المحاضرة الثانية عشر

أنواع الطفرات البكتيرية:

1-بكتريا طافرة تظهر مقاومة عالية للعوامل الكيمياوية الكابحة للنمو والقاتلة مثل المضادات الحيوية. Antibiotic or drug resistant mutant

2-بكتريا طافرة قد تغيرت قابليتها التخمرية حيث ان قدرتها على إعطاء او انتاج المنتوج النهائي قد تزيد او تنقص كما في انتاج البنسلين على مستوى تجاري حيث زادت كمية الإنتاج بشكل هائل من خلال انتخاب سلالات طافرة من الجنس. Penicillium

3-بكتريا طافرة فيها نقص او عوز غذائي Auxotroph أي انها تحتاج الى وسط غذائي اكثر تعقيدا مقارنة بالخلايا التي اشتقت منها هذه الطفرات.

4-بكتريا طافرة يكون تكوينها الكيمياوي مختلف(. Antigenic Mutants)

1-بكتريا طافرة تمتلك مقاومة عالية للفعل القاتل للبكتريوفاجات.

7-بكتريا طافرة تظهر بعض التغيرات في اشكالها الظاهرية او المورفولوجية مثل فقدانها القابلية على تكوين السبورات او المحفظة او الاسواط او انتاج صبغات معينة.

طرق انتقال المواد النووية او الجين: Mechanisms for Gene Transfer

توجد ثلاث طرق أساسية يتم من خلالها انتقال المادة النووية من خلية بكتيرية الى أخرى (من المعطى donor الى المستقبل recepient) وهي-:

١- اخذ الحامض النووي. uptake of Pieces of DNA (transformation)

٢. -النقل بواسطة الفاج. infection by a virus (transduction)
٣-الاقتران البكتيري. mating between cells in direct contact (conjugation)

-ليس من الضروري ان تشترك جميع أنواع البكتريا بالطرق المذكورة في انتقال المادة النووية ولكن بعضها تمتلك اثنين او ثلاث طرق او طريقة واحدة فقط.

-يتم انتقال الجين (الموروثة) بصورة واضحة بين افراد نفس النوع وتحدث أحيانا بين الأنواع المختلفة.

١- الاقتران البكتيري: Bacterial Conjugation

لقد استعملت سلالات متعددة من بكتريا القولون في الدراسات الوراثية ومنها تم إيضاح الظواهر التالية-:

١- .ان انتقال المادة الوراثية من خلية الى أخرى يتطلب اتصالا مباشرا بين الخليتين المتزاوجتين وتدعى العملية عموما الاقتران(Conjugation) ومن الممكن رؤية الخليتين البكتيريتين المقترنتين باستخدام المجهر الضوئي.

٢ -.تواجد مجموعة كبيرة من عناصر وراثية كروموسوميه إضافية Extra chromosomal) genetic element)تدعى البلازميدات (Plasmids) حيث اكتشفت هذه البلازميدات في سلالات كثيرة من بكتريا القولون وعلى الرغم من كون هذه القطع من الحامض النووي ليس لها أهمية لحياة البكتيريا الا انها تمنحها بعض الفوائد المنتخبة فمثلا البكتريا التي تحمل Colfactors تفرز مادة الكوليسين (Colicin) وهي مادة بروتينية من شانها قتل الأنواع البكتيرية الأخرى و البلازميدات التي تحمل R factor التي تكسب الخلية مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية وقد يبقى قسم من هذه البلازميدات داخل الخلية ولا يستطيع الانتقال منها الى خلية أخرى Nontransferableوالقسم الاخر ينقل من خلية الى أخرى عن طريق الاهلاب المختصة او الاهلاب الجنسية. Sex pilli

يتصل البلازميد في مكان ما على السطح الداخلي للغشاء السايتوبلازمي للخلية المستلمة . وعند اتصال الهلب بخلية أخرى يتحفز البلازمد ويبدا باستنساخ نفسه حيث تنتقل النسخة عبر الهلب الى الخلية الأخرى وفي الواقع فان مادة ال DNA تنتقل بشريط واحد عبر الهلب اما الشريط الاخر فيصنع من قبل الخلية المستلمة او المستقبلة , ان عملية الانتقال هذه تتم باتجاه واحد من الخلية المرسلة Donor الى الخلية المتسلمة Recipient ولا يتم العكس في الحالة الواحدة.

٣ -.تدعى بعض هذه البلازميدات بعوامل الاخصاب Fertility factors (F.) وهي رتبة ثانوية من البلازميدات الايبسومات Episomes وقد تكون الايبسومات على شكل قطع من الحامض النووي ال DNA متصلة بالغشاء السايتوبلازمي وقد يلتحم الايبسوم بالحامض النووي للخلية المضيفة وهو بهذا يدخل في الهيكل الوراثي للخلية المضيفة.

٤ -.توجد ثلاثة انواع من الخلايا تصنف على اساس عوامل الإخصاب -F (F-factors :) وهي الخلايا التي لا تمتلك عوامل الإخصاب وهي تقابل الخلايا الإناث وتعمل بوصفها خلايا مستقبلة أثناء عملية التزاوج.

+Fهي الخلايا التي تمتلك عوامل الاخصاب وتدعى الخلايا الذكور وتعمل مانحة اثناء عملية التزاوج ولكنها لا تعطي عاملها الاخصابي الا الى F- وبهذا يتحول ال F_ الى__+F

واذا ما التحم عامل الاخصاب مع الحامض النووي الخلوي فالخلية تسمى حينئذ بخلية التردد العالي. High frequency recombination (HFR)

٥ -.تبدا الخلايا ذات التردد العالي (HFR) اثناء عملية الاقتران بزرق نسخة من هيكلها الوراثي Genomeمبتدئة بنهاية طرف واحد من هذا الهيكل وهذا يعني ان الجينات ال Hfr يزرق الى الخلايا -F حسب تسلسلها الطبيعي التي كانت عليه في الهيكل الوراثي لل. Hfr

٦.- ان عامل الاخصاب F في السلالات Hfr المختلفة يتصل او يلتحم باماكن مختلفة من الهيكل الوراثي للخلية.

ومن خلال الدراسات لتسلسل الجينات لبكتريا القولون وبكتريا اخرى استطاع الباحثون ان يلاحظوا بان تسلسل الجينات هو تسلسل دائري وهذا يعني ان الهيكل الوراثي البكتيري هو هيكل دائري وقبل ان يزرق الهيكل الوراثي تنفلق الدائرة في نقطة اتصال عامل الاخصاب بها حيث تحصل بهذا الانفلاق على هيكل وراثي طولي (يحدث الانفلاق ضمن عامل الاخصاب.)

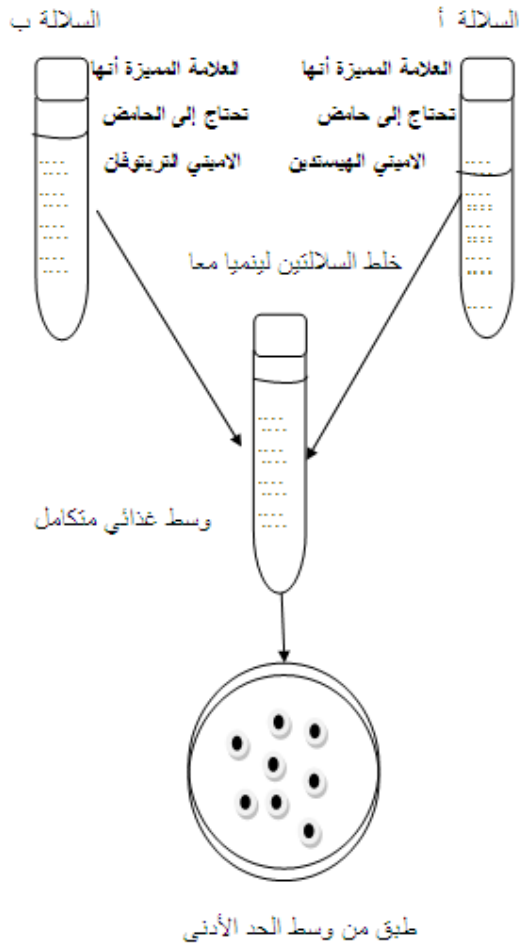
<u>تجربة الاقتران:</u>

-تمت من قبل العالمان ليدربيرج وتاتوم) . Lederberge & Tatum (في عام5147

-بجمع سلالتين لبكتريا القولون ذات عوز غذائي يختلف بعضه عن البعض الاخر وبذلك اتاحا فرصة التزاوج بين هاتين السلالتين وعند زرع المزرعة المختلطة على وسط الحد الادنى حيث لا تنمو الا السلالة البريه.

ظهرت مستعمرات نامية على هذا الوسط تاكد حدوث عملية التزاوج بين السلالتين المعوزتين غذائيا (. وذلك بدمج عزلتين احدهما تحتاج الى الحامض الاميني الهستدين والاخرى تربتوفان اي لاتستطيع تصنيعه وبعد المزج والنمو على وسط الحد الادنى ينتج عزلة تستطيع صناعة كلا المادتين.)

-تحدث عملية الاقتران بين الانواع المختلفة الناتجة لنفس الجنس وبين اجناس مختلفة ايضا مثل Salmonella , shigella , Escherichia والخ من البكتريا المعوية.



شكل يوضح الاقتران البكتيري

التحول الوراثي: Genetic Transformation

والمقصود بالتحول الوراثي هو قيام الخلية البكتيرية المستلمة باخذ اجزاء حرة من ال DNA ذات حجم كبير نسبيا والتحام هذا الحامض مع الهيكل الوراثي لهذه الخلية وتقتصر هذه العملية على اجناس بكتيرية معينة مثل *Streptococcus pneumonia* حيث تم اكتشاف الظاهرة اصلا في هذا الجنس وجنس. *Hemophilus ,Bacillus , Nesseria, Pseudomonas*

مميزات التحول-:

١- ان الخلية التي لها القابلية على اخذ جزيئة من ال DNA وتتحول بموجبها تدعى بالخلية المتنافسة Competent

- ٢ -ان الخلية المنافسة لاتميز بين DNA العائد لنفس نوعها التصنيفي او ال DNA العائد لاي نوع اخر.

-٣ -ترتبط مع اي DNA شرط ان يكون ثنائي الشريط.

-٤ -هذا الارتباط ياخذ طابع الثبات بحيث لا يمكن عكسه او فكه.

٥- تزداد حالة التنافس (الخلية المتنافسة) في الطور اللوغاريتمي المتاخر وبعدها تهبط هذه النسبة . خلال هذه المدة القصيرة التي يرتفع فيها التنافس يتغير سطح الخلايا بحيث يستطيع ال DNAالالتحام بها . ومن الممكن احداث هذا التغير في السطوح بواسطة عامل يشبه الانزيم يفرز من قبل الخلايا نفسها . ويظهر هذا العامل نفسه في الوسط الغذائي للمزرعة وقت ظهور التنافس تقريبا فلو اضفنا هذا العامل الى خلايا غير متنافسة لنفس السلالة يحفزها ويغيرها الى خلايا متنافسة.

٦- ان هذه الفعالية تكمن في الاحماض الماخذوة من انواع تتشابه فيما بينها من الناحية الوراثية.

٧- التحام ال DNA المرتبط مع الهيكل الوراثي للخلية integration of incorporated DNA بعد عملية الارتباط يتغير ال (DNA القطع المرتبطة) الى حامض احادي الشريط حيث ينكسر احد الشريطين اما الشريط الاخر فينصهر او يلتحم مع الهيكل الوراثي للخلية المتسلمة.

وبعد استنساخ هذا الحامض النووي الهجين ستحصل على نوعين من الخلايا احدهما نفس صفات الخلية الام والثاني سيمثل الخلية المتحولة. Tranformed cell

-٨ -العلامات الوراثية الممكن تحولها Range of Genetic Markers Transformation مثل مقاومة العقاقير Drug resistance ( ) مثل ال Streptomycin وال Novobiocin ال Erythromycin .... الخ. ومن العلامات الوراثية الاخرى العلامة الغذائية مثل احتياجات الحوامض الامينية Amino acids Requiring واستغلال الكاربوهيدرات Carbohydrate utilization . مثل المانيتول والمالتوزوخصائص المحفظة Capsule Characteristaics (ويقصد بها المواد المتعددة السكاكر polysaccharide الموجودة في المحفظة).

حدوث التحول في الطبيعة. The Occurrence of Transformation in Nature

تم اكتشاف هذه الظاهرة اول مرة اثناء تحليل العوامل التي تتضمنها قابلية ال *Diplococcus pneumonia* على احداث الاصابة Pathogenicity في الفئران.

حيث ترتبط القابلية على الاصابة Pathogenicity لخلايا ال *D.Pneumonia* ارتباطا مباشرا مع وجود المحفظة على سطوحها حيث تقوم المحفظة هذه بحماية الخلايا من البلعمة Phagocytosis التي تقوم بها خلايا الدم البيضاء في الجسم .فالسلالات المحتوية على المحفظة تكون ممرضة جدا Highly virulent بحيث ان بضعة خلايا تستطيع احداث الاصابة .اذا ما حقنت في فار وتؤدي هذه الاصابة الى الموت بعد عدة ايام من الحقن . ونحن نستطيع ان نستحدث طفرات من نفس السلالات الانفة الذكر ولا تمتلك هذه الطافرات محفظة وهي لا تستطيع احداث الاصابة حتى لو لقحنا الفار بجرعات كبيرة

من هذه الطافرات العديمة المحفظة فلو لقحنا الفار بخلايا من السلالة البرية (الملساء) ذات المحفظة (ممرضة) بعد ان نقتلها بواسطة الحرارة والسلالة الخشنة طافرة لاتمتلك محفظة (غير ممرضة) بحيث يشمل اللقاح النوعين معا نلاحظ موت عدد من الفئران ولاتعود هذه الاصابة الى ان الطفرات قد تكون عكسية بحيث انها انعكست واسترجعت محفظتها

(وفي الوقت نفسه السلالة البرية الميتة المقتولة بالحرارة لن تسترجع حياتها) ويعود السبب الى ان قسما من الخلايا الميتة قد تحللت واطلقت ال DNA الحر الذي قام بدوره باحداث عملية التحول في الطافرات التي لا تمتلك محفظة وحولها الى خلايا تمتلك هذا التركيب (المحفظة) فيعود اليها موت عدد من الفئران المحقونة. ويمكن ملاحظة التحول ايضا في سلالات مقاومة للمضادات الحيوية فعند حقن فار بسلالة مقاومة للبنسلين وسلالة مقاومة للستربتومايسين نستطيع عزل سلالات مقاومة لكلا المضادين.

3-النقل بواسطة الفاج: Transduction

وهي عملية انتقال الحامض النووي من خلية الى اخرى بواسطة الفايروس فعندما يصيب الفايروس الخلية البكتيرية تحدث عملية Lysogenization حيث يلتحم ال DNA الفايروسي مع الجهاز الوراثي للخلية المضيفة وتعتبر هذه العملية – عملية تزاوج وراثي Genetic Recombinationوان الخلية المصابة Lysogenized تختلف وراثيا ومظهريا عن الخلية غير المصابة Non-Lysogenized cell فتقوم الخلية بالتعبير عن بعض الجينات الفايروسية وبالذات تلك الجينات التي تمنح الخلية الحصانة او المناعة ضد اية اصابة جديدة من قبل نفس النوع من الفايروس. يحدث هذا النوع من النقل في انواع مختلفة من البكتريا وتشمل ال *E.coli* وانواع من جنس. *Salmonella , Shigella .Proteus.Pseudomonas ,Staphylococcus*

انواع النقل بالفاج تقسم الى:

1-Special transduction. وفيه تلتحم مجموعة محددة من جينات المضيف بصورة مباشرة مع الهيكل الوراثي الفايروسي حيث تحل هذه الجينات محل الجينات الفايروسية (مثل جينات الكلاكتوز لبكتريا القولون بواسطة الفاج . Lambda)

2- Generalized transduction. ان جينات من اي جزء من الهيكل الوراثي للمضيف تندمج مع الفايروس وان هذه الجينات قد تحل محل ال DNA الفايروسي او تكون مضافة له ولكنها لا تلتحم مع مباشرة.

ان الفايروس المحصل عليه بكلا الطريقتين Transuding virus particle يكون عادة ضعيفا Defectiveولا يستطيع ان يحلل المضيف وقد يعود سبب هذا فقدان الفايروس لبعض جيناته.