(٢)

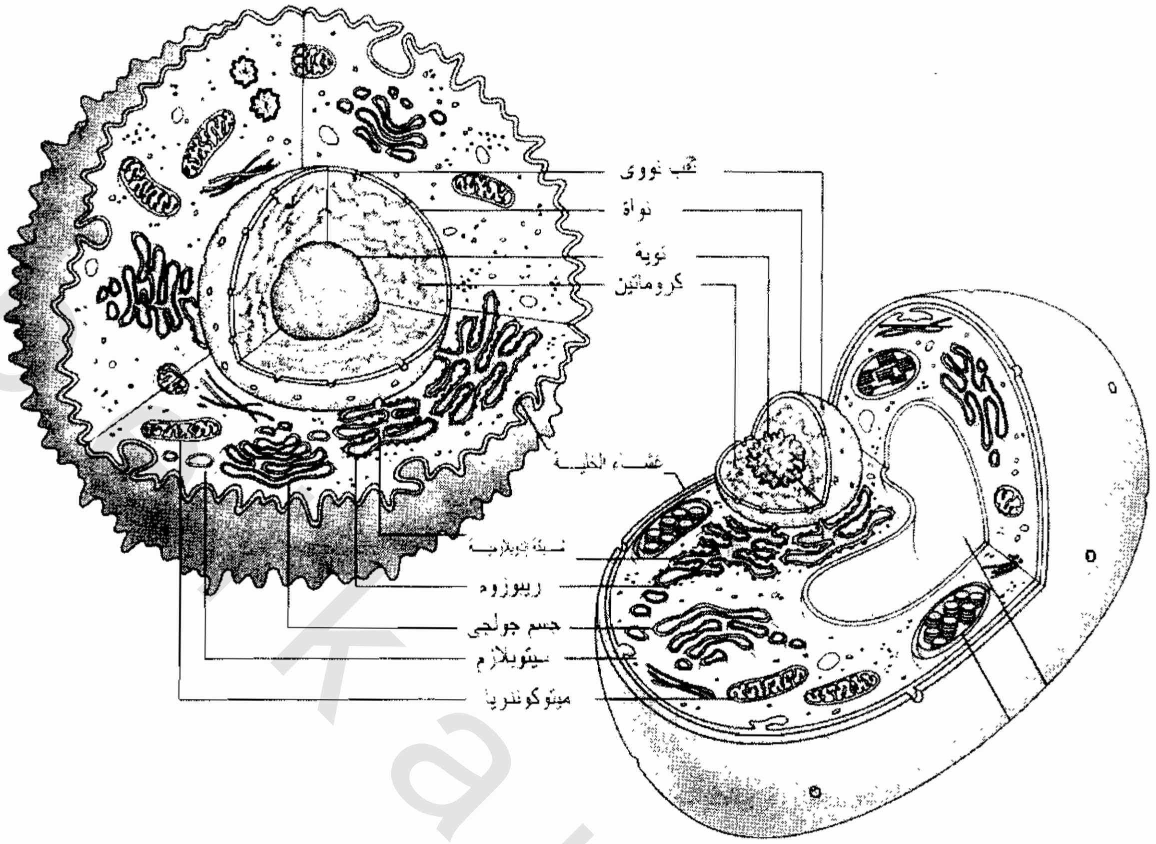
قواعد اللعبة

الخلية cell

تعتمد منجزات وإمكانيات البيوتكنولوجيا على عمل الخلية الحية ومكوناتها – نباتية كانت أو حيوانية أو ميكروبية – بل وأساسا على الجهاز الوراثى بالخلية . وبالخلايا تُقَسَّم الكائنات الحية إلى ضربين : حقيقيات النواة eukaryotes وبدائيات النواة prokaryotes . فأما حقيقيات النواة فتحمل خلاياها نواةً واضحة تضم الكروموزومات chomosomes ، وقد يكون الكائن الحى منها مجرد خلية واحدة ، كالخميرة yeast ، وقد يكون متعدد الخلايا مثل النباتات جميعا والحيوانات . وأما بدائيات النواة فلاتحمل خلاياها أنوية واضحةً صريحة لها غشاء يضم الكروموزمات ، وإنما توجد مادتها الوراثية فى السيتوبلازم ، عادة على صورة كروموزوم حلقى ، وهى تشمل البكتريا بأنواعها ، كما يضيف البعض إليها الفيروسات .

والرسم التالى يوضح تركيب خلية حيوانية (كرة دم بيضاء لتولى) وخلية نباتية ، وخلية بكتيرية ، ومنه نرى :

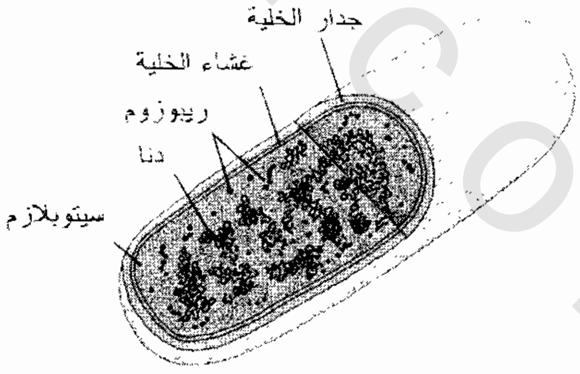
obeikandl.com



الشكل رقم (١)

صورة مقطعية لخلية حيوانية نمطية

(إلى اليسار كرة دم بيضاء وإلى اليمين خلية نباتية)



الشكل رقم (٢)

صورة مقطعية لخلية بكتيرية

* الثقوب النووية muclear pores : وهذه فتحات مثمنة الأضلاع توجد بالغشاء النووى

* النواة nucleus ، وهى الكيس داخل خلايا حقيقيات النواة الذى يحمل الكروموزومات ، ويفصلها عن السيتوبلازم cytoplasm غلاف مزودج يسمى غلاف النواة ، ويبلغ حجمها فى خلية الإنسان نحو ١ / ٥٠٠٠ من السنتيمتر .

* النويَّة nucleulus : وهذه جسم صغير داخل النواة تتجمع داخله الريبوزمات ribosomes .

* الكروماتين chromatin : وهذه مادة تتألف من دنا DNA مزدوج الجديلة ، وقد طُوى وكثف بسبب ارتباطه ببروتينات تسمى هستونات histones .

* غشاء الخلية cell membrane : وهذه طبقه رقيقه من البروتوبلازم protoplasm تتألف أساسا من الليبيدات والبروتينات ، توجد على أسطح كل الخلايا . (والبروتوبلازم هو كل ماتحمله الخليه بداخلها) .

* الشبكه الإندوبلازمية endoplasmic reticulum : وهذه جهاز بالسيتوبلازم يعمل فى تمثيل البروتينات وعزلها ونقلها لتجرى إلى حيث الحاجة إليها . وهو مكون من أغشية مزدوجة تسبح الجزيئات البروتينية فيها بينها .

* الريبوزومات ribosomes : هذه جسيمات تجمع الأحماض الأمينية amino acids فى صورة بوليببتيدات polypeptides مستخدمه الرنا المرسال messenger RNA كقالب template وتوجد فى السيتوبلازم وتتألف من رنا وبروتين .

* أجسام جولجى golgi bodies : وهذه عضيات سيتيوبلازمية تخدم فى عملية الإخراج ونقل الجزيئات من مكان لآخر داخل الخلية أو إفرازها خارج الخلية ، كما تعمل فى تشكيل بعض البروتينات التركيبية .

* السيتوبلازم : كل مايوجد من مواد داخل الغشاء الخلوى للخلية الكاملة بخلاف النواة . يفصل غشاء النواة مابين السيتوبلازم والنواة .

* الميتوكوندريا (السُبَحيات) mitochondria : وهذه تراكيب معقدة توجد بسيتوبلازم خلايا كل حقيقيات النواة التى تستخدم الأكسجين فى " إحراق "

المنتجات الكيماوية المشتقة من الغذاء ، وذلك لإنتاج الطاقة اللازمة للعمليات الكيماوية والميكانيكية التى تقوم بها الخلايا ، فيما يسمى " التنفس " . تحمل الميتوكوندريا أيضا بعض الدنا فى صورة حلقات من لولب مزدوج [يبلغ طول كل منها فى الانسان ١٦٥٦٩ حَرْفاً وتضم ٣٧ جينا مهمتها توليد الطاقة ، وقد يوجد بالخلية الواحدة بضع مئات منها (وهذه الحلقات تورث عن طريق الأم فقط ، لأن رأس الحيوان المنوى لا يحمل تقريباً أى سيتوبلازم)]. ومن المعتقد أن الميتوكوندريا (والكلوروبلاستات بخلايا النبات) هى الأثر الباقى لخلايا بكتيرية بدائية استوعبتها تكافليا symbiotically خلايا الأسلاف الأوائل لحقيقيات النواة .

* غشاء الخلية cell membrane : هذا تركيب يتألف من دهون وبروتينات يغلف الخلية . وهو يشكل فى الخلايا الحيوانية السطح الخارجى للخلية ، أما فى النبات وبعض الكائنات الأخرى كالبكتريا والخميرة فيحيط بهذا الغشاء من الخارج جدار من سكرات معقد .

* جدار الخلية cell wall : وهذا تركيب منفذ نصف صلب يغلف معظم الخلايا النباتية ويتكون من السليولوز المغطى بالهيميسليولوز ، كما يحتوى على برتينات ودهون . وتصل نسبة السليولوز فى الخلايا المتقدمة فى العمر إلى نحو ٩٤٪ من الوزن الجاف لجدار الخلية .

* فجوة vacuole : وهذه فراغ يحده غشاء يعمل فى الهضم والتخزين والإفراز والإخراج .

* الكلوروبلاستات أو البلاستيدات الخضراء chloroplastids : هذه جسيمات معقده تغلفها أغشية ثلاثة ، توجد بالسيتوبلازم فى بعض خلايا النبات وتقوم بعملية التمثيل الضوئى photosynthesis ، إذ تقتنص الطاقة من أشعة الشمس لتمثيل الجزيئات البيولوجية ، وهى التى تولد غاز الأكسجين الذى تعتمد عليه

معظم الكائنات الحية . والكلوروفيل chlorophyll هو المكوّن الذى يمتص أشعة الشمس ، وهو الصبغة التى تعطى النباتات الخضراء لونها ، ويوجد فى الغلاف الوسطى من الأغشية الثلاثة حول البلاستيدة . تحمل البلاسيتدات بعض الدنا فى صورة حلقات من لولب مزدوج .

الجزيئات العملاقة

ثمة جزيئات عملاقة macromolecules أربعة تميز المادة الحية : الأحماض النووية nucleic acids والبروتينات proteins والكربوهيدرات carbohydrates والدهون fats . والكربوهيدرات والدهون تعمل أساسا فى تخزين الطاقة وتشكيل البنية ، وهى توجد فى صورة تكرر رتيبٍ ممل لوحدة فرعية أو وحدات معدودة فى ترتيب يمكن التنبؤ به بالكامل . أما مايهمنا بالنسبة للعمليات الوراثية فهى البروتينات والأحماض النووية .

البروتينات
proteins

البروتينات ماكينات جزيئية تتكون من أحماض أمينية amino acids مرتبطة بروابط كيماوية تسمى الروابط الببتيدية peptide bonds فى صورة سلسلة (أو أكثر) فى تتابع متفرد يميز كل بروتين . وتسمى سلاسل الأحماض الأمينية ببتيدات peptides إذا كانت قصيرة ، أو بوليببتيدات polypeptides إذا كان عدد الأحماض الأمينية فيها عشرين أو أكثر – قد يصل طول السلسلة فى بعض البروتينات إلى ٢٠٠٠ حمض أمينى ، وقد يكون مجرد خمسة أحماض . تؤدى البروتينات معظم أعمال الخلايا والجسم ، فهى تعمل فى تعضيد هيكل الجسم وشكل خلاياه ، وتقوم بحفز مجال واسع من التفاعلات الكيماوية بالجسم ، بجانب مهمتها التنظيمية . من بين أهم

obeikandl.com

البروتينات المعروفة : الإنزيمات enzymes والهرمونات hormones والأجسام المضادة antibodies ، والمستقبلات receptors ، والكولاّجين collagen (الذى لولاه لأصبحت عظامنا هشة) والهيموجلوبين haemoglobin .

يوجد من الأحماض الأمينية التى تشكل بروتينات الكائنات الحية عشرون نوعا هى :
أرجنين ، أسباراجين ، حمض أسبارتيك ، ألانين ، أيزوليوسين ، برولين ، تربتوفان ، تيروسين ، ثريونين ، جلايسين ، حمض جلوتاميك ، جلوتامين ، سيرين . سيستيين ، فالين ، فينايل ألانين ، لايسين ، ليوسين ، ميثيونين ، هستدين . (الأحماض العشرة المخطوط تحتها يلزم أن تتوفر فى غذاء الإنسان ، لكنه يستطيع تمثيل العشرة الباقية بجسمه) . يشفر لكل من هذه الأحماض العشرين كودون أو أكثر فى الدنا (كما سنرى) ، كما يحكم تتابعَ الأحماض فى أى بروتين تتابعٌ نظيرٌ فى الدنا .

تشترك كل الأحماض الأمينية فى مجموعة ثابتة من الذرات (يد٢ن – ك يد – ك أ أ يد) ولكل منها سلسلة جانبية مختلفة . تحصل الروابط الببتيدية – التى تحفظ سلسلة الأحماض – بين ذرة الكربون (ك) فى مجموعة الكربوكسيل (ك أ أ يد) carboxyl لحامض ، وذرة النتروجين (ن) فى مجموعة الأمين (ن يد ٢) amino group بالحامض التالى – ومن ثم تبدأ سلسلة الأحماض التى تكوِّن البوليببتيد (البروتين) بمجموعة أمين وتنتهى بمجموعة كربوكسيل . بعد أن تتكون سلسلة البروتين ، تنطوى على نفسها فى صورة مميزة يحددها أساسا مايحدث بين السلاسل الجانبية للأحماض من تفاعل . وشكل البروتين المطوى هو الذى يحدد وظيفته .

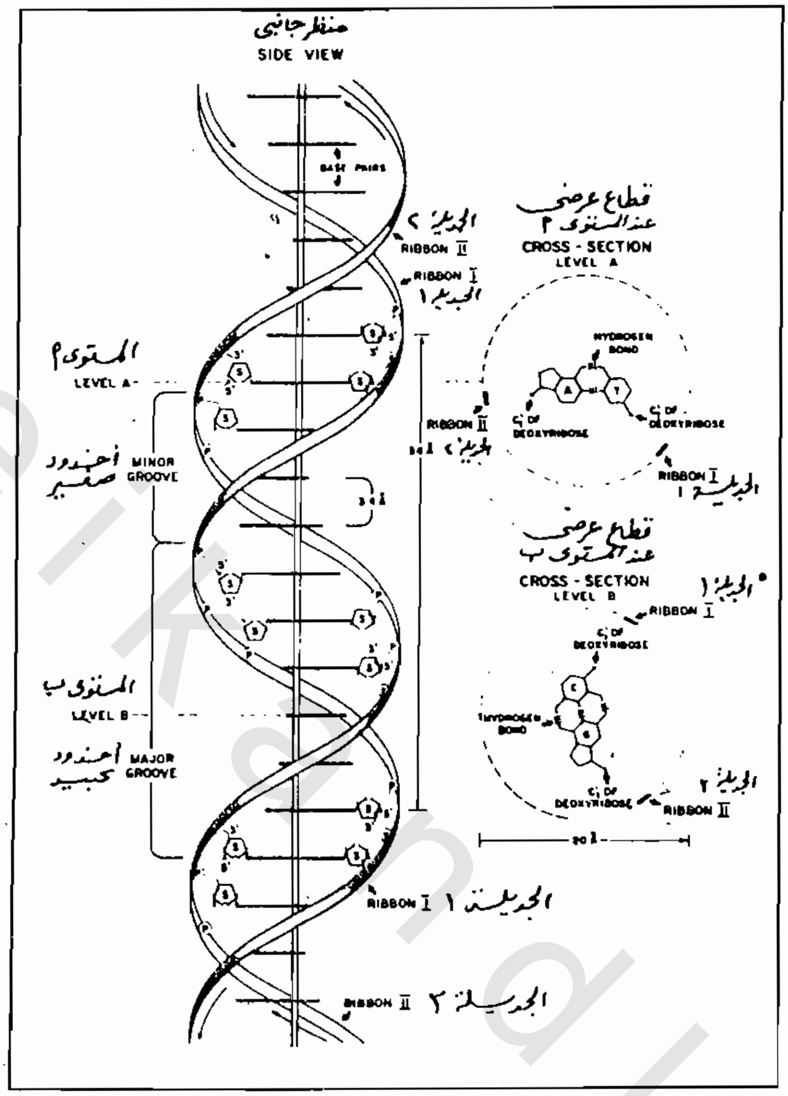
الأحماض النوويـــة

nucleic acids

(أ) الدنـــــا

المادة الوراثية للكائنات الحية جميعا – من البكتريا حتى الإنسان – مادة واحدة هي الحمض النووى الديوكسى ريبوزى أو الدنا deoxyribonucleic acid , DNA . كل الأحياء على وجه الأرض أقارب في الدنا . اكتشف هذا الحمض عالم سويسرى اسمه يوهان فريدريخ ميشر J. F. Miescher عام ١٨٦٩ بعد أن عزله من الصديد بضمادات الجروح (وأطلق عليه إسم نوكلين) ، ولقد عثَر عليه أيضا في خلايا الخميرة والكلى والكبد والخصية وكرات الدم الحمراء وفى رأس الحيوانات المنوية لأسماك السالمون . أما تفاصيل تركيبه فقد كشف عنها واطسون وكريك Watson & Crick عام ١٩٥٣ . وهذا الحمض جزىء عملاق حلزونى spiral يسمى " اللولب المزدوج " double helix ويبدو مثل درج stair ملفوفٍ ملتوٍ ، له جانبان من السكر الديوكسى ريبوزى والفوسفات ، عليهما تقام السلالم . تتألف كل سلمة من زوج من الأحماض النووية أو القواعد bases ، يتصل كل منهما بحلقة السكر بأحد جانبى الدرج ، بينما تربطهما روابط كمياوية ضعيفة من الأيدروجين . تسمى القاعدة (نصف السلمة) ومعها حلقة السكر الديوكسى ريبوزى ومجموعة الفوسفات المرتبطة (أى القاعدة ومعها الجزء من جانب الدرج الذى ترتبط به) باسم النواتيدة أو النوتيدة nucleotide . النوتيدات إذنْ هى الوحدات القاعدية التى تشكل هيكل اللولب المزدوج . وجديلتا اللولب المزدوج لاتنفصلان تلقائيا تحت الظروف الفسيولوجية الطبيعية ، لكن من الممكن فصلهما إذا عُرِّض الدنا إلى درجات حرارة قرب الغليان (٩٦ درجة مئوية) أو إذ عُرِّض إلى درجة حموضة pH أقل من ٣ أو أكثر من ١٠ .

obeikandi.com

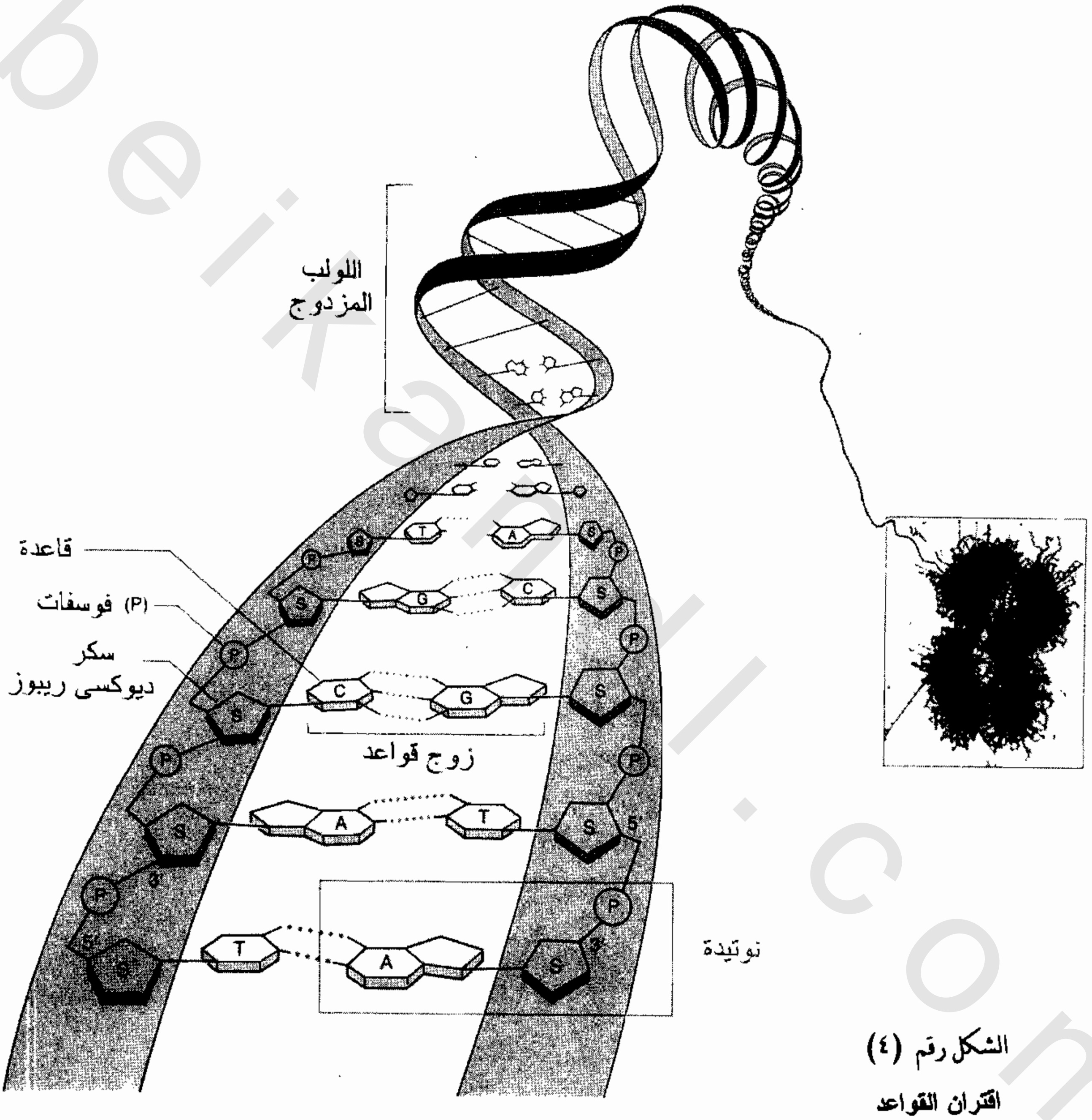


الشكل رقم (٣)

اللولب المزدوج

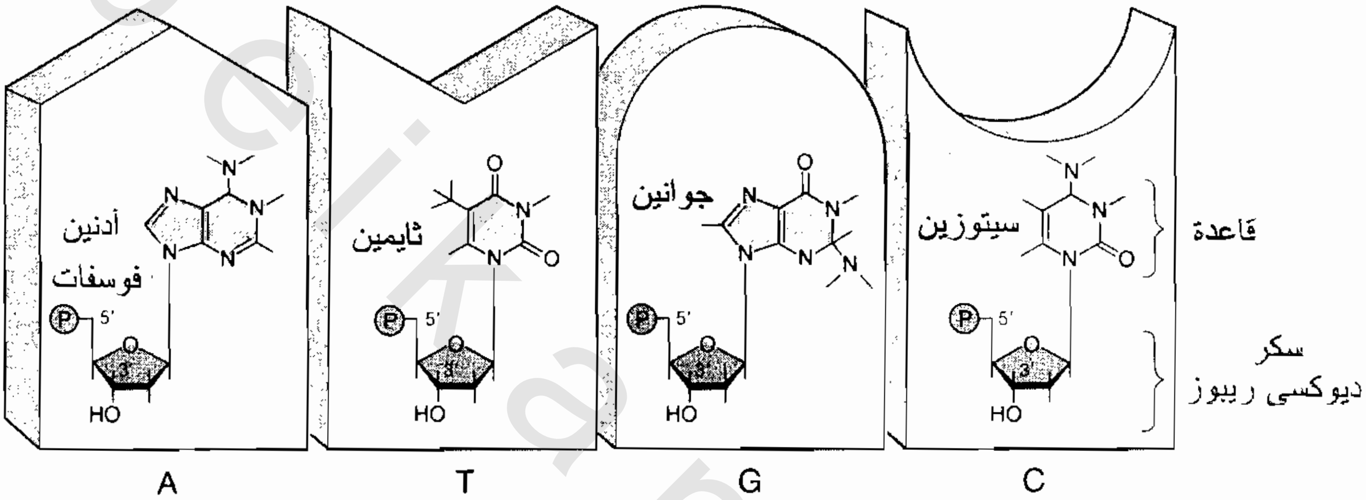
هناك من القواعد bases فى الدنا أربع لا أكثر : الأدنين (أ) Adenine (A) ، والثايمين (ث) (T) Thymine ، والجوانين (ج) Guanine (G) ، والستيوزين (س) ytosine (C) . والأدنين والجوانين يتبعان مجموعة المركبات العضوية الحلقية المعروفة باسم البيورينات purines ، أما الثايمين

والستيوزين فمن مجموعة البيريميدينات pyrimidines . وهناك من أشكال السلالم اثنان : أ = ث ، أو ث = أ (وتربطهما اثنتان من الروابط الهيدروجينية) ، س ≡ ج أو ج ≡ س (وتربطهما ثلاث روابط هيدروجينية) (س ، ج ترتبطان إذن برباط أوثق من رباط أ ، ث) .



الشكل رقم (٤)
اقتران القواعد
فى جديلتى اللوب المزدوج

الأدنين على جديلة لايكمل السلّمة إلا مع قاعدة الثايمين علـى الجديلـة المواجهة من الدنا ، وبـالمثل ث لاتكمـل السـلّمة إلا مـع أ ، كمـا أن الجوانيـن لايكمل السلّمة إلا مع الستيوزين (وبالمثل : س على جديلة لاتتكامل إلا مـع



الشكل رقم (٥)

صورة تخطيطية لقواعد الدنا الأربعة

لاحظ أن هناك ذرة كربون (لم توضح بالرسم) فى كل نقطة تتقاطع فيها رابطتان كيماويتان أو أكثر (الروابط مبينة فى صورة خطوط) . المواقع التى لا تظهر بها ذرة فى نهاية الرابطة تعنى وجود ذرة أيدروجين

obeikandl.com

كل قاعدة فى الدنا إذن ملحق بها على جانبىْ اللولب (الدرج) السكر الديوكسى ريبوزى مرتبطا بفوسفات ، لتتشكل بذلك نوتيدة . تتصل النوتيدات المتتابعة خَطِّياً فى الركيزة السكرفوسفاتية عن طريق رابطة قوية تربط السكر فى نوتيدة بفوسفات النوتيدة المجاورة . وعلى هذا فإن كل مجموعة فوسفات ترتبط بالسكر فى نوتيدتين ، وتَكُون الرابطة مع ذرة الكربون رقم ٣ فى حلقة سكر ومع ذرة الكربون رقم ٥ فى الحلقة المجاورة على الجديلة . ونتيجة لهاتين الرابطتين بالفوسفور سنجد أن لجديلة الدنا اتجاها : إما من ٥َ إلى ٣َ (تقرأ من خمسة مرقومة إلى ٣ مرقومة) أو من ٣َ إلى ٥َ ، ولجديلتى أىّ لولب مزدوج اتجاهان مختلفان ، واحدة تجرى من ٥َ إلى ٣َ والأخرى من ٣َ إلى ٥َ . وعلى هذا يُكْتَب التتابع المذكور فى نهاية الفقرة السابقة كما يلى مثلا :

٥َ – أ س أ أ ج ث س – ٣َ　　　الجديلة الأولى

٣َ – ث ج ث ث س أ ج – ٥َ　　　الجديلة المكملة

والعادة أن يكون التتابع مختلفا بين الجديلتين المكملتين إذا قُرِئتا فى نفس الاتجاه (مثلا ٥َ – ٣َ) كما فى هذا المثال ، ولكن هناك تتابعات تُقْرَأ طرداً مثلما تقرأ عكساً ، أى تتطابق قراءتهما فى نفس الاتجاه :

٥َ – ج أ أ ث ث س – ٣َ

٣َ – س ث ث أ أ ج – ٥َ

(ب) الرنـــــــا

هناك بجانب الحمض النووى الديوكسى ريبوزى (الدنا) حامض نووى أخر مهم هو الحمض النووى الريبوزى (رنا) ribonucleic acid (RNA) . يشكل هذا الحمض الغالبية العظمى من الأحماض النووية بخلايا كل الكائنات الحية ، بل ويشكل المادة الوراثية ذاتها لبعض أنواع الفيروسات (الفيروسات الارتجاعية retroviruses) . وترجع أهمية الرنا إلى دوره فى

عملية تمثيل البروتين protein synthesis . توجد سلاسل الرنا ، التى تشبه سلاسل الدنا إن تكن أقصر كثيرا ، فى صورة مفردة دائما (لامزدوجة) ، أى أنها لاتشكل لولبا مزدوجا كالدنا . وهى تشبه شرائط الدنا المفردة إلا فى أمرين : فالسكر فيها ريبوز ribose لا ديوكسى ريبوز ، ثم إنها لاتحمل قاعدة الثايمين وإنما ـ بديلاً عنها ـ قاعدة اليوراسيل (ى) (U) Uracil التى يمكن أن تقترن أيضا (كالثايمين) بالأدنين لا بغيره (فالقواعد الأربع فى شريط الرنا المفرد إذن هى أ ، ى ، ج ، س) . توجد من الرنا صور عديدة أهمها الرنا النووى ، والرنا المِرْسال ، والرنا الريبوزومى ، والرنا الناقل .

ذكرنا أن وظيفة جزئ البروتين تعتمد على الصورة التى يتخذها الجزئ عندما يُطْوى ويتخذ شكله النهائى ثلاثى الأبعاد ، وأن هذه الصورة يحددها إلى حد بعيد تتابع الأحماض الأمينية فى الجزئ ، أما وظيفة الدنا فيحددها فقط التتابع الخطى للقواعد فيه . يشفر للبروتينات جزء من دنا الكائن الحى ، ولكل بروتين جين gene (وهذا اسم صاغه لأول مره فيلهلم يوهانسين W . Johannsen عام ١٩٠٩) . والجين تتابع خطى من النوتيدات فى الدنا . وتوجد فى حقيقيات النواة بين المقاطع المشفِّرة للبروتينات أطوال من التتابعات تسمى سقط الدنا junk DNA لا تُعْرَفُ لها وظيفة (تزداد نسبتها فى الكائنات الأعلى وقد تصل إلى ٩٥٪ من الدنا الكلى) . والمقاطع التى تتاخم الجين فى مطلعه مهمتها التحكم فى فتح الجينات للعمل ، وهى تسمى المنشطات promoters ، ولبعض هذه المنشطات أهميتها العظمى فى التخصص الخلوى cell specification ، فهى تُغْلِق جين الإنسولين مثلا فى خلية الدم ، ولكنها تفتحه فى خلايا البنكرياس .

الشفـرة الوراثيـــة

الدنـا إذن يمثـل رسـائل مشـفَّرة تسـمى جينـات تعمـل فـى صناعـة البروتينات وفى التنظيم والهَيْكَلَة . والجين الواحد يشفر لبروتين واحد (وقد تتكرر نسخ من نفس الجين عددا من المرات فى الجينوم الواحد قد يصل إلى المئات) . يتراوح طول الجين عادة مـابين بضـع مئـات (جيـن الذكـورة فـى الإنسان مثلا مؤلف من ٢٤٠ زوجا مـن القواعـد) وبضعـة آلاف مـن أزواج القواعد – وإن كان طول بعض الجينات قد يصل إلى نحو مليونى زق (زوج قواعد) ، مثل الجين المشفر لبروتين الدينورفيـن dynorphin المسئول عن مرض دوتشين Duchenne فى الإنسان . يقاس طول الجين كمـا رأينـا بعـدد أزواج القواعد فيه .

ينقسم تتـابع القواعـد الـذى يكوّن الجيـن المشــفر لأى بروتيـن إلـى كودونات codons ، والكودون هو ثلاث قواعد bases متتابعـة علـى طـول الجيـن (مثـلا أ أ ج أو س ج ث) . ولمـا كـان عـدد الحـروف (القواعـد) التى تشكل الدنا أربعة (أ ، ث ، ج ، س) فسيكون هناك ٦٤ ثلاثية أوكودونا ممكنا (٤مرفوعة إلى الأس ٣) . يشفر كل كودون لحمـض أمينـى واحـد . لكن عدد الأحماض الأمينية عشرون ، لذا فقد يشفّر للحمض الواحد أكثر من كودون . كما أن بعض الكودونـات يتخصـص ليكـون إشـارةً بانتهـاء الجيـن . فأى من الكودونات الثلاثه ث أ أ ، ث أ ج ، ث ج أ يعنـى نهايـة الجيـن ، أى يعمـل كإشـارة توقـف stop ، ولايشـفر لأى حمـض أمينـى . والجـدول التـالى يوضح الشفرات الأربع والستين

obeikandl.com

الجدول رقم (١)

الثانية / الأولى	ى	س	أ	ج	الثالثة
ى	فنا	سير	تير	سيس	ى
	فبا	سير	تير	سيس	س
	ليو	سير	قف	قف	ا
	ليو	سير	قف	ترب	ج
س	ليو	برو	هس	أرج	ى
	ليو	برو	هس	أرج	س
	ليو	برو	جلن	أرج	ا
	ليو	برو	جلن	أرج	ج
أ	أيزو	ثر	أس	سير	ى
	أيزو	ثر	أسن	سير	س
	أيزو	ثر	لاى	أرج	أ
	ميثا	ثر	لاى	أرج	ج
ج	فا	ألا	أسب	حلا	ى
	فا	ألا	أسب	حلا	س
	فا	ألا	جلو	جلا	ا
	فا	ألا	حلو	حلا	ج

(الرموز موجودة بالجدول التالي)

obeikandl.com

ويمكن وضع الجدول فى صورةٍ تبين الكودونات المشفِّرة لكل من الأحماض الأمينية العشرين :

الحمض الأميني	الكودونات المشفِّرة
أرجنين (أرج)	أ ج أ - أ ج ج - س ج أ - س ج ج - س ج ث
أسبارجين (أسب)	أ أ ث - أ أ س
حمض أسباراتيك (اسن)	ج أ ث - ج أ س
ألانين (ألا)	ج س أ - ج س ج - ج س ث - ج س س
أيزوليوسين (أيزو)	أ ث أ - أ ث ث - أ ث س
برولين (برو)	س س أ - س س ج - س س ث - س س س
تريبتوفان (ترب)	ث ج ج
تيروسين (تير)	ث أ ث - ث أ س
ثريونين (ثر)	أ س أ - أ س ج - أ س ث - أ س س
جلايسين (جلا)	ج ج أ - ج ج ج - ج ج ث - ج ج س
حمض جلوتاميك (جلو)	ج أ أ - ج أ ج
جلوتامين (جلن)	س أ أ - س أ ج
سيرين (سير)	أج أ - أج س- ت س أ-ث س ج - ث س ث - ث س س
سيستيين (سيس)	ث ج ث - ث ج س
فالين (فا)	ج ث أ - ج ث ج - ج ث ث - ج ث س
فينايل ألانين (فينا)	ث ث ث - ث ث س
لايسين (لاى)	أ أ أ - أ أ ج
ليوسين (ليو)	ث ث أ - ث ث ج - س ث أ - س ث ج - س ث ث - س ث س
ميثايونين (ميثا)	أ ث ج (ويعمل أيضا كإشارة بدء)
هستدين (هس)	س أ ث - س أ س

يفيد تعدد الكودونات المشفرة لحمض أمينى فى التخفيف من أثر الطفرة النُقْطيه point mutations على الكائن الحى (والطفرة النقطية تعنى أن تتحول قاعدة فى التتابع فجأة إلى أخرى) . فالطفرات التى تغير الحرف الثالث مثلا من أى من الكودونات المشفرة لحمض الألانين أو البرولين أو الثريونين أو الجلايسين أو الفالين لن يكون لها أى أثر – ومثلها أيضا الكودونات الأربعة الأخيرة (فى الجدول السابق) المشفرة للسيرين . وهناك طفرات نقطية قد تحيل بعض الكودونات إلى اشارة توقف فتفسد عمل الجين الذى يحملها : مثل طفور الحرف الثالث إلى ج فى كودونى التيروسين ، أو طفور الحرف الثانى إلى أ فى الكودونات ث س ج (سيرين) ، ث ج ج (ليوسين) ، أو طفور الحرف الأول إلى ث فى الكودونات س أ ج (جلوتامين) ، ج أ ج (جلوتاميك) ، أ أ ج (لايسين) ، فكل هذه الطفرات تحيل الكودون الأصلى إلى اشارة التوقف ث أ ج .

والشفرة الوراثية خطية ولاتتراكب ، نعنى أن الحرف (القاعدة base) لايُقرأ إلا مرةً واحدة وبترتيبه ، فالتتابع سباعى الحروف : أ س أ أ ج ث س قد يقرأ بإحدى قراءات ثلاثة فقط :

أ س أ   أ ج ث   س

أو : أ   س أ أ   ج ث س

أو : أ س   أ أ ج   ث س .

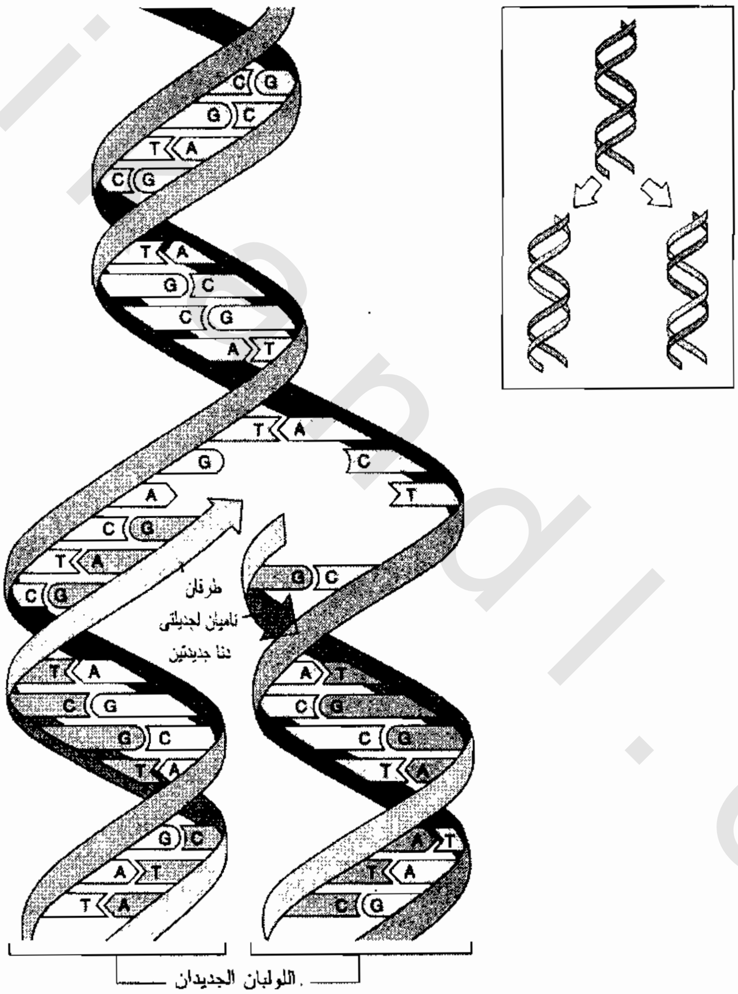
ترجمة الشفرة
translating the code

يعكس ترتيبُ الكودونات فى الجين ترتيب الأحماض الأمينية فى البروتين الذى يشفر له هذا الجين ، وتتم عملية ترجمة الشفرة ، فى الجين على اللولب المزدوج للدنا ، إلى الأحماض الأمينية التى تشكل البروتين بأن

نحصل أولاً على نسخه من هذا الجين بالتحديد لتنفيذ مابه من تعليمات ، إذ تصل رسالة من داخل الخلية أو خارجها تقول إن الوقت قد حان لإنتاج بروتين معين . ترد الرسالة إلى تتابع المنشط promoter الموجود متاخما لمطلع الجين المعنىّ . وسنجد أن جديلة واحدة من جديلتى لولب الدنا المزدوج فى أى مقطع لجين هى الجديلة العَمّالة informative or coding بينما تكون الأخرى بطّالَة noncoding or antisense – نعنى أن تتابع سلسلة الأحماض الأمينية فى البروتين الذى يشفر له الجين يعكس تتابع الكودونات فى الجديلة العمالة لا البطالة (ولنذكر مثلا أن الكودون ٥َ– ث ج ج – ٣َ على جديلة وهو المشفر للتربتوفان ، يقابله على الجديلة المكملة ٣َ– أ س س – ٥َ ، ويُقْرأ فى الاتجاه ٥َ–٣َس س أ المشفر للبرولين) . هنا تصل إنزيمات بَلْمَرة الرنا RNA polymerases لتبدأ عملية النسخ transcription ، إذ يقوم جزىء من الإنزيم عند تتابع المنشط بفَسْخ جديلتى الدنا ، ويرتبط بالجديلة البطالة للجين ليتخذها قالبا template يبنى عليه ، ثم يبدأ فى إضافة النوتيدات المكملة لتتابع الجديلة هذه (فى الاتجاه ٥ –٣) ، مع ملاحظة أن ى – اليوراسيل – هى القاعدة فى الرنا ، المكملة للقاعدة أ فى الدنا . يتكون بذلك خيط من الرنا يسمى الرنا النووى (رنا – نو)(n RNA) nuclear RNA (n RNA) يتنامى إلى أن يصل إلى كودون التوقف بنهاية الجين – فيتوقف النسخ ، ويستعيد الدنا صورته الأصلية ، ويحرر خيط الرنا النووى ، الذى سيطابق تماما التتابع على جديلة الدنا الأخرى العمالة فى اتجاهه وقواعده ، بعد استبدال القواعد ى بالقواعد ث (واستبدال سكر الريبوز بسكر الديوكسى ريبوز) .

سيكون أول كودون فى الرنا النووى هو كودون حمض الميثيونين أ ى ج (الذى يعمل كإشارة بدء) عند الطرف ٥َ ، أما الكودون الأخير فسيكون واحداً من كودونات التوقف الثلاثة : ى أ ج أو ى أ أ ، ى ج أ (لاحظ أننا استبدلنا القاعدة ى بالقاعدة ث) .

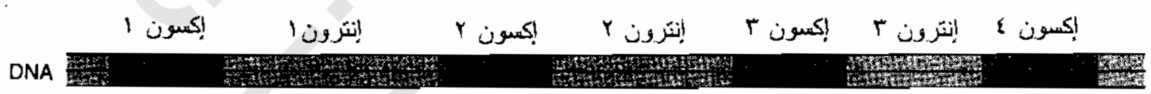
[ربما كان من الملائم هنـا أن نذكر أن عملية كهذه تماماً تحدث عند تضاعف الرنا أثناء انقسام الخلية ، إذ تُفْسَخُ جديلتا الدنا ، ربما فى مواقع مختلفة فى نفس الوقت إذا كانت الجديلة طويلة (فى حقيقيات النواة) ، لتقوم إنزيمات بلمرة الدنا DNA polymerases باضافة القواعد المكملة على كل من الجديلتين المنفصلتين (فىالاتجاه ٥َإلى ٣َ) لينشأ بذلك لولبان مزدوجان متطابقان ، ومطابقان للّولب الأصلى ، يحمل كل منهما واحدة من جديلتى اللولب القديم ونسخة جديده مكملة .]



الشكل رقم (٦)

الطريقة التى تخيلها واطسون وكريك لتضاعف الدنا ، على أساس الطبيعة المكملة لتتابع القواعد فى السلسلتين

حصلنا الآن على نسخة رنا من دنا التتابع (الجين) المطلوب تنفيذ مابه من تعليمات لإنتاج بروتين بعينه ، لكن الجينات فى حقيقيات النواة عادة ماتحمل بداخلها مقاطع من سقط الدنا ، نعنى أن امتداد القواعد فى جديلة الدنا ، وفى جديلة الرنا – نو الناتجة عنها بالنسخ ، يحمل مناطق مشفِّرة لتتابع الأحماض الأمينية فى البروتين (تسمى إكسونات exons) تتخللها مناطق لغو لا تشفِّر لشيء نعرفه (تسمى إنترونات introns) – ومن ثَم تُسمَّى هذه الجينات بالجينات المفروقة split genes :



الشكل رقم (٧)

صورة تخطيطية لجين مفروق

يلزم إذن أن يُشَذَّب خيط الرنا النووى عند تحرره داخل النواة " لتنظيفه " من الإنترونات كى لايبقى للتنفيذ إلا الإكسونات المشفِّرة .

تتم عملية التشذيب splicing هذه داخل النواة ، فتُزال الإنترونات وتُلحم الإكسونات سويا فى شريط أقصر لايحمل إلا الكودونات اللازمة لإنتاج البروتين ، بترتيبها ، ليخرج خيط الرنا وقد شُذِّب – ويسمى الآن الرنا المرسال (رنا–م) messenger RNA (mRNA) – يخرج من غشاء نواة الخلية إلى السيتوبلازم بعد أن يضاف إليه فى الطرف ٣َ ذيل من النوتيدات كلها أدنين ليست له مهمة معروفة ، وقلنسوة فى الطرف ٥َ يبدو أن مهمتها هى إرشاد الريبوزومات إلى كودون أ ى ج الصحيح لبدء الترجمة .

obeikandl.com

يحدث فى بعض الأحيان أثناء تشذيب الرنا النووى أن يُحذف مع الإنترونات جزءٌ من إكسون ، أو إكسون كامل أو أكثر ، لينتج عن الجين نفسه بروتين آخر أو أكثر ، حسب حاجة الكائن الحى .

وفى السيتوبلازم تبدأ عملية الترجمة translation لتنفيذ الشفرة التى يتضمنها الرنا المرسال ، إلى أحماض أمينية مرتبة بنفس ترتيب الكودونات على المرسال . تقوم بهذه العملية الريبوزومات ribosomes المؤلفة من أكثر من خمسين بروتينا وثلاثة أو أربعة أنواع من الرنا الريبوزومى (رنا-ر) ribosomal RNA (r RNA) .

ولكى تتضح كيف تتم عملية ترجمة الشفرة إلى بروتينات دعنا نفترض للتبسيط أن البروتين (الببتيد) المطلوبَ مؤلفٌ من سلسلة من ثلاث أحماض أمينية فقط ، وأن ترتيب القواعد على الرنا المرسال الذى خرج من النواة هو

٥َ - أ ى ج   س ى أ   ج س س   ى ج أ - ٣َ

هذه الكودونات تشفر للأحماض الأمينية الثلاثة (بنفس الترتيب) الميثايونين (الذى يلزم أن يبدأ به كل بروتين – وإن كان عادةً مايُبتر قبل أن ينتهى بناء البروتين) فالليوسين فالألانين ، والكودون الأخير (ى ج أ) يعنى :" توقف! فقد انتهى تجميع أحماض الببتيد "

يتخذ الريبوزم شكلا يشبه عجلة التليفريك أو ثمرة فول سودانى ذات حبتين ، أى أن به اختناقاً . يوفِّق الريبوزوم نفسه بحيث تقع سلسلة الرنا المرسال فى الاختناق عند أول كودون بها ، ثم يتحرك على طول السلسلة حتى يقابل إشارة " توقَّفْ " ، كمثل عجلة التليفريك تجرى على الحبل الحديدى إلى حيث تتوقف . يصل فى البداية جزىء من الرنا الناقل (رنا - ن) transfer RNA(tRNA) يحمل فى قمته الكودون ى أ س المضاد anticodon للكودون الأول فى المرسال (أ ى ج) (حاملاً فى ذيله حمض المثايونين) .

يلتحم الكودون المضاد بهذا الكودون الأول ، ثم يتحرك الريبوزوم على شريط الرنا المرسال إلى الكودون الثانى س ى أ ، فيصل جزىء رنا ــ ن آخر يحمل فى قمته الكودون ج أ ى المضاد لكودون المرسال هذا الثانى ، وفى ذيله حمض ليوسين ، الذى يلقف الميثايونين من ذيل جزىء الرنا ــ ن الأول ، ليصبح فى ذيله الحمضان مرتبطين (ويتحرر جزىء رنا ــ ن الأول وقد فقد الحمض من ذيله) . هنا يصل جزىء رنا ــ ن ثالث (بعد أن يتحرك الريبوزوم) فى قمته الكودون س ج ج المضاد للكودون ج س س على المرسال (ويشتبك به) وفى ذيله حمض ألانين يلقف الحمضين من ذيل جزىء الرنا ــ ن الثانى ، ويحرره ، بينما يربط الحمضين بالألانين ، فيصبح فى ذيله ثلاثة الأحماض المكونة للببتيد بنفس ترتيبها . ثم يتحرك الريبوزوم إلى الكودون الرابع على المرسال فيتوقف ، وتكون الرسالة وقد تُرجمت ، ويكون البروتين وقد تم تجميع أحماضه ، لينطوى ويتخذ الصورة المميزة له ، أو تتم عليه قبل ذلك عمليات تحوير مابعد الترجمة post translational modifications بينما يتحرر الريبوزوم .

وواقع الأمر أننا سنجد طابوراً من الريبوزومات يعمل فى نفس الوقت على نفس شريط الرنا المرسال ، وكلها تتحرك فى نفس الاتجاه ، وكل منها قد بدأ رحلته من كودون البدء بالمرسال ، بعد أن يكون الريبوزوم السابق له قد تحرك وتركه .

التفاعل المتسلسل للبوليميريز
polymerase chain reaction

كانت تقنية التفاعل المتسلسل لإنزيم بوليميريز الدنا DNA polymerase (وهذا هو الإنزيم الذى يحفز عملية نسخ الدنا ، بأن يقوم بتجميع النوتيدات على قالب الدنا template) من بين أروع التقنيات التى استغلت ظاهرة التكامل بين القواعد على جديلتى الدنا . تُمَكِّننا هذه التقنية من

انتاج الملايين ، بل البلايين ، مـن نسخ جيـن أو تتـابع فـى الدنـا يهمنـا ، من عينات غاية فـى الضآلـة من جينـوم أى كـائن حـى دون اللجـوء إلـى الكَلْونَـة cloning . يتطلب الأمر أن نعرف تتابعين قصيرين (يتراوح طولهمـا مـابين عشر ، وثلاثين نوتيدة) يحدان الجين أو التتابع المطلوب تكثيره من الجـانبين ، واحداً على جديلة والآخر على الجديلة المكملة . يُطلق علـى أى مـن هذيـن التتابعين اسم الطليعة primer . تَستغل التقنيـة الجدائـلَ المفـردةَ – التـى تنتـج عنـد تسـخين الدنـا مـزدوج الجديلـة ـ كقوالـب لتمثيـل جدائـل جديـدة تحدهـا الطليعتـان ، وذلـك فـى وجـود إنزيـم بوليميريز الدنـا . يسـتخدم عـادة إنزيـم بوليمـيريز تـاك taq المـأخوذ مـن بكتريـا ثرمـوس أكواتيكـص *Thermus aquaticus* المائية المحبة للحرارة ، فدرجة الحرارة المثلى التى يعمل عندهـا هى ٧٢° م . أما الطليعتان فيجرى تحضـير أعداد وفيرة منهـا بجهـاز مُخَلِّق الدنا DNA synthesizer . نعنى أن التفاعل سيبدأ فـى محلـول بـه الدنـا الـذى يحمل الجين المراد تكثيره وبه وفرة من الطليعتيـن ومـن القواعـد الأربعـة أ ، ث ، س ، ج ، ثم البوليميريز . وسنوضح خطوات الطريقة بمثال .

لنفـرض أن الجيـن الـذى نـود تكثيره يحده علــى جانبيــه الطليعتـان الموضحتان بالرسم (للتبسيط سنعتبر أن الطليعة مكون من ٣ قواعد فقط) .

الجديلة (١) ٥َ ..... ــــــــــــ ث ث س ــــــــــــ ج ج أ ــــــــــــ ..... ٣َ

من اللولب المزدوج — بقية مقطع الدنا التى نريد التخلص منها للحصول على الجين وحده — حديثا الجين المطلوب تكثيره — بقية مقطع الدنا التى نريد التخلص منها للحصول على الجين وحده

الجديلة (٢) ٣َ ..... ــــــــــــ أ أ ج ــــــــــــ س س ث ــــــــــــ ..... ٥َ

الطليعة (١) على الجديلة (١) من اللولب المزدوج هى ٥َ ـ ث ث س ـ ٣َ (وقد كُتبت علـى الرسم ببنـط أسـود) والطليعـة (٢) علـى الجديلـة (٢) هـو ٣َ ـ س س ث ـ ٥َ .

obeikandl.com

يُسخّن المحلول إلى درجة ٩٤° مئوية ، فتنفصل جديلتا اللولب المزدوج . يبرد المحلول بعد خمس دقائق إلى ٣٠ ° ـ ٧٢ °م فتلتحم الطليعتان كل بالتتابع المكمل ، وتشرع كلٌّ بدءا من تتابعها فى بناء جديلة مكملة للقديمة التى التصقت بها :

الجديلة (١) القديمة ٥َ .... ـــــــــ ث ث س ــــــــ ج ج أ ــــــــ ....٣َ

الجديلة (١ ـ أ) ٣َ ... ــــــــ أ أ ج ــــــــ س س ث ٥َ — لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (١)

الجديلة (٢) القديمة ٣َ .... ــــــــ أ أ ج ــــــــ س س ث ــــــــ .... ٥َ — لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (٢)

الجديلة (٢ ـ أ) الجديدة ٥َ ث ث س ــــــــ ج ج أ ــــــــ .....٣َ

سنلاحظ الآن أن الجديلة الجديدة (١ ـ أ) تبدأ بالطليعة ٣َ س س ث ـ ٥َ وتمتد مكملة حتى نهاية المقطع إلى اليمين ، هى لاتحمل كل ما كان من قواعد إلى اليسار . وبنفس الشكل فإن الجديلة الجديدة (٢ ـ أ) تبدأ بالطليعة ٥َ ـ ث ث س ـ ٣َ (ولاشىء إلى يمينها) وتمتد حتى نهاية المقطع المكمل إلى اليسار .

يسخن المحلول مرة ثانية إلى ٩٤° م فينفصل الآن اللولبان المزدوجان كلٌ إلى جديلتيه . لكنا سنهتم **فقط** بالجديلة (١ ـ أ) والجديلة (٢ ـ أ) . يبرد المحلول فتلتحم الطليعتان كلٌّ بالتتابع المكمل :-

الجديلة (١ـ أ) ٣َ .... ــــــــ أ أ ج ــــــــ س س ث ٥َ — لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (١ ـ أ)

الجديلة (١ـ ب) ٥َ ث ث س ــــــــ ج ج أ ٣َ

الجديلة (٢ ـ أ) ٥َ ث ث س ــــــــ ج ج أ ٣َ

الجديلة (٢ـ ب) ٣َ أ أ ج ــــــــ س س ث ٥َ — لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (٢ ـ ب)

obeikandl.com

سنلاحظ الآن أن الجديلة (١ ـ ب) لاتحمل من الجديلة الأصلية (١) إلا منطقة الجين ، ومعها الطليعة (١) والقواعد المكملة للطليعة (٢) ، وأن الجديلة (٢ ـ ب) لا تحمل أيضاً من الجديلة (٢) الأصلية إلا منطقة الجين والطليعة (٢) والقواعد المكملة للطليعة (١) . بتكرار التسخين والتبريد (الذى يجرى أوتوماتيكياً) يتضاعف تكرار (١ ـ ب) و (٢ ـ ب) أسّياً exponentially . عشرين دورة كهذه تنتج أكثر من مليون نسخة من الجين فى المحلول [اللولب المزدوج المكون من الجديلتين (١ ـ ب) و (٢ ـ ب) هو الجين] .

ربما لاحظنا أيضاً أن هذه التقنية تبحث بنفسها عن الجين أو التتابع المطلوب ، ثم تُكَاثِرُه ، ولايحتاج الأمر منا أن نفصله عن بقية الجينوم ، بمعنى أننا نستطيع أن نستخدم الجينوم الكامل للكائن الحى ، ثم نترك للتقنية أمر اقتناص الجين ونَسْخِه ملايين المرات إن أدرنا ـ دون تدخل منا . يكفى أن نعرف ترتيب القواعد فى الطليعتين اللتين يحدان الجينَ هدفَنَا .

بعد أن ينتهى التفاعل المتسلسل سيتبقى فى المزيج بجانب الجينات البقية من القواعد bases الأربعة ونُسَخ من الطليعتين والبوليميريز وأطوال أخرى من الدنا غير مطلوبة . ويحتاج الأمر إذن إلى تنقية . يتم ذلك عن طريق التفريد الكهربائى بالجيل electrophoresis الذى يفصل الجين عن كل الشوائب ، إذ يتخذ موقعاً معينا فى صورة شريط على الجيل ، يمكن أن يُقْطَع ، وقد يكرر التفريد مرة أخرى لضمان النقاء .

الكروموزومات
chromosomes

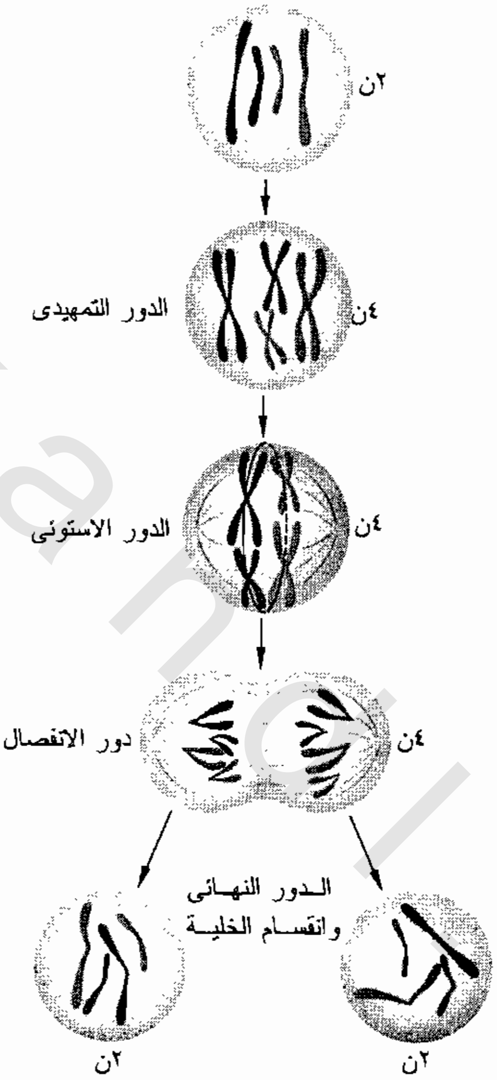
يحصل الفرد من حقيقيات النواة العليا eukaryotes على مادته الوراثية من أبويه ، حيث يشترك كل منهما بالنصف : فيصلهُ من جاميطة

gamete الأب (الحيوان المنوى أو حبة اللقاح) لولب مزدوج ، ويأتيه من جاميطة الأم (البويضة) لولب مزدوج آخر . ولما كان اللولب فى هذه الكائنات طويلاً فإنه يوزع إلى عدد من الكروموزومات فيحصل الفرد على نصف كروموزوماته من الأم والنصف الآخر من الأب .

والكروموزوم جسم عصوىّ الشكل يتكون من بروتين وجزىء دنا ، ويتألف من ذراعين بينهما سنترومير centromere ، ويحده فى كل من طرفيه تيلومير telomere . لايمكن رؤية الكروموزومات بالميكروسكوب إلا فى مراحل معينة من انقسام الخلية . ولكل نوع من حقيقيات النواة فى خلاياه الجسدية عدد معين من أزواج الكروموزومات (واحد من كل زوج آتٍ من الأم والآخر من الأب) : للإنسان مثلاً ٢٣ زوجاً ، وللفأر عشرون زوجاً ، وللدروسوفيلا أربعة أزواج ، وللقمح ٢١ زوجا ، وللأذرة عشرة أزواج . تختلف الكروموزومات بالنوع الواحد فى الحجم ، كما يمكن تمييزها عن بعضها داخل النواة أثناء الانقسام بصبغها بصبغات خاصة ليظهر كل زوج من الكروموزومات بنمط خاص من التشريط banding يختلف عن غيره .

فى أثناء انقسام الخلايا الجسدية يصنع كل كرموزوم بالنواة صورة طبق الأصل منه ، ثم تنقسم الخلية بانقسام يسمى الانقسام الميتوزى mitosis ، إلى اثنتين تحمل كل منهما نسخةً من كل كروموزوم لتكون مطابقة تماماً للخلية الأم . أما الخلايا الجنسية (الحيوانات المنوية أو حبوب اللقاح أو البويضات) فتحمل نصف عدد الكروموزمات ، واحداً من كل زوج (بحيث إذا أخْصَبَت خليةٌ ذكرية خليةً أنثية نتجت خلية جسدية تسمى الزيجوت zygote تحمل الطاقم الوراثى كله ـ لتنقسم حتى تكوّن جسد الفرد الجديد) . يتم اختزال عدد الكروموزومات إلى النصف عن طريق انقسام منصّف يسمى الانقسام الميوزى meiosis . فى أثناء هذا الانقسام يحدث كثيراً بعد أن ينشق كل كروموزوم إلى كروماتيدتين chromatids متطابقتين أن يتم تبادل مقاطع من الدنا بين كروماتيدتين لكروموزومين رفيقين homologues ، فيما يسمى

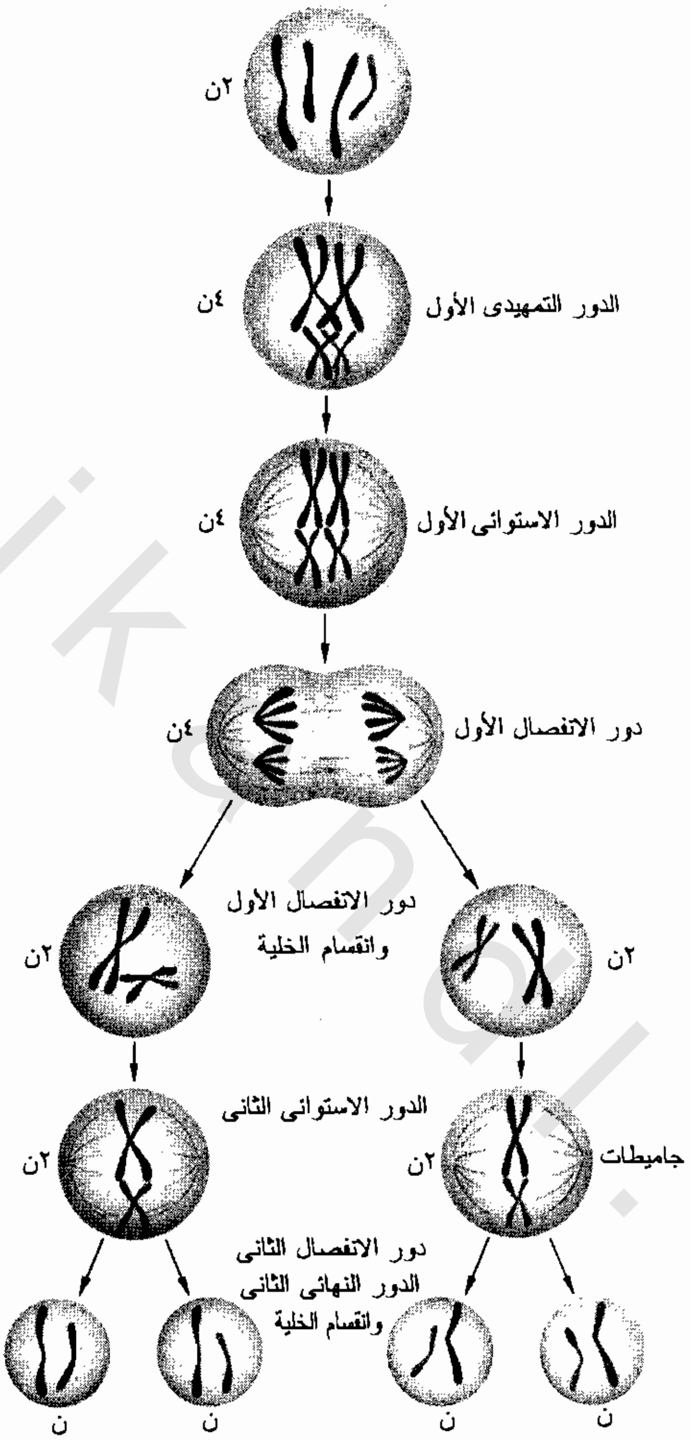
بالعبور crossing over ، بحيث تحمل كل منهما بعد العبور جزءاً نظيراً من المادة الوراثية بالأخرى ، أى تصبح المادة الوراثية فى كل منهما مُؤَشَّبة recombinant بها مزيج من المادة الوراثية لكروموزومى الأبوين سوياً .



الشكل رقم (٨)

رسم توضيحى للانقسام الميتوزى

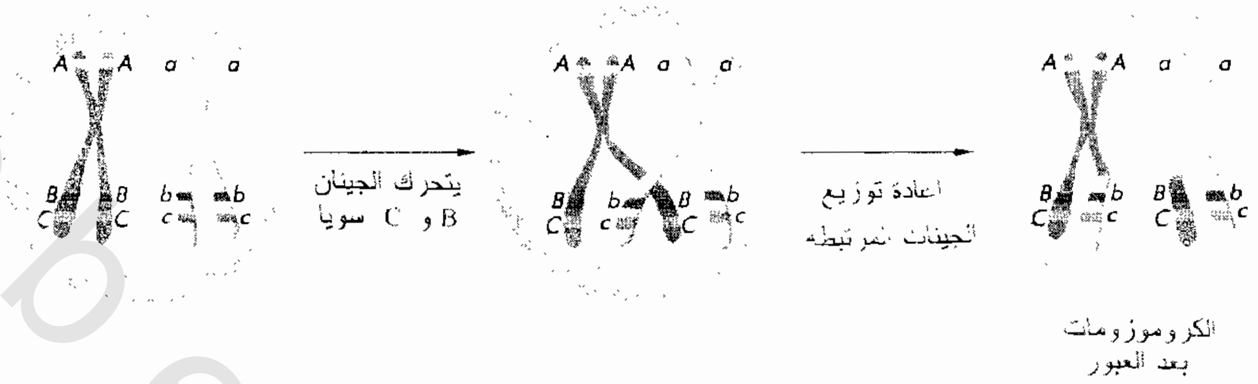
obeikandl.com



الشكل رقم (٩)

رسم توضيحى للانقسام الميوزى

obeikandl.com



الشكل رقم (١٠)

رسم توضيحى لعملية العبور

البكتـــــــــريــــا
bacteria

تتألف البكتريـا كمـا ذكرنـا مـن خليـة واحـدة وتحمـل مادتهـا الوراثيـة (جينومها) فى الستيوبلازم بلا نواة . والمادة الوراثية للبكتريا النمطية تتكون أساساً من دنا ثنائى الجديلة ، عادة ما يتخذ شكل كروموزوم حلقـى ، ويبلـغ طوله النمطى نحو أربعة ملايين زوج من القواعد (٤ مليون زق) . والكثير مـن البكتريـا يحمـل فـى سيتوبلازمه أيضـاً عـدداً مـن جزئيـات دناويـة ثنائيـة الجديلة توجد فى صورة حلقـات صـغيرة تسـمى بلازميـدات plasmids يبلـغ طولها النمطى بضعـة آلاف مـن أزواج القواعـد (طـول البلازميد pBR322 يساوى ٤٣٦٢ زق) . والعادة أن تحمل الخلية البكتيرية الواحدة نوعـاً واحـداً من البلازميدات . وقد لاتكون الجينات بالبلازميدات أساسية حقاً لحياة البكتيرة bacterium ، لذا فإنها قد تترك بكتيرة وتدخل أخرى ومعها ما تحمله من هذه الجينـات . والبعض مـن هـذه البلازميـدات (البلازميـدات الرخـوة relaxed plasmids) يستطيع أن يكاثر نفسـه بكفـاءة داخل الخليـة البكتيريـة عشـرات

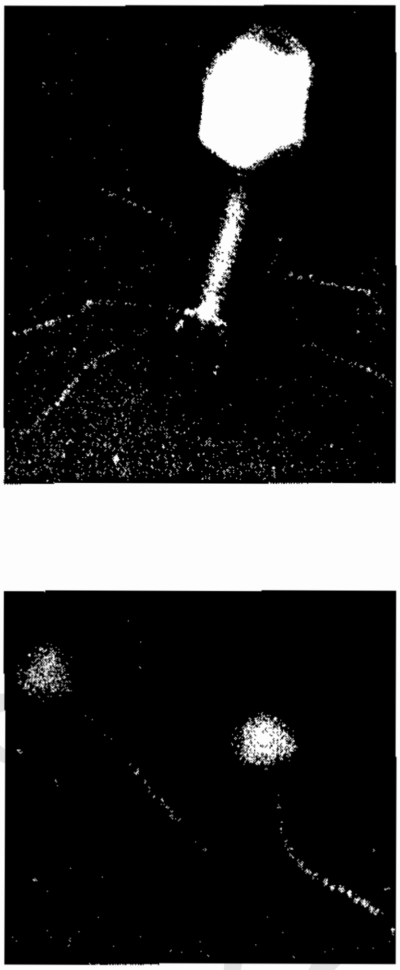
opeikandi.com

المرات ، مستقلاً عن تضاعف الدنا الأساسى للبكتيرة . (وهذه البلازميدات الرخوة هى التى يستخدمها المهندس الوراثى) . بل إن البلازميد يستطيع أن يدمج نفسه داخل الكروموزوم الأساسى للبكتيرة ، ثم يهجره ثانية وهو يحمل جزءاً من دناه ، ولقد يخرج البلازميد عندئذ من البكتيرة ليدخل أخرى محملاً بهذا الجزء .

الفيروسات
viruses

أما الفيروسات التى تتطفل على معظم الكائنات الحية ــ حتى البكتريا ــ فتقع فى منطقة ما بين المادة الحية وبين مجرد تجمع من جزيئات عملاقة : فهى تحيا ، لكنها لا تستطيع أن تكاثر نفسها إلا بمعونة كائن حى . يتكون الفيروس من مادة وراثية يحيط بها غلاف بروتينى protein coat من الجليكوبروتين glycoprotein . تكون المادة الوراثية عادة من الدنا ، الذى يؤلِّف عدداً من الجينات ، فى صورة شريط أو حلقة ، ويبلغ طوله النمطى نحو ٥٠ ألف زق . وقد تمت سَلْسَلَةُ الجينومات الكاملة لبعض الفيروسات (وعرف عدد أزواج القواعد بها) نذكر منها :

الفيروس	عدد أزواج القواعد فى الجينوم
١ – فاج SV 40	٥٢٤٣
٢ – فاج فاى إكس ١٧٤	٥٣٨٦
٣ – فاج ج ٤ G4	٥٥٧٧
٤ – ت ٧ T 7	٣٩٩٣٦
٥ – لنضا	٤٨٥١٣
٦ – إيشتاين بار Epstein - Barr	٧٢٢٨٢



ب

الشكل رقم (١١)

صورة للفيروسات البكتيرية : (أ) فاج ت ٤ مكبراً ٢٠٠٠٠٠ مرة
(ب) الفاج لنضا مكبراً ١٦٨٠٠٠ مرة

يعتمد الفيروس فى تكـاثره علـى الخليـة العـائل host cell ، فيُسَخّر آليات النسخ فيها وآليـات الترجمـة والتضـاعف للإكثـار مـن جيناتـه ، لتخـرج الفيروسات الجديدة من الخلية ـ ربما بعد أن تقتلها ـ وتصيب غيرها .

obeikandl.com

هناك فيروسات تتكون مادتها الوراثية من الرنا (وحيد الجديلة) ، لا الدنا ، منها زمرة تسمى الفيروسات الارتجاعية retroviruses ، تقوم عند دخولها الخلية العائل (وهى لا تصيب إلا الخلايا التى تنقسم) بنسْخٍ عكسى لرناها reverse transcription ، لتشكل نسخة دنا وحيد الجديلة ، بها تصنع جديلة الدنا المكملة لتصبح لولباً مزدوجاً ينغرس فى دنا الخلية العائل ويصبح جزءاً منه ، يتضاعف معه ، فيُنسخ ويُترجَم لتخرج عنه نُسَخ من الرنا الفيروسى والأغلفة البروتينية الفيروسية ، تتشكل منها فيروسات جديدة تخرج من الخلية لتصيب غيرها . (وفيروس الإيدز AIDS من بين الفيروسات الارتجاعية) . [وعلى الذِّكْر ، يشكل مثل هذا الدنا ما يصل إلى ١٪ من دنا الجينوم البشرى] .

إنزيمـــات التحديـد أو البتـــر
restriction enzymes

تقوم خلايا البكتريا ــ للدفاع عن نفسها ضد ما يصيبها من فيروسات (وتسمى مثل هذه الفيروسات باسم لاقمات البكتريا أو الفاجات bacteriophages or phages) بإنتاج إنزيمات تمزق هذه الفيروسات وتحد من انتشارها . يطلق على هذه الانزيمات اسم إنزيمات البتر أو التحديد restriction enzymes or endonucleases . اكتُشفت هذه الانزيمات منذ نحو ٣٥ عاماً ، وعُرف منها الآن أكثر من أربعمائة . يقوم أى من هذه الإنزيمات بقطع شريط الدنا كمقص منمنم إذا ما تعرف على تتابع معين recognition sequence طوله عادة ما بين ٤ و ٨ نوتيدات فَيبتره بين قاعدتين بذاتهما . (تَرقُمُ البكتريا المنتجة للإنزيم ما يحمله دناها من هذا التتابع بإضافة ذرة كربون لبضع قواعد منه ، فتحفظ بذلك جهازها الوراثى) . قد يكون مكان البتر منحرفاً عن وسط التتابع ليترك مكان القطع بالجديلتين بأطراف لزجة sticky ends ، وقد يكون البتر بوسط التتابع تماماً فيترك مكانُ القطع الجديلتين بأطراف جافة blunt ends . من أكثر هذه الانزيمات شيوعاً إنزيم

openarabic.com

ايكور ١ EcoR 1 (عن اسم البكتريا أ . كولاى) وهذا يتعرف على تتابع من ست نوتيدات هى ٥َ ـ ج أ أ ث ث س ـ ٣َ ، ويقطع ما بين القاعدتين ج ، أ :-

٥َ ـ ج . أ أ ث ث س

س ث ث أ أ . ج ـ ٥َ

والجدول بالصفحة التالية يبين بعض إنزيمات التحديد ، والبكتريا المنتجة لها ، والتتابعات التى تعمل عليها وموقع البتر (يرمز له بنقطة) وشكل الأطراف بعد البتر . وسنلاحظ أن كل هذه التتابعات تقرأ نفس الشىء على كلتا الجديلتين فى الاتجاه ٥َ ـ ٣َ .

obeikandl.com

الإنزيم	البكتريا المنتجة	التتابع على الجديلتين وموقع البتر	الأطراف بعد البتر
Alu I	*Arthrobacter luteus*	٥َ ـ أ ج . س ث س ث . ج أ ـ ٥َ	جافـــة
EcoRI	*Escherichia coli*	٥َ ـ ج . أ أ ث ث س س ث ث أ أ . ج ـ ٥َ	لزجـــة
HaeIII	*Haemophilus aegytius*	٥َ ـ ج ج . س س س س . ج ج ـ ٥َ	جافـــة
HhaI	*Haemophilus haemolyticus*	٥َ ـ ج س ج . س س. ج س ج ـ ٥َ	لزجـــة
Hind III	*Haemopilus influenzae*	٥َ أ . أ ج س ث ث ث ث س ج أ . أ	لزجـــة
Hpa I	*Haemophilus parainfluenzae*	٥َ ـ ج ث ث . أ أ س س أ أ . ث ث ج ٥َ	جافـــة
Mbo I	*Moraxella bovis*	٥َ ـ . ج أ ث س س ث أ ج . ـ ٥َ	لزجـــة
Not I	*Nocardia otitidis-cavarium*	٥َ ـ ج س . ج ج س ج س س ج س س ج ج. س ج ـ ٥َ	لزجـــة
Pst I	*Providencia stuartii*	٥َ ـ س ث ج س أ . ج ج . أ س ج ث س ـ ٥َ	لزجـــة
Taq I	*Thermus aquaticus*	٥َ ـ ث . س ج أ أ ج س . ث ـ ٥َ	لزجـــة

obeikandl.com

تعمل إنزيمات التحديد على دنا أى كائن حى طالما وَجَدَت التتابعات التى تتعرف عليها . وعموماً فإن أكثر إنزيمات التحديد فائدة للمهندس الوراثى هى تلك التى يكون تتابع التعرف لها طويلاً ، بحيث يقل احتمال وجوده ، فينتج البتر عدداً محدوداً من الشظايا يمكن فصلها وفحصها : ذلك أنه إذا رتبت القواعد الأربعة للدنا (أ ، ث ، س ، ج) حيثما اتفق ، بفرض وجودها بنسب متساوية ، فإن احتمال حدوث تتابع بذاته من ستة حروف (مثل التتابع الخاص بإنزيم إيكور ١) سيكون مرة واحدة فى كل ٤٠٩٦ مرة (أربعة مرفوعة إلى الأس ٦) ، لأن كل موقع من الستة يمكن أن تشغله واحدة من أربع القواعد ـ أى أنك إذا أخذت عشوائياً تتابعات طول كل منها ٦ قواعد فستقابل هذا التتابع فى المتوسط مرة من كل ٤٠٩٦ مرة ـ فى حين أن هذا الاحتمال يكون مرة فى كل ٢٥٦ مرة إذا كان طول التتابع ٤ قواعد فقط. وعلى هذا فإنا نتوقع إذا عمل " باتر القواعد الأربع " على جينوم ، أن يحيله إلى عدد من الشظايا الدناوية يبلغ ستة عشر ضعف ما ينجم عن عمل " باتر القواعد الست " .

[والاحتمالات التى ذكرت بالفقرة السابقة صحيحة كما قلنا إذا افترضنا أن للقواعد الأربع فى الدنا نفس النسبة (الرُبْع) ، لكن ايرفين شارجاف E . Chargaff الذى اكتشف أن كمية الأدنين فى دنا أى نوع تعادل كمية الثايمين فيه ، وأن كمية الجوانين تعادل كمية السيتوزين ، قد وجد أيضا أن نسبة القاعدتين أ ، ث سوياً إلى القاعدتين ج ، س معاً ، هى نسبة ثابتة فى دنا أى نوع species ، لكنها تختلف بين الأنواع . ولقد ساهمت قاعدة شارجاف هذه فى توصل واطسون وكريك إلى تركيب لولب الدنا المزدوج .]

الهندسة الوراثية
genetic engineering

ولقد وفرت الفاجات وبلازميات البكتريا ــ وهى الكائنات ذات التضاعف الذاتى ـ المادةَ لعمل المهندس الوراثى ـ والهندسة الوراثية هى نقل

مقاطع من دنا كائن حى وإيلاجها فى دنا كائن آخر ، ووفرت إنزيماتُ التحديد له المقص الجزيئى المنمنم ، مثلما وفر له إنزيم آخر ، اسمه الليجيز ligase ، أو إنزيم الوصل ، الأداة لوصل المقاطع المنقولة ، بالدنا الذى ستولج فيه . ويطلق اسم الدنا المُطَعَّم (أو المَطعُوم) recombinant DNA على الدنا إذا ما أولج فيه دنا غريب . فلما كان للمادة الوراثية للكائنات الحية جميعاً نفس البنية الكيماوية ، فمن الممكن بالليجيزات أن نَصِل قِطَع دنا مأخوذة من بكتريا ، فى دنا نبات أو حيوان ، ومن الممكن أن نولج قطعة من دنا بشرى فى الجهاز الوراثى لنبات أو بكتيرة . نستطيع إذن أن نقول إن الهندسة الوراثية هى تقنية لإجراء عمليات جراحية على المستوى الجزيئى ننقل بها المادة الوراثية بين الكائنات الحية .

كيف إذن تجرى العملية الجراحية التى ننقل بها جين أو أى تتابع دناوى من كائن إلى آخر باستعمال إنزيمات التحديد ؟

لنفترض أننا سنستخدم إنزيم إيكور ١ الذى يبتر اللولب المزدوج للدنا ــ كما رأينا ــ مباشرة بعد القاعدة ج فى التتابع ٥َ ــ ج أ أ ث ث س ، وأننا نود أن نولج قطعة من دنا بشرى تحمل جيناً معيناً (أى امتداداً من القواعد ، ويُسَمَّى مُولَجَة insert) يحدها من الجانبين تتابع التعرف هذا ، أن نولجها فى بلازميد بكتيرى به فى حلقته الدناوية أيضا نفس هذا التتابع . قطعة الدنا البشرى ستكون :

الجديلة(١) ٥َ ــــ ج.أ أ ث ث س ـــــ ج.أ أ ث ث س ـــــ ٣َ

الجين البشرى

الجديلة(٢) ٣َ ــــ س ث ث أ أ .ج ـــــ س ث ث أ . ج ــــ ٥َ

سيبتر إنزيم إيكور ١ بعد القاعدة ج (فى الاتجاه من ٥ إلى ٣) ، ليخرج الجين البشرى يحده فى الجديلة الأولى من الناحية ٥َ التتابع أ أ ث ث س ، ومن الناحية ٣َ القاعدة ج ، ويحده فى الجديلة (٢) القاعدة ج من اليمين والتتابع س ث ث أ أ (فى الاتجاه ٣َ ــ ٥َ) من اليسار . وبقايا التتابع على

جانبى الجين فى الجديلتين تشكل أطرافاً لزجة ، لأنها غير مقترنة بالقواعد المكملة ، وتبحث عنها " لتلتصق " بها . سيكون الجين إذن بعد عملية البتر بالانزيم فى الصورة التالية تحيط به الأطراف اللزجة :

الجديلة(١) ٥َ أ أ ث ث س ———— ج ٣َ

الجين البشرى

الجديلة(٢) ٣َ ج ———— س ث ث أ أ ٥َ

سنستخدم نفس الانزيم أيضاً على حلقة الدنا البلازميدية التى تحمل نفس موقع التعرف ، فيقطعها بنفس الشكل وتصبح :

٥َ ——— **ج**   **أ أ ث ث س** ——— ٣َ

٣َ ——— **س ث ث أ أ**   **ج** ——— ٥َ

(نستعمل الحروف السوداء لدنا البلازميد لتمييزه عن الدنا البشرى) . فإذا مزجنا نواتج البتر من الدنا البشرى والدنا البلازميدى وأضفنا إنزيم الليجيز ، قام الإنزيم بلحام الأطراف اللزجة فيهما ، فأولج الجين البشرى بأطرافه اللزجة فى الفراغ بحلقة البلازميد الذى تحده أيضاً أطراف لزجة تتكامل مع ما حول الجين .

٥َ ——— **ج** أ أ ث ث س ——— ج **أ أ ث ث س** ——— ٣َ

الجين البشرى

٣َ ——— **س ث ث أ أ** ج ——— س ث ث أ أ **ج** ——— ٥َ

نلاحظ الآن أن البلازميد قد تضخم بعد أن أولج فيه الجين البشرى ، وأصبح دَنَاهُ مُطَعَماً . كما نلاحظ أن التتابع الذى يعرفه إنزيم إيكور ١ لايزال يحد الجين البشرى فى موقعه الجديد داخل دنا البلازميد . من الممكن الآن أن يُسمح لهذا البلازميد الهجين المُطَعّم بالولوج إلى بكتيرة ، حيث يمكن أن

obeikandl.com

يتضاعف ذاتياً ومع انقسام الخلية البكتيرية لننتج من الجين البشرى ما نشاء من النسخ ، فيما يسمى بالكَلْوَنَة cloning . (من الممكن أن تعطِى البكتيرة الواحدة ربع مليون بكتيرة فى ظرف ١٢ ساعة) .

من الملائم هنا أن نلاحظ أن ما يتبقى من تتابع قطعة الدنا البشرى ، بعد أن بُتر منها الجين بأطرافه اللزجة ، يمكن أن يُعاد التئامه بإنزيم الليجيز :

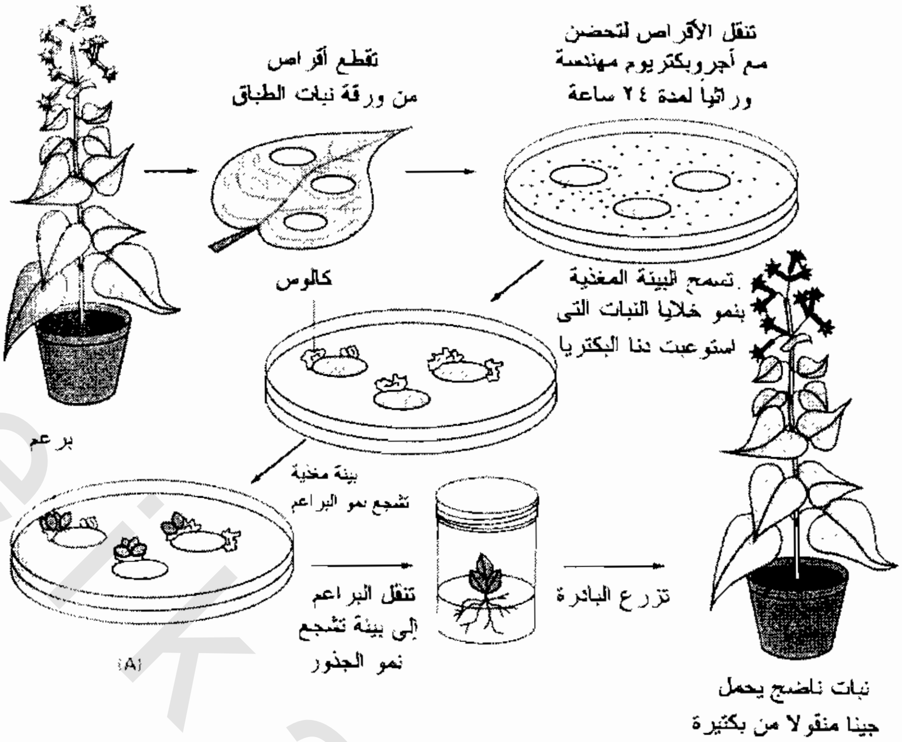
الجديلة(١) ٥َ ـــــ ج أ أ ث ث س ـــــ ٣َ

الجديلة(٢) ٣َ ـــــ س ث ث أ أ ج ـــــ ٥

لتكون النتيجة هى قطعة الدنا البشرى الأصلية وقد نُـزع منها الجين (ومعه تتابع واحد من : ج أ أ ث ث س) .

بالهندسة الوراثية ، أى بتكنولوجيا التطعيم الجينى ، نستطيع إذن أن ننقل جيناً من مادة وراثية لكائن إلى المادة الوراثية لكائن آخر ، كما نستطيع أن نحذف جيناً أو أى امتداد من قواعد الدنا .

هناك نوع من البكتريا يسمى أجروبكتريوم توميفاشنس *Agrobacterium tumefaciens* يسبب مرض التدرن التاجى crown gall لبعض أنواع نباتات ذوات الفلقتين dicotyledons ، وذلك لوجود بلازميد (طوله نحو ٢٠ كيلو قاعدة) تحمله هذه البكتريا يسمى بلازميد تى Ti plasmid (tumor inducing plasmid) ، إذ تنفرد بعض هذه البلازميدات من البكتريا عندما تصيب النبات ، فتدخل خلاياه ، ويندمج بعض من دناها فى أحد كروموزوماته ليسبب النمو السرطانى المَرَضى . من الممكن أن يُستخدم هذا البلازميد فى نقل جين غريب ، أو أى تتابع دناوى غريب ، إلى خلايا النبات ، وذلك بأن نُطَعِّم هذا الجين فى البلازميد بعد حذف مايحمله من الجينات المسببة للمرض النباتى . تؤخذ خلايا النبات بعدئذ ، بعد أن طُعِّمت مادتها الوراثية بالجين الغريب ، لنستزرعها بتقنية زراعة الأنسجة tissue culture ، التى يمكن فى نهاية الأمر أن تعطى نباتات كاملة تحمل الجين الغريب المعنى .



الشكل رقم (١٢)

انتاج نبات عبرجينى باستعمال البكتيريا

الشكل رقم (١٣)

التدرن الذى يسببه الأجروبكتيريوم توميفاشنس

obeikandl.com

بمثل هذه الطريقة يمكن أن " نُجَوِّف " فيروساً ارتجاعياً ، فننزيل منه الجينات المُمْرِضة ، وأن نضيف مكانها مثلاً جيناً بشرياً . فإذا ما تركنا هذه الفيروسات المحورة تلج خلايا بشرية (خلايا الدم مثلاً) ، فإنها كما ذكرنا ستدمج مادتها الوراثية فى الكروموزومات البشرية ، فتقوم هذه بإنتاج البروتين الذى يشفِّر له الجين المنقول .

الفيروسات والبلازميدات يمكن إذن أن تستخدم كناقلات vectors ننقل عليها الجينات من كائن حى إلى آخر فى تكنولوجيا الهندسة الوراثية . وهناك نُظُم أخرى تستخدم أيضاً فى النقل ، منها الكوزميدات cosmids (وهذه هجن ما بين بلازميدات وفاجات لنضا يمكنها أن تحمل قطعاً من الدنا الغريب يصل طولها إلى ٤٠ ألف زق) ، ومنها كروموزومات الخميرة الاصطناعية (الياكات) (YACs) yeast artificial chromosomes (التى قد تحمل بضع مئات الآلاف من الدنا الغريب) ، ومنها بعض المعاملات الكيماوية التى تسهل استيعاب خلايا النبات للدنا ، بعد إزالة جدرها السميكة لتصبح خلايا عارية (بروتوبلاستات protoplasts) (مثل المعاملة بالبولى إثيلين جليكول (polyethylene glycol (PEG) ، ومنها الثَّقْب الكهربائى electroporation (الذى يفتح ثقوباً فى أغشية الخلايا تمر منها الجينات المطلوب نقلها) ، ومنها الحَقْن الدقيق microinjection للجينات فى الخلايا . ثمة " مسدس جسيمات " particle gun يُطلَق منه الدنا المُحَمَّلُ فوق سطح جسيمات معدنية (من الذهب) على أسطح الخلايا ، فيمر إلى السيتوبلازم من خلال جدر الخلايا وأغشيتها .

الخرائط الوراثية
genetic maps

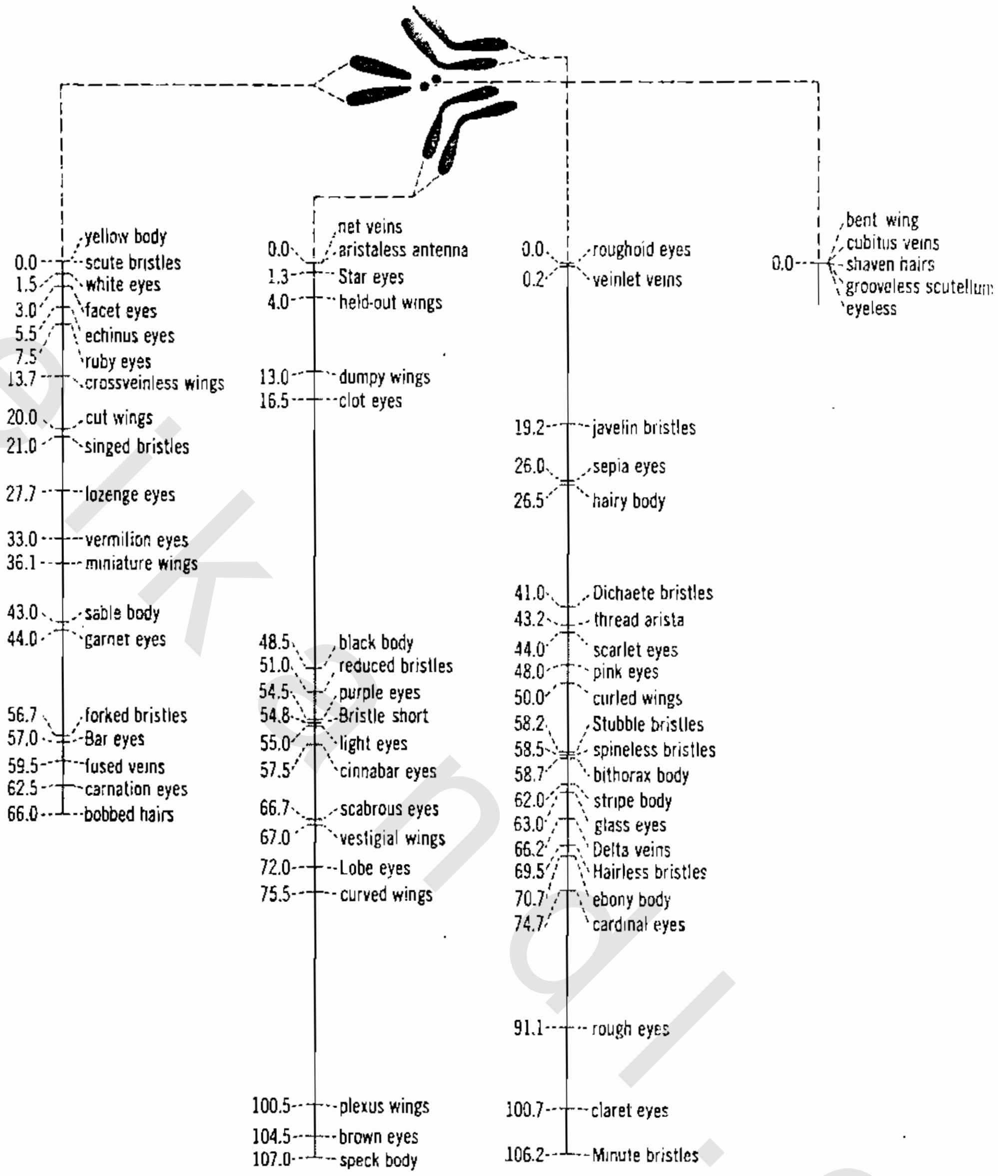
وقع الراهب النمساوى جريجور مندل Gregor Mendel (١٨٢٢ - ١٨٨٤) على فكرة الجين gene (وأطلق عليه اسم العامل factor) بعد

بحوث طويلة ، بدأها عام ١٨٥٤ ، على سبع صفات فى نبات بسلة الزهور (منها لون الحبة : أخضر أم أصفر ، ارتفاع النبات : طويل أم قصير ... إلخ) . قال إن كل صفة فى النبات تتوقف فى وراثتها على عاملين ، أى أَلِيلَيْن alleles ، واحد يأتى من الأب والآخر يأتى من الأم ، وأن عوامل الصفات المختلفة تتوزع مستقلة عن بعضها لا تمتزج (فيما يسمى قانون التوزيع الحر أو المستقل law of independent assortment) . كما لاحظ أن بعض الأليلات (العوامل) سائد dominant ، أى تكفى نسخة واحدة منها فى النبات ـ تأتى عن الأب أو عن الأم ـ لكى تعبر الصفة عن نفسها ، وأن البعض الآخر من الأليلات متنحٍّ recessive ، أى يلزم أن يحمل النبات منها نسختين (واحدة من الأب والأخرى من الأم) كى تعبر الصفة عن نفسها . لكل صفة إذن أليلان : واحد سائد (A مثلاً) وآخر متنح (a) ، ولها فى الأفراد ثلاثة تراكيب وراثية genotypes : واحد أصيل homozygote للأليل A (ويحمل فيه النبات نسختين من هذا الأليل ، أى يكون تركيبه الوراثى AA) ، وواحد أصيل للأليل a (ويحمل نسختين من الأليل a ، وتركيبه إذن aa) ، وثالث خليط heterozygote يحمل نسخة من كل من الأليلين (أى : Aa) . أما مظهر الأفراد phenotype فيكون فئتين : مظهر سائد (ويبين فى الأفراد ذات التركيب الوراثى AA و Aa) ومظهر متنح (وَيبِينُ فقط فى الأفراد ذات التركيب الوراثى aa) .

نشر مندل بحثه الذى يقع فى ٥٥ صفحة فى " أعمال جمعية العلوم الطبية فى برون Brunn " عام ١٨٦٦ (قبل اكتشاف ميشر للدنا بثلاث سنوات) ، لكن البحث ظل مجهولاً حتى عام ١٩٠٠ ، عندما أعاد اكتشافه ثلاثة من علماء النبات الأوربيين كل على حدة (هوجو ده فريز فى هولنده ، إريخ فون تشيرماك فى النمسا ، كارل كورينز فى ألمانيا) ، فدبت الحياة ثانية فى علم الوراثة genetics .

وبدءاً من عام ١٩١٠ ، ولفترة بلغت نحو أحد عشر عاماً ، قام توماس هنط مورجان T.H. Morgan بإجراء تجارب مكثفة على حشرة ذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) Drosophila ، أثبت فيها أن الجينات توجد في ترتيب خطى linear على الكروموزومات الموجودة داخل نواة الخلية ، وأن الجينات التى تقع على نفس الكروموزوم تكون مجاميع ارتباطية linkage groups (فالتوزيع الحر يكون فقط بالنسبة للجينات الواقعة على كروموزومات مختلفة ، أو بالنسبة للجينات المتباعدة جداً على كروموزوم طويل) ، وأنه من الممكن بحساب معدل العبور crossing over بينها معرفة مواقعها بالنسبة لبعضها : كلما ازدادت المسافة بين جينين على نفس الكروموزوم كلما ازدادت نسبة حدوث العبور بينهما . تمكن مورجان ومعاونوه على عام ١٩٢٢ من تحليل ورسم خريطة لكروموزومات الدروسوفيلا الأربعة ، توضح المواقع النسبية لأكثر من ألفى جين موزعة عليها . تحسب المسافات بين الجينات فى خرائط الارتباط هذه linkage maps بوحدات تسمى السنتيمورجان ، والسنتيمورجان يعادل نسبة ١٪ عبور .

فإذا عرفنا أن جينا يقع على كروموزوم معين ، أمكن أن نضم إليه آخر إذا وجدنا أن هذا الأخير لا يتوزع مستقلاً عنه ، لنضم الاثنين معاً فى مجموعة ارتباطية ، ونحدد المسافة بينهما بالسنتيمورجان ، ثم أننا نستطيع أن نضم إليهما جيناً ثالثاً فرابعاً وهكذا . الجينات التى نبدأ بها ونضيف إليها غيرها فى المجموعة الارتباطية تسمى واسمات markers . ولقد كان لون العين البيضاء فى الدروسوفيلا (ولون عينها الطبيعى أحمر) هو أول جين لكائن حى ينسب إلى كروموزوم بذاته . كان الكروموزوم هو كروموزوم الجنس (كروموزوم س ، x) . فالذكر فى الدروسوفيلا (وفى الحيوانات العليا غير الطيور والفراشات) يحمل كروموزوم س واحداً وكروموزوم ص (وهذا الأخير فارغ وراثياً تقريباً) بينما تحمل الأنثى كروموزومى س .



الشكل رقم (١٤)

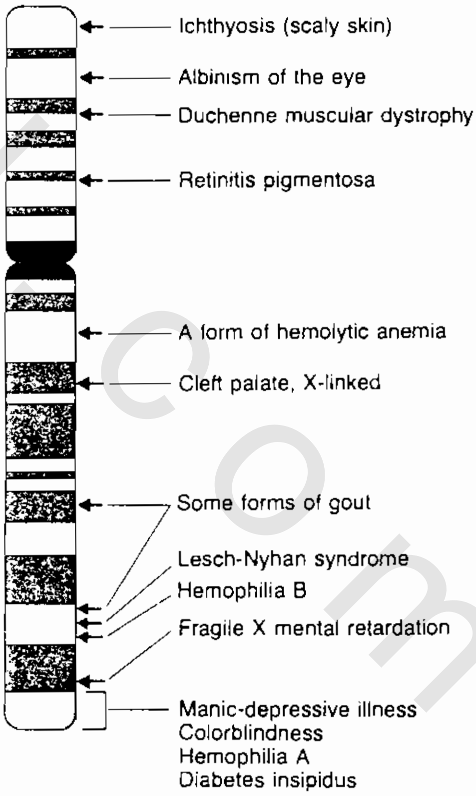
خريطة ارتباط وراثية للكروموزومات الأربعة لحشرة الدروسوفيلا ميلانوجاستر ، توضح المواقع النسبية لبعض الجينات الهامة . الأرقام تشير إلى المسافات من الطرف العلوى للكروموزوم ، كما حددتها نسب العبور فى تجارب الارتباط .

الأنثى إذن تحمل أليلين عند أى موقع locus على كروموزوم الجنس ، بينما يحمل الذكر أليلاً واحداً لابد أن يأخذ من أمه (فكروموزوم الجنس الثانى به هو ص الفارغ الذى لابد أن يصله من الأب) . وعلى هذا فإن الذكور من نسل الأمهات الخليط ـ عند أى موقع على كروموزوم س ، ستكون من فئتين مظهريتين : النصف سائد والنصف متنح ـ أيا كان مظهر الأب (الذى لاينقل بالطبع كروموزومه س إلى الذكور من نسله) . يَتَّخذ مثل هذا الجين إذن واسماً ليلحق به غيره على نفس الكروموزوم .

يحمل الإنسان فى كل خلية من خلايا جسمه (عدا كرات الدم الحمراء الناضجة) جينوماً genome يتألف كما ذكرنا من ثلاثة وعشرين زوجاً من الكروموزومات (اثنين وعشرين زوجاً من الأوتوزومات atuosomes ، وزوجاً من كروموزومات الجنس) ولقد كان أول جين بشرى ينسب إلى كروموزوم موجوداً أيضاً على كروموزوم الجنس ـــ جين عمى الألوان color blindness .

كانت خَرْطَنة mapping الجينات إذن تعتمد على التهجين والعَدِّ crossing & counting . كانت خريطة الارتباط لكل كروموزوم عبارة عن خط تُصَفُّ عليه مواقع الجينات وأسماؤها متسلسلة ومتباعدة بعدد السنتيمورجانات الذى قالت به تجارب التهجين . لكن لم يكن ثمة ربط بين هذه الخريطة وبين الجسم الفيزيقى للكروموزوم . ثم حدث أن لاحظ مورجان إن إحدى الصفات المرتبطة بالجنس تسلك فى بعض حشراته سلوك الجينات على الأوتوزومات (الكروموزومات غير كروموزومى الجنس) ، واكتشف بالفحص السيتولوجى بالميكروسكوب أن بعضاً من كروموزوم الجنس س قد انتقل إلى أوتوزوم والتصق به . هذا البعض الفيزيقى من كروموزوم س لابد أن يكون حاملاً لجين الصفة .

والإنسان ليس بالكائن النموذجى لإجراء التجارب الوراثية . فعدد الأفراد فى معظم العائلات عادة مايكون محدوداً ، ثم إنك لا تستطيع معه بالطبع أن تجرى " تهجينات موجَّهة " . أمكن بالطبع أن ترسم خريطة سيتولوجية لكروموزوماته ، وصورة تخطيطية لها تبين تميزها بالشرائط عند الصبغ . لكن كيف لنا أن نعرف أن جيناً ما يقع على كروموزوم بذاته (غير س) ؟ كان من الممكن تَتَبُّعُ بعض ما يحدث من أخطاء كروموزومية عند تكوين الجاميطات gametes (الحيوانات المنوية والبويضات) . كُشف فى صبى أمريكى عن وجود اقتضاب deletion ضاعت فيه قطعة صغيرة من كروموزوم س ، وكان الصبى مصاباً بالعمى الوراثى والحثل العضلى muscular dystrophy وعَجْزٍ فى جهازه المناعى . الجزء الناقص المُقْتضب من كروموزوم س سيُفترض أنه يحمل الجينات الصحيحة الطبيعية التى يتسبب غياب منتجاتها فى ظهور هذه الأعراض (بل لقد أعطى هذا الاقتضاب فعلاً الإشارة الصحيحة للوصول إلى المنطقة التى تحمل جين الحثل العضلى) .



الشكل رقم (١٥)

رسم تخطيطى لمواقع بعض جينات الأمراض على كروموزوم س فى الانسان

يحدث إذا نُمِّيت فى مستنبت بالمعمل خلايا بشـرية مع خلايـا فـأر أن تندمج خلايا النوعين فتظهر خلايا تحمل جينومى الإنسان والفأر سوياً . إذا ما بدأت هذه الخلايا الهجين فى الانقسـام بـدأت بعض الكروموزومـات تختفى . والكروموزومات التى تختفى تكون دائماً من كروموزومات الإنسان لا الفأر ـ كـأن كروموزومـات الفـأر تطـرد كروموزومـات الإنسـان . أمكـن أن تُسـتنبط خطوط lines من هذه الخلايا الهجين تحمل كروموزومات الفأر وكروموزوماً بشـرياً واحـداً ، أو قطعـة منـه ـــ ويمكن بسـهولة التـأكد مـن ذلـك بـالفحص الميكروسكوبى . بذلك أمكن ان تُنسَب جينات بشرية إلـى كرومـوزوم بعينـه ، بل وحتى إلى منـاطق أو شـرائط بعينهـا ، بل وحتـى إلـى منـاطق أو شـرائط معينة من كروموزوم بذاته ـ وذلك بفحـص البروتينـات البشـرية التـى تنتجهـا الخلايا الهجين ، والتى قد عُرف منها الكثير .

الرفليبيـــــــات
RFLPs

نحتـاج إلـى الواسـمات عندمـا نريـد تحديـد مواقـع الجينـات علـى الكروموزومات ـ فإليها ننسب غيرها . ولقد قدمت إنزيمات التحديد حلاً رائعاً ، باعتبار أن الجين عبارة عن تتابع من النوتيدات . على جديلة الدنا كما عرفنا توجد مواقع التعرفrecognition sequences التى عندهـا يبتر الإنزيم المعين الشريط . تشظى الإنزيمات جينيومَ أى كائن حـى إلـى عـدد كبير مـن القطع قد يصل فى الإنسان إلى مليون قطعة . وتتراوح أطوال هذه المُزَق ما بين بضع عشرات الآلاف وبضع آلاف من أزواج القواعد . ولقد عُـرِف عند استخدام إنزيم تحديد معين على مقطعىْ دنا DNA segments من نفس الموقع فى كروموزومين شـقيقين لفرد ، يحمل كل منهمـا أليلا مختلفاً لجين ، أن الشظايا الناتجة عن البتر قد تختلف طـولاً ـــ ذلـك أن أحـد الأليلين قـد يحمل تتابع التعرف ، فيُبتَر ، بينما لا يحمله الأليل الآخر فينجـو من البـتر . تسـمى

الشظايا مختلفة الأطوال الناتجة عن فعل إنزيم التحديد باسم " تباينات طول شظايا التحديد " أو الرفليبات restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) . طبيعى أنْ قد توجد مواقع التعرف أيضاً فى جوار الجينات وليس بالضرورة فى تتابعها المشفِّر ، فقد نجدها فى تتابعات التنظيم وفى الإنترونات وفى سقط الدنا . ولقد عرف حتى الآن مايزيد على ٢٠٠٠ رفليب حُدِّدت مواقعها على طول الكروموزومات البشرية كلها . كما اتضح أن الرفليبات قد تتسبب فى زيادة ما نعرفه من أليلات الجين الواحد ، فثمة اختلافات يمكن كشفها بين الأفراد عند سَلْسَلة sequencing الدنا تُظْهِرها الرفليبات ، لكنها لاتبين فى المظهر (الذى تستخدمه خرائط الارتباط) . ومعنى ذلك أن المظهر الواحد (الذى قد يكون مرضا وراثياً) قد ينجم عن أليلات مختلفة دناوياً ، كلٌ ينشأ عن طفرة mutation فى مكان مختلف من نفس الجين تفسد عمله .

تورث الرفليبات بطريقة مندلية عادية ، فكل رفليب يعادل طفرة ، بل هو طفرة ، ويمكن تتبعها بتحليل الدنا فى الأجيال المتتابعة . بل ومن الممكن أن تستخدم فكرة العبور وخرائط الارتباط فى تحديد مواقع الرفليبات : كلما تباعدت مواقعها على الكروموزوم كلما ازدادت نسبة العبور بينها . بل وقد يُمْزج بين مواقع الجينات فى هذا الشأن ، فنقدر المسافة بين رفليب وجين . ولقد أفادت الرفليبات كثيراً فى تشخيص العديد من الأمراض الوراثية البشرية – بل إن رفليباً قريباً جداً من جين مرض ما قد يصلح كدليل قوى إلى تشخيص مرض وراثى .

ومجموعة الشظايا التى يخلفها أى إنزيم تحديد بعد عمله على جينيوم أى كائن حى ، تعتبر من الخصائص المميزة لهذا الجينوم ، ومن الممكن بسهولة إذا كان حجم الجينوم صغيراً أن تستخدم فى رسم خريطة فيزيقية له ، أما إذا كان حجم الجينوم كبيراً ، فمن الممكن أن يستعان بالكمبيوتر لرسم مثل هذه الخريطة .

وقد يفيد أن نذكر أن السنتيمورجان ، الذى يقاس به البعد بين الجينات على خرائط العبور ، يعادل عدداً يختلف من أزواج القواعد على الخريطة الفيزيقية الدناوية ، لكنه يبلغ فى المتوسط نحو مليون زوج من القواعد .

الفنترات
VNTRs

يحدث كثيراً أن يقع جينوم الكائن الحى على تتابع بلا معنى ــ تتابع مؤلف من عدد يتراوح عادة ما بين زوجين و ٦٠ زوجاً من القواعد ــ فيكرره مرات ومرات متجاورة يختلف عددها كثيراً بين الأفراد ، ويتراوح ما بين ٣ ــ ٦٠ مرة ، فإذا ما هُضِم الدنا بإنزيم تحديد يقطع على جانبى موقع المكررات ، نتجت رفليبات يتباين طولها كثيراً بين الأفراد باختلاف عدد المكررات التى يحملها كلٌّ . يسمى أىٌّ من مثل هذه المواقع ــ ومنها الكثير جداً بالجينيوم البشرى ـ باسم " المكررات الترادفية المتباينة العدد " variable number of tandem repeats (VNTRs) . وهذه الفنترات تُسَهِّل تمييز الأفراد ، لكثرة التباين فى عدد المكررات بينهم ، أما فى الرفليبات العادية فإن قِطَع الدنا الناتجة عن البتر بإنزيم التحديد ستتماثل ما بين الأفراد ، مالم تكن طفرة قد أفسدت موقع التعرف . لذا تخدم هذه الفنترات فى تعريف هوية الأشخاص بتحديد ما يسمى البصمة الوراثية genetic fingerprint (التى لايمكن تزويرها أو إخفاؤها) . تستخدم البصمة الوراثية كثيراً الآن فى ساحات القضاء بأوروبا وأمريكا .

مكتبة الجينوم
genome library

رأينا أننا نستطيع أن نولج قطعة من دنا أى كائن حى فى بلازميد بكتيرى ـ أو فى المادة الوراثية لفيروس أو فاج ، لنكلّون البلازميد المُطَعَّم

داخل البكتيرة الملائمة ، حيث يتكاثر فيها ومعها منتجا ما نشاء من نُسَخ قطعة الدنا المولَجة هذه . فى استطاعتنا إذن أن نكلون جينوما كاملاً لكائن حى ، أو كروموزوماً بعينه من كائن حى ، فى بلازميدات تحمل أجزاءه ، وذلك بأن نعرِّض هذا الجينوم أو الكروموزوم إلى إنزيم تحديد يُشظِّيه ، ثم تمزج الشظايا ببلازميدات عوملت أيضاً بنفس الإنزيم ، لتَسْتَوعب داخلها شظايا الجينوم أو الكروموزوم بالطريقة التى وُصفتْ قبلاً . تكلون بعد ذلك البلازميداتُ كلٌ داخل بكتيرة ، تُنَمَّى فى مستنبت لتكوّن مستعمرة colony ، لتشكل مجموعةُ هذه المستعمرات مكتبةً library تحمل الجينوم أو الكروموزوم فى صورة مولَجات inserts صغيرة مُكَلْوَنة

[يستعمل لهذا الغرض بلازميد معروفٌ تتابعه (يبلغ طوله نحو ٤٠٠٠ زق) يحمل بين ما يحمل جينين لمقاومة نوعين من المضادات الحيوية (التتراسيكلين tetracycline والأمبسلين ampicillin) ، وبه موقع تحديد واحد لأحد إنزيمات البتر يوجد فقط داخل تتابع أحد الجينين ــ بذلك يمكننا عزل البكتيرات التى لم تُصِب بلازميداً (يقتلها كلا المضادين الحيويين) ، وتلك التى أصابت بلازميداً غير مطعم يحمل جينى المقاومة (لايقتلها كلا المضادين) ، أما عينة البكتريا التى استوعبت بلازميداً واحداً يحمل المولَجَة (التى تمزق جين المضاد الحيوى الحامل لموقع تعرُّف إنزيم التحديد) فيقتلها هذا المضاد الحيوى ، ولكنها تحيا فى المستنبت الذى يحمل المضاد الآخر .]

فإذا أردنا أن نصل فى هذه المكتبة إلى مولجة insert معينة تحمل جينا ما نعرف تتابع القواعد فيه ، أخذنا عينة من كل من المستعمرات البكتيرية (عادة على قرص من النيتروسليولوز nitrocellulose يوضع فوق سطح الأجار بطبق بترى الذى يحمل عادة عدداً من المستعمرات ، ليَنْقِلَ القرصُ عيناتٍ من كل منها فى نفس مواقعها بالطبق . تعامل العينات بحيث تُفَك جديلتا اللولب المزدوج بالمولَجات ، ليضاف محلول يحمل جدائل دنا

مفردة مُعلَّمه tagged بذرات مشعة ، ومكملة لإحدى جديلتى الجين . تسمى هذه الجدائل المشعة باسم المسبر أو المجس probe . ومن الممكن بعدئذ تحديد المستعمرة التى تحمل التتابع المكمّل ، وبها الجين بالطبع ، بوجود بقعة مشعة فى مكانها على قرص النيتروسليولوز .

الدنـا المكمـّل (دنا ـ م)
complementary DNA (cDNA)

نعرف أن عدداً محدوداً فقط من الجينات يعمل فى كل نوع من الخلايا بجسم الكائنات متعددة الخلايا من حقيقيات النواة ، كما نعلم أن جينات حقيقيات النواة عادة ما تكون جينات مفروقة split genes ، تحمل ما بين الإكسونات المشفِّرة ، إنترونات من اللغو الدناوى . من المفيد إذن أن نُكلون الرنا المرسال (المُشذّب) فى أنواع الخلايا المختلفة ، فهو أقصر كثيراً من الجينات المفروقة على الكروموزومات ، وهو الدليل إلى الجينات العاملة فى الخلايا . غير أن كلونة الرنا أمر غاية فى الصعوبة .

لكنا نستطيع بإنزيمات النسخ العكسى reverse transcriptases أن ننتج لجديلة الرنا المرسال جديلة من الدنا المكمل (دنا ــ م) ، مستخدمين جدائل الرنا ــ م (المفردة) كقالب ، أى أن نستعيد تركيب تتابع الدنا بالنواة ، الذى نُقِل عنه الرنا ، وذلك بعد إزالة الإنترونات منه . ومن الممكن أن تستخدم جديلة دنا ــ م هذه كقالب يعمل عليه إنزيم بوليميريز الدنا فى تجميع الجديلة المكملة للولب الدنا المزدوج . وهنا يمكن أن يُكلون لولب الدنا ــ م المزدوج هذا مثلما يُكلون غيره من الدنا ، فى البكتريا مثلاً أو الفيروس .

ولتوضيح الأمر دعنا نأخذ كودونا على كروموزوم وليكن :

٥َ ــ س أ ج ــ ٣َ

٣َ ــ ج ث س ــ ٥َ

ولنفترض أن الجديلة العليا هى التى ستُنْسَخ إلى رنا مرسال . ستكون جديلة رنا ـ م الخارجة من النواة هى ٥َ ـ ج ى س (اليوراسيل فى الرنا يكمل الأدنين) . من هذه يُنْسخُ كودون دنا مكمل سيكون ٥َ ـ س أ ج ، يستعمل هذا قالباً لإنتاج الكودون المكمل لكودون الدنا ـ م فى اللولب المزدوج : ج ث س . عدنا فى الواقع إلى كودون الدنا على الكروموزوم الأصلى .

ربما اتضحت أهمية الدنا المكمل هذا إذا تأملنا عملية نود فيها أن ننقل جينا بشريا مثلا إلى بكتيرة بهدف أن يعمل بها وينتج بروتينا بشريا مطلوباً . ما الداعى إلى نقل الجين البشرى بأكمله بما يحمله من إنترونات قد تستغرق معظم طوله ولا تشفر شيء ؟ ثم إن البكتيرة فى الأصل من بدائيات النواة ، وهذه لا تستطيع أصلاً أن تجرى عملية التشذيب فى الرنا النووى لتزيل منه الإنترونات . من الضرورى إذن أن ننقل الدنا المكمل وحده إذا كان للجين أن يعمل بالبكتيرة .

والواقع أننا نستطيع أن نكون مكتبة من الدنا ـ م (عن الرنا ـ م) نحفظ فيها الجينات العاملة فى مختلف أنواع الخلايا من حقيقيات النواة ـ فمعظم الدنا فى هذه الكائنات هو فى الحقيقة ـ كما ذكرنا ـ من سَقَط الدنا ولايشفر شيء ، على أننا لابد أن نتذكر أن لكل جين عوامل تنظيمية (تمتد عادة نحو ٥٠٠ ـ ٥٠٠٠ زق من حدوده) ، وطبيعى ألاَّ يُعَبَّر عن هذه العوامل فى الرنا المرسال ، ويلزم ان تُلْحَق بالجين المركَّب من الدنا المتممِ العواملُ التنظيمية اللازمة كى يعمل .

obeikandi.com