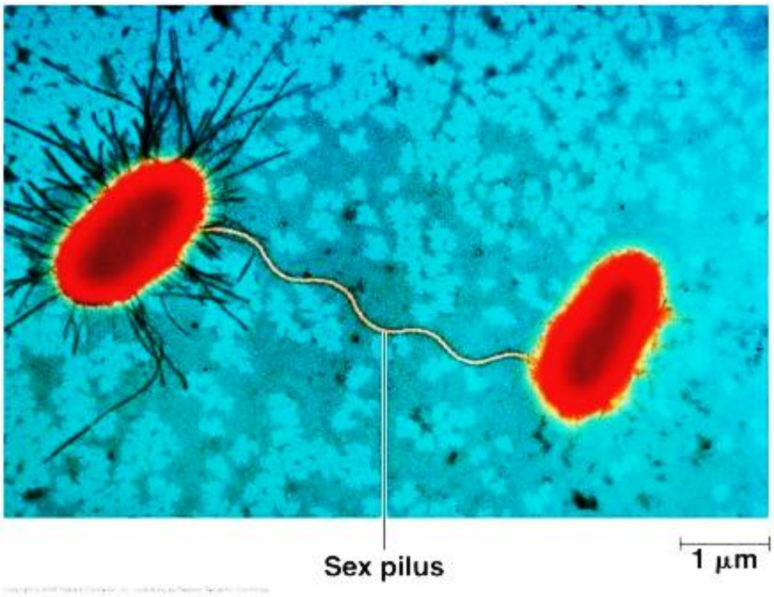
الاقتران البكتيري Bacterial Conjugation :

تعد من اكثر عمليات الانتقال الأفقي للجينات Horizontal Gene transfer شيوعا ويعرف على انه انتقال الجينات او المعلومات الوراثية بين الأنواع او الأجناس البكتيرية من خلال الاتصال المباشر بين الخليتين المقترنتين احدهما تسمى المانحة Donor والتي تحتوي على البلازميد ويرمز لها F^+ (يسمى ب F plasmid) والأخرى تسمى المستلمة ولاتحتوي على بلازميد ويرمز لها F^- من خلال مد مايسمى بشعيرة الاقتران Sex pili اوجسر الاقتران Conjugation Bridgeوبهذه العملية يتم نقل البلازميد كما يمكن في بعض الاحيان نقل جزء من الكروموسوم او الكروموسوم الكلي.

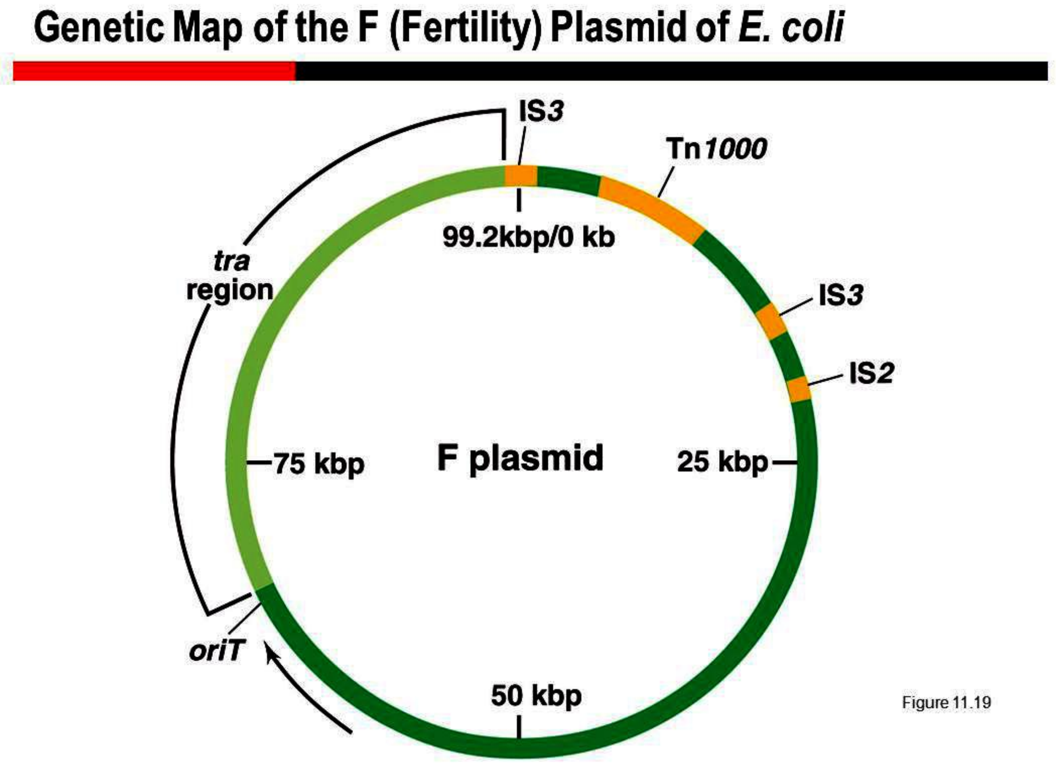


اكتشف هذه العملية في عام 1946 من قبل[Joshua Lederberg] و [Edward Tatum] حيث أوضحوا ان عملية الاقتران تتضمن انتقال بلازميد او ترانسبوزون وتعود على الخلية المستلمة بالنفع مثل مقاومة المضادات الحياتية او العناصر الثقيلة وكذلك تمكينها من استهلاك بعض المغذيات, وببساطة يمكن عمل الاقتران البكتيري بمزج نوعين من البكتريا والسماح لهم بالاقتران وتكوين صفات جديدة لاتوجد في كلا الابوين ويتم اختيار البكتريا الناتجة بزرعها على اوساط لاتنمي كلا الابوين .

توجد عملية الاقتران عموما في البكتريا السالبة لصبغة كرام حيث تنتشر بصورة واسعة بين اجناس العائلة المعوية Enterobacteriaceae, كما يمكن ان تحدث عملية الاقتران بين اجناس محددة من البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل بكتريا *Streptomyces* والتي باختلاف عمليات الاقتران انتجت طيف واسع من المضادات الحيوية .

د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار

- اكتشف بلازميد F اثناء محاولة مزج انواع مختلفة من بكتريا E. coli للحصول على بكتريا لها تستطيع تجاوز العوز الغذائي لعناصر معينة, وحينها اكتشف ان هناك عناصر وراثية تنتقل من خلية لأخرى معطية كلا الخليتين القدرة على تجاوز العوز الغذائي فاعتبرت الخلية المعطية هي الذكر والخلية ذات العوز الغذائي هي الانثى وعند الاقتران تتحول كلا الخليتين الى F+(male) .



Copyright © 2009 Pearson Education Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings

اصبح الاقتران مهما في الدراسات المرضية والوراثية منذ اكتشاف ان عمليات الاقتران غير محددة بجنس معين حيث يمكن للبلازميدات ان تنتقل بين اجناس مختلفة وبذلك يمكن نقل جينات مقاومة المضادات الحيوية من جنس الى اخر في البكتريا المرضية.

تتلخص متطلبات الاقتران البكتيري بما يلي:

1-البكتريا المانحة والتي يجب ان تحتوي على بلازميد الاقتران F plasmid or F factor وكذلك تحتوي على الأهداب الجنسية Sex or F pili ويرمز لها بـ F^+

1-البكتريا المستلمة والتي لا تحتوي على بلازميد الاقتران ولا على الأهداب الجنسية ويرمز لها بـ F^-.

ويتصف بلازميد الاقتران او مايسمى بـ F plasmid or F factor بالمواصفات التالية:

- يكون قادرا على حشر نفسه ضمن كروموسوم البكتريا المانحة بواسطة اعادة الارتباط المتماثل homologous recombination. ويسمى بـ Episome
- ذو حجم جزيئي 100Kb تقريبا.
- قادرا على التضاعف الذاتي ويحتوي على موقع التضاعف OriV وموقع الانتقال OriT
- يحتوي على نظام *tra* and *trb* والذي يمثل مجموعه من الجينات (تقريبا 40 جين) الواجب توفرها لضمان عملية الاقتران وهذه الجينات تشمل:
  - جين الاهداب الجنسية والجينات المنظمة الأخرى *pilin* gene . ومن الجدير بالذكر ان الوظيفة الأساسية للأهداب هو ضمان بدء الاقتران فقط.
  - جين انزيم الاختراق *traD* gene وهو الجين الذي يشفر الإنزيم TraD والذي يكون المسئول عن اختراق الجدار الخلوي للخلية المستلمة وبدء الاندماج الخلوي membrane fusion.
  - جين انزيم الإرخاء *traI* gene حيث حيث يشفر الانزيم TraI والذي يعمل لوحده او مع مجموعة من البروتينات مكونا مايسمى بمعقد الارخاء relaxosome حيث يعمل على تكوين قطع في احد شريطي البلازميد الحلقي عند موقع الانتقال OriT. يتكون معقد الارخاء من عدة بروتينات تشمل TraI, TraY, TraM and the integrated host factor IHF.

ويمكن تلخيص عملية الاقتران بمايلي:

1- بدء الاتصال Contact initiation من خلال مد جسر الاقتران والذي هو عبارة عن اهداب Sex pili حيث يشفر جين الـ *pilin* لبروتينات هذه الأهداب.

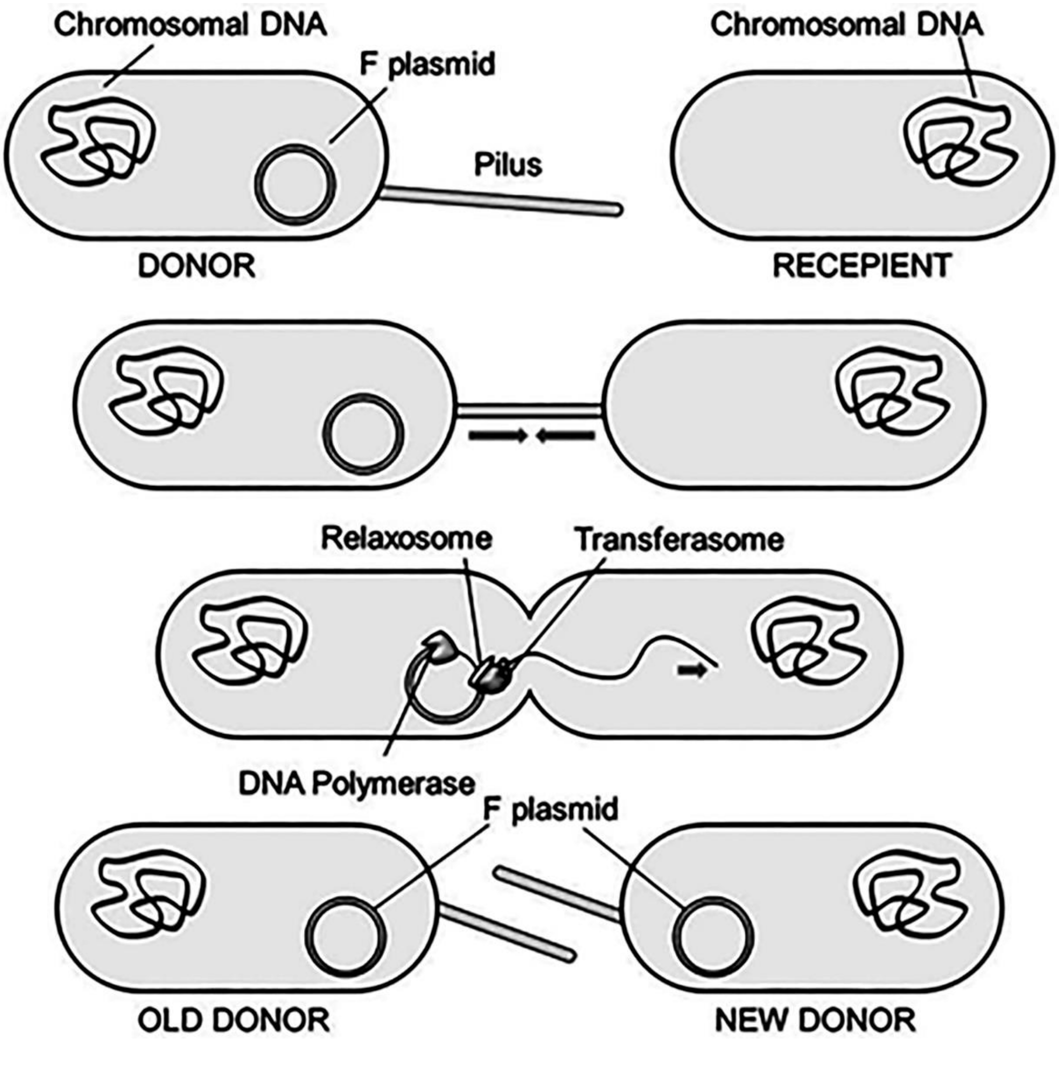
2- اختراق الجدار الخلوي وبد الاندماج الغشائي حيث تحدث هذه العملية بواسطة انزيم الـ TraD .

د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار

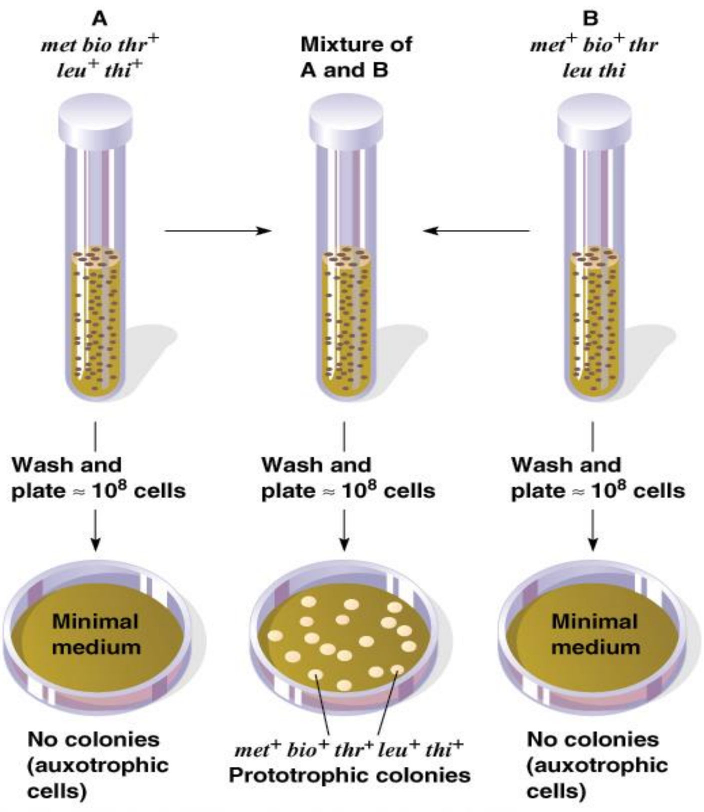
3- تهيئة الـ F plasmid للانتقال الى الخلية المستلمة من خلال عمل قطع في Ori T بواسطة معقد الارخاء relaxosome .

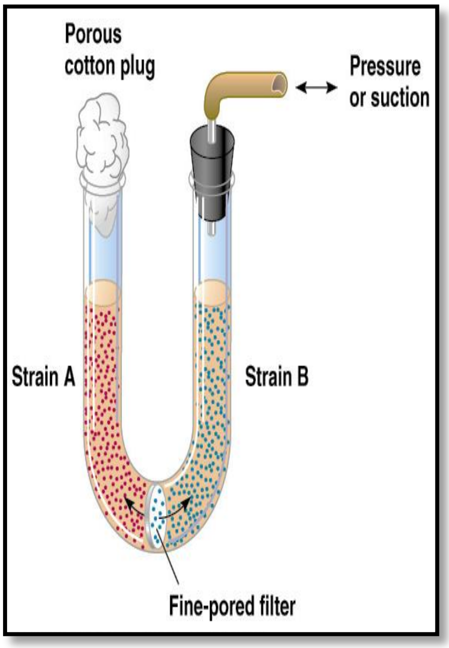
4- بدء انتقال احد شريطي البلازميد والذي يصاحبها عملية تكوين الشريط المتمم للشريط الغير مقطوع (الباقي في البكتريا المانحة) بعملية تسمى بـ Conjugative replication والتي تكون مشابه لعملية الكرة المتدحرجة Rolling circle .

5- انتهاء عملية الانتقال وبدء تكوين الشريط المتمم للشريط المنتقل.



د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار





شكل :انبوبة ديفزلاجراء تجارب الاقتران وتجربة اقتران لصفات مختلفة

بعض البكتريا تحتوي على ***F plasmid*** له القابلية على حشر نفسه مع كروموسوم البكتريا وعندما ينفصل عنها يأخذ معه بعض الجينات الكروموسومية وتسمى هذه البكتريا بـ ***(high frequency of recombination) Hfr*** ومن الممكن ان يحدث اقتران بين *HFR* و *F⁻* وتكون كلا البكتريا الناتجة *Hfr*.

- في بعض الاحيان يندمج العامل F في كروموسوم البكتريا لبعض الوقت ليكون Hfr ثم يعود لينفصل حاملا معه بعض جينات البكتريا الكروموسومية والخلية الناتجة تسمها (F prime F´) وهذه الخلية تكون Diploid لبعض الجينات و Haploid لجينات الاصل .

- وتسمى Hfr فقط اذا كان Fبلازمد مندمج في الكروموسوم واول من وصف هذا النوع من البكتريا التي تحتوي على بلازميد الاقتران مندمجا في الكروموسوم هو Luca Cavalli-Sforza في سبعينات القرن المنصرم وقد عد اكتشافه لهذه الانواع من البكتريا التي تحتوي على البلازميد المندمج في كروموسوماتها ثورة علمية كبيرة لان البلازميد يندمج في اماكن مختلفة من كروموسوم البكتريا وبذلك يصبح لدينا لنفس النوع البكتيري عدد من حالات الاقتران التي سمحت

د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار

بتتبع الجينات ورسم الخرائط الكروموسومية من خلال عملية الاقتران المتقطع Interrupted conjugation

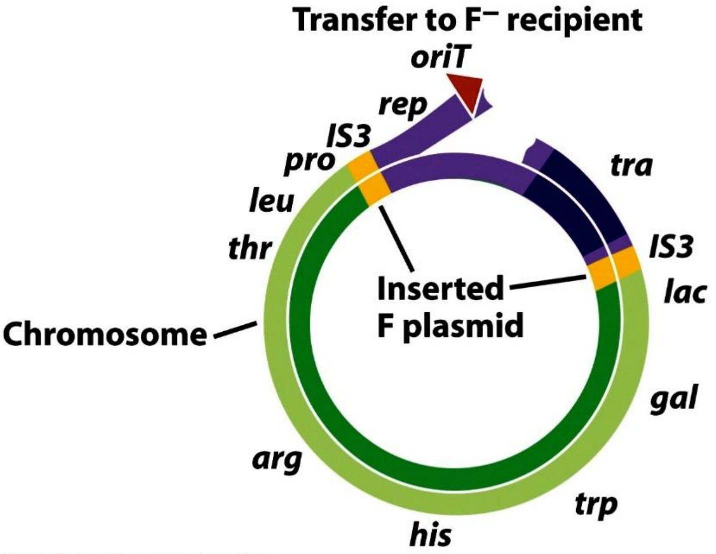
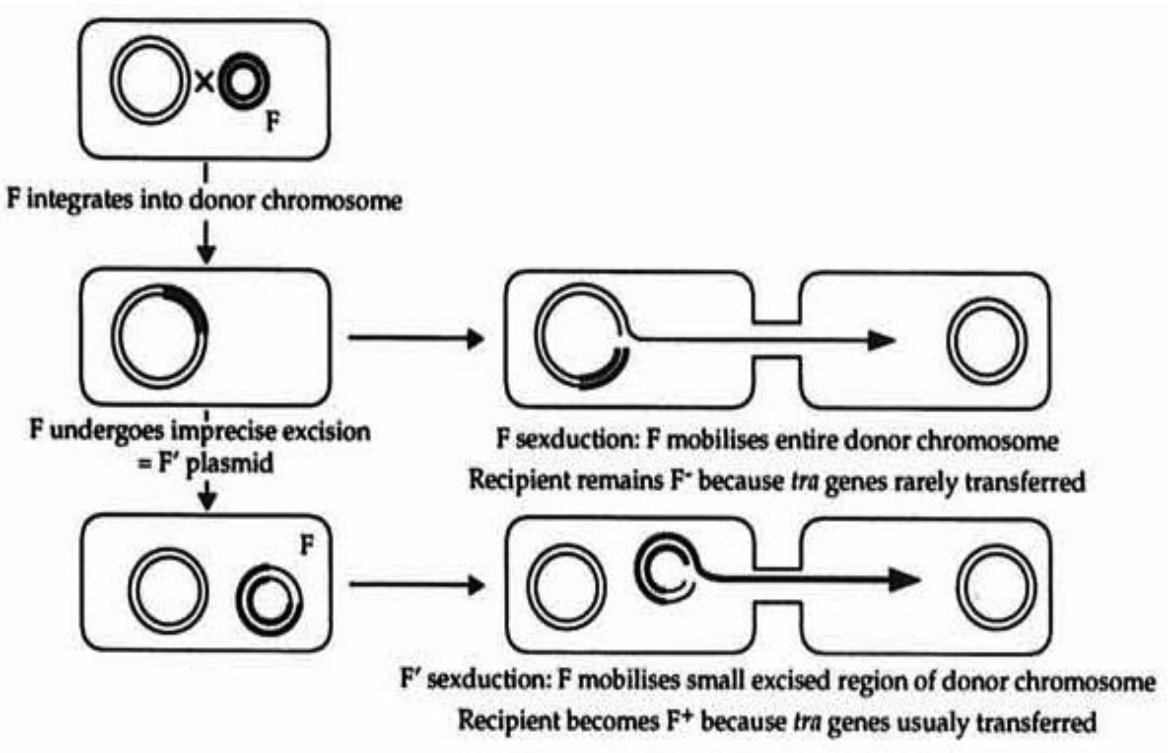
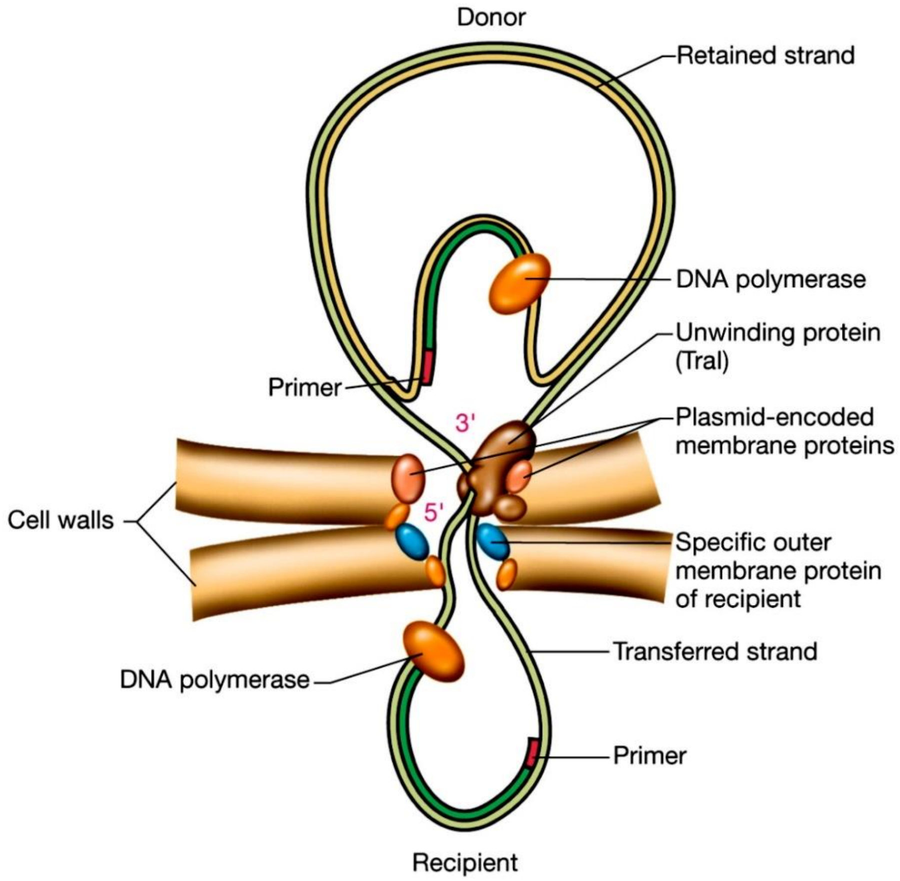


Figure 10-24 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار



(b)

- يحدث انتقال الجينات لكروموسوم البكتريا من خلية +F الى خلية -F بصورة طبيعية ولا ياخذ وقتا وتتحول كلا الخليتين الى +F

- ويمكن ان يحدث الانتقال بين خلية Hfr وخلية -Fواذا تم الانتقال بالاقتران الكامل لمدة 100 دقيقة في بكتريا E. coli وتتحول كلا الخليتين الى Hfr ولكن هذا لاحدث الا نادرا بسبب الحركة البراونية في المحاليل بحيث ينفصل الهدب الجنسي بعد مرور فتره قصيرة كما يمكن لل´F ان ينقل الجين الذي يحمله معه بسهوله كونه صغير الحجم ولا يحتاج وقت

- اصبح بالامكان رسم الخرائط الكرورموسومية للبكتريا المحتوية على الاهلاب الجنسية بسهولة لان +F حينما يقترن بالكروموسوم البكتيري يتموضع في اماكن مختلفة حسب نوع وظروف البكتريا وبهذا اصبح بالامكان الحصول على العديد من سلالات Hfr تختلف فيما بينها بموقع +F وبذلك فعند اقترانها ببكتريا -F يكون تسلسل دخول الجينات مختلفا حسب وقت الدخول وبهذا يمكن رسم خارطة جينية باعتماد وقت دخول الجين باستخدام الاقتران المتقطع interrupted matting

1. Conjugation experiments to map genes begin with appropriate Hfr strains selected from the progeny of F^+ X F^- crosses.

2. Jacob and Wollman (1950s) used Hfr donor strains with allelic differences from the F^- recipient strains, in interrupted-mating experiments.

- Donor: HfrHthr^+ $leu^+$$azi^R$$ton^R$ lac^+ $gal^+$$str^R$.

- Recipient: F^-thr leu $azi^S$$ton^S$ lac gal str^S.

- The 2 cell types are mixed in liquid medium at 37°C. Samples are removed at time points and agitated to separate conjugating pairs.

- Selective media are used to analyze the transconjugants. Results in this experiment:

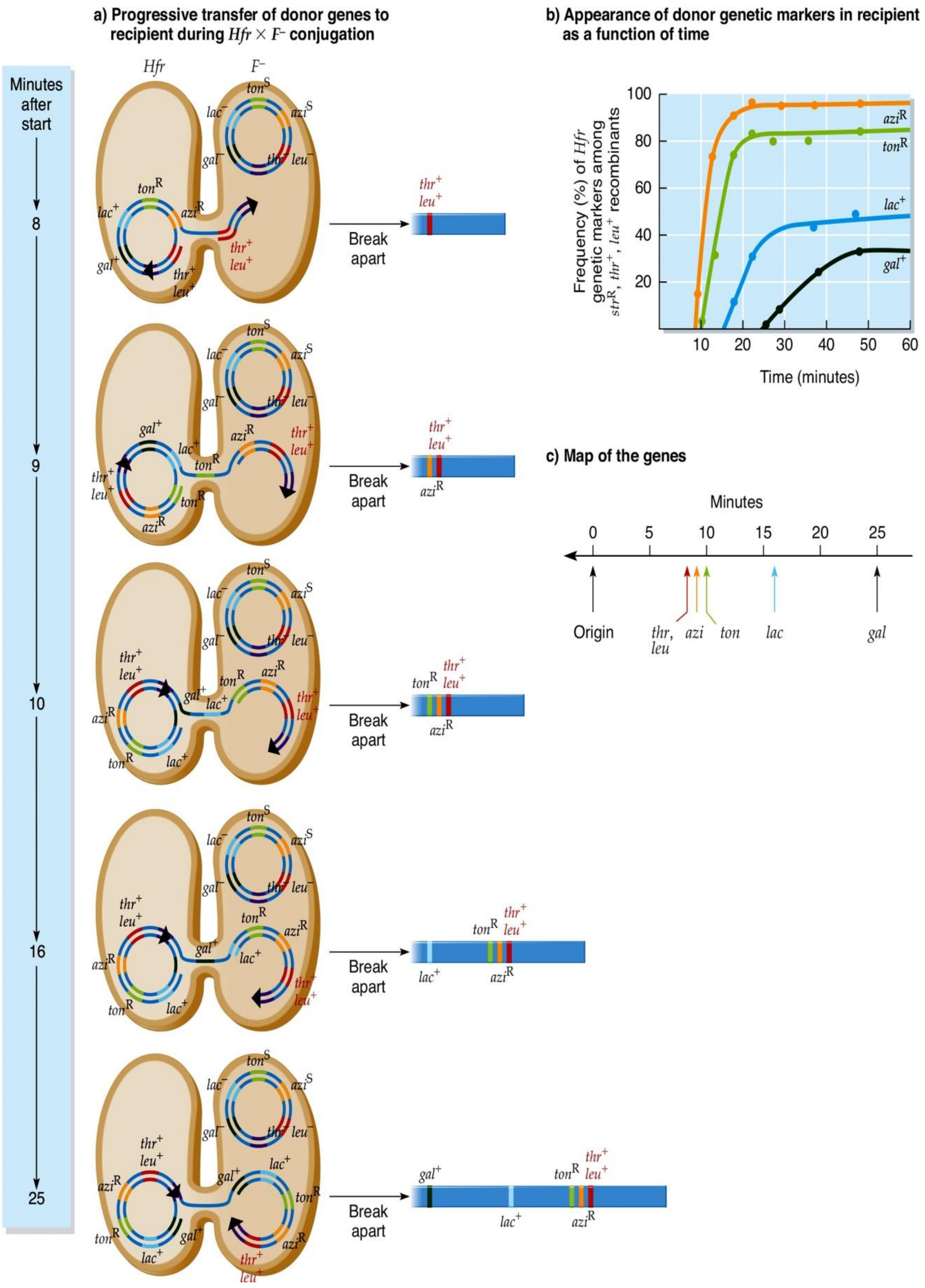
- i. The 1st donor genes to be transferred to the F^- recipient are thr^+ and leu^+, and their entry time is set as 0 minutes.

- ii. At 8 minutes, azi^R is transferred, and ton^R follows at 10 minutes.

- iii. At about 17 minutes lac^+ transfers, followed by gal^+ at about 25 minutes.

- Recombination frequency becomes less at later time points, because more pairs have already broken apart before the sample was taken.

- The transfer time for each gene is reproducible, indicating its chromosomal position. A map may be constructed with the distance between genes measured in minutes. (The *E. coli* chromosome map spans about 100 minutes.)



د. احمد محمد تركي & د. احمد عبد الجبار