جامعة الانبار
كلية العلوم
قسم التقنيات الاحيائية

المحاضرة الاولى : وراثة احياء مجهرية (نظري)
المرحلة الثالثة
ا.م.د. مثنى بديع فرحان

مقدمة عن وراثة الاحياء المجهرية :

المقدمة

عند استعراض تاريخ علم الوراثة نجد أن محور الاهتمام قد تركز على البحث عن طبيعة المادة الوراثية من الناحية الكيميائية والفيزيائية وقد تمكن كلا من العالمان Watson and Crick 1953 من وضع تصور يوضح تركيب ال DNA والذي كان سببا في حصولهم على جائزة نوبل ١٩٦٢ ومنذ ذلك التاريخ بدأ العلماء في التركيز على معرفة وظيفة وعمل الجينات. وقد تمت الدراسات في مرحلتها المبكرة على الكائنات غير مميزة النواة (بدائية النواة) Prokaryotes مثل البكتيريا والفيروسات البكتيرية نظرا لبساطة تركيبها وسهولة التعامل مع جهازها الوراثي.

يعرف علم الوراثه الميكروبية (Microbial genetics) بأنه أحد أفرع علم الوراثه والذي يهتم بدراسه ورائه الكائنات الحية الدقيقه المختلفه (البكتيريا – الفطريات - الطحالب الفيروسات).

مميزات استخدام الكائنات الحية الدقيقة في الدراسات الوراثية :

١- معظم الكائنات الحية الدقيقة لها فترة جيل قصيرة فعلى سبيل المثال تنقسم بعض أنواع البكتيريا مرة كل ٣٠ دقيقة فاذا بدأنا بخلية واحدة فان ثلاثين جيلا يمكن أن تنقضي خلال خمس عشر ساعة منتجة نسلا يتكون من حوالي مليون خلية
٢- تتكاثر البكتيريا تكاثرا لاجنسيا وتكون جميع النسل الناتجة من خلية واحدة متطابقة وراثيا اذا ما تم استبعاد الطفرات وتعرف بالمستعمره (colony) وهي أن النسل الناتج متطابق وراثيا كمجموعة خضرية أو مستعمرة واضحه للعين المجردة اذا ما نمت علي بيئة صلبة مثل أطباق الاجار.
٣- معظم الكائنات الحية الدقيقة لها مجموعة كرموسومية واحدة فقط أو مجموعة واحدة من التعليمات الوراثية (Haploid) مثلما تتميز الجامطيات الأحادية للكائنات الثنائية التركيب ولا توجد مظاهر السيادة والتنحي في الكائن الاحادي التركيب الوراثي حيث يوجد اليل واحد لكل جين في الكائن الحي . وبذلك نسبيا تعتبر دراسة الكائنات الحية الدقيقه أبسط فاذا تم استبعاد التفاعل الاليلي يمكن لكل اليل يحتويه الفرد أن يعبرعن شكله المظهري مباشرة
٤- سهولة دراسة حدوث الطفرات حيث يمكن الحصول على عشائر كبيرة جدا من الكائنات الحيه الدقيقة $١٠^{٦}$-$١٠^{٩}$ من الأفراد في حيز طبق بتري واحد أو أنبوبة اختبار. ويمكن بواسطه البيئات الانتخابية selective media عزل خلية واحده طافرة من بين مليون خلية.
٥- تمكن بساطة تركيب بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل الفيروسات الامكانية المثلى لدراسة تركيب ووظيفة الجين على المستوي الجزيئي.

بعض المعوقات التي تعوق أحيانا استخدام الكائنات الحية الدقيقة في الدراسات الوراثية

أ- ندرة حدوث الاتحادات الجديده (Recombinants) بطريقه منتظمة حيث يحدث التكاثر اللاجنسي بالانقسام الثنائي البسيط للنواة بدون تكوين خيوط مغزل او تكثيف الكروموسومات.
ب- التباين المظهري يفتقد نسبيا في الكائنات الحية الدقيقه فبدراسة خواص النمو المظهري لأحد الافراد تعتبر غير مجدية بصفه عامه لان حجمه صغير ولكن في بعض الحالات الشكل المظهري للمستعمرة النامية

على طبق بتري من الاجار قد يبدي تباين مظهري في الحجم أو شكل المستعمره أو تركيب المستعمره - اللون..... الخ .

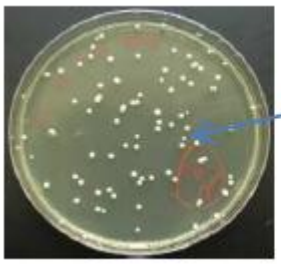
المصطلحات العلمية الهامة في مجال علم الوراثة الميكروبية

Pure Culture : المزرعه التي تحتوي على نوع واحد فقط من الأحياء الدقيقة.

Mixed culture : هي المزرعة المختلطة والتي تحتوي على أكثر من نوع من الأحياء الدقيقة

طريقة الحصول على مزارع نقية مختبريا.

للحصول على مزارع نقية من البكتيريا (أو أي نوع من الأحياء القيقة) لا بد أولا من الحصول على مستعمرات فردية (single colonies) منفصلة عن بعضها البعض وعلى بيئات زرعية صلبة (solid media) يفترض أن تكون المستعمرة الفردية خلية واحدة من البكتيريا نمت وتكاثرت حتى كونت مستعمره من ملايين الخلايا البكتيرية واضحة المعالم ولها صفات الخلية الأم نفسها



ما الفرق بين العزلة والسلالة البكتيرية Isolate and strain

عند كتابة الابحاث العلمية يحدث خطأ وتداخل بين التعريف الصحيح للعزلة البكتيرية والسلالة وفي الواقع هناك فرق كبير بين المصطلحين فببساطة يمكن القول أن السلالة هي عباره عن العزله البكتيريه بعد تشخيصها في حين أن العزلة لم يتم تعريفها بعد. كذلك فانه من الممكن ان يكون هناك العديد من العزلات لنفس السلالة وليس العكس أي لا يكون هناك اكثر من سلاله لنفس العزلة

Reference strain : هي عزلة معرفة من الناحية الوراثية حتى مستوى النوع وهذه السلالة تستخدم عند المقارنة بين العزلات البكتيرية المختلفة.

Genus and species : الـ Genus هو (الجنس) وجمعها genera (الاجناس) وهي مرتبة تصنيفية في علم التصنيف ويشمل عددا من الأنواع (species) من الكائنات الحية والتي تتشابه في صفاتها وأصلها ويكتب الجنس بحرف كبير(capital) والنوع بحرف صغير(small) ويكتب كاملا في أول مره ثم يتم أختصار الجنس بأول حرف فقط بشكل مائل(Italic) مثال لذلك:

Bacillus cereus
Bacillus subtilis

وللاختصار تكتب

B.nsubtilis , B. cereus

CFU: اختصار للكلمات (colony forming unit) وهي وحدة تستخدم لتقدير العدد الحي للخلايا البكتيرية او الفطرية في العينة مثال: 10^6 cfu/ml تعني ان كل واحد مليلتر من هذه المزرعة تحتوي على مليون خلية حية ويستخدم لذلك طريقة العد على اطباق الأجار المناسب.

فوائد البكتيريا:

١- تحليل جثث المخلوقات الميتة لتتغذى عليها وبذلك تحول المركبات المعقدة إلى مركبات بسيطة يستفيد منها النبات لتصنيع مواد غذائية جديدة وبذلك تخلص البيئة من الجثث المتراكمة.
٢- تقوم بتثبيت النيتروجين الجوي(cyanobacteria) في خلايا جذور بعض النباتات (الفول والبرسيم).
٣- تستخدم في صناعة الكثير من المواد الغذائية ومنها على سبيل المثال : صناعة الخل تحويل الحليب إلى لبن زبادي و صناعة بعض أنواع الجبن.
٤- تستخدم في انتاج العديد من المركبات الطبية ومنها: إنتاج فيتامينB - إنتاج هرمون الأنسولين- إنتاج مادة الانترفيرون-إنتاج حامض اللاكتيك إنتاج الأنزيمات الهاضمة للسليلوز والبروتينات.
٥- تستخدم بعض أنواع البكتيريا في المكافحة البيولوجية. أي أنها تستخدم للقضاء على بعض المخلوقات الحية التي تفتك بمقدرات الانسان الحيوية.
٦- بعض أنواع البكتيريا لها القدرة على التهام بقع الزيت والتغذي عليه وبذلك تخلص البيئة من التلوث بآثار النفط وخاصة في البحار والمحيطات.

أضرار البكتيريا:

١ ـ تسبب البكتيريا الطفيلية العديد من الأمراض للانسان كالدفثيريا والالتهاب الرئوي والتيفوئيد والزهري.

٢ ـ تسبب فساد الكثير من الأطعمة

٣ ـ تسهم في تسوس الأسنان حيث تحول بقايا المواد السكرية على سطوح الأسنان إلى حمض اللاكتيك الذي يعمل على تحليل واتلاف الكالسيوم.

نستخلص من ذلك أن الله خلق البكتيريا لتسهم في المحافظة على توازن النظام الحيوي فمنها الضار ومنها النافع.

تصنيف الكائنات الحية Classification of Organisms

اعلى مستوى في مجال التصنيف للكائنات الحية هو فوق المملكة Domain وهنالك ثلاثة رئيسية حسب تصنيف كارل وويس Carl Woese :

١- البكتيريا الحقيقية Eubacteria: وهي خلايا بدائية النواة (بكتيريا تقليدية).

٢- البكتيريا القديمة Archaebacteria : وهي بدائيات النوى تشبه البكتيريا الحقيقية بافتقارها إلى النواة. وهي الى حد ما أقرب وراثيا إلى الحقيقية النواة من البكتيريا الحقيقية.

٣- حقيقية النواة Eukaryotes : وهي الكائنات الراقية يحمل الـ DNA فيها على عدة كروموسومات توجد داخل النواة. وعادة ما تحتوي خلايا الكائنات الحقيقة النواة على عضيات أخرى بالإضافة إلى النواة.

المعلومات الوراثية Genetic information

وهي المعلومات ذات اهمية حيوية للكائنات الحية تنقلها جزيئات الحمض النووي (DNA) و (RNA).

(Total DNA) Bacterial genomes

ويمثل مجموع المعلومات الوراثية التي يمتلكها الكائن الحي. ويعتبر الجينوم البكتيري صغير جدا بالمقارنة بجينوم الكائنات الأخرى كالنبات والانسان يتراوح الوزن الجزيي لجينوم البكتيريا بين Mbp (130 to over 140) وتشير الدراسات ان هناك علاقة بين عدد الجينات وحجم الجينوم البكتيري. وبذلك تكون البكتيريا محتوية على عدد قليل نسبيا من noncoding DNA .

الجينوم البكتيري:

البكتيريا أقل تعقيدًا من الناحية الهيكلية من الحيوانات والنباتات ، وغالبًا ما يشار إليها على أنها " lower organisms". ومع ذلك من المهم أن نتذكر أن البكتيريا تتكيف جيدًا مع الظروف البيئية المختلفة اكثر من الحيوانات والنباتات

البكتيريا (الكائنات أحادية الخلية) وهي أبسط الخلايا الحية وتصنف على أنها بدائيات النوى. تفتقر بدائيات النوى إلى نواة وبالتالي فإن الحمض النووي الخاص بها موجود في السيتوبلازم الخلايا البكتيرية دائما محاط بغشاء يسمى الغشاء السيتوبلازمي Cytoplasmic Membrane وايضا عادة ما تكون محاطة بالجدار الخلوي Cell Wall.

تتكون معظم الجينومات البكتيرية من كروموسوم دائري يحتوي على جزيئة DNA مفردة تحتوي على عدة ملايين من الأزواج القاعدية من القواعد النتروجينية. ويحمل الـ DNA المجموعة الكاملة من الجينات التي توفر لها المعلومات الجينية اللازمة للعمل ككائن حي. وتحتوي بعض البكتيريا على اكثر من كروموسوم واحد مثل

Vibrio.cholera (2) كروموسوم دائري

Paracoccus denitrificans (3) كروموسوم دائري

وبعضها يحتوي على كروموسومات خطية linear chromosomes وليس كروموسوم دائري مثل *Streptomyces spp* و *Borrelia spp*.

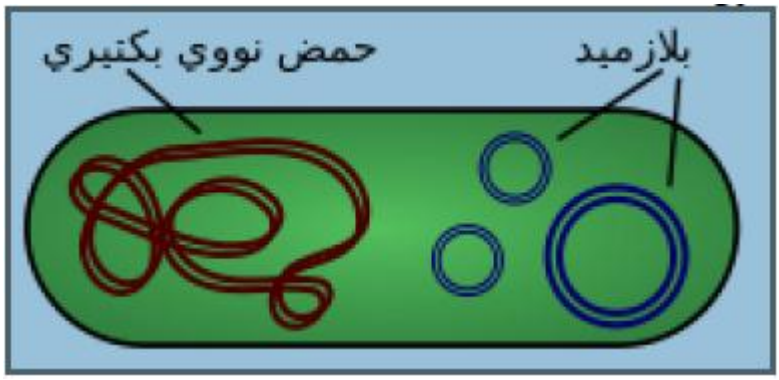
عادةً ما تمتلك البكتيريا (٣٠٠٠-٤٠٠٠) جينًا ، على الرغم من أن البكتيريا الطفيلية قد تحتوي على عدد أقل من الجينات أكثر من ١.٠٠٠ جين ، معظم البكتيريا الحية الحرة المعيشة لديها (٢٠٠٠-٤٠٠٠) جين. بعض البكتيريا لها عدد قليل يصل إلى ٥٠٠ جين. تكون DNA لبكتيريا النوع *Mycoplasma genitalium* من ٥٨٠.٠٠٠ زوج قاعدي (bP) ويحتوي الحمض النووي على ما يقرب من ٥٠٠ جين ومنها ٣٠٠ الجينات ضرورية للنمو والتكاثر. أصغر جينوم بدائية النواة تنتمي إلى النوع *Nanoarchaeum equitans* وهي بكتيريا أثرية بحرية. تحتوي *N equitans* على حوالي ١٥٪ أقل من DNA من *M. genitalium* . البكتيريا الأخرى ذات دورات الحياة المعقدة مثل الجنس *myxococcus* لديها ٩٠٠٠ جين.

الجين Gene :

وحدات للمعلومات الوراثية ، تكون ذات تسلسل محدد من النيوكليوتيدات في جزيء الدنا الذي يشفر لمنتج وظيفي (بروتين أو إنزيم).

البلازميدات (Plasmids) يطلق عليها ايضا Extrachromosomal circular DNA molecules

هي جزيئات DNA حلقية تحمل جينات في البكتيريا، وهي منفصلة عن الكروموسوم البكتيري وتحتوي على جينات إضافية غير أساسية تساعد على تحسين صفات الكائن الدقيق، ولكن رغم ذلك يمكنه العيش بدونها. يستخدم البلازميد كفاءة أساسية في نقل الجينات من وإلى الكائنات وبعضها وقد أدى استخدام البلازميدات إلى نقلة واسعة جدا في علم وتقنيات وأبحاث الهندسة الوراثية والتعامل مع الجينات.



الكوزميد Cosmid

يعتبر كلا من العلماء Collins and Hohn في عام ١٩٧٨ هما أول من وصفا الكوزميد على أنه نوعاً من البلازميد الذي يستخدم غالبا كناقل وراثي في عملية الاستنساخ وهو عبارة عن بلازميد مهجن ويحتوي على تتابع معين من الفاج لامبدا (lambda phage) يسمي cos sequence

cos sites + plasmid = cosmids

ونلاحظ أن الكوزميدات تستخدم لبناء المكتبات الوراثية (build genomic libraries) هذا والكوزميدات لها القدرة على نقل ما بين ٣٧ و ٥٢ زوجاً قاعديا عند استخدامها كناقل، في حين لا تكون البلازميدات العادية قادرة على حمل سوى ١- ١٢ زوجا قاعديا فهي قادرة على التناسخ مثل البلازميدات حيث لها منشأ مناسب للتناسخ ،كما أنها غالبا ما تحتوى على أحد marker genes للانتقاء مثل جين مقاومة المضادات الحيوية، وتم تطوير الكوزميدات للتغلب على المشاكل التي تواجه الباحثين عند استخدام البلازميدات كنواقل في تجارب gene cloning حيث تصبح البلازميدات غير مستقرة بعد دمج كمية معينة من DNA داخلها. وتقدر سلاسل *cos* بـ ٢٠٠زوجا قاعديا طولا والتي تعتبر ضرورية لعملية الحزم .(packaging).

الفوزميدات Fosmids

هي تركيبات مماثلة للكوزميدات ولكنها تعتمد على بلازميدات (F-plasmid) وهو ناقل جينات محدود، لكون المضيف(Host) عادة بكتريا القولون (*E. coli*) لا يمكن إلا أن يحتوي على جزيء واحد من الفوزميدات وزنه حوالي ٤٠ كيلو زوج قاعدي. مع ذلك فقلة عدد النسخ قد يوفر ثبوتية أكبر للفوزميدات بالمقارنة مع الكوزميدات.استخدمت الفوزميدات للمساعدة في تقييم مدى دقة تسلسل الجينوم البشري.

أسباب استخدام البكتريا في الدراسات الوراثية :

١- تكاثرها سريع.
٢- العديد من الخلايا الجديدة ممكن ان نحصل عليها من خلال انقسامها خلال فترة زمنية قصيرة.
٣- الخلية البكتيرية تكون احادية الكروموسوم وبالتالي يمكن ملاحظة تاثير الطفرة الوراثية على التعبير المظهري للخلية.
٤- التكاثر الجنسي بسيط جدا ويحدث وراثيا بين سلالات نقية.
٥- تنميتها في المختبر سهل وتتطلب مساحة قليلة لتنميتها.
٦- الجينوم صغير.
٧- توفر التقنيات الخاصة لعزلها والتلاعب بجيناتها.
٨- لها اهمية طبية.
٩- يمكن هندستها وراثيًا لتصبح منتجة لمواد ذات قيمة تجارية اقتصادية

المصادر :

1- Dale, J. W. & Park, S. F. (2010). Molecular Genetics of Bacteria. 5TH Edition. Wiley – Blackwell.

٢- الزيدي، حامد مجيد. (٢٠٠٠ م) علم الاحياء المجهرية (النظري). الطبعة الثانية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي / جامعة بغداد.