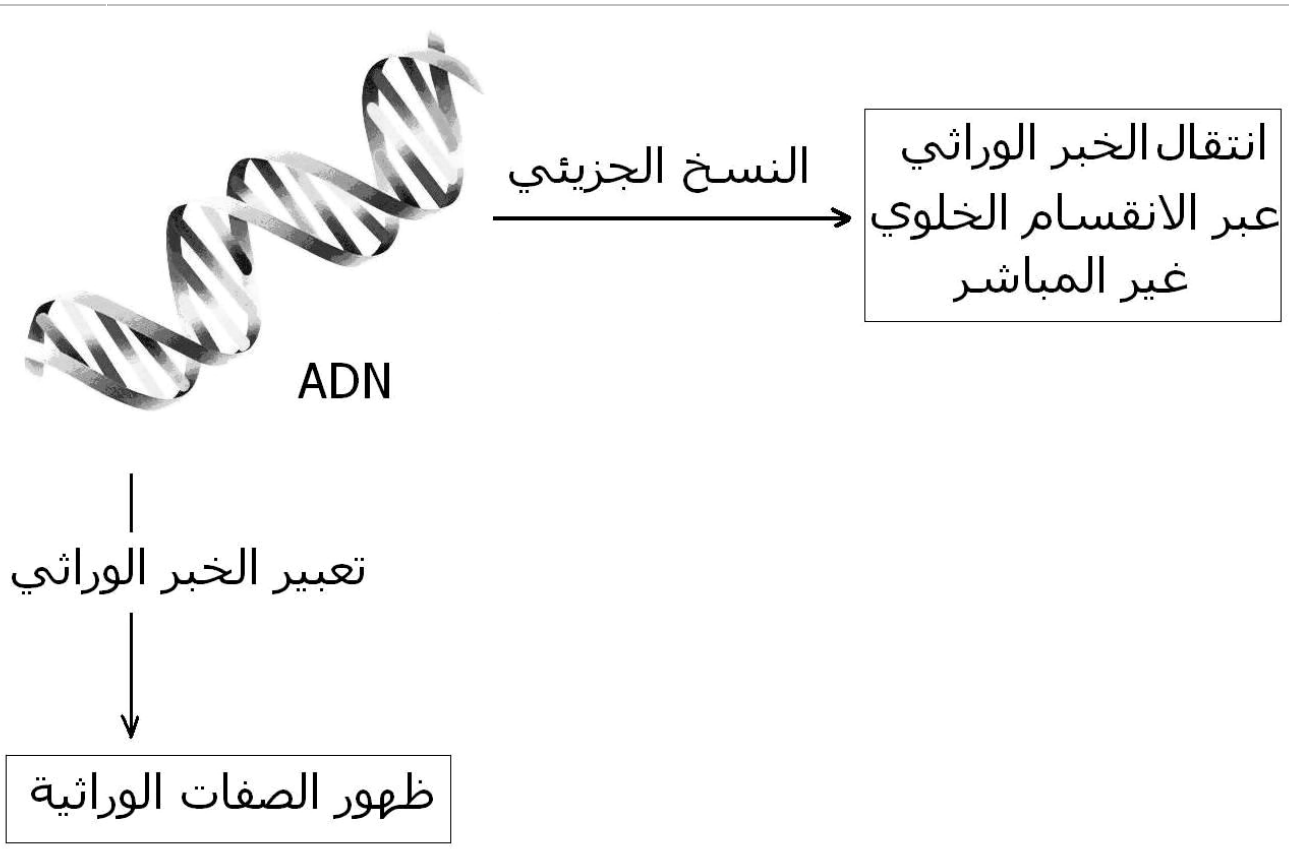
www.9alami.com

الوحدة 2 : طبيعة الخبر الوراثي وآلية تعبيره – الهندسة الوراثية

الفصل2: تعبير الخبر الوراثي

جزيئة ADN هي دعامة الخبر الوراثي، أي المعلومات التي تحدد جميع صفات الكائن الحي. وتستغل الخلية هذه المعلومات طوال حياتها. ولذلك يمكن أن نقول إن نواة الخلية هي المركز الذي يتحكم في جميع الوظائف الخلوية. ونسمي فك رموز الخبر الوراثي وتحويلها إلى صفات وراثية« تعبير الخبر الوراثي».

- كيف يتم إذن فك رموز الخبر الوراثي وتعبيره ؟؟



الوثيقة1: الدور المزدوج لADN

تصميم الفصل:

الوحدة1: المورثة : الوحدة الوظيفية للخبر الوراثي

الوحدة2: العلاقة بين الصفة والمورثة.

الوحدة3: تركيب البروتينات.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

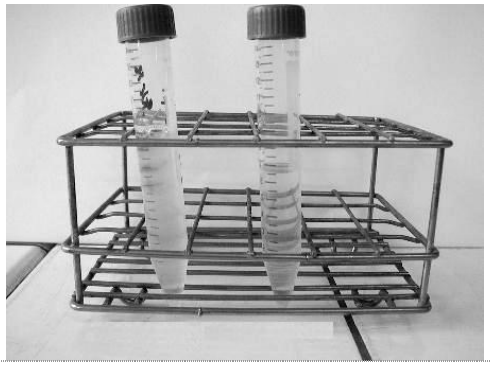
الوحدة1: المورثة : الوحدة الوظيفية للخبر الوراثي.

مكنت عدة تجارب أجريت على البكتيريات من فهم كثير من الظواهر المرتبطة بالخبر الوراثي، ومنها الطفرات.
* كيف مكنت دراسة الطفرات من وضع تعريف أولي للمُورِّثة كوحدة وظيفية للخبر الوراثي؟

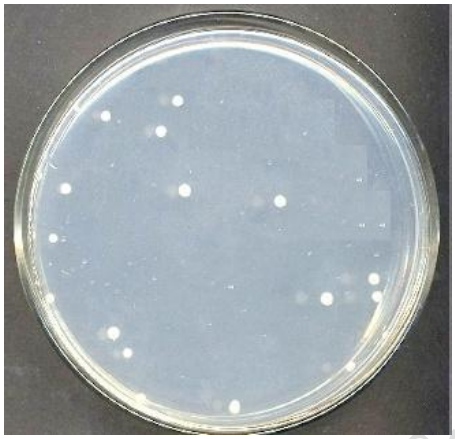
1- معلومات حول زرع البكتيريات.

* يمكن أن تتكاثر الخلايا البكتيرية في وسط زرع مغذ سائل داخل أنبوب اختبار. كل خلية تعطي لُمة عن طريق الانقسام المباشر. وتبقى اللمات مختلطة في الأنبوب(أ).
* يمكن أن نقوم بعملية الزرع في وسط مغذ مغرى، أي مختلط بمادة تسمى الغراء تعطي للوسط لزوجة وتماسكا.
* بعد إعداد الوسط المغرى في علبة Petri ،نسكب محلولا عالقا من البكتيريات التي تنتشر على سطحه. كل خلية تبقى في مكانها وتنقسم لتعطي لمة تظهر على شكل بقعة مستقلة يمكن عزلها عن البقع الأخرى(ب). إذا كانت اللمات كثيرة يمكن أن تشكل على سطح العلبة بساطا متواصلا.
* تجرى التجارب في بيئة معقمة لمنع تسرب متعضيات مجهرية غريبة إلى وسط الزرع.

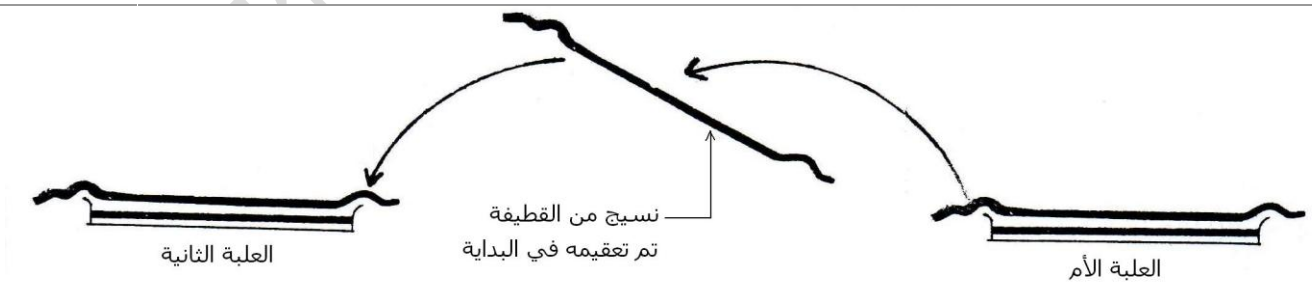
أ



ب



الوثيقة1: تُزرع البكتيريات في أنابيب اختبار وفي علبPetri.



تحتوي العلبة الأم على وسط زرع مغرى نمت عليه مستعمرات بكتيرية معزولة أو بساط بكيري متواصل. نضع على سطحها نسيجا معقما من القطيفة وممددا بواسطة أسطوانة فلزية، وذلك بكيفية تجعل النسيج يغطي كل العلبة. نضغط برفق ثم ننقل هذه "البصمة" إلى وسط مغرى ومعقم في علبة ثانية. وهذا ما سيسمح بنقل عينات من اللمات البكتيرية من الوسط الأول إلى الوسط الثاني. وتتم عملية النقل بحيث تحتل اللمات المنقولة في العلبة الثانية أماكن مماثلة للتي كانت تحتلها في الأولى.

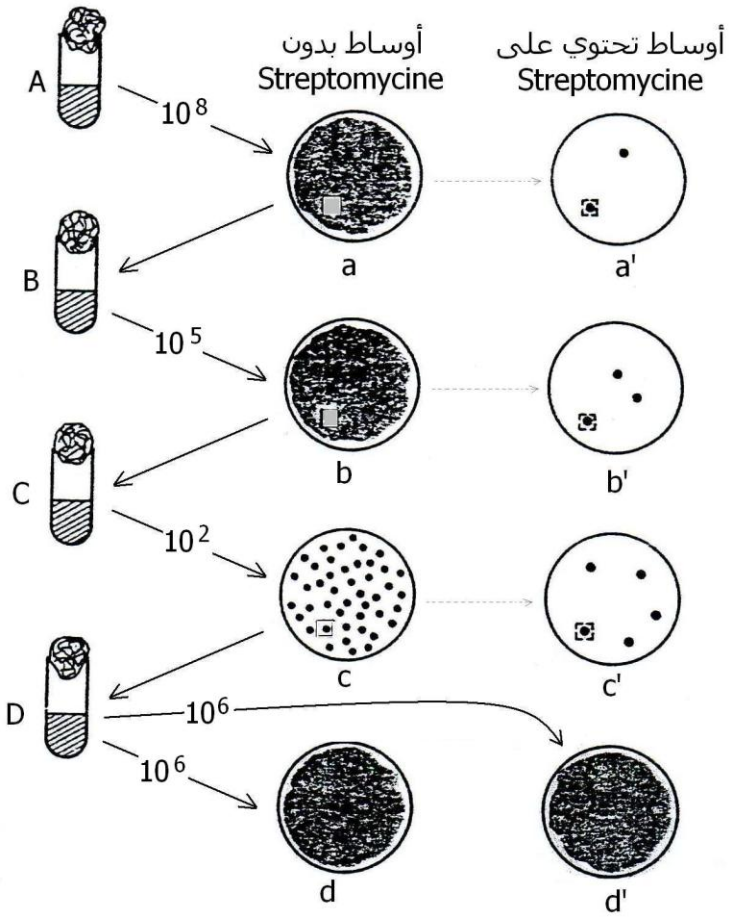
الوثيقة2: تقنية البصمات.

Prof Ennimou Abdelkader

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

2- تجربة Lederberg

1- يُسكب محلول يضم 10^8 خلية عالقة من الأنبوب A في العلبة a، ثم يتم انتظار ظهور اللمات.
2- تُأخذ بصمة من a إلى a′، ثم يتم انتظار ظهور اللمات.
3- بعد رصد مكان إحدى اللمتين اللتان ظهرتا في a′، تقتلع من المكان المماثل في a عينة من البساط البكتيري، ويتم زرعها في الأنبوب B.
4- يُسكب محلول يضم 10^5 خلية عالقة من الأنبوب B في العلبة b، ثم يتم انتظار ظهور اللمات.
5- تُأخذ بصمة من b إلى b′، ثم يتم انتظار ظهور اللمات.
6- بنفس الطريقة تقتلع عينة من b وتزرع في C.
7- نفس الشيء مع C و c و c′ (أنظر الشكل)
8- يتم عزل لمة من c مطابقة لإحدى اللمات التي ظهرت في c′ ، ويتم زرعها في D .
9- يُسكب محلول به 10^6 خلية من D في كل من d و d′.



الوثيقة3: تجربة Lederberg

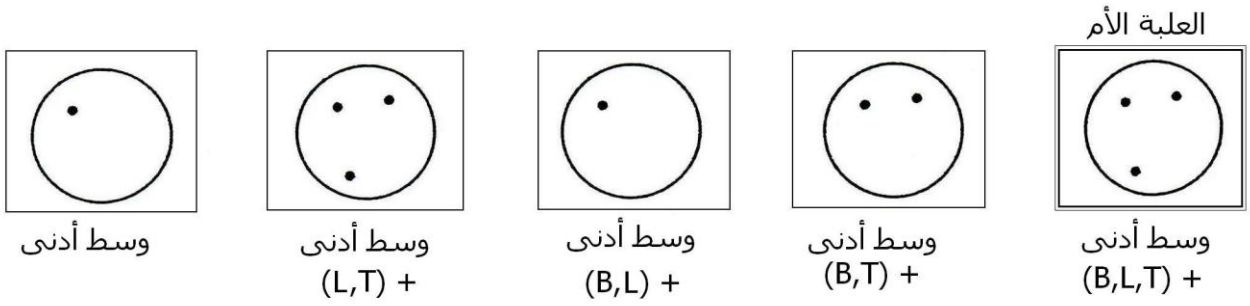
3- تعريف الطفرة.

- الطفرة تغير فجائي في شكل صفة وراثية. وتتسم بالتلقائية و الندرة والاستقرار (تنتقل وراثيا عبر عدد غير محدود من الأجيال أي بعد حدوثها تصبح راسخة في البرنامج الوراثي).
- مكنت تجربة Lederberg من عزل بكتيريات مقاومة للمضاد الحيوي من بين بكتيريات حساسة له.
- صفة " المقاومة / الحساسية " صفة وراثية، تتجلى في مظهرين "حساسة" و "مقاومة"
- فُسر الشكل المقاوم بحدوث طفرة في زمن ما من تاريخ هذه البكتيرية.
- على الرغم من أن الطفرات تلقائية وتصادفية ، فإن هناك عوامل تزيد من احتمال وقوعها كبعض الإشعاعات والمواد الكيميائية والفيروسات.

الوثيقة4.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

4- الطفرات المتعددة.



تم بسط 10^8 خلية طافرة ل E.coli في وسط زرع كامل (العلبة الأم). وبعد تكون اللمات ، نُقلت بصمات منها إلى علب تحتوي زيادة على الوسط الأدنى على أحد أو بعض الأحماض الأمينية التالية: التريونين (T) والبيوتين (B) واللوسين (L). ويبين الشكل ظروف ونتائج التجربة.

الوثيقة4: تجربة حول الطفرات المتعددة.

استثمر الوثائق وأجيب على الأسئلة.

1 - كيف تفسر الاختلاف الذي ظهر بين العلب aa' و bb' و cc' ؟
2 - كيف تفسر نمو بساط متواصل في العلبتين d و d' ؟
3 - هل البكتيريات المقاومة كانت موجودة قبل إجراء التجربة، أم أن المقاومة ظهرت تحت تأثير المضاد الحيوي ؟
4 - احسب نسبة اللمات المقاومة في كل من الأنابيب ABCD.
5 - إذا علمت أن عينة البكتيريات المتواجدة بالأنبوب A تمثل العينة المأخوذة من الطبيعة، استخرج من معطيات تجربة Lederberg ما يبين أن الطفرات تتميز بالندرة والتلقائية والاستقرار.
6 - قصد التعميم، كيف يمكن أن تفسر الاختلاف في الصفات الوراثية بين أفراد نفس النوع ؟
7 - تتميز الطفرات بالاستقلالية. ومن تم استنتاج أن الصفات الوراثية نفسها مستقلة عن بعضها. فلكل صفة جزء من المادة الوراثية يسمى "مورثة". فالمورثة هي الوحدة الوظيفية للخبر الوراثي. استخرج من معطيات تجربة الطفرات المتعددة ما يدعم هذا المفهوم.
8 - الحصيلة.

Mutation	طفرة	Géne	مورثة
Colonie	مستعمرة	Milieu de culture	وسط زرع
Microorganisme	متعضي مجهري	Clone	لمة
Indépendance	استقلالية	Rareté	ندرة
Résistante	مقاوِمة	stabilité	استقرار
Suspension bactérienne	محلول به بكتيريات عالقة	Sensible	حساسة

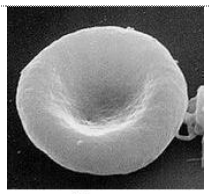
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

الوحدة2: العلاقة بين الصفة والمورثة.

كل الصفات الوراثية مُبرمجة على مستوى المادة الوراثية (ADN) على شكل وحدات وظيفية تسمى المورثات.
* كيف يمكن أن نوضح العلاقة بين الصفة والمورثة ؟

- يتميز مرض فقر الدم المنجلي بوجود كريات حمراء مشوهة(ب)، يمكن التمييز بينها وبين الكريات الحمراء العادية (أ).
- ويتميز هذا المرض كذلك بخضاب دموي غير عاد. ومعلوم أن الخضاب الدموي هو البروتين المتواجد داخل الكريات الحمراء، والمسؤول عن نقل الأكسجين في الدم.

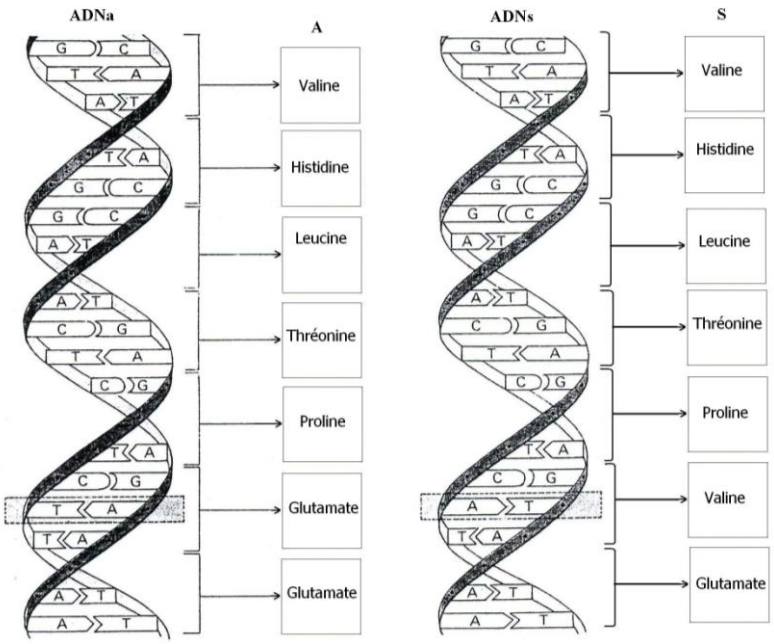
ب



أ

الوثيقة1:

- المورثة قطعة من جزيئة ADN مسؤولة عن صفة معينة. ويمكن أن تتواجد المورثة في عدة أشكال تسمى حليلات ، قد تختلف من شخص لآخر. فللمورثة المسؤولة عن صفة « الإصابة أ و عدم الإصابة بمرض فقر الدم المنجلي » تتواجد على شكل حليلين: حليل مسؤول عن الإصابة بالمرض، وآخر مسؤول عن عدم الإصابة.
- الطفرات هي المسؤولة عن تحول حليل إلى آخر.



- [ADNa] : جزء من المورثة المسؤولة عن الخضاب الدموي عند شخص عادي.
- [ADNs] : جزء من المورثة المسؤولة عن الخضاب الدموي عند شخص مصاب بفقر الدم المنجلي.
- [A] : جزء من متتالية الأحماض الأمينية في الخضاب الدموي عند شخص عادي.
- [S] : جزء من متتالية الأحماض الأمينية في الخضاب الدموي عند شخص مصاب بفقر الدم المنجلي.

الوثيقة2: معلومات حول فقر الدم المنجلي.

- في الستينيات من القرن التاسع عشر، توصل الباحث [Gregor Mendel] إلى أن الصفات الوراثية الملاحظة عند الكائنات الحية مرتبطة بعوامل تورث من الأب والأم. وسميت هذه « العوامل » فيما بعد « مورثات ».
- في الأربعينيات من القرن الماضي برهن الباحثان [George Wells Beadle] و [Edward Lawrie Tatum] على أن المورثة عبارة عن" تصميم" لتركيب بروتين معين.

الوثيقة3: معلومات تاريخية عن المورثات.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

أستثمر الوثائق وأجيب على الأسئلة:

1 - ضع فرضية حول سبب تشوه الكريات الحمراء عن المصابين بفقر الدم المنجلي.

2 - قارن متتاليتي القواعد الأزوتية في ADN، ومتتاليتي الأحماض الأمينية في الخضاب الدموي عند الأشخاص العاديين وعند الأشخاص المصابين بفقر الدم المنجلي. كيف تفسر ما تلاحظه ؟

3 - استخرج من الوثيقتين 1 و 2 ما يؤكد المعطيات الواردة في الوثيقة 3.

4 - الحصيلة.

صفة	Caractère	فقر الدم المنجلي	Anémie falciforme
مورثة	Géne	كرية حمراء	Globule rouge = Hématie
حليل	Allèle	خضاب دموي	Hémoglobine

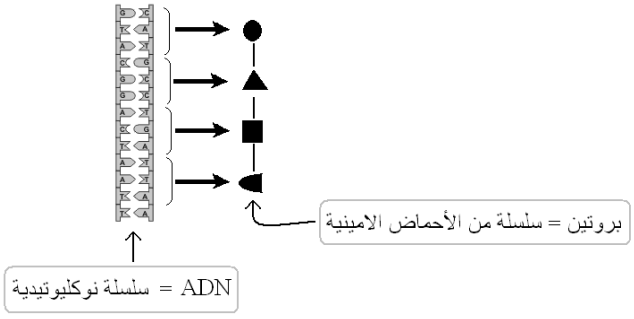
الوحدة3: تركيب البروتينات.

بما أن البروتينا ت وما تقوم به من وظائف هي التي تجسد الصفات الوراثية فإن تعبير الخبر الوراثي هو تركيب هذه البروتينات.

تتم عملية تركيب البروتينات عند المتعضيات ذات النواة الحقيقية عبر مرحلتين، تتم إحداهما على مستوى النواة والثانية على مستوى السيتوبلازم.

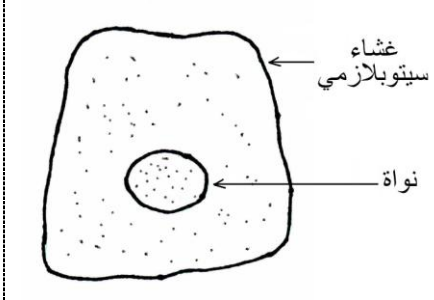
- ما آليات هاتين المرحلتين، وما دور مختلف العناصر المتدخلة فيها ؟
- كيف يتم ترميز ونقل الخبر الوراثي خلالهما ؟

- على الرغم من أن جزيئة ADN المُكونة لصبيغي معين عبارة عن بنية واحدة، فإنها من الناحية الوظيفية مقسمة إلى قطع تسمى مورثات. وتتميز كل مورثة بمتتالية من النوكليوتيدات ولها بداية ونهاية محددة بدقة.
- ترمز كل ثلاثة نوكليوتيدات إلى حمض أميني، وبالتالي فإن كل مورثة ترمز إلى بروتين تميز بمتتالية دقيقة من الأحماض الأمينية.

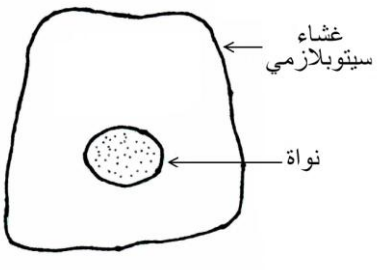


الوثيقة1: **ضرورة وجود رمز وراثي**

الوثيقة2-أ: نتيجة تلوين خلية « بالبيرونين» وهو ملون نوعي لARN



الوثيقة 2- ب : نتيجة تلوين خلية « بأخضر الميتيل » وهو ملون نوعي ل ADN

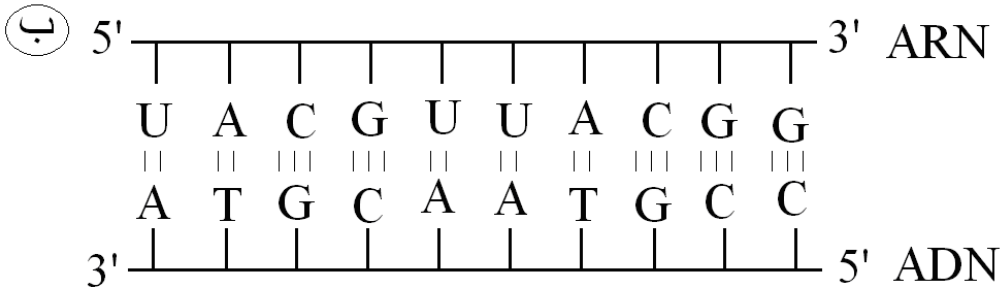


Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

أ

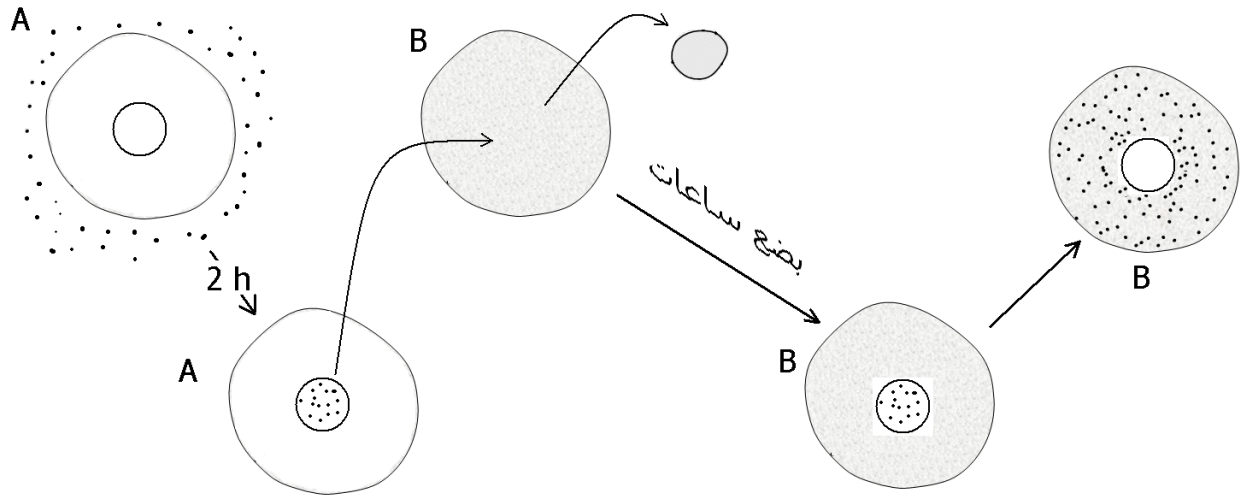
أوراسيل

ب



- تتكون جزيئات ARN من سلاسل نوكليوتيدية غير مزدوجة. وذلك خلافا لجزيئات ADN. وتتميز جزيئات ARN بقصرها مقارنة مع جزيئات ADN.
- تختلف نوكليوتيدات ARN عن نوكليوتيدات ADN على مستوى السكر والقواعد الأزوتية. ففيما يخص السكر نجد الريبوز ($C_5H_{10}O_5$) عوض الريبوز الناقص الأكسجين. وفيما يخص القواعد الأزوتية نجد الأدنين (A) والأوراسيل (U) والغوانين (G) والسيتوزين (C)، أي U عوض T.
- يمكن لجزيئة ARN أن تلتوي حول نفسها تحت تأثير الروابط الهيدروجينية، حيث ترتبط A بـ U برابطتين و G بـ C بثلاثة.
- إذا تقابلت سلسلتان نوكليوتيديتان إحداهما ل ARN والأخرى لـ ADN فإن الارتباط يتم على النحو المبين في الشكل "ب".

الوثيقة3: بنية ARN

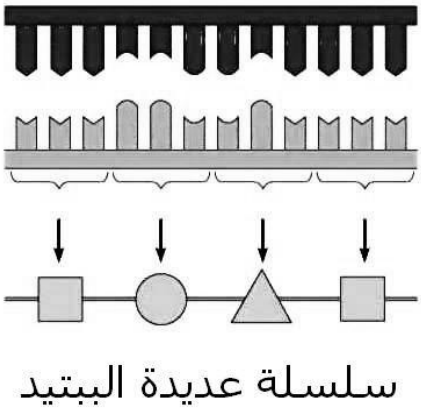


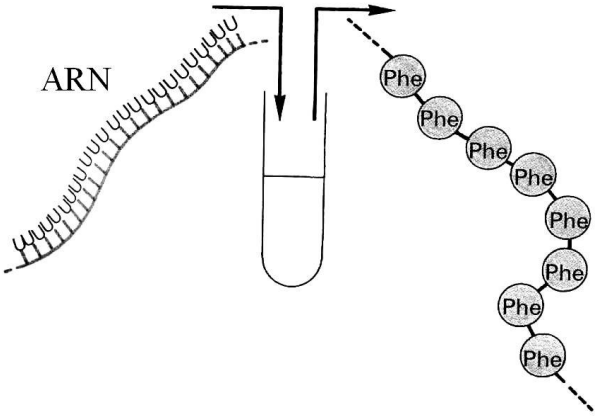
نشاط إشعاعي

- توضع خلية للأميبا A في وسط يحتوي على نوكليوتيدات تضم الأوراسيل المشع (U^*). وبعد ساعتين نلاحظ أن النشاط الإشعاعي نفذ إلى النواة.
- تُزرع النواة المشعة في خلية أميبية منزوعة النواة B. وبعد بضع ساعات يظهر النشاط الإشعاعي في السيتوبلازم.

الوثيقة4: الكشف عن مكان تركيب ARN

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir





- يمكن تركيب البروتينات في أنبوب اختبار إذا توفرت الظروف التالية: أنزيمات خاصة ومصدر للطاقة وأحماض أمينية متنوعة وريبوزومات و ARN.
- عوض استعمال ARN مستخرج من خلايا، يمكن استعمال ARN مركب بكيفية كيميائية ومكون من متتالية نوكليوتيدية حسب الرغبة. فمثلا إذا استعملنا جزيئة ARN متتاليتها هي تكرار للقاعدة U، نحصل على سلسلة ببتيدية مكونة من تكرار لجزيئات الحمض الأميني« فينيل ألانين » « Phe »

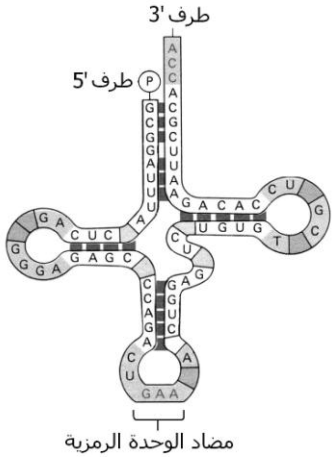
الوثيقة5: تركيب البروتينات في أنبوب اختبار، والبحث عن الرمز الوراثي.

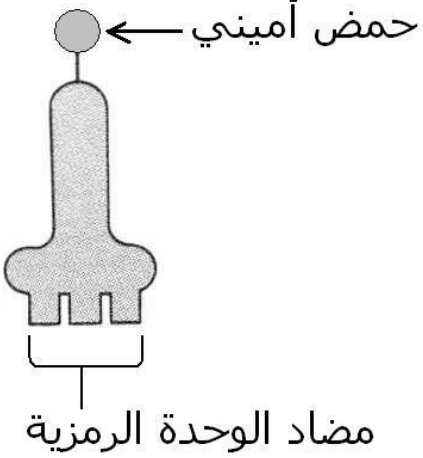
الحرف الاول (النهاية 5') ↓	الحـــرف الثـــانـــي U	C	A	G	الحرف الثالث (النهاية 3') ↓
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gin	Arg	A
	Leu	Pro	Gin	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	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

الوثيقة 6: جدول الرمز الوراثي

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

- ARN الرسول أو ARNm: كل جزيئة ARNm هي نسخة من مورثة معينة.
- ARN الناقل أو ARNt (الشكلان جانبه) : هناك 61 نوعا من جزيئات ARNt تختلف أساسا على مستو ثلاثة نوكليوتيدات تسمى « مضاد الوحدة الرمزية » الذي يمكنه أن يرتبط بثلاث نوكليوتيدات أخرى على مستوى ARNm تسمى « وحدة رمزية » .

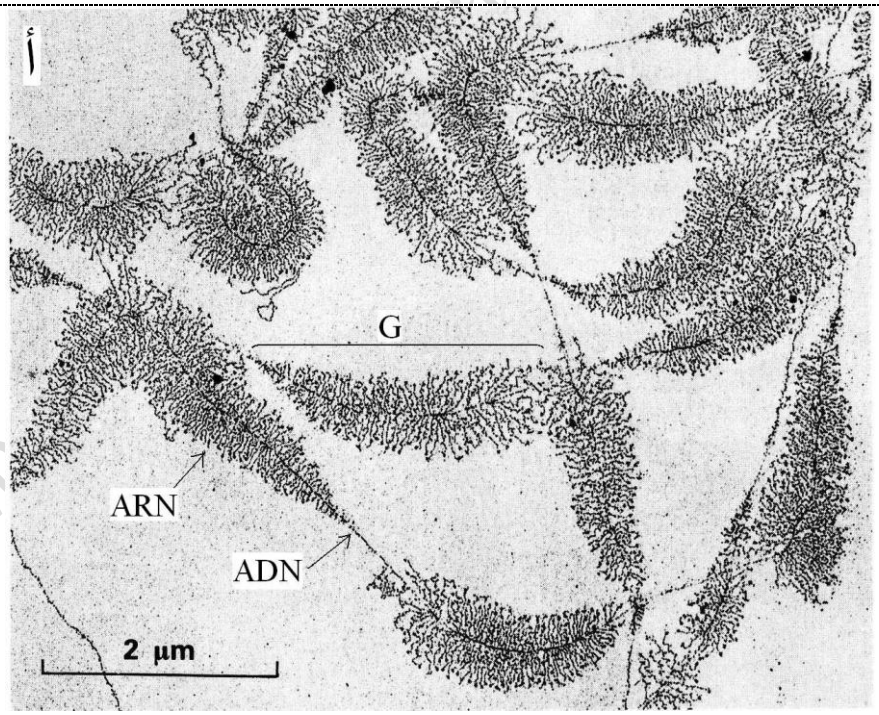


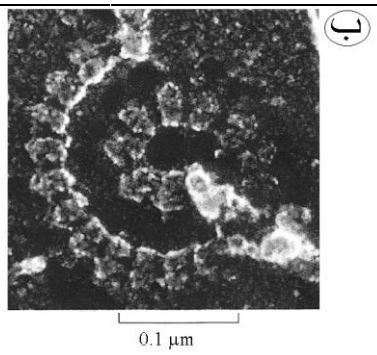


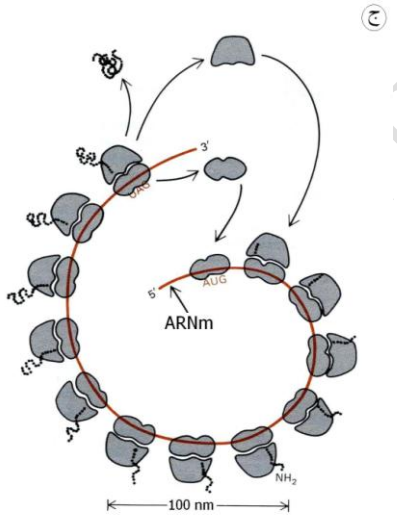
كما أن هناك منطقة من جزيئة ARNt تثبت حمضا أمينيا بواسطة رابطة تساهمية.

- ARN ريبوزومي أو ARNr : يتكون الريبوزوم من وحدتين كبرى وصغرى، وهو عبارة عن مركب من بروتينات وجزيئات ARNr. وللكل دور مركب أنزيمي ينظم عدة عمليات خلال تركيب البروتينات.

الوثيقة7: الأنواع الثلاث لجزيئات ARN



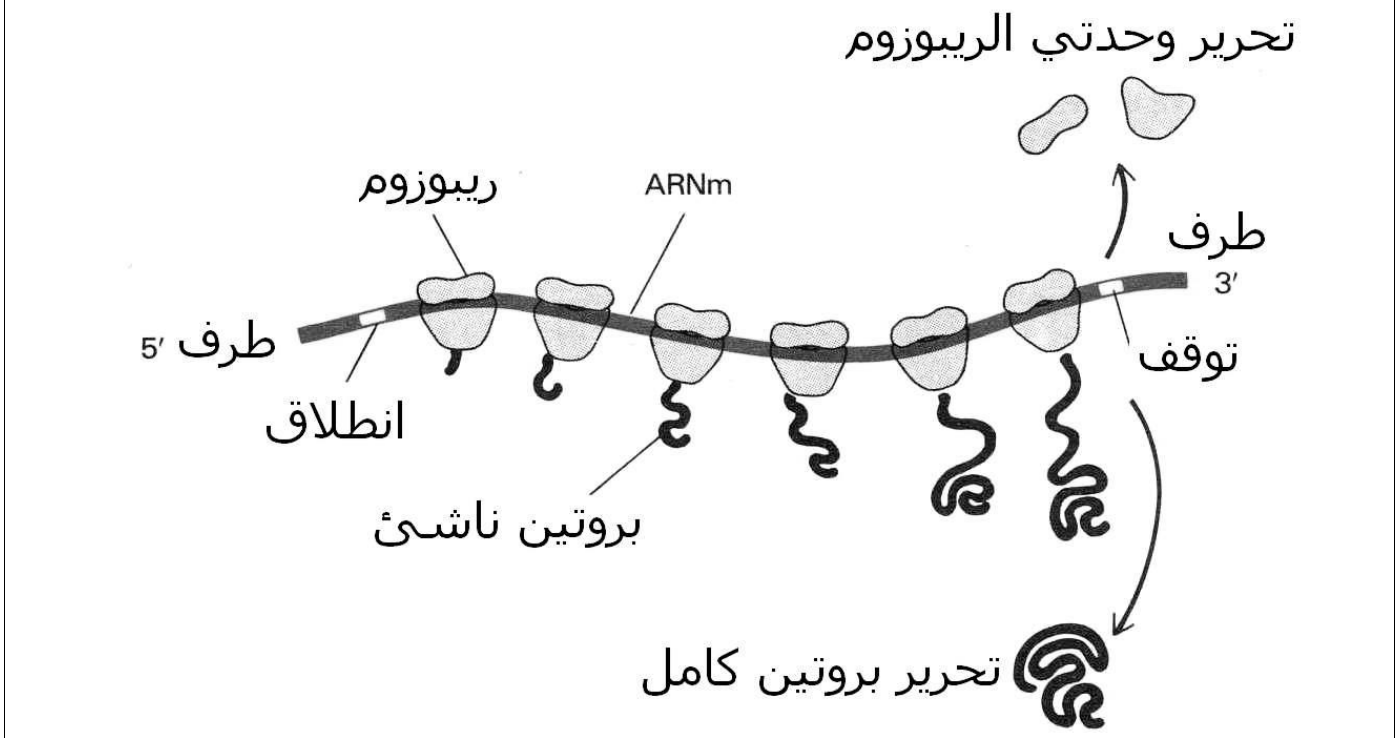




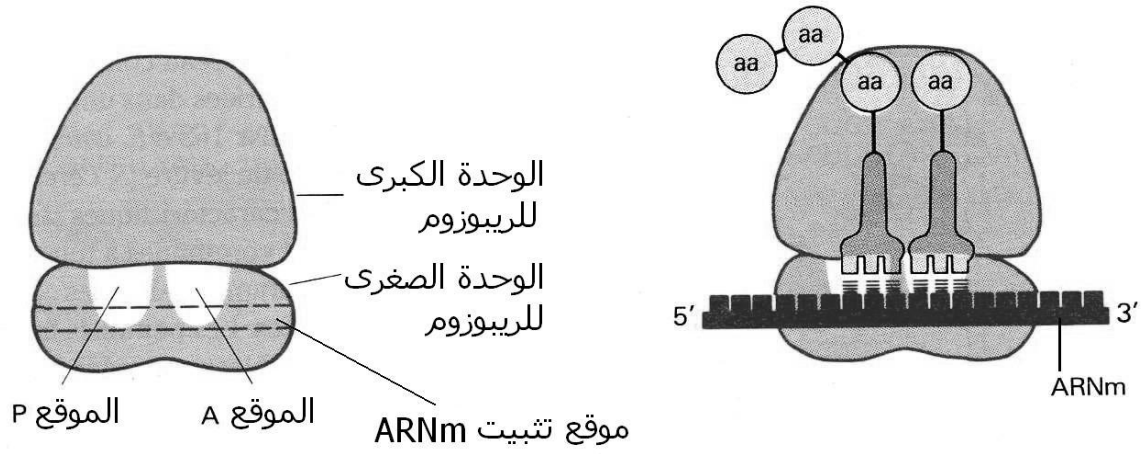
أ- تركيب جزيئات ARN على مستوى النواة: الاستنساخ.
ب – بلمرة الأحماض الأمينية على مستوى السيتوبلازم: الترجمة
ج – رسم تخطيطي تفسير ل " ب".

الوثيقة8: صور بالمجهر الإلكتروني لأشكال تمثل مراحل تركيب البروتينات.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

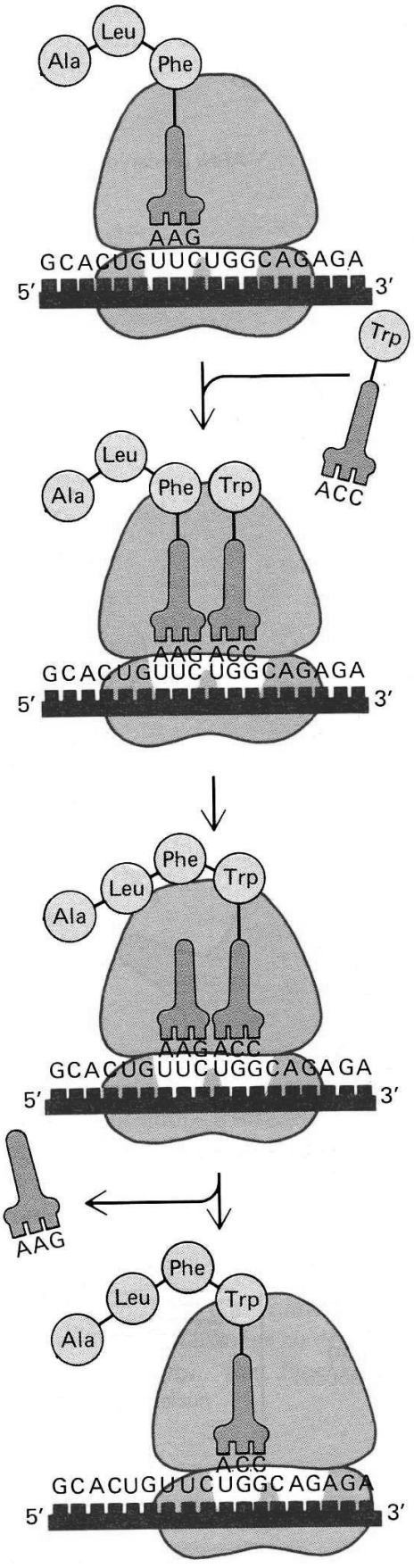


الوثيقة9: مراحل الترجمة: البداية والاستطالة والنهاية.

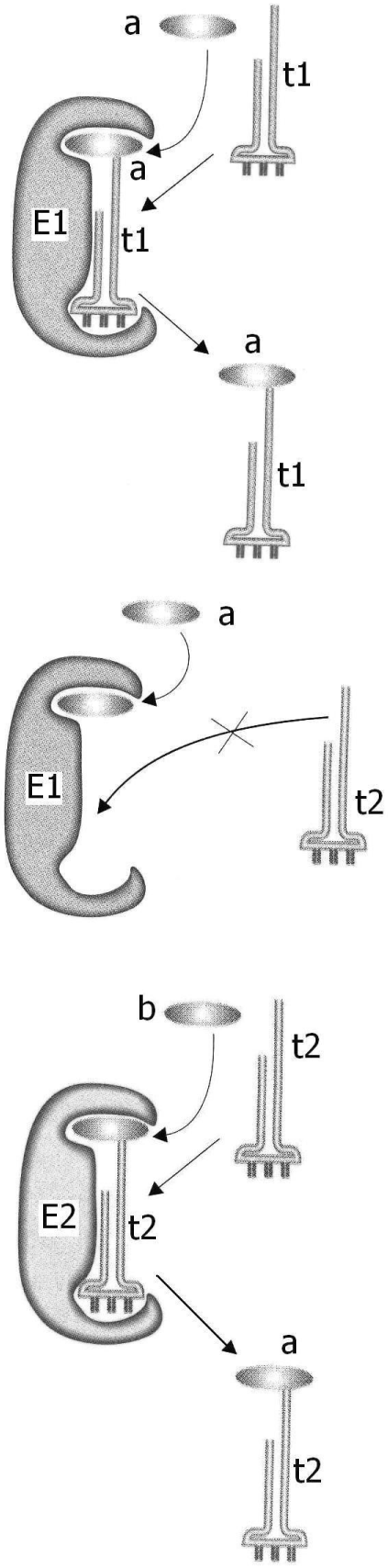


الوثيقة 11: البنية الوظيفية للريبوزوم:

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

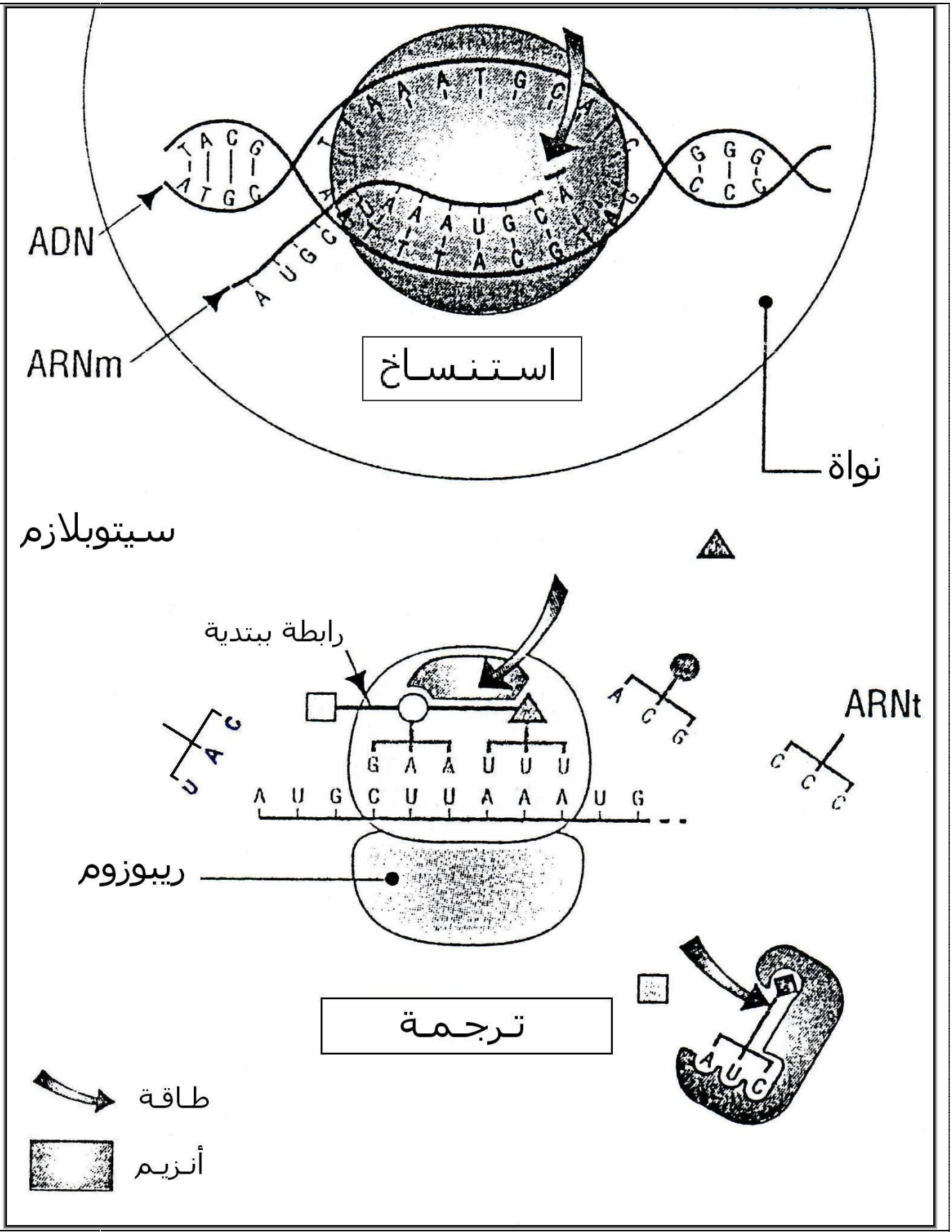


الوثيقة12: الخطوات الأساسية لبلمرة الأحماض الأمينية خلال عملية الترجمة.



الوثيقة13: دور أنزيمات نوعية في ربط جزيئات ARNt بالأحماض الأمينية المناسبة:

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir



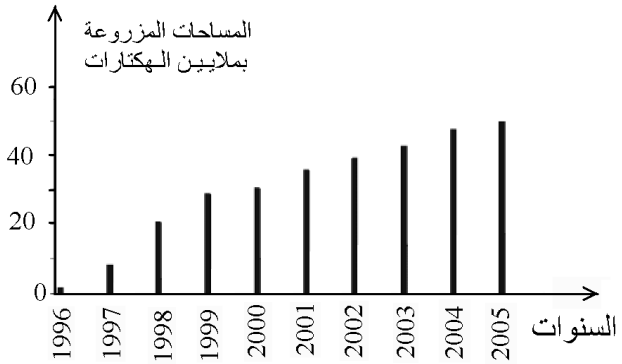
الوثيقة14: مراحل تركيب البروتينات موزعة بين النواة والسيتوبلازم.

Visitez le site pour plus de cours et exercices : https://www.9alami.com

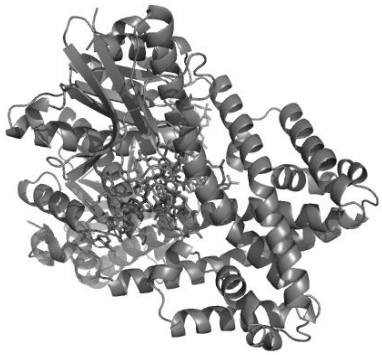
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

المكتسبات القبلية:

- الخبر الوراثي: طبيعته وانتقاله عن طريق الانقسام الخلوي غير المباشر
- تعبير الخبر الوراثي: العلاقة صفة- مورثة- بروتين / تركيب البروتينات.



الوثيقة1: تطور المساحات المزروعة بالنباتات المعدلة وراثيا في الولايات المتحدة بين سنتي1996 و 2005



الوثيقة3: نموذج لأنزيم الفصل.
من أهم ما ساعد على تطور تقنيات الهندسة الوراثية اكتشاف واستعمال أنزيمات الفصل.

الوثيقة2: تحتل الذرة مكانة مهمة بين المزروعات المعدلة وراثيا نظرا لشساعة المساحات التي تزرع فيها، خاصة في الولايات المتحدة.

الوثيقة 4: لولا الهندسة الوراثية لما تم إنتاج الأنسولين بكميات تستجيب لمتطلبات ملايين المصابين بداء السكري عبر العالم.

- **ما هي أهداف الهندسة الوراثية ؟**
- **ما أهم التقنيات المستعملة ؟**
- **كيف يمكن الكشف عن أهمية الهندسة الوراثية من خلال دراسة بعض الأمثلة التطبيقية في ميداني الفلاحة والطب ؟**

الوحدة1: الهندسة الوراثية : الأهداف والوسائل.

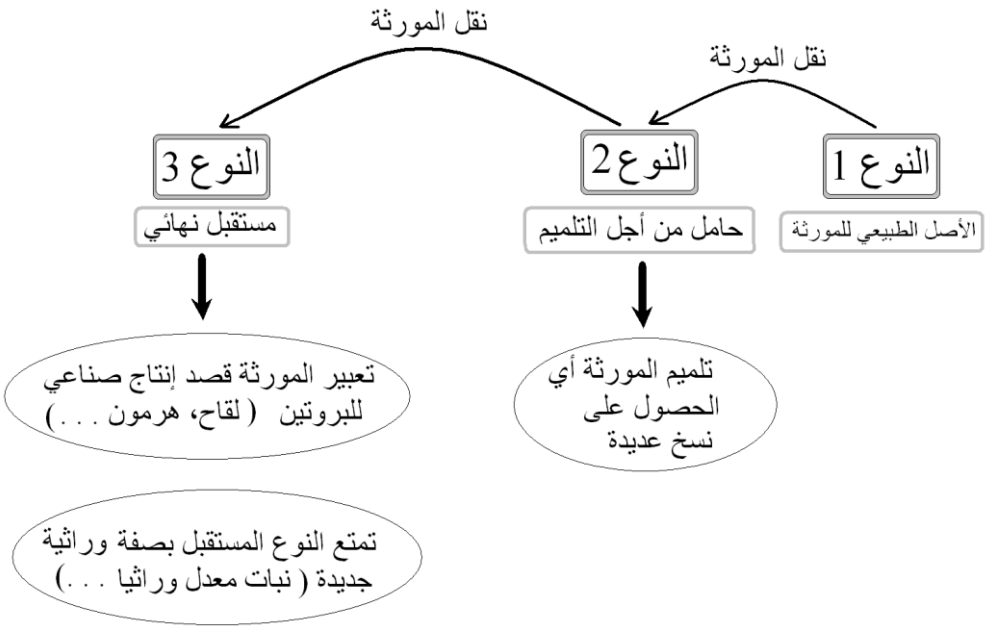
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

ينتقل الخبر الوراثي في الحالة الطبيعية عن طريق التوالد الجنسي أو اللاجنسي من جيل لآخر ضمن أفراد نفس النوع.
في حالة الهندسة الوراثية يتم نقل مورثة أو عدد محدود من المورثات من نوع لآخر.

- ما الهدف من نقل مورثة من نوع لآخر ؟
- ما الوسائل المستعملة من أجل ذلك ؟

أ- أهداف الهندسة الوراثية

الوثيقة1: أهداف الهندسة الوراثية.



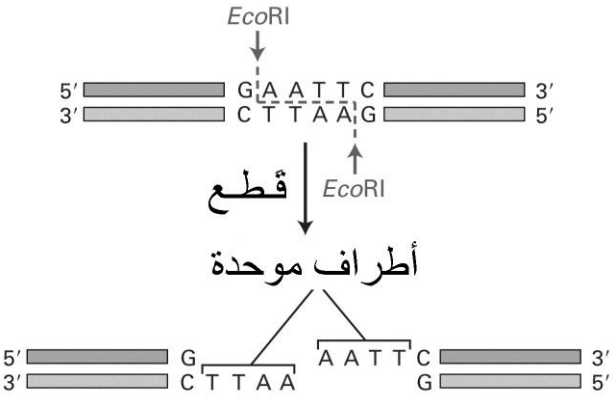
ب- الوسائل المستعملة.

أنزيم الفصل	البكتيرية التي استخرج منها	المتتالية التي يقطعها	كيفية القطع
Eco RI	Escherichia coli	5'GAATTC 3'CTTAAG	5'---G **AATTC**---**3'** 3'---CTTAA **G**---**5'**
AluI	Arthrobacter luteus	5'AGCT 3'TCGA	5'---AG **CT**---**3'** 3'---TC **GA**---**5'**
TaqI	Thermus aquaticus	5'TCGA 3'AGCT	5'---T **CGA**---**3'** 3'---AGC **T**---**5'**
HindIII	Haemophilus influenzae	5'AAGCTT 3'TTCGAA	5'---A **AGCTT**---**3'** 3'---TTCGA **A**---**5'**
BamHI	Bacillus amyloliquefaciens	5'GGATCC 3'CCTAGG	5'---G **GATCC**---**3'** 3'---CCTAG **G**---**5'**

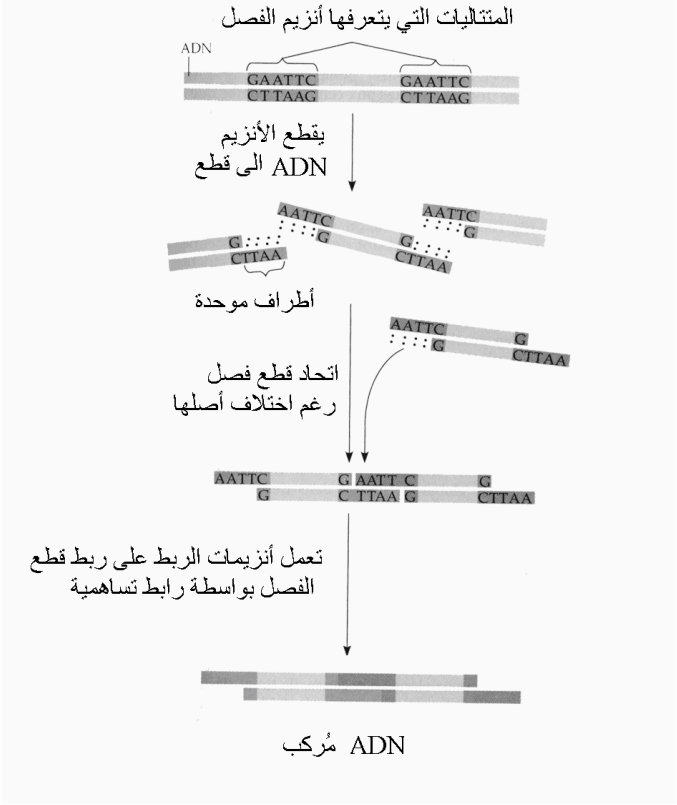
الوثيقة2: أمثلة لأنزيمات الفصل.

من أهم ما ساعد على تقدم تقنيات الهندسة الوراثية، اكتشاف وتوظيف أنزيمات الفصل. وتعمل أنزيمات الفصل على قطع ADN في نقط دقيقة بعد تعرف متتاليات محددة، وبذلك تتحول سلسلة نوكليوتيدية طويلة إلى عدد كبير من السلاسل القصيرة.

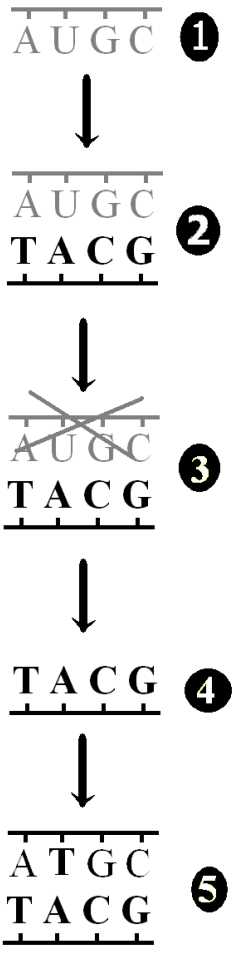
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir



- لِأنزيمات الفصل خاصية قطع ADN في مواقع خاصة تتميز بمتتاليات نوكليوتيدية محددة.
- تقطع كثير من أنزيمات الفصل لولبي ADN في نقطتين متفاوتتين، مما يؤدي إلى تكون أطراف منفردة تسمى أطرافا موحِّدة.
- ينتج عن عمل هذه الأنزيمات تحويل جزيئة ADN طويلة إلى قطع قصير تسمى قطع الفصل.



الوثيقة3: خاصيات أنزيمات الفصل.



* تستخرج أنزيمات الربط من بعض المُتعضيات المِجهرية. وتعمل على الربط بين نهاية 5’ ونهاية 3’ لسلسلتين نوكليوتيديتين من ADN.

* يستخرج أنزيم النسخ العكسي من الفيروسات التي تتوفر على ARN كمادة وراثية. وتعمل على تركيب جزيئة ADN تسمى ADN مكمل (ADNc) انطلاقا من جزيئة ARN وفق المراحل الممثلة في الشكل جانبه.

الوثيقة4: أنزيمات الربط وأنزيم النسخ العكسي، من أهم الأنزيمات المستعملة في الهندسة الوراثية.

استثمار الوثائق:

1 - حدد بإيجاز أهداف الهندسة الوراثية اعتمادا على الوثيقة1.

2 - كيف تفسر اتحاد قطع الفصل رغم اختلاف أصلها (ADN من نوعين مختلفين)، وما الذي يرسخ ارتباطها بكيفية نهائية (الوثيقة2)؟

3 - قارن بين عمل أنزيم النسخ العكسي و « ADN بوليميراز » المسؤول عن الاستنساخ عند الخلايا البكتيرية والخلايا ذات النواة الحقيقية.

4 - صف عمل أنزيم النسخ العكسي اعتمادا على الشكل الممثل في الوثيقة4.

5 - اقترح فرضية لتفسير أهمية تواجد أنزيم النسخ العكسي عند الفيروسات القهقرية كفيروس السيدا، أي الفيروسات التي تتوفر على ARN كمادة وراثية.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

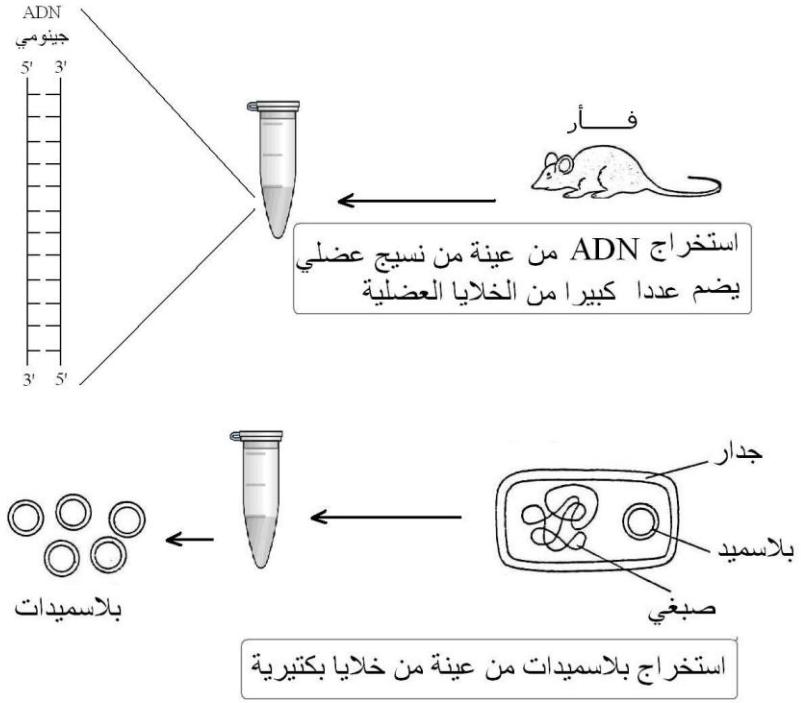
الوحدة2: مراحل نقل مورثة إلى بكتيرية

تستعمل الهندسة الوراثية في تقنياتها عدة متعضيات مجهرية خاصة البكتيريات والفيروسات.

- ما المراحل التي تمر منها عملية نقل مورثة محددة مثلا من حيوان ثديي إلى بكتيرية E. coli.

معلومات حول الجينوم البكتيري:

تضم كثير من البكتيريات إضافة إلى الصبغي الدائري صبغيا صغيرا يسمى بلاسميد، يضم بعض المورثات غير الضرورية في بعض الظروف. ويمكن للبلاسميد أن ينتقل بكيفية طبيعية من بكتيرية إلى أخرى، ويمكنه أن يتضاعف بكيفية مستقلة عن الصبغي الرئيسي مما يجعل الخلية في بعض الأحيان تضم أكثر من بلاسميد واحد.

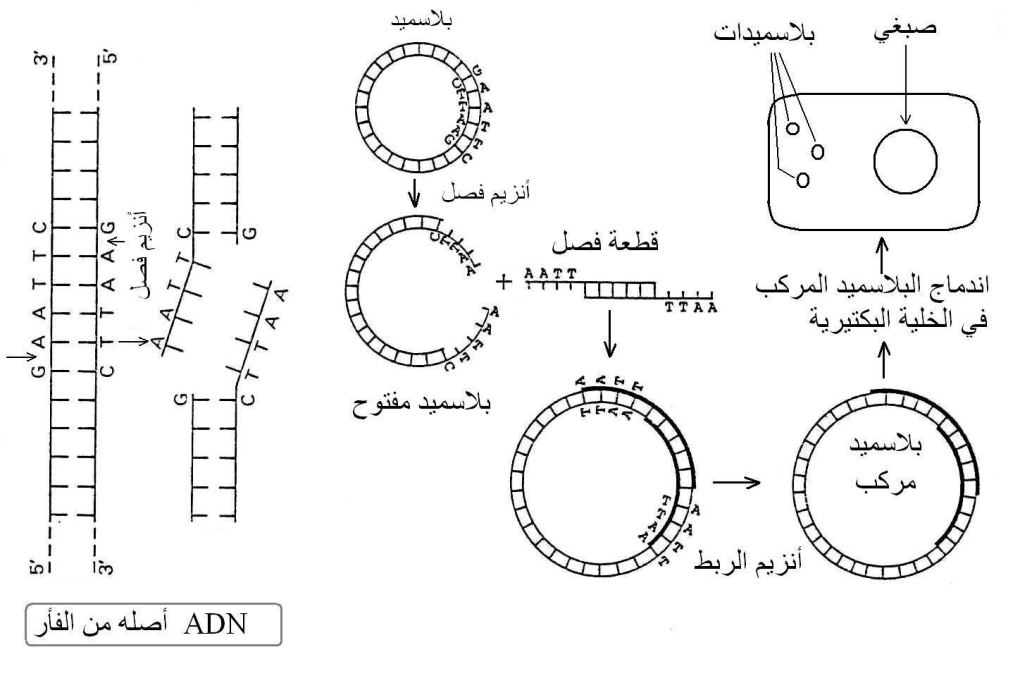


الوثيقة1: المرحلة الأولى:

- استخراج ADN جينومي من عينة من خلايا عضلية عند الفأر، أي المادة الوراثية التي تضم جميع مورثات الفأر بما فيها المورثة المرغوب فيها.
- في تجربة مستقلة يتم استخراج بلاسميدات من خلايا بكتيرية.

الوثيقة2: المرحلة الثانية.

- معالجة كل من البلاسميدات وADN المستخرج من الفأر بنفس أنزيم الفصل والحصول على بلاسميدات مقطوعة وقطع الفصل.
- وضع قطع الفصل والبلاسميدات المقطوعة في نفس الأنبوب، مما يجعلها تندمج تلقائيا. ولتثبيت الارتباط تستعمل أنزيمات الربط. وبذلك يتم الحصول على بلاسميدات مركبة.

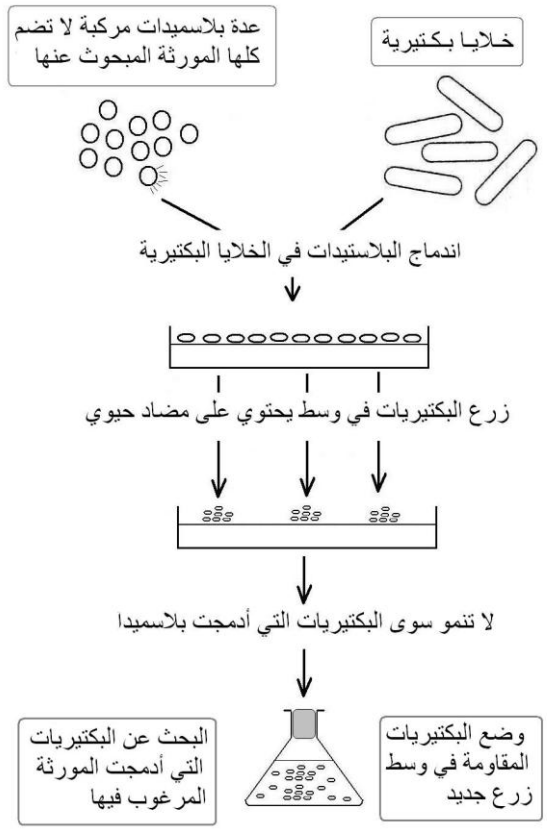


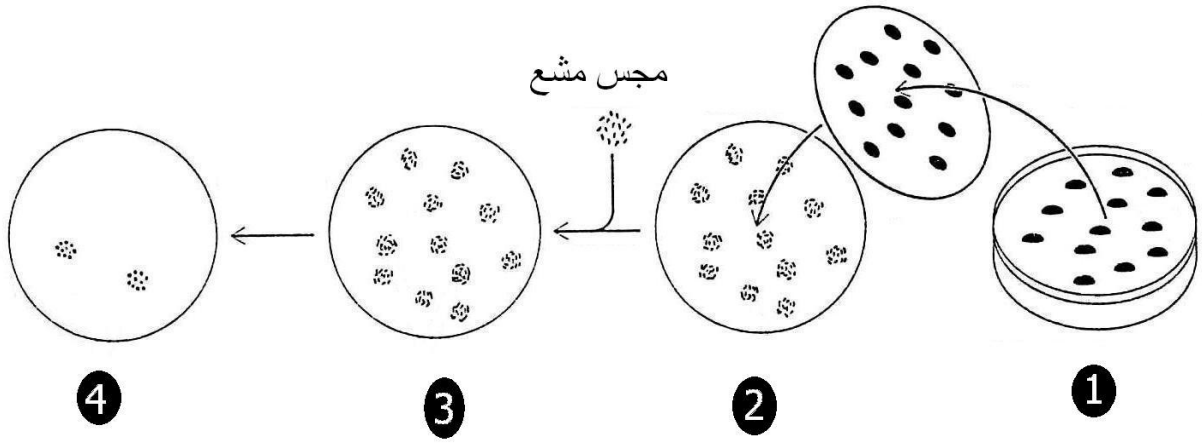
- إذا وضعت البكتيريات والبلاسميدات المركبة في نفس الأنبوب ، وتم توفير ظروف محددة، تدخل نسبة مهمة من البلاسميدات إلى الخلايا البكتيرية.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

الوثيقة3: المرحلة الثالثة (انظر الشكل جانبه).

- بعد دخول البلاسميدات المركبة إلى البكتيريات، يتم زرع هذه الأخيرة في وسط يحتوي على مضاد حيوي. ومن خاصيات البلاسميدات أنها تضم بكيفية طبيعية عدة مورثات، منها مورثة مسؤولة عن مقاومة المضاد الحيوي.





الوثيقة4: المرحلة الرابعة.

1) تحتوي علبة Petri على لمات بكتيريات تضم بلاسميدات مركبة.
2) تأخذ بصمة من كل لمة على ورق خاص، ثم يعالج الورق بمحلول يفجر البكتيريات ويفرق لولبي جزيئات ADN.
3) يُحضن الورق في محلول يحتوي على مجس مشع، وهو سلسلة قصيرة من ADN غير مزدوج، ويحمل نوكليوتيدات مشعة، ويشكل متتالية مكملة لجزء من المورثة المبحوث عنها. وبعد الحضن يُستعمل محلول آخر للغسل.
4) يُعرض الورق على فِلم فوتوغرافي من أجل التصوير الإشعاعي الذاتي. والنتيجة هي ظهور بقع سوداء على الفلم الفوتوغرافي في المناطق المطابقة للمناطق التي يصدر منها النشاط الإشعاعي.

Prof Ennimou Abdelkader cours du soir

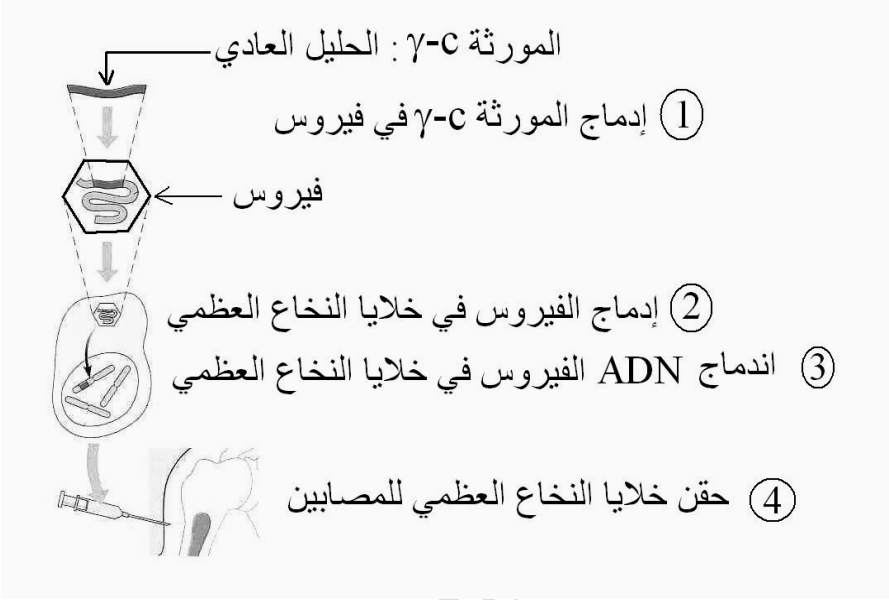
الإنجازات:

1 - فسر لماذا تندمج قطع الفصل والبلاسميدات المفتوحة تلقائيا، ووضح أهمية أنزيمات الربط (المرحلة2)
2 - لماذا لا تضم كل البلاسميدات المركبة المورثة المرغوب فيها (المرحلة3) ؟
3 - وضح أهمية المرحلتين الثالثة والرابعة ؟
4 - كيف يتم استثمار نتيجة التصوير الإشعاعي الذاتي (المرحلة الرابعة) ؟

الوحدة 3: المعالجة الجينية وإنتاج لقاح ضد الكباد B.

تكتسي الهندسة الوراثية أهمية كبيرة في الميدان الطبي.
* كيف يمكن توضيح ذلك من خلال مثالين، المعالجة الجينية وإنتاج لقح ضد الكبادB ؟

- هناك مرض وراثي نادر ينتج عن غياب مورثة تسمى γ-c مسؤولة عن تشكل الكريات اللمفاوية T و« الخلايا القاتلة الطبيعية » على مستوى النخاع العظمي والغدة السعترية. (على مستوى النخاع العظمي توجد الخلايا الأصلية التي تتشكل منها الخلايا المسؤولة عن المناعة والخلايا الدموية عموما).

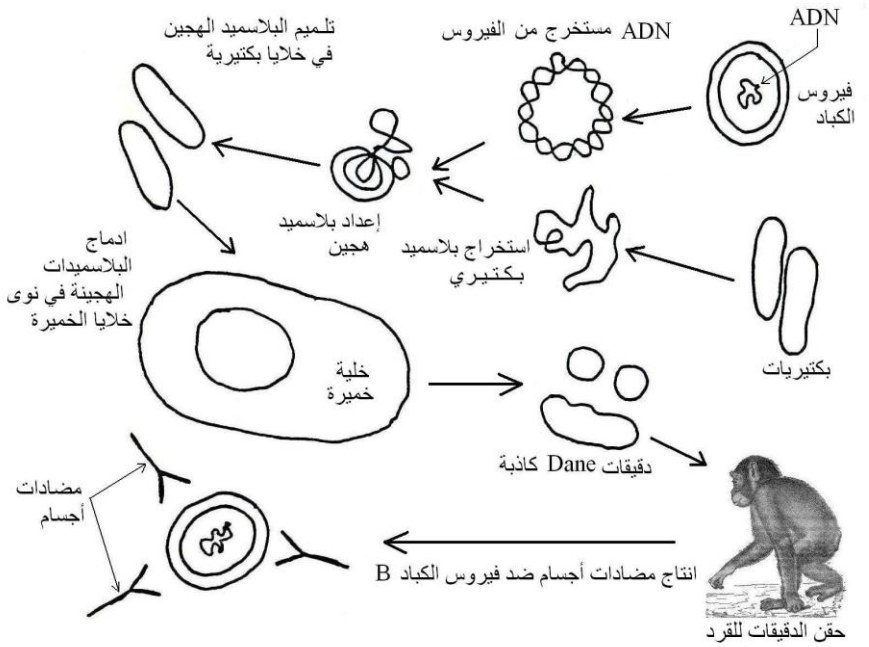


- يعاني المصابون من قصور مناعي حاد يستلزم زرع نخاع عظمي مستخرج من متبرع متلائم نسيجيا. ويتعذر في كثير من الحالات العثور على هذا المتبرع.
- في غياب أي علاج يلزم المصابين العيش داخل غرف معقمة نظرا للقصور المناعي.
- لقد تمكن الباحثون في السنين الأخيرة من التوصل إلى طريقة لمعالجة المصابين، تسمى المعالج ة الوراثية « Thérapie génique » حيث تُـتـَبَع خلالها الخطوات التالية:
  - عزل المورثة γ-c من خلايا سليمة، ثم دمجها في فيروس تمت معالجتبكيفية تبطل خطورته.
  - استخراج عينة من النخاع العظمي للمصابين، حيث يضم النخاع الخلايا الأصلية للكريات اللمفاوية T والخلايا القاتلة.
  - دمج الفيروس المعدل وراثيا في خلايا النخاع العظمي التي تدمج بدورها المورثة γ-c فتصبح إذن معدلة وراثيا.
  - إعادة زرع خلايا النخاع العظمي المعدلة وراثيا عبر حقنها في الدورة الدموية لأصحابها.
  - تستوطن خلايا النخاع العظمي المحقونة مكانها الطبيعي في النخاع العظمي بكيفية تلقائية، ثم تباشر عملها في إنتاج الخلايا المناعية.
  - والنتيجة هو استرجاع جهاز المناعة لوظيفته واختفاء أعراض قصور المناعة. مما يسمح بإخراج المصابين من الغرف المعقمة بعد التحقق من شفاءهم عبر عدة اختبارات كاختبار الاستجابة لبعض اللقاحات.

الوثيقة1: مثال مهم لتطبيق الهندسة الوراثية: المعالجة الجينية.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

لقد تم إنتاج لقاح ضد « الكباد B » عن طريق الهندسة الوراثية، وذلك باستعمال خلايا نوع من الخميرة.
إن « الكباد B » مرض فيروسي يصيب عدة ملايين من الأشخاص عبر العالم. ولم يكن من الممكن من قبل إجراء تلقيح معمم ضد هذا المرض. غير أنه من الممكن أن نعزل من دم المرضى فيروسات كاملة أو كبسيدات فارغة تسمى « دقيقات Dane ». لهذه الأخيرة القدرة على التلقيح، غير أن استعمالها مكلف جدا بسبب مشكل النقاوة والكم.



تتكون « دقيقات Dane » من بروتين (مولد المضاد HbSAg) مدمج في غشاء دهني أصله من غشاء الخلايا المُخمجة سابقا. يتوفر هذا البروتين إذا استعمل معزولا على قدرة تلقيح ضعيفة ألف مرة مقارنة مع« دقيقات Dane » الكاملة. لذلك كان من اللازم البحث عن طريقة للحصول على كميات كبيرة من جزيئات البروتين القادرة على الاندماج لتشكيل دُقيقات.
لقد تم تلميم مورثة « HbSAg » في « E. coli » ، غير أن تعبيرها سيئ في هذه الخلية البكتيرية التي يبدو أن مولد المضاد هذا سام بالنسبة لها. أضف إلى ذلك أن البروتين المركب لا يشكل دُقيقات.
لقد تم نقل المورثة إلى خلايا الخميرة التي استعملت كحامل من اجل التغيير. فبعد استخراج المحتوى السيتوبلازمي لخلايا الخميرة عن طريق الهرس الميكانيكي، تم الحصول على 3 % إلى 5 % من « HbSAg » المُركب، والذي اندمج تلقائيا مع دهنيات غشائية ليُكون « دقيقات Dane » كاذبة. والنتيجة أنه بعد حقن هذه الدقيقات لقرد الشمبانزي استطاع أن ينتج مضادات أجسام ضد فيروس« الكباد B ».

الوثيقة2: إنتاج لقاح ضد الكبادB.

الإنجازات:

1 - المعالجة الوراثية هي إدماج حليل عادي في البرنامج الوراثي عند أشخاص يحملون عوضه حليلا ممرضا طافرا. اقترح بعض الصعوبات التي يمكن أن تعترض هذه التقنية.

2 - ما خصوصيات المرض المرتبط بالمورثة γ-c والتي سهلت نجاح المعالجة الجينية ؟

3 - ما دور الفيروس الذي استعمل في هذه التقنية، وما المراحل التي سبقت إدماج المورثة في الفيروس ؟ (الوثيقة 1) ؟

4 - ما المقصود في نظرك بالعبارات التالية: "مشكل النقاوة "و " مشكل الكم " و " حامل من أجل التعبير " ؟

5 - ما دور كل من فيروس الكباد B و الخلايا البكتيرية وخلايا الخميرة (الوثيقة 2) ؟

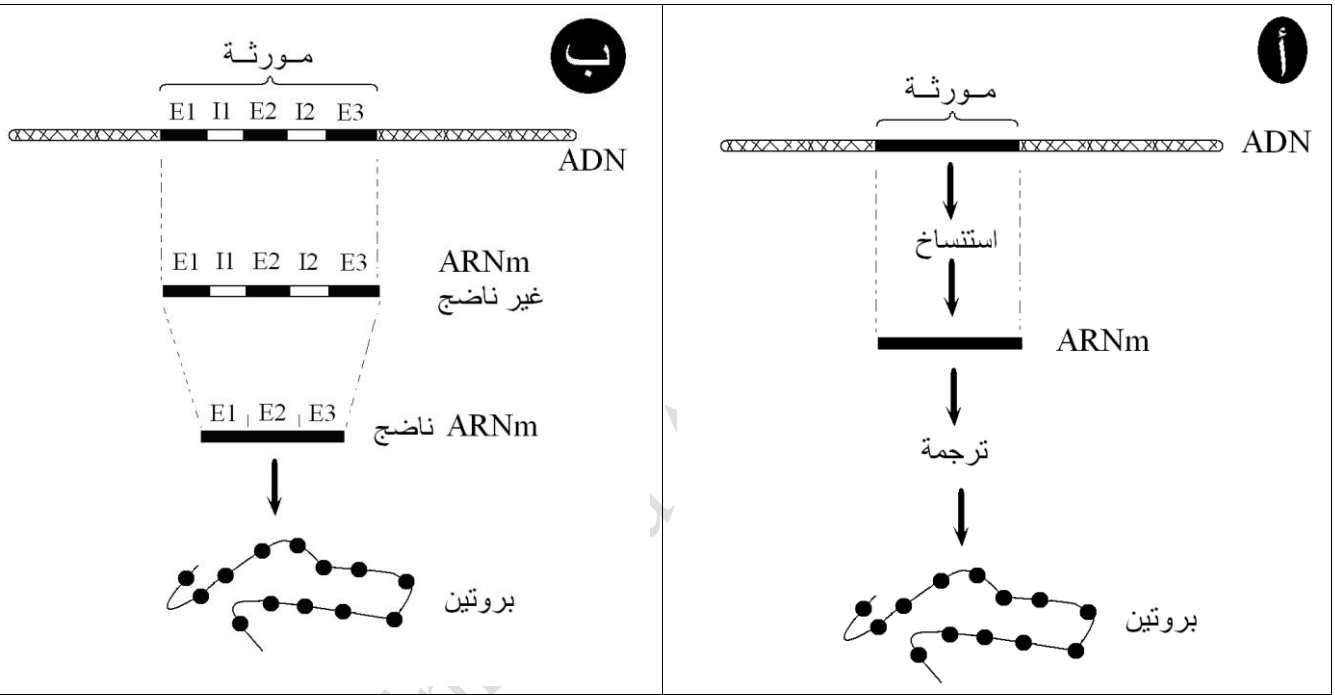
6 - لماذا تم استعمال خلايا الخميرة ولم تُستعمل خلايا بكتيرية من أجل تعبير مورثة « HbSAg » ؟

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

الوحدة4: إنتاج صناعي لهرمون الأنسولين.

لقد ساعدت الهندسة الوراثية على إنتاج هرمون الأنسولين الذي يحتاجه ملايين المصابين بداء السكري. وتعتمد التقنية على نقل مورثة الأنسولين إلى خلايا بكتيرية E. coli ، حيث يتم تعبير البروتين وإنتاجه بكميات كبيرة في مختبرات خاصة (إنتاج صناعي).
لقد كان مصدر المورثة في البداية حيوانيا. وبعد ظهور بعض الأعراض الجانبية للأنسولين الحيواني »، وتطور تقنيات الهندسة الوراثية أكثر، أصبحت المورثة تستخرج من خلايا بشرية. «

- ما المراحل التي تمر منها عملية إنتاج الأنسولين« البشري » عن طريق الهندسة الوراثية ؟
- كيف تم تجاوز الاختلاف في آلية تعبير المورثات عند الخلايا البشرية (خلايا الثدييات عموما) و خلايا بكتيرية E. coli ؟



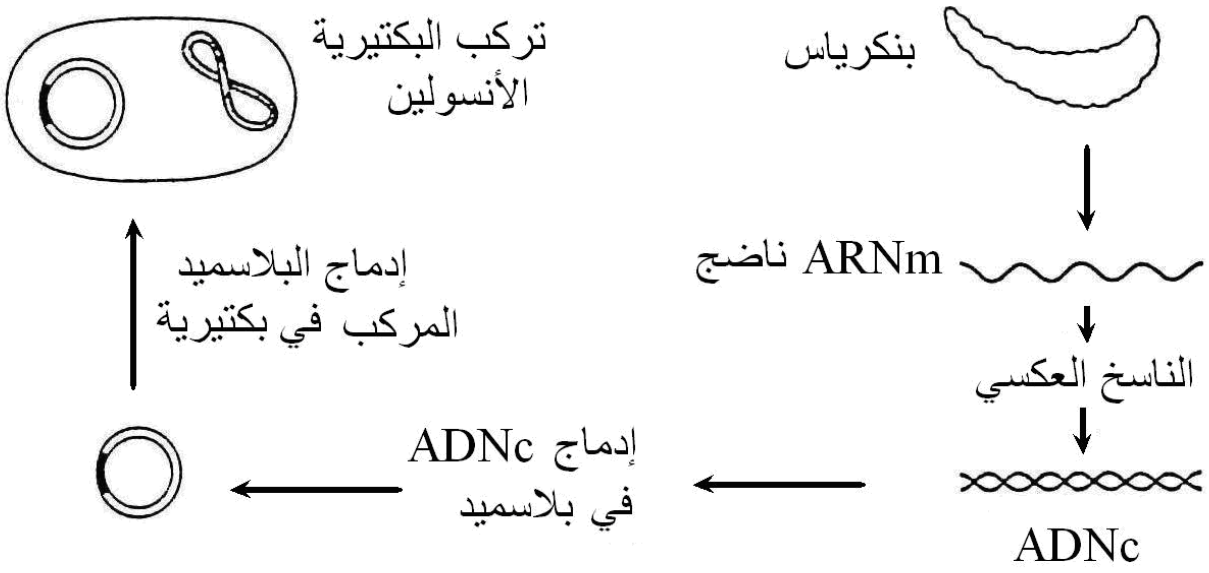
- **تركيب البروتينات عند بكتيرية E. coli**: يتم تركيب البروتينات بكيفية بسيطة نسبيا.
فالمورثة تتعرض للاستنساخ حيث يتم تركيب ARNm الذي يتعرض لعملية الترجمة المُفضية إلى تركيب بروتين (متتالية دقيقة من الأحماض الأمينية).
- **تركيب البروتينات عند خلايا الثدييات:**

- للمورثات بنية معقدة نسبيا. فهي خليط من متتاليات مُرمزة، أي سيكون لها مقابل في البروتين، وتسمى Les exons (E) ، ومتتاليات غير مرمزة، أي لن يكون لها مقابل على مستوى البروتين وتسمى Les introns (I).
- في مرحلة أولى يتم استنساخ المورثة برمتها، مما يؤدي إلى تشكل ARNm غير ناضج، يضم قطعا مرمزة وغير مرمزة.
- بعد ذلك تعمل أنزيمات خاصة على إقصاء القطع غير المرمزة وربط القطع المرمزة فيما بينها، وبذلك يتم الحصول على ARNm ناضج أي قابل للترجمة.
- تؤدي الترجمة إلى تكون بروتين.

لا تتوفر الخلايا البكتيرية على الأنزيمات التي تقصي الأجزاء غير المرمزة.

الوثيقة 1: تركيب البروتينات عند البكتيريات (أ) وخلايا الثدييات (ب).

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir



يُمْكِن ل ADN مُكمِّل (ADNc) المُهيأ انطلاقا من ARNm ناضج لمورثة الأنسولين، أن يتم تعبيره داخل خلايا بكتيرية E. coli. وللحصول على ADNc انطلاقا من ARNm ، يتم استعمال أنزيم النسخ العكسي (انظر المراحل في الشكل أعلاه).

الوثيقة 2: إنتاج صناعي لهرمون الأنسولين .

الإنجازات:

1 - وضح لماذا يستعمل ADN مُكمِّل لARNm ناضج عوض استخراج المورثة من الخلايا البشرية.

2 -ما أهمية أنزيم النسخ العكسي ؟

3 -لو كان الأمر يتعلق بمورثة على شكل ADN لتم استخراجها من أي خلية في الجسم. لماذا يُستخرج ARNm الناضج من خلايا البنكرياس فقط ؟

4 -استخرج خاصية من خاصيات الرمز الوراثي والتي تسمح بنجاح تقنيات الهندسة الوراثية.

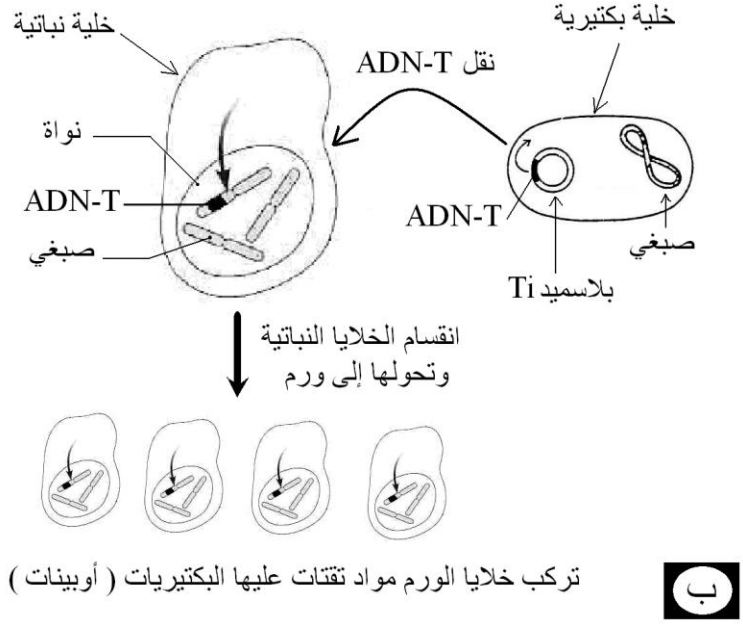
5 -كيف تفسر الأعراض الجانبية التي يسببها الأنسولين « الحيواني » ؟

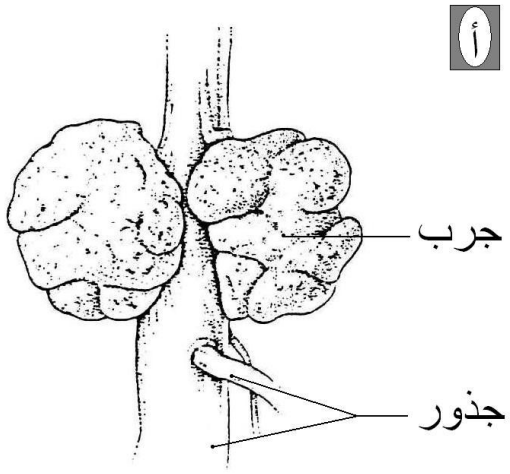
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir

الوحدة5: مثال لاستغلال بكتيرية Agrobacterium tumefaciens في الهندسة الوراثية.

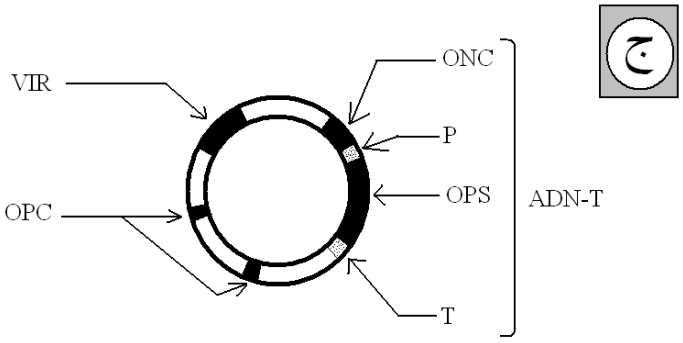
تتطفل بكتيرية Agrobacterium tumefaciens التي تعيش في التربة على جذور بعض النباتات، وتحدث فيها ورما سرطانيا يسمى الجرب.

- ما خصوصيات حالة التطفل هاته ، وكيف تم استغلالها في الهندسة الوراثية ؟





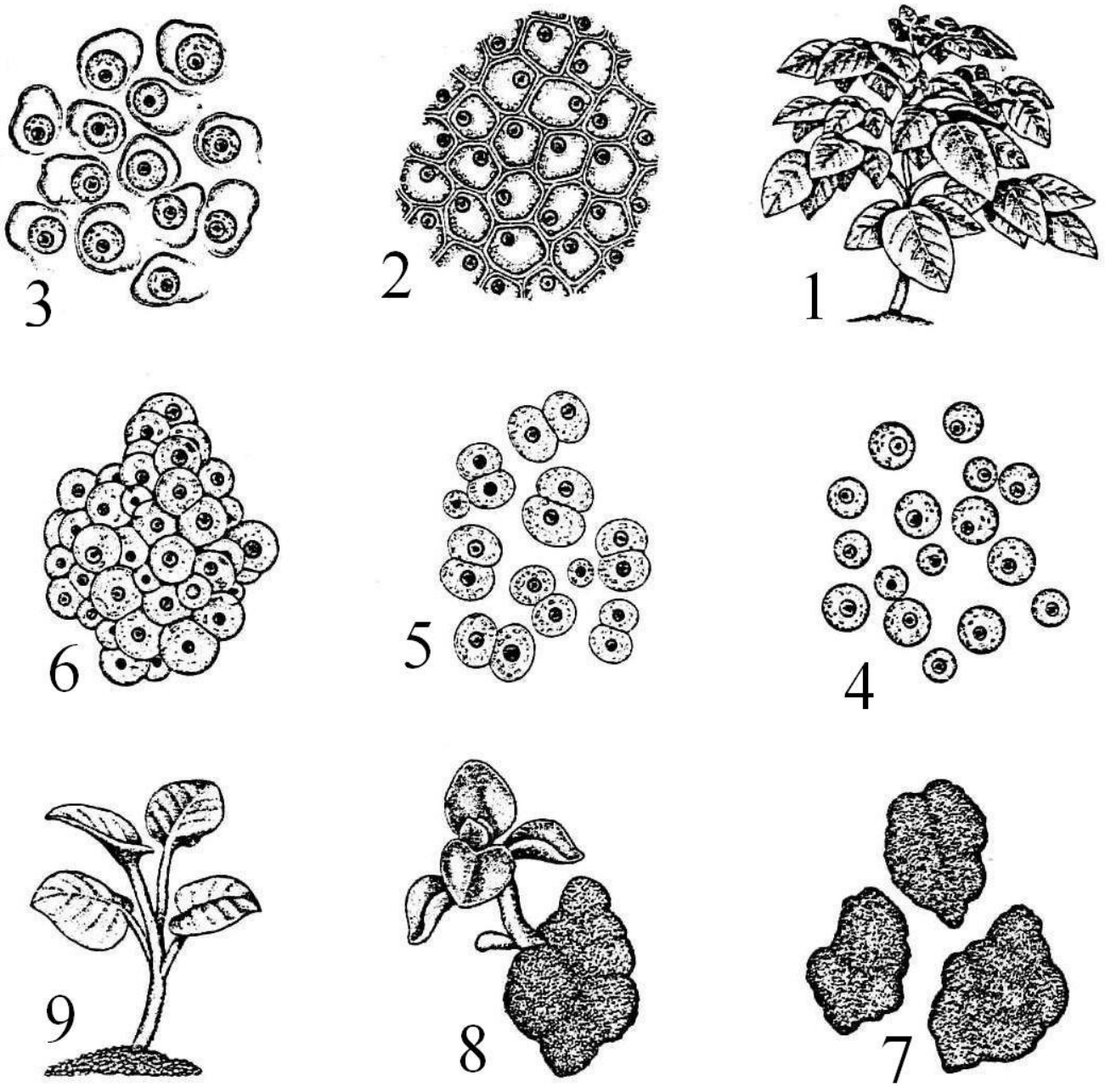
- الجرب سرطان نباتي تتسبب فيه بكتيرية Agrobacterium tumefaciens التي تعيش في التربة والحاملة للبلاسميد المحرض للورم والمسمى البلاسميد Ti (الشكل أ).



- تعتبر حالة الجِرب حالة تطفل تختلف عن معظم الحالات، إذ يتعلق الأمر بنقل جزء من البرنامج الوراثي للمتطفل إلى العائل.
- خلال عملية التطفل تنقل بكتيرية Agrobacterium tumefaciens جزءا من بلاسميدها Ti إلى الخلايا النباتية. ويسمى الجزء المنقول ADN-T (الشكل ب).
- يضم البلاسميد Ti عدة مورثات، من أهمها تلك الممثلة في الخريطة الوراثية للشكل ج :
  - المورثة VIR: مسؤولة عن الحدة أي قدرة البكتيرية على نقلADN-T إلى الخلايا النباتية.
  - المورثة ONC: مسؤولة عن إحداث السرطان في الخلايا النباتية.
  - المورثة OPS : مسؤولة عن تركيب الأوبينات في الخلايا النباتية التي تُفرز هذه المواد لتستهلكها بكتيريات Agrobacterium tumefaciens التي تعيش في التربة وتحيط بالورم.
  - مورثة موجدة P و مورثة نهائية T: مسؤولتان عن تعبير OPS داخل الخلايا النباتية.
  - المورثة OPC: مسؤولة عن هدم الأوبينات داخل الخلايا البكتيرية بعد استهلاكها. وذلك في إطار الاقتيات.
- بعد موت النبات يتفتت الورم وتنتشر بكتيريا ت Agrobacterium tumefaciens التي كانت تحيط بالورم في التربة حيث يمكن أن تتطفل على خلايا جذور نبتة أخرى ...

الوثيقة1: بكتيرية Agrobacterium tumefaciens: حالة تطفل طبيعية.

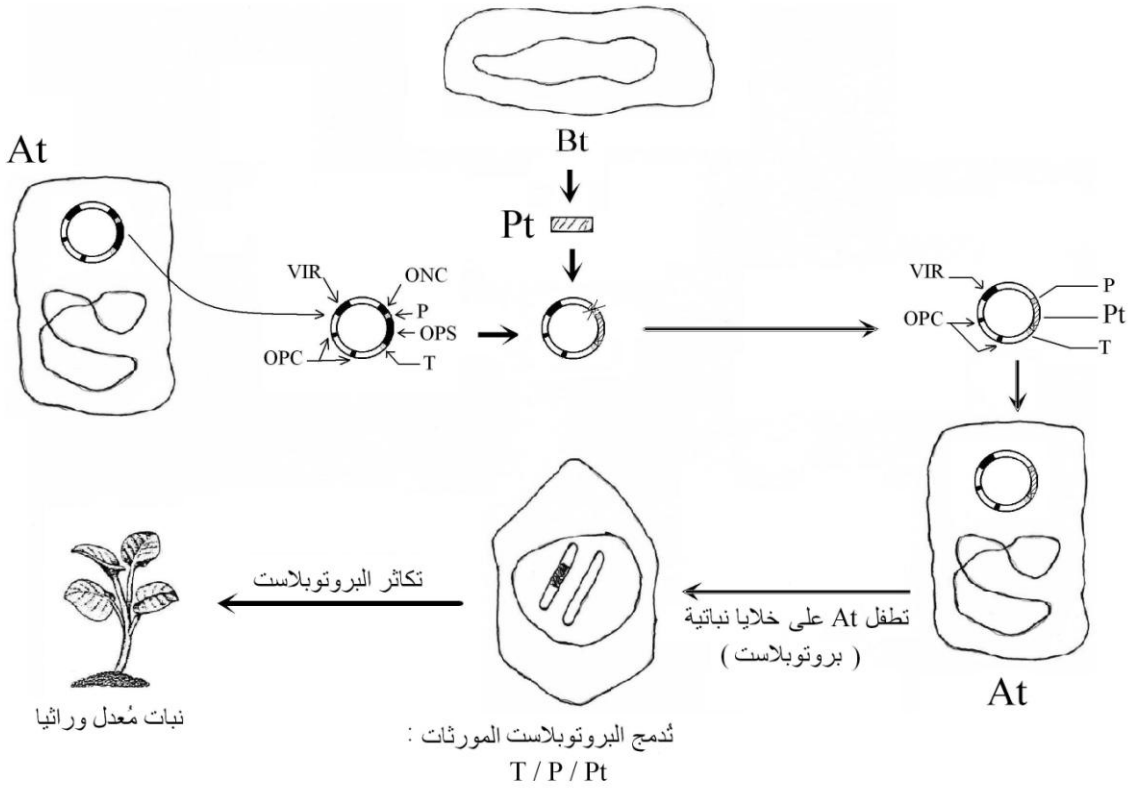
Prof Ennimou Abdetkader cours du soir



- أخذ خلايا من النبات المراد استكثاره (1-2) ومعالجتها بأنزيمات تحلل الجدار السيليلوزي، فيتم الحصول على خلايا بدون جدار وبالتالي غير متراصة فيما بينها وتسمى البروتوبلاست (3-4).
- زرع الخلايا في علب Petri تحتوي على وسط مغذ مغرى حيث تتكاثر الخلايا (6).
- تجزيء الكتل الخلوية وتوزيعها على علب Petri أخرى وتكرار العملية للحصول على كميات كبيرة من الخلايا (7).
- معالجة الخلايا بهرمونات تؤدي بها إلى تشكيل شتلات (8).
- نقل الشتلات إلى التربة العادية داخل البيوت المُغطاة. وتُمكن هذه التقنية من الحصول على كميات هائلة من الشتلات مقارنة مع طرق الاستنبات التقليدي في التربة.

الوثيقة2: مبدأ زراعة الخلايا النباتية في أنبوب الاختبار.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir



تتعرض كثير من المزروعات للتلف بسبب أسروعات الفراشات. ولقد اكتشف الباحثون بروتينا ساما (Pt) يقضي على الأسروعات. وتوجد مورثة هذا الروتين السام بكيفية طبيعية في البرنامج الوراثي لبكتيرية تدعى Bacillus thuringiensis (Bt). وقد ساعدت الهندسة الوراثية على إنتاج نباتات معدلة وراثيا ومقاومة للأسروعات، نظرا لإفرازها للبروتين Pt. وتتبع التقنية الخطوات التالية:

1 - استخراج المورثة المُرَمِّزة للبروتين Pt من بكتيرية Bt.
2 - استخراج البلاسميد Ti من بكتيرية At وتجريده من مورثة الورم وتعويض المورثة OPS بمورثة Pt مع الحفاظ على المورثة الموجدة P والمورثة النهائية T.
3 - إدماج البلاسميد المركب في خلايا At مجردة من البلاسميد الأصلي.
4 - وضع خلايا بكتيرية At التي تحمل البلاسميد المركب في وسط يحتوي على بروتوبلاست النبات المُراد تعديله.
5 - تطفل At على البروتوبلاست حيث تدمج هذه الأخيرة المورثات: T / P / Pt.
6 - تكاثر البروتوبلاست في إطار الزراعة في أنابيب الاختبار، وتَشَكُّل نباتات معدلة وراثيا .

الوثيقة3: مثال لاستغلال Agrobacterium tumefaciens في الهندسة الوراثية.

الإنجازات:

1 - في إطار عملية التطفل، ما الضرر الذي يلحق بالنبات وما الفائدة التي تجنيها بكتيرية At ؟
2 - وضح أهمية مختلف المورثات المبينة في الخريطة الوراثية للبلاسميد Ti خلال مختلف مراحل الدورة التطفلية.
3 - مثل على شكل خطاطة مراحل التطفل.
4 - كيف يتم توظيف تقنية الزراعة في أنبوب اختبار، وما الفائدة من ذلك ؟
5 - ما الهدف من تجريد البلاسميد Ti من المورثة ONC والحفاظ على المورثات VIR و P و T واستبدال OPS بـPt ؟
6 - بعد الحصول على نباتات مُعدلة وراثيا، هل نحتاج إلى تعديلها في كل جيل خلال زراعتها في الحقول ؟ علل إجابتك.

Prof Ennimou Abdetkader cours du soir