الفصل الأول

علم الوراثة من منظور تاريخى

يعتقد أن علم الوراثة قد نشأ حول فكرة وجود عناصر غير مرئية محتوية على المعلومات الوراثية، والتى سميت فيما بعد بأسم الجينات، وأن هذه العناصر تنتقل إلى كل من الخليتين البنويتين عند انقسام الخلية.

إلا أنه قبل ان يتم الانقسام فلابد أن يكون بمقدور الخلية الأم تكوين نسخة من جيناتها حتى تعطى مجموعة كاملة من هذه الجينات إلى كل خليـــة بنويـــة. إذ أن الجينات فى الحيوان المنوى أو البويضة تنقل الصفات الوراثية من جيـــل إلى الجيل التالى. وعند إعلان قوانين مندل للوراثة تم تصحيح الفكـــرة الـــسائدة عن العوامل الوراثية من نظرية الدمج Blending Theory إلى نظرية العوامـــل المستقلة المتميزة Particulate Theory والتى تظل فيه الجينات محتفظة بكينونتها واستقلالها من جيل إلى جيل. وقد أدى ذلك إلى الاعتقاد بـــأن هـــذه العوامـــل الوراثية المسئولة عن الصفات البيولوجية المختلفة لابد أن تكون مركبة من نظم من الذرات التى لابد أن تخضع لقوانين الكيمياء والفيزياء أو بمعنى آخر لابد أن هذه الجينات تتكون من جزيئات معينة موجودة فى الخلية الحية.

فى البداية لم يمكن تحديد او حتى تخيل طبيعة هذه الجزيئات التى يمكنها أن تُختزن فى الخلية ويكون بمقدورها إدارة الأنشطة المختلفة للكائن اثناء نمـــوه

وتمايزه وفى نفس الوقت يكون باستطاعتها أن تتضاعف (تتكرر) بطريقة دقيقة وصحيحة وبصفة مستمرة تقريباً Unlimited.

عقب إعلان نظرية الكروموسومات للوراثة Chromosome Theory of Inheritance فى بداية القرن العشرين أصبح من الواضح أن الكروموسومات هى الحاملة للمعلومات الوراثية ولكن تبين فى تلك المرحلة المبكرة أن الكروموسومات مكونه من مركبات عديدة تشمل البروتينات والأحماض النووية وخاصة الحامض النووى الديوكسى ريبوزى د ن أ DNA

وقد تركز البحث في البداية على التعرف على أنواع من البروتينات النوعية نظراً لأن البروتينات تحتوى بين جزيئاتها على قدر واسع من الأختلافات الكيماوية والبيولوجية مما يؤهلها للقيام بمهمة المادة الوراثية فى حين أعتبرت الأحماض النووية غير صالحة لهذه المهمة نظرا لافتقارها إلى التباين الكيماوى الواسع بين جزيئاتها. وأنه بالتالى من المستبعد وجود وظيفة وراثية لجزئ د.ن.أ وأن كل مهمته أن يعمل كإطار لتدعيم البنية الاساسية للكروموسومات.

ظلت المحاولات مركزة فى هذا الاتجاه إلى أن وصلت إلى طريق مسدود حيث ثبت أنه لا يوجد أى نوع من بروتينات الخلية يمكن أن تتوفر فيه شروط المادة الوراثية وهى:

١- القدرة على اختزان جميع المعلومات الوراثية المطلوبة لإدارة وتنظيم الإنشطة الايضية فى الخلية.
٢- القدرة على التضاعف بانتظام وبدقة بحيث يمكن انتقال المعلومات وتوريثها للخلايا البنوية بطريقة مضبوطه.

٣- القدرة على التعبير لهذه المعلومات الوراثية فى صورها المختلفة.
٤- القدرة على الطفور بنسب منخفضة جدا بحيث تحدث تغيرات وراثية يمكن توريثها إلى النسل.

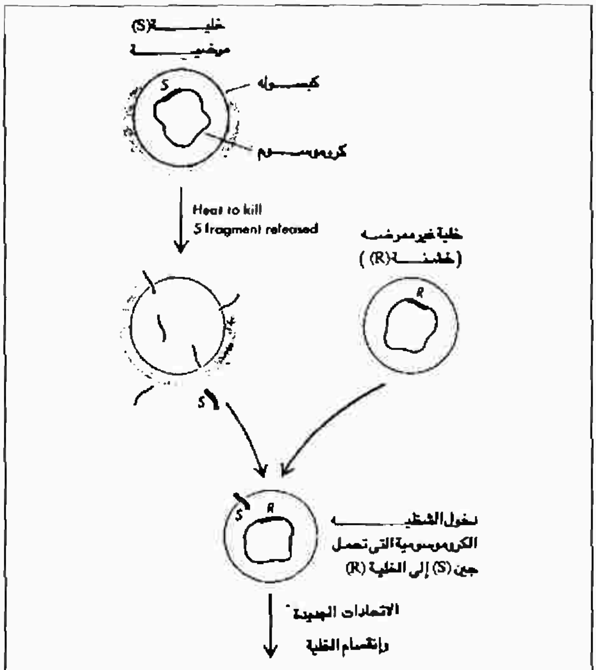
من هنا تحول الانتباه، بعد فيض من البحوث والدراسات إلى د.ن.أ، على اعتباره هو بالفعل المادة الوراثية فى معظم الخلايا الحيه (عدا قليل من الفيروسات يكون ر.ن.أ . هو المادة الوراثية بها).

يمكن تلخيص الأدلة على أن د.ن.أ هو المادة الوراثية فى الآتى:

١- التحول الوراثى Genetic Transformation:

تمكن أفرى Avery ومعاونوه عام ١٩٤٤ من التوصل إلى أن المادة الوراثية تكمن فى د.ن.أ. بالخلية وليس فى بروتيناتها وذلك بعد قيامهم بتجربة رائدة للتحول الوراثى بين سلالتين من البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى فى الأنسان من نوع Pneumococcus، حيث كانت السلالة الأولى وتسمى S-type لها القدرة على تكوين حافظة أو كبسولة من عديدات التسكر Polysaccharides حولها مما يقيها من أجهزة الدفاع فى الحيوان المصاب ويمكنها من أحداث الأصابة بالمرض وقد أعطيت الاسم S (Smooth) لان مستعمراتها النامية على البيئة الصلبة تعطى مظهراً أملس. أما السلالة الآخرى المستخدمة فهى السلالة R-type وهى طافرة تفتقر إلى الأنزيم المسئول عن بناء سكريات الكبسولة مما يجعل مظهر المستعمرة على البيئة الصلبة خشنا Rough وهذه السلالة تكون غير مرضية لعدم قدرتها على مقاومة الجهاز المناعى بالجسم نظرا لعدم وجود الكبسولة الواقية حولها.

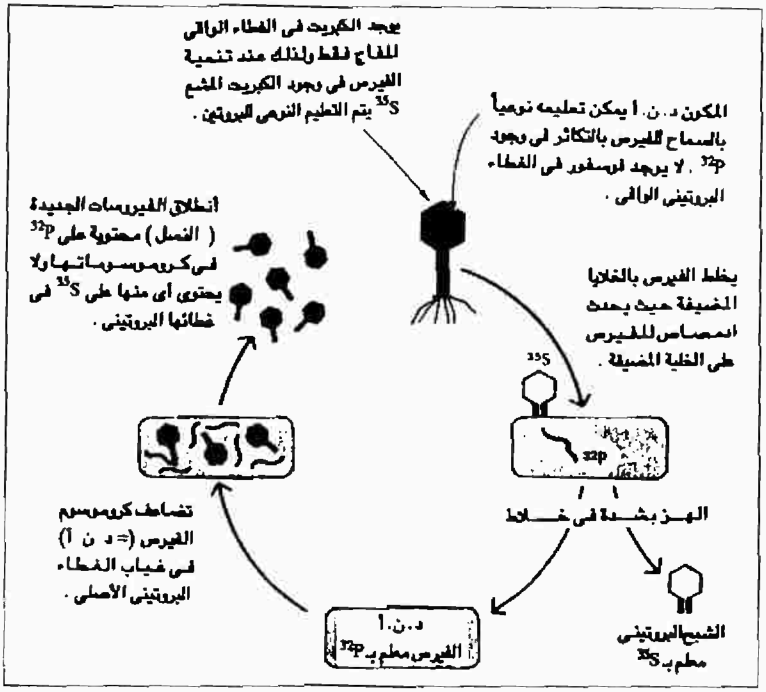
عندما أضاف Avey مستخلصاً نقياً من د.ن.أ للسلالة S بعد التخلص من البروتينات و ر.ن.أ . إنزيمياً، إلى مزرعة من السلالة R أمكن الحصول على بعض الخلايا من نوع S ومن جهة أخرى، فقدت السلالة S القدرة على تحويل السلالة R تماما عندما تم تكسير د.ن.أ. بالمعاملة بإنزيم DNase أى أن جزئ د.ن.أ. هو المسئول عن عملية التحول الوراثى وكان هذا أول دليل عملى على أن د.ن.أ. هو مادة الوراثة (الشكل ١-١).



الشكل (١-١): تجربة التحول الوراثى لاثبات أن د.ن.أ هو المادة الوراثية حيث أضيفت صفة الكبسولة الملساء (S) إلى خلية من سلالة غير مكبسلة (خشنة R) فتحولت الأخيرة إلى خلايا ملساء (S)

٢- الاستنقال الوراثى (النقل الفاجى) Genetic Transduction:

حيث قام هيرشى Hershey وتشيز Chase عام ١٩٥٢ بعدوى بكتريا القولون *E.coli* بالفاج T_2 بعد تعليم بروتينات الغطاء المحيط بالفاج بالكبريت المشع ^{35}S فى حين تم تعليم جزئ د.ن.أ. الداخلى بالفوسفور المشع ^{32}P ومن المعروف أن الفاج يقوم بحقن محتوياته الداخلية فقط (د.ن.أ) إلى داخل الخلية البكتيرية فى حين يبقى الغطاء المغلف له معلقا خارج الخلية المحقونة ويمكن التخلص منه بالرج بحرص فى خلاط. تبين أن معظم الفوسفور المشع (وبالتالى د.ن.أ الفاج) قد دخل إلى الخلية البكتيرية فى حين لم تظهر آثار للكبريت المشع إلا النادر جداً والتى وجدت معلقة بالجدار الخارجى للخلية البكتيرية (الشكل ١-٢) وقد وجد أن جميع النسل الناتج من الفاج بعد تكاثرة داخل الخلية البكتيرية والذى خرج بعد تحلل الخلية البكتيرية Lysis وانفجارها يحتوى على ^{32}P فوسفور مشع مصدره بالطبع د.ن.أ الفاج الأصلى ولا يحتوى أى نسل من الفاج على أى أثر من ^{35}S مما يدل على أن بروتين الفاج لم يكن له أى دور فى انتقال المادة الوراثية إلى النسل فى حين أن د.ن.أ هو المادة الوراثية.



الشكل (١-٢): إثبات أن د.ن.أ. للفاج T_2 هو الذى يحمل المعلومات الوراثية وأن الغطاء البروتينى يستخدم فقط كغطاء واقى ولا يحمل أى معلومات وراثية

٣- ثبات كمية د.ن.أ فى الكروموسومات:

بينت الدراسات السيتولوجية والسيتوكيماوية فى الكائنات مميزة النواة أن د.ن.أ يوجد فى النواه فقط (فيما عدا د.ن.أ الميتوكوندريا والكلوروبلاست) فى حين أن البروتينات توجد فى النواة والسيتوبلازم والغشاء البلازمى. بالاضافة إلى ذلك فقد ثبت أن كمية د.ن.أ فى الخلية الثنائية العدد الكروموسومى Diploid Cell يكون ثابتاً دائماً للكائن الواحد ويساوى ضعف الكمية الموجودة فى الخلية الجاميطية الاحادية Haploid (الجدول ١-١).

فى حين لا توجد هذه العلاقة الثابتة فى كمية البروتينات من نوعية الخلايا اعلاه.

بالاضافة على ذلك فإن د.ن.أ وبعكس البروتينات وغيرها من الجزيئات الاخرى فى الخلية يكون ثابتاً أيضياً Metabolically Stable بمعنى أنه لا تجرى له عملية بناء ثم هدم بسرعة ولكن بمجرد أن يتم بناؤه فى الخلية فإن د.ن.أ يظل فيها محتفظاً بخواصة طالما أن الخلية تنمو نموا طبيعاً.

الجدول (١-١)

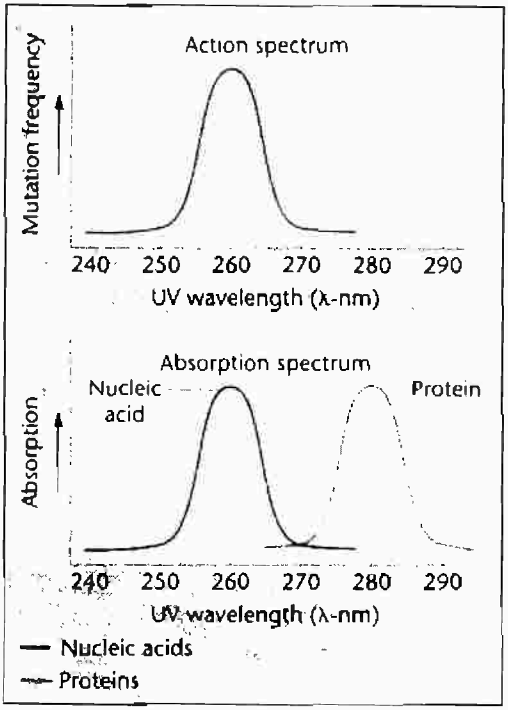
محتوى الخلية الاحادية (n) والثنائية (2n) لبعض الأنواع (Picogrm)

الكائن	n	2n
الانسان	٣,٢٥	٧,٣٠
الدجاجة	١,٢٦	٢,٤٩
السمك	٢,٦٧	٥,٧٩
الكابوريا	١,٦٥	٣,٤٩

التأثير المطفر للاشعة فوق البنفسجية:

تبين أن الاشعة فوق البنفسجية تعطى أعلى معدل للطفور عند طول موجة 260nm. ومعروف أن جزيئات د.ن.أ ، ر.ن.أ يمتصان هذه الاشعة بقوة عند 260nm ومن جهة اخرى وجد أن البروتين يمتص معظم هذه الاشعة عند 280nm إلا أنه لم تحدث أيه تأثيرات طفرية عند هذه الموجة الاخيرة.

ويعطى هذا الدليل غير المباشر برهانا على أن الاحماض النووية وليست البروتينات هى بالفعل المادة الوراثية (الشكل ١-٣).



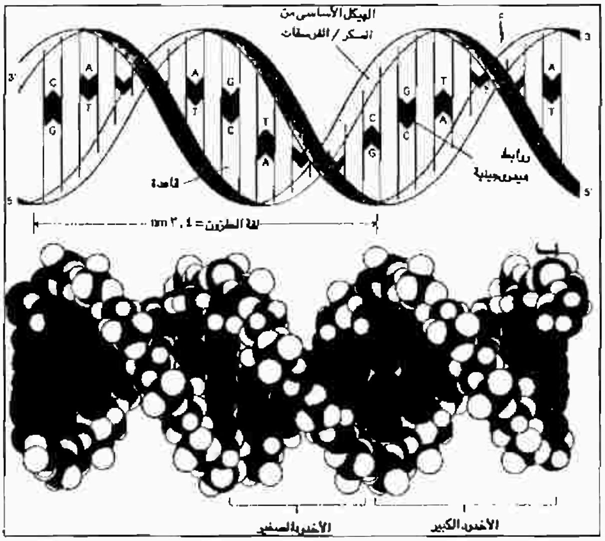
الشكل (١-٣): مقارنة المجال الضوئي الذي يحدد طوله موجة UV الأكثر فاعلية لإحداث الطفور ومجال الامتصاص الذي يبين أطوال الموجات التي يمتص عندها كل من د ن أ والبروتين الأشعة فوق البنفسجية UV

ومن أمثلة الادلة المباشرة : ما قدمتــه تقنيــة د.ن.أ المعـــاد صـــياغته Recombinant DNA التي أدت الى انتاج نباتات وحيوانـــات محولـــة وراثيـــا Transgenic Plants and Animals حيث يتم نقل جـــين معـــين (مثـــل جـــين الأنسولين البشرى) إلى بكتريا القولون *E.coli* فقد وجد أن هـــذه البكتريـــا قـــد اكتسبت هذا الجين وتم بالفعل انتاج الانسولين البشرى فى خلايا البكتريا المحولة وراثياً. وقد أمكن أيضا الحصول على دليل مباشـــر آخـــر عنـــدما تـــم حقـــن Microingection جين β-Globin البشرى فى البويضة المخصبة للفأر حيث وجد

ان هذا الجين موجود بالفعل فى أنسجة الفأر الناضج جنسيًا والمحـــول وراثيـــا وانتج β-Globin البشرى وامكن متابعة توريثه فى نسل هذا الفأر. ويـــدل ذلـــك وغيره من نتائج التحول الوراثى فى مميزة النواة دلالة قاطعة على أن د.ن.أ هو المادة الوراثية حيث أنه اجتاز شرط القدرة على التعبيـــر Expression وســـوف نعرف فى الفصول التالية كيف يتم تخزين وتناسخ وطفور وتعبيـــر د.ن.أ فـــى مميزة النواه.

تركيب جزئ د ن أ:

شهد عام ١٩٥٣ الميلاد الحقيقى لعلم البيولوجيا الجزيئية بالمعنى الحديث حين اعلن واتسون وكريك Watson & Crick نموذج الحلزون المزدوج لتفـــسير تركيب جزئ د.ن.أ (الشكل ١-٤).



الشكل (١-٤): نموذج الحلزون المزدوج لجزئ د.ن.أ تتزاوج (تلتف) سلسلتان متكاملتان فى تتابعات النيوكليتيدات ومتضادتان فى الإتجاه على شكل حلزون مزدوج يمينى الدوره (الشكل ١-٤-أ يمثل رسما تخطيطاً للنموذج والشكل ١-٤-ب يمثل نموذجاً فراغياً)

وذلك بعد اجرائهما لدراسات مستفيضة وكذلك تفسيرهما الصحيح للنتائج التى اظهرتها صور انحراف الأشعة السينية X-ray Difraction التـى أجراهـا ويلكنز Wilkins، وفرانكلين Franklin لجزئ د.ن.أ وكذلك بالاستفادة من النتائج التى اعلنها شاراجاف Charagaff عام ١٩٥٠عن محتوى د.ن.أ مـن القواعـد النتروجينيه فيما يعرف بقاعدة شاراجاف.

وقد قوبل هذا النموذج فى البداية بحملة من عدم التصديق إلا أن البحوث والدراسات المستفيضة فى هذا المجال اثبتت أن هذا النموذج هو الوحيـد حتـى الآن الذى يمكن على أساسه تفسير خواص المادة الوراثية وبذلك فتح الباب على مصراعيه لتطور علم البيولوجيا الجزيئية.

والجدول التالى يبين بعض الاحداث الهامة في مجال تطور علم البيولوجيا الجزيئية.

الجدول (١-٢): أهم الإنجازات فى مجال البيولوجيا الجزيئية

١٨٦٩	Miescher عزل مادة د. ن. أ لأول مرة واسماها نيوكلين Nuclein.
١٩٤٤	أثبت Avery ومعاونوه أن د. ن. أ هو المادة الوراثية بتجارب التحـول الوراثى فى بكتريا الفولون.
١٩٤٩	Charagaff أثبت العلاقة بين كمية القواعد النتروجينيه فى جزئ د. ن. أ (C= G, A = T).
١٩٥٢	Hershey أثبت أن د. ن. أ هو المادة الوراثية فى تجـارب الاسـتنقال الوراثى (انتقال بالفاج).
١٩٥٣	Watson & Crickإعلان نموذج الحلـزون المـزدوج لتركيـب جـزئ د. ن.أ.
١٩٥٥	Kornberg إكتشاف أنزيم بلمره جزئ د. ن. أ DNA Polymerase.

١٩٦١	Marmur & Doty إكتشاف خاصية إعادة الاتحاد Renaturation فى جزئ د. ن. أ المدنتر Denatured مما فتح المجال لعملية التهجين بين جزيئات الاحماض النووية،
١٩٦٢	Arber أعطى أول دليل على وجود أنزيمات القطع المحددة DNA Restriction Endonucleases مما أدى بعد ذلك إلى تنقيتها واستخدامها في دراسة تتابع د. ن. أ بواسطة Nathan & Smith.
١٩٦٦	Nirenberg, Ochoa & Khorana فك الشفرة الوراثية Genetic Code.
١٩٦٧	Gellert أكتشاف انزيم اللحام DNA ligase الذى يستخدم فى وصل شظايا د. ن. أ ببعضه.
١٩٧٠	Temin, Mizutani & Baltimore اكتشاف انزيم النسخ العكسى Reverse Transcriptase الذى أدى فيما بعد إلى الحصول على جينات تركيبية Synthetic Genes (cDNA).
١٩٧٢-١٩٧٣	تطور تقنيات كلونه د. ن. أ في معامل Berg, Cohen, Boyer.
١٩٧٥-١٩٧٧	Maxam & Gilbert, Sanger & Coulson استنباط طرق سريعة لدراسة تتابع القواعد فى جزئ د. ن. أ.
١٩٨١-١٩٨٢	أنتج Spardiling دروسفلا محولة وراثيا كما انتج Palmmiter فئران محولة وراثيا.
١٩٨٢	إنشاء Gene Bank فى المعهد القومى للصحة NIH بالولايات المتحدة الأمريكية.
١٩٨٣	Cech & Altman أثبتا أن ر. ن. أ يمتلك خواص انزيميه.
١٩٨٥	اخترع mallis ومعاونوه جهاز PCR
١٩٨٧	استنبط Capecchi طرق لنقل واستبدال جينات مستهدفة فى الخلايا الجنينية الجذعية للفأر.
١٩٨٨	اختيار Watson كمنسق عام لمشروع الجينوم البشرى.
١٩٨٩	اللجنة الاستشارية للمعهد القومي للصحة NIH لبحوث د. ن. أ المعاد صياغته توافق لأول مرة على تجربة نقل جين بشرى.

١٩٨٩	استطاع Tsui ، Collins ومعاونوهما أن يكلونوا (Clone) "جين التليف الحويصلى"وهو الجين الذى يؤدى إليه الطافر إلى موت طفل من كل ٢٠٠٠ طفل فى الولايات المتحدة "مرض الطفولة المميت".
١٩٨٩	تمكن Fields and Song من استنباط نظام Yeast Two Hybrid System لدراسة التفاعل بين البروتينات.
١٩٨٩	استنبط Olson ومساعدوه Sequence Tagged Sites (STS).
١٩٩٠	استنبط Lipman ومساعدوه برنامج BLAST للتعرف على درجة التماثل بين تتابعات د. ن. أ والبروتين.
١٩٩٠	قام Simon وزملاؤه بدراسة كيفية استخدام BAC's لكلونة اجزاء كبيرة من تتابعات د. ن. أ البشرية.
١٩٩١	قدم Hood and Hunkapillar تقنية جديدة أوتوماتيكيه لتحليل تتابعات د. ن. أ.
١٩٩٥	نجح Venter وزملاؤه فى تحليل تتابعات أول جينوم بالكامل وهو جينوم *Haemophiltus in fluenzae*.
١٩٩٦	أعلن Goffeau ومجموعة من العلماء على المستوى الدولى اتمام تحليل تتابعات أول كائن فى مميزة النواة وهو خميرة الخباز *Saccharomyces Cerevisiae*.
١٩٩٦-١٩٩٧	اكتشف Lockhart وزملاؤه وكذلك Brown and DeRisi تقنية Microarrays.
١٩٩٨	نجح Sulston and Waterston فى تحليل التتابعات الكاملة لكائن متعدد الخلايا وهو النيماتودا.
٢٠٠١	أعلن فريق العلماء والباحثين استكمال تحليل تتابعات الجينيوم البشرى.