

## الفصل الأول

### علم الوراثة من منظور تاريخي

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

إلا أنه قبل ان يتم الانقسام فلا بد أن يكون بمقدور الخلية الأم تكوين نسخة من جيناتها حتى تعطى مجموعة كاملة من هذه الجينات إلى كل خلية بنوية. إذ أن الجينات في الحيوان المنوى أو البويضة تنقل الصفات الوراثية من جيل إلى الجيل التالي. وعند إعلان قوانين مندل للوراثة ثم تصحيح الفكرة السائدة عن العوامل الوراثية من نظرية الدمج Blending Theory إلى نظرية العوامل المستقلة المتميزة Particulate Theory والتي تظل فيه الجينات محتفظة بكيونتها واستقلالها من جيل إلى جيل. وقد أدى ذلك إلى الاعتقاد بأن هذه العوامل الوراثية المسئولة عن الصفات البيولوجية المختلفة لا بد أن تكون مركبة من نظم من الذرات التي لا بد أن تخضع لقوانين الكيمياء والفيزياء أو بمعنى آخر لا بد أن هذه الجينات تتكون من جزيئات معينة موجودة في الخلية الحية.

في البداية لم يمكن تحديد او حتى تخيل طبيعة هذه الجزيئات التي يمكنها أن تُخزن في الخلية ويكون بمقدورها إدارة الأنشطة المختلفة للكائن اثناء نموه

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

عقب إعلان نظرية الكروموسومات للوراثة Chromosome Theory of Inheritance في بداية القرن العشرين أصبح من الواضح أن الكروموسومات هي الحاملة للمعلومات الوراثية ولكن تبين في تلك المرحلة المبكرة أن الكروموسومات مكونة من مركبات عديدة تشمل البروتينات والأحماض النووية وخاصة الحامض النووي الديوكسي ريبوزي 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 في حين أعتبرت الأحماض النووية غير صالحة لهذه المهمة نظراً لافتقارها إلى التباين الكيماوي 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 في 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 الأنشطة الايضية فى الخلية.

٢- القدرة على التضاعف بانتظام وبدقة بحيث يمكن انتقال المعلومات وتوريثها للخلايا البنوية بطريقة مضبوطة.

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

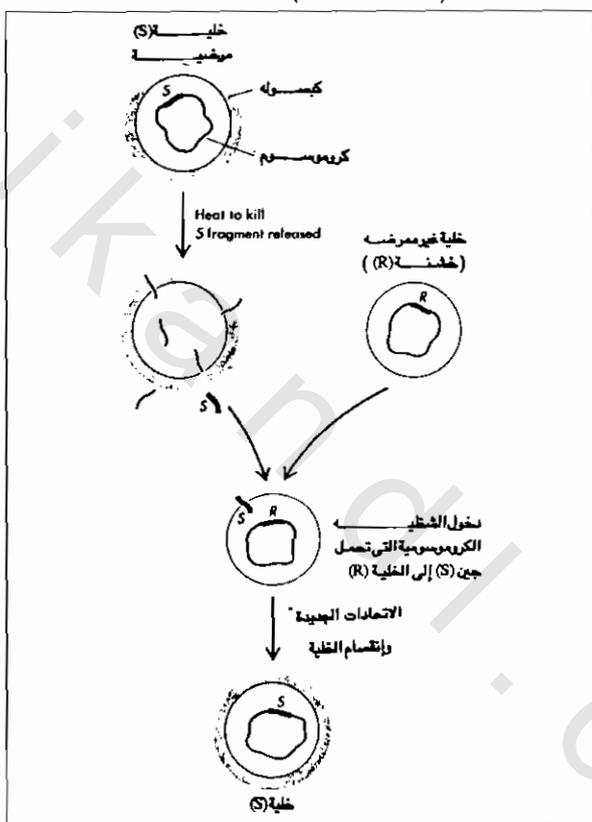
من هنا تحول الانتباه، بعد فيض من البحوث والدراسات إلى دن.أ، على اعتباره هو بالفعل المادة الوراثية في معظم الخلايا الحيه (عدا قليل من الفيروسات يكون ر.ن.أ . هو المادة الوراثية بها).

يمكن تلخيص الأدلة على أن دن.أ هو المادة الوراثية في الآتى:

#### ١- التحول الوراثي Genetic Transformation:

تمكن أفرى Avery ومعاونوه عام ١٩٤٤ من التوصل إلى أن المادة الوراثية تكمن في دن.أ. بالخلية وليس في بروتيناتها وذلك بعد قيامهم بتجربة رائدة للتحويل الوراثي بين سلالتين من البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى فى الإنسان من نوع Pneumococcus، حيث كانت السلالة الأولى وتسمى S-type لها القدرة على تكوين حافظة أو كبسولة من عديدات التسكر Polysaccharides حولها مما يقىها 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 الأخرى المستخدمة فهى السلالة R-type وهى طافرة تفتقر إلى الأنزيم المسئول عن بناء سكريات الكبسولة مما يجعل مظهر المستعمرة على البيئة الصلبة خشناً Rough وهذه السلالة تكون غير مرضية لعدم قدرتها على مقاومة الجهاز المناعى بالجسم نظراً لعدم وجود الكبسولة الواقية حولها.

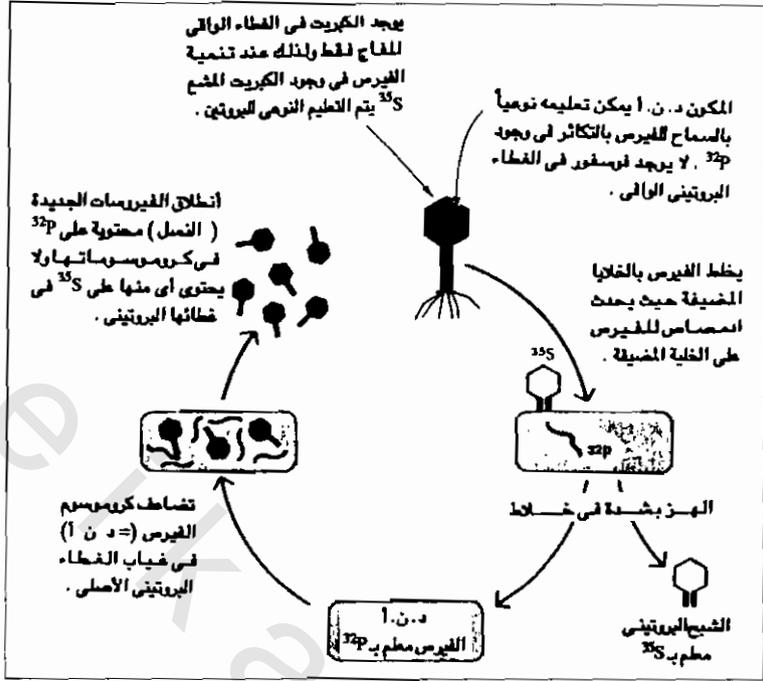
عندما أضاف Avery مستخلصاً نقياً من د.ن.أ. للسلالة S بعد التخلص من البروتينات و ر.ن.أ. إنزيمياً، إلى مزرعة من السلالة R أمكن الحصول على بعض الخلايا من نوع S ومن جهة أخرى، فقدت السلالة S القدرة على تحويل السلالة R تماماً عندما تم تكسير د.ن.أ. بالمعاملة بإنزيم DNase أى أن جزئ د.ن.أ. هو المسئول عن عملية 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- الاستئقال الوراثى (النقل الفاجى) Genetic Transduction:

حيث قام هيرشى Hershey وتشيز Chase عام ١٩٥٢ بعدوى بكتريا القولون *E. coli* بالفاج T<sub>2</sub> بعد تعليم بروتينات الغطاء المحيط بالفاج بالكبريت المشع <sup>35</sup>S فى حين تم تعليم جزئى د.ن.أ. الداخلى بالفوسفور المشع <sup>32</sup>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 والتي وجدت معلقة بالجدار الخارجى للخلية البكتيرية (الشكل ٢-١) وقد وجد أن جميع النسل الناتج من الفاج بعد تكاثره داخل الخلية البكتيرية والذي خرج بعد تحلل الخلية البكتيرية Lysis وانفجارها يحتوى على <sup>32</sup>P فوسفور مشع مصدره بالطبع د.ن.أ الفاج الأسمى ولا يحتوى أى نسل من الفاج على أى أثر من <sup>35</sup>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 (٢-١): إثبات أن د.ن. 1 للفاغ  $\text{T}_2$  هو الذي يحمل المعلومات الوراثية وأن الغطاء البروتيني يستخدم فقط كغطاء واقى ولا يحمل أي معلومات وراثية

### ٣- ثبات كمية د.ن. 1 في الكروموسومات:

بينت الدراسات السيتولوجية والسيطوكيماوية في الكائنات مميزة النواة أن د.ن. 1 يوجد في النواه فقط (فيما عدا د.ن. 1 الميتوكوندريا والكلوروبلاست) فسي حين أن البروتينات توجد في النواة والسيطوبلازم والغشاء البلازمي. بالاضافة إلى ذلك فقد ثبت أن كمية د.ن. 1 في الخلية الثنائية العدد الكروموسومي Diploid Cell يكون ثابتاً دائماً للكائن الواحد ويساوى ضعف الكمية الموجودة في الخلية الجاميطية الاحادية Haploid (الجدول 1-1).

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 أيضاً *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 نمواً طبيعياً.

### الجدول (١-١)

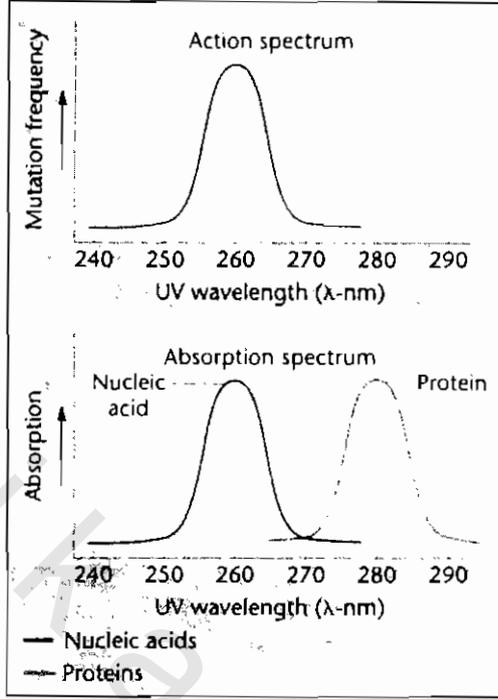
محتوى الخلية الاحادية (n) والثنائية (2n) لبعض الأنواع (Picogram)

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 للأشعة فوق البنفسجية:

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

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



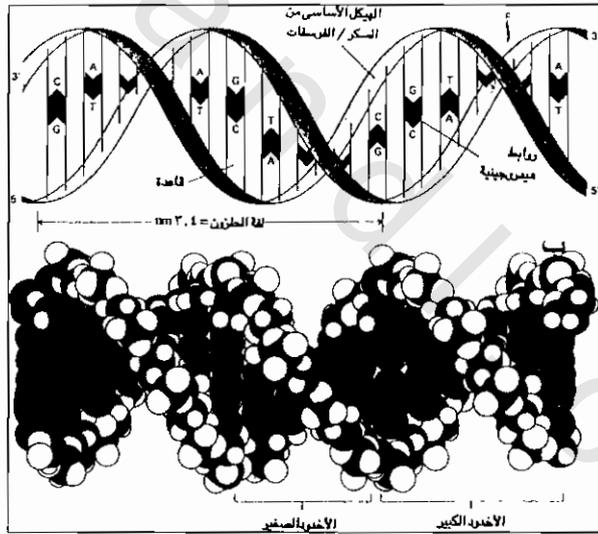
الشكل (٣-١): مقارنة المجال الضوئي الذي يحدد طول موجة UV الأكثر فاعلية لإحداث الطفرات ومجال الامتصاص الذي يبين أطوال الموجات التي يمتص عندها كل من DNA والبروتين الأشعة فوق البنفسجية UV

ومن أمثلة الأدلة المباشرة: ما قدمته تقنية د.ن.أ المعاد صياغته Recombinant DNA التي أدت إلى إنتاج نباتات وحيوانات محولة وراثياً Transgenic Plants and Animals حيث يتم نقل جين معين (مثل جين الأنسولين البشري) إلى بكتريا القولون *E.coli* فقد وجد أن هذه البكتريا قد اكتسبت هذا الجين وتم بالفعل إنتاج الأنسولين البشري في خلايا البكتريا المحولة وراثياً. وقد أمكن أيضاً الحصول على دليل مباشر آخر عندما تم حقن Microinjection جين  $\beta$ -Globin البشري في البويضة المخصبة للفأر حيث وجد

ان هذا الجين موجود بالفعل فى أنسجة الفأر الناضج جنسياً والمحول وراثياً وانتج  $\beta$ -Globin البشرى وامكن متابعة توريثه فى نسل هذا الفأر. ويسدل ذلك وغيره من نتائج التحول الوراثى فى مميزة النواة دلالة قاطعة على أن د.ن.أ هو المادة الوراثية حيث أنه اجتاز شرط القدرة على التعبير Expression وسوف نعرف فى الفصول التالية كيف يتم تخزين وتناسخ وطفور وتعبير د.ن.أ فى 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 لتفسير تركيب جزئ د.ن.أ (الشكل ١-٤).



الشكل (١-٤): نموذج الحلزون المزدوج لجزئ د.ن.أ تتزواج (تلتف) سلسلتان متكاملتان فى تقابعات النيوكليوتيدات ومتضادتان فى الإجهاد على شكل حلزون مزدوج يمينى الدور (الشكل ١-٤-أ يمثل رسماً تخطيطياً للنموذج والشكل ١-٤-ب يمثل نموذجاً فراغياً)

وذلك بعد اجرائهما لدراسات مستفيضة وكذلك تفسيرهما الصحيح للنتائج التي اظهرتها صور انحراف الأشعة السينية X-ray Diffraction التي أجراها ويلكنز Wilkins، وفرانكلين Franklin لجزئ د.ن.أ وكذلك بالاستفادة من النتائج التي اعلنها شاراجاف Charagaff عام ١٩٥٠ عن محتوى د.ن.أ من القواعد النتروجينية فيما يعرف بقاعدة شاراجاف.

وقد قوبل هذا النموذج في البداية بحملة من عدم التصديق إلا أن البحوث والدراسات المستفيضة في هذا المجال أثبتت أن هذا النموذج هو الوحيد حتى 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 في مجال البيولوجيا الجزيئية

Miescher عزل مادة د. ن. أ لأول مرة واسماها نيوكلين Nuclein.	١٨٦٩
أثبت Avery ومعاونوه أن د. ن. أ هو المادة الوراثية بتجارب التحول الوراثي في بكتريا القولون.	١٩٤٤
Charagaff أثبت العلاقة بين كمية القواعد النتروجينية في جزئ د. ن. أ (C= G, A = T).	١٩٤٩
Hershey أثبت أن د. ن. أ هو المادة الوراثية في تجارب الاستئصال الوراثي (انتقال بالفاج).	١٩٥٢
Watson & Crick إعلآن نموذج الحلزون المزدوج لتكوين جزئ د. ن. أ.	١٩٥٣
Kornberg إكتشاف أنزيم بلمره جزئ د. ن. أ DNA Polymerase.	١٩٥٥

جزئ د. ن. أ المدنتر Denatured مما فتح المجال لعملية التهجين بين جزيئات الاحماض النووية،	1961
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.	1962
Nirenberg, Ochoa & Khorana فك الشفرة الوراثية Genetic Code.	1966
Gellert أكتشاف انزيم اللحام DNA ligase الذى يستخدم فى وصل شظايا د. ن. أ ببعضه.	1967
Temin, Mizutani & Baltimore اكتشاف انزيم النسخ العكسى Reverse Transcriptase الذى أدى فيما بعد إلى الحصول على جينات تركيبية Synthetic Genes (cDNA).	1970
تطور تقنيات كلونه د. ن. أ فى معامل Berg, Cohen, Boyer.	1973-1972
Maxam & Gilbert, Sanger & Coulson استنباط طرق سريعة لدراسة تتابع القواعد فى جزئ د. ن. أ.	1977-1975
أنج Spardiling دروسفلا محولة وراثيا كما انتج Palmmiter فئران محولة وراثيا.	1982-1981
إنشاء Gene Bank فى المعهد القومى للصحة NIH بالولايات المتحدة الأمريكية.	1982
Cech & Altman أثبتا أن ر. ن. أ يمتلك خواص انزيمية.	1983
اخترع mallis ومعاونوه جهاز PCR	1985
استنبط Capecchi طرق لنقل واستبدال جينات مستهدفة فى الخلايا الجينية الجذعية للفأر.	1987
اختيار Watson كمنسق عام لمشروع الجينوم البشرى.	1988
اللجنة الاستشارية للمعهد القومى للصحة NIH لبحوث د. ن. أ المعاد صياغته توافق لأول مرة على تجربة نقل جين بشرى.	1989

استطاع Collins , Tsui ومعاونوهما أن يكلونوا (Clone) "جين التليف الحويصلي" وهو الجين الذي يؤدي إليه الطافر إلى موت طفل من كل ٢٠٠٠ طفل في 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).	١٩٨٩
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.	١٩٩٠
قدم Hood and Hunkapillar تقنية جديدة أوتوماتيكية لتحليل تتابعات د. ن. أ.	١٩٩١
نجح Venter وزملاؤه في تحليل تتابعات أول جينوم بالكامل وهو جينوم <i>Haemophilus influenzae</i> .	١٩٩٥
أعلن Goffeau ومجموعة من العلماء على المستوى الدولي اتمام تحليل تتابعات أول كائن في مميزة النواة وهو خميرة الخباز <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> .	١٩٩٦
اكتشف Lockhart وزملاؤه وكذلك Brown and DeRisi تقنية Microarrays.	١٩٩٧-١٩٩٦
نجح Sulston and Waterston في تحليل التتابعات الكاملة لكائن متعدد الخلايا وهو الديدان.	١٩٩٨
أعلن فريق العلماء والباحثين استكمال تحليل تتابعات الجينوم البشري.	٢٠٠١