النظرية لعدم اقتراح ميكانيكية لحصول التغييرات و عدم توافر البراهين للفرضية.

3- نظرية التطور بتأثير الطفرة Mutationist theory ، و هي نظرية قدمها علماء الوراثة مثل Hugo de Vries و Thomas Hunt Morgan و التي تفترض ظهور أشكال مظهرية جديدة ناتجة عن حدوث الطفرة في المادة الوراثية و تنتقل عبر الأجيال و تشكل الأساس لظهور الأنواع الجديدة .

إن الأفكار غير المؤيدة لنظرية دارون تم دحضها خلال فترة الثلاثينيات و الأربعينيات من القرن العشرين من خلال إسهام عدد من علماء الوراثة في ربط نظرية دارون مع الحقائق الوراثة التي تم اكتشافها ، و قد أسهم كل من Ronald A. Fisher و John B. S. Haldane في إنجلترا و في الولايات المتحدة Sewall Wright بوضع الأسس الرياضية لنظرية وراثة العشائر و population genetics و التي أظهرت أن عوامل الطفرة و الانتخاب الطبيعي تعمل سوية في ظهور التكيف و التطور البيولوجي ، و أن الطفرة لا تكون بديلا عن الانتخاب الطبيعي بل هي المادة الخام التي يعمل عليها الانتخاب الطبيعي ، و استمرت الإسهامات خلال عقد الخمسينيات لصياغة فرضية التطور الحديثة التي تدعم نظرية دارون من قبل Ernst Mayr و Bernhard Rensch و George G. Simpson و أشارت هذه الإسهامات إلى أن عوامل الطفرة و الاتحادات الجديدة و الانتخاب الطبيعي و عوامل أخرى تعمل ضمن النوع الواحد سميت Microevolution ، و تعمل على ظهور نوع جديد على المدى الطويل ضمن خصائص التطور و سميت Macroevolution .

توسعت البحوث في المراحل اللاحقة لاختبار المبادئ الأساسية لنظرية التطور ، و مع تقدم علم الوراثة و الأحياء الجزيئي حدثت ثورة في الدراسات التطورية و فتحت المجال أمام دراسة التطور الجزيئي Molecular evolution (من خلال تحليل تاريخ التغيرات التي حدثت في الجين) و استخدمت الوسائل الجزيئية لدراسة عدد كبير من الجوانب التطورية مثل الاختلافات الوراثة للطفرات ، الاختلافات بين الأنواع و التاريخ المتنوع للحياة .

كيفية عمل الانتخاب الطبيعي

أشار Freeman (2002) إلى إمكانية فهم آلية عمل الانتخاب الطبيعي من خلال تجزئتها إلى مفهومين: 1- أفراد الكائنات الحية التي تتكون منها العشيرة تختلف عن بعضها البعض في امتلاكها للصفات مثل الشكل و الحجم ، و إن بعض هذه الصفات لها أساس وراثي و تنتقل إلى جيل الأبناء.

2- يكون إنتاج النسل في معظم الأجيال بأعداد أكبر من الموارد المتاحة لكي تبقى جميعا في الحياة، و نتيجة لذلك فان جزءاً من هذا النسل فقط يبقى في الحياة و يتكاثر لإنتاج الجيل اللاحق، و المجموعة التي تبقى في الحياة و تتكاثر لا تمثل عينة عشوائية من العشيرة و إنما نتيجة امتلاك أفرادها صفات معينة تكسبها القدرة على الحياة و التكاثر أو ميزة إنتاج نسل أكثر عدداً من بقية الأفراد و أشار دارون إلى هذه الأفراد بأنها تم انتخابها من قبل الطبيعة Naturally Selected .

يحدث التطور في العشيرة عندما تورث الاختلافات للصفات المرغوبة، فعندما يتكاثر الأفراد الذين يحملون الصفة المرغوبة فقط أو ينتجون نسلأ أكثر و إن النسل الناتج يحمل الصفة المرغوبة فان صفات العشيرة تتغير من جيل لآخر و هذا يمثل آلية التطور بواسطة الانتخاب الطبيعي. و خلال توضيح دارون لعملية الانتخاب الطبيعي أشار إلى أن الأفراد المفضلة لدى الانتخاب الطبيعي تكون أكثر مواعمة ، و استخدم مصطلح المواعمة Fitness للإشارة إلى قابلية الفرد على البقاء في الحياة و التكاثر ، و بذلك يستطيع العلماء تقدير المواعمة النسبية للفرد عن طريق حساب عدد الأبناء نسبة إلى إسهام الأفراد الآخرين. و في نفس السياق ، فان مفهوم التكيف Adaptation يشير إلى الصفة الموروثة التي تزيد مواعمة الفرد نسبة إلى بقية الأفراد التي لا تمتلك هذه الصفة .

التباين الوراثي و التطور

يوفر التنوع البيولوجي و التباين الوراثي الفرصة لحدوث التطور و استمرار النوع ، و تشير نظرية التطور الحديثة إلى أن العوامل المسببة للتطور لا تقتصر على الانتخاب الطبيعي و إنما تشمل العديد من الميكانيكات التي تعمل على تغيير تكرار الجين في العشيرة و منها:

1- الطفرة Mutation ، و هي تغير مستديم في المادة الوراثية يورث عبر الأجيال و ينتج عنه ظهور أشكال بديلة للجين في الموقع الواحد تسمى الاليلات ، و قد تحدث الطفرة بشكل تلقائي نتيجة الأخطاء غير القابلة للإصلاح خلال عملية تضاعف جزيئة الدنا و ينتج عنها تغيرات عشوائية في تتابع النيكلوتيدات يؤدي إلى تغيير في تتابع الأحماض الامينية في البروتين الناتج عن التعبير الجيني. و الطفرة ميكانيكية تطورية تزيد من التنوع البيولوجي في العشائر و تعمل على تغيير تكرار الجين من خلال فعلها التراكمي خلال عدة أجيال ، و لكن الطفرة لوحدها تكون غير كافية لإحداث تغيرات تطورية مهمة ، و تظهر أهمية الطفرة في الكائنات التي تتكاثر لا جنسياً مثل البكتريا و فيها تنتج الاختلافات الوراثية عبر الأجيال عن طريق الطفرة فقط و لذلك فان إيقاف الطفرة يؤدي إلى إيقاف التطور.

2- الهجرة Migration ، يستخدم مصطلح الهجرة في علم الأحياء في موقعين : الأول يشير إلى حركة الأفراد الفصلية من موقع إلى آخر خلال السنة و يستخدم لدراسة سلوك الكائنات الحية . و يستخدم مصطلح الهجرة في العوامل المسببة للتطور للإشارة إلى حركة الأفراد من

عشيرة و التحاقها بعشيرة أخرى و تتكاثر ضمن العشيرة الجديدة ، و يشار إلى هذه الحالة غالباً بجريان الجين Gene flow و تؤدي إلى تغيير في تكرار الجين في العشيرة ، و تعمل الهجرة على تقليل الفوارق في تكرار الجين بين العشائر المختلفة إذا حدثت بتكرار عالٍ ، و في نفس الوقت فإنها تكون عاملاً لإحداث التنوع الوراثي داخل العشائر المنعزلة و المغلقة تكاثرياً ، إذ إن دخول تراكيب وراثية جديدة إلى العشيرة يعمل على تغيير تكرار الجين و تكرار التراكيب الوراثية في العشيرة.

3- الانجراف الوراثي Genetic drift ، و هي من العمليات التطورية المهمة التي تحدث عشوائياً بتأثير الصدفة و تعمل على تغيير تكرار الجينات بطريقة لا يمكن التنبؤ بها سواء بالزيادة أو النقصان ، و من خصائص الانجراف الوراثي :

1- يكون الانجراف الوراثي ذا طبيعة عشوائية بخصوص المواءمة و إن التغيير في تكرار الجين لا يعود إلى التكيف .

2- يحدث الانجراف الوراثي في العشائر الصغيرة و الكبيرة على حد سواء، إلا إن تأثيره يكون كبيراً في العشائر الصغيرة و غير مؤثر في العشائر الكبيرة.

3- يمكن أن يؤدي الانجراف الوراثي إلى فقدان أو تثبيت بعض الأليلات في العشيرة نتيجة الصدفة .

فإذا افترضنا لدينا عشيرة لدودة الأرض بتعداد 120000 فرد و تكرار الأليل A1 فيها 0.25 ، و تعرضت هذه العشيرة إلى الفيضان الذي قضى على نصف العشيرة بصورة عشوائية ، فإننا وفق قوانين الاحتمالات نتوقع وجود 0.25 من الأفراد المتبقية في الحياة (60000 فرد) و هي تمثل 15000 فرد حاملة للأليل المذكور ، و في حالة تدخل الصدفة في زيادة فقدان الأفراد التي تحمل الأليل و عمل الفيضان على استبعاد 0.10 زيادة من الأفراد التي تحمل الأليل فإننا لا نزال نمتلك عشيرة تمتلك الألف النسخ من الأليل A1 باقية في الحياة . بالمقارنة إذا كانت العشيرة صغيرة (12 فرداً فقط) و تعرضت لنفس الظروف فإن الأفراد التي تحمل الأليل هي 1.5 فقط من الأفراد الباقية في الحياة و إذا تدخلت الصدفة باستبعاد أعداد أخرى من الأفراد الحاملة للأليل فإن الأليل سوف يفقد من العشيرة تماماً ، و تمثل حادثة الفيضان عنق الزجاجة للعشيرة population bottleneck و تعمل على تقليل التباين الوراثي في العشائر الصغيرة لأن الأعداد القليلة المتبقية سوف تقوم بإعادة تأسيس العشيرة بعد الكارثة البيئية . و بنفس الصورة ، عندما تغادر مجموعة صغيرة العشيرة الأصلية الكبيرة و تعيش منعزلة فإنها تمثل جزء صغير من التباين الوراثي في العشيرة الأصلية و إن النسل الناتج عن العشيرة الصغيرة سوف يواجه انخفاض في التنوع الوراثي و يسمى تأثير المنبؤ Founder effect ، و من الملاحظ إن تأثير الحالتين يكون عشوائياً على تكرار الجين في العشيرة .

4- التربية الداخلية Inbreeding ، تشير افتراضات اتران هاردي واينبرغ إلى إن الكميات تؤخذ عشوائياً من المستودع الجيني للعشيرة و تتحد بعملية الإخصاب لإنتاج أفراد الجيل اللاحق ، و لكن في العشائر الطبيعية من النادر حصول التزاوج العشوائي في العشيرة الكاملة ، فعلى سبيل المثال في العشائر الصغيرة التي تكون معزولة يجري التزاوج بين الأقارب و تسمى التربية الداخلية ، و تعمل التربية الداخلية على زيادة التراكيب الوراثية المتماثلة في العشيرة و انخفاض تكرار التراكيب الوراثية الخليطة ، و ينتج عن التربية الداخلية ما يعرف انحطاط التربية الداخلية inbreeding depression و هو فقدان المواءمة الناتج عن زيادة التراكيب الوراثية المتماثلة ، و السبب في ذلك إن غالبية الاليلات المتنحية ناتجة عن طفرات تسبب فقدان وظيفة الجين و لا يظهر تأثير الاليل الضار في حالة التراكيب الوراثية الخليطة نتيجة وجود الاليل الطبيعي السائد القادر على إنتاج كمية كافية من البروتين الفعال الذي يظهر الشكل المظهري الطبيعي. بينما يظهر التأثير المؤذي للاليلات المتنحية في التركيب المتماثل المتنحي نتيجة فقدان الكامل لوظيفة البروتين الناتج و يؤدي إلى انخفاض مواءمة التركيب الوراثي ، و بذلك تعمل التربية الداخلية بصورة غير مباشرة على حدوث التغيرات التطورية عن طريق زيادة معدل استبعاد الاليلات المتنحية الضارة بواسطة الانتخاب الطبيعي .

5- الانتخاب الطبيعي ، إن ميكانيكيات التطور التي تحدثنا عنها سابقاً تؤدي إلى تغيرات وراثية عشوائية و هي لا تؤدي إلى التكيف (ضمن مفهوم المواءمة)، و يعتبر الانتخاب الطبيعي الميكانيكية التطورية الوحيدة التي تؤدي إلى تغيير تكرار الجين بصورة غير عشوائية. و يحدث الانتخاب الطبيعي عندما تتفوق أفراد من العشيرة تمتلك شكلاً مظهرياً معيناً على بقية أفراد العشيرة في القابلية على البقاء في الحياة و التكاثر بمعدل أعلى من بقية أفراد العشيرة، و تبعا لذلك يزداد تكرار الجينات المرتبطة مع الصفة المرغوبة بينما ينخفض تكرار الجينات الأخرى ، و عندما يصل الجين المرغوب إلى الثبات fixation تتوقف التغيرات التطورية لانعدام التنوع الوراثي . و هناك عدة أنماط من الانتخاب الطبيعي حسب تأثيرها على تكرار الجين في العشيرة و هي :

أ- الانتخاب الطبيعي الموجه Directional selection ، و يميل الانتخاب الموجه إلى تقليل التنوع الوراثي في العشيرة عن طريق زيادة تكرار احد الاليلات و انخفاض في تكرار الاليل الأخر ، و المثال التقليدي عن هذا النوع من الانتخاب التغير التطوري الذي حدث في عشيرة العث الانجليزي English moths خلال 1800s في الغابات الرطبة ، ففي الفترة التي سبقت الثورة الصناعية في أوروبا خلال 1700s كان العث ذو اللون الفاتح هو السائد لأنه يوفر فرصة الاختفاء للحشرة عند وقوفها على الاشنات lichens الموجودة على لحاء الأشجار و الذي يكون بلون فاتح أيضا (الشكل 8-1) ، بينما العث ذو اللون الداكن يكون واضحا وهدف سهل للمفترسات عند وقوفه على الاشنات ، و تغيرت الحالة بعد الثورة

الصناعية إذ أدى التلوث إلى قتل الاشنات على الأشجار و أصبح لحاء الأشجار داكنا مما أدى إلى أن تكون حشرات العث باللون الفاتح واضحة و هدفاً سهلاً للطيور لافتراسها ، بينما أصبحت البيئة ملائمة للعث ذي اللون الداكن للاختفاء على لحاء الأشجار الداكن و البقاء في الحياة و التكاثر لتصبح هي السائدة و الطبيعية في العشيرة. وفي هذا المثال عمل الانتخاب الموجه على توجيه التغيير في معدل الصفة السائدة في أفراد العشيرة ، و هو مثال أيضا على مفهوم التطور الدقيق Microevolution .



الشكل (8 - 1) العث الانجليزي الفاتح و الداكن على أشجار الغابة .

ب- الانتخاب الطبيعي المستقر Stabilizing selection ، يمكن للانتخاب الطبيعي أن يقلل من كلا الشكلين المظهريين المتطرفين في العشيرة، وبذلك لا يحدث تغيير في متوسط القيمة المظهرية للصفة بمرور الوقت، بينما يقل التباين الوراثي في العشيرة و من الأمثلة على هذا الانتخاب ، أشار Freeman (2002) إلى قيام الباحثين Penrose و Karn بدراسة أوزان المواليد و علاقتها بوفيات المواليد في بريطانيا و بعد جمع البيانات عن 13.730 مولود من المستشفيات وجدوا إن متوسط المواليد يزيد قليلا عن 3.5 كغم و تكون لها القابلية على الحياة أفضل من المواليد بأوزان صغيرة جدا و أوزان كبيرة جدا، و هذا يوضح إن الصفة تقع تحت تأثير الانتخاب الطبيعي المتوازن في العشيرة البشرية.

ت- الانتخاب الطبيعي المشتت Disruptive selection ، إن هذا النمط من الانتخاب الطبيعي يعمل عكس الانتخاب المستقر و فيه يعمل الانتخاب على استبعاد الأشكال المظهرية القريبة من متوسط العشيرة و تفضيل الأشكال المظهرية المتطرفة ، و بذلك يعمل هذا النمط من الانتخاب على زيادة التباين الوراثي في الصفة، و المثال لهذا النمط الدراسة التي قام بها Thomas Bate في جنوب المقاطعة الوسطى للكاميرون ، إذ وجد إن الطيور تمتلك أما

منقاراً صغيراً أو كبيراً و من خلال دراسته وجد إن العامل المؤثر في الانتخاب هو نوعية الغذاء المتوفر في المنطقة ، فالحبوب المتوفرة أما صغيرة و هي ملائمة للمنقار الصغير أو كبيرة و هي ملائمة للمنقار الكبير و إن الطيور التي تمتلك منقاراً متوسط الحجم سوف تواجه مشكلة في التقاط النوعين من الغذاء المتوفر.

إن المفهوم العام الذي توضحه أنماط الانتخاب الطبيعي هو إن الانتخاب يمكن أن يزيد من تكيف الأفراد للبيئة التي يعيشون فيها، و إن الأنماط المختلفة من الانتخاب ينتج عنها تأثيرات مختلفة على التباين الوراثي و التغيرات التطورية.

6- الانتخاب الجنسي Sexual selection ، يحدث الانتخاب الجنسي عندما تختلف الأفراد في العشيرة في قابليتها على جذب الجنس الآخر للتزاوج و الإسهام في إنتاج الجيل القادم، و يعمل الانتخاب من خلال العوامل التي تساهم في نجاح عميلة التزاوج و تمثل آليات الجذب الجنسي عاملاً مهماً في احتمالية حصول التزاوج ، و من النادر أن يؤثر الانتخاب الجنسي على الإناث بسبب فترات الحمل و العناية بالمواليد و التي تحدد عدد المواليد التي تساهم فيها في الجيل القادم للعشيرة، بينما الذكور تخضع إلى تحديدات أقل في عدد الأبناء الذين ينتمون إلى كل ذكر و بذلك فن الذكر يساهم في عدد أكبر من الأبناء في العشيرة و بالتالي يسهم بدرجة أكبر في المواءمة التطورية ، و تتنافس الذكور فيما بينها في قابلية جذب الإناث و الذكور التي تتفوق في قابلية الجذب تكون لها الفرصة الأكبر في تمرير جيناتها إلى الأبناء في الجيل القادم. و يشير Grant (1995) إلى أن الحيوانات الثنائية الجنس تمتلك نوعين من الصفات المتعلقة بالجنس: الأولى هي صفات الجنس الأساسية Primary sexual characters و التي تمثل الصفات التي تتعلق بالتكاثر الجنسي مباشرة و منها تركيب الكميات ، الأعضاء الجنسية و الغدد الجنسية ، بينما الثانية هي صفات الجنس الثانوية Secondary sexual characters و هي صفات مساعدة موجودة عادة في الذكور لا تكون ضرورية لعملية التكاثر بحد ذاتها و لكنها تساهم في نجاح حصول التزاوج و تشمل حجم الجسم الكبير ، القوة ، امتلاك وسائل الدفاع و الهجوم مثل القرون ، امتلاك الزخارف الجميلة مثل الطاووس ، الصوت الجميل ، الروائح الجاذبة و السلوك الاستعراضى لذكور الحيوانات و هذه الصفات تعزز الأفراد التي تمتلكها في المنافسة على الإناث و بالتالي المساهمة بعدد أكبر من الأبناء في الجيل القادم. و أشار دارون إن الصفات الجنسية الثانوية تكون متطورة في الحيوانات الثنائية الجنس و التي تمتلك القابلية على الحركة و أعضاء حسية متطورة كما هو الحال في الطيور و بقية الفقريات ، و بالمقارنة فان الصفات الجنسية الثانوية لا تكون موجودة في الحيوانات بالترتبة التطورية الأدنى التي تكون خنثية أو لا تمتلك جهاز عصبي متطور و أعضاء حسية ، و تعدّ النباتات مشابهة للترتبة الدنيا من الحيوانات

في هذا الجانب فهي تمتلك الصفات الجنسية الأساسية و لا تمتلك صفات جنسية ثانوية التي تمثل أساس عمل الانتخاب الجنسي وفق مفهوم دارون .

إن الانتخاب الجنسي يمثل خللاً في شروط انزان هاردي واينبرغ الذي يفترض التزاوج العشوائي ، إلا إن تأثيراته تختلف عن التأثيرات التي وجدناها في التربية الداخلية إذ إن التربية الداخلية تعمل على تغيير في تكرار التراكيب الوراثية لصالح التراكيب الوراثية المتماثلة بينما يؤدي الانتخاب الجنسي إلى تغيير في تكرار الجين.

ظهور الأنواع الجديدة Speciation

يقصد بالأنوع species مجموعة من الكائنات الحية (مثل الحيوانات ، النباتات و غيرها) التي تشترك مع بعضها في صفات مظهرية و فسيولوجية و لها القدرة على التزاوج و تبادل المحتوى الجيني و إنتاج نسل خصب لضمان استمرارية النوع، و تمتاز الأنواع بعدم القدرة على الخلط بينها سواء عن طريق عدم القدرة على إتمام عملية التزاوج أو نتيجة عدم التوافق الكروموسومي الذي ينتج عنه الهلاك الجيني أو العقم للأفراد الناتجة وفق آلية تسمى العزل التكاثري reproductive isolation و يحث العزل التكاثري بتأثير عدة ميكانيكيات يمكن تصنيفها بشكل رئيسي إلى ميكانيكيات قبل الإخصاب prezygotic isolation و ميكانيكيات بعد الإخصاب postzygotic isolation وهي :

1- ميكانيكيات العزل قبل الإخصاب، و ينشأ عن هذه الميكانيكيات عدم تكوين بيضة مخصبة قادرة على الحياة و تشمل عدة آليات منها :

أ- العزل البيئي Ecological isolation، و في هذه الحالة يتواجد نوعان أو أكثر ضمن نفس النطاق الجغرافي و لكن تختلف المتطلبات البيئية لكل نوع مما ينتج عن ذلك العزل التكاثري ، و من الأمثلة لهذه الحالة نوعان من الضفادع يعيشان في وسط و شمال كاليفورنيا و هما *Rana aurora* الذي يعيش في مياه التيارات السريعة ، بينما *Rana catesbiana* يعيش في مياه البرك .

ب- العزل الزمني Temporal isolation ، و فيها يتواجد نوعان أو أكثر ضمن نفس النطاق الجغرافي و لكن تختلف الفترة الزمنية لنشاطها التناسلي أو موسمها التناسلي ، و مثالها الموسم التناسلي للضفدع *Rana aurora* يمتد من كانون الثاني إلى آذار ، بينما الضفدع *Rana boylii* يكون موسم التناسلي في أواخر آذار و خلال مايس و بذلك لا يحدث الخلط التكاثري بينهما.

ت- العزل السلوكي Behavioral isolation ، تمتاز الأنواع المختلفة بسلوك مميز لكل نوع يسبق التكاثر يتضمن التغريد أو الرقص و الاستعراض و غيرها و هي تمثل آليات للجذب الجنسي يمتلكها الذكر لجذب الإناث.

ث- العزل الميكانيكي Mechanical isolation ، و يحدث نتيجة وجود اختلافات مظهرية تمنع حدوث التزاوج في الحيوانات أو التلقيح في النباتات ، مثالها تختلف القواقع في اتجاه حلزونة القوقعة و هي صفة ناتجة عن التأثيرات الأمية و سبق شرحها ، فالقواقع ذات الحلزونة باتجاه اليمين لا يمكنها التزاوج مع القواقع ذات الحلزونة باتجاه اليسار مما ينتج عنه العزل التكاثري.

ج- العزل الكميئي Gametic isolation ، وفي هذه الحالة لا يوجد توافق كيميائي أو وراثي بين النطف و البيوض مما يعيق اتحادها و تكوين الزايكوت. مثالها قنفاذ البحر sea urchins لا تتزاوج و لكنها تطلق الكميات في المحيط و تتحد النطف مع البيوض لتكوين الزايكوت و تتكاثر. يوجد في الامتداد الصخري غرب الولايات المتحدة نوعان من قنفاذ البحر هما *Strongylocentrotus purpuratus* و *Strongylocentrotus franciscanus* و لا يستطيعان التكاثر مع بعضها البعض خلطيا بسبب عدم التوافق الوراثي و الكيميائي بينهما.

2- ميكانيكيات العزل بعد الإخصاب Postzygotic isolation ، يحدث في بعض الحالات اتحاد بين الكميات الذكرية و الأنثوية من نوعين مختلفين و ينشأ الزايكوت ، و تعمل هذه الميكانيكيات على منع الفرد الهجين الناتج عن نوعين مختلفين من تمرير جيناته إلى الأجيال اللاحقة و تتضمن ما يأتي :

أ- قابلية الهجين على الحياة Hybrid viability ، في هذه الميكانيكية يموت الجنين بعد عدد محدود من الانقسامات للزايكوت نتيجة عدم توافق المعلومات الوراثية و عدم كفايتها لإكمال التطور الجنيني.

ب- ظهور العقم في الهجين Hybrid sterility ، قد ينتج عن الإخصاب لكميات نوعين مختلفين الحصول على أفراد هجينة قادرة على الحياة و تكون عادة أكثر حيوية من آبائها ، و لكن هذه الأفراد تكون عقيمة لوجود مشاكل في الانقسام الميوزي و عدم تكوين الكميات ، مثالها التزاوج بين الخيول و الحمير لإنتاج البغال العقيمة.

و يطلق على عملية ظهور الأنواع الجديدة مصطلح speciation نتيجة لعملية التطور، إذ تظهر الأنواع الجديدة وفق اسلوبين : الأول يسمى anagenesis و فيه تحدث تغيرات في نوع معين بمرور الوقت بحيث تؤدي إلى حصول تغيرات كافية لاعتباره نوعا جديدا، أما الأسلوب الثاني و

هو الأكثر شيوعا و يسمى Cladogenesis و فيها يمكن أن ينشطر النوع الواحد إلى مجموعتين لا تتشارك في نفس المستودع الجيني ، و هناك العديد من الطرائق التي تؤدي إلى ظهور الأنواع الجديدة و تشترك جميع الطرائق في اعتمادها على العزل التكاثري و هي :

1- Sympatric speciation ، يحدث ظهور النوع الجديد عندما تنعزل عشيرة من النوع و تصبح معزولة تكاثريا عن بقية عشائر النوع، و مفهوم ظهور النوع وفق هذه الطريقة من خلال تعدد المجاميع الكروموسومية polyploidy و فيها يمتلك النسل ضعف العدد الطبيعي من الكروموسومات. يمتلك الأفراد الطبيعيون نسختين من كل كروموسوم (ثنائية المجموعة الكروموسومية) والنسل الناتج يمتلك أربع نسخ من كل كروموسوم ، و نتيجة لذلك تكون الأفراد الناتجة غير قادرة على التزاوج مع الأفراد الثنائية المجموعة الكروموسومية و بذلك يحدث العزل التكاثري، و تعتبر هذه الطريقة نادرة و تحدث عادة بين النباتات أكثر من الحيوانات لان النباتات تكون قادرة على الإخصاب الذاتي ، بينما في الحيوانات يتطلب وجود أفراد رباعية من كلا الجنسين.

2- Allopatric speciation ، هي الطريقة الأكثر شيوعا في ظهور الأنواع الجديدة ، و تحدث عندما تنعزل عشيرة من نوع معين جغرافيا و يتوقف تدفق الجينات مع العشائر الأخرى و بمرور الوقت تصبح العشائر مختلفة وراثيا بتأثير الانتخاب الطبيعي نتيجة الحياة في بيئات مختلفة ، و في حالة أن تكون العشيرة المعزولة صغيرة نسبيا فإنها تواجه تأثير المنبوذ founder effect نتيجة لذلك تمتلك العشائر تكرارات جينية مختلفة عند انفصالها و بذلك يعمل الانتخاب الطبيعي و الانجراف الوراثي بصورة مختلفة عن العشائر و ينتج عن ذلك نوعين مختلفين.

3- Parapatric speciation ، تعتبر هذه الطريقة نادرة جدا في ظهور الأنواع الجديدة، و يكون العزل بين العشائر ناتجا عن تغيرات متطرفة في البيئة التي تعيش فيها العشائر (و لا تكون ناتجة عن عوائق جغرافية) ، و تتزوج أفراد العشائر داخليا و ينتج عن ذلك امتلاكها صفات مميزة و اسلوب خاص للمعيشة ، على سبيل المثال النباتات التي تعيش على الحدود بين مناطق تمتاز بظروف مناخية مختلفة ، قد يحدث فيها الإزهار في أوقات مختلفة استجابة إلى بيئاتها المختلفة مما يجعلها غير قادرة على التكاثر بالخلط بينهما.

الانقراض Extinction

يقصد بمصطلح الانقراض Extinction موت و نهاية وجود جميع أفراد نوع أو عائلة من الكائنات الحية بسبب عدم إمكانيتها على التكيف للتغيرات البيئية أو نتيجة كارثة بيئية ، مثالها انقراض فيلة الماموث Mammoths قبل حوالي 12000 سنة ، و يرى علماء الطبيعة في الانقراض عملية طبيعية مستمرة تحدث بتأثير الانتخاب الطبيعي ، إذ إن الكائنات الحية تتنافس

فيما بينها للحصول على الغذاء و المكان و مقاومة الهلاك بسبب الأمراض و المفترسات ، أما التغيرات البيئية غير المتوقعة فإنها تعرض الأنواع غير القادرة على التكيف للظروف البيئية الجديدة إلى مواجهة خطر الانقراض، و يطلق على المعدل الثابت من الانقراض Background extinction و هو إن مصير معظم الكائنات الحية أن تنقرض ضمن مفهوم الانتخاب الطبيعي ، إذ يقدر العلماء إن حوالي خمسة عوائل تفقد نتيجة الانقراض خلال مليون سنة، إلا إن الانقراض قد يحدث بشكل واسع و بصورة مفاجئة نتيجة تغيرات كبيرة في الظروف البيئية ناتجة عن التغيرات المناخية مثل العصر الجليدي أو نتيجة حدوث الكوارث الطبيعية مثل سقوط النيازك أو النشاط البركاني الواسع ، و يسمى في هذه الحالة بالانقراض الجماعي Mass extinction الذي يؤثر بشكل جذري على الحياة في الأرض و يتسبب في اختفاء مجاميع بيولوجية كثيرة و تظهر لاحقاً مجاميع جديدة لتأخذ مكانها في البيئة الجديدة ، و يؤدي الانقراض الواسع إلى تغيرات تطورية مهمة تهز ديناميكية الحياة و توازنها على الأرض ، ففي عصر الديناصورات التي سادت على الأرض لفترة أكثر من 150 مليون سنة كانت اللبائن صغيرة الحجم و حركتها و نشاطها يقتصر على الليل لتجنب افتراسها من قبل الديناصورات الأكلة للحوم ، و لكن بعد الانقراض الواسع الذي نتج عنه انقراض الديناصورات تحركت مجاميع اللبائن المتبقية إلى البيئات التي كانت تشغلها الديناصورات و على مدى 200 مليون سنة تطورت مجاميع اللبائن إلى أنواع جديدة و سادت على الأرض. و أشار Raup (1994) إلى أن سجل المتحجرات يوضح انقراض 336 نوعاً من الديناصورات تم تسجيلها من خلال التعرف على قطعة واحدة من الجسم أو الحصول على هيكل عظمي غير كامل.

الانقراضات الجماعية في تاريخ الحياة على الأرض

تشير المصادر العلمية إلى حدوث خمسة انقراضات جماعية للكائنات الحية خلال فترة 500 مليون سنة الماضية من تاريخ الحياة على الأرض الذي يقدر بحوالي 3.5 مليار سنة حسب معطيات علم المتحجرات ، و يمكن إيجازها كما يأتي :

1- الانقراض الجماعي في العصر الأوردوفيشي Ordovician Period (حوالي 438 مليون سنة مضت) و نتج عن الانقراض اختفاء 85 % من أنواع الكائنات الحية على الأرض.

2- الانقراض الجماعي في العصر الديفوني Devonian Period (367 مليون سنة مضت) فقد خلال هذا الانقراض الجماعي 82 % من أنواع الكائنات الحية.

3- الانقراض الجماعي في نهاية العصر البرمي Permian Period (245 مليون سنة مضت) و كانت كارثة كبيرة أدت إلى فقدان 96 % من أنواع الكائنات الحية البرية و البحرية ، ونظراً إلى ضخامة هذه الكارثة يستخدم علماء الدراسات القديمة paleontologists هذا الحادث للإشارة إلى نهاية حقبة العصر القديم و بداية العصر المتوسط Mesozoic Era

الذي نشأت خلاله مجاميع جديدة من الكائنات الحية. و يعتقد العلماء إن هذه الكارثة جاءت نتيجة ثلاث مراحل متسلسلة بدأت بانخفاض مستوى المياه في البحر المحيط باليابسة و حدوث تغيرات جيوكيميائية نتج عنه موت عدد كبير من الأنواع و المرحلة الثانية حدوث انفجارات بركانية وانطلاق كميات كبيرة من الغازات أسهمت في تدهور النظام البيئي و المرحلة الثالثة حدوث الفيضان الذي غطى البيئات القريبة و موت واسع للكائنات الحية.

4- الانقراض الجماعي في العصر الترياسي Triassic Period (208 مليون سنة مضت) و نتج عن هذه الكارثة اختفاء 76 % من أنواع الكائنات الحية الموجودة في ذلك الوقت.

5- الانقراض الجماعي في نهاية العصر الطباشيري Cretaceous Period (65 مليون سنة مضت) و يعتقد علماء الجيولوجيا و الدراسات القديمة أن هذا الانقراض نتج عن سقوط نيزك عملاق أو أكثر على سطح الكرة الأرضية، أدى إلى انقراض حوالي 76 % من أنواع الكائنات الحية أشهرها الديناصورات و الزواحف العملاقة. و قد نتج عن هذا الانقراض حدوث فراغ على سطح اليابسة مما فسخ المجال لظهور الثدييات الكبيرة و الطيور .

التغيرات البيئية بتأثير النشاط الإنساني و علاقتها بالانقراض

إن النظام البيئي يتكون من العديد من المكونات الحية و المكونات الغير حية الضرورية للحياة، و يوجد توازن بيئي لمكونات النظام البيئي التي يوجد بينها علاقات تأثير و تأثير متبادل و إن التغيير في احد العناصر قد يؤدي إلى تغيير في العناصر الأخرى. يمثل النشاط الإنساني عاملاً مهماً مؤثراً في التوازن البيئي و منذ زمن بعيد يمتد إلى اكتشاف الإنسان النار ، النشاط الزراعي و تربية الحيوانات ، الثورة الصناعية و استخدام الفحم و النفط ، و صولا إلى استخدام الطاقة النووية . إن النشاط الإنساني يؤدي إلى إعاقة أو اختلال في دورة العناصر المهمة في البيئة مثل دورة كل من الكربون ، النتروجين ، الماء ، الأوكسجين و غيرها . فالثورة الصناعية التي حدثت في القرن التاسع عشر أثرت على العالم بدرجة كبيرة نتيجة التلوث الناتج عن الصناعات الملوثة للبيئة والذي أدى إلى الاحتباس الحراري ، إذ ترتفع درجة حرارة الأرض في القرن التاسع عشر نسبة إلى القرون السابقة و كذلك معدل درجة الحرارة في القرن العشرين ارتفعت بدرجة كبيرة مقارنة بالقرن التاسع عشر و يتوقع استمرار ارتفاع درجات الحرارة ما لم تتخذ الإجراءات الضرورية لخفض مستوى التلوث البيئي.

يتفق معظم العلماء إن الأرض تواجه أكبر مخاطر الانقراض منذ حدوث انقراض الديناصورات نتيجة تداخل النشاط البشري في التوازن البيئي و منها التلوث و إزالة الغابات و الصيد الجائر للأسماك ، فضلا عن إدخال أنواع من الكائنات الحية إلى بيئات لم تكن موجودة فيها مما أدى إلى انقراض الأنواع المحلية. إن التغيرات البيئية الناجمة عن التدخل البشري تمثل عاملاً مؤثراً على آلية التطور التدريجي و تقود النظام الإحيائي إلى خسارة متسارعة لعدد كبير من الأنواع .

تعريف بالمصطلحات و المفاهيم الوراثية

Adaptation : التكيف – هي صفة للكائن الحي أو العشيرة ناتجة عن تغيرات فسيولوجية ، تركيبية او سلوكية لتصبح أكثر ملائمة للبيئة التي تعيش فيها و تكسبها انسيابية الوظائف في الحياة و يجري إدامة هذه الصفة عن طريق الانتخاب الطبيعي.

Allele : الأليل - هو واحد من زوج أو سلسلة من الأشكال البديلة للجين . ويرث الفرد الثنائي المجموعة الكروموسومية أليلين من كل جين ، واحد من كل أب . فإذا كان الأليلان متشابهين (أما AA أو aa) يسمى الفرد متماثل التركيب الوراثي للجين Homozygous و ينتج عنه نوع واحد من الكميات .

وإذا كان الأليلان مختلفين Aa فيسمى الفرد خليط التركيب الوراثي Heterozygous و ينتج عنه نوعان من الكميات A و a . وعلى الرغم من أن كلمة أليل استخدمت بالأصل لوصف الاختلاف بين الجينات في الموقع الجيني الواحد ، إلا أنها تستخدم الآن للإشارة إلى الاختلافات بين التتابعات غير المشفرة للدنا ضمن نفس الموقع.

Amino Acids : الأحماض الامينية - هي مجموعة من عشرين جزيئة مختلفة تستخدم في بناء البروتين . و تتألف البروتينات من سلسلة أو أكثر من الأحماض الأمينية تسمى سلسلة عديد الببتيد . و ينتج عن تسلسل الأحماض الامينية في السلسلة إلى انطوائها لتأخذ الشكل البيولوجي الفعال . و يشفر الجين لتحديد تتابع الأحماض الامينية بموجب الشفرات الوراثية Genetic Codes.

Aneuploid : كائن حي أو خلية تمتلك عدداً كروموسومياً لا يتطابق مع التضاعف العددي الطبيعي للمجموعة الكروموسومية الأحادية (n) ، و قد تكون بصيغة زيادة في عدد الكروموسومات مثل 2n+1 أو بصيغة فقدان في عدد الكروموسومات مثل 2n-1 .

Anticodon : مضاد الشفرة - هو تتابع من ثلاث نيكلويتيدات موجود في احد نهايتي الرنا الناقل tRNA مكمل لتتابع الشفرة الموجودة على الرنا الرسول mRNA . في عملية الترجمة لتصنيع البروتين يعمل الرنا الناقل على الارتباط المتخصص مع الحامض الاميني الملائم لمضاد الشفرة التي يحملها و ينقله إلى الرايبوسوم حيث يرتبط مع الشفرة المكملة لتتابع الأحماض النووية في البروتين حسب تتابع الشفرات في الجين .

Antisense strand : الخيط ضد الحسي - هو خيط غير مشفر من حلزون الدنا للجين . و تستخدم الخلية الخيط ضد الحسي كقالب لإنتاج الرنا الرسول mRNA والتي توجه تصنيع البروتين . يمكن للخيط ضد الحسي أن يعمل على إسكات الجينات Silencing genes . و لكي يتم إسكات جين معين ، يعمل جين آخر على إنتاج الرنا الرسول المكمل للرنا الرسول الذي ينتج من الجين المعني . ونتيجة تكامل خيطي الرنا الرسول يتحد الخيطان لإنتاج الحلزون من الرنا وبذلك لا يستطيع توجيه تصنيع البروتين .

Apoptosis : الموت المبرمج للخلية – هو موت الخلايا حقيقية النواة الناتج عن أحداث مبرمجة وراثياً ضمن هذه الخلايا .

Autosomes : الكروموسومات الجسمية - هو أي كروموسوم غير كروموسومات الجنس . و يمتلك الإنسان 22 زوجاً من الكروموسومات الجسمية و زوجاً واحداً جنسياً (X و Y) . ويجري ترقيم الكروموسومات حسب حجمها . فنلاحظ إن الكروموسوم رقم 1 يحتوي حوالي 2800 جين بينما نجد أن الكروموسوم 22 يحتوي حوالي 750 جين .

Auxotroph : كائن حي (البكتريا أو الخميرة) حدثت فيه الطفرة و أصبح غير قادر على النمو و التكاثر في وسط النمو الطبيعي لأفراد نوعه ، و يتطلب توفير بعض الإضافات إلى وسط التنمية مثل احد الأحماض الامينية أو الفيتامين ليتمكن من النمو و التكاثر .

Backcross : التضريب الرجعي - هو عملية تزواج بين أفراد الجيل الأول مع احد الأبوين .

Base Pair : زوج قاعدي - هو قاعدتان كيميائيتان (قواعد نتروجينية) تدخل ضمن تركيب خيطي الدنا و ترتبط القواعد النتروجينية في الخيطين مع بعضهما بأصرة هيدروجينية و بشكل متخصص الأدينين مع الثايمين و الكوانين مع السايروسين ، و يطلق على كل ارتباط بين القواعد في الخيطين زوج قاعدي .

Cell Cycle : دورة الخلية - هي سلسلة من الأحداث تمر بها الخلية خلال نموها و انقسامها . و الخلية تقضي معظم الوقت في دورتها في الطور البيئي interphase و خلاله تنمو الخلية و تتضاعف الكروموسومات و تستعد الخلية للانقسام . و بعد الطور البيئي تدخل الخلية إلى مرحلة الانقسام الخلوي الذي ينتج عنه خليتان جديدتان ، كل واحدة منها تبدأ دورة جديدة .

Cell Cycle Checkpoints : هي ميكانيكيات للسيطرة على دورة الخلية تضمن من خلالها الخلية الانقسام السليم للخلية .

Centriole : عضية توجد في العديد من الخلايا الحيوانية ، تشترك في تكوين خيوط المغزل خلال انقسام الخلية .

Chromatin : الكروماتين - هي مادة يتكون منها الكروموسوم تتألف من الدنا و البروتين . ويحمل الدنا التركيب الوراثي للخلية . أما الجزء الرئيسي للبروتين فيسمى البروتينات الهستونية و التي تساعد على تعبئة الدنا بشكل مضغوط يتلاءم مع نواة الخلية ، فضلا عن وجود البروتينات اللاهستونية في الكروماتين . ويرتبط التعبير في تركيب الكروماتين مع تضاعف الدنا و التعبير الجيني .

Chromosome : الكروموسوم

في حقيقة النواة ، يمثل جسماً عصوي الشكل شديد الاصطباغ يوجد داخل النواة ، يتكون الكروموسوم من جزيئة دنا واحدة مرتبطة مع البروتينات الهستونية بشكل فائق الحلزنة فضلا عن اشتراك البروتينات اللاهستونية في تركيب الكروموسوم ، و قد يكون الكروموسوم غير متضاعف أو متضاعفاً (يتكون من كروماتيدين شقيقين) حسب المرحلة التي تمر بها دورة الخلية . أما في البدائية النواة فيتكون الكروموسوم من جزيئة دنا دائرية الشكل توجد في وسط الخلية . تمتلك الأنواع المختلفة أعداداً مختلفة من الكروموسومات . يمتلك الإنسان 23 زوجاً من الكروموسومات منها 22 زوجاً من الكروموسومات المرقمة حسب حجمها تسمى الكروموسومات الجسمية Autosomes و زوج الكروموسومات الجنسية X و Y .

Centromere : السنترومير - منطقة على الكروموسوم تقفل الكروموسوم إلى ذراع قصيرة يرمز له p و ذراع طويلة بالرمز q . وخلال دورة الخلية ، تتضاعف الكروموسومات وتصبح عبارة عن كروماتيدين شقيقين تتصل مع بعضها بمنطقة السنترومير . وتمثل منطقة اتصال خيوط المغزل عند الانقسام الخلوي . ويجري تشخيص ووصف الكروموسوم بالاعتماد على موقع السنترومير على الكروموسوم.

Codon : الشفرة الوراثية - هو تتابع من ثلاث نيكلويتيدات في خيط الرنا الرسول mRNA يشفر إلى حمض أميني محدد . وتمثل الشفرة الوراثية العلاقة بين تتابع القواعد النروجينية في الجين و تتابع الأحماض الأمينية التي تشفر لها في سلسلة عديد الببتيد الناتجة عنها . و هناك 64 شفرة منها 61 شفرة وراثية تشفر للأحماض الأمينية و ثلاث شفرات توقف .

Diploid : الثنائي المجموعة الكروموسومية - هو خلية أو كائن حي يمتلك مجموعتين كروموسوميتين (2n) حصل على إحدهما من الأب، و الأخرى من الأم عند حصول الإخصاب. و في الإنسان تحتوي الخلايا الجسمية على 23 زوجاً كروموسومياً (23 كروموسوماً مصدرها الأب و 23 كروموسوماً مصدرها الأم).

Dihybrid : الهجين الثنائي - هو الفرد الخليط في موقعين وراثيين مثلاً AaBb ، و ينتج عن هذه الأفراد أربعة أنواع من الكميات . و بنفس الاتجاه يمكن تعريف الهجن الثلاثية AaBbCc Trihybrids و هكذا .

DNA : هو مختصر Deoxyribonucleic acid : و هو المادة الحاملة للمعلومات الوراثية و التي تمثل الجينات ، و الدنا جزيئات كبيرة تتألف من سلسلة طويلة من النيكلويتيدات ترتبط مع بعضها بالأصرة ثنائية الايستر و تنتظم خيوط الدنا على شكل حلزون مزدوج ترتبط من خلاله القواعد النروجينية في احد الخيطين مع القواعد النروجينية في الخيط المقابل وفق قاعدة الازدواج القاعدي بواسطة الأصرة الهيدروجينية.

Dominance : السيادة - حد الاليلات ان ال تركيب الوراثةي الخلط يمكن لا ي لغي التعبير المظهري لاليل آخر و يمنعه من التعبير عن نفسه ، وهو يعبر عن الوظيفة الوراثية للتفاعل الاليلي ضمن الموقع الجيني الواحد ، وتكون السيادة بعدة درجات منها السيادة الكاملة (التامة) complete dominance وفيها لا يمكن التمييز بين المتماثل السائد والخليط مظهريا ، أما السيادة غير الكاملة incomplete dominance فيمكن تمييز مظهر التركيب الوراثةي الخلط عن كل من التراكيب الوراثية المتماثلة .

Epistasis : التفوق - هو ظاهرة تنتج عن التداخل بين منتجات الجينات غير الاليلية و التي تحتل مواقع جينية مختلفة ، حيث يطغى الجين المتفوق و يعبر عن نفسه و يمنع الجين المتفوق عليه hypostatic gene من التعبير عن نفسه في الشكل المظهري.

Genotype : التركيب الوراثي - هو المحتوى الوراثةي للفرد يتسلمه عند الإخصاب و يبقى محتفظا به طوال حياته . ويتم وصف التركيب الوراثةي للفرد لصفة معينة باستخدام الحروف الانكليزية حيث يستخدم الحرف الكبير A للإشارة إلى الاليل السائد بينما يستخدم نفس الحرف الصغير للإشارة إلى اليله المتتحي a . عندما يحمل الفرد اليلين متماثلين AA و aa يسمى متماثل

التركيب الوراثي **Homozygous** (يكون متماثل سائد **Homozygous Dominant** أو متماثل متنح **Homozygous Recessive**) و ينتج عنه نوع واحد من الكميات ، بينما الفرد الذي يحمل أليلات مختلفة **Aa** يسمى تركيباً وراثياً خليطاً **Heterozygous** وينتج عنه نوعان من الكميات .

Genetics : علم الوراثة – هو فرع من علم الأحياء يمثل العلم الذي يدرس المادة الوراثية من حيث التركيب و الوظيفة التي تؤديها من حيث التعبير الجيني و التحكم بالفاعليات الحيوية وأسلوب انتقالها من جيل لآخر .

Gene : الجين - هو وحدة الوراثة ، تنتقل من الآباء إلى الأبناء ويحمل المعلومات المطلوبة لصفة معينة ، و يمثل قطعة من الدنا ، تشير إلى تتابع من النيكلوتيدات يشفر إلى تتابع الأحماض الامينية في عملية تصنيع البروتين خلال التعبير الجيني الذي يتحكم من خلالها الجين بالفاعليات الحيوية للفرد و شكله المظهري.

Genome : الجينوم – هي المجموعة الأحادية الكاملة (n) من الكروموسومات (بضمنها المجموعة الكاملة للجينات) التي تورث كوحدة كاملة من احد الأبوين.

Haploid : أحادية المجموعة الكروموسومية – هي صفة الكائنات الحية الأحادية المجموعة الكروموسومية (n) و التي تتكاثر لا جنسيا . أو كميات الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسومية ، ففي الإنسان تعد النطف و البيوض أحادية المجموعة الكروموسومية.

Hayflick limit : حدود هيفلك - هي عدد مرات انقسام الخلية الطبيعية في جسم الإنسان التي تستمر إلى حدود معلومة وتتوقف عن الانقسام ، إذ يقصر الكروموسوم مع كل عملية انقسام بسبب إن عملية تضاعف الدنا لا تتم في مناطق التيلومير وبذلك يفقد جزءاً من التيلومير عند كل عملية انقسام و في النهاية يصبح طول التيلومير قصيراً بدرجة يجعل انقسام الخلية مستحيلاً . تم اكتشاف هذه الحدود من قبل Leonard Hayflick عام 1961 حيث أشار إلى أن خلية جسم الإنسان الجنينية تنقسم ما بين 40 – 60 انقسام و بعدها تدخل الخلية مرحلة الشيخوخة .

Hemizygote : يقع الجين المسيطر على الصفة المرتبطة بالجنس على كروموسوم الجنس (X في الثدييات ، Z في الطيور) و عندما نتكلم على الثدييات تكون الإناث إما متماثلة التركيب الوراثي للصفة **homozygous** أو خليطة **heterozygous** ، بينما الذكور تمتلك اليلاً واحداً للصفة يقع على كروموسوم الجنس X لذلك يطلق عليه **hemizygous** .

Heredity : التوريث – هي عملية انتقال الصفات من الآباء إلى النسل ، و تتضمن دراسة التشابه بين الأقارب الذين تربطهم أصول مشتركة.

Heterozygous : خليط التركيب الوراثي - يشير إلى امتلاك الفرد اليلين مختلفين في موقع جيني محدد (Aa) ، وحصل الفرد على كل اليل من احد الأبوين اللذين يكونان تركيبين وراثيين مختلفين (AA و aa). و ينتج هذا الفرد نوعان من الكميات في هذا الموقع الجيني.

Homozygous : المتماثل التركيب الوراثي - هو امتلاك الفرد زوجاً من الاليلات المتماثلة في موقع جيني محدد (AA أو aa) حصل على كل اليل من أحد الأبوين ، وينتج عن هذا التركيب الوراثي نوع واحد من الكميات .

Homologous chromosome : الكروموسومات المتناظرة- في الكائنات الثنائية المجموعة الكروموسومية تنتظم الكروموسومات على شكل أزواج متشابهة في الحجم و موقع السنتروميير و وجود التوابع و كل زوج كروموسومي يتكون من كروموسومين احدهما مصدره الأب و الآخر مصدره الأم .
يمتلك الإنسان 46 كروموسوماً تنتظم في 22 زوجاً من الكروموسومات الجسمية المتناظرة و زوج الكروموسومات الجنسية .

Karyotype : الهيئة الكروموسومية – هو ترتيب و وصف الكروموسومات في الخلية أو الفرد ، وفيها يجري ترتيب أزواج الكروموسومات حسب أطوالها و موقع السنتروميير، و يرقم الكروموسوم الأطول بالرقم 1 ثم بقية الكروموسومات تباعاً.

Life cycle دورة الحياة : تشير دورة حياة الكائن الحي إلى سلسلة الأحداث التي تحدث في حياة الكائن الحي من مرحلة الزايكوت إلى موت الكائن الحي .

Locus : الموقع الجيني - هو موقع محدد يشغله الجين أو تتابع الدنا على الكروموسوم ، ويمثل عنوان الجين على الكروموسوم . و مجموع المواقع الجينية تسمى loci .

Linkage : الارتباط – وصف للعلاقة بين الجينات الواقعة على نفس الكروموسوم ، حيث تميل الكروموسومات الواقعة على نفس الكروموسوم إلى الانتقال سوياً إلى جيل الأبناء .

Monohybrid : الهجين الأحادي - هو الفرد بالتركيب الوراثي الخليط في زوج واحد من العوامل الوراثية (موقع جيني واحد) مثلاً التركيب الوراثي Aa و ينتج عن تزاوج آباء تختلف في زوج واحد من العوامل الوراثية .

Mutant : الفرد الطافر - هو الكائن الحي الذي يظهر شكلاً مظهرياً جديداً يختلف عن الطراز البري و هذا الاختلاف ناتج عن الطفرة .

Mutation : الطفرة - هو تغير مستديم في تتابع النيكوتيدات يورث عبر الأجيال عند حصولها في الخلايا التكاثرية. ويمكن أن تنتج الطفرات تلقائياً نتيجة حدوث أخطاء في تكرار الدنا أثناء انقسام الخلية أو نتيجة تعرضها إلى المواد المطفرة mutagens مثل الإشعاعات المؤينة و المواد الكيماوية أو العدوى الفيروسية . الطفرات التي تحدث في الخلايا الجرثومية تنتقل عبر الأجيال عن طريق البيضة أو النطفة أو كليهما ، بينما الطفرات في الخلايا الجسمية لا تمرر عبر الأجيال . وتقسم الطفرات إلى طفرات نقطية Point mutation وتسمى أيضاً طفرات دقيقة Micro عندما تحدث على مستوى نيكلوتيدة أو عدد من النيكلوتيدات . و الطفرات الكروموسومية والتي تسمى أيضاً بالشذوذ الكروموسومي عندما يحدث التغيير على مستوى تركيب و ترتيب أجزاء الكروموسوم أو عدد الكروموسومات أو المجاميع الكروموسومية. و توفر الطفرة المادة الخام لعملية التطور البيولوجي الذي يكون ضرورياً لتكيف الكائنات الحية مع التغيرات البيئية المحيطة .

Non-Coding DNA : الدنا غير المشفر - هو تتابع من الدنا لا تشفر إلى الأحماض الامينية ، معظم الدنا غير المشفر يقع بين الجينات و لا تعرف وظيفته . وهناك تتابعات غير مشفرة تسمى الانترونات تقع ضمن جينات حقيقية النواة . بعض التتابعات غير المشفرة تلعب دورا في تنظيم التعبير الجيني .

Nucleosome : النيكلوسوم - هي وحدة كروماتينية ينتظم من خلالها الدنا في حقيقية النواة ، و تتكون من جزء مركزي يتألف من البروتينات الهستونية و 146 زوجاً من النيكلوتيدات للحمض النووي DNA.

Nucleolus : النوية - هي منطقة موجودة ضمن نواة الخلية و تكون وظيفتها إنتاج رايبوسومات الخلية و تركيبها ، حيث تنتقل هذه الرايبوسومات بعد ذلك إلى السايئوبلازم و تعمل كموقع لتصنيع البروتين .

Pedigree : مخطط النسب - هو عرض وراثي لمخطط وراثية الصفة أو المرض خلال عدد من الأجيال . ويظهر المخطط صلة القرابة بين أفراد العائلة ويشير إلى الأفراد التي تعبر عن الصفة و الأفراد الحاملة للصفة و لا تعبر عنها ، و تستخدم في المخطط أشكال هندسية (المربع ، الدائرة ...) و الرموز لتوضيح آلية انتقال الصفة عبر الأجيال.

Pharmacogenomics : فرع من علم الصيدلة يهتم باستخدام البيانات الخاصة بتسلسل الدنا و الأحماض الامينية في تطوير الأدوية و اختبارها ، و يمثل تطبيقاً مهماً يبحث في الارتباط بين الاختلافات الوراثية الفردية و الاستجابة للأدوية .

Phenotype : الشكل المظهري- هو المظهر الطبيعي للفرد لصفة معينة والذي ينتج عن التركيب الوراثي ، و في حالة السيادة التامة لأحد الاليلات يتساوى الشكل المظهري للتركيب الوراثي المتماثل السائد مع الشكل المظهري للتركيب الوراثي الخليط (ويمكن التمييز بينهما باستخدام التضريب الاختباري) . بينما يظهر الشكل المظهري للصفة المتنحية فقط في حالة التركيب الوراثي المتماثل المتنحي .

Pleiotropic : التأثير المتعدد للجين - هي الحالة التي يؤثر فيها الجين الواحد على أكثر من صفة واحدة.

Quantitative Trait Loci (QTL) : مواقع الصفة الكمية ، هي مواقع الجينات (أو الطفرة) على الكروموسوم المسؤولة عن صفة كمية معينة

Telomere : التيلومير - هي منطقة تقع في نهاية الكروموسوم من طرفي الكروموسوم ، وهي تحافظ على وحدة الكروموسوم وتمنع الكروموسومات من الالتصاق مع بعضها ، (حيث إن عدم وجود التيلومير يجعل النهايات لزجة) ومناطق التيلومير لا تتضاعف عند تضاعف الدنا في الخلايا الجسمية ، وتلعب دورا مهما في تحديد عدد مرات انقسام الخلية . أما في الخلايا الجذعية غير المتخصصة و الخلايا الجرثومية إضافة إلى الخلايا السرطانية فان منطقة التيلومير تتضاعف بفعل فاعلية أنزيم تيلوميريز Telomerase .

Test Cross : التضريب الاختباري - عندما يتحكم جين تام السيادة على صفة نوعية فان الشكل المظهري للتركيب الوراثي السائد المتماثل AA والتركيب الوراثي الخليط Aa سيكون متشابهة ولغرض تمييز الأفراد المتماثلة التركيب الوراثي عن الهجينة يستخدم هذا التضريب .

المصادر العربية

- البلداوي ، عبد اللطيف فالح ، الراوي ، عبد الرزاق عبد الحميد و العاني ، هيثم جسام محمد .
1980 . الوراثة . وزارة التعليم العالي و البحث العلمي . جامعة بغداد .
- الجنزوري، منير علي. 2008. الجينات و بيولوجيا الأمراض الوراثية . دار المعارف . القاهرة.
حسن، خالد حامد . 2011. تربية و تحسين الطيور الداجنة. مطبعة جامعة ديالى. جمهورية
العراق.
- حسين، هاشم احمد . 2002. مقدمة في وراثة العشائر و الوراثة الكمية. جامعة القاهرة.
جمهورية مصر العربية.
- الخفاجي ، زهرة محمود . 2008 . التقنية الحيوية الميكروبية (توجهات جزئية) . وزارة
التعليم العالي و البحث العلمي . جامعة بغداد . جمهورية العراق .
- شوقي ، احمد شوقي و فتحي محمد عبد التواب و علي زين العابدين عبد السلام و ممدوح ابو
المحاسن اسماعيل . 1993 . مبادئ علم الوراثة . كتاب مترجم . الدار العربية للنشر
والتوزيع. القاهرة.
- الفيصل، عبد الحسين مويت. 1999 أ. الوراثة العامة . الأهلية للنشر و التوزيع. عمان.
الفيصل، عبد الحسين مويت. 1999 ب. الهندسة الوراثية. دار الشروق للنشر و التوزيع. المملكة
الأردنية الهاشمية.
- محمد، عدنان حسن. 1981. أساسيات في الوراثة . دار الكتب للطباعة و النشر. جمهورية
العراق.
- الملاح ، ميسر يحيى و سفيان عزيز دبدوب . 1990 . علم الوراثة و تطبيقات في تحسين الحيوان
. دار الحكمة للطباعة و النشر . الموصل . جمهورية العراق .

- Abdel-Hameed , F. and Shoffner , R.N. 1971 . Intersexes and sex determination in chickens . *Science*. 172:962-964 .
- Al-Samarai, F. R. and A. A. Al-Kazaz. 2015. Molecular Markers and Its Applications in Animal Breeding: A review. *American Journal of Applied Scientific Research.*, 1(1):1-5. 2015, pp. 1-5. doi:10.11648/j.ajasr.20150101.11
- Blasco, M. A. 2005. Genetics. Nature Publishing Group. Spain.
- Carey , G. 2010 . History of Genetics . HGSS Company .
- Chris, H. 2009. Charles Darwin & Evolution .
http://www.christs.cam.ac.uk/darwin200/pages/index.php?page_id=f3
- Clark, W. and K. Christopher. 2000. An introduction to DNA: A spectrophotometry, degradation, and the “Frankengel’ experiment. Pages 81-99, in Tested studies for laboratory teaching . Volume 22 (S. J. Karcher, Editor). Proceedings of the 22nd . Workshop/ Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 489 pages.
- Dale, J. W. and S. F. Park .2004 . Molecular Genetics of Bacteria. 4th Edition , John Wiley & Sons Ltd. USA.
- Elmore, S. 2007. A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol. Pathol.* 35 (4) : 495-516.
- Falconer, D. S. 1990. Introduction to Quantitative Genetics. 3rd.ed. Longman Harlow, UK.
- Freeman, S. 2002 . Biological Science . Prentice-Hall, Inc. USA.
- Futuyma, D. J. 2005. Evolution . Sinauer Associates, Inc., USA.
- Grant, V. 1995. Sexual selection in plants: Pros and cons . *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92: 1247-1250.
- Jacob, H. J. and A. E. Kwitek.2002. Rat Genetics: Attaching physiology and pharmacology to the genome . NATURE REVIEWS GENETICS, Vol. 3: 33-42. www.nature.com/reviews/genetics
- Kalthoff, K. 2001 . Analysis of Biological Development . 2nd Ed. McGraw- Hill Publisher .USA.
- Keles, S. and T. Speed. 2000. Genetics of blood groups – ABO system and Rhesus factor. Available at :
www.stat.berkeley.edu/~terry/Courses/s260.2000/Week5b.pdf.

- Key, S., J. K. Ma and P. M. Drake. 2008. Genetically modified plants and human health. *J. R. Soc. Med.*, 101:290-298.
- Lewis, E. B., 1995. Remembering Sturtevant, *Genetics*, 141:1227-1230
- Lewis, R. 2008. Human Genetics. 8 Ed. McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
- Mader, S. S. 1993. Biology . Fourth Ed., Wm. C. Brown Publisher. England.
- Manolakou , P. , G. Lavranos and R. Angelopoulou . 2006 . Molecular Patterns of sex determination in the animal kingdom : a comparative study of the biology of reproduction . *Reproductive Biology and Endocrinology* 4:59 Available at : www.rbej.com/content/4/1/59.
- Mice with Polycystic Kidney Disease. *J. Vis. Exp.* (60), 3887, doi:10.3791/3887)
- Milner, N. 1993. The Encyclopedia of Evolution.
- Mittwoch, U. 1992. Sex determination and sex reversal: genotype, phenotype, dogma and semantics. *Hum. Genet.*, 89 (5): 467-479.
- Mueller, M. 2001. The Path to the Chromosome Theory of Heredity. <http://campus.udayton.edu/~hume/Chromosomes/chromo.htm>
- O'Connor, C. and I. Miko. 2008. Developing the chromosome theory. *Nature Education* ,1(1). <http://www.nature.com/scitable/topicpage/developing-the-chromosome-theory-164>
- Raup, D. M. 1994. The role of extinction in evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 6758 – 6763.
- Schwartz , H. and A. Guttman . 1995 . Separation of DNA by Capillary Electrophoresis . Beckman Coulter.
- Snustad, D. P. and M. J. Simmons. 2012. Principles of Genetics. 6th ed. John Wiley & Sons, Inc. USA.
- Snustad , D. P. and M. J. Simmons . 2000 . Principles of Genetics . 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Shetty, S. , P. Kirby, D. Zarkower and J.A.M. Graves . 2002 . DMRT1 in a ratite bird: evidence for a role in sex determination and discovery of a putative regulatory element. *Cytogenet Genome Res* 99:245–251.
- Sommer, R. J. 2000. Comparative genetics: A third model nematode

- species. *Current Biology*, 10 (23): 879 – 881.
- Stansfield, W. D. ,J. S. Colomé and R. J. Cano .2003 . *Molecular and Cell Biology* . McGraw-Hill Companies. New York .
- Stent,G.S.1971.*Molecular Genetics: An Introductory Narrative*. San Francisco W.H. Freeman .
- Streips, U. N. and R. E. Yasbin .2002 . *Modern Microbial Genetics* . Wiley – Liss , Inc. New York.
- Sutton, Walter S.1903.*The Chromosomes in Heredity*. *Biological Bulletin* 4: 231-251
- Taj, M. K. , Z. Samreen, J. X. Ling, I. Taj, T. M. Hassani and W. Yunlin. 2014. *Escherichia coli* as a model organism . *Int. J. Engg. Res. & Sci. & Tech.* Vol. 3, No. 2, 1-8.
- Veldman, M. B. and S. Lin. 2008. Zebrafish as a Developmental Model Organism for Pediatric Research. *Pediatric Research*,64(5):470-476.
- Verma , P. S. and V. K. Agarwal. 2005.*Cell Biology ,Genetics, Molecular Biology, Evolution and Ecology*. Publisher, S. Chand & Company Ltd., New Delhi.
- Winther, R.G. 2001 . August Weismann on Germ-Plasm Variation . *Journal of the History of Biology* 34: 517–555.
- Wright, A. and N. Hastie .2007. *Genes and common diseases*. Cambridge University Press, New York.
- Yilmaz , M. and Gok , I . 2010 . *Principles of Nuclie Acid Separation by Agarose Gel Electrophoresis* . www.intechopen.com